

# 微波辐射对离体培养Raji细胞 生长繁殖的影响

谭明 张孟丹 徐豪  
(生物学系)

## 摘 要

用自己设计制作的循环恒温微波辐射装置,以不同的功率密度( $1.0\text{mw}/\text{cm}^2$ ,  $3.9\text{mw}/\text{cm}^2$ ,  $6.2\text{mw}/\text{cm}^2$ ,  $8.3\text{mw}/\text{cm}^2$ ,  $10.5\text{mw}/\text{cm}^2$ )的2450MHZ微波辐射离体培养的Raji细胞10分钟,研究其生物效应。结果表明,控制辐射时培养介质的温度在 $37.0^\circ\text{C}$ 以下,当入射功率密度在 $8.3\text{mw}/\text{cm}^2$ 和 $10.5\text{mw}/\text{cm}^2$ 时,微波对Raji细胞的生长繁殖有抑制作用,表现为细胞生长曲线下降,生长率和生长倍数减少,生长抑制率和平均世代时间增加。如不控制辐射时培养介质的温度,微波对Raji细胞生长繁殖的抑制作用大大增加。文中还对微波生物效应的机理进行了讨论。

**关键词** 微波,生物学效应,细胞培养,热效应,非热效应

微波辐射可使细胞形态发生变化<sup>[2]</sup>,使细胞分裂相异常,染色体发生畸变等<sup>[3]</sup>,此外,微波辐射还影响细胞的多种功能<sup>[4,5,6]</sup>,而且影响细胞功能的性质(抑制或促进)与细胞的种类、微波的辐射剂量以及实验条件有关。本文的目的是在前人工作的基础上,以对实验因子比较敏感的离体培养细胞为材料,探讨微波对生物体产生效应的性质和程度与剂量之间的关系、微波对生物体的非热效应是否存在等问题。

## 1 材料与方 法

**1.1 细胞** 实验所用Raji细胞由中山医科大学肿瘤研究所提供,细胞培养于RPMI-1640+20%小牛血清+双抗的培养介质中,培养时,每个25ml培养瓶加密度为 $2 \times 10^5$ — $3 \times 10^5$ 个细胞/ml的细胞悬液10ml,置 $37.0^\circ\text{C}$ 培养箱中培养,每天振摇一次,每隔2天传代。

**1.2 微波辐射系统** 微波辐射系统示意图见图1。

本文1987年7月收到

1.2.1 微波源, 用2450MHz 微波理疗机作微波源, 其功率输出用GZT-1中功率计测出。

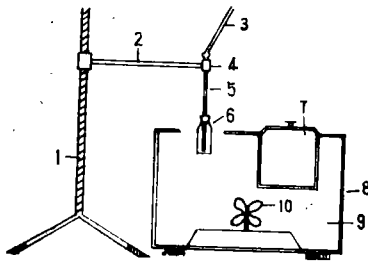


图1 微波辐射系统示意图

Fig. 1 The diagram of microwave exposing system.

1. 万能支架 Universal support.
2. 升降臂 Lift arm.
3. 同轴电缆 Coaxial cable.
4. 小天线固定夹 Fixture of microwave antenna.
5. 小天线 microwave antenna.
6. 培养瓶 Culture bottle.
7. 屏蔽室 Shielding Chamber.
8. 恒温水浴箱. Water bath
9. 恒温水 Constant water.
10. 搅拌水泵 Rabbling pump.

