

白细胞的氧代谢物与疾病

陈 媛 周 玫

(第一军医大学, 广州)

提 要

本文讨论了白细胞氧代谢物的生成, 活性氧的毒性作用和组织损伤机制, 白细胞氧代谢物生成缺陷的遗传性疾病以及白细胞氧代谢物过量所致的疾病。

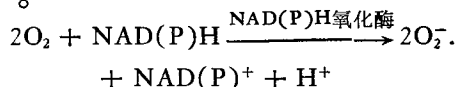
中性粒细胞与单核细胞是急性炎症反应的重要成分。其主要作用是保护机体免受微生物的侵袭。当微生物侵入机体后, 这些吞噬细胞即迁移至受侵的组织并经受形态和生化改变以破坏微生物。近年来大量研究证明最明显的生化变化是氧消耗爆发性增加(呼吸爆发 respiratory burst), O_2 还原成有毒性的活性氧, 包括超氧化物阴离子 ($O_2^{\cdot-}$)、 H_2O_2 、羟自由基 ($\cdot OH$) 和单线态氧 (1O_2)。这些氧代谢物亦能进入细胞外。因此吞噬细胞过量积聚, 可引起组织损伤, 甚至使疾病发生, 但若出现“呼吸爆发”缺陷, 不能生成活性氧, 缺乏防御微生物入侵的能力, 机体就易于感染。本文就白细胞的氧代谢物生成, 活性氧的毒性作用和组织损伤机制以及白细胞氧代谢物与疾病的关系等进行了讨论。

一、白细胞氧代谢物的生成^[1-5]

当组织受到微生物侵袭时, 受侵组织或炎症局部即释放趋化因子, 在它们的作用下白细胞离开血循环, 粘着于微血管壁, 然后通过内皮细胞层进入组织间隙达到损伤的部位。白细胞表面有免疫球蛋白 (Ig) 的 Fc 和补体片段 C_{3b} 的特异性受体, 当微生物受到 IgG 或 IgM 或 C_{3b} 包绕后, 吞噬细胞即与微生物接触, 这时白细胞伸出伪足, 包绕微生物, 将其包绕在吞噬体的空泡内。开始脱颗粒作用 (degranulation),

即吞噬细胞的胞浆颗粒移向吞噬体并与之融合, 并向微生物周围的间隙释放它们的内容物。这些颗粒成分与吞噬细胞产生的活性氧相互作用, 最终杀死微生物。

中性粒细胞和单核细胞在吞噬时爆发性地增加氧的消耗。在膜结合的 NAD(P)H 氧化酶催化下 O_2 从 NAD(P)H 获得电子, 产生 $O_2^{\cdot-}$ 。^[1]



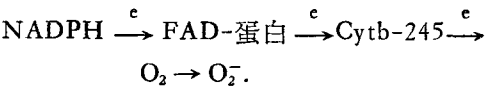
$O_2^{\cdot-}$ 能在超氧歧化酶 (SOD) 的催化下生成 H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$ 还能在铁螯合物作用下与 H_2O_2 反应生成 $\cdot OH$ 。^[2]

吞噬细胞的颗粒中含有髓过氧化物酶 (MPO) 和卤素离子, 当颗粒与吞噬体融合时, MPO 能催化 Cl^- 与 H_2O_2 反应产生次氯酸 ClO^- 以及 ClO^- 进一步与 H_2O_2 作用产生 1O_2 。此外在某些氨基酸和多肽存在的条件下还能生成单氯胺和双氯胺。所有上述的氧代谢物对微生物和组织细胞都具有很大的毒性。

某些研究结果指出, 吞噬细胞的浆膜及其颗粒和可溶性部分都有 NAD(P)H 氧化酶活性。最近报道氧化酶对 NADPH 的亲合力较对 NADH 约大 10 倍, 因此改称氧化酶为 NADPH 氧化酶。

溶解的 NADPH 氧化酶含有 FAD 和细胞色素 b-245 (Cytb-245)^[5], 在缺氧的条件下

将 NADPH 加到激活的中性白细胞提取物中时 FAD 和 Cytb-245 可被还原, 有氧时还原的 Cytb-245 迅速氧化。其电子传递过程如下所示



在通常情况下, NADPH 氧化酶处于休止状态, 但很多颗粒性的和非颗粒性的刺激剂可激活氧化酶(表 1)。尽管它们的化学性质和作用方式不同, 但都能加速氧消耗反应, 生成 O_2^- 和 H_2O_2 。

可溶性和颗粒性激活剂的作用机制可能不同, 如一儿童和另一家族二兄妹都有反复细菌感染史, 但他们外周中性粒细胞的氧化酶却不一样, 前一儿童的可以被非颗粒性刺激剂激活, 但对经调理素处理的颗粒则无作用。后二兄妹的则受 IgG 包绕的颗粒激活, 但对血清 C_3b 则无作用。这说明中性粒细胞可能有多种激活酶的机制, 也可能几个酶参与呼吸爆发。

