

SOD 对肿瘤细胞凋亡影响和抗氧化损伤的研究：

II. SOD 对荷瘤小鼠脾淋巴细胞的辐射防护效应

刘永彪^{1,2} 刘颖² 赵杰² 郝兴芝² 王绪² 姚思德¹

¹ (中国科学院上海应用物理研究所 上海 201800)

² (徐州医学院肿瘤研究所 徐州 221002)

摘要 以受照射荷瘤小鼠为实验对象,研究外源性超氧化物歧化酶(SOD)对荷瘤小鼠脾淋巴细胞分化、增殖、亚群间调节的影响,测定了抗氧化酶活性和氧化还原产物含量,观察了SOD对荷瘤小鼠脾脏超微结构的影响,同时检测SOD对射线杀伤肿瘤细胞效应的影响。结果显示,SOD能够促进受全身照射的H₂₂肝癌荷瘤小鼠淋巴细胞分化、增殖及亚群间调节,同时增加脾脏组织中GSH-Px、T-SOD活力和GSH含量,降低MDA含量,并提高其免疫活性;SOD可明显减轻电离辐射对荷瘤小鼠脾淋巴细胞超微结构的破坏,并通过延迟S期时相对改变其细胞周期。实验结果提示,SOD通过清除自由基降低ROS浓度,减轻脾淋巴细胞脂质过氧化,延迟脾淋巴细胞S期时相而提高其辐射抗性,同时SOD可提高抗氧化酶活性,并通过影响细胞凋亡信号转导途径,进而影响细胞凋亡基因的表达。

关键词 超氧化物歧化酶,荷瘤小鼠,淋巴细胞亚群,辐射防护,脂质过氧化

中图分类号 R811.5

电离辐射作用于机体均能产生超常量的超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$),导致细胞膜蛋白变性,不可避免地受照射机体造成辐射损伤。如何尽可能减轻正常组织(尤其是免疫系统)的辐射损伤,是肿瘤放射治疗必须解决的关键问题。生物的辐射抗性除与本身DNA损伤修复能力有关外,还与体内所含氧化保护酶(SOD、GSH-Px、CAT)有关^[1]。Inouye^[2]等就超氧化物歧化酶(SOD)对电离辐射损伤单个细胞的保护作用进行了研究,观察到SOD可减轻 γ 射线或X射线造成的脂质、微粒体与肝匀浆的过氧化。他们认为SOD清除了 $O_2^{\cdot-}$,从而减少了 $O_2^{\cdot-}$ 的歧化产物 H_2O_2 ,继而使 $\cdot OH$ 产生受阻。Petkan首先研究了SOD对造血干细胞辐射损伤的保护效果^[3],国内亦有实验证实SOD能保护骨髓系干细胞的辐射损伤。有实验表明,SOD可使白细胞和红细胞下降的程度减轻,而且可促进5.5Gy与6.75Gy照射后小鼠的外周血中白细胞的恢复。国内外学者均证明,SOD确可提高全身照射小鼠的存活率^[4]。

众多的研究表明,细胞内活性氧(ROS)参与免疫细胞的增殖、激活以及一些淋巴因子所介导的对肿瘤细胞的杀伤,ROS对每一过程的调节作用因免疫细胞的种类不同而存在很大差异,近年研究显

示,免疫系统的不同功能对ROS的敏感性也不同^[4]。淋巴细胞作为主要的免疫细胞主要分为T细胞、B细胞和NK细胞3种亚型,而且淋巴细胞是辐射敏感性最高的细胞之一。恶性肿瘤患者机体免疫功能与正常生理状态不同,更重要的是肿瘤患者在放疗和化疗过程中机体免疫功能下降。因此,研究ROS清除剂SOD是否具有保护受照射荷瘤鼠免疫系统功能,有重要的临床意义和应用价值。本实验以荷瘤小鼠为实验对象,对小鼠进行全身X线照射,测定药物SOD对受照射荷瘤小鼠脾淋巴细胞增殖分化、以及对脾组织中脂质过氧化的指标T-SOD、GSH、GSH-Px及MDA等的影响,并从小鼠脾脏超微结构变化和脾淋巴细胞功能两方面探讨SOD对荷瘤鼠免疫系统是否具有抗辐射效应。

