

# 铜锌超氧化物歧化酶知识基础及前沿热点分析

邹昱<sup>1</sup>, 李彦君<sup>2</sup>, 杨爽<sup>1</sup>, 张庆文<sup>1</sup>(<sup>1</sup>上海体育学院体育教育训练学院, 上海市 200438; <sup>2</sup>上海体育学院体育新闻传播与外语学院, 上海市 200438)

## 文章亮点:

- 1 此问题的已知信息: 铜锌超氧化物歧化酶主要分布在真核细胞的胞质、胞核、过氧化物酶体和线粒体膜间隙以及细菌的周质空间中, 在神经元中有高水平的表达, 可以保护活细胞免受自由基的损害, 调节细胞活力和新陈代谢。铜锌超氧化物歧化酶氨基酸突变与肌萎缩侧索硬化症息息相关, 是该疾病重要的发病机制之一。
- 2 文章增加的新信息: 以科学知识图谱为研究视角, 将 2005 至 2014 年期间发表的 4 693 篇文献进行了知识基础、研究热点及研究前沿的可视化分析。近 5 年间的研究前沿大多体现在新的有关肌萎缩侧索硬化症致病机制的发现上, 如 TDP-43 聚集、小胶质细胞星形胶质细胞与运动神经元的相互作用、视神经蛋白基因与 NF-kB 抑制剂、C9ORF72 基因上六核苷酸重复扩增、自噬等。
- 3 临床应用的意义: 铜锌超氧化物歧化酶研究热点与前沿的确定, 为探讨这一蛋白质功能的研究, 尤其是临床与其相关的运动神经元疾病的研究明确了目标, 指明了方向。

## 关键词:

组织构建; 组织工程; 铜锌超氧化物歧化酶; 研究现状; 研究热点; 科学知识图谱; CiteSpace; 可视化; 肌萎缩侧索硬化症

## 主题词:

铜; 锌; 超氧化物歧化酶; 肌萎缩侧索硬化

## 摘要

**背景:** 研究发现突变的铜锌超氧化物歧化酶与家族型肌萎缩侧索硬化症有关, 迄今为止已有 100 余种突变位点被发现。

**目的:** 可视化分析肌萎缩侧索硬化症的知识基础、研究热点与前沿。

**方法:** 以 ISI 的 Web Of Science 数据库中 2005 至 2014 年 4 693 篇铜锌超氧化物歧化酶相关文献为分析对象, 运用 CiteSpace III 可视化软件绘制铜锌超氧化物歧化酶文献共被引网络图谱和关键词共现图谱, 结合突现节点文献二次检索的方法, 梳理并揭示铜锌超氧化物歧化酶的知识基础、研究热点与研究前沿, 分析 10 年间年发文量与引文量、研究国家与机构分布、主要来源期刊、高被引文献研究方向、高频次关键词、近 5 年新出现高频关键词等指标。

**结果与结论:** 铜锌超氧化物歧化酶有关研究的年发文量与引文量呈现持续性增长趋势; 美国、中国与日本是该研究领域的中坚力量, 中国科学院在研究机构中有着较强的影响力; 研究领域主要集中在神经科学与神经学、生物化学与分子生物学等领域, 高载文量期刊的高影响因子体现出研究的重要性与创新性; 近 10 年研究的知识基础主要由 10 篇高被引文献组成, 其研究方向主要针对于不同 SOD1 突变位点的发现及测定蛋白质浓度与 SOD1 活性的方法上; 研究热点主要集中在氧化应激、SOD1 突变相关的家族型肌萎缩侧索硬化症与转基因动物模型上。近 5 年间的研究前沿大多体现在新的有关肌萎缩侧索硬化症致病机制的发现上, 如 TDP-43 聚集、小胶质细胞星形胶质细胞与运动神经元的相互作用、视神经蛋白基因与核因子 kB 抑制剂、C9ORF72 上六核苷酸重复扩增、自噬等。

邹昱, 李彦君, 杨爽, 张庆文. 铜锌超氧化物歧化酶知识基础及前沿热点分析[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(42):6861-6867.

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2015.42.025

## Knowledge base, research front and hot spot analysis of Cu-Zn superoxide dismutase

Zou Yu<sup>1</sup>, Li Yan-jun<sup>2</sup>, Yang Shuang<sup>1</sup>, Zhang Qing-wen<sup>1</sup> (<sup>1</sup>College of Physical Education & Training, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China; <sup>2</sup>College of Sports Journalism Communication and Foreign Language, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China)

## Abstract

**BACKGROUND:** Studies have found that Cu-Zn superoxide dismutase (SOD1) is associated with familial amyotrophic lateral sclerosis, opening up a new way of studying molecular genetics. So far more than 100 kinds of SOD1 gene mutations have been found.

**OBJECTIVE:** To analyze the hot spot, research front and knowledge base of amyotrophic lateral sclerosis visually.

**METHODS:** Totally 4 693 relevant articles published from 2005 to 2014 were retrieved from Web of Science in ISI

邹昱, 男, 1993 年生, 河南省南阳市人, 上海体育学院在读硕士, 主要从事计算生物学及体育教育训练学研究。

通讯作者: 张庆文, 教授, 博士生导师, 上海体育学院体育教育训练学院, 上海市 200438

中图分类号:R318

文献标识码:A

文章编号:2095-4344

(2015)42-06861-07

稿件接受: 2015-08-17

http://www.crter.org

Zou Yu, Studying for master's degree, College of Physical Education & Training, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China

Corresponding author: Zhang Qing-wen, Professor, Doctoral supervisor, College of Physical Education & Training, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China

Accepted: 2015-08-17

with "Cu-Zn superoxide dismutase" or "SOD1" as search keywords. With the aid of CiteSpace III software, the visualization mapping of the network in co-cited articles and keywords was drawn to reveal knowledge base, hot spots and research front of SOD1. The parameters include the number of published papers and citations within 10 years, distribution of research countries and institutions, main source journals, research area of highly cited papers, keywords with high-frequency and emerging keywords with high-frequency in recent 5 years.

