

脑硒、硒蛋白与脑疾病

王育凯, 田东萍

(汕头大学医学院病理学教研室, 广东 汕头 515041)

[摘要] 目的: 脑内有硒蛋白的表达, 谷胱甘肽过氧化物酶(GPx), 硒蛋白 P(SelP), 其它一些硒蛋白如 SelW、硫氧化还原酶、15kD 硒蛋白和 型脱碘酶的 mRNA 都在大脑检测到, 揭示这些硒蛋白在脑中的主要生物学功能是目前研究的热点。

[关键词] 硒; 硒蛋白; 脑; 脑疾病; 硒蛋白 P; 谷胱甘肽过氧化物酶

中图分类号: R12 [文献标识码] A [文章编号] 1007-4716(2003)04-226-03

硒作为一种抗氧化剂的微量元素分布在人体各处, 特别是脑。硒的功能主要以硒蛋白的形式, 通过形成特异的氨基酸-硒半胱氨酸来表现。硒蛋白 P(Selp) 具有抗氧化和促神经细胞生长的作用。脑内有几种硒蛋白的表达。在 Alzheimer's 病和脑肿瘤病人的血、脑可检测到硒浓度的改变。在 Parkinson's 病(PD)和阻塞性脑血管病的损伤组织中谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)表达增强。此外还可在大脑中检测到 Selw、硫氧化还原酶、15kD-硒蛋白和 型脱碘酶。但其神经生物学功能还不很清楚。揭示这些硒蛋白在脑中的主要生物学功能是目前研究的热点。

1 硒与硒蛋白

硒在过去一直被认为是家禽具有毒性的微量元素, 直到上世纪 70 年代在 GPx 中发现了硒, 才对硒的主要生物学功能有了一个比较明确的了解。揭示^[1]了硒在防治肿瘤、心血管疾病、病毒感染和调节甲状腺功能、免疫与生殖功能上的重大作用。在体内, 硒以硒蛋白的形式发挥其生理功能。硒蛋白的特性为蛋白中含有硒半胱氨酸 SeCys。SeCys 由位于读码框内的 UGA 密码子编码。UGA 一般作为终止密码子起作用, 因此 SeCys 有一整套和其他氨基酸不同的合成和渗入蛋白质的机制, 现在称 SeCys 为组成蛋白质的第 21 种氨基酸^[2]。目前大约有 17 个家族相关的 30 个基因被鉴别^[3]。在大部分硒蛋白的 mRNA 中, 每条多肽链均包含有单个 UGA 编码的 SeCys 残基, SelP 则含有至少 10 个 SeCys, 而且在 mRNA 特异的二级结构³, 非翻译区都有一个指导 SeCys 渗入多肽链中所必需的稳定茎环结构, 称为 SeCys 插入序列。SeCys 虽然含量低, 但生物学功能重要, 它往往位于含硒酶活性中心, 对于诸如 GPx, 型脱碘酶等起着关键作用。SeCys 在结构上与半胱氨酸相似, 但硒比硫的亲核性更强, 在生理 pH 值能够离子化。除了形成 SeCys 外,

硒也可取代蛋氨酸的硫形成硒代蛋氨酸^[4]。

2 脑硒与神经系统疾病

氧化压力和反应性氧化产物(ROS)与一部分神经和神经肌肉疾病包括中风, 脑血管疾病, Alzheimer's 病, PD, 家族性肌萎缩侧索硬化症和 Duchenne 型肌营养不良症有关^[5]。硒被认为对由 ROS 诱导的细胞损坏有保护作用。大量存在的事实说明重金属与神经系统疾病发生有关联, 重金属通过 Fenton 反应促发 H₂O₂ 转变为氢氧自由基。硒可以做为重金属的解毒剂。缺硒也和大脑的发育有关, 碘缺乏导致碘缺乏病, 地甲病与克汀病, 但在碘缺乏病区的流行病学调查中发现: 经过 10 多年病区补碘后, 地甲病和克汀病基本得到控制, 但仍有不少弱智的亚临床克汀病患者存在, 推测是由硒的缺乏引起。生后严重神经发育迟缓的儿童, 经过积极补硒的治疗, 症状可以得到明显的改善^[6]。

