

• 基础研究 •

低频交变磁场对肿瘤细胞作用的理论分析和实验结果^{*}黄玲珍¹ 董良² 陈彦田² 齐瀚实² 肖登明¹

(1 上海交通大学电气系 上海 200030 2 上海交通大学药学院 上海 200030)

摘要: 本文研究了低频交变磁场对细胞作用的理论机理和实验结果。交变磁场和交变磁场感应的电场对运动离子产生电场力,加速离子的运行。基于该理论分析,设计了一系列的实验来验证假定的理论,实验采用两种肿瘤细胞系(HL-60 and SK-Hep-1)。将肿瘤细胞暴露于50Hz, 20mT连续正弦磁场4天,每24小时检测上清液Na⁺和K⁺浓度。结果发现,照射组和对照组的Na⁺和K⁺浓度有显著变化,实验结果和理论分析相符。

关键词: 磁场; 感应电场; 位移; 肿瘤细胞; 离子浓度

Effects of Oscillating Magnetic Field on Cancer Cells: Theoretical Analysis and ExperimentsHUANG Ling-zhen¹, DONG Liang², CHEN Yan-tian², QI Han-shi², XIAO Deng-ming¹

1 Department of Electrical Engineering, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200030

2 Culture & Bioprocess Engineering Center, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200030

ABSTRACT: In this paper, a theoretical mechanism and experiments for the effects of low frequency oscillating magnetic field on cells were investigated and analysed. Magnetic field varying with time and its inducing electric field produce the force on the moving ions and accelerate the ions. On the basis of the theoretical analysis, a series of experiments were designed to test the supposed theory. Two human cancer cell lines (HL-60 and SK-Hep-1) were used in our experiment. The cancer cells were exposed to a continuous sinusoidal 50Hz, 20mT magnetic field for 4 days. The results demonstrate the significant changes of Na⁺ and K⁺ ion concentrations in cell supernatant compared with the control group. These results of experiments appear to be consistent with the theoretical analysis.

Keywords: Magnetic field; Inducing electric field; Displacement; Cancer Cells; Ion concentration

1 前言

目前人们已经关注电磁场对生物系统的影响^[1-5]。许多实验数据表明,电磁场影响细胞的增殖、离子、酶活性以及信号通道等^[6-7]。同时也有学者提出了一些新的理论,如分子回旋^[8],频率和幅值窗^[9],离子回旋加速共振等(ICR)^[10],但是电磁场和细胞系统的作用机理仍然不能确定。本文对交变磁场作用下细胞外离子的运动情况进行了分析,并以人早幼白血病细胞(HL-60)和人肝癌细胞(SK-HEP-1)为实验对象,得到细胞外离子浓度在磁场作用下的变化模型。

2 理论分析

2.1 细胞模型

细胞膜两侧存在着钙离子、钠离子、钾离子、镁离子及氢离子等其它离子。离子可以通过不同离子通道的开启,如Ca²⁺、Na⁺、K⁺等离子通道从细胞外流入细胞质或者从细胞内

流出。Liboff和McLeod^[9]认为通道内的离子非常接近通道壁,可在其螺旋式结构的作用下穿过离子通道。

离子对细胞膜的稳定性,细胞的动态平衡,以及生物体的转换过程起着许多重要的作用^[12,13]。电磁场通过与运动离子相互作用,从而对细胞施加影响。

交变磁场作用下的细胞模型如下:球形细胞膜,离子位于细胞膜的两侧,通过离子通道进出细胞膜。以下分析细胞质内的单个离子行为(如图1)。

模型考虑离子在电磁场的影响下有可能来回振动。离子在电磁场作用下将受到电场力和洛伦兹力,离子的运动方程为

$$F = q(E + v \times B) \quad (1)$$

式中,为离子的电量;离子的速度;为作用于离子的电场强度;是作用于离子的磁场强度。假定离子的质量为 m 。在经典物理学中,不考虑其他的电磁场影响。式(1)采用的都是国际标准单位。

