

脂质过氧化对细胞与机体的作用

曹 锡 清

(中国协和医科大学, 北京)

脂质过氧化作用是指发生在不饱和脂肪酸共价键上的一系列自由基反应^[1-4]。近几年来, 关于脂质过氧化作用的研究涉及面相当广, 包括某些疾病的病理过程如肿瘤、化学中毒、感染、炎症反应、自身免疫病、辐射损伤及心血管系统疾病等以及衰老、吞噬杀菌等生理过程。人们试图从分子水平探讨这些过程的机理。本文将要讨论脂质过氧化物的产生、对机体的作用、生物体抗氧化作用, 及其与衰老、细胞损伤和某些疾病的关系。

一、脂质过氧化的基本概念

机体内存在大量的不饱和脂肪酸, 它们极易受到过氧化作用的损伤, 产生有细胞毒性的

脂质过氧化物^[4,5]。1956 年 Harman^[6] 首先提出自由基学说: 多不饱和脂肪酸 (PUFA) 在自由基和其它一些氧化引发剂 (如羟自由基 $\cdot\text{OH}$ 、过氧化氢 H_2O_2 或单线态氧 $^1\text{O}_2$) 作用下生成自由基中间物 $\text{L}\cdot$, 然后与 O_2 反应形成 $\text{LOO}\cdot$ 及 LOOH 。它们一方面自发分解形成更多自由基, 攻击其它双键, 产生更多的脂质过氧化自由基, 并依次传递下去成自动分解的链式反应; 另一方面, 铁、铜等过渡族金属离子可能是 PUFA “自动”氧化的起动机, 而且这些金属的复合物还能特异高效地催化脂氢过氧化物的分解, 引起自由基链锁反应 (图 1)。脂质过氧化产生的自由基可通过相互碰撞而猝灭, 也可以与生物体内的一些天然的自由基清除剂或抗氧化剂

参 考 文 献

- [1] Lewin, B., *Gene Expression*, Vol. 1, pp. 229—410, John Wiley and Sons, New York, 1974.
- [2] Miller, J. H., and Renbikoff, W. S.: *The Operons*, Cold Spring Harbor Laboratory, 1978.
- [3] Lewin, B.: *Genes* pp. 236—257, John Wiley and Sons, New York, 1983.
- [4] Neidhardt, F. C., and Van Bogelen, R. A.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **100**, 894—900, 1981.
- [5] Yamamori, T., and Yura, R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 860—864, 1982.
- [6] Chamberlin, M.: In *RNA Polymerase* (Losick, R., and Chamberlin, M. eds.), pp. 17—68, Cold Spring Harbor Laboratory, 1978.
- [7] O'Farrell, P. H.: *J. Biol. Chem.*, **250**, 4007—4021, 1975.
- [8] Neidhardt, F. C., et al.: *Ann. Rev. Genet.*, **18**, 295—329, 1984.
- [9] Taylor, W. E., et al.: *Cell*, **38**, 371—381, 1984.
- [10] Landick, R., et al.: *Cell*, **38**, 175—182, 1984.
- [11] Burton, Z., et al.: *Nucl. Acids. Res.*, **9**, 2889—2903, 1981.
- [12] Grossman, A. D., et al.: *Cell*, **38**, 382—390, 1984.
- [13] Doi, R. H.: In *The Molecular Biology of Bacilli* (Dubnau, D. A., ed.), Vol. 1, pp. 72—110, Academic Press, New York, 1982.
- [14] Doi, R. H.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **214**, 772—781, 1983.
- [15] Fox, R., et al.: *J. Mol. Biol.*, **101**, 427—433, 1976.
- [16a] Westpheling, J., et al.: *Nature*, **313**, 22—26, 1985.
- [16b] Travers, A.: *Nature*, **313**, 16—17, 1985.
- [17] Losick, R., and Pero, J.: *Cell*, **25**, 582—584, 1981.
- [18] Wang, P. Z., and Doi, R. H.: *J. Biol. Chem.*, **259**, 8619—8625, 1984.
- [19] Wang, L. F., et al.: *J. Biol. Chem.*, **260**, 3368—3372, 1985.
- [20] Brian, J. F., et al.: *J. Biol. Chem.*, **260**, 2038—2041, 1985.
- [21] Gitt, M. A., et al.: *J. Biol. Chem.*, **260**, 7178—7185, 1985.

