

功能。靶向 NPY 系统的化合物有望被开发用于治疗临床疾病。事实证明,对于严重的焦虑症、抑郁症和酒精依赖等精神疾病的患者,该项治疗的前景日

益广阔。为了实现这一目标,开发增强 Y1 受体信号途径的治疗措施十分必要,最有希望的策略是,开发增强内源性 NPY 信号的 Y2 受体拮抗剂。

## 细胞色素 P450 基因突变及其效应的研究进展

李 健<sup>1,2</sup>综述 文思远<sup>1</sup>,王升启<sup>1</sup> 审校

(1. 军事医学科学院放射医学研究所,北京 100850;2. 中国人民解放军总医院,北京 100853)

**摘要:**细胞色素 P450(CYP450)作为一组重要的氧化酶在人体药物代谢中发挥着重要作用,随着基因组学的发展,其基因多态性逐步得到深入研究。近年来,对于 CYP450 的研究重点也逐渐由基因定位和单纯的突变位点发现,转移到等位基因功能多态性和基因突变导致的酶学改变这些基因与蛋白的效应关系上来。本文综述了 CYP450 新的单核苷酸多态性的出现及相应功能的研究进展。

**关键词:**药物代谢酶;细胞色素 P450;基因多态性

中图分类号:Q559+.9;R969 文献标识码:A 文章编号:1001-0971(2004)06-0351-06

外源性化学物质(治疗性药物、环境或职业密切接触的物质等)引发的个体反应具有广泛的差异性,其原因可以是年龄、性别、健康和营养状况、治疗方案及遗传等因素;其中,遗传学在药物和环境物质代谢中的重要性在 40 年前人们已经有所认识了。服用标准剂量药物而出现不良反应的原因往往是药物代谢酶基因的改变。药物代谢酶基因突变导致酶活性具有多态性,最常见的是二态性。与此二态性相对应的表型通常被称为强代谢子或弱代谢子,也称为快代谢者或慢代谢者。因此,表型二态性的遗传学依据是编码药物代谢酶的基因位点的多态性。编码一种药物代谢酶的基因在同一位点存在两个或多个等位基因,即遗传药理学多态性。

大约有 60% 的药物主要是由通过细胞色素 P450(CYP450)的代谢作用清除的。人类 CYP450 超家族在诸多药物的代谢中发挥着重要作用,CYP450 1~3 家族得到了广泛而深入的研究,其功能和性质的研究尤为引人注目。CYP450 基因多态性在临床上表现为相应酶功能的变化。由于代谢底物种类繁多,CYP450 的基因差异肯定会影响人类健康的方方面面。如果具有重要生理功能的 CYP450 出现基因缺陷,将导致灾难性后果(如先天性肾上腺增生)。而编码药物代谢酶的 CYP450 的基因多态性不直接引起病变,但是,可能会增加个体对药物或其他化学物质毒副作用的敏感性。近年来,随着对 CYP450

研究的不断深入,研究重点已经由单纯的遗传药理学和药物代谢逐步向非药物成分与人类疾病(如癌症等)相关的环境污染物发展。对毒物的代谢作用的研究重点也集中在 CYP450 基因型、表现型(酶活性)与诱发性疾病的易感性的关系上。

对药物代谢十分重要的 CYP450 主要包括 CYP 2C9,CYP 2C19,CYP 2D6 和 CYP 3A4,而 CYP 1A1,CYP 1A2,CYP 1B1,CYP 2E1 和 CYP 3A4 对于致癌物的代谢活化很重要。CYP 2D6,CYP 2C9,CYP 2C19 和 CYP 3A4 等基因由于单核苷酸多态性(SNP)基因删除或重复而表现出多态性,进而影响了药代动力学、药效学和使用安全性。

### 1 CYP 1A1

CYP 1A1 激活了与烟草相关的致癌物质,外显子 7 中密码子 462 上的点突变导致了亚铁血红素结合位点附近的异亮氨酸(Ile)被缬氨酸(Val)取代。这一突变在白种人中很少见,而在日本人中十分常见,特别是与肺癌易感性相关。中国(上海)人群对照组 Val 的等位基因频率为 13.8%,介于日本人和白种人之间。这种基因变异几乎与患肺癌没有关系,对于吸烟量较少的个体,Val 替换可能会提高患肺癌的风险。

