

DOI: 10.13376/j.cbls/2017104

文章编号: 1004-0374(2017)08-0769-04

## 硒蛋白N结构及功能的研究进展

师敏霞, 李梦迪, 郑晓琳, 李凤兰, 罗进城, 胡小燕, 李 晖\*

(哈尔滨医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室, 哈尔滨 150081)

**摘要:** 硒蛋白 N (selenoprotein N, SelN) 是 Lescure 在 1999 年应用生物信息学方法发现的一种硒蛋白, 其广泛表达于内质网膜表面。SEPN1 基因突变能够造成多种神经肌肉遗传疾病, 如肌肉无力、肌肉萎缩、脊柱强直和呼吸功能不全。目前研究发现, SelN 具有维持机体氧化还原水平、影响肌肉形成和调节钙稳态平衡等重要生物学作用。现对硒蛋白 N 的结构特点、性质和生物学功能以及与重大疾病的关系、研究进展及今后研究方向等进行了综述和展望。

**关键词:** 硒; 硒蛋白 N; 肌肉疾病; 氧化应激

**中图分类号:** Q51; Q74 **文献标志码:** A

## Advances in structure and function of selenoprotein N

SHI Min-Xia, LI Meng-Di, ZHENG Xiao-Lin, LI Feng-Lan, LUO Jin-Cheng, HU Xiao-Yan, LI Hui\*

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Basic Medical College,  
Harbin Medical University, Harbin 150081, China)

**Abstract:** Selenoprotein N (SelN) is a kind of selenoprotein discovered by Lescure in 1999. It is widely expressed on the surface of endoplasmic reticulum. *SEPN1* gene mutations can cause a variety of genetic neuromuscular diseases, including muscle weakness, muscle atrophy, spinal rigidity and respiratory insufficiency. The present study found that SelN is required for maintaining the body oxidation-reduction levels, affecting muscle formation and regulation of calcium homeostasis and other important biological effects. In this paper, progress on the structural properties and biological functions of selenoprotein N, and its relationship with major diseases are reviewed and prospected.

**Key words:** selenium; selenoprotein N; muscular disease; oxidative stress

硒是生物体必需的, 具有重要生理功能的一种微量元素。研究发现, 硒缺乏与多种疾病的发生发展密切相关, 如心血管疾病和肌肉疾病、病毒感染、甲状腺功能紊乱、癌症等<sup>[1-4]</sup>。硒在体内以硒磷酸的形式掺入硒代半胱氨酸 (selenocysteine, Sec) 合成硒蛋白 (selenoprotein), 并通过硒蛋白发挥其生物学功能<sup>[5]</sup>。目前, 在人体已经发现 25 种硒蛋白, 包括谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidases, GPxs)、硫氧还蛋白还原酶 (thioredoxin reductases, TrxRs)、脱碘酶 (deiodinases, DIOs) 以及一些其他硒蛋白, 如硒蛋白 P、硒蛋白 N、硒蛋白 S、硒蛋白 W 和硒蛋白 K 等<sup>[6-7]</sup>。硒蛋白参与体内多种生理和病理过程, 在预防心血管疾病、调节免疫系统功能、

延缓衰老、抵御癌症等方面发挥多种生物学功能<sup>[8]</sup>。目前, 蛋白结构、生物学功能研究较清楚的仅有 GPxs、DIOs 和 TrxRs 等几类硒蛋白。

硒蛋白 N (selenoprotein N, SelN) 由 *SEPN1* 基因编码, 是目前唯一确定的, 能直接引起人类遗传疾病的硒蛋白<sup>[9]</sup>。*SEPN1* 基因突变能够造成神经肌肉遗传疾病, 统称为 *SEPN1* 相关肌病 (*SEPN1*-related myopathy, *SEPN1*-RM), 包括 4 种不同类型: 强直性脊柱肌肉萎缩症 (rigid spine muscular dystrophy,

收稿日期: 2017-01-17; 修回日期: 2017-03-13

基金项目: 国家自然科学基金项目(81472929, 81172616)

\*通信作者: E-mail: lihui@ems.hrbmu.edu.cn

RSMD1)、多微小轴空病 (multiminicore disease, MmD)、马洛体样肌间线蛋白相关肌病 (mallory body-like desmin-related myopathy, MB-DRM) 和先天性肌纤维类型不均 (myopathy with congenital fiber type disproportion, CFTD)。*SEPN1* 相关肌病发病初期全身肌肉萎缩、肌肉无力, 以轴向肌肉无力尤为突出, 可致脊柱强直, 严重者可出现脊柱侧弯、呼吸功能不全等症 [10-12]。近年来, 随着对 *SEPN1* 基因突变所致疾病研究的深入, 其结构与生物学功能也日益受到关注。

