

- the transforming growth factor responsive elements in the WAF1/Cip1/P21 promoter [J]. *J Biol Chem*, 1995, 270(48): 28623-28628.
- [10] Johnston CJ, Williams JP, Okunieff P. Radiation-induced pulmonary fibrosis: examination of chemokine and chemokine receptor families[J]. *Radiat Res*, 2002, 157(3):256-265.
- [11] Hallahan DE, Geng L, Shyr Y. Effects of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) null mutation on radiation-induced pulmonary fibrosis and respiratory insufficiency in mice[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2002, 94(10): 733-741.
- [12] Song LW, Wang DW, Cui XM, et al. Kinetic alterations of angiotensin-II and nitric oxide in radiation pulmonary fibrosis[J]. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 1998, 17(2):141-150.
- [13] Molteni A, Moulder JE, Cohen EF, et al. Control of radiation-induced pneumopathy and lung fibrosis by angiotensin-converting enzyme inhibitors and an angiotensin II type 1 receptor blocker[J]. *Int J Radiat Biol*, 2000, 76(4): 523-532.
- [14] Haston CK, Zhou X, Gumbiner-Russo L. Universal and radiation-specific loci influence murine susceptibility to radiation-induced pulmonary fibrosis[J]. *Cancer Res*, 2002, 62(13): 3782-3788.
- [15] Mori M, Kida H, Morishita H, et al. Microsatellite instability in transforming growth factor-beta 1 type I receptor gene in alveolar lining epithelial cells of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2001, 24(4): 398-404.
- [16] Haase M, Geyer P, Appold S, et al. Down-regulation of SP1 DNA binding activity in the process of radiation-induced pulmonary fibrosis[J]. *Int J Radiat Biol*, 2000, 76(4): 487-492.

文章编号: 1001-098X(2003)02-0077-03

## 细胞色素 P-450 与电离辐射的关系

郝福荣, 金一尊

**摘要:** 电离辐射可以改变细胞色素 P-450(主要有 CYP1B1、CYP1A1、CYP4A11、CYP2E1 等)的活性和(或) mRNA、蛋白含量, 从而影响药物代谢和有毒化学物的生物转化过程及其生物学作用。细胞色素 P-450 参与了生物还原活性物 TMQ、AQ4N 在机体内的还原。动物实验和已有的临床研究表明, 调节 P-450 可以提高生物还原活性物的辐射增敏作用和抗肿瘤作用。

**关键词:** 细胞色素 P-450; 辐射; 生物还原活性物

**中图分类号:** Q506, Q559.9 **文献标识码:** A

## Relation between cytochrome P-450 and ionizing radiation

HAO Fu-rong, JIN Yi-zun

(Institute of Radiation Medicine, Fudan University, Shanghai 200032, China)

**Abstract:** Ionizing radiation can change the activity and/or the expression of mRNA, protein of Cytochrome P-450 (CYP1B1, 1A1, 4A11, 2E1), consequently influence the biotransformation and biological effects of the drugs and toxicoid metabolism. Cytochrome P-450 participated in the reduction of bioreductive drugs (including TMQ, AQ4N). Animal experiments and clinical trials show Cytochrome P-450 can be taken advantage to exert well sensitization for radiotherapy and chemotherapy.

**Key words:** cytochrome P-450; radiation; bioreductive drugs

1958年 Klingenberg M 和 Garfinkel D 发现一种

收稿日期: 2002-08-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号:30100042)

作者简介: ①郝福荣(1974-), 男, 中国人民解放军第145医院(山东省莱阳市, 265200)医师, 博士研究生, 主要从事细胞色素 P-450 与药物代谢的研究。

②金一尊(1939-), 女, 复旦大学放射医学研究所(上海, 200032)研究员, 博士生导师, 主要从事肿瘤增敏药物研究。

细胞色素, 其还原型与一氧化碳气体结合只在 450nm 处出现一个强吸收峰, 因此取名细胞色素 P-450(以下简称 P-450), P 代表色素。P-450 是一个多基因家族, 属于含血红素的内源性或可诱导性氧化酶类。在体内, 它是多种内源性物质、药物代谢的主要酶类(包括正常组织和肿瘤细胞中抗肿瘤药物的代谢), 同时可活化或灭活许多致癌物。因而