[本文于 1985 年 5 月 22 日收到]

影响膜的功能。(a) 自由基与膜上酶和/或受体共价结合, 改变膜成份的活性; (b) 共价结合膜成份, 改变膜结构和/或抗原性; (c) 巯基氧化, PUFA 与蛋白质比率改变, 造成膜运输过程紊乱; (d) PUFA 的脂质过氧化的启动直接影响到膜结构以及有关的过氧化产物影响膜流动性、交联、结构与功能, 使膜脆性增加。

蛋白质中含巯基的氨基酸易被氧化生成二聚体, 脂质过氧化产物丙二醛与蛋白质或酶交联成 Schiff 氏碱, 如果是酶则丧失活性甚至成为一种催化错误代谢的分子。

脂质过氧化产生的具有中等反应活性的烷自由基 $R\cdot$ 能通过扩散进入核或核糖体, 直接攻击 DNA 或 RNA, 与碱基特别是胸腺嘧啶的双键起加成反应。丙二醛也可与核酸上游离的一 NH_2 共价交联成 Schiff 碱。如果形成的自由基不能被及时清除灭活, 此类反应将继续进行, 于是造成遗传信息的改变。DNA 突变造成细胞分裂异常、癌变、子代畸形等。

上面讨论了脂质过氧化对细胞的结构和功能有严重损害而且可以导致细胞死亡。然而体外实验相对来讲容易掌握脂质过氧化的进程, 而体内实验一般不能肯定, 因为测出的脂质过氧化物到底是细胞损伤的起因, 还是细胞损伤后表现出的信号还不清楚; 过氧化反应造成的代谢不平衡出现的部位也还不明确。

三、脂质过氧化对机体的作用

1. 脂质过氧化与衰老

细胞老化是机体衰老的基础。衰老过程分正常生理过程与病理变化两类。但二者往往难以严格区分, 因为生理衰老现象常以疾病的形式表现, 而许多疾病又促进了生理衰老的进程。

近年来, 由于细胞生物学、分子生物学、免疫学与生化等学科的发展, 提出了许多有关衰老机理的学说。大体上可分为两类: 一类认为衰老是按预定遗传程序进行的, 衰老可为特异的“衰老”基因所表达^[1], 或为可用基因最终耗竭。他们认为发育过程受遗传程序控制, 调节中枢(可能位于下丘脑)的敏感性随年龄增高

而下降。衰老性疾病就是在下丘脑功能障碍时出现的内环境漂移, 同时又比任何其它疾病都更依赖于外部原因。另一类理论认为, 衰老是无计划的、随机发生的一系列紊乱所引起的, 衰老是细胞器的进行性和积累性毁坏, 或是大分子信息的误差, 导致产生不正常的大分子的结果。自由基学说是这类理论的一种, 其它假说有些在理论上也与自由基有关。

实验证明, 脂质过氧化作用随年龄而增高, 同时伴有酶与非酶系统防御机制的下降, 导致体内自由基浓度升高。Lönneldorl 证明老年鼠肝内 Mn-SOD 活性明显降低, 而 SOD 是主要的 O_2^- 清除剂, 因此认为这可能是细胞衰老的重要因素。个体的衰老可以看成是在细胞老化的基础上产生的。细胞老化时伴有一些酶、蛋白质及脂质的变化, 这些变化与细胞受脂质过氧化损伤发生的变化基本一致。Hochstein 认为细胞长期受过氧化损伤是细胞老化的原因之一。

