

文章编号:1000-582X(2004)01-0112-04

生物细胞在极低频电磁场中的效应*

刘 歆¹, 祝 建¹, 钟季康²

(1. 同济大学生命与医学工程学院, 上海 200092; 2. 同济大学理学院, 上海 200092)

摘 要:探讨极低频电磁场对洋葱根尖细胞及人肺成纤维细胞生物学特性的影响。对生长发育过程中洋葱根和体外培养的人肺成纤维细胞进行 50 Hz, 3 mT 极低频电磁场 (ELFMFS) 处理, 对洋葱根的外部形态及细胞有丝分裂指数、染色体形态等进行观察分析, 对人肺成纤维细胞进行增殖量比较及凋亡分析。结果表明: 50 Hz, 3 mT ELFMFS 在 20 °C 时对洋葱根的生长量无明显影响, 但在 30 °C 下对洋葱根的生长起抑制作用且可导致根生长异常; 正常培养条件下, ELFMFS 照射组人肺成纤维细胞生长受到抑制, 有细胞凋亡发生。ELFMFS 与温度的叠加效应 (50 Hz, 3 mT, 30 °C) 可对洋葱根的生长及根尖细胞的增殖产生重要作用, ELFMFS 对人肺成纤维细胞的生长起抑制作用并可引起细胞凋亡。

关键词:极低频电磁场; 细胞; 生物效应

中图分类号: R318.03

文献标识码: A

随着现代科技的飞速发展, 在输变电路、电磁机车、移动电话以及各式各样的电子产品得到大量普及和广泛应用的同时, 电磁场对生物体的作用越来越受到人们的普遍关注。近年来国内外有关电磁场对生物体各种生理活动影响的研究不断深入, 但由于实验方法、实验对象和检测标准的各不相同, 得出的结论也各不相同^[1]。各国科研人员就这个有争议的问题进行了大量的实验, 在体外模拟电磁场环境, 从细胞水平及分子生物学水平研究了其对生物体的影响, 结果发现电磁场对细胞的结构和功能以及增殖均有不同程度的影响, 但这些影响与电磁场的类型、强度、作用方式、作用时间以及被作用生物体本身的生物学特性有密切的关系^[2]。

极低频电磁场 (Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields, 简称 ELFMFS) 指频率在 100 Hz 以下的电磁场, 工业生产、高压输电线以及日常生活中家用电器产生的工频磁场 (50 ~ 60 Hz) 就属于此频率范围, 流行病学调查表明其与人类多种肿瘤性疾病的发生有一定的相关性, 目前已成为国内外生物磁学领域研究的热点, 大量报道认为低频磁场与生物细胞增殖异常、染色体畸变有关。为了研究极低频电磁场对生

物体的影响, 本实验从细胞生物学的角度, 以工频磁场的细胞生物效应为重点, 采用特定的磁场形式对特定种类的动植物细胞进行研究, 就其对生物体可能的影响及机制作初步的研究, 为今后更好地预防电磁辐射, 降低辐射性疾病的发生有极为重要的理论和实际意义。

1 材料与方法

1.1 磁场发生装置

采用一个直径 15 cm, 高 23 cm 的圆柱体螺线管, 在两端施加 50 V 交变工频电压, 以产生磁场, 将实验对象置于螺线管内培养一定时间, 受照层面场强 $B = 3 \times 10^{-3}$ T, 可调节位置使受试细胞所受磁场均匀, 并控制螺线管内的温度以保证细胞、组织正常生长。

1.2 材料和方法

实验采用洋葱根及根尖分生组织细胞作为研究极低频电磁场对植物组织和细胞的影响。将洋葱根置于 20 °C 水中培养, 通过设置实验组和对照组, 观察根的生长量、根与侧根的生长情况及根尖细胞染色体形态。

用人肺成纤维细胞作为研究极低频电磁场对动物细胞的影响。实验细胞置于 CO₂ 培养箱中培养, 温度

* 收稿日期: 2003-09-02

基金项目: 铁道部专项研究基金 B99(93)

作者简介: 刘歆 (1976-), 女, 辽宁大连人, 同济大学硕士研究生, 从事电磁场生物效应的研究。

为 37 ℃。收集对数生长期细胞,用台盼兰染色,记录细胞生长状况并进行实验组和对照组的比较。收集细胞悬液,加入荧光染液丫啶橙(Acridine Orange AO, Fluka),荧光显微镜下观察细胞凋亡。

