

生长激素促分泌素受体(GHS-R)的发现及影响

黄希贵 焦保卫 王德寿*

(西南师范大学生命科学学院 重庆市水产科学重点实验室 重庆 400715)

摘要: 生长激素的分泌不仅受到 GHRH、SRIF 的调节,还受到 GHS-R 及其配体 GHS 的作用。本文综述了 GHS-R 的发现背景、结构特点以及生理功能,讨论了 GHS-R 促 GH 分泌的分子机制及其对多种组织器官可能影响,同时还探讨了除 Ia 和 Ib 亚型外还存在其它 GHS-R 亚型的可能性。

关键词: 生长激素促分泌素受体; 生长激素促分泌素; Ghrelin; 生长激素

中图分类号: Q492 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2004)02-84-05

GHS-R: A Novelty Identified GH-secreting Protein

HUANG Xi-Gui JIAO Bao-Wei WAND De-Shou

(Faculty of Life Science, Southwest China Normal University, Key Lab of Aquaculture Technology, Chongqing 400715, China)

Abstract: GHS-R is a newly identified protein from human and porcine hypothalamus and pituitary, which mainly acts as promotion factor of GH secretion in conjunction with GHS. The intensive results imply that GHS-R not only regulates the secretion of GH, but also has profound effect on various tissues and organs. The present review delineates the profile of GHS-R in terms of its identification background, structural characters as well as its biological functions. Also, this review discusses the possible existence of other subtypes besides GHS-R Ia and Ib and tries to elicit the hypothesis of the existence of GHS-R inhibitors.

Key words: Growth hormone secretagogue receptor; Growth hormone secretagogue; Ghrelin; Growth hormone

生长激素(growth hormone, GH)是调节个体生长、发育等代谢过程的一个重要的内分泌因子。一直以来,人们普遍认为 GH 的分泌受到两种下丘脑激素的调节——即受生长激素释放激素(growth hormone releasing hormone, GHRH)的促进和生长激素抑制因子(somatostatin, SRIF)的抑制。从 20 世纪 70 年代开始人们就陆续发现,许多人工合成的小分子肽和非肽类物质在体内和体外均可以促进 GH 分泌,并将这类物质统称为生长激素促分泌素(growth hormone secretagogue, GHS)。研究发现 GHSs 在体内促 GH 分泌的信号传导机制与已知的 GHRH 不同,推测体内存在着 GHS 的相应受体(growth hormone secretagogue receptor, GHS-R)。1996 年 Howard^[1]等人成功从人和猪垂体 cDNA 文库中分离得到两条不同的 GHS-R cDNA,命名为 GHS-R Ia 和 GHS-R Ib。

sphate, IP₃)依赖的胞内 Ca²⁺浓度的增加^[2]。利用该特点把猪垂体 mRNA 注射入非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)的卵母细胞后,用 GHS 刺激后发现能产生 Ca²⁺激活的电流。该结果表明猪垂体有 GHS-R 的表达。利用 GHS-R 电生理方面的这个特点,Howard 等对猪垂体的 cDNA 文库进行筛库后分离到一条不完整的生长激素促分泌素受体。根据该受体 cDNA 的核苷酸序列设计出 DNA 探针,采用分子杂交的方法从人和猪垂体 cDNA 文库中分离得到 GHS-R Ia 和 GHS-R Ib 两条不同的 GHS-R cDNA^[1]。

人和猪的 GHS-R Ia 亚型编码 366 个氨基酸残基,其相似性达到了 98%^[1]。分析比较人、猪、大鼠^[3]中分离得到的 GHS-R,发现其具有典型 G 蛋白的特征。包

1 GHS-R 的分离方法及结构特点

GHS-R 在体外激活后能引起 IP₃ (inositol trispho-

* 通讯作者;

第一作者介绍 黄希贵,男 25 岁,硕士研究生;研究方向:动物生理学;E-mail: sailor@swnu.edu.cn.

