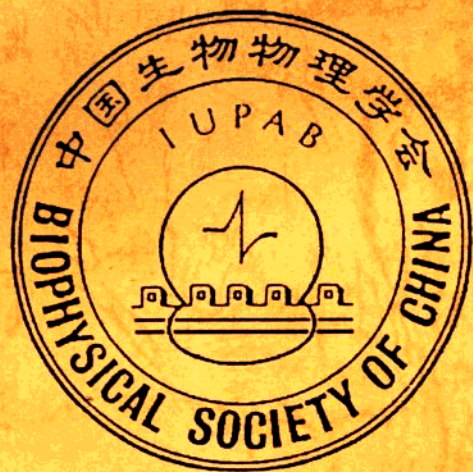


第五届全国自由基生物学与自由基
医学学术讨论会

论文摘要汇编



中国生物物理学会
自由基生物学与自由基医学专业委员会
2000年10月 湖南 张家界

157

0

62

目 录

大会报告

- 1、 氧化应激与基因调控及天然抗氧化剂的未来发展.....刘耕陶 (1)
- 2、 Antioxidants—Free Radical Scavenging, Redox Regulation and Gene expression: Implications for Healthy Aging.....Lester Packer (3)
- 3、 Effect of pycnogenol on heart diseases.....Peter Rohdewald (5)
- 4、 Glucose-6-phosphate dehydrogenase, oxidative stress, and cell growth.....赵崇义 (5)
- 5、 超氧阴离子自由基促肝卵圆细胞增殖、转化作用及机理.....吴元德 (6)
- 6、 用 ESR 技术特异检测生物体系产生的 NO 自由基.....赵保路 (7)
- 7、 肿瘤放疗自由基损伤副作用修复的新构想及研究基础.....海春旭 (8)
- 8、 高等植物光合作用系统中活性氧自由基研究.....刘扬 (9)
- 9、 氧自由基与线粒体医学和线粒体药理学问题.....刘树森 (10)
- 10、 生物抗氧化剂的抗氧化协同作用.....刘中立 (11)
- 11、 Fe²⁺启动脂质体中脂质过氧化的机制: 二价铁离子的双重功能、残留脂质过氧化物和脂过氧自由基的作用.....沈恂 (12)
- 12、 海藻硫酸多糖抗病毒作用及其机理研究.....孙存普 (13)
- 13、 亚硝酸盐的血管调节活性.....田亚平 (14)
- 14、 过氧化亚硝基诱导神经细胞凋亡的机理及 EPC-K1 的保护作用.....忻文娟 (15)
- 15、 Na₂SeO₃ 诱导肿瘤细胞凋亡的化学机理研究.....杨祥良 (16)
- 16、 In vivo and real time measurement of nitric oxide by using electrochemical nitric oxide sensors.....Xueji Zhang (17)

一、自由基基础

1. Ve 对冷应激大鼠 RBC 膜 MDA 含量和 (Na⁺, K⁺)-ATPase 活性的影响 (董兆申, 王枫, 陈耀明)..... (18)
2. 短期冷暴露对大鼠 SOD 活性、MDA 含量及细胞凋亡的影响 (龚书明, 赵振高, 陈景元, 高双斌, 刘秀红)..... (19)
3. 跑跳运动对兔骨骼肌脂酶 A2 和脂质过氧化的影响 (陈耀明, 齐宗利, 吴端宗, 董兆申, 张晓楠, 张延风)..... (20)
4. 稀土离子对 LDL 氧化修饰的影响 (卢景芬, 程驿, 古力努尔, 王夔)..... (21)
5. 低氧预适应提高脑细胞缺氧耐力的实验研究 (王福庄, 丁爱石, 于顺, 吴丽颖, 范明)..... (22)
6. 内皮细胞中自由基与一氧化氮之互动 (周思怡, 马维清, 颜嘉宏, 楼迎统)..... (23)
7. 上海四膜虫 S1 (Tetrahymena shanghaiensis S1) 线粒体电子漏的化学发光法研究 (叶寒青, 杨祥良, 徐辉碧)..... (24)
8. 强光抑制引起类囊体膜的损伤 (周广印, 公衍道, 赵南明)..... (25)
9. 自由基损伤类囊体膜的机理研究 (周广印, 公衍道, 赵南明)..... (26)
10. Substituent Effects Determining O-H BDE of Phenolic Compounds and Elucidation on Structure-Activity Relationships for Flavonoids: A DFT Study (Sun You-Min, Zhang Hong-Yu, Chen De-Zhan)..... (27)

二、自由基与氧化还原调节、信号转导、基因表达

1. SDS 对 Na₂SeO₃ 催化 GSH 产生 O₂⁻ 作用的研究 (付春莲, 杨祥良, 周井炎, 徐辉碧)..... (28)

2. 内源性超氧阴离子自由基对 Eca-109 食管癌细胞癌基因表达的影响 (李福洋, 惠宏襄, 王成济, 莫简)..... (29)
3. 自由基在体内介质网络中的作用 (莫简)..... (30, 31)
4. 过氧化氢促肝卵圆细胞株 WB-F344 的增殖及转化作用的研究(施广璞, 李芸, 吴元德) (32)
5. 糖尿病氧化应激的反应机理: 肝线粒体氧自由基参与糖尿病大鼠机体的氧化应激 (宋伟, 苗振川, 李晓明, 李清焕, 李林江, 刘树森)..... (33)
6. 呼吸链电子漏路径和线粒体的超氧自由基代谢 (徐建兴)..... (34)
7. 硒和 VA 对梭曼中毒大鼠总抗氧化力和一氧化氮合成酶的影响及其保护效应 (杨兴斌, 海春旭, 赵燕, 冯安吉)..... (35)

