

氨基脲敏感性胺氧化酶及其病理生理意义

邹云飞, 李东阳, 让蔚清

(南华大学公共卫生学院环境医学研究所, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 病理学与病理生理学; 氨基脲敏感性胺氧化酶; 综述; 甲醛; 动脉粥样硬化

[摘要] 氨基脲敏感性胺氧化酶是一类对氨基脲敏感的胺氧化酶, 功能复杂、分布广泛, 其催化的氧化脱氨反应与心血管疾病和糖尿病血管并发症等关系密切, 如氨基脲敏感性胺氧化酶催化的氧化脱氨反应参与了内皮细胞介导的低密度脂蛋白氧化, 从而引起内皮损伤, 最终导致动脉粥样硬化。氨基脲敏感性胺氧化酶可以调节葡萄糖转运蛋白 4 从脂肪细胞或 3T3F422A 细胞的胞内转位至胞膜, 进而摄取并转运葡萄糖。其代谢物甲胺和甲醛等有血管毒性, 特别在糖尿病并发症的发生发展中具有不可忽视的作用。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

氨基脲敏感性胺氧化酶(semicarbazide-sensitive amine oxidases, SSAO) 是一类对氨基脲(semicarbazide) 特别敏感的胺氧化酶, 该酶分布广泛, 在原核生物和真核生物体内都有存在, 不同物种、同一物种不同组织间活性有很大差异^[1]。它既存在于细胞膜上, 也存在于血浆中。SSAO 的生理和病理作用目前还不清楚。一般认为它是体内胺的解毒酶, 如甲胺和氨基丙酮等。近来发现, 其脱氨反应与多种疾病以及血糖调节、脂质代谢等关系密切。由于其复杂的功能, 如胺的解毒、促使 AGEs 形成, 调节血糖、介导粘附以及在糖尿病人中显示出高活性, 深入研究它的作用有助于阐明诸如糖尿病并发症、动脉粥样硬化、阿尔茨海默病和肥胖等的发病机制。本文就 SSAO 目前的研究作一综述。

1 氨基脲敏感性胺氧化酶家族及其功能

氨基脲敏感性胺氧化酶是一系列对氨基脲敏感的胺氧化酶的统称。SSAO 结构中含有 1 个二价铜离子, 以 TOPA (2, 4, 5-三羟基苯丙氨酸喹啉) 醌基为辅酶^[2], 生理功能和病理意义至今未阐明。SSAO 在体内的主要作用之一是氧化脱氨, 其底物主要是脂肪族、芳香族伯胺, 产生醛类等代谢物, 与单胺氧化酶 MAO-A 和 MAO-B 的不同之处是可被氨基脲和氨基胍等灭活而对其他胺氧化酶抑制剂有拮抗作用。二溴乙胺是 SSAO 的自杀性抑制剂^[3]。实验中, 人们常用 MDL72145 和 MDL-72974A 作为 SSAO 抑制剂来研究其功能。最近研究提示, 在人类血液中发现一种低分子量的 SSAO 激活剂^[4]; Buffoni 等^[5]报道, 血浆中存在 SSAO 内源性抑制剂, 但其生理病理意义有待阐明。SSAO 没有专一的底物, 以脂肪族和芳香族伯胺为主。甲胺和氨基丙酮(葡萄糖氧化中苏氨酸、甘氨酸的代谢产物) 是 SSAO 的内源性底物^[6, 7]。SSAO

家族还包括 DAO(二胺氧化酶)等, 该酶在肠、肾、胸腺和胎盘组织中活性较高, 但 SSAO 对 DAO 的底物, 如组胺、尸胺、腐胺、精胺、亚精胺等也有催化活性。

现有的研究表明, SSAO 主要分组织型和血浆型, 不同物种、同一物种不同组织间活性有很大差异^[1]。哺乳动物的血管平滑肌、脂肪组织、肺脏、软骨等组织中 SSAO 酶活性高; 在人外周组织中, 主动脉、肺、十二指肠等 SSAO 酶活性较高^[8]。研究显示人类血浆 SSAO 活性约为鼠的 10 倍^[9]。至于血浆 SSAO 的来源及其意义尚有待进一步研究。目前主要有 2 种观点: 其一是由于甲胺等底物增加而使血浆 SSAO 活性代偿性上调; 其二是血管等富含 SSAO 的组织损伤而释放 SSAO 入血, 如血管平滑肌、内皮细胞、肝、软骨等。血中异常 SSAO 反应产生的过量代谢物, 如甲醛、过氧化氢等加重氧化应激, 导致血管损伤加剧, 并导致更多的 SSAO 释放, 从而形成一恶性循环。

