

氧化与细胞凋亡*

陆 怡 潘华珍 许彩民

(中国医学科学院基础医学研究所, 北京 100005)

摘要 细胞凋亡 (apoptosis) 是细胞的主动死亡, 它参与调节机体许多生理及病理过程。近年的研究表明细胞凋亡与氧化有密切关系。当细胞外诸如辐射、高氧、高温、感染、衰老等信息通过活性氧传入细胞, 引起细胞脂质过氧化或与细胞凋亡有关的基因的表达, 通过一系列生化反应, 最终发生细胞凋亡。原癌基因 bcl-2 可能起着调节作用。

关键词 细胞凋亡, 氧化, 膜脂质

细胞凋亡 (apoptosis) 是 1972 年 Kerr 等^[1]首先提出的一种不同于细胞坏死的细胞死亡方式, 它具有特征性形态和生化改变, 是细胞自身主动死亡的过程, 也称为程序性细胞死亡 (programmed cell death, PCD)。在许多正常生理过程及病理过程中均有细胞凋亡参与调节, 如胚胎发育及变形、胸腺细胞的克隆选择、细胞介导的细胞毒作用、衰老造血细胞的清除、肿瘤发生、人类免疫缺陷病毒 (HIV) 感染及化学治疗等, 因而成为免疫学、细胞生物学、肿瘤学和分子生物学等领域的热门课题, 人们试图找到细胞凋亡的生化过程及细胞调节机制, 从而为治疗艾滋病、肿瘤、血液病等提供新的治疗途径。

许多因素如辐射、高温、生长因子缺乏、化疗药物等均能诱导细胞凋亡, 自 1993 年以来, 氧化对细胞凋亡的作用日益受到重视。本文着重介绍氧化与细胞凋亡的关系及氧化诱导细胞凋亡的机制。

1 氧化与细胞凋亡

氧化作用每时每刻都影响着细胞, 不仅外源性氧化剂可以引起细胞内活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的堆积, 而且细胞本身的有氧代谢过程中亦有 ROS 的产生。ROS 具有很高的生物活性, 很容易与生物大分子反应,

直接损害或者通过一系列过氧化链式反应而引起广泛的生物结构的破坏。为了减少有氧代谢过程中 ROS 对细胞的损害, 细胞内有一系列有效的抗氧化防御机制, 包括清除 ROS 的超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSHPx), 硫氧还蛋白 (thioredoxin) 等和阻断过氧化链式反应的生育酚 (tocopherol)、胡萝卜素 (carotenoid) 和抗坏血酸 (ascorbic acid) 等。通常细胞处于氧化与抗氧化平衡中而维持着正常的功能, 一旦氧化与抗氧化作用失衡, 细胞的功能将会受到影响, 细胞凋亡可能就是这种失衡的结局之一, 有以下几方面的证据:

1.1 引起细胞氧化的因素亦能引起凋亡

电离辐射和紫外线辐射能通过直接攻击水分子而在水中产生 $\cdot\text{OH}$, 它们均能诱导细胞凋亡^[2]; H_2O_2 本身是活性氧, 在体内又能在 Fe^{2+} 存在下产生活性更强的 $\cdot\text{OH}$, 小剂量 H_2O_2 能诱导多种细胞发生细胞凋亡^[3,4], 直接说明了 ROS 在细胞凋亡中的作用; NO 本身可以看作是自由基, 同时它又能与氧分子反应形成超氧阴离子 (O_2^-) 和 H_2O_2 , 最近 Albina 等^[5]通过对巨噬细胞和单核细胞的研究, 提

* 国家自然科学基金资助项目。

收稿日期: 1995-04-11, 修回日期: 1995-09-01

出 NO 也是细胞凋亡的诱导剂。一些抗肿瘤药物如阿霉素、顺铂等虽本身不是自由基,但是它们可以引起 ROS 的增加^[6];而另一些药物如 Buthionine Sulfoxamine 等则能消耗细胞内 GSH (GSH 是细胞内重要的 ROS 清除剂),两类抗肿瘤药物均能使细胞对多种因素诱导的细胞凋亡更敏感^[7]。Kane 等^[8]通过对下丘脑神经细胞系 GT1-7 的研究发现细胞内 GSH 的合成抑制剂可以诱导细胞凋亡, Sandstrom 等^[9]也发现细胞外过氧化氢酶水平与 H_2O_2 诱导的细胞凋亡的敏感性有关。最近对艾滋病的研究启示: HIV 感染后细胞内抗氧化剂如 MnSOD、CAT 的减少可能是导致 HIV 感染者的 T 细胞对细胞凋亡敏感的原因之一^[10]。