1.2.2 辐射天线 用中山大学电子系微波实验室设计的小天线为辐射器, 在该天线的柄上加一特制橡皮塞, 这样, 天线便可稳固地插到培养瓶的特定位置, 用蛋清法测得天线的场强分布, 是以三根铜丝中部为中心, 均匀地向四周辐射。

1.2.3 控温系统 恒温器提供的大流量的恒温水 ( $35^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ ) 可将辐射过程中培养液产生的热及时地带走, 实验前按实验时的全部条件, 用半导体温度计在校正的情况下, 监测整个辐射过程的温度变化, 从而掌握了实验时的温度变化情况; 控温试验各组的温度变化范围是  $35-37.0^{\circ}\text{C}$ , 不控温试验中, 各组的温度峰值随辐射剂量增加而升高, 其中  $10.5\text{mw}/\text{cm}^2$  组的温度峰值为  $56.0^{\circ}\text{C}$ 、 $8.3\text{mw}/\text{cm}^2$  组为  $48.5^{\circ}\text{C}$ ,  $6.2\text{mw}/\text{cm}^2$  组为  $40.5^{\circ}\text{C}$ ,  $3.9\text{mw}/\text{cm}^2$  组为  $34.0^{\circ}\text{C}$ 、 $1.0\text{mw}/\text{cm}^2$  组为  $28.5^{\circ}\text{C}$ 。

1.2.4 剂量的确定 本实验同时测定了三种常用的剂量 (表1), 其中功率密度用 RCQ-1A 微波漏场仪测定, 吸收率按 Baranski 等介绍的公式计算<sup>[3]</sup>,  $P_a = 4.186P \cdot C \frac{\Delta T}{t}$ , 式中  $P_a$  为吸收率 ( $\text{mw}/\text{ml}$ ),  $P$  为物质比重 ( $\text{g}/\text{ml}$ ),  $C$  为物质比热,  $t$  为辐射时间 ( $\text{s}$ ),  $\Delta T$  为辐射前后的温度变化 ( $^{\circ}\text{C}$ )。

表1 微波机的功率输出、入射功率密度、吸收率的互相关系

Tab.1 The relationship among the output power, power density and SAR.

功率输出 (w)	入射功率密度* $\text{mw}/\text{cm}^2$	吸收率(SAR) $\text{mw}/\text{ml}$
3.0	$1.0 \pm 0.28$	$0.101 \pm 0.015$
16.5	$3.9 \pm 0.67$	$0.175 \pm 0.023$
30.0	$6.2 \pm 0.93$	$0.286 \pm 0.030$
46.0	$8.3 \pm 1.29$	$0.380 \pm 0.041$
58.0	$10.5 \pm 1.41$	$0.572 \pm 0.043$

\*测被辐射液面三个点的值, 后取平均值为入射功率密度。

1.3 辐射方法 在无菌条件下, 在培养瓶上插好小天线, 安在万能支架的卡位上,

接上同轴电缆，然后根据需要使培养瓶或悬于空气中（不控温各组）<sup>1)</sup>或整个浸入循环的恒温水中（控温各组）<sup>1)</sup>，微波辐射10分钟，对照组放在35.0℃的屏蔽室内。

1.4 指标的测定 以同样的细胞密度接种12瓶细胞，分成6组，标明批号，分别进行微波辐射，然后继续培养，每隔12小时分别计各组活细胞数，各组实验重复3次。各指标的计算公式如下：

$$\text{细胞生长率}(\%) = \frac{\text{后一取样时间细胞密度} - \text{前一取样时间细胞密度}}{\text{前一取样时间的细胞密度}} \times 100\%;$$

$$\text{细胞生长抑制率}(\%) = \frac{\text{对照组细胞密度} - \text{实验组细胞密度}}{\text{对照组细胞密度}} \times 100\%;$$

$$\text{细胞生长倍数} = \frac{\text{高峰时细胞密度或48小时时细胞密度}}{\text{接种时细胞密度}} \quad ; \quad [7]$$

$$\text{细胞平均世代时间}(hr) = \frac{\text{培养时间} \times \log 2}{\log[\text{实验结束时细胞密度}] - \log[\text{接种时活细胞密度}]} \quad [7]$$

