

对氧磷酶 3 基因研究进展

杨丽丽 综述, 阮秋蓉 审校

(华中科技大学同济医学院病理学系, 湖北省武汉市 430030)

[关键词] 对氧磷酶 3; 氧化应激; 低密度脂蛋白; 高密度脂蛋白; 动脉粥样硬化

[摘要] 对氧磷酶 3 是对氧磷酶基因家族成员之一, 除对氧磷酶 3 外, 还包括对氧磷酶 1 和对氧磷酶 2, 它们具有大量结构同源性, 且所有三个蛋白均能阻止氧化应激和对抗炎症, 因此在许多疾病如动脉粥样硬化、肥胖、糖尿病、炎症肠病以及精神疾病中发挥重要作用。体外研究表明, 对氧磷酶 3 的抗氧化能力比对氧磷酶 1 还要强, 因此对氧磷酶 3 也可能具有成为某些疾病的治疗因子的潜能。本文总结近几年关于对氧磷酶 3 的一些最新发现, 以便为对氧磷酶家族的进一步研究提供新思路。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Research Progress of Paraoxonase-3

YANG Li-Li, and RUAN Qiu-Rong

(Institution of Pathology, Tongji Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430030, China)

[KEY WORDS] Paraoxonase-3; Oxidative Stress; Low Density Lipoprotein; High Density Lipoprotein; Atherosclerosis

[ABSTRACT] Paraoxonase-3 (PON3) is a member of the paraoxonase (PON) family. In addition to PON3, it also includes PON1 and PON2. They share a large number of structural homology, and all the three proteins prevent oxidative stress and fight inflammation. They therefore seem central to a wide variety of human illnesses, including atherosclerosis, obesity, diabetes, inflammation bowel disorders and mental disorders. In vitro studies, the antioxidant capacity of PON3 is even stronger than PON1, so PON3 may also have the potential to become the treatment factors of certain diseases. The purpose of this review is to conclude some of the latest findings on PON3 in recent years, so as to provide new ideas for further research of the PON family.

近年来,从事对氧磷酶(paraoxonase, PON)基因家族的研究日渐活跃。哺乳动物 PON 基因家族至少包括三个成员, PON1、PON2 和 PON3, 它们分别位于人类 7 号染色体的长臂 7q21-22 和小鼠 6 号染色体的相邻位置。PON 基因似乎是由一个共有的进化前体基因复制而产生的, 因为它们具有可观的结构同源性。在不同的哺乳动物物种之间, 同一种 PON 在氨基酸水平约有 79% ~ 90% 的同一性, 在核苷酸水平约有 81% ~ 91% 的同一性; 在特定的哺乳动物中, 三者氨基酸水平约有 65% 的同一性, 在核苷酸水平约有 70% 的同一性^[1]。从分子进化的立场来看, PON2 似乎是最老的成员, 随后是 PON3, 最后是 PON1。在人类, PON1 和 PON3 主要在肝内

表达, PON3 在肾内也有表达, 它们的蛋白产物被发现在循环中结合于高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)^[2]; 相反地, 人类 PON2 可在许多组织中广泛表达, 包括心、肾、肝、肺、胎盘、小肠、脾、胃和睾丸^[1,3], 且人类 PON2 信号也可在动脉壁细胞中检测到, 包括内皮细胞、平滑肌细胞和巨噬细胞, 但人类 PON2 蛋白在 HDL、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)或细胞上清液中均未检测到, 而仍与胞内膜碎片有关^[3]。PON1 具有 PON、芳香酯酶和内酯酶活性^[4], 且参与抵御外来毒性^[5]。PON3 只有非常有限的芳香酯酶活性而无 PON 活性, 但它们都具有内酯酶活性^[6]。而 PON2 缺乏 PON 和他汀酶活性, 但具有高内酯酶活性^[3]。因此, 许多研

[收稿日期] 2011-10-15

[作者简介] 杨丽丽, 硕士, 研究方向为心血管病理与动脉粥样硬化, E-mail 为 y11824wanlf@yahoo.cn。通讯作者阮秋蓉, 博士后, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化发病机制, E-mail 为 ruanqiuorong@sina.com。

