

## 硒蛋白

张宝弟(介评) 郭雄(审校)

(<sup>1</sup> 陕西省地方病防治研究所, 陕西 西安 710003; <sup>2</sup> 西安交通大学医学院地方病研究所, 陕西 西安 710061)

**摘要:** 谷胱甘肽过氧化物酶、硒蛋白 P、I 型碘化甲腺氨酸 5'-脱碘酶和硫氧还蛋白还原酶在动物和人类研究中已得到确定。现就有关研究结果做一介绍。

**关键词:** 硒蛋白; 谷胱甘肽过氧化物酶; 硫氧还蛋白系统

中图分类号: Q581 文献标识码: B 文章编号: 1001-8883(2004)03-0115-03

所有哺乳动物硒蛋白所含的 Se 以硒代半胱氨酸(Sec)形式存在, 由 UGA 三联体编码。有 2 种形式的 tRNA<sup>[Ser]Sec</sup> 是合成所有硒蛋白所必需的。两种 tRNA<sup>[Ser]Sec</sup> 既是合成 Sec 的位点, 又是正确识别硒蛋白 mRNAs 中的密码子 UGA 的分子。22 种已知真核生物硒蛋白按 Sec 定位和功能属性可组成不同的硒蛋白组。谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、硒蛋白 P、I 型碘化甲腺氨酸 5'-脱碘酶(DI-I)和硫氧还蛋白还原酶(TR)在动物和人类已确认。大约有一半的已知硒蛋白具有抗氧化功能。因而由于缺硒而增加患病危险可能与氧化应激的增加和氧化还原信号的改变有关。硒蛋白可按 Sec 在硒蛋白多肽中的位置而细分组。I 组(GPx 组)最多见, 包括 Sec 位于相对较短的功能域的 N-末端, 有 80~250 个氨基酸残基。二级结构中含有  $\alpha$  螺旋和  $\beta$  片层。在 GPx 组蛋白质中, Sec 或在催化形成亚硒酸中被氧化, 或形成硫硒键。第 2 组(TR 组)Sec 存在于 C-末端序列, 包括 3 种哺乳动物 TRs 和果蝇富 G 蛋白。另外一组由 3 种脱碘酶同功酶 Se-R、Se-N 及 SPS2 和 15 kDa 硒蛋白组成。

### 1 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)组

GSH-Px 类包括 GPx 同功酶、Se-W、Se-P、Se-Pb、Se-T、Se-T2 和果蝇 BthD。哺乳动物 GPx 同功酶催化各种氢过氧化物 GSH 依赖性降解。Se 的保护性作用是通过细胞液中 GSH-Px 的发现而证实的。GSH-Px 的主要生理作用是维持细胞内适当的低水平氢过氧化物, 减少自由基的潜在性损害。它提

供了第二道防线, 以防御氢过氧化物对细胞膜和其它结构的损害。Se 是 GSH-Px 的必需组分, 与维生素 E 协同调节脂质过氧化反应。在与过氧化氢酶的串联反应中, 它通过谷胱甘肽还原酶和戊糖磷酸盐旁路中黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)降解氢过氧化物成为水。目前已知 GSH-Px 家族中有 4 个成员。GSH-Px1 是哺乳动物最丰富的硒蛋白, 其活性由肝脏中的 Se 水平所调节, 是一种在各种类型细胞均表达的胞浆, 被认为是哺乳动物体内的一种主要的抗氧化蛋白质。GSH-Px2 与 GSH-Px1 同源性最接近, 但主要发现于胃肠道。GSH-Px3 是血浆中含量仅次于 Se-P 的硒蛋白, 其免疫组化特征明显与 GSH-Px1 不同, 是一种类似 GSH-Px1 和 GSH-Px2 的分泌型糖蛋白, 是由约 22kDa 多肽组成的同型四聚体。GSH-Px4 又称磷脂过氧化氢谷胱甘肽过氧化物酶(PHGPx), 能还原特定的酯化的脂肪酸氢过氧化物为磷脂, 与其它的亚型比较, 它是约 20 kDa 的单肽, 定位于细胞液和线粒体。已证明 Se 状态调节 GSH-Px4 和 GSH-Px1 方式不同。

