· 综 述 ·

对氧磷酶基因多态性及其临床意义的研究进展

王刚焱 (综述), 何凤生 (审校)

(中国预防医学科学院劳动卫生职业病研究所, 北京 100050)

摘要: 对氧磷酶 (PON) 由 355 个氨基酸组成, 有两个位点具有多态性, PON 表型多态性是由其基因多态性引起的, 人类 PON 基因位于 7q²¹⁻²², 在两个单一位点出现多态性。PON 多态性对有机磷酸酯等类化合物中毒保护及心血管疾病等具有实际意义。

关键词: 对氧磷酶; 多态性; 中毒; 心血管疾病

中图分类号: Q556⁺. 1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-221X (1999)06-0360-03

Paraoxonase gene polymorphism and its significance

WANG Gang-duo, HE Feng-sheng

(Institute of Occupational Medicine, Chinese Academy of Preventive Medicine, Beijing 100050, China)

Abstract: Paraoxonase (PON) consists of 355 amino acids, there are two common polymorphic sites at amino acids 55 and 192 respectively, which are determined by PON gene polymorphism. Human gene of paraoxonase is close to the cystic fibrosis gene on long arm of chromosome 7 (7q²¹⁻²²), its full cDNA has 1346 bp. PON gene polymorphism has quite important significance on the pathogenesis, protection of organophosphate and other compounds poisoning, coronary artery disease and coronary heart disease in diabetes.

Key words: Paraoxonase; Polymorphism; Poisoning; Cardiovascular diseases

对氧磷酶 (paraoxonase, PON) 是一类能催化水解磷酸酯键的芳香酯酶, 它可降解有机磷酸酯、芳香羧酸酯及氨基甲酸酯等。由于用于检测该酶活性的最常用的底物是对氧磷 (paraoxon), 故将该酶命名为对氧磷酶, 因为 PON 亦能水解苯乙酸酯故仍有学者称之为芳香酯酶 (arylesterase)^[1]。近年研究发现, PON 不仅在有机磷酸酯等类化合物解毒方面具有重要作用, 而且与动脉粥样硬化及 II 型糖尿病发病等有密切关系, 随着分子生物学的进展, 对 PON 及其基因多态性在有关疾病发病中的意义的研究更加深入^[2-4], 本文就近年的研究进展综述如下。

1 对氧磷酶及其多态性研究

PON 由 355 个氨基酸组成^[5], 主要由肝脏分泌, 在哺乳动物体内广泛分布于许多组织, 如肝脏、血液、肾脏、脾脏及脑组织等。人血清中 PON 的氨基酸共含 3 个 Cys 残基, 其中第 42 位和第 353 位 Cys 形成分子内二硫键, 不能成为活性中心, 而第 283 位有游离-SH, 在理论上此位点可能是酯酶的活性中心^[6]。PON 是一类钙离子依赖性酯酶, 二价阳离子的存在, 可维持 PON 的稳定性和对对氧磷及苯乙酸酯的催化活性; Ca²⁺ 能促使酶-底物复合物形成, 并促成其分解为酶与产物,

从而使 PON 的活性增强^[7]。某些螯合剂、重金属、有机磷酸酯等则可抑制 PON 的活性, 其中 EDTA 为可逆性抑制, 苯乙酸酯和塔崩等为进行性抑制^[8], 因此在有机磷酸酯类化合物中毒用药治疗时, 应注意保护 PON 的活性问题。

人类血清中对氧磷酶的多态性分布早已被人们认识, 1976 年 Playfer 等人^[9] 对其进行了较为详细的研究, 提出了对氧磷酶高活性和低活性的遗传学基础, 认为 PON 表型是由常染色体位点上两个等位基因决定的。

由于 PON 的氨基酸顺序已明确故不难确定其多态性位点。PON 在两个位点具有多态性^[10, 11], 一个是在 192 位出现的谷氨酸 (Glu) / 精氨酸 (Arg) 多态性, 另一个是在第 55 位出现蛋氨酸 (Met) / 亮氨酸 (Leu) 多态性。第 192 位点的多态性使 PON 出现两种同型异构体, 两者对对氧磷的水解具有不同的活性, A 型 PON 第 192 位点的氨基酸为 Glu, 酶活性低; B 型 PON 第 192 位点的氨基酸为 Arg 具有高活性。第 55 位点氨基酸的多态性未发现对酶的活性有明显的影响^[10-13]。随着研究的深入, 对 PON 在两个多态性位点的活性又有了新的认识^[13, 14]。