**RESULTS AND CONCLUSION:** The number of published papers and citations in a year showed a trend of sustained growth. United State, China and Japan rank the top three in this area, in which Chinese Academy of Sciences has a great influence among the research institutions. The research fields of SOD1 focus on neurosciences and neurology, biochemistry and molecular biology and so on. The high impact factors of journals with a large number of articles reflect the importance and innovation of this research. Ten high-cited articles consist of the knowledge base on SOD1, directing to the finding of different sites of SOD1 mutation and the measurement of protein concentrations and activity of SOD. The hot spots of SOD1 mainly focus on oxidative stress, familial amyotrophic lateral sclerosis caused by SOD1 mutation and different types of transgenic animal models. The research fronts mainly focus on the finding of pathogenesis in amyotrophic lateral sclerosis, such as the aggregation of TDP-43, the interaction between astrocytes and motor neurons, optineurin and the inhibitor of nuclear factor- $\kappa$ B, hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72 and autophagy.

**Subject headings:** Copper; Zinc; Superoxide Dismutase; Amyotrophic Lateral Sclerosis

Zou Y, Li YJ, Yang S, Zhang QW. Knowledge base, research front and hot spot analysis of Cu-Zn superoxide dismutase. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2015;19(42):6861-6867.

## 0 引言 Introduction

铜锌超氧化物歧化酶 (Cu-Zn Superoxide Dismutase, SOD1) 主要分布在真核细胞的胞质、胞核、过氧化物酶体和线粒体膜间隙以及细菌的周质空间中, 在神经元中有高水平的表达, 可以保护活细胞免受自由基的损害, 调节细胞活力和新陈代谢。自从1969年 Mccord 与 Fridovieh<sup>[1]</sup> 首次提出铜锌超氧化物歧化酶, 相关研究一直备受科研人员关注, 1993年 Rosen<sup>[2]</sup> 发现突变的铜锌超氧化物歧化酶与家族型肌萎缩侧索硬化症有关, 再次将该酶推向研究的前沿。近年来, 国内专家学者相继从不同角度对铜锌超氧化物歧化酶做了大量的研究, 相关综述也有很多, 但从科学计量学角度探索该领域知识基础、研究热点、研究前沿、知识管理等诸多方面的研究的并不多见。2015年1月作者采用科学知识图谱方法, 对2005至2014年内铜锌超氧化物歧化酶的研究文献进行分析, 绘制铜锌超氧化物歧化酶研究文献的共被引网络图谱和关键词共现图谱, 探讨当前铜锌超氧化物歧化酶的知识基础、研究热点与研究前沿, 为今后的研究提供思路和方向。

## 1 资料和方法 Data and methods

**1.1 文献来源及检索策略** 文章由第一作者在2015年1月进行检索, 检索文献时限为2005至2014年, 文献数据均来源于美国科学情报研究所 (ISI) 的 Web Of Science 数据库 (<http://apps.webofknowledge.com>), 以 "Cu-Zn superoxide dismutase" or "SOD1" 为主题词进行文献检索, 每一条数据下载为全记录格式, 语言类型为 "English", 文献类型为 "Article", 最终获得满足条件的文献4 693篇。每一条数据记录包括文献的作者 (Authors)、题目 (Title)、摘要 (Abstract) 和文献 (Descriptors and Identifiers) 的文章, 排除文献的作者、

题目、摘要和文献不全的文章。

**1.2 研究方法** 应用 CiteSpace III 软件, 采用文献共被引分析方法和词频分析方法, 绘制铜锌超氧化物歧化酶研究领域文献共被引网络图谱和关键词共现图谱, 并对高被引文献及关键词进行分析。

### 1.3 研究指标

**1.3.1 近10年发文量及引文量** 在 Web Of Science 数据库搜索平台中通过分析检索结果得出近10年各年份的发文量及引文量。

**1.3.2 研究国家和机构分布** 对科学文献索引数据进行国家与机构分析, 参数设置如下: 时间区间设置为2005-2014年, 时间跨度为1, 节点类型分别选择国家 (Country)、机构 (Institution), 数据选取为 Top50, 阈值为 (2, 2, 20)(4, 3, 20)(4, 3, 20)。

**1.3.3 主要来源期刊分析** 在 Web Of Science 数据库搜索平台中通过分析检索结果得出所有的来源期刊, 并对载文量在50篇以上的期刊进行详细分析。

**1.3.4 高被引文献研究方向** 对科学文献索引数据进行文献共被引分析, 参数设置如下: 时间区间设置为2005至2014年, 时间跨度设置为1, 节点类型选择共引参考文献 (Cited Reference), 数据选取为 Top50, 得到引文共被引网络图谱, 并将引用频次为240以上的文献作为高被引文献, 分析高被引文献的主要研究方向。

**1.3.5 高频次关键词** 时间间隔设为1年, 主题词来源选择标题 (Title)、摘要 (Abstract), 类型选择突现词 (Burst), 网络节点选关键词 (Keyword), 每部分选择 Top50, 其他均按默认选择运行软件, 得到关键词共现知识图谱, 将频次为300以上的关键词定为高频次关键词。

