

缺血缺氧疾病中脑红蛋白的表达

赵 晨¹ 张奕霞^{2△}

(1 石河子大学医学院 新疆 石河子 832000 2 石河子大学第一附属医院眼科 新疆 石河子 832000)

摘要 脑红蛋白是继血红蛋白和肌红蛋白后由 Burmester 等^[1]于 2000 年发现的体内第 3 类携氧蛋白,脑红蛋白在视网膜组织中的含量高达 100 $\mu\text{mol/L}$,占视网膜总蛋白量的 2% - 4%,其浓度约为脑中浓度的 100 倍,而体内不同组织脑红蛋白表达量的增加均与组织的缺血缺氧密切相关。视网膜作为中枢神经系统的重要组成部分之一,对氧的需求远远大于其他神经组织,临床实践中存在着与视网膜相关的大量的缺血缺氧性疾病,视网膜的这种特征为我们深入研究脑红蛋白与视网膜细胞之间的关系提供了临床基础。本文就脑红蛋白在缺血缺氧疾病中的表达展开论述,为视网膜缺血缺氧损伤中脑红蛋白的表达提供相关依据。

关键词 脑红蛋白 缺血缺氧疾病 神经保护

中图分类号:R774.1 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2012)22-4387-03

The Expression of Neuroglobin in Hypoxic-ischemic Diseases

ZHAO Chen¹, ZHANG Yi-xia^{2△}

(1 Ophthalmology, Shihezi University School of Medicine, 832000, China;

2 Department of Ophthalmology, First Affiliated Hospital of the Medical College, Shihezi University, Shihezi Xinjiang, 832000, China)

ABSTRACT: Neuroglobin was discovered by Burmester in 2000 which is the third oxygen-carried protein following hemoglobin and myoglobin. Neuroglobin in retinal tissue has a high content about 100 $\mu\text{mol/L}$, accounting for 2% - 4% of the total protein in retina, however, the concentration of which is approximately 100 times of that in the brain. Then the different upexpression of neuroglobin *in vivo* tissues is closely related to ischemia and hypoxia injury. As one of the most essential central nervous system, the demand for oxygen in retina is much larger than other nerve tissues. In clinical experiments, there are a lot of ischemic and anoxic diseases correlated with the retina, which provides clinical basis for our in-depth study of the relationship between neuroglobin and retinal cells. In this paper, the expression of neuroglobin discussed will provide the related basis for hypoxic-ischemic diseases in retina.

Key words: Neuroglobin; Hypoxic-ischemic diseases; Neuroprotection

Chinese Library Classification(CLC): R774.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)22-4387-03

前言

脑红蛋白是新近发现的主要存在于脑和视网膜组织中的第三类携氧球蛋白,大部分以单体的形式存在于神经细胞中。目前认为脑红蛋白可能具有以下作用:贮氧功能、氧传感器功能、协助氧扩散和供氧功能、清除活性氧和氮类物质的功能,或是作为末端氧化酶在组织缺氧时加速烟酰胺腺嘌呤二核苷酸的再生和促进三磷酸腺苷的产生等功能。脑红蛋白的发现,为神经系统缺血缺氧损伤的研究指出了新方向。

1 脑红蛋白的研究现状

脑红蛋白在视网膜的高表达提示脑红蛋白可能与细胞线粒体中的氧的代谢相关^[2],目前的研究中,例如细胞信号传导、有毒物质的清除、一氧化氮的代谢等一系列的功能被归因于脑红蛋白的功效^[3,4]。脑红蛋白已经被确定为 G 蛋白传导通路的耦合感应器^[5,6],并且其表达的上调在脑组织的缺血缺氧损伤中发挥着重要的神经保护作用,可能会在以后的临床治疗发挥作用^[7-10]。

从以下几个方面探讨一下脑红蛋白在缺血缺氧损伤中的可能相关的途径。

1) Brunori^[11]认为脑红蛋白除了在细胞中发挥氧气的储存功能外,还具有清除一氧化氮的作用。一氧化氮在视网膜缺血-再灌注损伤中占重要地位,视网膜缺血-再灌注时,一氧化氮合成酶被多种炎性介质及细胞因子激活,促使一氧化氮大量生成。一氧化氮是一种活性很强的自由基,具有广泛的生物学活性。在缺血-再灌注早期,少量一氧化氮可降低缺血缺氧对视网膜的损伤程度,晚期过多的一氧化氮可通过多种途径对视网膜造成损害。一氧化氮过量合成所致的过氧亚硝酸盐产物及线粒体功能失调在神经元凋亡中起重要作用。一氧化氮及其衍生物过氧化亚硝酸盐通过靶细胞线粒体中的含铁酶类以及与蛋白质相结合形成一氧化氮-铁复合物,抑制细胞线粒体呼吸链或竞争性地抑制细胞色素氧化酶,影响神经元细胞的生长发育,进而导致细胞凋亡,而脑红蛋白的在此氧化应激的过程中发挥了拮抗一氧化氮的作用^[12]。