收稿日期:2003-04-30,修回日期:2003-11-20

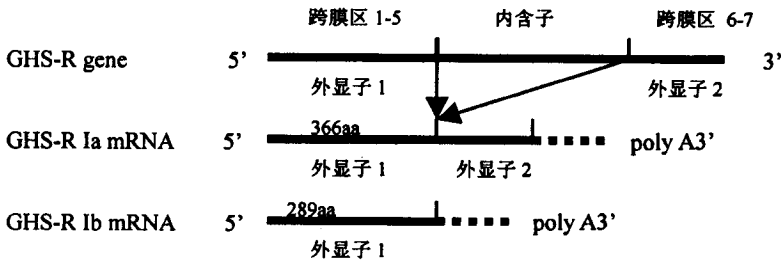


图1 人类 GHS-R 基因和其相对应的 Ia 和 Ib 亚型 mRNA 结构模式图

括:7次 α 折叠的跨膜结构;在紧接着第三个跨膜区域有三个起信号作用的芳香族氨基酸 Glu-Arg-Trp;前两个跨膜结构形成的胞外环中的半胱氨酸残基能形成二硫键结构;在第4、5、6、7跨膜区中有保守的脯氨酸残基^[4]。

有趣的是,从人和猪垂体中分离得到的 GHS-R Ib 亚型只编码 289 个氨基酸,包括 7 个跨膜结构中前面的 5 个。造成这种差异的原因可能是在 mRNA 转录时,第 6 和 7 个跨膜结构的 mRNA 在内含子剪切时没有成功接到前面的 mRNA 上而丢失。GHS-R Ia 和 Ib 的核苷酸序列在从起始密码 Met 到第 265 位的 Leu 相同,但是第 265 位后面的核苷酸序列则相差很大^[1]。现在还没有实验明确表明 GHS-R Ib 这种截断的亚型在生物体内有什么功能。但是该亚型 C 末端富含含有 Ser/Thr,可以模仿 G 蛋白偶联的受体。如果把他们插入到细胞膜中,可能将和 G 蛋白起到竞争结合的作用。

2 GHS-R 的保守性

从 GHS-R 的氨基酸组成上看,GHS-R 在进化过程中非常保守。比较人、猪、大鼠、小鼠和狗的 GHS-R 中相同的氨基酸组成,最高的是大鼠和小鼠,达到了 99.5%,最低的人与狗的氨基酸组成也达到了 89%。最近从河鲀(*Spherooides nephelus*)中分离出了三种分别名为 78B7、75E7 以及 1H9 的 GHS-R 的类似物。分析这三种蛋白和人类 GHS-R 的蛋白组成,结果发现相同的氨基酸组成分别达到了 58%、47%、41%。而 78B7 和人类 GHS-R 在跨膜区域的蛋白组成中,氨基酸最保守的第三个跨膜区达到了 92%,最低的第一和第五跨膜区也达到了 52%^[5]。考虑到河鲀和人类进化时间差异有 4 亿多年,表明 GHS-R 在进化中是相当保守的,在生物体中可能起着非常重要的功能作用。

3 组织分布

GHS-R 大量分布于垂体前叶和中枢神经系统中^[6]。GHS-R Ia 的 mRNA 主要分布于下丘脑弓状核、腹内侧

核、漏斗核、海马区以及腺垂体。运用原位杂交的方法发现 GHS-R 的 mRNA 还在下丘脑以外的区域表达,如杏仁核、Cajal 间质核^[7]。此外,GHS-R 在心脏、肺、胰腺、肠、脂肪组织、肾脏、精巢和卵巢^[8-10]中都有分布^[11]。

4 GHS 和 GHS-R 的作用机制

4.1 GHS

1999 年,Kojima^[12]等成功地从大鼠中分离得到 GHS-R 的内源性配体——Ghrelin。Ghrelin 是由 28 个氨基酸组成的内源性蛋白。让人感兴趣的是它是从胃里面分离得到的却直接作用于中枢神经系统的短肽。其第三位丝氨酸残基上有一个 n-辛酰基(n-octanoyl group)。该辛酰基对维持 Ghrelin 的活性是必须的,这是目前惟一发现的内分泌蛋白具有这样的修饰方式。Ghrelin 通过和 GHS-R Ia 结合促进 GH 的分泌,同时还在动物摄食、胃酸分泌和胃的收缩活动方面起着重要作用^[13,14]。另外它还广泛影响着其它如心血管器官系统的功能^[15]。少量的 GHS 可以促进从鱼^[16]到人^[17]GH 的大量分泌释放。可能的机制是:Ghrelin 从胃中分泌出后,直接进入血液而不是进入消化道。在垂体和 GHS-R 结合后刺激生长激素分泌细胞分泌释放 GH。