P-450 在肿瘤发生、发展中起重要作用,并可影响肿瘤治疗效果和药物的毒副作用。P-450 按核苷酸和氨基酸序列的同源性分成家族、亚家族和酶个体三级,以 CYP 代表 P-450 蛋白(小鼠和果蝇用 Cyp),后面加正体阿拉伯数字、大写英文字母和阿拉伯数字分别表示家族、亚家族和酶个体。

近几年来,对 P-450 的研究已成为新药研究特别是药物代谢及放射生物学等学科研究的热点。

## 1 P-450 与电离辐射

### 1.1 P-450 与 UV(紫外线)

#### 1.1.1 CYP1B1、CYP1A1 与 UV

非黑素瘤皮肤癌是人类最常见的恶性肿瘤,日光中的 UV 是其致病因素。UV 照射皮肤产生 DNA 光合物,进而导致胞嘧啶(C)-胸腺嘧啶(T)和 CC-TT 突变,是 UV 诱发皮肤癌的主要原因。此外,UV 照射也可引起全身免疫系统改变。CYP1B1 是人皮肤主要的 P-450,定位于基底细胞和表皮细胞;CYP1A1 定位于表皮基底细胞层<sup>[1]</sup>。20 例人原代角质细胞培养后 UVB 照射 (20 mJ/cm<sup>2</sup>) 结果显示,CYP1B1 mRNA 的诱导性个体差异大(1.1~4.5 倍)。UVB 在 CYP1B1 基因转录激活后诱导 CYP1B1 表达,且该基因转录激活与芳香烃受体有关<sup>[2]</sup>。

#### 1.1.2 CYP4A11 与 UV

CYP4A11 在人角质细胞脂质代谢中起重要作用。离体实验表明,在对照或 UVB 照射条件下,人角质细胞中都未检测到 CYP4A11 mRNA,但未照射角质细胞微粒体中发现有两蛋白条带具有抗 CYP4A11 抗体免疫反应性(其中一条带与 CYP4A11 一致),UVA(紫外线 A)照射角质细胞 24h 后诱导 CYP4A11 mRNA 表达,并且两蛋白条带的免疫反应性增加。虽然 CYP4A11 在肝脏和肾脏催化脂肪酸  $\omega$  羟基化,但在培养的角质细胞微粒体中没有观察到月桂酸的  $\omega$  羟基化。因而,CYP4A11 可能与防护 UVA 引起的氧化损伤有关<sup>[3]</sup>。

靶细胞 P-450 基因表达是人体肿瘤易感性和其他化学因素引起的疾病的重要决定因素。CYP1A1 和 CYP1B1 主要参与活化多环芳烃化学致癌物的 I 相代谢,CYP1B1 还参与芳香胺化学致癌物和其他环境化合物的 I 相代谢,UV 照射引起的 CYP1A1 和 CYP1B1 诱导可能增强人体对这些环境污染物的活化,从而使人皮肤更易患 UVB 和环境污染引起

的皮肤癌或过敏性皮炎和刺激物接触性皮炎。但是,CYP4A11 对 UVB 的作用,使 UV 所致 P-450 改变对皮肤的作用变得复杂化,需要进一步深入研究。

### 1.2 P-450 与 $\gamma$ 射线

在室温空气中用不同剂量  $\gamma$  射线 (1.38 Gy/min)照射小鼠发现,3Gy 以下小鼠肝脏 P-450 含量无变化,3~5Gy 照射后 24h P-450 含量开始增加,7~9Gy 时 P-450 含量下降( $P<0.05$ )。腹腔注射吩噻嗪可增强辐射对 P-450 的作用,并且吩噻嗪导致的 P-450 系统 [P-450R (NADPH-cytochrome P-450 reductases)、P-450、细胞色素 b5] 活化使动物的抗氧化潜能和清除自由基能力增强,从而发挥吩噻嗪的辐射防护作用<sup>[4]</sup>。

