

DOI: 10.13376/j.cblls/2014011

文章编号: 1004-0374(2014)01-0072-08

谷氧还蛋白2与人类健康

夏海燕, 黄子维, 李宽钰*

(南京大学医学院江苏省医学分子技术重点实验室, 南京 210093)

摘要: 谷氧还蛋白 2 (Glutaredoxin 2, GLRX2) 是一种相对分子质量较小的氧化还原酶, 属于硫氧还蛋白家族成员, 以谷胱甘肽为辅基调节细胞的氧化还原内环境。在非应激条件下, GLRX2 结合铁硫簇, 以二聚体形式存在, 可能参与铁硫簇的转运或运输; 当氧化压力增加时, 铁硫簇解聚, GLRX2 二聚体转化为 GLRX2 单体, 利用单巯基或双巯基机制, 发挥抗氧化应激和抗细胞凋亡的功能。GLRX2 与人类健康和疾病, 如心血管疾病、神经退行性疾病、白内障、肿瘤细胞生长与分化和精子成熟等密切相关。因此, 对 GLRX2 的深入研究将有助于设计针对氧化应激的药物, 为治疗和预防由此产生的疾病或健康问题带来新的希望。

关键词: 谷氧还蛋白 2; 铁硫簇; 氧化还原感受器; (去) 谷胱甘肽化作用; 氧化还原稳态

中图分类号: Q554; Q7 **文献标志码:** A

Role of glutaredoxin 2 in human health and diseases

XIA Hai-Yan, HUANG Zi-Wei, LI Kuan-Yu*

(Jiangsu Key Laboratory of Molecular Medicine, Medical School of Nanjing University, Nanjing 210093, China)

Abstract: Glutaredoxin 2 (GLRX2), a member of the thioredoxin-fold family of proteins, is a small oxidoreductase, with glutathione (GSH) as its cofactor. GLRX2 may form a homodimer to complex two GSH for the coordination of one iron-sulfur cluster [2Fe-2S] as a holo-GLRX2, which may be important for iron-sulfur transfer or trafficking. However, disassembly of the iron-sulfur cluster and dissociation of the holo-GLRX2 complex may yield the monomer to be enzymatically activated against oxidative stress. The physiological functions of the GLRX2 monomer including the anti-oxidative and anti-apoptotic process via monothiol or dithiol mechanism may be relevant to human health and disease, such as cardiovascular disease, neurodegenerative disease, cataract, tumor cell growth and differentiation, and sperm maturation. Therefore, the intensive studies on GLRX2 will pharmaceutically shed new light on treatment or prevention of oxidative stress-linked diseases.

Key words: glutaredoxin 2; iron-sulfur cluster; redox sensor; (de)glutathionylation; redox homeostasis

谷氧还蛋白 (glutaredoxin, Grx) 是硫氧还蛋白 (thioredoxin, Trx) 家族的重要分支, 作为电子供体, 调节细胞含巯基 (主要由半胱氨酸提供) 蛋白的氧化还原状态, 在细胞信号转导过程中发挥重要作用^[1]。Grx 与谷胱甘肽 (GSH)、谷胱甘肽还原酶 (glutathione reductase, GR) 和 NAD (P) H 共同构成 Grx 系统, 通过可逆的氧化还原修饰调节细胞的谷胱甘肽化、去谷胱甘肽化以及二硫键的形成和还原^[2], 以维持细胞氧化还原稳态。Grx 按活性位点所含半胱氨酸的数量可分为单巯基 (C-X-X-S) 和双巯基 (C-X-X-C) 形式。目前已发现的人类 Grx 同源

物包括 GLRX1、GLRX2、GLRX3 和 GLRX5 等 4 种, 其中 GLRX1 和 GLRX2 属于双巯基蛋白, 而 GLRX3 和 GLRX5 则为单巯基蛋白, 每一种都有其特殊的结构与功能, 影响细胞的生理功能。本文主要就 GLRX2 的研究进展及其与人类健康或疾病的

收稿日期: 2013-09-25; 修回日期: 2013-10-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(31071085, 3137-1060); 教育部留学回国人员科研启动基金

*通信作者: E-mail: likuanyu@nju.edu.cn; Tel: 025-83594765

关系作简要综述。

1 谷氧还蛋白2的发现

谷氧还蛋白 1 (Glutaredoxin 1, Grx1) 是霍姆格伦 (Holmgren) 于 1976 年研究缺失 *Trx* 基因的大肠杆菌氧化还原过程时发现的 [3], 早先被叫做“巯基转移酶”, 含有一个二巯基活性中心 C-P-Y-C。后来在人类基因组中发现了 GLRX2, 它是含有活性中心 C-S-Y-C 的线粒体蛋白 [4-5], 可能与胞质中含有的 GLRX1 起源于同一个基因 [6]。人源 GLRX2 与 GLRX1 同源率为 34% [5], 但细胞内 GLRX2 含量不到 GLRX1 的 5%。GLRX1 可存在于血浆中, 但目前尚未发现可分泌的 GLRX2 [7]。

Grx2 同源物广泛分布于各种生物体内, 其基因在人、小鼠、斑马鱼、果蝇等物种间高度保守 (图 1), 同时也存在于酵母和细菌等低等生物中。

人 *GLRX2* 基因位于染色体 1q31.2-31.3 [4], 含 5 个外显子, 分别为 Ia、Ib、II、III 和 IV, 表达 3 类转录子, 分别编码 3 种亚型蛋白 GLRX2a、GLRX2b 和 GLRX2c [8] (图 2A 和 2B)。转录子 v1 由外显子 Ia、II、III 和 IV 构成, 编码 GLRX2a, 定位于线粒体; 转录子 v2 由外显子 Ib、II、III 和 IV 构成, 编码 GLRX2b; 而转录子 v3 由外显子 Ib 的 5' 端、II、III 和 IV 构成, 编码 GLRX2c, GLRX2b 和 GLRX2c 均位于细胞核和细胞质中。GLRX2a 普遍存在于人

