

Ghrelin 发现和结构的研究现状 *

王丽晔 李 峰[△] 宋月晗 马佳美 李思耐 关冰河

(北京中医药大学 北京 100029)

摘要 :Ghrelin 是生长激素促分泌素受体(growth hormone secretagogue receptor ,GHSR)的内源性配体 ,是 1999 年由 Kojima 等[]人从大鼠胃组织中发现的含 28 个氨基酸的多肽 ,主要由胃黏膜泌酸腺 X / A 样细胞分泌并与其特异性受体结合而产生多种生物学效应。本文总结了近几年的文章 ,旨在通过对 Ghrelin 的发现和结构的介绍 ,为以后的相关研究奠定基础。

关键词 :Ghrelin ;脑肠肽 ;结构

中图分类号 :Q74 生物小分子的结构和功能 文献标识码 :A 文章编号 :1673-6273(2011)18-3589-03

The discovery and structure of Ghrelin*

WANG Li-ye, LI Feng[△], SONG Yue-han, MA Jia-mei, LI Si-nai, Guan Bing-he

(Beijing University of Chinese Medicine, 100029, Beijing, China)

ABSTRACT: Ghrelin is the endogenic ligand of growth hormone secretagogue receptor (GHSR), it was detected in stomach of mouse by Kojima in 1999 for the first time, it is a polypeptide which has 28 amino acids. Ghrelin is excreted by X/A cells in stomach mucous membrane secretory and do the deed through combing with its specificity antibody. The article summarizes many papers which appeared in recent years and wants to lay the foundation of correlational investigation.

Key word: Ghrelin; Braingut petide; Structure

Chinese Library Classification: Q74 The structure and function of biomolecule Document code: A

Article ID: 1673-6273(2011)18-3589-03

1 Ghrelin 的发现

20 世纪 70 年代 ,Bowers 等人^[1]合成了一种具有促进生长激素分泌活性的物质 :蛋氨酸—亮氨酸脑啡肽(met-enkephalin)类似物 ,之后相继发现并合成了很多小分子肽 - 生长激素释放多肽(growthhormone releasing peptides ,GHRPs) ,如 GHRP-6、GHRP-1、GHRP-2 和 hexeralin 等。1993 年 Smith 等^[2] 根据 GHRP-6 的三维结构合成出具有相似功能的非肽类物质 ,如 MK0677 ,L-692 和 I-429 等。这些物质均可以在体内通过 G 蛋白偶联受体刺激垂体释放生长激素 ,故将这类人工合成的外源性物质统称为生长激素促分泌物 (growth hormone secretagogues ,GHSs)。虽然 GHSs 和生长激素释放激素 (growth hormone releasing hormone ,GHRH) 均能够促进生长激素的释放 ,但是研究发现两者的膜受体和信号传导机制均不同 ,所以推测在体内有 GHSs 的相应受体。1996 年 Howards 等人^[4]克隆出了 GHSR 的 cDNA 并证实 GHSR 属于 α 螺旋 7 次跨膜的 G 蛋白偶联受体(7TMGPCR) ,由此提出在体内应具有其相应的活性配基。1999 年 Koiima 等人^[1]以稳定表达大鼠 GHSR 的细胞系 CHO-GHSR62(chinese hamster ovary)作为检测对象 ,从大鼠胃中分离出一种含 28 个氨基酸残基的活性肽 ,并证明它是 GH-SR 的内源性配基 ,具有很强的促 GH 释放功能 ,并命名为 Ghrelin。



图 1 ghrelin 的发现过程

Figure 1 Ghrelin's discovery process

2 Ghrelin 的结构

2.1 基因结构

人的 ghrelin 基因定位于染色体 3 p26-p25 ,包括 4 个内含子和 5 个外显子 ,其中一个外显子长 554bp ,包括 5'- 端 446 bp 的非翻译区和 ghrelin N 端前 13 个氨基酸残基信号序列的编码区。一个外显子长 117bp ,其 5'- 端的 45bp 编码剩余的 15 个氨基酸残基信号序列^[5] ,第一个外显子不编码蛋白^[6]。核心启动子长约 200bp ,上游调控序列长约 5000bp ,具有 TATA box 样序列和 E box 序列 ,3 个 E box 序列可以结合属于碱性螺旋 - 环 - 螺旋亮氨酸拉链家族转录因子的上游刺激因子 -1 / 2 ,进而增强其转录活性^[4]。在对上游序列进行研究时发现还有其他

