

讲 座

酶的分子生物学与临床酶学（二）

李文杰

（中国科学院上海生物化学研究所）

表 2 氧-氧键的四种形态

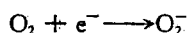
氧-氧键	名 称	例 子
O_2^+	双氧正离子	O_2PtF_6
O_2	双原子氧	通常氧分子
O_2^-	超氧化物	LiO_2 HO_2
O_2^{2-}	过氧化物	Na_2O_2 H_2O_2 $ROOR(R = \text{烷基})$

四、放射病、自身免疫性疾病与超氧化物歧化酶

本节较为详细地讨论关于超氧化物歧化酶（superoxide dismutase, 简称 SOD）作为治疗酶的一些问题：

1. 超氧离子及其产生

（1）超氧离子 所谓超氧离子即负一价的氧分子—— O_2^- 。当氧分子经过一个电子还原就会产生超氧离子或超氧基



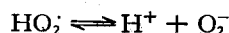
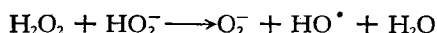
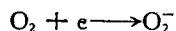
生物体内不少病理过程都能产生超氧离子。首先应了解超氧离子在各种氧-氧键中的地位,氧-氧键共有四种,见表 2

（2）超氧离子的产生 超氧离子对人体的毒性很大,对细胞的破坏力极强。不少疾病对人体的致命性,产生超氧化物也是原因之一。以下几方面能产生超氧离子:

发炎 不少炎症已证实能产生超氧离子,如类风湿性关节炎、骨关节炎、腿部水肿等。肺炎、肺水肿由于处于富氧的肺部,更易产生超氧离子。

电离辐射 机体经电离辐射后会产生有毒的超氧离子,这是辐照病(放射病)的致命原因之一。人体细胞内的水分暴露于高能辐射下,将产生一系列物质:

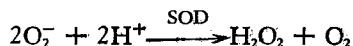
$H_2O \xrightarrow{\text{X-线 } \gamma\text{-线}} HO^\cdot, H^\cdot, e_{aq}^-, H_3O^+, H_2, H_2O_2$
 有氧时,一些高能基进一步反应可产生超氧离子:



吞噬作用 人体细胞对入侵细菌采取的自卫运动,如白细胞的吞噬作用也会产生超氧离子^[7]。

2. 超氧化物歧化酶（SOD）

对超氧化物歧化酶进行详细研究比较晚（1959 年）。它们在生物界分布很广,几乎从人到细菌,从动物到植物都有它的存在。在正常情况下,此酶仅存在于细胞溶质中。超氧化物歧化酶在生物界的广为分布与生物体内的解毒作用有关。因此此酶催化下列反应:



酶把有毒的超氧离子歧化成过氧化氢和分子氧,过氧化氢随后经体内的过氧化氢酶或过氧化物酶分解或利用掉,因而超氧离子的毒被解除。

人体白细胞对外部入侵的细菌吞噬时能产生微量的超氧离子杀死病菌,剩余的有毒超氧离子被人体的超氧化物歧化酶分解,而不会损害机体(图 2)。

迄今为止已经发现有三种不同类型的超氧化物歧化酶,每一种含有不同的辅基。研究最多的是真核细胞的细胞溶质中的含铜的酶。这

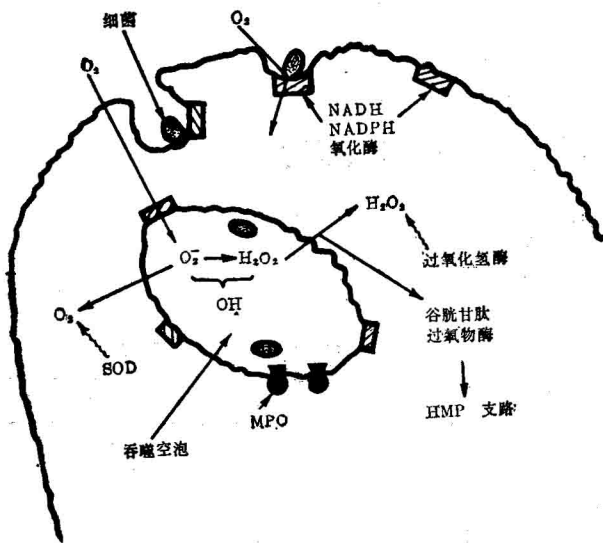


图2 吞噬作用发炎与超氧离子
MPO 为髓过氧化物酶 (Myeloperoxidase)

