

人细胞色素 P450 酶 2J2 的功能及其配体研究进展

马虹莹^{1,2}, 宁 静², 葛广波^{2*}, 杨 凌², 郝大程^{1*}

(1. 大连交通大学环境化工学院/生物技术研究所, 辽宁 大连 116028;

2. 中国科学院大连化学物理研究所药用资源开发组, 辽宁 大连 116023)

摘要: 细胞色素酶 P450 2J2 (cytochrome P450 2J2, CYP2J2) 广泛分布于人体多个组织, 参与众多内源性化合物和外源性药物的代谢。CYP2J2 可催化花生四烯酸 (arachidonic acid, AA) 生成具有多种生理功能的环氧化二十碳三烯甘油酸 (epoxyeicosatrienoic acids, EETs), 进而在调节心血管功能和肿瘤发生发展中发挥重要作用。此外, CYP2J2 在阿司咪唑、依巴斯汀和特非那定等临床药物的肠道代谢中也发挥关键作用, 是多种药物肠道首过代谢环节的重要屏障。本综述结合国内外新近研究进展, 系统介绍了 CYP2J2 的分布、功能及催化特征, CYP2J2 功能的表征方法和探针底物研究现状、药物等外源物对 CYP2J2 的调节作用以及 CYP2J2 与人类疾病间的关系等, 旨在使国内医药领域的研究者更加深入地了解 CYP2J2 的功能及其在疾病发生发展中的作用。本文通过对近年来 CYP2J2 配体 (底物和抑制剂) 研究进展的总结, 以期为以 CYP2J2 为靶点的新药研发提供指导和参考。

关键词: CYP2J2; 代谢; 疾病; 探针底物; CYP2J2 抑制剂

中图分类号: R963

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 01-0026-08

Research progress of human cytochrome P450 2J2 and its ligands

MA Hong-ying^{1,2}, NING Jing², GE Guang-bo^{2*}, YANG Ling², HAO Da-cheng^{1*}

(1. School of Environment and Chemical Engineering, Dalian Jiaotong University, Dalian 116028, China;

2. Pharmaceutical Resource Discovery, Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China)

Abstract: Cytochrome P450 2J2 (CYP2J2) is widely distributed in various human tissues and takes a part in the metabolism of endogenous compounds and drugs. CYP2J2 can convert arachidonic acid (AA) to epoxyeicosatrienoic acids (EETs), which have various biological effects, implying the important role of CYP2J2 in the regulation of cardiovascular system and promotion of tumor progression and metastasis. Additionally, CYP2J2 plays an indispensable role in the intestinal metabolism of various drugs, such as astemizole, terfenadine and ebastine. In this review, the metabolic function, characteristic of catalysis and tissue distribution of CYP2J2 are discussed with the latest literatures both in China and abroad. The state-of-the-art methods for characterization of CYP2J2 and current trend of substrate discovery as well as its relationship with disease are highlighted. This review gives in-depth understanding of the function of CYP2J2 and its role in disease advance. The information of ligand (substrate and inhibitor) will provide the theoretical guidance and reference to the development of novel drugs for CYP2J2.

Key words: CYP2J2; metabolism; human disease; probe substrate; CYP2J2 inhibitor

收稿日期: 2016-06-15; 修回日期: 2016-07-19.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81503152, 81573501); 辽宁省自然科学基金资助 (2015020663); 辽宁省研究生教育教学改革研究项目 (2016).

*通讯作者 Tel: 86-411-84379317, Fax: 86-411-84676961, E-mail: geguangbo@dicp.ac.cn; hao@djtu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2016-0573

细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP) 为一类亚铁血红素-硫醇盐蛋白的超家族, 是表达于内质网膜上的混合功能氧化酶系统末端氧化酶, 在多种内源化合物如脂肪酸、维生素、胆固醇及甾体类的代谢激活以及外源物包括药物、致癌物、环境污染物等物质的体内代谢过程中均发挥重要作用。CYP2J2 主要表达于肝外组织, 在心肌细胞和主动脉周围的上皮细胞中表达量最高。人 CYP2J2 首次发现于 1996 年, 是目前人体中发现的 CYP2J 亚家族中的唯一成员。CYP2J2 作为重要的心血管系统平衡状态调节酶, 通过代谢内源化合物花生四烯酸 (arachidonic acid, AA) 生成具有多种生理功能的表氧化二十碳三烯酸 (epoxyeicosatrienoic acids, EETs) 异构体影响心血管系统的生理及病理状态^[1, 2]。CYP2J2 mRNA 水平和蛋白表达水平在人肿瘤组织均会上调, 参与癌细胞的增殖和转移。可代谢多种外源化合物, 并在某些药物 (如特非那定、依巴斯汀) 的代谢中发挥重要作用^[3]。本文就侧重于目前对人源 CYP2J2 分布、功能及催化特征、外源药物对 CYP2J2 的调节作用和 CYP2J2 配体 (底物和抑制剂) 的研究现状及 CYP2J2 与人类疾病间的关系、等关键信息进行综述。