4.2 GHS 促 GH 分泌释放的分子机制

GHRH 和细胞膜上的受体结合后,启动 AC/cAMP/PKA 通路, Ca^{2+} 从胞外进入胞内,刺激 GH 的合成和分泌。SRIF 通过阻碍第二信使 cAMP 的合成来抑制 GH 分泌^[18]。现在已经清楚知道 GHS 结合 GHS-R 后,激活磷脂酶 C(phospholipase C, PLC), PLC 介导生成三磷酸肌醇(inositol 1, 4, 5-trisphosphate, IP_3)和甘油二酯(diacylglycerol, DAG)。 IP_3 促使 Ca^{2+} 从 IP_3 敏感的 Ca^{2+} 储存池中释放出来,同时 DAG 激活 PKC 介导 Ca^{2+} 从胞外进入。最后由 Ca^{2+} 刺激 GH 的合成分泌^[19]。但是在绵羊体外实验中却发现,生长激素促分泌素 GHRP-2 能激活绵羊生长激素细胞中腺苷酸环化酶,增加 cAMP 的浓度,启动 AC/cAMP/PKA 通路促 GH 的分泌。当 GHRP-2 和 GHRH 共同作用于绵羊生长激素细胞后对 GH 分泌有协同的作用特

点^[20,21]。另外 PKC 的拮抗剂只能部分降低 GHRP-2 促 GH 分泌的能力^[22]。这两种 GHS 的作用特点表明: GHS-R 除了 Ia 和 Ib 亚型之外,可能还有其它的亚型。在 GHS-R 基因敲除的大鼠中,其生长情况和脑内富含 GHS-R 基因的大鼠的生长情况相似,Ghrelin 仍能在体内发挥作用,为这一推测提供了实验证据^[23]。人类 GHS-R 类似物 GPR38 的发现^[5],也表明 GHS-R 可能在体内有多种存在形式,起着广泛而重要的作用。

5 GHS-R 的生物学效应

5.1 对生长的影响 GHS-R 最重要的生物学作用通过和其配体 Ghrelin 结合显示出来。Shuto^[24]等构建的转基因小鼠能够表达对应 GHS-R 的反义 mRNA (antisense mRNA),该反义 mRNA 和小鼠 GHS-R 基因正常转录的 mRNA 结合,从而导致 GHS-R mRNA 不能正常翻译为蛋白质。结果发现转基因小鼠比正常的小鼠体重、脂肪含量、进食量都要低。GHS 对这些转基因小鼠进食的刺激作用消失。在雌性的转基因小鼠中,发现 GH 和类胰岛素样生长因子 1 的分泌减少。以上表明,GHS-R 参与了 GH 的分泌、食物摄入和脂肪积累等方面的作用。

5.2 GHS-R 对肿瘤发生的影响 (1) 垂体腺瘤。在 Korbonits^[25]等利用 PCR 半定量的方法 (semiquantitation polymerase chain reaction) 研究了一些垂体腺瘤和神经内分泌瘤中 GHS-R mRNA 的表达。发现在生长激素细胞瘤和促肾上腺皮质激素细胞瘤中,GHS-R mRNA 的表达量高出正常许多,特别在生长激素细胞瘤中 GHS-R mRNA 表达量高出正常 200 倍左右。(2) 前列腺瘤细胞。Jeffery^[26]等的研究发现在体外前列腺腺瘤 PC-3 系中加入 Ghrelin,瘤细胞的增值增长 33%。正常的前列腺 cDNA 文库中只有 GHS-R Ia 亚型,在前列腺的肿瘤细胞中同时发现 GHS-R Ia 和 Ib 两种亚型和前者的配体 Ghrelin,推测 GHS-R Ib 在该肿瘤的发生和生长中也有一定的作用。(3) 在肝脏肿瘤细胞^[27]和一些神经内分泌肿瘤细胞^[28]中,也发现 GHS-R 的分布。从目前积累的资料来看,GHS-R/Ghrelin 通过自分泌和旁分泌的方式在肿瘤的发生和生长中起作用^[29]。

