

- Letts, 1985; **181**: 154
- 12 Brown M R, Sheumack D D, Tyler M I *et al.* Biochem J, 1988; **250**: 401
- 13 Sheumack D D, Phillips C A, Mylecharane E J *et al.* Toxicol, 1991; **19**: 603
- 14 Skinner W S, Adams M E, Quistad G E *et al.* J Biol Chem, 1989; **264**: 2150
- 15 Adams M E, Bindokas V P, Hasegana L *et al.* J Biol Chem, 1990; **265**: 861
- 16 Venema V J, Swiderek K M, Lee T D *et al.* J Biol Chem, 1992; **267**: 2610
- 17 McCleskey E W, Fox A P, Feldman D H *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1987; **84**: 4327
- 18 Haginwara K, Sakai T, Miwa K *et al.* Biomed Res, 1990; **11**: 2181
- 19 Skinner W S, Dennis P A, Jorge P Li *et al.* Toxicol, 1992; **30** (9): 1043
- 20 Diniz C R, Cordeiro M N, Junor L R *et al.* FEBS Letts, 1990; **263**: 251
- 21 梁宋平, 覃于滨, 张东裔等. 动物学研究, 1993; **14** (1): 60
- 22 Liang S P, Zhang D Y, Pan X *et al.* Toxicol, 1993; **31**: 969
- 23 Zhang D Y, Liang S P. J Protein Chem, 1993; **12** (6): 733

谷胱甘肽的解毒作用与毒性代谢物

程元恺

(鞍钢劳动卫生研究所, 鞍山 114001)

摘要 谷胱甘肽是细胞内重要的含SH基的非蛋白分子, 它对氧自由基、有机氢过氧化物以及亲电子剂的灭活起着极重要的作用。但近年来的研究表明, 一些连位二卤烷烃、卤烯烃、含醌结构的化合物以及一些异氰酸酯、异硫氰酸酯、醛、 α 、 β -不饱和醛等与谷胱甘肽结合后可导致毒性代谢物的形成。

关键词 谷胱甘肽, 谷胱甘肽过氧化物酶, 谷胱甘肽-S转移酶, 解毒作用, 毒性代谢物

谷胱甘肽在许多重要的生物学现象中, 诸如蛋白质和DNA的生物合成、酶的活性、代谢、对细胞的保护、衰老等等方面起着间接或直接作用, 因而引起很多领域中科学家的重视。本文仅就谷胱甘肽在解毒和毒性代谢方面的一些进展作一综述。

1 谷胱甘肽的合成与降解

谷胱甘肽是由谷氨酸、半胱氨酸及甘氨酸组成的肽, 全称为L- γ -谷氨酰基-L-半胱氨酸甘氨酸(γ -GLU-CYS-GLY)。有两种形式: 硫醇还原型(GSH)及双硫氧化型(GSSG)。细胞内的谷胱甘肽约99%以上为GSH, 血浆中的谷胱甘肽则有10%—15%为GSSG。GSH在细胞中的含量约为0.5—10mmol/L, 在血浆中的含量约为20—25 μ mol/L。GSH是在 γ -谷

