

# 细胞色素 P450 CYP2E1 酶构型特征及其表达调控机制的研究进展

刘晨晖, 乐 江

(武汉大学基础医学院药理学系, 湖北 武汉 430071)

**摘要:** 细胞色素 P450 CYP2E1 酶参与代谢活化及失活多种前毒物、前致癌物和少数药物。在细胞色素 P450 超家族中, CYP2E1 具有易导向自由基生成引发氧化应激反应的特征。CYP2E1 表达水平可能是机体对环境 and 工业毒物或致癌物敏感程度的重要因素。研究表明, CYP2E1 可被多种内、外源性物质所调控, 并且 CYP2E1 的药理和毒理学功能与其以蛋白构型为基础的代谢行为密切相关。本文综述了 CYP2E1 基因多态性、酶构型特征与其代谢活性间的关系, 并分析了其区别于其他细胞色素 P450 亚型的表达调控机制。

**关键词:** 细胞色素 P450 CYP2E1; 蛋白质结构, 二级; 基因表达调控; 自由基

**中图分类号:** R963 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-3002(2010)02-0155-06

**DOI:** 10.3867/j.issn.1000-3002.2010.02.014

细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP) 为一类亚铁血红素蛋白的超家族酶系, 对内、外源性物质的代谢失活或活化起关键作用, 在药理学和毒理学方面具有十分重要的地位。目前, 已知 CYP2E1 的外源性底物超过 70 余种, 大部分具有中性、相对分子质量低 (< 100) 及亲脂性较高的特点。CYP2E1 也参与代谢和糖异生相关的多种内源性物质 (酮体和脂肪酸)。CYP2E1 酶功能活性可被其底物或非底物的内、外源性化合物调控, 如胰岛素和乙醇等 (表 1)。

CYP2E1 广泛分布于体内组织 (脑、肾、肺和小肠等), 其中肝脏为主要表达器官<sup>[1]</sup>。在肝脏, CYP2E1 虽表达于整个肝小叶, 但位于中央静脉周围的肝细胞 CYP2E1 水平较汇管区肝细胞高出 30 倍<sup>[2]</sup>。研究发现, CYP2E1 介导了多种化合物所致肝损伤效应, 如乙醇、解热镇痛药对乙酰氨基酚 (acetaminophen) 和氯仿等<sup>[3]</sup>。CYP2E1 被认为是机体对环境和工业毒物或致癌物敏感程度的重要决定因素<sup>[4]</sup>。外源物所致肝细胞坏死多集中于小叶中央区, 提示 CYP2E1 表达水平与肝毒性间存在明显相关性<sup>[5]</sup>。CYP2E1 经 2 种方式引起细胞损伤: CYP2E1 代谢底物产生具有毒性的中间代谢产物, 继而与核酸和蛋白质等大分子物质结合, 引起细胞损伤, 如对乙酰氨基酚; CYP2E1 对还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) 具有较高的氧化活性, 也可不依赖配体产生自由基, 导致细胞膜结构破坏、DNA 损伤、基因突变和 (或) 细胞转化, 如异烟肼<sup>[2,6]</sup>。CYP 催化底物反应时, 需要氧分子, 以及经 NADPH 和细胞色素 b<sub>5</sub> 将电子传递至 CYP 亚铁血红素的活性部位。与其他 CYP 亚型相比, CYP2E1 在电子传递过程中易出现解偶联, 产生活性氧自由基<sup>[7]</sup>。近年来, 生物信息学研究结果提示, CYP2E1 蛋白空间构型是其选择性催化底物和毒理学

作用的重要基础。此外, CYP2E1 表达可受多种因素调控, 包括内、外源性物质以及病理生理状态如糖尿病、禁食、肥胖、酒精性肝硬化和非酒精性肝硬化等<sup>[8-10]</sup>。因此, 揭示 CYP2E1 表达调控机制, 将有助于认识其介导的药物相互作用, 以及寻找干预由 CYP2E1 介导致氧化损伤的有效措施。本文就 CYP2E1 基因多态性、酶构型特征及其表达调控机制的研究进展进行了综述。

## 1 CYP2E1 基因具有良好保守性

人 CYP2E1 基因定位于人类染色体 10q24.3-pter, 有 11 413 bp, 上游 2788 bp, 下游 599 bp, 含 9 个外显子、8 个内含子和典型 TATA 盒, 共编码 493 个氨基酸<sup>[11]</sup>。研究发现, CYP2E1 基因虽然存在 10 余个多态性位点, 但编码区表现出较好的保守性<sup>[12]</sup>。目前证实, 仅 4 个位点的等位基因突变可引起氨基酸编码改变, 并且除 CYP2E1\*2 基因型外, 其余编码区的等位基因突变不会影响 CYP2E1 基因表达水平、酶蛋白合成以及催化活性<sup>[12]</sup>。CYP2E1\*2 是第 2 个外显子 1168 bp 处发生 G→A 突变, 并引起所编码的第 76 位精氨酸残基转换为组氨酸残基<sup>[13]</sup>。与野生型相比, CYP2E1\*2 基因型使得酶合成减少 63%, 并且催化活性下降 64%<sup>[14]</sup>。