三、一氧化氮的自由基生物学与自由基医学

1. 吸入一氧化氮对再灌注肺组织一氧化氮合酶表达的影响 (曹华, 廖崇先, 黄雄飞, 陈道中, 高凌云)..... (36)
2. 慢性低氧对大鼠肺血管左旋精氨酸/一氧化氮途径的影响 (陈静炯, 龚永生, 蒋仲荪, 唐朝枢)..... (37)
3. 过氧亚硝基—鲁米诺化学发光体系 (范小兵, 沙大年, 梁小凤, 韩超, 胡天喜)..... (38)
4. 大鼠脑缺血时血和脑组织一氧化氮、内皮素、血管活性肠肽的含量变化及其作用 (刘志发, 吴醒身, 周正谋, 王大鹏, 张杰)..... (39)
5. 高效液相色谱测定亚硝基硫醇及应用 (沈文梅, 田亚平, 赵玉兰, 廖杰)..... (40)
6. 亚硝酸盐调节血压效能研究 (童红莉, 王成彬, 田亚平)..... (41)
7. Egb761 对星形细胞中一氧化氮合成的影响 (卫涛涛, 侯京武, 陈畅, 忻文娟)..... (42)
8. 一氧化氮对模拟失重下心肌细胞功能的影响 (熊江辉, 李莹辉, 杨唐斌, 聂捷琳, 张德良, 赵保路)..... (43)
9. ESR 检测兔心肌缺血再灌注损伤时一氧化氮的动态变化 (英明中, 李小鹰, 张德良, 赵保路) (44)
10. 重复+Gz 条件下小鼠机体多脏器 NO 含量的变化及茶多酚的防护作用 (张清俊, 先宏, 丛建波, 李彤, 辛益妹, 吴可, 詹皓, 张建中, 孙存普)..... (45)

四、自由基与细胞凋亡

1. S-Nitrosoglutathione 诱导凋亡的小鼠胸腺细胞 Ca²⁺和 Zn²⁺之变化 (段绍瑾, 苏小游, 陆毅伦, 潘健, 段颖健, 顾丽贞).....(46)
2. S-Nitrosoglutathione 诱导胸腺细胞凋亡的动力学研究 (段绍瑾, 祁鑫, 裴迎霞, 苏小游, 李向红, 陈宇霞).....(47)
3. HYYS 诱发的瘤细胞凋亡 (马润娣, 苏伟明, 邵海艳, 廖铭能, 黄来珍, 于立坚)..... (48)
4. 茶多酚对 6-OHDA 诱导的 PC12 细胞凋亡的保护作用 (聂广军, 卫涛涛, 赵保路, 金超芳, 沈生荣).....(49)
5. S-Nitrosoglutathione 诱导胸腺细胞凋亡的机制 (苏小游, 段绍瑾, 陈宇霞, 潘健, 祁鑫).....(50)
6. Na₂SeO₃ 诱导人肝癌细胞 HepG₂ 凋亡 (王海涛, 杨祥良, 徐辉碧).....(51)
7. S-Nitrosoglutathione 诱导胸腺细胞凋亡的双向作用 (王勤渝, 段绍瑾, 苏小游, 解荣庆, 段颖健).....(52)
8. 一氧化氮损伤神经细胞线粒体并诱导细胞凋亡(卫涛涛, 侯京武, 陈畅, 忻文娟)..... (53)
9. 活性氧参与一氧化氮诱导的神经细胞凋亡 (张春阳, 卫涛涛, 马辉, 丁尧, 陈懿延, 侯京武, 陈畅, 忻文娟) (54)
10. 金黄地鼠视皮层生后发育中的神经元凋亡及 NOS 活性的变化 (张月婷, 赵保路).....(55)

五、自由基与疾病

1. 冠心病患者 OX-LDL 水平与 Apo—B 基因多态性的关系(白丹, 汪家瑞, 杨峥, 高承梅)... (56)
2. 新化合物 FLZ-52A 抗实验性帕金森氏病的药理学研究 (冯卫红, 刘耕陶)... (57)
3. 补体介导炎症损伤的机理与亚硒酸钠及维生素 E 等抗氧化剂对炎症应答的调控 (候健存, 吴元德, 凌允礼) (58)
4. 自由基与小儿急性白血病的的相关性的实验研究 (胡新珉, 刘鸿莲, 陈友琴, 幸浩洋, 李宜贵, 杨芳炬)... (59)
5. 燃煤氟病区氟中毒患者血氟、微量元素水平与脂质过氧化关系的研究 (吉荣娣, 全笑江, 张淑兰, 李文华, 曹守仁)... (60)
6. 铅对脑组织 NO 的影响 (李国君, 吴德生, 吴萍, 邓一夫, 郭爱民, 褚金花, 韩春华) (61)
7. 自由基致白癜风发病机理 (梁欣)... (62)
8. 氧自由基引起的脂质过氧化与疾病和衰老 (邵昌平)... (63)
9. 血清抗氧化活性与恶性肿瘤的关系 (田亚平, 郭广宏, 董振南)... (64)
10. GSH-PX / MDA 比值与胎儿宫内发育迟缓相关 (王懿贤, 刘蓓, 苑晓辉)... (65)
11. 超氧化物歧化酶促进皮肤感染性创面愈合的临床观察 (闫熙丰)... (66)
12. 氧化应激条件下褪黑素的细胞保护作用 (杨唐斌, 熊江辉, 聂捷琳, 李莹辉)... (67)
13. 脂质自由基与胚胎发育相关 (苑晓辉, 刘蓓, 王懿贤)... (68)
14. 低氧预适应对大鼠海马神经元耐缺氧能力的影响 (赵彤, 于顺, 丁爱石, 王福庄, 范明)... (69)
15. 星形胶质细胞对自由基脑损伤的保护机制 (赵康涛, 陈丹, 梁欣)... (70)
16. 活性氧及其对 DNA 氧化损伤在启动细胞癌变中作用 (朱茂祥, 杨陟华, 龚诒芬)... (71)

