

2001

## Antioxidation Activity of DHEA and Its Mechanisms


Sun Yang

*Chapman University, syang@chapman.edu*

Han Rui

*Peking Union Medical College*

Follow this and additional works at: [https://digitalcommons.chapman.edu/pharmacy\\_articles](https://digitalcommons.chapman.edu/pharmacy_articles)

 Part of the [Cancer Biology Commons](#), [Medicinal and Pharmaceutical Chemistry Commons](#), [Organic Chemicals Commons](#), [Other Chemicals and Drugs Commons](#), and the [Pharmaceutical Preparations Commons](#)

### Recommended Citation

Yang S, Han R. Antioxidation activity of DHEA and its mechanisms. *Chin J Cancer*. 2001; 20(12):1349-1354.

This Article is brought to you for free and open access by the School of Pharmacy at Chapman University Digital Commons. It has been accepted for inclusion in Pharmacy Faculty Articles and Research by an authorized administrator of Chapman University Digital Commons. For more information, please contact [laughtin@chapman.edu](mailto:laughtin@chapman.edu).

---

## Antioxidation Activity of DHEA and Its Mechanisms

### Comments

This article was originally published in *Chinese Journal of Cancer (Ai Zheng)*, volume 20, issue 12, in 2001.

The text of this article is in Chinese.

### Creative Commons License



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

### Copyright

The authors

# 去氢表雄酮的抗氧化作用及其机理

杨 笋, 韩 锐\*

(中国医学科学院中国协和医科大学药物研究所药理一室, 北京 100050)

**【摘要】** 目的: 探讨去氢表雄酮(Dehydroepiandrosterone, DHEA)对活性氧自由基的抗氧化作用, 以进一步研究 DHEA 抗突变及增强机体免疫力的机理。方法: 利用超微弱发光法、单细胞凝胶电泳、DNA 琼脂糖凝胶电泳分析、流式细胞术等方法观察 DHEA 对活性氧造成细胞及 DNA 损伤的保护作用。结果: 25 nmol/L DHEA 可彻底消除自由基对 DNA 的氧化损伤, 无 DNA 氧化所致发光峰出现。单细胞凝胶电泳结果可见, DHEA 在 10 nmol/L 浓度时能显著保护胸腺细胞免受活性氧损伤, 在单细胞电泳图上无彗星状拖尾, 表明 DHEA 具有明显的抗氧化损伤作用。DNA 琼脂糖凝胶电泳证明, 10 nmol/L、25 nmol/L DHEA 可明显抑制因氧化受损引起的胸腺细胞凋亡, 无 DNA 梯状条带出现。细胞周期分析表明经 10 nmol/L DHEA 预处理, 受氧化损伤的细胞 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期比例显著增高, 而 G<sub>1</sub> 亚倍体细胞明显减少, 结果说明 DHEA 可阻断活性氧引起的胸腺细胞凋亡。经 5 nmol/L DHEA 预先处理, 可逆转氧化损伤引起的胸腺淋巴细胞运动百分率和细胞粘附能力下降。结论: DHEA 可保护 DNA 及胸腺细胞免受氧化损伤, 这可能是其发挥癌化学预防作用、阻断突变、抗促癌过程及增强机体免疫功能的机理之一。

关键词: 去氢表雄酮; 抗氧化作用; 活性氧自由基; 氧化损伤

中图分类号: R965 文献标识码: A 文章编号: 1000-467X(2001)12-1349-06

## Anti-Oxidation Activity of Dehydroepiandrosterone and Its Mechanisms

YANG Sun, HAN Rui\*

*Institute of Material Medica, Chinese Academy of Medical Sciences,  
Peking Union Medical College, Beijing 100050, P. R. China*

**【Abstract】 Objective:** The aim of this study was to determine the anti-oxidative activity of a new chemopreventive agent—dehydroepiandrosterone (DHEA), and the mechanisms of action by which DHEA protect the thymocytes and DNA from oxidative damage. **Methods:** Agarose gel electrophoresis, flow cytometry, single cell gel electrophoresis, chemiluminescence assay, triazolyl blue tetrazolombromide (MTT) colorimetry, and three dimensional collagen gel assay were used. **Results:** In agarose gel electrophoresis, 10 nmol/L DHEA blocked the typical DNA degradation (DNA Ladder) induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. DHEA 2.5 nmol/L and 10 nmol/L both significantly decreased the percentage of characteristic apoptotic DNA peak in flow cytometry. In single cell gel electrophoresis assay of thymocytes, the results revealed that DHEA could block DNA damage induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Small strand breaks of DNA like comet were seldom observed, and the cells treated with 10 nmol/L DHEA more like dots. Using chemiluminescence methods, 25 nmol/L DHEA exhibited its potential of scavenging free radicals. The results also suggested that DHEA had the capacity of increasing the migration of lymphocytes damaged by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in three dimensional collagen gel assay. The adhesions of lymphocytes exposed to DHEA (10 nmol/L, 1 nmol/L) for 4 hours were significantly increased by 15%, 14% respectively. **Conclusions:** Protection of thymocytes and

DNA from oxidative damage and inhibitory effect on apoptosis induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> might be closely related to its mechanisms of anti-mutation and immune enhancing activity of DHEA.

