

多胺代谢与调节

廖金明 潘瑞彭

(上海第二医科大学仁济医院)

提 要

多胺为阳离子脂肪族胺,在细胞生长、增殖和分化过程中具有重要的调控作用,主要参与 DNA、RNA 和蛋白质的合成及稳定性的调节以及细胞膜功能、酶功能及环磷酸核苷代谢等过程的调节。在另一方面,多胺代谢中的一些酶含量低,半衰期短,易于被诱导,因此又可受到体内许多因素如激素、体液因子的调节,使多胺维持在一定水平并保持多胺各成分之间的正常比例,保证细胞在正常水平增殖分化。本文着重介绍了多胺的合成代谢、相互转化及分解代谢的途径和参与这些代谢的酶的一些特性及其调节这些酶的各种因素,并探讨了多胺代谢在基础研究及临床应用上的意义。

多胺 (Polyamine) 一般是指腐胺 (Putrescine, Put)、精脒 (Spermidine, Spd) 和精胺 (Spermine, Spm) 三种成分,是普遍存在于真核生物与原核生物细胞代谢过程中的一种脂肪族多阳离子胺,在生理 pH 值时带有正电荷,可以通过离子键和氢键的形式与核酸、蛋白质及含有负电荷基团的磷脂等物质结合,调节它们的生物学活性和功能,又由于多胺化学结构的某些部分具有脂肪族的特性,因而又可以出现在某些疏水环境中如细胞膜上^[1]。正是多胺的这种特殊的双重特性,它在许多细胞生物学过程中发挥重要的调控功能,控制细胞的生长、增殖、分裂和分化。

早在 20 多年前, Dykstra 等首先发现肝再生时精脒水平增高^[2], 后来研究者陆续报道许多细胞在刺激生长时都伴有多胺合成的增加,并且先于 DNA、RNA 和蛋白质合成,于是提出了多胺调节这些过程的可能性。随着新技术的发展,这种假设得到证实。细胞周期动力学研究发现,当细胞从静止期 (G_0 期) 刺激增殖时,多胺合成酶及多胺浓度在细胞周期中可

出现三个高峰,分别在 G_1 早期、 G_1 后期/S 早期和 S 后期/ G_2 期,而持续增殖的细胞则缺少第一个峰。应用多胺合成抑制剂耗竭细胞内多胺后,细胞周期进行性延长,细胞在 G_1 期积聚,同时细胞内肌动微丝和微管蛋白消失。补充外源性多胺后,细胞立即恢复正常增殖与分裂^[3]。此外一些激素、神经生长因子诱导的细胞分化往往需要多胺物质的介导^[4]。由此可见多胺在细胞生长、增殖和分化过程中具有重要的调控作用,而且与此同时多胺代谢又受到体内诸多因素的调节,保证细胞在正常水平上增殖分化。本文就近年来多胺代谢与调节研究的进展作一综述,以期达到抛砖引玉之目的。

多胺的生物合成

多胺合成是从鸟氨酸开始的。鸟氨酸通过鸟氨酸脱羧酶 (ODC) 作用脱去羧基形成腐胺,然后经过一次丙胺基转移反应生成精脒,后者再经过一次丙胺基转移反应形成精胺。丙胺基来自 S-腺苷蛋氨酸 (S-Adenosylmethionine, SAM) 脱羧后的 S-腺苷甲硫丙胺 (D-SAM)。

鸟氨酸是精氨酸经精氨酸酶水解掉一分子尿素后的产物(图1)。

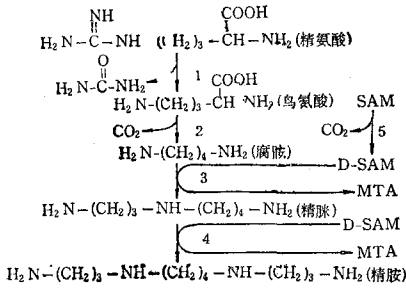


图1 多胺的合成

- 1 精氨酸酶; 2 鸟氨酸脱羧酶; 3 精脒合成酶;
4 精胺合成酶

在天然的多胺合成途径中共有四个酶参与,即两个脱羧酶——鸟氨酸脱羧酶(ODC)和S-腺苷蛋氨酸脱羧酶(SAMD);两个丙胺基转移酶——精脒合成酶和精胺合成酶。两种脱羧酶在哺乳动物细胞中含量很低,半衰期很短,而且极易诱导,是多胺合成的关键酶,起着重要的调节作用。丙胺基转移酶在细胞内的含量要比ODC和SAMD高得多,所起的调节作用亦小。

