

## CYP2E1 在乙醇性肝病发病机制中的作用

逢丹,梁惠,马爱国

(青岛大学医学院营养学研究所,山东 青岛 266021)

乙醇滥用一直是全球范围内重要的公共健康问题。长期大量饮酒可引发乙醇性肝病(ALD),包括乙醇性脂肪肝、乙醇性肝炎、乙醇性肝硬化。重度饮酒者中 80% 以上有一定程度的脂肪肝,其中 10%~35% 可发展为乙醇性肝炎,10%~20% 可发展为肝硬化<sup>[1-2]</sup>。从以往情况来看,欧美等国的发病率远远高于我国。在英、美等国,8%~14% 的人群乙醇依赖或乙醇中毒,1/3 的嗜酒者发展成为 ALD<sup>[3]</sup>。近年来,随着国内乙醇生产和消费量的迅速上升,我国 ALD 的发病率也呈逐年增高趋势,在一些地区甚至超过乙型肝炎成为发病率最高的肝脏疾病。在我国,一般人群的饮酒率为 59.5%,ALD 的检出率为 4.34%<sup>[4]</sup>。关于 ALD 发病机制有多种假说,其中乙醇诱导的氧化应激学说是目前较为关注的研究热点。如果能实现体内与抗氧化相关的酶类调控,将能减轻 ALD 的病理损伤程度。已有研究证实,多种途径参与并促成乙醇引发氧化应激状态。其中一条重要的途径是由来自细胞色素 P450 家族中的 CYP2E1 诱导产生的。因此本文对 CYP2E1 在乙醇性肝病发病机制中的作用进行综述,以阐明其病理生理作用及其与 ALD 发生发展的关系,为有效预防和治疗 ALD 提供研究思路。

### 1 细胞色素 P450

细胞色素是一类以铁卟啉(或血红素)作为辅基的催化电子传递的酶类,均有特殊的吸收光谱而呈现颜色,分为细胞色素 a、b、c、d 类。细胞色素 P450 氧化酶(CYP450)是一种 b 类细胞色素,因其在还原状态时能与一氧化碳结合,在波长 450 nm 处呈现最大吸收峰而得名。动物、植物、微生物体内均存在细胞色素 P450。其在人体内广泛分布于肝、肾、脑、皮肤、肺、胃肠道及胎盘组织,在哺乳动物和人体内,肝脏是细胞色素 P450 的主要存在场所,主要定位于肝微粒体的滑面内质网上。

从构成上看,细胞色素 P450 是一类相对分子质量为 4.8 万~6.0 万的蛋白,含有一个非共价结合的血红素。由于其结构中铁卟啉环中的铁可以进行  $Fe^{2+}$  与  $Fe^{3+}$  之间的可逆性转变,因而具有电子转移功能,可以接受黄素蛋白经辅酶 2 或辅酶 1 传递的电子,并将电子传递到由其本身和所携带的底物以及氧所组成的三重络合物中的氧原子上,再由激活状

态的氧完成对底物的氧化反应<sup>[5]</sup>。

细胞色素 P450 是肝脏代谢最主要的酶系之一,它的主要作用是参与各种内源性化合物(如类固醇激素、维生素 D、胆酸等)和外源性化合物(如药物、化学毒物、致癌物等)在体内的代谢过程,在肝脏的解毒功能中起关键作用。内源性和外源性化合物经过此酶的作用,发生生物转化,成为亲水性和极性更强的化合物,易被排泄。研究发现,90% 以上的药物或外源性毒物在体内的代谢、解毒都要通过肝微粒体细胞色素 P450 完成,但此过程亦可生成有毒的活性物质(如自由基、亲电子基等),导致肝损伤。此外,细胞色素 P450 还可被某些外源性化合物诱导或抑制,影响化合物在体内的代谢速度<sup>[6]</sup>。因此,细胞色素 P450 在药物及中毒性肝损伤的发病中可能起重要作用。