脂质过氧化既是细胞膜衰老的诱因也是细胞衰老的结果。Ronsler 等^[13]认为膜脂质总量的相对增高与类脂成份改变可作为细胞分化与衰老的指标。处于不同发育阶段的膜脂类含量是不同的。随着增龄, 磷脂酰乙醇胺量大大降低, 而磷脂酰胆碱稍有增加, 这是由于前者最富有 PUFA, 并有游离氨基, 故最易受到脂质过氧化损伤。Zs-Nagy 提出一个膜衰老学说, 认为膜胆固醇与磷脂比值在老化时升高, 使膜脆性增加, 因而静态 K^+ 通透性增高, 结果细胞内酶活性特别是依赖 DNA 的 RNA 聚合酶活性受抑制, 从而使蛋白质合成下降, 于是引起细胞衰老。

老化过程中缓慢的蛋白质消旋作用(左旋氨基酸变为右旋氨基酸)是唯一的时间依赖性化学反应。衰老时线粒体内膜自由基含量增加, 膜脆性加大, 影响其正常功能。随着年龄增长, 溶酶体不仅数量大增, 而且因膜的损伤使很多分解酶类漏入细胞质, 造成其它细胞器的损害, 进而使整个细胞机能发生障碍, 细胞因而死亡。另外, 脂褐素也来自溶酶体, 说明溶酶体在机体衰老中有重要意义。

脂质过氧化产生的自由基使 DNA 双螺旋损伤,影响其合成蛋白质的正常功能。Rein 等^[14]利用 DNA 重组技术来研究人老化过程中 DNA 的变化,探讨是否有衰老基因存在。他们发现人的老化纤维母细胞与人的老化淋巴细胞中都有这个 DNA 基因片段的放大。利用 DNA 重组技术也能通过提供新的基因指标来鉴定重要的与老化性疾病有关的基因,以期找到致衰老基因。

血清与血管壁的脂质过氧化反应的产物能导致小动脉的纤维性变、动脉硬化和心血管疾病。老人多患冠心病,这可能与老年时机体抗氧化物质含量低、过氧化作用加强有关。最近研究表明,冠心病患者心肌膜磷脂的亚油酸含量显著低于无冠心病者,而且无论有无冠心病,亚油酸的含量都随增龄而递减。因此有人认为不饱和脂肪酸可减少动脉粥样硬化的发病率。关于 PUFA 的作用存在许多争论。值得注意的是,PUFA 在自由基作用下易引起过氧化反应,同时又是过氧化连锁反应中自由基的主要来源,因此富含 PUFA 的饮食疗法得不偿失,很可能因脂质过氧化的损害,反而更促进整体的衰老过程。事实证明,摄取大量 PUFA,可出现体内过氧化脂质增加及 V_E 缺乏症提前出现、体重减轻及脏器损害等现象。实验证实,不饱和脂肪酸饮食对鼠类的生存有害。目前,许多人正在研究利用抗氧化剂或自由基清除剂来延缓衰老、延长寿命^[4]。Packer 等人报道^[9] V_E 能延缓体外培养的人肺细胞的正常衰老过程。Harman 用 V_E 喂养小鼠,寿命延长了 30%。Cademan^[7]发现外源性 V_E 的效应比天然存在于小鼠肝微粒体膜上的 V_E 活性低 50 倍。潘华珍等人^[8,13]发现硒、 V_E 及阿魏酸钠等均有抑制红细胞膜脂质过氧化的作用。由此可见,脂质过氧化反应及产生的一系列自由基无论是与细胞的衰老死亡还是与个体的衰老过程都是密切相关的。

2. 脂质过氧化与癌症

脂质过氧化致癌机制与引起衰老相似,但更主要的是通过影响核酸的复制,造成核酸突变成致癌基因。有实验表明^[14],化学物质致癌

时或接种实验性肿瘤后,体内自由基含量增加。Slater 等人指出^[15],高度活泼的自由基反应特异性差,反应范围局限;中等活性的自由基如脂过氧基 $LOO\cdot$ 、有机烷自由基 $L\cdot$ 等易穿透并扩散进入细胞核,直接攻击 DNA 或 RNA,可能引起癌变。能进入核并具有足够反应活性的自由基很少。活性太低的自由基扩散远,对细胞无损伤作用。能够致癌的自由基中间产物一般来说具中等化学活性并有一定结构特异性。自由基能否有效地攻击 DNA 不仅取决于分子的化学活性,也取决于分子的特征即立体结构。

