

Ghrelin 促生长激素释放及相关机理

李静, 王康宁* (四川农业大学动物营养研究所, 四川雅安 625014)

摘要 Ghrelin 是首个被发现的生长激素分泌物受体(GHS-R)的内源性配体,具有强烈的促生长激素(GH)释放作用,是近年的研究热点。就 Ghrelin 的促 GH 释放作用及相关机理作一综述。

关键词 Ghrelin; 生长激素; 释放作用; 机理

中图分类号 Q575+.11 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)18-05463-02

从20世纪70年代开始人们陆续发现,许多人工合成的小分子肽(GHRP-6、Hexeradin等)和非肽类物质(如MK0677等)在体内和体外均可促进GH分泌,并将这类物质统称为生长素分泌物(GHSs),与之相结合的受体即为GHSs受体(GHS-R)。当GHS-R被成功克隆之后,表明该受体存在着内源性配基,且GHSs调节GH释放的机制明显地不同于下丘脑生长激素释放激素。1999年,Kojima等从大鼠胃中成功分离出一种由28个氨基酸残基组成的活性肽,并证明它是GHS-R的内源性配基,具有强效的促GH释放功能,被命名为Ghrelin^[1]。此外,Ghrelin还具有调节摄食、能量代谢、内分泌、记忆、睡眠、胃肠功能等多种生物学作用,已引起人们广泛的关注,成为近年的研究热点。笔者对Ghrelin促GH释放作用及其相关机理作一综述。

1 Ghrelin 的结构与分布

Ghrelin由Ghrelin前体裂解而成,人和大鼠的Ghrelin前体均为含有117个氨基酸的多肽,其同源性高达82.9%。Ghrelin前体N端的前23个氨基酸呈现分泌信号肽的特征。从第24位的甘氨酸(Gly)到第51位的精氨酸(Arg)这28个氨基酸为Ghrelin序列。对Ghrelin结构-活性关系的研究提示,其最小活性中心为N端4~5肽^[2],且第3位的丝氨酸残基上有一个n-辛酰基,这种修饰是维持Ghrelin活性所必需的,也是Ghrelin通过血-脑屏障以及结合GHS-R并发挥GH释放活性所必需的。C末端的脯氨酸-精氨酸(Pro²⁷-Arg²⁸)结构为其识别部位。

从大鼠胃组织中纯化出的另一个GHS-R内源性配体称为Des-Gln¹⁴-Ghrelin,是一个由27个氨基酸组成的多肽;其化学结构和Ghrelin基本相似,与Ghrelin相比仅缺少N端14位的一个谷氨酰胺;它的生物活性与Ghrelin一致,是大鼠Ghrelin基因的另一种拼接方式的产物^[1]。除了辛酰化的Ghrelin以外,在大鼠胃肠道和血浆中还存在浓度更高的非酰化形式的Ghrelin(Des-acyl-Ghrelin),但无生物活性,可能与辛酰基与其他氨基酸之间的空间构象有关。

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基部^[1],并证明分泌Ghrelin的细胞为X/A样内分泌细胞,且为封闭型。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GHS-R的远端组织。从胃到结肠均有Ghrelin存在,以胃底部浓度最高,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^[3]。中枢神经系统如下丘脑、垂体、脑干及周围组织如心脏、肾和内分泌器官等也能分泌Ghrelin,但量很少^[4]。在鱼类等低等脊椎动物中也发现能分泌Ghrelin。

2 Ghrelin 的受体及分布

Ghrelin受体(GHS-R)为一种含螺旋、7个跨膜区的G蛋白耦联受体,主要的G蛋白为Gq蛋白。通过对该基因重组修饰产生2个GHS-R亚型,即GHS-Ra和GHS-Rb^[5]。GHS-Ra由366个氨基酸组成,有7个跨膜区,是GHS-R的完整功能形式。在不同物种如鼠、猪、硬骨鱼中发现GHS-Ra的类似物,证明在物种进化时GHS-Ra被高度保留并有可能参与物种的进化发展。GHS-Rb由288个氨基酸组成,只有前5个跨膜区。由于缺少第6、7跨膜区,GHS-Rb配体无结合能力和信号传递能力。

