

## SOD 对肿瘤细胞凋亡影响和抗氧化损伤的研究:

### III.SOD 对受分次照射的荷瘤小鼠肿瘤细胞脂质过氧化影响及分子机制

刘永彪<sup>1,2</sup> 赵杰<sup>2</sup> 刘颖<sup>2</sup> 郝兴芝<sup>2</sup> 王绪<sup>2</sup> 姚思德<sup>1</sup>

<sup>1</sup>(中国科学院上海应用物理研究所辐射技术应用中心 上海 201800)

<sup>2</sup>(徐州医学院肿瘤研究所 徐州 221002)

**摘要** 以荷瘤小鼠为动物模型,研究了全身照射下注射超氧化物歧化酶(SOD)对肿瘤细胞脂质过氧化、肿瘤组织端粒酶活性、肿瘤原癌基因 c-Jun 蛋白表达的影响。研究发现, SOD 能增加 S<sub>180</sub> 肉瘤及 Lewis 肺癌组氧化产物丙二醛(MDA)含量,降低 S<sub>180</sub> 肉瘤谷胱甘肽(GSH)含量及血清超氧化物歧化酶总活力(T-SOD)、匀浆谷胱甘肽过氧化物酶(GPX-Px)活力;降低 Lewis 肺癌组 GPX-Px 及 T-SOD 活力,不影响 GSH 含量;降低 H<sub>22</sub> 肝癌组 GPX-Px 的活力,不影响 MDA、GSH 含量及 T-SOD 活力。SOD 明显降低接受电离辐射的 S<sub>180</sub> 肉瘤及 H<sub>22</sub> 肝癌荷瘤小鼠肿瘤组织中端粒酶的阳性表达率,减少原癌基因 c-Jun 蛋白在 S<sub>180</sub> 肉瘤、Lewis 肺癌荷瘤鼠中的表达。这一辐射增敏作用因肿瘤的种类而不同,可能与 SOD 在不同肿瘤中对癌基因 c-Jun 蛋白表达和端粒酶活性影响及药物在不同器官的代谢差异有关。

**关键词** 超氧化物歧化酶, 荷瘤小鼠, 辐射敏感性, 原癌基因 c-Jun, 端粒酶

**中图分类号** R811.5

放射疗法治疗恶性肿瘤的放射生物学效应之一,是电离辐射作用于生物体所产生活性氧自由基作用于氧化产物丙二醛(MDA)与生物膜,但脂类过氧化在辐射所致生物膜损伤的机理中可能起主要作用。活性氧(Reactive oxygen species, ROS)是指 O<sub>2</sub><sup>-</sup>、·OH、<sup>1</sup>O<sub>2</sub>、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和脂质过氧化的中间产物脂质过氧化物(LPO)。它们进攻多聚不饱和脂肪酸导致生物膜结构和功能的改变,氧化损伤蛋白质的巯基和氨基可使蛋白质变形、交联、使酶失活,损伤 DNA 可导致细胞突变<sup>[1]</sup>。长期以来,人们对癌组织中的超氧化物歧化酶(SOD)进行了大量的研究。发现,癌组织中的 SOD、过氧化氢酶(CAT)和维生素 E 的含量均明显低于正常组织,而且癌组织中的脂质过氧化物水平较高<sup>[2]</sup>,可以通过抑制 SOD 的活性,增加癌细胞对活性氧的敏感性而杀死肿瘤细胞。相反,如注入 SOD,在对正常生物组织发挥抗辐射损伤保护作用的同时,对受照射的肿瘤组织生长是具有抑制还是促进作用很少有文献报道。本工作以荷瘤小鼠为动物模型,研究了全身照射下注入 SOD 对肿瘤细胞脂质过氧化、肿瘤组织端粒酶活性、肿瘤原癌基因 c-jun 蛋白表达的影响,探讨 SOD 对 H<sub>22</sub> 肝癌、Lewis 肺癌、S<sub>180</sub> 肉瘤 3 种不同皮下荷瘤

小鼠肿瘤组织辐射敏感性的影响及分子生物学机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

1.1.1 Lewis 肺癌 C<sub>57</sub> 荷瘤小鼠 S<sub>180</sub> 肉瘤腹水型昆明种荷瘤小鼠, H<sub>22</sub> 肝癌腹水型昆明种荷瘤小鼠 3 种,种鼠由中国医学科学院药物所提供; C<sub>57</sub> 健康小鼠(体重(20±2)g, 6—8 周龄,均为雄性)购于中国医学科学院实验动物研究所。健康昆明种小鼠(体重(20±2)g, 6—8 周龄,均为雄性)由徐州医学院实验动物中心提供。