**1.3.6 近5年新出现的高频次关键词** 分类统计并分析近5年新出现的频次高于50的高频次关键词。

## 2 结果 Results

### 2.1 历时性的研究动态分析

**2.1.1 年发文量与引文量** 年发文量呈现的是一个研究领域的历时性变化趋势,在一定程度上反映了该学科领域学术研究的理论水平和发展速度。同时,引文量是科技工作者对已有科技成果和最新文献信息吸收量的主要标志,同时也是考查其信息利用能力的主要手段。由图1可以看出,近10年有关铜锌超氧化物歧化酶研究的发文量整体上处于上升的趋势,2014年的发文量达到了2005年2倍多,同时引文量也逐年增加,表明近年来该领域研究的关注度正在不断提高。

### 2.2 共时性的研究动态分析

**2.2.1 研究国家和机构分布** 科研成果和著者分析是了解某一学科领域研究力量分布状况的有效方法。利用CiteSpace软件对研究铜锌超氧化物歧化酶的国家、机构进行可视化分析,可以明确研究国家与机构分布,并显示其研究现状。表1显示4 693篇文献作者分布在77个国家,其中频次(频次代表发表文献的数量)超过150的共有10个国家(表1),其发文频次占世界发文数的78.6%以上,其中美国占有绝对优势,占到总成果的28.5%;中国与日本发文频次较为接近,分别为484与431。目前世界上有关铜锌超氧化物歧化酶的研究成果涉及219个机构,发文频次排名前10的机构中,美国占半数,韩国有2所,中国、意大利与瑞典各占1所。

#### 2.2.2 主要来源期刊分析

**主要来源期刊计量分析:** 对一个学术领域做期刊分析能够确定该学科的核心。因此依据期刊载文量检索出的2005至2014年间的4 693篇文献分布于674种来源出版物,其中载文80篇的以上有6种来源出版物,这6种期刊占总刊物数的13.89%以上,载文30-79篇的有13种来源出版物,占总刊物数的13.27%以上。铜锌超氧化物歧化酶的研究共涉及91个学科方向,如神经科学与神经学、生物化学与分子生物学、临床神经病、细胞生物学、内分泌学和代谢、化学、药理学、毒理学、基因与遗传学等。可以看出,铜锌超氧化物歧化酶的研究已延展到各个领域,成为众多学者关注的焦点。

**表2**列出了铜锌超氧化物歧化酶研究文献的高载文量期刊。从刊物出版国别来看,美国占据8种,英国3种,荷兰1种,这也是美国发文总量占据世界第一的原因之一。从刊物影响因子来看,这12种期刊平均影响因子在4.9左右,其中前3名分别是*Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America(PNAS)*、*Journal Of Neuroscience*与*Human Molecular Genetics*,其影响因子均在6.5以上,在一定程度上反映了近年来铜锌超氧化物歧化酶研究受到学者的广泛关注,其研究的重要性与创新性不断在高级别期刊上体现出来。

**主要来源期刊关注点分析:** 对期刊的关注点进行分折,可以帮助该领域研究人员更便捷的查阅发现这一领域的主要进展,制定具有针对性的收藏及期刊投稿方案,及时了解捕捉该领域的前沿动态。其中,载文量最大的*Plos One*是2006年创办的开源性期刊,重点关注生物医学、分子生物学等方向,年发文量较大。*Journal Of Biological Chemistry*长期关注信号转导、生物化学、细胞生物学等领域,是生物化学领域的老牌杂志。*Free Radical Biology And Medicine*是1987年创刊的半月刊杂志,影响因子在这12种期刊中排名第4,它主要关注自由基、氧化应激、生物医学等。*Neurobiology Of Disease*主要探讨神经系统疾病、神经生物学、神经科学等相关主题,也是中科院神经科学分类下的2区期刊。*PNAS*是美国国家科学院出版的综合性期刊,在中科院的分区为1区,它关注的是科学研究领域的最新进展,是一本颇具影响力的杂志。*Amyotrophic Lateral Sclerosis And Frontotemporal Degeneration*、*Human Molecular Genetics*与*Journal Of Neurochemistry*是英国创办的有关退行性疾病、分子遗传与神经化学的杂志,其中*Human Molecular Genetics*是牛津大学在1992年创办的遗传学杂志,接受文章方向较广,近年来影响因子分别为6.677(2013)、7.692(2012)、7.363(2011)与8.058(2010),在遗传疾病相关研究方面享有较高的声誉。*Brain Research*是荷兰研究神经科学方面的重要期刊,1966年创刊,年发文量较大,对神经科学、电生理学、神经病学等相关领域很感兴趣。*Journal Of Neuroscience*同样是在中科院神经科学分类下的2区期刊,鼓励神经学各领域的研究人员和专业人员发表主题涉及神经病学、神经科学等较为广泛领域的研究文章。

**2.3 知识基础—高被引文献研究方向分析** 通过对知识基础进行分析可使研究者更好地了解铜锌超氧化物歧化酶领域的发展脉络和研究基础。从文献计量学来看,共被引关系的实质在于为施引文献所要反应的研究前沿提供知识基础,从而有利于进一步指明研究前沿本质,而知识基础则是由引文文献中被引文献组成的<sup>[3]</sup>。图2呈现了本研究所收录文献的共被引网络图谱,其中图谱中节点的大小代表了该文献被引的频率,厚度越大,说明关注度也越高。在分析知识图谱基础上,对高被引文献进行二次检索,重点分析、探测高被引文献的主要研究方向,从而得出10年来铜锌超氧化物歧化酶研究的知识基础。

