

乙醇脱氢酶和乙醛脱氢酶及细胞色素P450 2E1基因多态性与酒精性肝病易感性的研究

郑莉莉, 仲英娜 (新疆维吾尔自治区人民医院 感染病科, 乌鲁木齐 830001)

酒精滥用和酒精依赖已成为当今世界日益关注的社会公共卫生问题。酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)是指由于长期大量地摄入酒精而导致肝脏一系列病变。在西方国家,酒精性肝病是导致肝硬化的主要因素^[1]。近年来,随着我国国民经济的发展,与饮酒相关的问题已成为我国面临的一大社会和医学问题,ALD的发病率迅速上升,饮酒者中已达6.1%^[2]。根据中华医学会肝脏病学分会提出的ALD病理诊断标准可分为5种类型^[3]:轻型ALD、酒精性脂肪肝、酒精性肝炎、酒精性肝纤维化和酒精性肝硬化。长期饮酒可引起慢性肝炎、肝硬化甚至肝癌。但并非每个人长期饮酒都会导致ALD,这提示基因遗传易感性可能起着重要的作用^[4]。近年来乙醇脱氢酶(alcohol dehydrogenase, ADH)、乙醛脱氢酶(aldehyde Dehydrogenase, ALDH)和细胞色素P450(cytochrome P450, CY) 2E1基因多态性与ALD发生的相关性研究已经成为国内外研究的热点。

肝脏是酒精代谢的主要场所,机体摄入的酒精90%在肝脏内代谢。乙醇在肝内有4条代谢途径:①乙醇脱氢酶(ADH)乙醇氧化体系;②滑面内质网上的微粒体乙醇氧化酶系统(MEOS);③NADPH氧化酶-过氧化氢酶体系;④黄嘌呤氧化酶-过氧化氢酶体系。其中以前两种途径为主。通常少量的乙醇在肝脏主要通过ADH氧化体系代谢。在此代谢途径中,乙醇在肝脏内首先由ADH氧化成乙醛,继而由ALDH氧化成乙酸,最后分解为二氧化碳和水。而慢性习惯性饮酒时,其高

浓度的乙醇则可以诱导CY P450 2E1活性,参与酒精的代谢。通过各种途径产生的乙醛可损害各种细胞器和酶的功能,同时又能刺激免疫系统诱发免疫反应性肝损害。酒精在肝细胞内通过细胞色素P450 2E1和ADH介导的氧化反应形成很多的自由基,它们对细胞内物质产生氧化损伤。此乙醛和自由基诱导线粒体的损害,最终导致肝细胞的损害。由此可见,ADH、ALDH和CY P450 2E1是乙醇及其代谢产物乙醛代谢的非常重要的三种酶。

1 ADH和ALDH基因多态性

ADH即乙醇辅酶I氧化还原酶(alcohol NAD oxidoreductase)。ADH催化乙醇氧化生成的乙醛,可在体内进一步氧化成乙酸,并氧化成乙酰辅酶A,或经三羧酸循环彻底氧化供能,或作为某些物质(如脂酸和胆固醇等)的合成原料。ADH是由20多个同工酶组成的大家族,其中常见的有5种分布在肝脏内,分别是ADH1、ADH2、ADH3、ADH4和ADH5。根据其催化性能可将其分成3型:I型包括ADH1、ADH2和ADH3,II型为ADH4,III型为ADH5。对乙醇代谢起主要作用的是I型。ADH基因位于人类染色体4q21-25,ADH1、ADH2和ADH3 3种基因存在高度同源性,其长度均约为15 kb,而均均包含9个外显子,现已发现,ADH2和ADH3存在基因多态现象,尚未发现ADH1、ADH4或ADH5有多态性^[5]。ADH2是为 β ADH编码的基因,其具有多态性,分别为ADH2*1、ADH2*2、ADH2*3,并分别编码 β_1 、 β_2 和 β_3 三种亚基,这3种亚基随机组合就可形成6种基因型^[6]。ADH2*1编码 β_1 ADH,其第三

