

站内搜索:

类别:

全部范围

搜索

点击下载读者调查表

会员登录

用户名:

密码:

验证码: 9700

登陆

注册

相关文章

- 禽胰多肽研究进展
- 乳铁蛋白肽的研究现状及进展...
- 垂体腺苷酸环化酶激活多肽 (...)
- 双酶复合水解谷朊粉制备小肽...
- 酪蛋白磷酸肽 (CPPs) 对肉仔...
- 改进 Tricine-SDS-PAGE法分析...
- 小肽饲料营养价值及评价方法...
- 二肽PEPT1吸收方式通过b0, +...
- 禽胰多肽对肉鸡增重及内分泌...
- 虫肽蛋白在南美白对虾饲料中...
- 派肽威(Peptiva)对肉仔鸡赖氨...

合作伙伴



小肽转运蛋白 (PepT1) 的活性调节

作者:李霞王康宁贾刚

期号:2007年第9期

摘要 小肽是蛋白质在动物体内消化的主要产物,而位于小肠刷状缘膜上的小肽转运蛋白(PepT1)在小肽的吸收过程中发挥着重要作用,因此PepT1的活性直接影响小肽的吸收。文中主要介绍底物、营养不良、激素、昼夜节律和生长发育对PepT1的活性调节。
关键词 小肽转运蛋白(PepT1);活性调节;小肠刷状缘膜
中图分类号 S816.79

Matthews和Adibi(1976)在小肠中小肽吸收的研究中发现二肽和三肽吸收存在一个转运系统,其中起重要作用的是小肠刷状缘膜上的转运蛋白,将其命名为Peptide Transporter 1(PepT1)。人们对PepT1的深入研究始于20世纪90年代,兔、人、小鼠、羊、鸡和猪小肠中的PepT1 cDNA都已被克隆,并将兔、人和羊等的PepT1 mRNA注射到体外培养细胞中表达,研究该转运载体的生物学特性和活性调节,探讨影响PepT1活性的因素。本文就对影响PepT1活性的因素进行综述。1 底物对PepT1的调节

小肽转运蛋白有广泛的底物,包括由日粮蛋白和机体蛋白分解产生的大约400种二肽和8 000种三肽,还包括一些具有二肽和三肽类似结构的药物,如β-内酰胺抗生素、增压素转化酶抑制剂等。对任何转运蛋白功能和表达的调节,其自身的底物很可能就是一个调节因子。那么在PepT1上是不是这样呢?有两个研究证明了底物对PepT1调节的可能性。M Thamocharan等(1998)在人小肠肠腺癌细胞系(Caco-2)的培养基中添加二肽(Gly-Sar),培养24 h后,[14C]Gly-[14C]Gln吸收的最大反应速度(Vmax)显著增加,米氏常数(Km)没有改变,说明Gly-Gln吸收的增加并不是通过改变其与PepT1的亲和力,而是通过增加膜上肽转运蛋白丰度来实现的,进一步用Western印迹分析发现,Caco-2中PepT1表达量提高了2倍。

Gly-Sar是由人工合成的,因为其比较稳定,不水解,常在研究寡肽转运蛋白的功能性表达中作底物,那自然界中的二肽是否像Gly-Sar一样能上调二肽的转运呢?因此,Dianne Walker(1998)在人小肠Caco-2细胞系培养液中加入4 mmol/l Gly-Gln来替代4 mmol/l Gln,结果显示[14C]Gly-[14C]Sar的Vmax提高1.64倍,Km值没有显著变化,且PepT1蛋白表达量提高了1.72倍,PepT1 mRNA水平提高了2.7倍。

在体内研究中,增加日粮蛋白质也有类似的结果。Erickson(1995)在小鼠试验中发现,饲喂14 d,小鼠小肠中段和远端PepT1 mRNA丰度高蛋白(50%)日粮组比低蛋白(4%)日粮组高1.5~2倍。Shiraga等(1999)试验也表明,在小鼠标准日粮中添加二肽(Gly-Phe),饲喂3 d,能增加PepT1基因表达。Hong Chen等(2005)在鸡试验中配置不同的饲料蛋白水平(CP含量分别为12%、18%和24%),并保证各处理采食量相同,使各处理的蛋白采食有差异,结果显示,随着蛋白采食的增加,小肠中PepT1 mRNA丰度增加(P<0.05),且在不同的组织中也有差异,空肠中PepT1 mRNA丰度高于十二指肠和回肠(P<0.05)。总的说来,高蛋白日粮增加了肠道中二肽、三肽和氨基酸的浓度,这些产物作为PepT1基因表达的信号因子,增加小肠刷状缘膜上的肽转运蛋白的水平,而最终使肽转运增加。这是小肠适应高蛋白日粮的一个重要特征。

