

综述

超氧化物歧化酶及其在间质性肺病中的意义

陈莉

超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, 简称 SOD) 是一类广泛存在于生物体内的能够专一清除超氧阴离子 (O_2^-) 的酶类。自从 1969 年 McCord 首次命名并发现其酶的功能以来^[1], SOD 受到了生物医学领域及制药界的普遍关注。近年来,随着自由基学说的发 展, SOD 的作用愈加受到人们的重视。本文仅就 SOD 的特性及在肺间质性疾病中的意义作一概述。

1 SOD 的分类、分布与分子特性

SOD 是一类金属酶,依其所含的金属离子可分为三类

1.1 含铜、锌的超氧化物歧化酶 (Cu/ZnSOD)

主要存在于真核生物的细胞质中,分子量约为 33 000,是由两个同源亚基构成的二聚体。人 CuZn-SOD 每个亚基大约含 153 个氨基酸残基,1 个 Cu^{2+} , 1 个 Zn^{2+} 。 Cu^{2+} 作为电子受体,通过其氧化还原在酶的歧化反应中发挥活性作用。不同动物种类来源的 Cu/ZnSOD 分子量、氨基酸序列略有差异^[1-3]。

1.2 含锰的超氧化物歧化酶 (MnSOD)

分子量约为 80 000~92 000^[4,5],为四个相同的亚基组成的四聚体,每个亚基大约含 198 个氨基酸残基,折叠成三股反平行 β 片层和 7 个 α 螺旋及 7 个联接结构^[6]。每个亚基结合一个有催化活性的 Mn^{++} 。MnSOD 主要存在于原核生物和真核细胞的线粒体基质内,也见于灵长动物的细胞浆中。

1.3 含铁的超氧化物歧化酶 (FeSOD)

其分子构型和分子量与 MnSOD 相近^[7],主要存在于原核生物和一些植物内。

哺乳动物体内的 SOD 主要以三种形式存在,第一种是存在于细胞浆中的 Cu/ZnSOD,红细胞作为血循环中的主要细胞,是携带 Cu/ZnSOD 循环的主要载体。第二种是存在于线粒体中的 MnSOD,保护线粒体免受氧介导的自由基损伤。第三种是存在于细胞外液和组织中的 Cu/ZnSOD (Extracellular SOD, 简称 EC-SOD),是由 4 个相同的亚基构成的四聚体,每个亚基上均含 1 个 Cu^{2+} 和 1 个 Zn^{2+} 。人肺 EC-SOD 的分子量约为 135 000^[8],人血浆 EC-SOD 分子量约为

165 000^[9],基因重组 EC-SOD 分子量可能更高一些。EC-SOD 起源于细胞内的 SOD 蛋白质,如溶血时红细胞中 Cu/ZnSOD 就会释放到血清中,在血清中聚合并与血清蛋白质如白蛋白结合形成 EC-SOD。

人肺内的 EC-SOD 免疫组化定位显示主要位于细胞外基质 (Extracellular matrix) 中特别是富含 I 型胶原和其他尚未被识别的基质成分内,以保护基质成分如胶原免受过氧化损伤^[10]。也有调节细胞内信号的功能。

2 SOD 的理化性质

SOD 是一种高稳定蛋白质。由于所结合的金属离子不同,其理化特性也有很大差异。牛 Cu/ZnSOD 在 8M 尿素和 4% SDS 中仍保持活性^[3]。但对 KCN 和 H_2O_2 非常敏感,1M 的 KCN 即可明显抑制酶的活性,而 MnSOD 和 FeSOD 的活性却不受 KCN 的影响^[11]。5mM H_2O_2 可抑制 Cu/ZnSOD 和 FeSOD 的活性,但不抑制 MnSOD 的活性。 H_2O_2 抑制 Cu/ZnSOD 的机制可能是酶分子活性部位的 118 位组氨酸被氧化^[12]。此外 10mM NaN_3 可使 FeSOD 受到抑制。