一类酶，同时还含有锌。锌看来是起一种结构的作用而不参与催化作用。含铜-锌的超氧化物歧化酶可从哺乳类动物组织、植物、鸡肝、酵母和真菌中提取，呈蓝绿色。所有这些胞质酶的分子量都接近 32,000，由 2 个相同的亚基组成，每个亚基含有一原子铜和一原子锌。其中铜处于酶的活性中心部位并和一个组氨酸相邻近。

从原核细胞，大肠杆菌 (*E. coli* B) 分离出另一种 SOD，呈粉红色，虽然在专一性方面与牛的铜锌酶无异，但这种细菌酶不含铜和锌，分子量为 40,000，它也由二个相同的亚基组成，每分子含有二个锰原子。这种锰酶后来从另一原核细胞——链球菌中获得，性质相似。有人发现，鸡肝线粒体中含有一种电泳行为上与胞质酶不同的 SOD，分离纯化后证明此第二类型的鸡肝 SOD 是一个含锰的酶，与细菌的锰酶很相似。其主要差别是分子量的大小。鸡肝含锰的 SOD 分子量是 80,000，是一个由四个相同亚基组成的四聚体。

哺乳动物以及人的肝脏等亦有含锰的 SOD，人肝脏 SOD 分子也由四个相同亚基组成，并含有四个锰原子，分子量约为 85,300。现在认为，含锰的 SOD 不一定仅线粒体中才有，

有些种类动物，锰酶亦存在于其细胞质中，有时其浓度甚至比铜锌酶还大。有一个很有趣的现象值得注意，在健康人的淋巴细胞中既有含铜锌的 SOD，也有含锰的 SOD。但恶性淋巴瘤患者的淋巴细胞中含锰的 SOD 趋于减少或消失，而只有含铜-锌的 SOD^[8]。近年来还发现各种恶性肿瘤，其含锰的 SOD 都有降低的现象。

从大肠杆菌 *E. coli* 及其他细菌中还分离出第二种 SOD。它们是一种二聚体，每个分子中含有一个铁原子。

不管 SOD 的来源及其所含金属是铜-锌、锰还是铁，都催化同一个反应，即对超氧离子进行歧化作用。

关于超氧化物歧化酶的测定有多种方法，一般说，测定体系中需要有一能产生超氧离子的系统和一检测超氧离子的系统。超氧离子可由各种方法产生，一般用酶法或光化学法。

用酶法产生超氧离子时可用黄嘌呤氧化酶系统。酶的底物如系次黄嘌呤，则其每克分子产生超氧离子的量是黄嘌呤作底物时的二倍。所产生的超氧离子即可用作 SOD 的测定。

如用光化学法，则可用核黄素的光照还原产生超氧离子，此超氧离子可以抑制氮蓝四唑 (NBT) 的还原，因此有 SOD 或没有 SOD 就不同，酶活力即可被测定。

3. 超氧化物歧化酶作为治疗酶的治疗作用

超氧化物歧化酶近年来在国际上受到广泛的重视，这是因为它可以作为治疗酶，对不少较为难治的病有一定的疗效。国外从牛红细胞中制得的超氧化物歧化酶，其商品名为 Orgotein。不少人研究 Orgotein 的药理性质，证明它无毒，无抗原性，能抗发炎、抗超氧离子、抗病毒感染。作为治疗酶的超氧化物歧化酶有以下功能：

对自身免疫性疾病的治疗作用 SOD 对自身免疫性疾病一般均有疗效。例如 Crohn's 疾病亦称回肠结肠炎。这是一种肠道的自身免疫性疾病，极为顽固。但有不少例子说明经过每天 500mg 剂量的 SOD 处理(皮下注射)二个

