

- clones. *Int J Cancer*, 1995, **60** (5): 668~ 675
- 11 Akiyama S K, Larjava H, Yamada K M. Differences in the biosynthesis and localization of the fibronectin receptor in normal and transformed cultured human cells. *Cancer Res*, 1990, **50** (5): 1601~ 1607
- 12 Aznavoorian A, Murphy A N. Molecular aspects of tumor cell invasion and metastasis. *Cancer*, 1993, **71** (4): 1368 ~ 1383
- 13 Koop S, Schmidt E E, MacDonald I C *et al.* Independence of metastatic ability and extravasation: Metastatic ras transformed and control fibroblasts extravasate equally well. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93** (20): 11080~ 11084
- 14 Fridman R, Scott A F, Muller D *et al.* The role of cell adhesion and migration in the *in vitro* invasiveness of mouse adrenal carcinoma cells. *Invasion Metastasis*, 1990, **10**: 208 ~ 224
- 15 Yoshinaga I G, Vink J, Dekker S K *et al.* Role of  $\alpha_3\beta_1$  and  $\alpha_2\beta_1$  integrins in melanoma cell migration. *Melanoma Res*, 1993, **3**: 435~ 441
- 16 Silletti S, Watanabe H, Hogan V *et al.* Purification of B16-F1 melanoma autocrine motility factor and its receptor. *Cancer Res*, 1991, **51** (13): 3507~ 3511
- 17 Doerr M E, Jones J I. The roles of integrins and extracellular matrix proteins in the insulin-like growth factors I stimulated chemotaxis of human breast cancer cells. *J Biol Chem*, 1996, **271** (5): 2443~ 2447
- 18 Aznavoorian S, Stracke M L, Kruttsch H *et al.* Signal transduction for chemotaxis and hepataxis by matrix molecules in tumor cells. *J Cell Biol*, 1990, **110** (4): 1427 ~ 1438
- 19 Giunciuglio D, Cai T, Filanti C *et al.* Effects of osteoblast supernatants on cancer cell migration and invasion. *Cancer Lett*, 1995, **97**: 69~ 74
- 20 Ohishi K, Fujita N, Morinaga Y *et al.* H-31 human breast cancer cells stimulate type I collagenase production in osteoblast-like cells and induce bone resorption. *Clin Exp Metastasis*, 1995, **13**: 287~ 295

**The Relationship Between Adhesion, Migration of Cancer Cells and Metastasis.** JIANG Xin-nong, ZHOU Rou-li (*Department of Cell Biology, Beijing Medical University, Beijing 100083, China*).

**Abstract** The ability of tumor cell to adhere and migrate is closely related to metastasis. Cell adhesion molecules, such as selectins, integrins, Ig superfamily and cadherins mediate cell-to-cell and cell-to-matrix interactions. Cell adhesiveness changed by the different expression or distribution of cell adhesion molecules on tumor cell surfaces affects the metastatic potential directly or indirectly, so it is very important for tumor cells to separate from primary lesion and lodgement. Tumor cell migration is thought to be a major limiting step in metastasis. In general, the ability of tumor cells to migrate *in vivo* or *in vitro* is positively correlated with their metastatic potential. Once stimulated by motile factor, tumor cells can promote their migration by themselves through chemotaxis and haptotaxis, the molecular mechanism of which is unclear at present yet.

**Key words** tumor cells, cancer metastasis, adhesion, migration, cell adhesion molecules

## 邻啡罗啉-Cu 对 DNA 的损伤及其化学核酸酶活性\*

马文建 曹恩华<sup>1)</sup>

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

**摘要** 邻啡罗啉-Cu 是一种具有核酸酶活性的配合物, 可产生多种形式的 DNA 损伤, 包括碱基修饰、异常碱基位点、链断裂及交联等。近年来, 邻啡罗啉-Cu 因其切割核酸的性质及作为一种可产生活性氧的模型, 引起了学者们浓厚的兴趣, 在自由基生物学与医学及核酸化学领域受到广泛的关注。