Smart 等对淋巴细胞中诱导后的 CYP 1A1 活性进行研究,结果发现个体差异高达 103 倍,通过筛查编码外显子,发现 C4151T,G469A 和 C459T 碱基替换分别形成了新的等位基因,但是,单链构象多态性

(SSCP)分析表明,这三个新等位基因与 CYP 1A1 活性增高并不相关;研究结果表明,CYP 1A1 \* 2 和 CYP 1A1 \* 4 也不是酶活性增高的原因。用这种方法对芳香烃受体(AhR)基因的 11 个外显子分析,可以确定白种人具有 G1721A 多态性,有一个以上拷贝的 G1721A AhR 突变基因个体的 CYP 1A1 活性显著高于那些未出现多态性的人( $P = 0.0001$ )。用免疫印迹法测定诱导后的 CYP 1A1 蛋白水平也可得到相似结果。同时,该活性也表现出一定的性别差异(即女性高于男性)。

### 2 CYP 1B1

CYP 1B1 是一种对雌激素和环境致癌物代谢十分重要的肝外代谢酶。近年来,通过基因组 DNA 测序又发现了三个新的 CYP 1B1 SNP,其中外显子 3 的 C436G 发生率为 7%,引起 Ala443Gly 氨基酸替换,Arg48Gly,Ala119Ser,Leu432Val 和 Asn453Ser 错义突变也曾有报道(发生率分别为 51%,50%,53%和 2%)。这些突变形成杂合体类型产生了复杂的临床表现。通过等位基因特异的聚合酶链反应(PCR)进行杂合型分析发现,7 种等位基因 CYP 1B1 \* 1, CYP 1B1 \* 2, CYP 1B1 \* 3, CYP 1B1 \* 4, CYP 1B1 \* 5, CYP 1B1 \* 6 和 CYP 1B1 \* 7 的发生率分别为 8%, 37%, 39%, 2%, 0.7%, 6% 和 7%。功能性分析发现,CYP 1B1 \* 6 和 CYP 1B1 \* 7 发生 Arg48Gly, Ala119Ser 和 Leu432Val 氨基酸替换,因此,使 17 $\beta$ -雌二醇发生 2-A-羟基化的米氏常数( $K_m$ )显著上升,而最大反应速率( $V_{max}$ )降低<sup>[1]</sup>。

代谢酶 CYP 1B1 \* 2 与 CYP 1B1 \* 1 相比,包含了 2 个连锁的氨基酸替换 Arg48Gly 和 Ala119Ser,对于 CYP 1B1 这两个突变,17 $\beta$ -雌二醇药代动力学参数没有差异。因此,两者的催化活性相似,氨基酸替换似乎也没有改变 CYP 1B1 的催化性质。在酵母细胞和哺乳动物细胞中表达 CYP 1B1 的两个等位基因,研究发现这两个突变在哺乳动物细胞中表达时稳定性一致,从而提示替换没有影响蛋白质的折叠或稳定性。

### 3 CYP 2A6

CYP 2A6 不仅在体内代谢一部分药物和前致癌物,还是尼古丁和香豆素氧化的重要代谢酶。迄今为止,已知 10 余种基因突变导致酶活性丧失或减弱。其基因多态性对于尼古丁代谢的个体差异和肺

癌及肝癌的易感性十分重要。

人体内 80% 的尼古丁经 CYP 2A6 代谢为失活的可替宁(cotinine),曾有调查认为尼古丁依赖和 CYP 2A6 \* 2, CYP 2A6 \* 3 等位基因缺陷的人吸烟量比较少,但是后来发现,CYP 2A6 \* 3 基因分型的方法假阳性率较高,此结论不确定;Rao 等用改进的方法检测 CYP 2A6 \* 2, CYP 2A6 \* 4 缺陷对吸烟的影响,结果发现等位基因缺陷个体比纯合野生型个体的吸烟量的确要少(19:28 支/天, $P < 0.001$ )。Oscarson 等进行 CYP 2A6 \* 3 基因分型时,在 100 名西班牙人和 96 名中国人中没有发现真正的 CYP 2A6 \* 3。在仅有的 1 名弱代谢子发现 2 个新的缺陷基因(1)CYP 2A6 \* 5,编码一种 G479L 替换的不稳定酶(2)新的基因缺失,CYP 2A6 \* 4D。

