

# 瞬态电磁脉冲对淋巴细胞遗传及免疫功能的影响

郭庆功<sup>1</sup>, 马雪莲<sup>1</sup>, 张弘<sup>2</sup>

(1. 重庆邮电学院, 重庆 400065; 2. 四川大学 无线电系, 四川 成都 610064)

**摘 要:** 通过以人的T-淋巴细胞为受试对象, 以其结合绵羊红细胞形成E-玫瑰花结的百分率为指标, 测试了不同波形参数的脉冲电磁场、不同照射时间对E-玫瑰花结形成率的影响; 并讨论了瞬态电磁脉冲(TEMP)对长白猪淋巴细胞转化率等遗传学效应的影响, 为解释低强度瞬态电磁脉冲对细胞产生非热效应作用的机理提供了可靠的依据。

**关键词:** 低强度瞬态电磁脉冲; T-淋巴细胞; 细胞免疫; 生物效应

**中图分类号:** Q64 **文献标识码:** A

## The Effects of Weak Transient Electromagnetic Pulses on Heredity and Immunity of the Lymphocytes

GUO Qing-gong<sup>1</sup>, MA Xue-lian<sup>1</sup>, ZHANG Hong<sup>2</sup>

(1. College of Communications and Information Engineering, CUPT, Chongqing 400065, P. R. China;

2. Department of Radio Electronics, Sichuan University, Chengdu 610064, P. R. China)

**Abstract.** In this article, by the research into the effects of low-power transient electromagnetic pulse on the lymphocytes transformation rate, the T-lymphocytes cell immunogenetics and the T-lymphocytes of tested subject, the authors, combining with the percentage of E-rossette formed by the red cells of the lamb, test the effects on the E-rossette formation rate by different irradiation time and different wave parameters of electromagnetic pulse. The reliable evidence of the effects of weak electromagnetic pulse on the athermal effects of the cells can be acquired.

**Key words:** TEMP; T-lymphocytes; cell immunity; bioeffects

## 0 引言

近十几年来实验与理论证明了在电磁场与生物体的相互作用中, 除热效应外还存在着易被忽视的非热效应<sup>[1~3]</sup>。它往往发生在远离平衡态的情况下, 具有非线性特征, 并有明显的“频率窗”和“功率窗”效应。通常引起非热效应的电磁波功率密度很弱, 但作为非热效应的生物系统的应答却很强烈, 显然在此过程中, 电磁辐射只是一种催化剂, 它促进了

生物体内的生化反应, 成为生物代谢动态过程中的干扰因子<sup>[4]</sup>。相对热效应, 非热效应的作用机理更为复杂, 目前有关其机理解释还很不完善, 多为针对连续波作用所引起的非热效应而言的。近年来脉冲电磁场与生物体作用的研究已越来越引起人们的注意, 尤其是低强度瞬态电磁脉冲所产生的非热生物效应更是当前的研究热点之一。本文通过实验研究了低强度瞬态电磁脉冲对淋巴细胞转化率、T-淋巴细胞免疫能力的影响, 并通过研究不同条件脉冲电

收稿日期: 2002-04-05 修回日期: 2002-06-05

基金项目: 国家自然科学基金资助课题(69771020); 重庆邮电学院青年科技基金资助课题(A2001-14)

作者简介: 郭庆功(1967-), 男, 新疆伊犁人, 讲师, 硕士, 研究方向为微波生物、信号分析与处理。

磁波对淋巴细胞形成 E-玫瑰花结能力的影响,为低强度脉冲电磁场对细胞产生非热效应作用的机理解释提供了可靠的依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验系统

本实验采用自行研制的超宽频带横电磁传输室(BTEM cell),较好地模拟了自由空间的辐射条件,并加装有加热与恒温控制系统,信号源为 1552 型脉冲发生器,其输出脉冲重复频率、脉冲宽度均分档可调。有关 BTEM cell 的性能及应用参见文献[5]。

### 1.2 实验材料及方 法

胎儿脐带血:成都市妇产科医院提供;绵羊红细胞:中国医学科学院成都输血研究所提供;长白猪前腔静脉血:四川省兽医总站提供。

实验前系统需经 20 min 以上预热,待其辐射腔中温度稳定后开始实验,保证传输室中温度维持在  $T_0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ ,使得辐射组与对照组相比在环境温度上基本无差异。实验用 SQ27 型采样示波器观测信号幅度、重复频率及脉宽等参量,并通过调整信号源,选取不同条件下的实验参数值,各实验重复 2-3 次。实验中具体各波形参数见表 1。