## 2 实验结果与分析

各组实验结果列于表2，现分述如下：（见下页）

2.1 微波对Raji细胞生长的影响 在控温试验中，各剂量组的细胞生长曲线大体可分为两种情况，入射功率密度在6.2mw/cm<sup>2</sup>以下各组的细胞生长较旺盛，与对照组接近，而当入射功率密度为8.3mw/cm<sup>2</sup>和10.5mw/cm<sup>2</sup>时，其生长曲线显著下降（p<0.05），提示细胞生长受到抑制。在不控制辐射时培养介质的温度的情况下，各剂量组的细胞随入射剂量的加大，细胞生长受到的损伤愈大，分裂繁殖的速度愈慢，统计分析证明，与对照组相比，6.2mw/cm<sup>2</sup>剂量组有显著差异（p<0.05），8.3mw/cm<sup>2</sup>和10.5mw/cm<sup>2</sup>组则有非常显著的差异（p<0.01，p<0.001）。上述显示，控制辐射时细胞培养介质温度在37.0℃以下时，可以大大减少微波对细胞生长的损伤作用。

2.2 微波对Raji细胞生长率的影响 图2—3表明，有否控制辐射时培养介质的温度，对细胞生长率有显然不同的影响，从各剂量组的总生长率来看，同剂量的微波辐射对不控温试验细胞生长率的影响明显大于控温试验，在控温试验各组中，1.0mw/cm<sup>2</sup>，3.9mw/cm<sup>2</sup>和6.2mw/cm<sup>2</sup>剂量组的生长率都与对照组接近，偏移不超过10%，8.3mw/cm<sup>2</sup>和10.5mw/cm<sup>2</sup>剂量组的偏移也不超过20%，而在不控温试验中，6.2mw/cm<sup>2</sup>组的总生长率就下降了23%，8.3mw/cm<sup>2</sup>和10.5mw/cm<sup>2</sup>组分别下跌了48%和71%。

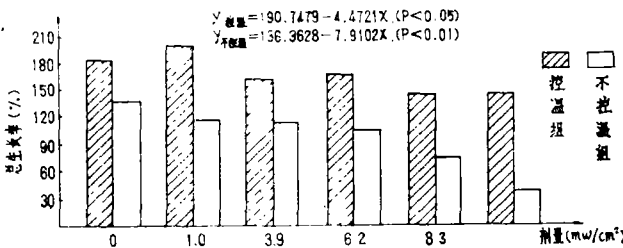


图2 微波辐射对各组细胞总生长率的影响。  
Fig.2 The total effects on growth rate caused by microwave exposure

1) 辐射时控制培养介质温度在37.0℃以下试验简称控温试验，不控制辐射时培养介质温度的试验简称不控温试验。

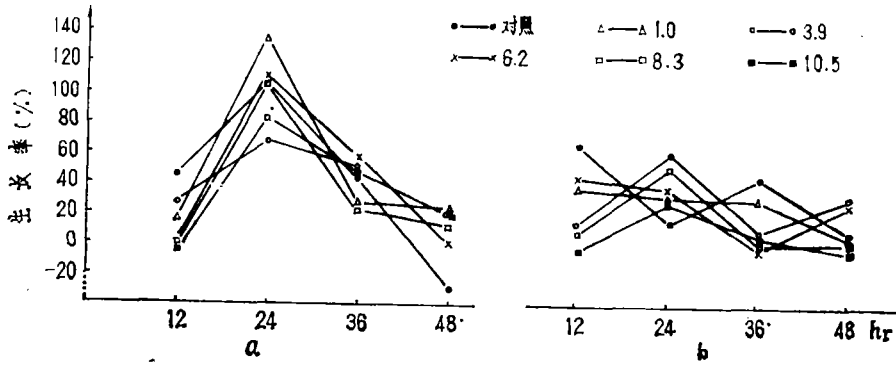


图3 微波辐射后Raji细胞生长率的变化

a. 控温组 b. 不控温组

Fig.3 The changes of growth rate caused by microwave exposure.

a. Temperature controlled groups. b. No temperature controlled groups.

表2 2450MHZ微波辐射Raji细胞的生物效应

Tab.2 Biological effects of 2450MHZ microwave exposing on Raji cell.