外显子 9 上的两个新突变,T1412C 和 G1454T 导致了 Ile471Thr 和 Arg485Leu 替换,前者突变率相当高(15.7%)而后者则比较罕见<sup>[2]</sup>。T1412C 纯合子或杂合子及 CYP 2A6 \* 4 的缺陷基因可能会产生尼古丁的弱代谢子,而香豆素则不会。CYP 2A6 \* 4C 杂合子和野生型 CYP 2A6 \* 1A 在日本人群中具有很高的发生率。由于缺陷或活化的 CYP 2A6 基因的多样性,对于 CYP 2A6 分子流行病学的调查,需要用不同的定型方法来对所有已知 CYP 2A6 等位基因进行准确测定。在临床上,CYP 2A6 \* 4C 缺失并伴有 CYP 2A6 \* 11C(一个新突变,T670C 导致 Ser224Pro)的个体血浆替加氟(tegafur)的浓度时间曲线远高于其他患者,用大肠杆菌进行实验,发现突变型(缺失)的替加氟代谢的  $V_{max}$  大约是野生型(完整)的 1.5 倍,而  $K_m$  基本一致<sup>[3]</sup>。

尽管多数 CYP 2A6 \* 4 杂合体不表现明显的代谢变化,但是,近来发现 CYP 2A6 \* 1B/CYP 2A6 \* 4 个体对尼古丁的代谢还是有所降低。Kitagawa 等<sup>[4]</sup>用 PCR 技术结合限制片段长度多态性技术在日本人群中发现了 CYP 2A6 \* 6(R128Q),其突变率为 0.4%。与 CYP 2A6 \* 1 转染的细胞相比,CYP 2A6 \* 6 转染的 s9 细胞裂解液中 7-羟基香豆素显著降低,仅为正常的 1/8。实验表明,CYP 2A6 \* 6 的失活主要由于全蛋白质(holoprotein)结构的紊乱,而不是血红素错误结合造成的。CYP 2A6 \* 7(Ile471Thr)和 CYP 2A6 \* 8(Arg485Leu)在亚洲人群有较高的发生率<sup>[5]</sup>。例如日本人群中 CYP 2A6 \* 7, CYP 2A6 \* 8 和 CYP 2A6 \* 10 的突变率分别为 6.5%, 2.2% 和 1.1%, 而韩国人为 3.6%, 1.4% 和 0.5%, CYP 2A6 \* 1 x 2

(重复基因)仅在1名韩国人中发现(0.5%),虽然有基因重复,但是尼古丁的代谢能力并不高。CYP 2A6\*7导致代谢尼古丁和香豆素的酶活性减低或丧失,CYP 2A6\*8不会在体内影响酶的催化活性,等位基因内部的双重替换(CYP 2A6\*10)可能显著降低功能,并可能对某些底物完全失活(有底物选择性)。

CYP 2A6\*7/CYP 2A6\*4个体是比较明显的弱代谢子,提示导致 Ile471Thr 替换的 SNP(CYP 2A6\*7)降低了尼古丁的体内代谢<sup>[6]</sup>。在弱代谢子中,同时出现 CYP 2A6\*7 和 CYP 2A6\*8 的个体代谢力更低。Yoshida 等认为,体内尼古丁代谢受损是由 CYP 2A6\*7 和 CYP 2A6\*10 引起的。

CYP 2A6\*12 是内含子 2 上 CYP 2A6 和 CYP 2A7 基因之间产生不等交换<sup>[7]</sup>,导致 CYP 2A7 的 5' 调控区和外显子 1 2 和 CYP 2A6 的外显子 3~9 错配,与 CYP 2A6\*1 相比产生 10 个氨基酸替换。通过香豆素表型鉴定可以发现 CYP 2A6 的体内活性减低。在哺乳动物表达时,突变型的代谢只相当于野生型的 60%。该基因在西班牙人中的发生率为 2.2%,而中国人中则没有。

