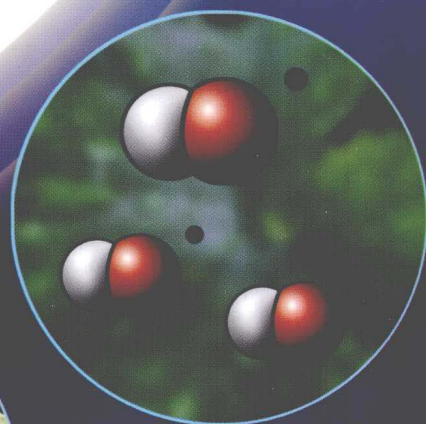
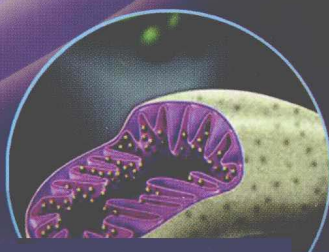


FREE RADICAL AND AGING

自由基与衰老

第2版

主编 陈 媛 周 玫



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

第2版

自由基与衰老

Free Radical and Aging

主 编 陈 媛 周 玫

编 者 陈 媛 周 玫 刘尚喜 单越新

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

自由基与衰老/陈瑗等主编. —2 版. —北京:
人民卫生出版社, 2011. 4

ISBN 978-7-117-14104-8

I. ①自… II. ①陈… III. ①游离基-关系-人体-
衰老-研究 IV. ①Q5②R339. 34

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 015413 号

门户网: www.pmph.com 出版物查询、网上书店 卫人网: www.ipmph.com 护士、医师、药师、中医 师、卫生资格考试培训

版权所有, 侵权必究!

自由基与衰老

第 2 版

主 编: 陈 瑗 周 玫

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

010-59787586 010-59787592

印 刷: 北京汇林印务有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 **印张:** 18

字 数: 438 千字

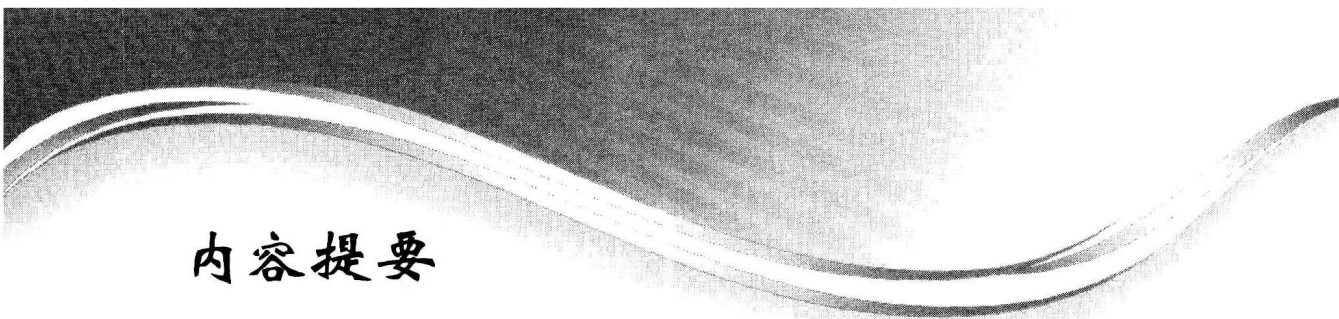
版 次: 2004 年 8 月第 1 版 2011 年 4 月第 2 版第 2 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-14104-8/R · 14105

定 价: 48.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 **E-mail:** WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)



内 容 提 要

《自由基与衰老(第2版)》全书共15章约45万字,包括有关的自由基基础知识(第一、二章),衰老的自由基理论(第三、四章),衰老的自由基-线粒体理论(第五、六、七章),机体随龄氧化损伤以及抗氧化剂抗氧化酶的抗衰老作用(第八、九、十、十一章),氧化应激与信号传导以及转录调节与衰老(第十二、十三章),与哺乳动物寿命有关的信号传导通路和基因(第十四、十五章)。全书以最近的资料和最新的观点从不同的侧面和不同的水平,包括从基因和基因调控水平,较全面地说明了衰老是由自由基引起的,较好地反映了衰老的自由基-线粒体理论研究的最新进展以及该理论的系统性和可接受性。本书可供医学、药学和生命科学等有关学科研究机构的研究人员、高等院校有关专业的广大师生,包括硕士和博士生,以及医院医生参考。

