

· 综述 ·

血红素加氧酶-1 与氧化应激

许小志 综述,何平 审校

(昆明医学院第二附属医院儿科,云南 昆明 650031)

[中图分类号] R3 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2009)08-0706-04

近年来的研究表明血红素加氧酶(heme oxygenase, HO)-1 在多种疾病的发生发展中有重要作用,在氧化应激时血红素加氧酶-1 可以保护细胞组织,减轻损伤。

1 血红素加氧酶-1 概述

1.1 HO

血红素加氧酶存在于人类和哺乳动物体内,已发现3种HO的同工酶,分别为HO-1、HO-2和HO-3。它们是不同的基因编码的产物,广泛存在于哺乳动物的微粒体中。HO是血红素降解的起始酶和限速酶,它能催化血红素在体内氧化分解形成胆绿素、一氧化碳(CO)和铁(Fe^{+2})。胆绿素在体内立即被胆绿素还原酶作用生成胆红素,而铁离子诱导铁蛋白的合成^[1]。

1.2 HO-1

HO-1即热休克蛋白32(heat shock protein, HSP32),又称诱导型HO-1,是一种拮抗氧化应激的抗氧化酶,分子量为32 kD,广泛分布于全身组织,尤其是单核细胞、巨噬细胞系统的微粒体中,以心、肺、肾、脾脏、肝脏、骨髓和网状内皮细胞中活性最高。人HO-1大约有288个氨基酸。HO-1基因定位于人染色体22q12,HO-1基因含有4个内含子,5个外显子^[1]。HO-1能被各种引起细胞氧化应激的损伤因素所诱导,包括血红素、高氧、缺氧、热休克、内毒素、过氧化氢、细胞因子、紫外线、重金属和一氧化氮(NO)等,这些诱导剂的共同特征是可以产生氧化应激^[2]。

2 HO-1 与氧化应激

当自由基的产生过多或体内抗氧化系统出现故

障,体内氧自由基代谢就会出现失衡,自由基蓄积过多,攻击机体,可导致机体组织脂质过氧化水平升高,引起DNA氧化损伤和蛋白质的表达异常,即为氧化应激^[3,4]。生物体中最重要的自由基是活性氧簇(reactive oxygen species, ROS),包括超氧阴离子、羟自由基、过氧化氢和过氧亚硝酸盐、NO等,其中超氧阴离子是其他ROS产生的基础。细胞内的ROS有多种来源,线粒体是产生自由基的主要场所。葡萄糖自身氧化和糖蛋白的传递作用都可产生ROS。除线粒体呼吸链外,一氧化氮合酶(NOS)、还原型辅酶Ⅱ(NADPH)氧化酶和黄嘌呤氧化酶(XO)等催化的反应均伴有ROS的产生。正常情况下,细胞内具有抗氧化机制,可维持细胞氧化还原自稳态。当某些因素作用于细胞使这一稳态失调,ROS的产生速率大于被清除的速率时,就会造成ROS的蓄积,导致内皮细胞功能障碍,是许多疾病的病因,同时又是许多疾病发生、发展的结果。

HO-1 mRNA和蛋白质在组织中的上调表达现在普遍被认为是氧化应激的标志,对氧化应激引起的细胞、组织损伤有保护作用。Parfenova等^[5]的实验表明HO-1的上调表达可以对抗谷氨酸导致的氧化应激。HO-1在视网膜中的上调表达可以对抗氧化应激对视网膜的损伤^[6]。在大鼠肝硬变模型中HO-1可以通过抗氧化应激对肝缺血再灌注损伤提供保护作用^[7]。

在氧化应激时体内的红细胞破坏等来源的血红素对机体而言是有细胞毒作用的,HO-1可以通过催化血红素的降解发挥细胞保护作用,它还可以通过增加血红蛋白的合成,修饰蛋白巯基和金属螯合作用,以及胆红素发挥细胞保护作用。HO-1还可以通过减少内源性的ROS的产生,减少组织的脂质过氧化来发挥抗氧化应激的作用^[8]。对HO-1启动子的

