

谷胱甘肽硫转移酶与氧化应激

冯欣¹ 杜宇¹ 潘坤¹ 郭琳²
(1. 河北大学附属医院 河北 保定 071000 ;2. 望都县医院 河北 望都 072450)

摘要 机体内氧化程度超出氧化物质的清除能力可导致氧化应激,氧化应激与多种疾病密切相关。谷胱甘肽硫转移酶(GST)是抗氧化酶中的一种,可通过多种途径发挥抗氧化作用。氧化应激也可对 GST 的活性进行调节。探讨氧化应激与 GST 的关系,有助于进一步了解与认识氧化应激及抗氧化酶的关系。
关键词 氧化应激;GST;活性氧
中图分类号 Q5 **文献标志码** A **文章编号** :1674-490X(2010)-05-0080-04

Glutathione S-transferases and its oxidative stress

Feng Xin¹, Du Yu¹, Pan Kun¹, et al.
(1. Affiliated Hospital of Hebei University, Baoding 071000, China ;2. Wangdu County Hospital, Wangdu 072450, China)

Abstract :In human body, oxidative stress could be induced when the oxidative produce more oxidative substance than body can eliminated. Oxidative stress has close relations with many diseases. GST is one of the antioxidants in body, playing it's role in antioxidation by many ways. Oxidative stress also can adjust the activity of the GST in body. The discussion of relationship between GST and oxidative stress could be helpful in further understanding the relationship between oxidative stress and antioxidants.
Key words :oxidative stress; glutathione S-transferases; reactive oxygen species

氧化应激(oxidative stress)是机体的氧化能力与抗氧化能力失衡,氧化程度超出氧化物质的清除能力,导致活性氧(reactive oxygen species,ROS)在体内或细胞内蓄积而引起的细胞毒性,最终导致组织损伤的过程^[1]。氧化应激与多种疾病密切相关。谷胱甘肽硫转移酶(glutathione S-transferases, GST)是抗氧化酶中的一种,可通过修复自由基引起的膜磷脂损伤、抑制微粒体过氧化反应等途径发挥抗氧化作用^[2]。下面就氧化应激与 GST 的关系作综述。

1 氧化应激

最早源于人类对衰老的认识。机体在正常状

收稿日期 2010-08-31
作者简介 冯欣(1976—),女,河北保定人,主治医师。

态,产生的 ROS 可以被抗氧化系统清除,氧化、抗氧化维持平衡。氧化应激可引起脂质、蛋白质、酶和 DNA 的氧化。氧化应激与肿瘤、衰老及各系统疾病,如动脉粥样硬化、冠心病、皮肤病、糖尿病、呼吸系统疾病、神经系统疾病、骨关节炎、风湿性关节炎等密切相关。

1.1 氧化能力 氧化应激中氧化能力主要是由 ROS 完成。ROS 或称氧自由基,是由氧诱发的,具有一个不配对电子的原子和原子团,包括含氧的高活性分子,如超氧阴离子自由基(O₂⁻)、羟自由基(OH·)、单线激发态氧(¹O₂)、过氧化氢(H₂O₂)和过氧化物(ROOH),化学性质比氧分子更活泼。

ROS 主要是线粒体电子传递链中的副产物,此外,内质网和各种氧化酶类(如脂氧合酶系、蛋白酶 C、环氧合酶系、NADPH 氧化酶复合体、

NADPH 氧化酶的同源物 NOX 蛋白家族)也能产生部分 ROS^[3]。分子氧(O_2)接受一个电子而被还原生成 $O_2^{\cdot-}$,这是其它活性氧产生的基础。 H_2O_2 及 OH^{\cdot} 均在此基础上产生。即 O_2 在获得一个电子时还原生成 $O_2^{\cdot-}$,获得 2 个电子生成 H_2O_2 ,获得 3 个电子生成 OH^{\cdot} ,获得 4 个电子生成 H_2O 。 OH^{\cdot} 是最活跃、最强力的 ROS。

自由基参与一个反应系统后能形成新的自由基。因此,ROS 一旦形成,就成为氧自由基反应扩展程序的一部分,氧自由基反应既可经其中间代谢产物不断向前发展,也可为各种抗氧化剂所终止。