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 50477007)

作者简介: 黄玲珍,女,上海交通大学电气系,博士生,研究方向:电磁生物学,021-64612141, annyzhen@sjtu.edu.cn

肖登明,博士生导师,上海交通大学电气系,021-62933680, dmxiao@sjtu.edu.cn

(收稿日期 2006-02-16 接受日期: 2006-03-13)

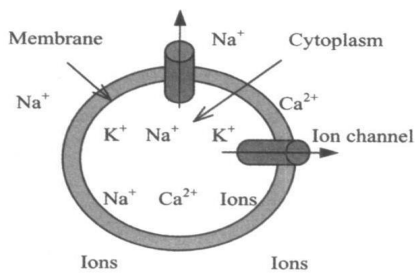


Fig. 1. Model of the ions inside-out cells.

图 1. 细胞内外离子模型

根据洛伦磁力定理, 对随时间变化的磁场和它的感应电场做如下分析。

2.2 磁场

这里考虑最简单的外部交变磁场, 磁场强度为: $B(t) = B_0 \cos \omega t$, 角频率: $\omega = 2\pi f$ (f 为频率)。

洛伦磁力 $F_B = qvB$ 作用于细胞膜附近的运动离子。同时也受到其他两个力的作用: (a) 恢复力: $F_r = -Dx$, 正比于位移 x ($D = m\omega_0^2$, 恢复常数 ω_0 , 离子自振角频率)。(b) 阻尼力, $F_d = -\lambda v$, λ 是离子运动的衰减系数。由于洛伦磁力、恢复力、阻尼力的存在, 离子将得到一个加速度 a , 位移 x , 运动方程式为

$$m\ddot{x} = -\lambda v - D_x + B_0 q \cos \omega t \quad (2)$$

$$m\ddot{x} + (\lambda - B_0 q \cos \omega t) \dot{x} + m\omega_0^2 x = 0 \quad (3)$$

可以看出 $|B_0 q \cos \omega t| \leq |B_0 q|$

假定: $\lambda - B_0 q \cos \omega t = H$, 把 H 当作在一定范围内变化的常数。

式(1)的解为

$$x = D_1 e^{\xi_1 t} + D_2 e^{\xi_2 t} \quad (4)$$

$$\xi_{1,2} = \frac{-H \pm \sqrt{H^2 - 4m^2 \omega_0^2}}{2m} \quad (5)$$

把(5)式具体化, 考虑一个具体的离子, 比如 Na^+ , $3.8 \times 10^{-26} \text{ kg}$, $\lambda = 10^{-12} \text{ kg/s}$, $q \approx 10^{-19} \text{ 库伦}$, 自振频率的范围从 0.016 到 0.2 Hz [10, 11], 由此可得 $\lambda \gg 2m\omega_0$ 。

假定初始条件 $x|_{t=0} = 0$, $\dot{x}|_{t=0} = v_0$, 可得

$$\xi_1 \approx 0, \xi_2 = \frac{B_0 q \cos \omega t - \lambda}{m} \quad (6)$$

因此

$$x = \frac{v_0 m}{\lambda - B_0 q \cos \omega t} \left(1 + e^{\frac{\lambda - B_0 q \cos \omega t}{m} t} \right) \quad (7)$$

考虑

$$X_p = e^{\frac{\lambda - B_0 q \cos \omega t}{m} t} \quad (8)$$

磁场的单位特斯拉(T)是个大单位。一般用高斯(G)表示, $1 \text{ T} = 10^4 \text{ G}$, 因为 $\lambda \gg q$, 所以 $\lambda \gg B_0 q$ 。