**Keywords:** Dehydroepiandrosterone (DHEA); Anti-oxidative activity; Reactive oxygen intermediates (ROI)

收稿日期: 2000-12-27; 修回日期: 2001-03-06

\* 通讯作者: Tel: 86-10-63165204

Fax: 86-10-63017757

去氢表雄酮 (dehydroepiandrosterone, DHEA) 是人体肾上腺皮质分泌的甾体类化合物, 为性激素的前体, 在体内以其硫酸酯 DHEAS 的形式进入血液循环, 经不同酶作用后转化为雄性激素睾酮或雌酮等。与其它甾体类激素不同, 血浆中 DHEA 及 DHEAS 随着年龄的增长浓度下降明显, 从 30 岁左右机体内 DHEA 水平即开始下降, 到 75 岁时绝大多数人血浆中 DHEA 浓度减少了 95%, 故推测 DHEA 的减少与机体衰老密切相关<sup>[1]</sup>。作为癌化学预防类新药, 美国 NCI 早在 1996 年就开始进行 DHEA 的 II 期和 III 期临床研究<sup>[2]</sup>, 许多动物实验证实口服 DHEA 对肿瘤具有较好的化学预防作用, 可有效预防 DMBA 诱发的大鼠乳腺癌<sup>[3]</sup>, 并发现 DHEA 可提高机体免疫力, 增强巨噬细胞对肿瘤细胞的杀伤作用<sup>[4,5]</sup>。活性氧自由基涉及多种疾病, 如辐射损伤、突变、癌症及衰老等, 在衰老及肿瘤的发生、发展过程等中起着重要的作用<sup>[6]</sup>, 而过多的自由基会对细胞、组织或生物大分子造成损伤。本实验利用小鼠胸腺细胞, 研究 DHEA 对活性氧自由基的抗氧化保护作用, 从而进一步探讨 DHEA 抗突变及增强机体免疫的机理。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 药物和试剂: 低熔点琼脂糖 (LMA)、琼脂糖、蛋白酶 K、RNA 酶 A (RNase A)、小牛胸腺 DNA、可溶性胶原、四氮唑蓝 (triazolyl blue tetrazolubromide, MTT) 均为 Sigma 公司产品; 纤维粘连蛋白 (fibronectin, FN) 购自 Promage 公司; 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 购自北京化学试剂公司; DHEA 为中国医学科学院韩广甸教授提供。

解旋液 (0.3 mol/L NaOH, 1 mmol/L Na<sub>2</sub>EDTA); 溶解液 (0.03 mol/L NaOH, 1 mol/L NaCl); 细胞消化液 (10 mmol/L EDTA/50 mmol/L Tris-HCl (pH8.0)/0.25% NP-40/0.5 mg/ml 蛋白酶 K); 胶原溶液 1.67 mg/ml, 溶于 0.012 mol/L HCl 液中。

1.1.2 动物: Balb/C 小鼠, 雌性, 5~6 周龄, 由中国医学科学院实验动物研究所繁育场提供, 动物合格证号为 SCXK 11-00-0006。

1.1.3 仪器: Heraeus Biofuge 28RS 型高速离心机; PASII 型流式细胞光度计; Opton 荧光显微镜 (HW50 汞灯落射光源, KP490 滤光片); Olympus 照相系统; BIO-RAD 550 型酶标仪; Forma Scientific 二氧化碳

培养箱; 日本 JVC 数码摄像机; Macintosh Quadra 700 型录像机。

### 1.2 实验方法

1.2.1 制备胸腺细胞悬液: 将 Balb/C 小鼠放血处死, 无菌下取胸腺, 剪碎后置于不锈钢丝网上, 轻轻挤压胸腺使单个细胞进入含 10% 小牛血清的 RPMI-1640 平皿内, 过滤后进行密度梯度离心, 洗涤 2 次, 制得单细胞悬液。RPMI-1640 (LIFE TECHNOLOGIES) 细胞培养基, 含 10% 热灭活的小牛血清, 100 U/ml 青霉素, 100 μg/ml 链霉素。

1.2.2 超微弱发光法测 DHEA 对 DNA 氧化损伤的保护作用: 建立黄嘌呤氧化酶 - 黄嘌呤实验体系, 以鲁米诺 (Luminol, 0.2 mmol/L, pH10.2) 作为发光增强剂, 应用超微弱发光测定仪检测氧自由基的产生, 并以相应软件处理结果。

