

文章编号: 0258-7025(2002)04-0381-02

激光照射对荷瘤小鼠淋巴细胞活性的影响

高美华, 李武修, 冯献启, 宫照龙, 王海燕, 胡涛

(山东滨州医学院, 山东 滨州 256603)

提要 采用 MTT 还原分析法研究氦氖激光照射对 SP2/O 骨髓瘤小鼠脾细胞、胸腺细胞的增殖活性的影响。结果表明激光具有增强荷瘤小鼠免疫细胞活性的功能。激光组与对照组相比 $P < 0.01$, 差异明显。由此证明氦氖激光照射免疫器官区(脾区)具有活化淋巴细胞, 促进淋巴细胞 DNA 合成, 提高机体免疫力的作用。

关键词 激光, 骨髓瘤, 脾细胞, 胸腺细胞, 小鼠, 增殖

中图分类号 R 730.57 文献标识码 A

Influence of Laser Irradiation on Lymphocyte Activation with Tumor Mice

GAO Mei-hua, LI Wu-xiu, FENG Xian-qi, GONG Zhao-long, WANG Hai-yan, HU Tao

(Shandong Binzhou Medical College, Binzhou 256603)

Abstract Using MTT to study the influence of He-Ne laser irradiation on proliferation of spleen cell and thymus cell with SP2/O marrow tumour mice. The result shows that the laser can enhance the activation of immune cell, as compared with the control group ($P < 0.01$). This demonstrates that laser irradiating immune organ region has enhanced lymphocyte activation, promoted DNA duplication and increased immune function.

Key words laser, marrow tumour, spleen cell, thymus cell, mice, proliferation

1 引言

He-Ne 激光治疗仪是近年来用于临床疾病治疗的新型仪器,取得了显著的治疗效果^[1]。目前对激光的研究主要集中在临床效果的观察,而对激光生物学的作用研究甚少,本研究的主要目的是探讨激光的免疫效应,从细胞及分子水平探讨激光对免疫细胞活性的影响。

2 材料和方法

2.1 动物分组

取 BALB/C 小鼠 24 只,体重 18~20 g,雌雄各半,每只小鼠背部皮下注射 SP2/O 骨髓瘤细胞 3×10^6 ,接种瘤细胞前用脱毛剂将小鼠背部毛发脱净。接种瘤细胞后 24 小时将其分为 3 组。

I 组:对照组,仅致瘤而不进行激光治疗。

II 组:隔日激光组,接种瘤细胞后 24 小时,采用

HNZSQ-II 型氦氖激光照射器原束照射脾区,输出功率 24 mW,能量密度 76.43 W/cm^2 ,照射距离 50 cm,光斑直径 0.5 cm,照射时间 10 min/次,隔日照射 1 次,15 日为一疗程。

III 组:连续激光照射组,激光照射方法、部位、剂量同 II 组,每日照射 1 次,连续照射 15 次为一疗程。

实验第 16 日处死小鼠,无菌操作取出脾脏及胸腺组织,进行免疫检测。

2.2 免疫细胞活性检测

采用 MTT 还原分析法^[2]。将脾脏和胸腺分别制成细胞悬液,用 1640 营养液洗三次,将细胞配成 $5 \times 10^6/\text{mL}$,取 $100 \mu\text{L}$ (含 5×10^5 /细胞)细胞加入 96 孔培养板中,每孔加入 ConA $20 \mu\text{L}$ (浓度 $5 \mu\text{g/mL}$), 37°C 5% CO_2 培养箱中培养 48 h,收获前 5 h 掺入 MTT $50 \mu\text{g}/\text{孔}$,培养结束时,低温离心 1000 r/min ,弃上清,加入二甲亚砜 $150 \mu\text{L}$,振荡 10 min,490 nm 处测 OD 值,作为脾细胞、胸腺细胞的增殖反应。

收稿日期 2000-05-15;收到修改稿日期 2001-04-02

作者简介:高美华,女,免疫学科主任,教授,2000年12月从美国哈佛大学留学回国,现在青岛大学医学院免疫室工作。重点进行激光免疫效应及免疫基因研究。

3 结 果

表 1 显示 He-Ne 激光照射具有增强荷瘤小鼠胸腺细胞增殖活性的作用。与对照组相比 $P < 0.01$, 差异明显。尤其连续激光照射组作用更为显著, 由此证明激光具有增强 T 细胞活性的功能。表 2 显示 He-Ne 激光照射具有促进脾细胞增殖的作用, II, III