氨酰半胱氨酸合成酶(图1①)和谷胱甘肽合成酶(图1②)的连续作用下在细胞内合成的。合

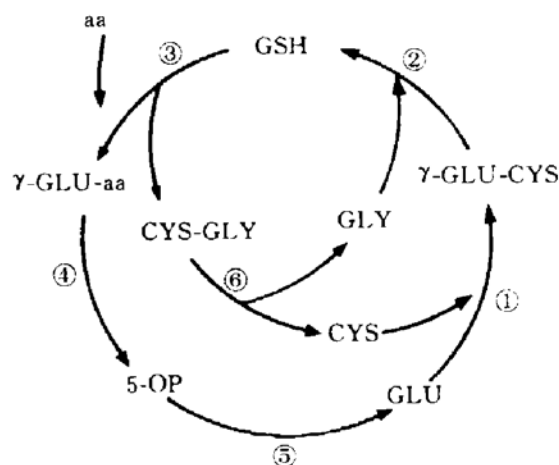


图1 γ -谷氨酰循环

成的 GSH 通过细胞膜时与分布在细胞膜外表的 γ -谷氨酰基转肽酶 (γ -GT) (图 1③) 反应, GSH 中的 γ -谷氨酰部分 (γ -GLU) 便转移到某些氨基酸(aa)上. 由此生成的 γ -谷氨酰氨基酸 (γ -GLU-aa) 再被运进细胞并在 γ -谷氨酰基环转移酶 (图 1④) 的作用下裂解为相应的 aa 和 5-羟基脯氨酸 (5-OP). 5-OP 再在 5-羟基脯氨酸酶 (图 1⑤) 的催化下转化为 L-谷氨酸 (GLU). 在③的作用下生成的半胱氨酰甘氨酸部分 (CYS-GLY) 则被半胱氨酰甘氨酸双肽酶 (DP) (图 1⑥) 作用, 裂解为半胱氨酸 (CYS) 和甘氨酸 (GLY), 分别作为①和②的底物. 这 6 种酶催化的 6 个反应便组成 GSH 合成和降解的 γ -谷氨酰循环^[1] (图 1).

2 谷胱甘肽与解毒

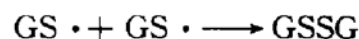
GSH 在解毒代谢中起着极重要的作用. 它是谷胱甘肽过氧化物酶 (GSHPX) 和谷胱甘肽-S-转移酶 (GST) 的特有底物. GSH 的解毒功能主要是通过这两种酶来完成的.

GSHPX 存在于真核细胞的胞液中, 也见于线粒体中. GSHPX 的主要解毒功能在于将 H_2O_2 还原为 H_2O . 氧在生物体系中可以在多种酶 (如 NADPH 细胞色素 P-450 还原酶、黄嘌呤氧化酶等等) 的催化下发生单电子还原, 生成超氧阴离子 (O_2^-), 并衍生出一系列氧还原产物, 总称为活性氧或氧自由基^[2]: $\text{O}_2 \xrightarrow{e^-} \text{O}_2^- \xrightarrow[+2\text{H}^+]{e^-} \text{H}_2\text{O}_2 \xrightarrow[+\text{H}^+]{e^-} \cdot\text{OH} \xrightarrow[+\text{H}^+]{e^-} \text{H}_2\text{O}$. 这些氧自由基, 特别是高度活泼的 $\cdot\text{OH}$, 可导致脂质过氧化和/或使细胞的某些酶丧失活性, 引起细胞和组织的损伤. 由于 GSHPX 能将 H_2O_2 还原为 H_2O , 使得 O_2^- 通过中间体 H_2O_2 生成高活性的膜过氧化剂 $\cdot\text{OH}$ 这个链被打断, 从而保护细胞免受氧自由基的毒性伤害:



GSHPX 对 H_2O_2 的还原比过氧化氢酶更具重要性, 因为后者只局限于细胞的过氧化物酶体部位^[3]. GSH 有时也可以直接与高活性的氧自

由基反应, 不需要酶的催化:



GSH 在还原氧自由基的同时自身被氧化为 GSSG, 后者又通过 GSSG 还原酶的催化还原为 GSH, 以保持细胞内硫醇的平衡.

GSHPX 有两种类型, 一是含硒型, SeGSHPX, 它可以使 H_2O_2 还原, 也可以使有机氢过氧化物还原. 缺硒可降低此酶的活性. 另一种不受缺硒的影响, 但对 H_2O_2 的还原活性很小, 只对有机氢过氧化物有一定活性. GSHPX 对氢过氧化物具有相对的专一性, 当氢过氧化物中的氢被另一有机基团取代时, 酶的活性便明显降低. 在巯基化合物中, 仅 GSH 是高活性底物 (表 1).

表 1 大鼠肺 GSHPX 对不同底物的相对活性

底 物	相对活性
氢过氧化物	
H_2O_2	100
氢过氧化枯烯	97
叔丁基氢过氧化物	84
月桂基氢过氧化物	77
过氧化物	
双 (叔丁基) 过氧化物	5
双 (枯烯基) 过氧化物	5
巯基化合物	
GSH	100
巯基乙醇	0
二硫苏糖醇	10
半胱氨酸	6
高半胱氨酸	5

GST 根据其色谱特性可分为 A, B, C, D, E 及 AA 等 6 种同工酶. 其中的 B 型酶被认为是不含硒的 GSHPX. 如按其结构及动力学特征, 则可区分为 α , μ 及 π 三类同工酶^[4]. 这些同工酶, 由于在功能上相互重叠, 在一般情况下很难区别. GST 在生理上有很多重要