这10篇高被引论文不仅是本聚类中的核心文献,也是整个共被引网络中的核心文献(表3)。其中被引频率最高的一篇文章是Rosen等<sup>[2]</sup>于1993年发表在*Nature*上的,充分反映了这篇文章在铜锌超氧化物歧化酶研究中的重要性,在这篇文章中Rosen等首次提出家族性肌萎

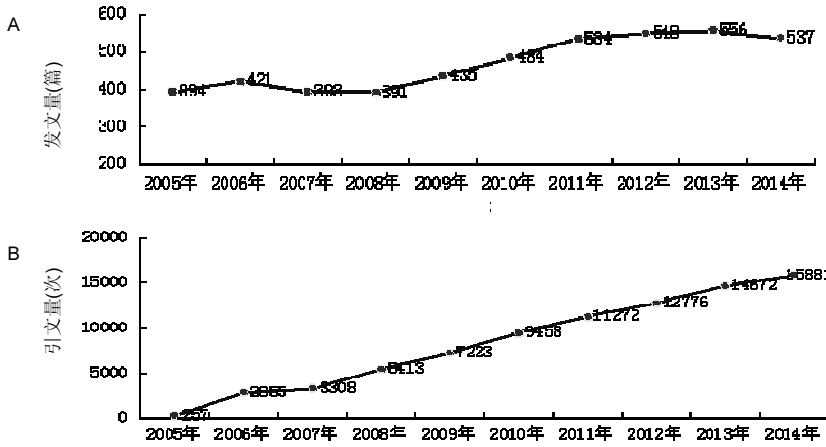


图1 铜锌超氧化物歧化酶相关研究的年发文量与引文量曲线图

图注: 图A为年发文量; B为引文量。

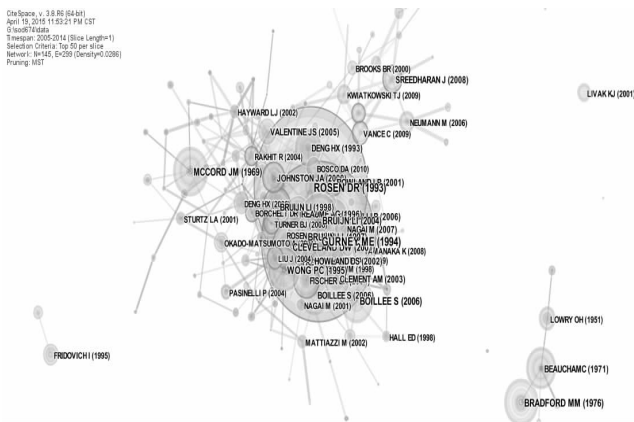


图2 铜锌超氧化物歧化酶研究领域引文共被引网络图谱

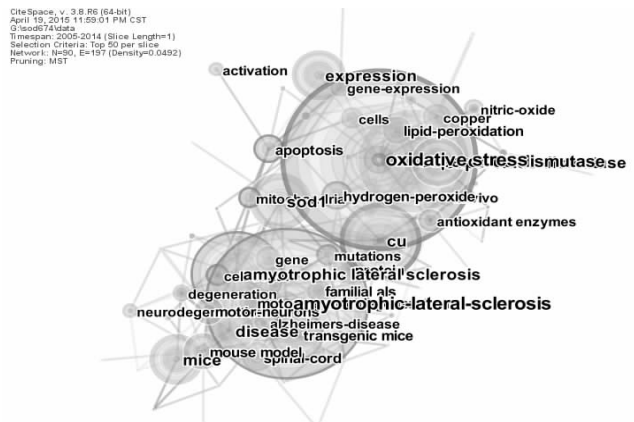


图3 铜锌超氧化物歧化酶研究领域关键词共现可视化图谱

缩侧索硬化症的发病与编码铜锌超氧化物歧化酶的基因突变有关, 并从13个不同的家族性肌萎缩侧索硬化症家族中确定了11个不同铜锌超氧化物歧化酶错义突变, 开启了研究肌萎缩侧索硬化症疾病中铜锌超氧化物歧化酶突变的新时期。Gurney<sup>[4]</sup>发现表达人肌萎缩侧索硬化症突变铜锌超氧化物歧化酶的转基因老鼠在同时也表达它们正常的野生型(WT)铜锌超氧化物歧化酶基因时, 发生的运动神经元疾病(MND)与人肌萎缩侧索硬化症相似, 然而, 表达人的野生型铜锌超氧化物歧化酶转基因老鼠在同时也表达它们正常的野生型(WT)铜锌超氧化物歧化酶基因时, 却不发生MND。2004年, Bruijn<sup>[5]</sup>发现在肌萎缩侧索硬化症患者和转基因鼠的运动神经元中存在细胞质内含物, 且在肌萎缩侧索硬化症小鼠模型中这些内含物包含铜锌超氧化物歧化酶和泛素化蛋白。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)是1938年Marn等首次从牛红血球中分离出来的, Mccord等<sup>[1]</sup>在1969年重新发现这种具有生物活性的蛋白, 弄清了它催化过氧阴离子发生歧化反应的性质, 并将其正式命名为超氧化物歧化酶。Cleveland等<sup>[6]</sup>则从铜锌超氧化物歧化酶突变致毒性、铜锌超氧化物歧化酶细胞内聚集毒性、肌萎缩侧索硬化症兴奋性毒性、肌萎缩侧索硬化症治疗方法等方面进行了详细地综述。根据蛋白质可与