表 1 实验中各辐射波形参数条件  
Tab. 1 The wave parameters of different experimental groups

分组	参数条件		
	幅度 $E(\text{V})$	脉宽 $r(\text{ns})$	重复频率 $f(\text{kHz})$
波形 I	50	10	100
波形 II	50	10	1
波形 III	50	10	0.1
波形 IV	50	50	1
波形 V	50	100	1
波形 VI	100	2.4	200

#### 1.2.1 TEMP 照射下淋巴细胞转化率

取长白猪前腔静脉血 10 ml,前期处理后在无菌室内将血分装入 6 个青霉素小瓶,每瓶 5 ml,各瓶加入 ConA 溶液,立即转入  $38.2^\circ\text{C}$  培养箱中培养,此时为培养起始时间,21 h 后,取其中 5 瓶放入 BTEM cell 中分别照射 1.0 h, 2.0 h, 3.0 h, 4.0 h, 5.0 h 后,继续培养,收获前 2 h 加入秋水仙胺到 56 h 收获,处理、制片后在显微镜下统计转化率和有丝分裂率。辐射条件为波形 VI, BTEM cell 中温度为  $38.2^\circ\text{C}$ 。

#### 1.2.2 淋巴细胞的 E-玫瑰花结

本系列实验保持信号脉冲幅度  $V_m = 50 \text{ V}$  不变,每组变换不同脉宽或重复频率依次采用波形 I、波形 II、波形 III、波形 IV、波形 V 进行实验,具体参量变化见数据处理表 2。

表 2 各实验条件组合对形成 E-玫瑰花结的影响(%)  
Tab. 2 Effects on the E-rossette formation in different experimental condition groups

辐射时间	波形 I	波形 II	波形 III	波形 IV	波形 V
0 h	36.3	36.3	28.6	27.1	22.7
1.0 h	24.8 *	17.0 **	14.8 **	8.4 **	14.8 *
2.0 h	24.0 *	14.3 **	21.2 **	15.7 **	18.9 *
3.0 h	23.3 *	11.8 **	27.5 <sup>v</sup>	16.2 **	19.0 <sup>v</sup>

注 \*\* 表示与对照组相比  $p < 0.001$ ; \* 表示与对照组相比

$p < 0.01$ ; <sup>v</sup> 表示与对照组相比  $p > 0.05$ 。

每次取健康胎儿脐带血 20-30 ml 加入 500-1000 比单位肝素/ml 血液抗凝,分装入 5 个青霉素小瓶为一组,取其中一瓶放入  $37.0^\circ\text{C}$  培养箱中作对照组,另 4 瓶放入 BTEM cell 中照射。每组分别照射 1.0 h, 2.0 h, 3.0 h。在后续处理中分别加入 5% 绵羊红细胞(ERBC)形成 E-玫瑰花结,具体过程参见文献[6]。每组检查 1000-2000 个淋巴细胞,以结合两个或两上以上绵羊红细胞的 T-淋巴细胞为一花结,统计花结形成百分率。

## 2 实验结果与数据说明

### 2.1 TEMP 照射后淋巴细胞转化率的变化

淋巴细胞转化率和有丝分裂率见表 3,TEMP 照射后,淋巴细胞转化率普遍下降,但并不呈现剂量-效应正比关系,其中照射到 2.0 h 组的转化率最低,而照射 1.0 h 与 5.0 h 组并没有显著变化,有丝分裂率均没有显著变化。

### 2.2 TEMP 对 T-淋巴细胞形成 E-玫瑰花结的影响

E-玫瑰花结实验是体外检测细胞免疫功能的方法之一,人体外周血中的 T-细胞承担着细胞免疫的功能,其表面有红细胞的受体,利用这一特性,在体外使其与绵羊血红细胞结合形成 E-玫瑰花结。以此可以直接了解人体内免疫功能的状况,形成玫瑰花结的百分率越高,表明免疫能力越强。实验中发现,E-玫瑰花结实验不仅效果明显,而且通过玫瑰花结降低率的大小,较好地反映了脉冲电磁场影响的强弱,结果见表 2 和表 4。

表3 淋巴细胞转换率和有丝分裂率  
Tab. 3 The change rate of T-lymphocytes and the silky splitting rate