第2版前言

近年来,随着分子生物学的进展,自由基与衰老的研究也开始更多地从基因和基因调控水平阐明自由基与衰老的关系。第1版“自由基与衰老”一书,主要在分子、细胞和整体水平上,从不同的侧面说明自由基与衰老的关系以及自由基主要来源于线粒体。而第2版“自由基与衰老”一书,则又在基因和基因调控水平说明了自由基与衰老的关系。经修改、补充后,本书能更全面地反映自由基与衰老的关系,以及更好地说明衰老的自由基线粒体理论。衰老性疾病是在衰老的基础上发生的,因此,对衰老的自由基线粒体理论的理解,将对延缓衰老和防治衰老性疾病的实验研究和临床实践具有重要的指导作用。

经修改、补充和增加章节后的“自由基与衰老(第2版)”全书包括:有关的自由基基础知识(第一、二章);衰老的自由基理论(第三、四章);衰老的自由基-线粒体理论(第五、六、七章);机体随龄氧化损伤以及抗氧化剂抗氧化酶的抗衰老作用(第八、九、十、十一章);氧化应激与信号传导以及转录调节与衰老(第十二、十三章);与哺乳动物寿命有关的信号传导通路和基因(第十四、十五章)。

陈 瑗 周 玫

于广州南方医科大学基础医学院

2010年9月1日

第 1 版前言

几个世纪以来衰老一直是令科学家们感兴趣的迷人课题,特别是近 20 年来老年人群在总人口中所占的百分数明显增加,使得科学家对衰老过程的兴趣不断增加。早年有学者把生命定义为抵抗死亡力量的总和,近年有学者提出,衰老是伴随着年龄增加(简称随龄),机体发生的进行性改变的积累。

目前已有很多理论被用来解释衰老过程,有些理论可能是次要的,或其本身就是主要理论的一部分;有些理论只是基于一些现象提出来的,不是衰老过程的关键。在众多的理论中,较为主要和公认的并得到广泛研究的是衰老的程序性理论(programmed theory of aging)和衰老的自由基理论(free radical theory of aging)。

衰老的自由基理论是 1965 年由 Harman D 提出的。它是基于这样的前提,即所有生物的衰老和死亡是由一个受遗传因素和环境因素影响的专门的共同过程负责。该理论认为衰老是由自由基反应引起的,它参与跟环境、疾病和固有的衰老过程有关的衰老性改变。对自由基对细胞大分子 DNA、脂类和蛋白质的损伤的研究,以及降低能量代谢的实验和转基因动物的资料显示支持氧化损伤是衰老过程的直接原因。

随着自由基生物学的发展和分子生物学技术的应用,有关衰老的自由基理论的研究在过去的 10 年间取得了很多令人信服的进展,并由此吸引着众多的不同领域的科学家,特别是近年来的研究,无论在广度还是深度上都给人以深刻的印象,文献之多,涉及学科之广,令人应接不暇。据估计有关衰老自由基理论的文献每年呈指数性增加。有的科学家甚至提出该领域的研究已进入“成熟期”。

在这一新形势下,为了使广大的教学和科研工作者更好地了解这一领域的新进展,我们以“自由基医学”(陈瑗,周玫主编,人民军医出版社,1991 年)一书中自由基与衰老一章为基础,以最近的文献和最新的观点将其扩充编写成本书。全书共有十三章,从不同的侧面较全面地说明了衰老是由自由基引起的,包括有关的自由基基础知识(第一、二章),哺乳动物的衰老和寿命假说(第三章),机体抗氧化防御能力和活性氧生成速率与物种寿限(第四章),衰老的自由基-线粒体理论和衰老线粒体的 DNA 氧化损伤和突变(第五、六章),降低能量代谢延长物种平均寿命和最高寿限(第七章),抗氧化酶及抗氧化修复酶的基因过表达与寿限(第八章),机体随龄氧化损伤(第九、十章),抗氧化剂的抗衰老作用(第十一章),氧化应激与信号传导以及转录调节与衰老(第十二、十三章)。

