



专论与综述

## 细胞色素 P450 酶的结构、功能与应用研究进展

宋展<sup>1,2</sup> 高鑫<sup>2</sup> 吴冕<sup>2</sup> 路福平<sup>1,2,3</sup> 秦慧民<sup>\*1,2,3</sup>

1 工业发酵微生物教育部重点实验室 天津 300457

2 天津科技大学生物工程学院 天津 300457

3 工业酶国家工程实验室 天津 300457

**摘要:** 细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP)酶是广泛存在于微生物、动植物及人体中与膜结合的血红蛋白类酶,具有氧化、环氧化、羟化、去甲基化等多种生物催化活性。CYP 酶在药物、类固醇、脂溶性维生素和许多其他类型化学物质的代谢中具有重要作用,其在异源物质的解毒、药物相互作用和内分泌功能等领域的研究是热点问题。本综述对 CYP 的结构、功能、临床应用与开发前景进行了概述,并对其最新的研究现状和发展前景进行探讨。

**关键词:** 细胞色素 P450, 还原酶, 结构, 功能, 遗传多态性

## Structure, function, and application of cytochrome P450 enzymes

SONG Zhan<sup>1,2</sup> GAO Xin<sup>2</sup> WU Mian<sup>2</sup> LU Fu-Ping<sup>1,2,3</sup> QIN Hui-Min<sup>\*1,2,3</sup>

1 Key Laboratory of Industrial Fermentation Microbiology of the Ministry of Education, Tianjin 300457, China

2 College of Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China

3 National Engineering Laboratory for Industrial Enzymes, Tianjin 300457, China

**Abstract:** Cytochrome P450 (CYP), membrane-bound hemoglobin enzymes, are widely present in microorganisms, animals, plants, and human. CYPs have a variety of biocatalytic activities such as oxidation, epoxidation hydroxylation, demethylation et al. Therefore, they play a key role in detoxification of biotin, cell metabolism and maintaining homeostasis. More importantly, the catalytic activity of CYPs is a hot issue in the fields of drug interaction and endocrine function. Furthermore, they are also widely utilized in the metabolism of drugs, carcinogens, steroids, fat-soluble vitamins and many other types of chemicals. This review provides a comprehensive overview of the structure, function, clinical application, and development prospects of CYPs. Besides, we aim to discuss the latest research and development prospects of CYPs.

**Keywords:** Cytochrome P450, Reductase, Structure, Function, Genetic polymorphism

细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP)酶在 20 世纪 60 年代初被发现<sup>[1]</sup>, 是存在于动植物、微生物和人体中的完整膜保守蛋白的超家族<sup>[2]</sup>, 参与了药物合成、类固醇和致癌物代谢的许多重要反

**Foundation item:** National Natural Science Foundation of China (31771911)

**\*Corresponding author:** Tel: 86-22-60602949; E-mail: huiminqin@tust.edu.cn

**Received:** 27-03-2020; **Accepted:** 29-05-2020; **Published online:** 05-06-2020  
基金项目: 国家自然科学基金(31771911)

**\*通信作者:** Tel: 022-60602949; E-mail: huiminqin@tust.edu.cn

收稿日期: 2020-03-27; 接受日期: 2020-05-29; 网络首发日期: 2020-06-05

应<sup>[3]</sup>。生物体内的防御系统以其独特的 CYP 为核心,保护生物体免受有毒化合物的侵害<sup>[4]</sup>。人类 CYP 至少包含 57 个基因和 58 个假基因,这些基因被分成了 18 个家族和 43 个亚家族<sup>[4]</sup>,主要存在于人体的肾脏、小肠和肝脏组织中<sup>[2]</sup>。

CYP 以血红素叶啉铁为中心,能够代谢多种异源物质,与环氧化、羟基化、脱烷基化、脱氨、脱硫、脱卤化、亚砷氧化和 N-氧化物还原等多种反应相关<sup>[5]</sup>。CYP 的结构解析对于研究和预测药物代谢非常重要,人类 CYP 是药物的靶标并参与多种药物相互作用,其结构解析大大简化了药物的设计和临床研究<sup>[6]</sup>。CYP 的表达和功能受到许多因素的影响,包括 CYP 的诱导、抑制和遗传多态性等。这些因素以及药物之间的相互作用导致了药物不良反应的临床表现,CYP 的诱导或抑制是药物相互作用的主要机制<sup>[4]</sup>。

CYP 的内源性底物包括类花生酸、雌二醇、花生四烯酸、胆固醇、维生素 D 和神经递质,外源性底物包括多环芳烃和约 80% 目前使用的药物<sup>[2]</sup>。研究 CYP 的催化机制对于其在生物医药临床的应用、合成生物学工程化开发及生物传感器研发有着至关重要的作用。本综述将从 CYP 的命名与分类、结构与功能以及应用与开发三个部分概述,总结有关 CYP 最新的研究与应用进展。

## 1 CYP 的命名与分类

### 1.1 CYP 的命名

从严格意义上讲 P450 酶并不是细胞色素,因为其不会将电子转移到其他蛋白质<sup>[1]</sup>。CYP 被称为单加氧酶,其将电子转移到氧气中,分子氧进入基体后仅插入一个氧原子,另一个则传递给活性中心的水分子<sup>[7]</sup>。细胞色素 P450 酶之所以如此命名,最初是因为在大鼠肝脏微粒体中,其产生的亚铁-一氧化碳复合物在 450 nm 处具有最大吸收值<sup>[8]</sup>。

CYP 超家族包括代表 400 多个基因家族的 13 000 个基因<sup>[4]</sup>。CYP 命名法主要是基于氨基酸序列的同源性。CYP 同一家族中的氨基酸序列显示

40% 的相似性,而给定亚家族中的氨基酸序列具有 55% 以上的相似性<sup>[1]</sup>。CYP 命名委员会已为目前公认的 CYP 酶系统建立了命名法,其精确命名由 CYP (细胞色素的正式缩写)、家族(数字)、亚家族(字母)和同工型(数字)按顺序书写。因此,CYP1A1 指的是 CYP 家族 1 亚家族 A 和亚家族中的蛋白质 1<sup>[4]</sup>。

