

CYP450 酶翻译后修饰对其活性影响的研究进展

黎玉华, 毕惠嫦, 黄 民*

(中山大学药学院, 药物代谢与药动学实验室, 广东 广州 510006)

摘要: 药物代谢酶, 特别是 CYP450 酶的活性调节一直是药物代谢的研究热点, 大多数现有的研究都集中在转录和翻译水平上探讨化合物对其基因表达和蛋白水平的影响。但是随着研究的深入, 发现在翻译后水平的修饰作用也可能对代谢酶的活性有重要影响。近年来, 翻译后修饰作用对酶活性的影响越来越受到重视, 并发现了一些对代谢酶活性有重要影响的修饰方式, 如磷酸化、硝基化、泛素化等。本文对近年来翻译后修饰对 CYP450 酶活性影响的研究进行综述。

关键词: 细胞色素 P450; 翻译后修饰; 磷酸化; 硝基化; 泛素化

中图分类号: R969

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2011) 05-0487-06

Effects of posttranslational modification on the activity of cytochrome P450: current progress

LI Yu-hua, BI Hui-chang, HUANG Min*

(*Lab of Drug Metabolism & Pharmacokinetics, School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China*)

Abstract: Regulation of the activity of CYP450 has always been research focus of drug metabolism. The effect of compounds on the mRNA and protein expression level of CYP450 is the main purpose of most of the existing reports. In recent years, the protein modification in the posttranslation level has been found to participate in maintaining the proper function of CYP450, thus effect of posttranslational modification on the enzyme activity has been paid more and more attention. Posttranslational modifications including phosphorylation, nitration, and ubiquitination have been described to regulate the activity of CYP450. In this paper, recent developments in the effects of posttranslational modifications on the activity of CYP450 have been reviewed.

Key words: cytochrome P450; posttranslational modification; phosphorylation; nitration; ubiquitination

药物代谢酶中的细胞色素 P450 酶系 (cytochrome P450, CYP450) 在人体内扮演着重要的生理角色, 尤其在药物代谢中起着至关重要的作用。已经证实临床有 90% 以上的药物经过 CYP 亚酶 CYP1A2、CYP2C9、CYP2D6 和 CYP3A4 代谢^[1]。近年来, 随着分子医学技术的发展, 对该酶进行了广泛深入的研究, 并取得新的进展, 尤其是在酶基因的表达、调

控方面, 已经成为了人们研究的热点。

目前对于 CYP450 活性调节, 无论是从相关基因的转录水平还是翻译水平都有大量的文献^[2, 3]报道。从大量对药物代谢酶功能调控的研究可以发现, 存在某些 CYP450 亚型的 mRNA 和蛋白质的水平上升, 但相应的活性却下降的现象。例如, 白藜配伍乌头可以通过影响基因转录进而提高 CYP1A2、CYP3A1/2 的 mRNA 和蛋白质水平, 但是 CYP1A2、CYP3A1/2 酶活性却是下降的^[4], 相关机制目前尚不清楚。这提示在翻译水平之后可能存在影响和调节酶活性的重要机制和因素, 导致外源物对酶的表达水平和生物

收稿日期: 2010-12-20.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81001685); 教育部博士点新教师基金资助项目 (20100171120058).

*通讯作者 Tel: 86-20-39943011, Fax: 86-20-39943000,

E-mail: huangmin@mail.sysu.edu.cn

活性影响不一致。

在一个细胞、器官或组织中，单个蛋白质的表达水平并不完全反映这种蛋白质的生物活性，这种现象普遍存在。对药物代谢酶的调控，可以作用在转录、翻译、翻译后修饰 3 个水平上 (图 1)，因此，仅仅转录或者翻译水平的上调或者下调，并不能推断最后活性的增强或减弱。所以，蛋白质活性的发挥是一个复杂的过程，涉及到翻译后修饰、在组织、细胞及亚细胞中的定位以及与其他的蛋白质之间的相互作用。