考马斯亮蓝G-250定量结合的原理, Bradford<sup>[7]</sup>在1976年建立了用于测定蛋白质浓度的考马斯亮蓝法, 这种蛋白质测定法具有超过其他几种测定方法的突出优点, 长期以来得到了人们的广泛应用, 也是目前灵敏度最高的蛋白质测定法。通过对表达G37R突变的老鼠模型进行研究, Wong等<sup>[8]</sup>证实了铜锌超氧化物歧化酶上G37R突变能够引起进行性神经元疾病。Bruijn等<sup>[9]</sup>通过对表达不同水平的G85R突变的老鼠进行实验发现, 老鼠在铜锌超氧化物歧化酶活性不变或增强时均表现出进行性运动神经元缺失, 表达低水平的突变已经足够引起严重的运动神经元疾病, 而且在实验老鼠身上, G85R的毒性要比G93A和G37R强。Boillee等<sup>[10]</sup>则通过选择性敲除小胶质细胞中的突变铜锌超氧化物歧化酶使得突变小鼠存活增加, 强调了表达突变铜锌超氧化物歧化酶的胶质细胞在肌萎缩侧索硬化症中的病理作用, 认为在肌萎缩侧索硬化症疾病的后期小胶质细胞释放的毒性造成了运动神经元的进一步丢失。Beaucham<sup>[11]</sup>利用核黄素在光照下产生超氧自由基, 用硝基蓝四氮唑(nitro blue tetrazolium, NBT)光照还原反应间接测定超氧化物歧化酶活性, 他用产生超氧自由基的系统检测产生的自由基, 再以超氧化物歧化酶对此反应的抑制程度来间接测定超氧化物歧化酶的活性。硝基蓝四氮唑光照还原反

表 1 铜锌超氧化物歧化酶研究国家和机构分布

排名	国家	篇数	排名	机构	篇数
1	美国	1 338	1	约翰·霍普金斯大学(美国)	62
2	中国	484	2	西北大学(美国)	53
3	日本	431	3	中国科学院(中国)	50
4	意大利	344	4	罗马第二大学(意大利)	45
5	韩国	247	5	国立汉城大学(韩国)	45
6	加拿大	187	6	康奈尔大学(美国)	45
7	英国	177	7	于默奥大学(瑞典)	41
8	德国	177	8	哈佛大学(美国)	40
9	法国	153	9	翰林大学(韩国)	37
10	波兰	153	10	加州大学圣地亚哥分校(美国)	35

表 2 铜锌超氧化物歧化酶 2005 至 2014 年的研究主要来源期刊

期刊	篇数	影响因子(2013 年度)	出版国家
<i>Plos One</i>	173	3.534	美国
<i>Journal Of Biological Chemistry</i>	112	4.6	美国
<i>Free Radical Biology And Medicine</i>	104	5.71	美国
<i>Neurobiology Of Disease</i>	92	5.202	美国
<i>Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America</i>	88	9.809	美国
<i>Amyotrophic Lateral Sclerosis And Frontotemporal Degeneration</i>	83	2.591	英国
<i>Human Molecular Genetics</i>	69	6.677	英国
<i>Brain Research</i>	68	2.828	荷兰
<i>Journal Of Neurochemistry</i>	59	4.244	英国
<i>Experimental Neurology</i>	58	4.617	美国
<i>Biochemical And Biophysical Research Communications</i>	51	2.281	美国
<i>Journal Of Neuroscience</i>	51	6.747	美国

表 3 研究领域 10 篇高被引文献的代表人物及其热点论文

作者	频次(次)	年份(年)	作者	频次(次)	年份(年)
Rosen DR <sup>[2]</sup>	823	1993	Bradford MM <sup>[7]</sup>	263	1976
Gurney ME <sup>[4]</sup>	811	1994	Wong PC <sup>[8]</sup>	257	1995
Brujin LJ <sup>[5]</sup>	308	2004	Brujin LJ <sup>[9]</sup>	253	1997
Mccord JM <sup>[1]</sup>	276	1969	Boillee S <sup>[10]</sup>	251	2006
Cleveland DW <sup>[6]</sup>	273	2001	Beauchamp <sup>[11]</sup>	243	1971

表 4 铜锌超氧化物歧化酶研究领域的高频关键词

关键词	频次	关键词	频次
oxidative stress	1 287	expression	455
amyotrophic-lateral-sclerosis	1 110	disease	429
superoxide-dismutase	802	mice	424
amyotrophic lateral sclerosis	653	superoxide dismutase	412
cu	561	transgenic mice	395
sod1	493	mouse model	322

表 5 2010 至 2014 年新出现的高频关键词

年份(年)	关键词	频次
2010	antioxidant	120
	tdp-43	81
2011	inflammation	104
	nf-kappa-b	86
2012	hexanucleotide repeat	51
2013	autophagy	55
2014	protein aggregation	69
	pathway	63

应法是测定超氧化物歧化酶活性常用的方法之一, 被广泛应用于生物、医学、植物学等领域。

**2.4 研究热点—高频关键词分析** 通过了解铜锌超氧化物歧化酶的研究热点, 有助于把握整个研究动向, 使研究人员更加明确有关铜锌超氧化物歧化酶研究的发展态势。关键词是文献的核心, 是对研究内容的高度概括与集中描述, 所以作者运用 CiteSpace 信息可视化分析软件, 以关键词共现知识图谱展现近 10 年内相关文献集中反映的关键词汇(图 3), 并对高频关键词进行分析以把握铜锌超氧化物歧化酶研究的热点领域。