### 1.2 CYP 的分类

#### 1.2.1 基于不同观点的 CYP 分类

传统意义上 CYP 被分为两大类,一类涉及异源物质解毒,另一类涉及内源性化合物生物合成。也可按照膜结合形式和可溶性形式进行分类,同时还可根据亚细胞定位和电子转移过程对 CYP 进行分类<sup>[4]</sup>。

最近,CYP 被归类为兼职蛋白和非兼职蛋白(moonlighting and non-moonlighting proteins)<sup>[4]</sup>。兼职蛋白是一种执行多种自主功能的蛋白,这些功能通常是不相关的。参与异源物质代谢的 CYP 是非兼职蛋白,参与内源性分子生物合成的 CYP 则是兼职蛋白,兼职蛋白 CYP 在不同的组织中执行不同的功能或者包含多个催化位点<sup>[4]</sup>。CYP170A1 是第一个被发现的兼职性 CYP,具有单加氧酶和萜烯合酶的功能,可在结构中两个不同的活性位点之间切换以催化两种不相关的生化活性<sup>[9]</sup>。

#### 1.2.2 不同生物体内的 CYP 分类

迄今为止,已从不同生物体中分离出超过 50 000 种 CYP 酶<sup>[5]</sup>。CYP 基因产物是目前基因数据库中最大的蛋白质家族<sup>[10]</sup>。CYP 构成了在动物、植物、真菌和细菌中普遍存在的血红蛋白超家族,在细胞代谢中起着核心作用,并维持细胞的稳态<sup>[4]</sup>。

##### (1) 动物 CYP

哺乳动物 CYP 都是附着在内质网(微粒体)膜或线粒体内膜的基质上<sup>[11]</sup>。目前描述的哺乳动物 CYP 大多都是与微粒体 CYP 有关。昆虫基因组包含多种 CYP,如家蚕中 87 个和蜜蜂中 46 个<sup>[8]</sup>。在昆虫中,CYP 参与防御毒素和信息素的产生<sup>[8]</sup>。人类 CYP 的 57 个基因类别如表 1 所示,其中有 5 种参与了目前使用的约 90% 的小分子药物的代

表 1 57 种人类细胞色素 P450<sup>[10]</sup>  
Table 1 57 types of human cytochrome P450<sup>[10]</sup>

CYP 家族 CYP family	亚型 Isoforms	CYP 家族 CYP family	亚型 Isoforms
1	1A1, 1A2, 1B1	19	19A1
2	2A6, 2A7, 2A13, 2B6, 2C8, 2C9, 2C18, 2C19, 2D6, 2E1, 2F1, 2J2, 2R1, 2S1, 2U1, 2W1	20	20A1
3	3A4, 3A5, 3A7, 3A43	21	21A1
4	4A11, 4A22, 4B1, 4F2, 4F3, 4F8, 4F11, 4F12, 4F22, 4V2, 4X1, 4Z1	24	24A1
5	5A1	26	26A1, 26B1, 26C1
7	7A1, 7B1	27	27A1, 27B1, 27C1
8	8A1, 8B1	39	39A1
11	11A1, 11B1, 11B2	46	46A1
17	17A1	51	51A1

谢, 具有不同的选择性和重叠性<sup>[1]</sup>。

### (2) 微生物 CYP

微生物 CYP 可作为某些疾病的药物靶标, 具有极其重要的代谢作用<sup>[8]</sup>。真菌 CYP 参与多种生物过程, 包括初级和次级代谢产物的产生和反硝化作用<sup>[12]</sup>。真菌拥有比动植物和细菌更多的 CYP 家族, 目前共有 184 种功能已鉴定链霉菌来源的 CYP 被发表<sup>[7]</sup>。CYP 基因在真菌中的数量取决于其生活方式, 酵母真菌的 CYP 相对较少, 丝状真菌则具有更多。

### (3) 植物 CYP

植物基因组具有比动物更多的 CYP 编码基因, 如水稻中有 334 个、拟南芥有 249 个、玉米中的 318 个、小麦有 1 476 个等<sup>[8]</sup>。植物 CYP 在复杂的代谢途径中主要参与保护性毒素、驱避剂分子和各种信号分子的生物合成, CYP 调节的植物中化合物和杀虫剂的解毒已有报道<sup>[8]</sup>。

## 2 CYP 的结构与功能

CYP 的结构解析对于研究其功能以及理解和预测药物代谢非常重要。人类 CYP 作为药物的靶标, 其结构解析大大简化了药物的设计<sup>[1]</sup>。了解 CYP 的结构及功能有助于 CYP 在各个领域的应用与开发<sup>[6]</sup>。

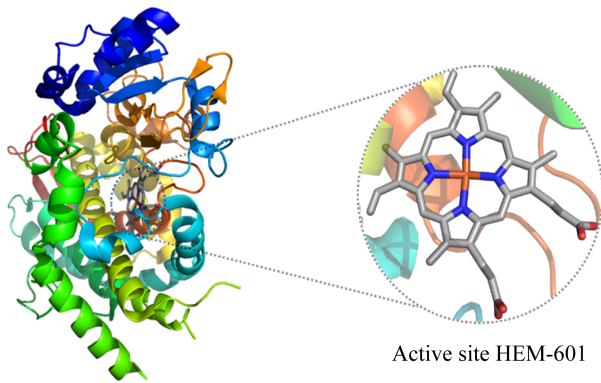
### 2.1 CYP 的结构

实验技术的进步使研究者对 CYP 结构的认识发生了根本性的变化, 其中 X 射线晶体学起着重

要作用。利用该技术获得的第一个 CYP 晶体结构是细菌 P450 cam<sup>[8]</sup>。不同 CYP 同工酶的 X 射线结构已被解析并保存在蛋白质数据库(Protein Date Bank)中。同时通过 NMR、表位标记、质谱、色氨酸荧光扫描、线性二色性和交联等实验技术可获得更多的结构信息。分子动力学模拟和同源性建模等计算机方法揭示了有关 CYP 的结构、动力学以及 CYP 与底物相互作用的有价值信息<sup>[13]</sup>。