[收稿日期]2008-10-33;[修回日期]2008-12-10
[作者简介]许小志,男,硕士研究生。主攻方向:新生儿疾病。

研究发现了一些转录效应元件,包括激活蛋白 I, II, 核转录因子- κ B(nuclear factor-Kappa B, NF- κ B)、白细胞介素-6 效应元件、抗氧化效应元件(ARE)^[9]。Nrf2 被认为是 ARE 介导的对抗组织氧化应激损伤发挥细胞保护作用的重要核转录因子。Nrf2 可以通过细胞调节蛋白 Keap I 的核穿梭机制抗氧化应激^[9]。Sato 等^[10]的实验表明 HO-1 可以降低二氧化硅诱导的氧化应激机体产生的 ROS 的活力。Brydun 等^[11]的研究认为 HO-1 mRNA 的变化可以帮助衡量病人抗氧化应激的能力。Sheftel 等^[8]的研究还表明 HO-1 的细胞保护作用与它分解血红素的活力并没有关系,这表明 HO-1 还有其他的未知抗氧化应激的机制。Lin 等^[12]的研究还在细胞核内发现了 HO-1,并且认为这是 HO-1 通过在基因水平发挥信号转导作用在氧化应激时起到细胞保护作用。

3 HO 的代谢产物与氧化应激

近年的研究发现,血红素分解产物中的 CO 和胆绿素等不只是作为废物排泄,而且在生物体内还具有重要的生理作用;胆绿素、胆红素是体内有效的抗氧化剂;CO 是机体内源性 CO 的主要来源,具有扩张血管和抗血小板聚集的特性,可调节微循环;亚铁能诱导铁蛋白的表达,后者可减少活性氧的产生。

3.1 一氧化碳

CO 是继 NO 之后发现的另一种具有重要生理作用的气体分子,具有调节血管张力、抑制血管平滑肌细胞增殖、抑制血小板聚集、抗细胞凋亡等效应。HO-1 降解血红素产生的 CO,既往认为是有毒物质,现在发现同 NO 一样,在细胞内能激活可溶性鸟苷酸环化酶,增加环鸟苷酸的合成,发挥信使分子作用^[13]。刘少华等^[14]的研究发现在脂多糖致肺损伤模型中大鼠吸入低剂量 CO 可以抗氧化应激、抗细胞凋亡、抗炎,上调 HO-1, IL-10 的表达,增加超氧化物歧化酶的活力。CO 可以通过 p38 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)和 caspase-3 途径抗细胞凋亡和减少缺血再灌注损伤^[9]。

3.2 胆红素和胆绿素

高浓度的胆绿素、胆红素对人,特别是新生儿是有害的^[9]。但是近年来的研究发现胆绿素有内在的抗氧化的作用,而且在胆绿素还原酶的存在下可以转变为胆红素,并减少 ROS 的产生^[8]。体外实验发现,胆红素可保护培养的内皮细胞和神经细胞的氧化性损伤。Foresti 等^[15]在细胞培养液中加入胆

红素可明显增强细胞抗氧化损伤能力。

3.3 铁离子

过量的铁有细胞毒性,游离铁可加剧 ROS 的细胞毒性作用,而 HO-1 可通过降解血红素形成铁离子,诱导铁蛋白的合成。铁蛋白是细胞内的铁库,能螯合血红素降解生成的未结合铁离子保护内皮细胞,避免活性中性白细胞和过氧化氢介导的细胞毒性作用;铁蛋白可以减少细胞内游离铁发挥细胞保护作用对抗 ROS 导致的细胞损伤^[9]。有研究显示,铁蛋白的抗氧化损伤和细胞保护功能独立于 HO-1 活性。Otterbein 等^[16]在由内毒素造成的休克模型中用外源性铁螯合剂除去铁离子,由于没有铁蛋白的形成,保护作用消失。