1 CYP2J2 在人体内的分布

CYP2J2 在人体中分布极为广泛, 除主要分布于心血管系统^[2], 在肾^[4]、肺^[5]、大脑、胃肠道^[6]、胰腺^[7]、胰岛的 α 、 β 、 δ 细胞、大脑皮层、海马区及胎儿的鼻腔黏膜等众多组织均有 CYP2J2 的发现。其中, 对于 CYP2J2 在心血管组织、肝脏、肠道、肾和脑中的分布研究较为深入。从 CYP2J2 蛋白表达水平的量来讲, CYP2J2 主要表达于心血管组织, 通过催化内源化合物 AA 生成 EETs 参与心血管系统的调节; 其次表达于肝脏、肠道和肾脏, 代谢外源化合物和调节体液平衡; 人脑中 CYP2J2 蛋白的表达量虽然低, 但与阿尔茨海默症息息相关。以下介绍 CYP2J2 在这几种组织中的分布情况。

1.1 心血管

CYP2J2 在人体内主要分布于心血管组织, 以心肌细胞为首, 其次是冠状动脉内皮细胞, 少量分布于冠状动脉平滑肌细胞^[8]、主动脉^[8]和静脉^[9]。在心血管组织, CYP2J2 代谢 AA 生成 EETs, 通过 EETs 的多种生理功能调节心血管系统。

1.2 肝脏、肠道

CYP2J2 虽然参与多种外源化合物的代谢, 但 CYP2J2 在肝、空肠、回肠和结肠中仅占 CYP 总量的 1%~2%^[10]。受其含量的限制, 理论上, CYP2J2 一般

不会对外源物的代谢起决定性作用。然而, 研究发现 CYP2J2 却在某些药物 (如抗组胺药物特非那定和依巴斯汀) 的肠道代谢中发挥着主导作用^[3]。所以, CYP2J2 对外源化合物的代谢作用仍不可忽视。

1.3 肾

在肾脏, CYP2J2 主要分布于近曲小管 (特别是直部) 和集合管等能量依赖主动转运吸收和分泌的部位。在近曲小管, CYP2J2 催化 EETs 生成, 后者通过抑制 Na^+ 的转运, 调节细胞质中的 Ca^{2+} 对血管紧张素 II 的诱导作用以及抑制 Na^+K^+ 腺苷三磷酸酶^[11]。在集合管, CYP2J2 催化生成的 EETs 对水、 Na^+ 重吸收和 K^+ 分泌产生抑制作用, 并刺激前列腺素合成。所以 CYP2J2 对肾脏生理功能, 特别是调节体液平衡方面起重要作用。

1.4 脑

除了在心脏、肾脏和肝脏等组织中表达, CYP2J2 在大脑皮层、额叶和海马区也有很高的表达量。Dutheil 等^[3]研究表明, 人脑中分布着多种 CYP, 而 CYP2J2 的表达量大约为 CYP450 总含量的 20%。

2 CYP2J2 的功能及催化特征

人 CYP2J2 对内源物和外源物代谢均具有重要的催化作用。催化代谢花生四烯酸和维生素 D_3 , 对心血管系统的生理病理状态及骨骼钙吸收等进行调节。催化多种外源化合物代谢, 底物结构丰富多样, 倾向于催化化合物末端反应活性位点^[12]。

2.1 内源性化合物

2.1.1 花生四烯酸 AA 是一种不饱和脂肪酸, 参与众多细胞的信号转导与信号通路的调节。CYP1A、2B、2C、2D、2G、2J、2N 和 4A 等亚家族均参与了由 AA 生成 EETs 的代谢过程, 其中 CYP2J2 因在人心血管系统高表达, 被视为心血管系统中代谢 AA 的重要酶。在 CYP2J2 的作用下, AA 被代谢为 4 种具有生物活性的 EETs, 包括 5,6-, 8,9-, 11,12- 和 14,15-EETs。EETs 作为一种内源性超极化因子, 具有促进内皮细胞增殖、迁移、类微血管结构形成、抑制血管平滑肌细胞迁移和抗炎等多种生物活性。

2.1.2 维生素 D_3 维生素 D_3 是体内脂溶性类固醇衍生物, 负责钙、磷酸盐体内平衡和维护骨骼健康。可经皮肤光照而由 7-脱氢胆固醇转化而来, 亦可由日常饮食获取。维生素 D_3 的代谢激活过程主要体现在: 在肝脏中的 25-羟化酶和肾脏中的 1α -羟化酶的相继催化下产生具有重要生物活性的 $1\alpha,25$ -双羟基维生素 D_3 ^[13]。其中 CYP2R1 和 CYP2J2 是人体维生素 D_3 进行 25-羟化反应的两种主要代谢酶。CYP2R1

的 25-羟化反应催化活性高于 CYP2J2。CYP2J2 对维生素 D₃ 的 1 α -羟化反应的催化效率高于 CYP2R1^[14]。由于 CYP2J2 大量分布于肾、肠等肝外组织, 所以认为 CYP2J2 对肝外局部组织中维生素 D₃ 的代谢激活起重要作用。

2.1.3 其他内源性化合物 CYP2J2 催化亚油酸生成环氧化十八烯酸 (epoxidation of oleic acid EOA), 以 9,10- 和 12,13-EOA 为主。而 EOA 具有诱导线粒体功能障碍的生物毒性^[14]。在严重烧伤患者的血浆中 9,10- 和 12,13-EOA 的浓度会超过 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (远高于正常值), 大大增加了患者的死亡率。

2.2 外源性化合物

自 1996 年人 CYP2J2 发现以来, 对其研究主要集中于内源化合物的代谢和心血管系统的调节。直到 2002 年 Hashizume 等^[15]首次发现 CYP2J2 可代谢抗组胺药物依巴斯汀。为了明确 CYP2J2 的底物谱, Lee 等^[16]研究 CYP2J2 对 139 种临床常用药物的催化行为, 发现阿苯达唑、硫醚嗪、达那唑、他莫西芬、环孢霉素 A、纳布美通和美索达嗪等具有不同结构母核及结构特征的药物均可被其代谢。由于 CYP2J2 参与多种药物代谢, 见表 1^[10, 12, 15–22], 美国食品药品监督管理局 (FDA) 2012 年的相关文件呼吁医药业研究者关注 CYP2J2 在药物代谢中的作用^[21]。之后的研究发现,