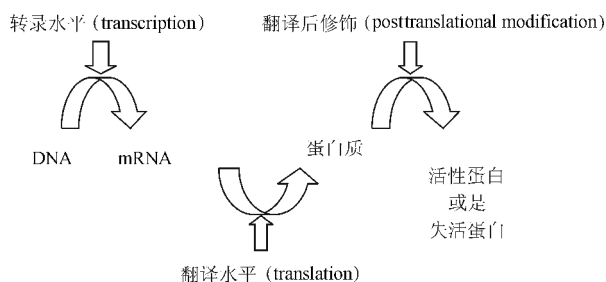


图 1 蛋白质各水平调控示意图

目前报道对药物代谢酶的翻译后修饰方式主要有磷酸化、糖基化、硝基化、泛素化等，这些修饰方法的生理意义包括调控酶的活性、酶的细胞内定位、蛋白激酶降解的标记等，但是目前对药物代谢酶的翻译后修饰的调控研究仍不深入。本文对近年来翻译后修饰对 CYP450 酶活性影响的研究进展进行综述。

1 磷酸化及其对 CYP450 活性的影响

磷酸化作为一种主要的共价修饰方式，一直是影响蛋白质发挥活性的重要因素^[5]。

近些年，磷酸化对 CYP450 活性的影响逐渐受到人们的关注，研究发现一些主要的 CYP450 亚型 (CYP1A、CYP2B、CYP3A、CYP2C 和 CYP2E) 都存在磷酸化的现象 (表 1)。参与 CYP450 磷酸化的蛋白激酶主要有蛋白激酶 A (PKA)、蛋白激酶 C (PKC) 和钙/钙调素依赖性蛋白激酶 II (CaMK II)，并且存在一种 CYP450 亚型同时能被多种蛋白激酶磷酸化和一种蛋白激酶同时可以磷酸化多种 CYP450 亚型的现象。

近些年来，有许多在肝微粒体、完整肝细胞、细胞培养，以及体内实验等水平上 CYP450 磷酸化的文献见诸于报道。随着研究的深入，人们不仅仅满足于发现 CYP450 存在磷酸化这种现象，进而研究 CYP450 磷酸化对其活性是否有影响，其中大部分的研究都集中在对第 1~3 个亚家族的 CYPs 上。到目

表 1 CYP450 亚型的磷酸化

CYP450 亚型	种属	蛋白激酶	磷酸化位点	备注	参考文献
2B4	兔	PKA	Ser ¹²⁸	纯化 PKA 催化亚基	6
2B5	兔	PKA		纯化 PKA 催化亚基	7
1A2	大鼠	PKC		纯化的 PKC	7
2B1	大鼠	PKA	Ser ¹²⁹	纯化 PKA 催化亚基	7
		PKC		纯化的 PKC	7
2B2	大鼠	PKA		纯化 PKA 催化亚基	7
2E1	大鼠	CaMKII		纯化的 CaMKII	8
		PKC		纯化的 PKC	8
		PKA	Ser ¹²⁹	cAMP 刺激的肝细胞	9
3A1	大鼠	PKA	Ser ³⁹³	cAMP 刺激的肝细胞	10
3A4	人	PKC	Ser ⁴²⁰	纯化的 PKC	11
3A6	兔	PKA		纯化 PKA 催化亚基	7
2C6	大鼠	PKA		纯化 PKA 催化亚基	12
		PKA		cAMP 刺激的肝细胞	13
2C7	大鼠	PKA		纯化 PKA 催化亚基	12
2C11	大鼠	PKA		纯化 PKA 催化亚基	7
2C12	大鼠	PKA		纯化 PKA 催化亚基	12

