

# 氮激光照射对肿瘤动物的免疫和 体外细胞培养效应的观察

刘德民 韦秀冰等

(上海第一医学院激光医学研究室)

杨福寿

(上海海员医院)

章锦鸿 许达文

(上海市激光技术研究所)

杨金龙

(上海市药物研究所)

## Immunizing effect of $N_2$ laser irradiation on rats and the effect of $N_2$ laser irradiation on cancer cell culture of mice

*Liu Demin Wei Xiubing et al.*

(Dept. of Laser Medical Research, Shanghai First Medical College)

*Yang Fushou*

(Seamen's Hospital, Shanghai)

*Zhang Jinhong Xu Dawen*

(Institute of Laser Technology, Shanghai)

*Yang Chuanlong*

(Institute of Pharmacology, Shanghai)

### Abstract

Experimental results of nitrogen molecular laser irradiation on tumors found in several groups of white rats, the observation of changes in their main internal organs and immunized organs, and the pathological changes in their tumors are described. Investigations in cancer cell culture after the application of nitrogen molecular laser irradiation on sarcomas S180 of white mice is also reported. These indicate that the irradiation not only strengthen the immunity of the body, but also arrest the growth of tumors.

These show that the irradiation may be a comparatively ideal unspecific origin of stimulation to step up the organic immunization and nitrogen molecular laser may be used as a new auxiliary means to cure malignant tumors.

收稿日期: 1979年11月15日。

激光技术的医学应用在国内外已普遍开展, 治疗肿瘤的实验以及激光照射治疗肿瘤后体内免疫过程的变化, 已看到了初步的结果<sup>[1~2]</sup>。

1978年上海海员医院用波长3371埃的氮激光对肿瘤小鼠的免疫器官进行照射, 结果表明氮激光可以作为提高机体免疫力的非特异性刺激源。

本实验的目的是为寻找一种合适的激光波长和能量, 对机体的作用既能提高免疫力, 又能在局部照射中对癌细胞的生长无刺激作用。这就可能为临床治疗肿瘤探索一条新的辅助手段。

## 一、氮激光照射大白鼠瓦克氏癌肉瘤的免疫效应

### 1. 实验材料和方法

氮分子激光器: 重复频率3次/秒, 输出能量2毫焦耳, 波长为3371埃。

大白鼠接种Walkers癌肉瘤, 各取5只作为实验组和对照组, 正常组5只不接种肿瘤。

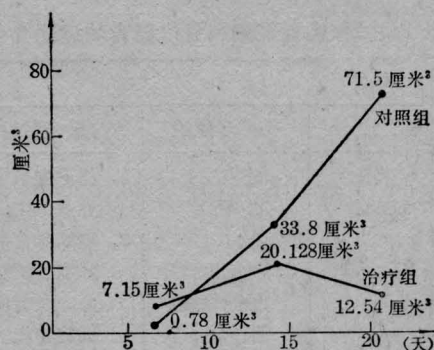
接种肿瘤的大白鼠1周后, 在肿瘤区和周围, 用5%硫化钠脱毛。对照组、正常组同样处理。实验组用上述氮激光进行照射, 光斑面积 $2 \times 4$ 厘米<sup>2</sup>, 隔日照射1次, 共照射2次, 第1次为20分钟; 第2次40分钟, 总剂量21.6焦耳。

大白鼠从开始照射起, 每周称体重一次, 并用圆规测量肿瘤大小。二周后将全部成活的大白鼠剖杀, 从鼠的脾、胸腺、淋巴结、肿瘤组织均取活样, 分别作组织切片及特殊染色观察免疫状态。

### 2. 实验结果

(1) 由表1可见对照组与实验组接种Walkers癌肉瘤1周后, 对照组平均体积为0.78厘米<sup>3</sup>, 而实验组平均肿瘤体积为7.15厘米<sup>3</sup>。两者之间的差别是由随机分组造成