表 1 He-Ne 激光照射对荷瘤小鼠胸腺细胞增殖反应的影响

Table 1 Effect of He-Ne laser irradiation on Thymus cell proliferation

Group	n	Irradiation number of times	Effect of thymus proliferation (OD)
Control (I)	16	0	0.203 ± 0.018
Every other day laser group (II)	16	7	0.576 ± 0.025 *
Every day laser group (III)	16	14	0.689 ± 0.025 *

* $P < 0.01$

表 2 He-Ne 激光照射对荷瘤小鼠脾细胞增殖活性的影响

Table 2 Influence of He-Ne laser on spleen cell proliferation

Group	n	Irradiation methods	Spleen cell proliferation (OD)
I	16	0	0.435 ± 0.024
II	16	Every other day	0.801 ± 0.032 *
III	16	Every day	0.952 ± 0.029 *

* $P < 0.01$

表 3 He-Ne 激光照射对胸腺细胞及脾细胞数量的影响

Table 3 Effect of thymus cell and spleen cell number by He-Ne laser

Group	Spleen cell number	Thymus cell number
I	1.69×10^8	2.23×10^8
II	2.74×10^8 *	2.96×10^8 *
III	2.85×10^8 *	3.15×10^8 *

* $P < 0.01$

表 4 He-Ne 激光照射对胸腺、脾脏重量的影响

Table 4 Effect of He-Ne laser irradiation on weight of thymus and spleen

Group	Weight of thymus/g	Weight of spleen/g
I	0.192 ± 0.003	1.274 ± 0.17
II	0.221 ± 0.002 *	1.886 ± 0.127 * *
III	0.238 ± 0.003 *	2.124 ± 0.218 *

* $P < 0.01$, * * $P < 0.05$

4 讨 论

胸腺细胞(T 细胞)和脾细胞(B 细胞)是体内重要的免疫活性细胞。众所周知,带瘤机体免疫细胞(T, B 细胞)活性降低,因此寻找有效的免疫细胞增

组与 I 组相比 $P < 0.01$, 差异非常明显。表 3 显示 He-Ne 激光照射具有促进胸腺及脾细胞增殖的作用。激光组(II, III)与对照组(I)相比 $P < 0.01$, $P < 0.05$, 差异明显。表 4 显示 He-Ne 激光照射组胸腺及脾脏重量明显高于对照组, $P < 0.01$, $P < 0.05$ 。

强剂是治疗肿瘤的关键。本研究是采用对人无害,病人无痛苦的 He-Ne 激光照射免疫器官区,以探讨激光的免疫增强效应。研究结果充分证明 He-Ne 激光具有增强胸腺细胞及脾细胞活性的作用。激光组(II, III)小鼠脾脏及胸腺的重量、胸腺及脾细胞总数,胸腺细胞及脾细胞的增殖活性明显高于对照组(I)组间比较 $P < 0.01$, 差异非常显著。

He-Ne 激光照射能增强免疫细胞活性的机理是: He-Ne 激光具有弱的光、热、磁、压效应^[3]。免疫细胞具有应激反应受体,当激光的光子作用于免疫细胞的受体时,免疫细胞膜跨膜电位形成,膜磷脂双层分子层膜电特性发生改变,线粒体活性增强,细胞内酶活化,尤其是线粒体脱氢酶活性增强,可分解 MTT 产生黑色甲月,以颗粒溶解后所呈现出的颜色深浅反映胸腺细胞及脾细胞的数量及功能^[4]。在 He-Ne 激光的热刺激下易产生生物电流,生物电刺激神经系统,使之释放多种神经介质,如 β -内啡肽对胸腺细胞及脾细胞亦有调节作用。深入研究 He-Ne 激光的免疫效应,可提高治疗有关疾病的能力。

参 考 文 献

- Jing Chen, Dai Chengxiang, Liu Ruiyun *et al.*. Low dosage He-Ne laser irradiated in blood vessel to treat 60 patients with coronary heart disease [J]. *Chinese Journal of Physical Therapy* (中国生理学通报), 1997, 20(3):89 ~ 90 (in Chinese)
- Yang Guizheng, Chief editor. *Immunobio Engineering Outline and Technology* [M]. Changchun: Jilin Scientific Technology Publisher, 1991. 208 (in Chinese)
- Goldman L. . *The Biomedical Laser: Technology and Clinical Applications* [M]. New York: Springer Verlag, 1981. 229
- He Jinsheng, Li Ruizhu, Zong Tingyi. MTT restore methods examine NK cell activation [J]. *Chinese Journal of Immunology* (中国免疫学杂志), 1996, 12(5):356 ~ 358 (in Chinese)