月内症状消失^[9]。

胶原性的自身免疫性疾病即所谓胶原病，例如红斑狼疮、皮炎，类风湿性关节炎等，以前都没有有效的治疗方法，现在用 SOD 处理，均可获得缓解或治愈^[9]。表 3 是一例红斑狼疮患者经过 SOD 治疗后的结果。经 SOD 处理 80 天后，各项血液指标均达到正常值。在各类胶原性疾病中，包括硬化 (sclerosis)、红斑

表 3 一例红斑狼疮用 SOD 处理情形

验血指标	用 SOD 处理前	SOD 处理 20 天后	SOD 处理 80 天后
沉降率	83	87	23
红细胞计数	3.4 百万	3.8 百万	5.07 百万
白细胞计数	2,900	5,200	5,000
亲细胞核因子	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{10}$	(—)

狼疮、类风湿性关节炎、皮炎以及结节性动脉外膜炎等的细胞中，均可发生染色体断裂，这与疾病产生的超氧离子有关。实验证明，超氧离子不但可引起染色体断裂，还可造成染色体重组，引起严重恶果。但经过一个阶段的 SOD 治疗，染色体断裂现象消失。

已经发现放射病患者的染色体也有断裂现象，从这一点看，其起因与胶原病患者相同。

对放射病的疗效 经受高剂量 X-射线或 γ -射线照射所得的放射病，一直苦于没有好方法治疗。放射病引起的致命症状，多半是超氧离子造成的。SOD 对各类放射病均有较好的疗效，SOD 并可在临床实践中用作治疗性辐射的预防保护剂^[10,11]。

对其他炎症及水肿的疗效 SOD 对肺炎有特效。因为肺经常充满氧气，因而患有细菌性肺炎时，就更易产生超氧离子。肺因而受到侵害。如用 SOD 静注处理，可得预期的效果。此外 SOD 对各类过敏性引起的水肿——如抗血清引起的皮肤水肿，角叉菜聚糖 (carrageenan) 引起的脚部水肿以及其他炎症性水肿均有一定疗效。对各类细菌引起的发炎亦有很好疗效。

由于超氧化物歧化酶在治疗酶中有突出好

的疗效，因而应该继续对它的临床应用和分子药理学进行深入的研究，以便扩大此酶征服疾病的功效。

五、治疗酶学的未来——酶的抑制剂作为治疗用药物

以上几节所述，在治疗疾病中，都是酶本身作为治疗手段而起作用。相反，能不能把酶作为靶子，使某些病菌的或异常生长的体细胞的酶被一些相应的化合物所抑制或者失活，从而使疾病得以治疗呢？当然，每种酶都有一定的抑制剂，但是这类抑制剂有许多是对人的机体有毒的，因之是不能作为药用的。但是近年来对酶抑制剂与疾病治疗关系有新的认识与进展。

1. 酶的自杀底物与疾病治疗

某种酶的抑制剂专一地作用于一种酶，它所作用的酶称为靶酶，某种天然的或合成的抑制剂，因其对靶酶作用的专一性有强有弱，因而对机体代谢的控制方面就可能起重要的作用。例如，在血液循环蛋白质中约有 10% 是在血液凝固过程中起作用的蛋白水解酶的抑制剂。这样高的循环性大分子抑制剂水平就可保证在血凝块形成过程中涉及的蛋白酶只能局部起作用，这是一种关键的稳衡调节作用。

有一类抑制剂，它与酶的活性中心结合后产生化学反应并与酶蛋白上一些残基形成一种稳定的共价键，因而引起酶的不可逆的失活。例如青霉素可使合成细菌细胞壁的羧肽酶和转肽酶起酰化作用，因而属于这一类不可逆失活剂的范畴。

另有一类专一的靶酶的不可逆失活剂称为自杀底物，它们在治疗疾病方面具有重要意义^[12,13]。这类底物，无论是天然的还是合成的，在它们的结构中都不具有化学活性基团，但具有潜在的化学基团，并在催化过程的某一阶段能被酶促催化作用激发而产生有反应力的化学基团。这些有反应力的基团只能在一定的局部微环境中显露，也就是说在靶酶的活性中心上发生。如果反应产物扩散出去，在与其它一些