CYP2J2 的底物选择特异性不高, 会同时被其他 CYP 酶 (如 CYP3A4) 代谢^[18–20]。其中胺碘酮和阿苯达唑的 4 位羟基化反应是现仅有 CYP2J2 特有的催化代谢过程。虽然, CYP2J2 在肝脏和肠道 CYP 酶分布量中不占优势, 底物选择性不好, 但 2014 年, Kaspera 等^[22]证实, 依巴斯汀在肠道中通过 CYP2J2 途径的代谢率高达 70%。Uehara 等^[23]发现, CYP2J2 在人体和兔小肠中阿司咪唑的代谢中起到决定性作用。

2.3 CYP2J2 催化特征

CYP2J2 可参与化合物的脱烷基、羟化和氧化等多种反应类型。其外源底物和催化反应特征为: ① 底物结构变异大: 从相对刚性结构 (胺碘酮) 到复杂结构 (环孢霉素), 大小结构丰富多样; ② 特殊的区域选择性: CYP2J2 倾向于催化化合物末端反应活性较弱的位点。

虽然, 人 CYP2J2 的晶体结构尚未被鉴定, 但已有研究通过对比 CYP2J2 与其他 CYP 亚型的异同来揭示 CYP2J2 的底物识别、结合、催化机制与特征。CYP3A4 是目前发现的与 CYP2J2 底物谱重叠度最高的 CYP。二者比较而言, CYP3A4 在催化相同底物时, 反应主要发生在底物化学活性最强的位点上, 更符合 CYP 的已知催化规律。针对这一现象, Lee 等^[16]通过 CYP2B4、CYP2C8 和 CYP2A6 的晶体结构同

Table 1 Exogenous substrates of CYP2J2

Substrate	Metabolic reaction	K_m / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	V_{max} / $\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{nmol}^{-1}$	CL_{int} / $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{nmol}^{-1}$	Other involved CYPs	Reference
Fenbendazole	Hydroxylation	0.32	0.62			[12]
Albendazole	O-Hydroxylation	1.91	0.65	0.36		[12, 16]
	Sulfoxidation	4.23	1.89		3A4	
Apixaban	O-demethylation		0.27		1A2/3A4	[16]
Astemizole	O-demethylation	0.65	1.129	1.14	2D6/4F12	[16]
Benzphetamine	N-Demethylation		0.08			[16]
Bufuralol			0.17			[16]
Cyclosporine A	Hydroxylation			0.12	3A4	[16]
Danazol				0.29	3A4	[16]
Mesoridazine	Sulfoxidation			0.06	3A4	[16]
Nabumetone				0.11	3A4	[16]
Tamoxifen	N-Demethylation			0.19	3A4	[16]
Thioridazine	Sulfoxidation			0.27	3A4	[16]
Vorapaxar	Hydroxylation		0.0306		3A4	[17]
Ebastin	Hydroxylation	1.3–18.3	8.2–40.6	0.45–31	4F12	[15, 18]
Hydroxyebastin	Carboxylation	0.75	9.86		3A4	[18]
Eperisone	ω -Hydroxylation		0.026 6		3A4/4F12	[19]
	ω -1 Hydroxylation				2D6/3A4/4F12/1A2/2C9	
Anandamide	20-Hydroxyeicosatetraenoic acid Ethanolamide				3A4/2A6/2C9/2D6/2E1/1A2/4A11	[20]
Terfenadine	Hydroxylation	0.4–1.5	20–29.4	3.98	3A4/2D6/4F12	[16, 21]
Ritonavir	Hydroxylation	0.016		2.0	3A4/5/2D6	[10, 22]

源模型构建 CYP2J2 空间结构, 发现 CYP2J2 与 CYP3A4 虽然具有相似的活性空腔体积 (1 420 Å 与 1 585 Å), 但二者活性空腔的结构存在显著差异。已知 CYP 家族亚铁血红素活性基团被限制在螺旋 I 和邻近的螺旋 β -4 之间, CYP2J2 活性空腔的宽度 (从丙氨酸 277 到缬氨酸 346) 为 9.4 Å, 而 CYP3A4 活性空腔的宽度 (从丙氨酸 305 到谷氨酸 374) 为 15.1 Å。所以尽管 CYP2J2 的活性空腔体积和 3A4 的一样大, 可以容纳大的底物, 但在拓扑结构上它的活性空腔比 3A4 窄, 因此倾向于容纳底物中更易接近血红素铁活性位点的部分。Lee 等^[16]针对 CYP3A4 和 CYP2J2 对于阿苯达唑、胺碘酮、阿司咪唑、硫醚嗪、美索达嗪和达那唑等的催化选择性, 从实验角度证实 CYP2J2 更倾向于代谢底物容易进入狭窄空腔的末端活性位点。