最近研究证实 SSAO 与血管粘蛋白 1 具有同一性^[10], 由于血管粘蛋白 1 是一种内皮性糖蛋白, 介导淋巴细胞与内皮的粘附以及淋巴再循环, 调节粒细胞渗出, 参与炎症反应, 其 cDNA 分析、细胞定位均与 SSAO 相似, 也具有脱氨作用, 推测 SSAO 是一多功能糖蛋白, 可能在细胞粘附、炎症发生发展中发挥作用, 但是否具有普遍性仍在研究中。

目前在哺乳动物发现主要有 2 种编码 SSAO 的基因, 一种是编码大多数组织 SSAO, 另一种主要编码视网膜 SSAO^[3]。最近已经成功克隆人和鼠的 SSAO 基因^[11], 这有助于阐明 SSAO 的生理和病理意义。

2 氨基脲敏感性胺氧化酶内源性底物及其产物的细胞毒性

2.1 氨基脲敏感性胺氧化酶内源性底物

体内外研究证实 SSAO 能催化甲胺^[12]和氨基丙酮^[13]生成甲醛、丙酮醛以及过氧化氢、氨等代谢物。体内多种物质代谢可产生甲胺, 继而在 SSAO 催化下产生甲醛等代谢物, 如肾上腺素、肌酸、肌酸酐、胆碱等; 饮食、吸烟等也可导致体

[收稿日期] 2005-10-13 [修回日期] 2006-02-20

[基金项目] 国家自然科学基金(30572191)资助

[作者简介] 邹云飞, 硕士研究生, 主要从事营养与慢性疾病防治研究。通讯作者让蔚清, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事心血管疾病防治及食物药物毒理研究, E-mail 为 nhurangweiqing@yahoo.com.cn。

内甲胺浓度升高。多项实验表明,尿、血液和组织中有不同程度甲胺存在。当给予大鼠 SSAO 抑制剂后,其尿中甲胺成倍增加,表明 SSAO 是体内甲胺代谢的关键酶^[14]。研究发现,尿毒症者甲胺排泄物显著减少,但其血中甲胺水平是常人 20 倍,这可能是甲胺清除系统受损所致^[15]。进一步研究显示,肾衰造成肌酐和肌酸累积也会导致甲胺过量。甲胺经 SSAO 代谢异常可能是导致肾病变和心血管病等的元凶。吸烟可诱发心脑血管病,最近有研究显示,尼古丁可使甲胺水平升高,而甲胺经 SSAO 代谢为甲醛可能是吸烟诱发心脑血管病机制之一。氨基丙酮在体内可以由甘氨酸和苏氨酸代谢产生。Deng 等^[16]利用 HPLC 检测体内氨基丙酮,其代谢产物丙酮醛被认为与糖尿病并发症、高级糖基化等相关。

2.2 甲胺、氨基丙酮的产物甲醛、丙酮醛以及过氧化氢的细胞毒性

体内甲醛是由甲胺经 SSAO 催化生成的一种高反应性的化合物,它可以和单胺、酰胺等反应形成亚甲基;以共价键结合于蛋白、DNA 等形成交联物。目前甲醛已被列为潜在致癌物,其致病机制是目前研究的热点。甲醛在心血管疾病的发病中也具有重要意义,内源性甲醛可能是动脉硬化的又一危险因素^[17]。低浓度甲醛(0.1 mmol/L)促进内皮增殖,而高浓度甲醛(1~10 mmol/L)诱导凋亡^[18]。目前普遍认为,甲醛主要与蛋白质、DNA 等形成交联物,从而影响细胞结构和功能。Lin 等^[19]报道,较高浓度甲醛(>0.1 mmol/L)增加内皮细胞膜通透性,并具有剂量依赖性;甲醛(0.01~2 mmol/L)诱导大鼠主动脉内皮细胞中 DNA 蛋白交联物(DPC)形成,呈量效、时效关系,提示内源性甲醛浓度增高和生理浓度的甲醛长期作用都可引起 DPC,导致一些重要基因表达异常,进而影响细胞功能或诱导凋亡,这可能是导致动脉粥样硬化的机制之一。该研究还提示甲醛与过氧化氢对细胞有协同毒性。Yoshiro 等^[20]认为甲醛与自由基可通过产生活性氧而致细胞损伤,并呈协同作用。一项对鼻微血管内皮细胞的研究表明,甲醛(1 μg/L~1 mg/L, 0.033~33 μmol/L)作用 24 h 可上调 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达^[21]。大量动物实验表明甲醛可致多组织器官的氧化损伤,由于甲醛可致 DPC,故其遗传毒性研究较多,但甲醛对细胞的毒作用机制仍需要进一步研究。

