· 综 述 ·

对氧磷酶 2 研究进展*

王 非¹综述,江 渝²审校

(第三军医大学:1. 学员旅 17 队;2. 基础部生物化学与分子生物学教研室,重庆 400038)

关键词:对氧磷酶 2;基因多态性;氧化应激;脂质代谢;动脉粥样硬化;绿脓杆菌感染

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.12.036

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)12-1410-03

对氧磷酶(paraoxonase, PON)基因家族包括三个成员: PON1, PON2, PON3, 三者具有高度的同源性^[1]。其中, PON1 的研究较为深入, 由于 PON2 在分布及生物学特性上与 PON1 和 PON3 有着较大的区别, 近年来相关的研究也逐渐增多。PON2 的基因产物具有抗氧化应激的特性, 可以调节脂质代谢、防止动脉粥样硬化、抵御绿脓杆菌感染, 其基因多态性可能与多种疾病有关。下面我们就 PON2 研究进展作一综述。

1 PON2 基因表达

PON2 位于人染色体 7q21.3 区域, 包括 9 个外显子和 8 个内含子, 编码产物为 355 个氨基酸的蛋白质, 分子量约为 43kDa。PON2 大约有 70% 的核苷酸序列和 65% 的氨基酸序列与 PON1 和 PON3 是一致的^[1]。由于 PON 家族的结构同源性, 从进化的观点上看, PON2 在这个家族中为最古老的成员, 其次是 PON3 和 PON1^[2]。PON2 在体内广泛表达, 在脑、心、肾、脾、肝、结肠、肺、小肠、肌肉等组织, 动脉壁上的内皮细胞、平滑肌细胞、巨噬细胞及血液白细胞上都可检测出 PON2 的表达^[2]。而 PON1 主要在肾脏、肝脏和结肠组织中表达, PON3 mRNA 也主要存在于肝脏和肾脏。另一个与 PON1 和 PON3 不同之处是, PON2 不能在高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)和低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)中检测出, 而主要分布在细胞质膜上^[2]。

2 PON2 基因多态性与疾病

PON2 基因多态性常见位点为 311 和 148, 编码区 311 位丝氨酸(Serine)与 148 位半胱氨酸(Cysteine)分别被替换为甘氨酸(Glycine)和丙氨酸(Alanine), 命名 S311G 和 C148A^[3]。自从发现 PON2 基因多态性以来, 发现其与许多疾病发生相关。早期的研究表明 S311C 多态性与冠心病、糖尿病患者的缺血性卒中、阿尔兹海默、先天免疫缺陷等疾病有关, G148A 多态性与血清低密度脂蛋白水平、空腹血糖及出生时体重相关^[4]。有研究发现 PON2 基因 S311C 和 G148A 多态性与 2 型糖尿病、心血管疾病及肾脏疾病发生无太大关联^[5-7]。由于种族差异、样本量大小、环境因素等带来的影响, 需要大样本多中心的前瞻性研究进一步探讨 PON2 基因多态性与疾病的关系。

3 PON2 与氧化应激

氧化应激是机体氧化水平超过抗氧化水平时, 活性氧簇(Reactive Oxygen Species, ROS)和活性氮簇等高活性的分子没有被及时清除而大量堆积, 造成机体损伤引起多种疾病的过程。近年来人们对 PON2 在细胞内抗氧化应激的作用进行了较为深入的研究。PON2 的抗氧化性最先由 Carey J. Ng 的研

究小组发现, 过表达 PON2 的 HeLa 细胞能显著降低过氧化氢及氧化磷脂诱导的细胞内氧化应激水平, 还能减少 LDL 的氧化修饰及单核细胞趋化性^[8]。用丁硫氨酸亚砷胺、7-酮基胆固醇、卵磷脂等氧化剂处理小鼠腹膜巨噬细胞(mouse peritoneal macrophages, MPM)后, PON2 mRNA 的水平显著增高, 同时, 提纯的 PON2 蛋白与 MPM 孵育, 可以减少细胞的脂类过氧化物含量和 LDL 的氧化修饰^[9]。在单核细胞向巨噬细胞分化的过程中, PON2 的表达(mRNA 和蛋白)及活性是增高的, 而灭活 NADPH 氧化酶后 MPM 上 PON2 的表达降低, 提示 PON2 表达可能是细胞对超氧离子产生增多的一种代偿性保护机制^[10]。此外, 在血管细胞中过表达 PON2 不仅能降低 ROS 的水平, 还能降低内质网应激诱导的半胱天冬酶(caspase)的激活^[11]。另有学者也在肠道及 Caco-2 细胞系中证明了 PON2 对氧化剂刺激的保护性作用^[12]。另一项研究观察了巨噬细胞中不同水平的氧化应激和 PON2 活性的关系, 发现 PON2 的活性呈现出 U 形双向性。当巨噬细胞的氧化应激处于低水平状态时, PON2 的活性与氧化应激水平呈反比, 而巨噬细胞的氧化应激水平高于对照组时, PON2 的活性才逐渐增高, Maayan Shiner 等推测这种效应可能与 PON2 的灭活和抗氧化特性有关^[13]。因此在细胞水平上抗氧化应激的能力是 PON2 的一个重要特性。