2)越来越多的证据证明,14-3-3 蛋白在细胞生长、细胞增殖、细胞代谢、信号转导、细胞周期调控、细胞凋亡、基因转录、蛋白质易位、应激反应、肿瘤等发挥功能,其中最密切关注的功能是 14-3-3 蛋白的抗细胞凋亡作用^[13]。在大鼠大脑皮层缺血模型的实验研究中 14-3-3 蛋白在缺血大脑皮层中的表达明显高于对照组^[14]。更多的研究表明 14-3-3 蛋白可能作为一种神经保

作者简介:赵晨(1989-),女,硕士研究生,主要研究方向:玻璃体和视网膜疾病,Tel:15276485268,E-mail:348383622@qq.com

△通讯作者:张奕霞,E-mail:xyz991128@163.com

(收稿日期:2011-11-28 接受日期:2011-12-22)

护因子,不单单发挥神经保护作用于缺血损伤中^[15]。而最近 Ye SQ^[16]研究发现脑红蛋白和 14-3-3 γ 蛋白与神经防御机制密切相关,脑红蛋白通过下调 14-3-3 γ 的表达来增加机体对氧化应激的防御,探索这些内源性蛋白的相互之间的作用,或许可以通过我们自身先天性保护系统的中介作用免受机体收到外界各种不利刺激的伤害,为疾病的治疗及新药物的研发提供方向。探索脑红蛋白的内源性保护性机制,可以大大的延长缺血性疾病的六小时治疗时间窗,因此适当的治疗可以减少脑卒中患者的死亡率和改善治疗结果。

3) 缺氧诱导因子的确切机制尚未明确,缺氧诱导因子对很多缺氧诱导基因的调节功能是众所周知的,例如加速促红细胞生成素的合成以至于促进对缺氧组织的氧气运输、加速血管内皮生长因子的合成促进新生血管的形成以及加速葡萄糖的转运加速机体的供能等^[17]。目前的研究证实缺氧诱导因子诱导星形胶质细胞加速对促红细胞生成素的释放,成为一条重要的神经保护作用途径。这表明缺血缺氧损伤可以激活一个内在的星形胶质细胞——神经信号通路^[18],并且促红细胞生成素在观察小鼠视网膜缺氧预处理模型被证实是一个重要的神经保护蛋白^[19]。Sun 实验表明脑红蛋白在缺血缺氧状态下表达增加,且高度表达的脑红蛋白能够使培养的神元在缺氧情况下存活率升高和急性缺血状态下大鼠脑梗死体积缩小,提示脑红蛋白在脑缺血缺氧性损伤中对神元有保护作用。目前缺氧诱导脑红蛋白表达上调的机制仍未阐明,可能与缺氧诱导因子有关^[20]。

4) 近年来已有研究表明,脑红蛋白具有清除自由基的功能,这对研究清除自由基的药物具有重要意义。由于自由基是有氧代谢过程的重要中间产物,理论上具有氧结合能力的携氧珠蛋白有可能与自由基的生成与消亡过程密切相关。Burmester^[3]等研究表明,脑红蛋白能够与 NO₂·、H₂O₂ 等作用,起到清除自由基的作用。Sun^[21]研究表明,脑红蛋白对脑缺血缺氧具有保护作用,在缺血缺氧条件下,通过增强脑红蛋白的表达以减轻神经细胞的损伤,推测脑红蛋白可能起到脑保护的作用,在缺血缺氧性损伤等疾病中,脑红蛋白可显著提高神经细胞的存活率。Greenberg^[22]等指出,脑红蛋白在局灶性脑缺血损伤中起到一定的保护作用,成为一种内源性的神经保护剂,这些均表明脑红蛋白在脑缺血缺氧损伤中起重要保护作用。

2 脑红蛋白与神经细胞凋亡

最近研究证明脑红蛋白可以抑制与 Ras 相关的 C3 botulinum 毒素基体 1(RAC1)介导的肌球蛋白组装聚集于与细胞凋亡途径相关的微膜区^[23]。有人推测脑红蛋白作为一种拦截蛋白,拦截了神经细胞线粒体中对细胞色素 C 极其敏感的凋亡途径^[24]。Fago^[25]等在细胞外实验中测得 Fe²⁺- 脑红蛋白与氧化状态细胞色素 C(Fe³⁺- CytoC) 的反应常数非常接近蛋白质之间的已知最快反应常数,因此 Fago 推断脑红蛋白可能通过快速向 Fe³⁺- CytoC 提供 1 个电子使其还原为 Fe²⁺- CytoC,切断凋亡级联反应,视网膜细胞免疫组织化学染色分析表明,脑红蛋白表达于线粒体周围,这是脑红蛋白与 Fe³⁺- CytoC 相互作用的另一个支持点。此外,最近动物实验表明脑红蛋白挑战缺氧环境的上调表达表明在线粒体相关的凋亡途径启动后,脑红蛋白尚可发挥神经元的保护作用^[26 27]。因此我们可以推测脑红蛋白

