

# 电化学对人宫颈癌细胞系 HeLa - S<sub>3</sub> 细胞周期进程的影响

## Effect of Electrochemistry on the Cell Proliferating Period of HeLa - S<sub>3</sub> Strain of Human Cervical Carcinoma

赵恒毅 唐步坚 李力 古明华 陈心秋  
Zhao Hengyi Tang Bujian Li Li Gu Minghua Chen Xinqiu

(广西肿瘤研究所 南宁市滨湖路6号 530021)  
(Guangxi Cancer Institute, 6 Binhu Road, Nanning, Guangxi, 530021)

**摘要** 为了解电化学治疗(ECT)是否对人宫颈癌细胞的生物学行为有影响,用体外实验和放射自显影技术,观察不同电压和电量组合的ECT对人宫颈癌细胞系(HeLa - S<sub>3</sub>)的细胞增殖周期影响。结果是ECT对HeLa细胞的DNA G<sub>1</sub> - S期和有丝分裂期有明显抑制作用。

**关键词** 电化学 宫颈癌 HeLa细胞 细胞周期

**Abstract** The effect of electrochemical therapy (ECT) with different voltages and electric quantity combinations on the proliferating period of HeLa-S<sub>3</sub> strain of human cervical carcinoma were observed by the external experiment and autoradiography for making sure the effect of ECT on the biological action of HeLa-S<sub>3</sub> strain. The results showed that ECT could obviously inhibit DNA behaviours in G<sub>1</sub>-S and mitotic periods of HeLa cell.

**Key words** electrochemistry, cervical carcinoma, HeLa cell, cell dynamic

电化学疗法(Electrochemical therapy, ECT)治疗晚期宫颈癌在临床上已经取得了良好的效果<sup>[1~3]</sup>,国内外已有众多学者从物理和化学角度解释电化学治癌的机理<sup>[4~7]</sup>,但从生物学角度去解释ECT治癌机理尚未见报道。本研究以人宫颈癌细胞系(HeLa - S<sub>3</sub>)为对象。采用放射自显影技术。动态观察不同的电化学实验条件对细胞增殖周期的影响,以期对有关问题进行探讨。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

1.1.1 细胞:人宫颈癌细胞系(HeLa - S<sub>3</sub>)由中国军事医学科学院提供。

1.1.2 试剂:RPMI - 1640、胰酶为美国GIBCO公司产品,秋水仙素为德国SERVA公司产品,<sup>3</sup>H - TdR由中国原子能科学研究院提供,小牛血清为华美生物工程公司产品。

1.1.3 仪器:SDZLY - 3电化学治疗仪为柳州地区

无线电总厂生产。

### 1.2 细胞培养和 ECT 实验分组

1.2.1 细胞培养:人宫颈癌细胞系(HeLa - S<sub>3</sub>)常规培养于含10%小牛血清的RPMI - 1640培养液中,加青、链霉素各100 μ/mL,每2~3天换液1次,取传代后第3天处于指数增殖期的细胞,用0.25%的胰酶消化细胞并收集细胞备实验用。

1.2.2 ECT实验分组:将等量接种的24孔细胞培养板按随机原则分为(1)对照组,除不通以直流电外,其余条件均与实验组相同。(2)实验组,按电压、电量组合分为4组:5V(电压)5C(电量)、5V10C、10V5C、10V10C,两电极以1.0 cm间距浸入细胞培养液1.5 cm深,后通以平稳电流。

### 1.3 细胞周期进程测定方法(放射自显影法)

方法见文献[8],其中G<sub>1</sub> - S期为连续标记,S期为脉冲标记,S - G<sub>2</sub> - M期为秋水仙素阻断连续标记。实验细胞浓度为2×10<sup>5</sup>个/mL,<sup>3</sup>H - TdR标记浓度为1 μCi/mL,采用核4乳胶涂布,4℃曝光2周,常规显影、定影、Giemsa染色、光镜下观察。

#### 1.3.1 计数和判定标记细胞的标准

1995-09-08 收稿。

Giemsa 染色后, 40 倍显微镜下见细胞核内有 4 个以上直径在  $1\sim 2\ \mu\text{m}$  黑色圆形颗粒的为标记细胞, 计数标记上和未标记上的细胞。

### 1.3.2 $G_1-S$ 期、S 期求出标记指数 $LI$

$$LI = \frac{\text{标记细胞数}}{\text{细胞总数}} \times 1000\%$$

### 1.3.3 $S-G_2-M$ 期求出标记核有丝分裂指数 $PLM$

$$PLM = \frac{\text{标记的有丝分裂相细胞数}}{\text{细胞总数}} \times 1000\%$$

## 1.4 数据处理

各组间数据的比较采用方差分析。

## 2 结果

ECT 对 HeLa 细胞周期动力学的影响:

### 2.1 $G_1-S$ 期 (连续标记)

各实验组的标记指数均低于对照组, 经统计学处理有极显著性差异 ( $P < 0.01$ ), 在各实验组中, 以 10V10C 标记率最低, 依次为 10V5C, 5V10C 和 5V5C; 高电压两组分别与低电压两组比较, 差异有显著性  $P < 0.05$ 。不同组合 ECT 对 HeLa 细胞标记指数的影响见图 1。

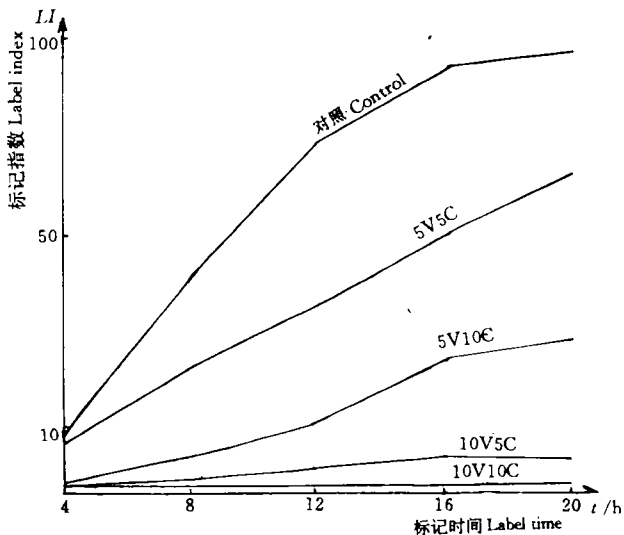


图 1 不同组合 ECT 对  $G_1-S$  期 HeLa 细胞标记指数的影响  
Fig. 1 Effect of ECT with different combinations on label index of HeLa cell in  $G_1-S$  period

### 2.2 S 期 (脉冲标记)

各实验组的标记指数均低于对照组, 且 24 h 内的标记指数和也处于一个低水平, 经统计学处理, 有极显著性差异 ( $P < 0.01$ ); 各实验组间: 以 10V5C

和 10V10C 标记率为低, 与其他两组相比, 有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。不同组合 ECT 对 HeLa 细胞标记指数的影响见图 2。

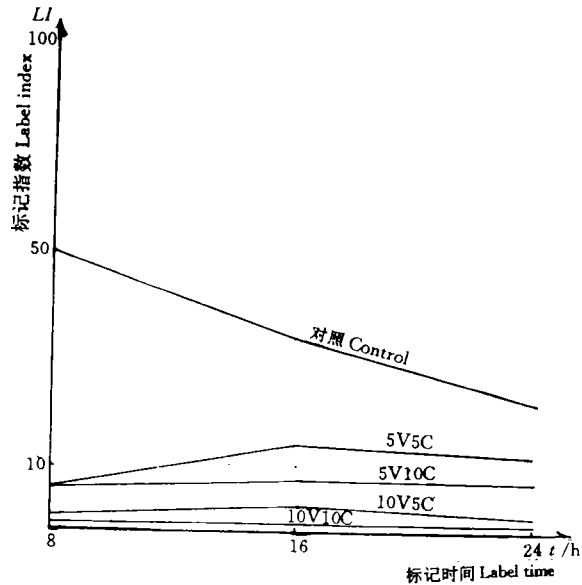


图 2 不同组合 ECT 对 S 期 HeLa 细胞标记指数的影响  
Fig. 2 Effect of ECT with different combinations on label index of HeLa cell in S period

### 2.3 $S-G_2-M$ 期 (秋水仙素阻断法)

各实验组的标记有丝分裂指数均低于对照组, 经统计学处理有极显著的差异 ( $P < 0.01$ )。各实验处理组内, 5V5C 标记率较高, 与其他组相比有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。不同组合 ECT 对 HeLa 细胞标记指数的影响见图 3。

## 3 讨论

为了观察 ECT 对 HeLa 细胞增殖周期的影响, 我们采用了放射自显技术对 HeLa 细胞在体外电场作用下从 DNA 合成前期 ( $G_1$ ) 至有丝分裂期 (M) 进行动态观察。

肿瘤细胞生物学研究已表明, DNA 与肿瘤细胞增殖分裂有密切关系, 核酸增多是肿瘤迅速生长的物质基础, 而反映肿瘤迅速生长的指标是细胞增殖周期中的  $G_1-S$  和  $S-G_2-M$  期的细胞的比率增高<sup>[8,9]</sup>, 我们通过对指数生长期的 HeLa 细胞进行 ECT 作用, 结果发现:

(1) 在  $G_1-S$  过程中, 各实验组的标记指数  $LI$  均低于对照组 ( $P < 0.01$ ), 说明 ECT 阻滞了  $G_1-S$  过渡, 在各实验组内, 高电压组  $LI$  比低电压组低 ( $P < 0.05$ ), 其机理可能是在短时间内, 电压较高, 电流强度较大, 其对细胞的物理作用较强, 使细胞处于