前为止，除了 CYP3A、CYP2E1 和 CYP2B 外，其他亚型未见有磷酸化对其活性产生影响的报道。虽然在对胆固醇和类固醇动态平衡的研究中发现，一些 CYPs (如 P45051^[14]、P4507A1^[15]、P45011A1^[16]) 磷酸化后其活性发生很大改变，但是这些 CYPs 类型几乎不参与药物代谢的过程。

1.1 磷酸化对 CYP2B 酶活性的影响 CYP2B 在肝细胞中可以被磷酸化，并由 cAMP-蛋白激酶 A 途径介导^[13, 17]，当用 cAMP 的衍生物处理 CYP2B1 和 CYP2B2 后，酶的代谢活性相应下调，从而产生磷酸化这样一种 CYP2B 酶活性调控方式^[18]。环磷酰胺是临床常用的烷化剂类免疫抑制剂，但它是前药，在体内必须转化为有细胞毒性的代谢产物才能发挥其抗肿瘤活性，而 CYP2B1 是这个转化过程的关键酶，在研究磷酸化是否以及如何影响 CYP2B1 活化环磷酰胺时发现：CYP2B1 能部分磷酸化，磷酸化后的酶完全失活，从而使由环磷酰胺转化的诱变代谢产物减少 75% 以上^[19]。

1.2 磷酸化对 CYP2E 酶活性的影响 CYP2E1 也是一类重要的代谢酶，约占 CYP450 总量的 7%，虽然 CYP2E1 不是药物的主要代谢酶，但是它参与环境致癌物的代谢，催化许多前致癌的环境化合物转化为最终致癌活性物质。实验证明 cAMP-PKA、PKC、Ca²⁺/CaM-CaMK II 等磷酸化途径都有可能参与 CYP2E1 的磷酸化，其中 PKC 对其磷酸化的效率较高^[8]。体外研究^[9, 20]表明，当用胰高血糖素处理干细

胞后, CYP2E1 的磷酸化程度增强, 与此同时其降解速率也加快, 并且降解由蛋白酶体来完成。CYP2E1 具有对硝基苯酚羟基化 (PNP) 活性和 *N*-亚硝胺去甲基化 (NDMA) 活性, 但是, 当纯化的 CYP2E1 或是大鼠肝微粒体的 CYP2E1 经过 db-cAMP (磷酸化激活剂) 处理后, CYP2E1 的以上两种代谢活性都有较大程度的减弱, 但 Western blot 检测其蛋白水平并没有降低^[21]。因此, 翻译后水平的磷酸化可能对 CYP2E1 的调控发挥着重要作用。

1.3 磷酸化对 CYP3A 酶活性的影响 CYP3A 亚族是整个 CYP450 家族中最重要的一个, 负责了超过 50% 的临床药物的代谢^[22]。所以, 研究磷酸化对 CYP3A 亚族功能的调节对临床的合理用药具有重要意义。但目前对 CYP3A 的翻译后水平调控作用的研究较少, 现有研究主要针对 CYP3A4 和 CYP3A1 两种亚型。其中 CYP3A4 未见有直接研究磷酸化与其代谢活性关系的报道, 但是在研究 CYP3A4 被泛素-26S 蛋白酶体降解前是否需要磷酸化的实验^[11]中发现, 酶降解前的确存在磷酸化过程, 并可由 PKC 介导。对于 CYP3A1 磷酸化方面的研究也未见有直接探讨磷酸化与其代谢活性的报道。研究表明肝细胞经胰高血糖素处理后, 其 CYP3A1 的磷酸化程度增加了 3 倍, 同时也加快了该酶的降解速率, 但其特异性底物或配体, 比如红霉素、三乙酰夹竹桃霉素、克霉唑可以保护 CYP3A1 以防其被降解, 同时抑制胰高血糖素对其的磷酸化作用^[10]。纯化的 CYP3A1 或者是从肝微粒体中分离得到的 CYP3A1 的体外实验表明, CYP3A1 主要磷酸化位点是 Ser³⁹³, 并且磷酸化过程是由 cAMP-PKA 途径介导。