CYP2E1 基因在不同种属间也表现出高度保守性: 人与大鼠及小鼠的核苷酸和氨基酸序列同源性均达 80%, 与猴的核苷酸和氨基酸序列同源性达 96%<sup>[15]</sup>。基于 CYP2E1 基因的良好保守性, 故多种实验动物和细胞系被用于 CYP2E1 药理及毒理学功能研究, 例如啮齿类动物、兔、犬、猴, 和大鼠原代肝细胞及人肝癌细胞系 HepG2 等。大鼠 *cyp2e1* 可与人 CYP2E1 催化相同的探针底物反应, 如氯唑沙宗 (chlorzoxazone) 和 4-硝基酚 (*p*-nitrophenol)。犬 CYP2E1 虽可催化氯唑沙宗羟化反应, 但 CYP1A 也参与了反应, 故氯唑沙宗非犬 *cyp2e1* 特异性探针。猴 CYP2E1 代谢活性虽与人相当<sup>[16]</sup>, 但可被 CYP1A 经典诱导剂 3-甲基胆蒎所诱导<sup>[17]</sup>, 提示猴 CYP2E1 调控机制表现出种属差异。大鼠 *cyp2e1* 基因包括编码区 10 373 bp, 上游 1530 bp, 下游 825 bp, 含 9 个外显子和

**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目 (30600773)

**作者简介:** 刘晨晖 (1986 -), 女, 硕士研究生, 主要从事药物代谢研究; 乐 江 (1975 -), 女, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事药物代谢与毒理学研究。

**通讯作者:** 乐 江, E-mail: yuelehe@yahoo.com.cn, Tel: (027) 68758665

表 1 细胞色素 P450 CYP2E1 常见底物及其诱导剂和抑制剂

类别	化合物
药物	氟烷、地氟烷、七氟烷、甲氧氟烷、异氟烷、对乙酰氨基酚、氟西汀、茶碱、磺胺嘧啶、苯巴比妥、非尔氨酯、咖啡因、三甲双酮、氯唑沙宗
外源性底物	
醇,醚类化合物	丁醇、乙醇、丙三醇、异丙醇、甲醇、戊醇、二乙醚、叔丁基甲醚
芳香族化合物类	苯胺、苯、一溴代苯、辣椒素、3-羟基吡啶、苯酚、4-硝基酚、吡啶、嘧啶、苯乙烯、甲苯
亚硝胺和偶氮类化合物	偶氮甲烷、 <i>N</i> -亚硝基二乙胺、 <i>N</i> -亚硝基二甲胺、甲基氧化偶氮甲醇、 <i>N</i> -亚硝基吡咯烷
烷烃,卤代烷烃,烯烃类化合物	乙酰乙酸、1-羟基-2-丙酮、乙腈、丙烯腈、1,3-丁二烯、氯仿、氯代甲烷、二溴甲烷、二氯甲烷、1,1-二氯乙烯、1,1-二氯乙烷、1,2-二氯丙烷、 <i>N,N'</i> -二甲基乙酰胺、 <i>N,N'</i> -二甲基甲酰胺、乙烷、氨基甲酸乙酯、二氯乙烯、己烷、 <i>N</i> -甲基甲酰胺、戊烷、硫代乙酰胺、三氯乙烯、溴代乙烯、氯代乙烯
内源性底物	丙酮、2-丁酮, 甲基叔丁基酮, 花生四烯酸、月桂酸、环氧-二十碳三烯酸
抑制剂	氯美噻唑、双硫仑(戒酒硫)、二乙基二硫代氨基甲酸酯、异硫氰酸、 <i>S</i> -腺苷甲硫氨酸、胰岛素
诱导剂	丙酮、乙醛、乙醇、1,3-丁二醇、异丙醇、吡啶、嘧啶、苯、乙烯、异烟肼、酮康唑、二甲亚砜

8 个内含子<sup>[18]</sup>。对于转录起始部位上游重要区域的碱基序列(140 bp),大鼠 *cyp2e1* 基因与人完全一致。免疫抑制实验、免疫定量实验及结构研究结果均提示,大鼠是研究 *cyp2e1* 基因表达、催化功能以及底物筛选的良好动物模型<sup>[19]</sup>。

## 2 CYP2E1 蛋白构型特征

CYP2E1 蛋白主要分布于内质网膜上,同时在溶酶体、高尔基体和过氧化物酶体等膜结构上也有表达。CYP2E1 蛋白为跨膜蛋白,其 N 端镶嵌在膜上以固定蛋白,其余部分伸向胞浆。CYP2E1 蛋白具有典型的 CYP 二级结构,即 12 个主要  $\alpha$ -螺旋[命名为螺旋(helix)A-L]和  $\beta$ -折叠(命名为  $\beta 1-\beta 4$ )<sup>[20]</sup>。CYP 亚型的三级结构也较为相似,均含有非常保守的亚铁血红素结合区域<sup>[21]</sup>。然而,不同亚型间酶活性部位、底物进入通道、代谢物出口的大小和形状相差甚远,因此酶所催化底物的选择性以及代谢行为存在明显差异。在 CYP2E1 蛋白的核心部分,其二级结构紧密卷曲和折叠,并沿着  $\beta 1$  折叠形成底物进入通道<sup>[20]</sup>。在已发现 CYP 亚型中,CYP2E1 酶活性部位的体积最小(0.19 nm<sup>3</sup>),这可能是其主要代谢小分子化合物的原因。此外,CYP2E1 酶活性部位呈小球状,高度疏水,外周多为可与芳香族化合物反应的非极性苯丙氨酸残基。这与其底物大多亲脂性较高,且多含芳香环的特点相符<sup>[22-23]</sup>。