**关键词** 邻啡罗啉-Cu, 化学核酸酶, DNA 损伤, 活性氧

**学科分类号** Q52

\* 国家自然科学基金委重点项目 (3933008)。 <sup>1)</sup> 通讯联系人。

收稿日期: 1997-05-03, 修回日期: 1997-09-19

铜离子在体内主要是作为酶的辅基或蛋白质的配位成分参与机体的新陈代谢活动。正常情况下多为蛋白质螯合, 游离的形式很少<sup>[1]</sup>。但当机体代谢发生紊乱或处于某种病理条件下时, 铜离子的存在就会成为潜在的威胁: 当其游离出来后, 不仅会使某些修复酶失活, 而且因其化学的特异性而诱发多种活性中间物及自由基的产生, 特别是活性氧和活性氮中间物。后者可导致蛋白质、核酸等生物大分子的损伤, 破坏正常的代谢调控或者引起遗传物质的变化, 而这种损伤的逐渐积累就会成为衰老及多种疾病的原因<sup>[2]</sup>。过渡金属离子与某些分子形成的金属配合物, 是一类人工设计合成的 DNA 或 RNA 定位断裂工具称为化学核酸酶。它们能够在不同位点断裂单链、双链 DNA 或 RNA, 而不受限制性内切酶的天然专一性限制, 其中铜与邻啡罗啉的配合物 (Phen-Cu) 是第一个被证明具有显著核酸酶活性的物质<sup>[3]</sup>。此外, 铜离子在核内作为一种结构金属参与染色质的形成, 在 DNA 和核骨架蛋白之间起着中介的作用, 其相对含量也较大, 平均每一千个碱基就有一个铜离子<sup>[4]</sup>。本文将从 Phen-Cu 配合物的结构、结合 DNA 的方式、断裂 DNA 的化学机制、作为一种化学核酸酶以及在抗氧化剂研究中的应用等几个方面作一综述。

## 1 Phen-Cu 的结构及结合 DNA 的方式

邻啡罗啉跟 Cu (II) 之间可形成多种配合物。作为核酸酶, 目前主要集中于对 2:1 Phen-Cu 和 1:1 Phen-Cu 的研究。前者能形成一种可有效结合 DNA 的四面体结构, 后者再结合另一分子其他类型的配体, 如寡核苷酸、蛋白质、短肽以及某些小分子配体等, 可形成具有导向作用的核酸酶。对于非导向性的四面体 Phen-Cu, 其核酸酶活性对 Phen 和 Cu (II) 有很强的依赖性。一方面, 邻啡罗啉被其他类型的配体, 如联吡啶和三联吡啶等取代时, 便丧失了断裂 DNA 的能力, 即使是邻啡罗啉的衍生物, 很多也没有活性<sup>[5]</sup>; 另一方

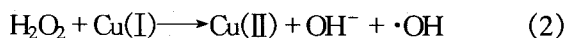
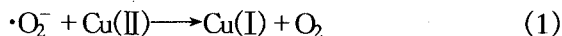
面, 当以铁、钴等其他过渡金属代替铜时, 对 DNA 碱基修饰或断链的作用亦大为减弱<sup>[5,6]</sup>。Sigman 等<sup>[3]</sup>认为, 这是因为铁、钴等只能形成八面体的配合物, 较之于四面体的 Phen-Cu, 其结合到 DNA 特定定位点的能力很弱。在体外研究 Phen-Cu 与已知序列多聚核苷酸的相互作用, 结果表明 Phen-Cu 特异性的作用于 DNA 小沟 (minor groove) 处, 而没有嵌入其中。例如, 纺锤素 (netropsin), 一种特异性结合到富含 A-T 的 DNA 小沟区的蛋白, 可以有效地阻断链的断裂, 而结合到大沟 (major groove) 的 *EcoR* I 蛋白则对 Phen-Cu 的作用影响甚微 (图 1)。对于四面体 Phen-Cu 与 DNA 的结合方式, Thederahn 等<sup>[7]</sup>提出了一种可能的模型。



图 1 邻啡罗啉-Cu (II) 与 B-DNA 间形成的非共价中间物模型<sup>[3]</sup>

## 2 邻啡罗啉-Cu 引起的 DNA 损伤

铜离子在体内可通过 Harber-Weiss 型反应把  $\cdot\text{O}_2^-$  转化为  $\cdot\text{OH}$ , 这些活性氧进一步作用生成多种活性氧物种, 下面是  $\cdot\text{OH}$  的生成过程:



这里 Cu (I) 跟  $H_2O_2$  反应的速率常数是很大的<sup>[2]</sup>, 因而微量的铜离子在合适条件下即可对机体产生很大的危害. 铜还有另一个性质, 就是易形成配合物, 这不仅增加了其在体内的含量, 且使氧化还原电位发生了变化. 铜离子催化的  $H_2O_2$  分解一直被作为产生活性氧的模型, 研究最多的即为 Phen-Cu (II) 配合物, 这一配合物对 DNA 有很强作用, 特别是当有某种还原剂, 如抗坏血酸或硫醇存在时<sup>[6]</sup>. 下面先概要介绍一下 DNA 损伤的类型及作用机制.

## 2.1 DNA 氧化损伤的种类

DNA 氧化损伤产物很多, 目前被证实的已达到 100 多种<sup>[8]</sup>, 从其损伤形式上主要可分为以下几类.

### a. 碱基损伤

碱基损伤的类型包括嘌呤环的氧化和侧链氧化, 及形成碱基二聚体等. 通常单链的 RNA 或多核苷酸中的碱基比双链 DNA 更易受到活性氧的进攻<sup>[9]</sup>, 这可能是空间位阻效应起了某种程度的保护作用. 在 Phen-Cu 的作用过程中, 嘌呤碱基更易受到损伤<sup>[6,10]</sup>.

嘌呤环上的原子被氧化后形成的各种产物中, 8-羟基-鸟嘌呤 (8-OH-G) 是最引人注意的, 多种活性氧产生系统均可导致 8-OH-G 的形成, 例如化学氧化剂、可产生单线态氧的光敏剂 (如甲基蓝)、以及生物系统中激活的多形核白细胞<sup>[11]</sup>. 在 2:1 Phen-Cu 对 DNA 的损伤产物中, 生成最多的即为 8-OH-G<sup>[6]</sup>, 这可能跟鸟嘌呤的氧化还原电位有关. 除此之外, 8-OH-腺嘌呤也会形成, 但数量非常少, 其生物影响也有限. 嘌呤受到损伤后产生的另一种重要产物是甲酰胺嘌呤, 这是咪唑环打开后形成的. 这一产物在碱水解 N<sup>7</sup>-甲基-G 时也可形成, 所以是否为氧化过程的产物还有疑问. 其他类型的嘌呤损伤还包括 C1 位的 H 被抽提后的重排反应, 自由基进攻 C5 导致的 dAMP 环化等<sup>[7]</sup>.

嘧啶碱基受到损伤后会形成环上的邻二醇, 例如胸腺嘧啶二醇 (thymine glycol), 在

碱性条件下裂解为 N 位连有脱氧核糖的尿素. 嘧啶环外的甲基也易受到活性氧的进攻, 如胸腺嘧啶可被氧化为 5-羟甲基尿嘧啶, 5-甲基胞嘧啶被氧化成 5-羟甲基胞嘧啶. 5-羟甲基尿嘧啶对哺乳动物 DNA 的毒害作用已有报道<sup>[12]</sup>.

### b. DNA 链断裂

活性氧不仅可造成碱基的修饰, 还可攻击磷酸核糖骨架, 导致 DNA 链的断裂. 这是当前化学核酸酶研究的基础, 各种化学核酸酶, 如博莱霉素, EDTA-Fe 等, 要产生切割 DNA 的作用, 其作用的最终位点必定要集中到核糖磷酸骨架. 自由基进攻核糖的 C1 可使碱基脱离, 同时生成羰基化合物, 进攻 C4 产生 4-酮脱氧核糖, 这些产物是 DNA 中的不稳定因素, 在碱性条件下极易氧化而从链上脱离下来, 引起 DNA 断裂. 除此之外, 核糖 C5 上的氢也是进攻的目标, 如新致癌菌素<sup>[13]</sup>对 DNA 的作用.

### c. 交联

氧化性损伤对 DNA 的另一个重要影响是引起 DNA-蛋白质交联. 交联不仅存在于 DNA 和蛋白质之间, 在 DNA 两条链之间甚至在同一条链内部也会产生, 而且对细胞的毒性及在遗传上的变异作用可能会更大, 这种分子内的交联在嘧啶碱基和嘌呤碱基之间都是存在的.