体各器官组织, 而 GLRX2b 和 GLRX2c 仅表达在睾丸和肿瘤细胞中 [8]。HeLa 细胞中 3 种亚型蛋白均有表达, 大小分别为 18.8 kDa (GLRX2b)、15 kDa (成熟的 GLRX2a) 和 14.1 kDa (GLRX2c) [8]。

小鼠 *Glrx2* 与人同源物间的序列相似性为 86% [9], 该基因含有 6 个外显子, 分别为 Ia、Ic、II、III、IIIb 和 IV, 表达 5 类转录子, 推测编码 3 种亚型蛋白 *Glrx2a*、*Glrx2c* 和 *Glrx2d* [10], 预测相对分子质量分别为 15.2 kDa、14 kDa 和 10.8 kDa (图 2C 和 2D)。转录子 v1 由外显子 Ia、II、III 和 IV 构成, 编码 *Glrx2a*, 定位于线粒体; 转录子 v2、v4 和 v5 均编码 *Glrx2c*; 而转录子 v3 包含外显子 Ia、II、III、IIIb 和 IV, 编码 *Glrx2d*, *Glrx2c* 和 *Glrx2d* 均位于细胞质。转录子 v1 和 v2 普遍存在于小鼠各组织器官, 但 v1 在睾丸组织中含量极低; 而转录子 v3、v4 和 v5 只存在于睾丸组织中 [10]。内源性的 *Glrx2* 蛋白在各组织中的确切表达量还不清楚, 我们的研究表明, *Glrx2* 在各组织中表达差异明显, 其中中枢神经系统表达较高, 而且亚型蛋白的类型可能较先前报道更复杂 (李宽钰, 未发表数据)。

酿酒酵母 *Grx2* 只有一个亚型蛋白, 含 143 个氨基酸, 相对分子质量为 10 kDa, 活性位点为 C-P-Y-C, 与人源 *GLRX2* 不同。大肠杆菌 *Grx2* 比较特殊, 相对分子质量大于其他物种同源物, 为 24.3 kDa, 不能作为核糖核苷酸还原酶 (ribonucleotide reductase)

```

Hs MIWRRALAGTRLVWSRSGSAGWLDRAAGAAGAAAAASGMESNTSSSLENLATAPVNQI
Mm MSWRRAAASVGRRLVASG-----RILAGRRGAAGAAGSGMGNSTSSFWGKSTTTPVNQI
Dr -----MGNFSSSAPGLSSSACGQFV
Dm -----MGAVGSALRSPIVDMSTKQAKFV
      . . * . : . : .

Hs QETISDNCVVFISKTSCSYCTMAKKLFHDMNVNYKVVELDLLEYGNQFQDALYKMTGERT
Mm QETISNVCVVFISKTSCSYCSMAKKIFHDMNVNYKAVELDMLEYGNQFQDALHKMTGERT
Dr QDIVSSNCVVFISKTTCPYCKMAKGVFNEIGATYKVVELDEHNDGRRLQETLAELTGART
Dm ENTIASNKVVFISKTYCPYCTMAKEPFKKNVDATIIELDGNPDGNEIQAVALGEITGART
      . : . : * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

```

```

Hs VPRIFVNGTFIGGATDTHRLHKEGKLLPLVHQCYLKSKRKEFQ-----
Mm VPRIFVNGRFIGGAADTHRLHKEGKLLPLVHQCYLKSKRKEERH-----
Dr VPRVFINGQCIGGSDTKQLHQQKLLPLIEQCRPCLNMTPEGSGNSQNQPHQ
Dm VPRVFIDGKFIGGTDIKRMFETGALQKQYFQ-----
      * * * * * : * * * * * * * * * * * * * * * *

```

人源GLRX2和鼠源Glrx2活性位点为CSYC, 斑马鱼和果蝇Grx2同源物的活性位点为CPYC。Hs: *Homo sapiens* (人); Mm: *Mus musculus* (小鼠); Dr: *Danio rerio* (斑马鱼); Dm: *Drosophila melanogaster* (果蝇)。

图1 人、小鼠、斑马鱼和果蝇Grx2同源蛋白氨基酸序列比较

的电子供体, 结构上与谷胱甘肽转硫酶 (glutathione-S-transferase) 相似, 由 N 端典型的 Trx 折叠区和 C 端的 α 螺旋两个结构域构成。该 Trx 折叠区含有二巯基活性位点 C-P-Y-C, 因此, 也具有典型 Grx 的氧化还原酶活性^[11]。