通讯作者: 仲英娜 Email: zhongyn2005@126.com

外显子编码第47位氨基酸为精氨酸(Arg), 多态性位点的碱基为鸟嘌呤(G); ADH2*2编码 β_2 ADH, 其第三外显子编码第47位氨基酸为组氨酸(His), 代替了原来的精氨酸(Arg), 其单个氨基酸替换是编码此位点氨基酸的一个原来的碱基鸟嘌呤(G)突变成腺嘌呤(A), 这种修饰产生了Mae III酶切位点; ADH2*3编码 β_3 ADH, 其第九外显子编码第396位氨基酸由精氨酸(Arg)代替了原来的组氨酸(His), 其单个氨基酸替换是编码此位点氨基酸的一个原来的碱基胞嘧啶(C)突变为胸腺嘧啶(T), 这种修饰产生了Alu I酶切位点。ADH3存在两个等位基因分别是ADH3*1和ADH3*2, 分别编码 γ_1 和 γ_2 两个亚基, 这两个亚基可以组合成3种基因型。 γ_1 和 γ_2 的区别在于第8外显子的271位精氨酸(Arg)变为谷氨酰胺(Gln), 第349位的异亮氨酸(ILE)转变为缬氨酸(Val)。这种氨基酸的替代是由于 γ_1 中的鸟嘌呤(G)转变为 γ_2 中的腺嘌呤(A), 由此产生了一个酶切位点即Ssp I酶切位点^[6]。

目前发现的ALDH同工酶有12种, 常见的有4种^[7], 分别是ALDH1、ALDH2、ALDH3和ALDH4, 均分布在肝内。其中ALDH2在参与乙醛的代谢中起重要的作用, 其编码的基因多态性为ALDH2*1和ALDH2*2。ALDH2*1是指在487位氨基酸为谷氨酰胺(Gln), 而ALDH2*2是指在487位氨基酸为天冬氨酸(Asp)^[8]。ALDH2*1为野生型隐性等位基因, 具有ALDH2酶的活性; ALDH2*2为突变型显性等位基因, 不具备ALDH2酶的活性。二者可编码3种基因型, 即ALDH2*1/1、ALDH2*2/2和杂合子ALDH2*1/2, 只有ALDH2*1/1编码的酶才具有活性。乙醛有明显的致癌作用, ALDH2的生理意义在于其对乙醛的解毒作用。而ALDH2*2等位基因由于缺乏ALDH2活性, 饮酒后血液中乙醛蓄积。国外学者研究表明, ALDH2*2基因型与肿瘤发生具有相关性^[9-11]。

近几年, 国内外学者对ADH和ALDH基因多态性与ALD发生的相关性进行了大量研究, 但是结果并不一致。我国学者Yu等^[12]研究显示,

ADH2*1和ALDH2*2与ALD发生的遗传易感性具有相关性。ADH2*1基因型者, 其酒精性肝病和酒精性依赖的发生率较高, 尤其在酒精性肝病中的发生发展中最为显著, 而ALDH2*2基因型者的ALD和酒精性依赖的发生率明显比健康人群明显降低。日本学者Okamoto等^[13]研究表明, ALDH2基因多态性与ALD的发生发展有明显相关性, 其中ADH2*2基因型与个人饮酒行为以及ALD的发生发展具有显著相关性。西班牙学者Vidal等^[14]研究显示, ADH基因多态性与酒精中毒或ALD的遗传易感性无明显相关。Borras等^[15]对欧洲几个国家的人进行了ADH基因型分析, 结果显示在健康人群中ADH2和ADH3基因的出现频率无明显差异, 而ADH2*2基因型在嗜酒者中的频率明显高于非嗜酒者。

2 CY P450 2E1基因多态性

细胞色素P450(CYP)是广泛存在于生物体内的一类含血红素和巯基的蛋白, 相对分子质量为50 kD, 在波长450 nm处有最大吸收峰。细胞色素P450家族成员间一级结构差异较大, 但空间结构却有较大的相似性, 含有由含铁血红素和半胱氨酸组成的活性中心。

CYP450是人体致癌物代谢最重要的酶家族。CYP450 2E1又称为二甲亚硝胺D-脱甲基酶, 定位于人类染色体10q24.3-ter, 含9个外显子和8个内含子。主要参与亚硝胺及其前致癌物N-脱甲基酶、乙醇和苯等代谢过程, 有激活前癌物质的作用, 同时还参与酒精的氧化代谢并产生自由基而启动脂质过氧化等^[16, 17]。CYP450 2E1是细胞色素P450的乙醇诱导形式, 可使mRNA的水平增高或蛋白的稳定性增加, 在非乙醇脱氢酶氧化途径中发挥重要作用^[18]。长期大量饮酒时, MEOS系统被激活, 对乙醇代谢起主要作用。研究表明, CYP450 2E1的表达受外界环境如酒精的诱导, 但其表达具有很大差异性, 提示这种差异性与个体遗传易感性有关^[19, 20]。近年来, 很多学者研究证实CYP450 2E1基因存在多型性, 并且与许多消化系统肿瘤的发生有关^[21-23]。CYP450 2E1基因多个位点存在基因多态性, 如位于内含子2和6中Dra I酶

