

髓性白血病细胞 HL60 自发超微弱生物光子辐射研究

鲍超, 刘华锋

(浙江大学现代光学仪器国家重点实验室国际光子学实验室, 浙江 杭州 310027)

摘要: 采用光子计数成像采集系统(PIAS)对髓性白血病细胞 HL60 自发的超微弱生物光子辐射进行了初步研究, 获得了 HL60 细胞的生物光子强度与培养时间及细胞密度的关系。研究表明, HL60 细胞的生物光子强度反映了细胞增殖规律性及新陈代谢状况。为进一步探索肿瘤细胞与抗癌药物作用的生物光子效应, 我们把 TNF- β (肿瘤坏死因子)对悬浮 HL60 细胞进行处理, 发现比同性质无 TNF- β 药物的对照组有更强的超微弱光子辐射。

关键词: 超微弱生物光子辐射; 光子计数成像采集系统; 髓性白血病细胞 HL60

中图分类号: Q632 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6737(2001)03-0550-04

自从上世纪二十年代初, 苏联科学家 A.G. Gurwitsch 发现洋葱的超微弱光子辐射后, 人们一直在孜孜不倦地探求这种神秘的超微弱生物光子的发射特性及其发生机理。经过几十年的研究, 大家普遍认识到: 植物、动物和人类细胞均发射超微弱光子—生物光子^[1]。实际上所有细胞都以一个稳定的速率发射生物光子, 从每个细胞每天发射几个光子到每个细胞每秒发射几个光子^[2]。研究人类正常的和癌细胞的生物光子辐射现象是一项具有现实意义的工作。有人研究了悬浮溶液状鼠肝细胞和鼠肝癌细胞线 Rauber H35 和 HTC 自发的光子辐射, 鼠肝细胞有自发光子辐射, 而对鼠肝癌细胞线却没有探测到。但用白光照射后, 鼠肝细胞发射强度低, 而鼠肝癌细胞线则较强^[3]。

本文用光子计数成像采集系统 (PIAS) 对髓性白血病 HL60 细胞自发超微弱生物光子辐射进行初步研究, 获得了 HL60 细胞的生物光子强度水平的时间特性及与细胞密度的关系。为进一步探索肿瘤细胞与抗癌药物作用的生物光子效应, 我们把 TNF- β (肿瘤坏死因子)对悬浮 HL60 细胞进行处理, 发现比同性质无 TNF- β 药物的对照组有更强的超微弱光子辐射。

1 材料与方 法

采用髓性白血病细胞 HL60 作为实验材料, 用加小牛血清的完全 1640 培养液培养。运用日本滨松光子学株式会社研制的二维光子计数成像采集系统 (PIAS) 测量不同密度实验组细胞辐射的超微弱生物光子数 (连续计数 3 次取平均值), 观察肿瘤细胞 HL60 辐射的超微弱生物光子的特性; 另外还采用 β 肿瘤坏死因子 (TNF- β) 对 HL60 悬浮细胞进行处理, 并在 0.5-8 小时内测定其混合物的超微弱生物光子辐射。测试系统装置如图 1 所示。

收稿日期: 2000-10-23

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目 [(10)697039]

作者简介: 鲍超, 副教授, 电话: (0571)87951674, E-mail: zipi@zju.edu.cn.

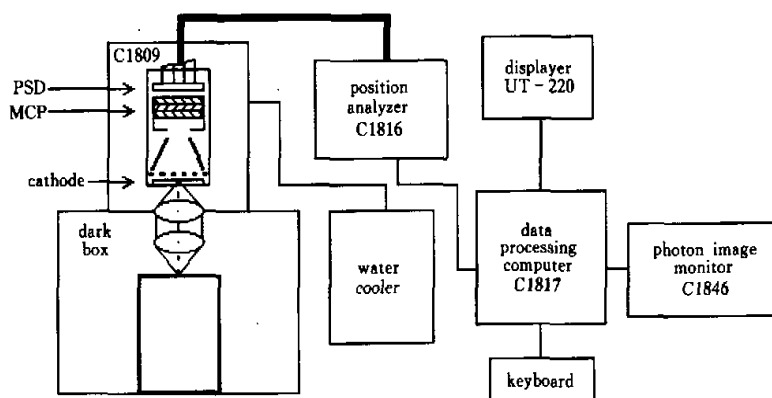


Fig.1 Diagram of photon-counting imaging acquisition system (PIAS)

