

综述

# 动物化学防御系统的组成及作用机制\*

张士瑾, 游新叶, 张宇

(中国海洋大学海洋生命学院, 山东 青岛 266003)

**摘要:** 化学防御系统是生物抵御环境中化学胁迫和维持内环境稳态的重要机制, 由长期进化出的一系列基因家族、蛋白和相关反应通路组成。该系统的核心组分包括: (1)受体和配体激活转录因子, 其负责感知有毒化合物; (2)生物转化酶, 其通过氧化、还原和结合反应使有毒物质的毒性降低, 增加亲水性, 使化合物更易排出; (3)外排转运蛋白, 其负责将外源物质或生物转化产生的代谢物排出细胞; (4)抗氧化酶, 其作用是保护细胞免受外部和内部产生的活性氧或自由基的伤害。本综述对动物化学防御系统的组成及作用机制进行概述, 为研究海洋无脊椎动物的化学防御系统提供参考。

**关键词:** 化学防御系统; 配体激活转录因子; 生物转化酶; ABC 转运蛋白; 化学胁迫

**中图法分类号:** Q955

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1672-5174(2020)02-060-08

**DOI:** 10.16441/j.cnki.hdx.20190178

**引用格式:** 张士瑾, 游新叶, 张宇. 动物化学防御系统的组成及作用机制[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2020, 50(2): 60-67.

ZHANG Shi-Cui, YOU Xin-Ye, ZHANG Yu. Animal chemical defensome: Organization and detoxification mechanisms[J]. Periodical of Ocean University of China, 2020, 50(2): 60-67.

动物生存面临的一个重要问题是, 当受到外源异生物质或内源有毒物质的胁迫时, 如何维持其内环境稳态。为应对这一生存挑战, 动物进化出一系列基因家族和反应通路以保护和修复机体免受有毒化学物质的损害。这一系列基因家族、蛋白和反应通路组成的综合网络称为化学防御系统(Chemical defensome)。生物化学防御系统理论上大致包括如下核心组分: (1)可溶性受体(Soluble receptor)和配体激活转录因子(Ligand-activated transcription factor), 其作用是接收和感知毒性物质和机体损伤, 它们是一类化学感受器; (2)生物转化酶(Biotransformation enzymes), 其功能是使化学物质的毒性降低, 这些酶作用于底物的方式包括氧化反应、还原反应和结合反应, 以增加毒性物质的亲水性, 从而使这些物质更容易从体内代谢排出; (3)外排转运蛋白(Efflux transporter), 其作用是将外源异生物质或生物转化后的代谢物排出细胞; (4)抗氧化酶(Antioxidant enzymes), 其作用是保护细胞免受代谢产生的内源性活性氧(ROS)及其它自由基的伤害<sup>[1-3]</sup>(见图1)。化学防御系统的各组分之间相互协作, 抵御环境中外源异生物质如重金属、多环芳烃、植物毒素等对动物的伤害, 同时也参与消除内源信号分

子(如类固醇)以及内源性毒素(如活性氧 ROS、脂质过氧化物和血红素降解产物等), 维持细胞内稳态<sup>[1-3]</sup>。在多细胞动物中, 化学防御相关的基因家族存在基因冗余且进化较为保守, 约占基因组含量的 1%~3%<sup>[2-4]</sup>。目前, 对化学防御机制的研究主要聚焦脊椎动物, 特别是哺乳动物, 而海洋无脊椎动物的相关研究较为匮乏。与脊椎动物相比, 海洋无脊椎动物的许多化学防御基因家族往往出现成员多样化和扩张, 但这些成员的化学防御机制仍不清楚<sup>[2-3]</sup>。本综述概述了动物化学防御系统的核心组分及作用机制, 为今后深入研究海洋无脊椎动物的化学防御系统提供参考。

## 1 受体和配体激活转录因子

受体和配体激活转录因子作为化学感受器, 在化学防御系统中的作用是接收和感知有机化合物, 并调控转运蛋白和生物转化酶的表达。该组分主要包含 bHLH-PAS 家族蛋白、核受体(Nuclear receptor, NR)家族蛋白以及 bZIP 家族蛋白。

### 1.1 bHLH-PAS 家族

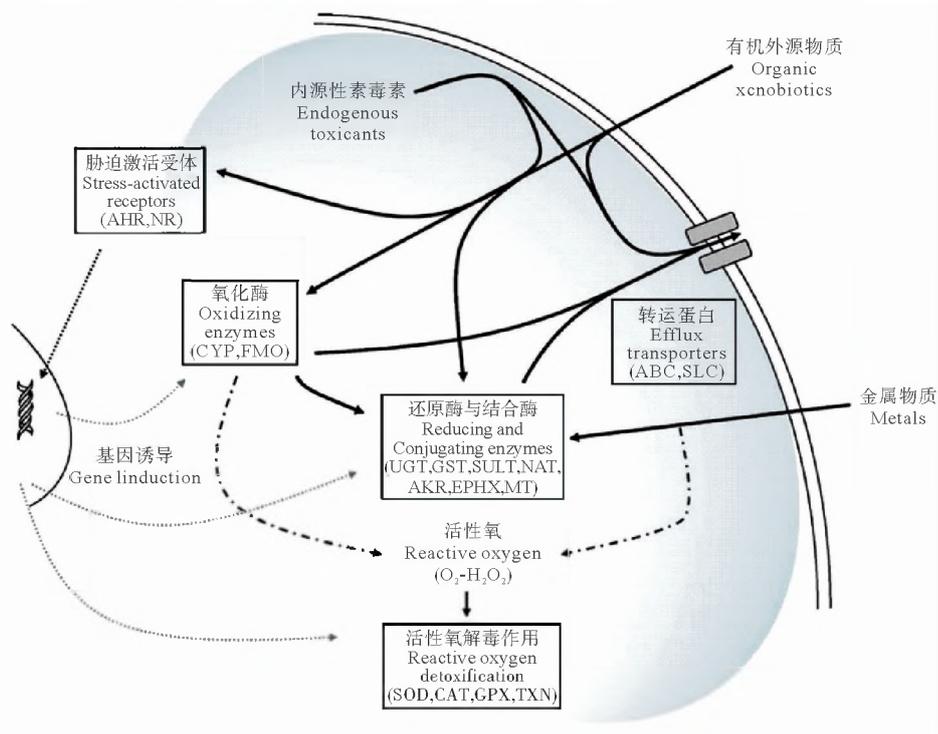
bHLH-PAS 家族由一系列转录因子组成, 因具有特征性的 bHLH 功能域和 PAS 功能域而得名。该家