作者选择频次在 300 以上的关键词为高频关键词, 如表 4 所示, 其中氧化应激、肌萎缩侧索硬化症是出现频次最高的两个关键词, 均达到了 1 000 以上。铜锌超氧化物歧化酶所扮演的角色正是氧化应激的“保护伞”, 氧化应激是一个复杂的动态的过程, 是由于过多的活性氧和自由基不能被细胞清除引起<sup>[12]</sup>。在生理状态下, 机体内多种抗氧化酶不断地清除细胞内产生的活性氧和自由基, 以保持氧化-还原系统的稳定。平衡被破坏则会导致活性氧过剩, 从而产生氧化应激, 影响细胞正常生理功能, 最后导致细胞变性坏死。自从 1993 年 Rosen<sup>[2]</sup> 提出家族性肌萎缩侧索硬化症的发病与编码铜锌超氧化物歧化酶的基因突变有关, 这 30 年中对于铜锌超氧化物歧化酶与肌萎缩侧索硬化症的研究一直备受关注。肌萎缩侧索硬化症是一种影响运动神经元的进行性神经变性疾病, 主要通过侵犯脊髓前角、脑干和额叶皮质运动神经元, 使其发生进行性改变而引起相应的上、下运动神经元损害, 所以与肌萎缩侧索硬化症相关的关键词均有较高频次。同时, 氧化应激损伤亦是肌萎缩侧索硬化症致病机制中重要学说之一。Shibata 等<sup>[13]</sup> 学者发现在肌萎缩侧索硬化症患者脑脊液和大脑皮质中, DNA 氧化损伤的标记物: 8-羟基-2-脱氧鸟苷酸浓度升高, 脂质过氧化产物丙二醛含量增多, 肯定了氧化应激在肌萎缩侧索硬化症发病过程中的作用。铜锌超氧化物歧化酶是超氧化物歧化酶的一种, 真核细胞的铜锌超氧化物歧化酶是 32 ku 的同源二聚体, 每个亚基上结合 1 个铜和 1 个锌, 铜对其歧化超氧阴离子的活性起着至关重要的作用, 它不能被其他的金属离子代替, 所以超氧化物歧化酶、Cu 均有较高的频次。迄今为止, 人突变超氧化物歧化酶基因老鼠是肌萎缩侧索硬化最为相似的实验动物模型, 各种表达不同位点突变的转基因老鼠成为了研究肌萎缩侧索硬化的重要模型, 如表达人正常铜锌超氧化物歧化酶基因的 Hwt 铜锌超氧化物歧化酶模型<sup>[14]</sup>、表达 A4V 突变铜锌超氧化物歧化酶的铜锌超氧化物歧化酶 A4V<sup>[15-16]</sup>、表达 G93A 突变铜锌超氧化物歧化酶的铜锌超氧化物歧化酶 G93A<sup>[14]</sup>、表达正常铜锌超氧化物歧化酶和 N 端 126aa 的 hwt 铜锌超氧化物歧化酶/铜锌超氧化物歧化酶<sup>126Z</sup><sup>[17]</sup> 以及表达 H46R 突变铜锌超氧化物歧

化酶的铜锌超氧化物歧化酶H46R<sup>[18]</sup>。目前已经建立多种转基因动物模型,一些著名的转基因老鼠模型甚至已经实现商品化,如铜锌超氧化物歧化酶G<sup>93A</sup>转基因动物模型,就可以从 Jackson Laboratory获得,这明显加速了研究进程。

**2.5 研究前沿—近5年新出现高频次关键词分析** 为了对关键词有更清晰的认识,作者对不同年份出现的关键词进行了分类,排除了意思相同或相近的关键词,重点关注了近5年新出现的高频次关键词(频次高于50),它们可以一定程度上代表最近铜锌超氧化物歧化酶研究领域的研究前沿,如表5所示。2010年新出现的关键词是antioxidant与tdp-43。Antioxidant(抗氧化剂)是指能减缓或防止氧化作用的分子,氧化是一种使电子自物质转移至氧化剂的化学反应,过程中可生成自由基,进而启动链反应。当链反应发生在细胞中,细胞受到破坏或凋亡。抗氧化剂则能去除自由基,终止连锁反应并且抑制其它氧化反应,同时其本身被氧化<sup>[19]</sup>。有多种抗氧化酶相互作用所构成的网络能保护细胞免受氧化应激的损害,超氧化物歧化酶便是其中之一,它可以催化超氧化物阴离子分解产生氧气和过氧化氢,接着由多个不同的超氧化物酶来负责清除过氧化氢<sup>[20]</sup>。Neumann等<sup>[21]</sup>在肌萎缩侧索硬化症和伴有泛素阳性包涵体的额颞叶痴呆患者的神经细胞和神经胶质细胞的胞浆中发现了主要成分是tdp-43的泛素化包涵体,指出tdp-43聚集与神经元发生自主性退行性改变密切相关。而在2010年, Higashi等<sup>[22]</sup>首次提出突变铜锌超氧化物歧化酶蛋白和TDP-43的相互作用可能与肌萎缩侧索硬化症的发病有关,但该相互作用还需大量实验验证。inflammation、nf-kappa-b是2011年新出现的3个关键词。随着近年来对多种神经系统神经退行性病变(如阿尔茨海默症、帕金森症、多发性硬化)发病机制的研究表明,胶质细胞介导的脑内慢性炎症反应可能是其重要病理特征之一,由此提出了此类疾病的炎症机制,非运动神经元细胞特别是小胶质细胞星形胶质细胞与运动神经元的相互作用在肌萎缩侧索硬化症发病中的作用日益受到关注<sup>[23]</sup>。利用细胞转染技术, Maruyama等<sup>[24]</sup>对视神经蛋白的突变基因Q398X与E478G进行分析发现这两种突变破坏了nuclear factor kappa B (NF-kB)活性抑制作用,指出视神经蛋白基因与肌萎缩侧索硬化症的发病机制有关,而且NF-kB抑制剂能够用来治疗肌萎缩侧索硬化症。2012年新出现的关键词只有hexanucleotide repeat, DeJesus- Hernandez等<sup>[25]</sup>应用高通量测序技术发现在肌萎缩侧索硬化症和FTD患者中, C9ORF72基因的第1个内含子非编码区GGGGCC六核苷酸发生了大量重复突变,通过临床系列分析发现C9ORF72上六核苷酸重复扩增是家族性FTD(11.7%)和家族性肌萎缩侧索硬化症(23.5%)最常见的基因异常,是肌萎缩侧索硬化症和FTD(额颞叶痴呆)