### 2 硒蛋白 P

硒蛋白 P(Se-P)是主要的血浆硒蛋白。大鼠血浆硒蛋白 P 肽浓度为 30 mg/L, 占其血浆 Se 的 60% 以上。在人血浆, 其肽浓度较低, 为 5 mg/L。Se-P 的半衰期相对较短, 为 3~4 h, 而 GSH-Px3 为 12 h。Se-P 结合于细胞, 且在各种组织如动脉内皮细胞和肝窦状隙内皮细胞表达。Se-P 是一种肝素结合蛋白, 通过连接于类肝素硫酸蛋白聚糖与细胞结合。蛋白质与肝素结合是由带正电的氨基酸作为中介, 通常是赖氨酸和精氨酸。当组氨酸带正电荷时, 也参与肝素的结合。在人肝脏、肾脏、肠已检测到 Se-P mRNA。在培养的细胞中, 星形细胞、肌细胞、肝细胞和睾丸间质细胞表达 Se-P。然而, Se-P mRNA 在结肠

收稿日期: 2004-02-13

作者简介: 张宝弟(1971-), 男, 陕西凤翔人, 主管医师, 在该硕士, 主要从事大骨节病防治研究。

审校者: 郭雄, 教授, 博士生导师, 主要从事地方病和微量元素的研究。

腺瘤表达低于正常的结肠粘膜,在大白鼠肾细胞癌模型则检测不到。Se-P 是唯一哺乳动物特有的含有多种 Se-Cys 残基的硒蛋白,并且其水平受 Se 状态的影响远比其它硒蛋白如 GSH-Px1 小。用糖苷酶消化 Se-P 表明它含有碳水化合物。从肺腺癌细胞系分离得到一种新的硒蛋白,这种蛋白质是一种 57 kDa 同型二聚体,含有 Se-Cys,然而因缺少糖基而与 Se-P 不同。Se-P 已被提议作为细胞外的氧化剂防御物,能把 Se 从肝脏转运到其它组织。肝硬化患者 Se-P 水平降低,且与疾病严重程度相关,患病的肝脏造成 Se-P 合成机能障碍是血浆 Se-P 浓度低的原因。

### 3 硒蛋白 W 和 R

硒蛋白 W (Se-W) 是一种低分子量硒蛋白 (87 个氨基酸蛋白质), 含有一个 Se-Cys 残基, 有 4 种存在形式。一种形式是 GSH 结合于特殊的半胱氨酸残基, 表明 Se-W 可能具有氧化还原功能。Se-W 仅在灵长目和人类以低水平普遍表达。Se-W 在骨骼肌、心肌和大脑表达最高。与之相反, Se-W 在啮齿动物部分器官中表达。用 Se 喂养大鼠, Se-W 在骨骼肌和大脑蓄积, 在脾、睾丸较低, 而在肝脏、肾脏、肠粘膜、肺、血浆和红细胞不出现。饮食 Se 缺乏导致白肌病引起灵长目和羊骨骼和心肌钙化, 而在人类则与克山病心肌病有关。啮齿动物心肌不受硒耗竭的影响。硒耗竭减少 Se-W mRNA 半衰期。Se-R 在羧基端部分包含 Se-Cys, 与已知的蛋白质无同源性, 功能仍然未知。

### 4 硫氧还蛋白类

硫氧还蛋白 (Trx) 体系包括 NADPH, Trx 和 TR。Trx 是一种普遍存在的小分子蛋白质, 含有 104 个氨基酸, 一个 S-S 桥, 两个 SH 基团和保守的活性位点 (Trp-Cys-Gly-Pro-Cys)。Trx 是一种广泛存在的具有氧化还原作用的蛋白质, 能调节部分细胞内氧化还原作用依赖性过程, 促进正常和肿瘤细胞的增殖。Trx 通过硫醇氧化还原作用调节酶和转录因子, 是核糖核苷酸还原酶的氢供体, 是一种与 DNA 合成所必需的修复机制有关的蛋白质, 也是一种与氧化还原作用调节有关的二硫化物还原酶 (还原的 Trx 比 DTT 效率高  $10^4 \sim 10^6$  倍)。

亚硒酸盐、GS-Se-GS 和 Se-Cys 可被 Trx 有效地还原, 也可直接被 NADPH 和哺乳动物 TR 所还原 (但不能被大肠杆菌酶还原)。Trx 自发地氧化从而失去刺激细胞生长的能力, 但保持了人 TR 催化的 NADPH 依赖性还原底物的活性。而且, Trx 也自