ODC是多胺合成的限速酶,目前已得到纯制品,哺乳动物ODC分子量在50000—55000之间,为二聚体结构^[9],酶活性依赖于磷酸吡哆醛,半衰期在10—30分钟之间,一些组织ODC半衰期可以短至5分钟^[4],很多刺激细胞生长与分裂的激素与药物刺激细胞后,酶活性可增至1,000倍以上^[4],停止刺激后又可迅速降至正常水平。因此ODC酶活性易被调节,其机制有:① ODC酶RNA合成的调节:细胞在接受刺激后,酶活性可形成两个峰,第一峰不伴有新的RNA合成和转录后水平的控制,而第二峰则是通过转录或转录后水平进行调节的;② 多胺对转录和翻译水平的控制:多胺可特异性抑制ODC酶mRNA,使新的酶蛋白合成减少,但不影响细胞内酶mRNA的含量及酶蛋白的半衰期^[6],而在多胺缺乏时,可通过基因放大,过多地产生酶蛋白mRNA^[7];③ ODC抗酶(ODC-antizyme)和抗酶抑制剂的调节^[8];

1976年Canellakis等人证实了一种非竞争性的蛋白抑制剂——ODC抗酶,这种抗酶在体内可被多胺和二氨丙烷诱导产生,并特异地与ODC结合生成无活性的酶——抗酶复合物,使ODC失活,哺乳动物细胞还含有一种蛋白因子——抗抗酶(anti-antizyme),可特异地与ODC-酶——抗酶复合物中的抗酶结合,释放被抗酶结合的ODC,使其恢复活性;④ ODC降解的调节:在诱导细胞生长时及用多胺合成抑制剂处理细胞时,ODC酶半衰期明显延长;⑤ 酶的活性形式与无/低活性形式的调节:ODC酶蛋白可通过翻译后磷酸化作用或酰胺基转移作用进行酶动力学的活性形式与无/低活性形式的相互转换^[9]。

由于细胞生长过程与多胺合成密切相关,因而许多刺激细胞生长的物质均可诱导ODC酶活性的增加^[10],已得到证实的有:① 激素:生长激素,雄性激素,ACTH、儿茶酚胺、黄体素、促性腺激素、肾上腺皮质激素、前列腺素E₁、E₂、高血糖素、胰岛素、胰岛素样活性因子、TSH、甲状旁腺素、神经生长因子和上皮生长因子等;② 环磷酸核苷及其它: Dibutyryl cAMP、Dibutyryl cGMP、氨茶碱、IBMX、谷氨酰胺和天冬酰胺等。其诱导途径为激素—cAMP—RNA合成,但并非所有的组织都需要cAMP的介导。

SAMD催化S-腺苷蛋氨酸脱羧生成S-腺苷甲硫丙胺(D-SAM)。该酶也已从许多动物组织中中得到纯化,如兔肝SAMD分子量为68000,亚基为32500^[11],其酶活性不依赖于磷酸吡哆醛,而依赖于丙酮酸,一分子酶亚基蛋白与一分子丙酮酸结合,丙酮酸基团通过与底物形成Schiff碱参与催化作用。SAMD半衰期也很短,在35—60分钟之间,因此易于被调节。调节机制有以下几种:① 酶蛋白合成率的调节:许多生长刺激剂可以诱导SAMD酶蛋白合成,而不改变已有酶的催化活性,如牛淋巴细胞用有丝分裂原刺激时,SAMD合成增加10倍^[12],许多诱导SAMD的物质亦可诱导ODC酶的合成;② 酶蛋白稳定性调节:一些生理诱

导剂和药物如丙脒脞处理细胞后可延长 SAMD 的半衰期,如分裂原刺激淋巴细胞时半衰期增加一倍以上^[42];③腐胺的调节:植物和大肠杆菌等微生物的 SAMD 的激活需要 Mg^{2+} ,而哺乳动物 SAMD 则需要腐胺^[43],这是保证在腐胺浓度增加时增加 D-SAM 合成的重要调节机制,也解释了真核细胞中以精脞和精胺占优势的现象,除腐胺外其他二胺也有微弱激活 SAMD 的作用;④精脞的调节:细胞内精脞浓度改变时, SAMD 将发生迅速的相应变化,精脞增加时 SAMD 被抑制,反之增高^[44],这主要是由于精脞使 SAMD 的半衰期缩短之故,当用多胺合成抑制剂二氟甲基鸟氨酸 (DFMO) 或丙脒脞 (MGBG) 耗竭细胞内精脞时,由于半衰期延长,酶蛋白含量增加。