从(8)可以看出, 随着时间的增加 X_p 迅速降到 0, 当 $t = 0$, $X_p = 1$ 。

ωt 和位移幅值 X 的关系表述如下:

$$x = \begin{cases} 2 \times \frac{v_0 m}{\lambda - B_0 q} & \omega t = 0 \\ \frac{v_0 m}{\lambda + B_0 q} & \omega t = n\pi, n = 1, 3, 5, \dots \\ \frac{v_0 m}{\lambda - B_0 q} & \omega t = n\pi, n = 2, 4, 6, \dots \end{cases} \quad (9)$$

根据分析, 最显著的生物效应应该出现在刚开始时刻。

2.3 感应电场

生物组织的相对磁导率为 1 [10, 11]。因此, 细胞内磁场强

度几乎等于细胞外部的磁场强度。

当随时间变化的磁场 B 作用于细胞时, 磁场同时在细胞内产生感应电场 E 。根据洛伦磁感应定理,

$$\oint \vec{E} \cdot d\vec{l} = - \frac{d}{dt} \iint \vec{B} \cdot d\vec{S} \quad (10)$$

假定离子离细胞中心的距离为 r 。考虑以 r 为半径的圆周, 则感应电场强度为

$$E(t) = - \frac{r}{2} \frac{dB(t)}{dt} = \frac{r}{2} B_0 \omega \sin \omega t \quad (11)$$

则

$$m\ddot{x} + \lambda \dot{x} + m\omega_0^2 x = \frac{r}{2} q B_0 \omega \sin \omega t \quad (12)$$

其位移解为

$$x = \frac{rqB_0}{2\lambda} (\cos \omega t - 1) + \frac{U_0 m}{\lambda} (1 - e^{-\frac{\lambda}{m} t}) \quad (13)$$

从式(13)中可得, ωt 和位移幅值 x 的关系如下

$$x = \begin{cases} 0 & \omega t = 0 \\ -\frac{rB_0 q}{\lambda} + \frac{U_0 m}{\lambda} & \omega t = n\pi, n = 1, 3, 5, \dots \\ -\frac{rB_0 q}{2\lambda} + \frac{U_0 m}{\lambda} & \omega t = n\pi, n = 2, 4, 6, \dots \end{cases} \quad (14)$$

为了得到最大的位移幅值, 需要比较 $U_0 m$ 和 $rB_0 q$, 即最大的位移幅值为

$$| -\frac{rB_0 q}{\lambda} + \frac{U_0 m}{\lambda} | \quad (15)$$

或者

$$| -\frac{rB_0 q}{2\lambda} + \frac{U_0 m}{\lambda} | \quad (16)$$

2.4 联合作用

从以上分析可得, 交变磁场和它的感应电场对离子的运动产生显著影响, 联合作用产生的位移为

$$x = \frac{U_0 m}{\lambda - B_0 q \cos \omega t} \left(1 + e^{\frac{\lambda - B_0 q \cos \omega t}{m} t} \right) + \frac{rB_0}{2\lambda} (\cos \omega t - 1) + \frac{U_0 m}{\lambda} (1 - e^{-\frac{\lambda}{m} t}) \quad (17)$$

尽管当 $\omega t = 0$ 时, 由于感应电场而产生的位移幅值为 0, 但是总的幅值为

$$2 \times \frac{U_0 m}{\lambda - B_0 q} \quad (18)$$

磁场和电场同时对细胞离子进行作用。位移的幅值决定于初始条件, 如离子的质量、电荷、速度, 以及磁场的强度。

3 实验材料和方法

3.1 材料

细胞系: 人早幼白血病细胞 HL-60 (ATCC No. CCL-240) 和人肝癌细胞 SK-HEP-1 (ATCC No. HTB-52) 均购自上海中科院细胞库。

主要仪器: HERAcell 150 细胞培养箱 (Heraeus, Germany)。Nova-BioProfile 100 Plus 生化分析仪 (Nova Biomedical, USA)。磁场辐照装置(上海交通大学电气系自行研制), 接通电源时, 能生成场强为 $0 \sim 30 \text{ mT}$ 连续可调的 50 Hz 正弦波磁场。