因此得出,不管是天然的还是化学合成的二肽都能通过调节PepT1基因的表达来调节PepT1的表达水平。调节PepT1 mRNA表达可能有两途径,一是增加PepT1 mRNA的转录。Shiraga等(1999)对日粮调节PepT1的机制作了研究,发现日粮中的一些二肽(Gly-Sar、Gly-Phe、Lys-Phe、Asp-Lys)和部分游离氨基酸(Lys、Arg、Phe)与PepT1基因启动子上的氨基酸敏感因子作用,提高PepT1的转录活性,而游离氨基酸Gly、Asp、Glu、Val和Ala没有此作用。二是延长PepT1 mRNA的半衰期。Dianne Walker(1998)试验得出,添加小肽,PepT1 mRNA半衰期从8.9 h延长到12.5 h。延长PepT1 mRNA半衰期,增加其稳定性原因可能是降低信号不稳定因子的表达,增强信号稳定因子的表达,改变PepT1 mRNA和这些因子间的相互作用。大量的试验报道mRNA结合蛋白因子参与调节mRNA的稳定性,如AUF1蛋白因子和COLBP蛋白因子(Zhang等,1993;Preiss,1995)

2 营养不良对PepT1的调节

Thamocharan等(1999)试验表明:禁食24 h,小鼠空肠上皮刷状缘膜对Gly-Gln的吸收显著增加,Vmax增加2倍,Km没有显著变化,说明禁食使小肠刷状缘膜上的PepT1丰度增加,进一步通过Western和Northern印迹分析表明,PepT1和其mRNA丰度都有显著提高,提示提高PepT1水平可能是通过增加PepT1 mRNA丰度来实现的。Takashi Ihara等(2000)试验也显示:尽管饥饿组(饥饿4 d)和TPN组(全肠外营养10 d)小鼠小肠绒毛萎缩,但其小肠前段PepT1 mRNA丰度分别提高为对照组的179%和161%;尽管半饥饿组(饲喂对照组采食量的50%,10 d)小鼠小肠重量和对照组无差异,但其小肠前段PepT1丰度是对照组的164%。说明在各种营养不良的状态下,小肠粘膜萎缩,但PepT1 mRNA的表达增强,二者相抵消也就使在饥饿状态下小肽的吸收没有显著差异,而氨基酸转运蛋白的表达量在饥饿时不增加,也就为在营养不良时添加小肽能有利于氮的吸收提供了依据。

饥饿使PepT1表达增加的机制还不很清楚,可能是机体对饥饿时小肠能更有效地吸收养分的适应性调节。Takashi Ihara等(2000)也推断,养分不足是引起PepT1 mRNA表达升高的原因,因为其试验结果显示半饥饿组和TPN组其生长率低于正常采食组,但PepT1 mRNA丰度增加。可能小肠粘膜的营养也与PepT1和其mRNA表达有关,因为在全肠外营养下,小肠近端PepT1和其mRNA表达上升,而以氨基酸(口服)作为唯一饲料来源时则下降,可推断出小肠粘膜氨基酸营养的满足与否对PepT1的表达有影响(Hiroshi,1999)。也由于饥饿老鼠血清皮质醇水平显著升高,并且试验表明糖皮质激素对消化酶的表达起重要的作用(Scott,1982),由此推断内源糖皮质激素水平与PepT1 mRNA的表达有关,但用氢化可的松处理试验动物2 d却对PepT1的表达没有显著影响,因此对饥饿引起的激素或生长因子分泌的变化是否会影响小肠转运系统的调节还不很清楚,需要进一步的研究。

