

瘦素、瘦素受体及其信号转导

Leptin, receptor and signal transduction

李 强 (哈尔滨医科大学附属第二医院内分泌代谢病科, 哈尔滨 150086)

[关键词] 瘦素;受体;信号转导

[中图分类号] R 977.1 [文献标识码] A [文章编号] 0258-879X(2007)07-0752-04

多年来,肥胖症的分子发病机制一直不清楚,直到1994年瘦素(leptin)ob基因和1995年瘦素受体(OB-R)基因的成功克隆,才使肥胖症分子发病机制的研究进入了新的时代。现介绍ob基因、瘦素受体及其信号转导的研究情况。

1 瘦素

1.1 瘦素的结构 早在1783年Lavoisier和Laplace就认为摄食和产能之间的能量平衡受生理调节。直到1953年才首次确认了单基因突变所致的肥胖鼠。1994年,Zhang等利用定位克隆的方法获得“Obese”基因。ob基因编码脂肪组织特异性mRNA,翻译成167个氨基酸的蛋白质,N端21个氨基酸为分泌信号肽,在被分泌入血的过程中去除N端的信号肽成瘦素。血液循环中的瘦素为146个氨基酸的多肽类激素,其活性部位含146个氨基酸残基,相对分子质量为16 000,亲水性强,以单体形式存在于血浆中。

小鼠ob基因定位于第6号染色体上,靠近D6Rck13限制性长度多肽标记,并与Pax4基因紧密连锁,ob基因包含2个内含子和3个外显子,-29~-34区为TATA和启动子,-95~-100区为一致性顺序——SPI类锌指家族的转录因子结合序列,-49~-58区的短回文序列是CCAAT增强子结合蛋白结合顺序,3'端为3.7 kb的非翻译区。人类ob基因位于第7号染色体的q31.3,长度20 kb,由3个外显子和2个内含子组成,编码4.5 kb mRNA,含有高度保守的开放读码框架(167个氨基酸),5'端含有97 bp的先导序列,3'端为3.7 kb的非翻译序列。ob基因的表达具有脂肪组织特异性,只在成熟型脂肪细胞才有表达,表达瘦素的脂肪细胞主要分布于大网膜、腹膜后、肠系膜及皮下脂肪组织。

迄今为止,已在2种遗传性肥胖鼠中发现ob基因突变所致的瘦素合成受阻。在C57BL/6J ob/ob种系的先天性肥胖小鼠第105位密码子上发生了CGA→TGA的单碱基突变,导致终止密码子替代了

原有的精氨酸,所编码的mRNA较正常鼠升高20倍。SM/Ckc-+Dac ob2J/ob2J种系发生的另一突变则导致了ob基因mRNA的缺如。在人类中,只在两个幼年发病的病态肥胖家系中发现了瘦素单基因突变。

1.2 瘦素的作用机制及作用部位 脂肪细胞能合成、分泌瘦素,瘦素反过来作用于下丘脑维持着体脂的稳定性。瘦素调节能量代谢与体质量的神经机制的基本框架主要由2部分构成,一是melanocortin品种效益年4(MC4)受体系统;二是神经肽Y(neuropeptide Y,NPY)递质系统,分别在高和低瘦素水平时发挥作用。

1.3 瘦素的分泌和运输 与其他激素的分泌相似,瘦素的分泌也呈脉冲式。瘦素mRNA表达呈日周期变化,夜间表达量最高,半衰期(9.4±3.0) min,其分泌具有一定的节律性。

瘦素在血液中的运输有游离和结合2种形式,在人血清中2种形式各占50%,在肥胖的人和鼠中该比例发生变化。分泌到血中的瘦素大部分通过与血清蛋白结合来运输。在人类至少有两种瘦素结合蛋白,相对分子质量分别为1760 00和240 000,只有游离的瘦素才具有生物活性。