\* 基金项目: 国家自然科学基金项目(31501856); 山东省自然科学基金项目(ZR2015CQ004)资助

Supported by the National Natural Science Foundation of China(31501856); the Natural Science Foundation of Shandong Province, China(ZR2015CQ004)

收稿日期: 2019-04-15; 修订日期: 2019-05-18

作者简介: 张士瑾(1957-), 男, 教授。E-mail: sczhang@ouc.edu.cn



(根据 Goldstone 等<sup>[2]</sup>修改。Modified from Goldstone et al<sup>[2]</sup>.)

图 1 化学防御系统的组成和调控网络

Fig.1 Organization and regulatory network of animal chemical defense

族成员参与包括发育、建立和维持昼夜节律以及感知环境变化(如低氧、荷尔蒙和外源异生物质等)在内的多种重要生理过程<sup>[5-6]</sup>。其中,芳香烃受体(AhR)、芳香烃受体核转运蛋白(ARNT)和低氧诱导因子(HIF1 $\alpha$ )是重要的化学受体蛋白<sup>[6-7]</sup>。

AhR 是 bHLH-PAS 家族中最重要的化学感受器。作为具有配体依赖性的转录因子, AhR 可被多种内源性或外源性配体激活, 这些配体包括多环芳香烃(PAHs, 如苯并芘、苯并蒽)、多氯联苯(PCBs)、卤代多环碳氢类化合物(如二噁英 TCDD、联二苯)、吡啶类、食物来源的黄酮类及药物制品(如奥美拉唑)等<sup>[7-10]</sup>。未与配体结合时, AhR 定位于细胞质中, 且与细胞质中的一些分子伴侣结合并处于失活状态。当 AhR 与进入细胞的 TCDD、PCBs 等配体结合后, 分子伴侣解离, 并导致 AhR 从细胞质转移到细胞核, 与细胞核中的 ARNT 形成异源二聚体。AhR-ARNT 二聚体识别并结合下游靶基因启动子区域的应答元件(AHRE、DRE 或 XRE), 从而启动包括细胞色素 P450 酶家族基因(如 CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1), 以及其他化学防御基因在内的下游靶基因的转录, 调动化学防御系统对毒物进行生物转化和排出<sup>[10-13]</sup>。

AhR-CYP 信号通路是明确的介导脊椎动物化学防御的重要机制。而无脊椎动物是否同脊椎动物一样, 依赖 AhR-CYP 信号通路抵御外源有毒物质的伤害

仍有争议<sup>[14-15]</sup>。Hahn<sup>[14]</sup>认为, 脊椎动物 AhR 通过基因复制致使该基因获得能够与二噁英等外源物质结合的能力。而无脊椎动物的原型 AhR 在动物发育过程中发挥重要作用, 但不具有与这些典型脊椎动物 AhR 配体结合的能力<sup>[14]</sup>。然而, 新近研究表明, 在苯并(a)芘、PCB126 和 TBT 这些典型脊椎动物 AhR 配体的刺激下, 剑水蚤(*Tigriopus japonicus*)<sup>[15]</sup>和栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)<sup>[16]</sup>的 AhR 和 ARNT 基因均上调表达, 且栉孔扇贝的 CYP1A1 以及雌激素受体基因的表达也被激活, 暗示这两种海洋无脊椎动物中可能存在潜在的 AhR-CYP 信号通路。

## 1.2 核受体超家族

核受体(NR)超家族由一系列配体激活的转录因子组成, 并且是多细胞动物特有的转录因子, 在原生生物、藻类、真菌或植物中均未发现。核受体参与多种重要生理过程, 如生长发育、细胞分化、新陈代谢以及胁迫应答等<sup>[17-18]</sup>。核受体超家族成员具有特征性结构, 即具有一个包含 AF-1 激活域的可变 N 端区域, 一个高度保守的 DNA 结合域(DBD)、一个铰链区、一个包含 AF-2 激活域的配体结合域(LBD)。其中, AF-1 激活域介导配体非依赖性转录激活, 而 AF-2 激活域介导配体依赖性转录激活。重要的化学防御相关核受体存在于 NR1H 和 NR1I 亚家族中, 包括脊椎动物的孕甾烷 X 受体(PXR)、组成型雄甾烷受体(CAR)、肝 X 受体

(LXR)、法尼酯 X 受体 (FXR) 和维生素 D 受体 (VDR), 这些核受体能被多种内毒素和外源物质激活, 调控包括细胞色素 P450 酶家族基因 (如 CYP2s、CYP3s、CYP4s)、结合作用酶 (UGT、SULT) 以及转运蛋白基因的表达。其他参与化学防御的核受体还包括过氧化物酶体增殖因子激活受体 (PPARs)、雌激素受体 (ER) 和视黄质 X 受体 (RXR)<sup>[19-20]</sup>。