过氧化氢(H₂O₂)是 SSAO 氧化脱氨反应产物之一。在 Fe²⁺存在时,由 Fenton 反应转变为毒性更大的羟自由基;碱性条件下,甲醛与 H₂O₂ 反应也可产生自由基,从而导致 LDL 氧化以及蛋白糖基化^[15]。甲醛和过氧化氢可引起蛋白交联^[22]、氧化应激,进而损伤内皮。SSAO 产生的甲醛不易降解,对机体危害很大。甲醛在体内可由 GSH 依赖的甲醛脱氢酶催化生成甲酸。丙酮醛是氨基丙酮经 SSAO 反应的产物,也能使蛋白质交联,在衰老和慢性血管病中有一定作用。丙酮醛可使白蛋白形成加合物,这可能是糖尿病发病机制之一,该作用可被氨基胍阻断,提示丙酮醛来自 SSAO。

3 氨基胍敏感性胺氧化酶与动脉粥样硬化

多个实验室均已证实糖尿病人血清中 SSAO 有高活

性^[23],特别是幼年型糖尿病,包括 iv 和 ①型。视网膜病变、充血性心衰、多发性脑梗死以及肥胖等患者皆有 SSAO 活性的升高。

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是一个复杂的过程,特别是糖尿病患者更易发生。细胞内和细胞外物质皆可使血管腔狭窄、梗阻而引发 As,其病变过程通常先在血管分支处形成脂纹,随着病变的进展,逐渐形成纤维斑块,最后由于纤维蛋白和血小板的沉积而形成血栓。尽管有人提出“损伤应答”学说,但其机制未完全阐明。动脉粥样硬化过程包括内皮功能不全、平滑肌增殖以及结构损伤,这方面假说很多。高胆固醇、ox-LDL、LDL 受体、脂蛋白 E、糖基化终产物、生长因子、激素和脂代谢异常等都是 As 的危险因子。最近又有研究称 SSAO 也是 As 的独立危险因子^[24],SSAO 催化的氧化脱氨反应被认为参与了内皮细胞介导的 LDL 氧化,从而引起内皮损伤,最终导致 As,这一作用与 SSAO 所含 Cu²⁺ 的活性有关。

啮齿类通常对 As 不易感,但某些种系,如近交系 C57BL/6 在喂食高胆固醇后,出现 As 病变,且表现出 SSAO 高活性^[17]。KKAy 鼠在喂食高胆固醇 16 周后,给予 SSAO 抑制剂氨基胍,其体内氧化应激明显改善,蛋白尿及 As 病灶显著减少^[25]。兔体内 SSAO 水平与 As、糖尿病综合症等呈正相关^[15]。这些结果提示 SSAO 介导的氧化脱氨可能与 As 及内皮功能紊乱相关。除了血管平滑肌,在视网膜、脑组织、软骨等也发现高活性 SSAO,这些部位也是糖尿病并发症好发部位,SSAO 在其中的确切作用有待进一步研究。

4 氨基胍敏感性胺氧化酶与血糖调节

氨基胍敏感性胺氧化酶具有胰岛素样作用^[26]。在 STZ 诱导的糖尿病鼠,SSAO 可以调节 GLUT-4 从脂肪细胞或 3T3F422A 细胞的胞内转位至胞膜,进而摄取并转运葡萄糖^[27]。在此过程,若加入苯甲胺和一定浓度的钒酸盐可见血糖明显下降,该现象可被氨基胍和过氧化氢酶所阻断,提示 H₂O₂ 可能与钒酸盐生成过氧化物而促使血糖吸收。但也有报道在人脂肪细胞和鼠的主动脉平滑肌细胞,SSAO 可在无钒酸盐条件下发挥其调节血糖的作用^[28]。这提示 SSAO 作用具有组织特异性。SSAO 的这种促血糖代谢作用与其抗脂质降解有关^[29]。Gokturk 等^[30]利用转基因鼠证实 SSAO 活性与其 mRNA 的转录负相关,并且观察到主动脉壁弹性纤维有硬化现象,提示糖尿病 SSAO 高活性可能由于转录后修饰或失活 SSAO 的活化所致。

5 其它

氨基胍敏感性胺氧化酶参与了脂肪细胞的分化以及类似胰岛素样信号转导过程^[28]。甲胺等 SSAO 底物可剂量依赖性地促进脂肪细胞成熟,该作用可被 SSAO 抑制剂所阻断。SSAO 对血管平滑肌胶原、弹性蛋白的稳定也有一定作用。SSAO 还可以调节神经元 K⁺ 通道电流,其生理意义尚不清楚。对脂肪细胞研究显示,SSAO 与清道夫受体、CD36 同

