

近年来蛋白质类激素研究的概况*

冯佑民 鲁子贤 顾嘉琨

(中国科学院上海生物化学研究所)

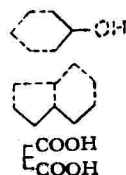
关于多肽和蛋白激素(以下简称蛋白激素)的研究,大体上以胰岛素的发现为标志划分为两个时期。在胰岛素被发现以前可认为是整体研究时期,以观察内分泌腺对整个机体的影响为主;从二十年代初发现胰岛素以来,着重于从腺体中分离、纯化激素,进而测定它们的结构、研究结构和功能的关系,及人工合成、晶体结构的测定等,即所谓离体研究的时期。随着医学、

工业和科学的不断进步,特别是分离纯化,免疫、生物合成、生物膜、人工合成多肽及蛋白质,以及微量和超微量分析技术等方面的迅速发展,从六十年代末以来,蛋白激素的研究又进入了一个新的时期。这个时期的特点是综合性的多学科协同作战,陆续出现了不少新的发展很快的生长点。激素作用原理、下丘脑激素和激素前体的研究进展很快;胃肠道激素的研究也

附录:

氨基酸三字符号与单字符号对照表

按单字符号字母顺序排列如下				简单氨基酸以三字符号的第一字母作单字符号(从字首)	
A	Ala	N	Asn	Gly	G
B		P	Pro	Ala	A
C	Cys	Q	Gln	Val	V
D	Asp	R	Arg	Leu	L
E	Glu	S	Ser	Ile	I
F	Phe	T	Thr	Ser	S
G	Gly	V	Val	Thr	T
H	His	W	Trp	Cys	C
I	Ile	X	未知	Met	M
K	Lys	Y	Tyr	His	H
L	Leu	Z		Pro	P
M	Met			从侧链结构的形状(从形)	
以三字符号的某一音节选出单字符号(从音)				Tyr	Y
Asn	N				
Asp	D			Trp	W
Gln	Q				
Arg	R			Glu	E
Phe	F			其他	
				Lys	K
				Asx	B
				Glx	Z
				未知	X



* 氨基酸残基缩写用单字符号(见科学出版社1977年《英汉生物化学词汇》),见本文附录。

蓬勃发展;通过激素化学结构的研究,提出了新的概念;对于蛋白激素的构象也引起了人们的很大注意。本文想从上述这几个方面对近年来的进展作一扼要的介绍和讨论。

蛋白激素的化学

表 1* 列举了蛋白激素的一级结构和生物功能。它们有的是一条肽链的,有的是由两条肽链组成的;有的只有 3 个氨基酸,有的近 200 个氨基酸;有的是简单蛋白质,有的是糖蛋白等等。说明蛋白激素的化学组成是很复杂的。

关于蛋白激素结构与功能关系的阐明,五十多年来一直是这一领域中的研究中心,几乎对每一个蛋白激素都有很多综述来论述这方面的成就。最近,朱^[1]简单地叙述了这方面的资料。

在蛋白激素的化学研究中,近年来引起人们注意的有以下两个问题。

1. 新激素的发现

随着分离纯化和分析,特别是微量技术的发展,不断有新的激素被发现和确证。例如很早就知道胸腺是内分泌腺,它与动物的免疫力有着密切的关系,但是胸腺激素结构的测定最近才完成(表 1, D. H. Schlesinges, 1975)。现已知道胸腺激素有两种形式,结构上关系很密切,分别称胸腺激素 I 和 II,在体内后者含量比前者高。又如近来 J. R. Kimmel 等(1975)报告,从胰脏中获得了一个新的多肽激素,由 36 个氨基酸组成(表 1),具有类似促胃酸激素和胰高血糖素的功能。昆虫的多肽激素也有发现,不久前 K. E. Stone 等从昆虫的神经内分泌器官中分离出一个多肽激素,叫蝗虫脂肪酸释放激素(LAH),是一个九肽,结构如下。



在蝗虫飞行中,它能调节脂肪的利用。最近, D. Tran 等^[2]报告从胎儿的足细胞部分纯化出一个蛋白质,叫 Anti-Müllerian 激素(AMH);可能提示着胚胎期激素的特点。我们相信对于那些长期来尚未确立专一性激素的内分泌腺如松果体、睾丸等很快会有所突破。今后在这方面的研究,一方面可能在已知的内分泌

腺中继续发现新的激素,另一方面可能是确立一些新的内分泌腺体。

2. 激素家族问题

比较一级结构(表 1),可将蛋白激素及有关活性肽分为若干类。认为每一类中的激素可能起源于同一个祖先基因,属一个“家族”(表 2)。下面对于每一个“家族”作一简单介绍,它们的一级结构的详细比较本节不一一列出,请参阅给出的文献。

