维普资讯 http://www.cqvip.com

第20卷 第2期 重庆医科大学学报 Vol. 20 No. 2
1995 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1995

③ 85-89 R692.405 R730.5

高能冲击波对人体肿瘤细胞损伤作用的研究

第一医院泌尿外科 王 明 何梓铭

A 提 要 高能冲击波(HESW)处理人体膀胱移行细胞癌(TCC)和人体胃腺癌细胞株(SGC－7901)后，发现两肿瘤细胞线粒体肿胀扩张，嵴扭曲变形，粗面内质网扩张脱颗粒；TCC之核染色质溶解，严重者核膜破裂，核内容物外溢。本组用电镜图象的立体定量法研究了不同条件冲击波与肿瘤细胞损伤程度的关系，结果显示HESW电压越高，肿瘤细胞受损越重，相同条件冲击波处理后TCC比SGC－7901受损更为显著。本实验表明HESW主要损伤肿瘤细胞重要的细胞器如线粒体、内质网等，干扰其代谢和功能，从而抑制其生长；HESW能量大小与肿瘤受损程度有关；HESW对不同肿瘤细胞的敏感性不同。

关键词 碎石术；肿瘤细胞；细胞毒性 高能冲击波，线粒体，内质网
中图分类号 R730.5

近年来国内外作者相继报道了高能冲击波(HESW)能在体内外杀伤各种类型的肿瘤细胞，但其作用部位和作用环节目前仍不太清楚[1,2,3,4]。为了解HESW对肿瘤细胞的作用部位和环节，本组以人体膀胱移行细胞癌(TCC)和人体胃腺癌细胞株(SGC－7901)为对象，观察了HESW对这些细胞损伤的超微结构改变。还用电镜图象的立体定量方法研

EFFECT OF TRIIODOTHYRONINE (T3) ON INSULIN SECRETION FROM CULTURED RAT PANCREATIC ISLETS IN VITRO

Li Zuoqiang. et al
Artificial Cells Research Laboratory. The First Hospital

The levels of insulin secretion from isolated rat pancreatic islets maintained in culture for 5 days in the presence of 1.54 or 15.4μmol/L T3 concentration were measured. Comparing with the control islets. both acute and chronic phases of glucose－induced insulin release from the islets treated with T3 (1.54umol/L) were significantly decreased at 11.1 or 22.2mmol/L glucose concentration in the culture medium. It suggested that T3 had a delay affect on the inhibition of glucose－induced insulin secretion from the isolated pancreatic islets under condition of a high extracellular concentration of glucose. and the change of insulin content in the islets may contribute to the alterations of glucose－induced insulin secretion in the presence of T3

KEY WORDS Pancreatic islets: Triiodothyronine: Insulin release: Insulin content

维普资讯 http://www.cqvip.com

究了 HESW 与肿瘤细胞损伤程度的关系。

1 材料和方法

1.1 肿瘤细胞悬液的制备

取手术切除的膀胱肿瘤标本约 0.5cm 直径大小（病理诊断为移行细胞癌 I－I 级），立即投入 RPMI1640 培养基中（含 10%胎牛血清），经冲洗，反复剪碎，过滤等程序制成细胞悬液。胃腺癌细胞株由本校生物学教研室提供，在 RPMI 1640 培养基中传代培养，待细胞布满瓶壁后，0.25%胰酶消化后制成细胞悬液，分别取上述细胞悬液分装于 5ml 聚丙烯试管中密封待用。

1.2 HESW 对肿瘤细胞悬液的处理

本组采用 JI－I 型水槽式碎石机。将细胞悬液试管底部固定于碎石机 F_2 上并浸入 36.8～37.2℃水浴中，同时将非处理对照组置于 F_2 旁 10cm 水浴中，分别以频率 40 次／分的 HESW 600 次／12KV、600 次／14KV 处理 TCC12 例次，SGC－7901 18 例次，处理毕的各组细胞悬液经离心制成细胞丸，并经系列预处理制成超薄切片，在透射电镜下观察各组细胞超微结构改变。