NADPH 酶的激活需要能量和钙, 但酶一旦被激活时加入钙螯合剂以及糖酵解和线粒体氧化的抑制剂则不影响 O_2^- 的生成。钙真正的作用尚不清楚, 但有的研究报道镧离子和 Verapamil 能使 FMLP 激活的中性粒细胞产

生 O_2^- 。反应受到抑制, 而钙载体则能消除这种抑制作用。

二、活性氧的毒性作用和组织损伤机制^[3,4,6,7]

氧自由基, 尤其是 $\cdot\text{OH}$ 存在的时间极短, 它们多与最邻近的靶分子作用。细胞膜的多不饱和脂肪酸上的丙烯氢 (Allyl hydrogen) 易被 $\cdot\text{OH}$ 自由基抽提而过氧化, 因此 $\cdot\text{OH}$ 等氧自由基的一个重要毒性效应是引发膜的脂质过氧化作用。

膜的脂质过氧化能改变细胞的某些生理状态, 使细胞膜对阳离子(包括钙离子)的通透性增加, 钙在细胞内集聚能特异性地激活依赖于钙的磷脂酶和与细胞结合的蛋白酶, 从而导致细胞损伤^[4], 脂质过氧化作用的产物脂氢过氧化物是炎性反应的介导物, 具有趋化活性, 特别是花生四烯酸过氧化生成的氢过氧化廿碳四烯酸 HPETE, 它们还能抑制膜酶^[6]。

脂氢过氧化物均裂可产生脂过氧基 $\text{LOO}\cdot$ 。后者能诱发氢抽提和加成反应, 使膜蛋白(酶)分子聚合而失去生物活性。脂氢过氧化物的最终分解产物丙二醛能使膜蛋白分子间或分子内交联。上述的变化及膜磷脂的破坏导致浆膜和各亚细胞器膜的结构改变和代谢障碍并造成溶酶体酶的释放。

值得提出的是通过膜的阴离子通道和扩散作用 O_2^- 和 H_2O_2 能透过细胞膜与靶细胞内重要生物大分子作用, 如可引起中国田鼠卵细胞姐妹染色质互换, 因此吞噬细胞产生的氧代谢物所致的 DNA 改变已被认为是慢性炎症组织易产生癌变的原因^[4]。

氧代谢物不仅能引起细胞的损伤而且能直接改变组织结构蛋白如弹性蛋白、胶原蛋白和粘多糖的生物化学和生物物理性质, 如经 H_2O_2 处理的某些组织的提取物被蛋白酶水解程度增加; 纯化的肾小球基底膜经 H_2O_2 处理后易被特异性蛋白酶(如弹性蛋白酶和血纤维蛋白溶酶)分解; 透明质酸与能生成 O_2^- 和 H_2O_2 的酶系统温育, 不但其分子粘度降低而且易被

表 1 中性粒细胞和单核细胞氧化酶的激活剂

颗粒性	微生物 (C_3b 或 Ig 包绕的)
	酵母聚糖 (C_3b 包绕的)
	石蜡油滴 (C_3b 或白蛋白-抗白蛋白免疫球蛋白包绕的)
	红细胞 (福尔马林处理的)
非颗粒性	植物乳汁 (Latex)
	去污剂 (洋地黄皂甙和皂素)
	化学吸引剂 (受激活的补体的趋化性片段 C_{3a} 、 C_{5a} 、合成性趋化性片段 N-formyl-Met-Leu-phe FMLP)
	免疫球蛋白 (抗白细胞抗体, 免疫复合物)
	外源凝集素 (刀豆球蛋白 A)
	载体 (钙载体 A_{23187})
	酶 (磷脂酶 C)
	脂肪酸
	无机化合物 (NaF 镧离子)
	其它生物制剂 (细胞松弛素 E 内毒素 phorbol myristate acetate 激肽释放酶)

N-acetyl- β -D-glucosaminidase 分解, 透明质酸被氧代谢物降解已被认为是类风湿性关节炎患者滑液粘度和功能降低的原因。因此中性粒细胞氧代谢物的产生和溶酶体酶的释放可协同地引起组织损伤和促进炎症反应^[4]。

已知各种生物氧化剂包括中性粒细胞释放的 $\cdot\text{OH}$ 、 ClO^- 和氯胺可使血清和组织中 α_1 -抗蛋白酶 (α_1 -antiprotease) 活性部位的甲硫氨酸残基氧化而失活。 α_1 -抗蛋白酶是中性粒细胞颗粒内的弹性酶和胶原酶的抑制剂。它的失活使结缔组织遭受降解^[3]。