本书的出版得到我研究所所长侯凡凡教授的大力支持,在此表示感谢,同时还要感谢单越新博士对全书的排版校样。

本书在撰稿过程中虽力求准确,但由于专业发展迅速、涉及领域众多,受专业和水平所限,书中缺点和错误在所难免,恳请同行和读者批评指正。

陈 媛 周 玫

于第一军医大学南方医院
全军肾脏病研究所自由基医学研究室
2003年5月22日

目录

第一章 体内活性氧的生成和抗氧化防御系统	1
第一节 氧自由基和活性氧的生成	2
一、线粒体活性氧生成系统	2
二、微粒体活性氧生成系统	4
三、浆膜结合 NADPH 氧化酶	5
四、铁离子	11
第二节 抗氧化防御系统(初级抗氧化防御系统)	12
一、抗氧化酶	12
二、脂溶性抗氧化剂	14
三、水溶性小分子抗氧化剂	17
四、蛋白性抗氧化剂	21
第二章 自由基对体内生物大分子的损伤及其修复系统	25
第一节 蛋白质的氧化损伤	25
一、蛋白质的氧化作用	25
二、脂质过氧化作用及其对膜的损伤和其羰基对蛋白质的修饰	28
三、糖基化作用、糖化氧化作用与蛋白质的羰基修饰	33
第二节 活性氧对 DNA 的损伤	40
一、 $\cdot\text{OH}$ 对 DNA 的损伤	40
二、 ONOOH 对 DNA 的损伤	42
三、羰基对 DNA 的损伤	42
第三节 抗氧化修复系统(二级抗氧化防御系统)	44
一、蛋白质修复和降解	44
二、DNA 修复系统	46
第三章 哺乳动物的衰老和寿命假说	52
第一节 哺乳动物的最高寿限和衰老速率	52
一、哺乳动物的最高寿限和平均估计寿命	52
二、哺乳动物的衰老速率	53
第二节 哺乳动物的寿限能和衰老的分化障碍假说	56
一、哺乳动物的寿限能	56
二、衰老的分化障碍学说	57

第三节 哺乳动物的寿命决定因子和寿命基因假说	58
一、寿命决定因子	58
二、寿命基因假说	59
第四章 机体抗氧化防御能力和活性氧生成速率与物种寿限	60
第一节 组织抗氧化酶水平与物种寿限	60
一、超氧化物歧化酶	60
二、过氧化氢酶和硒谷胱甘肽过氧化物酶	62
第二节 组织抗氧化剂含量与物种寿限	62
一、 α -生育酚和类胡萝卜素	62
二、抗坏血酸和还原性谷胱甘肽	64
三、尿酸和铜蓝蛋白	65
第三节 生物大分子的氧化损伤与物种寿限	67
一、脂质过氧化	67
二、蛋白质氧化	68
三、糖化氧化作用	69
四、DNA 氧化损伤	69
第四节 组织自氧化作用与物种寿限	71
一、组织自氧化速率	71
二、组织内源性抗氧化酶抗氧化剂水平的可补偿性	73
第五节 细胞活性氧生成速率和膜脂不饱和程度与物种寿限	74
一、基础代谢率和活性氧生成不成比例	74
二、活性氧生成的速率是最重要的寿命决定因子之一	76
三、膜脂不饱和程度也影响着最高寿限	77
第五章 衰老的自由基-线粒体理论	80
第一节 线粒体氧化应激是机体衰老的关键	80
一、线粒体能量代谢与活性氧生成	81
二、线粒体活性氧生成速率与寿限	82
三、衰老机体线粒体活性氧生成增加	84
四、线粒体衰老是一个慢性氧化应激的过程	86
第二节 衰老线粒体的功能和形态改变	88
一、衰老线粒体的功能障碍	88
二、衰老线粒体的形态改变	90
三、线粒体 DNA 和线粒体复制的随龄改变	90
四、线粒体是细胞凋亡的关键介体	91
第六章 衰老线粒体的 DNA 氧化损伤和突变	94
第一节 衰老线粒体 DNA 损伤	94