1.2 生物活性介质可诱导细胞氧化凋亡

目前研究较多的肿瘤坏死因子 (TNF) 就是其中之一。TNF 是由巨噬细胞和单核细胞产生的,激活 TNF 受体可使细胞内 ROS 明显增加。体外实验表明 TNF 能诱导细胞凋亡,而且在许多细胞中 TNF 介导的细胞凋亡可以被硫氧还蛋白 (一种细胞内巯基还原剂和自由基清除剂) 或 N-乙酰半胱氨酸 (NAC, 一种 GSH 前体) 所抑制^[11], 不仅如此,细胞对 TNF 的敏感性还与 SOD 的降低有关,如缺乏 SOD 的 T 细胞对 TNF、电离辐射和高温引起的细胞凋亡更敏感^[12]。Fas 抗原与 TNF 受体结构相似,当用 Fas 抗体刺激细胞时,细胞发生凋亡^[12], 同样,这种细胞凋亡可以被硫氧还蛋白和 SOD 拮抗,说明 Fas 抗体介导的细胞凋亡有氧化的参与。

1.3 抗氧化剂可抑制氧化诱导的凋亡

Hirose 等^[12]发现过度表达 MnSOD 的肿瘤细胞能耐受辐射、化疗药物和 TNF 的细胞毒作用。Hockenbery 等^[13]发现过度表达谷胱甘肽过氧化物酶 (GSHPx, 抗氧化酶之一) 的小鼠 IL-3 依赖的 FL5.12 细胞能在缺乏 IL-3 的情况下存活,生长因子缺乏导致的细胞凋亡,是否也有氧化参与,或者此酶是否相似于生长因子作用? 还是一个饶有趣味的问

题。

2 氧化诱导细胞凋亡的机制及其调节

机体内氧化信息来自细胞内或细胞外,细胞内 ROS 主要来自线粒体,亦有来自微粒体细胞色素 P_{450} 系统和质膜 NADP(H) 氧化酶系统。氧化诱导细胞凋亡的机制可能有以下两方面:

2.1 与 ROS 影响生物活性物质有关

ROS 对生物大分子结构有广泛作用: ROS 对核物质的作用可以导致碱基修饰、碱基丢失、单链和双链 DNA 的断裂、DNA 交联、癌基因的激活或失活等。特别是染色质位于核小体之间的组蛋白成分是 ROS 攻击的主要目标。细胞凋亡时 DNA 被降解为核小体或出现其整数倍大小 DNA 片段,这可能与 ROS 有关。但是 Forrest 等^[3]发现在 H_2O_2 诱导的细胞凋亡中, H_2O_2 作用 2 h 后用膜保护剂 Trolox (一种维生素 E 类似物) 仍能阻止细胞凋亡的发生。他认为 DNA 片段的产生不是 ROS 对 DNA 的直接作用,而首先是膜脂质的过氧化,由于 ROS 很容易与膜的多聚不饱和脂肪酸 (PUFA) 和胆固醇反应,引起过氧化链式反应,膜脂质被过氧化以后才有 DNA 损伤。Sandstrom 等^[9]研究花生四烯酸的代谢过程,发现其过氧化产物 (HPETES) 能诱导细胞凋亡, Halliwell 等^[2]和 Larrick 等^[14]的研究证实在 TNF 诱导的细胞凋亡中 HPETES 也起一定作用,它的作用可能是作为 Ca^{2+} 载体,使钙内流增加;也可能是通过氧化 GSH 而使细胞内 Ca^{2+} 失去平衡,因为 Ca^{2+} 和钙调蛋白的结合需要 GSH 参与, GSH 被 HPETES 氧化后, Ca^{2+} 和钙调蛋白结合减少,细胞内游离 Ca^{2+} 增加;最近 Isabelle 等^[15]报道氧化的低密度脂蛋白 (OXLDL) 可诱导细胞凋亡,也有 Ca^{2+} 参加,细胞外 Ca^{2+} 的螯合剂 (EGTA) 或 Ca^{2+} 依赖的 DNA 内切酶抑制剂可阻止这种细胞凋亡。以上这些实验说明 Ca^{2+} 在 ROS 诱导的细胞凋亡中起一定作用,可能也是导致细胞凋亡的因素之一。