1.1.2 3 种荷瘤小鼠动物模型的建立 无菌条件下抽取腹腔内传代的 S<sub>180</sub> 肉瘤及 H<sub>22</sub> 肝癌荷瘤小鼠的腹水,以生理盐水稀释,调至细胞浓度约 1×10<sup>7</sup>/mL,取细胞悬液 0.2mL,于小鼠右腋下皮下接种。无菌条件下取 Lewis 肺癌荷瘤鼠瘤组织,称瘤重,研磨碎后,以瘤重(g):生理盐水(mL)=1:2 稀释,制备成细胞悬液,调至细胞浓度约 1×10<sup>7</sup>/mL,取细胞悬液 0.2mL,于 C<sub>57</sub> 小鼠右腋下皮下接种。小鼠皮下分别接种上述 3 种肿瘤细胞后 10—14d,肿瘤直径约 1 cm 大小,开始分组并接受照射及给药。

江苏省教委自然科学基金(98KJD320014)部分资助

第一作者:刘永彪,男,1963 年 8 月出生,1999 年在苏州大学获硕士学位,副教授,副主任医师,放射医学肿瘤学专业,现为中科院上海应用物理研究所在职博士

收稿日期:初稿 2003-10-13,修回 2003-12-23

1.1.3 给药方法 3 种荷瘤鼠分别随机分为三组：照射对照组、放疗前给药组和放疗后给药组，每组动物数为 6 只。SOD 由猪血纯化而得，比活性为  $5 \times 10^6 \text{U/g}$ ，实验前采用黄嘌呤氧化法测定比活性，苏州大学放射与环卫学院江家贵教授惠赠。在每次照射前或照射后 2h 腹腔注射 SOD，剂量为  $250 \text{U/mg/d}$ ，连续 5d，用前用生理盐水稀释至  $1 \times 10^7 \text{U/L}$ 。

1.1.4 动物处理 于末次照射结束后 2h，脱髓法处死动物。取肿瘤组织（尽量避开坏死组织）制备肿瘤组织匀浆。

## 1.2 照射条件

医用直线加速器（Siemens, USA）6MV X 射线对小鼠进行全身照射，源皮距 100cm，剂量率为  $1 \text{Gy/min}$ ，剂量分割为  $1 \text{Gy/f/d} \times 5 \text{d}$ 。（每天照射一次，每次 1Gy，连续 5d）。

## 1.3 脂质过氧化程度有关指标的测定<sup>[3,4]</sup>

测定肿瘤组织匀浆蛋白含量应用硫代巴比妥酸钠（TBA）荧光法测定肿瘤组匀浆的 MDA 含量。应用黄嘌呤氧化酶法及化学比色测定肿瘤组织血清超氧化物歧化酶总活力（T-SOD）活力。应用二硫代二硝基苯甲酸与巯基化合物有色反应法测定肿瘤组织匀浆谷胱甘肽（GSH）含量。应用双底物偶联动力学法测定肿瘤组织匀浆谷胱甘肽过氧化物酶（GPX-Px）含量。

## 1.4 端粒酶活性测定

采取 TRAP-Hyb Kit 方法定性检测。

1.4.1 端粒酶提取 脱髓法处死小鼠后，无菌条件下解剖切除肿瘤组织样品 30mg，经磷酸盐缓冲液（PBS）或生理盐水漂洗， $4^\circ\text{C}$ ， $10000 \text{r/min}$  离心 1min，弃上清液，将沉淀组织用小手术剪刀切成碎片，加入  $150 \mu\text{L}$  洗液洗涤，同上条件离心 1min，弃洗液沉淀加入  $50 \mu\text{L}$  裂解液悬浮，置冰浴 30min， $4^\circ\text{C}$ ， $14000 \text{r/min}$  离心 20min，取上清  $2 \mu\text{L}$  做端粒序列检测扩增（TRAP）反应模板。

1.4.2 端粒重复序列扩增 取 TRAP 反应管，各加入  $45 \mu\text{L}$  反应混合物，并加  $2 \mu\text{L}$  处理的标本，混匀，加入  $30 \mu\text{L}$  液体石蜡，离心数秒，置  $25^\circ\text{C}$  水浴保温 30min，取出即可在聚合酶链式反应（PCR）仪上循环。