3 SOD 的生理功能

虽然 SOD 蛋白分子上所结合的金属离子不同,但其体内生理功能却是一致的,即清除生物体内氧化反应产生的超氧阴离子 (O_2^-)。反应式为 $O_2^- + O_2^- + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$ ^[1],后者可在其他酶如过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 作用下还原为 H_2O 或 H_2O 和 O_2 。

正常机体在生物氧化过程中即有少量 O_2^- 、 H_2O_2 、OH 等活性氧基 (Reactive Oxygen Species, ROS) 的产生,通过自身存在的氧化酶系统包括 SOD、CAT 和 GPX (谷胱甘肽过氧化酶 Glutathione peroxidase) 清除调节,使氧化和抗氧化作用保持动态平衡,以维持机体组织细胞的正常结构和功能。一旦生物体的这种平衡被打破就会产生疾病。

目前研究表明人体的许多疾病与体内氧或非氧自由基增多, SOD 等抗氧化酶的清除无力有关。如辐射损伤、肿瘤、类风湿性关节炎、糖尿病、成人呼吸窘迫综合征 (ARDS)、高氧性肺病等。SOD 不仅具有抗炎作用,用于治疗骨关节炎,而且具有抗衰老、抗肿瘤活性。

此外, MnSOD 可能在哺乳动物细胞分化中起调

节作用^[13]。

4 SOD在肺间质性疾病研究中的意义

4.1 尘肺

尘肺是一种由吸入矿物性粉尘(如石棉、石英等)引起的,多种因素参与调节的复杂的肺纤维化疾病。虽然发生机理尚不明确,但许多研究结果表明 O_2^- 等活性氧参与了石英或石棉引起的肺内炎症和纤维化过程。体外实验可见石英、石棉能使肺、腹腔巨噬细胞、红细胞产生 O_2^- 、OH、 H_2O_2 ,并引发脂质过氧化反应。矽肺、石棉肺、煤工尘肺血中脂质过氧化物(LPO)、丙二醛(MDA)、 O_2^- 增加^[14-16]。 O_2^- 不仅可使生物膜脂质过氧化,导致细胞结构和功能的破坏,还可以通过取代胶原合成时所需要的辅因子 V_c 和诱导脯氨酰羟化酶来直接影响胶原代谢,或通过对炎症或修复的影响间接参与肺纤维化。

SOD作为生物体内 O_2^- 的特效清除剂,有预防石棉、石英引起的细胞损伤,抑制肺纤维化发展的作用。尘肺时SOD水平的变化反映了机体的防御水平。大鼠亚慢性吸入 SO_2 和方石英后,其肺内抗氧化酶(AOE)mRNA的表达增加,特别是MnSOD mRNA水平的提高与免疫反应蛋白的增加一致^[17]。大鼠吸入石棉后肺匀浆中的MnSOD、Cu/ZnSOD基因表达的增加与组织病理学、BALF的细胞总数及肺经脯氨酸变化一致,并与染尘剂量相关^[18]。同时还见到大鼠吸入青石棉纤维后血清中SOD活性水平增加^[19]。吸入高浓度的石棉可导致肺内与抗氧化防御及启动细胞增殖有关的分子结构的变化。体外实验加入有活性的SOD和CAT,可见有保护巨噬细胞和成纤维细胞免遭石棉损伤的作用^[20]。人体研究显示矽肺患者或接尘工人血清Cu/ZnSOD、MnSOD或SOD水平高于对照组^[21-23]。石棉肺或接触石棉的工人血中MDA/SOD、MDA/SOD显著增加,SOD水平的变化与暴露时间明显正相关^[15]。

用葡聚糖醛(Aldehyde dextran)修饰SOD后治疗实验性矽肺可见葡聚糖醛修饰的SOD对肺纤维化的发生有抑制作用^[24]。

4.2 特发性肺纤维化(Idiopathic pulmonary fibrosis IPF)