主要试剂: RPMI 1640 培养基 (GIBCO, USA), DMEM 培养基 (GIBCO, USA), 新生牛血清 (四季青, 中国), trypsin-EDTA (GIBCO, USA), L-谷氨酰胺 (GIBCO, USA)。

3.2 方法

3.2.1 细胞培养: HL-60 细胞生长在含有 10% 热灭活新生牛血清、2mM L- 谷氨酰胺和 0.11g/L NaHCO₃ 的 RPMI 1640 培养基中。SK- HEP- 1 细胞生长于含有 10% 热灭活新生牛血清和 2mM L- 谷氨酰胺的 DMEM 培养基中。细胞生长在 25cm² 瓶中, 放置于 37℃, 5% CO₂ 的培养箱中。实验前, 两种细胞均以 1.0×10^5 cells/mL 密度接种。

3.2.2 实验方法: 照射组细胞连续暴露于 50Hz, 20mT 正弦磁场, 磁场辐照装置置于细胞培养箱中; 对照组细胞在另一个培养箱中培养, 除了没有磁场干预外, 对照组与照射组细胞的生长条件完全一样。实验周期为 4 天, 在整个培养过程中不更换培养基。

3.2.3 细胞外离子浓度的测定: 实验期间分别在第 1、2、3、4 天取 SK- HEP- 1 细胞上清液, 冻存于 -20℃ 待检测; HL- 60 细胞以 2,000 rpm 离心 3 分钟, 取上清液, 冻存于 -20℃, 使用 Nova BioProfile 100+ 自动生化检测仪检测其中 Na⁺, K⁺ 的离子浓度。同样的条件下重复实验四次。

4 结果

Fig. 2 and Fig. 3 分别表示了 4 天实验周期内 HL- 60 和 SK- Hep- 1 细胞对照组和照射组的上清液中 Na⁺ 浓度随时间变化的曲线。结果显示, HL- 60 细胞的 Na⁺ 浓度在实验开始时为 120 mmol/L, 到第 4 天, 对照组的 Na⁺ 浓度达到 146.3 mmol/L, 而照射组的达到 154.9 mmol/L。另外, SK- Hep- 1 细胞的 Na⁺ 浓度在实验开始时为 129.8 mmol/L, 到第 4 天, 对照组的 Na⁺ 浓度和照射组的分别达到 153.1 mmol/L 和 160 mmol/L。

与此同时, K⁺ 浓度的变化趋势和 Na⁺ 浓度的相似。Fig. 4 和 Fig. 5 分别表示了 4 天内对照组和照射组 HL- 60 和 SK- Hep- 1 细胞的上清液中 K⁺ 浓度随时间变化的曲线。HL- 60 细胞的 K⁺ 浓度在实验开始时为 4.2mmol/L, 到第 4 天, 对照组的 K⁺ 浓度达到 5.33mmol/L, 而照射组的则为 5.73mmol/L。另外, SK- Hep- 1 细胞的 K⁺ 浓度在实验开始时为 4.85mmol/L, 到第 4 天, 对照组的 K⁺ 浓度和照射组的分别达到 5.4mmol/L 和 6.08mmol/L。

根据实验结果分析, 一定强度的电磁场影响细胞外 Na⁺、K⁺ 浓度。随着培养时间的延长, Na⁺、K⁺ 浓度都相应地升高。比较对照组和照射组, 照射组的离子浓度比对照组的上升更快。换言之, 随时间变化的电磁场直接作用于细胞, 促使细胞的 Na⁺、K⁺ 从 Na⁺、K⁺ 通道中流出来, 最终导致细胞外 Na⁺、K⁺ 浓度增加。

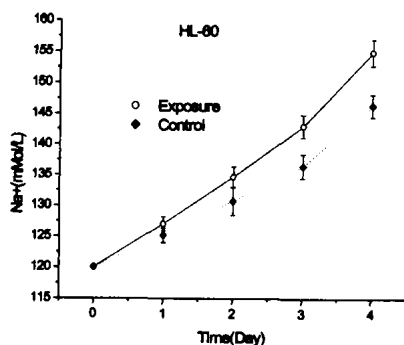


Fig. 2. Effects of 20mT, 50Hz magnetic field on the Na⁺ concentration in supernatant for HL- 60 cells. All data points are plotted as mean $\pm$ SD (n= 4).