它主要由冷却的光探测器 (C1809), 光探测器输出信号处理电路 (C1816) 及数据处理计算机 (C1846) 等组成。采用的光探测器是一种特殊的真空光电器件, 被测的光子辐射由真空管内的光电阴极转换成电子, 经加速后在三级微通道板内得到放大, 总增益系数高达 10^7 , 电子最后落在一个半导体位置敏感器 (PSD) 上, PSD 是一种能探测入射电子 (或光子) 位置的器件, 入射电子的平面坐标可以通过四个电极分别和公共极之间输出的四个电流运算而得到^[4]。它有较小的位置探测误差和较高的位置分辨率。PSD 输出信号处理采用光子计数模式, 入射超微弱光子数以每秒一次的速率、连同视场内系统噪声计数一起显示, 同时仪器显示屏呈现一个圆形视场, 入射光子一个一个以白色小点 (噪声也一样) 显现出来。

2 结果和讨论

2.1 HL60 细胞密度与超微弱光子辐射强度关系

为正确测定不同密度的 HL60 细胞的超微弱光子辐射, 我们首先测定了细胞培养时间和细胞密度的关系。用细胞计数仪测量在 37°C 下培养的 HL60 细胞的密度, 发现从初始时刻到 80 小时之间细胞密度稳定地增长, 图 2 为用测试获得的细胞密度和培养时间关系实验数据画成的曲线。对这些实验数据进行回归分析表明细胞密度有如下规律:

$$D = 0.9974 \times 10^5 \times e^{0.021t} \quad (1)$$

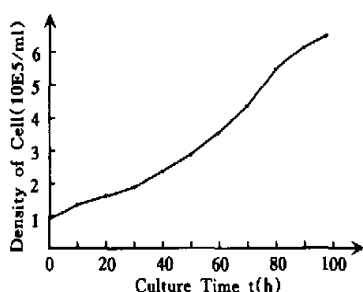


Fig.2 The curve of relationship between the density of cell and cultured time

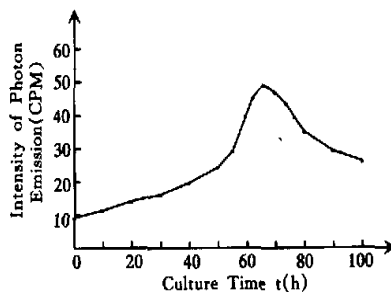


Fig.3 The curve of relationship between intensity of photon emission and cultured time

这个公式中密度 D 的单位为个/毫升, 培养时间 t 的单位为小时, 相关系数高达 0.9997。由此可见, 细胞密度随时间增加呈指数规律增长, 80 小时后, 细胞密度增长减缓, 这可能是培养液中的营养物质随着细胞密度增加而逐步减少, 细胞的分裂增殖也逐渐变慢。把不同培养时间(对应不同密度)的 HL60 细胞放进图 1 所示的测试系统中, 测定它们的辐射强度(光子数/分钟), 多次测试获得的平均数据显示在图 3 中, 其中横坐标为培养时间, 纵坐标为光子辐射强度。从图中可见, HL60 细胞的超微弱光子辐射大约在培养开始后 66 小时即达到峰值, 随后迅速下降。在到达峰值前, HL60 细胞辐射的光子数缓慢增长。将峰值前的数据进行回归分析发现, 光子辐射强度 IPE(单位为 CPM: 光子数/分钟)与培养时间 t 同样有自然对数关系, 它们可以表示为:

$$I_{PE} = 8.4 * e^{0.024t} \quad (2)$$

相关系数 $r = 0.984$ 。由上分析可见, 在辐射光子数到达峰值(培养时间在 66 小时)前随着培养时间的增加, 整个 HL60 细胞悬浮溶液的超微弱光子辐射同步增加, 这表明每个 HL60 细胞均有稳定的光子数发射; 细胞的超微弱光子辐射强度(光子数/分钟)的变化恰当地反映了细胞增殖规律; 到达峰值后, 虽然悬浮溶液中细胞密度继续增加, 而辐射的光子数呈下降趋势。这可能是由于细胞的大量增殖导致溶液中细胞密度过高, 许多细胞聚集成团, 使溶液的通透性受到影响, 对细胞发射的光子有一定的吸收作用; 另外由于溶液内细胞密度过高, 影响到细胞的呼吸和营养代谢等因素, 其综合作用表现为细胞辐射的光子数随培养时间稳定地减弱。但光子辐射强度在培养 60 多小时就减小, 正是提前预示了细胞增殖的减慢。