2.2 与癌基因有关

目前已知有 25 个基因与细胞凋亡有关, 与氧化关系最密切的是 bcl-2 基因. bcl-2 基因是人类发现的第一个死亡抑制基因, 许多研究证实 bcl-2 基因表达能抑制多种因素 (如电离辐射、高温、GSH 合成抑制剂和生长因子缺乏等) 引起的细胞凋亡^[7,16], 其机制如何还有不少争论. bcl-2 产物是一个膜蛋白, 其疏水端由 22 个氨基酸组成, bcl-2 产物依赖其疏水端插入膜. Hockenbery 等^[16]发现 bcl-2 基因产物主要位于线粒体内膜, 这部位是 ROS 产生的主要场所, 因而他们推测细胞凋亡与氧化有关, bcl-2 可能通过抗氧化作用调节细胞凋亡; 但 Jacobson 等^[17]发现 bcl-2 能抑制无线粒体 DNA 的纤维母细胞的凋亡, 并发现不仅线粒体外膜有 bcl-2 产物, 核膜、质膜内表面和内质网等部位亦有 bcl-2 基因产物, 因而他们认为其他部位产生的 ROS 诱导的细胞凋亡亦有 bcl-2 产物的调节. 有的学者认为 bcl-2 抑制细胞凋亡与细胞内氧化还原酶有关, Itoh 等^[18]认为 bcl-2 产物能够与线粒体 SOD 反应而阻止细胞凋亡, Kane 等^[8]提出 bcl-2 的表达并不能增加细胞 SOD 活性, 它可能或者通过阻断电子传递链中 ROS 的产生, 或者起了 ROS 清除剂的作用而调节细胞的氧化还原状态, 从而调节细胞凋亡. Hockenbery 等^[13]则证实 bcl-2 的表达不影响 ROS 的产生, 而是通过阻断膜的脂质过氧化而阻止了细胞凋亡的发生. 目前 bcl-2 抗细胞凋亡的机制尚未完全清楚, 但是 bcl-2 通过抗氧化作用而阻止细胞凋亡的假说已被许多实验所证实, 进一步说明了氧化在细胞凋亡中的作用, 以及 bcl-2 基因在氧化诱导细胞凋亡中的作用.

3 结 论

氧化诱导细胞凋亡的机制及其调节归纳如图 1, 以供参考.

在正常生理情况下, 细胞处于氧化与抗氧化平衡中, 当细胞外诸如辐射、高氧等信息通过活性氧 (ROS) 传入细胞, 引起细胞脂质过

氧化或与细胞凋亡有关的基因的表达, 通过一系列生化反应, 最终发生细胞凋亡. bcl-2 可能起着调节作用.