2.1 脑硒 由于土壤中硒地理分布和膳食摄入量的差异, 在不同的国家、地域人体内硒含量各异, 也与人种、年龄有关。正常生理摄入量中硒在肾脏分布浓度最高, 依次为肝、脾、胰、心、脑、肺。但当硒摄入量不足时, 基于不同器官对硒利用的优先权的差异, 分布可发生变化。脑有聚硒和对硒绝对的利用优先权。硒浓度在成年人不同脑区的分布也不尽相同, 研究结果有两种趋势 灰质比白质含量高; 硒在大脑富含腺体的区域有聚集现象, 动物研究也发现有相同的规律。

2.2 脑对硒的优先利用权 在缺硒饮食的动物模型, 大脑显示了对保留硒的优先权。剥夺硒饮食的大鼠, 进行连续传代。第 6 代时检测, 硒在肝、骨骼肌和血的浓度比正常水平的 1% 还低, 而脑硒的

收稿日期: 2003 - 09 - 04

作者简介: 王育凯 (1977 -), 男, 广东省揭阳市人, 在职硕士生。

浓度与对照组比较还能达到惊人的 60%。动物实验^[7]中敲除了 SeCys-tRNA 基因的大鼠可导致胚胎早期发育的死亡,因为它剥夺了脑内硒蛋白的合成。

3 脑硒蛋白与神经系统疾病

3.1 GPx 所有细胞,包括神经元和胶质细胞,均可产生内源性 H₂O₂,并能对细胞造成氧化压力。脑内的非饱和脂肪也可因过氧化反应而导致细胞膜的损伤。GPx 可以阻止上述反应的发生,作为含硒酶家族的重要一员,在机体代谢过程中 GSH-Rx 能催化还原谷胱甘肽,同时使有毒的过氧化物还原成无害的羟基化合物,并使 H₂O₂ 分解,以保护细胞膜的结构及功能不受过氧化物的损害和干扰。细胞浆内 GPx(cGPx)几乎表达在所有类型的细胞,敲除 cGPx 基因的大鼠表现出对氧化剂的高敏感性和对一些神经毒素耐受性的减低,而且还观察到大脑缺血在灌注损伤的梗死区域增大,细胞凋亡也增加^[8]。在寒冷诱导的损伤,TUNEL 染色增强,且炎症反应加剧^[9]。大鼠脑中 20%的硒以 GPx 的形式存在,除了 cGPx,磷脂氢过氧化物酶(PHGPx)在脑中也保持一定活性。PHGPx 基因靶点的破坏对老鼠胚胎发育是致死性的,这跟缺乏形成正常的脑结构间隔作用有关^[10]。PHGPx 也是目前认为最主要清除细胞膜和脂蛋白上磷脂过氧化物的抗氧化物,推测它在大脑也行使一定重要的功能 GPx 在脑中的定位:通过免疫组织化学来研究 GPx 阳性细胞在成人脑中的定位。在中脑,GPx 只有在胶质细胞才能检测到,主要在星形胶质细胞,因为星形胶质细胞含大量谷胱甘肽,而神经元则几乎没有。研究^[11]发现 GPx 在增生的胶质细胞,特别是反应性星形胶质细胞有强的连续表达,而在神经元只有弱的零星反应。大多数 GPx 阳性细胞集中在中枢灰质、海马和颞叶白质,在丘脑和纹状体也有表达。但黑质、苍白球、小脑表达很低。GPx 阳性细胞密度最低的区域为黑质的致密部,该处多巴胺神经元受保护的作用低且易受氧化产物的影响而发生 PD。但皮层灰质的多巴胺神经元由于被高密度胶质细胞包围,可更好地保护其免受氧化产物的毒性作用,阻止细胞的变性。GPx 在病理状态下表达的异常:PD 病人在受损的多巴胺神经元周围可观察到 GPx 阳性细胞密度增高,多巴胺细胞损伤愈重,GPx 阳性数目越高,两者呈正相关。在死于阻塞性脑血管患者的免疫组织化学染色发现,GPx 在梗死周边区域的胶质细胞胞浆中有表达,相反在非梗死区的神经