表1 实验大白鼠肿瘤体积增大情况(平均值)



的。但实验组在接受氮激光照射后7天, 瘤体生长速度比对照组缓慢。二周后, 这种差别更为显著。用图形表示可见对照组瘤体生长直线上升。而实验组在第一周出现一个峰值后即逐步下降。表1说明氮分子激光照射对大白鼠癌肉瘤有明显的抑制作用。

(2) 表2说明大白鼠在接种肿瘤后体重增长比正常组为慢, 主要由于瘤块的增长影响了大白鼠本身的体重增长。三周后二者间的平均体重, 实验组略高于对照组, 可以推想由于肿瘤受到激光的抑制使体重略有增长。

表2 实验大白鼠体重变化情况

组别	动物数	接种前平均体重	接种后平均体重		
			一周	二周	三周
正常组	5	100~110克	219克	226克	256克
对照组	5	100~110克	163克	169克	137克
治疗组	5	100~110克	177克	171克	155克

(3) 从各组病理切片所示, 实验组淋巴结变化显示囊依赖区、胸腺依赖区的淋巴细胞明显增殖, 滤泡生长中心扩大, 甲基绿-派若宁染色显示嗜派若宁免疫母细胞显著增多。治疗组脾脏病理变化显示中央动脉周围小淋巴细胞增殖, 多核巨细胞明显增多。实验组胸腺的改变可见胸腺小体肥大、增多, 胸腺淋巴细胞增殖。以上情况反映了氮激光照射肿瘤组与带瘤对照组相比, 出现了更为明

显的机体应答反应。

表3 大白鼠主要脏器和免疫器官的病理变化

名称	组 别		
	正常组	带瘤对照组	N <sub>2</sub> 激光照射组
淋巴结 (颈部)	未见明显改变	1. 滤泡生长中心轻度增生; 2. 毛细血管后静脉轻度扩张充血; 3. 皮质深区小淋巴细胞有增生。	1. 滤泡生长中心显著增生; 2. 毛细血管后静脉高度扩张充血。血管内皮细胞肿胀。 3. 皮质深区小淋巴细胞显著增殖。
脾	1. 脾结构无明显改变; 2. 巨核细胞少量游出。	1. 中央动脉周围有淋巴细胞增多的变化; 2. 多核细胞中等量游出。	1. 中央动脉周围小淋巴细胞显著增殖; 2. 多核巨细胞成倍游出。平均2~2.5/H·P。
胸腺	未见明显改变	1. 与正常组织相比,无明显差别; 2. 个别大鼠胸腺有萎缩现象。	1. 胸腺淋巴细胞增殖。 2. 胸腺小体肥大增多。
肿块	未接种	瘤细胞大小不等。分裂相多见。间质血管丰富。有散在变性坏死区。	瘤细胞大部分变性坏死。3号大鼠肿块消失。切片显示皮下尚能见到少数残留瘤细胞。周围纤维组织包围。有炎症反应。

## 二、讨 论

1. 氮激光照射大白鼠肿瘤,对大白鼠免疫功能的影响。

氮激光作为一种非特异性刺激源,激发了大鼠各免疫器官的变化。这时大鼠淋巴结呈反应性增生,免疫母细胞增殖,脾脏中央动脉周围小淋巴细胞(T细胞)增生,多核巨细胞成倍游出等等。这些现象说明氮激光照射肿瘤组与带瘤对照组相比,机体出现了更为

明显的应答反应,这些反应是有利于宿主的。

2. 氮激光照射对癌细胞的直接抑制作用。

1967年Brown<sup>[3]</sup>及1969年Berns<sup>[4]</sup>曾对正常的体外培养细胞作过类似试验,他们发现紫外激光作用于细胞能明显延迟细胞核分裂的纺锤体形成,并能干扰核酸蛋白质的合成而引起细胞瓦解。他们认为这可能与激光的作用光谱和细胞核酸DNA内某些酶或氨基酸的吸收光谱相似,从而干扰了癌细胞的DNA蛋白质合成,而起到抑制作用。我们推测氮激光对癌细胞的抑制作用机制可能与上述情况相类似。

