

脂质过氧化物与肿瘤

杭州第一医院内科 李国熊 综述

浙江医科大学生化室 李英 审校

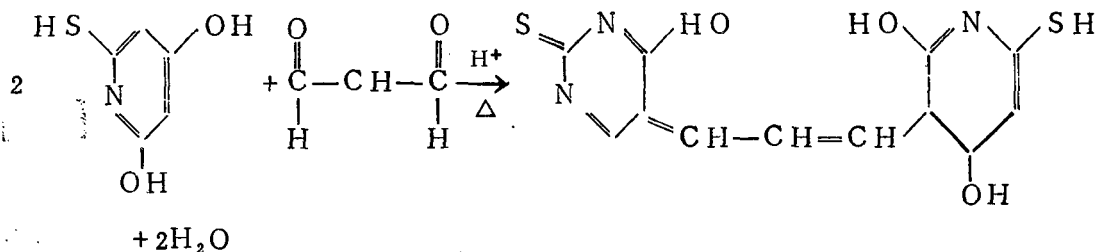
脂质过氧化物 (Lipid peroxidant, LPO) 是指活性氧与多不饱和脂肪酸作用产生的丙二醛等产物, 它与衰老和多种疾病如肿瘤、休克、心肌梗塞、动脉粥样硬化、自身免疫性疾病等有密切关系、目前已建立多个与 LPO 有关的学科, 如自由基生物学和自由基医学等来探讨 LPO 在疾病中的作用及其机制。本文主要讨论 LPO 与肿瘤的关系。

一、LPO 与氧自由基

生物体内许多反应都要有氧才能进行。线粒体膜上存在的某些酶系能以 O_2 为接受体催化单电子传递生成超氧阴离子 $O_2^{\cdot-}$, $O_2^{\cdot-}$ 再分步相继接受 3 个电子和 4 个质子, 通过 H_2O_2 和羟自由基 $\cdot OH$, 最后还原成 H_2O , 不产生中间产物, 这就是所谓的氧四价还原途径, 它占组织总耗氧量的 95%; 另外 5% 氧在线粒体和微粒体等生物膜酶促或非酶促作用下, 通过一价还原产生 $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 和 $\cdot OH$ 等中间产物。 $\cdot OH$ 的产生需通过 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 两步才能完成。 $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 、 $\cdot OH$ 统称为活性氧, 其中 $O_2^{\cdot-}$ 和 $\cdot OH$ 因含有不配对电子, 又称为氧自由基, 可使生物膜上多不饱和脂肪酸过氧化。 $\cdot OH$ 的反应性比 $O_2^{\cdot-}$ 强, 具有更大的破坏性。在正常生理情况下, $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 分别被超氧化物歧化酶和过氧化物

酶/过氧化氢酶消除, 因而不存在大量的 $\cdot OH$, 只在某些病理生理过程中, $\cdot OH$ 才大量产生, 生物膜大量被过氧化, 引起一系列病理反应。

早在 1944 年 Kohn 和 Liversedge 就发现动物组织在有氧条件下能与硫代巴比妥酸 (TBA) 发生反应生成红色物质, Patton 认为与 TBA 反应的物质是丙二醛。后来 Sinnhuber 等的研究指出丙二醛和 TBA 反应的生成物与酸败的鲑肉油和 TBA 反应生成的物质相同, 证实了 Patton 观点, 同时阐明了在 TBA 反应中需二分子的 TBA 才能和一分子的丙二醛反应, 生成的红色物质 5, 5'—(1—丙烯—1—基—3—内鎗烯) 双 [2—硫代巴比妥酸], 吸收峰在 535nm, 但蛋白质、血红蛋白、唾液酸、胆红素、蔗糖、葡萄糖和铁离子等对吸收有干扰 (反应式见图一)。1962 年 Dahle 等对脂质过氧化历程作了如下推测: (1) 多不饱和脂肪酸 LH 在氧自由基 (主要为 $\cdot OH$) 作用下夺去一个氢原子成为带碳自由基脂肪酸 $L^{\cdot}$, (2) $L^{\cdot}$ 分子内相邻二个双键重排成共轭键, 与氧分子作用产生有机氧自由基 $LOO^{\cdot}$, (3) $LOO^{\cdot}$ 与 LH 作用形成脂类过氧化物并转移电子最后断裂形成丙二醛和其

