

# 二乙基二硫代氨基甲酸钠对微波辐射损伤肿瘤 细胞超微结构的影响

全松 王泰清 陶松贞  
(第四军医大学生物教研室)

超氧化物歧化酶(SOD)抑制剂——二乙基二硫代氨基甲酸钠(DDC)既能加强抗癌药物的药效,又能提高细胞对电离辐射和热效应的敏感性<sup>[1,2]</sup>,而且,它本身也能抑制肿瘤细胞DNA合成,阻止肿瘤细胞增殖<sup>[3]</sup>,其抗肿瘤作用特点与微波辐射甚为相似。不过,至今尚未见DDC对微波抗肿瘤效应的文献报道。本文着重研究DDC对微波辐射损伤肿瘤细胞超微结构的影响,以及SOD在肿瘤细胞超微结构损伤中的作用。

## 材料与 方法

1. 主要试剂与细胞株 DDC(AR,上海化学试剂采购站供应),小鼠S-180细胞株(本校动物中心提供)。

2. 实验动物及分组 选择成年雄性BALB/C小鼠72只,体重18—20克(本校动物中心提供),按随机单位组分为对照组(接种S-180细胞,假照射处理)、微波照射组(接种S-180细胞,30 Mw/cm<sup>2</sup>微波照射)、微波照射加DDC组(接种S-180细胞,微波照射前半小时,腹腔注射0.1 mol/L DDC溶液)。

3. 微波辐射系统 采用WB-74型微波电疗机,频率2450 MHz,波长12.24 cm,连续波,经波导管与照射笼相连,照射笼内设无回波装置。

4. 实验方法 (1)小鼠S-180肉瘤模型,取 $2 \times 10^6$ 个/ml S-180细胞悬液,按0.2 ml/20克体重的剂量接种于BALB/C小鼠右腋下。6天后,在接种部位出现直径约0.6—0.8 cm的肿块,此即小鼠肿瘤模型。

(2)处理方法 将小鼠肿瘤模型分批装入有孔的照射盒,置于照射笼内,每天照射8小时,共8天,但对对照组不照射。0.1 mol/L DDC于微波照射前半小时,以0.2 ml/20克体重的剂量腹腔注射,测定小鼠照射前后肛温。

(3)血中SOD活性的测定 处理完毕之后,从鼠眼眶取血,用Flohe's法测定血中SOD活性<sup>[4]</sup>。

(4)透射电镜样品制备及观察 在小鼠肿瘤组织相同部位取材,按常规方法处理,制备透射电镜标本, JEM-2000 EX透射电镜下观察并照相。

## 结 果

### 一、透射电镜观察

1. 对照组肿瘤细胞超微结构 胞膜平滑完整,界膜清楚,线粒体多呈圆形,嵴较丰富,核糖体均匀分布于粗面内质网上。核膜平滑,结构清晰,常染色质多,异染色质少(图版图1、2),可见核分裂相及假包涵体。

2. 微波照射组肿瘤细胞超微结构 细胞表面曲折不平,线粒体嵴残缺、基质空泡化,粗面内质网扩张,核糖体部分脱落,核膜轻度曲折,结构不清,核质局部浓缩(图版图3、4),核分裂相偶见。

3. 微波照射加DDC组肿瘤细胞超微结构 细胞表面曲折增加,线粒体嵴残缺、基质空泡化,粗面内质网明显扩张,核糖体脱落,胞质稀疏,核外膜外突,核周间隙明显扩张,核质浓聚周边部(图版图5、6),有时可见胞膜、核膜破裂,胞质、核质外流,核固缩等。核分裂相消失。

### 二、血中SOD活性的变化(表1)

经计算机作方差分析处理,发现微波照射组血中SOD活性下降,与对照组有极显著性

本工作得到兰州大学郑荣梁教授的部分指导,西安电子科技大学朱鹏九、赵涪深老师和本校药研所王利兵技师的协助,特此致谢。

差异( $p < 0.01$ );微波照射加腹腔注射 DDC 组血中 SOD 下降更显著,与对照组、微波照射组均有极显著性差异( $p < 0.01$ )。

表 1 血中 SOD 活性的变化(单位  $\mu/ml$  血)  $\bar{x} \pm SE$

组别	例数	均数 $\pm$ 标准误
对照组	24	142.3 $\pm$ 3.5
照射组	24	104.3 $\pm$ 3.2*
照射 + DDC 组	24	67.1 $\pm$ 3.1*