$94^\circ\text{C}$  120s

$94^\circ\text{C}$  30s

$48^\circ\text{C}$  30s

$72^\circ\text{C}$  90s

$72^\circ\text{C}$  300s

} 35 次循环

1.4.3 产物杂交检测 第 1 次反应：PCR 循环结束后，取出微孔板，在各孔中加入  $100 \mu\text{L}$  杂交反应液 B。取  $50 \mu\text{L}$  杂交液 A 于每个 PCR 扩增产物管中，混匀，分别取  $25 \mu\text{L}$  加到微孔板各孔中，混匀，设立阴阳对照，置  $37^\circ\text{C}$  恒温反应 60min。第 2 次反应：每孔加入  $100 \mu\text{L}$  杂交反应液，置  $37^\circ\text{C}$  恒温反应 15min。

1.4.4 结果判定 波长为  $450 \text{nm}$  读取 OD 值。阴性对照 OD 值低于 0.05 时按 0.05 计算，高于 0.05 时按实际 OD 值计算。样本 OD 值大于或等于阴性对照 OD 值的 2.1 倍时，判为端粒酶活性阳性。

1.4.5 统计分析 应用秩和检验，查表计算  $p$  值。

## 1.5 应用二步法免疫组化检测试剂检测 Lewis 肺癌、H<sub>22</sub> 肝癌两种肿瘤组织中 c-Jun 蛋白表达

1.5.1 标本收集及处理 于照射结束后 2h，脱髓法处死小鼠，取各组小鼠肿瘤组织，以 10% 中性福尔马林固定，常规制备石蜡切片。

1.5.2 PV-6001/6002 试剂盒 DAB 酶底物显色试剂盒购于北京中山生物技术有限公司；c-Jun 鼠源性单克隆抗体购自美国 Santa Cruz Biotechnology, Inc. PV-6001/6002 试剂盒使用某些有机单体小分子将小鼠的免疫球蛋白与过氧化物酶联结成多聚体形式，使每一个抗体分子与多个酶分子相连，替代传统方法中的二抗和三抗，直接放大抗原抗体结合的信号，可以将位于人和动物的组织切片和细胞涂片上的抗原定位。与传统的链霉卵白素（SP）三步法相比，此试剂盒具有简单、快速、敏感等特点，因为系统中不再使用生物素，所以避免了由于内源性生物素所造成的背景染色。

1.5.3 结果判定 光镜下 c-Jun 染色阳性的细胞胞浆及核膜呈棕黄色，边界清晰；双盲法随机观察 10 个高倍视野，根据阳性细胞所占比例， $<10\%$  为 +， $10\%—50\%$  为 ++， $>50\%$  为 +++。阳性对照为购买的 c-Jun 阳性对照片；阴性对照：用 PBS 代替一抗。

## 1.6 统计方法

肿瘤细胞脂质过氧化程度有关指标的测定数据

用均数±标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组比较应用 SPSS 软件的 *T* 检验, 3 组比较应用 SPSS 软件的方差分析, 对各组数据进行组间差异显著性比较。端粒酶活性测定应用秩和检验, 查表计算 *p* 值。c-Jun 蛋白表达统计应用 SPSS 统计的软件卡方分析法。

## 2 结果

### 2.1 注射 SOD 对照射的 S<sub>180</sub> 肉瘤荷瘤小鼠肿瘤细胞脂质过氧化的影响

如表 1 所示, 照射前给药组和单纯照射组比较, 肿瘤组织中 MDA 含量明显增加 ( $p=0.006<0.01$ ), GSH、GSH-PX 含量及 T-SOD 活力都明显下降

( $p \leq 0.01$ ); 放射后给药组与单纯照射对照组相比, 肿瘤组织中 MDA 含量增加, GSH、GSH-PX 含量下降 ( $p \leq 0.05$ ), T-SOD 活力明显降低, 差异显著 ( $p=0.01$ )。而照射前给药组与照射后给药组相比, 仅 GSH 含量降低有显著差异 ( $p<0.05$ ), 而 MDA 含量, GSH-PX、T-SOD 活力均无显著差异 ( $p>0.05$ )。结果说明, 照射前后注射同等剂量 SOD 均能增加受辐射的 S<sub>180</sub> 肉瘤荷瘤小鼠肿瘤细胞的脂质过氧化, 降低多种超氧化物酶的含量及总超氧化物酶活力, 即照射前后注射 SOD 对接受分次放疗的 S<sub>180</sub> 肉瘤荷瘤小鼠肿瘤细胞具有辐射增敏作用, 统计学均有显著差异。照射前用药稍好于照射后用药, 但统计学无显著差异。