CYP2E1 与 CYP2C5 的核苷酸序列具有 59% 同源性<sup>[24]</sup>。以 CYP2C5 的晶体结构为模板,运用同源分子模拟法构建了 CYP2E1 蛋白与探针底物的结合模型,如氯唑沙宗和 4-硝基酚。结果提示,CYP2E1 可与底物形成类似三明治式的结构。CYP2E1 蛋白分子的苯丙氨酸残基-205 和-293,位于一条直线上,可与氯唑沙宗的苯并咪唑环形成  $\pi-\pi$  共轭,构成三明治式结构。CYP2E1 蛋白分子的天冬酰胺酸残基-202 与氯唑沙宗羟基,苏氨酸残基-298 与氯唑沙宗氯化基团,则分别以氢键形式结合以固定底物分子。此时,CYP2E1 血红素铁与氯唑沙宗羧化部位(6-氢原子)的距离为 0.57 nm。这种三明治式的结合构象可解释 CYP2E1 与多种底物(如 4-硝基酚、对乙酰氨基酚、苯胺、丁二烯、甲苯、二甲基亚硝胺、乙醇、氟烷和月桂酸)结合方式,且 CYP2E1 血红素铁与底物催化位点间的距离都在 0.3~0.6 nm<sup>[25-28]</sup>。

此外,CYP2E1 也参与了内源性物质代谢,包括与信号传导相关的重要分子花生四烯酸和环氧-二十碳三烯酸。但对于长链分子而言,仅有 0.19 nm<sup>3</sup> 大小的 CYP2E1 活性部位是

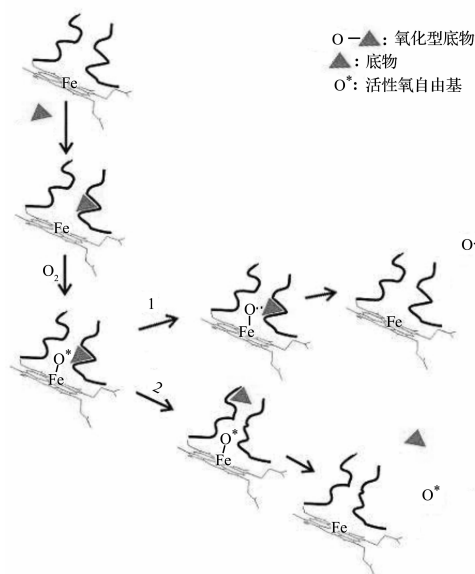
无法容纳的。CYP2E1 蛋白分子中第 478 位苯丙氨酸残基发挥了重要的作用。第 478 位苯丙氨酸残基的芳香环分隔了 CYP2E1 活性位点和底物通道。旋转第 478 位苯丙氨酸残基,将使得 CYP2E1 活性部位与底物通道的空间连通。继而可允许脂肪酸进入,并与 CYP2E1 活性部位中高度保守的谷氨酰胺及天冬酰胺结合<sup>[20]</sup>。如果第 478 位苯丙氨酸残基被缬氨酸取代,会使得 CYP2E1 活性位点与底物进入通道间的伸缩空间消失。

CYP 代谢底物时会改变 CYP 血红素铁的自旋状态,并与氧分子结合。在反应过程中,如果电子/质子传递受阻,或氧分子及底物与酶结合步骤紊乱,氧分子就可能转变为超氧阴离子和过氧化氢。研究提示,CYP2E1 蛋白空间结构具有可变性,故易出现解偶联而产生活性自由基<sup>[7]</sup>。CYP 蛋白酶活性部位与一氧化碳(carbon monoxide, CO)结合反应速度可反映 CYP 蛋白在可转换构型间的动态变化速度。实验发现,人和小鼠 CYP2E1 蛋白酶与 CO 结合速率明显较其他 CYP 亚型迅速<sup>[29-30]</sup>,提示 CYP2E1 蛋白在可转换构型间的互换速率快。CYP2E1 蛋白构型动态变化可使得活性位点进行互换,从而催化不同底物,如小分子化合物和长链脂肪酸。然而,由于 CYP2E1 蛋白构型的高速变化,底物与活性位点仅有短暂结合时间以进行活性氧转移。因此,在 CYP2E1 蛋白构型转换过程中,底物易脱离酶的活性位点,出现活性氧逃逸(图 1)。

## 3 CYP2E1 表达调控机制

在肝脏,CYP2E1 蛋白表达量约占 CYP 总量的 7%,但 mRNA 超过 CYP 总量 50%<sup>[20]</sup>,并且 mRNA 表达水平与酶活性之间缺乏明显相关性。与其他 CYP 亚型如 CYP2B, CYP3A 及 CYP4A 不同,CYP2E1 mRNA 核糖体分布存在两种方式:30%~40% mRNA 为低密度部分(60~80 s),未与核糖体结合,即不参与翻译;60%~70% 为高密度部分,可活化翻译。CYP2E1 mRNA 区别于其他亚型的分布形式可能是其具有高 mRNA 水平却蛋白表达量低的原因<sup>[31]</sup>。