0.5~1 Gy <sup>60</sup>Co  $\gamma$  射线照射大鼠对其肝脏 CYP2E1 无诱导作用;3 Gy  $\gamma$  射线照射 24 h 内 CYP2E1 mRNA 增加 3.6 倍,而 CYP1A1 和 CYP3A 表达无变化,而且受照大鼠氯羟苯唑 (CYP2E1 底物)的代谢能力显著大于对照组;6~9 Gy 累积剂量  $\gamma$  射线照射由于射线引起肝脏损伤,CYP2E1 mRNA 只表现出轻微增加。3 Gy  $\gamma$  射线照射,大鼠血浆葡萄糖和胰岛素水平无变化,但每克湿重肝线粒体 DNA 量下降 50%。随着剂量的增加,肝脏顺乌头酸酶(线粒体能量代谢关键酶)活性下降 30%~90%。这说明导致细胞器功能紊乱水平的  $\gamma$  射线照射可诱导肝脏 CYP2E1,并可能与线粒体损伤有关,但与葡萄糖和胰岛素水平变化无关<sup>[5]</sup>。CYP2E1 活化许多前致癌物和前毒物,可以导致人体相应组织器官化学性损伤或多种肿瘤发生。日常生活中受  $\gamma$  射线照射的可能性小,因而  $\gamma$  射线照射对肝脏 CYP2E1 诱导所引起的实际危害意义并不大。CYP2E1 还参与抗癌药物甲苄胍的活化,所以  $\gamma$  射线照射可能提高甲苄胍治疗肿瘤的效果。

肝脏 P-450 含量下降和部分同工酶活性改变必然对药物代谢产生一定影响,但一定剂量  $\gamma$  射线引起 P-450 同工酶改变的实际意义需要结合有关化合物决定。

目前还没有临床肿瘤放疗中 P-450 影响常用抗癌药物代谢的报道,如: CYP1A1、CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C9、CYP2D6 和 CYP3A。这方面的研究将对指导临床放化综合治疗有应用价值。

## 2 P-450 和生物还原活性物

不同肿瘤类型有不同的 P-450 表达, 并且部分 P-450 在多种人肿瘤中过量表达, 因而 P-450 对传统细胞毒性药物代谢的影响使其效应改变, 影响肿瘤治疗疗效。生物还原活性物是实体瘤内乏氧肿瘤细胞(对放疗和化疗敏感性差)的选择性细胞毒前药, 在乏氧条件下经体内特种还原酶还原产生细胞毒性代谢物, 可以增强放疗和化疗效果; 正常氧合组织特别是肝脏, 不产生乏氧条件下的细胞毒性代谢物, 可以减轻正常组织细胞的损伤, 因而前景十分诱人。P-450 是生物还原活性物重要的还原酶之一。下面分述与 P-450 相关的几种生物还原活性物的研究近况。

## 2.1 醌类

### 2.1.1 TMQ(2,3,5,6-四甲基-1,4-苯醌)

大鼠离体肝细胞研究发现, TMQ 可以通过超氧化物阴离子自由基和过氧化氢引起 DNA 单链断裂。TMQ 能与苯巴比妥诱导的大鼠肝脏微粒体 P-450 代谢活化位点结合, 发生单电子还原而产生半醌自由基 TMSQ。P-450 抑制剂 SK&F525-A (proadifen hydrochloride, 盐酸双苯戊二氨酯) 强烈抑制 TMSQ 形成, 而不影响 P-450R 活性, 这表明 P-450 介导 TMQ 的生物转化。用纯化酶、SK&F 525-A 和抗苯巴比妥诱导的 P-450 抗体研究发现, TMQ 还原成 TMSQ 是 CYP1B1 特异性的作用。SK&F 525-A 和抗苯巴比妥诱导的 P-450 抗体可以大大降低微粒体中的苯巴比妥作用<sup>[6]</sup>。CYP2B 亚家族易受苯巴比妥诱导, 人体中与大鼠 CYP2B1 相应的是 CYP2B6, 它们的氨基酸序列有 76% 的相似性。CYP2B6 主要分布于人体正常肝脏组织, 肺癌组织中没有检测到 CYP2B6 蛋白, 其他人肿瘤组织 CYP2B6 表达情况还未见报道。人体内 TMQ 的还原酶是不是 CYP2B6, 能否通过苯巴比妥调节 TMQ 在人体内的活化还有待研究。

