

自由基生物学与物理学*

赵保路[†]

(中国科学院生物物理研究所 脑与认知国家重点实验室 北京 100101)

摘要 自由基生物学与物理学关系密切,没有物理学关于电子的理论和检测技术,就没有自由基生物学今天的辉煌,没有自由基生物学与物理学的结合,也许至今大部分人都还不知道什么是自由基。文章从自由基生物学的发展讨论物理与生物学的关系。

关键词 自由基,自由基生物学,物理学,电子自旋共振

Free-radical biology and physics

ZHAO Bao-Lu[†]

(State Key Laboratory of Brain and Cognitive Science, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract There is a close relationship between free-radical biology and physics. The great advances in modern free-radical biology would not have occurred if physics had not provided the theory and detection technology for electrons. Without the combination of free-radical biology with physics, many people today might not even know what a free radical is. The relationship between biology and physics is discussed from the viewpoint of the development of free-radical biology.

Keywords free radical, free-radical biology, physics, electron spin resonance(ESR)

自由基生物学(free radical biology)是研究自由基在生物体系中产生和作用规律及其与疾病和健康关系的科学。自由基生物学是一门新兴的前沿和交叉科学,是一个具有重要理论意义和广泛应用前景并且与人类健康密切相关的科学。自由基不仅具有重要的生物功能,而且可以引起衰老和多种疾病的发生和发展。自由基生物学自1968年发现超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)以来^[1],在过去三十几年时间获得了迅速发展和辉煌的成就。1998年,一氧化氮自由基研究获得诺贝尔生物和医学奖,将自由基生物学和自由基医学研究推向另一个新高潮^[2]。今后自由基生物学在衰老和疾病关系的理论研究方面将有所突破,为人类健康和延寿做出更大贡献。物理学和自由基生物学看似两门相差很远的学科,其实关系很密切。从自由基生物学的发展来看,可以说,没有物理学的理论和技术就没有自由基生物学今天的辉煌,当然没有自由基生物

学与物理学的结合,也许至今大部分人都还不知道什么是自由基。本文不打算在物理学和生物学方面做广泛讨论,只从自由基生物学这一学科讨论物理学与生物学的关系,也就是从生物物理学或物理生物学的一个侧面讨论物理学和生物学的关系。

1 物理学是自由基生物学的基础

可以毫不夸张地说,物理学是自由基生物学的基础,自由基的概念、理论和检测技术都是来自物理学。按照自由基的概念和定义,“任何包含一个未成对电子的原子或原子团,均称之为自由基”,从物理学角度看自由基的实质就是一个电子。电子除了

* 国家自然科学基金(批准号 29935080, 30170239)资助项目
2007-05-24 收到

[†] Email zhaobl@sun5.ibt.ac.cn

具有质量 m , 电荷 e 之外 , 它还具有另一个特性 , 就是自旋 S 。所谓自旋 , 我们可以想像电子像地球一样绕一个轴旋转。电子是一个带电体 , 带电体的旋转就会产生磁场 , 这样一个旋转着的电子就好像一个小磁偶极子。在力学上可以用磁偶极矩 μ 来描述 , 它具有方向性 , 因此是一个矢量。如果将这一磁偶极矩放在磁场 H 中 , 它们之间就会产生一个相互作用能 E , 这个能量可以用量子力学的薛定谔方程描述和求解 , 即

$$E = -\boldsymbol{\mu} \cdot \boldsymbol{H} = -\mu H \cos\theta ,$$

这里 μ 和 H 都是矢量 , H 为磁场 H 的大小 , μ 为磁矩 μ 在磁场方向的投影 , θ 为 μ 和 H 之间的夹角 , 负号表示它为吸引能。当 $\theta = 0^\circ$ 时 , $E = -\mu H$, 即电子的自旋磁矩和外磁场平行时能量最低 , 体系最稳定 ; 当 $\theta = 180^\circ$ 时 , $E = \mu H$, 即电子的自旋磁矩和外磁场反平行时 , 能量最高 , 体系最不稳定。如果将电子从自旋磁矩平行外磁场的位置转变到反平行的位置 , 需要外力做功 , 反之就会释放能量。在经典物理学中 , 磁矩是正比于角动量的。电子的自旋角动量为 S 。自旋角动量 S 在量子力学中写为 \hat{S} 称为自旋算符 , 它在 z 方向的分量为 S_z , 可以用它的本征值 ms 表示 , ms 只能取 $\pm 1/2$ 两个值。这样电子在磁场中的磁相互作用能量就被分裂成了两个 , 这两个能量差为