*基金项目 北京中医药大学自主课题(52202)

作者简介 :王丽晔(1988-) ,女 ,硕士研究生 ,主要研究方向 疲劳与情绪的关系 ,电话 :15120039835 E-mail:wangliye@yahoo.cn

[△]通讯作者 李峰 E-mail: lifeng95@vip.sina.com

(收稿日期 2010-01-07 接受日期 2010-01-31)

的转录因子结合位点,如核转录因子激活蛋白(activator protein-1,AP-1)、CCAAT 增强子结合蛋白(CCAAT enhancer binding proteins,C/EBP)、GATA、cAMP 反应元件结合蛋白(cAMP response element binding protein,CREB)等^[7],但具体的生物学功能还有待研究。

2.2 蛋白结构

蛋白结构 Ghrelin 前体(prepro-ghrelin)是由 117 个氨基酸组成的。N 端的前 23 个氨基酸具有分泌信号肽的特征 24-51 位的 28 个氨基酸为 ghrelin 序列。Ghrelin 前体经过剪切和修饰形成成熟肽 ghrelin 被分泌。Ghrelin 的分子量为 3300Da,颗粒直径 90-150nm。人 ghrelin 氨基酸序列:GSSFLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR,大鼠 ghrelin 氨基酸序列:GSSFLSPEHQAQQRKESKKPPAKLQPR,人和大鼠 ghrelin 的氨基酸序列同源性高达 89%,只有两个氨基酸不同(11 位和 12 位)。且 N 端第 3 位的丝氨酸残基均被疏水的 n-辛酰基(n-octanoyl group)修饰,表明在种系间 ghrelin 是高度保守的^[1]。Ghrelin 有两种存在形式:第 3 位丝氨酸残基 N 端辛酰基化和去 N 端辛酰基化。Ghrelin 结构-活性关系的研究^[8]提示第三位丝氨酸残基的辛酰基化是其活性所必需的,虽有人^[9]提出血液中的去酰基化 ghrelin 可能通过非 GHSR 依赖的途径对摄食产生影响,但因酰基化是 Ghrelin 通过血-脑屏障以及结合 GHSR 发挥 GH 释放活性所必需的,故仍认为酰基 ghrelin 是其主要的活性形式。Hosoda 等人^[10]从大鼠中纯化出了第 2 种 GHSR 内源性配基并命名 des-Gln14-ghrelin,含 27 个氨基酸,只是比 ghrelin 少了第 14 位的谷氨酰胺,生物学活性与 ghrelin 基本相同,通过基因分析发现两者是源于同一基因,经可变剪切(alternative splicing)得到的两种肽^[11]。

3 Ghrelin 受体的结构

GHSR 是 G-蛋白偶联受体(GPCR)家族的一员,主要 G 蛋白是 Gq 蛋白,主要的信号传递分子是磷脂酶 C(phospholipase C,PLC)、三磷酸肌醇(inositol triphosphate,IP3)和蛋白激酶 C(protein-kinase C,PKC)。GHSR 有两种亚型,是由 Howard^[4]等人在人和猪垂体的 cDNA 文库中得到的,命名为 GHSR 1 α 和 GHSR 1 β 。GHSR 1 α 由 366 个氨基酸组成,有 7 个跨膜结构域(transmembrane domains,TMD),是 GHSR 的完整功能形式,Ghrelin 促 GH 分泌效应是通过与 1 α 型结合而发挥的。GHSR 1 β 由 289 个氨基酸组成,只有前 5 个跨膜区。由于缺少第 6、7 跨膜区,GHSR 配体无结合能力和信号传递能力。