\*  $p < 0.01$

表 2 小鼠肿瘤模型照射前后体温的变化( $^{\circ}C$ )  $\bar{x} \pm SE$

组别	照前	照后
对照组	35.5 $\pm$ 0.2	35.5 $\pm$ 0.3
照射组	35.6 $\pm$ 0.3	37.8 $\pm$ 0.4*
照射加 DDC 组	35.5 $\pm$ 0.2	37.7 $\pm$ 0.3*

\*  $p < 0.01$

### 三、小鼠肿瘤模型体温的变化(表 2)

微波照射组、微波照射加 DDC 组照射后小鼠肛温升高  $2^{\circ}C$  左右,均与对照组有极显著性差异( $p < 0.01$ ),但两者之间无显著性差异( $p > 0.05$ )。

## 讨 论

Dwivedi、陶松贞等曾报道低功率密度微波辐射引起细胞形态学改变,造成细胞超微结构损伤<sup>[5,6]</sup>。本实验观察到  $30 \text{ mW/cm}^2$  的微波照射小鼠 S-180 肉瘤模型,引起肿瘤细胞膜、线粒体、粗面内质网、胞质、核膜和核质等超微结构的改变,抑制细胞分裂(如偶见核分裂相),其突出的表现为膜性结构的损伤,这与有关文献报道基本一致<sup>[7,8]</sup>。不同之处为,文献报道均为大功率密度、短时间、一次性微波照射,微波照射后,肿瘤组织温度均在  $41^{\circ}C$  以上;而我们选用的是低功率密度、较长时间、多次微波照射,照射后小鼠肛温升高  $2^{\circ}C$  左右,达到  $37.8 \pm 0.4^{\circ}C$ 。与此同时,我们还观察到小鼠 S-180 肉瘤模型血中 SOD 活性下降(这可间接反映微波对肿瘤细胞内 SOD 活性

的影响),以及应用 DDC 后,微波照射使血中 SOD 活性下降和肿瘤细胞超微结构损伤加剧,提示 1. 微波照射对肿瘤细胞超微结构的损伤很可能与其抑制 SOD 活性、脂质过氧化增强有关。在此过程中,微波非热效应可能起主导作用,其热效应起促进作用,因为本实验微波照射后,其温度升高没有达到微波透热疗法抗肿瘤的最佳温度  $42-43^{\circ}C$ ,微波非热效应能使酶活力下降, DNA 损伤,染色体畸变<sup>[9]</sup>,以及温度升高可促进脂质过氧化反应<sup>[10]</sup>; (2) DDC 能增强微波辐射对肿瘤细胞超微结构的损伤。

有文献报道, SOD 活性与 DNA 合成的变化趋势密切相关, SOD 活性的高低对肿瘤细胞的存活、增殖起重要作用<sup>[1,3]</sup>。本实验结果表明,微波辐射能抑制 SOD 活性,使得  $O_2^{\cdot-}$  代谢减弱,浓度升高,脂质过氧化增强。我们认为以此可解释: (1) 线粒体对微波辐射最敏感,细胞膜、粗面内质网、核膜和细胞核次之,因为它们均富含不饱和脂肪酸,极易受  $O_2^{\cdot-}$  的作用,发生脂质过氧化,而且,线粒体本身就能产生活性氧; (2) 肿瘤细胞对微波辐射较正常细胞敏感,因为肿瘤细胞内抗氧化酶含量低,其中 Mn-SOD 近于缺乏<sup>[11]</sup>; (3) 微波辐射对放疗和化疗的增敏作用,因为不少抗癌药和放射线的抗癌机理均涉及自由基、脂质过氧化反应增强<sup>[12]</sup>。