照射时间	对照组	1.0 h组	2.0 h组	3.0 h组	4.0 h组	5.0 h组
统计总数	1214	1212	1670	1262	1282	1242
转化数	1000	1000	1044	868	954	1000
转化率	0.824	0.825	0.625	0.688	0.744	0.805
t检验	-	0.646	11.640	7.834	4.854	1.211
p	-	>0.05	<0.01	<0.01	<0.01	>0.05
分裂相	38	44	42	26	36	42
分裂率	0.031	0.036	0.025	0.020	0.028	0.034
t检验	-	0.681	0.970	0.172	0.442	0.419
p	-	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

注1: 转化率=转化淋巴细胞数/淋巴细胞总数×100%;有丝分裂率=分裂相淋巴细胞数/淋巴细胞总数×100%

注2: P值均为各照射组与对照组相比所得.P<0.01有显著变化;P>0.05无显著变化。

表4 不同参数脉冲辐射对E-玫瑰花结形成的降低率(%)  
Tab. 4 The rate of the E-rossette formation decrease in different experimental condition groups

辐射时间	波形I	波形II	波形III	波形IV	波形V
1.0 h	31.7	53.2	48.3	69.0	34.8
2.0 h	33.9	60.6	25.9	42.1	16.7
3.0 h	35.8	67.5	3.8	40.2	16.3

注 \* 玫瑰花结降低率=(对照组花结率-照射组花结率)/对照组花结率×100%

由表2和表4的5组不同条件下的玫瑰花结实验,总结出以下特点。

1) 在所采用的所有脉冲组合条件下,发现脉冲电磁波对形成玫瑰花结的能力均有显著的影响。

2) 对照实验I组和I组,在所选照射时间内出现了脉冲电磁场对细胞免疫能力破坏程度的时间正比效应。照射时间愈长形成玫瑰花结愈少。

3) 对照实验II组、IV组、V组,发现在照射初期随时间延长玫瑰花结数减少,直到大约1h减少到最低程度,后又随照射时间的延长,形成玫瑰花结能力又得到恢复。

4) 由图1所示,I组、II组、III组间比较了在保持脉冲幅度( $V_m=50V$ ),脉冲宽度( $\tau=10ns$ )不变的情况下,不同重复频率( $f(100kHz;1kHz;100Hz)$ )对细胞的影响,结果表明并无频率-效应的正比关系,其中II组影响最为显著;而对III组,只在1.0h处影响较大,后又逐渐恢复。

5) 由图2所示,I组、IV组、V组间比较了在保持脉冲幅度( $V_m=50V$ ),重复频率( $f(1kHz)$ )不变的情况下,不同脉宽( $\tau(10ns,50ns,100ns)$ )作用对细胞的影响,在3.0h作用时间内,总体表现为:脉宽越小,影响越显著。由频谱分析可知,当 $\tau$ 减小时将导致信号频谱中各组成分量的幅度下降,但同时信号带宽

增大,使信号中高频成分相对增加。这是否说明高频成分越多,影响越显著呢?还有待于进一步研究。

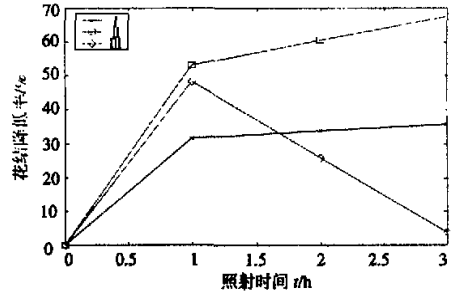


图1 不同重复频率对形成花结的影响  
Fig. 1 Effects on E-rossette formation in different frequencies.

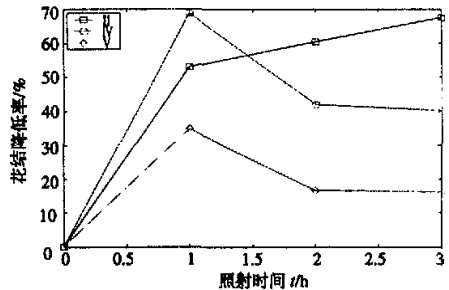


图2 不同脉冲宽度对形成花结的影响  
Fig. 2 Effects on E-rossette formation in different pulse lengths

### 3 实验现象的机理解释

#### 3.1 TEMP对细胞遗传效应的影响

通过统计的淋巴细胞转化率的变化,来验证TEMP对细胞遗传效应的影响。淋巴细胞转化的生物机理是:用ConA作用于淋巴细胞,ConA与细胞膜上的专一受体接合。再由胞质中的信号系统将信息传至细胞核,使已经浓缩的淋巴细胞核开始生长,

