

文章编号: 1004-0374(2010)02-0150-05

半胱氨酸的代谢与免疫功能研究进展

汤文杰, 涂强, 刘志强, 黄瑞林*

(中国科学院亚热带农业生态研究所动物营养代谢过程与生理调控实验室, 长沙 410125)

摘要: 半胱氨酸(Cys)是一种半必需氨基酸,是构成体内重要抗氧化物质谷胱甘肽(GSH)的主要成分,对机体抗氧化和自由基消除功能十分重要。组织中Cys的浓度通过调节Cys生成和有效移除巯基维持在较低水平。Cys和蛋氨酸(Met)新陈代谢调节可以在维持Cys低水平的同时,保证巯基作为它们基本功能的充足供应。Cys是多种合成和分解代谢酶的底物,主要被肝Cys二氧酶(CDO)调节。CDO以Cys敏感方式被上调,主要是通过降低蛋白泛素化比率,从而降低26S蛋白酶体介导的蛋白降解。该文对Cys的摄入、新陈代谢途径以及免疫与抗氧化功能作一简要综述。

关键词: 半胱氨酸; 新陈代谢; Cys二氧酶; 脱硫反应; 免疫功能

中图分类号: Q507 **文献标识码:** A

Research advances in cysteine metabolism and immune function

TANG Wen-jie, TU Qiang, LIU Zhi-qiang, HUANG Rui-lin*

(Laboratory of Animal Nutritional Physiology and Metabolic Process, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China)

Abstract: Cysteine(Cys) is a semiessential amino acids. It is also an indispensable composition of glutathione (GSH) which is important for function of oxidation resistance and removal of free radicals. Tissue concentrations of Cys is maintained at low levels by regulated production and efficient removal of these thiols. The regulation of the metabolism of Cys and methionine (Met) is discussed from the standpoint of maintaining low levels of Cys while, at the same time, ensuring an adequate supply of these thiols for its essential functions. Cys is substrate for a variety of anabolic and catabolic enzymes. Its concentration is regulated primarily by hepatic Cys dioxygenase(CDO); the level of CDO is upregulated in a Cys-responsive manner via a decrease in the rate of polyubiquitination and, hence, degradation by the 26S proteasome. In this paper, the intake, metabolism, immunity and antioxidant function of Cys are reviewed.

Key words: Cys; metabolism; CDO; desulphurization; immune function

Cys 可以作为反映机体氧化损伤的可能的指示剂^[1]。在生理巯基之中, Cys 比 GSH 更容易被氧化, 有更高的还原电位, 更容易使 Cu^{2+} 还原为 Cu^+ , 并且 Cys 以氧化形式大量存在于血浆中^[2]。通过调节 Cys 生成和有效移除巯基, 组织中 Cys 的浓度被维持在较低水平。Cys 是体内合成许多物质的前体, 这些物质包括蛋白质、辅酶 A (COA)、 γ -谷氨酰半胱氨酰甘氨酸、牛磺酸 (Tau) 和无机硫等, 组织中 Cys 含量必须足够高才能维持这些合成过程。机体能维持低浓度 Cys 的原因是: 机体能

将 Cys 储存为 GSH, GSH 又能在机体需要时水解产生 Cys, 依赖于 GSH 作为细胞的大部分巯基的供体或氧化还原反应的缓冲剂。当 Cys 过多时, 其分解

收稿日期: 2009-07-27; 修回日期: 2009-09-16

基金项目: 中国科学院知识创新重要方向项目 (KSCX2-YW-N-051); 国家自然科学基金项目 (30771558); 国家重点基础研究发展计划 ("973"项目) (2004CB117502)

*通讯作者: Tel:0731-84619704; E-mail: huangrl@isa.ac.cn

代谢相关的酶迅速上调, 这些酶通过促进 Cys 的氧化来降低 Cys 含量。

1 Cys 的来源

1.1 Cys 的摄取

哺乳动物中 Cys 是半必需氨基酸, 它能从 Met 的硫和丝氨酸 (Ser) 通过转硫途径合成。Cys 通常作为日粮蛋白质组分而被消耗, 小肠上皮吸收蛋白质消化产物的效率高达 95%~99%。日粮中 Cys 能以 Cys、胱氨酸和含 Cys 的肽等形式由小肠黏膜细胞多种氨基酸和肽运输系统转运。Cys 的转运是由中性氨基酸转运系统介导的, 包括位于小肠黏膜细胞刷状缘的系统 B 以及位于刷状缘和基底膜外侧的系统 ASC, Cys 的摄取主要是 Na⁺ 依赖性的主动运输过程^[3]。