2 GLRX2的生物化学性质

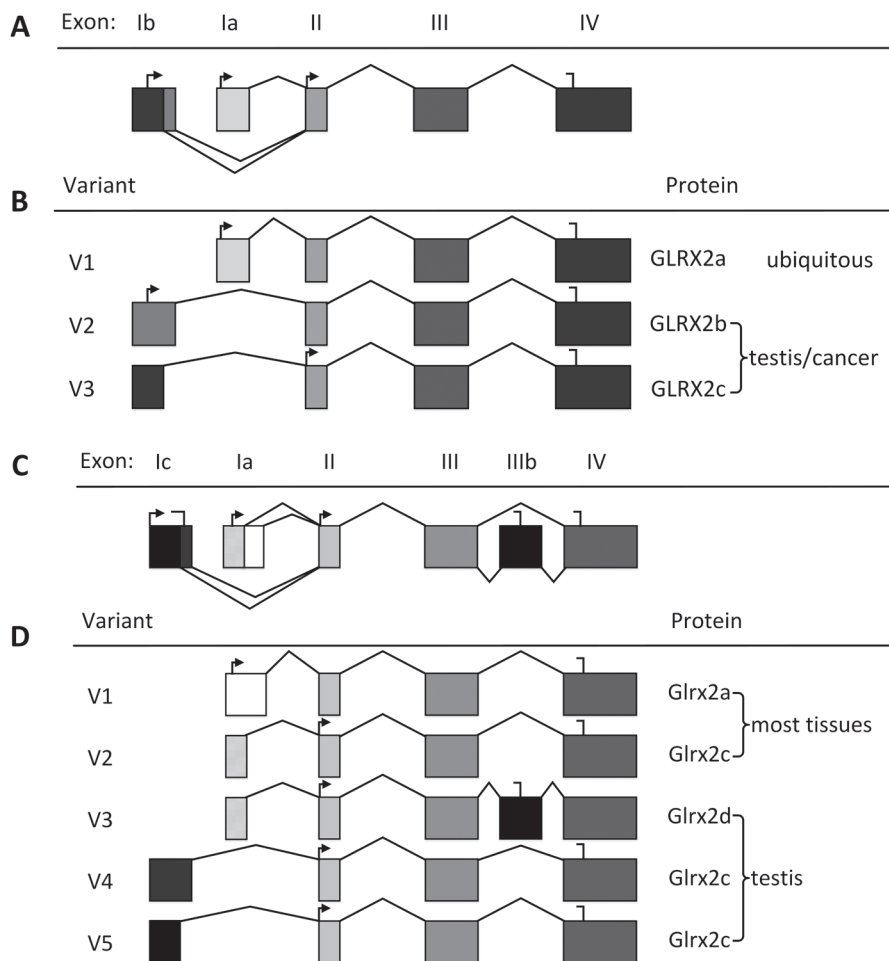
人源 GLRX2 的二巯基活性位点 C-S-Y-C 不同于典型的 GLRX (C-P-Y-C), 因此, 具有一些独特的生物化学性质。晶体结构显示两分子 GLRX2 蛋白和两分子 GSH 一起结合一个 [2Fe-2S], 形成 GLRX2 二聚体, 其中 [2Fe-2S] 可能在细胞内起着铁感受器和氧化还原势感受器的作用^[12]。与铁硫簇结合的 GLRX2 二聚体结构依赖于 GSH, 并与铁硫簇相结合, 可能与铁硫簇的转运或运输相关。同时,

GLRX2 基因表达受到一系列氧化物质的调控, 推测与其抗氧化和抗细胞凋亡作用密切相关。

2.1 GLRX2二聚体的形成

人 GLRX2 是 Trx 家族中第一个被发现铁硫簇蛋白, 单体无色, 二聚体呈棕褐色。除位于 280 nm 的吸收峰外, 二聚体还有两个吸收峰, 分别位于 320 nm 和 420 nm, 提示铁硫簇的存在, 经穆斯堡尔光谱证实为 [2Fe-2S]^[13]。两分子 GLRX2 单体与 [2Fe-2S] 及两分子的 GSH 结合后, 形成 2GLRX2-[2Fe-2S]-2GSH 二聚体 (图 3)。GLRX2 活性位点 N 端半胱氨酸的巯基与 [2Fe-2S] 结合, 而 GSH 与 GLRX2 非共价结合^[14-15]。与 GLRX2a 一样, GLRX2c 在体外也可形成含铁硫簇的二聚体^[8]。

GLRX1 和 GLRX2 具有相似的 GSH 结合位点和疏水表面, 但 GLRX1 不能结合铁硫簇^[15]。体内



(A)和(C)选择性剪接或不同转录起始位点的利用产生人源GLRX2 (A)和鼠源Glr2 (C)的不同转录子; (B)和(D)不同转录子翻译成人源GLRX2 (B)和鼠源Glr2 (D)的多种亚型蛋白。起始和终止密码子分别用箭头和弯钩表示。

图2 人GLRX2和小鼠Glr2亚型蛋白产生机制(根据[8-9]修改)

体外实验均证实, 当 GLRX1 的活性位点由 C-P-Y-C 突变为 C-S-Y-C 后, 即可结合铁硫簇; 而 GLRX2 活性位点突变为 C-P-Y-C 后, 体内实验显示 GLRX2 不能结合铁硫簇, 但在体外实验中 GLRX2 仍可结合铁硫簇, 表明活性位点 N 端半胱氨酸毗邻的丝氨酸是 GLRX2 结合铁硫簇的重要但非唯一原因; 而活性位点 C 端的半胱氨酸却与结合铁硫簇无关^[13]。GLRX2 第 95 位的苏氨酸突变为精氨酸后, 影响其与铁硫簇结合, 提示第 95 位的苏氨酸对结合铁硫簇也很重要。除了活性位点的两个半胱氨酸, GLRX2 还包含两个半胱氨酸残基, 分别位于第 28 和 113 位, 形成分子内二硫键^[6,16], 对维持 GLRX2 单体和二聚体结构均很重要, 但与结合铁硫簇无关^[15]。