5.3 对免疫系统的影响 运用 RT-PCR (reverse transcription PCR) 发现 GHS-R 和它的内源性配体 Ghrelin 不仅在免疫系统的 B 细胞中有分布,同时还在并不大量表达 GH 的 T 细胞和嗜中性粒细胞中都有分布。推测 GHS-R 可能不仅仅是在免疫系统中促 GH 的分泌,还可能参与了其它未知的重要的生理作用^[30]。

5.4 激素调控的影响 在对 GHS-R 表达的激素调控方面,Kaji^[31]等人克隆了人类 GHS-R 基因 5' 上游序列的

片段,和作为报告信号的荧光素酶的基因融合在一起,在垂体腺瘤细胞中进行表达。用各种激素处理瘤细胞后,发现糖皮质激素和两种 Ghrelin 的类似物通过和人类 GHS-R 基因的上游特定序列结合,阻止 GHS-R 表达信号的激活。三碘甲状腺氨酸和雌二醇对 GHS-R/荧光素酶的表达没有影响。不过有人发现在新生或者是在注射过抗 GHRH 的抗体的大鼠上 GHS 能够刺激 GHS-R 的转录和表达^[32]。在人类,男女之间 GHS 促 GH 的分泌作用并没有明显的区别^[33],但是大鼠下丘脑 GHS-R mRNA 的表达水平却是雌性高于雄性^[34]。对大鼠注射雌二醇之后也发现,下丘脑的 GHS-R mRNA 表达水平增高^[35]。关于 GHS-R 激素调控的具体机制还有待更进一步的阐释。

6 展望

GHS-R 和 GHS 共同作用并通过复杂的胞内机制来促进 GH 的分泌。用不同的 GHS 处理不同种类的动物,其促 GH 分泌的机制有很大的差异,可能是因为 GHS-R 在生物体内有多种亚型存在,使 GH 的分泌调节更加精确。GHS/GHS-R 促 GH 的分泌同样依靠完整的 GHRH 促 GH 分泌的通路,表明 GHS/GHS-R 和 GHRH 促 GH 分泌通路存在紧密的联系^[36]。另外在内分泌系统中,有很多的促进因子和抑制因子相拮抗的情况。GHS 和 GHS-R 促 GH 分泌,是否也存在一种拮抗因子来抑制 GHS-R 的促 GH 分泌的功能,并组成一个新的完整的促 GH 分泌的调控通路,尚需更多的工作来证实。

GHS-R 广泛的分布于包括心脏、脂肪组织、性腺、肿瘤和免疫系统等和 GH 分泌调节没有直接关系的组织中,表明其除了促 GH 的分泌外,可能还有其它的自分泌、旁分泌和内分泌的功能。GHS-R 的内源性配体 Ghrelin 在胃中表达但是却可以直接作用于中枢神经系统的 GHS-R 而促进 GH 的分泌,同时还发现它对摄食和胃酸分泌都有重要影响,推测可能有一个胃肠道-下丘脑-垂体轴把消化系统同中枢神经直接联系起来。目前对 Ghrelin 的分泌调节机制知道的还很少。随着对 GHS 及其配体 GHS-R 研究的深入,在基础理论方面将有助于人们弄清楚 GH 分泌调控的详细机制以及胃肠道与中枢神经系统的关系,对生产实践则有重要的指导意义。

参 考 文 献

- [1] Howard A D, Feighner S D, Cully D F, et al. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science*, 1996A, 273: 974 ~ 977.