2 结 果

2.1 洋葱根的外观形态观察

不同温度下洋葱根的生长速度不同。20 ℃时,磁场处理组表现为根生长茂密,速度加快,根直且细长,对照组根生长较实验组略慢,但统计上未见显著差异,二者在形态上也没有明显的差别(见图 1 中)。30 ℃时,磁场处理组(见图 1 左)生长较慢但比对照组(见图 1 右)生长快,且整个根部变粗变黄,根尖末梢向上卷曲或横向弯曲,导致根的生长方向改变。对照组则表现为根的生长较慢并且根也变粗变黄尖部膨大,但很少弯曲。实验表明在相同磁场强度,不同温度下,根尖及根的生长速度明显不同(见表 1)。此外,在一组实验中我们观察到 20 ℃下实验组与对照组侧根生长情况也不同。对照组的 10 条根中有 7 条长出侧根,而实验组 10 条根中只有 1 条有侧根(见图 2 左)。

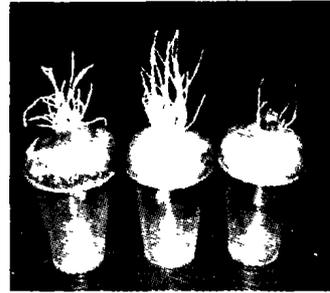


图 1 洋葱根外部形态观察



图 2 洋葱侧根生长情况

2.2 洋葱根的生长量比较

表 1 记录了实验组与对照组洋葱根平均增长长度的数值变化,用以反映洋葱根的生长量改变。

表 1 实验组与对照组洋葱根的平均增长长度

组 别	t/h					cm
	48	72	96	120	144	
20 ℃对照组	0.99 ± 0.63	1.18 ± 0.64	1.18 ± 0.47	1.65 ± 0.65	0.95 ± 0.33	
20 ℃照射组	0.92 ± 0.11	1.46 ± 0.28	1.44 ± 0.76	1.43 ± 0.67	1.28 ± 0.21	
30 ℃对照组	0.29 ± 0.16*	0.20 ± 0.09*	0.21 ± 0.15*	0.12 ± 0.07*	0.26 ± 0.15*	
30 ℃照射组	0.75 ± 0.54**	0.38 ± 0.66**	0.10 ± 0.07**	0.16 ± 0.11**	0.27 ± 0.20**	

说明: * 与 20 ℃ 对照组相比 $P < 0.01$; ** 与 20 ℃ 实验组相比 $P < 0.01$

2.3 洋葱根尖细胞有丝分裂指数

细胞有丝分裂指数可用于研究磁场和温度对细胞增殖的影响。如表 2 所示。20 ℃下,磁场处理组与对照组相比根尖细胞有丝分裂指数有显著差异,30 ℃实验组与 20 ℃实验组相比也有明显差异,且总的变化趋势与根长的变化基本一致。

表 2 实验组与对照组洋葱根尖细胞的有丝分裂指数 %

组 别	t/h		
	24	48	72
20 ℃对照组	1.56 ± 0.73*	1.59 ± 1.02*	1.66 ± 0.85*
20 ℃实验组	1.74 ± 1.16	2.03 ± 0.75	2.36 ± 1.15
30 ℃对照组	1.22 ± 0.98	0.44 ± 0.93	0.72 ± 0.70
30 ℃实验组	1.39 ± 1.59**	0.70 ± 0.70**	0.73 ± 0.71**

说明: * 与 20 ℃ 实验组相比 $P < 0.05$; ** 与 20 ℃ 实验组相比 $P < 0.01$

2.4 染色体的变化

在实验中发现,30 ℃下磁场处理组中的有丝分裂指数明显小于 20 ℃处理组,且染色体出现肿胀、分散等异常情况,前期染色体杂乱、分散地排列,中期染色体不能正常地排列在赤道面上,形成赤道板。一些细胞还伴随有染色体的缺失和断裂(见图 3)。而在 20 ℃磁场处理组和对照组中却未发现有此现象,细胞染色体前、中、后、末各期均呈正常典型的分裂形态(见图 4)。

2.5 人肺成纤维细胞的增殖

在 50 Hz, 3 mT 磁场中照射 72 h 后,用台盼兰染色进行细胞计数及死亡率统计,重复实验 3 次以上,对照组细胞平均总数为 $(10.075 \pm 3.56) \times 10^5$,平均死亡率

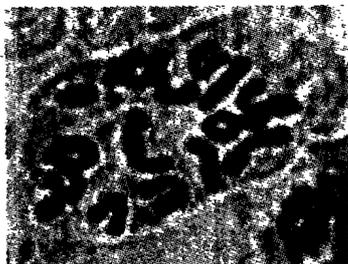


图3 磁场处理组细胞分裂中期染色体

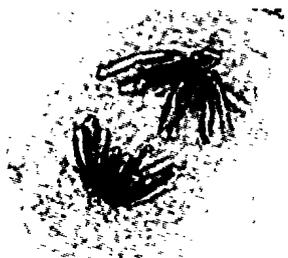


图4 正常细胞分裂中期染色体

为 $(2.54 \pm 0.02)\%$, 磁场处理组细胞平均总数为 $(2.931 \pm 0.28) \times 10^5$, 平均死亡率为 $(5.03 \pm 0.01)\%$, 与对照组相比有显著性差异, $P < 0.05$ 。