ROS 性质极为活泼,能和各种细胞成分发生反应,导致脂质过氧化、蛋白质过氧化、蛋白多肽链断裂、蛋白交联、核酸过氧化等损伤,进而引起生物膜损伤、酶活性丧失、DNA 断裂、DNA 氧化、DNA 复制错误。正常情况下生物体中 ROS 的产生量少,且其产生与清除处于动态的平衡状态。某些生化反应中间过程 ROS 少量地、有控制地产生,可在多种信号通路中作为第二信使,调节细胞行为,在机体的生长、发育过程中发挥重要作用^[4],可直接或间接地调控基因的表达,另外,ROS 还可以参与 T 细胞免疫应答反应的激活,这些关系对维持机体生物学功能起着重要作用。但在创伤、疾病或中毒等情况下,机体组织、细胞 ROS 生成增加和(或)清除能力下降时,ROS 在体内或细胞内蓄积,就可引起氧化应激损伤。

1.2 抗氧化能力 体内抗氧化能力包括抗氧化酶和非酶抗氧化剂。抗氧化酶类主要有:超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶、GST、抗坏血酸过氧化物酶等,非酶类有谷胱甘肽(GSH)、VitA、VitC、VitE、 α -硫辛酸、类胡萝卜素、辅酶 Q10、胆红素以及锌、硒等微量元素,另外,机体内的一部分游离氨基酸、多肽及蛋白质在维持较高浓度时可发挥低水平的抗氧化活性^[5]。

SOD 和 CAT 分别清除 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 ,谷胱甘肽过氧化物酶、GST、VitC、VitE、胆红素主要清除 ROOH,切断 ROOH 引起的连锁反应,防止细胞破坏;胞质

中的 GSH 与 NADPH 在某些酶如过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶等的协同作用下,能还原 H_2O_2 、ROOH、二硫化物及某些自由基; β -类胡萝卜素可防止机体内 LDL 的过氧化损伤,并能提高 HDL 的含量。硒以谷胱甘肽过氧化物酶的活性中心而发挥作用,能提高谷胱甘肽过氧化物酶活力,加快 GSH 与自由基反应速率^[5]。锌可通过改善 SOD 活性,发挥抗氧化作用。

在神经元、神经胶质细胞的细胞膜上存在着细胞膜蛋白,当 ROS 增加时,细胞膜蛋白表面的 PrPc 蛋白 N 端发生 β 断裂,防止对细胞进一步氧化。

抗氧化酶和非酶抗氧化剂的抗氧化作用可相互补充、相互依赖。由 SOD 催化反应生成的 H_2O_2 ,由过氧化氢酶进行分解,并由铜蓝蛋白催化亚铁氧化,以减少过渡金属产生自由基,细胞内有硒依赖的谷胱甘肽过氧化物酶与非硒依赖的谷胱甘肽过氧化物酶,硒依赖的谷胱甘肽过氧化物酶可催化游离的脂氢过氧化物分解,而非硒依赖的谷胱甘肽过氧化物酶则能催化膜上的脂氢过氧化物分解,维生素 C 与维生素 E 在清除自由基过程中可互相支持。又如, GSH 是细胞内主要的、直接的还原剂,维持 GSH 的高水平则有赖于谷胱甘肽还原酶催化的辅酶(NADPH)的氧化反应,而充足的 NADPH 又依赖葡萄糖代谢的磷酸戊糖途径,谷胱甘肽的合成还必须要有充足的含硫氨基酸与合成酶的参与等。此外,抗氧化酶间,可互相代偿,如动物缺硒时,含硒谷胱甘肽过氧化物酶活力降低,而其同工酶——GST 的活力则升高;锰(Mn)缺乏时,组织中的 Mn-SOD 活力降低, Cu/Zn-SOD 活力则升高。

抗氧化能力下降可引起氧化应激。

2 GST

GST 是一组普遍存在于各种生物体内的 II 相代谢酶,是多种生物体内的主要解毒系统,与许多生理及异源物质的排泄有关,其普遍底物是 2,4-二硝基氯苯(CDNB)。GST 可以催化 GSH 的巯基(-SH)与一些难溶于水的物质,如染料、胆酸、血红素、激素及其他一些疏水性强的外来物质

(包括一些化学致癌物)或内源的代谢产物结合,使之极性增强,易溶于水,最终被降解,排出体外^[6]。另外,GST在防止脂质过氧化损伤扩大、减少及修复DNA损伤及癌细胞耐药性的形成等方面也起着重要作用。