GHS-R广泛分布于中枢神经系统和外周器官组织。在脑内,GHS-R分布于下丘脑、海马结构、丘脑区、黑质致密部、中缝背核、中缝正中核、背外侧被盖核、小脑颗粒层、被盖腹侧区、E-W核、面神经、垂体、杏仁核、Cajal中介核等部位。在外周,GHS-R分布于甲状腺、肾上腺、胰、脾、肺、肠、心肌、脂肪组织、肾、睾丸、卵巢、免疫细胞。

3 Ghrelin 的促 GH 释放作用及相关机理

3.1 Ghrelin 的促 GH 释放作用

动物和临床实验表明,Ghrelin具有明显的促进GH分泌的作用,能促进体外培养的垂体细胞释放GH。Kojima等发现,Ghrelin以剂量依赖方式诱导体外培养小鼠垂体细胞释放GH。Ghrelin和GHRH引起培养垂体细胞分泌GH的半数有效浓度(EC₅₀)分别为 2.18×10^{-6} 和 0.6×10^{-6} nmol/L^[1]。Hashizume等研究表明,人和大鼠的Ghrelin在 10^{-8} 和 10^{-7} mol/L的浓度下,可明显促进体外培养的猪腺垂体细胞释放GH,且前者的作用更为明显^[6]。

给大鼠脑室、外周注射Ghrelin,或给人静脉注射Ghrelin,血浆GH水平均可呈剂量依赖性升高。将麻醉的大鼠静脉内注射Ghrelin,其血浆中GH的浓度显著升高[基础水平:(12.0 ± 5.4) ng/ml;IV处理:(129.7 ± 11.3) ng/ml],处理后是处理前的10倍左右;GH释放的峰值在注射后5~15 min内出现,1 h后恢复到基础水平。Date等给大鼠脑室内注射Ghrelin可呈剂量依赖性的刺激垂体前叶释放GH,15~20 min达高峰,60 min后又回到基础水平;但持续注射12 d,只有前6 d能促进GH增高,此后便不能维持,提示Ghrelin能促进GH释放,但不能增加其合成^[7]。Takaya等给予3名健康成年男性(年龄28~37岁)静脉注射Ghrelin 0.2、1.0、5.0 ng/kg

作者简介 李静(1982-),女,四川资阳人,硕士研究生,研究方向:动物营养与饲料科学。* 通讯作者。

收稿日期 2007-03-14

各1次,30 min后血液中GH水平达到峰值,依次为(43.3 ± 6.0)、(81.5 ± 12.7)、(107 ± 10.7) μg/L,分别为其基础值的87、100和190倍^[8]。

Arvat等研究表明,单位体重注射相同剂量(1.0 μg/kg)的Ghrelin、GHRH、Hexarelin(一种人工合成的GHS),促进GH释放的能力各不相同^[9]。在人体,Ghrelin促GH释放的能力高于GHRH和Hexarelin,且Ghrelin引起GH分泌的持续时间和峰值均高于GHRH。此外,Ghrelin与GHRH具有协同作用,与Hexarelin却无此作用。Seoane等发现分别给活动大鼠静脉注射同等剂量的Ghrelin和GHRH,当注射3 nmol/kg(Ghrelin:9.9 μg/kg)后GH水平升高,两组间曲线下面积和峰值相似;注射12 nmol/kg(Ghrelin:39.8 μg/kg)时,促GH释放作用达到最大,Ghrelin组GH峰值及曲线下面积明显高于GHRH组,且在注射后45 min,GHRH组的血浆GH水平降到基础水平,而Ghrelin组仍高于基础水平^[10]。此外,在一些动物腺垂体细胞培养实验中还发现,Ghrelin促GH分泌作用弱于GHRH,与体内实验结果相反^[6,11]。

Ghrelin除有促进GH分泌作用之外,对动物摄食和体重的控制也发挥着重要作用。在正常空腹状态下,血浆Ghrelin浓度即可刺激食欲^[12],提高Ghrelin浓度可引起觅食行为^[13]。Tschop等证实,每天给予小鼠Ghrelin可减少体脂的降解而导致体重增加,脑室内注射Ghrelin也可使小鼠食欲增加而导致体重增加^[14]。空腹时血浆Ghrelin升高,进食或给予口服葡萄糖后Ghrelin水平降低,但饮水不能引起Ghrelin水平降低,表明Ghrelin参与了能量平衡。其他研究还表明,Ghrelin能提高动物采食量,促进胃酸分泌。