元和胶质细胞几乎不表达。

3.2 SelP 它是一种细胞外肝素结合糖蛋白,每条多肽链包括 10~17SeCys 残基。大部分的组织都能制造,肝产生最多,分泌到血浆和组织间液。SelP 各占人、老鼠血硒的 50%和 60%^[12]。在 SelP 基因促进子区域分离鉴别出金属反应结构,这与重金属结合有关。SelP 除了 SeCys 外,还富含组氨酸,半胱氨酸。它们能结合血清中重金属 Hg、Ag 和 Cd 等形成重金属-SelP 复合物,进而排出体外。SelP 还可以保护由于谷胱甘肽耗竭引起的肝、肾坏死和 diquat 诱导的肝坏死和脂质过氧化,Burk 等认为 SelP 可能参与血红素代谢 SelP 对神经元存活的影响和神经生物学功能:大部分体外培养的哺乳动物细胞均需要血清和血清蛋白才能维持长期生存,介质还要求添加一些其他因子,包括胰岛素、转铁蛋白、甲状腺素和皮质酮等。然而,神经源性细胞的生长除了上述的因子,还需特殊的硒蛋白。与其他硒化合物比较 SelP 是最适的体外培养细胞的添加剂^[13]。有人用硒介质体外培养少突神经胶质细胞,发现硒对少突神经细胞的生长发育有影响。硒介质体外培养神经细胞中细胞百分率显著提高,萎缩细胞明显减少。采用鸡胚早期卵黄囊内给药的方法,观察硒对脑神经细胞增殖密度,大脑皮质和板层厚度、神经元的树突分枝等项指标影响。Golgi 镀银染色的结果显示,硒确能促进锥体细胞主干树突和基树突分枝的生长。同时对星形胶质细胞树突分枝亦有明显的促进作用。说明硒在体内外均有促进神经细胞发育的作用。而且在观察 SelP 基因敲除的老鼠模型发现,在出生 3 周内动物表现出共济失调和笨拙步态^[14]。另给老鼠以缺硒喂养,也同样出现运动协调的丧失,而这种现象可被随后的补硒饮食纠正。运动神经元一个显著的特点是能表达 3 型 NO 合成酶,而局部产生的 NO 又可与 O₂⁻ 结合,产生过氧亚硝酸盐,这种强氧化剂能够攻击和修饰蛋白质、脂质和 DNA^[15],并导致老鼠运动协调性的丧失。SelP 和其他硒化合物能够和过氧亚硝酸盐反应,因而保护了运动神经元的功能。

SelP 在大脑的定位:利用原位杂交检测 SelP mRNA 在脑内的定位。大量表达于小脑,在嗅球、海马、额叶皮质也有高表达。SelP 和脑膜的结合力很强,但免疫组织化学研究^[16],SelP 仅在与脑内动脉和毛细血管的内皮细胞处表达。SelP 在脑组织的表达不明显,这与脑处于相对的免疫豁免的地位有关,SelP 的抗原性不如血浆的强。SelP 可能受到糖基化的修饰而改变抗原性。大脑对 SelP 摄取和表

达的优先权: 在 SelP 基因敲除的模型, 硒在鼠大脑的表达水平较对照组下降 10% 或 40%^[17], 提示 SelP 为正常生理条件下脑内硒的主要存在形式, 而且 SelP 作为一种硒的载体, 向脑组织转运的效率和速度最快, 也较易通过血脑屏障。向处于缺硒状态下的大鼠血浆注射携带⁷⁵Se 的 GPx 和 SelP, ⁷⁵Se-SelP 5min 内在血浆消失, 大部分被脑摄取。但目前对 SelP 在脑中主要生物学功能还不很清楚。当机体摄硒受限, 神经内分泌组织保留硒的能力高于肝、肾, 且 SelP mRNA 和蛋白的表达比 GPx 和 II 型脱碘酶有优先性, 后两者表达迅速下调。

4 其他硒蛋白

脑组织也表达硒蛋白 W (SelW), 即使在硒缺乏的动物模型中 SelW 也保持一定的表达水平。SelW 包含 SeCys 和谷氨酸结合胱氨酸残基。两者残基在 CHO 和 H1299 人类肺癌细胞株都证实有抗过氧化物毒性的作用, 也说明 SelW 的抗氧化功能是依耐硒和谷胱甘肽。当和二氢氯化物 (AAPH) 和 2 脒基丙烷一起孵育, 过量表达 SelW 的 C6 大鼠胶质细胞可显示比对照组细胞更大的存活率^[18]。另外在 Cu、Zn 介质中生长的胶质细胞, SelW 表达增强^[19]。除了 SelW, 硫氧还蛋白还原酶 (TrxR), II 型脱碘酶, 分子量 15kd 硒蛋白、硒磷酸盐合成酶都有表达。