$$E = E_1 - E_2 = (1/2)g\beta H - (-1/2)g\beta H = g\beta H ,$$

这里 g 是一个没有量纲的常数 , 称为 g 因子 , β 是玻尔磁子。自旋磁矩与外磁场平行的电子具有较低的能量 $-g\beta H$, 自旋磁矩和外磁场反平行的电子具有较高的能量 $g\beta H$ 。若用辐射的方法给处于低能级的电子一个能量 $h\nu$, 正好等于 $g\beta H$, 它们就会吸收这一能量跃迁到高能级 , 我们就称电子在频率 ν 发生了共振。这就是电子自旋共振 (electron spin resonance , ESR) 或顺磁共振 (electron paramagnetic resonance , EPR) 的基本原理 , 也是检测自由基最特异、最直接和最有效的技术^[3]。

至此 , 我们可以看出 , 自由基完全可以用纯物理学的语言通过一个电子的物理性质来表述。正是描述一个电子在磁场中的自旋共振奠定了自由基的检测方法 , 才使得我们可以利用 ESR 波谱仪检测自由基 , 因此可以说 ESR 是自由基物理学 , 它包括自由基的基本理论和自由基的检测技术——电子自旋共振 , 当然还包括该技术在物理学中的应用。

尽管在物理学中对自由基的研究已经很深入 , 甚至自由基在化学中的应用也获得巨大发展 , 比如 ,

辐射化学和放射化学的反应基础都是自由基理论 , 有机化学中的聚合反应和有机化工也都是以自由基理论作为基础的 , 但是直到上世纪 60 年代 , 人们根本没有想到一个具有小小电子的自由基会与生物学有什么关系 , 更不能想像会产生一门独立的自由基生物学和该学科今日取得的辉煌。

2 生物学与物理学的结合带来了自由基生物学的发展和辉煌

1968 年 , 发现生物体内存在超氧化物歧化酶 (SOD) , 而 SOD 的功能是清除和歧化超氧阴离子自由基 , 由此 , 人们认识到生物体内存在自由基^[1]。许多物理学家和生物学家分别或联合起来开展了自由基生物学研究 , 三十多年来获得了巨大的发展和辉煌的成就。1998 年 , 一氧化氮自由基研究获得诺贝尔生物和医学奖 , 将自由基生物学研究推向一个新高潮^[2]。这归功于物理学与生物学结合的生物物理学或物理生物学研究。自由基生物学在以下几个方面取得突出进展 :

2.1 建立和发展了多种检测自由基的新技术和方法

自由基检测是研究自由基的关键。物理学发展了多种检测短寿命自由基的手段 , 如研制成功时间分辨的 ESR 技术和 ESR 成像仪 , 不仅可以检测自由基的种类和浓度 , 而且可以检测自由基在生物体内的空间分布。并且利用这些方法系统地研究了氧自由基和一氧化氮自由基的性质、生物功能和疾病的关系 , 特别是在炎症、心脑血管再灌注损伤和神经退行性疾病中的作用^[4-6]。

上世纪 60 年代建立和发展起来的用氮氧自旋标记技术 , 使 ESR 技术的应用范围扩展到生物学的各个领域 , 其中包括研究细胞膜和蛋白质构象及其动力学性质技术 , 研究细胞膜磷脂和膜蛋白巯基结合位置的结构特点和动力学性质^[7]。

2.2 自由基在生物体内的产生和功能

随着自由基生物学的发展 , 发现体内很多细胞活动过程都与自由基的产生和参与有关 , 酶的活化、电子的传递、白细胞的免疫反应都离不开自由基。体内主要通过以下几个途径产生自由基^[8-10] :