GST是一个超基因家族。目前发现哺乳动物GST主要包括 α 、 μ 、 π 、 θ 、 σ 5种,另外还有一类是脂溶性的微粒体同工酶。除微粒体GST为三聚体外,其他GST以同或异二聚的形式存在。哺乳动物各类组织中含有不同种类的GST,其含量和活性也各不相同,其中肝脏含量最高,约占肝脏可溶性蛋白的5%。GST有膜结合和胞液两种形式,以胞液GST为主。因大鼠GST Ya亚基基因与人类GST基因相似度较高,故在实验研究中,通常选择大鼠GST Ya亚基基因作为研究对象,以推测人类GST基因的调控。

3 GST与氧化应激

GST是重要的抗氧化酶,近几年发现GST在清除体内过氧化物的作用有^[2]。(1)在自由基引起的膜磷脂损伤中起修复作用,GST- α (肝脏中表达最多的一种谷胱甘肽硫转移酶^[7])具有非硒依赖性谷胱甘肽过氧化物酶活性,可催化过氧化脂肪酸的还原,有防止脂质过氧化损伤扩大的作用^[8]。(2)GST- σ 有前列腺素H-E异构酶的作用,可催化PGH₂转化为PGE₂,PGE₂有明显抗氧化作用^[9],可保护血管内皮功能,对抗氧化应激,从而抑制糖尿病性动脉粥样硬化的发展^[10]。(3)胸腺嘧啶过氧化物、5-氢过氧化甲基尿嘧啶是GST的底物,在大鼠肝细胞核内已经发现与染色质有关的GST同工酶,对DNA氢过氧化物有高度反应性,也有研究发现,GST可参与DNA辐射损伤引起胸腺嘧啶氢过氧化物残基的修复过程。(4)抑制微粒体过氧化反应。

GST的另一种重要特性是其活性是可以被诱导的。GST基因的表达受氧化应激的调控。一些通过调控元件ARE引起GSH-ST基因表达增强的外源性物质可在细胞色素P450的作用下生成活

性氧的中间代谢产物,通过调控元件ARE引起GST基因表达增强,ROS引起氧化应激可直接激活ARE^[11]。活性氧还可以通过增强c-Fos和c-Jun基因的转录间接对GST基因的表达进行调控^[12]。有研究表明,给大鼠注射超负荷剂量的铁剂可诱导脂质过氧化,可产生4-羟基壬烯醛(4-HNE)及其他脂质过氧化物,可检测到同时伴有大鼠肝内GST8-8的选择性增多^[13],而大鼠GST8-8(人GST5-8)属于 α 型GST家族,可相对特异地催化4-HNE和脂肪酸的氢过氧化物与GSH结合,并对脂肪酸的氢过氧化物表现出非硒依赖谷胱甘肽过氧化物酶的活性。也有研究证明,OH·的产生与大鼠GST Ya基因的表达密切相关^[14]。除催化亲电子物质同还原型谷胱甘肽结合发挥解毒功能外,微粒体谷胱甘肽硫转移酶(MGST)还催化氧化应激产物和GSH结合,表现抗脂质过氧化功能。MGST可被多种方式修饰,使其催化活性成倍提高。超氧阴离子自由基可与NO快速反应产生ONOO-,ONOO-可通过Tyr92和Tyr153硝基化、Cys49巯基氧化(次磺酸)、二聚体形成以及蛋白质碎片产生4种方式修饰激活MGST,激活后的MGST的抗脂质过氧化能力明显增强^[15]。

另一方面,氧化应激在调控GST基因表达的同时也可通过ROS诱导 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶(GSH合成的限速酶)增加GSH的合成^[14],而细胞内GSH的含量可抑制GST基因的表达^[12]。

综上所述,氧化应激与多种疾病的发生发展有密切关系,GST作为机体内抗氧化酶之一,参与了氧化应激的过程,而其活性也受氧化应激调节。通过对抗氧化酶的进一步研究,有助于详细了解氧化应激发生、发展的机制,检测GST水平可能有利于氧化应激程度的评价。

参考文献:

- [1]陈聆,李敏.阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征患者的氧化应激状态和血管内皮的改变[J].诊断学理论与实践,2009,8(3):348-351.
- [2]Reinemer P,Dirr H W,Ladenstein R,et al. Three-dimen-