PXR 和 CAR 是核受体中最重要的外源异生物质感受器。由于 PXR 和 CAR 的激活依赖于配体的选择, 而不同物种的 PXR 和 CAR 的配体结合域的氨基酸序列有差异, 因而这 2 种核受体在解毒功能方面具有物种差异性。对人和小鼠的研究表明, PXR 和 CAR 主要在肝脏和消化道中表达, 且这两种核受体具有一些相似的功能特征<sup>[21]</sup>。对人的 PXR 和 CAR 研究表明, 这两种核受体所调控的生物转化酶和转运蛋白类型有部分相同 (如 CYP2B6、CYP3A4、UGT1A1、DMR1 和 MRP2 等), 并且这两种核受体也可以被相同的化合物激活, 例如镇静剂苯巴比妥米那<sup>[21-22]</sup>。当被配体激活后, PXR 和 CAR 都能够与视黄质 X 受体 (RXR) 形成异二聚体, 并分别通过识别靶基因启动子区域的 PXR 应答元件 (PXRRE) 和苯巴比妥应答元件 (PBREM) 调控下游基因表达<sup>[23]</sup>。这些应答元件由不同的重复基序 AG(G/T)TCA 组成, 包括由 3~5 个核苷酸间隔的正向重复序列 (DR3、DR4、DR5), 由 6 个核苷酸间隔或没有核苷酸间隔的外翻转重复序列 (ER6、ER0), 以及由 6 个或 8 个核苷酸间隔的反向重复序列 (IR6、IR8) 和基序 DR-(5n + 4)<sup>[24]</sup>。PXR 和 CAR 还会分别调控不同的靶基因, 如 PXR 能够调控生物转化酶 CYP7A、CYP4F12、UGT1A6、SULT2A1 和转运蛋白 OATP1A2 的基因表达, 而 CAR 能够调控生物转化酶 CYP1A1、CYP1A2、UGT2B1、SULT1E1 和转运蛋白 OATP1B3 的基因表达。此外, 通过转录调控和翻译后调控, 可精确控制 PXR 和 CAR 的激活。PXR 和 CAR 的亚细胞定位以及与辅因子的相互作用可影响它们的转录活性, 而翻译后水平的调控可通过磷酸化、泛素化和乙酰化实现<sup>[21]</sup>。

### 1.3 bZIP 家族

bZIP (Basic leucine zipper) 超家族是最大的转录因子家族之一, 其成员参与生长发育、细胞分化和凋亡、应对环境胁迫和氧化应激等多种生理过程。该家族蛋白具有典型的 bZIP 结构域, 其包含与特异 DNA 序列结合的区域, 以及负责将 bZIP 蛋白二聚化的亮氨酸拉链<sup>[25]</sup>。脊椎动物化学防御系统中, 参与介导抗氧化应激反应的转录因子主要是 bZIP 家族成员, 包括 CNC-bZIP 家族蛋白 (核因子红系 2 因子 NF-E2 以及其相关因子 NRF1 和 NRF2, BACH 蛋白 BACH1 和

BACH2), 和小分子 Maf (sMaf) 家族蛋白 (MafF、MafG、MafK)。由于 CNC-bZIP 蛋白不能作为单体与 DNA 结合, sMaf 则成为这些蛋白不可或缺的重要异二聚体伴侣<sup>[25-29]</sup>。

Nrf2-Keap1-ARE 信号通路在调控外源性的氧化应激机制中发挥关键作用, 是化学防御系统的重要组成部分。Nrf2 通常存在于哺乳动物细胞质中, 并与内源性抑制蛋白 Keap1 (Kelch-like ECH associated protein1) 结合形成聚合物。Keap1 通过泛素蛋白酶体途径促进 Nrf2 降解, 使细胞内 Nrf2 含量维持较低水平<sup>[29-30]</sup>。当细胞受到氧化或化学胁迫时, Nrf2 与 Keap1 解离并避免 Keap1 介导的蛋白水解消化。Nrf2 转移进入细胞核, 与核内的 sMaf 形成异二聚体, 通过识别并结合靶基因上的抗氧化反应元件 ARE (5'-TGACNNGC-3'), 启动下游靶基因 (抗氧化酶基因和生物转化酶基因等) 的转录, 例如醌氧化还原酶-1 (NQO-1)、超氧化物歧化酶 (SOD)、血红素加氧酶-1 (HO-1)、谷胱甘肽 S 转移酶 (GST) 等酶的基因。此外, 越来越多的证据表明 Nrf2 除了参与抗氧化应激反应, 在调节与细胞代谢、增殖和分化相关基因的表达方面也发挥重要作用<sup>[28-32]</sup>。与 Nrf2 类似, Nrf1 在维持细胞内环境稳态中也起到关键作用, 同时在发育和细胞增殖过程中也扮演重要角色。Nrf1 的全面缺失会导致严重的氧化应激, 还会导致基因组不稳定、胚胎致死和发育障碍<sup>[25-26, 29]</sup>。

与 Nrf 蛋白不同, Bach (BTB and CNC homology) 蛋白作为转录阻遏蛋白行使功能, 在氧化应激反应中维持血红素稳态方面发挥重要作用。Bach 和 Nrf2 相互竞争结合 sMaf 蛋白形成异二聚体, 分别导致抑制或激活靶基因 (例如血红素加氧酶-1 基因) 表达<sup>[34-35]</sup>。

