

谷胱甘肽 S 转移酶系与年龄相关性白内障的研究进展

李 晨,管怀进

基金项目:中国国家自然科学基金资助项目(No. 81070718)
作者单位:(226001)中国江苏省南通市,南通大学附属医院眼科
作者简介:李晨,女,在读硕士研究生,研究方向:白内障。
通讯作者:管怀进,教授,主任医师,硕士研究生导师,中华医学会眼科学分会防盲学组副组长,《国际眼科杂志》编委,研究方向:青光眼、白内障防治研究. guanhjeye@126. com
收稿日期:2011-06-17 **修回日期:**2011-09-22

Research advances of glutathione S-transferase system and age-related cataract

Chen Li, Huai-Jin Guan

Foundation item: National Nature Science Foundation of China(No. 81070718)

Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Huai-Jin Guan. Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. guanhjeye@126. com

Received: 2011-06-17 Accepted: 2011-09-22

Abstract

• Cataract is one of the most common eye diseases causing blind, glutathione S-transferases (GSTs) are typical multifunctional enzyme, which can catalyze the combination of various chemical agents and glutathione. Recent studies have shown that GSTs have effect on anti-oxidant which can lead to the cataract. The expression of GSTs plays an important role in the process of cataract formation. This article reviewed the recent advances in the researches on GSTs system and age-related cataract.

• **KEYWORDS:** glutathione S-transferases; glutathione; ca-taract

Li C, Guan HJ. Research advances of glutathione S-transferase system and age-related cataract. *Guji Yanke Zazhi(Int J Ophthalmol)* 2011; 11(11):1932-1934

摘要

白内障是最常见的致盲眼病之一。谷胱甘肽 S 转移酶 (glutathione S-transferases, GSTs) 是典型的多功能酶,主要催化各种化学剂与谷胱甘肽结合。近些年的研究表明, GSTs 有抗过氧化引起的白内障作用。GSTs 表达水平的高低在白内障形成中有着重要的作用。我们将近年来 GSTs 与年龄相关性白内障的研究情况做一综述。

关键词: 谷胱甘肽 S 转移酶; 谷胱甘肽; 白内障

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-5123. 2011. 11. 018

李晨,管怀进. 谷胱甘肽 S 转移酶系与年龄相关性白内障的研究进展. 国际眼科杂志 2011; 11(11):1932-1934

0 引言

年龄相关性白内障 (age-related cataract, ARC) 是最常见的致盲性眼病,根据晶状体混浊的部位可将 ARC 分为皮质性、核性和后囊下 3 种类型。据世界卫生组织统计,全球约有 4 千万 ~ 4.5 千万盲人,其中一半由白内障引起^[1]。ARC 是一种多因素疾病,公认的 ARC 环境危险因素包括吸烟、饮酒和紫外线辐射,此外,衰老、女性、肥胖、糖尿病、高血压、心血管疾病、长期眼内炎症、皮质类固醇的使用等可能加速 ARC 的发展^[2]。尽管其发病机制尚不十分清楚,但大量研究提示,自由基引起的超氧化反应对晶状体的损伤在白内障发病中起着十分重要的作用。近年来研究发现,谷胱甘肽 S 转移酶 (glutathione S-transferases, GSTs) 的解毒功能在防御氧化应激、防止白内障发生、发展过程中起到重要作用。几种 GSTs 基因存在多态性,使 GST 催化功能发生改变而与白内障的遗传易感性相关。现仅对 GSTs 分子生物学特征及其与白内障的关系综述如下。

1 GSTs 分子生物学特征

谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 为晶状体内重要的一种还原物质,以氧化型和还原型的形式存在 (GSSH 与 GSSG),正常的晶状体含有高浓度的 GSH,高浓度的 GSH 可以使巯基处于还原状态,说明正常的晶状体处于显著的还原环境^[3]。已有报道,老年晶状体及白内障晶状体的 GSH 含量减少,GSH 在晶状体的水平随着年龄减低,并且随白内障的进程减低。