此外, 某些氨基酸会对 CYP2J2 的催化功能造成影响。一些基因多态性, 如具有 T143A、R158C、I192N 或 N404Y 突变的 CYP2J2 会显著降低对 AA 的代谢, 使冠状动脉疾病恶化。为了揭示小分子配体 (如 AA) 与 CYP2J2 相互作用的机制, Xia 等^[24]基于 CYP2A6、CYP2E1、CYP2C8、CYP2R1 和 CYP17A1 的晶体结构, 构建了 CYP2J2 的 3D 结构模型。通过研究 AA 与 CYP2J2 的相互作用模式, 发现 Gly486 和 Leu378 受体活性位点通过氢键相互作用在识别和定位配体 (AA) 羧基中起关键作用。已知的 T143A、R158C、I192N、N404Y 和 G50T 突变中的任何一种都会直接或间接地影响其他几种突变, 进而引起 CYP2J2 代谢 AA 的功能异常。此外, Li 等^[25]基于 CYP2C9 的晶体结构同源建模了 CYP2J2 的 3D 结构。根据 CYP2 家族结构特征, 推测 CYP2J2 有 6 个底物结合区域, 且底物结合区域的某些关键氨基酸, 对底物的识别及结合有重要作用 (表 2)。

Table 2 Key amino acid residues responsible for ligand binding

Substrate recognition site (SRS)	Peptide region	Residue
SRS-1	β' Helix	Phe56, Leu83, Met116 and Arg117
SRS-2	C-Terminus of F helix	Glu222, Gln228, Leu229 and Asn231
SRS-4	Central I helix	Phe310
SRS-5	β 1-4	Ile376 and Val380
SRS-6	β 1 Hairpin	Gly486, Ile487 and Thr488

3 CYP2J2 的探针底物研究进展

一方面, CYP2J2 广泛分布于人体, 代谢内源性化合物调节心血管系统和体液平衡, 其活性密切联系

于多种疾病的发生发展。另一方面, 虽然尚未完全明确 CYP2J2 在药物代谢中所扮演的角色, 但它广泛的底物谱和对依巴斯汀等药物的主导代谢作用均表明其可能在药物代谢和药物之间相互作用中起重要作用。既然 CYP2J2 的功能与多种疾病、药物代谢都表现出一定的关联性, 因此对 CYP2J2 的活性评价工作就不容小觑。而为了描述 CYP2J2 在疾病发生发展及药物代谢中的作用, 建立高效表征 CYP2J2 功能水平的评价方法具有重要意义。

目前, 应用最为广泛的评价蛋白功能水平的方法就是借助目标蛋白的特异性底物, 通过监测产物的生成或底物的消减实现蛋白的活性评价。在这一过程中, 特异性底物就是目标蛋白功能水平的探针。虽然相关研究已逐步揭示 CYP2J2 底物繁多、结构各异。但 CYP2J2 的探针底物研究刚刚起步, 仍缺少以此为课题的系统研究与报道。目前, 依巴斯汀、胺碘酮、阿司咪唑和阿苯达唑是较常用的在体外实验中用于表征 CYP2J2 活性的探针底物。而三者均是临床药物, 在催化特异性和检测通量等方面存在或多或少的缺陷。就参与的 CYP450 催化选择性而言: 除 CYP2J2 外, 依巴斯汀还会被 4F12 代谢, 胺碘酮和阿苯达唑会被 3A4 代谢, 而阿司咪唑会被 2D6、4F12 代谢。就代谢区域选择性而言, Lee 等^[26]研究发现胺碘酮经 CYP 代谢会生成 *N*-去乙基和 4 位羟化两种代谢产物, 4 位羟化是一个没有 CYP3A4 参与的 CYP2J2 代谢过程。阿苯达唑虽可以被 3A4 氧化, 但 4 位羟化反应 3A4 几乎不参与, 体内清除率比值为 0.36, 是目前选择性最好的评价 CYP2J2 活性的探针反应。需要注意的是, 以上两种探针底物的特定代谢产物的检测与定量需要依赖于质谱、液相等大型仪器检测分析, 存在耗时长、操作繁琐、不能进行高通量检测等问题。

近年来小分子荧光探针底物由于其特异性好、灵敏度高、操作简单、适于高通量筛选等优势, 得到了国内外学者的广泛关注。研发选择性专一、灵敏度高、抗环境干扰能力强的代谢酶荧光探针底物, 不仅可用于复杂生物样本中目标酶的活性检测、个体及种属差异研究、酶抑制剂或诱导剂的高通量筛选, 还可为深入研究代谢酶功能与人体疾病发生发展间的关系等研究提供强有力的工具分子。目前, 基于目标酶的催化特性及其偏好底物的结构特征来设计研发代谢酶特异性荧光探针底物已成为该领域的共识。例如, Dai 等^[27]依据 CYP1A 酶催化活性中心多丝氨酸这一特性, 以及该酶偏好催化多环芳烃类化合物的 *O*-去烷基反应这一特征, 以 1,8-萘酰亚胺为母体, 通过对

系列 1,8-萘酰亚胺衍生物的筛选和反复优化, 成功研制出了 CYP1A 的特异性双光子荧光探针 NCMN; Jin 等^[28]结合羧酸酯酶 2 (carboxylesterase, CE2) 易于水解酰基小、醇基大的酯类底物这一特征, 分别以萘酰亚胺和吡啶酮 (一种近红外荧光团) 为母体合成了系列酯类衍生物, 通过反复筛选获得 CE2 的双光子荧光探针底物 NCEN 和近红外探针 DDAB; Lü 等^[29]基于葡萄糖醛酸转移酶 1A1 (UDP-glucuronosyl-transferase 1A1, UGT1A1) 底物结合区多赖氨酸等碱性氨基酸这一特性, 以及该酶偏好催化多环芳烃类化合物的 *O*-葡萄糖醛酸化反应这一特征, 以 4-羟基-1,8-萘酰亚胺为荧光团, 通过反复优化获得了 UGT1A1 的高特异性荧光探针底物。上述代谢酶的荧光探针底物已被成功用于复杂生物样本中目标酶的功能评价、以及代谢酶抑制剂或诱导剂的高通量筛选与评价等研究, 为生物医药相关领域提供了强有力的工具分子。因此, 未来可考虑结合 CYP2J2 的催化特性及其偏好底物的结构特征来设计研发 CYP2J2 的特异性探针底物, 并将其用于 CYP2J2 抑制剂的高通量筛选及 CYP2J2 功能异常与疾病发生发展间的关系等研究。