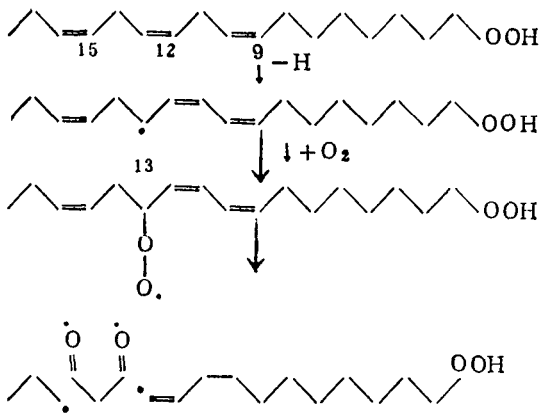


图一 TBA 与丙二醛反应

他带电子的产物, 其反应细节尚不清楚 (图二)。脂质过氧化程度的强弱与氧自由基多少是密切相关的, 测定氧自由基的含量可以间接地反映脂质过氧化作用水平。丙二醛通常只有 2% 以可挥发的游离形式存在, 其余为松散的结合形式存在, 在酸性加热情况下, 丙二醛即可被释放出来, 丙二醛的生成量与脂质过氧化程度成正比, 因此用 TBA 反

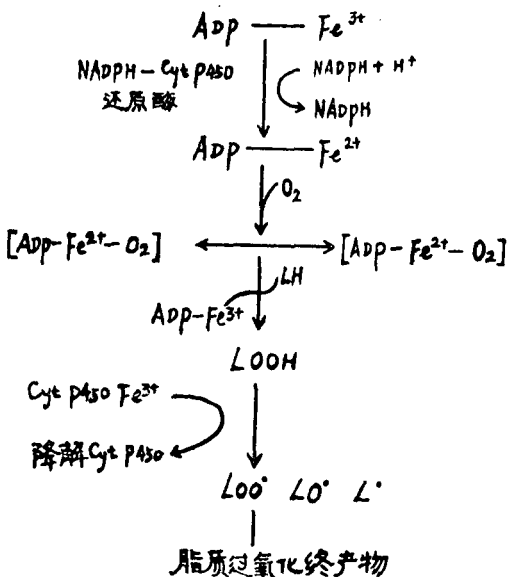
应来估量 LPO 的含量, 为一种体外测定灵敏可靠的方法。此外, 尚有一种体内测定方法, 即利用共轭二烯键在 233nm 的吸收值间接反映 LPO 含量。

在体内有 2 个脂质过氧化系统: 酶促的 NADPH 依赖脂质过氧化系统和非酶促的抗坏血酸依赖脂质过氧化系统, 二者均存在线粒体和微粒体等生物膜中, 其催化作用的共同特点是都需要 Fe^{2+}



图二 亚麻酸(18:3 Δ9, 12, 15)过氧化过程

介导, 在NADPH依赖脂质过氧化系统中, 需要NADPH、ADP、 Fe^{2+} 和NADPH—细胞色素P450还原酶参与, 它可被NADPH—细胞色素P450还原酶抗体抑制, ADP能增加 Fe^{2+} 作用。按脂质过氧化物生成多少可分为起动(Initiation)和扩增(Propagation)二个过程。起动过程产生大量的LPO前体, 终产物生成甚少; 而在扩增过程中迅速地把前体转化成终产物, 占总量的90% (见图三)。在抗坏血酸依赖的脂质过氧化系统中, 需抗坏血酸和 Fe^{2+} 参与, 其催化机制不甚清楚。