1 材料和方法

1.1 肿瘤动物模型

U14 宫颈癌腹水型动物模型的建立,种鼠由上海医药工业研究院实验动物中心提供。实验动物为健康BALB/c小鼠,6—8周龄,体重(20±2)g,由上海实验动物中心提供。小鼠皮下接种肿瘤细胞后10—14d肿瘤约1cm大小时间开始进行分组实验。

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读博士

收稿日期:初稿2003-10-13,修回2003-12-23

H₂₂ 肝癌荷瘤小鼠动物模型的建立, H₂₂ 肝癌腹水型昆明种荷瘤小鼠种鼠由中国医学科学院药物所提供。实验动物为健康昆明种小鼠, 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。小鼠皮下接种肿瘤细胞后 10—14d, 肿瘤直径约 1cm 大小, 分组并接受照射及给药处理。

1.1.1 动物分组 按实验要求将荷瘤鼠随机分组: 对照组、单纯照射组、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 5×10^6 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 $250 \text{ U mg}^{-1} \text{ d}^{-1}$, 连续 5d, 用前用生理盐水稀释至 1×10^7 U/L。

1.2 照射条件

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

1.3 脾淋巴细胞亚群的分离和鉴定

淋巴细胞增殖分化及亚群细胞间的相互调节, 用经改良并常规应用的实验方法^[5,6]。用 Panning 法分离淋巴细胞亚群, 应用台盼蓝拒染法测定细胞存活率, ³H-Tdr 掺入法测定淋巴细胞亚群细胞间的相互调节。

1.4 流式细胞仪行脾淋巴细胞增殖和细胞周期分析^[7]

凋亡细胞在流式细胞仪 DNA 直方图上呈特征性的亚二倍体 (亚 G₁) 峰。以正常人的外周血淋巴细胞为正常二倍体标准, 根据测定的 DNA 组方图, 用 CELLQUEST 分析软件分析 Hela 细胞的凋亡指数 (Apoptosis Index, AI) 和细胞增殖指数 (Proliferation Index, PI)。

1.5 用 ³H-TdR 掺入法测定各组荷瘤鼠脾淋巴细胞不同亚群对宫颈癌 U14 细胞自然杀伤作用

1.5.1 靶细胞制备 在无菌条件下抽取传代荷瘤鼠腹水, 用 10% FBS1640 培养液 10mL 稀释, 1500r/min 离心 10min, 再用 RPMI1640 培养液调细胞浓度为 1.5×10^8 /L, 取 1mL U14 细胞悬液分别接种于培养皿中, 置于 37℃、5%CO₂ 孵箱中继续培养, 待次日进行淋巴细胞自然杀伤 (NK) 实验。

1.5.2 取对数生长期的 U14 细胞 加入 ³H-TdR

1.2×10^4 Bq (中国原子能科学研究院), 37℃培养 6h, 经 0.25%胰酶消化后 PBS 液洗 3 次, 然后用 RPMI 1640 培养液配成 1×10^9 /L 细胞悬液, 备用。

1.5.3 各亚群的 NK 活性 每个培养瓶内加入靶细胞 1×10^5 , 将获得的 L₃T₄、Lyt₂ 细胞分别加到培养瓶中, 5×10^5 /瓶。观察 L₃T₄ 与 B 细胞, Lyt₂ 与 B 细胞间调节作用时, 所加每一种亚群细胞数减半, 即 2.5×10^5 /瓶。两种亚群相加后效应细胞数仍为 5×10^5 /瓶, 靶细胞为 1×10^5 /瓶, 同时设单纯靶细胞组。37℃继续培养 16h, 收集细胞, Beckman 液体闪烁仪 (LS-6800, USA) 测每分钟计算值。数据经平方根转换后进行 t 检验。