究表明,“PON”实际上是一个误称^[2,3,6]。但在分子水平,PON1、PON2和PON3确实都有水解芳香族和长链脂族内酯的能力,因此术语“内酯酶”可能会更恰当^[5]。目前为止对PON1的了解比PON2和PON3多得多,PON3研究最少,但近年来仍取得了一些成就,本文总结PON3在结构、功能上的一些新进展。

1 PON3的结构及基因多态性

PON3在PON基因组中是插入PON1和PON2之间且是最新鉴定出的成员。人类PON3包含354个氨基酸,是一个约为40 kDa具有钙依赖的酯酶活性的糖蛋白,在血清中98%与HDL结合,血清中PON3浓度比PON1低得多,约为PON1浓度的1/50^[2,6]。人类PON3在结构和功能上与人类PON1显示出高度的相似性,成熟人类PON3和人类PON1包含N-末端疏水肽并共有3个保守的半胱氨酸残基:Cys-41、Cys-283和Cys-351。残基Cys-41和Cys-351形成一个分子内二硫键,而Cys-283在活化的PON中是游离的。这个游离的巯基对于PON1和PON3的芳香酯酶活性并不是必需的,但对于它的抗氧化活性非常重要^[7]。

在Southern Italy人群中检测出了5个点突变,其中3个为沉默突变,而另2个为错义突变并引起密码子311的一个丝氨酸/苏氨酸置换(S/T311)以及密码子324的一个甘氨酸/天冬氨酸置换(G/D324)^[8]。研究显示,PON3错义突变的频率与PON1和PON2编码区域多态性相比是非常低的。PON3编码序列的高度保守与PON3对致动脉粥样硬化刺激可能具有基础的组成性的抗氧化性和内酯酶活性的假说相一致^[2,6]。PON3代谢活性的这些变异作用还需进一步评估。Sanghera等^[9]在来自US白种和黑种的377位SLE患者和482位对照者中构建了6个PON3标记的单核苷酸多态性(tag SNP)基因型,并测定它们与PON1活性、SLE风险、抗磷脂自身抗体(APA)、狼疮性肾炎、颈动脉血管疾病以及炎症的联系。除了PON1活性,其他未发现与PON3单核苷酸多态性(SNP)的显著联系。多元回归分析所有6个PON3 tag SNP和PON1/Q192RL55M SNP,显示了PON1活性与4个SNP: PON3/A10340C ($P < 0.0001$)、PON3/A2115T ($P = 0.002$)、PON1/L55M ($P < 0.0001$)和PON1/Q192R ($P < 0.0001$)之间显著的联系。这4个SNP可分别解释2%、1%、8%和19%的PON1活性变异。数据

表明,PON3的基因变异可影响血清PON1活性而不依赖于已知的PON1基因变异的作用。这是第一个报导PON3基因变异与PON1活性之间关系的研究。Labrecque等^[10]在猪PON3编码序列中发现了4个SNP,其中2个是沉默突变(C.87T > C和C.300A > T),另2个与非同义多态性有关(C.449G > A和C.896C > T)。C.449G > A多态性在位置150编码一个精氨酸至组氨酸的氨基酸置换,而C.896C > T多态性在猪PON3蛋白位置299编码一个脯氨酸至亮氨酸的氨基酸置换。因为C.87T > C和C.300A > T SNP不改变PON3蛋白序列,没有进一步关于它们的分析。Aragonès等^[11]通过研制了一个抗PON3抗体阐明了血清PON3浓度测定的一种新方法,且研究表明,PON3启动子多态性对血清PON3浓度具有中度影响。这一方法为研究PON3在心血管疾病中的性质和作用提供了新的机会。

2 PON3活性和抗氧化性质

不同于PON1,PON3具有有限的芳香酯酶活性而完全没有对氧磷酶活性,但它可迅速水解许多内酯酶,包括洛伐他汀,一个被用于评估组织和细胞裂解产物中PON3选择性酶活性的抑制素前体药物^[5]。至今为止,PON3被广泛认为是催化他汀类药物内酯环水解的唯一的酶。