## 2 生物转化酶

生物转化酶是化学防御系统的核心组分。疏水化合物在这些酶的作用下, 通过一系列生化反应, 转化为更亲水的衍生物, 以促使它们从生物体中排除。生物转化过程通常被分为两个阶段, 即 I 相反应和 II 相反应。I 相反应进行水解、氧化和还原反应, 通过添加或暴露官能团 (如羟基、巯基、羧基和氨基), 将化合物转化为极性代谢物, 提高其水溶性。参与 I 相反应的酶包括细胞色素 P450 (CYPs)、黄素蛋白单氧酶 (MFOs)、醇脱氢酶 (ADHs)、醛脱氢酶 (ALDHs) 等。II 相反应目的是进一步增加化合物 (通常是 I 相代谢物) 与内源性生物分子的水溶性以及降低 I 相代谢物的毒性。II 相反应主要进行结合和还原反应, 包括葡萄糖醛酸化、硫酸化、甲基化、乙酰化、谷胱甘肽结合和氨基酸结合反应。参与 II 相反应的酶包括葡萄糖醛酸转移酶

(UGTs)、谷胱甘肽 S-硫转移酶(GSTs)、硫酸基转移酶(SULTs)、N-乙酰转移酶(NATs)和甲基转移酶(MTs)、醛酮还原酶(AKRs)、环氧化物水解酶(EPHXs)以及 NAD(P)H: 醌氧化还原酶(NQOs)等<sup>[36-41]</sup>。这部分将介绍最重要的两类生物转化酶, 细胞色素 P450 和葡萄糖醛酸转移酶, 这两类酶负责代谢 90% 以上的依赖肝脏清除的药物<sup>[39]</sup>。

### 2.1 细胞色素 P450 超家族

细胞色素 P450(CYPs)超家族由一系列血红素蛋白组成, 广泛存在于动物、植物、真菌、原生动物、细菌和古生菌中。在哺乳动物中, CYPs 存在于几乎所有组织中, 尤其在肝脏和小肠中表达量最高。肝脏中的膜结合型 CYP 酶结合在微粒体上, 在胆汁酸的合成以及药物、环境污染物和致癌物等外来化合物的代谢过程中起着至关重要的作用<sup>[37, 42-43]</sup>。CYPs 也存在于产生类固醇的组织中的线粒体内膜上, 如肾上腺皮质、睾丸、卵巢、乳房和胎盘, 并参与内源性类固醇激素的合成和降解。此外, CYPs 在维生素代谢、不饱和脂肪酸氧化、胆固醇合成, 以及维持大脑胆固醇稳态和消除类维生素 A 等方面也发挥重要作用。总之, CYPs 在细胞代谢和维持细胞稳态中起着核心作用<sup>[42-46]</sup>。

CYP 酶的活性部位含有血红素-铁离子( $Fe^{3+}$ )中心, 铁离子通过半胱氨酸硫酸配体与蛋白结合, 该半胱氨酸和一些侧位残基在 CYPs 中高度保守。作为一种末端加氧酶, CYPs 通过血红素中的铁离子传递电子, 氧化各种底物。CYPs 具有广泛的底物特异性, 可催化多种氧化还原反应, 包括羟基化、杂原子氧化、脱烷基、环氧化反应等。参与生物转化外源异生物质、化学物质和药物的 CYP 酶主要集中在 CYP1-CYP4 家族中。对人 CYPs 的研究表明, 参与外源物质和药物代谢的成员包括 CYP1A1、1A2、2A6、2A13、1B1、2B1、2B2、2B6、2C8、2C9、2C18、2C19、2D6、2E1、2F1、3A4、3A5、3A7、4A9、4B11、4B1、4F2 和 4F3<sup>[37, 42, 47]</sup>。其中, CYP3A4 是人类药物代谢中最重要的 CYP 酶。通过诱导, CYP3A4 在肝脏中的表达量可增加 60% 以上, 且在大多数已知代谢途径的药物中, CYP3A4 都参与代谢过程<sup>[47]</sup>。

值得注意的是, 作为 I 相反应的重要酶类, CYP 酶能够催化致癌物前体或药物前体, 使其活化成为亲电性的致癌物, 而 II 相代谢酶如谷胱甘肽 S-硫转移酶(GSTs)和醌还原酶(QRs)能够将这些有毒代谢物转化为无毒物质。然而, 当这些有毒代谢中间产物从 II 相解毒系统逃逸, 会与生物大分子(如 DNA、RNA 和蛋白质)相互作用, 将最终导致药物不良反应(Adverse drug reactions, ADR), 这一现象是药物治疗和药物开发过程所面临的主要障碍<sup>[47-49]</sup>。CYP1A 是已明确的

在代谢过程中会产生致癌物的酶类, 能够将活化多环芳烃和其他致癌物及毒物。人类 CYP1A 亚家族有两个成员: CYP1A1 和 CYP1A2<sup>[47]</sup>。CYP1A1 是苯并芘羟化酶, 该酶主要存在于肝外组织, 只有在诱导(如吸烟)后才大量存在于肝内。CYP1A2 主要存在于肝脏, 其底物为芳香胺和多环芳烃, 能够活化包括杂环胺和芳香族胺、某些硝基芳香族化合物或黄曲霉毒素(B1)等<sup>[44, 47-49]</sup>。

CYPs 基因的遗传多态性和表观遗传变化可能是导致疾病易感性和药物疗效在个体间和种族间差异的原因。研究表明, CYP 同工酶在多个等位基因变异中表现出多态性, 其频率在不同群体间存在差异<sup>[50]</sup>。而表观遗传机制如 DNA 甲基化和组蛋白修饰, 可针对启动子区域或上游转录因子(如 PXR 和 VDR)来调控 CYPs 基因表达<sup>[42, 50]</sup>。此外, CYPs 表达的个体间差异还受 miRNA 控制, miRNA 调控 CYPs 潜在位点的概率取决于 3'-UTR 区域的大小, 调控的程度与该区域的长度成正比。mRNA 靶结合位点或 miRNA 前体的基因变化也可导致 CYP 表达变化<sup>[50-51]</sup>。