1.2.3 单细胞凝胶电泳检测 DHEA 对活性氧所致 DNA 损伤的保护作用: 制备胸腺细胞悬液与不同浓度 DHEA 混合, 在 37°C 5% CO<sub>2</sub> 孵箱中混合培养 2 h 后, 离心去上清, 加入含 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (终浓度为 50 μmol/L) 的 PBS 作用 5 min, PBS 冲洗 2 次, 加入 1.0 ml PBS 吹打均匀。吸取 1% 琼脂糖凝胶 (约 70°C) 90 μl 均匀涂于载玻片上作为底层胶。按 1:3 比例吸取 50 μl 细胞液, 与 37°C 1% LMA 迅速混匀, 均匀涂于底层胶上, 冰上成胶 5 min 后, 浸入溶解液中, 约 1 h 后取出冲净, 继续浸入解旋液中约 10 min 取出, 放入水平式电泳槽中, 65 V 电压下电泳 10~20 min, 溴化乙啶 (Ethidium Bromide, EB) 染色在反射式荧光显微镜下观察并照相。

1.2.4 DHEA 对氧化所致胸腺细胞凋亡的 DNA 琼脂糖电泳分析: 无菌条件下取胸腺制成单细胞悬液, 用含 10% 小牛血清的 RPMI-1640 调整细胞浓度为 4 × 10<sup>6</sup>/ml, 在培养瓶中与不同浓度 DHEA 混合培养 2 h, 用含 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (终浓度为 50 μmol/L) 的 PBS 重悬细胞, 攻击损伤细胞 5 min 后, 离心去上清再悬于消化液中 (10<sup>7</sup> 细胞/0.5 ml)。50°C 消化 1 h 后加 0.25 mg/ml RNase A (终浓度) 于 50°C 继续消化 1 h。13 000 g 4°C 离心 10 min, 去上清, 加 2.5 倍体积乙醇, -70°C 沉淀过夜, 13 000 g 离心收集 DNA, 干燥后溶于 TE 缓冲液, 测定 DNA 含量。取 10 μg DNA 进行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳 (6 V/cm), EB 染色后紫外光下观察结果并照相。

1.2.5 DHEA 对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 损伤胸腺细胞细胞周期的影响: 制备胸腺细胞悬液, 如前 1.2.4 所述, 以 50 μmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 损伤胸腺细胞, 5 min 后离心去上清,

将沉淀于 4°C 用 95% 乙醇固定 12 h 以上, 加入 1 ml 含 2.5 mg/ml DAPI 和 30  $\mu\text{g}/\text{ml}$  SR101 的混合溶液, 混匀后在 PASII 型流式细胞仪上作单参数分析, 每样品测定  $2 \times 10^4$  个细胞。

1.2.6 DHEA 对氧化受损胸腺淋巴细胞粘附的影响: 制备小鼠胸腺细胞悬液, 经不同浓度 DHEA 预处理 4 h 后, 如前 1.2.4 方法以 50  $\mu\text{mol}/\text{L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  攻击细胞 5 min, 离心充分洗涤后, 用含 10% 小牛血清的 RPMI-1640 调整细胞浓度为  $5 \times 10^6/\text{ml}$ 。预先铺于 2.0  $\mu\text{g}$  纤粘连蛋白的 96 孔培养板中, 室温干燥, 每孔加入含 2% 小牛血清白蛋白 (BSA) 的 RPMI-1640 培养液 20  $\mu\text{l}$ , 37°C 封闭 1 h, PBS 冲洗 3 次后加入  $5 \times 10^5$  细胞数/孔, 37°C 培养 4 h。PBS 洗去未粘附细胞, 充分去除残余 PBS, 加入 MTT 继续孵育 4 h, 于 BIO-RAD 550 型酶标仪上测定每孔 540 nm 处的吸光度, 表示粘附细胞相对数量。

1.2.7 DHEA 对氧化受损胸腺细胞运动迁移能力的影响: (1) 制备三维空间的胶原小室: 常规制备小鼠胸腺细胞悬液, 与不同浓度 DHEA 混合培养 4 h 后, 调整细胞数目为  $2 \times 10^7/\text{ml}$ 。取 50  $\mu\text{l}$  细胞悬液加入 187.5  $\mu\text{l}$  胶原溶液 (1.67 mg/ml) 和 25  $\mu\text{l}$  MEM(10 $\times$ ) 培养基 (含  $\text{H}_2\text{O}_2$  终浓度为 50  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ), 并加入药物及相应溶媒混匀, 调整 pH 至 7.4。将此