Shih等^[12]显示人类转基因鼠分离的肝提取物水解洛伐他汀的活性比非转基因同胞仔高2倍。与PON1和PON2类似,PON3也具有抗氧化性质^[2],虽然它的特异性天然底物尚未很好地鉴定出来。Draganov等报导,PON1的量比PON3高200倍,但在兔血清PON1和PON3纯化过程中,PON1对兔血清内酯酶活性的总贡献不足1%。从血清纯化的兔PON3具有抑制体外铜诱导的LDL氧化的能力,在每微克基础上,兔PON3阻止LDL氧化的有效性比兔PON1约高100倍^[6]。Reddy等^[2]指出,脂蛋白与过表达PON3的细胞上清液共孵育可导致炎症减少以及过氧化氢脂质减少。

Lu等^[13]成功由Human Fetal Liver Marathon-Ready cDNA克隆并在大肠杆菌内表达人类PON3,也显示重组人类PON3可有效延迟和抑制体外LDL氧化。而且,过表达PON3的Hela细胞亦可阻止轻度氧化LDL的形成、灭活已形成的轻度氧化LDL、显示低水平的过氧化氢脂质并显示减少的单核细胞趋化性^[2]。研究发现^[14],冠心病组甘油三酯(triglyceride, TG)和低密度脂蛋白胆固醇(low density

lipoprotein cholesterol, LDLC) 显著升高, 高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDLC) 则明显降低, PON1 活性显著降低。血清 PON1 活性降低反映 HDL 抗氧化功能的异常, 其与冠心病病变程度的密切相关性, 提示有可能成为潜在预示冠心病严重程度的辅助诊断指标。因此, 我们推测 PON3 或许也同 PON1 具有相似的特性, 但具体还有待深入研究探索。然而, Draganov 等^[5] 报导, 在昆虫细胞中表达的纯化的重组 PON 不能阻止铜诱导的人类 LDL 氧化, 铜诱导的体外 LDL 氧化是研究 PON3 抗氧化性质的不恰当的方法。

鉴于 PON 多基因家族抗动脉粥样硬化性质不一致的结果, Liu 等^[15] 在体外重新检验了重组人类 PON1 和 PON3 在阻止 LDL 氧化、防止巨噬细胞氧化应激以及促进巨噬细胞胆固醇流出的能力。研究证明, PON1 和 PON3 都能阻止 LDL 氧化; 均不能防止巨噬细胞氧化应激; 但都能阻止巨噬细胞诱导的 LDL 氧化。PON3 可促进巨噬细胞胆固醇流出, 然而, 发现 PON3 对人类单核细胞 THP-1 细胞系衍生的巨噬细胞具有细胞毒性。

Zhang 等^[16] 证实, 在 ApoE^{-/-} 小鼠中, 当给予腺病毒来表达人类 PON3 时, 可以观察到动脉粥样硬化病变区域减少但无抗炎或抗氧化作用。而 PON3 的抗炎潜在在 CCl₄ 诱导的肝损伤模型中展现出来, 因为过表达的 PON3 可导致丙二醛水平降低、谷胱甘肽容量增加以及肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 和白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 减少^[17,18]。

Aragonès 等^[19] 为 PON3 的抗氧化性也提供了证据, 他们研究了 HIV 感染对血清 PON3 浓度的影响, 并分析了其与脂蛋白相关异常、免疫应答及促进动脉粥样硬化之间的关系, 研究发现, 在 HIV 感染患者中, PON3 浓度比对照组增加约 3 倍, 且与氧化 LDL 水平呈反相关。

3 PON3 的表达

与人类 PON1 相似, 人类 PON3 绝大多数在肝脏表达, 且与循环中 HDL 有关, 虽然程度显著减低。通过 Western blot 在鼠 HDL 上未检测到 PON3^[2]。用相似的 Western blot, 人类 PON3 可在 10 μ g 人类 HDL 中轻易地检测出, 但鼠 PON3 至少需在 100 μ g 鼠 HDL 中才能检测到 (数据未发表), 因此鼠 PON3 是鼠 HDL 一个非常小的组分且可能在鼠 HDL 的抗氧化功能中发挥相对较小的作用。Northern 分析显