CYP 分子量约为 56 kD, 其结构相对保守<sup>[1]</sup>, 类似于倒三角形的形状<sup>[2]</sup>。CYP 由 12 个  $\alpha$  螺旋和反平行的  $\beta$ -折叠组成<sup>[14]</sup>, 12 个  $\alpha$  螺旋从 N 端开始按字母 A 到 L 的顺序命名<sup>[13]</sup>。CYP 的结构包括胞质结构域(cytosolic domain)、跨膜结构域(transmembrane domain)和辅基血红素<sup>[14]</sup>。CYP 的胞质结构域的残基也与脂质双层相互作用; 一部分催化结构域浸入膜中, 并通过 N 末端螺旋锚定在膜上<sup>[13]</sup>; 血红素堆叠在 I 和 L 螺旋之间<sup>[13]</sup>, 位于相对较大的口袋中, 通过与近端半胱氨酸残基结合的硫醇铁(Fe-thiolate)的配位结合连接到蛋白质骨架上, 周围有疏水性氨基酸残基以容纳疏水性底物<sup>[14]</sup>。CYP 的拓扑结构(Protein Date Bank ID: 6DA8)如图 1 所示, 放大部分着重体现了 CYP 的活性位点血红素的结构。

CYP 的活性部位含有 400–500 个氨基酸残基和单个血红素基团, 具有典型的结构特征<sup>[14]</sup>。活性位点被深埋在内部, 并通过复杂的出入通道网络

图1 CYP的拓扑结构<sup>[15]</sup>Figure 1 Membrane topology of CYP<sup>[15]</sup>

与外部相连<sup>[13]</sup>。不同的CYP呈现出不同的通道网络<sup>[16]</sup>。在确定了CYP结构中的进入通道和出口通道之后,可以通过计算机辅助方法来精确化这些通道的物理化学性质,表明膜的组成或结合的配体类型如何影响通道的网络<sup>[16]</sup>。CYP表面有一个基本的“补丁”,这些基本残基通常被认为与氧化还原伴侣细胞色素 b5 (cytochrome b5, cytb5)结合<sup>[1]</sup>。

最新蛋白质数据库显示至少 850 个CYP的X射线晶体结构得到解析。目前已经报道了 57 个人类CYP中的 21 个CYP晶体结构<sup>[8]</sup>,其中已测得结构并可参与药物代谢的人类CYP如表2所示<sup>[1]</sup>。

## 2.2 CYP的功能

CYP的功能主要基于3个重要的特征:(1)CYP的活性位点是埋在蛋白质分子内的空腔,因此与溶剂明显分开;(2)血红素的第5个配位键将带正电的铁离子与带负电的硫醇铁的硫原子连接起来,

铁-半胱氨酸键是铁离子在CYP催化过程中可能进入的不同氧化还原状态的核心,从而导致CYP复杂的催化循环;(3)需要两个高度同步的电子转移步骤使CYP实现催化循环<sup>[16]</sup>。

### 2.2.1 CYP的催化循环

CYP催化不同的氧化还原,其内源性底物包括类花生酸、雌二醇、花生四烯酸、胆固醇、维生素D和神经递质,外源性底物包括多环芳烃和80%目前所使用药物<sup>[2]</sup>。

CYP的催化机制以循环方式发生,其催化反应根据相关的氧化还原系统可以分为I型和II型<sup>[17]</sup>。图2是CYP的I型和II型电子转移链。I型CYP主要是哺乳动物的线粒体和细菌CYP,利用黄素蛋白通过中间的Fe<sub>2</sub>S<sub>2</sub>将电子转移到CYP;II型CYP是哺乳动物异源物质代谢酶,通过含有FAD和FMN的还原酶接收电子<sup>[17]</sup>。

CYP是一种含金属的氧化酶,能够利用分子氧对底物进行立体和区域选择性氧化,包含的主要蛋白质为含铁的血红蛋白和黄素蛋白<sup>[17]</sup>,它们负责将电子从NADPH转移到CYP底物复合物中。底物与CYP的结合位点紧邻血红素-铁复合物。铁最初为Fe<sup>3+</sup>,通过细胞色素P450还原酶(cytochrome P450 reductase, CPR)从NADPH转移一个电子,将血红素铁从三价态还原为亚铁态,同时一个氧原子被插入底物中,另一个氧原子形成H<sub>2</sub>O<sup>[18]</sup>。典型的CYP催化反应式为(RH是包含可羟基化位点的底物)<sup>[1]</sup>:  

$$\text{NADPH} + \text{H}^+ + \text{RH} + \text{O}_2 \rightarrow \text{NADP}^+ + \text{H}_2\text{O} + \text{ROH}.$$

表2 基于不同底物的人类CYP的分类<sup>[1]</sup>Table 2 Classification of human CYP based on different substrates<sup>[1]</sup>

Class of substrates	CYP enzymes
Sterols	1B1*, 7A1*, 7B1, 8B1, 11A1*, 11B1, 11B2*, 17A1*, 19A1*, 21A2*, 27A1, 39A1, 46A1*, 51A1*
Xenobiotics	1A1*, 1A2*, 2A6*, 2A13*, 2B6*, 2C8*, 2C9*, 2C18, 2C19*, 2D6*, 2E1*, 2F1, 3A4*, 3A5, 3A7, 3A43
Fatty acids	2J2, 2U1, 4A11, 4B1**, 4F11, 4F12, 4V2
Eicosanoids	4F2, 4F3, 4F8, 5A1, 8A1*
Vitamins	2R1*, 24A1**, 26A1, 26B1, 26C1, 27B1, 27C1
Unknown	2A7, 2S1, 2W1, 4A22, 4F22, 4X1, 4Z1, 20A1

注: \*: 报告了X射线晶体结构(用于人类酶); \*\*: 报告了大鼠或兔子X射线晶体结构。

Note: \*: X-ray crystal structure (for human enzymes) is reported; \*\*: Rat or rabbit X-ray crystal structure is reported.