## 1 *SeIN*的结构及分布

*SeIN* 是 1999 年由 Lescure 等 [13] 通过生物信息学方法预测并验证的一种硒蛋白。人类 *SEPN1* 基因位于常染色体 1p35-p36, 基因全长 1 770 bp, 包含 13 个外显子, 硒代半胱氨酸密码子位于第 10 号外显子 [14-15]。人类 *SEPN1* 基因第三外显子位于仅存在于灵长类动物的 Alu 序列, 被可变剪切为两种转录亚型, 其中短链转录亚型广泛表达, 而长链亚型蛋白检测不到, 原因是第三外显子内部存在另一个框内 UGA 密码子, 被识别为终止密码子, 因而长链转录亚型在蛋白水平不表达 [15]。*SEPN1* 基因编码的 *SeIN* 含有 590 个氨基酸残基, 相对分子质量为  $7 \times 10^4$ 。预测该多肽序列中有 4 个糖基化位点, N 端的糖基化位点已通过酶处理的方法被确认 [15]。研究发现, *SeIN* 序列中存在 1 个  $\text{Ca}^{2+}$  结合位点 EF 手型结构域和由 8 个 PXXP 模体组成的脯氨酸残基, 一同通过 SH3 结构域进行蛋白互作 [16-17]。硫氧还蛋白还原酶是一种 NADPH 依赖的包含 FAD 结构域的二聚体硒酶, 在氧化还原调节和抗氧化防御中有着重要作用。TrxR 的 C 端有一段非常重要的保守序列 GCUG, 其中 U 代表硒代半胱氨酸 [18], Sec 可以和其他底物的活性部位密切接触, 对 TrxR 的活性极为重要。而 *SeIN* 中硒代半胱氨酸残基是 SCUG 模体的一部分, 与 TrxR 中 GCUG 模体类似, 被认为参与 *SeIN* 催化位点的构成。然而, 在 *SeIN* 中并没有发现 FAD 和 NADPH 结合域, 推测其酶活性可能依赖于其他分子 [9]。

*SeIN* 是一种广泛表达于内质网膜表面的跨膜糖蛋白, 其 N 端面向细胞质, C 端及推测的活性位点位于内质网的内腔, 是一种内质网驻留蛋白。*SeIN* 对底物具有较高的特异性, 它的靶序列位于蛋白质 N 端, 包含一个双聚精氨酸模体和一段疏水性氨基酸 [15,19]。

在人体中, *SeIN* 在各组织中均有表达, 但表达量较少 [13]。*SeIN* 在胎儿组织中高表达, 而成人组织中表达相对较低 [13-14]; 在增殖旺盛细胞中表达增多, 如纤维母细胞和肌母细胞; 在肌母细胞向肌管分化的过程中表达持续下调 [15]。在小鼠中, *SeIN* 主要表达于胚胎发育过程, 尤其是肌节发育期间 [9]。

## 2 生物学功能

### 2.1 *SeIN*在骨骼肌形成中的作用

成熟肌肉的再生能力主要由静态肌祖细胞执行, 当组织发生损伤时, 肌卫星细胞可被激活, 增殖分化成为新的肌组织纤维 [19]。Castets 等 [20] 研究发现, 在 *SEPN1* 敲除小鼠中, 相比于未损伤组, 损伤的成熟肌肉中肌卫星细胞的数量降低; 用环磷酸腺苷对 *SEPN1* 敲除小鼠骨骼肌进行二次损伤, 骨骼肌的再生完全停止, 而对照组小鼠肌肉损伤得到修复。在 *SEPN1*-RM 患者肌肉活检组织中发现, 肌卫星细胞的数量较未感染和其他肌病损伤组显著降低, 并且随着年龄增长肌卫星细胞数量降低更为明显, 在 35 岁以上患者肌肉活检组织中仅能够检测到少量的肌卫星细胞 [20]。这些研究表明, 在哺乳动物肌肉组织中, *SeIN* 调节肌卫星细胞的增殖与分化, 对损伤肌肉组织的再生起到重要的作用。