4 PON2 与脂质代谢

LDL 的氧化、巨噬细胞泡沫化和脂质蓄积是动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS)重要的发生发展因素。早期研究证实 PON2 能够降低细胞内氧化应激水平, 阻止细胞介导的 LDL 氧化修饰作用^[9]。Carey J. Ng 等发现 PON2 敲除小鼠与对照组相比, 血清 HDL、甘油三酯、血糖水平无明显差异, VLDL 和 LDL 的水平下降了 32%, 但 LDL 的炎症性能明显增强^[14]。从 PON2 敲除小鼠分离得到的 MPM 与对照组相比甘油三酯含量、合成速率和微粒体甘油二酯酰基转移酶 1(DGAT1)活性都显著增加。将 PON2 基因转染进之前得到的 MPM, 上述效应得到逆转。研究者们推测 PON2 可以通过抑制微粒体 DGAT1 及 NADPH 氧化酶的活性来减少巨噬细胞甘油三酯的蓄积和泡沫细胞的形成^[15]。另外, PON2 的表达还与巨噬细胞的胆固醇水平有关。高胆固醇血症患者的巨噬细胞中胆固醇含量增加而 PON2 表达降低, 应用阿托伐他汀治疗后能逆转这种现象, 巨噬细胞与乙酰化 LDL 孵育造成细胞胆固醇蓄积后, PON2 表达减少^[16]。另有研究指出未酯化的胆固醇能通过磷脂酰肌醇 3 激酶途径的激活上调巨噬细胞 PON2 的表达^[17]。

5 PON2 与动脉粥样硬化

PON2 参与了氧化应激、炎症反应、脂质代谢等 AS 形成的关键过程。大多数研究是在离体条件下从细胞水平观察 PON2 的生物学特性。近年来,人们建立了一些 PON2 转染及敲除的小鼠模型来探究 PON2 在体内抗 AS 的能力。Zhi-Gang She 等利用细菌人工染色体技术建立了 PON 转基因/ApoE 敲除小鼠模型,与 ApoE 敲除小鼠相比斑块更少,并且斑块具有更高的稳定性^[18]。同样的,Carey J. Ng 等给 apoE 敲除小鼠注射表达人 PON2 的腺病毒后,发现与对照组相比,前者的损害区域明显减小^[19]。而 PON2 敲除小鼠与野生型小鼠相比,AS 病变区域扩大了 2.7 倍^[15]。另一项研究表明 PON2 可以通过调节内质网应激条件下的钙离子稳态和细胞存活来阻止 AS 的加重进程^[20]。以上研究共同证实了,PON2 在 AS 的病理过程中起着非常重要的作用。

6 PON2 与绿脓杆菌感染

绿脓杆菌是一种能引起医院内感染和囊泡性纤维症(cystic fibrosis,CF)的条件致病菌,它分泌的 N-3-氧十二烷酰高丝氨酸内酯(N-3-oxododecanoyl homoserine lactone,3OC12-HSL)对细菌致病因子表达的调节和生物被膜的形成十分重要。PON 家族的抗氧化和抗炎特性能够灭活 3OC12-HSL 来防止绿脓杆菌的感染^[21]。为了明确 PON 家族各自在上述过程中起的作用,John F. Teiber 等^[22]分别测定了各基因水解 3OC12-HSL 的能力,发现 PON2 展现出最高的活性,PON2 PON1192R > PON1192Q > PON3。PON2 敲除小鼠与野生小鼠相比气道上皮细胞溶菌产物灭活 3OC12-HSL 的能力下降,过表达 PON2 能增强 3OC12-HSL 的降解^[23]。Sven Horke 等^[24]用小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 沉默 PON2 后也得到了相似的结论。Griffin PE 等^[25]观察了绿脓杆菌感染和 CF 患者支气管肺泡灌洗液中 PON2 表达之间的关系,发现 PON2 低水平的表达虽然不是造成绿脓杆菌感染的直接因素,却是一个早期预测 CF 患儿绿脓杆菌感染的敏感指标。

7 展 望

近年来研究证实了 PON2 在抗氧化应激、脂质代谢、防止动脉粥样硬化、抵御绿脓杆菌感染等方面的重要作用。但大多均为基础研究,关于 PON2 与临床的研究较少。基因多态性影响各种疾病的确切机制,外源性食物及药物对 PON2 水平的调节,PON2 在糖脂代谢中的作用,PON2 水平对冠心病的影响,PON2 与全身各系统绿脓杆菌感染的关系,这些问题的研究及解决可以为相关疾病的防治开辟新的思路。随着对 PON2 研究的不断深入,我们期望 PON2 的临床研究有更大的突破。

参考文献:

[1] Draganov DI and La Du BN. Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review[J]. Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 2004, 369(1):78-88.