4 外源物对 CYP2J2 表达和功能的调控作用

CYP2J2 与多种疾病的发生发展存在密切的联系。一方面, 外源物质可能对 CYP2J2 的蛋白表达和催化功能进行调节, 破坏 CYP2J2 在机体中的功能平衡, 诱发疾病; 反之, 外源物质可能对 CYP2J2 的蛋白表达和催化功能进行调节, 恢复 CYP2J2 在机体中的功能平衡, 干预疾病的发生发展。因此, 明确外源物对 CYP2J2 的表达与功能调控对于增进 CYP2J2 在疾病发生发展中的认识、以 CYP2J2 为靶点的新药研发等方面均具有重要意义。

4.1 外源物对 CYP2J2 的诱导作用

目前, 对 CYP2J2 诱导剂的相关研究报导较少。研究发现 CYP 非特异性诱导剂如苯巴比妥、安妥明等均不能诱导 CYP2J2 表达。Lee 等^[30]用抗氧化剂叔丁基羟基茴香醚 (butyl hydroxy anisole, BHA) 或特丁基对苯二酚 (tertiary butylhydroquinone, TBHQ) 治疗肝癌细胞 24 h 后, 发现 CYP2J2 基因和蛋白的表达量能够增至原来的 2 倍。但是, 还未有针对 CYP2J2 诱导的更为系统的研究与报道。

4.2 外源物对 CYP2J2 的抑制作用

自 2007 年 Lafite 等^[31]发现一种特非那定的衍生物对 CYP2J2 有极好的抑制作用以来, 多种化合物被研究证实会对 CYP2J2 产生抑制作用。Lee 等^[16]发现

138 种在售药物中就有 42 种对 CYP2J2 显现出明显的抑制作用。目前, 已被熟知的 CYP2J2 抑制剂有达那唑^[32]、日本前胡素^[30]、羟基依巴斯汀^[33]、替米沙坦^[34, 35]、革菌酸^[36]和丹参酮 IIA^[37]等, 见表 3^[30, 32–38]。替米沙坦和氟桂利嗪是首次发现的 CYP2J2 非时间依赖性抑制药物, 并且它们的选择性比其他主要 CYP450 成员的 10 倍。值得注意的是, 这些 CYP2J2 的抑制剂具有较强的底物依赖性。如替米沙坦虽对 CYP2J2 介导的阿司咪唑代谢具有显著的抑制作用, 但对 CYP2J2 介导的依巴斯汀和特非那定的代谢并没有抑制作用; 特非那酮可强力抑制 CYP2J2 对阿苯达唑、阿司咪唑和特非那定的代谢, 然而对依巴斯汀羟化的抑制作用很弱。由于 CYP2J2 的活性空腔与 CYP3A4 相似, 在近来研究发现已知的 CYP2J2 抑制剂特非那酮、决奈达隆和胺碘酮同时也可作为 CYP3A4 的抑制剂。因此, 外源物与 CYP2J2 的相互作用研究仍需要进一步探索。

5 CYP2J2 与疾病的关系

根据 CYP2J2 在人体的分布情况及其自身和代谢产物的生理功能, CYP2J2 与心血管疾病、癌症和阿尔茨海默症等疾病均息息相关。结合 CYP2J2 与其配体 (底物和抑制剂) 的结合特点, 一方面可以开发 CYP2J2 特异性探针底物检测体内 CYP2J2 的活性预测相关疾病, 还可以在体外合成 CYP2J2 抑制剂, 开发抗癌新药。

5.1 心血管疾病

CYP2J2 代谢 AA 产生 EETs, EETs 在血管平滑肌细胞中能引起血管的扩张及抑制细胞迁移; 在内皮细胞中具有抗炎、促新生血管形成、促纤溶蛋白表达及调节钙离子信号通道的作用^[25]。具体机制: ① EETs 通过抑制核转录因子 NF- κ B 的激活, 抑制环氧合酶-2 和细胞黏附分子 (cell adhesion molecule, CAM) 的表达, 抑制单核细胞对血管壁黏附, 发挥抗炎作用^[39]; ② CYP2J2 通过激活蛋白激酶 A 打开钙激活钾通道 (血管平滑肌细胞膜电位的主要离子通道), 使包括冠脉在内的多种平滑肌细胞膜超级化, 从而抑制电压依赖性钙通道的激活及抑制钙离子内流而产生血管舒张作用; ③ 在血管床中, 一方面 EETs 具有促进内皮细胞生长和血管生成的作用, 另一方面 EETs 抑制人血管平滑肌细胞增殖。通过促进缺血组织血管生成和抑制细胞增殖发挥双重保护作用; ④ EETs 还有其他多种重要的生物活性, 如影响肽类激素分泌、作用于心肌的 Na⁺、Ca²⁺转运和加强心肌细胞的收缩功能^[40, 41]。