内源性、外源性物质对 CYP2E1 的调控作用较为复杂,即便同一物质或同类物质在不同处理条件下如改变剂量或处理时间,调控 CYP2E1 表达及酶活性的方式也可能不同。CYP2E1 表达调控可发生在多个不同水平,包括活化 mRNA 转录,增加 mRNA 稳定性或翻译效率,减少蛋白质降解等<sup>[32-34]</sup>。人和大鼠在胚胎期以及出生数小时内,肝脏并无



**图 1** CYP2E1 易介导自由基产生途径。正常状态下(通路 1),底物与 CYP2E1 活性部位结合,并进一步形成氧-底物-酶复合物,底物获得电子生成的氧化型底物从酶的结合部位释放出去。解偶联状态下(通路 2),由于 CYP2E1 蛋白构型的快速动态变化,不能生成稳定的酶-底物复合物,底物直接从酶的结合部位释放,使得活性氧自由基逃逸<sup>[30]</sup>。

CYP2E1 mRNA 表达。出生 6 h 后,可检测到少量 CYP2E1 mRNA,至 24 h 时 mRNA 表达量迅速增加<sup>[35]</sup>。结果提示,CYP2E1 基因表达在出生的第 1 天出现了转录前水平的快速活化,但其机制尚不十分清楚。而与活化基因转录相比,通过稳定 CYP2E1 mRNA 和蛋白质发挥诱导效应所需能耗小,一些病理生理状态如饥饿和葡萄糖缺乏,可能是诱导 CYP2E1 水平的重要方式。

肝脏 CYP 蛋白周转即蛋白合成、代谢及转换的半衰期多在 7~37 h,且多为单一时相<sup>[36-38]</sup>。如 CYP3A2 通过泛素依赖的 26S 蛋白酶体途径,半衰期约为 14 h;CYP2B1 通过自噬-溶酶体途径降解,半衰期约为 37 h。蛋白酶体途径多为降解细胞不需要的或受到损伤的蛋白质,包括泛素依赖和非泛素依赖的蛋白降解系统。溶酶体途径则是需要内质网与溶酶体进行膜融合,才能降解蛋白。研究表明,CYP2E1 蛋白可经蛋白酶体和溶酶体两条途径降解<sup>[39-40]</sup>。蛋白酶体途径是 CYP2E1 蛋白降解的快途径,而溶酶体途径为 CYP2E1 蛋白降解的慢途径。在体实验发现,大鼠 CYP2E1 蛋白周转呈快、慢时相半衰期分别为 7 h 和 37 h<sup>[41-42]</sup>。体外细胞系所表达的 CYP2E1 蛋白周转半衰期虽与在体实验不同,但降解也存在快、慢时相<sup>[43]</sup>。

外源性底物可通过抑制 CYP2E1 蛋白酶体降解途径产生诱导效应,即抑制 CYP2E1 蛋白降解的快途径,如乙醇、丙酮等。乙醇处理肝癌细胞 FGC-4 后,CYP2E1 蛋白半衰期为 45 h,而对照组半衰期仅为 1.8 h<sup>[44]</sup>。乙醇单次或慢性(4 周)处理大鼠,均可导致蛋白酶体活力降低<sup>[45]</sup>,提示乙醇抑制 CYP2E1 快降解途径可能是其诱导 CYP2E1 蛋白量增加的原因之一。CYP2E1 蛋白酶体降解途径受底物抑制的原因,可能是由于 CYP2E1 与底物结合后出现构象改变,和(或)被选择性地保留于内质网中的某个区域。然而,底物对

CYP2E1 溶酶体降解途径并无影响<sup>[46]</sup>。引发 CYP2E1 溶酶体降解途径的机制可能与 cAMP 介导的磷酸化作用或蛋白二级结构改变有关<sup>[47]</sup>。在其他 CYP 亚型调控方式中,目前尚未发现这种由底物介导的蛋白稳定作用<sup>[39]</sup>。通过研究引发蛋白酶体降解途径的机制,将有助于进一步认识底物如何影响 CYP2E1 蛋白快速周转从而稳定蛋白。

CYP2E1 蛋白酶体降解方式是否依赖泛素,现尚存在争议。有报道,乙醇与 CYP2E1 结合位点恰是酶泛素化位点,故推测乙醇与 CYP2E1 结合通过阻断泛素依赖的蛋白酶体水解途径从而抑制了快降解途径<sup>[48]</sup>。但也有研究指出,CYP2E1 蛋白虽存在泛素结合位点第 317 位和 324 位赖氨酸残基<sup>[49]</sup>,但诱导其突变后并不影响 CYP2E1 蛋白降解<sup>[49]</sup>。此外,36E36ts20 细胞含有对温度敏感的泛素活化酶 E1,但是 E36ts20 细胞中 CYP2E1 蛋白降解过程并不受温度影响<sup>[46]</sup>。故非泛素依赖的蛋白酶体降解方式可能是 CYP2E1 蛋白周转的快途径。热休克蛋白 90(heat shock protein 90, Hsp90)和 Hsp70 可能介导了 CYP2E1 与蛋白酶体间的相互作用<sup>[50-52]</sup>。