- sional structure of class π glutathione S-transferase from human placenta in complex with S-hexylglutathione at 2.8 Å resolution[J]. J Mol Biol, 1992, 227(1): 214–226.
- [3] 邱国荣, 徐晓阳, 谢敏豪. 活性氧诱导运动中肌源性 IL-6 产生的信号转导通路评述[J]. 运动学刊, 2009, 16(5): 108–112.
- [4] 张克烽, 张子平, 陈云, 等. 动物抗氧化系统中主要抗氧化酶基因的研究进展[J]. 动物学杂志, 2007, 42(2): 153–160.
- [5] Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function[J]. Physiol Rev, 2002, 82(1): 47–95.
- [6] Strange R C, Spiteri M A, Ramachandran S et al. Glutathione S-transferase family of enzymes[J]. Mutat Res, 2002, 482: 21–26.
- [7] 倪韶青, 寿洪初, 赵正言, 等. 谷胱甘肽硫-转移酶与疾病和化疗[J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(20): 1530–1533.
- [8] 聂立红, 王声勇, 胡毅玲, 等. 谷胱甘肽硫-转移酶研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 2000, 16(11): 1230–1243.
- [9] 邱近明, 徐东波, 孙保存, 等. 前列腺素 E-2 对 LDL 氧化修饰和巨噬细胞清道夫受体活性的影响[J]. 中华病理学杂志, 1995(3): 165–167.
- [10] 崔景秋, 冯凭, 强桂芬, 等. PGE 对糖尿病性动脉粥样硬化家兔氧化应激的影响[J]. 辽宁实用糖尿病杂志, 2004, 12(2): 33–34.
- [11] 庞战军, 陈瑗, 周玫. 谷胱甘肽硫转移酶基因表达的调控[J]. 生物化学与生物物理进展, 1997, 24(5): 401–405.
- [12] Bergelson S, Pinkus R, Daniel V. Intracellular glutathione levels regulate Fos/Jun induction and activation of glutathione S-transferase gene expression[J]. Cancer Res, 1994, 54(1): 36–40.
- [13] Khan M F, Srivastava S K, Singhal S S et al. Iron-induced lipid peroxidation in rat liver is accompanied by preferential induction of glutathione S-transferase 8-8 isozyme[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 1995, 131(1): 63–72.
- [14] Pinkus R, Weiner L M, Daniel V. Role of quinone-mediated generation of hydroxyl radicals in the induction of glutathione S-transferase gene expression[J]. Biochemistry, 1995, 34(1): 82–88.
- [15] Ji Y, Bennett B M. Activation of microsomal glutathione S-transferase by peroxynitrite[J]. Mol Pharmacol, 2003, 63(1): 136–146.

(本栏目责任编辑: 刘俊华)

(上接第 76 页)

- matogr A, 2004, 1048(2): 153–159.
- [37] Quan Can, Li Shufen, Tian Songjiang. Supercritical fluid extraction and clean-up of organochlorine pesticides in ginseng[J]. Journal of Supercritical Fluids, 2004, 31(2): 149–157.
- [38] 张晖芬, 赵春杰. 熟地黄中重金属超临界 CO₂ 净化技术研究[J]. 药物分析杂志, 2005, 25(8): 895–898.
- [39] 赵春杰, 张晖芬, 陈静, 等. 黄芪中重金属超临界 CO₂ 净化技术研究[J]. 沈阳药科大学学报, 2004, 21(5): 381–384.
- [40] 张晖芬, 赵春杰. 淫羊藿中重金属超临界 CO₂ 流体净化技术研究[J]. 中南药学, 2005, 3(5): 259–261.
- [41] Arancibia V, Alaren L, Segura R. Supercritical fluid extraction of cadmium as Cd-oxine complex from human hair: determination by square wave anodic or adsorptive stripping voltammetry[J]. Analytica Chimica Acta, 2004, 502(2): 189.
- [42] Radcliffe C, Maguire K, Lockwood B. Applications of supercritical fluid extraction and chromatography in forensic science[J]. J Biochem Biophys Methods, 2000, 43(1–3): 261–272.
- [43] 王琦, 高彦祥, 刘璇. 不同方法强化超临界 CO₂ 萃取的最新研究进展[J]. 包装与食品机械, 2007, 25(6): 11.
- [44] 肖观秀, 吕惠生, 张敏华. 反胶团在超临界二氧化碳体系中的研究进展[J]. 化工进展, 2005, 24(2): 142.
- [45] Manninen P, Kallio H, Carbral M. Supercritical extraction in the pharmaceutical industry[J]. Chem Eng World, 2005, 13(1): 491–492.
- [46] 武洁, 冯芳. 超临界流体色谱法分离手性药物[J]. 药学进展, 2004, 28(7): 300.
- [47] 李志义, 刘学武, 张晓冬. 超临界流体精密清洗[J]. 机械制造, 2004, 42(3): 53.