一、mtDNA 易于氧化损伤的原因	94
二、衰老线粒体 mtDNA 氧化修饰	95
第二节 衰老线粒体 DNA 突变	97
一、线粒体基因组	97
二、线粒体 DNA 突变	98
三、线粒体 DNA 突变与衰老	100
第七章 降低能量代谢增强抗氧化防御能力和延长寿命及其信号传导通路	104
第一节 限制能量代谢减少线粒体活性氧生成和随龄膜脂肪酸组成改变	104
一、食物限制减低线粒体活性氧生成	104
二、食物限制减轻随龄膜脂肪酸组成变化	106
第二节 限制能量代谢增强抗氧化防御能力	106
一、食物限制阻断或减轻随龄抗氧化酶活性变化	106
二、食物限制增强氧化蛋白降解和 DNA 修复	108
第三节 限制能量代谢减轻氧化应激	109
一、食物限制减轻随龄脂质过氧化损伤	109
二、食物限制减轻随龄蛋白质氧化损伤	110
三、食物限制减轻随龄 DNA 损伤	113
第四节 限制能量代谢延长寿命及其信号传导通路	115
一、限制能量代谢延长寿命	115
二、食物限制延长寿命的信号传导通路	120
第八章 机体随龄氧化损伤	126
第一节 组织脂质过氧化物含量和抗氧化酶活性随龄变化	126
一、血浆(血清)和血细胞	126
二、脑组织	128
三、心肌、骨骼肌、主动脉、肝、肾等组织	131
第二节 蛋白质氧化损伤和多催化活性蛋白酶随龄变化	133
一、组织蛋白质氧化损伤随龄变化	133
二、多催化活性蛋白酶随龄的变化	137
第三节 DNA 氧化损伤和修复的随龄变化	140
第四节 老年机体抗氧化应激能力的变化	142
第九章 皮肤、骨骼肌和骨骼系统随龄的氧化损伤	148
第一节 皮肤组织随龄的氧化损伤	148
一、皮肤随龄氧化损伤和皮肤细胞复制衰老的氧化损伤	148
二、皮肤细胞培养衰老的氧化损伤	151
三、食物限制减轻随龄皮肤氧化损伤	152

第二节 骨骼肌随龄的氧化损伤和运动锻炼对老年骨骼肌运动	
抗氧化损伤的影响	154
一、骨骼肌随龄氧化损伤	154
二、骨骼肌随龄生理功能变化	156
三、运动锻炼增加老年骨骼肌对氧化应激的耐受性	157
第三节 骨和关节软骨随龄氧化损伤	161
一、骨髓龄氧化损伤	161
二、关节软骨随龄氧化损伤	164
第十章 抗氧化剂的抗衰老作用	168
第一节 VE 和 VC 的抗衰老作用	169
一、VE 和 VC 与冠心病	169
二、VE 和 VC 与神经退行性疾病及其患者和老年人的认知功能	172
三、VE 和 VC 与老年人的免疫功能	176
第二节 硫辛酸的抗衰老作用	179
一、降低老年机体的氧化应激状态	179
二、提高老年机体的抗氧化应激能力	184
三、改善衰老线粒体氧化状态和代谢酶活性的改变	184
四、对糖尿病及其神经病变的治疗作用	184
第三节 N-乙酰半胱氨酸和硫杂脯氨酸的抗衰老作用	185
一、NAC 和 TP 与老年机体免疫细胞功能	185
二、NAC 和 TP 与老年机体线粒体衰退和神经退行性疾病	187
第四节 银杏叶提取物 EGb 761 的抗衰老作用	188
一、EGb 761 与老年机体线粒体衰退	188
二、EGb 761 与衰老和神经退行性疾病	190
第十一章 抗氧化酶及抗氧化修复酶基因过表达与寿限	195
第一节 抗氧化酶基因过表达对果蝇衰老和寿限的影响	195
一、单一抗氧化酶基因过表达对果蝇寿限的影响	195
二、SOD 和 CAT 同时过表达对果蝇寿限的影响	204
第二节 抗氧化修复酶基因过表达对果蝇寿限的影响	206
一、谷胱甘肽(GSH)还原酶(GR)基因过表达对果蝇衰老和寿限的影响	206
二、蛋氨酸硫氧化物还原酶 A(MSRA)基因过表达对果蝇衰老和寿限的影响	211
第十二章 氧化应激与信号传导	215
第一节 活性氧作为信号分子的作用机制	216
一、改变细胞内氧化还原状态	216
二、蛋白质的氧化修饰	218
第二节 丝裂原激活的蛋白激酶信号传导途径	221