六、抗氧化剂对自由基的作用

1. 不同浓度中草药抗自由基逆反和差异现象 (安荣姝, 王自强, 李维英, 陈惟昌)... (72)
2. 一种新白头翁类草药提取物的抗氧化作用 (边可君, 黄开勋, 徐辉碧)... (73)
3. 蜂胶抗氧化作用的研究 (曹炜, 魏亚辉)... (74)
4. 茶多酚对高血脂症动物降脂作用的研究 (曹明富, 陆一鸣)... (75)
5. 仙人掌的药效学试验研究 (陈淑冰, 孟华民, 刘江碧)... (76)
6. 自由基损伤与 D-半乳糖所致细胞老化关系的研究 (崔旭, 李文彬, 张炳烈, 张洁, 陈桂英)... (77,78)
7. 严重烫伤大鼠延迟复苏后肝脏的氧化应激及锌-金属硫蛋白的保护作用 (丁海勤, 程时)... (79)
8. 饮酒对血清中具有抗氧化活性物质的影响 (董振南, 王玲, 原新红)... (80)
9. 酒精对脂质过氧化及超氧化物歧化酶的影响 (董振南, 贾兴旺, 原新红)... (81)
10. 全血介导的鲁米诺化学发光研究安必酮的抗氧化效能 (谷峰, 田亚平)... (82)
11. 昂立明视胶囊抗白内障的作用 (范小兵, 李慈娟, 韩超, 张迪, 胡天喜, 杨彬, 吴晓兰, 欧阳强, 李晖, 濮祖茂)... (83)
12. 昂立明视胶囊对大鼠和家兔视网膜光化学损伤的防护性作用研究 (范小兵, 李慈娟, 韩超, 张迪, 胡天喜, 张烈雄, 何今, 王新明, 朱咸玲, 杨弘彦, 杨亮)... (84)
13. 脑活素可保护培养细胞免受过氧化氢损伤 (房征宇, 张炳烈, 韩志涛, 黄福南, 李文彬)... (85)
14. 维生素 E 及微量元素 Zn 对梭曼染毒大鼠自由基损伤的影响 (冯安吉, 海春旭, 扬兴斌) (86)
15. 葡萄籽中原花青素类 (procyanidins) 物质对自由基清除作用和对鼠心肌线粒体脂质过氧化损伤的保护作用的 ESR 波谱研究 (高军涛, 呼俊改, 万谦, 赵保路)... (87)
16. 乙酰-L-肉碱 (ALC) 抗氧化活性研究 (顾小曼, 黄峰, 杨祥良)... (88)

17. 小红参醌对低温储存皮肤活力的影响 (贾晓明, 朱兆明, 纪晓峰, 孔秋华).....	(89)
18. V_A 、 V_E 对梭曼诱导大鼠过氧化损伤的保护作用 (李文丽, 海春旭, 蒋宁, 冯安吉, 杨新斌, 谷小钢).....	(90)
19. 扇贝多肽对 Hela 细胞在紫外线损伤下的保护作用(綦淑芬, 万瑞香, 姚如勇).....	(91)
20. 扇贝多肽对淋巴细胞氧化损伤的保护作用(万瑞香, 綦淑芬, 崔瑞耀).....	(92)
21. 用 ESR 自旋捕集技术和化学发光法研究小肽的抗氧化活性(王春波, 聂广军, 赵保路) (93)	
22. 化学发光法检测线粒体衍生的活性氧(王海涛, 杨祥良, 徐辉碧).....	(94)
23. 天然抗氧化剂 FH II 对接触 DMF 工人的保护作用 (谢炳市, 刘凯勋, 张文科, 赵敏)(95)	
24. 抗氧化药物对 O_3 衰老小鼠模型的 DNA 损伤保护作用研究 (幸浩洋, 胡新珉, 刘鸿莲, 李宜贵, 陈友琴).....	(96)
25. 化学发光法研究锁阳提取液清除 O_2 的功能 (杨焯焯, 朱文杰).....	(97)
26. 扇贝多肽对免疫细胞影响及其抗氧化损伤作用 (于业军, 刘晓萍, 王跃军, 王春波) (98)	
27. 鹿龟酒药理作用的研究 (曾昭贤, 熊永德, 宋培钊).....	(99)
28. 山楂黄酮对自由基的清除作用 (张春爱, 赵保路, 靳玉群, 靳恩泽).....	(100)
29. 蓖麻毒素及其 SPDP 修饰物对小鼠肝脏氧化性损伤的影响 (赵英, 王文学).....	(101)
30. 双歧菌增殖胡萝卜汁对氧自由基的清除作用和对大鼠小肠缺血损伤产生一氧化氮和氧自由基的影响 (赵保路, 洪兴华).....	(102)
31. 虎奶多糖 (HNP) 抗氧化活性的研究 (周林珠, 邓成华, 周井炎, 杨祥良, 徐辉碧)(103)	
32. Oncolyn causes clinical remission breast carcinoma, mesothelioma and other solid tumors in man (H K Djang).....	(104)
33. TCM Can Prevent and Cure Dementia in Close Relationship with Scavenging ROS (Ming Li, Xin-xianZhao).....	(105)

七、自由基与农业

1. NO 既是小麦抗锈反应的凋亡信号又是小麦感锈反应的死亡信号 (曹远林, 牛永春, 赵保路, 李振岐).....	(106)
2. 活性氧和脂类酰基水解酶与稻瘟病菌侵染稻叶中糖脂减少的关系研究 (曹远林, 彭友良, 李振岐).....	(107,108)
3. 干旱胁迫下小麦叶片中 NO 自由基的产生及其 ESR 研究 (曹远林, 张德良, 李美芬, 赵保路).....	(109)
4. 远紫外辐射诱发紫衫膜脂过氧化与活性氧的产生 (靳月华, 杜英君).....	(110)

八、自由基检测技术

1. 化学发光法测定油脂的过氧化 (范小兵, 梁小凤, 胡天喜).....	(111)
2. 新型磷酸基取代吡咯啉类自由基捕捉剂与活性氧 (孙健, 徐英凯, 刘科, 刘扬, 张启元, 匡廷云).....	(112)
3. 自动化分析红细胞中超氧化物歧化酶活性方法的探讨 (索丽萍, 王成彬, 田亚平).....	(113)
4. 非离子胶束对花靛光敏剂基态和激发态的保护作用 (刘卫, 陈兴荣, 张红雨, 张志义, 周志祥).....	(114)
5. 自动化测定红细胞中超氧化物歧化酶活性及其应用 (王玲, 王成彬).....	(115)
6. 抗氧化剂的抗氧化活性的测定方法及其评价 (翁新楚, 吴侯).....	(116-118)
7. 电子顺磁共振成像 (EPRI) 方法及其研究进展 (吴可, 孙存普).....	(119)
8. 乙酸乙酯抽提法在 ESR 检测一氧化氮自由基中的应用 (张德良, 熊江辉, 李美芬, 李莹辉, 赵保路).....	(120)
9. 醌类衍生物 HB 与 CdS 纳米半导体的复合体对 TEMPO 光敏还原动力学的 EPR 研究 (周志祥, 王芙媛, 刘卫, 张志义).....	(121)

氧化应激与基因调控及天然抗氧化剂的未来发展

刘耕陶

(中国医学科学院药物研究所 北京 100050)