1.4 瘦素的功能 能量代谢方面:瘦素与下丘脑的瘦素受体结合后可能通过下丘脑-神经肽通路,抑制NPY的合成与释放,增加交感神经系统活性,引起食欲降低,能量消耗增加,从而减轻体质量。

生殖和发育方面:瘦素可作用于下丘脑-垂体-性腺这一生殖轴的各个层次。瘦素通过位于下丘脑的长型受体调节性行为 and 促性腺激素释放激素(GnRH)释放;在性腺水平,瘦素可直接作用于卵巢,恢复雌性ob/ob小鼠的生育能力;瘦素对胎儿的生长发育也有一定的促进作用。

骨代谢方面:瘦素可通过中枢途径增强成骨细胞功能,影响骨重建,抑制骨形成,但对破骨细胞分

[作者简介] 李 强,博士,教授,博士生导师。

E-mail:hrblq@yhaoo.com.cn

化功能无明显影响。

心血管系统方面:瘦素能提高大鼠交感神经兴奋性而升高动脉压,可影响心肌细胞的代谢和功能。

血液系统方面:瘦素能刺激造血干细胞的分裂和分化,提高细胞数量,血小板有瘦素受体(OB-R)表达,瘦素能诱导血小板聚集。

近年来发现瘦素还有影响水盐代谢,致使饮水增加、尿液稀释、肾脏排钾减少,增加机体免疫应答能力的作用。

1.5 影响瘦素水平的因素 现已发现,血瘦素与体质指数(BMI)、脂肪组织含量呈显著正相关,血瘦素水平可以反映体内脂肪的含量。青少年体内的瘦素浓度变化较大。此外,瘦素水平的性别差异十分明显。

禁食会引起脂肪组织 ob 基因表达及血浆瘦素水平的降低,但再度饮食即可迅速恢复瘦素水平的降低可减少能量消耗,纠正能量的负平衡。

运动可同时降低消瘦和肥胖糖尿病大鼠的体脂及 ob 基因的表达。

2 瘦素受体

2.1 OB-R 的结构 小鼠 OB-R 基因定位于第 4 号染色体,属于 I 类细胞受体家族。在糖尿病动物模型 db/db 小鼠和 2 种肥胖大鼠中,OB-R 基因发生了突变,但在人类尚未发现有突变。1995 年,Tartaglia 等首次克隆成功 OB-R 基因,小鼠的 OB-R 的 mRNA 呈单个带状,长度约 5.1 kb,通过对 db/db 小鼠的研究发现小鼠的 OB-R 的基因图中 4 号染色体的 5.1 cm 间隔包含有 db 位点,因此认为 OB-R 由 db 基因编码。

瘦素受体存在于动物体内的许多组织中,OB-R mRNA 可在脑、心、胎盘、肝、肾、前列腺、睾丸等处表达。瘦素受体是一个跨膜分子,包括细胞外结构域、跨膜结构域和细胞内结构域。细胞外结构域为 816 个氨基酸,是瘦素的结合部位,并且具有 I 类细胞受体的许多特征,跨膜域为 23 个氨基酸。不同组织瘦素受体不同,OB-R 可分为长型(OB-RL)和短型(OB-Rs)两种,至少可为六类:a 类为 34 个氨基酸,主要分布于下丘脑、睾丸和脂肪组织;b 类为 304 个氨基酸,其中包含有 Janus 蛋白酪氨酸激酶(JAK)和信号转导与转录活化因子(STAF)结合顺序,JAK 和 STAF 的结合是 I 类细胞因子受体转导信号的关键步骤,另外还含有丝氨酸残基(细胞因子受体家族内结构域的特点);b 类受体的结构域 71% 的氨基酸与人类瘦素受体相同,主要分布于下丘脑,属于长型