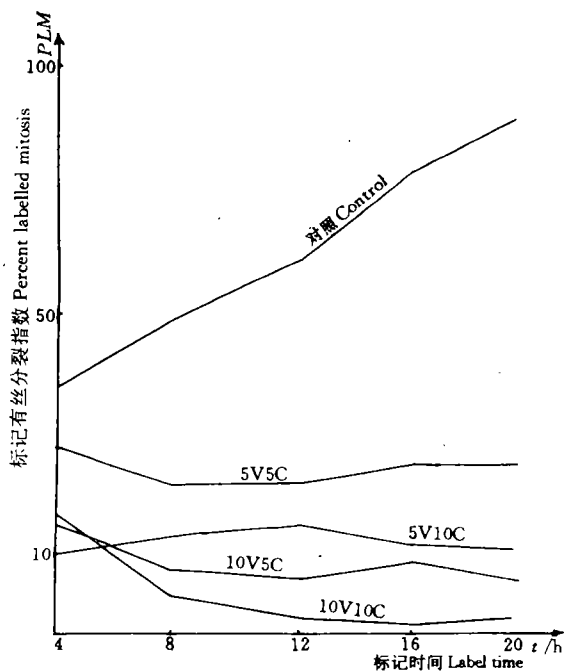


图3 不同组合ECT对S-G<sub>2</sub>-M期HeLa细胞标记有丝分裂指数的影响

Fig. 3 Effect of ECT with different combinations on mitotic index of HeLa cell in S-G<sub>2</sub>-M period

“休克”状态的G<sub>0</sub>细胞增多。而G<sub>0</sub>期细胞具有G<sub>1</sub>期细胞2C的DNA含量，由于此类细胞处于休止态，所以一旦电流的物理作用消除，大量的G<sub>0</sub>期细胞又可变成G<sub>1</sub>细胞重新进入S期。而低电压组虽然作用时间长，但细胞受低电流的作用，短时间内电化学产物的效应不明显，所以由G<sub>1</sub>期至S期的过渡仍然存在，LI就较高。

(2) S期为细胞的DNA合成期，由于ECT作用，各实验组的细胞DNA合成受抑制，因而标记低于对照组。但在各实验组中，低电压组的标记率高于高电压组，这表明低电压组仍存在少量的DNA合

成，这与我们所观察的G<sub>1</sub>-S期的结果相一致，其机理可能与下列因素有关：①短时间内电化学的延迟效应未显示出来，因而使部分细胞的DNA合成抑制不彻底；②细胞在ECT的作用下发生凋亡，而已有研究证明，细胞在凋亡的初期仍有DNA合成<sup>[9]</sup>。

(3) M期标记由于有了秋水仙素的刺激<sup>[10]</sup>，在第一个4h内，细胞分裂增加，标记率高，但随时间推移，标记有丝分裂指数PLM逐渐受到抑制。

综上所述，ECT对HeLa细胞生物学行为有明显的影 响，而这种影响与ECT的电压、电量有关，但这种影响的分子机理尚不得而知，需要更深入的研究。

### 参考文献

- 1 辛育龄，权宽宏，宋久卿等．电化学治疗恶性肿瘤的临床效果．中华肿瘤杂志，1991，13(6)：467~469.
- 2 权宽宏，尉永宽，段衍鹏等．电化学治疗恶性肿瘤102例疗效分析．陕西医学杂志，1989，18(11)：19.
- 3 唐步坚，李力，古明华等．电化学对宫颈癌治疗的临床价值探讨．广西医学，1994，16(1)：4.
- 4 Nordenstrom BE. Biologically closed electric; Activation of vascular interstitial closed electric circuits for treatment of inoperable cancers. J Bioelec, 1984, 3: 137.
- 5 Norderstrom BE. An additional circulatory system; vascularinte institial closed electric circuits (VICC). J Biophys. 1987, 15: 43.
- 6 Nordenstrom BE. Electrochemical treatment of cancer. Ann Radiol, 1985, 28: 128.
- 7 李开华，顾一农，辛育龄等．电化学治疗恶性肿瘤机理的探讨．陕西医学杂志，1990，19(12)：38.
- 8 Erbe E, Vaghi M, Pepe S et al. DNA index of ovarian carcinomas from 56 patients; in vivo in vitro studies. Br J cancer, 1985, 52: 565.
- 9 Ling Yihe, Waidemar Priebe, Roman Perez-Soler. Apoptosis induced by anthracycline antibiotics in P388 parent and multidrug-resistant cells. Cancer Res, 1993, 53(8): 1845.
- 10 鄂征主编．组织培养技术．北京：人民卫生出版社，1985. 177.

(责任编辑：蒋汉明 邓大玉)