所有需氧细胞均产生氧自由基 (ROS)。适量的 ROS 对于细胞的生命活动是必需的, 例如对细胞的分化和发育过程有重要影响, ROS 过量对细胞则是有害的, 例如在衰老及许多退行性疾病的发生中起着极重要的作用, 过去 10 多年来, 越来越多的研究发现, ROS 可调节特异的基因和信号传导途径, 于是出现了“ROS 在基因表达和信号传导中起亚细胞信使作用”的假说。

ROS 刺激细胞所引起的反应可分为五大类: (1) 调节细胞因子、生长因子或激素的作用及分泌; (2) 离子的转运; (3) 转录; (4) 神经调控; (5) 细胞凋亡。关于 ROS 或氧化还原 (Redox) 如何调控转录因子及信号传导的分子机制尚不十分清楚, 但已知在大多数情况下, 上述调控作用是通过影响蛋白质巯基 (-SH) 的氧化还原而实现的。蛋白质-SH 局部的氧化还原状态的变化会引起蛋白质构象的变化, 依蛋白质性状的不同, 有的会减弱或增强与 DNA 结合的能力, 释放抑制性亚单位, 或促进与信号传导或转录所必需的蛋白质复合物的形成。氧化还原所导致的有关变化并非都是直接的, 有些是间接的。细胞外信号分子如生长因子和细胞因子通过复杂的机制而引起细胞行为的变化, 涉及信号从细胞浆膜传导至胞浆, 进而转移至细胞核, 以调节相关基因的表达。虽然细胞内许多信号传导途径对氧化还原都十分敏感, 但研究比较透彻的是丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 和核转录因子 (NF-kB)

MAPK 是一族蛋白质, 已鉴定的有 4 种亚型: ERK, JNK/SAP 激酶, p38 激酶类, 大 MAPK (BMK/ERKS)。上述 4 种亚型的 MAPK 均含有对氧化还原敏感的位点。MAPK 的活化均依赖于特异性酪氨酸和缬氨酸残基的双重磷酸化。关于 MAPK 途径活化的详细机制参见有关文献。

研究最多的另一个信号传导途径是 NF-kB/Rel。在未受刺激的细胞内, NF-kB 系与抑制性蛋白 (IKB) 相结合而形成复合物存在于胞浆, 无生理活性。IKB 有 α 、 β 、 γ 三种亚型, 可能还包括 Bcl-3。当细胞受到某些因素刺激后, 如辐射、TNF α 、PMA, 某些细胞因子, 通过 Nik 的激活, 使 IKB α 的 32 和 36 位丝氨酸 (Ser 32 和 Ser36) 高度磷酸化, 从而使 IKB 激酶磷酸化, 为 21 位和 22 位赖氨酸泛素化而提供一种信号, 进而由 26s 蛋白酶体复合物刺激 IKB 的降解, NF-kB 便与 IKB 解离而成为游离的 NF-kB 蛋白分子, 有生物活性, 移位至细胞核, 与 DNA 结合, 启动转录, 复制相关的蛋白产物, 例如急性反应蛋白、细胞表面蛋白及细胞因子, NF-kB 也调控某些病毒如 HIV 基因的表达。抗氧化剂的抗氧化反应部分地也是通过 NF-kB 实现的。

可见 NF-kB 参与许多与炎症和免疫功能有关的基因的调控, 是 ROS 和抗氧化剂调节许多生命活动和某些疾病发生过程中的一个十分重要的环节。新近发现, 脑组织某些部位神经细胞中富含 NF-kB, 看来它还可能参与正常脑功能的调节, 在诱发和促进神经功能退行性变化如老年性痴呆 (AD) 和帕金森氏病 (PD) 的发病过程中起信号作用。在 AD 发病中的关键毒性蛋白 β -淀粉样蛋白可激活 NF-kB 而对神经细胞产生毒性。抗氧化剂对此有拮抗作用。

与 NF-kB 关系密切的另一个常见病是动脉粥样硬化。该病直接病因是由于血清低密度脂蛋白 (LDL) 的氧化, 这些氧化 LDL (OX-LDL) 损伤血管壁内皮细胞和刺激平滑肌细胞, 胆固醇沉积、钙化, 最终形成粥样硬化斑块。OX-LDL 能激活 NF-kB 样转录因子, 引起含有

NF- κ B 结合点的基因表达，这些基因的蛋白产物引发炎症反应，进而影响脂质沉积及斑块的发展，斑块脱落，诱发血栓，造成急性心脑血管堵塞临床症状。抗氧化剂可抑制 LDL 的氧化修饰及防止 OX-LDL 对血管内皮的损伤作用，并可防止动物动脉粥样硬化的形成。

从药理学角度考虑，阻抑 NF- κ B 活化或激活 NF- κ B 活性，则可能为寻找治疗与 ROS 和 NF- κ B 途径有关的某些疾病的新药开辟一个新的领域。由此联想到天然抗氧化剂的研究的未来发展将主要集中在三个方面：（1）对 ROS 调节信号传导途径进行学术研究，阐明某些重要生命活动的本质；（2）寻找防治某些退行性疾病如 AD、PD、动脉粥样硬化及糖尿病并发症的新药；（3）开发保健食品和化妆品。目前在国际和国内市场上销售的银杏叶提取物（EGb761）和从法国松树皮提取的碧萝芷（pycnogenol）便为我们提供了成功的实例，围绕中草药进行这方面的研究和开发将有着巨大的潜力。

Antioxidants – Free Radical Scavenging, Redox Regulation and Gene expression: Implications for Healthy Aging

Lester Packer, Elaine Cossins, Fabio Virgili, Gerald Rimbach, Hadi Moini, Sashwati roy, Claude Saliou, Bertrand Rihn. Department of Molecular and Cell Biology, University of California, Berkeley, CA 94720-3200, U.S.A.

Pycnogenol®, an extract from the bark of the French maritime pine (PBE), is a complex mixture of bioflavonoids with reported protective effects against disease. PBE whose main constituents are procyanidins of various chain lengths is an effective scavenger of reactive oxygen species.

PBE is among the most efficient *in vitro* scavengers of the reactive oxygen species HO• and O₂^{•-} in our database of plant extracts and individual flavonoids. Using a model system of ascorbate/ascorbate oxidase coupled with ESR detection, PBE was remarkably effective in extending ascorbyl radical lifetime, indicating that it can play an important role in the cellular antioxidant network. PBE may act in the redox antioxidant network at the interface between ascorbate and lipophilic antioxidants. Participation of PBE in the antioxidant network is also correlated with an increase in the cell level of antioxidants and its capacity to spare α -tocopherol and glutathione in cells cultured under oxidative stress conditions.