一、ERK 途径	222
二、SAPK 途径	222
第三节 PI3 激酶/Akt 途径	224
一、Akt 途径	224
二、PI3 激酶途径	224
第四节 磷脂酶 C- γ 1 和蛋白激酶 C	225
一、磷脂酶 C- γ 1(PLC- γ 1)	225
二、蛋白激酶 C(PKC)	226
第五节 p53、核因子 κ B 和共济失调-毛细血管扩张症突变(ATM)激酶	226
一、p53 信号传导	226
二、共济失调-毛细血管扩张症突变(ATM)激酶	227
三、核因子 κ B(NF κ B)信号传导	228
第六节 其他的信号传导分子和途径	229
一、JAK/STAT 途径	229
二、c-Abl 酪氨酸激酶	229
三、p66 ^{shc} 适配蛋白	230
四、热休克蛋白的表达	230
 第十三章 转录调节与衰老	237
第一节 老化过程中瞬时控制的转录因子	237
一、年龄依赖的 CCAAT/增强子结合蛋白的合成改变	237
二、年龄对热休克蛋白合成的转录损伤	238
第二节 转录因子的氧化还原调节	239
一、锌指蛋白	239
二、ROS 信号传导经过依赖 MAP 激酶磷酸化作用的转录因子	240
三、无嘌呤-无嘧啶核酸内切酶/氧化还原作用因子 1(APE/Ref-1)作为一种 氧化还原作用传感器和作用于年龄依赖基因转录作用的调控子	240
四、沉默子信息调控因子 2、脱乙酰基酶、染色质的重新塑造和 p53 的功能	241
 第十四章 GH/IGF-1 轴活性与寿命和抗氧化防御能力	244
第一节 GH/IGF-1 轴活性减弱,小鼠寿命延长	244
一、Snell 和 Ames 侏儒小鼠以及 Lit/Lit 侏儒小鼠和 GHR ^{-/-} 小鼠	246
二、IGF-1R ^{+/-} 小鼠以及 p66 ^{shc-/-} 小鼠和 Klotho 转基因小鼠	247
三、GH/IGF-1 轴活性减弱的小鼠不延长寿命的例外	247
第二节 减弱 GH/IGF-1 轴活性延长寿命的抗氧化机制	248
一、GH/IGF-1 轴活性减弱,抗氧化防御能力增加	249
二、减弱 GH/IGF-1 轴活性,防止和减轻活性氧对组织细胞的损伤和衰老性 疾病的发生	250

第十五章 与哺乳动物寿命有关的信号传导通路和基因以及抗氧化防御能力	254
第一节 胰岛素/IGF-1 信号传导通路与哺乳动物寿命及其有关代谢的调控	254
一、脂肪组织胰岛素受体(IR)基因敲除对小鼠寿命及其有关代谢的影响	255
二、抑制胰岛素/IGF-1 受体对小鼠寿命及其有关代谢的影响	257
第二节 与胰岛素/IGF-1 信号传导相互作用的 Sirt-1 及其在寿命、代谢调控和 抗氧化防御中的作用	258
一、Sir2 及其家族 Sirtuin 以及 Sir2 催化脱乙酰基作用机制	258
二、Sirt-1 对 FOXO 和 PGC-1 α 的脱乙酰基作用及其对基因的调控	261
三、Sirt-1 对代谢的调控及其在抗衰老和抗衰老性疾病中的作用	263
第三节 AMPK 通路在寿命、代谢和抗氧化防御中的作用	266
一、AMPK 及 AMPK 通路	266
二、AMPK 通路与寿命	269
三、AMPK 通路与寿命有关的代谢	270
四、AMPK 通路与抗氧化防御作用和抗衰老性疾病	272
编后语	276



第一章

体内活性氧的生成和抗氧化防御系统

几个世纪以来衰老一直是令科学家感兴趣的迷人课题,特别是近 20 年来老年人群在总人口中所占的百分数明显增加,使得科学家对衰老过程的兴趣不断增加。早年有学者把生命定义为抵抗死亡力量的总和,近年有学者提出,衰老是伴随着年龄的增加(简称随龄),机体发生的进行性改变的积累。衰老改变的速率是恒定的,随龄呈指数性增加,因此在生命的早期,衰老过程的变化较小,而后衰老过程呈指数性加快,并由此导致机体对疾病敏感性的增加和死亡的发生。目前普遍认为衰老是由引起进行性细胞损伤和死亡的各种外在因素,以及与基因组有关的内在因素共同作用的结果^[1~6]。