## 2.2 Phen-Cu 引起 DNA 损伤的可能机制

Phen-Cu 是通过一种什么样的机制来导致 DNA 损伤的? 大量数据表明, Phen-Cu 介导的 DNA 氧化一般经历了以下步骤:

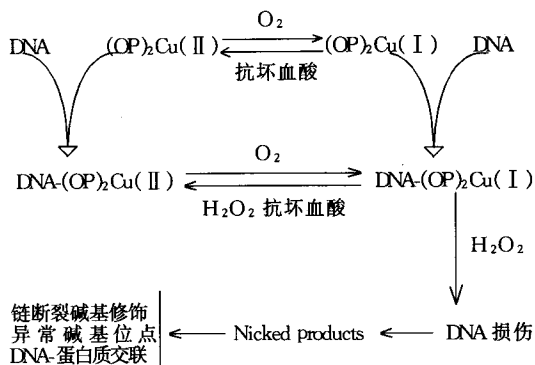
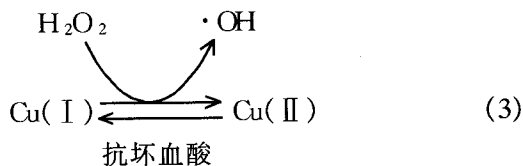


图 2 邻啡罗啉导致 DNA 损伤的反应过程

在上述反应中, DNA-Cu (I)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 配合物的形成是被普遍接受的<sup>[3]</sup>, 但其形成后, 如何进一步引起 DNA 损伤, 仍存在疑问. 这方面的研究, 文献上报道很多, 但众说纷纭. 就目前研究而言, 有一点是可以肯定的, 那就是活性氧在其中起着关键的作用. 至于这一物质是·OH, 单线态氧, 抑或是因活性氧而产生的 Cu (III), 一直是争论的焦点. 概括起来, 主要有以下几种观点:

a. ·OH 损伤学说. 这一观点主要从对 DNA 损伤后产物的分析中得来. Halliwell 等通过高压液相色谱及气相色谱-质谱联用等手段对产物作了大量的分析, 结果表明损伤产物中含量最多的是 8-OH-G, 但其他几种碱基的修饰产物也存在. 因为在几种活性氧·OH, ·O<sub>2</sub><sup>-</sup>, <sup>1</sup>O<sub>2</sub> 及 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 中似乎只有活性最高的·OH 自由基可产生如此广泛的损伤产物, 据此他们指出·OH 是导致 DNA 损伤的原因<sup>[6]</sup>. 但是这一观点对于许多事实又难以作出解释, 因为·OH 的高活性和低选择性, 使得它可与几乎任何生物分子发生反应, 反应速率仅受扩散速率的限制, 也就是说其产生或到达之处即为反应的范围. 那么又怎么解释 8-OH-G 是主要损伤产物这一事实呢? 大量数据表明, ·OH 自由基清除剂, 如甘露醇、甲酸钠等在铜离子诱导的 DNA 氧化过程中所起的作用很小或没有. 为了解决这些矛盾, Chevon 等<sup>[2]</sup>提出了定点氧化机制 (site-specific oxidative mechanism).

b. 特定位点氧化. 这一机制假定 Phen-Cu 作为诱导自由基产生的中介物而结合到生物分子上, 这些结合的位点可作为反应的中心, 使氧化-还原过程持续进行, 起到一种类似催化剂的作用. 如下反应式:



抗坏血酸在这里起一种还原剂的作用, 还原 Cu (II) 向活性形式 Cu (I) 的转变. 这

样一来结合到 DNA 上的铜离子就可以经历不止一次的再还原和再氧化过程, 从而催化 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 产生多个羟自由基. 根据这一机制碱基修饰的主要产物是 8-OH-G 这一事实, 可解释为 Cu 在 DNA 上的结合位点为 G 富集区<sup>[6]</sup>; 而各种羟自由基清除剂的低效性可解释为, 在 Cu 附近产生的·OH 会立即跟相邻的碱基或核糖发生反应, 各种清除剂可能因为空间位阻或其他原因而到达不了·OH 生成的位置进而起到清除的目的.