图三. NADPH依赖脂质过氧化示意图

二、脂质过氧化物与肿瘤

肿瘤组织LPO含量高低文献报道不一, 多数实验结果表明肿瘤组织LPO含量是降低

的, 如鼠原发性和移植性肝癌、肉瘤45、肉瘤180、鼠皮肤瘤、鼠移植性和人白血病、人神经胶质瘤、人乳腺癌、人子宫癌和人胃癌等。但也有不变, 如人结肠癌和升高的如移植性Lewis肺癌。为了阐明这一矛盾现象, 研究者们着手探讨肿瘤发展过程中自由基含量变化的动力学规律以便了解脂质过氧化物的变化动态。苏联Saprin于1966年首先研究了移植性鼠白血病La发展过程中脾脏自由基含量变化, 他们发现自由基开始时逐渐增加, 到第四天到最大值, 第五、六天开始下降, 在动物死亡时, 即七、八天低于正常。人胃癌也是如此, 在第一期自由基含量为正常胃粘膜的3倍, 从第三期开始胃癌组织自由基含量下降, 在第四期明显低于正常值。从Emanuel所列举的实践结果看, 无论是病毒诱癌如腺病毒12诱发地鼠皮下肉瘤, 还是化学诱癌如二乙基亚硝胺(DEN)、对二甲氨基偶氮苯(DAB)和乙酰氨基烯(AAF)诱发大鼠肝癌, 以及赵保路总结的七种移植肿瘤: 鼠腹水瘤37、鼠肉瘤37、鼠腿肌瘤、鼠B-16黑色素瘤、鼠G-1P黑色素瘤、鼠腹水-E肿瘤和鼠肉瘤180, 自由基变化都有这样一个规律可循: 先升高后降至正常或正常以下。这种自由基变化曲线对所有肿瘤的发生发展是否都具有普遍意义, 尚待论证, 但它提示细胞转化与自由基有关。

Cheeseman观察到细胞增殖越旺盛, LPO含量越低, 提出了组织LPO的降低是细胞增殖的一个表现, 而不是恶性细胞的一个特征。成年的和老年的大鼠肝LPO含量比胚胎的大鼠肝高; 再生肝的LPO含量比正常肝低, 细胞增殖旺盛的组织如骨髓、肠道粘膜、睾丸其LPO含量甚低, 而不能增殖的脑组织都能产生大量的LPO。生长速度快的Morris肝癌3924A和Ehrlich腹水瘤其LPO远比生长慢的肝癌44低得多。对125例人乳腺癌组织进行ESR测定, 发现随着肿瘤的增大, 其ESR相对值减少, 即自由基含量减少。脂褐素是脂质过氧化物与蛋白质分子交联物, 在肿瘤和增殖旺盛组织中较少见到。马润娣等以移植性小鼠肝癌H22和肉瘤180作为肿瘤模型, NIH和BALB/C小鼠作为实验动物, 比较荷瘤小鼠和正常小鼠的红细胞脆性以及肝脾LPO含量, 结果显示: 荷瘤小鼠红细胞脆性比正常对照小鼠低, 随着荷瘤时间延长, 其差异更加明显; 肿

瘤组织LPO含量较正常组织低,随着肿瘤生长时间延长,其LPO含量下降也更加明显,荷肝癌和肉瘤180小鼠的肝组织LPO含量明显低于正常小鼠肝,但脾组织未见变化。

肝癌细胞的磷脂含量比正常肝少50%,多不饱和脂肪酸也显著减少,尤以花生四烯酸和二十二碳六烯酸最为明显。把花生四烯酸加到神经胶质瘤细胞匀浆中保温后可使LPO含量升致正常水平,同时降低了肿瘤细胞的分裂速度。用DEN和DAB诱发大鼠肝癌过程中,P450含量先升高后降致正常水平以下,大鼠胚胎肝的NADPH—P450还原酶活性显著地低于成年和老年鼠的肝组织,移植性的肝癌和DAB诱发的原发性肝癌除了NADPH—P450还原酶活性比正常肝低外,抗坏血酸依赖的脂质过氧化活性也低。 α -生育酚能显著抑制组织脂质过氧化,且能促进细胞增殖,它在再生肝和肝癌组织中的含量大大地超过对照组织。如果在正常大鼠肝微粒体抗坏血酸依赖的脂质过氧化系统中加入小鼠淋巴瘤的微粒体,脂质过氧化程度随加入癌细胞微粒体的数量增多而减少,但把正常大鼠脑微粒体加入这个系统却不能改变脂质过氧化程度,这说明瘤细胞具有较高的抗氧化能力,而不能增殖的大脑却没有或只有极低的抗氧化能力。因此Cheeseman认为肿瘤组织和再生肝LPO含量降低的主要原因是①底物多不饱和脂肪酸减少,②脂质过氧化催化系统活性降低,③抗氧化能力强。体外实验表明LPO能抑制微管与秋水仙素结合,抑制纺锤体形成;能抑制腺苷酸环化酶活性,减少cAMP生成;能抑制S-腺苷甲硫氨酸脱羧酶及鸟氨酸脱羧酶活性,减少多胺生成;抑制RNA降解,这个现象在肝癌细胞中更加明显。纺锤体的形成是细胞分裂增殖时所必需的;cAMP和多胺具有促进细胞增殖作用。