**Table 1 The effect of SOD on T-SOD, GSH and GSH-Px and content of MDA in tumors of radiated S180 sarcoma tumor-bearing mice** ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

S <sub>180</sub> sarcoma	MDA(n mol/mg prot)	T-SOD(NU/mg prot)	GSH(mg/mg prot)	GSH-PX(U/mg prot)
Radiation Control	11.6380±3.2864	1.3920±0.4376	31.8240±7.6170	116.5180±28.4678
Before radiation+ SOD	20.1167±5.1529 <sup>(1)</sup>	0.2167±0.4092 <sup>(1)</sup>	14.4417±3.4749 <sup>(1)</sup>	60.4167±22.0965 <sup>(1)</sup>
After radiation+ SOD	18.0500±4.3012 <sup>(2)</sup>	0.7617±0.1284 <sup>(1)</sup>	25.7117±5.5510 <sup>(2)</sup>	82.4967±9.4532 <sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> $p<0.01$ , vs radiation control, <sup>(2)</sup> $p<0.05$  vs radiation control

### 2.2 注射 SOD 对接受分次照射的 Lewis 肺癌荷瘤小鼠肿瘤细胞脂质过氧化的影响

由表 2 说明, 与单纯照射组相比, 照射前给药组肿瘤组织中 MDA 含量明显增加, T-SOD 活力降低, 有显著差异 ( $p<0.05$ ), GSH-PX 活力下降更明显 ( $p<0.01$ ), GSH 含量也有下降, 但两组比较,

统计学无显著差异 ( $p>0.05$ )。结果说明, 照射前注射 SOD 能协同增加受辐射的 Lewis 肺癌荷瘤小鼠肿瘤细胞的脂质过氧化程度, 降低 GSH-PX 及总超氧化物酶活力, 对 GSH 含量变化无明显影响。注射 SOD 对接受分次放疗的 Lewis 肺癌荷瘤小鼠肿瘤细胞具有辐射增敏作用, 统计学有显著差异。( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ )。

**Table 2 The effect of SOD on T-SOD, GSH and GSH-Px and content of MDA in tumors of radiated Lewis lung cancer tumor-bearing mice** ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Lewis lung cancer	MDA(n mol/mg prot)	T-SOD(NU/mg prot)	GSH(mg/mg prot)	GSH-PX(U/mg prot)
Radiation control	25.04±7.87	32.59±7.51	26.81±5.04	83.66±9.90
Before radiation +SOD	40.66±10.01 <sup>(2)</sup>	18.75±3.34 <sup>(1)</sup>	22.37±6.93 <sup>(2)</sup>	53.45±10.1 <sup>(1)</sup>
After radiation +SOD	28.58±8.26	24.68±5.77 <sup>(2)</sup>	24.42±4.88	62.43±8.78 <sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> $p<0.01$ , vs radiation control, <sup>(2)</sup> $p<0.05$  vs radiation control

### 2.3 注射 SOD 对照射的 H<sub>22</sub> 肝癌荷瘤小鼠肿瘤细胞脂质过氧化的影响

照射前后给药组分别与照射对照组相比, 肿瘤组织中 GPX 含量明显下降, 差异显著 ( $p<0.05$ ), 而 MDA 含量的增加, GSH 含量、T-SOD 活力的下降均无统计学差异 ( $p>0.05$ )。照射前给药组与放射

后给药组相比, MDA、GSH 含量, GSH-PX、T-SOD 活力变化均无显著差异 ( $p>0.05$ ), 其结果列于表 3 中。说明, 照射前后注射 SOD 仅降低受辐射的 H<sub>22</sub> 肝癌荷瘤小鼠肿瘤细胞 GPX 的含量, 不影响其他超氧化物酶和丙二醛含量, 对接受分次放疗的 H<sub>22</sub> 肝癌荷瘤小鼠肿瘤细胞的脂质过氧化影响不显著, 所以无明显辐射增敏作用。

