

电磁脉冲辐射导致细胞膜电穿孔与药物结合实现癌症治疗*

王保义 张弘 刘长军 杨果 陈海川

四川大学电子信息学院 成都(610064)

王子淑 孙敬儒

四川大学生命科学学院 成都(610064)

摘要 本文的方法是目前在治疗癌症中的一种最简便而高效的新方法,过去在利用电磁辐射治疗肿瘤的传统办法中,是使电磁波照射肿瘤使其吸收能量,产生高温(超过 42℃ 以上)以杀死癌细胞,利用 915MHZ 或 2450MHZ 频率的电磁波,但必须产生电磁能量聚集,技术上较为复杂,问题之一是在杀死癌细胞的同时,正常细胞也要受到损害。本文提出的使用电磁脉冲辐射使组织细胞膜产生电穿孔,从而使注射在肿瘤周围的抗癌药物大量进入癌细胞内,达到有效治癌的目的,方法简单、副作用小、效率高,是一种新型的治疗癌症的办法,便于普及和推广。

关键词: 电磁脉冲 细胞膜电穿孔 癌症治疗

一、脉冲电磁场产生的电穿孔及其可能的应用

电穿孔(Electroporation)是指在脉冲电场的作用下,使细胞膜或组织膜半透性丧失,膜上出现穿孔的生物物理现象,目前主要集中于研究单个或数个高强度脉冲电场作用下细胞的穿孔现象,其场强一般在 10^5 ~ 10^6 V/m 之间,而脉冲持续时间一般为 10^{-6} ~ 10^{-3} s 量级,Weaver, Song, 和 Zimmermann 等学者对高强度电脉冲导致电穿孔的机理和应用做了详细的研究^[1-3]。

对于低强度脉冲(约小于 10^4 V/m)产生的电穿孔现象只有少数学者进行过研究,例如 Song 等人在 $(5-20) \times 10^3$ V/m 的低频电场下,成功地观察到了质粒的电传导现象,其用的电磁源为 0.1~ 10^4 Hz。我们利用峰值场强为 2×10^3 V/m 的低强度脉冲电场(EMP)在 BTEM cell 室中,照射离体动物血细胞,实验的脉宽为 50~100ns,通过扫描电镜直接观察到了细胞膜的穿孔,从而证明低强度快速电磁脉冲也可导致细胞膜电穿孔。^[4-6]

细胞膜电穿孔有下列几方面的应用

(1) 通过把质粒或外来基因导入细胞实现基因转染;(2) 实现细胞间的融合。为异核体和杂交胚胎做准备;(3) 把蛋白质嵌入细胞膜;(4) 提高药物进入细胞的能力(特别是抗癌药物),提高化疗及药物治疗的效率;(5) 把人体细胞融入动物细胞组织,构造新的动物品种;(6) 激活细胞膜的传输因子,提高酶的活性;(7) 改变基因在生物中的表达形式。

所以,通过使用电磁脉冲使细胞膜产生穿孔现象在生物、医学、药学方面有广泛应用。

二、弱电磁脉冲与强电磁脉冲产生的电穿孔及其主要结果

我们对不同强度电磁脉冲对生物细胞产生的生物效应及电穿孔研究,经过多年的探索,取得了重大进展。弱电磁脉冲的实验是在能模拟自由空间的 BTEM Cell 系统(横电磁波传输室)中进行的,在输入

* 国家自然科学基金资助项目,批准号 60071024

幅度 100V, 上升时间 1.2ns, 脉宽 2.4ns 的情况下, 分别照射(照射时间分别为 1-3 小时)胎儿脐带血, 人体淋巴细胞和绵羊红细胞。主要结果如下:

(a) 在国内外, 首次发现细胞核被击碎裂, 形成多块小核, 并出现多微核现象, 核异常数比对照组高出 8.7-14.8 倍, 细胞严重受损; (b) 经过计数 E-玫瑰花结的形成百分率, 发现人淋巴细胞, 特别是 T-淋巴细胞, 形成玫瑰花结的能力显著下降, 照射时间越长, 形成的花结越少, 淋巴细胞上受体蛋白结合绵羊细胞的能力显著下降, 这说明细胞的免疫功能受损; (c) 经红细胞脆性检测, 细胞耐低渗能力下降。^[4]

另一种方案是, 脉冲输入幅度 187V、脉宽 100ns 的脉冲照射细胞研究细胞的电融合和电穿孔, 照射时间从 20min-100min, 主要结果如下: (a) 观察到鸡和鸡血细胞, 鸡和兔血细胞, 兔和兔血细胞之间的电融合现象、电融合率为 5%, 这间接说明细胞具有穿孔现象; (b) 通过扫描电镜观察, 可直接观察到细胞的电穿孔, 电孔率为 2%-3%, 穿孔直径 20-500nm 不等; (c) 用家兔红细胞进行电穿孔试验, 发现穿孔率更高, 可达 60%左右, 而穿孔的直径可达 0.6-1.3 μ m; (d) 利用细胞电穿孔进行了提高抗癌药物毒性的实验, 利用癌细胞株 Re-07, Lu-06 和 Col-05, 再用两种抗癌药物 C7 (脂溶性) 和 CPT (水溶性), 分别在 BTEM Cell 中照射, 然后用 SRB 法测定细胞的 OD 值 (表示细胞的活性), 如果电磁脉冲对癌细胞有穿孔作用, 抗癌药物就应更多的进入癌细胞中, 从而提高了抗癌药物的毒性, 经检测发现, 用 C7 药物, 可使癌细胞的 OD 值下降 52-85%, 大大提高了抗癌药物的疗效。而水溶性抗癌药物则无明显效果^[6-7], 机理正在研究之中。