PON 表型的多态性由 PON 基因多态性引起的, 人类 PON 基因位于 7 号染色体长臂中间部 (7q²¹⁻²²)^[5, 10], 其 cDNA 全长为 1346bp^[5], 至少含有 6 个外显子和 5 个内含子。通过对 PON cDNA 进行测序, 发现 PON 基因在 2 个单一位点出现多态性: 一个位点出现在 A/B 等位基因, 另一个位点出现在 M/L 等位

收稿日期: 1999-07-02

基金项目: 国家“九五”攻关项目基金资助 (96-906-04-11)

作者简介: 王刚焱 (1965-), 男, 山东东明县人, 博士研究生,

副研究员, 从事分子和免疫毒理研究。

基因。A/B多态性导致PON在192位点出现Glu/Arg多态性，M/L多态性导致PON在55位点出现Met/Leu多态性。

既往曾采用检测酶活性高低和峰值分布来测定和验证酶的多态性及表型分布^[15]。目前利用PCR技术即可扩增出决定第55位点和192位点区域氨基酸顺序的基因片段，直接进行DNA测序或采用特异性内切酶技术决定个体的基因型^[10, 16]。

2 对氧磷酶多态性与有机磷中毒保护作用

对氧磷酶能够催化磷酸酯键水解，降解有机磷酸酯、芳香羧酸酯和氨基甲酸酯等，是PON对有机磷酸酯等化合物中毒保护作用的理论依据。

PON对有机磷水解作用强弱是决定有机磷对脊椎动物包括人毒性作用大小的重要因素，而PON的此种保护作用又与PON的水平（含量）及多态性（活性）有关。Mackness等^[14]经多元回归分析发现，PON的活性与其第192位点多态性、第55位点多态性及血清中PON的浓度有关，三者决定PON活性的高低分别占46%、13%和16%，而未发现其他因素可明显影响其活性。一般认为血清中高水平的PON有助于保护有机磷农药中毒^[17]。鸟类血清中PON含量很低，与血清中PON含量高的哺乳动物相比，它们对对氧磷、二嗪农等农药则非常敏感；兔子血清中PON的水平是大鼠的7倍，结果它对对氧磷的耐受性比大鼠高4倍；如果给大鼠注射纯化的兔血清PON，可以明显地增加大鼠对对氧磷的抵抗能力^[8, 18]，均说明PON对有机磷化合物的保护作用与其含量有很好的相关性。

PON的多态性从其表型、氨基酸顺序或编码蛋白的DNA序列都得到了证实^[9-11]。人类血清中PON的多态性属于底物依赖多态性，不同底物受多态性的影响不同^[11, 13, 19]。A型PON第192位点氨基酸为Glu，水解对氧磷的活性低，B型第192位点的氨基酸为Arg，具有水解对氧磷高活性^[11]，而这两型PON对某些底物如毒死蜱则具有几乎同样高的水解活性^[19]。传统的观点一直认为，B型PON是保护有机磷等农药中毒的主要同分异构体，因为它具有水解对氧磷高活性；近来研究发现^[13]，A型PON水解二嗪农及其他神经毒物如杀林、索曼等比B型更快，但资料有限，尚待进一步证实。

有人^[19]曾观察人类PON的3种基因型即低活性纯合子（A型）、高活性纯合子（B型）和杂合子（AB型）的分布，发现北欧人群的基因序列中低活性等位基因占0.69，高活性等位基因占0.31。因此该人群中48%的人为低活性纯合子，9.6%的人为高活性纯合子，而43%的人为杂合子；另外还发现不同个体间同型多态酶的PON活性有很大的差异，低活性纯合子型个体之间酶活性变异即可高达13倍，高活性型变异更大。

Li等^[2]提出应用PON的多态性作为机体对特定有机磷化合物接触的易感性标志物，如一个个体属于低活性纯合子型，加上含有低水平的Glu₁₉₂蛋白酶，其对对氧磷和毒死蜱可能均敏感；如果该个体血清中含有高浓度的Glu₁₉₂蛋白酶，它能很快地水解毒死蜱，而仅对对氧磷敏感。高活性纯合子型个体，