**Table 3 The effect of the drug SOD on T-SOD,GSH and GSH-Px and content of MDA in tumors of radiated H<sub>22</sub> hepatocarcinoma tumor-bearing mice** ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

H <sub>22</sub> hepatocarcinoma	MDA(n mol/mg prot)	T-SOD(NU/mg prot)	GSH(mg/mg prot)	GSH-PX(U/mg prot)
Radiation control	1.29±0.13	79.71± 41.22	630.71± 129.60	37.84±4.90
Before radiation+SOD	1.45±0.20	76.53± 14.77	467.03±118.22	27.23±6.63 <sup>(1)</sup>
After radiation+SOD	1.61±0.19	69.34± 17.31	525.20±105.51	30.65±2.58 <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> $p<0.05$ , vs radiation control

#### 2.4 SOD 对 H<sub>22</sub> 肝癌、S<sub>180</sub> 肉瘤、Lewis 肺癌荷瘤小鼠肿瘤组织端粒酶活性的影响

H<sub>22</sub> 肝癌照射前给药组和照射后给药组与对照组相比, 两组的端粒酶活性表达均降低, 经秩和检验统计学有显著差异。 $(p<0.05)$ , 给药两组比较无差异 $(p>0.05)$ 。S<sub>180</sub> 肉瘤照射前给药组和照射后给

药组与对照组相比, 两组的端粒酶活性表达均明显降低, 经秩和检验统计学有显著差异(见表 4)。 $(p<0.05)$ , 给药两组比较无差异 $(p>0.05)$ 。SOD 对接受电离辐射的 Lewis 肺癌荷瘤小鼠肿瘤组织中端粒酶活性表达无影响 $(p>0.05)$ 。

**Table 4 Different effects of SOD on the activity of telomerase in three kinds of irradiated tumors (%)** ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Telomerase	Radiation	SOD+Before radiation	SOD+ After radiation
Lewis lung cancer	66.70%	66.70%	66.70%
S <sub>180</sub> Sarcoma	66.70%	33.30% <sup>(1)</sup>	33.30% <sup>(1)</sup>
H <sub>22</sub> hepatocarcinoma	50%	16.70% <sup>(1)</sup>	33.30% <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> $p<0.05$ , vs radiation

#### 2.5 SOD 对原癌基因 c-Jun 蛋白在不同肿瘤组织中的表达具有不同影响

接受全身照射后癌基因表达结果列于表 5。S<sub>180</sub>

肉瘤荷瘤、Lewis 肺癌荷瘤鼠 SOD 组肿瘤细胞 c-Jun 表达水平较对照组低 $(p<0.05)$ , H<sub>22</sub> 肝癌荷瘤鼠两组肿瘤细胞 c-Jun 表达水平未见明显差异 $(p>0.05)$ 。

**Table 5 Different effects of SOD on the expression of c-Jun in three kinds of irradiated tumors (%)** ( $n=6$ )

c-Jun	Lewis lung cancer	S <sub>180</sub> Sarcoma	H <sub>22</sub> hepatocarcinoma
Radiation	60	51	31
SOD+Before Radiation	36 <sup>(1)</sup>	33 <sup>(1)</sup>	29
SOD+ After Radiation	41 <sup>(1)</sup>	34 <sup>(1)</sup>	27

<sup>(1)</sup> $p<0.05$ , vs control

腹腔注射 SOD 对接受分次放疗的 S<sub>180</sub> 肉瘤和 Lewis 肺癌荷瘤小鼠肿瘤细胞具有辐射增敏作用, 差异显著。照射前用药稍好于照射后用药, 但统计学无显著差异。腹腔注射 SOD 对接受分次放疗 H<sub>22</sub> 肝癌荷瘤小鼠肿瘤细胞辐射增敏作用不显著。

### 3 讨论

目前关于放疗中抗氧化剂的使用存在两种截然

相反的假说。一种理论认为放疗过程中使用抗氧化剂, 可以通过增加抗肿瘤免疫反应和减轻对正常细胞的辐射毒性来提高放疗的功效; 另一种理论认为放疗时不应该使用抗氧化剂, 因为它对肿瘤组织也具有辐射保护作用<sup>[3]</sup>。为此有人进行离体实验, 分别用抑制剂 DDC 抑制 Cu-ZnSOD, 用氨基三唑抑制 CAT, 用 BSO、DMF 双重抑制 GSH 后, 发现均能使活性氧对癌细胞的杀伤增敏<sup>[4,5]</sup>。整体全身照射