的一个主要原因。Renton等<sup>[26]</sup>指出在C9ORF72第1个基因内区有一个六核苷酸(GGGGCC)重复扩增在影响单体型,而且这个重复扩增存在于1/3远系繁殖的欧洲血统家族性肌萎缩侧索硬化症里,成为目前为止这些致命神经退行性疾病最常见的遗传原因。2013年新出现的关键词为autophagy。自噬(autophagy)是继凋亡(apoptosis)后,当前生命科学最热的研究领域, Pubmed记录的文献数量在最近几年呈爆炸式增长。自噬在机体的免疫、感染、炎症、肿瘤、心血管病、神经退行性病的发病中具有十分重要的作用,可防止一些疾病的发生<sup>[27]</sup>。目前有关自噬作用研究最热的3类疾病是肿瘤、神经退行性疾病和免疫性疾病,而在神经退行性疾病中,细胞内的自噬作用可以降解异常的TDP-43,自噬作用的调控可以作为由TDP-43引起的神经退行性疾病的治疗手段之一。2014年出现了两个新关键词protein aggregation、pathway, SOD1的错误折叠与蛋白聚集与肌萎缩侧索硬化症息息相关,有实验表明在家族型和散发型肌萎缩侧索硬化症患者身上发现的不可溶的蛋白聚集是免疫反应性的铜锌超氧化物歧化酶<sup>[28]</sup>。同时,家族型与散发型肌萎缩侧索硬化症共同的分子机制一直是科研人员关注的焦点, Ivanova等<sup>[29]</sup>发现铜锌超氧化物歧化酶C末端的两个片段<sup>101</sup>DSVISLS<sup>107</sup>与<sup>147</sup>GVIGIAQ<sup>153</sup>很有可能参与铜锌超氧化物歧化酶纤维具核化和生长的过程,它们的暴露与相互作用为家族型和散发型肌萎缩侧索硬化症提供了一个共同的分子路径。

### 3 总结 Conclusion

纵观2005至2014年科学文献索引数据库中有关铜锌超氧化物歧化酶的研究文献发现:①近年来铜锌超氧化物歧化酶领域研究的关注度不断提高,美国、日本与中国是研究的中坚力量。②铜锌超氧化物歧化酶的研究领域主要集中在神经科学与神经学、生物化学与分子生物学等热点研究领域,体现出多学科交叉渗透和融合的特点。高载文量期刊的平均影响因子在4.9左右,其中不乏PNAS, Journal Of Neuroscience等高质量期刊,体现出研究的重要性与创新性。③铜锌超氧化物歧化酶研究的知识基础由10篇高被引文献组成,它们的研究方向主要在于不同铜锌超氧化物歧化酶突变基因致使肌萎缩侧索硬化症的机制以及测定蛋白质浓度与铜锌超氧化物歧化酶活性的方法上。④铜锌超氧化物歧化酶领域研究热点主要集中在氧化应激、铜锌超氧化物歧化酶突变导致的家族性肌萎缩侧索硬化症与转基因动物模型上。⑤研究前沿大多体现在新的有关肌萎缩侧索硬化症致病机制的发现上,如TDP-43聚集、小胶质细胞星形胶质细胞与运动神经元的相互作用、视神经蛋白基因与核因子kB抑制剂、C9ORF72上六核苷酸重复扩增、自噬等。

**作者贡献:** 综述设计为第一作者和通讯作者, 资料收集均为全体作者, 第一作者成文, 通讯作者审核。

**利益冲突:** 所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

**伦理问题:** 没有与相关伦理道德冲突的内容。

**学术术语:** 源于生命体的活性物质超氧化物歧化酶于 1938 年首次从牛红细胞中分离得到, 能消除生物体在新陈代谢过程中产生的有害物质, 对人体不断地补充超氧化物歧化酶具有抗衰老的特殊效果。但从 1969 年 McCord 等重新发现这种蛋白并且发现了它们的生物活性后, 才弄清了它催化过氧阴离子发生歧化反应的性质, 所以正式将其命名为超氧化物歧化酶。