PBE was able to reduce cytochrome *c* reversibly, possibly by donation of electrons to the iron of the heme group. Among individual flavonoids tested, (-)-epicatechin gallate had the greatest ability to reduce cytochrome *c*. PBE competitively inhibited electron transport chain activity in isolated mitochondria and submitochondrial particles. Activities of NADH-ubiquinone, succinate-ubiquinone, and ubiquinol-cytochrome *c* reductases were inhibited by low concentrations of PBE to a similar extent. However, at same concentration range, PBE by reducing cytochrome *c* acts as an electron donor for complex IV; the donated electrons can be utilized by cytochrome *c* oxidase. These studies demonstrate how the polyphenol structure common to PBE and flavonoids enables them to donate electrons and therefore affect cell functions.

The involvement of PBE redox activity and/or direct binding to enzymes or proteins and its subsequent action on activity were of interest. PBE dose-dependently inhibits the activities of oxidative enzymes such as xanthine oxidase (XO), xanthine dehydrogenase (XDH), horseradish peroxidase, and lipoxygenase, but does not affect the activities of glucose oxidase (GO), ascorbate oxidase or elastase. To characterize the mechanism of PBE action, studies were focused on XO and GO. Under non-denaturing conditions, PBE changed the electrophoretic mobility of XO but not of GO. Gel filtration chromatography confirmed higher molecular weight complexes of both XO and XDH in the presence of PBE. Hydrophobic binding was the dominant mode of interaction between PBE and XO. The importance of PBE binding in the modulation of enzyme activity was verified by showing that PBE binds and inhibits catalase, but not superoxide dismutase. However no correlation was found between HO• or O₂^{•-} radical scavenging

activity and the inhibitory effect of PBE, individual flavonoids, or other flavonoid mixtures on XO activity.

Thus PBE, by affecting the antioxidant network and selectively binding to proteins, should have a dual function in cell and extracellular regulation. Some examples of anti-inflammatory and gene regulatory effects of PBE are as follows: (i). PBE modulates the large and sustained production of NO by activated macrophages, (ii). PBE also inhibits TNF- α and PMA induced expression of cellular ICAM1 and cell adhesion, (iii). PBE is a powerful inhibitor of NF κ B dependent gene expression in UV exposed human keratinocytes. In these cells c-DNA microarray assays for gene expression indicate that PBE regulates a unique set of genes in these cells. A dramatic decrease (nearly 22 fold) was found in the expression of the genes encoding calgranulin A and B after PBE treatment; this decrease was confirmed by quantitative RT-PCR analysis. Calgranulins A and B (also known as MRP-8 or S100A8 and MRP-14 or S100A9 respectively) are members of the highly conserved S100 family of low molecular weight calcium-binding proteins. High levels of the heterodimer MRP-8/MRP-14 can be detected in abnormally differentiated keratinocytes such as in psoriasis and in various epithelial cell lines. Calgranulins are involved in the calcium-dependent reorganization of cytoskeletal filaments observed in various inflammatory dermatoses. Regulation of calcium metabolism has been proposed as a potential therapeutic strategy in psoriasis. Clinical trials to evaluate the PBE effects on psoriatic lesions maybe warranted. This study shows how genomics can help to explore the rationale of a traditional medicine, pine bark extract, to meet the needs of modern therapeutics.

GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE, OXIDATIVE STRESS, AND CELL GROWTH

Mei-Ling Cheng, Hung-Yau Ho, Daniel Tsun-Yee Chiu* (趙崇義)
Chang Gung Univ., Tao-Yuan, Taiwan (長庚大學, 台灣)

Glucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PD)-deficiency is the most common enzymopathy affecting over 200 million people worldwide. The major biochemical function of G6PD is the generation of NADPH to maintain the cellular redox balance. The effects G6PD-deficiency on red cells are well studied. However, the effects of such deficiency on nucleated cells remain largely elusive. Biological effects of G6PD-deficiency on nucleated cells were studied using G6PD-deficient human foreskin fibroblasts(HFF). In contrast to that of normal HFF, the doubling time of G6PD-deficient cells increased readily from population doubling level 15 to 63. This was accompanied by a significant increase in the percentage of G₁ cells. The slowdown in growth preceded an early entry of these cells into a non-dividing state reminiscent of cellular senescence. These cells exhibited signs of aging as indicated by large, flattened morphology and senescence-associated β -galactosidase-staining. The levels of the cell cycle inhibitors p16 (INK4a) and p21 (CIP1), and the tumor suppressor p53 increased during the process. Meanwhile, an opposite trend was observed in the level of molecular chaperones HSP27 and HSP70. These molecular changes are characteristic of senescent cells. The importance of G6PD activity in cell growth was corroborated by the finding that ectopic expression of active G6PD in the deficient cells prevented their growth retardation and early onset of senescence. Mechanistically, the enhanced fluorescence in dichlorofluorescin-stained G6PD-deficient cells suggests the possible involvement of reactive oxygen species in senescence. Taken together, our results show that G6PD deficiency predisposes human fibroblasts to retarded growth the accelerated cellular senescence. Moreover, G6PD-deficient HFF provides a useful model system for delineating the effects of redox alterations on cellular processes.

*Presenting Author

超氧阴离子自由基促大鼠肝卵圆细胞株 WB-F344 恶性转化及其机理的研究

李芸 廖钢陵 施广璞 邱琦 吴元德

(中国协和医科大学 中国医学科学院 基础医学研究所, 北京 100005)

摘要

肝癌是一类严重危害人类健康及生命安全的常见病、多发病, 有研究显示自由基、活性氧可能参与了肝癌的发生过程, 但尚未有确切的证据, 尤其是在体外细胞和分子水平的研究。

本文以与肝癌发生密切相关的肝卵圆细胞株 WB-F344 (可能具有肝癌前体细胞的作用) 作为研究对象, 以体内活性氧的主要来源 $O_2^{\cdot-}$ 连续攻击经化学物质 N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(MNNG)启动的 WB 细胞, 研究 $O_2^{\cdot-}$ 对细胞的促恶性转化作用, 并首次从相关癌基因在转化过程中表达的动态变化、对胞内重要的信号分子 cAMP 浓度及胞内活性氧产生的影响方面研究其作用的分子机理。