Table 3 Inhibitors ($IC_{50} < 25 \mu\text{mol}$) of human CYP2J2

Inhibitor	Substrate	IC_{50} / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	K_i / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	Type of inhibition	Inhibition of other CYPs ($IC_{50} < 10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Reference
Decursin	Astemizole	10.18	8.34	Uncompetitive inhibition		[30]
	Terfenadine	1.8	15.8	Uncompetitive inhibition		
4-Hydroxytoremifene	Astemizole	8.4	11.1	Uncompetitive inhibition		[32]
Danazol	Terfenadine	0.07–0.34		Competitive inhibition	CYP2C8, 2D6, 2C9	[32]
	Astemizole	0.07	0.02–0.06	Uncompetitive inhibition		
	Albendazole	0.05				
	Ebsatine	0.18				
Terfenadone	Albendazole/Astemizole/ Terfenadine/Ebsatine	<0.21			CYP3A4, 2B6	[32]
Hydroxyebastine	Astemizole	10.9	8.34			[33]
	Terfenadine	2.03	15.8			
Flunarizine	Astemizole	0.94	0.13	Competitive inhibition	CYP2D6	[34]
Telmisartan	Astemizole	0.42–0.85	0.19	Mixed inhibition	CYP2C9	[34, 35]
Thelephoric acid	Astemizole	3.23				[36]
	Ebsatine	5.32				
	Terfenadine	3.27				
Tanshinone	Astemizole	2.5		Uncompetitive inhibition		[37]
N-Desbutyldronedarone	Astemizole		0.55	Mixed inhibition	CYP3A4, 3A5	[38]
N-Desethylamiodarone	Astemizole		7.4	Uncompetitive inhibition		[38]
Dronedarone	Astemizole		0.034	Mixed inhibition	CYP3A4, 2D6	[38]
Amiodarone	Astemizole		4.8	Uncompetitive inhibition	CYP3A4, 3A5	[38]

首先, CYP2J2 代谢 AA 生成的 EETs 在高血压、动脉粥样硬化、心肌缺血再灌注和心脏功能不全等心血管疾病的病理生理过程中发挥重要作用。其次, 2J2 的基因多态性研究发现, 其 G50T 的突变可引起其上游启动子与转录因子的结合障碍, 由此降低自身表达, 导致血浆中 EETs 含量降低, 使 EETs 的有益作用减弱甚至消失, 由此增加冠状动脉疾病和高血压的风险^[42]。即 CYP2J2 可以通过调控 EETs 的含量, 参与到多种心血管疾病中。

5.2 癌症

在食管癌、肺鳞状细胞癌、肺腺癌、肺小细胞癌、乳腺癌、胃癌、肝癌和结肠癌等癌症^[43]中, CYP2J2 mRNA 水平和蛋白表达水平均会上调^[44]。由于这一表达特性, CYP2J2 成为潜在的抗癌新靶点。

5.2.1 抗癌新靶点 Let-7 是最先在线虫中被发现的一类 miRNA, Let-7b 是 Let-7 家族的成员之一, 可抑制黑色素瘤细胞的生长, 是一种肿瘤抑制分子。Chen 等^[39]通过生物信息学分析发现当降低 Let-7b 会导致癌症组织中 CYP2J2 蛋白的表达量升高, 说明 miRNA Let-7b 会降低 CYP2J2 的表达, 抑制肿瘤生长。这证明了 CYP2J2 与癌症的潜在联系。日本前胡素^[45]和丹参酮 IIA^[44]可以通过抑制 CYP2J2 的活性来促进肝癌肿瘤细胞的凋亡达到抗癌的效果。其原因是 CYP2J2 和 EET₅ 一方面通过上调抗凋亡蛋白 Bcl-2、Bcl-xL

的表达和抑制凋亡蛋白 Bax 的表达, 防止肿瘤细胞凋亡; 另一方面通过上调肿瘤转移相关基因的表达, 下调肿瘤转移抑制基因的表达, 增强肿瘤细胞的游走能力, 促进肿瘤细胞恶性增殖^[31]。因此, 以 CYP2J2 作为抗癌新靶点下调肿瘤组织中 CYP2J2 的表达或抑制肿瘤组织中 CYP2J2 的活性均可实现抗癌效果。

5.2.2 降低抗癌药物的疗效 CYP2J2 可以代谢多种外源化合物, 其中就包括伊马替尼、达沙替尼、舒尼替尼和索拉非尼等抗肿瘤药物。使肿瘤对这些药物产生耐药性, 在临床使用中达不到理想效果^[3]。基于 CYP2J2 对抗肿瘤药物的代谢清除能力, Narjoz 等^[40]认为可利用现在批准药物中已知的 CYP2J2 抑制剂替米沙坦、氟桂利嗪等对 CYP2J2 的抑制作用来解决抗肿瘤药物的耐药、疗效不理想问题, 为降低肿瘤耐药性的研究工作提供了新的思路。

5.3 与阿尔茨海默症的潜在联系

近年来研究表明, 阿尔茨海默症的发生发展通常伴随着慢性炎症反应, 而炎症才是神经元死亡的根本原因。由于 EETs 等具有抗炎作用, 简言之, CYP2J2 可通过影响 EETs 的生成, 对神经元的炎症状态产生重要的调节作用, 也因此参与到阿尔茨海默症的发生发展过程中^[46]。