IPF是一种以下呼吸道肺泡巨噬细胞和中性粒细胞聚集、实质细胞损伤和肺泡结构纤维化为特征的慢性间质性肺疾病。活性氧中间体(Reactive oxygen intermediates, ROI)是IPF组织损伤的主要原因。IPF

患者支气管肺泡灌洗(BAL)细胞自发性或接受刺激后释放ROI量明显超过对照组^[25]。IPF患者血清Cu/ZnSOD水平明显高于健康对照者和肺结节病(Sarcoidosis)患者。血Cu/ZnSOD水平与疾病的严重程度有关,与多形核细胞弹性蛋白酶也有很好的相关性^[26]。

4.3 药物性肺损伤

有些药物如除草剂百草枯(Parquat)、抗癌药博来霉素(Bleomycin)等在体内活化可引起细胞内 O_2^- 蓄积。百草枯通过细胞膜从线粒体电子传递系统得到一个电子,形成双吡啶基(Bipyridyl radical),此基再与分子氧起反应形成 O_2^- 。博来霉素则与DNA有高度亲和力,在铁存在下形成阴离子自由基,然后与氧反应产生 O_2^- ,引起肺实质损害。给绵羊肌注百草枯5mg/kg,一周时SOD活性即明显下降,此后维持在一个低水平,而三周后肺MDA水平迅速增加^[27]。由此可见抗氧化防御反应的无力导致了活性氧的蓄积,在百草枯慢性肺损伤中起了重要作用。

给雄性小鼠气管内注入博来霉素 A_5 2~6周后血清中经脯氨酸(HyP)、铜蓝蛋白(Cp)、血管紧张素转换酶(ACE)、SOD水平不同程度增加,但肺组织中SOD活性下降^[28]。给大鼠气管注入博来霉素前2小时和之后2天、4天施以人基因重组MnSOD,可见明显抑制肺纤维化,且效果优于Cu/ZnSOD^[29]。

5 SOD在尘肺研究中的应用前景

SOD作为一种重要的抗氧化酶,对许多疾病如射线损伤、氧毒性、再灌注损伤、炎症特别是骨关节炎等具有明显的治疗作用。天然SOD因其在血浆中半衰期甚短(Cu/ZnSOD 6~10分钟, MnSOD 5~6小时),而限制了应用。通过化学修饰交联或吸附多聚物如醛、白蛋白、菲可、聚乙二醇(PEG)等可增加SOD的血浆半衰期。PEG相对安全,适宜分子量的PEG既能保证SOD在血中停留时间,又能维持其天然酶的活性。

苏联学者采用葡聚糖醛修饰的SOD治疗实验性矽肺已发现有抑制肺纤维化的作用^[29]。若根据我国国情,合理开发SOD资源,辅以安全可靠的化学修饰,试用于矽肺的预防和临床治疗,或许能弥补目前尘肺临床治疗的不足。