氨基酸进入血浆并且以游离氨基酸的形式循环, 直到它们被机体组织利用。肝脏通过门脉循环利用很大部分的含硫氨基酸合成蛋白质和 GSH 或者分解为 Tau 和硫酸盐^[4]。GSH 被运送入血液, 这种含 Cys 的三肽及其代谢产物是机体 Cys 的来源之一。

肾脏近端小管的重吸收上皮具有与小肠吸收上皮类似的转运系统, 并且肾脏可以高效地从肾滤液中重吸收氨基酸。一般情况下肾脏重吸收 Cys 的效率非常高 ($\geq 94\%$), 氨基酸在尿中的损失通常可以忽略。据报道, 成人尿中排泄的 (半) 胱氨酸是 $63\sim 285 \mu\text{mol/d}$ ^[5]。

1.2 Cys 在体内蛋白质库和 GSH 库的周转

除了日粮蛋白质的摄入之外, 机体蛋白质和肽周转库也释放游离 Cys 进入机体库, 成人机体的 Cys 流量大约是 38 mmol/d 。大多数内源性蛋白质周转发生在胞内, 但是也有相当数量的周转是由于内源蛋白质进入胃肠道被消化为氨基酸和肽, 再与日粮蛋白质消化产生的氨基酸和肽一起被吸收。氨酰基 RNA 合成酶与氨基酸有较高的亲和力, 因此氨酰 tRNA 能高效地与其他通路竞争 Cys。日粮摄入含硫氨基酸较低时, Cys 的分解代谢受到很大的限制, 此时 Cys 转化为 GSH 和 Cys 合成蛋白质具有较高的优先权^[6]。

GSH 周转也影响游离 Cys 的流量。GSH 作为 Cys 的贮存库, 可以在 Cys 供应不足时释放 Cys。在摄入的含硫氨基酸刚好满足蛋白质合成需要时, 组织中 GSH 会被耗尽, 表明 Cys 用于蛋白质合成优先于 GSH 合成^[7]。成人的 GSH 正常周转量约为 40 mmol/d , 略高于机体蛋白质库 Cys 的周转量^[6]。

1.3 硫平衡

当硫排泄量与摄入量基本上相等 ($18\sim 26 \text{ mmol/d}$) 时, 受试的成人保持硫平衡。一般情况下, 转硫途径是 Met 分解代谢的惟一途径, 其结果是 Met 的硫转移给 Ser 进而形成 Cys^[8]。因此, Met 或 Cys 的硫经过 Cys 分解代谢途径被氧化产生终产物硫酸盐和 Tau, 最后经尿排泄。研究尿中硫排泄表明, 按总硫排泄量算, 游离的硫酸盐、硫酸酯、Tau 和 (半) 胱氨酸分别占 77%~92%、7%~9%、2%~6% 和 0.6%~0.7%。Tau 排泄很大程度上随其摄入量而变化, 且能占到尿中总硫排泄量的 10%^[9, 10], 其他含硫化合物仅微量存在于尿中 (少于 0.2% 总硫)。研究发现游离的硫酸盐与尿素排泄显著相关, 游离硫酸盐的排泄是衡量含硫氨基酸摄入量的较优指标^[10]。

2 Cys 的新陈代谢

2.1 Cys 的代谢途径

Cys 是 GSH 合成的前体物。GSH 除特殊的代谢功能之外, 也作为 Cys 的贮存库和运输 Cys 到肝外组织的手段。当 Cys 的摄入量接近需要量时, 大部分可利用 Cys 用于蛋白质和 GSH 合成。GSH 合成由谷氨酸半胱氨酸连接酶 (glutamate-cysteine ligase, GCL) 和 GSH 合成酶催化。GCL 的催化过程是 GSH 合成的限速步骤, 且高度地受 GSH 反馈抑制调节; 同时, GSH 可通过转录调节响应机体的氧化或化学应激。饲喂高蛋白或高含硫氨基酸日粮的大鼠, 虽然肝脏 GSH 净合成量由于 Cys 或酶作用底物的增加仍然保持较高, 但是 GCL 的活性和 GSH 合成效率显著降低^[7]。这种响应 Cys 可用性增加的下调促进 Cys 分解产生 Tau 和硫酸盐而不是储存为 GSH。