活性氧使组织损伤的另一机制是在局部生成趋化因子放大急性炎性反应。免疫球蛋白与多形核白细胞释放的 MPO 和 H_2O_2 一起温育可使蛋白聚集, 形成 IgG 聚合物。后者能激活补体系统生成趋化因子如 C_{5a} 。又如血浆或花生四烯酸与能生成 O_2^- 和 H_2O_2 的酶系统作用生成中性粒细胞趋化因子^[4]。

三、白细胞氧代谢物生成缺陷的遗传性疾病^[3-5]

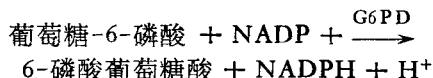
1. 慢性肉芽肿病 (Chronic granulomatous disease CGD)

遗传性慢性肉芽肿病主要是伴性显性遗传。载体女性患者的外周吞噬细胞 50% 有 O_2^- 生成缺陷。患者反复发生对过氧化氢酶呈阳性反应的细菌感染, 在肺、肝、淋巴结、骨、胃肠道和皮肤发生脓肿和肉芽肿。患者中性粒细胞吞噬微生物的能力正常, 但不能生成足量的 O_2^- 和 H_2O_2 杀死它们。对过氧化氢酶呈阴性反应的细菌则能杀死, 这是因为这类细菌自身能产生足量的 H_2O_2 , 保证了吞噬体内的杀菌反应得以进行。现已知道患者的中性粒细胞 NADPH 酶不能生成 O_2^- 的原因是由于 Cytb-245 缺乏^[3,5], 也有报道认为有些患者 Cytb-245 并不缺乏, 而是其功能缺陷, 当氧化酶受到刺激时 Cytb-245 不能被还原。

2. 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (G6PD) 缺乏病

白细胞 NADPH 氧化酶生成 O_2^- 时需要 O_2 和 NADPH。NADPH 的生成是通过磷酸

戊糖途径。G6PD 是该途径中第一步反应所需要的酶, 它催化葡萄糖-6-磷酸氧化生成 6-磷酸葡萄糖酸, 同时使 NADP^+ 还原成 NADPH。



G6PD 缺乏病是伴性遗传, 患者红细胞和中性粒细胞都缺乏 G6PD。G6PD 完全缺乏是很少见的, 各患者缺乏该酶的程度是不同的。中性粒细胞 G6PD 严重缺乏的患者可引起严重的致死性感染, 类似于 CGD。患者的中性粒细胞不能杀死对过氧化氢酶呈阳性反应的细菌, 而且也不能生成 O_2^- 。患者红细胞由于 NADPH 的缺乏, 硒谷胱甘肽过氧酶 (SeGSH-Px) 的抗氧化能力受损, 易受药物的氧化作用而发生溶血。

四、白细胞氧代谢物过量所致的疾病^[3,4,8,9]

急性肺损伤见于各种原因的休克、严重创伤、烧伤、感染、吸入有毒气体、体外循环术后、血液透析或氧中毒等。临床观察以及整体、器官、细胞等不同水平的实验研究说明造成急性肺损伤的主要原因是由于大量被激活的中性粒细胞在肺内的聚集和当呼吸爆发时释出的 O_2^- 和 H_2O_2 得不到及时的清除, O_2^- 、 H_2O_2 和它们的作用产物 $\cdot\text{OH}$ 、 $^1\text{O}_2$ 及其引发的脂质过氧化作用引起肺组织损伤^[8]。

肺气肿的发生已被认为是由于中性粒细胞释放的氧代谢物对血浆和组织液中 α_1 -抗蛋白酶灭活, 使组织 α_1 -抗蛋白酶与中性粒细胞颗粒释放的弹性蛋白酶和胶原蛋白酶间的局部平衡破坏, 引起结缔组织和基底膜的破坏^[3,4]。

自身免疫性疾病如红斑性狼疮和类风湿性关节炎以及肾小球肾炎都是与免疫复合物的沉积有关, 在这些疾病中免疫复合物分别沉积在血管壁、肾小球和滑液组织, 它们激活局部补体系统, 生成中性粒细胞趋化因子, 使白细胞在损伤部位聚集, 在吞噬免疫复合物时, 呼吸爆发放出大量的活性氧导致内皮细胞和平滑肌细胞损伤和使血管基底膜和组织的基质发生改变。

已观察到急性类风湿性关节炎患者的血浆和滑液中脂质过氧化反应物共轭二烯烃和丙二醛含量增加,自由基清除剂和抗氧化剂的临床和实验应用都能有效地减轻组织损伤^[4]。

根据风湿病发病类似于链球菌感染后肾炎,同属于 III 型变态反应又称免疫复合物型变态反应性疾病这一理论,我们观察到风湿性心脏病患者机体的脂质过氧化速率增强,机体的抗氧化能力下降以及血浆红细胞 VE 含量降低,首先揭示风湿性心脏病的发生发展与自由基及其引发的脂质过氧化作用有关。