- [2] Herrington J, Hille B. Growth hormone-releasing hexapeptide elevates intracellular calcium response in rat somatotrophs by two mechanisms. *Endocrinology*, 1994, **135**:1 100 ~ 1 108.
- [3] McKee K K, Palya O C, Feighner S D, *et al.* Molecular analysis of rat pituitary and hypothalamic growth hormone secretagogue receptors. *Mol Endocrinol*, 1997, **11**: 415 ~ 423.
- [4] Probst W C, Snyder L A, Schuster D I. Sequence alignment of the G-protein coupled receptor superfamily. *DNA and Cell Biology*, 1992, **11**:1 ~ 20.
- [5] Palpha O C, Feighner S D, Tan C P, *et al.* Ligand activation domain of human orphan growth hormone (GH) secretagogue receptor(GHS-R) conserved from pufferfish to humans. *Mol Endocrinol*, 2000, **14**(1):160 ~ 169.
- [6] Smith R G, Feighner S, Prendergast K, *et al.* A new orphan receptor involved in pulsatile growth hormone release. *Trends Endocrinol Metab*, 1999, **10**:128 ~ 135.
- [7] Nakamura M, Sakanaka C, Aoki Y, *et al.* Identification of two isoforms of mouse neuropeptide Y-Y1 receptor generated by alternative splicing. *J Biol Chem*, 1995, **270**:30 012 ~ 30 110.
- [8] Tanaka M, Hayashida Y, Nakao N, *et al.* Testis-specific and developmentally induced expression of a ghrelin gene-derived transcript that encodes a novel polypeptide in the mouse. *BBA*, 2001, **1 522**: 62 ~ 65.
- [9] Tena-sempere M, Barreiro M L, González L C, *et al.* Novel Expression and Functional Role of Ghrelin in Rat Testis. *Endocrinology*, 2002, **143**(2):717 ~ 725.
- [10] Jeffery P L, Herrington A C, Chopin L K. Expression and action of the growth hormone releasing peptide ghrelin and its receptor in prostate cancer cell lines. *J Endocrinol*, 2002, **172**:7 ~ 11.
- [11] Mori K, Yashimoto M, Takaya K, *et al.* Kidney produces a novel acylated peptide, ghrelin. *J FEBS Lett*, 2000, **486**(3): 213 ~ 216.
- [12] Kojima M, Hosoda H, Date Y, *et al.* Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, 1999, **402**: 656 ~ 660.
- [13] Nakazato M, Murakami N, Date Y, *et al.* A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature*, 2001, **409**:194 ~ 198.
- [14] Masuda Y, Tanaka T, Inomata N, *et al.* Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, **276**:905 ~ 908.
- [15] 王越晖,祝世功. Ghrelin 的发现及研究进展. 中国病理生理杂志, 2001, **17**(12):1 256 ~ 1 259.
- [16] Shepherd B S, Eckert S M, Parhar I S, *et al.* The hexapeptide KP-102 (D-Ala-D-B-Nal-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂) stimulate growth hormone release in a cichlid fish (*Oreochromis mossambicus*). *Journal of Endocrinology*, 2002, **167**:R7 ~ R10.
- [17] Casanueva F F, Dieguez C. Growth hormone secretagogues: physiological role and clinical utilities. *Trends Endocrinol Metab*, 1999, **10**:30 ~ 38.
- [18] Lussier B T, French M B, Moor B C, *et al.* Free intracellular Ca²⁺ concentration ([Ca²⁺]_i) and GH release from purified rat somatotrophs. III. Mechanism of action of GH-releasing factor and somatostatin. *Endocrinology*, 1991, **135**:592 ~ 603.
- [19] Cheng K, Chan W W S, Barreto A, *et al.* Evidence for a role of protein kinase-C in His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂-induced growth hormone release from rat pituitary cells. *Endocrinology*, 1991, **129**:3 337 ~ 3 342.
- [20] Wu D, Chen C, Katoh K, *et al.* The effect of GH-releasing peptide-2 (GHRP-2 or KP-102) on GH secretion from primary cultured ovine pituitary cells can be abolished by a specific GH-releasing factor(GRF) receptor antagonist. *J Endocrinol*, 1994, **140**:R9 ~ 13.
- [21] Wu D, Chen C, Clarke I J. The effect of GH-releasing peptide-6 (GHRP-6) and GHRP-2 on intracellular adenosine 39,59-monophosphate (cAMP) levels and GH secretion in ovine and rat somatotrophs. *J Endocrinol*, 1996, **14**: 197 ~ 205.
- [22] Wu D, Clarke I J, Chen C. The role of protein kinase-C in GH secretion induced by GH-releasing factor and GH-releasing peptides in cultured ovine somatotrophs. *J Endocrinol*, 1997, **154**: 219 ~ 230.
- [23] Deguez C, Casanueva F F. Ghrelin: A step forward in the understanding of somatotroph cell function and growth regulation. *J Endocrinol*, 2000, **142**(5):413 ~ 417.
- [24] Shuto Y, Shibasaki T, Otagiri A, *et al.* Hypothalamic growth hormone secretagogue receptor regulates growth hormone secretion, feeding, and adiposity. *J Clin Invest*, 2002, **109**(11):1 429 ~ 1 436.
- [25] Korbonits M, Jacobs R D, Aylwin S J, *et al.* Expression of the growth secretagogue receptor in pituitary adenomas and other neuroendocrine tumors. *J Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1998, **83**(10):3 624 ~ 3 630.
- [26] Jeffery P L, Herrington A C, Chopin L K. Expression and action of the growth hormone releasing peptide ghrelin and its receptor in prostate cancer cell lines. *J Endocrinol*, 2002, **172**:7 ~ 11.
- [27] Masahiro M, Yasuhiko O, Keiji L, *et al.* Ghrelin modulates the downstream molecules of insulin signaling in hepatoma cells. *J Biological Chemistry*, 2002, **277**(7):5 667 ~ 5 674.
- [28] de Keyzer Y, Lenne F, Bertagna X. Widespread transcription of