GLRX2 二聚体形式在非应激条件下存在, 不具有氧化还原酶活性^[15](图 3)。氧化压力增大时, GSH 氧化为 GSSG, 铁硫簇解聚, 导致 GLRX2 二聚体转化为 GLRX2 单体, 发挥抗氧化应激的功能^[12]。GSH 可稳定 GLRX2 二聚体, 而 GSSG、单电子氧化剂(如铁氧化物)或还原剂(如连二亚硫酸盐)^[13]和活性氮簇^[16]则促进 GLRX2 二聚体转化为单体。通过铁硫簇来调控 GLRX2 的氧化还原酶活性, 从而在胁迫作用下调节细胞的氧化还原势, 是 GLRX2 一种全新的调控方式。

2.2 GLRX2与铁硫簇转运

GLRX2 与铁硫簇的结合依赖于 GSH。GLRX2 可以从支架蛋白 ISCU 处获得铁硫簇^[17], 并传递给

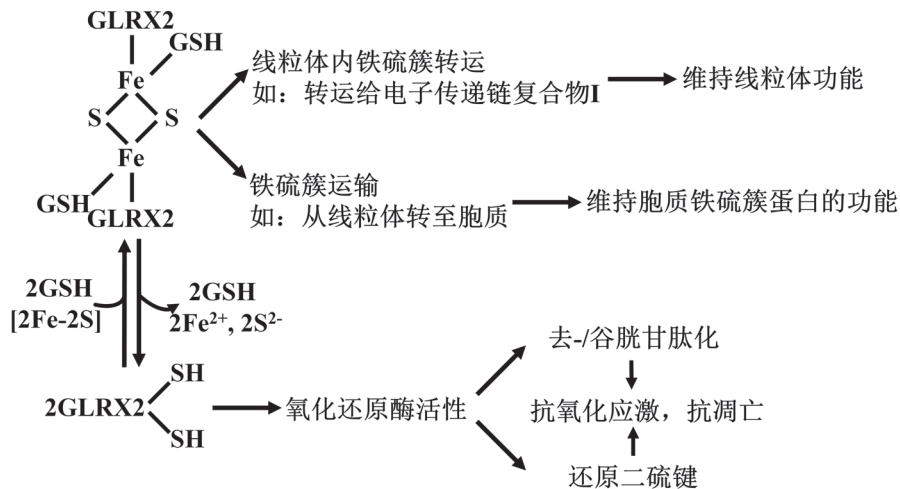
目标蛋白^[14]。Lee 等^[18]发现, GLRX2 缺失可产生与铁硫簇合成蛋白 FXN 缺失类似的 症状, 使得铁硫簇合成受阻, 铁硫簇蛋白复合物 I 活性下降, 铁调节蛋白结合铁反应元件(iron responsive element, IRE)活性增加, 转铁蛋白受体表达上调, 线粒体铁含量上升, 胞质铁含量下降。复合物 I 是电子传递链中含铁硫簇最多的复合物, 氧化条件下铁硫簇很容易解离^[12]。结合以上研究结果, 推测 GLRX2 很可能是复合物 I 铁硫簇的转运蛋白(图 3)。

2.3 GLRX2基因的表达调控

氧化苯肿、多柔比星、镉或丁硫氨酸亚砷胺(GSH 合成抑制剂)等氧化物处理 HeLa 细胞 24 h 后, GLRX2 蛋白水平均呈上升趋势, 其中镉诱导效果最显著, 达 2.9 倍^[19]。研究发现, 如果培养基中血清浓度从 5% 下降至 0.5%, HepG2 细胞 GLRX2a mRNA 表达逐渐上升, 且剥夺血清 48 h 后, GLRX2a 水平达到最高峰(为正常对照组的 2.45 倍)^[20]。血清剥夺导致细胞 GSH 水平下降, 活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平上升, caspase-3 活性增加, 从而诱导细胞凋亡。因此, 推测氧化压力增大时, GLRX2 可能通过提高 mRNA 和蛋白表达量, 发挥抗氧化应激和抗细胞凋亡的作用。

3 GLRX2的生理功能

氧化应激是细胞内的氧化还原平衡被打破的一种胁迫反应。细胞呼吸作用、脂肪酸氧化过程或者外源性氧化物均可导致 ROS, 如超氧化物阴离子



在非应激条件下, GLRX2 结合铁硫簇, 以二聚体形式存在, 可能参与铁硫簇的转运或运输; 当氧化压力增加时, 铁硫簇解聚, GLRX2 二聚体转化为 GLRX2 单体, 利用单巯基或双巯基机制, 发挥抗氧化应激和抗细胞凋亡的功能。

图3 GLRX2单体和二聚体之间的转化及其可能的生理作用

(O_2^-)、过氧化氢 (H_2O_2)、羟自由基 ($\cdot OH$) 和氢过氧化物 (ROOH) 等的产生。ROS 积累产生的氧化应激是导致细胞损伤、衰老和死亡的主要原因之一, 包括 DNA 损伤、蛋白质氧化、脂质过氧化等。GLRX2 是机体抗氧化酶系统的重要成员, 具有多种生物学功能, 在调节机体的氧化还原反应和抗细胞凋亡等方面起着重要作用。