### 2.2 UDP-葡萄糖醛酸转移酶

UDP-葡萄糖醛酸转移酶(UGTs)超家族由一系列膜结合酶组成, 其功能是将糖基(即葡萄糖, 葡萄糖醛酸, 木糖, 半乳糖等)共价连接到亲脂性底物上。其中, 葡萄糖醛酸化反应是 UGTs 最主要的催化反应, 即催化来自于 UDP-葡萄糖醛酸(UDPGA)的葡萄糖醛共价连接到底物上。通过葡萄糖醛酸化反应, UGTs 参与许多外源物质(如药物、化学致癌物、环境污染物和食物)和内源物质(如胆红素、类固醇激素、甲状腺激素、胆汁酸和脂溶性维生素)的代谢<sup>[39-41]</sup>。在人类中, 约 40%~70% 的临床药物受到 UGTs 参与的葡萄糖醛酸化反应的影响。许多亲核试剂可成为葡萄糖醛酸化的受体, 包括脂肪族醇、酚、羧酸、芳香族和脂肪族胺、硫醇等。所有哺乳动物中都存在一定程度的葡萄糖醛酸化反应, 但在酶底物选择性和葡萄糖醛酸化反应速率上, 不同物种间存在显著差异<sup>[39-40]</sup>。

UGTs 是一类复杂的超家族酶, 不同的成员具有明显的底物选择性和抑制剂选择性。人的 UGT 酶共有 22 个成员, 被划分为 4 个家族, 分别为 UGT1、UGT2、UGT3 和 UGT8。其中, 最有效的利用 UDP-GA 作为糖基供体的 UGT 酶属于 UGT1 和 UGT2 家族, 这两个家族在药物代谢方面发挥非常重要的作用。与 UGT1 和 UGT2 家族不同, UGT3 家族成员主要位于胸腺、睾丸和肾脏中, 在肝脏和肠道中几乎无法检测到其表达。UGT3 酶一般不活跃于利用 UDPGA 作为糖基供体, 而是利用 UDP-葡萄糖、UDP-N-乙酰葡萄糖胺或 UDP-半乳糖作为糖基供体。研究表明, UGT3 酶很

可能在药物和外源物质代谢方面并不发挥重要作用。类似的,UGT8A1 利用 UDP-半乳糖作为糖基供体,因此也不太可能对药物代谢有显著的作用<sup>[39,52-53]</sup>。

### 3 转运蛋白

跨膜转运蛋白介导内源性和外源性物质进入细胞以及从细胞中清除,这些跨膜转运蛋白主要来自 ATP 结合盒式蛋白(ATP-binding cassette transporter, ABC)超家族和溶质转运蛋白(Solute carrier, SLC)超家族。SLCs 是一类摄入型或双向运输型转运蛋白,其成员有机阴离子转运多肽(OATPs)、有机阴离子转运体(OATs)和有机阳离子转运体(OCTs)能够介导细胞对外源物质的摄入。而 ABC 转运蛋白则主要负责药物和代谢产物从细胞中的清除和排出。除此之外,ABC 转运蛋白也是化学防御系统的第一道防线,能够抵御亲水脂性的和略微亲脂性的化合物进入细胞<sup>[54]</sup>。

ABC 转运蛋白广泛存在于原核生物和真核生物中,是一类利用 ATP 水解产生的能量驱动底物跨膜转运的蛋白,可跨细胞膜运输多种底物(例如离子、糖、氨基酸、脂质、脂多糖、肽、金属、毒性代谢物和外源物质等)。ABC 转运蛋白特征性结构包含 ATP 结合结构域(也称为核苷酸结合结构域, Nucleotide-binding domain, NBD)和跨膜结构域(Transmembrane domain, TMD)。NBD 能够结合并水解 ATP,为底物运输提供能量。而 TMD 由 5~6 个跨膜螺旋组成,其决定了底物的特异性<sup>[55-57]</sup>。根据结构域组成和系统树分析,真核生物的 ABC 转运蛋白被分为八个亚家族(A-H)。根据功能,ABC 转运蛋白可分为摄入蛋白、外排蛋白和非转运蛋白(亚家族 E 和 F),非转运蛋白主要参与核糖体生成和翻译调控。其中,参与外源物质和药物排出的重要成员包括 p-糖蛋白(Pgp/ABCB1)、多耐药相关蛋白 2(MRP2/ABCC2)和乳腺癌耐药蛋白(BGRP/ABCG2),这些蛋白也被统称为多耐药性转运蛋白,会减弱一些药物的治疗疗效<sup>[54-56]</sup>。

p-糖蛋白(Pgp/ABCB1,也称为 MRP1)首次在肿瘤细胞对抗抗肿瘤药物的研究中被发现,存在于几乎所有屏障组织中,并且 Pgp 在肠道中的表达量高于肝脏,很可能主要在肠道和血脑屏障中发挥作用。该转运蛋白介导多种类型外源物质的清除,并在底物特异性方面与其他外排型转运蛋白如 MRP2 和 MRP3 的底物有部分相同。多数能被 Pgp 转运的药物,同时也是生物转化酶 CYP3A4 的底物<sup>[54,58]</sup>。MRP2(ABCC2)转运蛋白在肝脏和肾脏中均有表达,其底物主要为药物代谢产物,包括甲氨蝶呤、对乙酰氨基酚-葡糖苷、依托泊苷等<sup>[54]</sup>。在胆汁淤积的情况下,MRP2 还负责从肝细胞中排出胆盐,以缓解细胞内高浓度胆盐的毒性作