2 泛素化对 CYP450 酶活性的影响

泛素-26S 蛋白酶体途径是最重要且有高度选择性的蛋白质降解途径, 由泛素激活酶、泛素结合酶、泛素蛋白连接酶和 26S 蛋白酶体组成, 作用的过程分为蛋白质泛素化和被蛋白酶体识别降解两个过程。其中 26S 蛋白酶体是一个大型多酶蛋白复合物, 调控许多细胞过程, 包括细胞器的生物合成、细胞凋亡、细胞分化和增殖炎症等^[23]。

如表 2 所示, 许多 CYP450 亚型都是泛素化作用的底物, 而且蛋白质被泛素化标记以后经 26S 蛋白酶体途径进行降解。

整体动物实验表明, 当给予自杀性底物 3, 5-二羧酸甲酯-2, 6-二甲基-4-乙基-1, 4-二氢吡啶 (DDEP) 后, 可以诱导大鼠 CYP450 自身失活, 随后 CYP3A1、CYP3A2 等都可以先被泛素化, 然后经蛋白酶体降

表 2 CYP450 亚型的泛素化

CYP450 亚型	种属	来源	参考文献
CYP2B1	大鼠	肝微粒体	24
CYP2E1	小鼠	肝脏 (体内)	25
CYP3A1	大鼠	肝脏 (体内)	26
CYP3A2	大鼠	肝细胞	26
CYP3A4	人	酿酒酵母菌表达 大肠杆菌表达	27 24

解^[26]; 而且也发现大鼠肝脏的 CYP3A1、CYP3A2、CYP2B1 和重组的人 CYP3A4 在被 26S 蛋白酶体降解前要经过磷酸化或泛素化修饰^[24]。在这个过程中也涉及到磷酸化, 所以, 有必要研究磷酸化是否在泛素依赖性的 26S 蛋白酶体降解失活 CYP450 的过程中必不可少。另外, 除了失活的 CYP450 会被泛素-26S 蛋白酶体系统降解外, 还发现在酵母中表达的 CYP450 也可以被 26S 蛋白酶体途径降解^[27], 因此泛素化作用对 CYP450 在体内的存在和活性的发挥有重要影响。

3 NO 硝基化对 CYP450 酶活性的影响

NO 作为一种短期的气体自由基, 其重要的生物学意义已为人所知, 它在心血管和神经系统的信号转导途径中发挥重要作用, 同时在药物代谢方面的作用也逐步被发现。研究^[28]表明, 在出现感染或者炎症的情况下, 大鼠和人的肝脏或肝细胞中 CYP450 的 mRNA 和蛋白水平均出现下调现象, 同时在肝细胞或 Kupffer 细胞发现这种下调依赖于细胞中 NO 合成增加。CYP450 的各种亚型中, 有不少存在硝基化的现象, 硝基化的主要位点是酪氨酸 (表 3)。近年来, 国外研究报道在肝细胞中 NO 合成增加也能在翻译后水平调节 CYP450 的活性。所以, 一般认为 CYP450 的硝基化依赖于 NO 合成的增加, 而且 CYP450 酶的硝基化位点常存在于其氨基酸序列的酪氨酸残基。

但是, 根据目前的文献报道, 由 NO 产生的对 CYP450 活性的影响机制却可能存在以下两种: 一是外源性的药物诱导 NO 合酶的活性, 使得细胞内 NO

表 3 CYP450 的酪氨酸硝基化

CYP450 亚型	物种	来源	参考文献
CYP2B1	大鼠	肝微粒体	29
		大肠杆菌表达	30
CYP8A1	牛	主动脉微粒体	31
	人	内皮细胞表达	32
CYP101	恶臭假单胞菌	大肠杆菌表达	33
CYP55A1	锤形真菌	锤形真菌	28
CYP102A1	巨大芽孢杆菌	巨大芽孢杆菌	34