### 2 CYP2E1 的功能及特性

CYP2E1 是细胞色素 P450 家族中的重要成员,与乙醇代谢密切相关,近年来日益受到关注。CYP2E1 是细胞色素 P450 的乙醇诱导形式,它在非乙醇脱氢酶氧化途径中起重要作用,在乙醇性肝病的发病机制中起重要作用<sup>[7]</sup>。研究发现,CYP2E1 不仅参与很多药物在体内的代谢,而且还能催化许多前致癌物和毒物的活化过程<sup>[8]</sup>。CYP2E1 的功能活性直接影响肝脏的代谢和解毒功能,并可能与乙醇中毒性肝损伤的发病密切相关。因此,深入研究乙醇性肝损伤时 CYP2E1 的表达变化,将有助于探明疾病的发生机制,并为临床干预等提供重要线索。

在乙醇到乙醛的 3 条代谢途径中,ADH 和 MEOS 系统两条代谢途径最为重要。在一般情况下,乙醇通过 ADH 系统代谢,与 MESO 系统关系不大。当长期或大量摄入乙醇时,血液中乙醇浓度较高,MEOS 可被诱导并参与乙醇代谢。MEOS 代谢过程需要氧及细胞色素 P450 的参与。其中 CYP2E1 可被乙醇诱导,对乙醇有特异性的代谢作用。当大量或长期饮酒时,随着内质网增生,CYP2E1 活性升高 5~10 倍,经此途径代谢的乙醇量增加。

CYP2E1 已被很多研究者从大鼠或人的肝脏中纯化获得。在肝脏中,CYP2E1 主要存在于肝实质细胞的滑面内质网中。但是在肝脏的非实质细胞,如大鼠的 Kupffer 细胞中 CYP2E1 的量也可因乙醇诱导而增加。有人将液体乙醇饮食投入大鼠 2 周,发现乙醇饮食投入 3 d 后肝脏细胞色素 P450 总量明显增加,投入 10 d 后细胞色素 P450 总量达到稳态浓度,CYP2E1 量升高的趋势与细胞色素 P450 总量相同。细胞色素 P450 总量在乙醇饮食投入 3 d 后为对照组的

[收稿日期] 2011-02-26; [修订日期] 2011-04-07

[基金项目] 山东省科技厅科技攻关项目(2006GG2302002),青岛市科技局科技计划资助项目(08-2-1-5nsh)

[作者简介] 逢丹(1980-),女,硕士。

[通讯作者] 梁惠(1964-),女,博士,教授,博士生导师。

2 倍,CYP2E1 量则为对照组的 7 倍。因此认为 CYP2E1 是细胞色素 P450 中乙醇代谢的关键酶。

### 3 乙醇对 CYP2E1 的诱导形式

有人认为乙醇诱导 CYP2E1 活性升高机制是由于乙醇促进了 CYP2E1 蛋白的翻译后过程,因为乙醇并没有使 CYP2E1 mRNA 的值增加。但是也有研究结果显示,乙醇诱导后,随着 CYP2E1 的量增加,在大鼠、人和豚鼠的肝脏中,CYP2E1 mRNA 的表达量也升高<sup>[9-11]</sup>。因此,目前认为,乙醇对 CYP2E1 的诱导有两种形式。通常,当血液中乙醇浓度低时,乙醇或其他因子作用于 CYP2E1,对肝脏内 CYP2E1 转录物含量的影响很小,这种情况下主要通过增加 mRNA 翻译的效率或稳定翻译后蛋白而升高 CYP2E1 的活性。而当血乙醇浓度较高时,则通过增强 CYP2E1 的基因转录使 CYP2E1 mRNA 翻译增加而使其活性增高。乙醇对大鼠 CYP2E1 的消除无明显影响,大鼠 CYP2E1 的半衰期约为 72 h<sup>[12]</sup>。

除了乙醇可以诱导 CYP2E1 外,很多其他的因素也能诱导 CYP2E1,如化学毒物,具有肝毒性的药物,某些生理或病理状态。CYP2E1 在代谢乙醇和其他有毒物质时,多能产生毒性更强的中间产物,从而增强了嗜酒者对这些毒性物质的易感性。