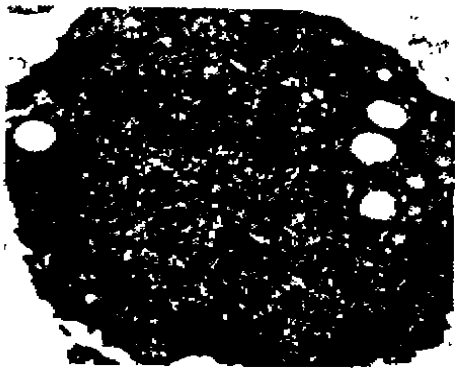
1.3 立体定量方法

本组采用正方型测试格点分析法测定各组细胞线粒体体密度（Vv）、病理线粒体面数密度（Na）及线粒体损伤率（Mr）。在电镜下各组细胞随机摄片 20 张（照片最终放大 4×10^4 倍），并将测试格叠印在照片上，按郑富盛法计数出 V_v、Na 及 Mr[3]。(1)线粒体 V_v 即为单位体积的胞质中线粒体所占的体积，以%表示。(2)病理线粒体 Na 即为单位胞质截面积内病理线粒体的截面数。本组以线粒体出现肿胀、嵴变短、扭曲或消失、线粒体基质密度降低等改变确定为病理线粒体。(3)线粒体 Mr 即为胞质截面中病理线粒体占总线粒体截面数的比例，以%表示。

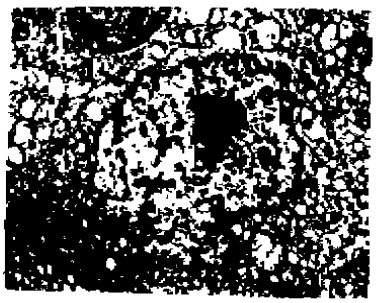
2 结 果

2.1 TCC 细胞的超微结构表现

非处理组细胞呈圆形、椭圆形，胞质中可见大量正常线粒体及粗面内质网，部分细胞可见高尔基体，胞核幼稚，含大量常染色质，部分胞核可见一个核仁见图$_{1A}$。经 HEWS 处理后的肿瘤细胞、胞质内线粒体明显肿胀扩张，其基质均匀变浅，嵴扭曲变形变短以至消失，严重者线粒体呈空泡状；粗面内质网扩张，其表面的多聚核蛋白体脱落甚至解聚；高尔基体受损不明显；部分细胞核常染色质溶解，偶见核膜破裂，核内容物外溢。12KV 组和 14KV 组比较两者的病理改变性质相似，仅见 12KV 组病变较轻，在受损的细胞中有部分正常的线粒体结构。见图$_{1B}$。



图$_{1A}$ 非处理组 TCC 细胞超微结构表现 HEMx5000



图$_{1B}$ 600 次／14KVHESW 处理后 TCC 超微结构表现 HEM×5000



图$_{2A}$ 非处理组 SGC－1901 细胞超微结构表现 HEM×5000

维普资讯 http://www.cqvip.com



图 2　600 次／14KV HESW 处理后 SGC－7901 细胞超微结构表现 HEM×5000

2.2 SGC－7901 细胞的超微结构表现

非处理组细胞呈多边形或椭圆形，表面有大量的微绒毛，胞质内含大量正常的线粒体和粗面内质网，亦见大量糖原颗粒，多数细胞可见高尔基体，少数细胞浆中可见数个髓样小体，胞核大呈椭圆形，含大量常染色质，核仁明显，部分细胞可见多个核仁。见图 2A。经 HESW 处理后的肿瘤细胞有明显的病理改变，细胞表面微绒毛大量肿胀断裂；胞质内线粒体明显肿胀扩张，嵴扭曲变形，严重者多个线粒体融合成大泡，乃至胞质呈块状脱落；粗面内质网亦扩张脱颗粒；部分胞质有液化样改变；细胞核的病理改变不明显。两处理组比较，病理改变性质相似，仅见 12KV 组病变略轻。见图$_{2B}$。