3.2 相关机理 Ghrelin作为GHS R的补体,在调节GH分泌的系统中充当激动剂的角色。Ghrelin促进GH分泌的作用是由GHS R介导,通过腺苷酸环化酶(AC)或磷脂酶C(PLC)而产生效应^[15]。GHSs与GHS R结合后,激活PLC,PLC水解细胞膜内的二磷酸脂酰肌醇(IP₂),生成三磷酸肌醇(IP₃)和甘油二脂(DAG),IP₃促使Ca²⁺从钙库中释放,而DAG作用于蛋白激酶C(PKC),激活垂体细胞的Ca²⁺通道,刺激GH分泌。但是,有学者在绵羊的体外实验中却发现,GHRP-2促进GH分泌的机制与GHRH相似。它能激活GH细胞中腺苷酸环化酶(AC),增加环腺苷酸(cAMP)的浓度,启动AC/cAMP/PKA(蛋白激酶)通路,促进GH分泌;此外,PKC的拮抗剂只能部分降低GHRP-2促GH分泌的能力,这提示,GHS R除了1a和1b亚型以外,在体内可能还存在其他亚型。

Ghrelin与下丘脑分泌的GHRH、SS一起参与了对垂体生长激素细胞分泌GH的调节,其促进GH分泌也受到生长抑素(SS)和GHRH的影响。在给予外源性SS后,Ghrelin诱导的GH分泌被部分阻断,而同等剂量的SS则几乎可完全阻断GHRH诱导的GH分泌。Bowers等也发现GHRH拮抗剂能显著抑制Ghrelin诱导的GH分泌,暗示Ghrelin促进GH分泌的作用可能也有GHRH参与^[16]。在下丘脑弓状核GHRH神经元亚群中发现有GHS R的存在,也支持Ghrelin可能作用于GHRH神经元。然而,在体外实验中发现,Ghrelin也可刺激垂体细胞释放GH,给GHRH受体突变的患者注射Ghrelin受体激动剂GHRP-2可刺激GH释放,表明Ghrelin也能通过

非GHRH依赖的方式,即通过GHS R介导来刺激GH释放。

Ghrelin可同时作用于腺垂体和下丘脑。应用实时RT-PCR检测经蝶鞍手术或尸检取得的62例人垂体标本,发现垂体中存在Ghrelin、GHS R(1a和1b)mRNA的表达;同时应用免疫组化的方法在人类下丘脑弓状核和垂体也发现了Ghrelin^[17]。暗示Ghrelin可同时作用于腺垂体和下丘脑,而GHRH只作用于腺垂体,该差异可能是Ghrelin在体内促GH分泌作用高于GHRH以及和GHRH存在协同作用的原因之一。Popovic等给下丘脑-垂体调控缺失伴GH缺乏的病人分别注射Ghrelin、GHRH及Ghrelin和GHRH后,检测血浆中GH的浓度,发现其激发作用明显低于正常人对照组,Ghrelin促GH作用明显降低,甚至低于GHRH的作用,但GHRH与Ghrelin的协同作用仍然存在^[18]。故认为在人体内,Ghrelin主要作用于下丘脑,如果来自于下丘脑的一系列信息发生中断,无论发生在下丘脑、垂体柄或者垂体本身,都将减弱Ghrelin促GH分泌的作用。

研究发现,Ghrelin对生长激素细胞的分化和功能可能有一定作用。生长激素细胞依赖垂体特异性转录因子(pit1)特异性表达生长激素基因。Ghrelin与腺垂体GHS R结合后,呈时间、剂量依赖性诱导pit1的表达,而且此效应与年龄有关,只对幼鼠有作用,对成年大鼠无作用。

4 Ghrelin在畜牧业中的研究及前景展望

Ghrelin及其受体的化学结构、分布定位、作用机制和生理功能研究取得了一定进展,并对其临床应用进行了有益的探索,但由于其生物学效应比较复杂,有些研究结果相互矛盾,有些作用机理仍不清楚。在国内,Ghrelin在畜牧业方面的研究应用尚处于起步阶段,目前主要集中在畜禽Ghrelin基因的克隆、表达及组织定位;Ghrelin基因与动物生产性能相关性的研究;Ghrelin基因重组质粒的建立以及该质粒对动物生产性能、采食量、饲料转化率的影响等,并获得了初步成效。