示人类 PON3 主要在肝内表达, 也适当地在肾内表达^[2]。相反, 鼠不同组织中 PON3 定量 RT-PCR 分析显示, 鼠 PON3 在广泛组织范围内表达且在肺内有最高表达^[12]。Shih 等也指出 PON3 对氧化应激的有益作用 and 对抗过氧化物脂质的作用可能优于血液循环, 因为鼠 PON3 存在于一个广泛的组织范围^[20], 在不同组织包括 ApoE^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化病变进行原位杂交分析显示, PON3 mRNA 标记在新生小鼠的肾上腺、上颌下腺、肺、肝、脂肪、胰腺、大肠中有相对高水平, 在成年小鼠, PON3 mRNA 水平比新生小鼠的相应组织要低得多。野生型和 ApoE^{-/-} 小鼠心脏主动脉根部切片显示中等水平的 PON3 mRNA 标记。PON3 mRNA 也可在 ApoE^{-/-} 心脏主动脉根部动脉粥样硬化病变区域检测到^[21]。Rosenblat 等^[22] 证明了 PON3 在鼠巨噬细胞的存在, 而在人类巨噬细胞, 对氧磷酶表达似乎仅限于 PON2。PON3 可在鼠巨噬细胞中检测到而不存在人类巨噬细胞的事实表明, 鼠 PON3 可能通过它在动脉壁内的表达更直接地影响动脉粥样硬化。因此人类 PON3 和鼠 PON3 似乎具有不同的组织表达模式。Shih 等^[12] 通过免疫印迹法在转基因小鼠的肝和脂肪组织中检测出了人类 PON3 蛋白, 然而, 在转基因小鼠的血浆和 HDL 上均未检测到, 暗示人类 PON3 仍然与细胞有关, 并不会分泌到小鼠循环中。此外, 在 HDL 和血浆中也检测不到鼠 PON3, 提示人类和小鼠在 PON3 分配上存在种族差异。Labrecque 等^[10] 报导了编码猪 PON3 基因的 cDNA 的分离和分子鉴定, 结果显示, PON3 mRNA 和蛋白在猪组织中无所不在地表达。

4 PON3 的活性调节

PON1 和 PON2 的表达分别受氧化应激的下调和上调, 与它们不同, PON3 信号在氧化应激下似乎并无显著改变^[2]。从 ApoE^{-/-} 小鼠分离出来并暴露于氧化应激的 MPM 没有显示 PON3 mRNA 水平的任何改变, 即使他汀酶活性减低。补充给予抗氧化剂石榴汁或维生素 E 可增加他汀酶活性, 提示 PON3 可被氧化应激调节。然而, 鼠类巨噬细胞样细胞 J774A.1 给予石榴汁治疗, 与对照组相比, 他汀酶活性减低^[23]。此外, 在动脉粥样硬化背景下, 鼠 PON3 的肝脏表达似乎不受遗传背景或饮食的显著影响。分别给予高脂、高胆固醇、包含胆盐饮食 15 周和 8 周的 C57BL6 或 ApoE 无效小鼠的肝内 PON3 信号并无显著差别, 同时也表明年龄虽然与氧化应

