

CN8800839

CNIC-00081

SMC-0010

中国核科技报告

CHINA NUCLEAR SCIENCE & TECHNOLOGY REPORT

超氧化物歧化酶对电离辐射诱发染色体
畸变保护作用的研究



中國核情報中心

China Nuclear Information Centre

CNIC-00081

SMC-0010

超氧化物歧化酶对电离辐射诱发 染色体畸变保护作用的研究

郑斯英 江家贵 林兴成

(苏州医学院)

中国核情报中心

北京·1987.9

摘 要

本研究用离体培养的人淋巴细胞为材料, 观察外源性SOD和减少细胞内源性SOD对电离辐射诱发染色体畸变的效应。实验结果表明, 辐射诱发的染色体畸变除了射线的直接“击中”效应外, 也与自由基的间接效应有关。因此, 向受照射的淋巴细胞的培养物中加入外源性的超氧化物歧化酶(SOD)以清除损伤DNA的超氧自由基(O_2^-), 可减少辐射诱发的染色体损伤。反之向受照射的淋巴细胞的培养物中引入SOD的抑制剂(DDC), 则可增加淋巴细胞的辐射敏感性, 加剧辐射对染色体的损伤作用。

关键词 超氧化物歧化酶 超氧自由基 染色单体型畸变 染色体型畸变

STUDIES ON PROTECTIVE EFFECTS OF SUPEROXIDE DISMUTASE ON RADIATION INDUCED-CHROMOSOMAL ABERRATIONS

Zheng Siying Jiang Jiagui Lin Xingcheng
(Suzhou Medical College)

ABSTRACT

This study demonstrates that radiation induced-chromosomal aberrations are not only due to the direct effect of radiation "hit", but the indirect effect of free radical as well. Therefore, chromosome damage induced by radiation may be reduced by adding exogenous SOD into the radiation exposed lymphocytes culture to eliminate the superoxide free radical which damages DNA. On the other hand, however, the radiosensitivity of lymphocytes can be raised by adding SOD inhibitor (DDC) into the lymphocytes culture, which makes radiation induced-chromosomal damages more severely.

前 言

凡进行有氧代谢的机体、细胞均含有超氧化物歧化酶 Superoxide Dismutase (EC, 1.15.1.1), 简称SOD。SOD的生理功能在于能清除机体和细胞内所形成的超氧自由基 ($O_2^{\cdot -}$), 保护机体和细胞免受 $O_2^{\cdot -}$ 的毒害; $O_2^{\cdot -} + O_2^{\cdot -} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$ [1]。

在电离辐射作用下, 由于射线的直接作用以及水的“原初辐解产物”的间接作用, 必将对受照射的机体、细胞产生辐射损伤效应; 在有氧条件下, 氧与某些“原初辐解产物”发生重组所形成的 $O_2^{\cdot -}$, 能进一步加重机体、细胞的辐射损伤。由此可见, 引入外源性的SOD能明显提高受照机体的存活率 [2]; 反之, 如果减少细胞的内源性SOD, 则能加重该细胞的辐射损伤 [3]。

材 料 和 方 法

[SOD制剂] 系由猪红细胞提取的Cu-Zn-SOD的精品, 比活力为2700单位/mg蛋白。

[SOD抑制剂] 二乙基二硫代氨基酸钠 (DDC), 分析纯, 上海试剂三厂出品。

[实验方法]

(一) SOD对辐射诱发染色单体型畸变的效应:

由三名健康人各取静脉血 5 mL (肝素抗凝), 按常规微量血淋巴细胞培养技术 [4] 建立培养物。将培养物置 $37 \pm 0.5^\circ C$ 恒温箱培养 70 小时。然后, 每个个体的培养物分成下列五组:

生理盐水对照组

生理盐水照射组

低浓度SOD防护组 (最终浓度 $5 \times 10^{-3} mg/mL$)

中浓度SOD防护组 (最终浓度 $5 \times 10^{-2} mg/mL$)

高浓度SOD防护组 (最终浓度 $5 \times 10^{-1} mg/mL$)。

除生理盐水对照组外, 其余四组同时接受 $1 Gy^{60}Co \gamma$ 线照射 (剂量率为 $0.92 Gy/min$)。照射毕, 随即将上述三种浓度的SOD分别加至SOD防护组的培养物中, 未照射的生理盐水对照组和照射组则加入等量的生理盐水。所有的培养物再继续培养 3 小时, 秋水仙素处理 2 小时。然后按常规法制片, 吉姆萨染色, 油镜下每个个体分析 100 个中期分裂细胞, 每组共分析 300 个细胞。

