

·讲座(译文)·

血红素加氧酶:一种血红素代谢酶及其近况

Phyllis A. Dennery, Yi-Hao Weng, David K. Stevenson, Guang Yang

(美国斯坦福大学医学院儿科)

[中图分类号] R722.17 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2001)04-0350-02

血红素加氧酶(HO)是胆红素形成过程中的第一种酶,也是一种限速酶,这种酶可使血红蛋白或其它含有血红素的蛋白质中的血红素降解形成胆绿素。这是一种需能过程,因为在降解过程中卟啉环中的铁离子的游离、一氧化碳(CO)的释放和胆绿素的生成,均需要烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)通过细胞色素C P450系统提供电子,并需要消耗分子氧(图1)。在微粒体酶-胆绿素还原酶的作用下,胆绿素还原形成胆红素。肝细胞微粒体分析证实,在反应底物-氯化血红素的存在时,HO的活性增加^[1],其它化合物,如氯化钴和各种重金属,均能使HO的活性上调^[1,2]。Maines^[3]在研究中发现了血红素代谢酶的一种发展形式,由此可以解释新生儿黄疸中胆红素过多生成的原因。另外,已经发现纯化和特性更好的32 kd的HO-1蛋白。随着金属卟啉的合成,HO的活性被抑制,从而可以更进一步了解HO活性的细胞结果,并可改进防止新生儿高胆红素血症的措施。20世纪80年代,发现了血红素加氧酶HO-2的组成形式^[4]。20世纪80年代末期,发现了调控HO-1的基因调节。Shibahara等^[5]在转录水平证实了进行HO-1的诱导。随着在这项领域的研究进展,人们已经注意到HO-1的基因诱导是氧应激的一种普遍标记^[6]。目前,HO-1诱导反应的普遍性已经更清楚。随着分子生物学和分子遗传学技术的不断进步,HO的生化特性、作用和调节机制将越来越清楚。

1 HO的调控

HO-2基因的结构目前仍不清楚。虽然HO-2

被认为是HO的同工酶,但目前已经证实一些因素,如胎鼠大脑的皮质酮^[7],鼠主动脉细胞中应用一氧化氮合酶(NOS)抑制剂N(G)-硝基-L-精氨酸、HO抑制剂锌中卟啉(ZnMP)^[8],均能使HO-2表达上调。在HO-2基因的启动子区域含有与糖皮质激素反应元件(glucocorticoid response element, GRE)相同的序列,并观察到糖皮质激素受体蛋白能与GRE特异性结合^[7]。是否有其它因素能诱导HO-2仍不清楚,但在HO基因敲除小鼠的初步试验中发现肺HO-2 mRNA基础表达增加^[9],提示在HO-1缺乏时,HO-2代偿性上调。

目前,人们对HO-1基因及其启动子的调节了解较清楚。HO-1的诱导性可用HO-1基因构型来解释。6.8 kb的HO-1基因含有4个内含子和5个外显子。启动子序列(非TATAA)位于转录起始位点上游约28个碱基对处。在5'侧翼端区有数个转录增强子成分,包括热休克元件和金属调节元件^[10]。诱导剂反应序列位于启动子正上游近端增强子处。在转录起始位置上游的4 kb和10 kb处有2个或多个远端增强子^[11](图2)。许多影响HO-1基因调节的因素是通过与HO-1基因的不同区域结合进行调节作用的。HO-1启动子区含有抗氧化反应成分(ARE),ARE与其它抗氧化酶一样,含有与GCnnnGTA相同的序列^[12]。血红素分解导致NF- κ B和AP-2转录因子活性明显增加,这两种因子是位于-3.5 kb和12.5 kb之间的上游序列,参与了镉(cadmium, CdRE)的诱导和远端增强区域,它们在炎症过程中对HO-1的调控是十分重要的^[10]。由此证明HO-1是可诱导的。

[收稿日期] 2001-04-28;

[作者简介] Phyllis A. Dennery,博士,美国斯坦福大学医学院儿科副教授。

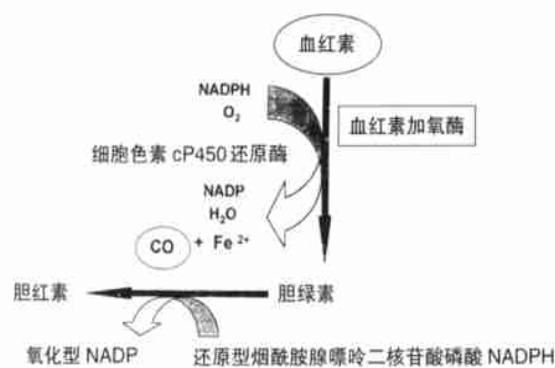


图 1 血红素降解途径

血红素通过血红素加氧酶 (HO) 的代谢形成一氧化碳 (CO) 和 Fe^{2+} , 这是一种需能过程, 在这个过程中还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NADPH) 和分子氧, 在细胞色素 C P450 还原酶的作用下, 代谢成为氧化型 NADP 和水 (H_2O)。在胆绿素还原酶的作用下, 胆绿素进一步还原形成胆红素, 同时 NADPH 也被氧化成 NADP。