2.3 肿瘤细胞损伤程度的立体定量测定结果。

各组肿瘤细胞在透射电镜下所测线粒体 V_v. 病理线粒体 Na. 线粒体 Mr 及统计学处理（方差分析）见表 1、表 2、表 3。结果显示，Tcc 和 SGC—7901 经 HESW 处理后，其 Vv、Na、Mr 均高于非处理组（$P<0.01$）。12KV 和 14KV 组之间比较，除 SGC－7901 之 Vv 无明显差异外（$P>0.05$）其余 Vv、Na、Mr 均以 14KV 线显著高于 12KV 组（$P<0.01$）。TCC 和 SGC－7901 之 Mr 比较，TCCMr 明显大于 SGC－7901 之 Mr. 即 TCC 的线粒体损伤明显重于 SGC－790 细胞组。

表 1　HESW 对 TCC 细胞 Vv. Na. Mr 的影响（$\bar{x}\pm s$. $n=20$）

	非处理组（Ⅰ）	600 次／12KV 组（Ⅰ）	600 次／14KV 组（Ⅱ）
Vv（%）	11.10±2.84	15.50±3.10	21.58±2.68
Na（个／cm^3）	0.02±0.01	0.23±0.03	0.32±0.04
Mr（%）	4.58±2.41	68.17±11.10	89.45±7.53

注：各项指标：Ⅰ：Ⅱ，Ⅰ：Ⅱ，Ⅱ：Ⅱ之间均 $P<0.01$

表 2　HESW 对 SGC－7901 细胞 Vv. Na. Mr 的影响（$\bar{x}\pm s$. $n=20$）

	非处理组（Ⅰ）	600 次／12KV 组（Ⅰ）	600 次／14KV 组（Ⅱ）
Vv（%）	13.40±4.22	27.26±5.11	30.36±7.89
Na（个／cm^3）	0.02±0.01	0.16±0.09	0.35±0.15
Mr（%）	6.21±4.75	40.13±22.21	54.63±17.00

注：Vv 为 Ⅰ：Ⅱ、Ⅰ：Ⅱ之间 $P<0.01$：Ⅱ：Ⅱ之间 $P>0.05$

Na 及 Mr 为 Ⅰ：Ⅱ，Ⅰ：Ⅱ，Ⅱ：Ⅱ之间 $P<0.01$

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 3　HESW 对两肿瘤细胞 MR 的影响($\bar{x}\pm s$, $n=20$)

	移行细胞癌 Mr(%)	腺癌细胞株 Mr(%)	P 值
非处理组	4.58±2.41	6.21±4.75	>0.05
600 次／12KV 组	69.17±11.10	40.13±22.21	<0.01
600 次／14KV 组	89.45±7.53	54.63±17.00	<0.01

3　讨　论

HESW 作为一种特殊形式的声能，已成功地应用于尿石症的治疗，而且它对肿瘤的生物学效应也引起广泛注意。自 1985 年以来，国外较多文献报道了 HESW 能在体内外杀伤肿瘤细胞，抑制肿瘤细胞的生长，同时还能提高肿瘤细胞对抗癌药物的敏感性，国内也有类似报道。尽管如此，各学者认为 HESW 对肿瘤细胞的作用机理和作用环节仍不太清楚。

Russo 等[1]对前列腺癌细胞株的观察，发现 HESW 处理后有大量的细胞碎片形成，而相对完整的细胞内仅有线粒体肿胀变形，其他细胞器变化不明显。Loening 等[6]实验发现 HESW 对鼠前列腺癌细胞株的细胞质、细胞器和细胞核均有损伤作用。Randaxzzo 等[7]用人肾癌细胞株和正常人胚胎肾细胞株作为观察对象，经 HESW 处理后发现部分细胞膜破裂，线粒体失去正常结构和形态，胞核破裂并有染色质溶解，且肿瘤细胞的损伤程度明显重于正常的胚胎肾细胞，该作者认为 HESW 对肿瘤细胞有选择性细胞毒作用。