动物采食高蛋白饲料和饥饿,PepT1 mRNA水平都增加,但机制可能不同,因为限食后补饲,PepT1 mRNA水平先上升后下降,且比较得出,饥饿主要使小肠近端PepT1 mRNA水平升高(Takashi等,2000)。而底物浓度的增加主要使小肠中段和远端的PepT1 mRNA水平升高(Erickson等1995),但小肽的吸收部位主要是在小肠近端,具体的原因还不清楚。另外,在Caco-2细胞中底物能上调PepT1和其mRNA的表达,说明底物对其调节是底物直接作用于肠细胞而不是通过神经或激素来间接调节的,而饥饿对PepT1和其mRNA的调节却有可能通过神经或激素来起作用(Siamake等,2003)。

3 激素对PepT1的调节

研究激素对PepT1的调节,目前大多数都是采用体外培养的手段,主要有两种研究方法,一种是短期调节,即激素作用于小肠粘膜细胞0~1 h;另一种是长期调节,激素作用时间长于1 h。属于短期调节的激素有胰岛素、瘦素,属于长期调节的激素有甲状腺素T3,而表皮生长因子则具有两种调节功能。

3.1 胰岛素对PepT1的调节

Thamocharan和Bawani(1999)试验表明,在Caco-2细胞系培养基中添加生理浓度(5 nmol/l)的胰岛素,培养1 h,能显著增加小肠刷状缘膜上二肽的转运,其作用主要是通过胰岛素与位于小肠基底膜上的受体结合,如果破坏胰岛素与其受体的结合,胰岛素的作用消失。对其动力学参数进行分析,胰岛素对PepT1转运二肽(Gly-Gln)的Km值没有显著影响,但Vmax提高2倍,表明胰岛素不能

转运活性,但能提高刷状缘膜上PepT1的浓度。Nielsen等(2003)试验也表明,在Caco-2细胞系培养基中添加50 ng/ml胰岛素,培养1 h, PepT1转运Gly-Sar的动力学参数也有类似的变化,且胰岛素以剂量方式增加小肠上皮对Gly-Sar的吸收。胰岛素不在肠腔中存在,因此体内研究循环系统中的胰岛素能不能像体外一样通过与其位于小肠基底膜上受体结合来调节小肠粘膜上小肽的转运,并影响PepT1的表达,这一问题还不很清楚。A. B. Bikhazi(2004)试验表明,患糖尿病小鼠其空肠吸收Gly-Sar的量显著低于正常小鼠,若对患糖尿病小鼠注射胰岛素, Gly-Sar的吸收上升,并且PepT1表达量也增加,结果与体外研究相似。

Thamotharan和Bawani(1999)试验表明,当破坏对重新合成PepT1转运起重要作用的高尔基体后,胰岛素的作用仍然存在;进一步研究发现,胰岛素处理对肠粘膜上PepT1基因水平没有显著影响,说明胰岛素不能提高PepT1的合成,但如果破坏了对已合成PepT1转运起重要作用的微管,胰岛素的作用则消失。综合考虑得出,胰岛素提高PepT1在小肠粘膜上浓度的机制主要是通过增加细胞质中已合成的PepT1到小肠膜上的转运,而不是靠从头合成(Siamak, 2003)。

3.2 瘦素(Leptin)对PepT1的调节

Sobhani等(2000)证明胃能分泌Leptin, Leptin在消化道中没有完全被蛋白酶水解,在小肠腔中仍存在具有活性的Leptin,并在小鼠小肠中发现了Leptin受体(在空肠中含量最多)。Buyse(2001)在Caco-2细胞系培养基中加入2 nmol/l Leptin,培养30 min,结果表明,Leptin能增加刷状缘膜上Gly-Sar的转运,对基底膜上二肽的转运没有影响;Leptin使PepT1转运动力学参数Vmax上升, Km不变,使膜上PepT1蛋白水平提高了60%,细胞质中的水平下降50%,并且PepT1 mRNA丰度没有发生显著变化。可见,Leptin对PepT1的调节机制和胰岛素相同,都是通过增加PepT1从细胞质到小肠刷状缘膜的转运,而不是增加其mRNA的表达来对膜上PepT1水平进行调节。