摄入的含硫氨基酸大部分在肝脏被转化为 GSH 并进入循环系统。位于细胞膜外表面的 γ -谷氨酰转肽酶水解 GSH 产生 Cys-Gly, 随后进一步降解释放 Cys 进入血浆。人体 GSH 正常周转量大约等价于 40 mmol Cys/d , 这与 Cys 在体内蛋白质库的周转量相近^[6]。

体内的 COA 是由泛酸、Cys 和 ATP 在 Mg^{2+} 参与下经过一系列酶催反应合成。Cys 也是合成 COA、Tau 和无机硫 (硫化物, 硫酸盐) 的前体。Cys 的这三种转化途径消耗近一半的 Cys。Cys 被用于形成 COA 分子的半胱胺部分, 有助于巯基的活化。关于 COA 周转率或半胱胺部分的最终代谢途径知道得很少, 但有研究表明 COA 转换可以消耗大量的

Cys^[11]。

Tau 和无机硫是 Cys 的分解代谢产物。Cys 分解代谢有多条途径：Cys 可被氧化为半胱亚磺酸，随后半胱亚磺酸进一步代谢为 Tau 和 CO₂ 或丙酮酸盐和无机硫；Cys 也可发生 Cys 的脱硫，产生丙酮酸盐和过硫化物。除了形成 Tau 的途径外，所有 Cys 分解代谢的路径中 Cys 的碳链转化为丙酮酸，巯基转化为无机硫，氨基转化为氨或转移到酮酸受体。当 Tau 是终产物时，Cys 只有羧基碳被释放出来，另外的碳、氮和硫则转移到终产物中。因此，Cys 在其分解代谢途径中的分布可能影响氨基酸碳链作为能量的利用，影响酸或阴离子的净产量和必需代谢产物(无机硫和 Tau)的合成。虽然 Tau 和硫酸盐是细胞 Cys 分解代谢最终产物，但是它们在最终排泄之前具有多种重要的生理功能。

2.2 Cys 的氧化代谢

Cys 的半胱亚磺酸依赖的分解代谢途径中，在硫从碳链分离出来或 Cys 脱羧形成亚牛磺酸之前，硫被部分的氧化。Cys 巯基的这种起始氧化由 CD0 完成，CD0 高特异性的以 Cys 为底物，对 Cys 的 *K_m* 为 0.45 mmol/L^[12]。CD0 在肝脏的表达水平很高，均一分布在肝细胞中，但在肝外组织的表达量非常有限，在肾脏、肺和大脑有一定水平的表达^[13]。据报道，大鼠脂肪组织 CD0 mRNA 表达量非常高。无论摄入的含硫氨基酸不足还是过量，肝脏 Cys 浓度均维持在 0.02~0.1 mmol/L，极大地低于 CD0 对 Cys 的 *K_m*，因此该酶能响应底物的浓度变化^[13]。

另外，肝脏 CD0 的浓度随着动物日粮蛋白质或含硫氨基酸水平的升高而升高，并且在日粮改变后几个小时内达到新的稳态^[7]。动物日粮中蛋白质或含硫氨基酸供给量接近或超过需要量时，Cys 分解代谢主要是半胱亚磺酸依赖性途径。尽管 Met 具有与 Cys 类似的上调 CD0 作用，但是 Met 的调节作用依赖于转硫通路。这种调节明显是转录后调节，因为肝脏 CD0 mRNA 水平没有受日粮的影响^[13]。研究表明，CD0 活性的调节发生在蛋白质泛素化水平^[14]。饲喂低蛋白日粮的大鼠肝脏中 CD0 迅速被降解以维持 CD0 的低活性；当饲喂高蛋白或高含硫氨基酸日粮时，大鼠肝脏 Cys 含量上升并阻止 CD0 的多聚泛素化，从而降低 26S 蛋白酶体介导的 CD0 降解^[14]。多数的还原剂如 GSH 或者巯基被氧化或封闭的 Cys 类似物，不能有效减少 CD0 的蛋白质泛素化和降解，但是 L-半胱胺具有与 L-Cys 几乎一样的效果。