3.1 GLRX2的抗氧化作用

巯基蛋白广泛参与机体重要的生理功能。当细胞暴露在较高 ROS 水平下, 巯基蛋白的半胱氨酸残基可被氧化为几种不同的产物, 包括能可逆再生的分子内 / 间二硫键、次磺酸和亚磺酸以及不可逆再生的磺酸^[21]。在进化过程中, 机体逐渐形生了复杂的蛋白质氧化修复和调节系统。细胞内氧化还原调控主要由 Grx 系统和 Trx 系统完成, 两者均可作为核糖核苷酸还原酶提供电子, 两系统可协同也可独立运行^[22]。GRX 和 TRX 均可还原蛋白二硫键, 但 TRX 的还原能力强于 GRX, 且进化较为久远, GRX 的作用更为复杂, 除了还原蛋白的二硫键外, 还可还原谷胱甘肽化的蛋白^[23]。通常在 Trx 系统中, 电子从 NADPH 通过硫氧还蛋白还原酶传递给 TRX, TRX 利用得到的电子还原靶蛋白中的二硫键; 而 Grx 系统中, 电子从 NADPH 传递到谷胱甘肽还原酶, 然后到 GSH, 最后传递到 Grx, Grx 利用得到的电子还原靶蛋白中的二硫键^[4]。GLRX2 的氧化还原酶活性可以催化其二巯基活性位点与对应二硫化物的半胱氨酸之间的巯基 - 二硫键的转换反应, 达到去谷胱甘肽化的目的, 以恢复氧化胁迫条件下被谷胱甘肽化的蛋白功能。

3.1.1 作用机制

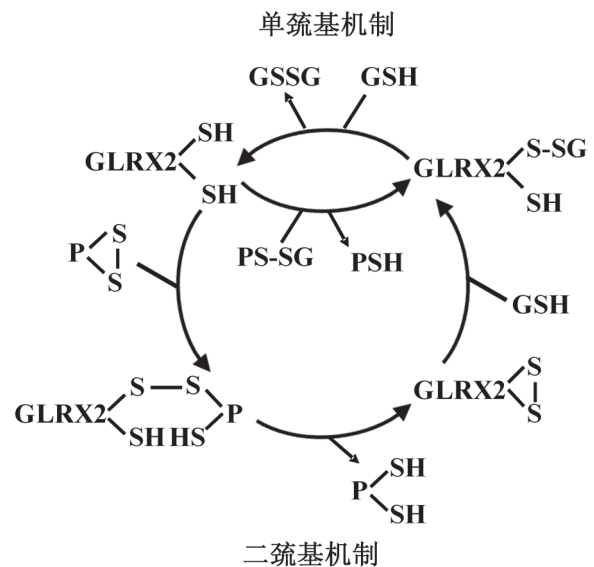
GLRX2 作为典型的二巯基 Grx, 具有 3 个活性区域^[5], 即巯基 - 二硫键活性中心 (C-S-Y-C)、GSH 结合位点和疏水性表面区域, 可催化二硫化物的氧化还原。氧化还原机制包括形成或还原二硫键的二巯基机制, 以及形成还原混合谷胱甘肽二硫化物的单巯基机制^[23-24] (图 4)。与 Trx 类似, 在二巯基还原机制中, GLRX2 参与还原蛋白二硫键, 其活性位点两个半胱氨酸残基均参与作用, 形成分子内二硫键, 随后被两分子 GSH 还原。单巯基机制又称为去谷胱甘肽化, 为 Grx 所独有, 涉及蛋白谷胱甘肽二硫化物的还原, 此时 GLRX2 仅利用 N 端半胱氨酸的巯基。谷胱甘肽化蛋白的还原仅需识别底物的谷胱甘肽部分而不是底物本身, 且 GLRX2 与 GSH 具有较强的结合能力, 因此, 单巯基机制

在机体中更为普遍。

GLRX2 去谷胱甘肽化效率与许多因素相关。若将 GLRX2 活性位点 C 端的半胱氨酸突变为丝氨酸, 去谷胱甘肽化能力更强, 可能是 C 端半胱氨酸和中间产物 GLRX2-SSG 形成分子内二硫键, 从而影响反应进程^[25]。由于与 N 端半胱氨酸毗邻的氨基酸不同 (GLRX1 为 C-P-Y-C, GLRX2 为 C-S-Y-C), GLRX2 去谷胱甘肽化速率较 GLRX1 低 (k_{cat} 值小), 但其与谷胱甘肽化蛋白底物的亲和力更高 (K_m 值小), 催化效率 (k_{cat}/K_m) 与 GLRX1 相似^[26]。GLRX2 仅在一定 pH 范围内 (7.5~8.5) 发挥活性作用, 其最佳 pH 为 8.0, 与 GLRX1 相似^[4]。

3.1.2 生理意义

GLRX2 在氧化应激的不同阶段均发挥重要作用: 在氧化应激早期, GLRX2 催化巯基蛋白谷胱甘肽化, 导致可逆的蛋白质失活, 保护蛋白质免遭进一步的氧化损伤; 而在恢复阶段, GLRX2 又可特异地还原细胞内谷胱甘肽化蛋白质, 恢复蛋白质活性, 是蛋白质活性的一种自我保护方式^[27]。当氧化应激导致 GSH/GSSG 比例下降或细胞内 pH 下降时, GLRX2 还可接受 TrxR 的电子, 恢复酶活性, 还原谷胱甘肽化蛋白和 GSSG, 从而维持细胞氧化



单巯基机制(图中小环)中, GLRX2 利用活性位点 N 端半胱氨酸对靶蛋白进行去谷胱甘肽化, 谷胱甘肽化的 GLRX2 通过 GSH 再生; 而二巯基机制(图中大环)中, GLRX2 还原蛋白二硫键, 自身通过两分子 GSH 再生。