(1) 白细胞和多形核白细胞在吞食外来异物和细菌过程产生呼吸爆发 , 释放大量的活性氧 , 其中包括

超氧阴离子自由基、羟基自由基、过氧化氢、单线态氧等。它们既可以作为杀伤外来入侵者的有力武器,在炎症和免疫方面发挥着巨大作用,但是也可以对正常细胞膜及其他细胞成分产生损伤作用。

(2)线粒体的正常功能是通过氧化磷酸化在呼吸链上将氧气还原成水,合成 ATP,为细胞提供能量。但有 1%—3% 的氧气生成自由基。这些自由基如果泄漏出来,就会造成严重的细胞损伤。

(3)一氧化氮自由基在脑的发育过程起着重要作用,它是神经传导的逆信使,在学习和记忆过程中发挥着重要作用。

(4)植物中叶绿体光合作用产生大量自由基,甚至在一些植物抗病、感病和免疫过程中自由基也发挥着重要作用。

2.3 自由基可以诱导细胞凋亡和导致疾病

自由基虽然有很多生物功能,但如果产生过多就会对细胞造成损伤,引起一系列严重的神经疾病。我们系统地研究了一氧化氮和氧自由基在脑缺血再灌注损伤和神经退行性疾病中诱导细胞凋亡和导致疾病的作用规律,发现一氧化氮和氧自由基在诱导细胞凋亡和导致这些疾病作用的分子机理和信号通路。老年痴呆症、帕金森综合症等神经系统疾病都有自由基的参与;在循环系统,动脉粥样硬化,血栓的形成,心肌缺血再灌注损伤的发病过程中,氧自由基起着重要作用;肝炎和糖尿病与氧自由基密切相关;致癌、促癌和癌的形成的每一步都有氧自由基的产生和参与^[11-14]。

我们在转基因细胞和动物模型中,利用电子自旋共振和基因沉默(RNAi)等技术系统研究了自由基诱导细胞凋亡和导致疾病规律,发现一氧化氮(NO)和氧自由基(ROS)及铁、铜等金属离子在心脏缺血再灌注损伤、中风、老年痴呆症、帕金森综合症等神经退行性疾病中均起着重要作用,并且参与了与淀粉样蛋白(A β)、细胞色素(Cyt. c)释放、活化有丝分裂蛋白激酶(MAPK)有关的信号通路中的作用^[13-16]。

2.4 自由基和衰老

衰老的学说很多,大部分不能用于抗衰老的实践。而衰老的自由基学说是可以用于指导抗衰老的学说之一。衰老的自由基学说认为氧自由基在体内的产生和对细胞成分的损伤可以引起衰老,保持体内适当抗氧化剂水平可以延缓衰老。这从后来研究

人员用一种含自由基清除剂(1% 2-巯基乙胺)的食物喂养老鼠能增加老鼠的平均寿命 30% 得到了证实。这相当于将人类的平均寿命从 73 岁增加到了 95 岁。以后又研究发现随着年龄增加,体内自由基产生和脂质过氧化水平提高,而抗氧化酶和抗氧化剂水平下降。老年斑就含有高浓度的自由基和脂质过氧化物。最近,美国和英国的权威杂志 Science 和 Nature 发表研究文章表明,一些自由基清除剂,小分子多酚类物质,特别是从葡萄汁分离出来的白藜芦醇,可以启动长寿基因 SIRT1,阻断细胞凋亡,延缓衰老和延长寿命。我们最近在基础饲料中添加天然抗氧化剂茶多酚和奎宁酸,可分别延长果蝇和线虫的寿命,并使动物体匀浆中 SOD 活性增加,脂质过氧化水平降低。自由基生物学的进展很可能对衰老这个还没有解决的重大基础科学问题提供新的线索和希望^[17]。

2.5 天然抗氧化剂预防和治疗退行性疾病研究

人类的进化使得人类对有害自由基产生了一套比较完善的抗自由基体系。例如抗氧化酶体系,体内就有超氧化物歧化酶(SOD),谷胱甘肽过氧化物酶,过氧化氢酶等。抗氧化剂有维生素 C,维生素 E,谷胱甘肽,尿酸,胡萝卜素等。这些抗氧化酶和抗氧化剂在体内组成了一道道防线,防止有害自由基对机体的伤害,维持体内自由基产生和清除的平衡,保证机体的健康。我们应当尽量保持体内这一平衡,不破坏这一平衡。