c. Cu (III) 形成说. 虽然定点氧化机制可以解释为什么·OH 清除剂在 DNA 氧化过程中所起的保护作用很小这一事实, 但是通过对 Cu (I) 与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 反应的动力学研究又促使人们提出 Cu (III) 的存在<sup>[4]</sup>. 例如, 用 γ 射线照射含 Cu (II) 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的 N<sub>2</sub>O 饱和的甲醇溶液, 甲醛的产量比预计的要低, 为了解释这一现象, Johnson 等认为在光解过程中产生的 Cu (I) 会进一步跟 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 反应生成 Cu (III), 从而阻止活性更高的·OH 的形成<sup>[4]</sup>. 通过脉冲辐解的方法已经证明, Cu (III) 对 DNA 的反应活性是相对较低的. 相似的, Stoewe 和 Prutz 报道了 Cu (II) 在 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 存在下导致的 DNA 损伤, 较之用光解产生·OH 的损伤在产量上要低的多<sup>[4]</sup>. 它们把这一现象的原因也归结为 Cu (III) 的形成, 指出在反应过程中, 一部分与 DNA 结合的 Cu (I) 会在 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的作用下形成·OH, 而游离的 Cu (I) 与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 反应生成 Cu (III). 与 Johnson 不同, Stoewe 和 Prutz 虽然认为 Cu (III) 在反应过程中产生, 但并不认为是导致 DNA 损伤的主要活性物质. 产生的 Cu (III) 会在与 Cu (I) 的歧化反应中或被 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 还原而重新回到 Cu (II), 对 DNA 的损伤仅仅由·OH 引起, Cu (III) 在反应中更主要的是起着保护作用, 竞争性的消耗掉·OH.

d. 其他的活性氧. ·OH 和 Cu (III) 的形成学说虽然都能解释一些现象, 但对于导致 DNA 链断裂及碱基修饰的原因究竟是什么? 哪种物质在里面起着关键的作用? 依旧缺乏明确的答案. 在氧的各种活性中间物中, 除·OH

外, 单线态氧 ( $^1\text{O}_2$ ) 也可导致 DNA 链断裂及碱基的损伤<sup>[14]</sup>, 而且是特异性针对鸟嘌呤碱基的. 我们实验室近期在这方面作了一些工作, 通过对 DNA 损伤过程中化学发光的研究, 似乎支持了这一观点. 发光强度与 DNA 损伤程度之间有一致性, 而且是鸟嘌呤特异性的<sup>[10]</sup>. 结果还表明, 各种活性氧清除剂中对发光均有不同程度的抑制, 但以 $^1\text{O}_2$ 清除剂为最明显, 同时以重水为溶剂时, 发光强度增加为原来的 4 倍, 这似乎说明 $^1\text{O}_2$ 在  $\text{Pheir-Cu}$  诱导的 DNA 损伤中发挥了极为关键的作用. 当然这并不否定 $\cdot\text{OH}$ 在反应过程中的产生, 很可能几种活性氧成分都会存在. 因为从另一个角度看, 活性氧之间是可以相互转变的, 仅仅一种在起作用似乎不太合理.

### 3 Phen-Cu 作为化学核酸酶的研究

DNA 重组技术中一个核心问题是, 如何在 DNA 特定位点切断双链. 当前在这一领域中应用最广泛的是限制性内切酶 II, 但是它本身存在缺陷, 所有已知的 II 型内切酶只能识别很短的一段 DNA 序列 (识别位点 $< 8$  bp). 这样以来, 其针对性虽然很强, 但对于任意一条无规序列的 DNA, 其切割的频率就有些太大了 (至少每 65 536 bp 就存在 1 切割位点), 这给大的 DNA 分子, 如人类基因组 DNA 的定位, 克隆及测序等都带来了很大的问题. 基于此, 大家把目光转向了构建合乎需要的合成或半合成的化学核酸酶.