目前已有 300 多种理论被提出来解释衰老过程,在这众多的理论中,有些理论可能是次要的,或本身就是主要理论的一部分;有些理论只是基于一些现象提出来的,不是衰老过程的关键,如 DNA 突变、分子交链、蛋白糖化氧化、错误灾难、激素合成障碍以及最近提出的端粒酶缩短理论,所有的这些变化都是继发于自由基损伤。当下较为主要和公认的,并得到广泛研究的是衰老的程序性理论(programmed theory of aging)和衰老的自由基理论(free radical theory of aging)。

衰老的程序性理论认为衰老过程受遗传控制。生物钟开始于婴儿时期。基因携带着特殊的指令控制着个体的生长、成熟、衰退和死亡。衰老伴随着生长和发育,是生长和发育的组成部分,并终止于死亡。

衰老的自由基理论是 1965 年由 Harman D 提出。它是基于这样的前提,即所有生物的衰老和死亡是由一个受遗传因素和环境因素影响的专门的共同过程负责。该理论认为衰老是由自由基反应引起的,它参与跟环境、疾病和固有的衰老过程有关的衰老性改变。对自由基对细胞大分子 DNA、脂类和蛋白质的损伤的研究以及降低能量代谢的实验和转基因动物的资料显示氧化损伤是衰老过程的直接原因。

随着自由基生物学的发展和分子生物学技术的应用,有关衰老的自由基理论的研究在过去的 10 年间取得了很多人信服的进展,并由此吸引着众多的不同领域的科学家。特别是近年来的研究,无论在广度还是深度上都给人以深刻的印象,文献之多,涉及学科之广,令人应接不暇。有的科学家甚至提出该领域的研究已进入“成熟期”。

在讨论衰老的自由基理论前。首先在第一章和第二章介绍有关的自由基基础知识。同时需要说明的是,自由基、氧自由基和活性氧的概念是不同的。但在本书的叙述中并未严格地将其区别开,而是按通常大众化的提法将自由基一词代表了氧自由基或活性氧,因此本书名“自由基与衰老”确切地说应该是“活性氧与衰老”。但是在需要区别开不同自由基时,会说明为何种自由基,如氮自由基或碳自由基等。

第一节 氧自由基和活性氧的生成

自1968年McCord与Fridovich发现组织中广泛存在着能清除 O_2^- 的超氧化物歧化酶(SOD)以后,生物体内存在内源性自由基的事实才得到大量的实验证据证实。 O_2^- 是体内其他活性氧的主要来源。在细胞中通过单电子还原产生的 O_2^- 来自线粒体、微粒体、浆膜和胞浆等的酶系统和非酶系统反应(图1-1)^[7]。

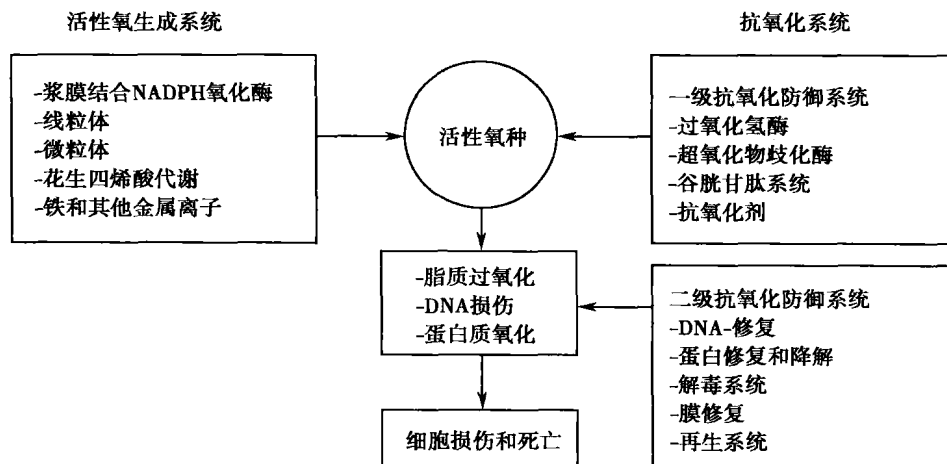


图 1-1 细胞活性氧生成系统和抗氧化系统

一、线粒体活性氧生成系统^[8]

在正常情况下活性氧的生成量约占组织耗氧量的1%~2%。这1%~2%组织耗氧量即所谓的细胞存在着的对一氧化碳和氰化物的不敏感呼吸,也即是不被一氧化碳和氰化物抑制的呼吸。已知哺乳动物消耗氧的90%以上被线粒体所利用。因此在正常情况下由线粒体生成的活性氧在细胞氧自由基的生成中是主要的。线粒体活性氧的生成主要来自线粒体呼吸链和单胺氧化酶。