4 HO-1 抗氧化应激的可能机制

目前对于 HO-1 抗氧化应激的确切机制还不清楚,现有的观点如下。

4.1 抗氧化作用

HO-1 及其催化血红素分解的产物具有抗氧化作用。氧化应激时氧自由基产生增多,而涉及 HO-1 的氧化步骤要消耗 3 分子 O₂。因此,HO-1 消耗氧分子将在氧化应激中通过减少氧自由基的产生来间接地提供细胞保护作用。另外,胆绿素和其还原产物胆红素能清除活性氧,它们被认为是内源性抗氧化剂,可以保护细胞抵抗氧化损伤。在体外,胆红素抗过氧化氢导致的脂质过氧化的作用甚至比维生素 E 还强^[9]。报道显示,胆红素在各种疾病,包括阿尔茨海默病、缺血再灌注损伤、冠状动脉疾病中都有抗氧化的作用^[9]。铁是 HO-1 催化血红素分解的又一产物,它能诱导铁蛋白的合成,后者可减少活性氧的产生。刘少华等^[14]的实验发现 CO 可以减少 ROS 和游离铁的形成。

4.2 抗凋亡

近年来发现,氧化应激与细胞凋亡有密切的联系,细胞凋亡可能在氧化应激损伤中起重要作用。ROS 可启动一个链式反应,易与细胞膜上的各种不饱和脂肪酸及胆固醇反应,这种直接作用于细胞的氧化损伤能导致细胞凋亡。大量的证据显示,HO-1 过表达及其代谢产物对氧化应激的保护作用伴有凋亡的降低。赵卉等^[17]的实验研究认为胆红素可以抑制大鼠肺缺血再灌注损伤引起的细胞凋亡,减轻肺损伤。HO-1 的抗细胞凋亡可能机制:①介导 p21 的表达:p21 蛋白是一种细胞周期蛋白依赖性激酶抑制物,为 DNA 损伤和细胞分化的通用生长抑制

物。Inguaggiato 等^[18]发现在 HO-1 基因表达上调的细胞中 p21 mRNA 和蛋白量明显增加。p21 可抵御不同的促凋亡刺激,它能与细胞周期蛋白依赖激酶结合并抑制其活性,使细胞周期停滞在 G1 期。②上调抗凋亡蛋白的表达:抗凋亡蛋白 Bcl-2 是 Bcl-2 蛋白家簇中的一员,通过调节与内质网相关的钙离子流动而抑制细胞凋亡。在 HO-1 表达上调的细胞中 Bcl-2 明显增加,而 HO-1 抑制剂锌原卟啉(Zn-PP)可抑制 Bcl-2 的表达。Tang 等^[19]发现 HO-1 能上调 Bcl-2 蛋白。Liu 等^[14]的实验发现 CO 能上调 Bcl-2 蛋白的表达,下调促凋亡基因如 Fax 和 Bax 的表达。③NF- κ B 与 MAPK 信号转导途径的参与:铁离子可以通过 p38MAPK 途径来抗细胞凋亡^[1]。Soares 等^[20]研究了 HO-1 氧化产物 CO 抑制内皮细胞凋亡的分子机制,结果表明 CO 的抗凋亡效应是通过 p38 MAPK 信号转导途径,NF- κ B 以及 NF- κ B 依赖的抗凋亡基因亚群的表达而介导的。Choi 等^[21]的研究表明 Jurkat T 细胞过表达 HO-1 可抵抗 Fas 介导的凋亡是通过 NF- κ B 的激活而介导的。但 HO-1 对细胞凋亡的调节是否具有细胞特异性,其防御凋亡的具体机制是什么,目前尚未明确,需要作进一步的研究。

4.3 抗炎

HO-1 的过表达可直接或间接地抑制炎症连锁反应。研究认为 HO-1 可能通过 IL-10 来发挥抗炎作用^[8]。缺血再灌注时,白细胞在微血管内聚集、粘附,并释放氧自由基和炎性介质等,激活蛋白水解酶导致组织损伤及炎症反应。而微血管内皮细胞中的 HO-1 过表达能减轻氧化损伤和白细胞粘附,CO 可以通过减少促炎症因子 TNF- α 和 IL-6,增加 IL-10 发挥抗炎作用^[14]。胆绿素可抑制内皮细胞选择素的表达,间接抑制炎症反应。李建强等^[22]的实验研究认为胆红素可以减轻内毒素致急性肺损伤模型大鼠肺组织的炎症反应。