Sigman 定义化学核酸酶为: 在生理条件下进攻核糖或脱氧核糖而导致核酸断裂的具有氧化还原活性的一类配位化合物<sup>[3]</sup>. 目前已知的此类物质除  $\text{Pheir-Cu}$  外还有  $\text{Fe-EDTA}$ , 金属卟啉类化合物, 及博莱霉素的多种金属配合物等. 正如前面所看到的,  $\text{Pheir-Cu}$  断裂 DNA 的机制还不是很清楚, 但是它作用的位点有一定的特异性, 现已被作为一种分子生物学试剂而得到了广泛的应用.

#### 3.1 化学核酸酶特性及应用

a. 构型识别.  $\text{Pheir-Cu}$  对不同类型的

DNA 有选择性, 对 B 型 DNA 的切割能力相对于 A 型要强, 而对 Z 型 DNA 则没有作用<sup>[3]</sup>, 这似乎说明  $\text{Pheir-Cu}$  可以识别不同的螺旋构型, 造成这种结果的原因在于三种类型的 DNA 在两条螺旋链之间距离及所形成的沟 (groove) 形状上存在差异, 使得与  $\text{Pheir-Cu}$  结合的牢固程度不同. 这种对不同构型 DNA 的识别能力曾被 Guo 等<sup>[15]</sup>用于支链 DNA 的分析, 并作为一种探针检测支链 DNA 节点处的结合蛋白.

b. 用作 footprinting 试剂.  $\text{Pheir-Cu}$  的核酶活性使得它可以作为一种 footprinting 试剂, 用于确定 DNA 分子上蛋白质结合处的序列及结构的特异性. 虽然在 DNA-蛋白质相互作用中,  $\text{DNase I}$  和二甲亚砜是最常用的工具, 但是化学核酸酶在很多方面有它独特的优越性. 例如,  $\text{Pheir-Cu}$  可以确定蛋白质是结合在 DNA 的大沟、小沟还是两处都结合. 如果蛋白质结合到大沟, 那么使用  $\text{DNase I}$  及二甲亚砜均可获得 footprint,  $\text{Pheir-Cu}$  则没有; 结合到小沟时, 二甲亚砜的核酶活性不受影响, 而  $\text{DNase I}$  和  $\text{Pheir-Cu}$  的活性被抑制, 二者可产生 footprint. 在这里,  $\text{DNase I}$  可鉴别蛋白质结合的位点, 但不能指出结合的是大沟还是小沟,  $\text{Pheir-Cu}$  在一定程度上补足了这一缺陷<sup>[5]</sup>.  $\text{Pheir-Cu}$  作为 footprinting 试剂的优越性还表现在: (1) 分子质量小, 易于分析、分离以及扩散到聚丙烯酰胺网架中同 DNA-蛋白质配合物作用; (2) 可以检测蛋白质诱导的 DNA 分子变化. 这方面已有综述, 这里不再讨论<sup>[16]</sup>.

#### 3.2 当前的研究热点

$\text{Pheir-Cu}$  作为化学核酸酶的研究正在向几个方面深化, 一是着眼于四面体 2:1  $\text{Pheir-Cu}$  配合物的切割效应; 另一个是把 1:1 的  $\text{Pheir-Cu}$  配合物与某一导向载体, 如蛋白质、多肽、或某种生物活性因子等结合, 从而在特定位点切割 DNA. 2:1  $\text{Pheir-Cu}$  对 DNA 的切割不能产生对某一序列的特异性, 但其四面体的空间结构却更有利于结合 DNA, 产生高效的切割

过程. 1:1 的  $\text{Phe}^{\text{r}}\text{Cu}$  配合物因铜离子还可结合一个新的配体后, 形成相似的结构, 所以可以有目的地连上某种蛋白质或其他分子, 以便更有效地切割特定的 DNA 序列. 这方面的工作, 最近 Perrin 等<sup>[5]</sup> 有一篇综述发表. 以后的研究将会集中在如何把一些具有生理活性的蛋白质转变为具有导向作用的化学核酸酶, 这对于研究在多细胞生物发育过程中诸多转录因子、调节因子在 DNA 复制、基因转录等过程中的调节作用, 都将是非常有意义的.