2.6 细胞凋亡荧光染色观察

荧光显微镜下可见 AO 染色的磁场处理组人肺成纤维细胞出现凋亡现象, 胞核固缩呈新月状贴近细胞膜呈致密浓染, 染色质高度浓缩凝聚, 严重时可见细胞形成凋亡小体 (apoptosis bodies), 见图 5。

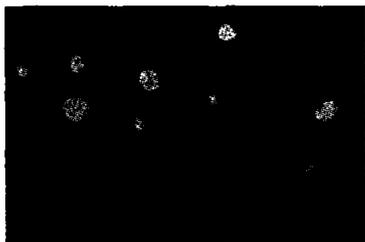


图5 磁场处理组细胞凋亡观察

3 讨 论

从以上实验结果分析可看出, $20\text{ }^\circ\text{C}$ 磁场组根的生长比对照组要快, 但二者的差异并不明显, 同样 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 磁场组和对照组的比较也如此。由此可以看出 50 Hz , 3 mT 的磁场虽然对洋葱根的生长和根尖细胞的增殖有所影响, 但并不十分显著。在相同磁场强度 (50 Hz , 3 mT) 作用下, $30\text{ }^\circ\text{C}$ 磁场组比 $20\text{ }^\circ\text{C}$ 磁场组洋葱根的生长速度慢, 并且 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 对照组同样比 $20\text{ }^\circ\text{C}$ 对照组根的生长要慢。通常 $15\text{ }^\circ\text{C} \sim 25\text{ }^\circ\text{C}$ 是洋葱根生长的最佳温度范围。本实验中可以看出无论有无磁场照射, $30\text{ }^\circ\text{C}$ 下洋葱根的生长速度都较慢且有丝分裂指数较低, 因此可以认为 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 的温度对根的生长及根尖细胞的分裂

有一定的抑制作用。这说明温度是影响细胞增殖的一个重要因素。

从根尖及细胞染色体形态方面看, $30\text{ }^\circ\text{C}$ 磁场组出现根部变粗变黄, 向上卷曲或横向弯曲, 尖部膨大, 压片可见染色体有分散、缺失等异常, 中期染色体不能正常排列在赤道板上而是散布于细胞中。而同温对照组根部变粗变黄, 却不出现卷曲生长, 也未见染色体异常。 $20\text{ }^\circ\text{C}$ 磁场实验组根部生长快而且茂密, 根直且细长, 未见染色体异常情况。这说明单一的温度效应 ($20\text{ }^\circ\text{C}$, $30\text{ }^\circ\text{C}$) 或磁场作用都不足以引起根尖生长方向的改变以及细胞染色体的变化, 只有当磁场和温度叠加作用达到一定程度时才会引起细胞染色体出现异常, 并且出现根的生长弯曲^[3]。在以往所报道的研究中很少提及磁场照射中的温度效应问题, 关于磁场和温度叠加可能引起细胞染色体异常也未见报道。Zhao 和 Johnson 等^[4] 曾研究过暴露于 60 Hz , $0.1 \sim 0.8\text{ mT}$ 的磁场后 INIT/10T1/2 细胞染色体 DNA 合成增加究竟是由于磁场效应还是热效应, 但结果表明实验组和对照组细胞 DNA 合成增加部分归结于环境温度的升高, 因此由于一些细胞对环境温度细微的升高十分敏感。Hermann 认为目前在对电磁场细胞生物学效应的研究中应当考虑电磁场和热干扰对于场效应的影响^[1], 因此在研究和解释磁场生物效应机理时应十分谨慎。

此外, 表 1 中可见根的平均增长量在 96 h 内表现为稳定或增加, 而在 $96 \sim 120\text{ h}$ 内有所减少, 可能是因为细胞有丝分裂减少造成细胞数目减少因而增长量也相应减少。以往报道认为磁场效应可以刺激植物根和胚轴的生长, 增加细胞分裂指数^[5], 有刺激生根和提高根系活力的作用, 在后续实验中发现 $20\text{ }^\circ\text{C}$ 下磁场照射组与对照组侧根生长有明显差异, 对照组 10 条根有 7 条长出侧根而照射组 10 条根只有 1 条长出侧根, 由于侧根的生长存在洋葱个体差异, 并非所有的洋葱都会长出侧根, 因此实验缺乏可重复性, 但是同样一个洋葱受磁场照射的一半却出现侧根生长严重受抑制的现象提示我们磁场照射有可能抑制植物根系的生长, 有待于以后进行更深入的实验如组织切片研究来证实。