DDC 是一种铜络合剂,能抑制 CuZn-SOD,而不影响 Mn-SOD 的活性,能选择性杀伤肿瘤细胞,其对肿瘤细胞的毒性与  $O_2^{\cdot-}$  的生成密切相关。本实验证实, DDC 对微波辐射损伤肿瘤细胞超微结构具有增敏作用,其作用途径为: 1. 抑制 CuZn-SOD 活性,使肿瘤细胞抗氧化能力进一步降低,易受微波辐射的损伤; 2. 抑制微波热效应诱导肿瘤细胞内抗氧化酶水平升高,增强肿瘤细胞对热敏感性,阻止其产生热耐受性<sup>[2]</sup>; 3. DDC 本身直接杀伤肿瘤细胞<sup>[3]</sup>。故我们认为, DDC 是一种很有希望的微波抗肿瘤增敏剂及热耐受阻止剂, SOD 活

性的高低在微波辐射损伤肿瘤细胞超微结构过程中起重要作用。

至于低功率密度微波辐射对SOD活性的影响,究竟是通过作用于SOD酶蛋白,使其变性失活,还是通过作用于 $2.1 \text{ q}^{2.2}$ 及 $6 \text{ q}^{2.4}$ 上的SOD基因,影响其表达,以及DDC能否与微波透热疗法一同应用于临床实践,尚不清楚,有待于进一步研究。

### 摘 要

应用 $30 \text{ mW/cm}^2$ 的2450 MHz微波全身重复照射小鼠S-180肉瘤模型,发现其血中SOD活性下降,肿瘤细胞超微结构损伤,若微波照射前小鼠肿瘤模型腹腔注射SOD抑制剂——二乙基二硫代氨基甲酸钠(DDC)溶液,则SOD活性下降更显著,肿瘤细胞超微结构损伤加重。本实验研究表明,微波辐射对肿瘤细胞超微结构的损伤与其抑制SOD有关,DDC能增强微波辐射对肿瘤细胞超微结构损伤的作用,可望成为微波治疗肿瘤的增敏剂。

### 图 版 说 明

1. 对照组 示肿瘤细胞线粒体、粗面内质网、核膜。  $\times 12000$
2. 对照组 示肿瘤细胞粗面内质网、核糖体、核膜。  $\times 25000$
3. 微波照射组 示线粒体嵴残缺、基质部分空泡化,核膜轻度曲折,结构模糊,核质局部浓缩。 $\times 9000$

4. 微波照射组 示粗面内质网明显扩张。 $\times 20000$
5. 微波加DDC组 示线粒体嵴缺损、基质空泡化,核外膜外突,核周间隙扩张,异染色质浓聚周边部。 $\times 12000$
6. 微波加DDC组 示粗面内质网明显扩张,呈空泡化,核糖体脱落,胞质局部稀疏,核局部呈齿状曲折。  $\times 15000$

### 参 考 文 献

- [1] 郑荣梁等, 1984, 生物化学与生物物理进展, 6:34—36。
- [2] Rawhi, O. A. et al., 1987, *Cancer Res.*, 47:3473—3476。
- [3] 郑荣梁等, 1984, 生物化学与生物物理学报, 16:675—678。
- [4] Flone, L. & Otting, F., 1984, In *Methods in Enzymology*. ed. by Packer L. pp. 93—96. Academic Press, New York.
- [5] Dwivedi, R. S. et al., 1989, *Exp Cell Res.*, 180:253—265。
- [6] 陶松贞等, 1987, 第四军医大学学报, 8:173—176。
- [7] Webber, M. M. et al., 1980, *J. Ultrastructure Res.*, 71:321—330。
- [8] 章静波等, 1984, 中国医学科学院学报, 6:32—34。
- [9] 吕有勇等, 1984, 生理科学进展, 15:62—67。
- [10] Issels, R. D. et al., 1986, *Free Radical Res. Commun.*, 2:7—18。
- [11] Oberley, L. W. et al., 1979, *Cancer Res.*, 39:1141—1149。
- [12] 莫简, 1984, 生物化学与生物物理进展, 5:19—24。

本刊代号 4-296 请读者就近向所在邮局办理  
 订阅手续。