2.2 经 β 肿瘤坏死因子(TNF- β)处理后的 HL60 细胞辐射的超微弱光子的测定

将 HL60 细胞的悬浮溶液分别用 $400\mu\text{/ml}$, $800\mu\text{/ml}$ 的 β 肿瘤坏死因子(TNF- β)处理, 同时实验设立不含 TNF- β 药物的对照组, 用 PIAS 测量不同实验组的 HL60 细胞辐射的超微弱光子。结果发现, TNF- β 处理组的 HL60 细胞辐射的超微弱光子数均有显著增加, 与无药对照组的超微弱光子数相比有显著性差异。图 4 为不同密度无药组和不同剂量用药物组细胞辐射的超微弱光子数据曲线。由图可见, 在 HL60 细胞低密度时, 高剂量组辐射更强的超微弱光子, 而在高密度时, 药物剂量的不同产生的效果差异不明显。或许是由于细胞密度过高而聚集成团, 以及部分细胞在药物作用下凋

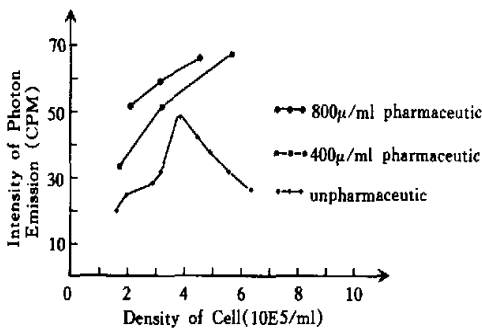


Fig. 4 The intensity curve of ultra-weak photon emission for the different density of unpharmaceutical group and different dose of pharmaceutical group of HL60 cells

亡, 吸收和散射了其他细胞辐射的超微弱光子的原因。HL60 细胞悬浮溶液在加 β 肿瘤坏死因子 24 小时后, 溶液呈现典型凋亡细胞形态学变化。

通过以上实验可见, β 肿瘤坏死因子在杀伤 HL60 肿瘤细胞时会使细胞辐射的生物超微弱光子数有显著增加, 联系到植物种子有丝分裂时生物超微弱光子辐射增强的事实^[5,6], 如果说有丝分裂是细胞数量的增加, 而细胞凋亡即是细胞数量的减少, 似乎生物光子的增强揭示了细胞数量变化的过程。

参考文献:

- [1] Chwirut WB, Cilento G, Gurwitsch AA, et al. Biophoton emission[J]. *Experientia*, 1988,44(7):543-630.
- [2] Niggli HJ. Biophoton Reemission Studies in Carcinogenic Mouse Melanoma cell [A].In: Popp FA, Li KH, Gu Q. Recent Advances in Biophoton Research and its Applications[C]. Singapore: World Scientific Publishing, 1992.231-258.
- [3] Schamhart DHJ, van Wijk R. Photon Emission and the degree of differentiation[A].In: Trzebiatowska B J. Photon Emission from Biological Systems[C]. Singapore: World Scientific Publishing, 1987.137-152.
- [4] Tsuchiya Y, et al. Photon-counting image acquisition system and its application[J]. *Journal of Imaging Technology*, 1985,11(5):215-220.
- [5] 周禾,杨起简. 不同类型植物种子在萌发期的超弱发光研究[J]. *生物物理学报*,1996,12(1):157-160.
- [6] 鲍超. 水稻种子萌发期超微弱光子计数成像研究[J]. *生物物理学报*,1998,14(4):772-776.

A STUDY OF ULTRA - WEAK BIOPHOTON EMISSION OF MYELOGENOUS LEUKEMIA CELL HL60

BAO Chao, LIU Hua-fen

(National Key Laboratory of Modern Optical Instrumentation International Photonics Laboratory,
Zhejiang University, Hangzhou 310027, China)

Abstract: A preliminary study of ultra - weak biophoton emission of myelogenous Leukemia cell HL60 was made by using Photon - counting Imaging Acquisition System. The relationship between the intensity of biophoton, cultured time and cell density was acquired. The result shows that biophotonic intensity of HL60 cell reflect the basic regularity of cell breeding and metabolism. In order to explore the biophotonic effects from the interacting between the cancer cell and the anticarcinogenic drug, the suspension of HL60 cell was treated with TNF - β . A more intense biophoton emission than control group without TNF - β was observed.

Key Words: Ultra - weak biophoton emission; Photon - counting Imaging; Acquisition System; Myelogenous leukemia cell HL60