(一)线粒体呼吸链

正常情况下通过呼吸链(图1-2)电子传递系统的电子会有部分被泄漏,当泄漏的电子被 O_2 接受即生成 O_2^- 。组成呼吸链的各组分都能生成活性氧,它们的生成是通过半醌的自氧化作用和黄素蛋白酶的酶性生成反应。

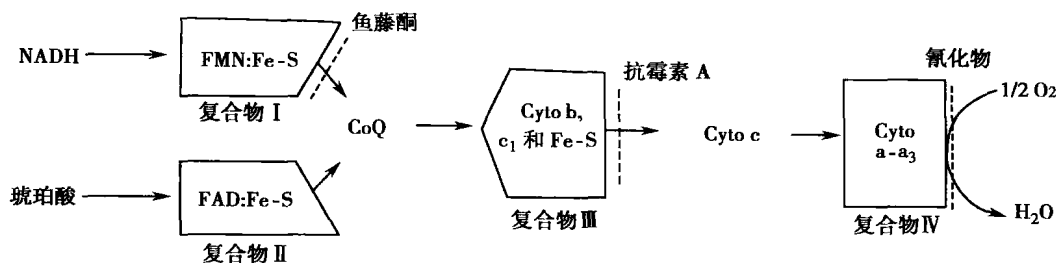


图 1-2 线粒体电子传递链中的四个脂溶性复合物

1. 辅酶 Q·半醌的自氧化作用 用线粒体片断的实验观察到复合物 I (NADH-Q-reductase)和复合物 III (QH₂-Cytochrome C-reductase)是产生 O₂⁻· 最有效的成分,而复合物 II (succinate dehydrogenase)产生 O₂⁻· 则比较少(表 1-1)。

表 1-1 离体线粒体呼吸链的复合物对 H₂O₂ 的生成作用

复合物	H ₂ O ₂ 生成量(每毫克蛋白质每分钟生成 nmol)
复合物 I	4. 62
复合物 I + 鱼藤酮	1. 10
复合物 III	4. 24
复合物 II	0. 03

由表 1-1 可见复合物 I 和 III 生成 H₂O₂ 的效应相同,而辅酶 Q(或称泛醌,简称 Q)是它们唯一的共同成分,由此推测还原型辅酶 Q 是线粒体生成 O₂⁻· 的主要来源,以下的实验证实了这一论点:①阻断电子由 Cyto b 流向 Cyto C₁ 的抗霉素 A 和阻断电子由 Cyto C 氧化酶流向分子氧的氰化物都能明显地加速 H₂O₂ 的生成;②阻断电子由 NADH-Q 还原酶流向辅酶 Q 的鱼藤酮能明显地抑制 H₂O₂ 的产生;③用缺乏内源性泛醌的线粒体膜和用不同量的泛醌重组试验显示,泛醌量和 H₂O₂ 的生成量间呈线性关系;④泛醌能非酶性氧化,由泛半醌(ubisemiquinone, QH·)自氧化形成 O₂⁻· (QH· + O₂ → Q + O₂⁻· + H⁺) (图 1-3)。

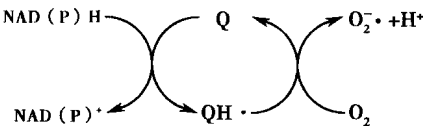


图 1-3 泛半醌自氧化形成 O₂⁻·

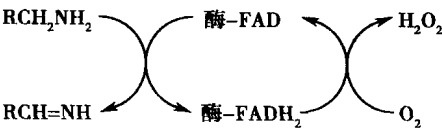
2. 黄素蛋白酶的酶性生成反应 由表 1-1 可知,与复合物 I 和 III 相比,虽然复合物 II 产生的 O₂⁻· 的量较少,但说明黄素蛋白酶能生成 O₂⁻·。同时还发现氰化物能抑制 Q-Cyto b 位点的 O₂⁻· 的生成,但不影响 NADH-还原酶位点 O₂⁻· 的产生,亦说明黄素蛋白酶能生成 O₂⁻·。