发性缓慢转化为一种同型二聚体, 该二聚体无刺激细胞增殖活性, 也不是 TR 还原作用的底物。2 种转化均可由化学性氧化剂所诱导, 并且在硫醇还原剂二硫苏糖醇处理下该过程是可逆的。二硫化物还原可导致细胞外蛋白如凝结因子、胰岛素和 PDGF 灭活。Trx 可作为巨噬细胞的生长因子, 也可充当  $\gamma$ -干扰素抑制细胞生长的媒介。Trx 可在人体大多数细胞中表达, 也可在激活或氧化应激作用下由淋巴细胞等所分泌, 发挥辅细胞因子和细胞保护活性。Trx 在一些肿瘤细胞过度表达和分泌, 在地塞米松、癌基因抑制药、鬼臼亚乙叉和毒胡萝卜素诱导凋亡时表达减少, 而不是在由 N-乙酰基鞘氨醇所诱导时。因而, 在人肿瘤细胞, 升高的 Trx 可通过抑制自发凋亡增强肿瘤生长, 并且使肿瘤对药物诱导的凋亡的敏感性下降。

哺乳动物 TR, 如硫辛酰胺脱氢酶和谷胱甘肽还原酶, 是二聚黄素酶吡啶核苷二硫化物氧化还原酶家族的成员之一。这些蛋白质是含有硒代半胱氨酸 (Se-Cys) 蛋白质的同型二聚体, 由 2 份 116000 分子量能催化 NADPH 依赖性还原过程的亚基组成。在 TRs, Se-Cys 位于具有氧化还原作用序列的羧基端 (Gly-Cys-Se-Cys-Gly), 该部分是酶活性所必需的。通过降低在许多人类肿瘤过度表达的 Trx, TR 在调节正常和肿瘤细胞生长中起一定作用。Se 缺乏可导致 TR 活性降低, 在肝脏其活性与对照组相比降低到 4.5%, 在肾脏则降低到 11%, 而大脑 TR 活性则不受缺 Se 的影响。金元素抑制肝脏 TR 活性, 是通过作用于含硒酶方式。Se 对 TR 活性的影响因细胞类型的不同而不同。在亚硒酸钠形式的 Se 为  $1 \mu\text{mol/L}$  时, MCF-7 乳腺癌细胞 TR 活性增加 37 倍, HT-29 结肠癌细胞 TR 活性增加 19 倍, 而 A549 肺癌细胞 TR 活性则增加 8 倍, 相反 Jurkat 和 HL-60 白血病细胞却没有检测到 TR 活性增加。在同样条件下, TR mRNA 水平增加 2.5 倍, 且其稳定性显著增强 (降解半衰期 Se 存在时为 21 h, 而缺 Se 时为 10 h)。Trx mRNA, 蛋白质水平和 Trx mRNA 稳定性不受 Se 所影响。因而, Se 对 TR 活性的影响是特异性的, 可能是由于 Se 参入酶增加的原因。TR1 作为一种胞浆酶, 是哺乳动物细胞中最丰富的 TR 同工酶。TR2 是 TR 羧基端域和氨基端谷氧还蛋白域融合体, 使 TR2 具有 GSH 还原功能, 同时保持 Trx 还原作用的特异性。TR2 特异地在睾丸组织表达, 具有青春期依赖性。TR3 是一种线粒体酶, 但也可靶向其它细胞代谢区。

硒蛋白-硒蛋白 P 也被作为反应人体内硒水平的一个很好的指标。血浆中的硒水平及谷胱甘肽酶的活性受不同的摄食成分影响,因为食物是体内硒的主要来源。膳食中的硒水平又受土壤中硒水平的影响,在中国的一些地区,低硒地带人群硒的摄入水平显著地低于高硒地区的人群。在委内瑞拉和美国的南达科他州也有硒摄入过高的报告。这些地区土壤及农产品中的硒含量也高。在欧洲一些国家也作了一些硒摄入水平的研究,结果表明这些地区硒摄入水平平均很低。

在澳大利亚很少有有关人群硒摄入水平的研究,因而急需有关人群膳食硒摄入水平的研究和有关数据以填补这方面的空白。Reilly 等 1990 年在健康儿童及其苯丙酮尿症患者同胞中做了膳食中硒摄入水平的研究,但是统计数据表明澳大利亚的硒摄入水平是适中的,尤其是与美国相比。澳大利亚成年人硒的摄入水平在 57~87 mg/d。国家健康及医学研究委员会(NHMRC)为澳大利亚居民提出了一个硒的推荐每日摄入量(RDI)。由于澳大利亚膳食调查数据的不足,澳大利亚 RDI 是依据其他国家的调查数据制定的。