GSTs 主要催化各种化学剂与 GSH 结合,是典型的多功能酶,在结合疏水成分中起作用,它与超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 一样,有抗过氧化引起的白内障的作用,其表达水平的高低在白内障形成中有着重要的作用。在大鼠晶状体上皮细胞,使用 curcumin (一种还原剂) 引起 GST 同源酶 GST8-8 显著增高,因为大鼠的 rGST8-8 利用 HNE 作为它的理想底物,提示 curcumin 的保护作用是通过诱导 GST 的同工酶而发挥作用的,它通过保护由脂质过氧化而引起的白内障而达到预防白内障的目的。GSTM 在清除氧化状态下生成的混合二硫键中也起到重要的作用,因此, GST 是一个重要的抗氧化酶^[4]。

1.1 GSTs 的分型 GSTs 是广泛存在于各种生物体内由多个基因编码的,具有多种功能的一组同工酶,1991 年 Reinemer 等^[5]从猪肺中提纯了 GST- π 并首先发现其三维结构,以后又相继提纯了人 GSTP₁₋₁, GSTA₁₋₁ 和 GSTM₂₋₂, 并确定了其三维空间结构。所有细胞质的 GSTs 三级结构均相似,其作用具有组织非特异性。它以同或异二聚体形式存在,每个 GSTs 亚单位肽链形成两个结构域以短链相连接, N 末端区域大约由 80 个氨基酸形成许多 GSH 结合

位点(G-site),剩余的氨基酸主要形成疏水性亲电子物质结合位点(H-site)^[6]。GSTs是多种生物体内的主要解毒系统,与许多生理及异源物质的排泄有关,此外,它们还具有过氧化酶和异构酶的活性^[7]。有膜结合和胞液两种形式,胞液GSTs为主。膜结合和胞液GSTs分别由不同的超基因家族编码,前者至少包含6个基因,后者至少包含16个基因^[8],根据核苷酸序列、免疫、动力学和三/四级结构特征等不同标准,人类细胞质的GSTs分为 α 、 μ 、 θ 、 π 、 κ 、 ζ 、 σ 和 ω 等8种类型,各型按序列相似性和免疫交叉反应分为不同的亚型(表1,2),GSTs对GSH的结合有很高的特异性,但对第2个亲电子底物的特异性在不同型和型内差别显著^[9]。

1.2 GSTs的结构特点 GSTs的结构差异较大,氨基酸序列大约只有30%的相似性,胞液GSTs通常存在2个保守的功能域^[8]:N2末端功能域和C2末端功能域,前者通常包含第1~80个氨基酸残基,都是一个类似于硫氧蛋白的折叠,这个折叠可以结合半胱氨酸或GSH,N2末端功能域高度保守,包含了一个催化必需的与GSH巯基相互作用的酪氨酸、丝氨酸或半胱氨酸残基;C2端功能域大约位于第87~210个氨基酸残基,在不同型GSTs间差别较大,主要功能是与第二个疏水性底物相互作用,此外,由于它在第4个 α -螺旋含有一个保守的天冬氨酸残基,对GSH结合也有作用,不同型GSTs在C2末端功能域的差别可以解释 α 、 μ 和 π 之间的底物特异性的差异。