4.4 HO 对一氧化氮合酶活性/表达的调节

一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)有 3 种亚型:神经元型 NOS 和内皮型 NOS 为结构性表达,仅产生少量 NO;诱导型为诱导性表达,在许多细胞类型中被细胞因子,如 TNF- α 或 INF- γ 等诱导,产生大量的 NO。由 NO 介导的神经酰胺可激活凋亡信号途径,过量 NO 还可与超氧化物相互作用,产生过亚硝酸盐,而后者是组织损伤中强有力的氧化剂^[23]。HO 对 NOS 系统的调节可以发生在多个水平:①NOS 是一个血红素类蛋白,其激活位点需要两个亚铁血红素分子,HO 活性的诱导可能加速

亚铁血红素降解,从而使 NOS 的合成原料减少;②HO 产生的内源性 CO 能够与 NOS 结合,并使该分子失活,神经和巨噬细胞存在的 NOS 已经被确定能结合内源性 CO;③由亚铁血红素降解过程中释放的铁离子通过抑制 NOS 的核转录能进一步抑制 NOS 的产生;④HO 系统和 NOS 系统都需要 NADPH 作为共同的辅因子,而且胆绿素被还原成胆红素也需要 NADPH,这种对电子的竞争作用也会进一步影响 NOS 的活性^[24]。

大量实验表明,HO 在组织细胞遭受不同应激时发挥了重要作用,氧化应激时 HO-1 的适度表达对多种疾病具有保护作用。但是现在对 HO-1 及其产物的研究还不甚清楚,观点也不统一,如有报道认为 CO 是可溶性鸟苷酸环化酶的拮抗剂,而非激动剂^[9];在体外人类细胞中缺氧下调而不是上调 HO-1 的表达^[25]。对 HO-1 的保护作用及其机制的进一步研究将有可能发现治疗与氧化应激有关的疾病的新手段。

[参 考 文 献]

- [1] Ryter SW, Alam J, Choi AM. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications [J]. *Physiol Rev*, 2006, 86(2):583-650.
- [2] 李俊,黄艳. 血红素加氧酶-1 的研究进展[J]. *安徽医药*, 2005, 9(1):3-7.
- [3] Tremellen K. Oxidative stress and male infertility-a clinical perspective[J]. *Hum Reprod Update*, 2008, 14(3):243-258.
- [4] Kowluru RA, Chan PS. Oxidative stress and diabetic retinopathy [J]. *Exp Diabetes Res*, 2007, 2007:43603.
- [5] Parfenova H, Basuroy S, Bhattacharya S, Tcheranova D, Qu Y, Regan RF, et al. Glutamate induces oxidative stress and apoptosis in cerebral vascular endothelial cells: contributions of HO-1 and HO-2 to cytoprotection[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2006, 290(5): C1399-C1410.
- [6] Milbury PE, Graf B, Curran-Celentano JM, Blumberg JB. Bilberry (*Vaccinium myrtillus*) anthocyanins modulate heme oxygenase-1 and glutathione S-transferase-pi expression in ARPE-19 cells[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2007, 48(5):2343-2349.
- [7] Xue H, Guo H, Li YC, Hao ZM. Heme oxygenase-1 induction by hemin protects liver cells from ischemia/reperfusion injury in cirrhotic rats [J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13(40): 5384-5390.
- [8] Sheftel AD, Kim SF, Ponka P. Non-heme induction of heme oxygenase-1 does not alter cellular iron metabolism[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(14):10480-10486.
- [9] Morita T. Heme oxygenase and atherosclerosis[J]. *Arterioscler, Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(9):1786-1795.
- [10] Sato T, Takeno M, Honma K, Yamauchi H, Saito Y, Sasaki T. Heme oxygenase-1, a potential biomarker of chronic silicosis, attenuates silica-induced lung injury [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006, 174(8):906-914.
- [11] Brydun A, Watari Y, Yamamoto Y, Okuhara k, Teragawa H, Kono F, et al. Reduced expression of heme oxygenase-1 in patients

with coronary atherosclerosis[J]. *Hypertens Res*, 2007, 30(4): 341-348.