#### 4 邻啡罗啉-Cu 在抗氧化剂研究中的应用

作为一种可产生活性氧并引起 DNA 损伤的模型,  $\text{Phe}^{\text{r}}\text{Cu}$  可应用于抗氧化剂的研究中. 在这一系统中伴随着 DNA 损伤有很强的化学发光产生, 我们实验室在此基础上作了大量的工作, 发现这一发光是鸟嘌呤特异性的<sup>[10]</sup>, 发光强度与 DNA 损伤程度线性相关<sup>[10, 17, 18]</sup>, 这提示可以利用这一系统来进行抗氧化剂的筛选及抗氧化作用强弱的定性和定量研究. 通过比较不同的抗氧化剂发光动力学行为的差异, 发现天然抗氧化剂可以有抑制型、断链型及混合型等不同形式<sup>[18]</sup>, 这对于阐明抗氧化的机制及中医药作用的原理, 都是很有意义的. 作为一种手段, 邻啡罗啉-Cu 体系的发光测量法可直观地给出抗氧化剂作用的多种信息, 而且简便可行, 有其独特的优越性.

综上所述, 对于  $\text{Phe}^{\text{r}}\text{Cu}$  对 DNA 的作用, 学者们从不同的角度作了大量的研究. 但是其导致 DNA 损伤的机理还未搞清, 进一步对这一问题的讨论对于人们了解过渡金属在体内的作用, 如何保护 DNA 免受意外的损伤, 以及作为一种手段深化其在分子生物学中的研究都将是非常有意义的.

#### 参 考 文 献

- Wallace S S. DNA damage processed by base excision repair. *Int J Radiat Biol*, 1994, **66** (5): 579~ 589
- Chevon M. A site-specific mechanism for free radical induced biological damage: The essential role of redox-active transition metals. *Free radical Biol med*, 1988, **5** (1): 27~ 37
- Sigman D S. Chemical nucleases. *Biochemistry*, 1990, **29** (39): 9097~ 9105
- Milne L, Nicotera P, Orrenius S. Effects of glutathione and chelating agents on copper mediated DNA oxidation: Pro-oxidant and antioxidant properties of glutathione. *Arch Biochem Biophys*, 1993, **304** (1): 102~ 109
- Perrin D M, Mazumder A, Sigman, D S. Oxidative chemical nucleases. *Prog Nucleic Acids Res Mole Biol*, 1996, **52** (1): 123~ 151
- Aruoma O I, Halliwell B, Gajewski E *et al.* Copper ion-dependent damage to the bases in DNA in the presence of hydrogen peroxide. *Biochem J*, 1991, **273** (3): 601~ 604
- Thedrahn T, Kuwabara T, Spassky M D *et al.* Chemical nuclease activity of 5-phenanthroline-copper ion detects intermediates in transcription initiation by *E. coli* RNA polymerase. *Biochem Biophys Res Commun*, 1990, **168** (2): 756~ 762
- Dizdaroglu M. Oxidative damage to DNA in mammalian chromatin. *Mutat Res*, 1992, **275** (3~ 6): 331~ 342
- Bruce Demole, Lynn Harrison. Repair of oxidative damage to DNA. *Annu Rev Biochem*, 1994, **63**: 915~ 48
- 马文建, 曹恩华, 张健等 (Ma W J, Cao E H, Zhang J *et al.*).  $\text{Phe}^{\text{r}}\text{Cu}^{\text{r}}\text{Vc-H}_2\text{O}_2$  体系中 DNA 化学发光的碱基特异性. *生物物理学报 (Acta Biophysica Sinica)*, 1997, **13** (2): 279~ 282
- Boiteux S, Gajewski E, Laval J *et al.* Substrate specificity of the *E. coli* Fpg protein (for amidopyrimidine-DNA glycosylase): Excision of purine lesions in DNA produced by ionizing radiation or photosensitization. *Biochemistry*, 1992, **31** (1): 106~ 110
- Kasai H, Lida A, Yamaizumiz A *et al.* 5-Formyldeoxyuridine: a new type of DNA damage induced by ionizing radiation and its mutagenicity to salmonella strain TA 102. *Mutat Res*, 1990, **243** (4): 249~ 53
- Kappen L S *et al.* Isotope effects on the sequence-specific cleavage of dC in d (AGC) sequences by neocarzinostatin elucidation of chemistry of minor lesions. *J Am Chem Soc*, 1990, **112** (7): 2797~ 2798
- Devasagayam T P A. Singlet oxygen induced single-strand breaks in plasmid pBR322 DNA: the enhancing effect of thiols. *Biochim Biophys Acta*, 1991, **1088** (3): 409~ 412
- Guo Q, Lu M, Seeman N C *et al.* Drug binding by branched DNA molecular: analysis by chemical footprinting of intercalation into an immobile junction. *Biochemistry*, 1990, **29** (2): 570~ 578
- Garabedian M J. Analysis of protein-DNA interactions. *Methods Mol Biol*, 1994, **30** (1): 43~ 61
- 张健, 秦静芬, 曹恩华等 (Zhang J, Qin J F, Cao E H *et al.*). DNA 损伤的化学发光法测定和茶多酚对它的保护作用. *生物物理学报 (Acta Biophysica Sinica)*, 1996, **12** (4): 691~ 695
- 张健, 曹恩华, 秦静芬等 (Zhang J, Cao E H, Qin J F *et al.*). 抗氧化剂对 DNA 损伤的保护作用机制的研究. *生物物理学报 (Acta Biophysica Sinica)*, 1997, **13** (1): 124~ 127