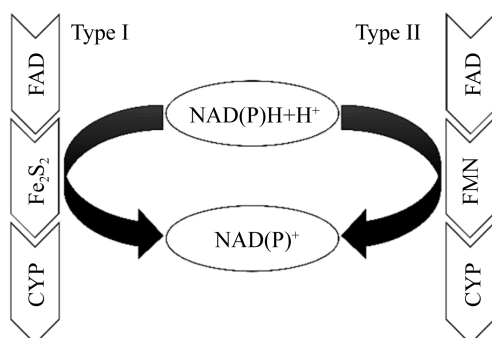


图 2 CYP 的 I 型和 II 型电子转移链

Figure 2 Type I and type II electron transfer chains of CYP

注: CYP 的催化可以分为 I 型和 II 型<sup>[17]</sup>。图中所示为 I 型和 II 型电子转移链。I 型利用黄素蛋白通过中间的 Fe<sub>2</sub>S<sub>2</sub> 将电子转移, II 型通过含有 FAD 和 FMN 的还原酶接收电子<sup>[17]</sup>。

Note: The catalytic mechanism of CYP can be classified as type I and type II<sup>[17]</sup>. Figure 2 shows type I and type II electron transfer chains. Type I uses flavin protein to transfer electrons through Fe<sub>2</sub>S<sub>2</sub> in the middle. Type II receives electrons through a reductase containing FAD and FMN<sup>[17]</sup>.

体内大多数 CYP 的单加氧酶功能都需要氧化还原伴侣系统<sup>[19]</sup>。其中断开氧分子之间化学键所需的能量, 主要是通过氧化还原伴侣 CPR 将电子从 NADPH 传递到 FAD 和 FMN 来提供<sup>[4]</sup>。氧化还原伴侣 cytb5 能够比 CPR 更快地将第 2 个电子传递给 CYP<sup>[1]</sup>。氢过氧化物、过酸、过硼酸盐、过碳酸盐、高碘酸盐、亚氯酸盐和 N-氧化物也可作为 CYP 的氧原子供体<sup>[4]</sup>。

### 2.2.2 CYP 循环的中间体

CYP 催化循环是通过铁-过氧化物、铁-氢过氧化物、化合物 I 和 FeIII 等一系列催化中间体来氧化有机化合物<sup>[17]</sup>, 这些中间体可驱动多种天然化学反应<sup>[20]</sup>。化合物 I 在催化反应中活性最高, 尤其是涉及羟化反应时; 铁-过氧化物和铁-氢过氧化物可以催化环氧化和硫化, 铁-过氧化物还是 C-C 裂解反应中的活性氧化剂<sup>[20]</sup>。目前, CYP 中间体的研究已用于开发实验室和商业用途的高效无机催化剂。在生物技术领域, 被修饰的 CYP 还可用来催化立体选择性氧化反应<sup>[17]</sup>。

### 2.2.3 CYP 的功能及其影响因素

CYP 有两个主要的生物学功能: 一是异源物质代谢, 脂溶性药物在肾脏必须进行生物转化才允许排泄<sup>[17]</sup>, CYP 可以降低化合物的疏水性, 形成中间代谢产物以便于排泄。二是生物活性分子的生物合成, 包括类固醇、维生素和脂肪酸的代谢等<sup>[21]</sup>。

异源物质转化分为两个阶段, 其中 I 期代谢反应形成中间代谢产物, 然后被 II 期代谢反应中的酶水解<sup>[17]</sup>。CYP 在药物生物转化的第一阶段起主导作用<sup>[13]</sup>, 它们参与了亲脂性内源性和外源性化合物的代谢, 从而将其转化为亲水性或极性化合物以便于从体内排出<sup>[2]</sup>。人类 CYP1-4 家族的 35 种酶主要参与异源物质的代谢, CYP5-11 家族的 22 种酶主要催化内源性化合物的生物转化和代谢<sup>[22]</sup>。CYP 的表达和功能受到生理因素、激素、环境、遗传多态性和病理状态的影响, 这些因素以及药物相互作用导致了药物不良反应。CYP 的诱导和抑制是药物相互作用的主要机制<sup>[4]</sup>。

#### (1) CYP 的诱导

CYP 的诱导通过核受体或类固醇受体超家族的 3 个“孤儿受体”(orphan receptors)进行。芳烃受体、孕激素核受体和雄激素是配体激活的转录因子, 可调节 CYP 的表达。

芳烃受体可激活人类 CYP1A1、CYP1A2 和 CYP1B1; 孕激素核受体调节 CYP2B 和 CYP2C 家族的诱导, 是 CYP3A 的关键调节剂; 雄激素受体通过苯巴比妥和巴比妥酸盐调节 CYP2B 的诱导, 还可调节 CYP3A4、CYP2C8 和 CYP2C9 的表达<sup>[4]</sup>。其他一些转录因子如孕烷 X 受体<sup>[23]</sup>、肝 X 受体、肝细胞核因子和糖皮质激素受体等也调节 CYP 的诱导<sup>[24]</sup>。

#### (2) CYP 的抑制

CYP 的抑制是基于代谢的药物相互作用的主要机制, 通常涉及与其他药物竞争相同的酶结合位点。CYP 抑制会损害药物的生物转化或清除, 从而影响治疗效果<sup>[4]</sup>。

CYP 的抑制分为可逆抑制和不可逆抑制。可逆抑制包括竞争性抑制和非竞争性抑制。当两种药物竞争同一种 CYP 时, 不管它们是否是该酶的底物都会发生竞争性可逆抑制。在非竞争性可逆抑制中, 药物与活性位点以外的位点结合。药物可通过 CYP 转化为可与活性位点部分相互作用的物质, 从而导致酶失活。当与其他药物在体内共同给药时, 识别有关新药候选物是否会抑制有关 CYP 调节的代谢, 将使药物相互作用的几率降到最低<sup>[4]</sup>。