混悬液加入特制小室中, 37°C 细胞培养箱中放置 30 min, 再用融化至 55°C 左右的石蜡 - 凡士林等体积混合液密闭玻璃小室。(2) 细胞迁移记录: 将日本数码相机 (TK-C1381) 安装于德国莱卡倒置显微镜上, 内置 10 倍物镜及 10 倍目镜, 数码相机与 JVC 时间推移 (Time lapse) 录像机 (SR-8080E) 相连, 进而再通过输出线和数字卡将数字信号转换为图象信号传送到监视器。制备好的玻璃小室置于倒置显微镜, 两侧由自动控制的加热保温系统使小室内温度保持在 37°C。选择合适视野按 960 h 速率记录 4 h 内的细胞迁移变化。每次实验随机选择 30 个细胞, 应用 Dr. Niggemann 设计的计算机辅助跟踪软件分析细胞迁移速率和细胞迁移百分率。

## 2 结 果

### 2.1 DHEA 对氧自由基产生的抑制作用

黄嘌呤在黄嘌呤氧化酶的催化下, 被氧化最终生成尿酸。此反应过程中会产生大量超氧阴离子。由化学发光检测仪测定产物发光强度的大小, 即可反映体系中超氧阴离子生成量的多少。在 10 nmol/L DHEA 作用下, 可见氧自由基明显减少, 化学发光峰积分值显著下降, 表明 DHEA 可明显清除氧自由基, 对超氧阴离子的产生具有直接的抑制作用 (表 1)。

表 1 超微弱发光法观察去氢表雄酮对活性氧自由基产生的抑制作用

Tab. 1 Inhibitory effect of DHEA on reactive oxygen intermediates production by chemiluminescence assay

	Control	Concentration of DHEA (mol/L)		
		$10^{-8}$	$10^{-7}$	$10^{-6}$
Integral of chemiluminescence (mean $\pm$ SD)	246 809 $\pm$ 1 507	241 219 $\pm$ 1 952	160 275 $\pm$ 2 361	185 260 $\pm$ 1 119
Inhibition rate (%)	-	2.3	35.0*	24.9*

SD: standard deviation; \*  $P < 0.05$

### 2.2 单细胞凝胶电泳观察 DHEA 对胸腺细胞 DNA 氧化损伤的影响

氧自由基可透过细胞膜进入细胞, 攻击细胞核 DNA 引起断裂损伤。在电场作用下, 受损 DNA 碎片可以透过细胞膜上的微小裂孔向阳极移动, 而未受损细胞的 DNA 大分子则由于细胞膜的阻隔滞留在原处。EB 染色后在落射式荧光显微镜下观察, 可见受损细胞电泳可产生长的彗星状 (Comet) 拖尾, 损伤越重则拖尾越长。实验结果表明, 正常对照组未受  $\text{H}_2\text{O}_2$  攻击的单个胸腺细胞呈圆形亮点, 而攻击后的细胞 DNA 受损严重, 呈现明显的彗星状现象。而预先用 DHEA 10 nmol/L 处理后, 可保护细

胞 DNA 免受活性氧自由基的损伤, 电泳后细胞多呈圆点状, 少有彗星状拖尾 (图 1)。表明 DHEA 可显著性保护胸腺细胞 DNA 对抗活性氧的氧化损伤。

### 2.3 DHEA 对 $\text{H}_2\text{O}_2$ 损伤所致胸腺细胞凋亡的影响

超氧阴离子攻击细胞内 DNA 引起 DNA 损伤后, 可导致细胞启动特定信号传导通路, 诱发产生细胞凋亡。DNA 琼脂糖凝胶电泳结果表明 DHEA 在 10 nmol/L、25 nmol/L 浓度均可显著抑制  $\text{H}_2\text{O}_2$  引起的胸腺细胞凋亡, 无 DNA 梯状条带出现。而阴性对照组受  $\text{H}_2\text{O}_2$  攻击后电泳出现明显的 DNA 凋亡条带