位于细胞小凹却未发现胰岛素受体^[31],由此推测 SSAO 可能参与了脂质运输。虽然 SSAO 在很多疾病中活性增高,但有报道烧伤和实体瘤病人血浆 SSAO 是下降的;肥胖型 Zucker 鼠模型中,也观察到白脂肪组织 SSAO 活性下降^[29]。

6 结语

氨基脲敏感性胺氧化酶是一个功能强大的蛋白家族,其催化胺类所产生的毒性醛、过氧化氢等可致蛋白交联、加剧高级糖基化、提高氧化应激,进而损伤细胞结构与功能。大量研究显示,SSAO 及其代谢产物与动脉粥样硬化、充血性心力衰竭、糖尿病并发症、阿尔茨海默病、肥胖症、肝炎等密切相关。SSAO 也影响血糖及脂类转运。深入研究 SSAO 的生理作用及不同病理条件下其活性的改变,探讨其可能的作用机制,有助于丰富和完善上述疾病的发病机制的研究,并可能为疾病的治疗提供新的方案。

[参考文献]

- [1] Boomsma F, van Dijk J, Bhaggoe UM, Bouhuizen AM, van den Meiracker AH. Variation in semicarbazide-sensitive amine oxidase activity in plasma and tissues of mammals[J]. *Comp Biochem Physiol C: Pharmacol Toxicol Endocrinol*, 2000, (126): 69-78
- [2] Zhang X, McIntire WS. Cloning and sequencing of a copper-containing, topa quinone-containing monoamine oxidase from human placenta[J]. *Gene*, 1996, **179**: 279-286
- [3] Yu PH, Davis BA, Deng Y. 2-Bromoethylamine as a potent selective suicide inhibitor for semicarbazide-sensitive amine oxidase[J]. *Biochem Pharmacol*, 2001, **61** (6): 741-748
- [4] Dalfo E, Hernandez M, Lizcano JM, Tipton KF, Unzeta M. Activation of human lung semicarbazide sensitive amine oxidase (SSAO) by a low molecular weight component present in human plasma[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2003, **1638**: 278-286
- [5] Buffoni F, Banchelli G, Ignesti G, Pirasino R, Raimondi L. The presence of an inhibitor of benzylamine oxidase in human blood plasma[J]. *Biochem J*, 1983, **211**: 767-769
- [6] Precious E, Gunn CE, Lyles GA. Deamination of methylamine by semicarbazide-sensitive amine oxidase in human umbilical artery and rat aorta[J]. *Biochem Pharmacol*, 1988, **37**: 707-713
- [7] Lyles GA, Chalmers J. The metabolism of aminoacetone to methylglyoxal by semicarbazide-sensitive amine oxidase in human umbilical artery[J]. *Biochem Pharmacol*, 1992, **43**: 1409-414
- [8] Noemi A, Jose ML, Manuel JR, Manuel R, Mercedes U, Nicole M. Tissue activity and cellular localization of human semicarbazide-sensitive amine oxidase[J]. *J Histochem Cytochem*, 2001, **49** (2): 209-217
- [9] Gokturk C, Garpenstrand H, Nilsson J, Nordquist J, Orelund L, Forsberg-Nilsson K. Studies on semicarbazide-sensitive amine oxidase in patients with diabetes mellitus and in transgenic mice[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2003, **1647**: 88-91
- [10] Smith DJ, Salmi M, Bono P, Hellman J, Leu T, Jalkanen S. Cloning of vascular adhesion protein 1: reveals a novel multifunctional adhesion molecule[J]. *J Exp Med*, 1998, **188**: 17-27
- [11] Yoshinori O, Kunio I, Eiichi S, Yorihiisa T. Molecular cloning and characterization of rat semicarbazide-sensitive amine oxidase[J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, **28** (3): 413-418
- [12] Boor PJ, Trent MB, Lyles GA, Tao M, Ansari GAS. Methylamine metabolism to formaldehyde by vascular semicarbazide-sensitive amine oxidase[J]. *Toxicology*, 1992, **73**: 251-258
- [13] Lyles GA, Chalmers J. The metabolism of aminoacetone to methylglyoxal by semicarbazide-sensitive amine oxidase in human umbilical artery[J]. *Biochem Pharmacol*, 1992, **31**: 1417-424
- [14] Yu PH, Zuo DM. Aminoguanidine inhibits semicarbazide-sensitive amine oxidase activity; implication for advanced glycation and angiopathy in diabetes[J]. *Diabetologia*, 1997, **363**: 1243-250
- [15] Yu PH, Wright S, Ellen HF, Zhao Rong L, Diana GH. Physiological and pathological implications of semicarbazide-sensitive amine oxidase[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2003, **1647**: 193-199
- [16] Deng YL, Yu PH. Assessment of the deamination of aminoacetone, an endogenous substrate for semicarbazide-sensitive amine oxidase[J]. *Anal Biochem*, 1999, **270**: 97-102