近年来, 在不同动物模型中 *SeIN* 对肌肉生长发育影响的研究也取得了一些成果。Jurynek 等 [21] 研究发现, *SEPN1* 缺失的斑马鱼出现体节组织破坏和全身肌肉结构重度改变的特点。同时, 慢肌纤维生长发生缺陷, 近轴细胞中肌源性基因表达降低 [21-22]。但是, Rederstorff 等 [23] 研究发现, *SEPN1* 敲除小鼠与对照组小鼠相比, 其肌肉的组织结构和生理功能并没有出现明显病理改变, 这可能与物种使用肌肉程度和生存环境不同相关。另外, Moulin 和 Ferreira [24] 发现, *SEPN1* 基因缺失小鼠在激烈运动或应激反应后出现活动受限和身体僵直。

### 2.2 *SeIN*的抗氧化功能

几乎所有的硒蛋白都参与氧化还原反应, 硒代半胱氨酸残基通常位于催化活性中心, 与硒蛋白家族其他成员类似, *SeIN* 也被认为具有抗氧化功能 [25]。

Arbogast 等 [26] 研究表明, *SEPN1* 突变患者的肌管和 *SEPN1* 敲除的成纤维细胞的氧化水平升高, 被氧化的蛋白数量增加。用过氧化氢刺激 *SEPN1* 敲除的成纤维细胞, 细胞死亡率显著升高, 表明敲除 *SEPN1* 的成纤维细胞对过氧化氢诱导的氧化应激更为敏感。同时, 他们还发现, 敲除 *SEPN1* 的

成纤维细胞对氧化应激的敏感性可通过用抗氧化剂 N-乙酰半胱氨酸进行预处理而逆转。

内质网氧化还原蛋白 1 (ER oxidoreductin 1, ERO1) 是内质网中主要的蛋白二硫化氧化酶, 促使内质网中  $H_2O_2$  生成, 导致 ER 氧化应激。Marino 等<sup>[27]</sup> 研究发现, SeIN 在 ER 腔中可作为一种还原酶, 保护 ER 免受 ERO1 诱导的过氧化损伤, *SEPNI* 表达水平与 ERO1 水平具有相关性。这些研究都表明 SeIN 参与维持体内氧化还原平衡。

### 2.3 SeIN参与肌肉钙稳态的调控

钙稳态对维持肌肉组织正常生理功能发挥重要作用。Arbogast 等<sup>[26]</sup> 研究发现, 在缺乏 SeIN 的人类肌管中, 静息胞浆  $Ca^{2+}$  浓度升高, 同时, 肌浆网中  $Ca^{2+}$  负载和咖啡因诱导的  $Ca^{2+}$  释放减少。

肌内质网  $Ca^{2+}$ -ATP 酶 (sarco endoplasmic reticulum calcium adenosine triphosphatase, SERCA) 是一种内质网钙处理蛋白, 对从胞浆中清除的  $Ca^{2+}$  有高度亲和性, 调节静息胞浆中  $Ca^{2+}$  的浓度, 在兴奋-收缩耦联中起到非常重要的作用。Marino 等<sup>[27]</sup> 研究发现, *SEPNI*-RM 患者肌肉组织功能障碍的程度取决于氧自由基和  $Ca^{2+}$  的浓度。在氧化还原反应中, *SEPNI* 氧化还原活性的缺失抑制了 SERCA 的活性, 通过不断减弱兴奋-收缩耦联机制影响肌肉组织正常活动, 并且确定 *SEPNI* 的作用靶点是 SERCA2 亚型。SERCA2a 主要表达于骨骼肌慢肌纤维和心肌; SERCA2b 广泛表达于各组织中, 是一种管家基因, 主要参与维持细胞钙稳态。*SEPNI* 对 SERCA2a 和 SERCA2b 都有调控作用, 但只有 SERCA2a 缺失会导致机体出现明显的肌肉疾病表型<sup>[28]</sup>。在骨骼肌中, SERCA 通过调控兴奋-收缩耦联调节肌浆网中  $Ca^{2+}$  的摄入, SERCA 活性不足易导致肌营养不良。兰尼碱受体 (ryanodine receptor, RyR), 一种肌浆网  $Ca^{2+}$  释放通道, 对维持细胞内钙平衡起重要作用。Arbogast 等<sup>[26]</sup> 指出, *SEPNI* 可通过与肌肉中  $Ca^{2+}$  释放通道相互作用, 使 RyR 活化, 从而调节肌浆网中  $Ca^{2+}$  的释放。*SEPNI* 通过分别与 SERCA 和 RyR 作用而成为钙代谢中的一个关键组成部分。此外, 研究发现在骨骼肌发挥作用时, 钙稳态与内质网还原功能调节是必不可少的互联通路, *SEPNI* 异常导致此互联通路异常是先天性肌肉疾病发生的主要原因<sup>[24]</sup>。