多种与糖异生相关的内源性物质亦可调控 CYP2E1 表达,如胰岛素<sup>[53]</sup>和酮体<sup>[32]</sup>等。胰岛素可明显降低 CYP2E1 mRNA 稳定性,在转录后水平抑制其表达<sup>[53-54]</sup>。大鼠原代肝细胞经胰岛素 10 nmol·L<sup>-1</sup>处理后,cyp2e1 mRNA 半衰期由 48 h 缩短为 15 h<sup>[55]</sup>。一般认为,转录后水平的调控作用多由位于 5'和 3'端非翻译区 RNA 序列与特定蛋白发生相互作用,继而活化 mRNA 降解或阻止核糖体接近翻译起始密码子<sup>[33,56-57]</sup>。新近研究报道,除非翻译区 RNA 序列外,翻译区序列亦可成为蛋白结合位点参与胰岛素对 CYP2E1 mRNA 调控作用<sup>[57]</sup>。在大鼠 H4IIEC3 肝癌细胞系,cyp2e1 mRNA 翻译区内的 16-mer 发夹环(hairpin loop)可与表观分子质量 60 ku 的某种胞内蛋白产生相互作用,降低 mRNA 稳定性<sup>[54,58]</sup>。人 CYP2E1 mRNA 的发夹环序列与大鼠序列的同源性高达 88%,提示胰岛素对人 CYP2E1 mRNA 可通过类似机制产生抑制效应。

## 4 展望

目前,国外实验室应用基因重组技术对 129/sv 雄性小鼠基因进行修饰,并利用 C57BL/6N 雌性小鼠囊胚成功繁育了 cyp2e1 基因敲除小鼠<sup>[3]</sup>。基因敲除小鼠将为分析 CYP2E1 在外源性化合物致组织氧化损伤中的媒介作用,提供较为可靠的毒理学信息。同时,基因敲除小鼠在代谢组学研究方面也将有重要应用价值。通过分析基因敲除小鼠和野生型小鼠的代谢组差异,有助于确定 CYP2E1 代谢底物以及终代谢产物,以及发现 CYP2E1 所介导毒性或致癌性的相关生物标志物。抑制 CYP2E1 表达或功能,可能是从代谢角度干预化合物致过氧化损伤的新思路。CYP2E1 蛋白分子构型的研究为进一步开展抑制剂的分子设计与筛选提供了生物信息学的基础。当然,对于 CYP2E1 活性位点与底物、抑制剂和诱导剂之间的相互作用方式,以及化合物作为 CYP2E1 抑制剂的必要条件等方面尚需进一步积累数据。

此外,CYP2E1 参与了多种与糖异生相关的内源性底物代谢,且具有易介导自由基产生的酶催化特征,故其在病理生理学方面的作用值得深入阐明。对于在发育过程中

CYP2E1 mRNA 如何进行转录活化,以及病理生理状态如何影响 CYP2E1 mRNA 表达调控,目前尚不十分清楚。近年,通过基因重组技术即构建人 CYP2E1 cDNA 和小鼠白蛋白增强子和启动子基因结构,结合微注射技术建立了人源化的 *cyp2e1* 转基因小鼠<sup>[59]</sup>。人源化的 *cyp2e1* 转基因小鼠为研究人 CYP2E1 表达调控和功能提供了完整的生物遗传系统<sup>[8]</sup>。利用基因敲除小鼠和转基因小鼠,通过分析与人 CYP2E1 相关的病理生理状态(如酒精性肝损伤和脂肪肝)对代谢组的影响,将有助于发现调控 CYP2E1 表达的内源性标志物,以及研究相关的信号传导途径。