用<sup>[59]</sup>。MRP2 还负责胆红素和其他胆汁成分的排出。当患者的 ABCC2 基因多态性导致 MRP2 功能丧失,患者会罹患 Dubin-Johnson 综合征,表现为结合型高胆红素血症<sup>[54]</sup>。BCRP(ABCG2)首次在化疗中被发现,具有广泛的底物特异性,并在肝脏、肠道和肾脏等多种组织中表达。与 Pgp 和 MRP2 不同,BCRP 作为半转运体(只有 1 个 NBD 结构域和 1 个 TMD 结构域)需要形成同源或异源二聚体发挥功能<sup>[54-55]</sup>。

### 4 抗氧化酶及其他组分

活性氧(Reactive oxygen species, ROS),包括超氧化物、过氧化氢和羟基自由基,由多种细胞过程衍生而来。适当的 ROS 对于生物体的正常生理功能是必需的。然而,过量的氧化还原活性物质可导致生物大分子的损伤,抑制细胞酶的活性,并通过激活激酶和半胱天冬酶级联诱导细胞凋亡。为了消除细胞内过量的氧化还原活性物质,生物进化出一系列抗氧化的酶和信号通路。抗氧化酶包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(包括谷胱甘肽过氧化物酶 GPX、过氧化物酶 PRDXs 和硫氧还蛋白 TXNs)。其中,最重要且研究最多的是抗氧化酶 SOD。目前在哺乳动物中鉴定出 3 种不同的 SOD:铜-锌超氧化物歧化酶(Cu/ZnSOD,由 *sod1* 基因编码)、锰超氧化物歧化酶(MnSOD,由 *sod2* 基因编码)和细胞外超氧化物歧化酶(ECSOD,由 *sod3* 基因编码)。这些 SOD 酶的功能相似,但其蛋白结构、染色体定位、金属辅因子需求、基因分布等特征存在明显不同<sup>[60]</sup>。

脊椎动物体内参与金属脱毒的蛋白主要为金属硫蛋白(MTs)。金属硫蛋白能与内源金属离子(如锌、铜、硒)和外源有害重金属(如镉、汞、银、砷)结合,负责转运金属离子或将有害重金属排出细胞外。金属硫蛋白的多态性从鱼类到哺乳动物较为保守,都包含 4 个成员簇(MT1 至 MT4)。迄今为止报道的所有鱼类 MT 蛋白也具有与哺乳动物 MT 蛋白相同的结构和功能特征。金属硫蛋白与金属离子结合后,可调节金属离子在细胞内的浓度或将其清除出细胞外。例如,哺乳动物 MTs 在其  $\beta$  结构域中结合 3 个 Zn 离子,在  $\alpha$  结构域中结合 4 个 Zn 离子。通过对 Zn 离子的结合和释放,金属硫蛋白可以调节体内的锌离子水平。除此之外,MTs 还参与调控氧化应激,MTs 的半胱氨酸残基可以捕获有害的氧化物自由基(超氧化物和羟基自由基),使得其半胱氨酸残基被氧化成胱氨酸,与半胱氨酸结合的金属离子被释放到细胞外<sup>[61]</sup>。

热休克蛋白(HSPs)除了参与热应激反应,还参与多种有害物质的胁迫应答,包括重金属(如镉和砷)和自由基等。热休克蛋白按照蛋白的大小共分为五类,

分别为 HSP110、HSP90、HSP70、HSP60 和小分子热休克蛋白(sHSP)。HSPs 通常不直接参与化学防御, 而是作为分子伴侣与其他化学防御蛋白相互作用; 当这些化学防御蛋白处于非天然构象时, HSP 识别并与之结合, 帮助其折叠、组装或定位于合适的细胞器上<sup>[62]</sup>。

## 5 总结和展望

化学防御系统是动物抵御环境中的化学胁迫和维持内环境稳态的重要机制, 由长期进化出的一系列基因家族、蛋白和相关反应通路组成。该系统的核心组分包括化学感受器、生物转化酶、转运蛋白以及抗氧化酶等, 不同组分相互配合负责化学感知、生物转化以及排出有毒化学物质等生理过程。化学防御相关的基因家族往往表现出基因冗余以及功能的多样性, 这些家族成员往往不仅参与化学防御, 还参与多种基础且关键的生理过程, 如生长发育、细胞增殖分化、营养吸收和代谢等。目前对动物化学防御机制的研究, 主要聚焦哺乳动物, 特别是人类自身的药物治疗、药物代谢以及抗药性等方面的研究。而无脊椎动物, 特别是海洋无脊椎动物的化学防御系统组成和机制仍缺乏系统了解。未来的研究可更多的探索海洋无脊椎动物以及位于进化节点的海洋生物的化学防御机制, 从进化角度丰富对这古老且重要的防御机制的认识。