#### 4 CYP 2C8

CYP 2C8 是代谢抗癌药物的主要代谢酶,也是肝肾中将花生四烯酸转化为具有生物活性的环氧二十碳三烯酸(epoxyeicosatrienoic acids, EET)的主要 P450 酶。外显子 5 中的 CYP 2C8\*2 导致 Ile269Phe 替换,外显子 3 和外显子 8 中 CYP 2C8\*3 分别导致 Arg139Lys 和 Lys399Arg 氨基酸替换。CYP 2C8\*2 仅出现在非裔美国人,而 CYP 2C8\*3 主要发生在白种人中,亚洲人群中没有这两种突变<sup>[8]</sup>。非裔美国人中 CYP 2C8\*2 的发生率为 18%,白种人 CYP 2C8\*3 的发生率为 13%,将 CYP 2C8\*1(野生型)、CYP 2C8\*2 和 CYP 2C8\*3 cDNA 表达在大肠杆菌,评价其代谢抗癌药物紫杉醇(paclitaxel)和花生四烯酸的能力,重组 CYP 2C8\*3 代谢这两种底物都有缺陷,对紫杉醇的转化只有 CYP 2C8\*1 的 15%,CYP 2C8\*2 对紫杉醇的代谢  $K_m$  比 CYP 2C8\*1 高 2 倍,而内生清除率降低 1/2。CYP 2C8\*3 代谢花生四烯酸有显著缺陷,仅相当于 CYP 2C8\*1 的 35%~40%。因此,CYP 2C8\*3 在 CYP 2C8 两种重要底物的代谢中是缺陷的,这种多态性在纯合子个体具有重要的临床意义。

#### 5 CYP 2C9

CYP 2C9 使大约 16% 的临床用药羟基化,对于 S-华法林、甲苯磺丁脲和苯妥英等治疗窗较窄的药物,当 CYP 2C9 代谢活性受损时,对于掌握药量和毒性控制比较困难。除了野生型 CYP 2C9\*1 以外,至少有 5 种突变基因形成同种异型酶(allozyme),并导致代谢活性降低或缺陷。白种人中主要是 CYP 2C9\*2 和 CYP 2C9\*3,发生率分别为 8%~14% 和 4%~16%。与此相反,非洲人和亚洲人的突变率较低(0.5%~4%),CYP 2C9\*2 从未在亚洲人中检出。CYP 2C9\*4 仅在日本人群中出现,CYP 2C9\*5 和 CYP 2C9\*6 仅见于非裔美国人且突变率分别为 1.7% 和 0.6%。此外,日本人 CYP 2C9 的启动子变异(具有四个联接的 SNP)与苯妥英的清除率减低有关。携带一种或几种这些突变基因的个体服用 CYP 2C9 底物性药物时更易于出现药物副作用<sup>[9]</sup>。

#### 6 CYP 2E1

CYP 2E1 是一类具有较高个体差异、毒理学上非常重要的酶。近来测序发现,CYP 2E1\*1C 含有 6 个重复序列(每段 42~60 bp),罕见的 CYP 2E1\*1D 具有 8 个重复序列,西方人群中仅有 1%,而中国人中则为 23%<sup>[10]</sup>。

#### 7 CYP 2C19

CYP 2C19 是很多临床治疗药物(如美芬妥英、奥美拉唑、地西洋、氯胍、普萘洛尔和其他一些抗抑郁药)重要的代谢酶。其弱代谢子具有较高种族差异,亚洲人中 13%~23%,白种人中只有 3%~5%。Blaisdell 等<sup>[11]</sup>对白种人、亚洲人和黑种人共 92 名个体基因组 DNA 进行直接测序,结果发现 6 个新的等位基因导致了氨基酸替换,在细菌中表达时,4-羟基美芬妥英的活性有所降低,但是与降解酶的亲和性没有改变,而奥美拉唑在该系统中表达不稳定,导致代谢活性升高或降低。

