

利用电磁脉冲使细胞膜电穿孔及癌症治疗¹

王保义² 张 弘² 刘长军² 杨 可² 陈海川² 王子淑³

一、电穿孔现象

电穿孔 (Electroporation) 是指在脉冲电场的作用下, 导致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 $10^5 \sim 10^6 \text{ V/m}$ 之间, 而脉冲持续时间一般为 $10^{-6} \sim 10^{-3} \text{ s}$ 量级, Weaver, Song, 和 Zimmermann 等学者对高强度电脉冲导致电穿孔的机制和应用做了详细的研究^[1]。

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 $(5 \sim 20) \times 10^3 \text{ V/m}$ 的低频电场下, 在细胞与 DNA 的尺度比例为 $50 \sim 75$ 的情况下, 成功地观察到了质粒的电传导现象, 其用的电磁源为 $0.1 \sim 10^6 \text{ Hz}$ 。我们在研究瞬态电磁场生物效应的基础上, 利用峰值场强为 $2 \times 10^3 \text{ V/m}$ 的低强度脉冲电场 (EMP) 照射动物血细胞, (将样品放置在横电磁波传输室中) 实验中脉宽为 $50 \sim 100 \text{ ns}$, 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以导致细胞膜电穿孔^[2]。

二、低强度瞬态电磁脉冲产生的电穿孔及应用

我们在国家自然科学基金的资助下, 开展了低强度瞬态电磁脉冲对生物细胞产生的动物效应及电穿孔机制研究, 经过多年的努力, 实验系统采用能模拟自由空间的 BTEM Cell 系统 (横电磁波传输室), 取得了重大进展。

1. 第一种类型是, 在输入幅度 100 V , 场强约为 $2 \times 10^3 \text{ V/m}$, 上升时间 1.2 ns , 脉宽 2.4 ns 的情况下, 分别照射 (照射时间分别为 $1 \sim 3$ 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: (1) 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 $8.7 \sim 14.8$ 倍, 细胞严重受损; (2) 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; (3) 经红细胞膜脆性检测, 细胞耐低渗能力下降^[2]。

2. 第二种类型是, 在研究电穿孔的现象中, 我们使用了输入幅度 187 V 、脉宽 100 ns 的脉冲专门研究了细胞的电融合和电穿孔, 照射时间从 $20 \text{ min} \sim 10 \text{ min}$, 主要结果如下: (1) 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、电融合率约为 5% , 这间接说明细胞具有穿孔现象; (2) 通过扫描电镜观察, 可直接观察到细胞膜的电穿孔, 电孔率为 $2\% \sim 3\%$, 穿孔直径 $20 \sim 50 \text{ nm}$ 不等; (3) 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 $0.6 \sim 1.3 \mu\text{m}$; (4) 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 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 $52\% \sim 85\%$, 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^[3-5]机制正在研究之中。

三、强电磁脉冲产生电穿孔及癌症治疗

利用强脉冲电场使细胞膜产生电穿孔, 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 年报道的, 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

1. 国家自然科学基金资助项目批准号 60071024 2. 四川大学电子信息学院 (成都 610064) 3. 四川大学生命科学学院 成都 (610064)

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, 受试的 8 个病人中, 其中有 5 个人完全好转, 3 个人部份好转, 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: (1) 可以在相对低的药物浓度下治疗癌症, 副作用最小; (2) 对于某些不可切割的肿瘤可以保存下来完成治疗; (3) 对于靠近某些关键器官的肿瘤如果用外科手术或放疗将带来永久性损害, 用电穿孔治疗可两全其美; (4) 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 1999 年国外某实验室一组动物实验 (肺癌) 结果, (1) 不治疗 30 天后, 肿块由 200mm³ 长至 6000mm³; (2) 使用 1000v/cm 强度脉冲治疗 (配合药物) 30 天后, 肿块由 200mm³ 长至

2000mm³; (3) 使用 1300v/cm 强度脉冲治疗 (配合药物) 经 30 天以后, 肿块由 150mm³ 降至 0, 可见其效果是十分明显的。我们正在利用强脉冲结合药物对动物进行治疗肿块的实验, 取得了初步成功。

参 考 文 献

- 1 Weaver J.C. Radio science 1995; 30 (1) :205
- 2 王保义等. 中国科学 (C 辑) 1997; 27 (1) :36~39
- 3 刘长军等. 科学通报 1999; 44 (11) :1157~1160
- 4 张 弘等. 电波科学学报 1999; 14 (增刊): 397~400
- 5 B.Y.Wang, et al. "membrane Electroporation Due to weak Transient EM - Pulses" The 4th Asia - Pacific Conference on Medical and Biological Engineering 1999; 9 Seoul, Korea.
- 6 G.A.Hoffmann, et al. IEEE Trans on BME 1999; 46 (6) :752~759

(收稿: 2001-11-23)

侧切会阴连续缝合法

浙江省桐庐县第一人民医院妇产科 (311500) 徐贤平 孙樟萍

会阴侧切常用于会阴水肿、会阴体过高、会阴坚韧无弹性、产钳助产术、胎头吸引术及足位臀位产等, 是为了避免会阴重度裂伤及克服产程阻滞。会阴侧切缝合是产科最基本、最常用的手术之一。我院从 2000 年起, 采用吸收性医用合成肠线连续缝侧切会阴 106 例, 并随机抽取 105 例会阴侧切传统缝法进行对照, 结果分析如下:

资料和方法

1. 资料: 会阴侧切连续缝合 106 例为观察组, 都为初产妇, 年龄 21~35 岁, 孕 37~42 周, 其中顺产 83 例, 胎头吸引术 10 例, 产钳助产术 11 例, 足位牵引助产术 2 例。对照组 105 例也都是初产妇, 年龄 22~32 岁, 孕 37~41 周, 其中顺产 90 例, 胎头吸引术 4 例, 产钳助产术 8 例, 臀位牵引助产术 3 例。两组都给予侧切前行普鲁卡因阴部神经阻滞及局部浸润麻醉。两组基本情况没有差别。

2. 方法: 检查产道无其他部位裂伤后, 用一带尾纱布圈填宫颈口, 左手中食指撑开阴道壁, 暴露视野。用 3.0 整支合成肠线, 从切口顶端上 0.5cm 处缝第一针, 打结, 剪去一根线端, 左手小拇指紧

缝线根部, 左手中食指仍然撑开阴道壁, 间隔 1cm, 从切口旁 0.5cm 处进出针, 行阴道粘膜连续缝, 缝达处女膜下, 直接连续缝合皮下脂肪、肌层, 进针点尽量靠近皮内组织, 缝达切口顶端后打结, 剪一根线端, 直接从这切口顶端的皮内开始进针, 行皮肤连续褥式缝合, 缝至处女膜后, 打结、剪线。

对照组用传统缝法, 阴道粘膜、皮下脂肪、肌层用肠线, 皮肤用丝线间断缝合。

结 果

1. 切口愈合情况: 106 例连续缝合的切口, 全部早期愈合, 无一例 2 期 3 期愈合。对照组 105 例中有 104 例为 1 期愈合, 1 例为 2 期愈合, 切口有红肿, 经过红外线照射后, 拆线后 2 天出院。

2. 住院天数: 观察组产后住院天数最长为 3 天, 最短 1 天。对照组 105 例, 产后住院最长 1 例 7 天, 其余全部 5 天出院。两组比较住院天数有显著差异 ($P < 0.01$)。

3. 缝合时间: 观察组缝合时间最长 15 分钟, 最短 8 分钟, 而对照组缝合时间最长 22 分钟, 最短 14 分钟。