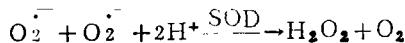


超氧化物歧化酶与癌

兰州大学生物物理教研组 郑荣梁

细胞在进行需氧代谢的过程中，分子氧能被许多生化反应还原成超氧阴离子自由基 O_2^- ，它又可进一步生成 H_2O_2 、羟自由基·OH等活性氧，它们对细胞有毒性。而超氧化物歧化酶SOD能够催化下列反应，把 O_2^- 清除掉：



因此 SOD 为一切进行氧代谢的生物维持生存所必需，成为一种防护性的酶。近年来发现 SOD 及 O_2^- 二者对癌症有着十分密切的关系。

SOD 主要有三种，其中之一含有铜和锌 (CuZnSOD)；另一种含有锰 (MnSOD)；第三种含有铁 (FeSOD)。

一、癌中的SOD-

1975 年意 Dionisi 等⁽¹⁾在活体中第一次发现肝癌线粒体中不含 SOD，艾氏腹水癌线粒体中只含有少量 SOD，同时美 Oberley 等⁽²⁾⁽³⁾也发现小白鼠正常肝粗提物中既含 CuZnSOD，也含 MnSOD，而艾氏腹水癌细胞中却只有 CuZnSOD，没有 MnSOD。为了检查癌细胞中 SOD 的减少或缺失究竟仅仅由于细胞的快速分裂，还是由于癌细胞本身特征，曾比较了正常小白鼠肝及切除后再生肝的 SOD，也比较了正常大鼠肝和几种肝癌，发现只有癌细胞的 MnSOD 才减少或缺失。此外还发现 L121 白血病细胞、小鼠 C₃H 乳腺癌、S91 黑色素瘤均无 MnSOD。我们⁽⁴⁾最近也发现被苯并芘诱发的叙利亚田鼠胚胎或纤维细胞也无 MnSOD，或只有痕迹。似乎 MnSOD 的丧失成为癌细胞所特有。在动物中至今唯有神经母细胞瘤含有 MnSOD，不过它的含量仍极少，也许它不是典型的癌细胞，它的许多特征象正常细胞，例如它能分化、能逆转。1978 年日 Yamanaka 等⁽⁵⁾发现人的髓细胞、单细胞和淋巴细胞白血病与正常成熟血液细胞相比，MnSOD 少或缺。1981 年瑞典 Marklund⁽⁶⁾从 24 小时内死亡的人体上或手术切除下来的正常器官 13

种、癌 30 种，发现各种癌 MnSOD 的含量均小于相应正常器官，CuZnSOD 含量也小。至此可以看到近年来在不同实验室，采用不同方法，从动物到人约五十种癌上测得的共同规律是动物癌细胞中没有 MnSOD，人癌细胞中没有或极少 MnSOD。

至于癌中 CuZnSOD 含量也有下降，但是这不是癌细胞的普遍特征，因为有些癌中其含量反而比正常组织的多，有些则不变。癌细胞中 CuZnSOD 的下降也许只与细胞分裂有关，因为快速分裂的细胞，例如手术切除后的再生肝 CuZnSOD 活性也很低，同时却具有 MnSOD，而快速分裂的 H₂b 肝癌 CuZnSOD 活性也低，却没有 MnSOD，这恰恰从另一个角度证明了癌细胞所特有的普遍性规律：无论自发的、移植的、病毒引起的、离体或在体的癌细胞中 MnSOD 均缺失或极少，而 CuZnSOD 只在一些癌中减少。

从逻辑上来说，如果癌的这一特征成立，那么当正常细胞缺失 MnSOD 时，这些细胞对于恶性转化作用理应更加敏感。对此推测有些间接的证据。三躯畸胎患者的血小板、红血球、多形核白细胞和淋巴细胞的 CuZnSOD 比相应正常对照增加 50%，而 MnSOD 活性下降 1/3，这些患者恶化成为急性白血病的可能性增加 10—30%。MnSOD 的下降也许与患者癌瘤遗传表现型的获得有关。Dubin-Johnson Sprinz 综合症患者癌发病率很高，同时缺乏 MnSOD（转引自⁽⁷⁾）。这些材料再次证明了 MnSOD 在癌变中的重要作用。

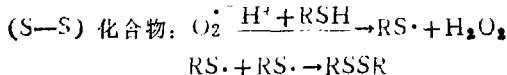
二、癌中超氧阴离子自由基

人们自然会关心 SOD 的基质 O_2^- 在癌中的作用。如果癌细胞线粒体中 O_2^- 的生成速率与正常细胞一样，那末 MnSOD 活性的降或缺必将使线粒体中 O_2^- 堆积，引起严重后果；如果癌线粒体中 O_2^- 生成速率小于正常细胞，那末 MnSOD 即使降低或缺少也不会造成影响。这样， O_2^- 的生成速率就成为一个更加重要的问题，已经证明癌细胞线粒体⁽¹⁾、