组别	剂量 mw/cm <sup>2</sup>	各取样时间之细胞密度, ×10 <sup>5</sup> /ml±SX					生长倍数	平均世代 时间 (小时)	生长曲线斜率 (b值)	显著性差异
		0小时	12小时	24小时	36小时	48小时				
不控温组	0	2.90	4.78 ±0.17	5.55 ±0.21	8.05 ±0.35	8.88 ±2.18	3.06	29.73	0.1269	
	1.0	2.90	4.03 ±0.53	5.50 ±1.41	7.38 ±1.23	7.70 ±2.47	2.66	34.07	0.1079	p>0.2
	3.9	2.90	3.40 ±0.24	5.40 ±0.99	5.98 ±0.53	7.60 ±1.70	2.62	34.53	0.0998	p<0.1
	6.2	2.90	4.10 ±0.21	5.60 ±0.42	5.68 ±0.98	7.20 ±2.63	2.48	36.59	0.0848	p<0.05
	8.3	2.90	3.30 ±0.17	5.05 ±0.44	5.25 ±1.08	5.30 ±1.77	1.83	55.18	0.0563	p<0.001
	10.5	2.90	2.88 ±0.82	4.12 ±0.67	4.12 ±0.75	4.10 ±1.54	1.41	96.08	0.0303	p<0.001
控温组	0	2.88	4.15 ±0.78	8.55 ±1.55	12.20 ±3.15	10.98 ±3.10	4.24	23.05	0.2697	
	1.0	2.88	3.33 ±0.17	7.83 ±1.03	9.93 ±1.31	12.20 ±1.14	4.24	23.05	0.2103	p>0.05
	3.9	2.88	3.70 ±0.35	6.18 ±0.46	9.25 ±1.27	11.05 ±1.64	3.84	24.74	0.1824	p>0.05
	6.2	2.88	2.91 ±0.78	6.10 ±0.35	9.50 ±1.41	9.65 ±2.49	3.35	27.52	0.1648	p>0.05
	8.3	2.88	2.88 ±0.38	5.90 ±0.07	7.83 ±0.11	8.70 ±1.17	3.02	30.10	0.1383	p<0.05
	10.5	2.88	2.85 ±0.28	5.20 ±1.06	7.65 ±2.51	9.08 ±1.23	3.15	28.97	0.1433	p<0.05

从各取样时间的生长率变化来看(图3),在控温试验中,微波辐射的影响主要在前12小时,表现为各组生长率降低,48小时对照组生长率下降,是因为该组细胞在36小时时已达密度高峰所致。而在不控温试验中,各组生长率显波浪形变化,表明在本实验条件下,细胞分裂繁殖峰是间歇性的,微波对其影响表现为使细胞分裂峰期推迟12小时。

**2.3 微波对细胞Raji生长的抑制作用** 图4显示,随微波剂量加大,两组试验的细胞总生长抑制率都增加,两者成正相关关系,不控温试验的b值(13.11)大于控温试验的b值(10.07),说明微波对不控温组的抑制作用更大,各组生长抑制率的变化(图5)显示,控温试验各组在微波辐射后36小时后生长抑制率下降,表明受损细胞生长的恢复,不控温试验的8.3mw/cm<sup>2</sup>和10.5mw/cm<sup>2</sup>组在辐射后36小时细胞生长抑制率仍然保持上升趋势,提示细胞受损严重,不能恢复。

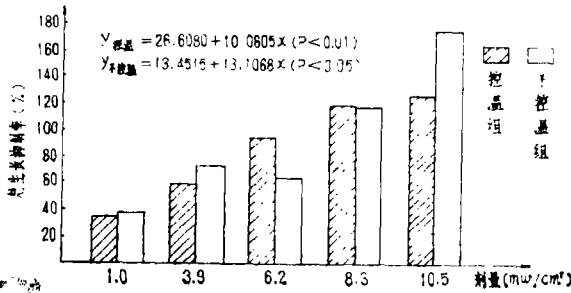


图4 微波辐射对各组细胞总生长抑制率的影响

Fig.4 The total effects on inhibition rate caused by microwave exposure.