再加上血清中有高含量的Arg₁₉₂PON就能高效率的水解对氧磷和毒死蜱。

3 对氧磷酶多态性与心血管疾病的关系

越来越多的证据表明PON在脂蛋白代谢中起重要作用，并进而影响冠心病和粥样硬化的发生。PON在血清中以高密度脂蛋白（HDL）为载体，主要是和HDL中的载脂蛋白A-I（apoA-I）紧密结合，可起到对低密度脂蛋白（LDL）的保护作用^[20]。LDL的氧化在动脉粥样硬化的发病中起重要作用，PON可预防LDL免受氧化修饰，降低体内OX-LDL水平；PON与HDL上的另一种酶即血小板活性因子-乙酰水解酶协调作用，可使HDL发挥抑制LDL氧化修饰作用^[21, 22]。LDL在氧化过程中会产生具有生物活性的溶血磷脂，具有细胞毒作用，PON则能破坏OX-LDL中的溶血磷脂，减少OX-LDL中具有生物活性的溶血磷脂的量。由于OX-LDL在动脉粥样硬化中起重要作用，故PON降低体内OX-LDL水平和减少OX-LDL中溶血磷脂含量，对心血管具有保护作用，可抑制动脉粥样硬化的形成；已有文献报道心肌梗塞病人体内PON活性降低，PON活性下降是心血管疾病发病的独立危险因素^[20, 21, 23]。

近来许多文献^[21, 23, 24]探讨了PON基因多态性与冠心病发病的关系。Sanghera^[21]等研究发现，印度冠心病患者B等位基因明显高于对照组，调整性别和年龄差异后，B等位基因人群发展为冠心病的概率是A等位基因的2.1倍。将上述冠心病患者进行分层处理，B等位基因与冠心病仍存在良好的相关性，心肌梗塞病人比无心肌梗塞者表现得更显著，作者认为PON多态性是人群发生冠心病的独立危险因素。Zama等^[24]研究了75例日本冠心病患者，探讨PON第192位点基因多态性（¹⁹²Arg/Glu），亦得出类似的结论。但也有研究发现中国人和芬兰人PON第192位点基因多态性的B等位基因出现的概率与冠心病的发病没有明显的相关性^[21, 25, 26]，这可能是由于种族和环境差异造成的。

PON在第55位点的多态性与心血管疾病的关系也逐渐被人们重视^[24, 27, 28]，并认为也可能是影响冠心病发病的独立因素，且PON在第55位点多态性与血清中酶的浓度有关；但也有结论不一致的报道，由于文献数量有限，尚待进一步研究。

4 对氧磷酶基因多态性与II型糖尿病的关系

PON基因多态性与II型糖尿病的关系是近几年PON的研究热点之一^[27, 29, 30, 31]，主要涉及PON与II型糖尿病患者并发心血管疾病问题，因为PON能保护LDL不被氧化，降低体内OX-LDL水平，而II型糖尿病患者清除氧化能力降低，且该类患者体内LDL被非酶糖基化，糖化的LDL易被氧化修饰，因此PON可能对保护II型糖尿病患者并发心血管疾病起到一定的作用。

Mackness等^[29]发现II型糖尿病患者血清中PON活性较对照组明显降低，同时血清中PON浓度也显著低于对照组，两组之间PON的B等位基因和L等位基因出现概率也有明显差别；Ruiz等^[30]研究表明与非并发冠心病的糖尿病患者相比，

冠心病患者 B 纯合子基因(BB)及杂合子(AB)出现率明显增高(OR 分别为 2.5 和 1.6), 经多变量分析, B 等位基因与冠心病发病仍有很好的相关性(OR=1.94), 说明 PON 多态性在 II 型糖尿病并发冠心病中是一个独立的危险因素, 这可能是 B 等位基因不能很好地保护 LDL 被氧化的原因。Odawara 等^[31]分析了 164 例 II 型糖尿病患者的基因型, 其中 42 例并发冠心病, 122 例没有冠心病, 发现 42 例并发冠心病患者中有 41 例第 192 位点等位基因为 BB+AB, B 等位基因(AB+BB)携带率亦显著高于无冠心病并发症的糖尿病患者, 经多因素回归分析发现, 并发冠心病患者 B 等位基因型仍显著增高, 说明在日本 II 型糖尿病患者中, PON 基因多态性中 B 等位基因是增加患者心血管并发症危险性的重要因素。PON 在第 55 位点多态性与 II 型糖尿病心血管并发症关系研究较少, 有研究发现 L 等位基因也是糖尿病患者并发冠心病的独立高危因素, 且 PON M/L 多态性可通过影响 PON N 端区的构象直接影响 PON 的浓度, 而 PON 基因 A/B 多态性不影响 PON 的浓度^[27, 32]。

总之, 近年来对 PON 多态性及其意义虽进行了较为深入的研究, 但许多问题尚未阐明, 如不同位点多态性对酶活性影响及对不同毒物保护作用的机制, PON 基因多态性在血管病变及糖尿病并发冠心病中的确切机制等。另外, 一些报道之间尚有不一致的结论, 是环境还是遗传因素差异造成的, 尚待探讨。对氧磷酶只是多基因家族中的一员, 其他成员(如 PON2、PON3)基因克隆及意义亦待进一步研究^[33, 34]。