由于过渡族金属离子(如铁)能导致形成更活泼的自由基,因此其在脂质过氧化中的作用现已引起人们的兴趣。临床发现,慢性炎症在机体出现铁代谢异常时可能导致癌变^[2]。Young 等在铁过度沉积病人中检测出几例早期肝癌。然而 Sharman 等^[16]却报道肝癌组织在 $Fe(II)$ 存在下并无脂质过氧化的增加,而且癌组织内还出现了高浓度的抗氧化物质(此物质性质未确定,估计是谷胱甘肽),很可能是抗氧化剂的存在抑制了脂质过氧化。当然,脂质过氧化与癌症的关系是错综复杂的,它只是致癌因素之一。目前并无充分证据支持“自由基反应增加”与“防御自由基的保护系统缺陷”是诱发人类癌症的普遍机制的假说。看来癌症并不是某个机制单一作用的结果。

3. 脂质过氧化与溶血和贫血

红细胞直接暴露在高氧分压下,又含有能引发并启动催化脂质过氧化作用的金属络合物血红蛋白。膜上又含有大量 PUFA,因此特别容易受到脂质过氧化损伤。红细胞本身是无核细胞,缺乏蛋白质合成系统,因此不能很快取代、修复被破坏了细胞成份。这种缺陷很可能是生命长期进化中一种适应性的表现,即红细胞大部分代谢活性用来进行还原反应以抵抗分子氧的氧化作用,一旦这一还原过程缺乏或受损,就会出现永久的细胞成份的氧化损伤。临床已发现^[13],红细胞膜的氧化损伤是溶血的重要原因。实验表明,阵发性夜间血红蛋白尿症(PNH)的病因可能与脂质过氧化有关,而用

铁治疗可加速脂质过氧化。

血红蛋白受氧化损伤变性并形成 Heinz 小体,沉积在红细胞内。Heinz 小体形成的机制至今还不清楚。氧合血红蛋白在氧化剂(包括氧气)作用下生成了高铁血红蛋白,同时释放 O_2^- , 因此红细胞时刻受到氧化损伤的威胁。脂质过氧化导致溶血前磷脂酰丝氨酸(PS)的丢失,膜骨架蛋白之一的收缩蛋白(spectrin)共价交联成四聚体,并形成高分子聚合物,从而导致红细胞膜结构损伤。Lubin 等^[3]发现红细胞膜经氧化损伤后,膜上 Na^+-K^+-ATP 酶活性降低约 60%, 膜磷脂中 PS 也明显减少,很可能由于 PS 与维持 Na^+-K^+-ATP 酶活性有关。另外还发现膜上乙酰胆碱酯酶与过氧化氢酶活性均有降低。红细胞具有一整套抵抗过氧化反应的保护系统(图 3)。

流行病学调查发现,在疟疾流行区地中海贫血与镰刀型贫血病人很多。疟疾暴发时,正常人红细胞内疟原虫寄生生长迅速,这是因为在疟原虫生活史中存在一段红细胞内成熟期,宿

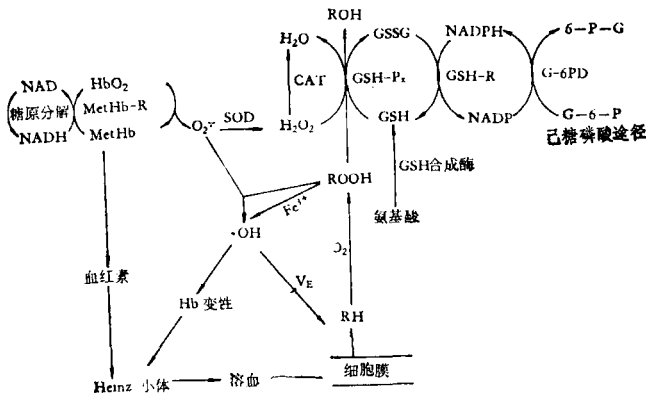


图 3 红细胞氧化损伤与溶血^[3]