### 3 CYP 的遗传多态性

CYP 的遗传多态性是个体之间药物代谢差异的主要原因<sup>[2]</sup>, 等位基因变异决定了相应酶的功效差异<sup>[3]</sup>, 药物代谢能力差异大可能会加速临床后果并影响药物治疗<sup>[3]</sup>。CYP2 家族中 CYP2C9、CYP2C19 和 CYP2D6 的遗传多态性最高<sup>[3]</sup>, 负责 40% 的药物代谢<sup>[4]</sup>。CYP 多态性会使患者对药物的反应发生变化, 对药物代谢能力和药物毒性有重要影响<sup>[25]</sup>, 还与癌症、II 型糖尿病和动脉粥样硬化等疾病的易感性有关<sup>[2]</sup>。

在 57 种人类 CYP 中, CYP2C 家族占人类肝脏 CYP 总含量的 18%–30%, 负责将近 1/5 常用药物的代谢<sup>[25]</sup>。在 CYP 等位基因网站上已经发表了超过 350 种功能多态性 CYP, 其中, CYP2D6 (含 63 个等位基因)、CYP2B6 (含 28 个等位基因)、CYP1B1 (含 26 个等位基因) 和 CYP2A6 (含 22 个等位基因) 的变异等位基因数量排名前四<sup>[4]</sup>。为了描述等位基因的功能和表型并使术语标准化, 临床药理遗传学实施联盟和荷兰药物遗传学工作组均提供了基于“基因-药物对”的基因型给药指南<sup>[26]</sup>。

CYP 多态性的研究对于鉴定与 CYP 相关疾病的基因型变化和开发个性化药物疗法至关重要。变异等位基因的表型从无功能到功能增强, 因此可以从基因型推断表型<sup>[26]</sup>。临床实践中, CYP 的基因分型和表型测试越来越多地用于识别有可能药物无效或毒性风险的患者。基因分型是基于实时 PCR 的多重分析和微阵列芯片, 而表型测试则通过多种

CYP 代谢模型或探针药物的给药进行药代动力学分析和评估代谢率<sup>[4]</sup>。

## 4 CYP 的应用与开发

随着对 CYP 的不断深入了解, CYP 对疾病治疗的贡献得到了越来越多的认识<sup>[19]</sup>。药物代谢异常可能导致危及生命的并发症<sup>[27]</sup>, 有关人类 CYP 参与药物代谢的研究在新药物候选物的底物、抑制剂和诱导剂的快速表征、快速体外预测人体药代动力学和药物相互作用等方面起到了重要作用<sup>[19]</sup>。CYP 对于合成生物学应用具有巨大的潜力, CYP 的工程化开发<sup>[1,28]</sup>、生物传感器的研发<sup>[29]</sup>以及通过挖掘新型 CYP 的性质和不断开发新酶<sup>[29]</sup>, 对 CYP 的进一步应用和发展前景提供了方向<sup>[19]</sup>。

### 4.1 药物代谢和临床应用的应用与实例

CYP 的外源性底物包括多环芳烃和约 80% 目前使用的药物<sup>[2]</sup>。CYP3A4、CYP2D6、CYP2C9、CYP2C19 和 CYP1A2 在药物代谢中代谢了 90% 的药物<sup>[28]</sup>, 其中 CYP3A4 参与药物代谢的百分比最高<sup>[30]</sup>。对新药潜在副作用的研究和药物相互作用的预测是临床研究重要的目标之一, 使用 CYP 同工酶和其他用于评估 CYP 活性的试验来预估新药的影响, 可以为临床应用提供新的指导<sup>[28]</sup>。近几年, 研究者开发了不同的计算机方法来预测不同 CYP 同工酶的区域选择性产物的形成<sup>[31]</sup>。CYP 在临床治疗中还可作为治疗靶标。目前, CYP 酶促途径、CYP 衍生的花生四烯酸代谢物<sup>[10]</sup>和各自的受体已被成功靶向, 并且开发了用于疼痛、炎症、肺和心血管疾病的疗法<sup>[32]</sup>。同时, 酪氨酸激酶抑制剂是一类快速发展的分子靶向疗法<sup>[33]</sup>, 选择靶向 CYP3A5 可能是克服癌症药物耐药性的有利策略<sup>[34]</sup>。CYP2W1 在结直肠癌中能够特异性表达并具有独特的催化活性, 被认为是结直肠癌治疗中可能的靶标<sup>[35]</sup>。

CYP 的诱导和抑制是药物相互作用的主要机制<sup>[4]</sup>, 其遗传多态性会造成药物不良反应的个体差异<sup>[36]</sup>。CYP 诱导作用会导致药物暴露和代谢减

弱<sup>[27]</sup>, 也可能使前药活化为电子活性代谢物的形式, 从而增强其药效学作用<sup>[4]</sup>。CYP 诱导是告知潜在的毒物动力学和毒效动力学改变的合适生物标记<sup>[24]</sup>。利福平诱导 CYP3A 会增强环孢菌素和西罗莫司的代谢<sup>[27]</sup>; 诱导 CYP3A4 或 CYP2B6 将减少对治疗抑郁症的药物氯胺酮的暴露<sup>[37]</sup>; CYP2B6 人源化小鼠动物模型可用于研究 CYP2B6 诱导对药物代谢和功效、药物相互作用和生物毒性的影响<sup>[38]</sup>, 但体内研究发现, 这些酶系统似乎具有一定的毒性<sup>[39]</sup>。同时, 内源性或外源性化合物对 CYP 的抑制作用会导致 CYP 清除药物的能力降低<sup>[27]</sup>, 基于 CYP 的药物相互作用在癌症治疗中尤为重要<sup>[4]</sup>。抗癌药伊立替康可被 CYP3A4 和 CYP3A5 代谢为非活性物质<sup>[40]</sup>; 芳烃受体在大脑中占主导, 其对 CYP 的抑制作用可能与精神疾病有关<sup>[41]</sup>; 氯胺酮主要被 CYP3A4 和 CYP2B6 氧化, 两者会抑制口服药物的生物利用度, 新的给药方式的开发有望减轻 CYP 对氯胺酮的代谢<sup>[42]</sup>。除了 CYP 的诱导和抑制, 其遗传多态性通常是造成药物相互作用和不良反应个体差异的主要原因<sup>[4]</sup>。用于治疗人类免疫缺陷病毒感染的几种药物是 CYP 的底物, CYP 的多态性可以预测其治疗成功的几率和可能的药物相互作用<sup>[43]</sup>; CPR 的多态性会影响 CYP 调节的药物代谢活性以及几种临床使用药物的功效<sup>[44]</sup>; 对溃疡性结肠炎的易感性与 CYP 遗传多态性有关<sup>[45]</sup>。