激以及这个小鼠模型中动脉粥样硬化的程度有关,但对 PON3 表达无影响。当暴露于不同的氧化应激诱导因子时,鼠腹膜巨噬细胞中的 PON3 信号仍然未变,虽然 PON3 内酯酶活性在这些研究中降低^[22]。PON3 看起来似乎受氧化应激的影响,但由于观察到的矛盾结果,需要更多研究以阐明它的调节。此外,PON3 mRNA 在 1/14 的活动性溃疡性结肠炎患者和 3/17 的克罗恩患者中被检测出来,相比在 10/25 的健康对照组中被检测出来^[24],因此炎症性肠病患者中炎症和氧化应激可能下调 PON3 在肠内的表达。Romani 等^[25]在老鼠模型中评估了中等有氧训练对 PON 表达的影响。研究表明,运动训练并不影响 PON1 表达或酶活性,但可增加 PON3 mRNA、蛋白水平和酶活性。训练可诱导质膜成分的变化,另一方面,剧烈运动抑制 PON 活性而增加肝微粒体内 PON3 蛋白含量,表明生理应激可能通过改变细胞膜成分减少 PON 从肝细胞膜的释放。最近研究显示 PON3 在老鼠、羊和人类孕晚期被上调,甚至在早产儿或新生儿中可能发挥抗氧化作用,可作为人类早产儿的一个候选治疗^[26]。后来进一步研究表明^[27],小鼠 PON3 基因的缺失可导致早产率和新生儿死亡率的增加。敲除 PON3 基因的人类细胞其细胞增殖及总体抗氧化能力均减弱。

5 PON3 与人类疾病

5.1 PON3 与动脉粥样硬化

动脉粥样硬化以动脉壁的慢性炎症为特征,而慢性炎症被认为部分是由高胆固醇血症以及动脉壁内 LDL 氧化引起的。Ng 等^[28]用腺病毒作为载体的小鼠证明,与给予空载体的小鼠相比,人类 PON3 (AdPON3) 的短暂表达足够用来抑制 26 周大小女性 ApoE 敲除小鼠动脉粥样硬化病变形成的进展。虽然抑制病变形成的确切机制尚不可知,粥样斑的减少可能是由 PON3 增强血浆抗动脉粥样硬化形成的能力所介导的。实际上,注射 AdPON3 三周后,小鼠的血清抗氧化能力比 AdGFP 处理小鼠增强,包括显著减低的脂质水平。此外,血清将胆固醇从巨噬细胞射出的能力增强,可能是由于 PON3 通过保护 HDL 功能及其它可能被氧化应激抑制的血清因子而影响血清的转运能力。这些血清抗氧化能力和射出潜能的改善是独立于 PON1 活性、ApoAI 蛋白水平和 LCAT 活性的。而且,从 AdPON3 处理小鼠分离的 LDL 对氧化修饰的敏感性显著减低,包括明显减弱的单核细胞趋化活性,而 HDL 的抗炎性增

强。Shih 等^[12]构建了在许多器官包括肝、肾、肺都高表达的人类 PON3 转基因鼠的两条长散布重复片段,用油红 O 染色,可见 PON3 转基因鼠的动脉粥样硬化病变区域显著减小。人类 PON3 转基因也被引入到 LDL 受体敲除 (LDLRKO) 小鼠, C57BL/6J 和 LDLRKO 背景的动脉粥样硬化病变均显著减低,但这种保护作用只在男性组群中观察到^[12]。Marsil-lach 等^[29]通过免疫组化分析研究动脉粥样硬化发展中 PON 蛋白的定位,结果显示,在正常主动脉中, PON1 和 PON3 位于平滑肌细胞 (smooth muscle cells, SMC) 和内皮细胞, PON3 染色比 PON1 强。在动脉粥样硬化发展过程中, SMC 中 PON1 和 PON3 染色大大减少,而巨噬细胞中两种蛋白染色均增加且 PON1 占优势。巨噬细胞中 PON1 和 PON3 染色与主动脉炎症的量呈显著正相关。进一步增加了 PON1 和 PON3 可阻止脂质过氧化作用促炎/致动脉粥样硬化作用的证据支持。动物(兔)模型研究表明^[30],有机磷酸脂类(OP)杀虫剂敌百虫长期低剂量进入机体可导致血管内皮依赖性舒张反应的降低,并加重高脂饮食所致的血管壁动脉粥样硬化的病理形态学改变。该研究证明,敌百虫随时间增长而降低了 PON1 活性,因此推测敌百虫的致动脉粥样硬化作用主要与敌百虫消耗了体内的 PON1 有关。而是否也同时降低了 PON3 活性以及对致动脉粥样硬化产生作用还有待进一步研究。