防病治病是医学研究的目的, 对 PON 基因多态性更深入的研究, 进一步明确不同有机磷化合物的易感性标志物, 用于筛选职业接触易感人群, 使之免于接触或早期脱离接触该类毒物将是一级预防的一种有效措施。检测人群 PON 基因型, 筛选心血管疾病和 II 型糖尿病血管并发症等高危人群, 对早期发现及防治心血管疾病及糖尿病并发症具有重要意义; 如能利用基因工程技术, 生产特定的基因型 PON, 用于有机磷农药等中毒和心血管疾病、糖尿病血管并发症等治疗, 预计将具有广泛的应用价值。

参考文献:

- [1] Walker CH. *Chem Bio Interact*, 1993, 87: 17~24.
- [2] Li WF, Costa LC, Furlong CE. *J Toxicol Environ Health*, 1993, 40: 337~346.
- [3] Cao H, Globa AG, Berthezene F, et al. *J lipid Res*, 1999, 40: 133~139.
- [4] Pofohl M, Koch M, Enderle MD, et al. *Diabetes*, 1999, 48: 623~627.
- [5] Furlong CE, Costa LG, Hassett C, et al. *Chem Biol Interact*, 1993, 87: 35~48.
- [6] Seronson RC, Primo PS, Kuo CL, et al. *Genetics*, 1995, 92: 7187~7197.
- [7] La Du B, Adkins S, Kuo CL, et al. *Chem Biol Interact*, 1993, 87: 25~34.
- [8] Kuo CL, La Du B. *Drug Metab Dispos*, 1995, 23: 935~949.
- [9] Pkyfer JR, Ez LC, Bullen MF, et al. *J Med Genet*, 1976, 13: 337~342.
- [10] Adkins S, Gan KN, Mody M, et al. *Am J Hum Genet*, 1993, 52: 598~608.
- [11] Humbert RS, Adler DA, Disteché CM, et al. *Nat Genet*, 1993, 3: 73~76.
- [12] La DB. *Nature Med*, 1996, 2: 1186~1187.
- [13] Davies HG, Richter RJ, Keifer M, et al. *Nat Genetics*, 1996, 14: 334~336.
- [14] Mackness B, Mackness M, Arrol S, et al. *J Pharmacol*, 1997, 122: 265~268.
- [15] Smlen A, Eckerson HW, Gan KW, et al. *Drug Metab Dispos*, 1991, 19: 107~112.
- [16] Zama T, Murata M, Matsubara Y, et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, 17: 3565~3569.
- [17] Geldmacher-von MM, Diebgen TL. *Toxicol Environ Chem*, 1988, 18: 79~196.
- [18] Costa LG, Manzo L. *Toxicol Letters*, 1995, 77: 137~144.
- [19] Furlong CE, Richter RJ, Seidel SL, et al. *Bio Chem*, 1989, 180: 242~247.
- [20] Watson AD, Berliner JA, Hama SY, et al. *J Clin Invest*, 1995, 96: 2882~2891.
- [21] Sanghera DK, Saha N, Aston CE, et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, 17: 1067~1073.
- [22] Diana MS, Matsubara K. *J Clin Invest*, 1996, 97: 1630~1637.
- [23] Serrato M, Marian AJ. *J Clin Invest*, 1995, 93: 3005~3008.
- [24] Zama T, Murata M, Matsubara Y, et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, 17: 3565~3569.
- [25] Artikainen M, Murtomaki S, Sgvanne M, et al. *J Clin Invest*, 1996, 98: 883~885.
- [26] Ko YL, Ko YS, Wang SM, et al. *Atherosclerosis*, 1998, 141: 259~264.
- [27] Garin MC, James RW, Dussoix P, et al. *J Clin Invest*, 1997, 99: 62~66.
- [28] Sanghera DK, Saha N, Kanboh MI. *Atherosclerosis*, 1998, 136: 217~223.
- [29] Mackness B, Mackness M, Arrol S, et al. *Atherosclerosis*, 1998, 139: 341~349.
- [30] Ruiz J, Blanche H, James RW, et al. *The Lancet*, 1995, 346: 869~872.
- [31] Odawara M, Tachi Y, Yamashita K. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82: 2257~2260.
- [32] Leviev I, Negro F, Ames RW. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, 17: 2935~2939.
- [33] Primo-pamo SL, Seronson RC, Teiber J, et al. *Genomics*, 1996, 33: 498~507.
- [34] Modhizuki H, Scherer SW, Xi T, et al. *Gene*, 1998, 213: 149~157.