Met Hb—高铁血红蛋白, Met Hb-R—高铁血红蛋白还原酶。其他同图 2

主红细胞为清除寄生虫产生的 H_2O_2 就进行了一系列还原反应(图 4)^[16]。疟原虫细胞膜在 $NADP(H)$ 脱氢酶作用下生成 H_2O_2 , 这成了它一条基本的代谢途径,也是维持其寄生性所必需的。而地贫与镰贫病人由于不能提供还原 H_2O_2 的氢,因此感染疟疾后,红细胞内疟原虫因

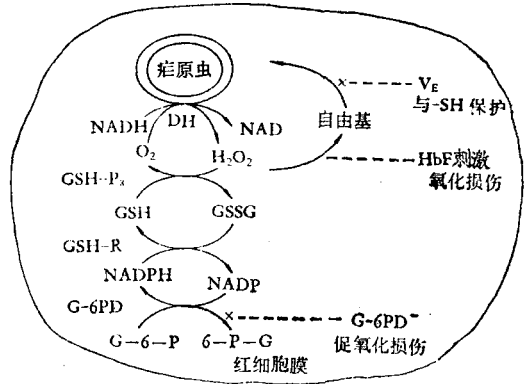


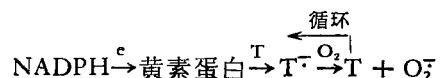
图 4 疟原虫红细胞内成熟期 H_2O_2 的产生与清除^[16]

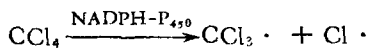
内源性 H_2O_2 蓄积过多而“自杀”死亡,故这类病人常常不感染疟疾。这样在长期进化中地贫与镰贫杂合子基因就被保留下来。实验发现,如果将正常红细胞置于高氧分压下形成“氧化剂损害”,此时疟原虫存活率就下降,这是因为产生的 H_2O_2 过多,超出红细胞还原能力,导致疟原虫自杀。而地贫病人与葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G-6PD)缺乏症病人由于缺乏正常的 H_2O_2 解毒还原系统,就特别易受氧化剂损害,造成

脂质过氧化,膜形成“小孔”,细胞内 K^+ 丢失而溶血,这样就抑制了疟原虫的生长。加入 V_E 等抗氧化剂时就可保护疟原虫不受 H_2O_2 损害而利于其繁殖。若给 G-6PD 缺乏症患者服用二巯苏糖醇(DTT)也能保护疟原虫不受氧化损害,增加了疟原虫感染的机率。

4. 脂质过氧化与中毒

一些药物或化学物质的解毒过程常常是导致生成自由基并对细胞造成自杀效应^[1,2]。如 CCl_4 在肝微粒体酶细胞色素 P_{450} 作用下转变成 $CCl_3\cdot$,刺激脂质过氧化,使肝细胞发生脂肪性退变、坏死。 P_{450} 解毒系统位于内质网上,包括黄素蛋白 $NADPH-P_{450}$ 还原酶与细胞色素- P_{450} 一起处于磷脂环境中。解毒过程导致产生相对高浓度的 O_2^- 。脂质过氧化产生的一系列自由基能在更大程度上降低 P_{450} 酶反应活性^[2]:





$\text{CCl}_3 \cdot$ 与 PUFA 作用生成过氧化物及丙二醛,可对内质网与线粒体产生种种有害的影响。但实验发现, $\text{CCl}_3 \cdot$ 与氨基酸、核苷酸、脂肪酸相对地不易发生反应,在有氧情况下反应速度大大增加,这说明很可能产生了高度活泼的三氯甲基过氧化自由基 $\text{CCl}_3\text{O}_2 \cdot$, 后者能与异丙嗪、 V_c 、 V_E 及 PUFA 迅速反应,故 $\text{CCl}_3\text{O}_2 \cdot$ 是脂质过氧化的主要原因。若自由基清除剂(肝内以谷胱甘肽为主)相对量不足,这些自由基就会在整个细胞传播,并传给邻近细胞,造成无数肝细胞坏死,最后长期得不到修复就会产生肝硬化。