实验与离体有显著的不同,在我们的研究中 SOD 是通过腹腔注入小鼠体内的,根据 SOD 药代动力学判断,照射过程应该在药效期。但是, SOD 在 3 种荷瘤小鼠肿瘤内的分布、富集浓度仍然是个未知数,这是一个非常关键的问题。从 3 种肿瘤照射后脂质过氧化产物 MDA 的量,较对照组高这一点出发,可以推测作为抗氧化剂的 SOD 没有发挥应有的抗氧化作用,可以解释为肿瘤组织中 SOD 的浓度是非常低的。不过,把荷瘤小鼠肝癌的 MDA 增加量和另外两种肿瘤的相比要小得多,考虑到肝是净化血液的主要器官之一, SOD 在肝中总会有一定的滞留量,可能这少量的 SOD 就发挥了清除自由基的作用。

另一方面,对于正常组织而言,在注入外源性 SOD 后,经照射可诱发内源性抗氧化剂 GSH、GSH-PX 及 T-SOD 分泌增加。对肿瘤而言,实验结果表明这些内源性抗氧化剂的分泌减少。可以从两个方面进行推测:一是 SOD 对正常组织酶的刺激作用和肿瘤不一样;二是免疫系统增殖导致肿瘤组织活性氧爆发<sup>[6,7]</sup>,显著消耗了肿瘤组织中的内源性抗氧化剂。

由此可见, SOD 对荷瘤小鼠辐射增敏作用与肿瘤的种类相关,其实质可能和 SOD 在肿瘤组织中的代谢浓度有关;辐射增敏的主要原因是免疫系统在注入 SOD 后经照射诱发增殖,导致免疫系统对肿瘤细胞的杀灭,同时并不排斥 SOD 经照射刺激酶的表达活性,导致在正常和肿瘤组织中内源性抗氧化剂的分泌水平有大差异的可能性。

诚然,注入外源性 SOD 的吸收代谢过程、起始作用浓度,靶细胞内的作用点及作用于生物大分子的本质研究有待进一步深入。

端粒酶活性水平与细胞分化程度、转移及辐射敏感性都有着密切关系。接受电离辐射后,在合成端粒 DNA 和肿瘤细胞生长分化过程中起重要作用的端粒酶的活性明显下降,提示电离辐射对端粒酶活性的抑制是肿瘤放射治疗的重要机制之一<sup>[8,9]</sup>。Wong 等<sup>[10]</sup>进行裸鼠荷瘤实验结果表明:电离辐射显著降低端粒酶活性及 hTERT 表达,其机制不能仅仅以凋亡或坏死学说解释,但放疗后端粒酶活性的降低可促成细胞的死亡。因此,端粒酶活性测定是评价放疗效果和早期预测结果的有效的指标<sup>[11]</sup>,端粒功能与端粒长度的变化可以作为评价染色体辐射敏感度的指标<sup>[12]</sup>。本实验研究表明,给 H<sub>22</sub> 肝癌和 S<sub>180</sub> 肉瘤荷瘤小鼠注射一定剂量 SOD,能明显降低接受电离辐射的荷瘤小鼠肿瘤组织中端

粒酶活性表达。SOD 可能通过调节端粒的功能,协同促进肿瘤细胞凋亡。而照射前 1h 还是照射后 1h 给药两组端粒酶活性无差异,说明该实验设计的时间对结果无影响。而相同剂量的 SOD 对接受电离辐射的 Lewis 肺癌荷瘤小鼠肿瘤组织中端粒酶活性表达无影响,与对照组比较没有显著差异,其原因有待深入研究。

Jun 和 fos 家族原癌基因与 myc 家族基因有相似的序列、结构,均编码核结合蛋白和短的半衰期。Sawant<sup>[13]</sup>等用亚硝基二乙胺诱发 AKR 小鼠建立肺癌荷瘤小鼠模型进行动物实验。结果在所有肺肿瘤组织中均有 c-myc 和 c-Jun 原癌基因蛋白的表达,而 c-myc 蛋白的表达较 c-Jun 稍强。在给予相应的药物治疗后两者表达呈下降趋势,表明 c-myc 与 c-Jun 蛋白的表达与荷肿瘤的 AKR 小鼠肿瘤的发生发展密切相关。有资料表明 SOD 对不同肿瘤细胞生长的影响与细胞内基因表达的调节不同有关,其中与 c-Jun、c-myc、c-fos 基因关系密切<sup>[14,15]</sup>。本实验结果揭示了 SOD 可能改变了肿瘤细胞中 c-Jun 基因的表达状态,因此影响了肿瘤细胞的辐射敏感性。但 SOD 如何影响癌基因产物的表达以及 SOD 对其它肿瘤的影响还须进一步探讨。