## Phenanthroline-Cu Complex Induced DNA Damage and Its Study as a Chemical Nuclease.

MA Wen-jian, CAO Er-hua ( *Institute of Biophysics, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China* ).

**Abstract** Phenanthroline-Cu is a complex that have nuclease activity, it can induce several kinds of DNA damage, including base modifications, abasic sites, strand breaks and DNA pro-

tein crosslinks. There is a considerable interest on this complex in recent years in the area of free radical biology and medicine as well as nucleic acids chemistry, for the role of phenanthroline-Cu as a model of generating reactive oxygen species and as a chemical nuclease.

**Key words** phenanthroline-Cu, chemical nuclease, DNA damage, reactive oxygen species

# 白细胞与内皮细胞的粘附

林 勇 汪 钟

( 中国医学科学院基础医学研究所, 北京 100005 )  
( 中国协和医科大学 )

**摘要** 白细胞与内皮细胞相互作用由粘附分子介导。整合素、免疫球蛋白及选择素家族的粘附分子在这两种细胞的粘附中起关键作用。粘附的起始阶段由选择素介导, 随后由 CD11/CD18 复合物与 ICAM-1 形成更为紧密的结合。多种细胞因子及炎症反应可诱导粘附。抗粘附分子单抗、药物等可抑制粘附。

**关键词** 粘附, 白细胞, 内皮细胞, 粘附分子

**学科分类号** R36

白细胞与内皮细胞密切地参与机体的防御和炎症反应, 它们间的相互作用对机体各种功能的发挥及各种疾病的发生、发展至关重要。白细胞与内皮细胞的粘附不仅发生在各种病理过程, 而且也发生在淋巴细胞循环的生理过程中。它们间的粘附是一种复杂的细胞表面分子间的相互作用, 虽然早在 150 多年前人们就观察并报道了这种细胞间相互作用, 但直到本世纪 80 年代, 细胞粘附的分子机制才被逐渐阐明。白细胞与内皮细胞的粘附往往通过多对粘附分子共同介导, 不同的粘附分子在粘附的不同阶段起作用, 以一种程序化的方式, 形成一种被称为白细胞-内皮细胞粘附的级联。有三个家族的粘附分子在细胞间粘附中起关键作用, 它们是整合素家族、免疫球蛋白超家族及选择素家族。

## 1 粘附分子

### 1.1 整合素家族 (integrin family)

整合素为一族广泛表达的细胞粘附分子, 它由  $\alpha$  和  $\beta$  亚基组成。一般根据其所包含的  $\beta$  亚基来分类, 即相同的  $\beta$  亚基与不同  $\alpha$  亚基组成的一系列整合素为同一类型。一级结构已明确的  $\alpha$  亚基有 11 个,  $\beta$  亚基有 8 个。基因组分析提示, 至少应有 15 个  $\beta$  亚基即至少有 15 种类型的整合素。此族粘附分子可介导三种粘附: a. 细胞-细胞; b. 细胞-基质; c. 细胞-可溶性因子。整合素介导的粘附对温度及阳离子要求较高, 特别是镁离子。

$\beta 1$  整合素又称为 VLA 抗原 (very late