[2] Rajkovic MG, Rumora L, Barisic K. The paraoxonase 1, 2 and 3 in humans[J]. Biochem Med (Zagreb), 2011, 21(2):122-130.

[3] Mochizuki H, Scherer SW, Xi T, et al. Human PON2 gene at 7q21.3: cloning, multiple mRNA forms, and missense polymorphisms in the coding sequence[J]. Gene, 1998, 213(1-2):149-157.

[4] Li HL, Liu DP, Liang CC. Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress, and diseases[J]. J Mol Med (Berl), 2003, 81(12):766-779.

[5] Thameem F, He X, Voruganti VS, et al. Evaluation of Polymorphisms in Paraoxonase 2(PON2) gene and Their Association with cardiovascular-renal disease risk in Mexican Americans[J]. Kidney Blood Press Res, 2009, 32(3):200-204.

[6] Gluba A, Pietrucha T, Banach M, et al. The role of polymorphisms within paraoxonases(192 Gln/Arg in PON1 and 311Ser/Cys in PON2) in the modulation of cardiovascular risk: a pilot study[J]. Angiology, 2010, 61(2):157-165.

[7] Li BH, Zhang LL, Yin YW, et al. Association between paraoxonase 2 Ser311Cys polymorphism and ischemic stroke risk: a meta-analysis involving 5,008 subjects[J]. Mol Biol Rep, 2011, 39(5):5623-5630.

[8] Ng CJ, Wadleigh DJ, Gangopadhyay A, et al. Paraoxonase-2 Is a Ubiquitously Expressed Protein with Antioxidant Properties and Is Capable of Preventing Cell-mediated Oxidative Modification of Low Density Lipoprotein [J]. J Biol Chem, 2001, 276(48):44444-44449.

[9] Rosenblat M, Draganov D, Watson CE, et al. Mouse macrophage paraoxonase 2 activity is increased whereas cellular paraoxonase 3 activity is decreased under oxidative stress[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003, 23(3):468-474.

[10] Shiner M, Fuhrman B, Aviram M. Paraoxonase 2 (PON2) expression is upregulated via a reduced-nicotinamide-adenine-dinucleotide-phosphate (NADPH)-oxidase-dependent mechanism during monocytes differentiation into macrophages[J]. Free Radic Biol Med, 2004, 37(12):2052-2063.

[11] Horke S, Witte I, Wilgenbus P, et al. Paraoxonase-2 Reduces Oxidative Stress in Vascular Cells and Decreases Endoplasmic Induced Caspase Activation [J]. Circulation, 2007, 115(15):2055-2064.

[12] Precourt LP, Seidman E, Delvin E, et al. Comparative expression analysis reveals differences in the regulation of intestinal paraoxonase family members[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2009, 41(7):1628-1637.

[13] Shiner M, Fuhrman B, Aviram M. A biphasic U-shape effect of cellular oxidative stress on the macrophage antioxidant paraoxonase 2 (PON2) enzymatic activity[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 349(3):1094-1099.

[14] Ng CJ, Bourquard N, Grijalva V, et al. Paraoxonase-2 Deficiency Aggravates Atherosclerosis in Mice Despite Lower Apolipoprotein-B-containing Lipoproteins: anti-atherogenic role for paraoxonase-2 [J]. J Biol Chem, 2006, 281(40):29491-29500.

[15] Meilin E, Aviram M, Hayek T. Paraoxonase 2 (PON2) decreases high glucose-induced macrophage triglycerides (TG) accumulation, via inhibition of NADPH-oxidase