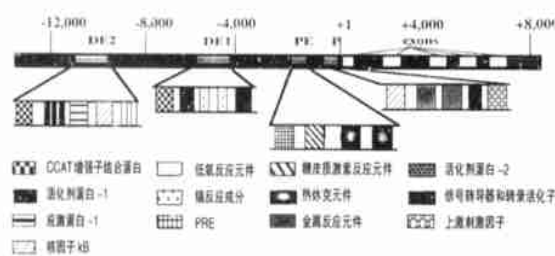


图 2 HO-1 基因的图解

HO-1 基因包括 5 个外显子 (白盒子) 和 4 个内含子 (外显子之间的黑盒子)。有一个启动子 (P)、一个近端增强子 (PE) 和两个远端增强子 (DE1 和 DE2)。这些区域含有转录因子结合位点。C/EBP: CCAT 增强子结合蛋白; AP-1: 活化剂蛋白-1; SP-1: 应激蛋白-1; NF- κ B: 核因子 κ B; HypoRE: 低氧反应元件; Cdre: 铜反应成分; IL-GRE: 糖皮质激素反应元件; HSE: 热休克元件; MTRE: 金属反应元件; AP-2: 激活剂蛋白-2; STAT-3: 信号转导器和转录活化子; USF: 上游刺激因子。

2 血红素加氧酶的细胞保护作用

由于 HO-1 的氧化调节作用, 因此在强效的抗氧化剂——胆色素和重要的神经递质 CO 的形成过程中, HO-1 不只是一种催化剂, 还是一种合成酶。由于胆红素的分解产物具有较维生素 E 更强的抗氧化作用, 以及血红素可分解为氧化剂分子的前

身, 总的来说 HO-1 反应对细胞起保护作用。然而, 近年的研究提示 HO-1 不总是具有保护作用的, 细胞中 HO-1 的诱导的保护作用是有阈值的。HO-1 的调节呈剂量依赖方式。实验证明 HO-1 在较高浓度 (活性增加 5 倍以上) 时, 由于 HO 的活性增加, 可产生铁离子而成为氧化剂的前身^[14]。而且, 在退行性脑病中 HO-1 蛋白与神经元的关系以及这些神经原能被 HO 抑制剂保护的现象均提示在某些疾病过程中, HO-1 的过度表达会产生有害作用。

HO 基因敲除技术的应用, 使人们对 HO 的功能的认识更加深入了。尽管有 HO-1 的诱导, 但 HO-2 的无义突变仍增加了对氧过多时的易损性^[16]和引起射精异常^[17]。这些动物的神经元对氧化损伤也更敏感^[18]。由于 HO-1 的无义突变使这些动物比它们的野生型对照组更易衰老, 而且出现贫血、肾脏和肝脏出现铁的沉积^[19]。另外, 这些动物更可能对异种心脏移植产生排斥反应^[20], 更容易出现异常的炎症反应^[19]和增加缺血所致的肾脏损伤^[21]。尽管有证据说明很多状态下 HO-1 具有保护作用, 但肺内 HO-1 的破坏与对氧过多的易损性增加^[16]和 HO-1 的过度表达无关^[22]。

3 CO 在细胞功能中的作用

HO 反应的另一副产品——一氧化碳 (CO) 受到了人们的重视。众所周知, 高浓度的 CO 能与血红蛋白紧密结合, 干扰氧进入组织, 因而有很大的毒性作用。但近来的研究表明, CO 象一氧化氮 (NO) 一样, 是鸟苷酸环化酶 (cGMP) 的生理调节因子, 可引起血管舒张和神经传递的改变^[24]。另外, 体内和体外的试验均证实, 低浓度的 CO 能选择性抑制炎症前细胞因子的表达, 而增加抗炎症细胞因子 IL-10 的表达, 这种作用是通过有丝分裂原激活的蛋白激酶 (MAPK) 而不是通过 cGMP 或 NO 途径实现的, 同时这些研究也证实 HO-1 的表达或内皮细胞暴露于外源性 CO 时, 能通过 TNF- α 提高 p38 MAPK 的活性而减少细胞凋亡, 而且特异性抑制 p38 MAPK 活化会消除 HO-1 的抗细胞凋亡作用^[25]。MAPK 的磷酸化作用及其随后的变化发生于细胞应激反应的早期。有人在研究中证实这种变化有明显的细胞毒性作用^[26], 而另有人却发现这种激酶具有细胞保护作用^[25], 这些矛盾的研究结果进一步说明了 HO/CO 系统的生理作用的复杂性。

(下转第 366 页)