(二) SOD和DDC对辐射诱发染色体型畸变的效应:

再由实验 (一) 的三名健康人各取静脉血 5 mL (肝素抗凝), 同前法建立培养物, 每个个体的培养物分为下列四组:

生理盐水照射组

低浓度SOD防护组 (最终浓度 $5 \times 10^{-3} mg/mL$)

中浓度SOD防护组 (最终浓度 $5 \times 10^{-2} mg/mL$)

高浓度SOD防护组 (最终浓度 $5 \times 10^{-1} mg/mL$)

DDC照射组 (最终浓度 2 mmol/L)

DDC照射组在接种血液的同时加2mmol/L DDC, 并置 37℃ 恒温箱中半小时, 使细胞中内源性Cu-Zn-SOD 部分失活, 然后, 连同其余的四组一起接受 1 Gy (剂量率同上) ⁶⁰Co γ 线照射。照毕随即将上述三种浓度的SOD分别加至SOD防护组的培养物中。生理盐水照射组则加等量的生理盐水, 再将五组培养物置37±0.5℃恒温箱培养54小时, 收获前 2 小时用秋水仙素处理, 制片、染色和镜检同实验 (一)。

结 果 与 讨 论

实验 (一) 的四组培养物在培养70小时时进行照射, 此时大部分淋巴细胞处于 G₁ 期的后期或进入 S 期和 G₂ 期。因此在照后的第一次分裂的中期细胞所看到的畸变为染色单体型畸变; 染色单体互换、染色单体断裂和裂隙。实验 (一) 的 SOD 对辐射诱发染色单体型畸变的保护作用见表 1。

表 1 SOD 对辐射诱发染色单体型畸变的效应

组 别	照射剂量 (10 ⁻² Gy)	分 析 细胞数	染色单体型畸变		裂 隙
			染色单体互换	染色单体断裂	
生理盐水对照组	0	300	0	7 (0.023)	4 (0.013)
生理盐水照射组	100	300	17 (0.056)	321 (1.070)	165 (0.550)
低浓度 SOD 防护组 (5×10 ⁻³ mg/mL)	100	300	2** (0.006)	210** (0.700)	111** (0.370)
中浓度 SOD 防护组 (5×10 ⁻² mg/mL)	100	300	6** (0.020)	159** (0.530)	99** (0.330)
高浓度 SOD (5×10 ⁻¹ mg/mL)	100	300	0** (0.00)	157** (0.523)	84** (0.280)

括弧内的数字为每个细胞的畸变。

** 表示与生理盐水照射组相比有非常明显的差异 (P<0.01)。

实验 (二) 的五组培养物是在培养开始时进行照射, 此时绝大部分淋巴细胞处于 G₁ 期或 G₂ 期, 因此, 在照射后第一次分裂中期细胞中看到的畸变主要是染色体型畸变; 染色体互换 (包括对称和不对称互换) 和断片 (无着丝粒断片和微小体), 少数为染色单体断裂和裂隙。实验 (二) 的 SOD 和 DDC 对辐射诱发染色体型畸变的效应见表 2。正常的对照组为实验 (一) 的生理盐水对照组。

由表 1 可见, 实验 (一) 的淋巴细胞在培养70小时后进行照射, 并在照后立即加入 SOD 制剂, 则辐射诱发的染色单体型畸变, SOD 防护组比生理盐水照射组低, 统计学上有非常明显的差异 (P<0.01), 这表明外源性 SOD 对辐射诱发的染色单体型畸变有明显的保护作用。而实验 (二) 的淋巴细胞在培养开始时照射只有中浓度的 SOD 防护组的畸变与生理盐水

表2 SOD和DDC对辐射诱发染色体畸变的效应

组别	照射剂量 (1c ² Gy)	分析 细胞数	染色体型畸变		染色单体 断裂	裂隙
			染色体互换	断片		
生理盐水对照组	0	300	0	0	7	4
生理盐水照射组	100	300	26 (0.086)	26 (0.086)	2	5
低浓度SOD防护组 (5×10 ⁻² mg/mL)	100	300	20 (0.066)	21 (0.070)	2	2
中浓度SOD防护组 (5×10 ⁻² mg/mL)	100	300	15* (0.050)	19 (0.063)	2	2
高浓度SOD防护组 (5×10 ⁻¹ mg/mL)	100	300	16 (0.053)	23 (0.076)	4	3
DDC照射组 (2mmol/L)	100	300	27 (0.090)	44* (0.146)	2	6