1.5.4 按下式计算亚群细胞 NK 活性 亚群细胞肿瘤杀伤活性 (counts/min, 每 5×10^5 cells) = 单纯靶细胞组每分钟计算 - 实验组每分钟计算。

本式得到的差值即表示各亚群细胞破坏肿瘤细胞所释放的每分钟计算值, 该值越大, 说明对肿瘤杀伤活性越强 (即被杀死的肿瘤细胞越多), 反之则越弱。

1.6 用相应特异的免疫荧光法测定脾脏淋巴细胞脂质过氧化程度

1.6.1 10%脾组织匀浆液制备 用组织匀浆机 1×10^4 — 1×10^5 r/min 上下研磨制成 10%组织匀浆。(冰水中进行)。

1.6.2 考马斯亮蓝法测定组织匀浆蛋白含量 考马斯亮蓝试剂盒, 以及 MDA 试剂盒、T-SOD 试剂盒、GSH 试剂盒、GSH-PX 试剂盒, 均购自南京建成生物医学工程研究所。标准蛋白由徐州医学院生化实验室提供。

1.6.3 脾组织中 MDA、GSH、T-SOD、GPX 测定应用 TBA 荧光法测定脾组织匀浆丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽 (GSH) 含量和总超氧化物歧化酶 (T-SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX) 活力。

组织中 MDA 含量 (n mol/mg prot) = [(测定管吸光度 - 测定空白管吸光度) / (标准管吸光度 - 标准空白管吸光度)] × 标准品浓度 (10 nmol/mL) ÷ 组织中蛋白含量。

组织中 T-SOD 活力 (NU/mg prot) = [(对照管吸光度 - 测定管吸光度) / 对照管吸光度] × [应液总体积 (3.85 mL) / 取样量 (0.05 mL)] ÷ 50% ÷ 组织中蛋白含量。

组织中 GSH 含量 (mg/mg prot) = [(测定管 OD 值 - 测定空白管 OD 值) / (标准管 OD - 空白管 OD)] × 标准品浓度 (0.5 nmol/L) × GSH 分子量 (307) / 组织匀浆蛋白含量。

GSH-Px 活力=[(非酶管 OD-酶管 OD)/(标准管 OD-空白管 OD)]×标准管浓度×稀释倍数/反应时间/蛋白含量。

蛋白含量 (mg/mL) = 测定管吸光度/标准管吸光度×标准管浓度。

1.7 电镜标本制备

实验结束后次日采用颈椎脱臼法杀死小鼠后，在无菌条件下取出小鼠脾脏置于培养皿中，用刀片切取约 1mm³ 大小放入预冷的 2.5% 戊二醛中固定，2% 锇酸后固定，梯度乙醇脱水，PDAP 浸透，包埋后超薄切片，进行柠檬酸铅染色后置透射电镜 (HA-60, Japan) 下观察。

1.8 统计学处理

数据采用平均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，应用 SPSS 统计软件 NSK 统计方法对各组数据进行方差分析及差异显著性比较。

2 结果

2.1 SOD 对受照 U14 荷瘤鼠脾淋巴细胞增殖和细胞周期影响

照射用药组荷瘤小鼠脾淋巴细胞 G₀/G₁ 期细胞较单纯照射组明显减少 ($p < 0.05$)，S 期细胞较单纯照射组明显增多 ($p < 0.01$)，细胞增殖指数 (PI) 明显

升高，细胞凋亡率无明显变化 ($p > 0.05$)，结果见图 1、图 2 和表 1。

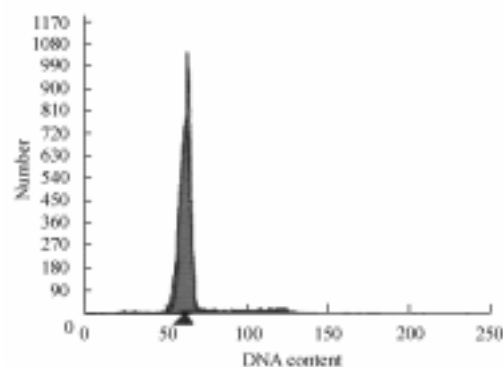


Fig.1 Histogram of DNA content of spleen lymphocytes of tumor-bearing mice in irradiation group