#### 参考文献:

- [1] Cheung C, Yu AM, Ward JM, Krausz KW, Akiyama TE, Feigenbaum L, et al. The *cyp2e1*-humanized transgenic mouse: role of *cyp2e1* in acetaminophen hepatotoxicity[J]. *Drug Metab Dispos*, 2005, **33**(3):449-457.
- [2] Johansson I, Lindros KO, Eriksson H, Ingelman-Sundberg M. Transcriptional control of CYP2E1 in the perivenous liver region and during starvation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1990, **173**(1):331-338.
- [3] Lee SS, Buters JT, Pineau T, Fernandez-Salguero P, Gonzalez FJ. Role of CYP2E1 in the hepatotoxicity of acetaminophen[J]. *J Biol Chem*, 1996, **271**(20):12063-12067.
- [4] Gonzalez FJ. Role of cytochromes P450 in chemical toxicity and oxidative stress: studies with CYP2E1[J]. *Mutat Res*, 2005, **569**(1-2):101-110.
- [5] Haufroid V, Ligoeka D, Buyschaert M, Horsmans Y, Lison D. Cytochrome P4502E1 (CYP2E1) expression in peripheral blood lymphocytes: evaluation in hepatitis C and diabetes [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2003, **59**(1):29-33.
- [6] Yue J, Peng R, Chen J, Liu Y, Dong G. Effects of rifampin on CYP2E1-dependent hepatotoxicity of isoniazid in rats [J]. *Pharmacol Res*, 2009, **59**(2):112-119.
- [7] Miller GP. Advances in the interpretation and prediction of CYP2E1 metabolism from a biochemical perspective[J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2008, **4**(8):1053-1064.
- [8] Ghanayem BI, Hoffler U. Investigation of xenobiotics metabolism, genotoxicity, and carcinogenicity using *Cyp2e1* (-/-) mice [J]. *Curr Drug Metab*, 2007, **8**(7):728-749.
- [9] Ghanayem BI, Wang H, Sumner S. Using cytochrome P-450 gene knock-out mice to study chemical metabolism, toxicity, and carcinogenicity[J]. *Toxicol Pathol*, 2000, **28**(6):839-850.
- [10] Leclercq IA, Farrell GC, Field J, Bell DR, Gonzalez FJ, Robertson GR. CYP2E1 and CYP4A as microsomal catalysts of lipid peroxides in murine nonalcoholic steatohepatitis [J]. *J Clin Invest*, 2000, **105**(8):1067-1075.
- [11] Munro AW, Girvan HM, McLean KJ. Cytochrome P450-redox partner fusion enzymes[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, **1770**(3):345-359.
- [12] Danko IM, Chaschin NA. Association of CYP2E1 gene polymorphism with predisposition to cancer development[J]. *Exp Oncol*, 2005, **27**(4):248-256.
- [13] Itoga S, Nomura F, Makino Y, Tomonaga T, Shimada H, Ochiai T, et al. Tandem repeat polymorphism of the CYP2E1 gene: an association study with esophageal cancer and lung cancer [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2002, **26**(8 Suppl):15S-19S.
- [14] Hu Y, Oscarson M, Johansson I, Yue QY, Dahl ML, Tabone M, et al. Genetic polymorphism of human CYP2E1: characterization of two variant alleles[J]. *Mol Pharmacol*, 1997, **51**(3):370-376.
- [15] Zuber R, Anzenbacherová E, Anzenbacher P. Cytochromes P450 and experimental models of drug metabolism[J]. *J Cell Mol Med*, 2002, **6**(2):189-198.
- [16] Lee AM, Yue J, Tyndale RF. *In vivo* and *in vitro* characterization of chlorzoxazone metabolism and hepatic CYP2E1 levels in African green monkeys: induction by chronic nicotine treatment [J]. *Drug Metab Dispos*, 2006, **34**(9):1508-1515.
- [17] Bogaards JJ, Bertrand M, Jackson P, Oudshoorn MJ, Weaver RJ, van Bladeren PJ, et al. Determining the best animal model for human cytochrome P450 activities: a comparison of mouse, rat, rabbit, dog, micropig, monkey and man[J]. *Xenobiotica*, 2000, **30**(12):1131-1152.
- [18] Umeno M, Song BJ, Kozak C, Gelboin HV, Gonzalez FJ. The rat P450IIE1 gene: complete intron and exon sequence, chromosome mapping, and correlation of developmental expression with specific 5'-cytosine demethylation[J]. *J Biol Chem*, 1988, **263**(10):4956-4962.
- [19] Martignoni M, Groothuis GM, de Kanter R. Species differences between mouse, rat, dog, monkey and human CYP-mediated drug metabolism, inhibition and induction[J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2006, **2**(6):875-894.
- [20] Porubsky PR, Meneely KM, Scott EE. Structures of human cytochrome P-450 2E1. Insights into the binding of inhibitors and both small molecular weight and fatty acid substrates [J]. *J Biol Chem*, 2008, **283**(48):33698-33707.
- [21] Mestres J. Structure conservation in cytochromes P450[J]. *Proteins*, 2005, **58**(3):596-609.
- [22] Lewis DF. Quantitative structure-activity relationships (QSARs) for substrates of human cytochromes P450 CYP2 family enzymes [J]. *Toxicol In Vitro*, 2004, **18**(1):89-97.
- [23] Lewis DF, Dickins M. Baseline lipophilicity relationships in human cytochromes P450 associated with drug metabolism [J]. *Drug Metab Rev*, 2003, **35**(1):1-18.
- [24] Park JY, Harris D. Construction and assessment of models of CYP2E1: predictions of metabolism from docking, molecular dynamics, and density functional theoretical calculations [J]. *J Med Chem*, 2003, **46**(9):1645-1660.
- [25] Lewis DF. Homology modelling of human CYP2 family enzymes based on the CYP2C5 crystal structure[J]. *Xenobiotica*, 2002, **32**(4):305-323.
- [26] Lewis DF. Modelling human cytochromes P450 involved in drug metabolism from the CYP2C5 crystallographic template [J]. *J Inorg Biochem*, 2002, **91**(4):502-514.
- [27] Lewis DF. On the estimation of binding affinity ( $\Delta G_{bind}$ ) for human P450 substrates (based on  $K_m$  and  $K_D$  values)[J]. *Curr Drug Metab*, 2003, **4**(5):331-340.
- [28] Lewis DF. Human cytochromes P450 associated with the phase I metabolism of drugs and other xenobiotics: a compilation of substrates and inhibitors of the CYP1, CYP2 and CYP3 families[J]. *Curr Med Chem*, 2003, **10**(19):1955-1972.
- [29] Smith SV, Koley AP, Dai R, Robinson RC, Leong H, Markowitz A, et al. Conformational modulation of human cytochrome P450 2E1 by ethanol and other substrates: a CO flash photolysis study [J]. *Biochemistry*, 2000, **39**(19):5731-5737.