功能,如甾酮类化合物的转化、前列腺素的代谢、白三烯的代谢等等.但就其解毒功能而言,则主要有二:一是对有机氢过氧化物的还原^[5];二是对活性亲电子剂的灭活.活性亲电子剂是大多数外源物(xenobiotics)通过细胞色素 P-450 氧化酶进行氧化代谢时生成的中间代谢物,具有很强的攻击亲核中心的能力.许多化学致癌物(如多环芳烃)的终致癌物大都是活性亲电子剂^[6].它们与细胞内 DNA 等大分子共价结合可导致细胞突变或癌变等严重后果. GSH 是存在于细胞胞液中的含 SH 基的非蛋白分子,在 GST 的催化下很容易与这些亲电子剂结合.有些活性很高的亲电子剂可以直接与 GSH 结合而不需要 GST 的催化.亲电子剂与 GSH 结合后便被灭活.然后在 γ -GT 的作用下被裂解为两半: γ -GLU 部分转移到某个接受体上(例如某个氨基酸),再进入 γ -谷氨

酰循环;另一半, CYS-GLY 部分则在 DP 的作用下转化为相应的 CYS-X (X 表示亲电子剂),再在乙酰基转移酶(ACT)的作用下生成 N-AC-CYS-X (即硫醇尿酸)排出体外.

3 谷胱甘肽的毒性代谢物

近年来的研究表明,与 GSH 结合形成硫醇尿酸这一解毒模式有时可导致毒性代谢物的产生^[7,8].这些毒性代谢物可归纳为 4 种类型:

a. 一些连位或偕位二卤烷烃,如二氯甲烷、二氯乙烷等等,与 GSH 结合可生成半硫芥(表 2),并进而形成表硫脒离子(episulfonium ion)^[9],能与 DNA 反应生成 S-[2-(N⁷-脒基)乙基] GSH 加合物.但不是所有的二卤烷烃都能生成表硫脒离子,甲基取代常可有效地阻碍此过程.

表 2 GSH 与二卤烷烃生成的毒性代谢物

化合物	毒性代谢物	生物学作用	报告者
二氯甲烷	S-氯甲基-GSH	引起小鼠肝、肺肿瘤	Ahmed 和 Anders(1979 年)
	S-羟甲基-GSH		Reitz 等(1989 年)
二氯乙烷	S-(2-氯乙基)GSH	与 DNA 共价结合	Fouremant 和 Reed(1987 年)
二溴乙烷	S-(2-溴乙基)GSH	形成表硫脒离子,与 DNA 共价结合	Inskeep 等(1986 年)
1-溴-2-氯乙烷	S-(2-氯乙基)GSH	与 DNA 共价结合	Marchand 和 Reed(1989 年)
	S-(2-羟乙基)GSH		

b. 一些具有醌结构的化合物可与 GSH 结合生成醌-硫醚^[10].醌-硫醚可有多种多样的生物学活性(表 3).

c. 卤烯烃(表 4)与 GSH 生成毒性结合物的过程比较复杂,且必须经过 β -裂解酶(全称:半胱氨酸结合物 β -裂解酶)的作用才能活化,故可称作 β -裂解酶依赖型^[11].其代谢活化经过大致如下:首先在肝中,氟烯烃类由 GST 催化通过加成反应生成 S-(卤烷基) GSH,而氯烯烃类则通过加成-消去反应生成 S-(卤烯基) GSH.这时生成的 GS-X 尚无活性.此 GS-X

通过胆汁经胆管排至肠道,在重吸收过程中,经肠上皮中的 γ -GT 及 DP 的作用降解为相应的 CYS-X,再回到肝.到肝后被乙酰化为 N-AC-CYS-X.由此进入血循环.至肾,被脱去乙酰基,再次成为 CYS-X,并在肾 β -裂解酶的作用下形成硫羰酰化剂(thionoacylating agent),与细胞中的亲核分子(nucleophiles)反应呈现毒性作用. β -裂解酶的催化是 CYS-X 获得活性的必要步骤.除此之外,尚有一些其它机制对活性中间物进行调整,如化学调整、生化调整及生理调整等.由于篇幅有限,请参

阅文献 [8] 及 [12].