图 2. 20mT, 50Hz 电磁场对 HL- 60 细胞外 Na⁺ 浓度的影响。所有数据均为均值 $\pm$ SD (n= 4)。

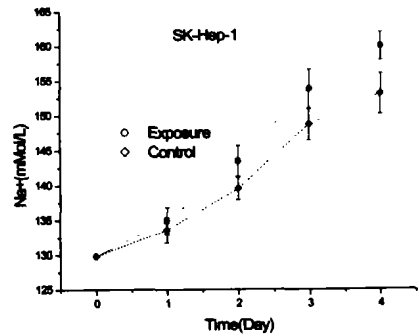


Fig. 3. Effects of 20mT, 50Hz magnetic field on the Na⁺ concentration in supernatant for SK- Hep- 1 cells. All data points are plotted as mean $\pm$ SD (n= 4).

图 3. 20mT, 50Hz 电磁场对 SK- Hep- 1 细胞外 Na⁺ 浓度的影响。所有数据均为均值 $\pm$ SD (n= 4)。

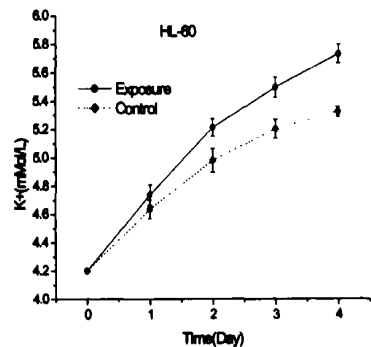


Fig. 4. Effects of 20mT, 50Hz magnetic field on the K⁺ ion concentrations in supernatant for HL- 60 cells. All data points are plotted as mean $\pm$ SD (n= 4).

图 4. 20mT, 50Hz 电磁场对 HL- 60 细胞外 K⁺ 浓度的影响。所有数据均为均值 $\pm$ SD (n= 4)。

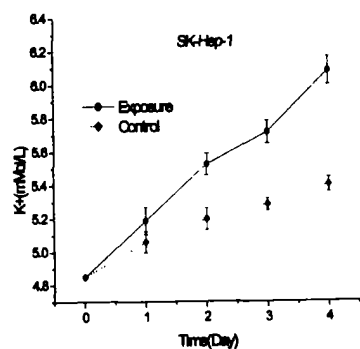


Fig. 5. Effects of 20mT, 50Hz magnetic field on the K⁺ ion concentrations in supernatant for SK- Hep- 1 cells. All data points are plotted as mean $\pm$ SD (n= 4).

图 5. 20mT, 50Hz 电磁场对 SK- Hep- 1 细胞外 K⁺ 浓度的影响。所有数据均为均值 $\pm$ SD (n= 4)。

5 讨论

至今为止, 电磁场对细胞的作用机理还没有得到一致的认可。在上述理论模型分析中, 计算了细胞内外离子在交流磁场作用下产生的位移。离子的质量、电荷、磁场的强度以及离子的初始速度决定着离子位移的大小。同时也推导出, 由磁场感应出的电场也对离子产生电场力, 加速离子的运动。当离子的振幅超过一定临界值时, 振动的离子会对离子通道产生错误的信号, 从而扰乱细胞膜的电化学平衡, 导致细胞功