4 Ghrelin 的分布特点

Ghrelin 主要在胃中合成,原位杂交表明 Ghrelin mRNA 主要存在于泌酸腺体的颈部和底部^[1],并证明分泌 Ghrelin 的细胞为封闭型 X/A 样内分泌细胞。电镜观察发现其基底部与毛细血管紧密相连,表明 Ghrelin 细胞可能以内分泌的方式高效地将 Ghrelin 通过血液循环运送到表达 GHSR 的远端组织。Rindi^[12]等研究证实人 Ghrelin 是由 P/D₁ 细胞产生。从胃到结肠均有 Ghrelin 存在,胃的 Ghrelin 细胞最多,十二指肠其次,回肠、盲肠、结肠的 Ghrelin 细胞最少^[13]。在肠道中,Ghrelin 细胞分布于腺管上皮细胞间及绒毛内^[14]。胃底部浓度最高,胃体 Ghrelin 细

胞的分布密度是下部小肠的十几到上百倍,而小肠中的浓度是肾脏的 140 倍,它可能通过自分泌和旁分泌在局部发挥作用^[15]。中枢神经系统存在于下丘脑弓状核、垂体、脑干等,其中弓状核是 ghrelin 在下丘脑的原始靶位点,周围组织如心脏、肾和内分泌器官等也能分泌 Ghrelin,但量很少^[16]。胃为 Ghrelin 的合成器官,通过血液循环将其运送到身体各处,以实现其不同的生理功能。目前 Ghrelin 功能的研究还不完善,但已通过实验确定了其存在的部位,有利于对其功能进行进一步的研究和深入,以后的实验还需要确定是否存在于其他部位,使 Ghrelin 的研究逐步完善。

5 Ghrelin 受体的分布特点

GHSR 在中枢神经系统内主要分布于下丘脑诸核团、垂体和海马区齿状回。下丘脑核团包括前腹侧视前核、前丘脑区、前侧下丘脑核、视交叉上核、视上核、下丘脑腹正中核、弓状核、视旁核和结节乳头体核。GHSR mRNA 在海马结构中的 CA2 及 CA3 区、丘脑区、脑干结构的黑质致密层、小脑颗粒层、腹侧被盖区、E-W 核、杏仁核、Cajal 间质核^[17]等部位检测出有表达。在外周,GHSR 分布于甲状腺、肾上腺、胰、脾、肺、肠、心肌^[18]、脂肪组织、肾、睾丸、卵巢、免疫细胞等^[19-22]。GHSR 1 α mRNA 除了主要在垂体表达外,在下丘脑弓形核-腹内侧核、漏斗部也有表达,在甲状腺、胰腺、脾、心肌和肾上腺也有低水平的表达^[4],非功能性受体 GHSR 1 β mRNA 在多种组织中广泛表达^[23]。GHSR 的广泛分布特点决定了 ghrelin 除了能促进 GH 分泌释放外,还具有其他多种生物学功能。

6 结语

从 Ghrelin 发现以来,人们已对 Ghrelin 及其受体的化学结构、分布定位、作用机制等做了大量的工作。然而,还有许多问题有待进一步研究。如:1. Ghrelin 基因的上游序列有其他的转录因子结合位点,这些结合位点的作用目前尚不明确。2. 非功能受体 GHSR 1 β 广泛存在,是否有其生物学意义。3. Ghrelin 及 GHSR 是否还存在于身体其他部位? 4. Ghrelin 的生理功能及其机制,这些都有待进一步研究。Ghrelin 自从其发现以来研究甚多,笔者才疏学浅,只是对其的发现和结构做了简短系统的总结,期望对以后的研究能够有所帮助,也希望随着 Ghrelin 的深入研究,对其功能及机制了解更确切,能够早日应用于医学或生物制剂,以减轻病患痛苦,造福人类。

参考文献(References)

- [1] Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach [J]. Nature, 1999, 402(6762): 656-660
- [2] Bowers CY. Unnatural growth hormone-releasing peptide begets natural ghrelin[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2001, 86(4): 1464-1469
- [3] Smith RG, Cheng K, Schoen WR, et al. A nonpeptidyl growth hormone secretagogue[J]. Science, 1993, 260(5114): 1640-1643
- [4] Howard AD, Feighner SD, Cully DP, et al. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release[J]. Science, 1996, 273(5277): 974-977
- [5] Wajmajch M, Ten S, Gertner J, et al. Genomic Organization of the hu-