本实验对经 50 Hz , 3 mT ELFMFS 照射 72 h 后的人肺成纤维细胞进行计数观察, 发现 ELFMFS 可明显抑制细胞的增殖 ($P < 0.05$), 并且荧光显微镜下观察发现受 ELFMFS 照射的细胞出现凋亡现象, 表现为细胞核浓缩呈新月状贴近细胞膜, 但细胞膜保持完整。流行病学调查表明 ELFMFS 与某些人类肿瘤性疾病的发生具有相关性, 国内外大量研究也发现 ELFMFS 可

引起细胞凋亡,因此推测 ELFMFS 有可能作为一种促肿瘤因子通过干扰细胞正常凋亡途径来影响机体,但也有些学者认为这种促凋亡现象并不确定。细胞凋亡是一个需要基因表达和蛋白质合成的主动过程,照射强度超过一定限度时可以破坏基因转录或直接破坏膜的完整性,使细胞不能维持细胞内外的离子梯度,从而细胞凋亡的环路不能启动^[6]。由磁场照射诱发的细胞凋亡是一个及其复杂的生物学过程,涉及基因的活化、转录、蛋白质修饰、酶的激活及离子浓度的改变等诸多因素。一些基因的活化和调控对辐射诱导的细胞凋亡有重要作用, Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 依赖性核酸内切酶的活性也与细胞凋亡的发生有关^[7]。因此细胞凋亡可作为检测辐射对机体作用的一个有效的指标,以后的实验中,我们将进一步进行细胞 DNA 分析以更深入的研究磁场照射对细胞凋亡的影响。

本实验中 3 mT 工频磁场对于洋葱根尖细胞生长起促进作用,对人肺成纤维细胞增殖却起抑制作用,可能是因为极低频磁场对植物细胞和动物细胞的作用不同,并且洋葱细胞是在活体组织下进行处理研究,而人肺成纤维细胞是体外培养处理,因此在相同磁场强度下得出的结论并不相同。Hermann^[1]总结了目前对弱电磁场的细胞生物学效应研究方面存在的一些问题,他认为各个独立研究过程中方法学适合度的差异、磁通量值间的差异、辐射时间的确定以及测量参数范围太过狭窄等是导致研究结果不一致的主要因素。细胞

的起源、健康状态、辐射敏感性以及场强窗效应和时间窗效应、检测手段等诸多因素均可影响实验结果,在以后的实验中应充分考虑上述诸多因素对实验的影响,不断地进行改进,以期探索出磁场作用强度和时间参数的临界范围,为科学防护提供依据。

参考文献:

- [1] HERMANN B. Problems of electromagnetic field effects in cell biology[J]. *Bioelectrochem and Bioenerg*, 1999, 48: 355-360.
- [2] 刘歆,祝建. 电磁场细胞生物效应及机制的研究进展[J]. *同济大学学报医学版*, 2001, 22(5): 89-92.
- [3] 刘歆,祝建. 低频磁场对洋葱根的生物学效应[J]. *同济大学学报医学版*, 2002, 23(2): 110-113.
- [4] ZHAO Y L, JOHNSON P G, JAHREIS G P, et al. Increased DNA synthesis in INIT/10T1/2 cells after exposure to a 60 Hz magnetic field: a magnetic field or a thermal effect[J]. *Radiation Research*, 1999, 151: 201-208.
- [5] 弥晓菊,马跃,郭桂云. 磁场处理番茄种子对其生理生化影响的研究[J]. *植物研究*, 1999, 19(1): 168-74.
- [6] NOMURA T. Programmed cell death in whole body and organ systems by low dose radiation[J]. *R radiat Res*, 1992, 23: 109.
- [7] 赵卫红,寿好长,阎福岭. 细胞凋亡[M]. 郑州:河南医科大学出版社,1997.

The Biological Effects of Low Frequency Electromagnetic Fields on Cells

LIU Xin¹, ZHU Jian¹, ZHONG Ji-kang²

(1. School of Life Science and Technology, Tongji University, Shanghai 200092, China;

2. School of Science, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract: The biological effects of ELFMES including proliferation and apoptosis of cells as well as the damage of DNA are initially evaluated with the treatment of plant cells and human pulmonary fibroblasts in low frequency magnetic fields with certain intensity and different time intervals in vitro. Cell culture, counting in vitro, fluorescent dyeing analysis and single cell gel electrophoresis are adopted. The results demonstrate that the electromagnetic field with the intensity of 3mT can affect the proliferation and apoptosis of cells significantly.

Key words: extremely low frequency electromagnetic fields; human pulmonary fibroblasts; biological effects

(编辑 李胜春)