**作者声明:** 文章第一作者对研究和撰写的论文中出现的不良行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

#### 4 参考文献 References

- [1] McCord JM, Fridovich I. Superoxide Dismutase-An Enzymic Function for Erythrocyte (Hemocytin). J Biol Chem. 1969; 244:6049.
- [2] Rosen DR, Siddique T, Patterson D, et al. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. Nature. 1993;362(6415):59-62.
- [3] Persson O. The intellectual base and research fronts of JASIS 1986-1990. Journal of the American society for information science. 1994;45(1):31-38.
- [4] Gurney ME, Pu H, Chiu AY, et al. Motor-neuron degeneration in mice that express a human Cu,Zn superoxide-dismutase mutation. Science. 1994;264(5166):1772-1775.
- [5] Bruijn LI, Miller TM, Cleveland DW. Unraveling the mechanisms involved in motor neuron degeneration in ALS. Annu Rev Neurosci. 2004;27:723-749.
- [6] Cleveland DW, Rothstein JD. From charcot to lou gehrig: deciphering selective motor neuron death in als. Nat Rev Neurosci. 2001;2(11):806-819.
- [7] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 1976;72:248-254.
- [8] Wong PC, Pardo CA, Borchelt DR, et al. An adverse property of a familial ALS-linked SOD1 mutation causes motor neuron disease characterized by vacuolar degeneration of mitochondria. Neuron. 1995;14(6):1105-1116.
- [9] Bruijn LI, Miller TM, Cleveland DW. Unraveling the mechanisms involved in motor neuron degeneration in ALS. Annu Rev Neurosci. 2004;27:723-749.
- [10] Boillée S, Yamanaka K, Lobsiger CS. Onset and progression in inherited ALS determined by motor neurons and microglia. Science. 2006;312(5778):1389-1392.
- [11] Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Anal Biochem. 1971;44(1):276-287.
- [12] Cvorovic J, Tramer F, Granzotto M, et al. Oxidative stress-based cytotoxicity of delphinidin and cyanidin in colon cancer cells. Arch Biochem Biophys. 2010;501(1):151-157.
- [13] Shibata N, Nagai R, Miyata S, et al. Nonoxidative protein glycation is implicated in familial amyotrophic lateral sclerosis with superoxide dismutase-1 mutation. Acta Neuropathol. 2000;100(3):275-284.
- [14] Durand J, Amendola J, Bories C, et al. Early abnormalities in transgenic mouse models of amyotrophic lateral sclerosis. J Physiol Paris. 2006;99(2-3):211-220.
- [15] Furukawa Y, Fu R, Deng HX, et al. Disulfide cross-linked protein represents a significant fraction of ALS-associated Cu, Zn-superoxide dismutase aggregates in spinal cords of model mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006;103(18):7148-7153.
- [16] Gurney ME. Transgenic-mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. N Engl J Med. 1994;331(25):1721-1722.
- [17] Avossa D, Grandolfo M, Mazzarol F, et al. Early signs of motoneuron vulnerability in a disease model system: Characterization of transverse slice cultures of spinal cord isolated from embryonic ALS mice. Neuroscience. 2006; 138(4):1179-1194.
- [18] Kikuchi H, Almer G, Yamashita S, et al. Spinal cord endoplasmic reticulum stress associated with a microsomal accumulation of mutant superoxide dismutase-1 in an ALS model. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006;103(15):6025-6030.
- [19] Sies H. Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. Experimental physiology. 1997;82(2): 291-295.
- [20] Ho YS, Magnenat JL, Gargano M, Cao J. The nature of antioxidant defense mechanisms: a lesson from transgenic studies. Environ Health Perspect. 1998;106 (Suppl 5):1219-1228.
- [21] Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK, et al. Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. Science. 2006;314(5796):130-133.
- [22] Higashi S, Tsuchiya Y, Araki T, et al. TDP-43 physically interacts with amyotrophic lateral sclerosis-linked mutant CuZn superoxide dismutase. Neurochem Int. 2010;57(8):906-913.
- [23] Van Den Bosch L, Robberecht W. Crosstalk between astrocytes and motor neurons: what is the message? Exp Neurol. 2008; 211(1):1-6.
- [24] Maruyama H, Morino H, Ito H, et al. Mutations of optineurin in amyotrophic lateral sclerosis. Nature. 2010;465(7295):223-226.
- [25] DeJesus-Hernandez M, Mackenzie IR, Boeve BF, et al. Expanded GGGGCC Hexanucleotide Repeat in Noncoding Region of C9ORF72 Causes Chromosome 9p-Linked FTD and ALS. Neuron. 2011;72(2):245-256.
- [26] Renton AE, Majounie E, Waite A, et al. A Hexanucleotide Repeat Expansion in C9ORF72 Is the Cause of Chromosome 9p21-Linked ALS-FTD. Neuron. 2011;72(2):257-268.
- [27] Kabuta T, Suzuki Y, Wada K. Degradation of amyotrophic lateral sclerosis-linked mutant Cu, Zn superoxide dismutase proteins by macroautophagy and the proteasome. J Biol Chem. 2006;281:30524-30533.
- [28] Ohi T, Nabeshima K, Kato S, et al. Familial amyotrophic lateral sclerosis with His46Arg mutation in Cu/Zn superoxide dismutase presenting characteristic clinical features and Lewy body-like hyaline inclusions. J Neurol Sci. 2004;225(1-2):19-25.
- [29] Ivanova MI, Sievers SA, Guenther EL, et al. Aggregation-triggering segments of SOD1 fibril formation support a common pathway for familial and sporadic ALS. Proc Natl Acad Sci USA. 2014; 111(1):197-201.