防止细胞的意外死亡发生取决于与正常细胞生理功能相关的细胞内压力信号。可知细胞内确切的脑红蛋白浓度可能作为触发细胞内在凋亡途径的调定点。因为,正常神经细胞在面临突发的线粒体损伤因素,例如高频率的钙离子峰值,可通过脑红蛋白的上调表达可阻止细胞色素 C 诱导的蛋白酶介导相关凋亡途径的发生,为一些神经疾病提供针对性的治疗^[28]。

3 脑红蛋白的神经保护作用

神经元是所有细胞中对缺氧最敏感的,最近的研究表明神经元对缺氧环境有较大变化幅度的耐受能力,即便是最脆弱神经元对于缺氧也有一定的承受能力。缺氧缺血的神元的生存同时取决于其生理及分子水平,在转录和转录后水平选择有利于生存的途径或是凋亡途径,这些通过上调促红细胞生成素、血管内皮生长因子及热休克蛋白等发挥增加厌氧代谢或是加强氧气运输以尽可能满足机体对氧气的需求。在生理水平的调节,包括上调三磷酸腺苷的钾离子通道的开放并且增加抑制性神经递质的释放基丁酸或是腺苷。脑红蛋白被认为是一种转运氧气或是储存氧气的蛋白,因此脑红蛋白可以形象的被称作一种存在于大脑和视网膜的向线粒体呼吸链运输氧气的神经肌红蛋白^[3]。其他可能的作用包括作为一种终端氧化酶加速缺氧条件下烟酰胺腺嘌呤二核苷酸的合成、协助消除自由基或是作为传感器检测细胞氧浓度^[12 29]。在体外神经元的培养实验^[21]及中风大鼠模型的试验^[20]中证实,脑红蛋白的上调表达可以保护神经元减轻缺血缺氧损伤,提高生存率。脑红蛋白的上调表达提示其潜在作用可能是作为缺氧传感器,或是可能涉及另外的一种功能,如细胞内的氧载体或机体清除毒物途径的构成物质之一。但脑红蛋白发挥神经保护作用的确切机制尚不明确,需要进一步的实验研究,以及相关药物的干预研究。

参考文献(References)

- [1] Burmester T, Weich B, Reinhardt S, et al. A vertebrate globin expressed in the brain [J]. Nature, 2000, 407 (6803): 520-523
- [2] Ostojic J, Sakaguchi DS, de Lathouder Y, et al. Neuroglobin and cytoglobin: oxygen-binding proteins in retinal neurons [J]. Invest Ophthalmol Visual Sci, 2006, 47 (3):1016-1023
- [3] Burmester T, Hankeln T. Neuroglobin: a respiratory protein of the nervous system [J]. News Physiol Sci, 2004, 19 (3):110-113
- [4] Fordel E, Thijs L, Moens L, et al. Neuroglobin and cytoglobin expression in mice-evidence for a correlation with reactive oxygen species scavenging [J]. FEBS J, 2007, 274 (5):1312-1317
- [5] Wakasugi K, Nakano T, Morishima I. Oxidized human neuroglobin acts as a heterotrimeric G alpha protein guanine nucleotide dissociation inhibitor [J]. J Biol Chem, 2003, 278 (38):36505-36512
- [6] Kitatsuji C, Kurogochi M, Nishimura S, et al. Molecular basis of guanine nucleotide dissociation inhibitor activity of human neuroglobin by chemical crosslinking and mass spectrometry [J]. J Mol Biol, 2007, 368 (1):150-160
- [7] Yu Z, Fan X, Lo EH, et al. Neuroprotective roles and mechanisms of neuroglobin [J]. Neurol Res, 2009, 31(2):122-127
- [8] Liu J, Yu Z, Guo S, et al. Effects of neuroglobin overexpression on mitochondrial function and oxidative stress following hypoxia/reoxygenation in cultured neurons [J]. J Neurosci Res, 2009, 87(1):164-170