3.3 甲状腺激素对PepT1的调节

甲状腺激素对肠道的发育、结构和功能都有非常重要的作用。Ashida K等(2002)报道,在Caco-2细胞系培养基中加入100 nmol/l T₃,培养4 d,能显著抑制Gly-Sar的吸收,并且这种作用具有特异性,因为对其它养分的吸收没有显著的影响;进一步用Western和Northern印迹发现细胞膜上的PepT1及PepT1 mRNA的水平下降。得出甲状腺激素对PepT1的调节是通过减少其mRNA的水平来实现的。

3.4 表皮生长因子(EGF)对PepT1的调节

EGF以两种不同的方式对PepT1进行调节,一种是长期作用,一种是短期作用。Carsten Uhd Nielsen等(2001)在Caco-2细胞系培养基中添加EGF, EGF以剂量依赖的方式(0~20 ng/ml)抑制Gly-Sar跨小肠上皮转运和刷状缘膜对其的吸收;研究单一剂量EGF(5 ng/ml)对PepT1的影响,发现处理5 d后出现抑制效应,15 d以后达到最大抑制效果。虽然在Caco-2细胞系刷状缘膜和基底膜上都有EGF受体,但EGF只能与基底膜上的受体结合来抑制小肽的转运。对其动力学参数进行分析,二肽转运的Vmax下降, Km不变,表明EGF处理使刷状缘膜上PepT1数量减少,进一步用Western和Northern印迹分析的结果表明PepT1和PepT1 mRNA丰度都减少,可推测EGF处理使PepT1表达减少是通过抑制PepT1 mRNA表达来实现的。

但Nielsen等(2003)在Caco-2细胞系的培养基中添加200 ng/ml EGF,培养5 min,小肠刷状缘膜对Gly-Sar的吸收呈EGF剂量依赖的方式增加,对其吸收动力学参数进行分析发现Vmax上升, Km不变,对PepT1 mRNA检测发现,EGF处理不能改变其水平,具体的调节机制还不是很清楚。

总的说来,短期调节激素主要是通过影响PepT1在细胞内和膜上的分布来调节膜上PepT1的浓度,此作用所需时间短;而长期调节激素主要是通过影响PepT1 mRNA水平(影响转录或其半衰期)来影响膜上PepT1的表达,此作用所需时间长。

4 昼夜节律对PepT1的调节

Pan等(2002)观察小鼠在正常饲喂、自由采食、每天光照12 h(08:00~20:00)条件下, PepT1的表达情况。试验结果显示:小肠对[¹⁴C]Gly-Sar的吸收量白天小于夜间;十二指肠上PepT1表达水平在20:00时达到最大,在8:00时最小;PepT1和PepT1 mRNA都是在16:00~24:00时,标记的浓度大于其它时间点。Pan等(2003)在小鼠禁食试验中发现,禁食破坏了PepT1在自由采食下的昼夜节律, PepT1和PepT1 mRNA的表达水平在白天和夜间没有显著差异。Pan等(2004)在对小鼠实行白天饲喂时,发现小肠粘膜中PepT1的昼夜变化规律与自由采食完全相反。可见,是采食变化引起PepT1的昼夜变化而不是光照的作用。

5 生长发育对PepT1的调节

Miyamoto K等(1996)试验发现,小鼠出生后10 d内,小肠上PepT1 mRNA水平随日龄的增加显著上升,随后下降,28日龄时降到成年小鼠的水平。Shen等(2001)从小鼠出生前17 d到出生后75 d,按一定的时间间隔观察小肠上PepT1和PepT1 mRNA水平,发现十二指肠、空肠和回肠中PepT1 mRNA水平在出生时迅速上升并在出生3~5 d达到最大值,然后快速下降,在24日龄(大约是断奶日龄)短暂上升。PepT1的表达也有类似规律。Hussain等(2001)也发现小鼠出生时回肠上PepT1表达水平高于妊娠18 d、断奶(21日龄)和成年老鼠回肠上PepT1的水平,但与Shen试验不同的是,在断奶时没有发现PepT1表达水平上升。Hong Chen等(2005)在鸡试验中也发现,从孵化16 d到出壳, PepT1表达快速增加, PepT1 mRNA水平提高了14倍。Sophie Rome等(2002)研究了日龄对PepT1和PepT1 mRNA在小鼠小肠近端和远端分布的影响,结果表明,从4~50日龄, PepT1在小肠中的分布方式没有显著变化。