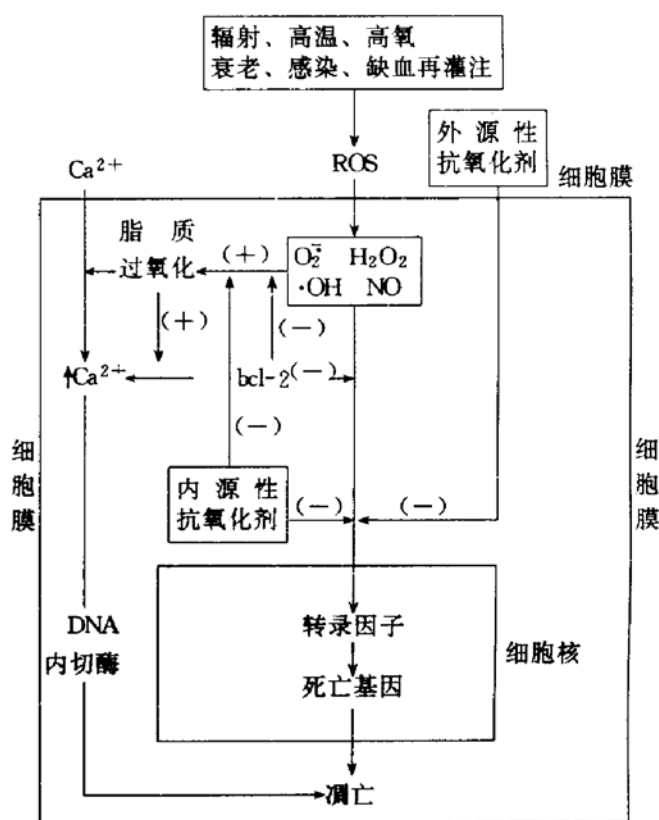


图 1 氧化诱导细胞凋亡的机制及其调节

氧化诱导的细胞凋亡具有重要的临床意义. 在诸如衰老、某些退行性疾病、放射损伤、高氧损伤、感染缺血/再灌注等过程中均有 ROS 的堆积; 而在 HIV 感染中, 由于营养障碍或其他因素可导致细胞内抗氧化物质的减少, 从而在上述疾病过程中可能表现为以细胞凋亡为特征的病理过程. 调节机体氧化抗氧化作用的平衡, 将会对发病机理及治疗提供新的设想.

参 考 文 献

- 1 Kerr J F R, Wyllie A H, Currie A R. Br J Cancer, 1972; 26: 239
- 2 Halliwell B, Gutteridge J M C. Methods Enzymol, 1990; 186: 1
- 3 Forrest V J, Kang Y-H, McClain D E *et al.* Free Radical Biology and Medicine, 1994; 16 (5): 675
- 4 Lennon S V, Martin S J, Cotter T G. Cell Prolif, 1991;

24; 203

- 5 Albina J E, Cui S, Mateo R B *et al.* J Immunol, 1993; 150: 5085
- 6 Wagner B A, Buettner G R, Burns C P. Cancer Res, 1993; 53: 71
- 7 Zhong L-T, Sarafian R, Kane D J *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1993; 90: 4533
- 8 Kane D J, Sarafian T A, Anton R *et al.* Science, 1993; 262: 1274
- 9 Sandstrom P A, Burtke T M. Proc Natl Acad Sci USA, 1993; 90: 4708
- 10 Howard C G, Okezie I A. Immunol Today, 1994; 15 (5): 209
- 11 Burtke T M, Sandstrom P A. Immunol Today, 1994; 15 (1): 7
- 12 Hirose K, Longo D L, Oppenheim J J *et al.* FASEB J, 1993; 7: 361
- 13 Hockenbery D M, Oltval Z N, Yin X-M *et al.* Cell, 1993; 75: 241
- 14 Larrick J W, Wright S C. FASEB J, 1990; 4: 3215
- 15 Isabelle E-B, Robert S, Anne N-S. FASEB J, 1994; 8: 1075
- 16 Hockenbery D M, Nunez G, Millman C *et al.* Nature, 1990; 348: 334
- 17 Jacobson M D, Burne J F, King M P *et al.* Nature, 1993; 361: 365
- 18 Itoh N, Tsujimoto Y, Nagara S. J Immunol, 1993; 151:

621

Oxidative Stress Induced Apoptosis. Lu Yi, Pan Huazhen, Xu Caimin (*Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100005, China*).

Abstract Apoptosis, an active process of cellular self-destruction involved in a variety of physiological and pathological conditions, can be induced by either oxidants or stimulators of cellular oxidative stress. Mild damages such as ionizing and ultraviolet radiation, hyperoxia, hyperthermia, infection etc, will injure the cell via reactive oxygen species (ROS), which may either react with the polyunsaturated fatty acids, leading to the formation of oxidized lipids, or activate certain genes related to cell death. As a result, the cell commits suicide following a sequence of biochemical change. bcl-2, one of the proto-oncogenes, was found to play a role in the regulation of apoptosis.

Key words apoptosis, oxidative stress, membrane lipids

尿激酶型纤溶酶原激活物受体研究进展

周爱武 吴海宏 徐贤秀

(南京大学生物化学系, 南京 210093)

摘要 尿激酶型纤溶酶原激活物受体作为胞外纤溶酶系统的一员, 以糖基磷脂酰肌醇锚的形式固定于细胞膜上, 它参与了胞外纤溶酶活性的调节, 具有内化受抑制的尿激酶的功能; 同时参与了胞外信号的传递; 另外它对癌症的临床预后及抗癌转移的研究有重要的意义。

关键词 尿激酶型纤溶酶原激活物受体, 糖基磷脂酰肌醇锚, 信号传递, 癌症转移

随着尿激酶型纤溶酶原激活物受体(uPAR)的发现, 人们对尿激酶在纤维蛋白溶解过程中的生化和生理功能有了深入的了解, 尿激酶可结合于该受体从而有效地激活胞外一

系列的分子如纤维蛋白酶原, 金属蛋白酶原等。二者对于细胞的迁移、胞外基质的降解及