



Fig. 2 Distribution of antibiotic production of variants after irradiation of *S. aureofaciens* by laser

- (a) Irradiation of strain H_{-I} with copper vapor laser for 15 minutes;
 (b) Irradiation of strain H_{-I} with copper vapor laser for 30 minutes;
 (c) Irradiation of strain H_{-I} with copper vapor laser for 60 minutes;
 (d) Natural isolation of strain H_{-I}.

发酵水平(四批平均)比对照提高 12.5%, 发酵罐中最高发酵单位曾达国内先进水平。

参 考 文 献

- 1 吴振倡 *et al.*, 中国激光, 12(11), 654(1985)
- 2 吴振倡 *et al.*, 中国激光, 待发表
- 3 吴振倡 *et al.*, 激光与红外, 20(4), 46(1990)

(收稿日期: 1991 年 8 月 26 日; 修改稿收到日期: 1992 年 1 月 3 日)

氦-氖激光对叙利亚地鼠成纤维细胞 体外诱发恶性转化的研究*

徐 刚 张文庚 陈晓禾 袁淑兰 周宏远

(华西医科大学肿瘤研究所, 610041)

Study on carcinogenic effect of He-Ne laser on Syrian hamster fibroblasts in vitro

Xu Gang, Zhang Wengen, Chen Xiaohu, Yuang Shulan, Zhou Hongyuan

(Institute of Cancer Research, West China University of Medical Sciences, Chengdu)

Abstract: He-Ne laser (35mW) irradiation on Syrian hamster embryo fibroblast cells in vitro cultures directly induced malignant transformation. He-Ne laser transformed cells elicited fibrosarcomas in BALB/c-nu/nu mice and have aneuploid karyotypes.

Key words: He-Ne laser, Syrian hamster embryo fibroblasts, malignant transformation

已有报道^[1~3]说明激光工作者的外周血染色体畸变率及姊妹染色单体交换率明显增高。

*国家自然科学基金资助。

我们于 1985 年也证明^[4], 医用氩-氦激光辐照体外培养的人胚胎成纤维细胞及人鼻咽癌细胞, 有明显促进增殖的作用。为此我们开展了氩-氦激光有无致癌的光生物学效应的研究。

我们于 1985 年^[5]及 1987 年^[6]分别发现, 氩-氦激光辐照对体外培养的 NIH 3T3 成纤维细胞和无自发性转化的叙利亚金地鼠胚胎成纤维细胞均能直接诱发出形态学转化 (morphological transformation), 证明氩-氦激光对体外培养的动物体细胞具有致转化的生物效应。

本研究进一步证实医用氩-氦激光辐照是否有直接的致恶性转化的生物学效应 (biological activity of malignant transformation), 即是否可能具有潜在的致癌性 (carcinogenic potential)。

材 料 和 方 法

1. 细胞培养 靶细胞采用叙利亚金地鼠(成都生物制品研究所繁殖)第 12 天孕鼠胚胎的次代培养细胞, 用含 20% 小牛血清(成都市华西生化制品厂出品)的 DF 培养液(即 DMEM 与 Ham F12 各半, 日本日水制药株式会社出品)培养, 培养液中每毫升另含 EGF 10 ng、青霉素 100 μg 、链霉素 100 μg 。

2. 氩-氦激光辐照 氩-氦激光器为 HN-T4 型, 输出功率为 35 mW, 波长 632.8 nm, 光斑直径 2 mm, 功率密度为 1114.64 mW/cm², 连续输出。靶细胞 3.4×10^5 /25 ml 方瓶接种后第二天起辐照, 距离 20 cm, 细胞面在上, 每次 10 min, 隔日一次, 共 6 次。

3. 化学致癌剂对照用药 用 3-MCA (3-Methyl-Cholanthrene, 3-甲基胆蒎, Fluka, Switzerland 出品)溶于二甲基亚砷(DMSO, 其最终含量小于 0.2%), 于靶细胞接种后第二天加药 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 24 h 后去药。

4. 转化实验分组及方法

(1) 实验分组

激光组 氩-氦激光 35 mW 照射 10 min, 间日一次, 第一批实验共 5 次, 第二批实验共 6 次;

MCA 组 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 处理 24h;

空白对照组 不作任何处理。

以上各组在处理时每组 3 瓶, 在实验全过程中常规每周按 1:2 传代二次。

(2) 转化克隆实验 各组细胞于处理后第 34 天每瓶 25 ml 接种 1×10^3 个细胞于饲养层上(用叙利亚地鼠次代培养细胞, 经 ⁶⁰Co 5500 rad 照射一次, 每瓶接种 1×10^5 个细胞), 每组 8 瓶; 接种后 30 天用甲醇固定, Giemsa 染色, 分别计数转化克隆和正常克隆数, 作组间差异显著性统计学处理。

(3) 转化灶实验 各组细胞于处理后第 36 天接种 $1.1 \sim 1.7 \times 10^5$ /25 ml 瓶, 每组 6 瓶; 接种后第 15 天同上法固定、染色、计转化灶数。

5. 染色体检查:

各组细胞在第一次处理后 57 天作染色体 G 显带常规核型检查, 每组分别观察 12 个核型。

6. 裸鼠体内成瘤实验

取各组第一次处理后第 34 天的细胞 $1 \sim 1.5 \times 10^7 / 0.5 \text{ ml}$, 分别接种于 BALB/c-nu/nu 裸小鼠 (SPF 级) 右腋皮下, 接种后第 77 天处死荷瘤动物, 取肿瘤或局部组织用 10% 弗尔马林固定, 石蜡包埋切片, H.E. 染色, 光镜观察。

结果和讨论

1. 氦-氖激光辐照对叙利亚地鼠成纤维细胞有直接诱发转化的作用

单独应用临床医用氦-氖激光辐照体外培养的地鼠成纤维细胞, 输出功率 35 mW, 经过光导纤维再透过玻璃瓶壁, 每次 10 min, 隔日一次, 两批实验分别共 5 次或 6 次 (临床病人一般每日一次, 每次 10 min, 10 次为一疗程)。结果两批实验都直接诱发出靶细胞的形态学转化, 可以查见清楚的转化灶或转化克隆, 并产生很高的转化率 (见表 1), 证明氦-氖激光对动物体细胞有直接诱发转化的光生物学转化效应。

Table 1 Transforming effects of He-Ne laser on SHE cells

Groups	Number of normal colonies	Number of transformed colonies	Total number of colonies	Efficiency of transformed colonies (%)	Number of flasks with transformed foci
Laser	53	134	187	71.6	6/6
MCA	81	152	235	64.6	5/6
Control	267	28	295	9.4	0/4

注: LA 为激光组, M 为 MCA 组, C 为空白对照组。

本研究应用了两种转化方法, 都产生相当高的转化率, 除了氦-氖激光本身具有较强的转化活性之外, 可能与下述因素有关。靶细胞经激光处理开始, 即按常规定期传代, 始终保持靶细胞旺盛增殖势头; 转化克隆或转化灶实验的靶细胞接种, 一般都在处理开始后第 34 天以后, 实际上至少经过 10 次以上的传代, 对有转化倾向的细胞是选择过程, 对已转化细胞是加速扩增过程。由此, 转化实验中接种的靶细胞, 既经历了较长时间的转化过程, 也经历了多次传代的选择, 所以较我们以前用转化克隆实验所获转化克隆率从 3.7% 上升到本次实验的 71.6%, 明显提高了受试激光的转化效果。但在本研究的克隆法实验中, 未经任何处理的空白对照组, 也出现了很少数量的自发性转化克隆, 这对一般无自发性转化的叙利亚金地鼠胚胎成纤维细胞来说, 是很少见的, 也可能是由于上述实验方法特点造成的; 但转化灶法的实验结果确为阴性。

2. 氦-氖激光转化细胞具有恶性生物学特征

在本研究中, 对形态学转化的细胞进一步进行恶性生物学的鉴定。取处理后第 57 天的细胞作染色体核型检查, 结果氦-氖激光转化细胞大多数为异倍体核型, $4n = 88$, 有多个断裂; 取处理后第 34 天的细胞作 BALB/c-nu/nu 裸小鼠异种移植体内成瘤实验, 结果氦-氖激光转化细胞或化学致癌剂甲基胆蒽转化细胞经接种至裸鼠右腋皮下后, 都能生长成为纤维肉瘤, 而空白对照组细胞被吸收。

综上所述实验结果证明, 氦-氖激光辐照体外培养的地鼠成纤维细胞, 能直接诱发出恶性转化, 转化细胞具有恶性生物学主要特征(见表 2)。

Table 2 Malignant characters of He-Ne laser transformed cells

Groups	Karyotypes	Number of nude mice with tumorigenicity	Pathologic diagnosis of tumor
		Total no. of nude mice tested	
Laser	4n=88	4/4	Fibrosarcoma
MCA	2n=44	2/4	Fibrosarcoma
Control	dead	0/2	Normal tissue

3. 氦-氖激光致癌效应研究的意义

本研究进一步证明了氦-氖激光辐照对体外培养的地鼠成纤维细胞具有直接致恶性转化效应, 从而初步证实氦-氖激光可能与紫外线一样具有潜在的致癌性光生物学效应。我们目前继续应用氦-氖激光辐照体外培养的人胚胎成纤维细胞, 已获得细胞的恶性转化。

本研究工作得到我校附属第一医院激光室韩洪富教授及实验动物中心白绍槐教授的大力帮助, 在此一并致谢。

参 考 文 献

- 1 安徽医学院劳动卫生学教研组, 安徽医学院学报, 16(3), 54(1981)
- 2 李金胜, 激光, 8(11), 62(1981)
- 3 李鸿雁, 周世阳, 中国细胞生物学学会第四次会议论文摘要汇编, 22(1989)
- 4 徐 刚 *et al.*, 四川医学院学报, 16(4), 310~313(1985)
- 5 徐 刚 *et al.*, 四川医学院学报, 16(1), 19~23(1985)
- 6 徐 刚 *et al.*, 华西医科大学学报, 18(3), 238~240(1987)

(收稿日期: 1990年7月20日; 修改稿收到日期: 1990年11月12日)