精脞/精胺合成酶催化丙胺基转移过程。这两种酶也已制成纯品,牛脑精脞合成酶由两个亚基组成,亚基分子量为 35800,精胺合成酶分子量 88,000—90000,亚基为 45000^[45]。两种产物——精胺和甲硫腺苷 (5'-methylthioadenosine, MAT) 都能抑制精胺合成酶,然而细胞内丙胺基转移酶活性远远超过两种脱羧酶的活性,所以其调节主要依赖于底物浓度,部分依赖于 MAT 的调节。

代谢产物 MAT 很快被磷酸化降解成腺苷和 5'-甲硫核糖-1-磷酸,后者再转变为蛋氨酸。5'-甲硫腺苷磷酸化酶广泛分布于各种正常组织,在某些肿瘤组织中缺乏该酶,因此有人提出 MAT 是这个合成途径的重要产物^[46]而多胺则不是,然而这还有待于证实。

多胺的相互转化

上述是经典的多胺合成途径,最近人们发现还有一条多胺的转变途径。当投给动物大量非毒性剂量的外源性精脞后,许多组织中腐胺水平显著增加^[47],同时 ODC 和 SAMD 活性降低,提示精脞除对 SAMD 有调节作用外,尚可从另一途径转变为腐胺。

精脞、精胺经精脞/精胺乙酰转移酶的催化,将乙酰 CoA 的乙酰基团转移至精脞/精胺

的 N^1 原子上,形成乙酰化物,然后再在多胺氧化酶作用下脱去一分子乙酰氨基丙醛,形成腐胺或精脞 (图 2)。细胞内多胺氧化酶含量远高于精脞/精胺乙酰转移酶 (SAT),因而认为多胺的乙酰化过程是多胺相互转化过程的限速步骤,精脞/精胺一经乙酰化可快速被多胺氧化酶降解^[48]。

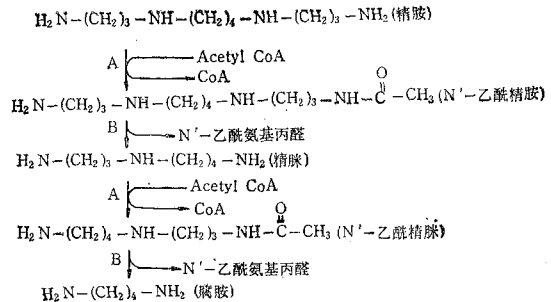


图 2 多胺的转化过程

A: N^1 -乙酰转移酶; B: 多胺氧化酶

精脞/精胺乙酰转移酶有核型和胞浆型两种,核型乙酰转移酶除可以催化多胺 N^1 位乙酰化外,尚可以催化精脞 N^8 位乙酰化和组蛋白的乙酰化^[49],还可以使腐胺乙酰化,抗胞浆型酶的抗体也不影响核型酶的活性,提示胞浆型乙酰转移酶具有较高的底物特异性。

精脞/精胺乙酰转移酶在细胞内含量很低,半衰期很短,体内外诸多因素(如生长激素、胰岛素、乙硫酰胺、叶酸、 CCl_4 等)以及多胺和多胺类似物都可以诱导该酶活性的增加^[20],而且还可通过酶的磷酸化/去磷酸化过程进行酶活性的调节,提示精脞/精胺乙酰转移酶在多胺代谢中具有重要的调节作用。有人研究了人淋巴细胞的乙酰转移酶活性,发现在许多病理情况下都增高,如牛皮癣、急性病毒性肝炎和慢性淋巴细胞性白血病等^[21]。

多胺氧化酶以 FAD 为辅酶,只催化 N^1 -乙酰精脞/精胺和二乙酰精胺,对 N^8 -乙酰精脞不起作用。多胺氧化酶在组织中含量较高,并且对各种诱导乙酰转移酶活性的刺激物均不起反应^[22],故调节作用也小。

多胺的分解代谢

有关多胺的分解代谢与排泄的研究目前还进行得不多,然而已有不少学者进行了多胺分解产物的定性与定量^[23],发现尿中含有多种多胺氧化产物,包括 N⁸-羧乙基精胺、精酸 (Spermic acid)、Putreanine、Isoputreanine、 γ -氨基丁酸、2-酮吡咯烷、 β -丙氨酸、多胺及多胺乙酰化物和氧化产物等。一般认为 Putreanine 和 Isoputreanine 是多胺分解代谢的终末产物,由血浆精胺氧化酶和醛脱氢酶所催化^[24]。精胺在细胞外液中受血浆精胺氧化酶催化脱氨基,水解去 N¹ 位置上的氨基基团形成醛,后者再经醛脱氢酶氧化成 Putreanine,当在 N⁸ 位氧化时则形成 3-丙胺-2-酮吡咯烷,再经醛脱氢酶催化生成 Isoputreanine,精胺亦可通过该途径形成类似化合物(图 3)。目前还发现有 Putreanine 和 Isoputreanine 转变为腐胺的反应,一般认为这两种产物为多胺代谢的清除形式。也有人认为多胺的乙酰化是多胺排泄的途径之一。