结果发现: (1)细胞以 MNNG(5 $\mu\text{g/ml}$) 一次作用后, 以 X/XO 系统(X 100 $\mu\text{mol/l}$, XO 0.2 mu/ml , CAT 500 u/ml)产生的 $O_2^{\cdot-}$ 连续攻击 15 次, 以形态观察、核型分析、流式细胞仪检测、甲基纤维素半固体培养尤其是裸鼠接种成瘤实验从不同角度、不同层次首次直接证明 $O_2^{\cdot-}$ 能够促进 WB 细胞的恶性转化; (2)动态地观察了 $O_2^{\cdot-}$ 促 WB-F344 细胞恶性转化过程中相关癌基因 c-fos、c-jun、c-myc、TGF- α 及 N-ras 的表达变化, 发现: c-fos、c-jun 的表达产物可能与细胞的应激和增殖有关, 并可能作为转录因子调控与细胞的恶性转化相关的基因的表达; c-myc 与 TGF- α 基因的表达与细胞的转化密切相关; N-ras 基因的表达量与细胞的转化可能没有必然联系。从相关癌基因的表达调控方面研究了 $O_2^{\cdot-}$ 促细胞恶性转化的分子机理。(3) 不同剂量的 $O_2^{\cdot-}$ 作用后皆使胞内 cAMP 的含量降低, 且与其剂量正相关; 以转化剂量的 $O_2^{\cdot-}$ (100 $\mu\text{mol/l}$ X/0.2 mu/ml XO)作用正常及转化细胞, 在所研究的时间内呈现持续的降低, 且转化细胞中 cAMP 的含量比正常细胞低; X/XO 系统的作用能够刺激胞内活性氧的产生, 且主要是由 $O_2^{\cdot-}$ 引起的, H_2O_2 也有少量影响; 外钙在胞内活性氧的产生中不起作用; 外源 $O_2^{\cdot-}$ 不是通过胞内活性氧产生的途径来刺激胞内钙的增加。提示 $O_2^{\cdot-}$ 通过对胞内重要信号分子的影响, 引起相关癌基因的活化或抑制, 最终导致细胞的恶性转化。

本文在体外细胞水平探讨了 $O_2^{\cdot-}$ 在肝癌发生中的作用及其分子机理, 有助于我们更好地了解活性氧与肝癌发生的关系, 进一步探明活性氧的致促癌作用机理, 为抗氧化预防肝癌的发生提供实验依据。

用 ESR 技术特异检测生物体系产生的 NO 自由基

赵保路

中国科学院生物物理研究所北京, 100101

NO 自由基被美国科学杂志选为 1992 年的明星分子。1998 年三个美国研究一氧化氮自由基的科学家获得诺贝尔生物学和医学奖。NO 是内皮细胞松弛因子, 能够松弛血管平滑肌, 防止血小板凝聚, 是神经传导的逆信使, 在学习和记忆过程中发挥着重要作用; 巨噬细胞等在吞噬和刺激时活化释放自由基作为杀伤外来入侵微生物和肿瘤细胞的毒性分子; NO 作为自由基可以损伤正常细胞, 在心肌和脑组织缺血再灌注损伤过程中起着重要作用。不论要研究一氧化氮自由基的产生机理, 还是研究一氧化氮自由基与生物分之的相互作用, 首先就需要解决如何在细胞和生物体系中测定一氧化氮的特异技术和方法的问题。利用非特异技术检测常常带来不准确甚至错误的结论。我们自 1990 年以来就开展了对 NO 自由基的研究工作建立了一些方法。结合文献报道, 这里就生物体系 NO 自由基的生理功能及其特异 ESR 检测方法作一个概括介绍, 主要包括:

- 一. NO 自由基的性质
- 二. NO 自由基的功能
- 三. NO 自由基的 ESR 检测技术
 1. 利用氮氧自由基 DMPO 自旋捕集技术
 2. 与血红蛋白结合的 NO 自由基
 3. 离体心肌缺血再灌注产生 NO 自由基的测定
 4. 缺血, 移植和再灌注肾脏中产生 NO 的测定
 5. 用铁络合剂 Fe (DETC) 检测在体缺血再灌注产生的 NO 自由基
 6. 用 Fe (MGD) 巨噬细胞产生的一氧化氮的检测
 7. 用 Fe (DTCS) 巨噬细胞产生的一氧化氮的检测
 8. 利用有机溶剂抽提法提高 ESR 一氧化氮检测灵敏度

参考文献

1. Zhao, B-L, Xin, W-J, Chen, Y-T, Di, H, Guan, L. & Liu, W: 生物物理学报 10(1994) 170 -173.
2. Zhao, B-L, Shen, J-G, Li, M, Li, M-F, Wan, Q. & Xin, W-J: **Biochem. Biophys Acta** 1315(1996) 131-137.
3. Zhao, B-L, Shen, J-G, Hu, J-G, & Xin, W-J: **中国科学 (Series C)** 26(1996) 331-338.
4. Zhao, B-L, Wang, J-C, Hou, J-W & Xin, W-J: **Cell Biol. Intern.** 20,(1996) 343-350.
5. Shen J-G, Wang J, Zhao B-L, Hou J-W, Gao T-L, Xin W-J: **Biochim. Biophys Acta** 1406, 228 -236, 1998.
7. Zhou G-Y, Zhao B-L, Hou J-W, Li M-F, Chen C, Xin W-J: **Biotech Tech** 13,507-511,1999.
8. Zhang D-L, Xiong J-H, Hu J-G, Li Y-H, Zhao B-L: **Anal Chim Acta** (in press)

肿瘤放疗自由基损伤副作用修复的新构想及研究基础

海春旭 秦绪军 梁欣 谷小刚 何伟

(第四军医大学预防系毒理教研室 西安 710032)

理论构想 放疗是肿瘤的常规治疗手段。研究表明, 肿瘤放疗的主要副作用是在肿瘤放疗局部杀伤肿瘤的同时, 会造成机体周身损伤, 如造血和免疫系统的损伤作用。大量研究表明, 自由基是链式反应, 有多种形态的自由基存在, 损伤反应也呈现多态性, 肿瘤放疗时的局部即时性与延迟性自由基杀伤作用并存, 对肿瘤细胞的杀伤作用以即时性为主; 而周身性副作用对正常组织与细胞的损伤则表现为延迟性损伤为主。利用放疗的局部即时性与延迟性自由基杀伤作用并存, 以即时性为主; 周身性损伤为延迟性损伤为主的差异和自由基多态性的特点, 通过多功能复合自由基清除剂干预作用, 可有效抑制周身损伤, 减少副作用, 不会明显减弱对肿瘤局部放疗效果, 反而有利于增强辐照剂量, 增加肿瘤治愈机会。提出上述构想的依据是:

肿瘤放疗机理 主要是通过放置放射源, 利用高能射线辐照局部肿瘤有极高穿透性, 达到杀死肿瘤的目的。其治疗机理和副作用是通过放射线引发细胞自由基产生杀伤作用实现的, 而且后者是制约肿瘤最终治疗效果的重要原因。国内外对肿瘤放疗研究重点较多, 大都在如何提高局部肿瘤放疗的特异性、敏感性的研究上, 对于减少放射损伤的副作用也进行了大量研究。从理论上讲, 肿瘤放疗是完全能够把照射部位的肿瘤细胞杀死和清除的。但临床实际工作中, 肿瘤放疗时不待肿瘤细胞全部杀灭, 周身正常组织已不能耐受辐射反应, 造成正常(特别是敏感细胞)的功能抑制和结构破坏, 直至死亡。尽管肿瘤放疗的治疗作用和副作用, 都是由于自由基介导作用造成的, 但两者存在明显的差异。放疗是局部作用, 存在即时性特点, 即放射源在肿瘤局部存在时, 就对肿瘤细胞有直接杀伤作用, 作用的位点在细胞内、特别是核酸水平, 细胞外的因素影响作用较小; 而放疗的副作用是由于自由基直接介导损伤及其产物引起的, 同时存在即时性和延迟性特点, 即放射源存在时诱发的自由基不仅对周身正常细胞有杀伤作用, 其诱发的反应产物有着更要害的周身损伤作用。重要地是, 经过血液循环将自由基及其损伤产物携带周身引起的间接损伤作用, 甚至当放射源不存在时, 后者仍有延迟的显著的损伤副作用。

自由基是链式反应, 单一或少数自由基清除剂如 Vc、VE 等不能有效阻断这种链式反应, 有些不能进入细胞内如 SOD 等, 很难发挥有效的清除作用。原因之一是由于自由基链式反应特点限制, 达不到有效清除或抑制自由基对机体的损伤, 缺乏理论指导。

自由基存在和损伤有多态性。生物体内的自由基存在形态和反应形式有多态性的特点。目前国内外在实验室研制了无数种抗氧化剂或自由基清除剂, 但在生物体内的应用效果不佳。可以说, 其重要原因之一就是忽略了自由基及其反应的多态性的特点。

自由基清除剂有相对的局限性。不同的自由基清除剂可清除特定的自由基及其反应; 抗氧化剂也特定的抑制或阻断自由基生成作用。比如, 超氧化物歧化酶(SOD)只能清除超氧阴离子自由基($\cdot O_2^-$), 而无法清除 SOD 催化 O_2 所生成的 H_2O_2 。

工作基础 80 年代末期, 根据广义的抗氧化剂定义, 我们提出“抗氧化剂复合链”的假说, 90 年正式申报国家自然科学基金课题并得到资助。其主要依据是自由基是链式反应, 有多种存在形式, 造成损伤可发生在细胞和组织的多种时空位相, 根据“抗氧化剂复合链”假说, 研制成功的高效复合自由基清除剂-新药安体欣, 具有显著祛除自由基损伤相关的面部色斑作用, 为本课题研究提供了必要的工作基础, 此外, 我们在对小鼠辐射损伤模型研究时, 灌胃给药复合链式抗氧化剂, 结果表明, 给药组对辐射耐受性明显提高。

意义 其一, 利用上述特点, 尝试多功能针对性强的自由基清除剂或抗氧化剂抑制放疗副作用、增加疗效, 为提高肿瘤放射治疗效果提出新的思路, 具有重要理论意义; 其二, 为减少放疗致周身自由基和脂质过氧化损伤的有关药物研究, 提供实验依据, 具有重要的实际指导意义。

高等植物光合作用系统中活性氧自由基研究

刘扬[§], 孙健, 刘科
(中国科学院化学研究所, 北京, 100080)

历史上, 光合作用研究一直是生物学家们普遍关注的前沿课题, 因而就此曾产生多位与光合作用研究相关的诺贝尔奖获得者。近年来这项研究又以其对农业、环保、能源以及信息科学等领域的巨大应潜力而倍受青睐。针对诸多有关光合作用的课题, 强光照射下高等植物及其放氧系统的光破坏与光抑制研究是其中一个相当活跃的热点。据文献报道推断, 光照条件下叶绿体内可产生对生物机体有强烈损伤作用的活性氧(包括 $O_2^{\cdot-}$, $\cdot OH$, 1O_2 或 $RO\cdot$), 这些活性物种的产生也很可能通过与植物叶绿体作用而导致光破坏与光抑制, 进而引发植物细胞的损伤与凋亡。为了确证这个假设, 人们曾采用多种生物学与物理学手段(包括 ESR 方法)探测和研究那些具有破坏性的瞬态活性物。然而, 由于检测方法的局限, 在类囊体膜或光系统 II (PSII) 内部对与高等植物所特有的光合放氧电子传递链相关联的活性氧分子生成机制尚缺乏足够的研究。鉴于此, 本文从探索适用于低浓度不稳定活性氧自由基(如 $O_2^{\cdot-}$ 和 $\cdot OH$)研究的 spin trapping - ESR 方法入手, 较为深入地研究了光诱导下高等植物叶片、类囊体膜和 PSII 颗粒中活性氧自由基产生的分子反应机制, 以及 1O_2 , $O_2^{\cdot-}$ 和 $\cdot OH$ 等活性氧化合物与质体醌半醌自由基和放氧复合物间的相互作用规律。简言之, 本报告中作者将针对性地系统探讨如下几项专题:

1. 高等植物中低浓度瞬态活性氧物种研究的新 spin trapping-ESR 方法
2. 光诱导下活性氧初始产生的分子机制与相互转化规律
3. 活性氧产生与光抑制损伤的相关性
4. 高等植物的放氧活性与活性氧