喝茶有益健康,我们对绿茶的有效成分茶多酚的结构和功能进行了系统的研究,发现四种茶多酚单体及其不同异构体对氧自由基的清除能力不同,并且确定了它们与自由基反应的活性位点。发现它们之间存在协同作用并能与铁、铅等金属离子螯合发挥抗氧化作用。我们研究了茶多酚对帕金森综合症的预防和治疗作用。探索了茶多酚通过清除氧自由基和一氧化氮预防帕金森综合症的途径,阐述了茶多酚清除自由基抗氧化反应机理以及预防和治疗帕金森综合症的分子机理^[12]。

我们研究了茶多酚对 6-OHDP 诱导细胞凋亡和动物帕金森综合症的保护作用。在细胞体系发现茶多酚抑制 6-羟多巴(6-OHDA)诱导细胞产生的活性氧(ROS) 6-OHDA 导致的线粒体肿胀和细胞内钙离子的增加,明显减少 6-OHDA 引起的 NO 自由基产生的增加和这两种一氧化氮合酶(NOS,其中一种为神经型的 NOS,用 nNOS 表示,另一种为诱导型的

NOS 用 iNOS 表示)表达的上调,茶多酚还可以清除 6-OHDA 自氧化产生的醌类自由基。在动物模型中,发现茶多酚可以降低中脑和纹状体中 ROS 和一氧化氮自由基含量、脂质过氧化程度、硝酸盐/亚硝酸盐含量,同时降低 nNOS 和 iNOS 表达水平。茶多酚预处理可增加黑质致密部存活神经元,减少凋亡细胞。我们的实验结果证明,口服茶多酚可以有效保护脑组织免于 6-OHDA 损伤引起的神经细胞死亡,其保护作用可能是通过 ROS 和 NO 的途径实现的^[18]。

在离体、在体和心肌细胞体系中系统研究了知母宁、银杏黄酮在心脏缺血再灌注损伤中保护心肌的机理,发现它们主要是通过清除氧自由基和调节一氧化氮自由基产生防止心肌细胞凋亡发挥作用的。在利用山楂黄酮预防中风研究中发现山楂黄酮可以通过调节体内抗氧化水平和清除过量氧和一氧化氮自由基,防止海马细胞凋亡^[5]。

我们的研究还发现,山楂黄酮可以预防和治疗中风。蒙古沙鼠双侧颈动脉结扎引起的脑损伤中风模型表明,在缺血再灌注过程中,脑组织中活性氧产生增多,脂质过氧化产物水平升高,抗氧化能力下降,动物口服山楂提取物可以减少缺血再灌注过程中产生的活性氧自由基,减少脂质过氧化产物含量,提高脑匀浆中抗氧化剂的水平。同时,在缺血再灌注过程中,脑组织中硝酸盐/亚硝酸盐的浓度升高,ESR 检测到的一氧化氮产量降低,而用山楂提取物喂动物,降低了脑组织中硝酸盐/亚硝酸盐的水平,提高了生物可利用的一氧化氮的浓度。iNOS 在缺血再灌脑损伤的迟发性神经元死亡中起重要的作用,研究发现,抗氧化剂处理动物可以减少肿瘤坏死因子(TNF- α)和核因子(NF- κ B)的水平,降低 iNOS 活性。用山楂提取物喂动物,可使动物缺血再灌脑损伤后海马 CA1 区成活的大锥体神经元数量增加,DNA 损伤减少,对脑损伤有保护作用。口服天然抗氧化剂可以提高脑中抗氧化水平,保护脑组织免于缺血再灌脑损伤引起的神经细胞死亡,保护作用可能是通过 ROS 和一氧化氮的途径实现的^[6]。

我们研究大豆异黄酮对 A β 导致的海马神经元凋亡的保护作用,发现大豆异黄酮可以有效抑制 A β 导致的海马神经元凋亡。大豆异黄酮能明显阻断 A β 导致的凋亡信号通道,从而降低细胞内 Ca²⁺ 水平,减少 ROS 的积累,防止 DNA 断裂和凋亡基因 caspase-3 的激活。发现在低浓度是通过雌激素受体(ER)起保护作用的,而在高浓度是通过抗氧化机