5. 脂质过氧化与炎症反应

脂质过氧化一定程度上是个 PUFA · 自由基与 O_2 反应产生脂肪酸过氧化自由基,并经过一系列复杂反应的过程。通常这个过程可以是酶催化反应或非酶反应。当此过程是非酶的或涉及到某个特定的酶并产生一套确定的产物途径时,就称为酶激活反应,如脂氧酶一类的反应。

近年来,对脂氧酶产物与脂质过氧化的关系已进行了大量研究,并与研究前列腺素类药物的作用有关^[8,32]。膜磷脂在磷脂酶作用下生成花生四烯酸、以花生四烯酸为底物的第一产物经过氧花生四烯酸 (HPETE) 并伴有其相应的衍生物羟花生四烯酸 (HETE) 的生成。HPETE 能进一步转化成具有很强药理作用的自三烯 (LT)。花生四烯酸作用的另一途径是经环加氧酶作用生成前列腺素 G_2 , 并在内过氧化作用下生成 MDA。两种代谢途径均能产生氧自由基,于是就形成了由活性氧到脂肪酸氧化又重新生成活性氧自由基的循环回路,经过分子重排理论上可使炎症反应逐级放大^[17] (图 5)。生成的氧自由基释放到周围介质中,当炎症反应反应过强或机体保护不足时, $\cdot\text{OH}$ 、 O_2^- 就从炎症细胞“漏出”,在其它缺少 SOD、CAT 等保护性抗氧化剂的部位造成损害。活性氧分子及由其引起的一系列自发的或酶促的长链不饱和脂肪酸过氧化反应是炎症主要反应之一。 $\cdot\text{OH}$ 可使蛋白酶抑制剂失活,使炎症部位更易受到蛋白酶作用造成组织损伤。

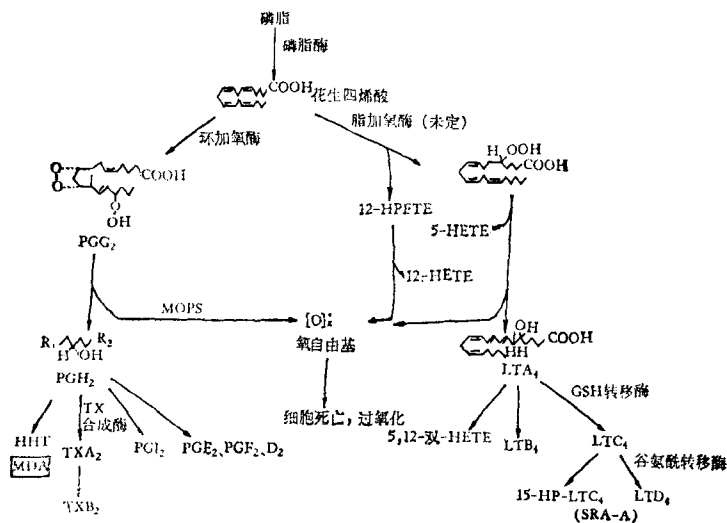


图 5 花生四烯酸酶激活途径的氧化作用示意图^[17]

MOPS——多底物氧化型过氧化酶; HHT——12-左-羟-5, 8, 10-十七烷三烯酸,
TX——血栓凝集素, SRA-A——慢反应趋化物质

6. 脂质过氧化与自身免疫病

机体的免疫系统误认自身细胞为异物而加以攻击所引起的疾病即自身免疫病。这也可

能是由于脂质过氧化作用使细胞膜结构暴露出一些原来埋在细胞膜内部的结构,因此吞噬细胞不能加以识别而进行吞噬。现在认为人类的

生物大分子热容的研究

傅 亚 珍

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

热容是描述宏观系统状态的基本热力学函数——焓对温度的导数, 即

$$C_p = \frac{dH(T)_p}{dT}$$

人们之所以要对一个系统进行热容测量, 是因为用作为焓的导数的热容去描述系统的状态对温度的依赖关系要比用焓去描述更为严谨。某些热分析技术(如差示扫描量热技术 DSC)直接测量的正是热容而不是焓变参数。