亚线粒体颗粒⁽⁷⁾和细胞核⁽⁸⁾的确能产生O₂[·]。莫里斯氏肝癌的O₂[·]比其它细胞高出五倍多⁽¹⁾。

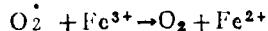
要弄清O₂[·]究竟在细胞中起什么作用，必须首先知道它的反应，在细胞中它可以进行三种主要反应：

(1) 使巯基(-SH)化合物氧化成双硫键



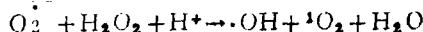
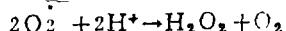
巯基化合物是许多种蛋白质的组分，当-SH基氧化成-S-S-化合物时，蛋白质的构象会发生改变，于是既可能使一些关键性酶激活，也可使之失活。例如有两种巯基酶：腺苷酸环化酶及磷酸二酯酶，前者与环一磷酸腺苷酸cAMP合成有关，后者与其断裂有关，而cAMP是细胞分裂的调节者。一些癌的上述两种酶及cAMP的水平都不正常。还可举出一些其它巯基酶和蛋白质的例子，癌的蛋白质二硫键还原酶活性增加，这可能是对于癌中O₂[·]引起的二硫键化合物的增加的一种反应。

(2) 与高铁离子反应形成低铁离子：



O₂[·]能把电子给予金属以改变金属的氧化状态，其结果会大大改变细胞的氧化还原势。许多酶反应需要金属作为辅因子，而氧化还原状态的改变将会影响到这些酶反应。也许在癌细胞中铁起着重要的作用，已经证明一种特殊的铁络合剂吡啶羧酸可逆地抑制哺乳动物细胞的生长，它只对转化细胞有影响，对正常细胞无作用。

(3) 发生歧化，形成H₂O₂、羟自由基·OH和单线态氧¹O₂：



第(2)条途径生成的Fe²⁺与现在生成的H₂O₂也可生成·OH：



·OH在生物系统中是最强的氧化基团。

癌细胞中确有·OH，二甲基亚砜是一种有效的·OH清除剂，它能使红白血病细胞⁽⁹⁾和前髓白血病细胞⁽¹⁰⁾发生生化上的和形态上的分化，使小白鼠神经母细胞瘤⁽¹¹⁾发生形态上的分化。·OH能激活鸟苷酸环化酶，而环3'，5'-一鸟一磷酸是细胞分

裂的调节者。已在恶性组织中发现鸟苷酸环化酶和环3'，5'-一鸟一磷酸。

有间接证据说明癌细胞中含有单线态氧¹O₂有一类化学物质称Retinoid，它们是·O₂的清除剂，能使离体或在体癌细胞生长下降，使大鼠软骨肉瘤、小鼠乳腺癌、S91黑色素瘤移植后生长抑制⁽¹²⁾。

总之，O₂[·]、¹O₂及·OH这些活性氧类对癌细胞的确可构成广泛的影响。

三、癌的治疗

以上许多材料已揭示MnSOD的缺失与肿瘤表现型有密切关系，我们可以利用这一特征从三个方面来治疗癌。

(1) 增加O₂[·]以杀死癌细胞

许多抗癌药物能产生O₂[·]，在离体实验中已证明博莱霉素、道诺霉素和阿德里亚霉素通过伴随着脂类过氧化的氧化还原环而产生O₂[·]⁽¹³⁾，顺便提及，这儿发生的脂类过氧化作用可能正是这些药物引起心肌中毒的原因。有人⁽¹⁴⁾指出具有高度效力的含配抗癌药，如属于苯并蒽醌类的阿德里亚霉素、道诺霉素、卡红霉素、玉红偶氮、诺加霉素、阿克拉辛霉素A和司迪夫霉素；属于氮杂环酮类的丝裂霉素C和链黑菌素；属于紫醌的黄种花醌，它们与哺乳动物微粒体相作用而起着自由基载体的作用。这些醌类药物使从还原性辅酶Ⅰ到分子氧上的电子流增加。这些药物自由基由于对核酸的高度亲和力和选择性的结合，可以直接或通过活性氧，例O₂[·]或·OH而发挥使细胞中毒的作用，所以有相当多的抗癌药似乎是通过O₂[·]来起作用的。

另一方面，O₂[·]又反过来加强抗癌药物的作用。例如博莱霉素在离体实验中能使DNA链断裂，这一效应能被加入的黄嘌呤—黄嘌呤酶系统加强，而这一系统是产生O₂[·]的。当加入SOD后，这一系统对DNA链断裂的加强效应就彻底消失。可见O₂[·]能加强博莱霉素对DNA链断裂的效应⁽¹⁵⁾。还发现博莱霉素使DNA降解的反应需要氧和铁的参予。还原剂抗坏血酸盐、H₂O₂和O₂[·]都能大大地加剧DNA降解。已观察到博莱霉素与Fe²⁺能产生·OH。