此外,SOD不仅能清除细胞内的活性氧,也能清除细胞外的活性氧,清除能力比Cp强,检测方法比Cp敏感,可通过实验探讨其作为尘肺诊断的辅助指标。

6 参考文献

1. McCord JM, et al. J Biol Chem, 1969, 244 (22): 6049

2 Hallelwell RA, et al. Nucleic Acids Research, 1985, 13 (6): 2017

3 Schinina ME, et al. Eur J Biochem, 1993, 211: 843

4 Deshpande RG, et al. Tubercle and Lung Disease, 1993, 74: 388

5 Russell WJ, et al. Am J Respir Cell Mol Biol, 1993, 9: 610

6 Bogstahl GEO, et al. Cell, 1992, 71: 107

7 Matsumoto T, et al. Biochem, 1991, 30: 3210

8 Marklund SL, et al. Cli Chim Acta, 1982, 126: 41

9 Karisson K, et al. Biochem J, 1988, 225: 228

10 Stromqvist M. Laboratory Investigation, 1994, 70 (6): 889

11 Marklund SL. Biochem J, 1984, 222: 649

12 Uchida K, et al. J Biol Chem, 1994, 269 (4): 2405

13 St Clair DK, et al. Free Radical Biology & Medicine, 1994, 16 (2): 275

14 Rom WN, et al. Am Rev Respir Dis, 1987, 136: 1429

15 Kamal AA, et al. Am J Ind Med, 1992, 21 (3): 353

16 周立人, 等. 中国工业医学杂志, 1990, 3 (3): 10

17 Janssen YM, et al. Free Radical Biology & Medicine, 1994, 16 (3): 315

18 Quinlan TR, et al. American J of Respiratory & Critical Care Medicine, 1994, 150 (1): 200

19 Mossman BT, et al. Am Rev Respir Dis, 1990, 1266

20 Marie A, et al. Environmental Research, 1987, 103

21 刘菱芬, 等. 卫生研究, 1989, 18 (6): 12

22 马勇, 等. 职业医学, 1992, 19 (5): 290

23 朱静, 等. 中国工业医学杂志, 1992, 5 (3): 151

24 Maksimenko AV, et al. Yoprosy Meditsinskoi Khimii, 1992, 38 (3): 4

25 Strausz J, et al. Am Rev Respir Dis, 1990, 141 (1): 124

26 Borzi RM, et al. Clinical Science, 1993, 85 (3): 353

27 Shinozaki S, et al. Am Rev Respir Dis, 1992, 146 (3): 775

28 朱洪, 等. 中华病理学杂志, 1992, 21 (5): 278

29 Parizada B, et al. Free Radical Research Communications, 1991, 15 (5): 297

(收稿: 1995-04-18 修回: 1995-07-17)

拟除虫菊酯类农药的临床毒理学研究现状

贺全仁 聂星湖

拟除虫菊酯 (Pyrethroids, 拟菊酯) 类农药中毒案例屡有发生。有报道仅生产性中毒率高达 3.26%^[1]。可见, 拟菊酯类农药中毒的防治应是临床毒理学研究的重要课题。本文在复习近年来国内拟菊酯类农药临床中毒病例报道的基础上, 就其临床中毒防治研究中有关问题进行讨论。

1 拟菊酯类农药中毒情况

395例拟菊酯类中毒的毒物分布与原因*

毒物名称	生产性中毒	生活性中毒	合计	百分比
溴氰菊酯	191	123	314	79.5
氰戊菊酯	1	59	60	15.2
氯氰菊酯	1	1	2	0.5
灭扫利	2	0	2	0.5
混合毒物**	2	15	17	4.3
合计	197	198	395	100

* 见参考文献 1, 3~ 21; ** 包括菊氧合剂及有机磷农药混合中毒

从表中可见, 溴氰菊酯中毒病例最多, 可能与其应用广、接触机会多有关。生产性中毒多因缺乏防护

除何凤生等^[2]收集的 537例急性拟菊酯中毒病例外, 本文收集了 20篇共 395例新的中毒病例, 其中男性 156例 (39.5%), 女性 184例 (46.6%), 性别不详者 55例 (13.9%)。以急性中毒为主, 有 393例, 占 99.5%, 慢性中毒 2例。中毒途径为口服中毒 195例 (49.4%), 呼吸道和皮肤吸收中毒 200例 (50.6%)。毒物分布及中毒原因见下表。

395例拟菊酯类中毒的毒物分布与原因*

措施, 违反操作规程, 药液外漏等所致^[1]。生活性中毒大部分因自杀而有意服用, 极少数因应用菊酯类杀虫灭蝇而无防护措施所致。口服中毒量在 2~ 200ml 之间

2 中毒临床表现

作者单位: 410011长沙 湖南医科大学附属二院