含量升高,进而 NO 与 CYPs 形成 NO-Fe-血红素亚硝基复合物,该亚硝基复合物可以抑制相关 CYPs 的催化活性,这种抑制机制是可逆性的。例如,研究发现 NO 能通过与 CYPs 形成亚硝基复合物从而抑制类固醇合成过程中的限速酶 CYP11A1^[35, 36];另外,组成性表达大鼠和人 CYP1A1 和 CYP1A2 的 V-79 源性细胞系在外源性的 NO 合酶诱导剂作用下, CYP1A1 和 CYP1A2 的活性也受到抑制,并且这种抑制可能和 NO 与血红素形成的复合物有关^[37]。第二种机制是 NO 在体内可以生成过氧乙腈 (PN), PN 可以使 CYPs 的酪氨酸硝基化而失活,这种抑制机制是共价修饰,具有不可逆性。如 CYP2B1 被证实可以被 PN 修饰失活,而且这种失活与酪氨酸硝基化程度的增加密切相关^[30]。

目前有关 NO 对于 CYP450 酶系翻译后修饰的研究还处于初级阶段,许多机制尚不明确,仍亟需下一步深入的研究,以便清晰地揭示其调控过程和机制以及这种调控作用在药物代谢的意义。

4 糖基化对 CYP450 酶活性的影响

蛋白糖基化是指合成后的或正在合成的蛋白质在糖基转移酶的作用下,将活化的单糖加到肽链上。蛋白糖基化是真核生物常见的蛋白质翻译后修饰过程,修饰着数千种独特生物活性的糖蛋白。一般认为蛋白的糖基化在蛋白粘附及其在细胞内靶向定位、保护蛋白以防其水解等过程中发挥重要作用^[38]。目前,有不少 CYP450 亚型被证实为糖蛋白 (表 4),但是几乎没有对这种修饰的相关研究,并且对这种修饰的潜在生理意义也了解甚少。

表 4 CYP450 亚型的糖基化

CYP450 亚型	物种	组织	参考文献
CYP 1A2	小鼠	肝脏	38
CYP 2B2	兔	肝脏	39
CYP 2B4	兔	肝脏	39
CYP 11A1	牛	肾上腺皮质	40
CYP19A1	人	胎盘	41
	人	COS1 表达	42
CYP21A1	牛	肾上腺皮质	43
CYP27B1	牛	肝脏	44

目前,已有关于 CYP11A1 和 CYP19A1 的糖基化修饰与其活性的研究。CYP11A1 也属于糖蛋白,实验证明糖基化修饰可以显著影响其催化活性^[40]。另外被研究者关注的是 CYP19A1,但实验结果表明 CYP19A1 的糖基化修饰对其催化活性并没有显著性

影响^[42]。

结语

鉴于 CYP450 酶在药物代谢过程中发挥的重要作用,对其各个环节的调控都应引起足够的重视。随着分子医学的迅猛发展,翻译后修饰对蛋白活性的影响得到广泛的重视,同时也被引入到对 CYP450 活性调节的研究中。

如前所述,目前发现的对于代谢酶的翻译后方式主要是磷酸化、泛素化、硝基化和糖基化等。其中磷酸化对代谢酶活性影响的研究较多,大多数与药物代谢相关的酶都存在磷酸化过程,但目前对活性与磷酸化关系研究的只有 CYP3A、CYP2E1 和 CYP2B,其他亚型未见相关报道。代谢酶的泛素化与其被蛋白酶体降解密不可分,在被 26S 蛋白酶体识别并降解前,有不少代谢酶都要经过泛素化修饰。另外,泛素化修饰同时存在已经失活和未失活的酶中。在硝基化对代谢酶活性影响的研究中,NO 合成增加会降低 CYP450 酶的活性已被许多实验证实,其机制包括可逆性的 NO-Fe-血红素亚硝基复合物非共价抑制和不可逆性的相关酶的酪氨酸被 NO 在体内产生的过氧乙腈 (PN) 硝基化所导致的抑制。