6 结语与展望

通过对 CYP2J2 的持续研究, 目前已对其在人体

的分布与功能有了更进一步的了解。本文通过对相关文献的汇总与分析,明确了 CYP2J2 心脑血管疾病和癌症等多种疾病中的作用;也从配体层面(底物和抑制剂)和 CYP2J2 大分子层面分别展开了综述,加深了对 CYP2J2 催化及结合特征的认识。随着 CYP2J2 在多种疾病治疗中的应用价值和其在药物代谢中的研究价值受到越来越广泛的关注,针对其抑制剂和探针底物的研究和研发则可能成为新的研究课题。

References

- [1] Arnold C, Markovic M, Blossley K, et al. Arachidonic acid-metabolizing cytochrome P450 enzymes are targets of ω -3 fatty acids [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285: 32720–32733.
- [2] Delozier TC, Kissling GE, Coulter SJ, et al. Detection of human CYP2C8, CYP2C9, and CYP2J2 in cardiovascular tissues [J]. *Drug Metab Dispos*, 2007, 35: 682–688.
- [3] Dutheil F, Dauchy S, Diry M, et al. Xenobiotic-metabolizing enzymes and transporters in the normal human brain: regional and cellular mapping as a basis for putative roles in cerebral function [J]. *Drug Metab Dispos*, 2009, 37: 1528–1538.
- [4] Enayetallah AE, French RA, Thibodeau MS, et al. Distribution of soluble epoxide hydrolase and of cytochrome P450 2C8, 2C9, and 2J2 in human tissues [J]. *J Histochem Cytochem*, 2004, 52: 447–454.
- [5] Zeldin DC, Foley J, Ma J, et al. CYP2J subfamily P450s in the lung: expression, localization, and potential functional significance [J]. *Mol Pharmacol*, 1996, 50: 1111–1117.
- [6] Xie F, Ding XX, Zhang QY. An update on the role of intestinal cytochrome P450 enzymes in drug disposition [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2016, 6: 374–383.
- [7] Zeldin DC, Foley J, Boyle JE, et al. Predominant expression of an arachidonate epoxygenase in islets of Langerhans cells in human and rat pancreas [J]. *Endocrinology*, 1997, 138: 1338–1346.
- [8] Node K, Huo Y, Ruan X, et al. Anti-inflammatory properties of cytochrome P450 epoxygenase-derived eicosanoids [J]. *Science*, 1999, 285: 1276–1279.
- [9] Bertrand-Thiebault C, Ferrari L, Bouterin-Falson O, et al. Cytochromes P450 are differently expressed in normal and varicose human saphenous veins: linkage with varicosis [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2004, 31: 295–301.
- [10] Hsu A, Granneman GR, Witt G, et al. Multiple-dose pharmacokinetics of ritonavir in human immunodeficiency virus-infected subjects [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1997, 41: 898–905.
- [11] Alsaad AM, Zordoky BN, El-Sherbeni AA, et al. Chronic doxorubicin cardiotoxicity modulates cardiac cytochrome P450-mediated arachidonic acid metabolism in rats [J]. *Drug Metab Dispos*, 2012, 40: 2126–2135.
- [12] Wu Z, Lee D, Joo J, et al. CYP2J2 and CYP2C19 are the major enzymes responsible for metabolism of albendazole and fenbendazole in human liver microsomes and recombinant P450 assay systems [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57: 5448–5456.
- [13] Yamasaki T, Izumi S, Ide H, et al. Identification of a novel rat microsomal vitamin D₃ 25-hydroxylase [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279: 22848–22856.
- [14] Zhu J, DeLuca HF. Vitamin D 25-hydroxylase — four decades of searching, are we there yet? [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2012, 523: 30–36.
- [15] Hashizume T, Imaoka S, Mise M, et al. Involvement of CYP2J2 and CYP4F12 in the metabolism of ebastine in human intestinal microsomes [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2002, 300: 298–304.
- [16] Lee CA, Neul D, Clouser-Roche A, et al. Identification of novel substrates for human cytochrome P450 2J2 [J]. *Drug Metab Dispos*, 2010, 38: 347–356.
- [17] Ghosal A, Lu X, Penner N, et al. Identification of human liver cytochrome P450 enzymes involved in the metabolism of SCH 530348 (Vorapaxar), a potent oral thrombin protease-activated receptor 1 antagonist [J]. *Drug Metab Dispos*, 2011, 39: 30–38.
- [18] Liu KH, Kim MG, Lee DJ, et al. Characterization of ebastine, hydroxyebastine, and carebastine metabolism by human liver microsomes and expressed cytochrome P450 enzymes: major roles for CYP2J2 and CYP3A [J]. *Drug Metab Dispos*, 2006, 34: 1793–1797.
- [19] Yoo HH, Kim NS, Lee J, et al. Characterization of human cytochrome P450 enzymes involved in the biotransformation of eperisone [J]. *Xenobiotica*, 2009, 39: 1–10.
- [20] Walker VJ, Griffin AP, Hammar DK, et al. Metabolism of anandamide by human cytochrome P450 2J2 in the reconstituted system and human intestinal microsomes [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2016, 357: 537–544.
- [21] Lee B, Wu Z, Liu KH. Response to comment: "a note on CYP2J2-mediated terfenadine hydroxylation in human liver microsomes" [J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, 71: 286–287.
- [22] Kaspera R, Kirby BJ, Sahele T, et al. Investigating the contribution of CYP2J2 to ritonavir metabolism *in vitro* and *in vivo* [J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 91: 109–118.
- [23] Uehara S, Uno Y, Inoue T, et al. Marmoset cytochrome P450 2J2 mainly expressed in small intestines and livers effectively