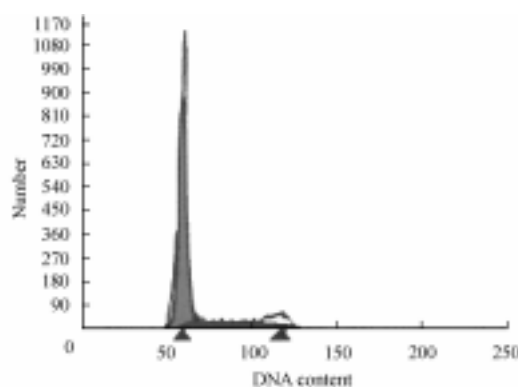


Fig.2 Histogram of DNA content of spleen lymphocytes of tumor-bearing mice in radiation+SOD group

Table 1 SOD effect on cell cycle and apoptosis of spleen lymphocyte in tumor-bearing mice after radiation (% , $\bar{x} \pm s$)

Group	Cell cycle/%				
	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M	PI	AI
Irradiation	88.29±6.74	7.65±1.43	4.06±0.54	11.7±2.55	0.44±0.02
Irradiation+SOD	79.66±7.15 ⁽²⁾	15.48±3.87 ⁽¹⁾	4.86±0.72	20.36±4.18 ⁽²⁾	0.53±0.01

$n=6$, ⁽¹⁾ $p < 0.05$, ⁽²⁾ $p < 0.01$ (vs irradiation)

2.2 SOD 对脾淋巴细胞增殖及亚群转化功能的影响

SOD 提高了受分次照射的 H₂₂ 肝癌荷瘤小鼠脾淋巴细胞和亚群的辐射抗性，照射前和照射后给药

组与对照组比较，³H-TdR 掺入量均有明显提高 ($p < 0.05$)，并增强了 B 细胞与 L₃T₄ 和 Lyt₂ 亚群细胞的相互调节。结果见表 2、表 3 和图 3、图 4。

Table 2 Effect of SOD on radiation tolerance of spleen lymphocyte subsets (min⁻¹, $\bar{X} \pm s$)

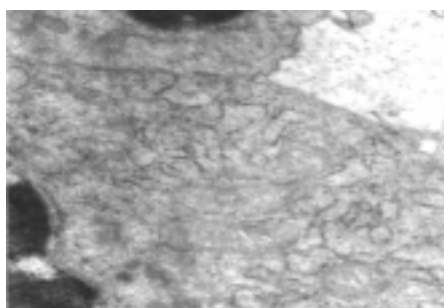
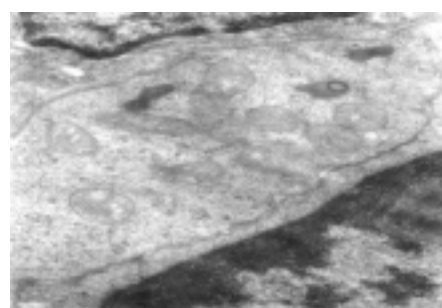
Group	PHA-L ₃ T ₄	PHA-Lyt ₂	LPS-B	ConA-Lymphocyte cell
Control	4007±976	4899±1134	6978±1487	19887±4806
Before radiation +SOD	5742±1281 ⁽²⁾	7767±1045 ⁽²⁾	9877±1126 ⁽²⁾	25340±7458 ⁽²⁾
After radiation +SOD	5721±1331 ⁽²⁾	7887±1254 ⁽²⁾	9931±1241 ⁽²⁾	26685±7534 ⁽²⁾