- man GHRELIN gene[J]. J Endocr genet, 2000, 1: 231-233
- [6] Wei W, Wang G, Qi X, et al. Characterization and regulation of the rat and human ghrelin promoters [J]. Endocrinology, 2005, 146 (3): 1611-1625
- [7] Kanamoto N, Akamizu T, Tagami T, et al. Genomic structure and characterization of the 5'-flanking region of the human ghrelin gene [J]. Endocrinology, 2004, 145(9): 4144-415
- [8] Bednarek MA, Feighner SD, Pong SS, et al. Structure-function studies on the new growth hormone-releasing peptide, ghrelin: minimal sequence of ghrelin necessary for activation of growth hormone secretagogue receptor 1 α [J]. J Med Chem, 2000, 43(23): 4370-4376
- [9] 尹雪丰, 李茵, 张炜真. Ghrelin 的合成与分泌及其影响因素[J]. 生理科学进展, 2009, 40(3): 241-244
- Yin Xue-feng, Li Yin, Zhang Wei-zhen. The combination and exudation of Ghrelin and the influencing factors[J]. Progress in Physiological Sciences, 2009, 40(3): 241-244
- [10] Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, et al. Purification and characterization of rat des-Gln14-ghrelin, a second endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor [J]. J Biol Chem, 2000, 275 (29): 21995-22000
- [11] 胡宜译. 现代医学 200 词: 101 生长素(Ghrelin)[J]. 日本医学介绍, 2004, 25(9): 430
- Translated by Hu Yi. 200 words of modern medicine: 101 Ghrelin[J]. Progress in Japanese Medicine, 2004, 25(9): 430
- [12] Rindi G, Necchi V, Savio A, et al. Characterisation of gastric ghrelin cells in man and other mammals: studies in adult and fetal tissues[J]. Histochem Cell Biol, 2002, 117(6): 511-519
- [13] Sakata I, Nakamura K, Yamazaki M, et al. Ghrelin-producing cells exist as two types of cells, closed-and opened-type cells, in the rat gastrointestinal tract[J]. Peptides, 2002, 23(3): 531-536
- [14] Date Y, Kojima M, Hosoda H, et al. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans [J]. Endocrinology, 2000, 141(11): 4255-4261
- [15] Peino R, Baldelli R, Rodriguez-Garcia J, et al. Ghrelin-induced growth hormone secretion in humans[J]. Eur J Clin Endocrinol, 2000, 143(6): 11-14
- [16] Cassoni P, Papotti, Ghè C, et al. Identification, characterization, and biological activity of specific receptors for natural (ghrelin) and synthetic growth hormone secretagogues and analogs in human breast carcinomas and cell lines [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2001, 86(4): 1738-1745
- [17] Nakamura M, Sakanaka C, Aoki Y, et al. Identification of two isoforms of mouse neuropeptide Y-Y1 receptor generated by alternative splicing[J]. J Biol Chem, 1995, 270(50): 30102-30110
- [18] Papotti M, Ghè C, Cassoni P, et al. Growth hormone secretagogue binding sites in peripheral human tissues[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2000, 85 (10): 3803-3807
- [19] 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 [J]. BBA, 2001, 1522(1): 62-65
- [20] Tena-sempere M, Barreiro ML, González LC, et al. Novel expression and functional role of ghrelin in rat testis [J]. Endocrinology, 2002, 143(2): 717-725
- [21] Jeffery PL, Herington AC, Chopin LK. Expression and action of the growth hormone releasing peptide ghrelin and its receptor in prostate cancer cell lines[J]. J Endocrinol, 2002, 172(3): 7-11
- [22] Mori K, Yoshimoto M, Takaya K, et al. Kidney produces a novel acylated peptide, ghrelin[J]. FEBS Lett, 2000, 486(3): 213-216
- [23] Gando RG, Aguiar-Oliveira MH, Hayashida CY, et al. Growth hormone-releasing peptide-2 stimulates GH secretion in GH-deficient patients with imitated GH-releasing hormone receptor [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2001, 86(7): 3279-3283