吸收胞质营养,长大并进而有丝分裂。由表3中数据表明:TEMP照射后的淋巴细胞转化率普遍下降,但并不呈现剂量-效应正比关系,其中照射2.0h及3.0h的淋巴细胞转化率尤其低。造成转化率下降只有两种可能的因素:一是膜上与ConA结合的糖蛋白构象改变,使ConA与细胞的结合能力下降,另一种可能是TEMP作用在细胞膜上产生了电穿孔,从而破坏了细胞骨架,而细胞骨架与细胞内信息传递的两条途径(通过物理性连接传递和依靠可溶性因子来传递)都密切相关。文献[7]中实验已证明,从细胞膜蛋白SDS~PAGE分析结果发现其组成成分的微小变化已足以引起骨架蛋白质构象发生变化,而影响其正常的生理功能,从而阻碍了信号向细胞核的传递,而使淋巴细胞转化率下降。

### 3.2 TEMP对细胞免疫功能的影响

比较表2中各组数据发现,在此系列实验中不同的条件照射下,TEMP对细胞免疫功能均有较大程度的影响( $p < 0.001$ )。瞬态场对免疫系统有如此大的影响,其机理何在呢?免疫是机体保护自身免受载有遗传异己特征的异己抗原伤害的一种机制,生物系统的免疫正是通过免疫应答来完成的,其中T-淋巴细胞就具有保障细胞免疫应答的功能。在机体中存在大量性质不同的抗体,这些蛋白质抗体的形成是由于在抗原出现后其自身产生特定频率的振荡,由于免疫系统细胞参与适应生长过程,对应这一特定的频率形成一定的蛋白质分子结构的频谱与其激励源的频谱应是相干的,淋巴细胞和抗原的这种谐振性质的一致保证了抗体与抗原的相互吸引,完成细胞的免疫应答。同时在TEMP作用下可发生细胞膜电穿孔现象,随着作用条件的不同,其对细胞产生的影响也会不同,例如在强脉冲作用下,便可能产生不可恢复的影响;而在弱场作用下,随着照射时间的延长,细胞在受到伤害的同时自身也会产生一种自适应的能力。在照射的初期,因膜的通透性的变化,造成大量离子外流,同时也使得细胞膜的蛋白质结构发生构向变化,从而影响到抗原与抗体的结合,使T-淋巴细胞形成E-玫瑰花结的能力显著下降。

## 4 结论及展望

通过以上实验的事实及数据的分析,我们可得

到3点结论。①低强度脉冲电磁场对细胞的影响是多方位、多层次的。不仅局限于对膜表面受体蛋白的影响,而且对膜内骨架、线粒体及细胞核的形态均有较大影响,从而影响其正常的生理功能;②低强度脉冲电磁场对细胞的遗传特性及免疫系统均产生较强的影响,但并不呈现时间-效应的线性关系,而表现出一定的“时间窗效应”,并在出现一定影响后,开始具有自我适应性;③低强度脉冲电磁场对细胞的作用不仅仅与场的强弱有关,同时与脉冲频率,宽度及作用时间均有密切的关系。

低强度脉冲电磁场的非热生物效应是一较新的研究领域,对它的实验研究和机理的分析都还处于一种刚刚起步的探索性阶段,同时对瞬态场理论分析中的困难和生物系统本身的复杂多样性,使我们的研究在深度和广度上都需做进一步的探索。

### 参 考 文 献

- [1] 王保义,王长广,王登本等.低强度微波辐射对人精子非热生物效应的研究[J].生物物理学报,1996,12(1):27-30.
- [2] WEAWER J C. Electroporation in cells and tissues: A biophysical phenomenon due to electromagnetic fields [J]. Radio Science, 1995, 30(1): 205-221.
- [3] 王保义,杨杰斌,郭庆功.毫微秒电磁脉冲的生物效应实验研究和机理分析[J].中国科学,(C辑)1997,27(1):35-39.
- [4] 黄卡玛,唐敬贤,刘永清.生物代谢动态过程中的电磁干扰[J].中国科学(B辑),1995,25(3):289-294.
- [5] HUANG Kama, LIU Yongqing. A simple method for calculating electric and magnetic fields in GTEM cell[J]. IEEE Trans, 1994, EMC 36(4): 335-340.
- [6] 王子淑.人体及动物细胞遗传学实验技术[M].成都:四川大学出版社,1987.
- [7] 郭庆功,马雪莲.影响瞬态电磁生物效应实验重复性的要素[J].重庆邮电学院学报(自然科学版),2002,14(2):84-86. (编辑:龙能芬)