虽然糖基化是蛋白修饰过程中一种常见方式,但是目前少见这种修饰方式对代谢酶活性影响的研究,仅有的研究也只针对 CYP11A1 和 CYP19A1,而这两个酶几乎不参与药物的代谢过程。

综上所述,目前翻译后修饰对 CYP450 酶活性影响的研究相对较少,翻译后修饰影响 CYP450 酶活性的机制也尚不明确。因此,对翻译后修饰影响 CYP450 酶的方式和机制的进一步研究,以及各种新修饰方式的研究将会是未来关注的焦点。

References

- [1] Wang YG, Gao Y, Chai BX, et al. Modulation of the activities and mRNA expression of cytochrome P450 isoenzymes in rat liver by *Panax ginseng* and coadministration with *Veratrum nigrum* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2004, 29: 366-370.
- [2] Köhle C, Bock KW. Coordinate regulation of human drug-metabolizing enzymes, and conjugate transporters by the Ah receptor, pregnane X receptor and constitutive androstane receptor [J]. *Biochem Pharmacol*, 2009, 77: 689-699.
- [3] Chen Q, Wu YJ, Cheng NN, et al. Dual effects of extract of *Schisandra chinensis* Baill on rat hepatic CYP3A [J]. *Acta*

- Pharm Sin (药理学学报), 2010, 45: 1194–1198.
- [4] Shi SY, Jin KT, Wang YG, et al. Inhibitory effect of aconitum coadministration with ampelopsis on cytochrome P450 in rat livers [J]. Her Med (医药导报), 2007, 26: 975–979.
- [5] Cohen P. Protein kinases—the major drug targets of the twenty-first century? [J]. Nat Rev Drug Discov, 2002, 1: 309–315.
- [6] Pyerin W, Wilf CR, Kinzel V, et al. Phosphorylation of cytochrome-P-450-dependent monooxygenase components [J]. Carcinogenesis, 1983, 4: 573–576.
- [7] Pyerin W, Taniguchi H, Horn F, et al. Isoenzyme-specific phosphorylation of cytochromes P-450 and other drug metabolizing enzymes [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1987, 142: 885–892.
- [8] Menez JF, Machu TK, Song J, et al. Phosphorylation of cytochrome P4502E1 (CYP2E1) by calmodulin dependent protein kinase, protein kinase c and cAMP dependent protein kinase [J]. Alcohol Alcohol, 1993, 28: 445–451.
- [9] Eliasson E, Mkrtchian S, Ingelman-Sundberg M. Hormone- and substrate regulated intracellular degradation of cytochrome P450 (2E1) involving MgATP-activated rapid proteolysis in the endoplasmic reticulum membranes [J]. J Biol Chem, 1992, 22: 15765–15769.
- [10] Eliasson E, Mkrtchian S, Halpert JR, et al. Substrate-regulated cAMP-dependent phosphorylation, denaturation, and degradation of glucocorticoid-inducible rat liver cytochrome P450 3A1 [J]. J Biol Chem, 1994, 269: 18378–18383.
- [11] Wang X, Medzihradsky KF, Maltby D, et al. Phosphorylation of native and heme-modified CYP3A4 by protein kinase c: a mass spectrometric characterization of the phosphorylated peptides [J]. Biochemistry, 2001, 40: 11318–11326.
- [12] Epstein PM, Curti M, Jansson I, et al. Phosphorylation of cytochrome P450: regulation by cytochrome b5 [J]. Arch Biochem Biophys, 1989, 271: 424–432.
- [13] Koch JA, Waxman DJ. Posttranslational modification of hepatic cytochrome P-450. Phosphorylation of phenobarbital-inducible P-450 forms PB-4 (IIB1) and PB-5 (IIB2) in isolated rat hepatocytes and *in vivo* [J]. Biochemistry, 1989, 28: 3145–3152.