- [17] Yu PH, Deng YL. Endogenous formaldehyde as a potential factor of vulnerability of atherosclerosis: involvement of semicarbazide-sensitive amine oxidase-mediated methylamine turnover[J]. *Atherosclerosis*, 1998, **140** (2): 357-363
- [18] Tyihak E, Boci J, Timar F, Racz G, Szende B. Formaldehyde promotes and inhibits the proliferation of cultured tumour and endothelial cells[J]. *Cell Prolif*, 2001, **34**: 135-141
- [19] Lin Z, Luo W, Li H, Zhang Y. The effect of endogenous formaldehyde on the rat aorta endothelial cells[J]. *Toxicol Lett*, 2005, **159** (2): 134-143
- [20] Yoshiro S, Keiko N, Yasukazu Y, Eisuo N. Cytotoxic effect of formaldehyde with free radicals via increment of cellular reactive oxygen species[J]. *Toxicology*, 2005, **210**: 235-245
- [21] Kim WJ, Terada N, Nomura T, Takahashi R, Lee SD, Park JH, et al. Effect of formaldehyde on the expression of adhesion molecules in nasal microvascular endothelial cells: the role of formaldehyde in the pathogenesis of sick building syndrome[J]. *Clin Exp Allergy*, 2002, **32** (2): 287-295
- [22] Gubisne-Haberle D, Hill W, Kazachkov M, Richardson JS, Yu PH. Protein crosslinkage induced by formaldehyde derived from semicarbazide-sensitive amine oxidase-mediated deamination of methylamine[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2004, **310** (3): 1125-132
- [23] Boomsma F, FHM Derks, van den Meiracker AH, Manin't Veld A, Schalekamp MADH. Plasma semicarbazide-sensitive amine oxidase activity is elevated in diabetes mellitus and correlates with glycosylated haemoglobin[J]. *Clin Sci*, 1995, **88**: 675-679
- [24] Karadi I, Meszaros Z, Csanyi A, Szombathy T, Hosszufalusi N, Romics L, et al. Serum semicarbazide-sensitive amine oxidase (SSAO) activity is an independent marker of carotid atherosclerosis[J]. *Clin Chim Acta*, 2002, **323** (1-2): 139-146
- [25] PH Yu, Wang M, Deng YL, Fan H, Shirar Bock L. Effect of semicarbazide-sensitive amine oxidase inhibitor on atherogenesis in KKAY diabetic mice fed with high cholesterol diet[J]. *Diabetologia*, 2002, **45**: 1255-262
- [26] Zorzano A, Abella A, Marti L, Carpena C, Palacin M, Testar X. Semicarbazide-sensitive amine oxidase activity exerts insulin-like effects on glucose metabolism and insulin signaling pathways in adipose cells[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2003, **1647** (1-2): 3-9
- [27] Enrique-Tarancon G, Marti L, Morin N, Lizcano JM, Unzeta M, Sevilla L, et al. Role of semicarbazide-sensitive amine oxidase on glucose transport and GLUT4 recruitment to the cell surface in adipose cells[J]. *J Biol Chem*, 1998, **273**: 8025-032
- [28] Jeff O' Sullivan, Mercedes U, Joe H, Michael I, O' Sullivan, Gavin D, et al. Semicarbazide-sensitive amine oxidases: enzymes with quite a lot to do[J]. *Neurotoxicology*, 2004, **25**: 303-315
- [29] Morin N, Lizcano JM, Fontana E, Marti L, Smith F, Rouet P, et al. Semicarbazide-sensitive amine oxidase substrates stimulate glucose transport and inhibit lipolysis in human adipocytes[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2001, **297**: 563-572
- [30] Gokturk C, Nordquist J, Sugimoto H, Forsberg-Nilsson K, Nilsson J, et al. Semicarbazide-sensitive amine oxidase in transgenic mice with diabetes[J]. *Biochim Biophys Res Commun*, 2004, **325**: 1013-020
- [31] Souto RP, Vallega G, Wharton J, Vinten J, Tranum-Jensen J, Pilch PF. Immunopurification and characterization of rat adipocyte caveolae suggest their dissociation from insulin signalling[J]. *J Biol Chem*, 2003, **278**: 18321-329

(此文编辑 朱雯霞)