### 2.1.2 AQ4N{1,4-bis[2-(dimethylamino-N-oxide)ethyl]amino-5,8-dihydroxyanthracene-9,10-dione}

烷胺蒽醌二-N-氧化物(alkylaminoanthraquinone di-N-oxide)AQ4N 没有内在的 DNA 亲和力, 毒性低。然而, 在体外乏氧条件下 AQ4N 可以还原成 DNA 亲和剂, 细胞毒性增强 1 000 倍, 其作用机制是 AQ4N 插入 DNA 和双链 RNA, 抑制 DNA、RNA 聚合酶和 I 型、II 型拓扑异构酶<sup>[7]</sup>。用高效液相色谱研究大鼠肝脏表明, AQ4N 通过双电子还原形成单

N-氧化物 AQM, 再经双电子还原形成活性细胞毒产物 AQ4。AQ4N 的还原反应发生于微粒体, 并依赖于乏氧条件和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸的存在, 进一步研究证实该反应由 CYP2B 和 CYP2F 催化<sup>[8]</sup>。人体 AQ4N 代谢与 CYP3A 有关。AQ4N 的 N-氧化物部分与 P-450 的还原型血红素中心相互作用, 催化 N-O 键断裂, 氧可以竞争结合还原型血红素, 从而抑制 AQ4N 还原。P-450R 参与了还原反应的电子传递过程, 但它不能单独催化 AQ4N 还原<sup>[9]</sup>, 其还原产物 AQ4 在有氧条件下稳定。另有研究表明, CYP1A1 也还原 AQ4N。体内研究显示, 在促进短暂缺氧和/或减少有氧肿瘤细胞比例情况下, AQ4N 抗肿瘤活性明显。与传统的生物还原剂不同, 利用乏氧肿瘤细胞中的还原环境和还原氮氧化物的优势, 即使导致生物还原的乏氧是短暂的, 或活性化合物一旦形成并扩散离开肿瘤乏氧区, 产生的代谢产物仍然具有活性, 而且活性化合物的 DNA 亲和特性会保证它们在肿瘤中的定位<sup>[10]</sup>。

从荷瘤小鼠体内迅速分离的肿瘤细胞在乏氧条件下培养, CYP3A 蛋白水平增加, 同时 CYP3A mRNA 下降。这说明某种稳定因子降低了 CYP3A 蛋白更新速率却未影响 CYP3A mRNA 转录效率。目前, 正在对食管癌(表达 CYP3A)患者进行 AQ4N I 期临床试验<sup>[11]</sup>。

现已发现, 人肺癌和部分乳腺癌组织过量表达 CYP3A 和 CYP1A1 mRNA 和(或)蛋白, 结肠癌组织过量表达 CYP3A mRNA 和(或)蛋白, 并且已检测到 CYP1A1 活性, 肝癌组织 CYP3A 蛋白水平比正常组织低<sup>[12]</sup>。人体中许多正常组织也表达 CYP3A 和 CYP1A1, 但 AQ4N 的活化具有乏氧依赖性, 因而 AQ4N 对肺癌、结肠癌、乳腺癌和肝癌组织的乏氧区可能产生选择性增敏和抗肿瘤作用。乏氧引起的 CYP3A 蛋白稳定增强可能促进这种作用。

## 3 前景与展望

动物实验和已有的临床研究表明, P-450 活化生物还原活性物治疗肿瘤的前景十分诱人, 但 P-450 在人体内活化生物还原活性物的作用以及与放疗、化疗合用的效果还需临床试验的进一步证实和资料积累。现有资料提示, AQ4N 是最具潜力的肿瘤乏氧细胞选择性或 P-450 选择性生物还原活性

(下转第 83 页)