$n=6$, ⁽¹⁾ $p < 0.05$, ⁽²⁾ $p < 0.01$ (vs control)

Table 3 Effect of SOD on cooperation of lymphocyte subsets after radiation (min⁻¹, $\bar{X} \pm s$)

Group	PHA-L ₃ T ₄ +LPSB	PHA-Lyt ₂ + LPSB	PHA-L ₃ T ₄	PHA-Lyt ₂	LPS-B
Control	11189±3187	10004±3021	3324±754	2547±884	8547±2998
Before radiation+SOD	18875±4022 ⁽²⁾	14789±3721 ⁽²⁾	5744±828	3524±1001 ⁽²⁾	12113±3987 ⁽²⁾
After radiation+SOD	19886±4120 ⁽²⁾	15220±3856 ⁽²⁾	6120±936	3687±1065 ⁽²⁾	12662±4008 ⁽²⁾

$n=6$, ⁽¹⁾ $p<0.05$, ⁽²⁾ $p<0.01$ (vs control)

**Fig.3** Ultrastructur of normal cell($\times 1.2 \times 10^4$)**Fig.4** Ultrastructur of spleen cell in irradiation group($\times 1.2 \times 10^4$)

2.3 SOD 提高了脾淋巴细胞亚群对 U14 细胞杀伤活性, 结果见表 4

Table 4 Effect of SOD on activity of lymphocyte in U14 cells (min⁻¹, $\bar{X} \pm s$)

Group	L ₃ T ₄	Lyt ₂	L ₃ T ₄ +B	Lyt ₂ +B
Irradiation	4132±267	3922±246	5887±466	5352±432
Irradiation+SOD	55543±316 ⁽¹⁾	4788±267 ⁽¹⁾	8645±542 ⁽²⁾	7123±547 ⁽²⁾

$n=6$, ⁽¹⁾ $p<0.05$, ⁽²⁾ $p<0.01$ (vs control)

2.4 荷瘤小鼠脾组织中 MDA、GSH、GSH-Px 含量及 T-SOD 活力的比较

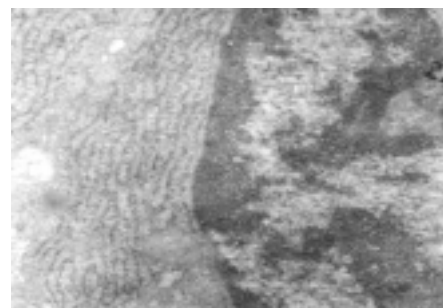
照射前后注射 SOD 组与对照组比较脾组织中 MDA 含量降低, 组间存在显著性差异 (分别为 $p<0.01$, $p<0.05$); 照射前后给药组比较对 MDA 影响无统计学差异。照射前注射 SOD 组与对照组比较脾组织中 GSH-PX、GSH 的含量明显增加 ($p<0.01$), T-SOD 活性明显升高 ($p<0.05$); 而照射后注射 SOD 组与对照组比较脾组织中 GSH-PX、GSH 的含量和 T-SOD 活性均有增加, 但组间无统计学差异 ($p>0.05$)。

2.5 透射电镜下 U14 荷瘤鼠脾脏细胞超微结构特征

(1) 对照组: 可观察到大、中、小淋巴细胞和浆细胞, 其中以小淋巴细胞较多, 浆细胞和大淋巴细胞的胞质中可见大量粗面内质网, 无脱颗粒现象, 线粒体无肿胀, 脊突明显 (见图 3)。(2) 单纯照射组: 小淋巴细胞减少, 细胞核皱缩, 核膜空泡, 浆细胞和大、中淋巴细胞胞质中粗面内质网脱颗粒明显, 线粒体肿胀, 脊突破坏出现透亮区 (见图 4)。