有关缺血(氧)再灌注损伤的机制,也有认为中性粒细胞产生的氧代谢物对急性心肌梗塞的组织损伤也有贡献,在心肌缺血再灌注的实验中发现去除中性粒细胞所致的心肌梗塞的损

伤程度较对照组减轻 43%^[9]。

参 考 文 献

- [1] 周汝等:《中国病理生理杂志》,3(2),132,1987.
- [2] 陈瑗等:《生命的化学》,3(6),16,1983.
- [3] Baehner, R. L. et al.: *Free Radicals in Biology*, (ed by Pryor, W. A.) Academic Press, Vol V, p. 91, 1982.
- [4] Fantone, J. C. et al.: *Human pathology*, 16(10), 973, 1985.
- [5] Cross, A. R. et al.: *Biochem. J.*, 226, 881, 1985.
- [6] Bertrand, Y.: *Intensive Care Med.*, 11, 56, 1985.
- [7] 周汝等:《解放军医学杂志》,9(2),145,1984.
- [8] Tate, R. M. et al.: *Free Radicals in Biology* (ed by Pryor, W.A.), Academic Press, Vol VI, p. 199, 1984.
- [9] Romson, J. L. et al.: *Circulation*, 67, 1016, 1983.

[本月于 1986 年 12 月 29 日收到]

科技消息

国际生化讨论会在北京举行

中国生化学会在中国科协和国际会议中心的大力支持和协作下,经过将近两年的紧张筹备,于 1987 年 8 月 17 日—22 日在北京长城饭店召开了“国际生化讨论会(International Meeting on Biochemistry)”。这是我国自解放以来在生命科学领域中组织的规模最大的一次国际学术会议。来自全世界 32 个国家和地区的将近 1000 名代表参加了这次盛会(其中外国代表 290 余名,国内正式代表 230 名,列席代表 400 余名)。世界科联秘书长 Ernster 教授,明年即将接任国际生化学会主席的 Slater 教授,国际生化学会司库 Yaci 教授,诺贝尔奖获得者美国的 Kornberg 教授以及日本的 Hayaishi, Ebashi, 美国的 Rossmann, Cech, 捷克的 Kotyk 等著名科学家参加了大会。

大会学术交流共分三种形式:大会报告,分组讨论会和科学板报。

大会报告共进行三次,分别由七位著名科学家作如下的报告:美国 Rossmann 的“几种小的 RNA 病毒的结构、功能与进化”,中国邹承鲁的“几种酶的活性中心位于制限和可挠性的分子微区”,日本 Ebashi 的“收缩系统中 Ca^{2+} 调节作用的比较”,美国 Cech 的“耐热四膜虫 RNA 居间序列的酶活性”,日本 Hayaishi 的“前列腺素与神经功能”,美国 Kornberg 的“DNA 复制与一个染色体的起始”,Slater 的“氧化磷酸化的机制”。大会报告深受欢迎,每次报告都座无虚席。分组讨论分 11 个专题(1.胰岛素的结构、功能与机制;2.

生物活性肽和蛋白质;3.复合多糖;4.病毒;5.生物能与生物膜;6.酶;7.核酸和基因表达;8.生殖生化;9.基因工程;10.免疫生化;11.生化教育)共进行 23 次。其中生化教育讨论会最为活跃,会场挤得水泄不通,这反映国内、外对生化教育愈来愈重视。通过这次会议我国科学家和生化工作者与国外同行进行了广泛的接触与学术交流,这对于促进今后的对外交流将产生很大影响。还有不少外籍华裔化学家和在国外学习的留学生回国参加了这次盛会,中国科协、北京生化学会、北京大学、中国科学院生物物理所和清华大学等单位在会议期间组织了各种活动对他们表示热烈欢迎。

虽然我国组织大型的国际学术讨论会的经验还不多,但这次会议还是很成功的,学术气氛很浓,各项会务工作有条不紊,无论外国代表还是国内代表普遍反映良好。这就为 1992 年在中国召开亚太地区生化大会提供了宝贵的经验。

部分代表感到,这次会议对目前生化研究很活跃领域中的成果还没有充分反映,应在今后组织类似的国际会议时予以注意。通过这次会议可以看到我国生化研究近年来已有较大的发展与提高,获得不少有意义的成果,但总的来讲,与国际先进水平的差距还是相当大的,仅就交流工具所用的幻灯片和科学板报的制作质量来看,我们也大有改进的必要。

[本刊记者]