[12] Lin Q, Weis S, Yang G, Weng YH, Helston R, Rish K, et al. Heme oxygenase-1 protein localizes to the nucleus and activates transcription factors important in oxidative stress[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(28):20621-20633.

[13] Ryter SW, Morse D, Choi AM. Carbon monoxide and bilirubin: potential therapies for pulmonary/vascular injury and disease[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2007, 36(2):175-182.

[14] 刘少华,马可,许兵,徐鑫荣. 一氧化碳吸入对脂多糖诱导大鼠急性肺损伤的保护作用(英文)[J]. *生理学报*, 2006, 58(5): 483-489.

[15] Foresti R, Bains S, Sulc F, Farmer PJ, Green CJ, Motterlini R. The interaction of nitric oxide with distinct hemoglobins differentially amplifies endothelial heme uptake and heme oxygenase-1 expression[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 317(3):1125-1133.

[16] Otterbein L, Chin BY, Otterbein SL, Lowe VC, Fessler HE, Choi AM. Mechanism of hemoglobin-induced protection against endotoxemia in rats: a ferritin-independent pathway[J]. *Am J Physiol*, 1997, 272(2 Pt 1):L268-L275.

[17] 赵卉,井军虎,李建强,刘卓拉. 胆红素在大鼠肺脏缺血再灌注损伤中的抗凋亡作用[J]. *中国药物与临床*, 2007, 7(9):677-680.

[18] Inguaggiato P, Gonzalez-Michaca L, Croatt AJ, Haggard JJ, Alam J, Nath KA. Cellular overexpression of heme oxygenase-1 up-regulates p21 and confers resistance to apoptosis [J]. *Kidney Int*, 2001, 60(6):2181-2191.

[19] Tang YL, Tang Y, Zhang YC, Qian K, Shen L, Phillips MI. Protection from ischemic heart injury by a vigilant heme oxygenase-1 plasmid system[J]. *Hypertension*, 2004, 43(4):746-751.

[20] Soares MP, Usheva A, Brouard S, Berberat PO, Gunther L, Tobiasch E, et al. Modulation of endothelial cell apoptosis by heme oxygenase-1-derived carbon monoxide [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2002, 4(2):321-329.

[21] Choi BM, Pae HO, Jeong YR, Oh GS, Jun CD, Kim BR, et al. Overexpression of heme oxygenase (HO)-1 renders Jurkat T cells resistant to fas-mediated apoptosis: involvement of iron released by HO-1[J]. *Free Radic Biol Med*, 2004, 36(7):858-871.

[22] 李建强,高晓玲,刘卓拉,徐永健,张珍祥. 胆红素对急性肺损伤大鼠肺血管内皮细胞核因子 κ B, 细胞间粘附分子 1 表达的影响[J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2004, 13(1):1-5.

[23] Coito AJ, Buelow R, Shen XD, Amersi F, Moore C, Volk HD, et al. Heme oxygenase-1 gene transfer inhibits inducible nitric oxide synthase expression and protects genetically fat Zucker rat livers from ischemia-reperfusion injury [J]. *Transplantation*, 2002, 74(1):96-102.

[24] 林宇,郭恒怡. 血红素加氧酶和一氧化氮合酶在缺血性脑损伤时的保护作用[J]. *国外医学脑血管分册*, 2005, 13(8):596-599.

[25] Kitamuro T, Takahashi K, Ogawa K, Uono-Fujimori R, Takeda K, Furuyama K, et al. Bach1 functions as a hypoxia-inducible repressor for the heme oxygenase-1 gene in human cells[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(11): 9125-9133.

(本文编辑:吉耕中)