受体。其胞内区含有潜在的 motifs 可与 Janus JAK 和 STAF 结合;c 类为 32 个氨基酸,主要分布于心脏、脾脏和睾丸;d 类为 40 个氨基酸,主要分布于睾丸和脂肪组织,其中 OB-Ra、OB-Rc、OB-Rd 及 OB-Re 为短型受体,具有信息传递功能。其中以 OB-Re 受体最短,仅含有 808 个氨基酸,且无跨膜区,因此它可能是一种可溶性受体。不同瘦素受体组织分布不同可能与其功能不同有关。

2.2 OB-R 的分布 OB-R 分布要较瘦素广泛得多,这与瘦素具有多种生理作用有关。OB-Ra、OB-Rb 是 OB-R 的两种主要形式,前者主要分布于肾脏、肺、大脑脉络丛及血脑屏障的大脑微血管丛中,表明 OB-Ra 是瘦素向中枢神经系统转运的大分子载体,具有饱和性,是瘦素从血浆进入脑脊液的门户。长受体 OB-Rb 主要表达于下丘脑,在外周组织表达有限,可能与其信号转导功能有关。小鼠的 OB-R 分布于脉络丛、下丘脑、睾丸、心脏、脾脏、肝脏、肾脏及脂肪组织。大鼠的 OB-R 主要分布于肝脏、脾脏、脑、胃、胸腺、心、肺、下丘脑,其中脑内表达较高。

2.3 OB-R 基因 目前研究已经证实了瘦素受体基因的多种突变和多个多肽性位点。在动物研究方面,Brown 等在远系杂交的小鼠中运用 cDNA 片断序列分析发现,OB-R 基因第 12 外显子 1 个鸟苷酸残基缺失,导致编码序列框架移码,使 OB-R 基因转录水平降低 10 倍,小鼠出现糖尿病和肥胖。Ukkola 等发现长期饮食摄入过多后,OB-R 基因第 668 位碱基 A→G 变异,使 223 位氨基酸 Gln 被 Arg 取代,此突变与一系列代谢异常相关,瘦素和 OB-R 等位基因特定联合,发生胰岛素抵抗的危险性增加。

2.4 OB-R 的主要生理功能 OB-R 与瘦素结合,使瘦素发挥调节体内的能量平衡、脂肪贮存等作用,且参与瘦素的自分泌调节以及瘦素的除调节能量外的其他如代谢、生殖、造血等功能。OB-R 的不同剪接可在中枢及外周组织中有选择地表达,瘦素与这些组织中的 OB-R 结合后具有不同的功能。

对中枢的作用:(1)瘦素可通过类高血糖素肽-1 神经元上的 OB-RL 来减少摄食和体质量;(2)OB-R 在下丘脑几个核团上的表达说明多个神经元的亚型为瘦素作用的靶器官。内阿片-促黑素细胞皮质素原(POMC)基因的产物被认为对进食行为有影响,而下丘脑的 POMC 神经元和 POMC 基因产物为瘦素发生作用的信号通路中的一部分。

对外周的作用:(1)肾上腺素有潜在的导致厌食的作用,引起体质量下降;(2)OB-R 在造血组织中表达,对造血早期及免疫系统的发育起重要作用;(3)

OB-R 大量存在于人的卵巢粒层,卵泡液中存在的瘦素可阻止促黄体激素诱发的雌二醇,提示瘦素对卵巢有直接作用;(4)通过胎盘及胎儿的软骨、肺等一些组织中的瘦素及 OB-R 基因的表达,瘦素通过旁分泌及内分泌的作用,影响胎儿的生长、发育。