- [14] Sonoda Y, Amano C, Endo M, et al. Lanosterol 14 alpha-demethylase (cytochrome P-45014DM): modulation of its enzyme activity by cholesterol feeding [J]. Biol Pharm Bull, 1995, 18: 1009–1011.
- [15] Nguyen LB, Shefer S, Salen G, et al. Cholesterol 7alpha-hydroxylase activities from human and rat liver are modulation *in vitro* posttranslationally by phosphorylation/dephosphorylation [J]. Hepatology, 1996, 24: 1468–1474.
- [16] Vilgrain I, Defaye G, Chambaz EM. Adrenocortical cytochrome P-450 responsible for cholesterol side chain cleavage (P-450_{sc}) is phosphorylated by the calcium-activated, phospholipid-sensitive protein kinase (protein kinase C) [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1984, 125: 554–561.
- [17] Bartlomowicz B, Waxman DJ, Utesch D, et al. Phosphorylation of carcinogen metabolizing enzymes: regulation of the phosphorylation status of the major phenobarbital inducible cytochromes P-450 in hepatocytes [J]. Carcinogenesis, 1989, 10: 225–228.
- [18] Bartlomowicz B, Friedberg T, Utesch D, et al. Regio- and stereoselective regulation of monooxygenase activities by isoenzymes-selective phosphorylation of cytochromes P450 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1989, 160: 46–52.
- [19] Oesch-Bartlomowicz B, Richter B, Becker R, et al. cAMP-dependent phosphorylation of CYP2B1 as a functional switch for cyclophosphamide activation and its hormonal control *in vitro* and *in vivo* [J]. Int J Cancer, 2001, 94: 733–742.
- [20] Johansson I, Eliasson E, Ingelman-Sundberg M. Hormone controlled phosphorylation and degradation of CYP2B1 and CYP2E1 in isolated rat hepatocytes [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1991, 174: 37–42.
- [21] Oesch-Bartlomowicz B, Padma PR, Becker R, et al. Differential modulation of CYP2E1 activity by cAMP-dependent protein kinase upon Ser129 Replacement [J]. Exp Cell Res, 1998, 242: 294–302.
- [22] Acharya P, Liao M, Engel JC, et al. Liver cytochrome P450 3A endoplasmic reticulum-associated degradation (ERAD): a major role for the p97 AAA ATPase in cytochrome P450 3A extraction into the cytosol [J]. J Biol Chem, 2010, 286: 3815–3828.
- [23] Weissman AM. Themes and variations on ubiquitylation [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2001, 2: 169–178.
- [24] Korsmeyer KK, Davoll S, Figueiredo-Pereira ME, et al. Proteolytic degradation of heme-modified hepatic cytochromes P450: a role for phosphorylation, ubiquitination, and the 26S proteasome? [J]. Arch Biochem Biophys, 1999, 365: 31–44.
- [25] Tierney DJ, Hass AL, Koop DR. Degradation of cytochrome P450 2E1: selective loss after labilization of the enzyme [J]. Arch Biochem Biophys, 1992, 293: 9–16.
- [26] Correia MA, Davoll SH, Wrighton SA, et al. Degradation of rat liver cytochromes P450 3A after their inactivation by 3, 5-dicarbethoxy-2, 6-dimethyl-4-ethyl-1, 4-dihydropyridine: characterization of the proteolytic system [J]. Arch Biochem Biophys, 1992, 297: 228–238.
- [27] Murray BP, Correia MA. Ubiquitin-dependent 26S proteasomal pathway: a role in the degradation of native human liver