- [30] Smith SV, Robinson RC, Smith TG, Burks SM, Friedman FK. Rapid conformational dynamics of cytochrome P450 2E1 in a natural biological membrane environment [J]. *Biochemistry*, 2006, **45**(51):15617-15623.
- [31] Kocarek TA, Zangar RC, Novak RF. Post-transcriptional regulation of rat CYP2E1 expression: role of CYP2E1 mRNA untranslated regions in control of translational efficiency and message stability[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2000, **376**(1):180-190.
- [32] Abdelmegeed MA, Carruthers NJ, Woodcroft KJ, Kim SK, Novak RF. Acetoacetate induces CYP2E1 protein and suppresses CYP2E1 mRNA in primary cultured rat hepatocytes [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, **315**(1):203-213.
- [33] Day DA, Tuite MF. Post-transcriptional gene regulatory mechanisms in eukaryotes: an overview[J]. *J Endocrinol*, 1998, **157**(3):361-371.
- [34] Dickins M. Induction of cytochromes P450 [J]. *Curr Top Med Chem*, 2004, **4**(16):1745-1766.
- [35] Song BJ, Gelboin HV, Park SS, Yang CS, Gonzalez FJ. Complementary DNA and protein sequences of ethanol-inducible rat and human cytochrome P-450s. Transcriptional and post-transcriptional regulation of the rat enzyme[J]. *J Biol Chem*, 1986, **261**(35):16689-16697.
- [36] Correia MA, Liao M. Cellular proteolytic systems in P450 degradation: evolutionary conservation from *Saccharomyces cerevisiae* to mammalian liver[J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2007, **3**(1):33-49.
- [37] Liao M, Zgoda VG, Murray BP, Correia MA. Vacuolar degradation of rat liver CYP2B1 in *Saccharomyces cerevisiae*: further validation of the yeast model and structural implications for the degradation of mammalian endoplasmic reticulum P450 proteins [J]. *Mol Pharmacol*, 2005, **67**(5):1460-1469.
- [38] Liao M, Faouzi S, Karyakin A, Correia MA. Endoplasmic reticulum-associated degradation of cytochrome P450 CYP3A4 in *Saccharomyces cerevisiae*: further characterization of cellular participants and structural determinants [J]. *Mol Pharmacol*, 2006, **69**(6):1897-1904.
- [39] Gonzalez FJ. The 2006 Bernard B. Brodie Award Lecture. Cyp2e1 [J]. *Drug Metab Dispos*, 2007, **35**(1):1-8.
- [40] Correia MA, Sadeghi S, Mundo-Paredes E. Cytochrome P450 ubiquitination: branding for the proteolytic slaughter[J]? *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2005, **45**:439-464.
- [41] Roberts BJ, Song BJ, Soh Y, Park SS, Shoaf SE. Ethanol induces CYP2E1 by protein stabilization. Role of ubiquitin conjugation in the rapid degradation of CYP2E1 [J]. *J Biol Chem*, 1995, **270**(50):29632-29635.
- [42] McGehee RE Jr, Ronis MJ, Cowherd RM, Ingelman-Sundberg M, Badger TM. Characterization of cytochrome P450 2E1 induction in a rat hepatoma FGC-4 cell model by ethanol[J]. *Biochem Pharmacol*, 1994, **48**(9):1823-1833.
- [43] Yang MX, Cederbaum AI. Role of the proteasome complex in degradation of human CYP2E1 in transfected HepG2 cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, **226**(3):711-716.
- [44] Lu Y, Cederbaum AI. CYP2E1 and oxidative liver injury by alcohol[J]. *Free Radic Biol Med*, 2008, **44**(5):723-738.
- [45] Koll M, Ahmed S, Mantle D, Donohue TM, Palmer TN, Simanowski UA, et al. Effect of acute and chronic alcohol treatment and their superimposition on lysosomal, cytoplasmic, and proteosomal protease activities in rat skeletal muscle *in vivo* [J]. *Metabolism*, 2002, **51**(1):97-104.
- [46] Huan JY, Streicher JM, Bleye LA, Koop DR. Proteasome-dependent degradation of cytochromes P450 2E1 and 2B1 expressed in tetracycline-regulated HeLa cells [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2004, **199**(3):332-343.
- [47] Oesch-Bartlomowicz B, Oesch F. Phosphorylation of cytochromes P450: first discovery of a posttranslational modification of a drug-metabolizing enzyme[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, **338**(1):446-449.
- [48] Bardag-Gorce F, Li J, French BA, French SW. Ethanol withdrawal induced CYP2E1 degradation *in vivo*, blocked by proteasomal inhibitor PS-341[J]. *Free Radic Biol Med*, 2002, **32**(1):17-21.
- [49] Banerjee A, Kocarek TA, Novak RF. Identification of a ubiquitination-target/substrate-interaction domain of cytochrome P-450 (CYP) 2E1 [J]. *Drug Metab Dispos*, 2000, **28**(2):118-124.
- [50] Bercovich B, Stancovski I, Mayer A, Blumenfeld N, Laszlo A, Schwartz AL, et al. Ubiquitin-dependent degradation of certain protein substrates *in vitro* requires the molecular chaperone Hsc70 [J]. *J Biol Chem*, 1997, **272**(14):9002-9010.
- [51] Goasduff T, Cederbaum AI. CYP2E1 degradation by *in vitro* reconstituted systems: role of the molecular chaperone hsp90 [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2000, **379**(2):321-330.
- [52] Lüders J, Demand J, H? hfeld J. The ubiquitin-related BAG-1 provides a link between the molecular chaperones Hsc70/Hsp70 and the proteasome [J]. *J Biol Chem*, 2000, **275**(7):4613-4617.
- [53] Woodcroft KJ, Novak RF. Insulin differentially affects xenobiotic-enhanced, cytochrome P-450 (CYP)2E1, CYP2B, CYP3A, and CYP4A expression in primary cultured rat hepatocytes [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1999, **289**(2):1121-1127.
- [54] Moncion A, Truong NT, Garrone A, Beaune P, Barouki R, De Waziers I. Identification of a 16-nucleotide sequence that mediates post-transcriptional regulation of rat CYP2E1 by insulin [J]. *J Biol Chem*, 2002, **277**(48):45904-45910.
- [55] Woodcroft KJ, Hafner MS, Novak RF. Insulin signaling in the transcriptional and posttranscriptional regulation of CYP2E1 expression [J]. *Hepatology*, 2002, **35**(2):263-273.
- [56] Chu J, Dolnick BJ. Natural antisense (rTSalph) RNA induces site-specific cleavage of thymidylate synthase mRNA [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2002, **1587**(2-3):183-193.
- [57] Truong NT, Moncion A, Barouki R, Beaune P, de Waziers I. Regulatory sequence responsible for insulin destabilization of cytochrome P450 2B1 (CYP2B1) mRNA [J]. *Biochem J*, 2005, **388**(Pt 1):227-235.
- [58] Kawashima J, Tsuruzoe K, Motoshima H, Shirakami A, Sakai K, Hirashima Y, et al. Insulin down-regulates resistin mRNA through the synthesis of protein(s) that could accelerate the degradation of resistin mRNA in 3T3-L1 adipocytes [J]. *Diabetologia*, 2003, **46**(2):231-240.
- [59] Morgan K, French SW, Morgan TR. Production of a cytochrome P450 2E1 transgenic mouse and initial evaluation of alcoholic liver damage [J]. *Hepatology*, 2002, **36**(1):122-134.