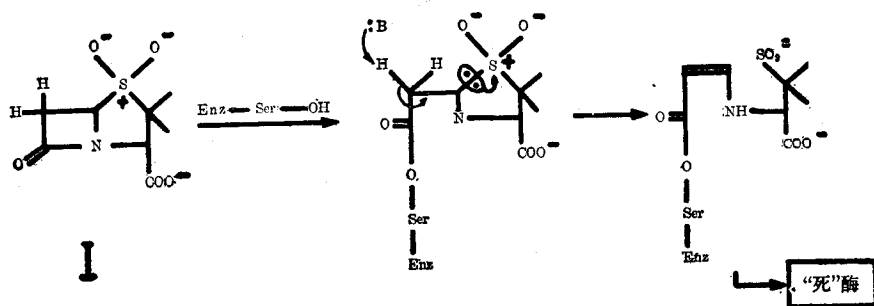


图3 青霉素G是 β -内酰胺酶的自杀底物

I: 即为青霉素G

蛋白质或细胞组分起反应之前就能发生共价反应, 则会引起一种最大的专一的失活过程。可以说在这样一种流产的催化循环中酶已经遭到了“自杀”。

自杀底物用于医疗实践还是一个新课题, 人们可以合成一些对人体副作用较少的某些靶酶的自杀底物, 以便对付某种病原体例如细菌的感染, 这方面的前景是很美好的, 有许多工作需要做, 现仅举三个已有成效的例子:

(1) 青霉素是羧肽酶的自杀性酰化剂, 而这种羧肽酶是与细菌的细胞壁生物合成的晚期有关的。当细菌变得对青霉素有抗药性时, 最通常的原因是细菌已能够制造 β -内酰胺酶, 因此酶能够水解具有杀菌能力的青霉素的 β -内酰胺环使之成为无活性的青霉酸。因而设计一种对这些 β -内酰胺酶的自杀底物就十分有用了。Pfizer 氏的 899 是一种合成的青霉素衍生物, 即青霉素G, 也是一种自杀底物。因为它最终会在 β -内酰胺酶的活性中心上形成一种失活态(图3), 酶因而变成“死”的了。故将这种青霉素的衍生物与青霉素混用时能增加杀菌能力。

(2) 一种临床上有用的抗肿瘤药物5-氟脱氧尿苷酸(FdUMP), 对其靶酶胸苷酸合成酶也是一种自杀底物。此酶在DNA一条单体的生物合成上是一个关键酶。FdUMP通过正常的催化途径与酶的半胱氨酰巯基以及亚甲基-THF辅因子形成三元络合物。5-F替代物并不能像正常的5-H替代物那样在代谢过程中

被利用, 因之三元络合物就被堆积, 从而使酶在中间催化过程中停止作用。这一络合物的生理寿命约14小时, 这段时间足以致易感的肿瘤细胞于死地^[14]。

(3) 用别嘌呤醇(Allopurinol)医治各种类型的痛风症(Gout)。所谓痛风是一种嘌呤代谢异常引起的疾病, 病人的血和尿中尿酸盐浓度升高, 手指和脚趾等关节旁、耳廓、肾脏等处有尿酸钠盐结晶沉出, 或形成小结石, 常造成骨关节炎、关节畸形和肾脏病变, 甚至引起肾功能衰竭。因为别嘌呤醇对黄嘌呤氧化酶有抑制作用, 因而降低了尿酸的生成。事实上, 别嘌呤醇也是别嘌呤酶(黄嘌呤氧化酶)在C-2处羟化到别嘌呤的一种底物, 因而对靶酶黄嘌呤氧化酶也是一种自杀底物^[15]。反应是一种二个电子的氧化过程, 在活性中心的 Mo^{VI} 被还原成为 Mo^{IV} 。而别嘌呤酶复合体的分解是极慢的, 其解离半衰期有5小时之久。对别嘌呤醇在体内发挥作用, 时间已经足够长了。