- CYP3A4 expressed in *Saccharomyces cerevisiae*? [J]. Arch Biochem Biophys, 2001, 393: 106–116.
- [28] Morgan ET. Regulation of cytochrome P450 by inflammatory mediators: why and how? [J]. Drug Metab Dispos, 2001, 29: 207–212.
- [29] Roberts ES, Lin H, Crowley JR, et al. Peroxynitrite-mediated nitration of tyrosine and inactivation of the catalytic activity of cytochrome P450 2B1 [J]. Chem Res Toxicol, 1998, 11: 1067–1074.
- [30] Lin HL, Kent UM, Zhang H, et al. Mutation of tyrosine 190 to alanine eliminates the inactivation of cytochrome P450 2B1 by peroxynitrite [J]. Chem Res Toxicol, 2003, 16: 129–136.
- [31] Ullrich V, Bachschmid M. Superoxide as a messenger of endothelial function [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 278: 1–8.
- [32] Zou M, Martin C, Ullrich V. Tyrosine nitration as a mechanism of selective inactivation of prostacyclin synthase by peroxynitrite [J]. Biol Chem, 1997, 378: 707–713.
- [33] Daiber A, Schöneich C, Schmidt P, et al. Autocatalytic nitration of P450CAM by peroxynitrite [J]. J Inorg Biochem, 2000, 81: 213–220.
- [34] Daiber A, Herold S, Schöneich C, et al. Nitration and inactivation of cytochrome P450BM-3 by peroxynitrite. Stopped-flow measurements prove ferryl intermediates [J]. Eur J Biochem, 2000, 267: 6729–6739.
- [35] Drewett JG, Adams-Hays RL, Ho BY, et al. Nitric oxide potently inhibits the rate-limiting enzymatic step in steroidogenesis [J]. Mol Cell Endocrinol, 2002, 194:39–50.
- [36] Minamiyama Y, Takemura S, Imaoka S, et al. Irreversible inhibition of cytochrome P450 by nitric oxide [J]. J Pharmacol Exp Ther, 1997, 283: 1479–1485.
- [37] Stadler J, Trockfeld J, Schmalix WA, et al. Inhibition of cytochromes P4501A by nitric oxide [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91: 3559–3563.
- [38] Negishi M, Jensen NM, Garcia GS, et al. Structural gene products of the murine Ah complex. Differences in ontogenesis and glucosamine incorporation between liver microsomal cytochromes P1-450 and P-448 induced by polycyclic aromatic compounds [J]. Eur J Biochem, 1981, 115: 585–594.
- [39] Haugen DA, Coon MJ. Properties of electrophoretically homogeneous phenobarbital-inducible and beta-naphthoflavone-inducible forms of liver microsomal cytochrome P-450 [J]. J Biol Chem, 1976, 251: 7929–7939.
- [40] Ichikawa Y, Hiwatashi A. The role of the sugar regions of components of the cytochrome P-450-linked mixed-function oxidase (monooxygenase) system of bovine adrenocortical mitochondria [J]. Biochim Biophys Acta, 1982, 705: 82–91.
- [41] Shimozawa O, Sakaguchi M, Ogawa H, et al. Core glycosylation of cytochrome P-450 (arom). Evidence for localization of N terminus of microsomal cytochrome P-450 in the lumen [J]. J Biol Chem, 1993, 268: 21399–21402.
- [42] Amarneh B, Corbin CJ, Peterson JA, et al. Functional domains of human aromatase cytochrome P450 characterized by linear alignment and site-directed mutagenesis [J]. Mol Endocrinol, 1993, 7: 1617–1624.
- [43] Hiwatashi A, Ichikawa Y. Purification and reconstitution of the steroid 21-hydroxylase system (cytochrome P-450-linked mixed function oxidase system) of bovine adrenocortical microsomes [J]. Biochim Biophys Acta, 1981, 664: 33–48.
- [44] Hiwatashi A, Ichikawa Y. Purification and organ-specific properties of cholecalciferol 25-hydroxylase system: cytochrome P-450D25-linked mixed function oxidase system [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1980, 97: 1443–1449.