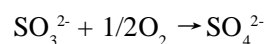
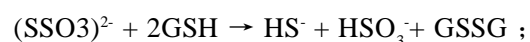
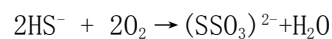
L-半胱胺不是 CD0 的有效底物或抑制剂，不能转化为 Cys。因此，Cys 或半胱胺可能通过变构效应阻断 CD0 的多聚泛素化。不管精确信号机制如何，CD0 降解过程的调节为肝 CD0 响应日粮含硫氨基酸浓度的变化提供一条稳定的调节途径^[7, 14]。

CD0 在肝外组织不受日粮含硫氨基酸含量的调节，可能是因为肝脏能有效地控制机体的 Cys 水平^[13, 15]。人们对肾脏中 Cys 的新陈代谢所知甚少，虽然该器官十分独特：Cys 的含量高达 1 mmol/kg 并且其 GCL 活性是肝脏的 10~30 倍^[13]。GSH 在肾脏周转效率较高，并且肾脏可能参与 Cys 转化为 GSH 而不参与 Cys 分解代谢。

2.3 Cys 的脱硫分解

Cys 的分解代谢可通过一些非特异性的反应在 Cys 被氧化之前将硫裂解出来^[16]。这些途径包括：(1) 胱硫醚 γ - 裂合酶催化的胱氨酸 α - 裂解产生丙酮酸、氨和硫代半胱氨酸，随后硫代半胱氨酸进一步反应释放出硫化物；(2) Cys 或胱氨酸转氨酶催化的氨基转移产生 3- 巯基丙酮酸，随后进一步被巯基丙酮酸转硫酶催化释放或转移硫；(3) 多种巯基化合物取代 Cys 的巯基，由胱硫醚 β - 合酶催化形成相应的硫醚。H₂S 是这些脱硫途径中一个可能的产物。脱下来的硫可用于分子合成或被氧化为硫代硫酸盐、亚硫酸盐和硫酸盐。虽然大多数无机硫最终被氧化硫酸盐，但哺乳动物不能将无机硫或亚硫酸盐还原为硫代硫酸盐或硫化物，因此以 Cys 的半胱亚磺酸不依赖的途径或脱硫途径作为减少无机硫的方式。

Szczepkowski 等^[17]阐明了硫化物的氧化反应：



Huang 等^[18](1998)报道，肝细胞和 10 mmol/L Cys 共孵育后，以 GSH 依赖性途径产生硫酸盐，这与上述反应一致。GSH 耗竭或 GSH 耗竭加上 GCL 的抑制，明显减少从 L-Cys 产生硫酸盐的量，并导致硫代硫酸盐积累。硫代硫酸盐作为底物时，GSH 耗竭同样阻碍它转换为硫酸盐。

对大鼠机体 Cys 的脱硫途径研究表明^[16]，胱硫醚 γ - 裂合酶和胱硫醚 β - 合酶对 Cys 硫化产物的形成十分重要。炔丙基甘氨酸是胱硫醚 γ - 裂合酶不可逆的抑制剂，而 S-腺苷蛋氨酸是胱硫醚 β - 合酶的激活剂。大多数生理测定条件下，Cys 转氨反应对脱硫途径没有显著地影响。研究表明，一半的 Cys 分

解代谢由肠上皮细胞或肾脏皮质小管通过半胱亚磺酸不依赖的途径发生^[19]。

Cys 脱硫途径的作用比较小,对 Met 和 Cys 摄入量的增加敏感度低,但是这些途径也许构成了脱硫产物形成的路径。另一方面,半胱亚磺酸依赖的代谢分解途径为消除过量 Cys 而不产生有毒的 H₂S 提供了稳定和敏感的方式。因此,饲喂低蛋白或低含硫氨基酸的大鼠肝脏 CD0 活性较低,脱硫和半胱亚磺酸不依赖途径是其 Cys 分解代谢的主要途径。相反,在饲喂正常或高蛋白含量的大鼠肝脏中脱硫作用可以忽略,因为大鼠肝脏 CD0 活性很高,远大于全部分解 Cys 所需的活性^[20]。