尚没有在人类研究 PON3 浓度与动脉粥样硬化关系的报导。因此, Rull 等^[31]在外周动脉疾病 (peripheral artery disease, PAD) 和冠状动脉疾病 (coronary artery disease, CAD) 患者中拟研究它们之间的关系。研究表明,在这两种动脉粥样硬化表型中, PON3 浓度均显著增高。但在 PAD 中与胰岛素敏感度降低有关,而在 CAD 中则与炎症相关。然而,在患者与对照组之间,并未发现 PON3 基因启动子多态性及单元型存在任何显著差异,暗示这些联系并不是基因决定的。

5.2 PON3 与肥胖

肥胖是糖尿病和心血管疾病的一个独立危险因素。实验性研究显示,表达人类 PON3 的正常小鼠和 LDLRKO 小鼠的肥胖减少,暗示这个酶在控制肥胖方面的作用^[12]。过表达人类 PON3 的转基因小鼠与它们的同胞仔相比,具有更低的体重、减少的肥胖和减低的血浆瘦素浓度。Shih 等进一步观察到,在 B6 和 C₃H/HeJ 杂交的 ApoE 敲除的 F₂ 小鼠中,两种性别的小鼠脂肪组织中 PON3 mRNA 水平与体重和脂肪垫重量成反比,且男性比女性更显

著。脂肪组织中 PON3 mRNA 水平也与 \log (空腹胰岛素水平)、空腹葡萄糖水平、 \log (循环 MCP-1 水平)呈反比,且男性比女性更显著。这些数据提示,增高的 PON3 水平与肥胖减少、胰岛素敏感性增加、炎症减少有关。胖猪肾周和皮下脂肪组织中 PON3 mRNA 水平也比瘦猪高,脂肪组织中 PON3 mRNA 水平与皮下、内脏和总体脂肪重量成正相关。进一步支持了 PON3 参与肥胖相关疾病的论断^[10]。

5.3 PON3 与肝损伤

依据 CCl_4 的给药剂量和频率,可诱导啮齿类急性或慢性肝损伤,它从细胞病变的形态学特点到生物化学特征都与人类肝脏疾病相似,因此这个模型被广泛用于评估药物的治疗潜能。抗氧化和抗炎性治疗被认为是阻止和衰减 CCl_4 -诱导的肝损伤的有效方式。将人类 PON3 cDNA 基因克隆入 pcDNA3.1 质粒,并电转染至小鼠骨骼肌以维持较高的血清 PON3 活性,然后用持续 CCl_4 给药制造亚急性肝损伤模型,研究发现,人类 PON3 基因传递可显著降低血清转氨酶水平、改善肝脏组织学结构及减轻氧化应激^[18,32]。然而,用电穿孔介导基因传递来比较人类 PON1 和人类 PON3 对抗肝损伤能力的效率太低。Peng 等^[17]构建了能表达人类 PON1 和人类 PON3 的重组腺病毒 AdPON1 和 AdPON3。血清转氨酶分析、组织学观察和 TUNEL 分析显示,AdPON1 或 AdPON3 治疗小鼠的肝损伤程度和肝细胞凋亡程度比对照组明显改善。同时,人类 PON1 和人类 PON3 的过表达通过影响肝脏丙二醛、谷胱甘肽和总体抗氧化能力的水平,能减少肝脏氧化应激并加强肝内总体抗氧化能力,即使暴露于 CCl_4 或玉米油。给予 AdPON1 或 AdPON3 也可通过减少 CCl_4 小鼠中 TNF- α 和 IL-1 β 水平而抑制炎症反应。在这个研究中,人类 PON1 减轻肝损伤的效能轻度高于人类 PON3,但二者差异并不明显。

6 结 论

PON 是相对新近发现的抗氧化性酶,需要更多的研究去充分阐明它们的生理学功能以及深入了解它们的调节和它们对人类健康的影响,为临床和营养治疗铺好道路。虽然 PON1 仍然是对氧磷酶基因家族研究的焦点,最近的研究显示,PON3 可通过减少活性氧而阻止细胞和组织的氧化应激,它可抑制 LDL 氧化并增强抗氧化性质和 HDL 转运胆固醇的能力,不仅在动脉粥样硬化的发生、发展中起到