如果一个系统的热容 $C_p(T)$ 在某个温度范围 (T_0-T) 内是已知的, 那么我们就不仅能够测定该系统在此范围内的焓参数

$$H(T) = H(T_0) + \int_{T_0}^T C_p(T) dT$$

还可以测定该系统的熵参数

$$S(T) = S(T_0) + \int_{T_0}^T \frac{C_p(T)}{T} dT$$

同时也可导出该系统的 Gibbs 自由能

衰老从 10~12 岁即开始了, 这与胸腺开始退化并萎缩而造成 T 细胞承担的免疫功能降低有关。实验发现, 退化胸腺的网状结构破坏, 皮质淋巴细胞稀释, 特别有意思的是出现充满类脂颗粒的巨噬细胞, 这些类脂颗粒易在自由基作用下过氧化, 并产生更多的自由基而向邻近胸腺组织扩散, 从而引起胸腺的进一步萎缩, 很可能胸腺的萎缩退化自始至终有脂质过氧化的伴行。

现在脂质过氧化问题已经成为一个非常活跃的研究领域, 但目前只停留在细胞生化、分子生化水平, 还没有进入到基因亚细胞水平。积极开展这方面的研究, 搞清机理, 了解细胞损伤的起因、发生及发展, 并采取措施保护细胞不受过氧化损伤, 都有重要的理论意义和实践意义。

本文承潘华珍老师热情指导, 特此致谢。

参 考 文 献

- [1] T. F. Slater: *Biochem. J.*, **222**(1): 1—14, 1984.
- [2] B. Halliwell and J. M. C. Gutteridge: *Biochem. J.*, **219**(1): 1—15, 1984.

- [3] D. Chiu, and S. B. Shohet, et al.: *Free-radicals in Biology*, Vol. V 115—160, Acad. Press N. Y., 1982.
- [4] J. F. Mead and S. Hirar et al.: *Lipid Peroxidation in Biology and Medicine*, 161—178, 305—314, 1982.
- [5] N. A. Porter et al.: *Methods in Enzymology*, Vol. **105**, 273—356, Acad. Press Inc., 1984.
- [6] D. G. Harman: *Geront.*, **11**, 298, 1956.
- [7] E. Cadenas et al.: *Biochem. J.*, **223**(3), 755—759, 1984.
- [8] Pan Huazhen et al.: *The Third International Symposium on Biology and Medicine*, May-June, 123, 1984.
- [9] 刘时中: 《生理科学进展》, **14**(2), 147—149, 1983.
- [10] 孔祥瑞: 《生物科学动态》, **4**, 11—18, 1984.
- [11] E. L. Schneider: *J. Amer. Geriatr. Soc.*, **32**(4), 293—295, 1984.
- [12] 潘华珍等: 《生物科学动态》, **5**, 9—14, 1984.
- [13] 张之南等: 《生理科学进展》, **15**(3), 222—227, 1984.
- [14] R. A. Floyd: *Free-radicals and Cancer*, 1—59, Marcel Dekker Inc. N. Y., 1982.
- [15] S. C. Sharma et al.: *Cell and Membrane Biology*, **12**(9), 236—237, 1984.
- [16] T. Ramasarma et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **694**(69), 69—93, 1982.
- [17] K. D. Rainsford et al.: *Biology and Chemistry of Active Oxygen*, 105—205, Elsevier N. Y., 1984.
- [18] G. Hacman: *Inc. J. Biochem.*, **13**, 659—692, 1981.

[本文于 1985 年 5 月 7 日收到]