#### 8 CYP 2D6

10%~15% 的白种人对 CYP 2D6 底物的代谢表现为“中间类型”,虽然代谢酶有明显变化,但是仍然保留部分功能。对于目前已知 CYP 2D6 等位基因的测定并不能比较理想地预测表现型。对 CYP 2D6 5'-侧翼区 1.6 kb 的片段测序,有三个突变(-1496C

>G, -652C>T及-590G>A)与 CYP 2D6 \* 2 功能基因密切相关,两个突变(-1338C>T和-912G>A)与无功能的 CYP 2D6 \* 4 和功能性的 CYP 2D6 \* 10 相关,另一个突变(-1147A>G)在 CYP 2D6 \* 2, CYP 2D6 \* 4和 CYP 2D6 \* 10 中都有出现。用司巴丁(sparteine)作为探药,发现野生型 CYP 2D6 \* 2 (-1496C)和突变型(-1496G)分别与 CYP 2D6 体内功能的减低或增高相关。白种人-1496C>G 突变率约为 20%,通过基因分型可以鉴别 60% 以上的中间代谢类型。

## 9 CYP 3A

CYP 3A 是肝脏 CYP450 蛋白的主体,CYP 3A 酶活性的变化影响着循环类固醇的水平并与一半的氧化代谢药物相关,几乎代谢了目前 50% 的临床用药。CYP 3A5 在少数欧裔美国人和欧洲人中的表达呈较高水平。只有至少有一个 CYP 3A5 \* 1 等位基因的个体才能大量表达 CYP 3A5。CYP 3A5 \* 3 和 CYP 3A5 \* 6 能够改变基因剪接和蛋白裁切,导致部分人组织中 CYP 3A5 的缺失。非裔美国人肝脏中 CYP 3A5 的表达(60%)比白种人高(33%),由于具有 CYP 3A5 多态性的人群中 CYP 3A5 占据了肝脏 CYP 3A 至少 50%,所以 CYP 3A5 可能是 CYP 3A 依赖性药物清除和许多药物反应的个体及种族间差异的遗传学因素<sup>[12]</sup>。

肝脏 CYP 3A5 表达研究表明,内含子 3 上的一个 SNP(g.6986 G>A)是 CYP 3A5 多态性的主要原因。该突变率比较高,白种人为 5%,日本人为 29%,中国人为 27%,韩国人为 30%,非裔美国人为 73%。这为 CYP 3A5 特异的临床反应和整个 CYP 3A 家族表达变异的进一步阐明提供了条件<sup>[13]</sup>。

CYP 3A4 是肝脏和胃肠道中主要的 P450 代谢酶,在很多药物和有害环境污染物的代谢中发挥着重要作用。其肝脏表达水平有显著的个体差异,相差可达 20 倍。

尽管在基因 5'调控区有多态性突变的报道,但是到目前为止,相关研究并没有表明它对基因表达有何影响。Hamzeiy 等<sup>[14]</sup>用 SSCP 方法进行人群筛查试验,对 PCR 产物进行突变分析。除了在 9 名中发现以前报道的 CYP 3A4 \* 1B 之外,还发现了三个新的等位基因:CYP 3A4 \* 1E(-369T>A,1 例),CYP 3A4 \* 1F(-747C>G,17 例)和 CYP 3A4 \* 15B(-845和-844之间插入 9 个碱基的序列并导致-392A

>G,以及外显子 6 上 cDNA 485 号位的 G>A 转换)。这几个等位基因都是杂合的,在上游远端增强区没有发现突变。

Hsieh 等<sup>[15]</sup>对 102 名中国人基因组 CYP 3A4 解码区和启动子中的点突变进行了研究,发现了 2 个突变和一个插入序列:CYP 3A4 \* 4(Ile118Val)β 例,CYP 3A4 \* 5(Pro218Arg)β 例,插入序列位于 17776A(CYP 3A4 \* 6),导致移框改变;一杂合子个体在外显子 9 中出现一个提前的中止密码子。通过探药检测表明,以上 3 个突变导致的酶活性是减低的,其发生率在中国人群中并不是很高,而其他种族的突变率及对代谢的影响尚需进一步研究。