除药物代谢外, CYP 在固醇和脂溶性维生素的代谢中具有独特的作用<sup>[38]</sup>。类固醇在临床治疗中广泛用于抗炎、抗过敏和抗癌药物等<sup>[46]</sup>, 其 16 $\alpha$ 、17 $\alpha$ -环氧孕酮是许多激素药物的重要中间体, 可以由其制备出新的甾体化合物<sup>[46]</sup>。已有研究证明, 在胆固醇和类固醇中间体的代谢中, C-7 胆固醇脱氢酶<sup>[47]</sup>和胆固醇氧化酶<sup>[48-49]</sup>具有关键作用。类固醇的工程化改造可以有效提高甾体底物的生物转化<sup>[50-51]</sup>。CYP 参与类固醇 15 $\alpha$ -13-甲基-雌甾-4-烯-3,17-二酮(15 $\alpha$ -13-methy-estr-4-ene-3,17dione)羟化反应, 已有研究鉴定出了 15 $\alpha$ -13-甲基-雌甾-4-烯-

3,17-二酮羟化酶基因<sup>[52]</sup>。丝状真菌含有丰富的 CYP 基因, 能够在与类固醇药理活性相关的位置上使类固醇羟化, 这是工业生产甾体药物关键中间体的主要途径<sup>[53]</sup>。已确定参与类固醇羟化的真菌类固醇羟化酶是位于内质网的 CYP, 需要 CPR 进行电子转移<sup>[52]</sup>。最显著的 CYP 内源性代谢底物是维生素 D<sup>[44]</sup>。参与维生素 D 代谢的 CYP 中 CYP24A1 是最重要的<sup>[54]</sup>, CYP24A1 突变导致的失活是特发性婴儿高钙血症的可能原因<sup>[55]</sup>。

## 4.2 工业化应用前景及新酶开发

CYP 通过合成生物学方法在微生物细胞中发酵产生有价值的化学物质<sup>[19]</sup>。合成生物学正在努力取代合成化学以生产高价值化学品, 为合成生物学应用而工程化设计的细菌 CYP 的最新实例是将红球菌 RHA1 (*Rhodococcus jostii* RHA1)的几种 CYP 与邻苯二甲酸酯双加氧酶还原酶(phthalate dioxygenase reductase, PDOR)模块融合, 从而鉴定出能够自给自足催化并产生药物代谢物的酶<sup>[19]</sup>。细菌 CYP 过氧化酶能够将脂肪酸氧化脱羧以形成末端烯烃产品, 这在合成生物学、生物燃料生产和一般精细化工用途中具有潜在的应用前景<sup>[56]</sup>。二萜化合物可对目标生物活性进行筛选, 多种植物的 CYP 能够参与二萜的生物合成, 为生产新型二萜化合物提供了机会<sup>[57]</sup>。CYP 可以催化特定位置的氧原子加成, 这对传统化学方法具有挑战性<sup>[19]</sup>。开发利用光敏剂和可见光的光敏系统, 可以利用氧分子的直接还原原来激活 CYP 催化, 但光驱动的 CYP 领域仍处于起步阶段<sup>[58]</sup>。

CYP 在生物传感器和生物设备设计中的固定化开发中取得了成效, 活塞流生物反应器中的固定化增强了 CYP 的活性和稳定性<sup>[59]</sup>。CYP 的催化循环与电子转移相关, 可以通过电极筛选潜在的 CYP 底物或抑制剂<sup>[29]</sup>。分析 CYP 电极的电流-电压特性以筛选底物及抑制能力是一种有前景的技术, 适用于验证使用各种计算机辅助方法和程序获得的产品<sup>[29]</sup>。基于活性的蛋白质组学(activity-

based protein profiling, ABPP)研究已成为功能蛋白质组学中的关键技术,一系列针对 CYP 生物传感器的 ABPP 探针正在开发<sup>[59]</sup>。

CYP 衍生的酶可以催化只能通过合成化学实现的反应<sup>[20]</sup>。开发 CYP 新酶有望实现在温和水性条件下进行更多的反应和构建高度选择性的酶偶联反应。同时,新酶能够扩展代谢工程和生物合成的范围,从而创造出许多新产品或寻找出替代天然产品的途径<sup>[60]</sup>。通过将新化学方法与自然代谢途径和工程代谢途径结合起来组装新途径,以达到利用可再生资源制造燃料和化学品的目的。已有的研究证明了突变和进化在调节新酶活性和选择性中起着至关重要的作用<sup>[60]</sup>。

## 5 小结与展望

本文综述了 CYP 的结构、功能、临床应用与开发前景。CYP 的结构、诱导和抑制以及遗传多态性是目前研究的关键问题,其在 I 期生物转化过程中的作用及其对内源性底物和外源性底物的代谢对于生物医药临床影响、合成生物学工程化开发及生物传感器研发有着至关重要的作用。

有关 CYP 的研究仍然存在许多问题和挑战。尽管目前已有大量有关 CYP 的结构信息,但对于如何更好地利用仍存在疑问。CYP 的诱导和抑制机制对于药物相互作用和临床应用的应用还存在着很大空白,关于药物靶向 CYP 的研究仍然不足。CYP 多态性在理解疾病、预测癌症风险以及开发个性化药物方面的潜在用途是未来最重要的挑战之一。由于缺乏将基因型和表型测试联系起来以改善治疗效果的数据,药物遗传学在临床实践中的使用也受到限制,有关 CYP 新酶的研发和工业化应用同样具有挑战性。