### 4 CYP2E1 导致自由基生成与乙醇性肝损伤的关系

CYP2E1 的活化使反应性氧中间产物和脂质过氧化终产物生成增多,而 CYP2E1 参与的脂质过氧化反应是乙醇性肝损伤的重要机制之一。CYP2E1 有较强的 NADPH 氧化酶活性,可使乙醇氧化生成活性氧基团,如羟乙基根,从而启动细胞膜脂质过氧化作用和细胞因子释放。羟乙基基团的产生在体外试验性 ALD 中与脂质过氧化作用和肝脏损伤程度有关。

乙醇中毒大鼠肝微粒体 1-羟乙基自由基含量比正常大鼠微粒体高。在 Fenton 反应中,外源性 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 在微量铁离子作用下生成 OH 自由基,表示该物质可使乙醇氧化成 1-羟乙基自由基。乙醇氧化除了依赖 OH 自由基机制外,还可通过不受 OH 自由基清除剂影响的肝微粒体细胞色素 P450 催化的反应氧化。在缺乏铁离子的条件下,乙醇诱导细胞色素 P450 异构酶形成对乙醇氧化。由此可见,乙醇可通过两个途径产生 1-羟乙基自由基,一是通过外源性的 Fenton 反应生成 OH 自由基;二是形成细胞色素 P450 中间产物。

此外,CYP2E1 还可诱发氧化应激反应,氧化应激反应可导致细胞死亡或细胞凋亡。有研究表明,将 CYP2E1 基因导入正常时不表达 CYP2E1 的 HepG2 细胞,并用含浓度为 100 mmol/L 乙醇的培养液对这种 HepG2 细胞培养 2 d,结果出现凋亡细胞,而在对照组中未被转导的 HepG2 细胞则无此现象。可见 CYP2E1 与凋亡发生有着密切关系<sup>[13]</sup>。

有研究显示,乙醇摄入后大鼠肝脏活性氧(ROS)和丙二醛(MDA)含量显著增加,超氧化物歧化酶(SOD)活性明显下降,其变化趋势与 CYP2E1 蛋白表达相一致,这一结果提示 CYP2E1 表达增强与脂质过氧化反应及自由基生成增多密切相关。目前认为,乙醇肝毒性机制是通过肝微粒体细胞

色素 P450 代谢生成大量的游离基,后者攻击肝细胞膜上磷脂分子引起脂质过氧化,使生物膜受损;或与肝微粒体脂质和蛋白质等大分子发生共价结合,破坏肝细胞膜结构和功能,使蛋白合成障碍,最终导致肝细胞毒性损伤。

### 5 CYP2E1 抑制剂的研究进展

由上文可见,CYP2E1 的诱导表达可能是导致自由基大量生成、启动脂质过氧化反应的关键因素。自由基一旦过度生成,即可引起脂质过氧化、蛋白巯基氧化、DNA 氧化等多种严重后果,从而启动肝细胞损伤的一系列反应。这一结果也提示,如选择不同时机通过给予 CYP2E1 的抑制剂调控该酶系的活性表达,观察其是否具备肝脏保护效应,将是一条值得探讨的干预或保护途径,也为今后临床治疗中毒性肝损伤提供重要线索。

有人发现镇静药氯甲噻唑可用来预防和治理乙醇导致的肝损伤。体内实验表明,乙醇饮食诱导的大鼠 CYP2E1 活性增强可因同时食用氯甲噻唑而明显降低<sup>[14]</sup>。氯甲噻唑属于 CYP2E1 的特异性抑制剂。在饥饿状态下,CYP2E1 也被诱导,这时氯甲噻唑能特异性地抑制大鼠体内 CYP2E1 的转录。在欧洲很多国家用氯甲噻唑来处理乙醇的戒断症状。除了氯甲噻唑可抑制 CYP2E1 活性外,还有很多化学物质也可作为 CYP2E1 的抑制剂。大鼠体内实验表明,与噻唑有关的 YH439 也可有效地抑制 CYP2E1 的表达。还有两种 CYP2E1 抑制剂,如硫酸二丙烯基巴比妥和苯乙基异硫氰酸盐都能抑制试验性 ALD 的进展。最近有人提出,十字花科植物的种子和芽中含有天然的 CYP2E1 的抑制剂莱菔硫烷,如果食用这些植物将有望减轻乙醇性肝损伤<sup>[15]</sup>。