3 Cys与机体免疫和抗氧化功能

Cys 在机体中免疫和抗氧化功能的作用主要是通过 GSH 实现的。Cys 是 GSH 的前体物质,它的合成受日粮 Cys 摄入量的影响,所以充足的日粮 Cys 供应对免疫系统蛋白质合成十分重要。GSH 在免疫系统抗感染和炎症反应中发挥着重要的作用。例如,免疫细胞中的 GSH 浓度可调节免疫反应,包括 Th 细胞功能和抗体产生。细胞外 Cys 或细胞内 GSH 的缺乏可减少 CD 细胞的数量,降低干扰素的产生,抑制丝裂原刺激引起的淋巴细胞增殖,减小细胞毒 T 淋巴细胞活性,在发生感染时 Cys 的代谢发生显著改变^[21]。

日粮中添加适量 Cys 对免疫系统是有益的,但是添加剂量过高对动物的生长和免疫反应是有害的,因为此时高毒性物质如高半胱氨酸和硫酸盐产生过多^[23]。Cys 在血液中很容易被氧化成胱氨酸,而高浓度的胱氨酸是有毒的。因此,常通过静脉输注或饮用 N-乙酰半胱氨酸来补充 Cys,以增加细胞中内源 GSH 的合成^[24]。

日粮中添加 Cys 可维持血浆中 GSH 的水平,增强动物的抗氧化能力和解毒能力。GSH 分子中有一个活泼巯基,能维持体内巯基酶的活性^[25]。GSH 可以防止脂质过氧化,并以高浓度的形式分布在细胞核和线粒体的周围,保护 DNA 免受氧化反应引起的损伤。GSH 通过巯基与体内的自由基结合,可直接使自由基还原为容易代谢的酸类物质,加速自由基的排泄,从而减轻自由基对重要脏器的损害^[21]。GSH 可清除自由基和其他活性氧分子,与各种亲电子和外源性化学物质形成共轭物以发挥解毒功能。此外,GSH 所含的 γ 谷氨酰胺键能维持分子的

稳定性并参与转运氨基酸^[26]。

4 结语

过去十年对含硫氨基酸特别是 Cys 新陈代谢的研究取得的许多进展。尽管我们对 Met、Cys 新陈代谢基本途径尚未完全清楚,但是对其通路调节的综合性和复杂性有了进一步认识。我们对 Cys 新陈代谢途径的认识滞后于对 Met 的认识,但是我们现在对半胱亚磺酸依赖和半胱亚磺酸不依赖途径的性质以及其特殊作用有了深入认识。研究者对 Cys 新陈代谢的理解包括:(1) Cys 敏感地下调肝 CD0 的蛋白泛素化和降解的途径;(2) Cys 新陈代谢中半胱亚磺酸依赖途径。鉴于含硫氨基酸特别是 Cys 及其代谢产物在机体内具有十分重要的功能和作用,对其代谢途径和体内精确地调控机制进行深入的研究具有重要的理论依据和现实意义。

[参 考 文 献]

- [1] El-Khairy L, Vollset SE, Refsum H, et al. Plasma total cysteine, pregnancy complications, and adverse pregnancy outcomes: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr*, 2003, 77(2):467-72
- [2] White AR, Huang X, Jobling MF, et al. Homocysteine potentiates copper and amyloid β peptide-mediated toxicity in primary neuronal cultures: possible risk factors in the Alzheimer's-type neurodegenerative pathways. *J Neurochem*, 2001, 76(5):1509-20
- [3] Bröer S. Amino acid transport across mammalian intestinal and renal epithelia. *Physiol Rev*, 2008, 88(1):249-86
- [4] Garcia RA, Stipanuk MH. The splanchnic organs, liver and kidney have unique roles in the metabolism of sulfur amino acids and their metabolites in rats. *J Nutr*, 1992, 122(8):1693-701
- [5] Paauw JD, Davis AT. Taurine supplementation at three different dosages and its effect on trauma patients. *Am J Clin Nutr*, 1994, 60(2):203-6
- [6] Fukagawa NK, Ajami AM, Young VR. Plasma methionine and cysteine kinetics in response to an intravenous glutathione infusion in adult humans. *Am J Physiol*, 1996, 270(2Pt 1):E209-14
- [7] Simmons CR, Hirschberger LL, Machi MS, et al. Expression, purification, and kinetic characterization of recombinant rat cysteine dioxygenase, a non-heme metalloenzyme necessary for regulation of cellular cysteine levels. *Protein Expr Purif*, 2006, 47(1):74-81
- [8] Rao AM, Drake MR, Stipanuk MH. Role of the transsulfuration pathway and of γ -cystathionase activity in the formation of cysteine and sulfate from methionine in rat hepatocytes. *J Nutr*, 1990, 120(8):837-45
- [9] Mårtensson J. The effects of short-term fasting on the excretion of sulfur compounds in healthy subjects.