能紊乱。从分析中可知,产生的振荡力的幅值与磁场的频率无关,但与电场的频率有关联。

细胞膜的两侧存在自由离子,如 K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , 等等。离子对细胞膜的稳定性,细胞的动态平衡,以及生物体的转换过程起着许多重要的作用^[12, 13]。促使离子进出细胞的动力可以归结为细胞膜内外的浓度和电位差。当磁场穿透细胞膜时,必定对膜内外的每个离子以及正在经过通道蛋白的离子产生作用力^[12]。

本文的实验效果可能是由于交变磁场、磁场感应的电场与离子交互作用的结果。各种场产生的力作用于运动的离子以及束缚着活性离子的通道蛋白,影响通道的开闭状态。这些改变都和细胞膜的通透性直接有关。 Na^+ 、 K^+ 通道的开启导致离子从细胞内流出,引起细胞外离子浓度的升高。本课题组最近发表的一篇文章阐明了磁场对骨髓间充质干细胞离子的作用^[14]。更多的理论和实验研究将有助于我们更进一步理解电磁场和细胞相互作用的机理。

Reference:

- [1] Levin. M. Bioelectromagnetics in Morphogenesis[J]. Bioelectromagnetics, 2003, 24:295- 315
- [2] Berg, H. Problems of weak electromagnetic field effects in cell biology [J]. Bioelectrochemistry and Bioenergetics, 1999, 48: 355- 360
- [3] Sinko, M. and M. O. Mattsson, Extremely low frequency electromagnetic fields as effectors of cellular responses in vitro: Possible immune cell activation[J]. J. Cell. Biochem, 2004, 93(1): 83- 92
- [4] 董良, 黄玲珍, 陈彦田, 等. 极低频磁场对人肝癌细胞生长、代谢及细胞周期的影响[J]. 生物磁学, 2005, 5(3): 1- 6
- [5] 张沪生, 邓仁清, 刘庆华. 试论磁场治疗恶性肿瘤中的三对矛盾: 凋亡与增殖免疫与肿瘤, 阻塞与供给[J]. 生物磁学, 2005, 5(4): 14- 16
- [6] Koch, C. L. M. B., M. Sommarin, and B. R. R. Persson, Interaction between Weak Low Frequency Magnetic Fields and Cell Membranes[J]. Bioelectromagnetics, 2003, 24: 395- 402
- [7] Schinmelfeng, J. and H. Dertinger. The action of 50 Hz magnetic and electric fields upon cell proliferation and cyclic AMP content of cultured mammalian cells[J]. Bioelectrochem Bioenerg, 1993, 30: 143- 150
- [8] Binh, V. N. and A. V. Savin, Molecular gyroscopes and biological effects of weak extremely low - frequency magnetic fields[J]. Physical Review E, 2002, 65:051912
- [9] Barnes, M. Z. a. F. Frequency and Amplitude Windows in the Combined Action of DC and Low Frequency AC Magnetic Fields on Ion Thermal Motion in a Macromolecule [J]. Theoretical Analysis Biobioelectromagnetics, 2005, 26:323- 330
- [10] Liboff, A. R. Geomagnetic cyclotron resonance in membrane transport [J]. J Biol Phys, 1985, 13: 99- 102
- [11] Liboff, A. and B. McLeod, Kinetics of channelized membrane ions in magnetic fields[J]. Bioelectromagnetics, 1988, 9: 39- 51
- [12] Panagopoulos, D. J., A. Karabounis, and L. H. Margaritis, Mechanism for action of electromagnetic fields on cells[J]. Biochemical And Biophysical Research Communications, 2002, 298(1): 95- 102
- [13] Adair, R. A physical analysis of the ion parametric resonance model [J]. Bioelectromagnetics, 1998, 19: 181- 191
- [14] Huang, L, L Dong, etc. Effects of Oscillating Magnetic Field on Cells: Theoretical Analysis and Experiments [J]. WSEAS TRANS. on COMPUTERS and SYSTEMS, 2006, 5: 46- 52

(上接第 14 页)