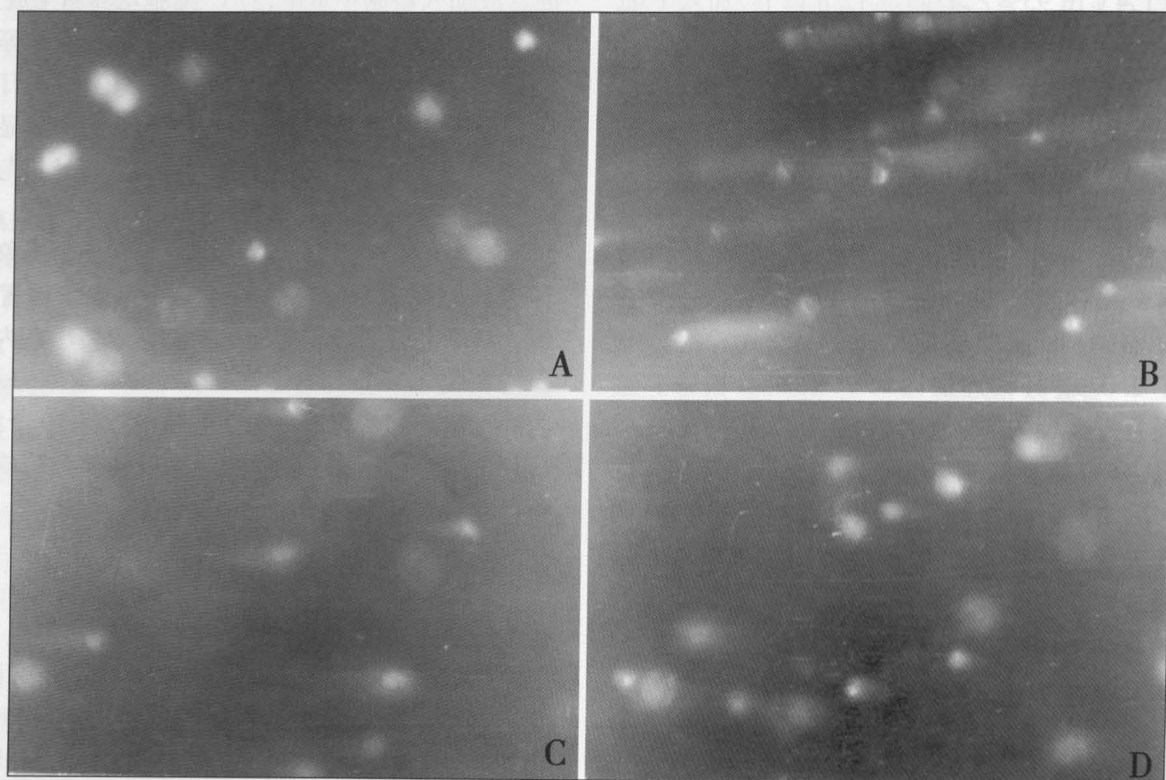


图1 单细胞凝胶电泳观察 DHEA 对  $H_2O_2$  引起的胸腺细胞 DNA 损伤的保护作用

Fig. 1 Protective effect of dehydroepiandrosterone (DHEA) on the  $H_2O_2$  induced DNA damage in thymocytes by single cell gel electrophoresis assay

A: normal; B: control (damaged by  $H_2O_2$ ); C: Pretreated with 50 nmol/L DHEA; D: Pretreated with 10 nmol/L DHEA.

(图2)。细胞周期分析结果也发现在  $G_0/G_1$  峰前出现一明显的  $G_1$  峰前的亚倍体峰, 即凋亡/坏死细胞峰。胸腺细胞经不同浓度 DHEA 预先处理后, 位于  $G_1$  亚倍体峰的细胞群显著减少,  $G_0/G_1$  期细胞所占比例则相应的明显增多(图3)。表明 DHEA 可显著阻断活性氧引起的胸腺细胞凋亡。

#### 2.4 DHEA 对受损胸腺细胞与基底膜成分粘附的影响



图2 DHEA 对  $H_2O_2$  引起胸腺细胞凋亡的抑制作用

Fig. 2 Inhibitory activity of dehydroepiandrosterone (DHEA) on  $H_2O_2$  induced cell apoptosis in thymocytes

a: Control (damaged by  $H_2O_2$ ); b: Pretreated by 1 nmol/L DHEA; c: Pretreated by 10 nmol/L DHEA; d: Pretreated by 50 nmol/L DHEA.

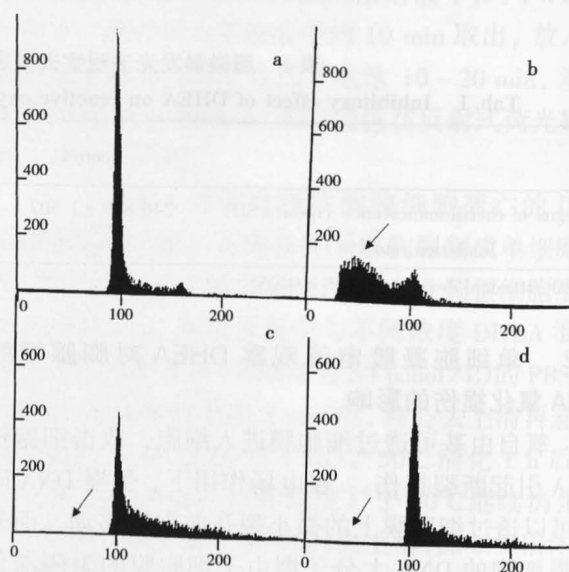


图3 DHEA 对  $H_2O_2$  损伤胸腺淋巴细胞细胞周期的影响

Fig. 3 Cytokinetic characteristics of thymocytes damaged by  $H_2O_2$  pretreated with dehydroepiandrosterone (DHEA)

a: Normal thymocytes; b: Control (thymocytes damaged by  $H_2O_2$ ); c: Pretreated with 1 nmol/L DHEA; d: Pretreated with 10 nmol/L DHEA.