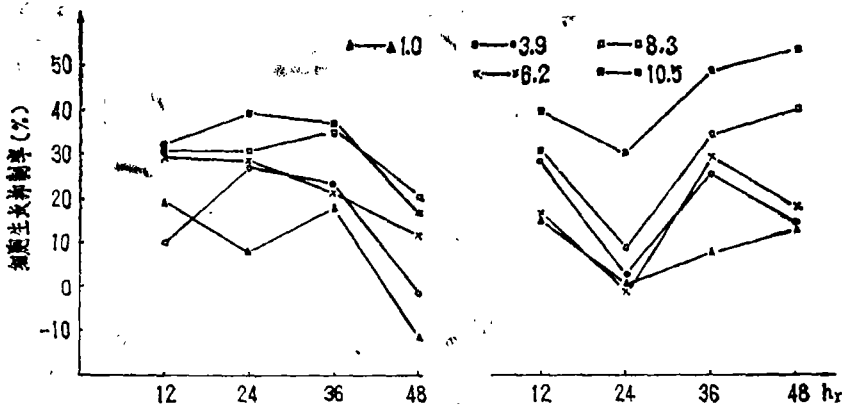


图5 微波辐射后Raji细胞生长抑制率的变化  
 a. 控温组. b. 不控温组.

Fig.5 The changes of inhibition rate caused by microwave exposure.  
 a. Temperature controlled groups.  
 b. No temperature controlled groups.

**2.4 微波对Raji细胞的平均世代时间及生长倍数的影响** 实验结果表明(表2),微波辐射使细胞的平均世代时间延长,剂量与平均世代时间成正相关关系: $y_{\text{控温}} = 22.7325 + 0.7035x$ ,  $p < 0.01$ ,  $y_{\text{不控温}} = 22.0537 + 5.1457x$ ,  $p < 0.05$ .可见,随辐射剂量加大,不控温组的细胞平均世代时间的增加趋势比控温组大得多( $t < 0.05$ ).与平均世代时间相反,细胞的生长倍数与辐射剂量成负相关关系. $y_{\text{控温}} = 4.2694 - 0.1263x$ ,  $p < 0.01$ ,  $y_{\text{不控温}} = 3.0379 - 0.139x$ ,  $p < 0.01$ ,不控温试验各组的生长倍数随剂量的变化而变化的趋势比控温试验各组大些,但无显著差异, $t > 0.05$ .

### 3 讨 论

由实验结果看,2450MHZ微波辐射可以抑制离体培养Raji细胞的生长繁殖,使细胞的生长曲线下降,生长率降低,生长抑制率升高,平均世代时间延长,生长倍数减少,细胞生长受损的程度随辐射剂量的增加而加剧,而控制辐射时培养介质的温度在37℃以下,可以大大减轻微波辐射对细胞生长的损伤作用。

微波辐射对细胞生长繁殖的影响,前人也做过不少工作.本实验结果与 Ambrosio, Hung, 吕有勇等以培养细胞为材料所得结果一致<sup>[2,8,9]</sup>,也与 Averbek<sup>[10]</sup>在细菌上所得结果相似.一般地说,在近场高功率的情况下,微波对细胞的作用主要是热效应<sup>[11]</sup>.在微波场的作用下,介质和细胞内各种极性分子,因趋同作用而发生频率极高的振荡,同时为克服所在媒质的粘滞性,消耗能量而产生大量的热,使介质的温度升高,在不用外加条件控制辐射时介质的温度时,这种热便是杀伤细胞、抑制细胞生长繁殖的主要因素。