#### 参考文献

- 1 Rodgers M A J, Powers E L. Oxygen and Oxy-radicals in Chemistry and Biology, New York: Academic Press, 1981.
- 2 Burdon R H. Free Radic Biol Med, 1995, 18: 775-794
- 3 刘永彪,刘颖,赵杰等. 辐射研究与辐射工艺学报, 2004, 22(2): 114-122  
LIU Yongbiao, LIU Ying, ZHAO Jie *et al.* J Radiat Res Radiat Proces, 2004, 22(2): 114-122
- 4 刘永彪,刘颖,赵杰等. 辐射研究与辐射工艺学报, 2004, 22(3): 165-170  
LIU Yongbiao, LIU Ying, ZHAO Jie *et al.* J Radiat Res Radiat Proces, 2004, 22(3): 165-170
- 5 Prasad K N, Cole W C, Kumar B *et al.* Cancer Treat Rev, 2002, 28(2): 79-91
- 6 刘道全,刘德梅主编. 活性氧治疗癌症,北京:原子能出版社,1999. 65-80  
LIU D Q, LIU D M chief editor. Reactive Oxygen Species Treatment Cancer, Beijing: Atomic Energy Press, 1999. 65-80
- 7 Durken M, Hermring C, Finckh B *et al.* Free Radic Biol Med, 2000, 28(6): 887-894
- 8 Okamoto M, Ohe G, Furuichi S *et al.* Anticancer Res, 2002, 22(6A): 3229-3239

- 9 Vujaskovic Z, Batinic-Haberle I, Rabbani Z N. A Small Molecular Weight Catalytic Metalloporphyrin Antioxidant With Superoxide Dismutase 2002, **178**(12): 701-708
- 10 Wong K K, Chang S, Weiler S R *et al.* Nat Genet, 2000, **26**(1): 85-88
- 11 Slijepcevic P, Bryant P E. Int J Radiat Biol, 1998, **73**(1): 1-13
- 12 Schuck A, Poremba C, Lanvers C *et al.* Strahlenther Onkol, 2002, **178**(12): 701-708
- 13 Sawant S G, Gregoire V, Dhar S *et al.* FASEB J, 1999, **13**(9): 1047-1054
- 14 Finnon P, Wong H P, Silver A R *et al.* Int J Radiat Biol, 2001, **77**(12): 1151-1162
- 15 Giri R K, Baral R N, Das B R. Cancer Lett, 1997, **112**(1): 57-63

## The studies of effect on tumor cell apoptosis with SOD and its anti-oxidation effect

### III. The effect of SOD on lipid peroxidation of tumor cell of tumor-bearing mice under fractional irradiation

LIU Yongbiao<sup>1,2</sup> ZHAO Jie<sup>2</sup> LIU Ying<sup>2</sup> HAO Xingzhi<sup>2</sup> WANG Xu<sup>2</sup> YAO Side<sup>1</sup>

<sup>1</sup> (Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800)

<sup>2</sup> (The Xu Zhou Medical Univesit, Xuzhou 221002)

**ABSTRACT** In this paper the effect of injury of SOD on lipid peroxidation of tumor cell, telomerase activities in tumor tissues, expression of protooncogene c-Jun pretein were been studied with irradiated tumor-bearing mice. It has been found that content of MDA increased in S<sub>180</sub> sarcom group and Lewis lung cancer group in situation of SOD injury while the content of GSH, GPX and activity of T-SOD decreased For former and with no change of GSH for later. It has also been found that SOD can reduce the telomerase activities in S<sub>180</sub> and H<sub>22</sub> and expression of protooncogene c-Jun in S<sub>180</sub> sarcom, Lewis lung cancer tumor tissues. The radiosensitivity of SOD may have some relationship with the effect on expression of protooncogene c-Jun and telomerase activities, and metabolism of SOD in different kinds of tumor.

**KEYWORDS** Superoxide dismutase, Tumor-bearing mice, Radiosensitivity, Rotooncogene c-Jun, Telomerase  
CLC R811.5