参考文献

- [1] 李国栋, 周万松, 郭立文等. 生物磁学——应用、技术、原理[J]. 北京: 国防工业出版社, 1993
- [2] Stuchly M A. Electromagnetics in biology and medicine[J]. Radio Science, 1995, 30(1): 471~ 522
- [3] 张小云, 刘栋, 张裕恒等. 磁场对细胞生长分裂的影响及其机制的探讨[J]. 中国科学(B 辑), 1989, (2): 164
- [4] Mulay I L, Mulay L N. Effects of a magnetic field on sarcoma 37 ascites tumor cells[J]. Nature, 1961
- [5] 杨逢瑜. 磁场对肿瘤细胞的抑制作用[J]. 生物磁学, 2004, 4(1): 1~ 4
- [6] 周万松. 磁场生物效应的研究进展. 生物磁学, 2003, 3(1): 6~ 9
- [7] Poole C. Extremely low frequency electric and magnetic fields and cancer [J]. Cancer Causes Control, 1991, 2: 267~ 270
- [8] 陈家森. 电磁场与生命体[J]. 生物磁学, 2004, 4(2): 33~ 35
- [9] 常汉英, 李桂兰, 潘玉明等. 磁场对鼠 S- 180 肉瘤影响的实验观察. 中华物理医学杂志, 1985, 3: 169- 170
- [10] 常汉英, 李桂兰, 汪国珠. 磁场疗法治疗恶性肿瘤 18 例初步报告. 见: 生物医学物理研究[M]. 武汉: 武汉大学出版社, 1990: 74~ 75
- [11] 周万松. 磁场治疗肿瘤的应用进展[J]. 生物磁学, 1994, 8(2): 1~ 6
- [12] Zhang H S, Ye H, Zhang Q C. SEM and TEM observations on inhibitory effect of ultralow frequency pulse magnetic field on mice's S- 180 Sarcomas[J]. Chinese Science Bulletin, 1995, 40(6): 512~ 516
- [13] Zhang H S, Ye H, Zhang Q Q. Experiment studies on extremely low frequency pulsed magnetic field inhibiting sarcoma and enhancing cellular immune functions[J]. Science in China, Ser. C, 1997, 40(4): 392~ 397
- [14] 张沪生, 金祥瑞, 叶晖等. 超低频脉冲磁场抑制动物和人体内癌细胞. 见: 生物磁学研究与应用[M]. 北京: 原子能出版社, 1994: 18- 21
- [15] Fang M, Zhang H Q, Xue S B. Role of calcium in apoptosis of HL- 60 cells induced by haring tonine[J]. Science in China, Ser. C, 1998, 41(6): 600~ 607
- [16] Silva C P, Oliveira CR, Lima MCP. Apoptosis as a mechanism of cell death induced by different chemotherapeutic drugs in human leukemic T lymphocytes[J]. Biochem Pharmacol, 1996, 51: 1331~ 1340
- [17] 曾繁清, 郑从义, 张新晨, 等. 超低频脉冲梯度磁场诱导癌细胞凋亡和抑制癌细胞生长实验研究[J]. 中国科学(C 辑), 2001, 31(5): 453~ 457
- [18] 张沪生. 超低频脉冲梯度磁场诱导癌细胞凋亡[J]. 生物磁学, 2004, 4(1): 14- 15
- [19] 张沪生. 一定参数的磁场在不同生物层次上抑制恶性肿瘤生长[J]. 生物磁学, 2004, 4(2): 1- 4
- [20] 叶晖, 林家瑞, 叶琴. 低频磁场对细胞膜离子通道状态的影响[J]. 武汉大学学报(自然科学版), 1997, 42(6): 217~ 222
- [21] Charles A C. Biological effects of oscillating electric fields: Role of voltage- sensitive ion channels[J]. Bioelectromagnetics, 1981, 2: 23
- [22] Korsmeyer S J, Olival Z N. Checkpoint of dueling dimmers foli death wishes[J]. Cell, 1994, 79: 189~ 192