(3) 照射用药组: 可见浆细胞和淋巴细胞, 淋巴细胞核膜未见空泡, 胞浆中粗面内质网脱颗粒不明显,

线粒体肿胀不明显, 未见透亮区 (见图 5)。

**Fig.5** Ultrastructur of spleen cell in the irradiation+SOD group ($\times 2.0 \times 10^4$)

3 讨论

淋巴细胞是免疫细胞中最重要的细胞, 辐射敏感性很高, 0.25Gy 即可引起膜超微结构的损伤。在自由基的作用下, 淋巴细胞的增生分化, 对刺激原的反应性以及一些细胞功能都受到不同程度的抑制^[8]。许多实验表明自由基对 T 细胞具有抑制作用, 该抑制作用为一种可逆的非细胞破坏作用, 主要来源于 H₂O₂ 及其演变产物的氧化性, 细胞膜是其作用靶点之一^[9]。放射线对脾细胞的辐射损伤可能引起脾细胞免疫功能下降, 当生物体受到一定剂量的电离辐射作用后, 在外周血和脾脏早期可观察到淋巴细胞的染色体畸变、T 细胞受体 (TCR) 基因、

白细胞抗原 A (HLA-A) 基因突变或异常表达^[10]。本实验以接受全身照射的 U14 宫颈癌和 H₂₂ 肝癌 荷瘤小鼠为研究对象, 研究外源性超氧化物歧化酶 SOD 对荷瘤小鼠淋巴细胞分化、增殖及亚群调节的影响。如表 5 所示, SOD 能够促进受全身照射的 H₂₂ 肝癌荷瘤小鼠淋巴细胞分化、增殖及亚群调节, 同时增加脾脏组织中 GSH、GPX 含量及 T-SOD 活

力, 降低 MDA 含量, 照射前后注射药物无显著差异。SOD 对受照射 H₂₂ 肝癌荷瘤小鼠脾组织具有明显的辐射保护作用, 与该作用有关者为: SOD 增加其他过氧化物酶含量, 从而增强淋巴细胞自由基清除功能, 以及减轻脾淋巴细胞脂质过氧化反应等, 其可能通过某种细胞因子对射线诱导淋巴细胞亚群凋亡调节的机制起作用^[11]。

Table 5 The effect of SOD on T-SOD, GPX activities of antioxidants and content of MDA, GSH in spleens of H₂₂ hepatocarcinoma in irradiated tumor-bearing mice ($\bar{X} \pm s$)

Group	MDA(n mol/mg prot)	T-SOD(Nu/mg prot)	GSH(mg/mg prot)	GPX(U/mg prot)
Control	2.57±0.85	72.75±17.04	523.65±58.40	36.65±15.92
Before radiation +SOD	1.29±0.11 ⁽²⁾	102.99±44.06	802.99±82.92 ⁽²⁾	56.51±18.60 ⁽²⁾
After radiation+SOD	1.55±0.84 ⁽¹⁾	79.71±17.87	554.36±46.25	44.32±14.62

n=6, ⁽¹⁾p<0.05(vs control), ⁽²⁾p<0.01 (vs control)

本实验将单纯照射组和照射+SOD 组荷瘤小鼠活杀, 无菌条件下取脾脏, 立即制备脾细胞悬液后用 Panning 直接法、间接法分离脾淋巴细胞亚群 (L₃T₄、Lyt₂ 和 B), 通过 ³H-TdR 释放实验检测了 L₃T₄、Lyt₂ 单独培养及 L₃T₄ 与 B、Lyt₂ 与 B 混合培养时对肿瘤细胞杀伤活性。结果表明, 脾淋巴细胞亚群单独培养、混合培养时, 照射+SOD 组与单纯照射组比较, ³H-TdR 掺入量明显升高 (p<0.05 和 p<0.01), 表明脾淋巴细胞体外攻击 U14 细胞能力增强, 其可能机理为外源性 SOD 通过清除荷瘤鼠脾脏过量 ROS, 并提高其它抗氧化酶活性来保护其电离辐射氧化损伤。但脾脏仅仅是机体免疫系统组成的一部分, 今后有待于进一步研究 ROS 及其清除剂对不同免疫器官、不同免疫细胞抗辐射损伤效应。文献报道 SOD 可以促进脾 NK 细胞及 LAK 细胞的免疫效应^[12], 抑制辐射诱导的外周淋巴细胞的凋亡^[13]。SOD 能够清除氧化性自由基, 减轻或消除电离辐射对细胞膜、细胞器、细胞核造成的损伤^[14]。