据估计,在 CYP 3A4 活性的个体差异中,基因作用占 60%~90%,但是潜在的基因因素仍然不完全清楚。Eiselt 等<sup>[16]</sup>对 213 名中、西欧人进行研究,发现了 18 个新突变体,包括 8 种蛋白质变异,7.5% 的人具有这些突变的一种杂合子。在细菌异源性表达系统中,R130Q 和 P416L 没有检测到 P450 全蛋白质,T363M 的表达显著低于野生型 CYP 3A4,G56D,V170I,D174H 和 M445T 则与野生型没有显著差别。L373F 能显著改变睾酮的代谢。

CYP 3A4 不仅表达水平具有显著的个体差异,其底物的体内代谢也可相差 10 倍以上。Dai 等<sup>[17]</sup>对白种人、黑种人和亚洲人 72 名个体进行直接测序,共发现 28 个 SNP,有 5 个导致解码改变:M445T(CYP 3A4 \* 3),R162Q(CYP 3A4 \* 15),F189S(CYP 3A4 \* 17),L293P(CYP 3A4 \* 18)和 P467S(CYP 3A4 \* 19),后 4 个是新的突变位点,这些突变具有种族差异性:R162Q 仅在黑种人中出现(4%),F189S 和 M445T 在白种人中突变率分别为 2% 和 4%,L293P 和 P467S 仅在亚洲人中出现(2%)。F189S 对甾酮的转化活性较低,然而,L293P 对这两种底物转化活性较高。M445T 和 P467S 对底物的转化活性与野生型没有显著差异。

## 10 结语

近年来,药物基因组学的深入研究使人们对 CYP450 的基因多态性的认识更为全面,随着越来越多的功能性 SNP 被发现和验证,人们对这些基因多态性与疾病或者药物毒副作用的关系的了解也日臻清晰。随着人类基因组测序的完成,据估计,基因组中有 300 万~1000 万个多态性位点与个体差异相关。基因多态性分析有助于为患者制定治疗方案并

预防健康个体发生疾病。个体化疾病预防取决于一些新发现(如基因多态性的分析结果)能否被循证预防医学所采纳。

CYP450 遗传学差异的临床相关性取决于多个方面,包括等位基因表达、患者状态、服用药物的治疗参数、吸烟与否及同时服用的药物。对于许多药物而言,参与代谢的 CYP 同工酶尚不明确,而且现有知识也不完善。临床经验已经证明了对药物代谢中潜在的抑制或诱导作用进行评估的重要性。近年来,用药代动力学的信息来预测药物的相互作用取得了显著进步,从而在药物早期开发中就能鉴别出代谢特定药物的 CYP450 和抑制某一 CYP450 酶的药物。已知一种药物对某种 CYP 同工酶的体外抑制常数,就可以从理论上判断 CYP450 介导代谢的药物相互作用的可能性。通过体外实验以相对简单的方法来准确地预测人体内的药代动力学参数,无论对于制药领域还是临床实践都具有指导意义。对于大量的信息和复杂的关联,如何处理并合理地应用这些问题也摆在人们面前。建立多种药物代谢途径的综合数据库或许有助于在研发过程中半定量地预测多种潜在的药物相互作用。临床上病人通常同时服用多种药物,因此研究潜在的药物相互作用是必要的。在没有合适动物模型的情况下,体外实验数据可以被广泛使用,因为这样可以在人体用药前获得相关信息并对将要进行基因型和表现型定位的个体选择最适合于临床试验。对药物代谢的准确预测不仅需要密切关注体外实验的详细资料,而且药代动力学和抑制物,以及受抑制药物代谢的具体信息也是必不可少的。