Ghrelin具有广泛的生物学功能,通过生物工程技术开发相关产品以促进畜禽生长,提高畜禽胴体品质,增加肌体免疫,提高生产效益。随着对Ghrelin研究的深入和相关技术的进步,将使Ghrelin在畜牧业生产中的应用前景更加广阔。

参考文献

- [1] KOI MA M, HOSODA H, DEIE Y, et al. Ghrelin is a growth hormone-releasing acylated peptide from stomach [J]. *Nature*, 1999, 402: 656 - 660.
- [2] MAISUMOTO M, KITAI MA Y, IWANAM T, et al. Structural similarity of Ghrelin derivatives to peptidyl growth hormone secretagogues [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 284: 655 - 659.
- [3] PEINO R, BALDELLI R, RODRIGUEZ GARCIA J, et al. Ghrelin induced growth hormone secretion in humans [J]. *Eur J Clin Endocrinol*, 2000, 143: 11 - 14.
- [4] CASSON P, PAPOU M, HE C, et al. Identification, characterization, and biological activity of 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: 1738 - 1745.
- [5] HOWARD A D, FEIGNER SD, CULLY DF, et al. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone secretion [J]. *Genes*, 1996, 273: 974 - 977.
- [6] HASHIZUMI T, HORUCHI M, TAIE N, et al. Effects of Ghrelin on growth hormone secretion from cultured adenohypophysial cells in pigs [J]. *Domest Anim Endocrinol*, 2003, 24: 209 - 218.
- [7] DATA Y, MURAKAMI N, KOI MA M, et al. A low dose of Ghrelin stimulates growth hormone (GH) release synergistically with GH-releasing hormone in humans [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86: 4552 - 4555.

(上接第5464 页)

[8] TAKAYA K, ARIYASU H, KANAMOTO N, et al . Ghrelin strongly stimulates growth hormone (GH) release in humans [J] . Clin Endocrinol Metab ,2000 ,85 : 4908 - 4911 .

[9] ARVAT E, MACCARIO M, VITO D L, et al . Endocrine activities of Ghrelin, a natural growth hormone secretagogue (GHS) , in humans : comparison and interactions with hexarelin, a natural peptidyl GHS, and GH-releasing hormone [J] . The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism ,2001 ,86 :1169 - 1174 .

[10] SECAN ELM, TOVAR S, BALDELLI R, et al . Ghrelin elicits a marked stimulatory effect on GH secretion in freely moving rats [J] . Eur J Endocrinol ,2000 , 143 :R7 - R9 .

[11] YAMAZAKI M, NAKAMURA K, KOBAYASHI H, et al . Regulation of effect of Ghrelin on growth hormone secretion from perfused rat anterior pituitary cells [J] . Neuroendocrinol ,2002 ,14 :156 - 162 .

[12] WREN A M, SMALL C J, ABBOT C R, et al . Ghrelin causes hyperphagia and

obesity in rats [J] . Diabetes ,2001 ,50(11) :2540 - 2547 .

[13] RAVUSSIN E, TSCHOP M, MORALES S, et al . Plasma Ghrelin concentration and energy balance : overfeeding and negative energy balances studies in twins [J] . J Clin Endocrinol Metab ,2001 ,86(9) :4547 - 4551 .

[14] TSCHOP A, DAVID L, SMILEY L, et al . Ghrelin induces adiposity in rodents [J] . Nature ,2000 ,407 :908 - 911 .

[15] WANG G, LEE H M, ENGLANDER E, et al . Ghrelin not just another stomach hormone [J] . Regulatory Peptides ,2002(105) :75 - 81 .

[16] BOWERS CY . Unnatural growth hormone-releasing acylated peptide begets natural Ghrelin [J] . J Clin Endocrinol Metab ,2001 ,86(1) :1464 - 1469 .

[17] KORBONITS M, BUSTIN SA, KOJIMA M, et al . The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumours [J] . J Clin Endocrinol Metab ,2001 , 86 :881 - 887 .

[18] POPOVIC V, MILJIC D, MERIC D, et al . Ghrelin main action on the regulation of growth hormone release is exerted at hypothalamic level [J] . J Clin Endocrinol Metab ,2003 ,88 :3450 - 3453 .