切位点和*Msp* I 酶切位点, 内含子3中的*Rsa* I 酶切位点, 内含子7中的*Taq* I 酶切位点以及位于基■ 5'-端的*Pst* I 和*Rsa* I 酶切位点^[24], 其中*Rsa* I 位点基■多态性可能影响此基■的转录水平^[25]。

CY P450基■多态性最常见的是的*Pst* I 酶切位点、*Rsa* I 酶切位点和*Dra* I 酶切位点多态性。根据其能否被限制性内切酶*Rsa* I、*Pst* I 和*Taq* I 酶切以及被消化成的片段进行分型, 至少可分为3个基■型, 即A型(C1基■纯合子)、B型(C1/C2基■杂合子)及C型(C2基■纯合子)。能够被*Rsa* I 消化但不被*Pst* I 消化的为A型; 同时能够被*Rsa* I 和*Pst* I 消化的为B型; 能够被*Pst* I 消化而不被*Rsa* I 消化的为C型^[26]。但其基■多态性与ALD是否具有相关性, ■内外学者的研究也不尽一致。一些学者^[13, 14, 27, 28]研究显示, CY P450 2E1基■多态性与ALD的遗传易感性无相关性。我■学者^[10, 11]研究显示CY P450 2E1基■的C2型既能被*Rsa* I 酶切却不能被*Pst* I 酶切的基■型即A型与ALD的发生具有相关性。酒精是CY P450 2E1色素强烈的诱导剂, ■此在肝脏损害的不同病理阶段其蛋白表达也不同。史洪涛等^[28]研究表明在非酒精性脂肪肝大鼠肝脏CY P450 2E1的活性和表达与肝脏受损的程度密切相关。

综上所述, ADH、ALDH和CY P450 2E1作为乙醇在肝脏中代谢重要的3种酶, 其遗传多态性与ALD发生的易感性已■益成为研究领域的热点。■于不同种族、不同个体之间影响ALD发生的■素存在差异, 导致许多研究产生相互矛盾的结果。■此深入研究不同基■多态性的联合作用, 将对ALD的基础研究及临床防治产生极其重要的意义。

参考文献

- [1] Ramstedt M. Alcohol consumption and alcohol-related mortality in Canada, 1950-2000 [J]. Can J Public Health, 2004, 95: 121-126.
- [2] 鲁晓岚, 陶明, 罗金燕, 等. 饮酒与肝病流行病学调查[J]. 中华肝脏病杂志, 2002, 10: 467-468.
- [3] 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组. 酒精性肝病诊断标准[J]. 中华肝脏病杂志, 2003, 11: 72.
- [4] Tsutsumi M, Takase S, Takada A. Genetic factors related to the development of carcinoma in digestive organs in alcoholics [J]. Alcohol Alcohol Suppl, 1993, 1B: 21-26.
- [5] Poupon RE, Nalpas B, Coutelle C, et al. Polymorphism of alcohol dehydrogenase, alcohol and aldehyde dehydrogenase activities: implication in alcoholic cirrhosis in white patients. The French Group for Research on Alcohol and Liver [J]. Hepatology, 1992, 15: 1017-1022.
- [6] Groppi A, Begueret J, Iron A. Improved methods for genotype determination of human alcohol dehydrogenase (ADH) at ADH 2 and ADH 3 loci by using polymerase chain reaction-directed mutagenesis [J]. Clin Chem, 1990, 36: 1765-1768.
- [7] Day CP, Bashir R, James OF, et al. Investigation of the role of polymorphisms at the alcohol and aldehyde dehydrogenase loci in genetic predisposition to alcohol-related end-organ damage [J]. Hepatology, 1991, 14: 798-801.
- [8] 杨铭, 厉有名. 酒精性肝病易感性和基■多态性[J]. ■外医学流行病学传染病学分册, 2003, 30: 345-347.
- [9] Yokoyama A, Muramatsu T, Ohmori T, et al. Multiple primary esophageal and concurrent upper aerodigestive tract cancer and the aldehyde dehydrogenase-2 genotype of Japanese alcoholics [J]. Cancer, 1996, 77: 1986-1990.
- [10] Boonyaphiphat P, Thongsuksai P, Sriplung H, et al. Lifestyle habits and genetic susceptibility and the risk of esophageal cancer in the Thai population [J]. Cancer Lett, 2002, 186: 193-199.
- [11] 李苏平, 丁建华, 吴建中, 等. 乙醛脱氢酶2基■多态性和饮酒习惯与肝癌发生的关系研究[J]. 肿瘤防治杂志, 2002, 9: 228.
- [12] Yu C, Li Y, Chen W, et al. Genotype of ethanol metabolizing enzyme genes by oligonucleotide microarray in alcoholic liver disease in Chinese people [J]. Chin Med J (Engl), 2002, 115: 1085-1057.
- [13] Okamoto K, Murawaki Y, Yuasa I, et al. Effect of ALDH2 and CYP2E1 gene polymorphisms on drinking behavior and alcoholic liver disease in Japanese male workers [J]. Alcohol Clin Exp Res, 2001, 25: 19S-23S.
- [14] Vidal F, Lorenzo A, Auguet T, et al. Genetic polymorphisms of ADH2, ADH3, CYP450E1 Dra-I and Pst-I, and ALDH2 in Spanish men: lack of association with alcoholism and alcoholic liver disease [J]. J Hepatol, 2004, 41: 744-750.
- [15] Borrás E, Coutelle C, Rosell A, et al. Genetic polymorphism of alcohol dehydrogenase in europeans: the ADH2*2 allele decreases the risk for alcoholism and is associated with ADH3*1 [J]. Hepatology, 2000, 31: 984-989.
- [16] Guengerich FP, Kim DH, Iwasaki M. Role of human cytochrome P-450 IIE1 in the oxidation of many low molecular weight cancer suspects [J]. Chem Res Toxicol, 1991, 4: 168-179.
- [17] Albano E, Tomasi A, Persson JO, et al. Role of ethanol-inducible cytochrome P450 (P450IIE1) in catalysing the free radical activation of aliphatic alcohols [J]. Biochem Pharmacol, 1991, 41: 1895-1902.
- [18] Takada A, Matsuda Y, Takase S. Effects of dietary fat on alcohol-pyrazole hepatitis in rats: the pathogenetic role of the nonalcohol dehydrogenase pathway in alcohol-induced hepatic cell injury [J]. Alcohol Clin Exp Res, 1986, 10: 403-411.
- [19] Lucas D, Berthou F, Dreano Y, et al. Comparison of levels of cytochromes P-450, CYP1A2, CYP2E1, and their related