制起作用的^[19]。

吸烟有害健康,一般人都认为尼古丁是吸烟中最有害的物质,但流行病学研究发现,吸烟人群得老年痴呆症和帕金森综合症的比不吸烟人群低,尼古丁很可能是吸烟中产生的预防这两种疾病的有效物质。我们对此进行了深入系统的研究,在转基因动物、细胞、线粒体和分子等不同层次水平上对其机理和信号通路进行了研究。我们研究发现(1)尼古丁可以有效清除活性氧自由基,抑制多巴胺自氧化,是一种抗氧化剂。(2)尼古丁能够有效抑制 6-OHDA 和 MPP⁺ 诱导的细胞色素 C 释放。(3)尼古丁可以保护海马神经元抵抗 β 淀粉样蛋白诱导的凋亡。(4)尼古丁可以防止淀粉样蛋白在转基因鼠脑中的沉淀。(5)尼古丁可以络合金属铜和锌,防止其在脑中积聚。(6)尼古丁可以通过烟碱型乙酰胆碱受体 α 7 和 MAPK 的激活,抑制 NF- κ B 和 C-Myc 信号通路,抑制炎症和诱导型 NOS 表达和一氧化氮生成,预防老年痴呆症^[15,16,20]。这对于解释烟碱防治神经退行性疾病机理具有重要意义,对预防和治疗老年痴呆症和帕金森综合症药物的研发及对有选择地减少吸烟产生的焦油和降低吸烟的危害具有重要指导意义。

通过以上讨论可以看出,物理学和自由基生物学关系很密切,可以说,没有物理学的理论和技术就没有自由基生物学今天的辉煌,甚至可以把自由基生物学看作是一门自由基生物物理学。今后物理学的发展将为自由基生物学提供更多的理论和技术,自由基生物学的发展将为人类健康和延寿做出更大贡献。

参 考 文 献

- [1] Fridowich I. Arch Biochem Biophys, 1986, 247 : 1
- [2] Palmer R M J, Ferrige A G, Moncada S. Nature, 1987, 327 : 524
- [3] 赵保路. 氧自由基和天然抗氧化剂. 北京:科学出版社, 1998 (2002 年再版) Zhao B L. Oxygen free radical and natural antioxidants. Beijing :Science Press, 1998 (2002 X in Chinese)]
- [4] Zhao B L, Li X J, Xin W J. Cell Biol. Intern. Report, 1989, 13 : 529
- [5] Zhao B L, Shen J G, Li M *et al.* Biochim. Biophys. Acta, 1996, 1315 : 131
- [6] Zhang D L, Yin J J, Zhao B L. J Neur. Chem., 2004, 90 : 211
- [7] Zhao B L, Musci G, Sugawara Y *et al.* Biochemistry, 1988, 27 : 5304

[8] Li H T , Zhao B L , Hou J W *et al.* *Biochem. Biophys. Res. Commn.* ,1996 223 311 314

[9] Xu Y C , Zhao B L. *Plant Physiol Biochem.* ,2003 ,41 833

[10] Lu Zh B , Tao Yi , Zhou Zh X *et al.* *Free Rad Biol. Med.* , 2006 ,41 :1590

[11] Jiao H L , Ye P , Zhao B L. *Free Rad. Bio. Med.* ,2003 35 : 1121

[12] Guo S H , Bezard E , Zhao B L. *Free Rad. Bio. Med.* 2005 , 39 :682

[13] Zhao B L. *Front Bioscience* ,2005 ,10 #54

[14] Zhao B L. *Mol Neurobiol.* 2005 ,31 283

[15] Zhang J , Liu Q , Liu N Q *et al.* *FASEB J.* ,2006 ,20 1212

[16] Liu Q , Zhang J , Zhu H *et al.* *FASEB J.* ,2007 21 61

[17] Harman D. J. *Am. Geron. Soc.* ,1976 ,24 301

[18] Guo S H , Yan J Q , Zhao B L. *Biological Psychiatry*(in press 2007)