很好的保护作用,而且在肥胖、炎性肠病、肝损伤等许多疾病状态中发挥有利作用。然而,对 PON3 的生理作用以及在体内外的作用机制的了解还很少,实验性的、转基因的以及案例对照研究都是需要的,以解释这个生理学酶的催化机制,为各种氧化应激相关疾病的临床治疗及疗效判断提供一个新的线索和视角。

[参考文献]

- [1] Primo-Parmo SL, Sorenson RC, Teiber J, et al. The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON) is one member of a multigene family [J]. *Genomics*, 1996, 33: 498-507.
- [2] Reddy ST, Wadleigh DJ, Grijalva V, et al. Human paraoxonase-3 is an HDL-associated enzyme with biological activity similar to paraoxonase-1 protein but is not regulated by oxidized lipids [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, 21 (4): 542-547.
- [3] Ng CJ, Wadleigh DJ, Gangopadhyay A, et al. Paraoxonase-2 is a ubiquitously expressed protein with antioxidant properties and is capable of preventing cell-mediated oxidative modification of low density lipoprotein [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 44 444-449.
- [4] Costa LG, Cole TB, Vitalone A, et al. Measurement of paraoxonase (PON1) status as a potential biomarker of susceptibility to organophosphate toxicity [J]. *Clin Chim Acta*, 2005, 352 (1-2): 37-47.
- [5] Draganov DI, Teiber JF, Speelman A, et al. Human paraoxonase (PON1, PON2, and PON3) are lactonase with overlapping and distinct substrate specificities [J]. *J Lipid Res*, 2005, 46: 1 239-247.
- [6] Draganov DI, Stetson PL, Watson CE, et al. Rabbit serum paraoxonase 3 (PON3) is a high density lipoprotein-associated lactonase and protects low density lipoprotein against oxidation [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275: 33 435-442.
- [7] Aviram M, Billecke S, Sorenson R, et al. Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different from that required for its arylesterase/paraoxonase activities: selective action of human paraoxonase allozymes Q and R [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998, 18: 1 617-624.
- [8] Campo S, Sardo AM, Campo GM, et al. Identification of paraoxonase 3 gene (PON3) missense mutations in a population of southern Italy [J]. *Mutat Res*, 2004, 546 (1-2): 75-80.
- [9] Sanghera DK, Manzi S, Minster RL, et al. Genetic variation in the paraoxonase-3 (PON3) gene is associated with serum PON1 activity [J]. *Genet*, 2008, 72 (1): 72-81.