- [9] Duong TT, Witting PK, Antao ST, et al. Multiple protective activities of neuroglobin in cultured neuronal cells exposed to hypoxia reoxygenation injury [J]. J Neurochem, 2009, 108(5):1143-1154
- [10] Yu Z, Liu J, Guo S, et al. Neuroglobin-overexpression alters hypoxic response gene expression in primary neuron culture following oxygen glucose deprivation [J]. Neuroscience, 2009, 162(2):396-403
- [11] Brunori M, Giuffrè A, Nienhaus K, et al. Neuroglobin, nitric oxide and oxygen: functional pathways and conformational changes [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(24):8483-8488
- [12] Herold S, Fago A, Weber RE, et al. Reactivity studies of the Fe(III) and Fe(II)NO forms of human neuroglobin reveal a potential role against oxidative stress [J]. J Biol Chem, 2004, 279(22):841-847
- [13] Masters SC, Fu H. 14-3-3 proteins mediate an essential anti-apoptotic signal [J]. J Biol Chem, 2001, 276(48):45193-45200
- [14] Pirim I. Ischemic rat brains contain immunoreactivity of 14-3-3 proteins [J]. Int J Neurosci, 1998, 95(1-2):101-106
- [15] Jang SW, Liu X, Fu H, et al. Interaction of Akt-phosphorylated SRPK2 with 14-3-3 mediates cell cycle and cell death in neurons [J]. J Biol Chem, 2009, 284(36):24512-24525
- [16] Ye SQ, Zhou XY, Lai XJ, et al. Silencing neuroglobin enhances neuronal vulnerability to oxidative injury by down-regulating 14-3-3gamma [J]. Acta Pharmacol Sin, 2009, 30(7):913-918
- [17] Sharp FR, Ran R, Lu A, et al. Hypoxic preconditioning protects against ischemic brain injury [J]. NeuroRx, 2004, 1(01):26-35
- [18] Liu R, Suzuki A, Guo Z, et al. Intrinsic and extrinsic erythropoietin enhances neuroprotection against ischemia and reperfusion injury in vitro [J]. J Neurochem, 2006, 96(4):1101-1110
- [19] Grimm C, Wenzel A, Stanescu D, et al. Hypoxic preconditioning and erythropoietin protect retinal neurons from degeneration [J]. Adv Exp Med Biol, 2006, 588(4):119-131
- [20] Sun Y, Jin K, Peel A, et al. Neuroglobin protects the brain from experimental stroke in vivo [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(6):3497-3500
- [21] Sun Y, Jin K, Nao XO, et al. Neuroglobin is up-regulated by and protects neurons from hypoxic-ischemic injury [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(26):15306-15311
- [22] Greenberg DA, Jin K, Khan AA. Neuroglobin: an endogenous neuroprotectant [J]. Curr Opin Pharmacol, 2008, 8(1):20-24
- [23] Khan AA, Mao XO, Banwait S, et al. Regulation of hypoxic neuronal death signaling by neuroglobin [J]. FASEB J, 2008, 22(6):1737-1747
- [24] Bønding SH, Henty K, Dingley AJ, et al. The binding of cytochrome c to neuroglobin: a docking and surface Plasmon resonance study [J]. Int J Biol Macromol, 2008, 43(3):295-299
- [25] Fago A, Mathews AJ, Brittain T. A role for neuroglobin: resetting the trigger level for apoptosis in neuronal and retinal cells [J]. IUBMB Life, 2008, 60(6):398-401
- [26] Duong TT, Witting PK, Antao ST, et al. Multiple protective activities of neuroglobin in cultured neuronal cells exposed to hypoxia reoxygenation injury [J]. J Neurochem, 2009, 108(5):1143-1154
- [27] Liu J, Yu Z, Guo S, et al. Effects of neuroglobin overexpression on mitochondrial function and oxidative stress following hypoxia/reoxygenation in cultured neurons [J]. J Neurosci Res, 2009, 87(1):164-170
- [28] Hajra KM, Liu JR. Apoptosome dysfunction in human cancer [J]. Apoptosis, 2004, 9(06):691-704
- [29] Kriegl J.M., Bhattacharyya A.J., Nienhaus K., et al. Ligand binding and protein dynamics in neuroglobin [J]. PNAS, 2002, 99(12):7992-7997

(上接第 4400 页)

- [31] Van Haelst PL, Liem A, van Boven AJ, et al. Usefulness of elevated neopterin and C-reactive protein levels in predicting cardiovascular events in patients with non-Q-wave myocardial infarction [J]. Am J Cardiol, 2003, 92(10):1201-1203
- [32] Walter RB, Fuchs D, Weiss G, et al. HMG-CoA reductase inhibitors are associated with decreased serum neopterin levels in stable coronary artery disease [J]. Clin Chem Lab Med, 2003, 41(10):1314-1319
- [33] Schroecksnadel K, Frick B, Winkler C, et al. Aspirin downregulates homocysteine formation in stimulated human peripheral blood mononuclear cells [J]. Scand J Immunol, 2005, 62(2):155-160