- the growth hormone releasing peptide gene in neuroendocrine human tumours *European Journal of Endocrinology*, 1997, **137**:715 ~ 718.
- [29] Jeffery P L, Herington A C, Chopin L K. The potential autocrine/paracrine roles of ghrelin and its receptor in hormone-dependent cancer. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 2003, **14**:113 ~ 122.
- [30] Hattori N, Saito T, Yagyu T, *et al.* GH, GH receptor, GH secretagogue receptor, and ghrelin expression in human T cells, B cells, and neutrophils. *J Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2001, **86**(9):4 284 ~ 4 291.
- [31] Kaji H, Kishimoto M, Kirimura T, *et al.* Hormonal regulation of the human ghrelin receptor gene transcription. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2001, **284**: 660 ~ 666.
- [32] Nass R, Gilrain J, Anderson S, *et al.* High plasma growth hormone (GH) levels inhibit expression of GH secretagogue receptor messenger ribonucleic acid levels in the rat pituitary. *Endocrinology*, 2000, **141**(6): 2 084 ~ 2 089.
- [33] Chihara K, Kaji H, Hayashi S, *et al.* Growth hormone II. In: Bercu B B, Walkers R F, eds. Basic and Clinical Aspect. New York: Springer-Verlag, 1994, 223 ~ 230.
- [34] Bennet P A, Tothomas G B, Howard A D, *et al.* Hypothalamic growth hormone secretagogue-receptor (GHS-R) expression is regulated by growth hormone in the rat. *Endocrinology*, 1997, **138**(11):4 552 ~ 4 557.
- [35] Carmignac D F, Bennet P A, Robinson ICIF. Effects of growth hormone secretagogues on prolactin release in anesthetized dwarf (dw/dw) rats. *Endocrinology*, 1998, **139**: 3 590 ~ 3 595.
- [36] Kineman R D, Kamegai J, Frohman L A. growth hormone (GH)-releasing hormone (GHRH) and the GH secretagogue (GHS), L692,585, differentially modulate rat pituitary GHS receptor and GHRH receptor messenger ribonucleic acid levels. *Endocrinology*, 1999, **140**(8): 3 581 ~ 3 586.