细胞的粘附性能在维持细胞外形、调节细胞分裂和运动等功能中起着十分重要的作用。细胞可以通过膜表面受体粘附于基底膜成分 FN 等。受到氧自由基攻击后, 细胞与基底膜成分的粘附能力明显下降, 仅为正常细胞的 36%。细胞经 1 nmol/L 和 10 nmol/L DHEA 预先处理 4 h 后, 粘附率较阴性对照组分别显著升高 15%、14.5% ( $P < 0.05$ )。表明 DHEA 对受损胸腺淋巴细胞的粘附具有一定的恢复或保护作用(图 4)。

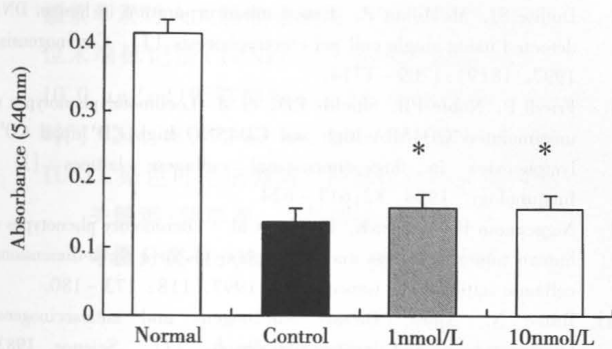


图 4 DHEA 对  $H_2O_2$  损伤胸腺淋巴细胞粘附于纤维粘连蛋白的影响

Fig. 4 Effects of dehydroepiandrosterone on adhesion of thymocytes damaged by  $H_2O_2$  on fibronectin (FN)

The relative number of adhesive cells were evaluated by absorbance at 540 nm using triazolyl blue tetrazolombromide (MTT) colorimetry assay. Value were presented as the mean  $\pm$  SD ( $n = 3$ ). \*  $P < 0.05$ , compared with control.

## 2.5 DHEA 对受损胸腺淋巴细胞运动能力的影响

采用三维空间的胶原小室、时间推移录像及细胞运动计算机辅助跟踪系统, 能真实地记录和分析细胞运动特征, 包括细胞运动速率、运动细胞百分率、细胞运动轨迹及细胞形态改变等。实验结果表明, 与正常胸腺淋巴细胞相比, 对照组氧化受损细胞的迁移细胞百分率和运动速率均明显下降, 分别由  $(98.5 \pm 2.2)\%$  下降为  $(38.3 \pm 4.2)\%$ 、 $(1.41 \pm 0.28) \mu\text{m} \cdot \text{min}^{-1}$  降至  $(0.42 \pm 0.07) \mu\text{m} \cdot \text{min}^{-1}$  ( $P < 0.05$ )。细胞运动轨迹结果也表明, 受损淋巴细胞运动迁移细胞少, 迁移距离近, 运动范围较小。经 DHEA 预先处理 4 h 后, 10 nmol/L 组受损细胞迁移距离远, 运动范围大, 迁移细胞百分率和运动速率分别为  $(64.3 \pm 6.3)\%$  和  $(0.83 \pm 0.14) \mu\text{m} \cdot \text{min}^{-1}$ , 较对照组细胞明显升高, 具有统计学意义(图 5, 6)。表明 DHEA 对受损淋巴细胞的运动和迁移能力具有较强的保护和恢复作用。

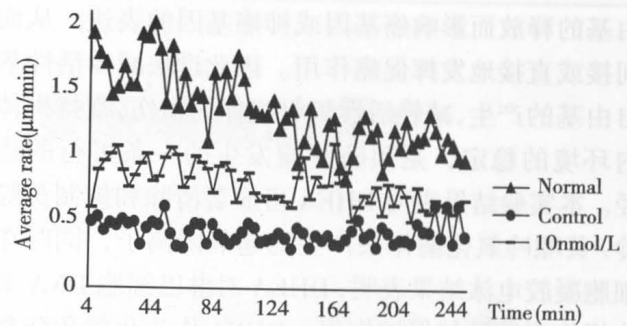


图 5 DHEA 对三维胶原小室中  $H_2O_2$  损伤胸腺淋巴细胞迁移速率的影响

Fig. 5 Effect of dehydroepiandrosterone on the migratory velocity of lymphocytes damaged by  $H_2O_2$  in three dimensional collagen lattices

30 randomly selected cells were digitized in each group. Data were presented as mean.