实验结果表明, 电离辐射可使荷瘤鼠脾脏产生过高浓度的 ROS, 使得脾脏淋巴细胞的氧化性损伤加剧, 同时辐射又大幅度降低了脾脏组织中的氧化酶活性, 两者的集合效果使机体免疫功能下降。荷瘤小鼠脾脏细胞超微结构变化的透射电镜观察结果显示, 荷瘤鼠受全身 X 线照射后脾脏淋巴细胞核和细胞器均出现明显变化, 表现为线粒体肿胀, 脊突破坏, 内质网脱颗粒; 如在照射前后保护性应用 SOD, 小鼠脾脏淋巴细胞上述变化明显减轻。有实验证明线粒体是细胞中产生 ROS 的一个重要部位, 在生理情况下约有 2% 的氧消耗于线粒体 ROS 的产生^[15], 事实上线粒体的呼吸链是以电子传递的方式进行能量代谢, 代谢的中间态为 O₂⁻。线粒体中氧

自由基的水平是呼吸链底物端和氧端电子漏动态平衡的结果, 如上所述生理条件下一定浓度的 ROS 是必需的, 但 ROS 生成过多会引起细胞损伤, 并由其累积导致产生线粒体内膜非特异性孔道, 细胞色素 C 从内膜脱落并流失到细胞质, 最终使线粒体膨大, 这一膨大可能是一个亚细胞水平上对不利环境的适应过程。如果这种线粒体数量增加, 在细胞质中释放出的可溶性蛋白浓度达到一定阈值, 就会启动核凋亡^[16]。通过 FCM 测定脾脏淋巴细胞周期变化, 照射用药组小鼠脾淋巴细胞 S 期细胞增多, 表明 SOD 通过影响细胞周期提高淋巴细胞的辐射抗性。

一般认为 SOD 的作用机制可能为 (1) 减少细胞 DNA 的损伤抑制细胞凋亡^[17]; (2) 提高鸟氨酸脱羧酶 (ODC) 活性, 增强细胞内多胺的生物合成等, 降低细胞对辐射的敏感性^[18] (3) 加强清除自由基, 并减少细胞内游离多胺的耗损, 降低细胞对辐射的敏感性^[19]; (4) 激活 Bcl-2 mRNA 的过度表达, 延迟细胞内 DNA 的断裂^[20]。许多研究表明自由基清除剂能俘获及钝化自由基, 阻断 DNA 遭受自由基的损伤, 使 DNA 自由基上的未偶电子发生转移, 从而保护 DNA 的结构和功能。我们的这部分试验结果说明 SOD 增加了脾脏中多种过氧化物酶含量, 减轻电离辐射对脾脏的脂质过氧化损伤。SOD 对受照射荷瘤小鼠脾组织具有辐射保护作用, 其机理可能通过刺激脾淋巴细胞增殖分化能力促进细胞 DNA 辐射损伤的恢复以及清除自由基减少脂质过氧化反应的途径实现的。