- metabolizes human P450 2J2 probe substrates, astemizole and terfenadine [J]. *Xenobiotica*, 2016, 46: 977–985.
- [24] Xia XL, Fa BT, Cong S, et al. Research/review: insights into the mutation-induced dysfunction of arachidonic acid metabolism from modeling of human CYP2J2 [J]. *Curr Drug Metab*, 2014, 15: 502–513.
- [25] Li W, Tang Y, Liu H, et al. Probing ligand binding modes of human cytochrome P450 2J2 by homology modeling, molecular dynamics simulation, and flexible molecular docking [J]. *Proteins*, 2008, 71: 938–949.
- [26] Lee CA, Jones JR, Katayama J, et al. Identifying a selective substrate and inhibitor pair for the evaluation of CYP2J2 activity [J]. *Drug Metab Dispos*, 2012, 40: 943–951.
- [27] Dai ZR, Ge GB, Feng L, et al. A highly selective ratiometric two-photon fluorescent probe for human cytochrome P450 1A [J]. *J Am Chem Soc*, 2015, 137: 14488–14495.
- [28] Jin Q, Feng L, Wang DD, et al. A two-photon ratiometric fluorescent probe for imaging carboxylesterase 2 in living cells and tissues [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7: 28474–28481.
- [29] Lü X, Ge GB, Feng L, et al. An optimized ratiometric fluorescent probe for sensing human UDP-glucuronosyltransferase 1A1 and its biological applications [J]. *Biosens Bioelectron*, 2015, 72: 261–267.
- [30] Lee B, Wu Z, Sung SH, et al. Potential of decursin to inhibit the human cytochrome P450 2J2 isoform [J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, 70: 94–99.
- [31] Lafite P, Dijols S, Zeldin DC, et al. Selective, competitive and mechanism-based inhibitors of human cytochrome P450 2J2 [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2007, 464: 155–168.
- [32] Lee E, Wu Z, Shon JC, et al. Danazol inhibits cytochrome P450 2J2 activity in a substrate-independent manner [J]. *Drug Metab Dispos*, 2015, 43: 1250–1253.
- [33] Yoon YJ, Liu KH. Potential of hydroxyebastine and terfenadine alcohol to inhibit the human cytochrome P450 2J2 isoform [J]. *J Korean Appl Biochem Chem*, 2011, 54: 659–666.
- [34] Ren S, Zeng J, Mei Y, et al. Discovery and characterization of novel, potent, and selective cytochrome P450 2J2 inhibitors [J]. *Drug Metab Dispos*, 2013, 41: 60–71.
- [35] El-Serafi I, Fares M, Abedi-Valugerdi M, et al. Cytochrome P450 2J2, a new key enzyme in cyclophosphamide bioactivation and a potential biomarker for hematological malignancies [J]. *Pharmacogenomics J*, 2015, 15: 405–413.
- [36] Wu ZX, Lee B, Kim SY, et al. Inhibitory potential of thelephoric acid and TSAHC on CYP2J2 activities in human liver microsomes [J]. *Drug Metab Rev*, 2015, 47: 65–65.
- [37] Jeon YJ, Kim JS, Hwang GH, et al. Inhibition of cytochrome P450 2J2 by tanshinone IIA induces apoptotic cell death in hepatocellular carcinoma HepG2 cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 764: 480–488.
- [38] Karkhanis A, Lam HY, Venkatesan G, et al. Multiple modes of inhibition of human cytochrome P450 2J2 by dronedarone, amiodarone and their active metabolites [J]. *Biochem Pharmacol*, 2016, 107: 67–80.
- [39] Chen W, Yang S, Ping W, et al. CYP2J2 and EETs protect against lung ischemia/reperfusion injury *via* anti-inflammatory effects *in vivo* and *in vitro* [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 35: 2043–2054.
- [40] Narjoz C, Favre A, McMullen J, et al. Important role of CYP2J2 in protein kinase inhibitor degradation: a possible role in intratumor drug disposition and resistance [J]. *PLoS One*, 2014, 9: e95532.
- [41] Yan H, Catania C, Bazan GC. Membrane-intercalating conjugated oligoelectrolytes: impact on bioelectrochemical systems [J]. *Adv Mater*, 2015, 27: 2958–2973.
- [42] Xu M, Ju W, Hao H, et al. Cytochrome P450 2J2: distribution, function, regulation, genetic polymorphisms and clinical significance [J]. *Drug Metab Rev*, 2013, 45: 311–352.
- [43] Chen C, Wang DW. Cytochrome P450-CYP2 family-epoxygenase role in inflammation and cancer [J]. *Adv Pharmacol*, 2015, 74: 193–221.
- [44] Park SW, Heo DS, Sung MW. The shunting of arachidonic acid metabolism to 5-lipoxygenase and cytochrome P450 epoxygenase antagonizes the anti-cancer effect of cyclooxygenase-2 inhibition in head and neck cancer cells [J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2012, 35: 1–8.
- [45] Jiang JG, Ning YG, Chen C, et al. Cytochrome P450 epoxygenase promotes human cancer metastasis [J]. *Cancer Res*, 2007, 67: 6665–6674.
- [46] Yan H, Kong Y, He B, et al. CYP2J2 rs890293 polymorphism is associated with susceptibility to Alzheimer's disease in the Chinese Han population [J]. *Neurosci Lett*, 2015, 23: 56–60.