3 瘦素及 OB-R 的信号转导

JAK/STAT 途径是介导瘦素信号传递的主要通路。作为 JAK 家族的成员,胞质酪氨酸激酶结合于 OB-R 上,其识别位点分布于受体特异的膜近端区域,与 OB-R 结合的 JAK 亚型主要是 JAK1 和 JAK2。OB-R 蛋白上的 Tyr985 和 Tyr1138 被磷酸化后,可作为下游信号分子的结合位点,其中 p-Tyr1138 可作为 STATs 蛋白的结合位点,丝氨酸取代 Tyr1138 可特异地阻断 STATs 引起的信号传递。在 STATs 的不同异构体中,主要是 STAT3 参与 OB-R 引起的信号传递。另外,STAT1、STAT5 和 STAT6 也能够被瘦素蛋白激活,而且在不同类型的细胞中由不同的 STATs 蛋白参与瘦素引起的信号传递。STATs 与细胞膜上的 OB-R 特异性结合,酪氨酸被 JAKs 磷酸化后,STATs 与受体解离,形成同型或异型二聚体,进入细胞核内调节特异的基因转录和蛋白合成,如 c-fos、c-jun 等。JAK/STAT 信号通路可被细胞因子信号 3 抑制因子(SOCS-3)所抑制。

另一个负向调控分子是蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (PTP1B)。激活的 STAT3 的蛋白抑制因子(PIAS3)也被认为是一种 JAK/STAT 通路的抑制因子,可阻断 STAT3 与 DNA 结合,而对 STAT1 则无此作用。在不同的细胞中 Lep 通过激活 STATs 蛋白发挥不同的生理功能。在 db^{-/-}/db^{-/-}小鼠中,由于缺乏长型 OB-R, JAK/STAT 信号通路受阻,而瘦素短型受体不能激活 STAT 蛋白,这表明 db^{-/-}/db^{-/-}小鼠的病态肥胖症可能是由于阻断 STATs 信号通路而引起的,提示 Lep2STATs 诱导的信号传递在调控机体能量内环境稳定中起重要作用。与野生型小鼠相比,ob^{-/-}/ob^{-/-}小鼠下丘脑弓状核细胞中

STAT3 蛋白呈弱阳性表达,这进一步证实了 STATs 信号途径在调节体质量方面起中枢性作用。瘦素主要通过 JAK/STAT 信号途径在下丘脑发挥其生理功能。在小鼠下丘脑中 STAT3 蛋白主要分布于室旁核、室周核、弓状核和侧面的下丘脑区域的细胞中。NPY 和 豚鼠相关多肽(agouti-related peptide, AgRP)促进机体进食,而 POMC 则抑制机体进食。瘦素与其受体特异性结合后,通过 JAK/STAT 信号通路诱导 POMC 基因表达,而下调 NPY 和 AgRP 基因表达,抑制过量进食,维持机体能量代谢的平衡,这些蛋白可作为靶位点调控机体对食物的摄取。激活的 STAT3 与 OB-R 也可存在于迷走神经输入神经元中,并定位于结节性神经节,也可分布于孤立的神经核束和迷走神经的背侧核中。

瘦素信号调控中的 MAPK 途径:细胞外信号调节激酶(ERK1/2)作为 MAPK 家族的成员,均为丝/苏氨酸激酶,激活后可介导细胞外刺激引起的信号传递。瘦素蛋白与完整的长型 OB-R 结合后也能够激活 ERK1/2 介导的信号通路。在瘦素诱导作用下,OB-R 中 Tyr985 与 JAK1 或 JAK2 结合后而被磷酸化,为含有 SH2 域的蛋白提供一个结合位点,其中包括蛋白酪氨酸磷酸酶(SHP-2),SHP-2 羧基端酪氨酸被磷酸化后,与它的效应分子 Grb22 相结合,活化上游信号分子 MEK1,激活的 MEK1 磷酸化 ERK1/2 后使其激活,最终导致特异的靶基因如 c-fos 或 egr-1 表达增强。

总之,瘦素及 OB-R 的发现,尤其 ob 基因及 db 基因的发现,使人类对肥胖的研究深入到分子水平。瘦素通过与中枢及外周组织的 OB-R 结合,在细胞内能与许多信号分子相互作用,激活信号通路,发挥其调节体内脂肪贮存量、能量代谢、体质量平衡、摄食行为,并参与生殖、血压、造血、胎儿的生长发育、内分泌调节等功能。

[收稿日期] 2007-05-20

[修回日期] 2007-06-12

[本文编辑] 尹 荼