#### 参考文献

- [1] Aklillu E, Oscarson M, Hidestrand M, *et al.* Functional analysis of six different polymorphic CYP 1B1 enzyme variants found in an Ethiopian population[ J ]. *Mol Pharmacol*, 2002, 61( 3 ): 586 - 594.
- [2] Ariyoshi N, Sawamura Y, Kamaki T, *et al.* A novel single nucleotide polymorphism altering stability and activity of CYP 2A6[ J ]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 281( 3 ): 810 - 814.
- [3] Daigo S, Takahashi Y, Fujieda M. A novel mutant allele of the CYP 2A6 gene( CYP 2A6 \* 11 ) found in a cancer patient who showed poor metabolic phenotype towards tegafur [ J ]. *Pharmacogenetics*, 2002, 12( 4 ): 299 - 306.
- [4] Kitagawa K, Kunugita N, Kitagawa M, *et al.* CYP 2A6 \* 6, a novel polymorphism in cytochrome p450 2A6, has a single amino acid substitution( R128Q ) that inactivates enzymatic activity[ J ]. *J Biol Chem*, 2001, 276( 21 ): 17830 - 17835.
- [5] Xu C, Rao YS, Xu B, *et al.* An *in vivo* pilot study characterizing the new CYP 2A6 \* 7, \* 8, and \* 10 alleles [ J ]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 290( 1 ): 318 - 324.
- [6] Yoshida R, Nakajima M, Watanabe Y, *et al.* Genetic polymorphisms in human CYP 2A6 gene causing impaired nicotine metabolism[ J ]. *Br J Clin Pharmacol*, 2002, 54( 5 ): 511 - 517.
- [7] Oscarson M, McLellan RA, Sap V, *et al.* Characterization of a novel CYP2A7/CYP2A6 hybrid allele( CYP 2A6 \* 12 ) that causes reduced CYP 2A6 activity[ J ]. *Hum Mutat*, 2002, 23( 4 ): 275 - 283.
- [8] Dai D, Zeldin DC, Blaisdell JA, *et al.* Polymorphisms in human CYP 2C8 decrease metabolism of the anticancer drug paclitaxel and arachidonic acid[ J ]. *Pharmacogenetics*, 2001, 11( 7 ): 597 - 607.
- [9] Schwarz UI. Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP 2C9 gene[ J ]. *Eur J Clin Invest*, 2003, 33( Suppl 2 ): 23 - 30.
- [10] Hu Y, Hakkola J, Oscarson M, *et al.* Structural and functional characterization of the 5'-flanking region of the rat and human cytochrome P450 2E1 genes: identification of a polymorphic repeat in the human gene[ J ]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 263( 2 ): 286 - 293.
- [11] Blaisdell J, Mohrenweiser H, Jackson J, *et al.* Identification and functional characterization of new potentially defective alleles of human CYP 2C19[ J ]. *Pharmacogenetics*, 2002, 12( 9 ): 703 - 711.
- [12] Kuehl P, Zhang J, Lin Y, *et al.* Sequence diversity in CYP 3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP 3A5 expression[ J ]. *Nat Genet*, 2001, 27( 4 ): 383 - 391.
- [13] Hustert E, Haber M, Burk O, *et al.* The genetic determinants of the CYP 3A5 polymorphism[ J ]. *Pharmacogenetics*, 2001, 11( 9 ): 773 - 779.
- [14] Hamzeiy H, Vahdati-Mashhadian N. Mutation analysis of the human CYP3A4 gene 5'-regulatory region: population screening using non-radioactive SSCP[ J ]. *Mutat Res*, 2002, 500( 1/2 ): 103 - 110.
- [15] Hsieh KP, Lin YY, Cheng CL, *et al.* Novel mutations of CYP 3A4 in Chinese[ J ]. *Drug Metab Dispos*, 2001, 29( 3 ): 268 - 273.
- [16] Eiselt R, Domanski TL, Zibat A, *et al.* Identification and

functional characterization of eight CYP3A4 protein variants [ J ]. *Pharmacogenetics* , 2001 , 11( 5 ) : 447 - 458 .

CYP3A4 and characterization of their abilities to metabolize testosterone and chlorpyrifos [ J ]. *J Pharmacol Exp Ther* , 2001 , 299( 3 ) : 825 - 831 .