有研究表明,天然萜类化合物对乙醇或其他毒性物质造成的肝损伤可以起到一定的保护作用,分析可能与其抗氧化作用和抑制 CYP2E1 酶有关。龙芽葱木中提取到的三萜类物质齐墩果酸,能使乙醇模型组大鼠血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、三酰甘油、胆碱脂酶、MDA 降低。并且能使血清谷胱甘肽过氧化物酶和肝组织 SOD 活力升高,从而减轻肝脏的病理损伤。实验证明,齐墩果酸对 CYP2E1 有抑制作用<sup>[16]</sup>。牡蛎提取物对乙醇性肝病影响的临床研究表明,治疗组血清 ALT、AST、总胆红素、 $\gamma$ -谷氨酰转移酶均较对照组明显下降<sup>[17]</sup>。由于乙醇要经 CYP2E1 代谢,生成有毒的代谢产物,因而上述天然生物提取物的保肝作用,可能是通过对 CYP2E1 酶活性抑制来减少有毒代谢物的生成而实现的。

### 6 小结

关于 CYP2E1 对乙醇引发肝细胞损伤的作用,据目前研究状况来看,结论是肯定的,只是准确的作用机制尚不能明确。各国研究者通过对乙醇的肝细胞氧化应激、细胞因子的影响及诱导细胞凋亡等几方面的大量研究,取得了一定的研究进展,但均不能全面解释乙醇造成肝细胞损伤的机制,可见乙醇对肝细胞损伤的机制是多方面的和多层次的。上述各研究中仍有不足之处,许多涉及多个领域的基础性研究,