### 3 SeIN异常与相关疾病

目前为止, 研究发现 RSMD1、MmD、MB-DRM

和 CFTD 的发生与位于染色体 1p35-36 的 *SEPNI* 突变相关<sup>[10-12]</sup>。以上 4 种肌肉疾病临床表现非常相似, 主要区别在于组织病理特征不同。RSMD1 患者肌肉组织活检显示肌纤维尺寸多样性增加, 组织出现轻微的虫蛀样改变<sup>[29]</sup>。MB-DRM 患者慢肌纤维占明显优势, 肌肉组织出现营养不良现象, 包括内膜纤维化和脂肪变性, 且出现许多透明斑块<sup>[30]</sup>。CFTD 患者肌肉组织免疫组化染色显示, 慢肌纤维直径与快肌纤维相比明显缩短, 细胞核与核内容物增加<sup>[31]</sup>。MmD 患者肌肉组织氧化着色可见许多微小病灶, 其他方面无明显异常<sup>[32]</sup>。目前, 对于 *SEPNI*-RM 疾病患者, 除肌肉矫正和呼吸功能辅助方法外, 尚无有效治疗方法。基于从患者肌管获得的体外实验结果, 用 N-乙酰半胱氨酸进行抗氧化治疗可作为潜在的药物治疗方法<sup>[26]</sup>。通过抑制或调控 ERO1 的活性来治疗 *SEPNI* 相关肌病, 也是一个可行的药物治疗方法。此外, 恢复 SeIN 的表达可能成为一种新的治疗策略, 为未来治疗 *SEPNI* 相关肌病提供了新的切入点<sup>[33]</sup>。

### 4 小结

SeIN 在促进肌肉组织再生、抗氧化应激、调控钙稳态等方面都发挥了有益的作用。近些年来, 关于 SeIN 生物学功能和 *SEPNI* 基因缺乏导致相关肌病的研究已经取得了一定成果, 但是有许多问题仍待探讨, 如 SeIN 明确的生物活性以及与其缺乏相关的主要功能缺陷; SeIN 在发挥作用时的具体调节机制; SeIN 在细胞中所发挥的内在或外在的作用。研究 SeIN 的结构和功能, 探讨其在人体生命活动和疾病防治中的作用和机制, 对生命科学具有十分重要的意义, 也为防治与肌肉组织缺陷相关的疾病提供了新的线索。

### [参 考 文 献]

- [1] Bellinger FP, Raman AV, Reeves MA, et al. Regulation and function of selenoproteins in human disease. *Biochem J*, 2009, 422: 11-22
- [2] Papp LV, Lu J, Holmgren A, et al. From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. *Antioxid Redox Signa*, 2007, 9: 775-806
- [3] Lobanov AV, Hatfield DL, Gladyshev VN. Eukaryotic selenoproteins and selenoproteomes. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1790: 1424-8
- [4] Rayman MP, Infante HG, Sargent M. Food-chain selenium and human health: spotlight on speciation. *Br J Nutr*, 2008, 100: 238-53
- [5] Xu XM, Carlson BA, Zhang Y, et al. New developments