## REFERENCES

- [1] Guengerich FP, Waterman MR, Egli M. Recent structural insights into cytochrome P450 function[J]. Trends in Pharmacological Sciences, 2016, 37(8): 625-640
- [2] Elfaki I, Mir R, Almutairi FM, et al. Cytochrome P450: polymorphisms and roles in cancer, diabetes and atherosclerosis[J]. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2018, 19(8): 2057-2070
- [3] Waring RH. Cytochrome P450: genotype to phenotype[J]. Xenobiotica, 2020, 50(1): 9-18
- [4] Manikandan P, Nagini S. Cytochrome P450 structure, function and clinical significance: a review[J]. Current Drug Targets, 2018, 19(1): 38-54
- [5] Stavropoulou E, Pircalabioru GG, Bezirtzoglou E. The role of cytochromes P450 in infection[J]. Frontiers in Immunology, 2018, 9: 89
- [6] Neunzig J, Bernhardt R. Effect of sulfonated steroids on steroidogenic cytochrome P450-dependent steroid hydroxylases[J]. Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology, 2018, 179: 3-7
- [7] Rudolf JD, Chang CY, Ma M, et al. Cytochromes P450 for natural product biosynthesis in *Streptomyces*: sequence, structure, and function[J]. Natural Product Reports, 2017, 34(9): 1141-1172
- [8] Guengerich FP. Cytochrome P450 research and *The Journal of Biological Chemistry*[J]. Journal of Biological Chemistry, 2019, 294(5): 1671-1680
- [9] Hernández S, Franco L, Calvo A, et al. Bioinformatics and moonlighting proteins[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2015, 3: 90
- [10] Chen C, Wang DW. Cytochrome P450-CYP2 family-epoxygenase role in inflammation and cancer[J]. Advances in Pharmacology, 2015, 74: 193-221
- [11] El-Sherbeni AA, El-Kadi AOS. Microsomal cytochrome P450 as a target for drug discovery and repurposing[J]. Drug Metabolism Reviews, 2017, 49(1): 1-17
- [12] Shin J, Kim JE, Lee YW, et al. Fungal cytochrome P450s and the P450 complement (CYPome) of *Fusarium graminearum*[J]. Toxins, 2018, 10(3): 112
- [13] Šrejber M, Navrátilová V, Paloncýová M, et al. Membrane-attached mammalian cytochromes P450: an overview of the membrane's effects on structure, drug binding, and interactions with redox partners[J]. Journal of Inorganic Biochemistry, 2018, 183: 117-136
- [14] Barnaba C, Ramamoorthy A. Picturing the membrane-assisted choreography of cytochrome P450 with lipid nanodiscs[J]. Chem Phys Chem, 2018, 19(20): 2603-2613
- [15] Samuels ER, Sevrioukova I. Structure-activity relationships of rationally designed ritonavir analogues: impact of side-group stereochemistry, headgroup spacing, and backbone composition on the interaction with CYP3A4[J]. Biochemistry, 2019, 58(15): 2077-2087
- [16] Urban P, Lautier T, Pompon D, et al. Ligand access channels in cytochrome P450 enzymes: a review[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(6): 1617
- [17] Modi AR, Dawson JH. Oxidizing intermediates in P450 catalysis: a case for multiple oxidants[A]//Hrycay EG, Bandiera SM. Monooxygenase, Peroxidase and Peroxygenase Properties and Mechanisms of Cytochrome



- P450. *Advances in Experimental Medicine and Biology*[M]. Switzerland: Springer, 2015, 851: 63-81
- [18] Quintanilha JCF, de Sousa VM, Visacri MB, et al. Involvement of cytochrome P450 in cisplatin treatment: implications for toxicity[J]. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2017, 80(2): 223-233
- [19] Girvan HM, Munro AW. Applications of microbial cytochrome P450 enzymes in biotechnology and synthetic biology[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2016, 31: 136-145
- [20] McIntosh JA, Farwell CC, Arnold FH. Expanding P450 catalytic reaction space through evolution and engineering[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2014, 19: 126-134
- [21] Albertolle ME, Guengerich FP. The relationships between cytochromes P450 and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: production, reaction, and inhibition[J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2018, 186: 228-234
- [22] Rendic S, Guengerich FP. Human cytochrome P450 enzymes 5-51 as targets of drugs and natural and environmental compounds: mechanisms, induction, and inhibition-toxic effects and benefits[J]. *Drug Metabolism Reviews*, 2018, 50(3): 256-342
- [23] Tebbens JD, Azar M, Friedmann E, et al. Mathematical models in the description of Pregnane X Receptor (PXR)-regulated cytochrome P450 enzyme induction[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(6): 1785
- [24] Hakkola J, Bernasconi C, Coecke S, et al. Cytochrome P450 induction and xeno-sensing receptors pregnane x receptor, constitutive androstane receptor, aryl hydrocarbon receptor and peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  at the crossroads of toxicokinetics and toxicodynamics[J]. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2018, 123(S5): 42-50
- [25] Krasniqi V, Dimovski A, Domjanović IK, et al. How polymorphisms of the cytochrome P450 genes affect ibuprofen and diclofenac metabolism and toxicity[J]. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 2016, 67(1): 1-8
- [26] Tornio A, Backman JT. Cytochrome P450 in pharmacogenetics: an update[J]. *Advances in Pharmacology*, 2018, 83: 3-32
- [27] Almazroo OA, Miah MK, Venkataramanan R. Drug metabolism in the liver[J]. *Clinics in Liver Disease*, 2017, 21(1): 1-20
- [28] Sychev DA, Ashraf GM, Svistunov AA, et al. The cytochrome P450 isoenzyme and some new opportunities for the prediction of negative drug interaction *in vivo*[J]. *Drug Design, Development and Therapy*, 2018, 12: 1147-1156
- [29] Shumyantseva VV, Kuzikov AV, Masamrekh RA, et al. From electrochemistry to enzyme kinetics of cytochrome P450[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2018, 121: 192-204
- [30] Kasichayanula S, Boulton DW, Luo WL, et al. Validation of 4 $\beta$ -hydroxycholesterol and evaluation of other endogenous biomarkers for the assessment of CYP3A activity in healthy subjects[J]. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 2014, 78(5): 1122-1134
- [31] Olsen L, Oostenbrink C, Jørgensen FS. Prediction of cytochrome P450 mediated metabolism[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2015, 86: 61-71
- [32] Imig JD. Prospective for cytochrome P450 epoxygenase cardiovascular and renal therapeutics[J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 2018, 192: 1-19
- [33] Jackson KD, Durandis R, Vergne MJ. Role of cytochrome P450 enzymes in the metabolic activation of tyrosine kinase inhibitors[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(8): 2367
- [34] Lolodi O, Wang YM, Wright WC, et al. Differential regulation of CYP3A4 and CYP3A5 and its implication in drug discovery[J]. *Current Drug Metabolism*, 2017, 18(12): 1095-1105
- [35] Chung FFL, Mai CW, Ng PY, et al. Cytochrome P450 2W1 (CYP2W1) in colorectal cancers[J]. *Current Cancer Drug Targets*, 2016, 16(1): 71-78
- [36] Brewer CT, Chen T. Hepatotoxicity of herbal supplements mediated by modulation of cytochrome P450[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18(11): 2353
- [37] Andrade C. Ketamine for depression, 5: potential pharmacokinetic and pharmacodynamic drug interactions[J]. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 2017, 78(7): e858-e861
- [38] Li L, Zhang QY, Ding XX. A CYP2B6-humanized mouse model and its potential applications[J]. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 2018, 33(1): 2-8
- [39] Reed L, Arlt VM, Phillips DH. The role of cytochrome P450 enzymes in carcinogen activation and detoxication: an *in vivo-in vitro* paradox[J]. *Carcinogenesis*, 2018, 39(7): 851-859
- [40] de Man FM, Goey AKL, van Schaik RHN, et al. Individualization of Irinotecan treatment: a review of pharmacokinetics, pharmacodynamics, and pharmacogenetics[J]. *Clinical Pharmacokinetics*, 2018, 57(10): 1229-1254
- [41] Haduch A, Daniel WA. The engagement of brain cytochrome P450 in the metabolism of endogenous neuroactive substrates: a possible role in mental disorders[J]. *Drug Metabolism Reviews*, 2018, 50(4): 415-429
- [42] Peltoniemi MA, Hagelberg NM, Olkkola KT, et al. Ketamine: a review of clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics in anesthesia and pain therapy[J]. *Clinical Pharmacokinetics*, 2016, 55(9): 1059-1077
- [43] Stillemans G, Belkhir L, Hesselink DA, et al. Pharmacogenetic associations with cytochrome P450 in antiretroviral therapy: what does the future hold?[J]. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 2018, 14(6): 601-611
- [44] Gong L, Zhang CM, Lv JF, et al. Polymorphisms in