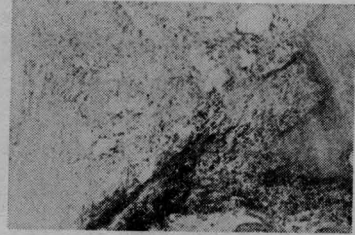


图1 氮激光治疗组3号大鼠皮下肿块基本消失,而代之以成纤维细胞及纤维组织 (10×10)

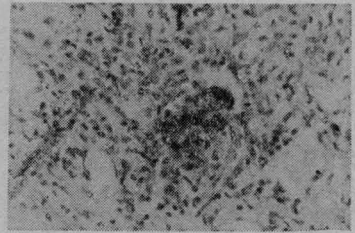


图2 图1皮下组织高倍视野,少数残留肿瘤细胞已为纤维组织包围,周围有炎症反应 (10×45)

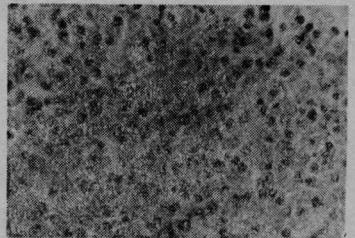


图3 氮激光治疗组大鼠大部分肿块出现瘤细胞核崩解变性坏死变化 (10×45)



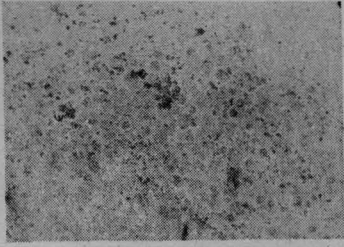


图4 而对照组大鼠肿块, 瘤细胞形态多样化, 部分区域可见变性坏死瘤细胞 (10×45)

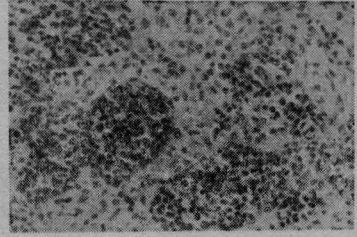


图9 氮激光治疗组淋巴结皮质深区小淋巴细胞增殖, 毛细血管后V扩张充血, 嗜派若宁细胞增多 (10×45)

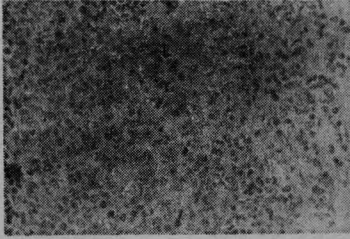


图5 氮激光治疗组大鼠淋巴结生发中心反应性增生, 吞噬活动加强 (10×45)

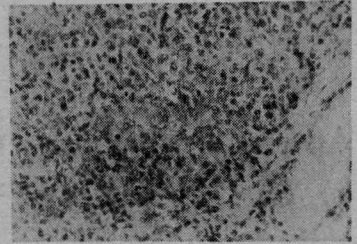


图10 氮激光治疗组大鼠淋巴组织嗜派若宁细胞、免疫母细胞显著增殖 (10×45)

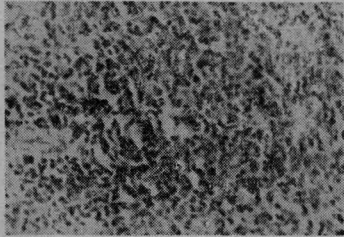


图6 氮激光治疗组脾中央A, 周围淋巴细胞增殖



图11 氮激光照射组(S180肉瘤)体外培养4天, 无细胞生长

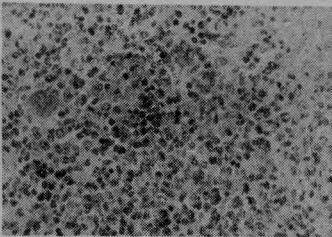


图7 氮激光治疗组大鼠脾多核巨细胞大量游出, 平均2~2.5/H. P. (10×45)