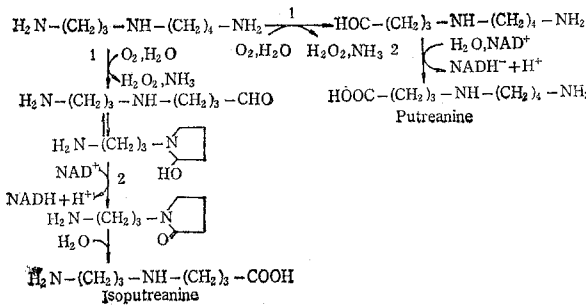


图 3 多胺的分解代谢

1 血清精胺氧化酶; 2 醛脱氢酶

小 结

细胞内多胺合成与相互转化是由不同的酶催化进行的,而这些酶一部分浓度很低,半衰期很短,易于诱导,并可受到体内外众多因素的严格调节,从而达到迅速、敏感而准确地控制细胞内各种多胺成份的水平,有效地控制着细胞在

正常水平上生长、增殖和分化。

长期以来,多胺一直被视为细胞代谢的终末产物,直到最近 20 多年,才基本弄清多胺是细胞生物学中的重要调控物质,如果缺少多胺,细胞的增殖分化均发生障碍,轻则细胞生长缓慢,重则细胞死亡。另一方面,在增殖快速的组织如肿瘤均伴有活跃的多胺代谢,多数肿瘤的多胺代谢均发生异常,多胺合成酶活性及多胺浓度增高,多胺各成分的比率异常。许多研究者正在把多胺作为一种细胞生长增殖的标志物,应用于肿瘤动力学研究、化疗效果的评价、肿瘤的诊断、肿瘤活动性及复发的判别等诸多方面^[25]。并且企图将通过人为调控的方法控制细胞内的多胺代谢,以期达到控制肿瘤细胞增殖和分化的目的,实际上已经把多胺合成抑制剂用于临床肿瘤的治疗,并且取得了令人兴奋的效果^[26]。虽然多胺代谢及调控的研究是人们涉及不久的课题,但在细胞生物学和肿瘤领域已显示出诱人的开发前景。

参 考 文 献

- [1] Flamigni, F. et al.: *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1986, 18, 3.
- [2] Dykstra, W.G.J. et al.: *Science*, 1965, 149, 428.
- [3] Heby, O.: *Biol. Cancer*, 1983, 2, 189.
- [4] Heby, O.: *Differentiation*, 1981, 19, 1.
- [5] Kaye, A.M.: *Cell Biochem. Funct.*, 1984, 2, 2.
- [6] Kahana, C. et al.: *J. Biol. Chem.*, 1985, 260(29), 15390.
- [7] Phjanpelto, P. et al.: *J. Biol. Chem.*, 1985, 260(4), 8532.
- [8] Canellakis, E.S. et al.: *Biosci. Rep.*, 1985, 5, 189.
- [9] Bachrach, U.: *Polyamine in Biomedical Research*, John Wiley & Sons Press, Norwich, 1980, p. 81.
- [10] Mitchell, J.L.A. et al.: *Advances in polyamine Research*, 1978, 1, 39.
- [11] Anthony, E. et al.: *Methods Enzymol.*, 1983, 94, 234.
- [12] Seyfried, C.E. et al.: *Biochim Biophys. Acta*, 1982, 716, 169.
- [13] Grillo, M.A.: *Int. J. Biochem.*, 1985, 17, 943.
- [14] Pegg, A.E. et al.: *Biochem. J.*, 1982, 202, 519.
- [15] Raina, A. et al.: *Methods Enzymol.*, 1983, 94, 276.
- [16] Williams-Ashman, H.G. et al.: *Biochem. Pharmacol.*, 1982, 31: 277.
- [17] Matsui, I. et al.: *Biochem. Biophys. Acta* 1982, 719, 199.