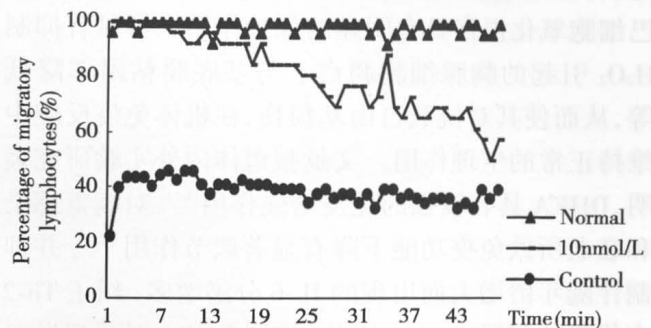


图 6 DHEA 对三维胶原小室中胸腺淋巴细胞迁移百分率的影响

Fig. 6 Effect of dehydroepiandrosterone on percentage of migratory lymphocytes damaged by  $H_2O_2$  in 3-dimensional collagen lattices

30 randomly selected cells were digitized in each group. Data were presented as mean.

## 3 讨论

活性氧致突变学说是肿瘤发生的主要假说之一<sup>[10]</sup>。过量产生的活性氧可造成 DNA 链断裂、碱基与核糖基氧化以及蛋白质交联, 最终影响癌基因表达, 导致肿瘤的发生与发展。许多研究表明, 无论是内源性还是外源性自由基均可造成 DNA 的氧化损伤, 因而自由基是造成突变的一个重要因素<sup>[11]</sup>。 $H_2O_2$  等超氧阴离子作为小分子物质, 极易通过细胞膜到达核内, 与核酸某些特异位点的金属离子反应, 产生高活性的羟自由基, 造成 DNA 的氧化损伤<sup>[12]</sup>, 从而激活原癌基因或者使抑癌基因失活。此外活性氧自由基学说也是促癌的主要机理之一。有报道表明, 促癌剂佛波酯 (TPA) 刺激小鼠表皮细胞可引起胞内 DNA 氧化损伤产物 8-羟基脱氧鸟苷明显增<sup>[13]</sup>, 推测 TPA 可能通过选择性细胞毒或者活性氧自



由基的释放而影响癌基因或抑癌基因的表达, 从而间接或直接地发挥促癌作用。因此设法减少活性氧自由基的产生, 减轻活性氧对机体的损伤, 维持机体内环境的稳定, 是预防肿瘤发生的一条可行的途径。本实验结果表明 DHEA 可显著清除和抑制黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶体系产生的超氧阴离子, 同时单细胞凝胶电泳结果表明, DHEA 对淋巴细胞 DNA 氧化损伤有明显的保护作用。DHEA 作为化学预防类新药, 其抗突变、抗促癌作用确切明显, 故推测 DHEA 的抗氧化活性可能是其发挥化学预防作用、抑制突变发生抗促进的作用机理之一。

$H_2O_2$  本身即为活性氧, 在  $Fe^{2+}$  存在下可引起多种细胞, 如胸腺 T 淋巴细胞发生凋亡, 或攻击破坏细胞膜使细胞裂解。本实验结果表明, DHEA 对胸腺淋巴细胞氧化损伤具有明显的保护作用, 可显著抑制  $H_2O_2$  引起的胸腺细胞凋亡、与基底膜粘附率降低等, 从而使其对抗氧自由基损伤, 在机体免疫反应中维持正常的生理作用。文献报道体内外实验研究表明, DHEA 具有较强的免疫增强作用<sup>[14]</sup>, 对病毒感染和衰老所致免疫功能下降有显著调节作用<sup>[15]</sup>, 并抑制伴随年龄增大而出现的 IL-6 分泌增多, 纠正 Th-2 占优势的状况<sup>[16-18]</sup>。因此, 推测 DHEA 对受损淋巴细胞的保护或者恢复作用可能与其免疫增强作用有关, 但该作用的分子机制尚未阐明。

此外, 膜脂肪酸链不饱和键的存在, 可以降低脂质分子间排列的有序性, 从而使生物膜保持一定的流动性, 而膜流动性是影响细胞运动和迁移的重要环节, 有利于细胞做变形运动和穿透基底膜<sup>[19]</sup>。 $H_2O_2$  等氧自由基攻击淋巴细胞后, 引起细胞膜表面糖蛋白和膜脂质不饱和键过氧化, 进而改变了细胞膜的流动性和通透性, 导致细胞发生一系列的病理和生理性改变, 实验数据表明, 受氧化损伤淋巴细胞的运动细胞百分率和运动速率均明显下降 ( $P < 0.05$ )。用 DHEA 预先处理可以显著性提高受损细胞的运动百分率, 可能是由于 DHEA 对膜的直接保护作用或清除自由基的结果, 从而有利于淋巴细胞维持正常的生理功能, 防止氧自由基对机体免疫系统的损伤, 这可能也是 DHEA 具有抗衰老和免疫增强作用的机理之一。