三、肿瘤发生生长过程中影响脂质过氧化物因素:

许多实验提示,肿瘤组织前列腺素合成增加且促进肿瘤的生长,如果服用前列腺素合成抑制剂消炎痛,能抑制肿瘤生长。花生四烯酸是前列腺素合成的主要原料,在子宫颈癌组织中,利用花生四烯酸合成前列腺素的作用增强,而LPO生成减少。反之LPO生成增加则能抑制前列腺素的合成。Fujimoto把抗坏血酸和 Fe^{2+} 加入兔骨髓

质细胞的保温系统中,在促进LPO生成的同时,能显著地抑制前列腺素合成。12-邻-十四酰佛波-13-乙酰(TPA)和欧瑞香脂(Mezeirein)是很强的促癌剂,能促进豚鼠胃平滑肌细胞和人成纤维细胞的前列腺素合成,并能使小鼠表皮LPO含量于4小时内开始下降,22~24小时达最低值;用非促癌剂佛波时对表皮LPO含量没有影响;如果用抗促癌剂醋酸肤氢松则能阻止TPA降低表皮LPO作用。在1,2-二甲胂(DMH)诱发ICR小鼠大肠癌过程中,大肠粘膜LPO含量明显比正常低,而前列腺素含量显著升高,如喂低硒饲料,能使小鼠大肠粘膜等前列腺素含量升高至少提前7周,同时也促进了肿瘤发生。用二甲基苯并蒽(DMBA)诱导BALB/C雌性小鼠乳腺癌,喂含20%玉米油高脂饲料组的癌发生率远比喂含5%玉米油低脂饲料组高,高脂饲料组的乳腺癌LPO含量比低脂饲料组低。这些实验资料说明,促癌剂的促癌作用之一是通过降低组织LPO含量从而促进细胞增殖。

位于细胞膜上的磷脂酶C(PLC)能水解磷脂酰三磷酸肌醇(PIP_2)成三磷酸肌醇(IP_3)和甘油二酯(DG)。 IP_3 和DG可作为细胞内第二信使,分别促进细胞钙库释放 Ca^{2+} 和激活蛋白激酶C,使细胞内发生一系列变化引起细胞的增殖。把肝细胞与抗坏血酸和 Fe^{2+} 共育,LPO含量提高10倍,而PLC活性几乎测不到;如果在此之前先与PLC共育30分钟,则LPO含量降低45%。因此推测LPO对细胞生长控制可能通过PLC活性调节。

用抗代谢药5-Fu治疗鼠移植性白血病,肝和脾的自由基含量显著提高,抗肿瘤药物亚德里亚霉素(Adriamycin)和柔红霉素能使小鼠心和肝组织LPO含量提高5~10倍。给Wistar大鼠和“August”大鼠喂0.6%二甲基偶苯致肝癌过程中,如同时喂0.3%抗氧化剂2,6-二叔丁基对甲酚(Ionol),12~15个月中未发现肿瘤,而单纯喂致癌剂的大鼠于第12个月已100%出现肿瘤。喂致癌剂如2,6-二叔丁基对甲酚的大鼠肝P450含量比单纯喂致癌剂的大鼠高,这意味着脂质过氧化作用的增强,LPO增多,抑制肝细胞增生。维生素E、C和微量元素硒能抑制小鼠移植性腹水型肝癌H22生长和降低宿主血清LPO含量。天然抗氧化剂植酸能占据 Fe^{2+} 所有的配位键,抑制 $\cdot OH$