[ 17 ] Dai D , Tang J , Rose R , et al . Identification of variants of

## 三维定量构效关系和同源分子模拟在细胞色素 P450 研究中的应用

李 恩综述 李 燕审校

( 中国医学科学院/中国协和医科大学药物研究所 , 北京 100050 )

摘要 : 细胞色素 P450( CYP450 ) 是参与各种外源物和内源物代谢的重要酶系 , 研究该酶与底物或抑制剂的相互作用对于阐明药物作用机制及疾病预防、治疗具有重要意义。CYP450 对药物代谢的选择性不仅与底物本身密切相关 , 还与酶活性位点血红蛋白中的特殊氨基酸残基排列分布对底物的特异性识别有关。在人 CYP450 的晶体结构未知的情况下 , 三维定量构效关系、药效团及同源分子模拟被认为是目前深入研究酶活性位点的有效工具。

关键词 : 细胞色素 P450 ; 三维定量构效关系 ; 同源分子模拟 ; 药效团

中图分类号 : R914.5 ; Q559+ .9 文献标识码 : A 文章编号 : 1001-0971( 2004 )06-0356-04

20 世纪 90 年代以来 , 开展了众多关于细胞色素 P450( CYP450 ) 亚型活性位点及其底物相关性的研究。而今 , 探讨应用理化参数来解释人 CYP450 不同亚型的功能差别又成为热点<sup>[ 1 ]</sup>。在人膜结合 CYP450 晶体结构尚未得知的前提下 , 三维定量构效关系( 3-D quantitative structure-activity relationships , 3D-QSAR )、药效团( pharmacophore ) 和同源分子模拟( homology molecular modeling ) 等研究手段就显得尤为重要<sup>[ 2 ]</sup>。目前 , 利用 3D-QSAR 可获得化合物作为 CYP450 底物及其抑制剂的必要条件 , 而化合物的药效团取决于其理化性质的三维空间分布、配体的功能基团及酶结合部位特异性参数(  $K_m$  ,  $K_i$  或  $IC_{50}$  ) 等。同源分子模拟可利用已知晶体结构的细菌 CYP102 和兔 CYP2C5 血红蛋白为模板来构建人 CYP450 的分子模型<sup>[ 3 ]</sup>。本文将对上述方法在研究 CYP450 中的进展进行综述。

### 1 基本概念

#### 1.1 三维定量构效关系

定量构效关系( QSAR ) 是研究系列化合物的活性与其结构、物理化学或拓扑性质的特征关系 , 通过统计学处理 , 以数学模型( 方程式 ) 或三维图形表达这种量变规律。3D-QSAR 则是以药物分子的三维结

构特征为基础处理药物分子三维空间中静电分布、立体性、氢键和疏水键等与生物活性之间的定量依存关系。广泛应用的 3D-QSAR 计算方法之一是比较分子场分析法( CoMFA ) , 其理论依据为药物分子与受体的相互作用是可逆的、非共价结合的弱作用力 , 如静电引力、氢键、疏水作用和范德华力等。系列化合物在与同一受体结合时 , 上述力场具有相似性。3D-QSAR 在酶的晶体结构还未知的情况下可以对酶的活性部位进行解释和考察。与传统的 QSAR 方法相比 , 3D-QSAR 考虑了生物活性分子的三维构象性质 , 即在 QSAR 中引入与生物活性分子三维结构信息有关的参数作为变元 , 因而能精确地反映生物活性分子与受体作用的真实情况 , 更深刻地揭示药物-受体的相互作用机制。

#### 1.2 药效团

药效团是指系列化合物产生药理作用时的最小结构单元 , 可反映分子结构的相似性 , 是认识和分析构效关系的重要概念。分子模型和计算机图形学的发展 , 使人们进一步认识到分子的相似性和多样性不仅仅是二维结构所致 , 更取决于空间性质的相似性和多样性 , 如分子在空间的形状、功能基在空间的分布等。所以 , 药效团又被定义为药物分子与受体产生药效作用时最基本的结构单元在空间的配置。

#### 1.3 同源分子模拟

同源分子模拟 , 又称为比较模拟法( comparative