在强脉冲电场的研究中, 基本参数如下: 在基因导入仪的小室中进行实验, 脉冲电压峰值为 500V, 样品处的场强约为 $(1.2-2.5) \times 10^6$ V/m, 脉冲的时常数为若干 ms, 同一次实验作用的脉冲个数为 3-6 次。采用鸡血细胞进行实验, 主要结果如下: 当脉冲个数为 3-4 时, 用扫描电镜未观察到电穿孔现象, 脉冲个数为 5-6 时, 观察到了电穿孔现象, 但穿孔率较低, 仅为 2%左右, 孔洞直径约 0.1-1.4 μ m, 当电场强度提高到 5×10^6 V/m 时, 细胞的穿孔率达到 8%, 孔洞近似于规则圆形, 孔洞直径约为 0.05-1.5 μ m, 同时发现, 白血球的穿孔率高于红细胞, 在白细胞上孔洞的位置是随机的无规律可言, 而在红细胞上孔洞的位置在膜的凹陷处, 且多在长轴的两端, 而膜的凹陷在细胞核的周围, 在照片上可以发现细胞表面附有一些白色颗粒状物质, 估计是在电脉冲作用的过程中, 当穿孔形成时, 造成细胞内物溢出。

三、强电磁脉冲场直接产生电穿孔及癌症治疗

利用强脉冲电场使细胞产生电穿孔, 可导致药物或基因大分子进入细胞内部, 从而达到治疗肿瘤的目的, 利用电脉冲结合化疗医治癌症是 1987 年报导的, 当时利用的是瞬态电脉冲并在试管中对离体细胞进行试验, 以后几年就出现了在动物体上治疗肿瘤的实验方案, 为进行临床治疗铺平了道路, 1998 年接着又有学者在人体上进行了临床实验, 在头部和颈部浅表癌症治疗中取得出色成绩, 经过 I-II 期治疗, 8 个病人中, 其中有 5 个人完全好转, 三个人部分好转, (肿块缩小了 50%以上)。通过电穿孔结合药物治疗癌症, 具有下列优点:

(a) 可以在相对低的药物浓度下治疗癌症。副作用最小; (b) 对于某些不可切割的肿瘤可以保存下来完成治疗; (c) 对于靠近某些关键器官的肿瘤如果用外科手术或放疗会带来永久性损害, 用电穿孔治疗可两全其美; (d) 可用单一药物进行治疗, 克服了多种治疗药物带来相互抵消的负作用。

下面给出一组动物实验(肺癌)结果, (a) 不经过治疗 30 天后, 肿块由 200mm³长至 6000mm³, (b) 经 1000V/cm 强度治疗, 30 天后, 肿块由 200mm³长至 2000mm³; (c) 经 1300V/cm 重复治疗经 30 天以后, 肿块由 150mm³降至 0, 可见其效果是十分明显的。

参考文献

- [1]Weaver J.C. Electroporation in cells tissues: A biophysical phenomenon due to electromagnetic fields. Radio science, 1995,30(1):205
- [2]Zimmermann U. Electric field-mediated fusion and related electrical phenomena. Biochemical et Biophysica Acta, 1982, 694:227
- [3]Song T Y. Electroporation of cell membrane. Biophysical Journal. 1991 60(8):297
- [4]王保义, 杨杰斌, 郭庆功等“毫微秒电磁脉冲的生物效应的实验研究和机理分析”, 中国科学 (C 辑) 1997, 27 (1): 36-39.
- [5]刘长军, 王保义, 张弘等“低强度快速电磁脉冲导致细胞电穿孔研究”, 科学通报, 1999, 44 (11): 1157-1160.
- [6]张弘, 王保义, 刘长军等“利用弱电磁脉冲对细胞电穿孔提高抗癌药物的疗效研究”, 电波科学学报, 1999, 14 (增刊): 397-400.
- [7]B.Y.Wang, C.J.Liu, H.Zheng et all; “Membrane Electroporation Due to weak Tranient EM-Pulses” The 4th Asia-Pacific Conference on Medical and Biological Engineering. 1999.9.Seoul, Korea.
- [8]G. A. Hofmann,S. B.Dev et all Electroporiation Therapy: A New approach for the treatment of Head and neck cancer. IEEE Trans on BME. 1999, 46(6), 752-759