2 GSTs与年龄相关性白内障

2.1 氧化损伤与白内障 关于白内障的发生与自由基对晶状体损伤、晶状体发生脂质过氧化的关系已有许多报道。脂质过氧化是由于活性氧的产生和细胞抗氧化机制不平衡所致。过氧化反应损伤是白内障发生的主要危险因素,尤其在老年性白内障的病因学方面有重要位置。以往研究表明,活性氧可以在膜脂质过氧化和蛋白质损伤过程中产生,可导致白内障的形成。老年性白内障晶状体内自由基链锁反应及脂质过氧化作用增强^[10]。多种类型的白内障与超氧化反应(oxidative damage)对蛋白^[11]、脂质^[12]、DNA^[13]的损伤有关。亦有报告指出,白内障与房水内H₂O₂含量增加有关^[14]。由于晶状体蛋白的特殊性,晶状体较其它组织更依赖于机体抗氧化系统的保护作用。Abu-Amro等^[15]和Hanene等^[16]研究表明GSTs是新陈代谢和诱导各种内生或外源性化合物的重要酶,能催化GSH与亲电子有害化合物结合^[8],对有害物质的去除和避免遗传物质的损伤有重要作用,保护组织免遭氧化损伤。GSTs催化GSH与有害化合物结合是外源性物质解毒和保护晶状体免遭氧化损伤的重要途径。

2.2 GSTs的抗氧化应激作用 正常情况下,晶状体本身有一个较为完善的抗氧化防御系统,可以有效地清除各种原因产生的自由基。其中还原型谷胱甘肽是晶状体中最重要的抗氧化剂之一,含量较高,可达10~15mmol/L,在保护晶状体蛋白免受超氧化损伤所致的混浊中起重要作用^[17]。但是,GSH解毒作用的发挥很大程度上依赖于GSTs同工酶的催化作用。因为GSH只有在GSTs同工酶的催化作用下才能有效地和亲电子物质结合,降低其细胞毒性和遗传毒性,发挥解毒作用。尤其GST同工酶中的GST μ 基质特异性最强^[18]。

GSTs在晶状体中的表现型具有种属的特异性。Pickett等^[19]研究表明,人晶状体中存在GST μ 和GST π 2

表1 人GST基因家族分类

蛋白名称	细胞分布	基因位点名称	基因定位
α	胞浆	GSTA1A2	bq12
μ	胞浆	GSTM1 _s	1p13.3
θ	胞浆	GSTT1T2	22q11.2
π	胞浆	GSTP1	11q13
κ	线粒体	GSTK1	?
ζ	胞浆	GSTZ	14q24.3
σ	胞浆	GSTS1	4q
ω	胞浆	GSTO1	10q

表2 GST的一些有用的分类标准

分类标准	型别
一级结构比较	α 、 μ 、 π 、 ω 、 θ 、 κ 、 ζ
免疫印记	α 、 μ 、MIF3,昆虫I及II型、肝片形吸虫
底物特异性/亲和力	α 、 μ 、 π 、 θ
抑制敏感性	α 、 μ 、 π
三级结构:活性中心	α 、 μ 、 π 、 θ 、 ω 、 κ 、 σ
四级结构:杂合成二聚体的能力	α 、 μ
四级结构:亚单位间的接口	α / μ / π / θ 型的疏水的锁与钥匙结构、 β 型的极性接口

种同工酶,其中GST π 占优势,GST酶活性决定于 π 族。因此,晶状体中单纯GST μ 酶的缺乏对整个抗氧化系统不是重要因素。Nishinaka等^[20]报道,猪晶状体GST π 较牛晶状体GST μ 对氧张力(oxidative stress)更敏感,当暴露于不同浓度H₂O₂时,GST π 酶活性显著低于GST μ ,而GST μ 对氧张力具有较强抵抗力。因此,当人晶状体中GST μ 缺乏,而同时伴有可能的GST π 活性降低,如环境或某些修饰基因(modifying gene)的影响时,使得GST μ 缺乏有可能成为某些人群中白内障发生的易感因素之一^[10]。尽管各家报道不同,GST在保护晶状体免受超氧化损伤方面确有其重要作用,而且被疑为是白内障发生的危险因素之一^[21]。