## Progress in characteristics of cytochrome P-450 CYP2E1 in protein structure and regulation mechanisms

LIU Chen-hui, YUE Jiang

(Department of Pharmacology, Wuhan University School of Basic Medicine Science, Wuhan 430071, China)

**Abstract:** Cytochrome P-450 CYP2E1 plays a central role in the biotransformation of a large number of small molecular weight compounds (eg drugs, toxins and pre-carcinogens). CYP2E1 can produce reactive oxygen species directly through high oxidative activity and/or through metabolism of xenobiotics. CYP2E1 levels may be associated with human susceptibility to toxicity and carcinogenicity of industrial and environmental chemicals. CYP2E1 levels can be regulated by endogenous and exogenous substrates. The roles of CYP2E1 in toxicology and pharmacology are related to the metabolic features of CYP2E1 based on the protein structure. The present review briefly discusses the advances in CYP2E1 genetic polymorphisms, protein structure-activity relationships and regulation mechanisms compared with other CYP isoforms.

**Key words:** cytochrome P-450 CYP2E1; protein structure, secondary; gene expression regulation; free radicals

**Foundation item:** The project supported by National Natural Science Foundation of China(30600773)

**Corresponding author:** YUE Jiang, E-mail: yuelehe@yahoo.com.cn, Tel: (027)68758665

(收稿日期: 2009-05-05 接受日期: 2009-12-24)

(本文编辑: 付良青)

### 《中国药理学与毒理学杂志》毒理学专辑征稿通知

《中国药理学与毒理学杂志》联合中国毒理学会拟于 2010 年编辑出版毒理学专辑(非增刊), 征稿范围包括药物毒理与安全性评价、放射毒理、军事毒理、生物毒素毒理、环境与生态毒理、生殖毒理、免疫毒理、遗传毒理、生化与分子毒理、药物依赖性毒理、食品毒理和工业毒理相关的未发表的中文或英文论著及综述。来稿按照自由来稿的原则处理, 需经专家评审合格后刊出。来稿请注明“专辑投稿”。欢迎广大从事实验毒理学研究的科研工作者踊跃投稿。

投稿方式: 登录本刊网站 [www.cjpt.ac.cn](http://www.cjpt.ac.cn) 在线投稿。

### 第十四届中国神经精神药理学学术会议通知(第一轮)

第十四届中国神经精神药理学学术交流会将于 2010 年 10 月 15-18 日在江苏省南京市召开。会议由中国药理学学会神经药理学专业委员会主办, 南京医科大学承办。会议将邀请国内外著名药理学家和相关学科的专家做大会报告, 还将举行药理学研究专题和分会报告。凡在 2010 年 10 月前尚未发表的论文均可投稿。欢迎神经精神药理学、神经内科、神经外科、精神科、麻醉科等科研工作者以及医药企业代表积极投稿。征文将以摘要形式在《中国药理学与毒理学杂志》刊出。摘要用中文采用“目的、方法、结果、结论”形式撰写, 不附图表, 每篇不超过 600 字。篇末给出联系电话及 E-mail 地址。论文摘要请以 E-mail 发至: [neuropha@njmu.edu.cn](mailto:neuropha@njmu.edu.cn), 注明“南京会议征文”。征文截止日期: 2010 年 7 月 10 日。会务费和资料费: 正式代表 600 元, 学生代表 400 元, 港澳台地区代表 1200 元, 国际代表 250 美元。会议期间将召开全体专业委员会委员会议并进行改选, 请各位委员务必出席。

通讯地址: 江苏省南京市汉中路 140 号 南京医科大学药理学系; 邮编: 210029

联系人: 孙秀兰; 电话、传真: (025)86863108; E-mail: [neuropha@njmu.edu.cn](mailto:neuropha@njmu.edu.cn)

中国药理学学会神经药理学专业委员会  
南京医科大学