- monooxygenase activities in human surgical liver samples [J]. Alcohol Clin Exp Res, 1993,17:900-905.
- [20] Tan W, Song N, Wang GQ, et al. Impact of genetic polymorphisms in cytochrome P450 2E1 and glutathione S-transferases M1, T1, and P1 on susceptibility to esophageal cancer among high-risk individuals in China [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2000,9:551-556.
- [21] 李之山, 谭文, 邵康, 等. 中国肺癌易感性与CYP2E1基因多态性相关[J]. 中华肿瘤杂志, 2000,22:5-7.
- [22] Tsutsumi M, Takase S, Takada A. Genetic factors related to the development of carcinoma in digestive organs in alcoholics [J]. Alcohol Alcohol Suppl, 1993,1B:21-26.
- [23] Uematsu F, Kikuchi H, Abe T, et al. MspI polymorphism of the human CYP2E gene [J]. Nucleic Acids Res, 1991,19:5797.
- [24] Hayashi S, Watanabe J, Kawajiri K. Genetic polymorphisms in the 5' -flanking region change transcriptional regulation of the human cytochrome P450IIE1 gene [J]. J Biochem, 1991,110:559-565.
- [25] 孟祥伟, 迟宝荣, 高海航, 等. 细胞色素P450 II E1-基因多态性在酒精性肝病发病中的意义[J]. 吉林大学学报(医学版), 2003,29: 451-453.
- [26] Carriere V, Berthou F, Baird S, et al. Human cytochrome P450 2E1 (CYP2E1): from genotype to phenotype [J]. Pharmacogenetics, 1996,6:203-211.
- [27] Powell H, Kitteringham NR, Pirmohamed M, et al. Expression of cytochrome P4502E1 in human liver: assessment by mRNA, genotype and phenotype [J]. Pharmacogenetics, 1998,8:411-421.
- [28] 史洪涛, 陈东风, 李陶, 等. 非酒精性脂肪肝大鼠肝细胞色素P450 2E1基因及表达变化的意义[J]. 中华肝脏病杂志, 2005,13:154-155.

收稿日期: 2008-01-05

中华实验和临床感染病杂志(电子版)订阅通知

中华实验和临床感染病杂志(电子版)订阅须知:



中华实验和临床感染病杂志(电子版)订阅表(复印有效)

姓 名		性 别		身份证号码	
通讯地址					
单位名称				科 室	
邮政编码				电 话	
传 真				Email	
订阅份数		订阅总金额		汇款日期	