如氧化应激的精确作用机制、毒性作用代谢的后续步骤、细胞因子信号传导系统完整的传导通路、凋亡发生的精确机制,这些都需要今后进一步的研究工作来阐明。

**[关键词]** 肝病;乙醇中毒;细胞色素 P450 酶系统;综述

**[中图分类号]** R575 **[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1672-4488(2011)04-0285-03

### [参考文献]

- [1] REUBEN A. Alcohol and the liver[J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2007,23(3):283-291.
  - [2] MANDAYAM S, JAMAL M M, MORGAN T R. Epidemiology of alcoholic liver disease[J]. *Semin Liver Dis*, 2004,24(3):217-232.
  - [3] BRITTON A, McPHERSON K. Mortality in England and Wales attributable to current alcohol consumption[J]. *J Epidemiol Community Health*, 2001,55(6):383-388.
  - [4] 厉有名. 酒精性肝病的流行病学及自然史[J]. *中华肝脏病杂志*, 2010,18(3):171-172.
  - [5] McVICKER B L, TUMA P L, KHARBANDA K K, et al. Relationship between oxidative stress and hepatic glutathione levels in ethanol-mediated apoptosis of polarized hepatic cells [J]. *World J Gastroenterol*, 2009,15(21):2609-2616.
  - [6] PIRMOHAMED M, PARK B K. Cytochrome P450 enzyme polymorphisms and adverse drug reactions[J]. *Toxicology*, 2003,192(1):23-32.
  - [7] CEDERBAUM A I. CYP2E1——biochemical and toxicological aspects and role in alcohol-induced liver injury[J]. *Mt Sinai J Med*, 2006,73(4):657-672.
  - [8] ZANGAR R C, BENSON J M, BURNETT V L, et al. Cytochrome P4502E1 is the primary enzyme responsible for low-dose carbon tetrachloride metabolism in human liver microsomes[J]. *Chem Biol Interact*, 2000,125(3):233-243.
  - [9] YANO H, TSUTSUMI M, FUKURA M, et al. Study of cytochrome P4502E1 mRNA level of mononuclear cells in patients with alcoholic liver disease[J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2001,25(6 Suppl):2S-6S.
  - [10] CAO Q, MAK K M, LIEBER C S. Cytochrome P4502E1 primes macrophages to increase TNF-alpha production in response to lipopolysaccharide[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2005,289(1):G95-107.
  - [11] XU Y, LEO M A, LIEBER C S. DLPC attenuates alcohol-induced cytotoxicity in HepG2 cells expressing CYP2E1[J]. *Alcohol*, 2005,40(3):172-175.
  - [12] RONIS M J, BUTURA A, KOROURIAN S, et al. Cytokine and chemokine expression associated with steatohepatitis and hepatocyte proliferation in rats fed ethanol via total enteral nutrition[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2008,233(3):344-355.
  - [13] 李静,刘天会,尤红,等. 细胞色素酶 P4502E1 介导的氧化应激对人肝星状细胞的活化作用[J]. *中华肝脏病杂志*, 2010,18(8):576-580.
  - [14] GOUILLON Z, LUCAS D, LI J, et al. Inhibition of ethanol-induced liver disease in the intragastric feeding rat model by chlormethiazole[J]. *Proc Soc Exp Biol Med*, 2000,224(4):302-308.
  - [15] McCARTY M F. Inhibition of CYP2E1 with natural agents may be a feasible strategy for minimizing the hepatotoxicity of ethanol[J]. *Med Hypotheses*, 2001,56(1):8-11.
  - [16] SARAVANAN R, VISWANATHAN P, PUGALENDI K V. Protective effect of ursolic acid on ethanol-mediated experimental liver damage in rats[J]. *Life Sci*, 2006,78(7):713-718.
  - [17] 张博,张翠萍,田宇彬,等. 牡蛎提取物治疗乙醇性肝病的临床效果[J]. *青岛大学医学院学报*, 2010,46(2):122-124.
- (本文编辑 厉建强)
- 
- (上接第 284 页)
- [17] 裴凌鹏,惠伯棣,董福慧. 叶黄素改善老龄大鼠抗氧化功能的研究[J]. *中央民族大学学报*, 2007,16(3):197-201.
  - [18] ROHINI V, ELIZABETH F G, BILLY R W, et al. Consumption of 2 and 4 egg yolks/d for 5 wk increases macular pigment concentrations in older adults with low macular pigment taking cholesterol-lowering statins[J]. *Am Society Nutri*, 2009,90(5):1272-1279.
  - [19] KHACHINK F, DE MOURA F F, CHEW E Y, et al. The Effect of lutein and zeaxanthin supplementation on metabolites of these carotenoids in the serum of persons aged 60 or older [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006,47(12):5234-5242.
  - [20] RAJASHREE K, NIRANJALI D S, VIJAYA P V. Lutein protects HT-29 cells against Deoxynivalenol-induced oxidative stress and apoptosis: prevention of NF- $\kappa$ B nuclear localization and down regulation of NF- $\kappa$ B and cyclo-oxygenase-2 expression[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2010,49:50-60.
  - [21] 孙震,奚海燕,陈正行,等. 玉米蛋白粉中叶黄素和玉米黄素对小鼠巨噬细胞免疫调节活性的研究[J]. *食品科学*, 2006,27(11):505-509.
  - [22] HONG W K, BOON P C, TERI S W, et al. Modulation of humoral and cell-mediated immune responses by dietary lutein in cats[J]. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2000,73:331-341.
  - [23] RAMESH K S, REVATHI S, KIRK C K. Effects of dietary lutein and PUFA on PPAR and RXR isomer expression in chickens during an inflammatory response[J]. *Compar Biochem Phy*, 2010,157:198-203.
  - [24] PAULA F I, SHUGUANG J, DAVID S, et al. Immune function in elderly smokers and nonsmokers improves during supplementation with fruit and vegetables extract[J]. *Integrative Medicine*, 1999,2(1):3-10.
  - [25] 宋新娜,汪之项. 成人膳食类胡萝卜素摄入量估算值与 HPLC 测定值的比较[J]. *青岛大学医学院学报*, 2007,43(4):296-298.
- (本文编辑 厉建强)