[§] 国家重点基础规划项目 (G1998010100) 与国家自然科学基金项目 (39890390, 39870208) 资助

氧自由基与线粒体医学和线粒体药理学问题

刘树森

中科院动物所生物膜与膜生物工程国家实验室, 北京, 100080

包括氧自由基在内的活性氧 (Reactive Oxygen Species, ROS) 在机体的生成有多条途径, 但线粒体呼吸链电子漏生成的超氧阴离子是有机体活性氧的主要和恒定来源, 构成有机体活性氧来源的95%以上。每天每个线粒体可产生三千万个超氧阴离子, 线粒体呼吸链的复合体 I 产生20%, 复合体III产生80%。超氧可进一步生成过氧化氢, 单线态氧, 羟自由基或与一氧化氮相互作用生成活性很强的ONOO⁻等。这些活性氧在细胞的生理和病理过程中有极其重要的调控作用, 并与有机体的生长, 发育, 衰老, 疾病和死亡 (包括细胞多种形式的死亡和凋亡) 都极为有关。

本文根据作者实验室近年来发现的线粒体活性氧的生成, 靶向作用及其跨膜循环的分子机制, 以及在多种病理条件下, 如甲亢, 糖尿病, 老年痴呆和运动疲劳损伤时线粒体氧自由基生成和疾病发生的关系等方面的研究结果{1-4}, 结合当前线粒体医学和线粒体疾病的治疗的研究进展[5], 重点讨论线粒体药理学若干分子基础: (1) 氧自由基与线粒体基因突变和线粒体疾病; (2) 氧自由基与线粒体基因突变和衰老; (3) 氧自由基与线粒体调控的细胞凋亡; (4) 线粒体疾病的基因治疗与“线粒体药理学”问题。

主要文献

- [1] Liu, Shusen .*Bioscience Reports*,1997,17,259-272
- [2] Liu Shusen, in “*Oxidative Stress in Cancer, AIDs and Neurodegenerative Diseases*”(Montaganier,L.,et al., eds) 1998 Marcel Dekker, New York,pp333-349.
- [3] Liu, Shusen,..,*Jour.Bioenergetics and Biomembanes*, 1999 August vol 31,(4),367-376
- [4].刘树森 线粒体呼吸链的电子漏, 质子漏与“活性氧循环”模型: 运动氧应激的新视点, *天津体育学院学报*, 2000, 15, (1): 7-11。
- [5].刘树森 线粒体医学及其分子基础2000, *细胞生物学动态*, 翟中和主编, 北京师范大学出版社, 135-153页。.

生物抗氧化剂的抗氧化协同作用

刘中立

兰州大学应用有机化学国家重点实验室, 兰州 730000

生物抗氧化剂研究中一个有趣的问题是协同作用。有人在动物实验中发现将维生素E、维生素C、 β -胡萝卜素和谷胱甘肽几种抗氧化剂混合使用时的抗癌作用比分别单独使用时明显增强 (Shklar et al., *Nutrition & Cancer*, 20 (1993) 145), 这有些类似于中药复方。但是对这种协同作用的机理目前还所知甚少。研究还发现, 虽然多食用富含 β -胡萝卜素的蔬菜有明显的防癌作用, 但服用纯的 β -胡萝卜素却无效, 甚至会增加吸烟者致癌的机会 (Mayune, *FASEB J.* 10 (1996) 690). 而且正如自由基对机体的作用有两重性一样, 生物抗氧化剂的作用也有两重性, 抗氧化剂在一定条件下也可能变成促氧化剂. 例如维生素E是一个公认的有效抗氧化剂, 但最近有人报道在低密度脂蛋白 (LDL) 中, 维生素E在一定条件下会促进LDL的过氧化 (Bowry and Ingold, *Acc. Chem. Res.* 32, (1999) 27)。我们也曾发现维生素E在胶束中会促进亚油酸的过氧化 (刘中立等, 中国科学 (B辑) (1990) 1254)。显然, 研究生物抗氧化剂的抗氧化协同作用对抗氧化剂治疗学的发展有重要的意义。

我们分别在均相溶液、胶束、人血红细胞及人血低密度脂蛋白中研究了绿茶多酚、 β -胡萝卜素及视黄醛的抗氧化作用动力学和机理, 以及他们分别与维生素E的抗氧化协同作用。发现:

1. 绿茶多酚在上述介质中都是有效的抗氧化剂, 抗氧化活性与其分子结构、氧化电位及介质的微观环境有关。绿茶多酚还可以还原维生素E自由基使维生素E再生, 表现出很强的抗氧化协同作用。

2. β -胡萝卜素与维生素E具有抗氧化协同作用及相互保护作用。 β -胡萝卜素不能直接与维生素E自由基作用, 但它的氧化产物视黄醛可以还原维生素E自由基使维生素E再生。

Fe²⁺启动脂质体中脂质过氧化的机制：二价铁离子的 双重功能、残留脂质过氧化物和脂过氧自由基的作用

沈 恂 汤丽霞 张勇

中国科学院生物物理研究所 北京 100101

本工作研究了 Fe²⁺ 在脂质体系统中启动脂质过氧化的机制。研究发现：在潜伏期内第二次加入二价铁离子使得脂质过氧化前的潜伏期延长，无论何时，只要是在潜伏期内第二次加 Fe²⁺，最终的潜伏期只取决于所加 Fe²⁺离子的总量。这说明，Fe²⁺有双重功能：一方面它能启动脂质过氧化，另一方面又能抑制脂质过氧化的启动物质。当脂质体中掺入三苯磷以除去残留的脂质过氧化物（LOOH）时，Fe²⁺就不能再启动脂质过氧化，而且脂质体加速 Fe²⁺氧化的作用亦消失，若在脂质体中引入额外的 LOOH，则既观察到脂质过氧化的增强，又观察到潜伏期的缩短；若在脂质体中掺入脂过氧化自由基（LOO·）的清除剂二苯基对苯二胺，则既探测不到脂质过氧化的启动，也观察不到脂质体对 Fe²⁺氧化的加速。研究结果表明：脂质体中残留的 LOOH 和 LOO· 两者对脂质过氧化的启动都是必须的，后者来自于残留 LOOH 被 Fe²⁺的分解，又能通过与 Fe²⁺反应而被清除，只有当 Fe²⁺被氧化到不能有效地抑制 LOO· 时，脂质过氧化才能开始。研究表明，只要把 Fe²⁺与 LOOH 和 LOO· 的反应纳入脂质过氧化的基本化学反应过程中去，就能很好地解释在 Fe²⁺启动的脂质过氧化中看到的所有似乎相互矛盾的现象，例如潜伏期的存在，Fe²⁺对脂的临界比值和必须的二价铁离子的氧化。