表 3 GSH 与醌样化合物生成的毒性代谢物

化合物	毒性代谢物	生物学作用	报告者
乙酰氨基苯酚	3-(GS 基)乙酰氨基苯酚	产生氧自由基	Potter 等(1988 年)
p-氨基苯酚	4-氨基-3-(GS 基)苯酚 4-氨基-2,5-双(GS 基)苯酚 4-氨基-2,3,5-(或 2,3,6-) 三(GS 基)苯酚	肾毒, 近侧肾小管坏死	Klos 等(1992 年)
二甲基氨基苯酚	4-二甲基氨基-2,6-双(GS 基)苯酚	高铁血红蛋白症, 肾毒(?)	Eyer 和 Kiese(1976 年)
p-乙氧基苯胺	N-(4-乙氧基)-p-苯醌亚胺的 双 GSH 轭合物	与 DNA 结合	Larsson 等(1988 年)
5-羟色胺	7-(GS 基)色胺基-4,5-二酮	使神经变性	Chen 等(1989 年) Wong 和 Dryhurst(1990 年)
1,4-氢醌	2,3,5-三(GS 基)氢醌	肾毒, 近侧肾小管坏死, 肾腺癌	Lau 等(1988 年)
2-溴氢醌	2-溴-3,5-双(GS 基)氢醌	糖尿, 酶尿 近侧肾小管坏死	Monks 等(1985 年) Monks 等(1988 年)
四氯-1,4-苯醌	2,6-二氯-3-(GS 基)-1,4-苯醌	抑制 GST 活性比其母醌 高 41 倍	Van Ommen 等(1988 年)
2,6-二甲氧基苯醌	3,5-双(GS 基)-2,6-二甲氧基氢醌	诱发白内障	Wolff 和 Spector(1987 年)
1,4-萘醌	2-(GS 基)-1,4-萘醌 3-(GS 基)-1,4-萘醌 2,3-双(GS 基)-1,4-萘醌	形成半醌自由基	Takahashi 等(1987 年)
甲萘醌	2-甲基-3-(GS 基)-1,4-萘醌 2-甲基-3-(N-AC-CYS 基)-1,4-萘醌	抑制前列腺素 B ₁ 的氧化	Rao 等(1988 年) Brown 等(1991 年)

表 4 GSH 与卤烯烃生成的毒性代谢物

化合物	毒性代谢物	生物学作用	报告者
四氯乙烯	S-(1,1,2,2-四氟乙基)GSH S-(1,1,2,2-四氟乙基)CYS	肾毒 与线粒体 DNA 共价结合	Odum 和 Green(1984 年)
三氯乙烯	S-(1,2-二氯乙烯基)GSH S-(1,2-二氯乙烯基)CYS	肾毒 肾小管腺癌	Lash 和 Anders(1986 年) Dekant 等(1986 年)
四氯乙烯	S-(1,2,2-三氯乙烯基)GSH S-(1,2,2-三氯乙烯基)CYS	肾毒 肾小管腺癌	Dekant 等(1987 年) Dekant 等(1988 年)
六氯-1,3-丁二烯	S-(1,2,3,4,4-五氯-1,3-丁二烯基)GSH S-(1,2,3,4,4-五氯-1,3-丁二烯基)CYS	肾毒 肾小管腺癌	Wolf 等(1984 年) Dekant 等(1988 年)

d. 亲电子剂与 GSH 间呈可逆性结合. 当介质中 pH 和/或 GSH 浓度变更时, 亲电子剂便被释放出来, 呈现毒性作用. 所以, GSH 在这里实际上起了运载或保护作用, 使毒性分子得以保存下来并被运送到远隔部位, 在远离暴

露或代谢的部位发挥毒性作用. 可以与 GSH 发生可逆性结合的化合物目前已发现有异硫氰酸酯类^[13]、异氰酸酯类^[14]、 α , β -不饱和醛类^[15]、醛类^[16] (表 5).

表 5 与 GSH 生成的可逆性结合物

化合物	可逆性结合物	生物学作用	报告者
烯丙基异硫氰酸酯	烯丙基异硫氰酸基-GSH	膀胱肿瘤	Bruggeman 等(1986 年)
甲基异氰酸酯	S-(N-甲基羰酰基)GSH S-(N-甲基羰酰基)CYS	呈强烈的甲酰化剂作用	Pearson 等(1990 年)
丙烯醛	丙烯醛-GSH 丙烯醛-CYS-GLY 丙烯醛-CYS	肾毒 糖尿、蛋白尿 近侧肾小管坏死	Horvath 等(1992 年)
甲醛	硫代半缩醛	肝毒(?) 癌(?)	Fennel 等(1988 年)

综上所述, 近年来通过对 GSH 毒性代谢物的研究, 使我们对 GSH 的生物学作用有了深一层的认识, 也改正了我们长期以来单纯地认为 GSH 是解毒肽, GST 是解毒酶的旧观念.