- cytochrome P450 oxidoreductase and its effect on drug metabolism and efficacy[J]. *Pharmacogenetics and Genomics*, 2017, 27(9): 337-346
- [45] Sen A, Stark H. Role of cytochrome P450 polymorphisms and functions in development of ulcerative colitis[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2019, 25(23): 2846-2862
- [46] Mao SH, Wang XR, Ge ZJ, et al. Microbial hydroxylation of 16 $\alpha$ , 17 $\alpha$ -epoxyprogesterone by *Penicillium decumbens*[J]. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2017, 16(3): 1161-1166
- [47] Zhu ZL, Li C, Cheng XT, et al. Soluble expression, purification and biochemical characterization of a C-7 cholesterol dehydrogenase from *Drosophila melanogaster*[J]. *Steroids*, 2019, 152: 108495
- [48] Qin HM, Wang JW, Guo QQ, et al. Refolding of a novel cholesterol oxidase from *Pimelobacter simplex* reveals dehydrogenation activity[J]. *Protein Expression and Purification*, 2017, 139: 1-7
- [49] Qin HM, Zhu ZL, Ma Z, et al. Rational design of cholesterol oxidase for efficient bioresolution of cholestane skeleton substrates[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 16375
- [50] Mao SH, Wang JW, Liu FF, et al. Engineering of 3-ketosteroid- $\Delta^1$ -dehydrogenase based site-directed saturation mutagenesis for efficient biotransformation of steroidal substrates[J]. *Microbial Cell Factories*, 2018, 17(1): 141
- [51] Mao SH, Guo QQ, Xu PP, et al. Biochemical and structural characterization of 3-ketosteroid- $\Delta^1$ -dehydrogenase, a candidate enzyme for efficient bioconversion of steroids[J]. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2019, 94(1): 309-316
- [52] Jia LG, Dong JZ, Wang RJ, et al. Identification and characterization of the steroid 15 $\alpha$ -hydroxylase gene from *Penicillium raistrickii*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, 101(16): 6409-6418
- [53] Wang RJ, Sui PC, Hou XJ, et al. Cloning and identification of a novel steroid 11 $\alpha$ -hydroxylase gene from *Absidia coerulea*[J]. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 2017, 171: 254-261
- [54] Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, et al. Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects[J]. *Physiological Reviews*, 2016, 96(1): 365-408
- [55] Tuckey RC, Cheng CYS, Slominski AT. The serum vitamin D metabolome: what we know and what is still to discover[J]. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2019, 186: 4-21
- [56] Munro AW, McLean KJ, Grant JL, et al. Structure and function of the cytochrome P450 peroxygenase enzymes[J]. *Biochemical Society Transactions*, 2018, 46(1): 183-196
- [57] Bathe U, Tissier A. Cytochrome P450 enzymes: a driving force of plant diterpene diversity[J]. *Phytochemistry*, 2019, 161: 149-162
- [58] Shalan H, Kato M, Cheruzel L. Keeping the spotlight on cytochrome P450[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2018, 1866(1): 80-87
- [59] Ducharme J, Auclair K. Use of bioconjugation with cytochrome P450 enzymes[J]. *Biochimica et Biophysica Acta-Proteins and Proteomics*, 2018, 1866(1): 32-51
- [60] Arnold FH. The nature of chemical innovation: new enzymes by evolution[J]. *Quarterly Reviews of Biophysics*, 2015, 48(4): 404-410