澳大利亚膳食硒的主要来源是小麦制品,如面包和谷类。澳大利亚的肉产品与其他国家相比硒含量也较高。一项有关澳大利亚牛奶中硒的调查显示:牛奶中硒的变化量很大,夏季最高,奶对膳食硒的影响较大,尤其是在幼儿期。在昆士兰州进行的一项幼儿母乳摄入量研究也表明母乳是膳食硒的主要来源。

(上接第 116 页)

### 5 I 型碘化甲腺氨酸 5'-脱碘酶(DI-I)

甲状腺合成两种重要的激素,一种是三碘甲腺原氨酸( $T_3$ ),是主要的具有生物活性的甲状腺激素,可由肝脏、肾脏和甲状腺产生;一种是甲状腺素( $T_4$ ),仅由甲状腺分泌,且无生物活性。 $T_3$  由含硒酶 DI-I 所调节,通过外周组织中  $T_4$  的脱碘作用生成绝大部分循环  $T_3$ 。 $T_4$  的脱碘作用也可由 I 型 5'-脱碘酶(DI-I)催化,所产生的  $T_3$  主要供局部利用,此过程发生于中枢神经系统和垂体。甲状腺激素(TH)的生成受促甲状腺激素(TSH)的调控,TSH 由垂体分泌,并受自身在循环系统的水平和可利用碘所调节。然而,对同时缺乏碘和硒的动物因补充碘而引起的甲状腺不可逆损害的研究表明,该结果是由于 Se 依赖性抗氧化系统如 GSH-Px 系统受损造成的。

### 5 结论

澳大利亚家养动物及农场动物中既有硒中毒又有硒缺乏性疾病。硒缺乏疾病尤其是与亚临床型硒缺乏有关的,已由于在动物中补充了硒而大大减少。在人群中,澳大利亚不存在与硒相关的健康问题。然而越来越多的证据表明低硒与癌症及免疫功能低下有关。越来越多的人也在关注补硒。考虑到硒的毒性及补硒过程中的过热性误用问题,在澳大利亚从膳食中补硒是受限制的。在澳大利亚需要进行人群中硒水平及膳食摄入量的详细调查,以建立一个数据库,并可依据它评价不同膳食结构人群的适宜的硒摄入量。可靠的数据库对应付将来紧急出现的硒平衡紊乱是非常重要的。

### 参考文献:

- [1] Tinggi U. Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia; a review[J]. *Toxicol Lett*, 2003, 137: 103-110.
- [2] Gissel-Nielsen G. Effects of selenium supplementation of field crops. In: Frankerberger WT, Jr Engberg RA (Eds.), *Environmental chemistry of selenium* [M]. New York: Marcel Dekker, 1998. 99-112.
- [3] Shortt CT, Duthie GC, Robertson JD, et al. Selenium status of a group of Scottish adults[J]. *Eur J Clin Nutr*, 1997, 51: 400-404.
- [4] Thomson CD, Robinson MF. The changing selenium status of New Zealand residents[J]. *Eur J Clin Nutr*, 1996, 50: 107-114.
- [5] Tinggi U, Patterson C, Reilly C. Selenium levels in cow's milk from different regions of Australia[J]. *Int J Food Sci Nutr*, 2001, 52: 43-51.

### 参考文献:

- [1] Tapiero H, Townsend DM, Tew KD. The antioxidant role of selenium and seleno-compounds[J]. *Biomed Pharmacother*, 2003, 57: 134-144.
- [2] Gladyshev VN, Hatfield DL. Review: selenocysteine-containing proteins in mammals[J]. *J Biomed Sci*, 1999, 6: 151-160.
- [3] Tanka T, Kondo S, Iwasa Y, et al. Expression of stress-response and cell proliferation genes in renal cell carcinoma induced by oxidative stress[J]. *Am J Pathol*, 2000, 156: 2149-2157.
- [4] Amer ES, Holmgren A. Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase[J]. *Eur J Biochem*, 2000, 267: 6102-6109.
- [5] Ip C. Lessons from basic research in selenium and cancer prevention[J]. *J Nutr*, 1998, 128: 1845-1854.