(下转第 18 页)

核糖体比动物细胞核糖体小,且差别很大。单链蛋白均有抗病毒活性,能抑制植物烟草病毒引起的损伤。这可能是通过同一机制起作用的,即进入病毒感染的细胞后便抑制病毒核糖体的蛋白合成从而杀死病毒。但对该植物本身的病毒没有作用,不是天然的抗病毒剂^[3]。它们也能抑制动物病毒的繁殖。

单链蛋白的作用机制还不十分清楚,一般认为与蓖麻毒素A链相似,具有酶学活性,通过钝化60S核糖体亚基,抑制蛋白合成,从而杀死细胞。如PAP、巴豆毒素(crotonin)能降低延长因子(EF-2)与核糖体之间的亲和力,使(EF-2)-GDP-核糖体复合物的形成被抑制或变得不稳定,提高延长因子的浓度可部分地对抗PAP的作用。作用部位可能在60S核糖体与EF-2³结合部位附近^[2,10]。gelonin钝化核糖体的速率是200个/分。

2. 完整细胞

由于单链蛋白分子中缺乏起结合作用的载体,难以进入细胞,所以对完整细胞的毒性很低(见表1)。一旦与伴刀豆蛋白(concanavalin A)、抗体或红细胞膜等蛋白分子载体结合,对细胞的毒性则明显增加。对植物培养细胞的效应不一致,如PAP能抑制胡萝卜细胞的生长,而蓖麻毒素则刺激其生长,gelonin、PAP-S和蓖麻毒素对水稻细胞的生长均有明显的刺激作用^[3]。

与完整细胞毒性有着直接联系的是单链蛋白对动物的毒性也很小或无毒,中毒作用缓慢,如PAP-S对小鼠腹腔注射LD₅₀2天是6.4毫克/公斤,4天是3.8毫克/公斤,10天是2.6毫

克/公斤^[3]。巴豆毒素II中毒15天以后才出现死亡,主要损伤肝、肾、麻疯树毒素(curcin)中毒除损伤肝、肾外,还引起脾、胰的损伤和小肠充血等。这些情况与蓖麻毒素中毒作用相似^[11]。

鉴于单链蛋白对无细胞系统的蛋白合成有强烈抑制,而对完整细胞和动物毒性很小,可代替蓖麻毒素等高毒性毒蛋白的A链研制免疫毒素,用于癌症、寄生虫病的化学治疗和除去骨髓移植的T淋巴细胞。故可以认为单链蛋白为筛选新的免疫毒素的毒素簇提供丰富来源。但是,巨噬细胞对这种蛋白比较敏感,是否会有其他副作用值得研究。由于单链蛋白通常不被水解蛋白酶破坏,故在生食的植物性食品中含的这类蛋白质在动物和人的肠道中有可能起到控制病毒感染的作用。在植物体内有阻止摄取异种移植体(heterografts)的保护作用^[6]。单链蛋白在植物中有广泛的分布和丰富的含量,暗示它们可能有重要的生理功能,随着其活性机理的阐明,它们在自然界的作用将被揭晓。

参 考 文 献

- [1] 郑硕:《生物化学与生物物理进展》,1987,4,19.
- [2] Irvin, J. D.: *Pharmac. Ther.*, 1983, 21, 371.
- [3] Stirpe, F. et al.: *FEBS Lett.*, 1986, 195(1, 2), 1.
- [4] Gasperi-Campani, A. et al.: *Biochem. J.*, 1980, 186, 439.
- [5] Barbieri, L. et al.: *Biochem. J.*, 1982, 203, 55.
- [6] Stirpe, F. et al.: *Biochem. J.*, 1983, 216, 617.
- [7] Stirpe, F. et al.: *Biochem. J.*, 1981, 195, 399.
- [8] Stirpe, F. et al.: *J. Biol. Chem.*, 1980, 255(14) 6947.
- [9] Kishida, K. et al.: *FEBS Lett.*, 1983, 153, 209.
- [10] Sperti, S. et al.: *Biochem. J.*, 1976, 156, 7.
- [11] Stirpe, F. et al.: *Biochem. J.*, 1976, 156, 1.

[本文于1987年10月9日收到]

(上接第15页)

- [18] Morgan, DHL: *Biochem. Soc. Trans.*, 1985, 13, 322.
- [19] Wallace, HM. et al.: *Biochem. Soc. Trans.*, 1985, 13, 329.
- [20] Pegg, AE: *Biochem. J.*, 1986, 234, 249.
- [21] Pezzali, DC. et al.: *IRCS. J. Med. Sci.*, 1984, 12, 750.
- [22] Matsui, I. et al.: *FEBS Lett.*, 1982, 139, 205.

- [23] Seiler, N. et al.: *Biochem. J.*, 1985, 225, 219.
- [24] Seiler, N. et al.: *Biochem. J.*, 1981, 200, 123.
- [25] Durie, BGM: *Tumor Progression*, 1980, 2, 113.
- [26] Porter, CW. et al.: *Anticancer Res.*, 1986, 6, 525.

[本文于1987年10月23日收到]