2.3 GSTs基因多态性与白内障遗传易感性 就氧化损伤的清除而言,人类晶状体通过酶性自由基清除剂和低分子抗氧化剂清除氧化自由基。其中,GSTs通过催化还原型谷胱甘肽(低分子抗氧化剂)与毒性化合物结合来清除自由基。GST μ 族中GSTM1和GST θ 族中GSTT1具有高度分布的拷贝数变异(CNV)。其与ARC的相关性在不同种族间结果各异:爱沙尼亚人群GSTM1多态性与皮质性白内障有关^[22],而意大利人群的结论相反^[10]。最近的研究又表明,土耳其人群GSTM1联合GSTT1多态性与ARC有关^[23]。1990年,Seidegard等^[24]证实GSTM1的表型差异是由基因缺失所致,在GSTM1基因存在一种无效等位基因(null allele),即该基因缺失,表现为GSTM1酶活性缺失^[24,25]。该基因缺失率随人种的变化而不同,约在20%~60%之间^[26]。有报告显示,该基因的缺失与某些癌及白内障有关^[17,24]。

Sekine等^[27]和皮静波等^[17]检测老年性白内障患者外周血细胞中GSTM1基因,结果显示老年性白内障的发病与GSTM1基因缺失密切相关。而Alberti等^[10]的研究表明,意大利人群GSTM1基因缺失与老年性白内障的发生

及晶状体混浊程度缺乏显著关系。之前有研究显示,中国汉族人老年性白内障患者外周血细胞 GSTM1 基因缺失率为 53.25%,与正常对照组比较差异无显著性,且老年性白内障患者外周血细胞和晶状体上皮细胞中 GSTM1 基因缺失率基本一致。此外,Zhou 等^[28]研究表明,中国汉族人中 GSTM1 完全缺失的频率为 63.2%,GSTT1 完全缺失的频率为 47.6%。GSTT1 完全缺失可能是皮质性和后囊下性 ARC 而非核性 ARC 发病的危险因素,GSTM1 可能不是 ARC 发病的危险因素。亚洲人群 GSTT1 完全缺失的频率一致,GSTM1 完全缺失的频率不同。汉族人与高加索人 GSTM1 和 GSTT1 完全缺失的频率均不同。

3 小结

综上所述,GST 催化各种活性氧及其产物与 GSH 结合,进行生物转化代谢,在晶状体抗氧化过程中起重要作用。活性氧的产生和细胞抗氧化机制不平衡是白内障的发病机制之一,GSTs 由于其抗氧化作用而与白内障发病密切相关。GSTs 基因多态性影响了酶蛋白的功能及催化功能,使晶状体抗氧化能力受到影响。因此,一些 GSTs 基因多态性可能是白内障易感因素之一,探讨 GSTs 基因多态性可发现白内障易感人群,对白内障的预防、诊断和治疗及揭示其遗传易感性有着重大的意义。今后的工作将集中在多个基因多态性与白内障易感性关系的研究,以寻找出预防白内障发生发展的多基因标志。

参考文献

- 1 管怀进. 眼科学. 北京:科学出版社 2006;202-203,294-298
- 2 Zuercher J, Neidhardt J, Magyar I, et al. Alterations of the 5'untranslated leader region of SLC16A12 lead to age-related cataract. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(7):3354-3361
- 3 Ganea E, Harding JJ. Glutathione-related enzymes and the eye. *Curr Eye Res* 2006;31(1):1-11
- 4 Tomoyuki T. Role of glutathione S-transferase in lens under oxidative stress. *J Health Sci* 2005;51(3):263-271
- 5 Reinemer P, Dirr HW, Ladenstein R, et al. The three-dimensional structure of class π glutathione S-transferase in complex with glutathione sulfonate at 2.3 Å resolution. *EMBO J* 1991;10(8):1997-2005
- 6 Strange RC, Spiteri MA, Ramachandran S, et al. Glutathione S-transferase family of enzymes. *Mutation Res* 2001;482(1-2):21-26
- 7 Sheehan D, Meade G, Foley VM, et al. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochem J* 2001;360(1):1-16
- 8 Hayes JD, Strange RC. Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequences. *Pharmacology* 2000;61(3):154-166
- 9 Strange RC, Spiteri MA, Fryer AA, et al. Glutathione-S-transferase family of enzymes. *Mutation Res* 2001;482(1):21-26
- 10 Alberti G, Oguni M, Podgor M, et al. Glutathione S-transferase M1 genotype and age-related cataracts. Lack of association in an Italian population. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37(6):1167-1173
- 11 Zigler JS Jr, Huang QL, Du XY. Oxidative modification of lens