这些研究说明生长发育引起PepT1和PepT1 mRNA表达水平的变化,但具体作用机制还不清楚。Shen等(2001)怀疑出生增加PepT1的表达受激素分泌的调节,例如出生动物第一次采食外源营养物质,激活内源激素分泌,增加PepT1表达。Ashida K等(2002)总结得出,出生后5~15 d甲状腺激素的分泌增加,而PepT1和PepT1 mRNA的表达水平在出生后3~5 d升高,然后下降,而试验证明甲状腺激素能抑制PepT1和PepT1 mRNA的表达,可推断甲状腺激素调节PepT1在生长发育过程中的表达规律。Hong Chen等(2005)认为,在生长发育过程中PepT1和PepT1 mRNA表达水平发生变化是动物为了适应采食而做的适应反应,因为试验发现在出生和断奶时增加PepT1表达,而这两个点都是采食习性发生变化的时间点。确切的作用机制还需进一步研究。

6 研究PepT1的意义和存在的问题

二肽作为蛋白质分解产物吸收的主要形式,对机体具有重要的生物学意义。对小肽转运蛋白的研究有利于进一步了解小肽的吸收机制,对影响小肽转运蛋白活性的因素分析有助于了解影响小肽吸收的因素,从而控制、利用这些因素,促进小肽的吸收。为动物营养学家设计小肽日粮,配制高效的饲料配方提供理论依据。

到目前为止,尚未弄清楚小肽在体内的代谢、利用机制,也不清楚日粮中究竟有多少氮以小肽的形式被吸收;参与小肽吸收利用的调节因素,包括底物、营养不良、激素和生长发育等,对小肽转运蛋白活性影响的作用机制还需进一步研究。如何利用在消化过程产生的肽种类、数量、比例,以及小肽不同于游离氨基酸吸收利用的特点,充分发挥小肽的功能都还需进一步研究。

参考文献

- 1 Ashida K, Katsura T, Motohashi H, et al. Thyroid hormone regulates the activity and expression of the peptide transporter PepT1 in Caco-2 cells[J]. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2002,282:617~623
- 2 A B Bikhazi, M M Skoury, D S Zwiainy, et al. Effect of diabetes mellitus and insulin on the regulation of the PepT1 symporter in rat jejunum[J]. *Mol. Pharm.*,2004,1(4): 300~308
- 3 Buyse M, Berlioz F, Guilmeau S, et al. PepT1-mediated epithelial transport of dipeptides and cephalixin is enhanced by luminal leptin in the small intestine[J]. *J. Clin. Invest.*,2001,108:1 483~1 494
- 4 Carsten Uhd Nielsen, Jan Amstrup, Bente Steffansen, et al. Epidermal growth factor inhibits glycy sarcosine transport and hPepT1 expression in a human intestinal cell line[J]. *Am. J. Physiol. Gastrointest Liver Physiol.*,2001,281: 191~199
- 5 Chen H, Pan Y, Wong EA, et al. Molecular cloning and functional expression of a chicken intestinal peptide transporter (cPepT1) in *Xenopus oocytes* and Chinese hamster ovary cells[J]. *J. Nutr.*, 2002,132:387~393
- 6 Dianne Walker, David T. Thwaites, Nicholas L. Simmons, et al. Substrate upregulation of the human small intestinal peptide transporter, hPepT1[J]. *Journal of Physiology*,1998,507(3):697~706
- 7 Erickson R. H, Gum J. R Jr, Lindstrom, et al. Regional expression and dietary regulation of rat small intestinal peptide and amino acid transporter mRNAs[J]. *Biochem Biophys Res. Commun.*, 1995,216:249~257
- 8 Hong Chen, Yuan Xiang Pan, Eric A Wong, et al. Dietary Protein Level and Stage of Development Affect Expression of an Intestinal Peptide Transporter(cPepT1) in Chickens[J]. *The Journal of Nutrition*,2005,135(2): 193
- 9 Hiroshi Ogihara, Takeshi Suzuki, Yukio Nagamachi, et al. Peptide transporter in the rat small intestine: Ultrastructural localization and the effect of starvation and administration of amino acids[J]. *The Histochemical Journal.*,1999,31:169~174
- 10 Hussain I, Kellett G L, Affleck J, et al. Expression and cellular distribution during development of the peptide transporter