参 考 文 献

- Meister A, Anderson M E. Ann Rev Biochem, 1983; **52**: 711
- Pryer W A. Ann Rev Physiol, 1986; **48**: 657
- Jones D P. Arch Biochem Biophys, 1982; **214**: 806
- Mannervik B, Alin P, Guthenberg C *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1985; **82**: 7202
- Ketterer B. Xenobiotica, 1986; **16**: 957
- 程元恺, 杨宪桂. 环境致癌物——多环芳烃研究. 北京: 中国科学技术出版社, 1990: 11--15
- Anders N W, Lash L H, Dekant W *et al.* CRC Crit Rev Toxicol, 1988; **18**: 311
- Monks T J, Anders M W, Dekant W *et al.* Toxicol Appl Pharmacol, 1990; **106**: 1
- Peterson L A, Harris T M, Guengerich F P. J Amer Chem Soc, 1988; **110**: 3284
- Monks T J, Hanzlik R P, Cohen G M *et al.* Toxicol Appl Pharmacol, 1992; **112**: 2
- Dekant W, Vamvakas S, Anders M W. Drug Metab Rev, 1989; **20**: 43
- Stevens J L, Jones D P. In: Dolphin D, Poulson R eds. Glutathione: Chemical, biochemical and medical aspects, Part B. New York: Wiley, 1989: 45—85
- Bruggeman J M, Temmink J M H, Van Bladeren P J *et al.* Toxicol Appl Pharmacol, 1986; **83**: 349
- Pearson P G, Slatter G T, Rakshad M S *et al.* Biochem Biophys Res Commun, 1990; **166**: 245
- Horvath J J, Witmar C M, Witz G. Toxicol Appl Pharmacol, 1992; **117**: 200
- Fennel T R, Deal F E, Swenberg J A. Proc Amer Assoc Cancer Res, 1988; **29**: 88 (abstract No 349)

Recent Advances in the Study of Haptoglobin.

Wang Fengjun, Huang Wenhua, Li Ao. (*Burn Institute, The Third Military Medical College, Chongqing 630038*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21** (5): 386--389

Haptoglobin, belonging to the group of acute phase reactant proteins in the serum, is an acidoglycoprotein, and exhibits genetic polymorphism by the difference in the types of light chains it contains. The biosynthesis and degradation of haptoglobin are mainly carried out in the liver and regulated by some cytokines, prostaglandins and hormones. Haptoglobin has multifaceted biological activities, so it is believed that haptoglobin may be an important regulating protein to be present in the serum.

Key words haptoglobin, structure, function

Recent Advance on Spider Peptide Neurotoxin

Research. Liang Songping, Pan Xin. (*Department of Biology, Hunan Normal University, Changsha 410006*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21** (5): 390—395

The chemical structures and physiological functions of spider peptide neurotoxins have been reviewed and introduced. These neurotoxins can be classified briefly into two groups according to their size. The short spider neurotoxins contain 33 to 40 amino acids residues, whereas the long ones have 66 to 77 residues. The homologies of the neurotoxins from different species are not evident and the physiological activities are quite different. Some spider neurotoxins were found to selectively affect the sodium or calcium channels of the neuromuscular system of the insect and vertebrate and were believed to be useful as tools in neurophysiology and pharmacology studies.

Key words spider toxin, neurotoxin, pep-

tide, ion channel

Glutathione: Detoxication and Toxic Metabo-

lites. Cheng Yuankai. (*Institute of Labor Hygiene, Anshan Iron and Steel Complex, Anshan 114001*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21** (5): 395—399

Glutathione is the major nonprotein sulfhydryl present in cells and plays an important role in the deactivation of oxygen radicals, organic hydroperoxides and electrophiles. However, recent studies show that conjugation of glutathione with some vicinal dihaloalkanes, haloalkenes, quinoid compounds, isocyanates, isothiocyanates, aldehydes, α , β -unsaturated aldehydes etc. will lead to the formation of toxic metabolites.

Key words glutathione, glutathione peroxidase, glutathione S-transferase, detoxication, toxic metabolites

The Function of POU-domain Proteins in Development of Central Nervous System.

Zhang Li, Jia Hongti. (*Department of Biochemistry, Beijing Medical University, Beijing 100083*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21** (5): 400—403

A family of POU-domain proteins is a class of DNA specific transcription factors that contain homeodomains (HD). During development of the central nervous system (CNS), the spatial and temporal expression for the POU-domain proteins may play a crucial role in the appearance of neuronal phenotypes via both homodimeric and heterodimeric protein-protein interactions and DNA-protein interactions in gene regulation.

Key words POU-domain protein, transcription factors, development of central nervous