(2) 抑制CuZnSOD

有一种物质名叫二乙基二硫氨基甲酸钠(DDC), 它能抑制CuZnSOD而不抑制MnSOD, 正常细胞受到DDC处理后, 因还保留着MnSOD以防止O₂⁻的毒性, 应该能存活; 而癌细胞受到DDC处理后, MnSOD原来就缺乏, CuZnSOD又受到很大抑制, 应该易于死亡。发现DDC确能提高博莱霉素的抗癌药效⁽¹⁶⁾。我们⁽⁴⁾发现受苯并芘诱变过的叙利亚田鼠成纤维细胞BP6T用3mM DDC处理1.5小时后, SOD活性被抑制80%。在较高氧分压中, DDC对癌的杀死效果更好。我们⁽¹⁷⁾又发现当DDC在10⁻⁶—3×10⁻³M的浓度范围内, DDC的毒性有双相性, 10⁻⁴M反而比10⁻³M的毒性强, 10⁻⁴M时DDC无论对癌细胞的生长和DNA的合成都有较大的抑制。也许DDC可以用作抗癌药或癌放疗中的致敏剂。

(3) 由于细胞分裂越快的癌细胞SOD下降得越多⁽³⁾⁽⁷⁾, 癌细胞SOD的活性与生长率之间有相应关系, 因此提高SOD活性也许能抑制细胞分裂。由于SOD分子量大不能进入细胞, 所以这一推论难予检验。但是把CuZnSOD经静脉或肌肉注入患艾氏腹水癌或肉瘤180的动物中, 能延长生命(转引自⁽¹⁸⁾)。这必须归因于清除了细胞外的O₂⁻, 而这细胞外的O₂⁻可能是产生于细胞内的, 因为超氧阴离子自由基具有高度扩散性, 当然也可能来源于癌细胞外的嗜中性细胞以及其它血液成份。我们⁽¹⁹⁾为了克服SOD不易穿过细胞膜的缺点, 采用多层脂质体微囊技术, 把SOD包在脂类中, 使之穿过膜, 并测定细胞内部的SOD活性, 确认外源性SOD已进入细胞内部, 但是未能发现外加的SOD能抑制BP6T癌细胞的DNA合成。有人利用一些具有SOD活性的低分子化合物, 许多铜配位化合物具有SOD活性, 某些铜配位化合物同时具有抗癌作用。例如5代α-甲酰吡啶半缩三氨基脲的铜络合物、[苯乙二醛双(4-甲-3硫半缩二氨基脲)]铜I、α-(N)-甲酰杂芳硫半缩二氨基脲类。有一种铜配位键化合物名叫[3,5-二异丙基水杨酸酯]₂(简写CuDIPS), 具有SOD活性, 由于它分子量小、脂溶, 易于穿过细胞膜变成细胞内O₂⁻的清除剂, 它能使移植艾氏癌细胞的小白鼠存活时间显著延长、减少癌的体积, 延迟转移⁽²⁰⁾。

至于癌中MnSOD活性为什么不正常, 其原因至今尚不明。

参 考 文 献

- [1] D. Dionisi et al, Biochem., Biophys., Acta, 403, 292, 1975.
- [2] S. K. Sahu et al, J. Natl. Cancer Inst., 58, 1125, 1977.
- [3] L. W. Oberley et al, ibid, 61, 375, 1978.
- [4] S. A. Lesko, P. O. P. Ts'o, S. Yang, R. Zheng (郑崇梁), in "Free Radicals, Lipid Peroxidation and Cancer", D. C. H. McBrien et al eds., Academic Press, London, 1982.
- [5] N. Yamanaka et al, in "Biochemical and Medical Aspects of Active Oxygen", O. Hayashi et al eds., P. 183, Baltimore, University Park Press, 1978.
- [6] S. Marklund et al, in "Oxygen and Oxygen Radicals in Chemistry and Biology", M. A. J. Rodgers et al eds., Academic Press, P. 693, 1981.
- [7] I. B. Bize et al, Cancer Res., 40, 3686, 1980.
- [8] G. M. Bartoli et al, Biochem., Biophys., Acta, 497, 622, 1977.
- [9] C. Friend et al, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 68, 378, 1971.
- [10] S. J. Collins et al, ibid, 75, 2458, 1978.
- [11] X. Kimhi et al, ibid, 73, 462, 1976.
- [12] R. Lotan et al, J. Natl. Cancer Inst., 59, 1717, 1977.
- [13] J. Goodman et al, Biochem. Biophys. Res. Commun., 77, 797, 1977.
- [14] N. R. Bachur et al, Cancer Res., 38, 1745, 1978.
- [15] R. Ishida et al, Biochem. Biophys. Res. Commun., 66, 1432, 1975.
- [16] P. S. Lin et al, The Lancet, 7, 777, 1979.
- [17] R. Zheng (郑崇梁), S. A. Lesko, in Press.
- [18] L. W. Oberley et al, Cancer Res., 39, 1411, 1979.
- [19] S. A. Lesko, R. Zheng (郑崇梁), in Press.
- [20] G. R. Buettner et al, 同[6], P. 641.

(1982年9月22日收稿)