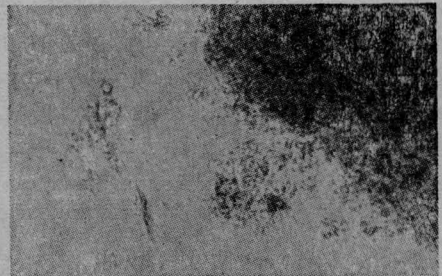


图12 带瘤对照组(未经氮激光照射) S180肉瘤, 体外培养4天, 开始生长 (下转第42页)

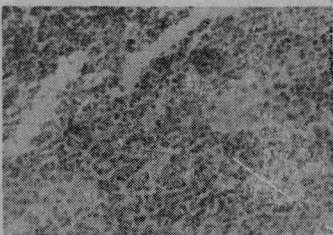


图8 氮激光治疗组大鼠的胸腺变化 (胸腺小体增殖) (10×45)

细胞结构(见图10)。真皮内毛细血管内皮细胞也见凝固性坏死,细胞器消失,胞膜、核膜均破裂,管腔内亦见凝固物质(见图11)。

4. 同样条件下照射30秒后,鸡冠照射点呈浅灰白色斑,斑直径为10毫米,照射点反面鸡冠色较苍白不如正常鲜红,30分后取样,HE染色光镜下可见类似组织损伤,但范围及程度上更重些,深度可达真皮深层,真皮下肌肉组织亦见部分变性,对侧(反面)组织结构变化不明显。

5. 同样条件下照射45秒后,鸡冠上照射点呈灰白色,斑直径仍为10毫米,但照射点对侧(反面)鸡冠表面变白,白斑直径为4毫米,全层鸡冠厚度为10毫米,30分后取样,HE染色光镜下见表皮、真皮、肌肉组织均损伤变性,并达对侧真皮、表皮变性。

### 三、几点体会

1. 在同样条件下YAG激光照射时间与组织损伤有一定关系,照射时间越长,组织损伤面积越大,深度越深,说明了YAG激光照射对组织损伤为一累积效应,可深透入组

织起变化。

2. 到目前为止,激光对生物体的作用机理尚不十分清楚,往往与激光类型、组织和器官的理化与生物学特性(热容量、导热性、光学性质)、光化过程、组织的色素和血管生成程度……均有关,但强激光器的辐射作用显著地表现为激光本身的高温,由于辐射激光被吸收,导致组织变热,组织可出现各种程度热烧伤类型的变化。在这方面已有红宝石激光、钕玻璃激光的报导。我们实验中用YAG激光照射对组织损伤,组织病理变化相似于组织热烧伤浅II°-III°不同程度的变化。

3. YAG激光照射治疗血管瘤除高温因素外,是否还有细胞坏死所形成的细胞内毒素的作用、激光的机械作用、光化过程、组织电离及磁场发生等方面之关系,尚需进一步探讨。

### 参 考 文 献

- [1] E. J. Ritter; *Acta Derm-Venerol*, 1969, **49**, 304~308.
- [2] L. Goldman; *Acta Derm-Venerol*, 1973, **53**, 45.

(上接第47页)



图13 氮激光照射组(S180肉瘤)体外培养12天时,细胞开始生长



图14 带瘤对照组(未经氮激光照射)S180肉瘤体外培养12天,细胞生长旺盛

### 参 考 文 献

- [1] А. П. Скачков и др.; *Вопросы онкологии*, 1977, **23**, №6, 2.

- [2] E. Mester; *Laser*, 1977, **1**, 40~41.
- [3] D. Q. Brown et al.; *Protochem. Photobiol.*, 1967, **6**, 817.
- [4] M. W. Berns et al.; *Nature*, 1969, **221**, 74.