氧气供应时。

本研究还在国内外首次发现,当采用65%的氧气进行复苏时,无论是在窒息缺氧前还是在窒息缺氧的同时,均可以明显降低其脑细胞内游离钙离子浓度,提示复苏时吸入65%左右的氧气,其复苏效果可能较纯氧或空气复苏更佳,表明不同氧浓度复苏,其效果可能不一样。但何种复苏氧浓度最能改善窒息复苏效果,提高生存质量,尚有待对窒息时复苏氧浓度与复苏效果的关系进行进一步的研究。

本研究同时还发现,各组胎鼠脑细胞内外钙、钠、钾含量间存在一定的相关关系,提示脑细胞内外钙、钠、钾间可能存在某种联系,有待进一步探讨。

[参 考 文 献]

- [1] Rootwelt T, Loberg EM, Moen A, et al. Hypoxemia and reoxygenation with 21 % or 100 % oxygen in newborn pigs: Changes in blood pressure, base deficit, and hypoxanthine and brain morphology [J]. *Pediatr Res*, 1992, 32(1): 107 - 113.
- [2] Feet BA, Yu X, Rootwelt T, et al. Effects of hypoxemia and reoxygenation with 21 % or 100 % O₂ in newborn piglets. Extracellular hypoxanthine in cerebral cortex and femoral muscle [J]. *Crit Care Med*, 1997, 25(8): 1384 - 1391.
- [3] Saugstad OD, Rootwelt T, Aalen O. Resuscitation of asphyxiated newborn infants with room air or oxygen: An international controlled trial. The Resair 2 Study [J]. *Pediatrics*, 1998, 102(1): E1.

- [4] 农绍汉,谢衍铭,侯富林. 胎儿宫内窘迫动物模型的建立 [J]. *广东医学*, 1998, 19(6): 410 - 411.
- [5] 农绍汉,李着算,冯泽康,等. 缺氧缺血性脑病新生鼠补钙前后脑细胞、红细胞内外钙的变化 [J]. *中华儿科杂志*, 1995, 33(6): 342 - 343.
- [6] Rootwelt T, Odden JP, Hall C, et al. Regional blood flow during severe hypoxemia and resuscitation with 21 % or 100 % oxygen in newborn pigs [J]. *J Perinat Med*, 1996, 24(3): 227 - 236.
- [7] Poulsen JP, Oyasaeter S, Saugstad OD. Hypoxanthine, xanthine, and uric acid in newborn pigs during hypoxemia followed by resuscitation with room air or 100 % oxygen [J]. *Crit Care Med*, 1993, 21(7): 1058 - 1065.
- [8] Goplerud JM, Kim S, Delivoria-Papadopoulos M. The effect of post-asphyxial reoxygenation with 21 % VS 100 % oxygen on Na⁺, K⁺-ATPase activity in striatum of newborn piglets [J]. *Brain Res*, 1995, 696(1 - 2): 161 - 164.
- [9] Andersen CB, Hoffman DJ, Du C, et al. Effect of reoxygenation with 21 % or 100 % oxygen on free radical formation following hypoxia in the cerebral cortex of newborn piglets [J]. *Pediatr Res*, 1997, 41(4 part2): 30A.
- [10] Kutzsche S, Kirkeby OJ, Rise IR, et al. Effects of hypoxia and reoxygenation with 21 % and 100 % - oxygen on cerebral nitric oxide concentration and microcirculation in newborn piglets [J]. *Biol Neonate*, 1999, 76(3): 153 - 167.
- [11] Mickel HS, Kempfski O, Feuerstein G, et al. Prominent white matter lesions develop in Mongolian gerbils treated with 100 % normobaric oxygen after global brain ischemia [J]. *Acta Neuropathol*, 1990, 79(5): 465 - 472.

(本文编辑:曹励之)

(上接第351页)

4 HO的非酶性作用

以前的研究认为HO只存在于滑面内质网附属的微粒体部分,但近来的研究证实在细胞核部分也有HO的存在,提示HO可能起着信号表达的作用。其实,我们最近的研究已发现HO-2转染到NIH3T3细胞(这种细胞的HO-1启动子标记有虫荧光素酶报道基因)能增加HO-1的基因表达,显然,这种结果是由于HO-2蛋白本身的存在阻断了它对HO-1调节结果的改变所致。其他人在研究中也发现HO-2能通过蛋白激酶C途径发生磷酸化反应,提示HO-2起着信号表达作用^[27]。而且,HO-1和

HO-2蛋白在细胞内相互作用,在HO-1基因中有与HO-1/HO-2蛋白复合物的结合位点。因此,HO-1可能参与其自身的基因转录过程。HO-1使血红素降解,但在没有血红素的情况下,组织内仍有相当数量的HO-1存在。在血红素不存在时,可能有一种能使HO-1上调的途径,这种途径在无应激状态下,容许组织表达HO-1。另有研究表明HO-1可能参与其它基因的调节,如超氧化物歧化酶^[28],这也提示HO-1起着信号表达分子的作用。HO最初只认为是一种代谢酶,目前已认识到HO-1在氧应激、炎症、免疫、细胞调节和信号转导方面是一种重要的分子。

(参考文献略)

(谢岷译,杨于嘉校 英文原文见本期442页)