- in selenium biochemistry: selenocysteine biosynthesis in eukaryotes and archaea. *Biol Trace Elem Res*, 2007, 119: 234-41
- [6] Mallonee DH, Crowder CA, Barger JL, et al. Use of stringent selection parameters for the identification of possible selenium-responsive marker genes in mouse liver and gastrocnemius. *Biol Trace Elem Res*, 2011, 143: 992-1006
- [7] Kryukov GV, Castellano S, Novoselov SV, et al. Characterization of mammalian selenoproteomes. *Science*, 2003, 300: 1439-43
- [8] 王斌, 王盼. 硒的功能与心血管疾病的研究进展. *国外医学医学地理分册*, 2013, 34: 20-2
- [9] Castets P, Lescure A, Guicheney P, et al. Selenoprotein N in skeletal muscle: from diseases to function. *J Mol Med*, 2012, 90: 1095-107
- [10] Mercuri E, Talim B, Moghadaszadeh B, et al. Clinical and imaging findings in six cases of congenital muscular dystrophy with rigid spine syndrome linked to chromosome 1p (RSMD1). *Neuromuscul Disord*, 2002, 12: 631-8
- [11] Arkader A, Hosalkar H, Dormans JP. Scoliosis correction in an adolescent with a rigid spine syndrome: case report. *Spine*, 2005, 30: 623-8
- [12] Mercuri E, Clements E, Offiah A, et al. Muscle magnetic resonance imaging involvement in muscular dystrophies with rigidity of the spine. *Ann Neurol* 2010, 67: 201-8
- [13] Lescure A, Gautheret D, Carbon P, et al. Novel selenoproteins identified *in silico* and *in vivo* by using a conserved RNA structural motif. *J Biol Chem*, 1999, 274: 38147-54
- [14] Moghadaszadeh B, Petit N, Jaillard C, et al. Mutations in *SEPN1* cause congenital muscular dystrophy with spinal rigidity and restrictive respiratory syndrome. *Nat Genet*, 2001, 29: 17-8
- [15] Petit N, Lescure A, Rederstorff M, et al. Selenoprotein N: an endoplasmic reticulum glycoprotein with an early developmental expression pattern. *Human Mol Genet*, 2003, 12: 1045-53
- [16] Mayer BJ. SH3 domains: complexity in moderation. *J Cell Sci*, 2001, 114: 1253-63
- [17] Li SC. Specificity and versatility of SH3 and other proline-recognition domains: structural basis and implications for cellular signal transduction. *Biochem J*, 2005, 390: 641-53
- [18] Zhong L, Arnér ES, Holmgren A. Structure and mechanism of mammalian thioredoxin reductase: the active site is a redox-active selenolthiol/selenenylsulfide formed from the conserved cysteine-selenocysteine sequence. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 5854-9
- [19] Tajbakhsh S. Skeletal muscle stem cells in developmental versus regenerative myogenesis. *J Internal Med*, 2009, 266: 372-89
- [20] Castets P, Bertrand AT, Beuvin M, et al. Satellite cell loss and impaired muscle regeneration in selenoprotein N deficiency. *Human Mol Genet*, 2011, 20: 694-704
- [21] Jurynek MJ, Xia R, Mackrill JJ, et al. Selenoprotein N is required for ryanodine receptor calcium release channel activity in human and zebrafish muscle. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 12485-90
- [22] Deniziak M, Thisse C, Rederstorff M, et al. Loss of selenoprotein N function causes disruption of muscle architecture in the zebrafish embryo. *Exp Cell Res*, 2007, 313: 156-67
- [23] Rederstorff M, Castets P, Arbogast S, et al. Increased muscle stress-sensitivity induced by selenoprotein N inactivation in mouse: a mammalian model for SEPNI-related myopathy. *PLoS One*, 2011, 6: e23094
- [24] Moulin M, Ferreira A. Muscle redox disturbances and oxidative stress as pathomechanisms and therapeutic targets in early-onset myopathies. *Semin Cell Dev Biol*, 2016, 64: 213-23
- [25] Lacourciere GM, Stadtman TC. Catalytic properties of selenophosphate synthetases: comparison of the selenocysteine-containing enzyme from *Haemophilus influenzae* with the corresponding cysteine-containing enzyme from *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 44-8
- [26] Arbogast S, Beuvin M, Fraysse B, et al. Oxidative stress in SEPNI-related myopathy: from pathophysiology to treatment. *Ann Neurol*, 2009, 65: 677-86
- [27] Marino M, Stoilova T, Giorgi C, et al. SEPNI, an endoplasmic reticulum-localized selenoprotein linked to skeletal muscle pathology, counteracts hyper-oxidation by means of redox-regulating SERCA2 pump activity. *Human Mol Genet*, 2015, 24: 1843-55
- [28] Appenzeller-Herzog C, Simmen T. ER-luminal thiol/selenol-mediated regulation of Ca<sup>2+</sup> signalling. *Biochem Soc Trans*, 2016, 44: 452-9
- [29] Dai Y, Liang S, Huang Y, et al. Targeted next generation sequencing identifies two novel mutations in SEPNI in rigid spine muscular dystrophy 1. *Oncotarget*, 2016, 7: 83843-9
- [30] Ferreira A, Ceuterickde GC, Marks JJ, et al. Desmin-related myopathy with Mallory body-like inclusions is caused by mutations of the selenoprotein N gene. *Ann Neurol*, 2004, 55: 676-86
- [31] Clarke NF, Kidson W, Quijanoroy S, et al. SEPNI: associated with congenital fiber-type disproportion and insulin resistance. *Ann Neurol*, 2006, 59: 546-52
- [32] Cullup T, Lamont PJ, Cirak S, et al. Mutations in *MYH7* cause multi-minicore disease (MmD) with variable cardiac involvement. *Neuromuscul Disord*, 2012, 22: 1096-104
- [33] Rederstorff M, Allamand V, Guicheney P, et al. *Ex vivo* correction of selenoprotein N deficiency in rigid spine muscular dystrophy caused by a mutation in the selenocysteine codon. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36: 237-44