产生 ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \cdot\text{OH}$), 从而减少多不饱和脂肪酸的过氧化, 因而它可作为多种食品保鲜剂。喂高铁饲料能引起细胞增殖, 促进DMH诱导NMRI小鼠大肠癌的发生。流行病学调查和动物实验表明植酸具有抗大肠癌的作用。我们的研究也发现, 给Wistar大鼠2%植酸饮水3周, 能显著地降低肝和大肠粘膜组织LPO含量; 在注射DMH诱发ICR小鼠大肠癌过程中, 同时饮用1%和2%植酸能明显抑制肿瘤发生和浸润; 但同时饮用植酸的小鼠大肠粘膜LPO含量比单纯用DMH小鼠高。Deschner给SD大鼠尾静脉注射甲基偶氮氧甲醇(MAM)70mg/kg后第3~6小时, 大肠粘膜的LPO含量显著升高, 至第9小时含量降至正常水平。Shamsuddin用偶氮氧甲烷(AOM)致F344大鼠大肠癌, 同时给予1%植酸饮水, 可使肿瘤个数和体积减小, 细胞分裂速度降低2~3倍, 体外试验显示植酸能使 $\cdot\text{OH}$ 产生减少2.5倍。因此推测植酸抑癌的机理可能是它络合了 Fe^{2+} , 减少每次注入体内的化学致癌剂(如DMH、AOM)代谢转化成终致癌物时的氧自由基生成, 从而减轻了化学致癌剂的致癌作用。这样随着时间推移, 饮植酸的动物大肠癌恶性程度比单纯用致癌剂的动物要轻, 前者的肿瘤组织LPO含量就

比后者高, 肿瘤细胞的分裂速度比后者低。值得注意的是, 植酸的抑癌效应不仅表现在肿瘤的起始阶段, 而且也表现在促进阶段。F344大鼠连续肌肉注射AOM4周(8mg/kg体重/周)停止后2周给予2%植酸饮水, 至第8~9个月实验结束时, 肿瘤发生率远比对照低。我们也发现1%和2%植酸饮水能明显地抑制NIH小鼠移植性肉瘤180生长。

此外, Burke实验室发现: 喂缺锌饲料能抑制移植在BALB/C小鼠上的TEPC-138浆细胞瘤生长, 而喂缺锌饲料小鼠的肝和肿瘤组织LPO含量比正常饲料组高4倍以上。

综上所述, LPO与肿瘤的发生发展有密切联系, 这是抗氧化剂防治肿瘤的一个理论基础。但是, 肿瘤患者血清LPO增高, 而肿瘤组织的LPO降低; 与此相反, 肿瘤组织的抗氧化物质硒和维生素E含量增高, 而血清硒和维生素E都降低, 可能反映肿瘤细胞中促进增生和抑制增生的矛盾统一过程。由于肿瘤细胞生物膜磷脂/蛋白质比例减小, 胆固醇/磷脂比例升高, 流动性减小, 因此肿瘤患者血清LPO升高可能与肿瘤组织破坏, LPO渗出至血流有关, 但需要进一步探索。

(本文参考文献31篇从略)

(上接第260页)

值肝细胞癌AgNoRs计数显著高于正常肝组织及肝硬化, 且良恶性之间无交叉重叠现象。AgNoRs计数在间皮细胞增生和间皮瘤之间, 良性乳腺病变之间均显著不同。所以, AgNoRs计数对良恶性病变的判断有辅助价值。但AgNoRs计数对区别甲状腺良恶性滤泡性肿瘤意义不大。

2. 帮助肿瘤恶性程度分级

形态不能完全确定肿瘤的生物学特性, AgNoRs计数则能提供有价值的补充。Crocker及Jam-Mohamed等对非何杰金氏淋巴瘤进行研究, 发现Kiel分类属高度恶性者AgNoRs计数较低度恶性者明显增高, 且二者无交叉重叠。在不同分级的膀胱癌、唾液腺肿瘤及各种甲状腺肿瘤之间AgNoRs计数有显著差异。

3. 检测癌前病变

Crocker等发现肝硬化伴不典型增生者AgNoRs计数介于单纯肝硬化与肝细胞癌之间,

提示不典型增生为癌前病变。Mamaer等发现多数大肠绒毛状腺瘤AgNoRs计数明显增高, 与较高的癌变倾向相符。

4. 判断肿瘤的预后及疗效

Bostook等对狗自发性肥大细胞肿瘤(mast cell tumor)AgNoRs计数研究, 手术后观察14周, AgNoRs计数高4.9者73%死亡, 1.7~4.8者33%死亡, 低于1.7者皆存活。但对人类肿瘤尚未见报道。

小 结

AgNoRs染色方法简便易行, 适用范围广。初步研究结果表明, AgNoRs计数对肿瘤的良恶性鉴别、恶性程度分级及预后的判断有参考价值, 为肿瘤研究开辟了新的途径。AgNoRs技术在我国临床病理检查工作中刚起步, 值得大力提倡和推广。

(本文参考文献20篇从略)