染色体互换包括双着丝粒体、着丝粒环和移位。断片包括无着丝粒断片和微小体。

括弧内的数字为每个细胞的畸变。

* 表示与生理盐水照射组相比有显著性差异 (0.05>P>0.01)。

照射组之间有显著性差异 ($P < 0.05$)，而低、高浓度的SOD防护组的畸变虽比生理盐水照射组少，但统计学上无显著性差异 ($P > 0.05$)，见表2。

在实验(一)和(二)中，SOD的防护效果所以不同可能与淋巴细胞受照射时在细胞周期中所处的不同时期有关。Oberly等(1979)^[6]曾经指出，处于分裂期的细胞其内源性SOD的含量下降，据此推断，G₀期和G₁期的淋巴细胞和G₁期后期、S期和G₂期的淋巴细胞相比，有较多的同源性SOD清除O₂^{·-}。因此，后者的淋巴细胞较前者之淋巴细胞有较高的辐射敏感性。为比在实验(二)中我们用Cu-Zn-SOD抑制剂(DDC)使G₀期和G₁期的淋巴细胞内源性SOD部分失活，发现在相同条件下，DDC照射组的染色体畸变比生理盐水照射组明显增高 ($P < 0.05$)。DDC的实验表明，淋巴细胞的辐射敏感性随其内源性SOD含量的下降而增高。

MorGen等(1976)^[6]利用荧光检验DNA链断裂的方法发现O₂^{·-}能损伤DNA，Brawn(1980)^[7]报道，O₂^{·-}可导致DNA共价键的断裂。他们的实验均证明，外源性SOD对O₂^{·-}引起的DNA断裂有保护作用。近来，有些学者^[8,9,10]报道了SOD对染色体的保护作用在于有机体或细胞在电离辐射作用下，其内环境中的水分子发生电离而形成反应性很强的自由基，水分子的这些“原初辐解产物”(H[·]，OH[·]和e⁻_{aq})，在有氧条件下会转化成O₂^{·-}^[11]，由于SOD是O₂^{·-}的有效清除剂，从而保护DNA免受O₂^{·-}的损伤作用。由此可见，辐射诱发染色体畸变除了射线的直接“击中”效应外，自由基的间接损伤效应也占有很重要的地位。

关于裂隙是否是电离辐射引起的染色体损伤，一直有争论。本研究的实验(二)对对照组和照射组中裂隙均很少出现。而实验(一)中各照射组裂隙的频率却很高，例如生理盐水照射组的裂隙频率高达55%，生理盐水对照组只有1.3%。Nordeson(1978)^[12]得到类似的结果，他以1.35Gy⁶⁰Coγ线照射培养70小时的淋巴细胞，裂隙的频率高达214%。显然，裂隙是辐射引起的一种损伤，只是这种损伤在细胞接近分裂时受照它才出现。

参 考 文 献

- [1] McCord, J.M, et al., *J. Biol. Chem.*, 244, 6049 (1969).
- [2] Petkau, A. et al., *Int. J. Radiat. Biol.*, 29, 287 (1976).
- [3] Stone, D, et al., *Int. J. Radiat. Biol.*, 33, 393 (1978).
- [4] 周焕唐, 郑斯英, *中华医学杂志*, 6, 374 (1974).
- [5] Oberly, L.W, et al., *Can. Cer. Res.*, 39, 1141 (1979).
- [6] Morgen, A.R, et al., *Nucleic. Acids. Res.*, 3, 1139 (1976).
- [7] Brawn, K. et al., *Acta. Physiol. Scand. Suppl.*, 402, 9 (1980).
- [8] Nordenson, L, et al., *Heredity*, 82, 125 (1976).
- [9] Nordenson, L, et al., *Heredity*, 89, 163 (1978).
- [10] Emerie, I, et al., *Muta. Res.*, 103 (2), 165 (1982).

CHINA NUCLEAR SCIENCE & TECHNOLOGY REPORT



P. O. Box 2103
Beijing, China

China Nuclear Information Centre