- and DGAT1 activity; Studies in PON2-deficient mice[J]. *Atherosclerosis*, 2009, 208(2):390-395.
- [16] Rosenblat M, Hayek T, Hussein K, et al. Decreased macrophage paraoxonase 2 expression in patients with hypercholesterolemia is the result of their increased cellular cholesterol content; effect of atorvastatin therapy[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(1):175-180.
- [17] Shiner M, Fuhrman B, Aviram M. Macrophage paraoxonase 2 (PON2) expression is upregulated by unesterified cholesterol through activation of the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) pathway. *Biol Chem*, 2007, 388(12):1353-1358.
- [18] She ZG, Zheng W, Wei YS, et al. Human Paraoxonase Gene Cluster Transgenic Overexpression Represses Atherogenesis and Promotes Atherosclerotic Plaque Stability in ApoE-Null Mice[J]. *Circ Res*, 2009, 104(10):1160-1168.
- [19] Ng CJ, Hama SY, Bourquard N, et al. Adenovirus mediated expression of human paraoxonase 2 protects against the development of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice[J]. *Mol Genet Metab*, 2006, 89(4):368-373.
- [20] Devarajan A, Grijalva VR, Bourquard N, et al. Macrophage paraoxonase 2 regulates calcium homeostasis and cell survival under endoplasmic reticulum stress conditions and is sufficient to prevent the development of aggravated atherosclerosis in paraoxonase 2 deficiency/apoE (-/-) mice on a Western diet[J]. *Mol Genet Metab*, 2012, 107(3):416-27.
- [21] Schweikert EM, Amort J, Wilgenbus P, et al. Paraoxonases-2 and -3 Are Important Defense Enzymes against *Pseudomonas aeruginosa* Virulence Factors due to Their Anti-Oxidative and Anti-Inflammatory Properties[J]. *J Lipids*, 2012; 2012:352857.
- [22] Teiber JF, Horke S, Haines DC, et al. Dominant role of paraoxonases in inactivation of the *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing signal N-(3-oxododecanoyl)-L-homoserine lactone[J]. *Infect Immun*, 2008, 76(6):2512-2519.
- [23] Stoltz DA, Ozer EA, Ng CJ, et al. Paraoxonase-2 deficiency enhances *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing in murine tracheal epithelia[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2007, 292(4):L852-860.
- [24] Horke S, Witte I, Altmeyer S, et al. Paraoxonase 2 is down-regulated by the *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing signal N-(3-oxododecanoyl)-L-homoserine lactone and attenuates oxidative stress induced by pyocyanin[J]. *Biochem J*, 2010, 426(1):73-83.
- [25] Griffin PE, Roddam LF, Belessis YC, et al. Expression of PPAR γ and paraoxonase 2 correlated with *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7):E42241.

(收稿日期:2012-11-21 修回日期:2013-02-19)

· 综 述 ·

BOLD-fMRI 在脑肿瘤中的应用研究进展*

刘晓虎 综述, 罗天友 Δ 审校

(重庆医科大学附属第一医院放射科 400016)

关键词: 血样水平依赖性功能磁共振成像; 脑肿瘤; 进展

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.12.037

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)12-1412-03

血样水平依赖性功能磁共振成像(blood-oxygen level dependent functional MR imaging, BOLD-fMRI)能无创地对神经元活动进行准确的测定,它在以图像的方式显示抽象的大脑功能活动的同时,一并获得解剖学及病理学的信息。BOLD-fMRI 获得的脑功能图像分辨率高、精确度好,在临床神经外科领域里显示出越来越重要的作用,本文就其基本原理及其在脑肿瘤中的应用研究进展做一综述。

1 BOLD-fMRI 的基本原理

BOLD-fMRI 是 1990 年由 AT&T BELL 实验室 Ogawa 等^[1]首先报道的,其基本原理是将血液中的血红蛋白作为一种天然的内源性对比剂,用 T2W 敏感的 MRI 序列探测其在脑活动时的变化。脱氧血红蛋白是一种顺磁性物质,它能缩短 T2 时间,在 T2 加权成像时,使局部信号减弱。静息状态下,血液

中的氧合血红蛋白与脱氧血红蛋白的浓度比呈稳定状态。脑组织被激活后,伴随局部脑血流量、局部脑葡萄糖的利用及氧摄取量等血流动力学的改变,血液中的氧合血红蛋白量增加,脱氧血红蛋白量减少,因此后者缩短 T2 时间的作用减弱,局部脑区的 T2 或 T2* 相对延长,使用 T2W 敏感的 MRI 序列采集的图像上就可以见到激活脑区信号强度的增加^[2]。为了显示激活区的解剖定位,在 BOLD 扫描的同时,选择适当的 MRI 序列进行解剖学结构成像,将 BOLD 影像融合在解剖结构图像上,即获得脑活动时激活脑区的功能成像图。

2 BOLD-fMRI 在脑肿瘤术前功能区定位中的应用

2.1 任务态 BOLD-fMRI 的应用 传统的脑功能定位的方法是体感诱发电位(SSEPs)和皮层电刺激(ECS),但此类定位方法需扩大手术视野和延长手术时间,从而增加了手术风险。任

* 基金项目:教育部博士点基金项目(20105503110006)。 作者简介:刘晓虎(1986~),在读研究生,主要从事神经影像学方面的研究。

Δ 通讯作者, Tel:13983659609; E-mail:lttychy@sina.com。