参考文献:

- [1] Rayman MP. The importance of selenium to human health [J]. *Lancet*, 2000, 356: 233 - 241.
- [2] Atkins JF, Gesteland RF. The twentyfirst amino acid [J]. *Nature*, 2000, 407(6 803): 463 - 465.
- [3] Kryukov GV, Gladyshev VN. Mammalian selenoprotein gene signature: identification and functional analysis of selenoprotein genes using bioinformatics methods [J]. *Meth Enzymol*, 2002, 347: 84 - 100.
- [4] Behne D, Kyriakopoulos A. Mammalian selenium-containing proteins [J]. *Annu Rev Nutr*, 2001, 21: 453 - 473.
- [5] Sagra Y, Tan S, Maher P, et al. Mechanisms of resistance to oxidative stress in Alzheimer's disease brain [J]. *Neurotoxicology*, 1998, 19: 339 - 345.
- [6] Ramaekers VT, Calomme M, Vanden BD, et al. Selenium deficiency triggering intractable seizure [J]. *Neuropediatrics*, 1994, 25: 217 - 223.
- [7] Bost MR, Takaku K, Oshima M, et al. Early embryonic lethality caused by targeted disruption of the mouse selenocysteine tRNA gene [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 5 531 - 5 534.
- [8] Crack PJ, Taylor JM, Flentjar NJ, et al. Increased infarct size and exacerbated apoptosis in the glutathione peroxidase 1 knockout mouse brain in response to ischemia/reperfusion injury [J]. *J Neurochem*, 2001, 78: 1 389 - 1 399.
- [9] Flentjar NJ, Crack PJ, Boyd R, et al. Mice lacking glutathione peroxidase-1 activity show increased TUNEL staining and an accelerated inflammatory response in brain following a cold-induced injury [J]. *Exp Neurol*, 2002, 177: 9 - 20.
- [10] Yant LJ, Ran L, Van RH, et al. The selenoprotein GPx4 is essential for mouse development and protects from radiation and oxidative damage insults [J]. *Free Radic Biol Med*, 2003, 34: 496 - 502.
- [11] Takizawa S, Matsushima K, Shinohara Y, et al. Immunohistochemical localization of glutathione peroxidase in infarcted human brain [J]. *J Neurol Sci*, 1994, 122: 66 - 73.
- [12] Saito Y, Takahashi K. Characterization of selenoprotein P as a selenium supply protein [J]. *Eur J Biochem*, 2002, 269: 5 746 - 5 751.
- [13] Yan J, Barrett JN. Purification from bovine serum of a survival-promoting factor for cultured central neurons and its identification as selenoprotein P [J]. *J Neurosci*, 1998, 18: 8 682 - 8 691.
- [14] Schomburg L, Schweizer U, Holtman B, et al. Gene disruption discloses role of selenoprotein P in selenium delivery to target tissues [J]. *Biochem J*, 2003, 370: 397 - 402.
- [15] Torreilles F, Salman TS, Guerin MC, et al. Neurodegenerative disorders: the role of peroxynitrite [J]. *Brain Res Rev*, 1999, 30: 153 - 163.
- [16] Burk RF, Hill KB, Boeglin ME, et al. Selenoprotein P associates with endothelial cells in rat tissues [J]. *Histochem Cell Biol*, 1997, 108: 11 - 15.
- [17] Hill KE, Zhou J, McMahan WJ, et al. Deletion of selenoprotein P alters distribution of selenium in the mouse [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 13 640 - 13 646.
- [18] Sun Y, Gu QP, Whanger PD. Selenoprotein W in overexpressed and underexpressed rat glial cells in culture [J]. *J Inorg Biochem*, 2001, 84: 151 - 156.
- [19] Amantana A, Vorachek WR, Butler JA, et al. Effect of copper, zinc and cadmium on the promoter of selenoprotein W in glial and myoblast cells [J]. *J Inorg Biochem*, 2002, 91: 356 - 362.