- 818.
- [6] Chute JP, Clark W, Saini A, et al. Rescue of hematopoietic stem cells following high-dose radiation injury using ex vivo culture on endothelial monolayers[J]. *Mil Med*, 2002, 167(2 Suppl): 74-77.
- [7] Perkins AC. Enrichment of blood from embryonic stem cells in vitro[J]. *Reprod Fertil Dev*, 1998, 10(7-8): 563-572.
- [8] Jackson KA, Mi T, Goodell MA. Hematopoietic potential of stem cells isolated from murine skeletal muscle[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(25): 14482-14486.
- [9] Na Nakorn T, Traver D, Weissman IL, et al. Myeloerythroid-restricted progenitors are sufficient to confer radioprotection and provide the majority of day 8 CFU-S [J]. *J Clin Invest*, 2002, 109(12): 1579-1585.
- [10] Hudak S, Leach MW, Xu Y, et al. Radioprotective effects of flk2/flt3 ligand[J]. *Exp Hematol*, 1998, 26(6): 515-522.
- [11] Neta R, Perlstein R, Vogel SN, et al. Role of interleukin 6 (IL-6) in protection from lethal irradiation and in endocrine responses to IL-1 and tumor necrosis factor [J]. *J Exp Med*, 1992, 175(3): 689-694.
- [12] Booth D, Haley JD, Bruskin AM, et al. Transforming growth factor- $\beta$ 3 protects murine small intestinal crypt stem cells and animal survival after irradiation, possibly by reducing stem-cell cycling[J]. *Int J Cancer*, 2000, 86(1):53-59.
- [13] Rodgers KF, Xiong S, diZerega GS. Accelerated recovery from irradiation injury by angiotensin peptides [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2002, 49(5): 403-411.
- [14] Bisht KS, Prabhu S, Devi PU. Modification of radiation induced damage in mouse intestine by WR-2721 [J]. *Indian J Exp Biol*, 2000, 38(7): 669-674.
- [15] Rekha PS, Kuttan G, Kuttan R. Effect of herbal preparation, brahma rasayana, in amelioration of radiation induced damage[J]. *Indian J Exp Biol*, 2000, 38(10): 999-1002.

(上接第 79 页)

物。目前,对临床应用的生物还原活性物在肿瘤内活化的关键酶是不是 P-450、是哪一种 P-450 参与活化,以及肿瘤组织 P-450 的表达情况等尚未明确。通过对上述问题深入研究,可指导放疗增敏药物在临床的应用,也可以通过诱导 P-450 或经转基因技术表达特定的 P-450,使生物还原活性物更好地发挥辐射增敏和抗肿瘤作用。P-450 基因导向的酶前药治疗在提高其安全性和有效性方面有极大的优势。此外还可指导前药设计,这包括根据 P-450 活性位点地形学分析、设计最配构型前药,明确前药功能性精细结构以预防非最适位点代谢或非期望 P-450 代谢。

这些思路也可以拓展到其他依赖于 P-450 代谢的抗癌药物或与 P-450 有密切关系的疾病的治疗。

#### 参考文献:

- [1] Katiyar SK, Matsui MS, Mukhtar H. Ultraviolet-B exposure of human skin induces cytochromes P450 1A1 and 1B1[J]. *J Invest Dermatol*, 2000, 114(2):328-333.
- [2] Villard PH, Sampol E, Elkaim JL, et al. Increase of CYP1B1 transcription in human keratinocytes and HaCaT cells after UV-B exposure[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2002, 178(3): 137-143.
- [3] Gonzalez MC, Marteau C, Franchi J, et al. Cytochrome P450 4A11 expression in human keratinocytes: effects of ultraviolet irradiation[J]. *Br J Dermatol*, 2001, 145(5):749-757.
- [4] Chandra D, Kale RK. Influence of gamma-rays on the mouse liver cytochrome P450 system and its modulation by phenothiazine drugs[J]. *Int J Radiat Biol*, 1999, 75(3):335-349.
- [5] Chung HC, Kim SH, Lee MC, et al. Mitochondrial dysfunction by gamma-irradiation accompanies the induction of cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) in rat liver[J]. *Toxicology*, 2001, 161(1-2):79-91.
- [6] Goeptar AR, te Koppele JM, van Maanen JM, et al. One-electron reductive bioactivation of 2,3,5,6-tetramethylbenzoquinone by cytochrome P450 [J]. *Biochem Pharmacol*, 1992, 43(2):343-352.
- [7] Patterson LH. Rationale for the use of aliphatic N-oxides of cytotoxic anthraquinones as prodrug DNA binding agents: a new class of bioreductive agent [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 1993, 12(2):119-134.
- [8] Raleigh SM, Wanogho E, Burke MD, et al. Rat cytochromes P450 (CYP) specifically contribute to the reductive bioactivation of AQ4N, an alkylaminoanthraquinone-di-N-oxide anticancer prodrug[J]. *Xenobiotica*, 1999, 29(11):1115-1122.
- [9] Patterson LH, Murray GI. Tumour cytochrome P450 and drug activation[J]. *Curr Pharm Des*, 2002, 8(15):1335-1347.