- crystallins by H₂O₂ and chelated iron. *Free Radic Biol Med* 1989;7(5):499-505
- 12 Bhuyan KC, Bhuyan DK. Molecular mechanism of cataractogenesis: III. Toxic metabolites of oxygen as initiators of lipid peroxidation and cataract. *Curr Eye Res* 1984;3(1):67-81
- 13 Kleiman NJ, Spector A. DNA single strand breaks in human lens epithelial cells from patients with cataract. *Curr Eye Res* 1993;12(5):423-431
- 14 Ramachandran S, Morris SM, Devamanoharan P, et al. Radioisotopic determination of hydrogen peroxide in aqueous humor and urine. *Exp Eye Res* 1991;53(4):503-506
- 15 Abu-Amero KK, Morales J, Mohamed GH, et al. Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms in Arab glaucoma patients. *Molecular Vision* 2008;14:425-430
- 16 Hanene C, Jihene L, Jamel A, et al. Association of GST genes polymorphisms with Asthma in Tunisian children. *Mediators Inflamm* 2007;10:1-6
- 17 皮静波,白禹诗,郑全美,等. 谷胱甘肽转移酶 μ 基因缺失与老年性白内障发病关系的探讨. *中华眼科杂志* 1996;32(3):224-226
- 18 雷放鸣,李双飞,周卫东,等. GSTM1 基因多态性与肺癌易感性的病例对照研究. *现代预防医学* 2007;34(4):725
- 19 Pickett CB, Lu AY. Glutathione S-transferases: gene structure, regulation, and biological function. *Annu Rev Biochem* 1989;58:743-764
- 20 Nishinaka T, Terada T, Nanjo H, et al. Difference in glutathione S-transferase response to oxidative stress between porcine and bovine lens. *Exp Eye Res* 1993;56(3):299-303
- 21 Spector A. The search for a solution to senile cataracts. Proctor lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1984;25(2):130-146
- 22 Juronen E, Tasa G, Veromann S, et al. Polymorphic glutathione S-transferases as genetic risk factors for senile cortical cataract in Estonians. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(8):2262-2267
- 23 Guven M, Unal M, Sarici A, et al. Glutathione-S-transferase M1 and T1 genetic polymorphisms and the risk of cataract development: a study in the Turkish population. *Curr Eye Res* 2007;32(5):447-454
- 24 Seidegard J, Pero RW, Markowitz MM, et al. Isoenzymes of glutathione transferase (class M μ) as a marker for the susceptibility to lung cancer: A follow up study. *Carcinogenesis* 1990;11(2):33-36
- 25 Zhong S, Wyllie AH, Barnes D, et al. Relationship between the GSTM1 genetic polymorphism and susceptibility to bladder, breast and colon cancer. *Carcinogenesis* 1993;14(3):1821-1824
- 26 Zhao L, Alldersea J, Fryer A, et al. Polymorphism at the glutathione S-transferase GSTM1 locus: a study of the frequencies of the GSTM1 A, B, A/B and null phenotypes in Nigerians. *Clin Chim Acta* 1994;225(1):85-88
- 27 Sekine Y, Hommura S, Harada S. Frequency of glutathione-S-transferase 1 gene deletion and its possible correlation with cataract formation. *Exp Eye Res* 1995;60(2):159-163
- 28 Zhou J, Hu J, Guan H. The association between copy number variations in glutathione S-transferase M1 and T1 and age-related cataract in a Han Chinese population. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(8):3924-3928