黄素蛋白酶生成 O₂⁻· 的机制与其辅酶 FMN 或 FAD 在氧化还原过程中产生了 FMN 或 FAD 半醌自由基有关。

FMN 或 FAD 半醌自由基可以将一个电子交给 O₂ 生成 O₂⁻·,正如核黄素可以自氧化生成 O₂⁻· 一样。

(二)单胺氧化酶^[9]

该酶紧密结合于线粒体外膜上,是含黄素蛋白的酶,有两个不同的型,称为 A 和 B,二者在成分和物理特性上虽然相同,但在免疫学上是相区别的两种蛋白,催化的主要化合物为单胺类,如苯胺、多巴胺、N-甲基苯胺和 N,N-甲基苯胺等及胍类如甲基胍、1,2-二甲基胍等,其反应过程为:



二、微粒体活性氧生成系统^[8]

微粒体活性氧生成系统指的是微粒体混合功能氧化酶系统,该系统由三个部分组成:细胞色素 p450(Cyto p450),NADPH-Cyto p450 还原酶以及增强底物与 Cyto p450 结合且便于电子从还原酶转移到 Cyto p450 的磷脂,其中 Cyto p450 和 NADPH-Cyto p450 还原酶都能生成活性氧。

(一)Cyto p450 的自氧化作用

肝内质网膜上的 Cyto p450 可以接受经 NADPH-Cyto p450 还原酶催化的、由 NADPH 供给的电子,并由此催化很多重要活性物质的合成、灭活以及催化外源性药物、毒物(包括致癌物)的生物转化。已证实在上述反应过程中有过氧化中间产物 $\text{Fe}^{3+}\text{-RO}_2^-$ 的存在且 Cyto p450 能自氧化生成 O_2^- 。推测 Cyto p450 的反应机制和产生 O_2^- 的可能途径如图 1-4。

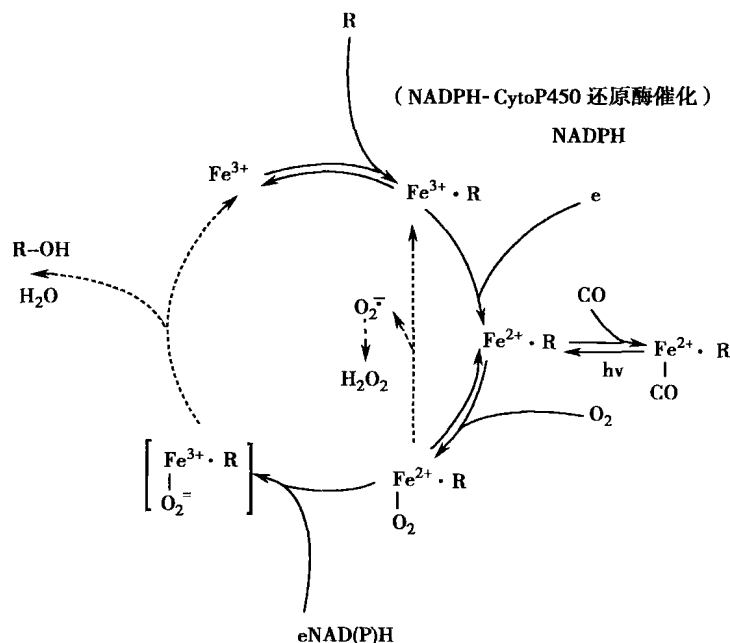


图 1-4 细胞色素 P450 反应机制

R:外源性物质;ROH:外源性物质的氧化产物

(二)NADPH-Cyto p450 还原酶的酶系统生成反应

加单氧酶系统的重组试验证明有 H_2O_2 生成。若以部分纯化的 NADPH-Cyto p450 还原酶进行试验;NADPH 在氧化时能生成 O_2^- 。若加入纯化的 Cyto p450 则可使 H_2O_2 生成增加,说明酶本身也能直接将电子传递给氧产生 O_2^- 。估计在微粒体生成的 O_2^- 有 50%是由黄素蛋白酶 NADHP-Cyto p450 还原酶产生的,另 50%由 Cyto p450 自氧化生成。

值得提出的是,该系统不但可在代谢过程中产生活性氧,它还可由 NADPH-Cyto P450 电子传递链直接活化某些外源性化合物成为自由基中间产物并进一步与分子氧作用产生 O_2^- 。这些外源性化合物如偶氮化合物($\text{RN}=\text{N-R}'$) (图 1-5)和硝基化合物(RNO_2) (图 1-6)等^[10]。