## 参考文献:

- [1] Marrone V, Piscopo M, Romano G, et al. Defense against toxic diatom aldehydes in the sea urchin *Paracentrotus lividus* [J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e31750.
- [2] Goldstone J V, Hamdoun A, Cole B J, et al. The chemical defense: environmental sensing and response genes in the *Strongylocentrotus purpuratus* genome [J]. *Developmental Biology*, 2006, 300(1): 366-384.
- [3] Goldstone J V. Environmental sensing and response genes in cnidaria: The chemical defense in the sea anemone *Nematostella vectensis* [J]. *Cell Biology and Toxicology*, 2008, 24(6): 483-502.
- [4] De Marco L, Sasser D, Epis S, et al. The choreography of the chemical defense response to insecticide stress: Insights into the *Anopheles stephensi* transcriptome using RNA-Seq [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 41312.
- [5] Gu Y Z, Hogenesch, J B, Bradfield C A. The PAS superfamily: Sensors of environmental and developmental signals [J]. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 2000, 40: 519-561.
- [6] Kewley R J, Whitelaw M L, Chapman-Smith A, et al. The mammalian basic helix-loop-helix/PAS family of transcriptional regulators [J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2004, 36(2): 189-204.
- [7] Denison M S, Nagy S R. Activation of the aryl hydrocarbon receptor by structurally diverse exogenous and endogenous chemicals [J]. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 2003, 43(1): 309-334.
- [8] Beischlag T V, Morales J L, Hollingshead B D, et al. The aryl hydrocarbon receptor complex and the control of gene expression [J]. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*, 2008, 18(3): 207-250.
- [9] Bock K W. Human and rodent aryl hydrocarbon receptor (AHR): From mediator of dioxin toxicity to physiologic AHR functions and therapeutic options [J]. *Biological Chemistry*, 2017, 398(4): 455-461.
- [10] Larigot L, Juricek L, Dairou J, et al. AhR signaling pathways and regulatory functions [J]. *Biochimie Open*, 2018, 7: 1-9.
- [11] Antos P A, Blachuta M, Hrabia A, et al. Expression of aryl hydrocarbon receptor 1 (AHR1), AHR1 nuclear translocator 1 (ARNT1) and CYP1 family monooxygenase mRNAs and their activity in chicken ovarian follicles following in vitro exposure to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) [J]. *Toxicology Letter*, 2015, 237(2): 100-111.
- [12] Kubota A, Goldstone J V, Lemaire B, et al. Role of pregnane X receptor and aryl hydrocarbon receptor in transcriptional regulation of pax, CYP2, and CYP3 genes in developing zebrafish [J]. *Toxicological Sciences*, 2015, 143(2): 398-407.
- [13] Korashy H M, Abuhashish H M, Maayah Z H. The role of aryl hydrocarbon receptor-regulated cytochrome P450 enzymes in glioma [J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2013, 19(40): 7155-7166.
- [14] Hahn M E. Aryl hydrocarbon receptors: Diversity and evolution [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2002, 141(1): 131-160.
- [15] Kim B, Rhee J, Hwang U, et al. Dose- and time-dependent expression of aryl hydrocarbon receptor (AhR) and aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator (ARNT) in PCB-, B[a]P-, and TBT-exposed intertidal copepod *Tigriopus japonicus* [J]. *Chemosphere*, 2015: 398-406.
- [16] Tian S, Pan L, Sun X, et al. An investigation of endocrine disrupting effects and toxic mechanisms modulated by benzo[a]pyrene in female scallop *Chlamys farreri* [J]. *Aquatic Toxicology*, 2013: 162-171.
- [17] Escriva H, Langlois M C, Mendonca R L, et al. Evolution and diversification of the nuclear receptor superfamily [J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2010, 839(1): 143-146.
- [18] Nagy L, Schwabe J W R. Mechanism of the nuclear receptor molecular switch [J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2004, 29(6): 317-324.
- [19] Mackowiak B, Wang H. Mechanisms of xenobiotic receptor activation: Direct vs. indirect [J]. *BBA-Genes Regulatory Mechanisms*, 2016, 1859(9): 1130-1140.
- [20] Hoffmann J M, Partridge L. Nuclear hormone receptors: Roles of xenobiotic detoxification and sterol homeostasis in healthy aging [J]. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 2015, 50(5): 1-13.
- [21] Wang Y M, Ong S S, Chai S C, et al. Role of CAR and PXR in xenobiotic sensing and metabolism [J]. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 2012, 8(7): 803-817.
- [22] Willson T M, Kliewer S A. PXR, CAR and drug metabolism [J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2002, 1(4): 259-266.
- [23] Scheer N, Ross J, Rode A, et al. A novel panel of mouse models