(epT1) in the small intestinal epithelium of the rat[J]. Cell Tissue Res.,2002,307:139-142

11 M Thamocharan, S Z Bawani, X Zhou, et al. Mechanism of dipeptide stimulation of its own transport in a human intestinal cell line[J]. Proc. Assoc. Am. Physicians, 1998,110(4):361-368

12 Miyamoto K, Shiraga T, Morita K, et al. Sequence, tissue distribution and developmental changes in rat intestinal oligopeptide transporter[J]. Biochim Biophys Acta.,1996,1305:34-38

13 Matthews DM and Adibi SA. Peptide absorption[J]. Gastroenterology.,1976,71:151-161

14 Nielsen C U, Amstrup J, Nielsen R, et al. Epidermal growth factor and insulin short term increase hPepT1 mediated glycylsarcosine uptake in Caco2cells[J]. Acta Physiol Scand.,2003,178:139-148

15 Pan X, Terada T, Irie M, et al. Diurnal rhythm of H+-peptide cotransporter in rat small intestine[J]. Am.J. Physiol Gastrointest Liver Physiol.,2002,283:57-64

16 Siamak A,Adibi. Regulation of expression of the intestinal oligopeptide transporter (Pept-1) in health and disease[J]. Am. J. Physiol Gastrointest Liver Physiol.,2003,285:779-788

17 Shiraga T, Miyamoto K I, Tanaka H, et al. Cellular and molecular mechanisms of dietary regulation on rat intestinal H+/peptide transporter PepT1[J]. Gastroenterology,1999,116:354-362

18 Sobhani I. Leptin secretion and leptin receptor in the human stomach[J]. Gut.,2000,47:178-183

19 Sophie Rome, Laurence Barbot, Eugenie Windsor, et al. The regionalization of PepT1, NBAT and EAAC1 transporters in the small intestine of Rats are Unchanged from Birth to Adulthood[J]. The Journal of Nutrition.,2002,132(5):1009-1011

20 Thamocharan M, Bawani S Z, Zhou X, et al. Functional and molecular expression of intestinal oligopeptide transporter (Pept-1) after a brief fast[J]. Metabolism,1999,48:681-684

21 Takashi Ihara, Tomoyuki Tsujikawa, Yoshihide Fujiyama, et al. Regulation of PepT1 Peptide Transporter Expression in the Rat Small Intestine under Malnourished Conditions[J]. Digestion., 2000,61:59-67

22 Thamocharan M, Bawani S Z, Zhou X, et al. Regulation of oligopeptide transporter Pept-1 in a human intestinal cell line [J]. Am. J. Physiol Cell Physiol.,1999,276:821-826

23 Xiaoyue Pan, Tomohiro Terada, Masahiro Okuda, et al. The Diurnal Rhythm of the Intestinal Transporters SGLT1 and PEPT1 Is Regulated by feeding conditions in rats[J]. The Journal of Nutrition., 2004,134(9):2211-2215

24 Xiaoyue Pan, Tomohiro Terada, Masahiro Okuda. Altered Diurnal Rhythm of Intestinal Peptide Transporter by Fasting and Its Effects on the Pharmacokinetics of Cefitibuten[J]. The J. of Pharmacology and Experimental,2003,307:626-632
(编辑: 刘敏跃, lm-y@tom.com)

...评论...

发表
评论

*40字以内

提交

重置

[关于我们](#) | [网站导航](#) | [友情连接](#) | [联系我们](#) | [会员须知](#) | [广告服务](#) | [服务条款](#)

版权所有:饲料工业杂志社 Copyright © [Http://www.feedindustry.com.cn](http://www.feedindustry.com.cn) 2004-2005 All Rights 辽ICP备05006846号

饲料工业杂志社地址:沈阳市皇姑区金沙江街16号6门 邮编:110036 投稿:E-mail:tg@feedindustry.com.cn 广告:E-mail:ggb@feedindustry.com.cn

编辑一部:(024)86391926(传真) 编辑二部:(024)86391925(传真) 网络部、发行部:(024)86391237 总编室:(024)86391923(传真)