2 前景

不少天然或人工合成的化合物在体内可以对特定的酶产生专一性地不可逆的抑制作用。近年来, 国外对酶的自杀底物进行了不少的研究。自杀底物可分为不同的类别, 但它们都有一个共同的特征, 即靶酶必须打开其潜在的功能基团, 然后才能催化其自身的“毁灭”。某些抗菌素、抗肿瘤药物、镇静剂或止痛剂以及其他一些药理上有效的化合物, 就是循着这条途径起作用的。这些事实提示, 如能合理设计一

些自杀底物将能为获得高效低副作用的药物提供一个新的方向。

参 考 文 献

- [1] 《动物学研究》, 2(4)增刊, 167, 1981.
- [2] 陈远聪、李文杰: 《蛇毒的生化、毒理和应用》, 科学出版社, 1983.
- [3] Ewart, M. R. et al.: *Biochem. J.*, **118**, 603, 1970.
- [4] 邵靖宇: 《第三次中国生物化学学术会议论文摘要汇编》167, 1979.
- [5] Flickinger, C. J. et al.: *Medical Cell Biology*, 1979, W. B. Saunders Company, Philadelphia·London·Toronto.
- [6] Sato, R. & Omura, T.: *Cytochrome P-450*, Kodansha Ltd. Tokyo, Academic Press, New York·San Francisco·London.
- [7] Michelson, A. M. et al.: *Superoxide & Superoxide Dismutases*, 291, 1977, Academic Press, London.

- don. New York. San Francisco.
- [8] Bannister, W. H. & Bannister, J. V.: *Biological & Clinical Aspects of Superoxide & Superoxide Dismutase* 281, 1980, Elsevier/North-Holland. New York·Amsterdam·Oxford.
- [9] *ibid.*, 381.
- [10] Michelson, A. M. & Buckingham, M. E.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **58**, 1079, 1974.
- [11] Petkau, A. et al.: *Int. J. Radiat. Biol.*, **29**, 297, 1976.
- [12] Walsh, C.: *Horizons in Biochemistry & Biophysics*, Vol. **3**, 36, 1977, Addison Wesley, Reading, MA.
- [13] Walsh, C.: *Molecular Biology, Biochemistry & Biophysics*, Vol. **32**, 62, 1980. Springer Verlag, Heidelberg.
- [14] Pocolotti, A. & Santi, D.: *Bioorganic Chemistry*, Vol. **1**, 277, 1977, Academic Press, New York.
- [15] Massey, V. et al.: *J. Biol. Chem.*, **245**, 2387, 1970.

[本文于1983年1月15日收到]

科技消息

美国大学生物科学情况分析

美国一共有 616 所大学有生物科学的系。如果以六个类型来分,那就是生化、植物、细胞/分子生物学、微生物、生理和动物。根据近五年来 16 个指标的统计分析,成绩属于最好的学校和系如下:

生化 MIT 生化系

哈佛 研究生院生化和分子生物系

斯坦福 生化系

加大伯克利 生化系

威斯康新(麦迪生) 生化系

耶鲁 分子生物物理及生化,药物,生物

细胞/分子生物学

MIT 生物系

Caltech 生物系

洛克菲勒 细胞生物,分子生物

耶鲁 生物,细胞/分子生物,生物物理与生化,遗传

过去五年内上升最快的校系为:

Utah 大学(盐湖城) 生物系

加大洛杉矶分校 分子生物学

斯坦福 结构生物学

Syracuse 大学 生物系

福吉尼亚大学 生物系

北卡罗林那大学(chapel) 细胞生物、分子生物,

此外最好的微生物课题在 MIT 及洛克菲勒大学;

最好的植物学在加大 Davis 分校及范德比尔德大学;

最好的生理学在加大圣地亚哥分校;最好的动物学在哈佛。

摘自 *Nature* **301** (5897) p189 83.

更 正

“酶的分子生物学与临床酶学(一)(1983年第4期)”中的图1左边“氧化药物”应改为“被氧化药物”