参考文献

- Petkau A. Br J Cancer, 1987, 55(Suppl): 87-95

- 2 Mirochnitchenko O, Inouye M. *J Immunol*, 1996, **156**(4): 1578-1586
- 3 Petkau A. *Mol Cell Biochem*, 1988, **84**(2): 133-140
- 4 Burdon R H. *Free Radic Biol Med*, 1995, **18**(3): 775-794
- 5 刘永彪, 苏燎原, 孔向蓉等. 辐射研究与辐射工艺学报, 1998, **16**(1): 54-56
LIU Yongbiao, SU Liaoyuan, Kong Xiangrong *et al. J Radiat Res Radiat Proces*, 1998, **16**(1): 54-56
- 6 刘永彪, 苏燎原, 赵雨杰等. 辐射研究与辐射工艺学报, 1998, **16**(3): 161-164
LIU Yongbiao, SU Liaoyuan, Kong Xiangrong *et al. J Radiat Res Radiat Proces*, 1998, **16**(3): 161-164
- 7 刘永彪, 刘颖, 赵杰等. 辐射研究与辐射工艺学报, 2004, **22**(2): 114-1212
LIU Yongbiao, LIU Ying, ZHAO Jie *et al. J Radiat Res Radiat Proces*, 2004, **22**(2): 114-1212
- 8 Benitez-Bribiesca L, Sanchez-Suarez P. *Ann N Y Acad Sci* 1999, **887**(1): 133-149
- 9 Killoran P L, Walleczek J. *Radiat Res*, 1999, **152**(6): 611-621
- 10 Cristovao L, Rueff J. *Teratog Carcinog Mutagen*, 1996, **16**(4): 219-227
- 11 Seki H, Iwai K, Kanegane H *et al. Cell Immunol*, 1995, **163**(1): 30-36
- 12 Dimitrova P A, Toshkova R A, Ivanova E H *et al. Z Naturforsch [C]*, 2000, **55**(9-10): 799-805
- 13 Sweetman S F, Strain J J, McKelvey-Martin V J. *Nutr Cancer*, 1997, **27**(2): 122-130
- 14 Green H, Ross G, Peacock J *et al. Radiother Oncol*, 2002, **63**(2): 213-216
- 15 Chance B, Sies H, Boveris A. *Physiological Reviews*, 1979, **59**: 527-605
- 16 Skulachev V P. *FEBS Lett*, 1998, **423**(2): 275-280
- 17 Mannick J B, Asano K, Izumi K *et al. Cell*, 1994, **79**: 1137-1146
- 18 Devi M, Das N. *Experientia*, 1994, **50**(5): 489-492
- 19 Yan T, Oberley L W, Zhong W *et al. Cancer Res*, 1996, **56**(12): 2864-2971
- 20 Stors G, Taraglia L A, Ames B. *Science*, 1990, **248**(1): 189-194

Studies on tumor cell apoptosis with SOD and its anti-oxidation effect

II. Radio-protective effect on spleen lymphocyte of tumor-bearing mice with SOD

LIU Yongbiao^{1,2} LIU Ying² ZHAO Jie² HAO Xingzhi² WANG Xu² YAO Side¹

¹ (Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800)

² (The Xu Zhou Medical Univesit, Xuzhou 221002)

ABSTRACT In this paper the effects of exogenous SOD on differentiation, proliferation, regulation of subpopulation of spleen lymphocytes has been studied with irradiated tumor-bearing mice. The activity of antioxidant enzymes and the contents of redoxic products have also been determined. And the effect of SOD on ultra-structure of spleen of irradiated tumor-bearing mice has been investigated meanwhile the killed effect of spleen tumor under irradiation with addition of SOD has been observed. It has been found that SOD does emphasize the differentiation, proliferation, regulation of subpopulation of spleen lymphocytes cell with radiated tumor-bearing mice and increase the activities of GSH、GPX and total-vigor of SOD while MDA decreased in spleen. It has been also found that SOD injected before or after irradiation can reduce the injury of spleen obviously and makes the tissue have higher protection from irradiation while the tumor was killed as the same as no addition of SOD. It can be deduced that lighten of lipid peroxidation occurs from the scavenge of ROS by SOD, the high protection of sleep from irradiation is because of delay to S phase of lymphocytes and increase of activity of antioxidant enzymes. The concentration change of SOD and ROS may have some influence on signal transferring pathway and gene expression of cell apoptosis.

KEYWORDS Superoxide dismutase, Tumor-bearing mice, Subpopulation of lymphocytes, Radiation-protection, Lipid peroxidation

CLC R811.5