图4 GLRX2去谷胱甘肽化的单巯基机制及还原蛋白二硫键的二巯基机制

还原稳态^[26]。

3.2 GLRX2的抗细胞凋亡作用

3.2.1 作用机制

当线粒体受到氧化刺激(如 H_2O_2)时,位于线粒体内膜的电子传递链复合物I中相对分子质量为75 kDa的亚基(也称为NDUFS1,是一种含铁硫簇蛋白,是复合物I的最大亚基)发生谷胱甘肽化而失活,导致电子传递链受阻,产生ROS,是大部分细胞产生ROS的来源^[28]。ROS的产生导致GSH/GSSG比例下降,使得细胞诸多含巯基蛋白谷胱甘肽化而失活。而GLRX2可通过其过氧化物酶活性对过氧化氢直接进行解毒^[29],或催化氧化失活的复合物I去谷胱甘肽化,从而保护电子传递链和线粒体的功能,缓解氧化应激导致的细胞凋亡。

3.2.2 生理意义

由于GLRX2的缺失产生的线粒体损伤,造成细胞色素C的释放,起始细胞凋亡的产生。过表达GLRX2可抑制2-脱氧葡萄糖或多柔比星导致的心磷脂氧化、细胞色素C释放和半胱天冬酶(caspase)活化,从而减少细胞凋亡的发生。GLRX2a、GLRX2b和GLRX2c均具有(去)谷胱甘肽化作用^[8],但过表达GLRX2a比GLRX2c保护作用更明显,推测与GLRX2a位于线粒体直接相关^[30]。过表达或敲除GLRX2并不影响细胞氧化还原态势或细胞生长,但GLRX2缺失减弱了细胞抵抗氧化压力的能力。通过RNA干扰,沉默HeLa细胞GLRX2的表达后,细胞对氧化应激导致的凋亡更敏感,药物多柔比星和氧化苯砷的半数致死剂量分别下降至1/60和1/40^[19],提示GLRX2具有抗氧化和抗细胞凋亡的作用。

4 GLRX2与人类健康

大量研究已证实,氧化应激在心血管疾病(动脉粥样硬化、缺血再灌注)、神经退行性疾病(帕金森病、肌萎缩性脊髓侧索硬化症)、白内障、肿瘤、肺纤维化、癫痫等疾病中扮演重要角色。衰老的自由基学说认为,氧自由基的不断积累导致了细胞的衰老,对果蝇等模式生物的研究表明其寿命也与氧化应激有关^[31]。而GLRX2具有抗氧化和抗细胞凋亡作用,因此,可能用于疾病治疗和抗衰老药物的设计。

4.1 GLRX2与心血管疾病

在缺血基础上恢复血流后组织损伤反而加重,甚至发生不可逆性损伤的现象称为缺血再灌注损伤

(ischemia-reperfusion injury)。缺血再灌注主要是通过氧化应激导致细胞损伤。小鼠肾脏缺血再灌注后,近曲小管细胞中Glx2、过氧还蛋白3(peroxiredoxin 3, Prx3)和Prx6水平上调^[32]。过表达这3种蛋白,均可减少缺氧的HEK293和HeLa细胞恢复氧供应后的氧化损伤,提高细胞存活能力和生长速率。Prx3发挥抗氧化作用依赖于Glx2,提示GLRX2在缺血再灌注损伤中发挥重要保护作用。

4.2 GLRX2与神经退行性疾病

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种常见的神经系统退行性疾病,主要病理改变为中脑黑质多巴胺能神经元的变性死亡,可能与老化和氧化应激相关。氧化应激可导致电子传递链复合物I活性丧失和线粒体功能障碍,GLRX2通过去谷胱甘肽化作用,恢复复合物I的活性,保护电子传递链,从而保护脑部神经组织线粒体免受损伤^[9,18]。

肌萎缩性脊髓侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)是一种运动神经元疾病,患者常在患病后3~5年内死亡。ALS可能与蛋白质错误折叠与聚集、线粒体功能障碍和氧化应激等有关。SOD1基因突变诱导的ALS模型和ALS患者的运动神经元均可见变异SOD1蛋白聚集,从而导致神经元退化。过表达GLRX2可保持线粒体氧化还原稳态,增加变异SOD1蛋白的溶解性,避免线粒体形态和功能遭破坏,抑制神经元细胞凋亡^[33],但GLRX2能否应用于ALS的治疗,还有待进一步的研究验证。

4.3 GLRX2与白内障

氧化应激、老化或局部营养障碍等,均可引起晶状体代谢紊乱,导致晶状体蛋白质变性、浑浊,最终导致白内障。晶状体上皮细胞暴露于氧化压力下,可导致蛋白质氧化和聚集、脂质过氧化和细胞凋亡。GLRX2可通过其过氧化物酶活性和去谷胱甘肽化作用,保护复合物I的活性,维持线粒体氧化还原稳态和线粒体完整性,从而抵抗细胞凋亡^[29]。因此,GLRX2对维持晶状体巯基-二硫键氧化还原内环境的稳定至关重要,晶状体中GLRX2含量的维持,对于晶状体抵御氧化应激和预防白内障有重要意义^[29]。

4.4 GLRX2与肿瘤

人GLRX2b和GLRX2c特异性表达在睾丸和肿瘤细胞中^[8],可能用来作为肿瘤的辅助诊断指标。GLRX2a具有抗氧化和抗凋亡作用,HeLa细胞过表达GLRX2a,细胞增殖速率明显上升,可能与一