- [10] Labrecque B, Beaudry D, Mayhue M, et al. Molecular characterization and expression analysis of the porcine paraoxonase 3 (PON3) gene[J]. *Gene*, 2009, 443 (1-2): 110-120.
- [11] Aragonès G, Guardiola M, Barreda M, et al. Measurement of serum PON-3 concentration; method evaluation, reference values, and influence of genotypes in a population-based study[J]. *J Lipid Res*, 2011, 52 (5): 1 055-061.
- [12] Shih DM, Xia YR, Wang XP, et al. Decreased obesity and atherosclerosis in human paraoxonase 3 transgenic mice[J]. *Circ Res*, 2007, 100: 1 200-207.
- [13] Lu H, Zhu J, Zang Y, et al. Cloning, purification, and refolding of human paraoxonase-3 expressed in *Escherichia coli* and its characterization [J]. *Protein Expr Purif*, 2006, 46 (1): 92-99.
- [14] 周赤燕, 朱经康, 曹生亚, 等. 湖北地区冠心病患者冠状动脉病变程度与 PON1 活性的相关性[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2011, 19 (3): 260.
- [15] Liu Y, Mackness B, Mackness M. Comparison of the ability of paraoxonase 1 and 3 to attenuate the in vitro oxidation of low-density lipoprotein and reduce macrophage oxidative stress [J]. *Free Radic Biol Med*, 2008, 45 (6): 743-748.
- [16] Zhang C, Peng W, Wang M, et al. Studies on protective effects of human paraoxonase 1 and 3 on atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice[J]. *Gene Ther*, 2010, 17: 626-633.
- [17] Peng W, Zhang C, Lv H, et al. Comparative evaluation of the protective potentials of human paraoxonase 1 and 3 against CCl₄-induced liver injury [J]. *Toxicol Lett*, 2010, 193 (2): 159-166.
- [18] Peng W, Jiang X, Haiqin L, et al. Protective effects of transgene expressed human PON3 against CCl₄-induced subacute liver injury in mice[J]. *Biomed Pharmacother*, 2009, 63 (8): 592-598.
- [19] Aragonès G, Heredia AG, Guardiola M, et al. Serum paraoxonase-3 concentration in HIV-infected patients[J]. *J Lipid Res*, 2012, 53 (1): 168-174.
- [20] Marsillach J, Mackness B, Mackness M, et al. Immunohistochemical analysis of paraoxonases-1, 2, and 3 expression in normal mouse tissues [J]. *Free Radic Biol Med*, 2008, 45 (2): 146-157.
- [21] Shih DM, Xia YR, Yu JM, et al. Temporal and tissue-specific patterns of PON3 expression in mouse; in situ hybridization analysis[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2010, 660: 73-87.
- [22] Rosenblat M, Draganov D, Watson CE, et al. Mouse macrophage paraoxonase 2 activity is increased whereas cellular paraoxonase 3 activity is decreased under oxidative stress[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23 (3): 468-474.
- [23] Shiner M, Fuhman B, Aviram M. Macrophage paraoxonase 2 (PON2) expression is up-regulated by pomegranate juice phenolic anti-oxidants via PPAR gamma and AP-1 pathway activation [J]. *Atherosclerosis*, 2007, 195 (2): 313-321.
- [24] Rothem L, Hartman C, Dahan A, et al. Paraoxonases are associated with intestinal inflammatory diseases and intracellularly localized to the endoplasmic reticulum[J]. *Free Radic Biol Med*, 2007, 43 (5): 730-739.
- [25] Romani R, De Medio GE, di Tullio S, et al. Modulation of paraoxonase 1 and 3 expression after moderate exercise training in the rat [J]. *J Lipid Res*, 2009, 50: 2 036-045.
- [26] Belteki G, Kempster SL, Forhead AJ, et al. Paraoxonase-3, a putative circulating antioxidant, is systemically up-regulated in late gestation in the fetal rat, sheep, and human[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95 (8): 3 798-805.
- [27] Kempster SL, Belteki G, Licence D, et al. Disruption of paraoxonase 3 impairs proliferation and antioxidant defenses in human A549 cells and causes embryonic lethality in mice[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2012, 302 (1): E103-E107.
- [28] Ng CJ, Bourquard N, Hama SY, et al. Adenovirus-mediated expression of human paraoxonase 3 protects against the progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27: 1 368-374.
- [29] Marsillach J, Camps J, Beltran-Debon R, et al. Immunohistochemical analysis of paraoxonases-1 and 3 in human atheromatous plaques [J]. *Eur J Clin Invest*, 2011, 41 (3): 308-314.
- [30] 熊小明, 周寿红, 胡敏, 等. 敌百虫加重高脂饮食致兔动脉粥样硬化作用与降低对氧磷酶活性有关[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2009, 17 (3): 172-176.
- [31] Rull A, García R, Laura FS, et al. Serum paraoxonase-3 concentration is associated with insulin sensitivity in peripheral artery disease and with inflammation in coronary artery disease[J]. *Atherosclerosis*, 2011, doi:10.1016/j.atherosclerosis.2011.11.021.
- [32] Zhang C, Peng W, Jiang X, et al. Transgene expression of human PON1 Q in mice protected the liver against CCl₄ induced injury[J]. *Gene Med*, 2008, 10 (1): 94-100.