[19] Zeng H Y , Chen Q , Zhao B L. *Free Rad. Bio. Med.* ,2004 , 36 :180

[20] Xie Y X , Bezard E , Zhao B L. *J. Biol. Chem.* ,2005 ,37 : 32405

· 物理新闻和动态 ·

探寻星际间各色化学分子的发祥地

太阳就像是一座被点燃了氢弹炸药库,在它的内部进行着核聚变反应——每秒钟大约有6亿吨氢聚合成氦。几十亿年来它持续地向周围环境(包括我们地球)提供着光和热。从上述角度看问题,一般人把宇宙中的恒星视为光源,而忽视了另一个侧面,即大部分恒星也是星际间各色化学分子的发祥地。20世纪70年代,红外和微波天文学有了突破性进展,科学家发现,古老的恒星产生强烈的“恒星风”,它在母星体中聚合而成的重元素以及形形色色的分子抛向太空。目前,可从光谱观测辨明的星际间分子大约有60种,这包括无机分子(如:CO, SiO, SiS, NH₃, AlCl),有机分子(如:C₂H₂, CH₄, H₂CO, CH₃CN),基团(如:CN, C₂H, C₃, HCO⁺),环(如:C₃H₂)和链(如:HC₅N, HC₇N),等等(环和链是复杂有机物的基本结构)。最近,来自美国航空航天局的Ziurys等观察了超级红巨星(VY Canis Majoris, VY CMa)的喷射物光谱。他们发现了7种新的化合物分子,其中的磷化物(PN)在宇宙生命科学中具有基础作用。此前,学界普遍认为:如果在古老恒星的外壳中碳的丰度高,则喷射物的化学分子更具多样性。这次观察的VY CMa其外壳是富氧的(不是富碳),因此所展示的化学多样性,为恒星气相化学、恒星风物理乃至星际空间生物化学研究,打开了新的视窗。

(戴闻 编译自 Nature 2007 447 1063 1094)

铜棒群集如鱼群

群集(Swarm)可以被视为一个系统,其中不同位置上的粒子密度变化剧烈。鱼群就是这样的一个系统,当鱼群迅速改变方向以逃避危险时,其密度发生涨落。虽然物理学家尝试着建立关于群集的数学模型,但是能用来检验这些模型的简单的实验系统却很少。近来,印度Bangalore的科学研究所的研究人员在一个桌面实验中演示了群集现象。实验中使用了简单的无生命物体——数千根小于1mm粗的铜棒,使它们在两块水平板之间振动。这个系统类似于所谓的“活跃的向列”液晶(一种由长的对称分子组成的液体)。研究组的人员用快速照相机测量了两块平板间不同数量的铜棒的密度涨落,所研究的铜棒的数目在总数的35%—66%之间。他们发现,铜棒的数目越多,涨落越大,群集的现象看得更清楚。

有意思的是,研究者必须先对铜棒的一端进行蚀刻,使它们的形状像擀面杖那样,否则铜棒不会形成群集。有关论文发表在Science, 2007, 317 :105。

(树华 编译自 Physics web news, 5 July 2007)

· 封面说明 ·

大自然的织锦

从空中俯瞰大地,沙丘和山脊呈现出大尺度的花样结构,观察身边的世界,树叶和花朵大多展现出对称的图案,如果有幸在显微镜下观察世界,微观尺寸的生物和无生命物质会表现出更多令人称奇的形态来。大自然就是这样一幅神奇的织锦,处处透出惊人的美,隐含着深刻的数学和物理。图中所示为韩国济州岛礁石所展现的密堆积图案,大致上可描述为由六棱柱状的礁石组成的三角格子,即蜂窝结构。注意到一个上下液面保持一定温差的液体会自动形成这样的结构(Bernard不稳定性),以及济州岛由火山爆发形成的事实,我们推测这片礁石是由岩浆自组织而成的,炽热的岩浆流入大海,其上下液面的温差超过了某个临界值时,对流造成了Bernard不稳定性,形成了六棱柱密堆积结构。进一步确定形成这些结构所需的具体参数条件可以获得更多的关于那次火山爆发的地质学数据。

(摄影:杨思泽研究员,撰文:曹则贤研究员,中国科学院物理研究所,北京100080)