微波对细胞生长繁殖是否也有非热效应呢?这是目前微波生物效应研究的焦点,不少实验证明非热效应是存在的,Grundler<sup>[12]</sup>用不能使培养介质温度升高的低功率密度微波(频率在42GHZ附近),辐射酵母菌,发现微波频率对酵母菌生长繁殖有明显的影 响.此外,Chen和Lin<sup>[13]</sup>的实验也表明有非热效应的存在.我们用循环水将辐射时介质的温度控制在细胞生长最适温度下(37℃以下),结果也表明,当入射功率达8.3mw/cm<sup>2</sup>以上时,对细胞的生长繁殖有明显的抑制作用,我们认为,这种情况下,微波可能通过两种途径作用于细胞:其一是细胞内的大分子物质如酶等,吸收微波能而发生谐振,引起结构变化并导致其生化活性发生变化;其二是细胞内某些部位由于在微波场的感应下产生超导电性,从而影响了细胞内的生物电过程,干扰了细胞生命信息的传递;从而导致了细胞生长繁殖的抑制.虽然,有人用水浴加热与微波加热作比较,发现两者对细胞生长的损害作用并无本质区别,我们认为,这与上述观点并不矛盾,因为正如本实验所表明的那样,非热效应对细胞的损害作用比热效应轻得多,在不控制介质温度的情况下,特别是在入射功率较高的情况下,热效应显然占主导地位,从而将非热效应掩盖了。

当然,上面提到的实验,包括我们的实验,尚不能排除这样一种可能性,即是在培养介质内,甚至在细胞内部,有可能存在由于微波能量叠加而引起的微小高热区域——热点,它对介质总体的温度不会有明显的影响,但对细胞的代谢和生理过程的影响却是不容忽视的.可见,微波的非热效应是否存在及其机理问题,尚需进一步探讨。

## 参 考 文 献

- [1] Norbert J., Roberts Jr., Sol M. Michaelson, "The biological Effects of Radiofrequency Radiation", Dept. of Radiation Biology and Biophysics Univ. of Rochester School of Medicine Rochester, New York 14642 U.S.A., 1985.
- [2] 吕有勇等, 中国生物医学工程学报, 3(1984), 2, 101-108.
- [3] Baranski. S., et al., *Biological Effects of Microwave*, poland, Ds & Ross, 1976:47.
- [4] Gonchar, N.M., *Tsitol Genet*; 17(1983), 1, 13.
- [5] Ortner, M.J., et al., *Exp. Cell Biophysics*, 1980, 2, 127.
- [6] Ortner, M.J., et al., *Radiat. Res.*, 86(1981), 580.
- [7] 张茂金等, 细胞生物学杂志, 3(1981), 1, 27-30.
- [8] Ambrosio, G., et al., *4th Italian National Meeting on Applied Electromagnetics*, 52(1982), 3, 179-181.
- [9] Hung, A.T., et al., *Radio Sci.*, 1977, 12, 137.
- [10] Averbeck, D., et al., *J. Microwave Power*, 11(1976), 2, 143.
- [11] 吕有勇等, 生理学进展, 15(1984), 1, 62-67.
- [12] Grundler, W., et al., *Phy. Rev. Lett.*, 51(1983), 13, 1214.
- [13] Chen, K.C., et al., *J. Microwave Power*, 13(1978), 251.

## Biological Effects of 2450MHZ Microwave Radiation on Raji-Cell *in Vitro*

Tan Ming    Zhang Mengdan    Xu Hao

### Abstract

A water circulating microwave exposure system designed by authors was used to investigate the thermal and nonthermal biological effects at different power density ( $1.0\text{mw}/\text{cm}^2$ ,  $3.9\text{mw}/\text{cm}^2$ ,  $6.2\text{mw}/\text{cm}^2$ ,  $8.3\text{mw}/\text{cm}^2$ ,  $10.5\text{mw}/\text{cm}^2$ ). The results show that: growth of Raji-Cell is inhibited significantly by microwave exposure in  $8.3\text{mw}/\text{cm}^2$  and  $10.5\text{mw}/\text{cm}^2$  groups in temperature controlled test (below  $37.0^\circ\text{C}$ ). That is, the growth curve goes down, rate of inhibition and time of generation increase. The degree of inhibition would increase when the medium temperature was not controlled. And, the mechanisms of thermal and nonthermal biological effects were discussed in this paper.

**Keywords** microwave, bioeffects, culture cell, thermal effects, nonthermal effects.