本组观察了 HESW 处理后的两种肿瘤细胞超微结构表现，发现 HESW 对 TCC 细胞和 SGC－7901 细胞的作用部位和上述作者报道的结果类似，主要病理改变集中表现在细胞的膜性结构受损，如线粒体肿胀扩张，粗面内质网扩张脱颗粒。由于线粒体是细胞功能活动的“供能站”，粗面内质网是细胞合成“蛋白质的主要场所，HESW 对这些细胞器的损害必将影响细胞的生长繁殖。本组发现 SGC－7901 各组细胞有少许髓样小体，可能是在细胞培养过程中形成的，与处理因素无关。

线粒体对各种细胞损害因素均很敏感，故常被认为是细胞受损的形态学标志。为了解 HESW 对这两种肿瘤细胞的损伤程度，本组用电镜图象立体定量方法比较了各组细胞线粒体 Vv，病理线粒体 Na 及线粒体 Mr 与不同条件 HESW 的关系，从而克服了传统的超微结构定性描述的不足，客观地比较了细胞结构量的变化。本组发现，两种肿瘤细胞 HESW 处理后 Vv、Na、Mr 均明显大于非处理组，除胃腺癌细胞株两处理组 Vv 无显著性差异外，其余各组细胞 Vv、Na、Mr 均随 HESW 电压的上升而增大(表 1、表 2)，说明 HESW 能量越大（通常 KV 代表 HESW 的能量大小)，线粒体受损数目越多 (Na 及 Mr 表示)，肿胀扩张越明显 (Vv 表示)，亦即细胞的损伤越显著。

本组亦比较了两种不同肿瘤细胞线粒体 Mr，发现相同条件冲击波处理后 TCC 细胞 Mr 明显大于 SGC－7901 细胞之 Mr(见表 3)，说明 TCC 细胞受损更为明显，从超微结构定性描述亦发现两肿瘤细胞病理改变有所差异，TCC 细胞核受损明显，可见染色质溶解，核膜破裂，而 SGC－7901 细胞核损害不明显。上述结果表明 HESW 对不同肿瘤细胞的作用部位不完全相同，不同类型的肿瘤细胞对 HESW 的敏感性亦不相同，这可能与细胞的生物学特性，分化程度等不同有一定关系。

维普资讯 http://www.cqvip.com

本组资料表明，HESW 能在体外杀灭肿瘤细胞，今后能否用于人类肿瘤治疗，有待进一步研究。

（本文承蒙电镜教研室及生物学教研室的支持与合作，作者谨表谢意。）

参 考 文 献

1. Russo. P.. et al. Surg forum. 1985: 36: 646:
2. Russo. P.. et al. J rol 1986. 135: 626
3. Berens. ME.. et al. J Urol 1989: 142: 1092
4. 除赐龄，等. 中华泌尿外科杂志 1989; 10: 224
5. 杭振镳，蔡文琴. 电子显微镜术在临床医学的应用 重庆出版社 1988; 74
6. Loening. SA.. et al. J Urol 1988: 139: 303A
7. Randaxzzo. RF.. et al. J Urol 1987. 137: 126A

（收稿日期 1994－09－10）

ULTRASTRUCTURAL CHANGE AND QUANTITATIVE STEREOLOGIC ANALYSIS OF HUMAN TRMOR CELLS AFTER HESW

Wang Ming. et al
Dept. of Urology. The First Hospital

The in vitro effects of high energy shock waves (HESW) on human bladder transitional cell carcinoma (Tcc) and gastric adenocarcinoma cell line (SGC－7901) were investigated. After exposure of the cell suspensions of the two tumor cells to HESW. their cell ultrastructures were oberved. The results demonstrated that mitochondria were swollen and contained distorted cristae; the rough endoplasmic reticula were dilated and degranulated and disaggregated. In order to indentify the degrees of cell－damaging. the mitochondria volume density (Vv). damaged mitochondria numerical density on area (Na) and mitochondria damage rate (Mr) were detected by quantitative stereologic analysis. We found that Vv. Na and Mr were higher than that of the control group and Mr of TCC was higher than that of SGC－7901. These findings indicate that HESW can kill human tumor cells by damaging the tumor cell organella and tumor cella are injured more seriously with increasing KV of HESW.

KEY WORDS Lithotriphy; Tumor cells; Cytotoxicity