些具有氧化作用的抗肿瘤药物的耐药相关^[34], 而 GLRX2 敲除可增加细胞对凋亡的敏感性, 因此, GLRX2 未来也许可作为肿瘤治疗的一个靶点; 过表达 GLRX2c 对细胞增殖无明显影响。Fernandes 等^[35]对 42 例非小细胞肺癌进行研究, 发现肿瘤组织中 GLRX2 含量显著上升, 肺腺癌分化程度越高, GLRX2 含量越高, 提示 GLRX2 可能促进肺癌细胞的分化, 至于哪种亚型 GLRX2 发挥主要作用, 还有待进一步的研究验证。

多柔比星可用于多种肿瘤的化疗, 但对心脏却有毒性作用, 可能与产生 ROS, 破坏线粒体功能相关。过表达 Glrx2 可对小鼠心脏线粒体含巯基蛋白进行(去)谷胱甘肽化修饰, 减少了多柔比星对线粒体功能的影响, 从而增加了心脏对多柔比星毒性的耐受性, 减轻了药物的不良反应^[27]。GLRX2 与肿瘤的关系错综复杂, 涉及肿瘤的诊断、治疗、药物不良反应及预后多方面, 因此, 深入研究 GLRX2 的功能有助于对肿瘤的研究和临床应用。

4.5 GLRX2与精子成熟

精子生成是一个极其复杂的过程, 涉及细胞增殖、减数分裂、细胞分化等一系列细胞活动, 其间原始的多能干细胞发生分裂, 更新自身或产生子代细胞并发育成精子。在精子生成的最后阶段, 精子核发生致密化, 大部分组蛋白被鱼精蛋白替代, 随后被组蛋白替代, 在附睾形成二硫键, 进一步形成高度致密的染色质结构^[36]。精子成熟过程中 GLRX2 含量增加; GLRX2b 和 GLRX2c 是睾丸特有的亚型蛋白, 可能作为二硫键异构酶, 形成二硫键, 对蛋白进行氧化交联, 在精子成熟过程中起重要作用^[8]。然而, 确切作用还需通过观察 GLRX2 各种亚型蛋白缺失后, 对精子成熟的影响来判断。

5 总结与展望

综上所述, GLRX2 是机体内特异、高效还原谷胱甘肽化蛋白的一种氧化还原酶, 参与氧化胁迫、细胞凋亡、蛋白修饰和细胞分化等多种生物过程^[37]。对其体内作用靶蛋白的研究, 有助于阐明 GLRX2 在整个细胞氧化还原网络中的重要调控作用。随着研究的深入, 有望最终了解 GLRX2 的各种功能及其与疾病的关系, 为设计氧化应激相关疾病的药物提供理论指导, 给治疗和预防相关疾病带来曙光。

【参 考 文 献】

[1] Hanschmann EM, Godoy JR, Berndt C, et al.

Thioredoxins, glutaredoxins, and peroxiredoxins-molecular mechanisms and health significance: from cofactors to antioxidants to redoxsignaling. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 19(13): 1539-605

[2] Lillig CH, Berndt C. Glutaredoxins in thiol/disulfide exchange. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 18(13): 1654-5

[3] Holmgren A. Hydrogen donor system for *Escherichia coli* ribonucleoside-diphosphate reductase dependent upon glutathione. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1976, 73(7): 2275-9

[4] Gladyshev VN, Liu A, Novoselov SV, et al. Identification and characterization of a new mammalian glutaredoxin (thioltransferase), Grx2. *J Biol Chem*, 2001, 276(32): 30374-80

[5] Lundberg M, Johansson C, Chandra J, et al. Cloning and expression of a novel human glutaredoxin (Grx2) with mitochondrial and nuclear isoforms. *J Biol Chem*, 2001, 276(28): 26269-75

[6] Sagemark J, Elgan TH, Burglin TR, et al. Redox properties and evolution of human glutaredoxins. *Proteins*, 2007, 68(4): 879-92

[7] Lundberg M, Fernandes AP, Kumar S, et al. Cellular and plasma levels of human glutaredoxin 1 and 2 detected by sensitive ELISA systems. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 319(3): 801-9

[8] Lonn ME, Hudemann C, Berndt C, et al. Expression pattern of human glutaredoxin 2 isoforms: identification and characterization of two testis/cancer cell-specific isoforms. *Antioxid Redox Signal*, 2008, 10(3): 547-57

[9] Karunakaran S, Saeed U, Ramakrishnan S, et al. Constitutive expression and functional characterization of mitochondrial glutaredoxin (Grx2) in mouse and human brain. *Brain Res*, 2007, 1185: 8-17

[10] Hudemann C, Lonn ME, Godoy JR, et al. Identification, expression pattern, and characterization of mouse glutaredoxin 2 isoforms. *Antioxid Redox Signal*, 2009, 11(1): 1-14

[11] Xia B, Vlamis-Gardikas A, Holmgren A, et al. Solution structure of *Escherichia coli* glutaredoxin-2 shows similarity to mammalian glutathione-S-transferases. *J Mol Biol*, 2001, 310(4): 907-18

[12] Mitra S, Elliott SJ. Oxidative disassembly of the [2Fe-2S] cluster of human Grx2 and redox regulation in the mitochondria. *Biochemistry*, 2009, 48(18): 3813-5

[13] Lillig CH, Berndt C, Vergnolle O, et al. Characterization of human glutaredoxin 2 as iron-sulfur protein: a possible role as redox sensor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(23): 8168-73