- Metabolism, 1982, 31(5):487-92
- [10] Stipanuk MH, Kajikawa R, Ubuka T. A study on the estimation of sulfur-containing amino acid metabolism by the determination of urinary sulfate and taurine. *Amino Acids*, 2002, 23(4):427-31
- [11] Zhou B, Westaway SK, Levinson B, et al. A novel pantothenate kinase gene (PANK2) is defective in Hallervorden-Spatz syndrome. *Nat Genet*, 2001, 28(4):345-9
- [12] Stipanuk MH, Ueki I, Dominy JE Jr, et al. Cysteine dioxygenase: a robust system for regulation of cellular cysteine levels. *Amino Acids*, 2009, 37(1):55-63
- [13] Stipanuk MH, Londono M, Lee JI, et al. Enzymes and metabolites of cysteine metabolism in nonhepatic tissues of rats show little response to changes in dietary protein or sulfur amino acid levels. *J Nutr*, 2002, 132(11):3369-78
- [14] Stipanuk MH, Hirschberger LL, Londono MP, et al. The ubiquitin-proteasome system is responsible for cysteine-responsive regulation of cysteine dioxygenase concentration in liver. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2004, 286(3):E439-48
- [15] Shimada M, Koide T, Kuroda E, et al. Expression and localization of cysteine dioxygenase mRNA in the liver, lung, and kidney of the rat. *Amino Acids*, 1998, 15(1-2):143-50
- [16] Stipanuk MH, Beck PW. Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphhydration in liver and kidney of the rat. *Biochem J*, 1982, 206(2):267-77
- [17] Szczepkowski TW, Skarzynski B, Weber M. The metabolic state of thiosulphate. *Nature*, 1961, 189:1007-8
- [18] Huang J, Khan S, O'Brien PJ. The glutathione dependence of inorganic sulfate formation from L- or D-cysteine in isolated rat hepatocytes. *Chem Biol Interact*, 1998, 110(3):189-202
- [19] Stipanuk MH, De La Rosa J, Hirschberger LL. Catabolism of cyst(e)ine by rat renal cortical tubules. *J Nutr*, 1990, 120(5):450-8
- [20] Bella DL, Hahn C, Stipanuk MH. Effects of nonsulfur and sulfur amino acids on the regulation of hepatic enzymes of cysteine metabolism. *Am J Physiol*, 1999, 277(1 Pt 1):E144-53
- [21] Li P, Yin YL, Li D, et al. Amino acids and immune function. *Br J Nutr*, 2007, 98:237-252
- [22] 印遇龙. 猪氨基酸营养与代谢[M]. 北京: 科学出版社, 2008, 51-52
- [23] Grimble RF. The effects of sulfur amino acid intake on immune function in humans. *J Nutr*, 2006, 136(6 Suppl):S1660-5
- [24] Dröge W, Breitkreutz R. Glutathione and immune function. *Proc Nutr Soc*, 2000, 59:595-600
- [25] Bauchart-Thévret C, Stoll B, Chacko S, et al. Sulfur amino acid deficiency upregulates intestinal methionine cycle activity and suppresses epithelial growth in neonatal pigs. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2009, 296(6):E1239-50
- [26] Franco R, DeHaven WI, Sifre MI. Glutathione depletion and disruption of intracellular ionic homeostasis regulate lymphoid cell apoptosis. *J Biol Chem*, 2008, 283(52):36071-87