- to evaluate the role of human pregnane X receptor and constitutive androstane receptor in drug response[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2008, 118(9): 3228-3239.
- [24] Cui J Y, Gunewardena S S, Rockwell C E, et al. ChIPing the cis-trome of PXR in mouse liver[J]. *Nucleic Acids Research*, 2010, 38(22): 7943.
- [25] Kwong M, Kan Y W, Chan J Y. The CNC basic leucine zipper factor, Nrf1, is essential for cell survival in response to oxidative stress-inducing agents[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274(52): 37491-37498.
- [26] Kim H M, Han J W, Chan J Y. Nuclear factor Erythroid-2 Like 1 (NFE2L1): Structure, function and regulation[J]. *Gene*, 2016, 584(1): 17-25.
- [27] Katsuoaka F, Yamamoto M. Small Maf proteins (MafF, MafG, MafK): History, structure and function[J]. *Gene*, 2016, 586(2): 197-205.
- [28] Murakami S, Motohashi H. Roles of Nrf2 in cell proliferation and differentiation[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2015, 88: 168-178.
- [29] Pi J, Hayes J D, Yamamoto M. New insights into nuclear factor erythroid 2-related factors in toxicology and pharmacology[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2019, 367: 33-35.
- [30] Suzuki T, Yamamoto M. Stress-sensing mechanisms and the physiological roles of the Keap1-Nrf2 system during cellular stress[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2017, 292(41): 16817-16824.
- [31] Pi J, Leung L, Xue P, et al. Deficiency in the nuclear factor E2-related factor-2 transcription factor results in impaired adipogenesis and protects against diet-induced obesity[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(12): 9292-9300.
- [32] Kim J, Keum Y S. NRF2, a key regulator of antioxidants with two faces towards cancer[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 2016: 2746457.
- [33] Wang H, Zhu J, Liu Z, et al. Silencing of long isoforms of nuclear factor erythroid 2 like 1 primes macrophages towards M1 polarization[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2018, 117: 37-44.
- [34] Zhou Y, Wu H, Zhao M, et al. The Bach family of transcription factors: A comprehensive review[J]. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 2016, 50(3): 345-356.
- [35] Zhang X, Guo J, Wei X, et al. Bach1: Function, regulation, and involvement in disease[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 2018: 1347969.
- [36] Jancova P, Anzenbacher P, Anzenbacherova E. Phase II drug metabolizing enzymes[J]. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky*, 2010, 154(2): 103-16.
- [37] Nair P C, Mckinnon R A, Miners J O, et al. Cytochrome P450 structure-function: Insights from molecular dynamics simulations[J]. *Drug Metabolism Reviews*, 2016, 48(3): 434-452.
- [38] Glatt H. Sulfotransferases in the bioactivation of xenobiotics[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2000, 129(1): 141-170.
- [39] Rowland A, Miners J O, Mackenzie P I, et al. The UDP-glucuronosyltransferases: Their role in drug metabolism and detoxification[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2013, 45(6): 1121-1132.
- [40] Wells P G, Mackenzie P I, Chowdhury J R, et al. Glucuronidation and the UDP-glucuronosyltransferases in health and disease[J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 2004, 32(3): 281-290.
- [41] Cashman J R, Perotti B Y, Berkman C E, et al. Pharmacokinetics and molecular detoxication[J]. *Environmental Health Perspectives*, 1996, 104: 23-40.
- [42] Manikandan P, Nagini S. Cytochrome P450 structure, function and clinical significance: A review[J]. *Current Drug Targets*, 2018, 19(1): 38-54.
- [43] Omura T. Forty years of cytochrome P450[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1999, 266(3): 690-698.
- [44] Zanger U M, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation[J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 2013, 138(1): 103-141.
- [45] Guengerich F P, Waterman M R, Egli M, et al. Recent structural insights into cytochrome P450 function[J]. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2016, 37(8): 625-640.
- [46] Hedlund E, Gustafsson J, Warner M, et al. Cytochrome P450 in the brain: A review[J]. *Current Drug Metabolism*, 2001, 2(3): 245-263.
- [47] Anzenbacher P, Anzenbacherova E. Cytochromes P450 and metabolism of xenobiotics[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2001, 58(5): 737-747.
- [48] He X, Feng S. Role of metabolic enzymes P450 (CYP) on activating procarcinogen and their polymorphisms on the risk of cancers[J]. *Current Drug Metabolism*, 2015, 16(10): 850-863.
- [49] Hollenberg P F, Kent U M, Bumpus N N, et al. Mechanism-based inactivation of human cytochromes P450s: Experimental characterization, reactive intermediates, and clinical implications[J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2008, 21(1): 189-205.
- [50] Ingelmannsundberg M. Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: The past, present and future[J]. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2004, 25(4): 193-200.
- [51] Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, et al. Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival[J]. *Cancer Research*, 2004, 64(11): 3753-3756.
- [52] Yang N, Sun R, Liao X, et al. UDP-glucuronosyltransferases (UGTs) and their related metabolic cross-talk with internal homeostasis: A systematic review of UGT isoforms for precision medicine[J]. *Pharmacological Research*, 2017, 121: 169-183.
- [53] Mackenzie P I, Rogers A, Elliot D J, et al. The novel UDP glycosyltransferase 3A2: Cloning, catalytic properties, and tissue distribution[J]. *Molecular Pharmacology*, 2011, 79(3): 472-478.
- [54] Jetter A, Kullak-Ublick G A. Drugs and hepatic transporters: A review[J]. *Pharmacological Research*, 2019. doi: 10.1016/j.phrs.2019.04.018.
- [55] Beis K. Structural basis for the mechanism of ABC transporters[J]. *Biochemical Society Transactions*, 2015, 43(5): 889-893.
- [56] Theodoulou F L, Kerr I D. ABC transporter research: Going strong 40 years on[J]. *Biochemical Society Transactions*, 2015, 43(5): 1033-1040.
- [57] Jones P M, George A M. The ABC transporter structure and mechanism: Perspectives on recent research[J]. *Cellular and Mo-*

- lecular Life Sciences, 2004, 61(6): 682-699.
- [58] Cascorbi I. P-glycoprotein: Tissue distribution, substrates, and functional consequences of genetic variations[J]. Handbook of experimental pharmacology, 2011, 201(201): 261-283.
- [59] Stieger B. Role of the bile salt export pump, BSEP, in acquired forms of cholestasis[J]. Drug Metabolism Reviews, 2010, 42(3): 437-445.
- [60] Miao L, St Clair D K. Regulation of superoxide dismutase genes: Implications in disease[J]. Free Radical Biology & Medicine, 2009, 47(4): 344-356.
- [61] Kumari M V R, Hiramatsu M, Ebadi M. Free radical scavenging actions of metallothionein isoforms I and II[J]. Free Radical Research, 1998, 29(2): 93-101.
- [62] Feder M E, Hofmann G E. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: Evolutionary and ecological physiology[J]. Annual Review of Physiology, 1999, 61(1): 243-282.

## Animal Chemical Defensome: Organization and Detoxification Mechanisms

ZHANG Shi-Cui, YOU Xin-Ye, ZHANG Yu

(College of Marine Life, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

**Abstract:** Animal chemical defensome is made up of an array of gene families, proteins and pathways, which plays an important role in responding to xenobiotic stress in the environment and maintaining cellular homeostasis. The core components of the chemical defensome are: (1) soluble receptors and ligand activated transcription factors, which receive and sense toxicants and tissue damage; (2) biotransformation enzymes, that transform chemicals to less toxic and excretable metabolites by oxidation, reduction and conjugation reactions; (3) efflux transporters, that export toxicants or metabolites generated by biotransformation from the cell; (4) antioxidant enzymes, that protect against ROS or other radicals. In this review we summarize the composition and mechanism of animal chemical defensome, and provide reference for the study of chemical defensome in marine invertebrates.

**Key words:** chemical defensome; ligand activated transcription factors; biotransformation enzyme; ABC transporter; chemical stress

责任编辑 高 蓓