[14] Johansson C, Kavanagh KL, Gileadi O, et al. Reversible sequestration of active site cysteines in a 2Fe-2S-bridged dimer provides a mechanism for glutaredoxin 2 regulation in human mitochondria. *J Biol Chem*, 2007, 282(5): 3077-82

[15] Berndt C, Hudemann C, Hanschmann EM, et al. How does iron-sulfur cluster coordination regulate the activity of human glutaredoxin 2? *Antioxid Redox Signal*, 2007, 9(1): 151-7

[16] Hashemy SI, Johansson C, Berndt C, et al. Oxidation and

- S-nitrosylation of cysteines in human cytosolic and mitochondrial glutaredoxins: effects on structure and activity. *J Biol Chem*, 2007, 282(19): 14428-36
- [17] Qi W, Cowan JA. Mechanism of glutaredoxin-ISU [2Fe-2S] cluster exchange. *Chem Commun: Camb*, 2011, 47(17): 4989-91
- [18] Lee DW, Kaur D, Chinta SJ, et al. A disruption in iron-sulfur center biogenesis via inhibition of mitochondrial dithiol glutaredoxin 2 may contribute to mitochondrial and cellular iron dysregulation in mammalian glutathione-depleted dopaminergic cells: implications for Parkinson's disease. *Antioxid Redox Signal*, 2009, 11(9): 2083-94
- [19] Lillig CH, Lonn ME, Enoksson M, et al. Short interfering RNA-mediated silencing of glutaredoxin 2 increases the sensitivity of HeLa cells toward doxorubicin and phenylarsine oxide. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(36): 13227-32
- [20] Kim SJ, Jung HJ, Choi H, et al. Glutaredoxin 2a, a mitochondrial isoform, plays a protective role in a human cell line under serum deprivation. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(4): 3755-65
- [21] Hanschmann EM, Lonn ME, Schutte LD, et al. Both thioredoxin 2 and glutaredoxin 2 contribute to the reduction of the mitochondrial 2-Cys peroxiredoxin Prx3. *J Biol Chem*, 2010, 285(52): 40699-705
- [22] Meyer Y, Buchanan BB, Vignols F, et al. Thioredoxins and glutaredoxins: unifying elements in redox biology. *Annu Rev Genet*, 2009, 43: 335-67
- [23] Stroher E, Millar AH. The biological roles of glutaredoxins. *Biochem J*, 2012, 446(3): 333-48
- [24] Kalinina EV, Chernov NN, Saprin AN. Involvement of thio-, peroxi-, and glutaredoxins in cellular redox-dependent processes. *Biochemistry: Mosc*, 2008, 73(13): 1493-510
- [25] Gallogly MM, Starke DW, Leonberg AK, et al. Kinetic and mechanistic characterization and versatile catalytic properties of mammalian glutaredoxin 2: implications for intracellular roles. *Biochemistry*, 2008, 47(42): 11144-57
- [26] Johansson C, Lillig CH, Holmgren A. Human mitochondrial glutaredoxin reduces S-glutathionylated proteins with high affinity accepting electrons from either glutathione or thioredoxin reductase. *J Biol Chem*, 2004, 279(9): 7537-43
- [27] Diotte NM, Xiong Y, Gao J, et al. Attenuation of doxorubicin-induced cardiac injury by mitochondrial glutaredoxin 2. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1793(2): 427-38
- [28] Wu H, Xing K, Lou MF. Glutaredoxin 2 prevents H₂O₂-induced cell apoptosis by protecting complex I activity in the mitochondria. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1797(10): 1705-15
- [29] Fernando MR, Lechner JM, Lofgren S, et al. Mitochondrial thioltransferase (glutaredoxin 2) has GSH-dependent and thioredoxin reductase-dependent peroxidase activities *in vitro* and in lens epithelial cells. *FASEB J*, 2006, 20(14): 2645-7
- [30] Enoksson M, Fernandes AP, Prast S, et al. Overexpression of glutaredoxin 2 attenuates apoptosis by preventing cytochrome c release. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 327(3): 774-9
- [31] Peng C, Zuo Y, Kwan KM, et al. Blueberry extract prolongs lifespan of *Drosophila melanogaster*. *Exp Gerontol*, 2012, 47(2): 170-8
- [32] Godoy JR, Oesteritz S, Hanschmann EM, et al. Segment-specific overexpression of redoxins after renal ischemia and reperfusion: protective roles of glutaredoxin 2, peroxiredoxin 3, and peroxiredoxin 6. *Free Radic Biol Med*, 2011, 51(2): 552-61
- [33] Ferri A, Fiorenzo P, Nencini M, et al. Glutaredoxin 2 prevents aggregation of mutant SOD1 in mitochondria and abolishes its toxicity. *Hum Mol Genet*, 2010, 19(22): 4529-42
- [34] Chen Y, Cai J, Murphy TJ, et al. Overexpressed human mitochondrial thioredoxin confers resistance to oxidant-induced apoptosis in human osteosarcoma cells. *J Biol Chem*, 2002, 277(36): 33242-8
- [35] Fernandes AP, Capitanio A, Selenius M, et al. Expression profiles of thioredoxin family proteins in human lung cancer tissue: correlation with proliferation and differentiation. *Histopathology*, 2009, 55(3): 313-20
- [36] Balhorn R. The protamine family of sperm nuclear proteins. *Genome Biol*, 2007, 8(9): 227
- [37] Hoff KG, Culler SJ, Nguyen PQ, et al. *In vivo* fluorescent detection of Fe-S clusters coordinated by human GRX2. *Chem Biol*, 2009, 16(12): 1299-308