### [参 考 文 献]

- [1] Watson RR, Huls A, Araghinikam M, et al. Dehydroepiandrosterone and diseases of aging [J]. *Drugs Aging*, 1996, 9(4): 274 - 291.
- [2] Kelloff G J, Boone C W, Crowell J A, et al. New agents for cancer chemoprevention [J]. *J Cell Biochem Suppl*, 1996, 26: 1 - 28.
- [3] Li S, Yan X, Belanger A, et al. Prevention by dehydroepiandrosterone of the development of mammary carcinoma induced by 7, 12-dimethylbenz(a) anthratene (DMBA) in the rat [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 1994, 29(2):203 - 217.
- [4] Yen SS, Morales AJ, Khorram O, et al. Replacement of dehydroepiandrosterone in aging men and women potent remedial effects [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 1995, 774:128 - 142.
- [5] Melachlan JA, Serkin CD, Bakouche O. Dehydroepiandrosterone modulation of lipopolysaccharide-stimulated monocyte cytotoxicity [J]. *J Immunol*, 1996, 156(1):328 - 335.
- [6] Birnboim HC. DNA strand breakage in human leukocytes exposed to a tumor promoter, phorbol myristate acetate [J]. *Science*, 1982, 215(4537):1247 - 1249.
- [7] Duthie SJ, McMillan P. Uracil misincorporation in human DNA detected using single cell gel electrophoresis [J]. *Carcinogenesis*, 1997, 18(9):1709 - 1714.
- [8] Friedl P, Noble PB, Shields ED, et al. Locomotor phenotypes of unstimulated CD45RA high and CD45RO high CD<sup>44</sup> and CD<sup>8+</sup> lymphocytes in three-dimensional collagen lattices [J]. *Immunology*, 1994, 82:617 - 624.
- [9] Niggemann B, Maaser K, Lu H, et al. Locomotory phenotypes of human tumor cell lines and T lymphocytes in a three-dimensional collagen lattice [J]. *Cancer Lett*, 1997, 118: 173 - 180.
- [10] Bruce N. Ames. Dietary carcinogens and anticarcinogens. Oxygen radicals and degenerative disease [J]. *Science*, 1983, 221(4617):1256 - 1264.
- [11] Cerutti PA. Prooxidant states and tumor promotion [J]. *Science*, 1985, 227(4685):375 - 381.
- [12] Dizdaroglu M, Nackerdien Z, Chao BC, et al. Chemical nature of in vivo DNA base damage in hydrogen peroxid-treated mammalian cells [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1991, 285(2): 388 - 390.
- [13] Wolfgang H. Fischer and Werner K. Lutz. Influence of diet restriction and tumor promoter dose on cell proliferation, oxidative DNA damage and rate of papilloma appearance in the mouse skin after initiation with DMBA and promotion with TPA [J]. *Toxicology Lett*, 1998, 98:59 - 69.
- [14] Suitters AJ, Shaw S, Wales MR, et al. Immune enhancing effects of dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulphate and the role of steroid sulphase [J]. *Immunology*, 1997, 91(2):314 - 321.
- [15] Araghi-Niknam M, Liang B, Zhang Z, et al. Modulation of immune dysfunction during murine leukaemia retrovirus infection of old mice by dehydroepiandrosterone sulphate (DHEAS) [J]. *Immunology*, 1997, 90(3):344 - 349.
- [16] Suzuki T, Suzuki N, Daynes RA, et al. Dehydroepiandrosterone enhanced IL-2 production and cytotoxic effector function of human T cells [J]. *Clin Immunol Immunopathol*, 1991, 61(2 Pt 1):202 - 211.
- [17] Daynes RA, Araneo BA. Prevention and reversal of some age-associated changes in immunologic responses by supplemental DHEAS therapy [J]. *Aging Immunol Infect Dis*, 1992, 3:135 - 154.
- [18] Spencer NF, Norton SD, Harrison LL, et al. Dysregulation of IL-10 production with aging: possible linkage to the age-associated decline in dehydroepiandrosterone and its sulfated derivative [J]. *Experimental Gerontology*, 1996, 31(3):393 - 408.
- [19] Ben-Bassat H, Polliak A, Rosenbaum SM, et al. Fluidity of membrane lipids and lateral mobility of concanavalin A receptors in the cell surface of normal lymphocytes and lymphocytes from patients with malignant lymphomas and leukemias [J]. *Cancer Res*, 1977, 37(5):1307 - 1312.



Ai zheng

癌

症

AI ZHENG

ISSN1000-467X  
CODEN AIZHE4  
CN 44-1195/R



CHINESE  
JOURNAL  
OF  
CANCER



化疗专辑

VOL. 20 NO. 12  
**12**  
**2001**

ISSN 1000-467X



中山医科大学肿瘤防治中心  
世界卫生组织癌症研究合作中心

主办  
单位