胰岛素家族 这三个蛋白质的来源不同,功能也不同,却有着类似的结构。胰岛素和耻骨松弛激素都是由 A、B 两条多肽链组成的,二硫键的位置相同^[3]。神经生长因子由 118 个氨基酸组成,很像胰岛素原,一级结构和空间结构都与胰岛素类似(R. A. Bradshaw 等, 1974)。

表 2 多肽和蛋白激素的“家族”

家 族 名 称	成 员
I. 胰岛素家族	胰岛素,耻骨松弛素,神经生长因子(NGF)
II. 促胃酸激素家族	促胃酸激素, 缩胆囊肽(CCK), 雨蛙肽, phyllocaerlein
III. 胰高血糖素家族	胰高血糖素, 肠促胰液肽, 小肠血管活性肽(VIP), 胃抑制剂肽(GIP)
IV. 尿抑胃素家族	尿抑胃素, 上皮生长因子(EGF)
V. 促肾上腺皮质激素家族	促肾上腺皮质激素(ACTH), 促黑(素细胞)激素(MSH), 促脂肪分解激素(LPH)
VI. 生长激素家族	生长激素(GH), 催乳激素, 胎盘催乳素
VII. 促黄体激素家族	促黄体激素(LH), 促卵泡激素(FSH), 促甲状腺激素(TSH), 绒毛膜促性腺激素(CG)

促胃酸激素家族^[4] 它们在结构上很密切, C-端与肽氨基酸顺序完全相同, C-末端都是酰胺,在酪氨酸残基的侧链上都有 -SO₃H 基团。四者的生物功能也相似,都能促使胃酸分泌,这一点可用 C-端 5 肽的一致性解释,因为促胃酸激素的 C-端 5 肽酰胺具有完全的促胃酸激素的活力。

胰高血糖素家族^[5] 它们的生物功能各

* 表 1 见第 10 页。

不相同,但结构颇相似。例如,比较肠促胰液肽和胰高血糖素的一级结构,前者 27 个残基的结构中有 14 个和后者顺序相同。猪 GIP 的前 26 个氨基酸中有 15 处和猪肠促胰液肽一样。VIP 的一级结构和肠促胰液肽、胰高血糖素及 GIP 的关系也很密切 (H. S. Tager 和 D. F. Steiner, 1974)。

尿抑胃素家族^[6] EGF 和尿抑胃素有 37 处相同,更有趣的是两者都有三对二硫键,而且位置一样,即都在 6—20, 15—31, 33—42 处。但二者的生物功能完全不同。

促肾上腺皮质激素家族 这个家族的成员都是由垂体产生的,此外还包括内啡肽(见后文)。其中 ACTH, α -MSH 和 β -MSH 都含有以下 7 肽顺序:

—MGHFRWG—

α -MSH 的氨基酸顺序完全和 ACTH 的 N-端 13 肽相同。 β -MSH 的一级结构和 γ -LPH 的 C-端一段结构一样,而 γ -LPH 和内啡肽的一级结构又完全包括在 β -LPH 中 (C. H. Li 等 1967)。

生长激素家族 都是分子量很大的蛋白质。人生长激素和胎盘催乳素都是由 191 个氨基酸组成的单链,两者有 85% 的氨基酸顺序相似。这种相似性还反映在二硫键位置的一致和某些生物功能的一致性上。催乳素是由 198 个氨基酸组成的单链,结构也和生长激素类似 (H. S. Tager 和 D. F. Steiner, 1974)。

促黄体激素家族 它们都是糖蛋白激素,都由含有糖组份的 α -和 β -两个亚基组成。游离亚基生物活力很小,重组后活力恢复。如果不同激素的 α -和 β -亚基交叉重组,能表现生物活力,杂交分子的生物活力专一性随 β -亚基而定 (M. Jutisy 等 1974)。这四个激素的 α -亚基一级结构和糖组份的位置非常类似,而 β -亚基彼此很不同 (H. S. Tager 和 D. F. Steiner 1974)。近来发现霍乱毒素的 B-链具有和这四个激素的 β -亚基的一级结构类似的区域,这个区域与细胞膜受体的结合有关;这四个激素的 α -亚基也有一个区域和霍乱毒素的 A₁-链的一

段氨基酸顺序类似,并证明这个区域与活化腺苷酸环化酶有关^[7]。

“家族”的划分可能反映了蛋白质分子的起源和进化,进一步的研究可能有助于探讨生物大分子的这一课题。

下 丘 脑 激 素

近十年来,在激素领域中的最大成就之一是: Schally 和 Guillemin 等分别分离、鉴定和合成了促甲状腺激素释放激素 (TRH), 促黄体激素释放激素 (LH-RH) 和生长激素释放抑制激素 (GHIH), 从而证明了下丘脑是通过一些特殊的多肽激素控制垂体前叶激素的分泌的。这些多肽激素统称为下丘脑激素。现已证明,每一个垂体前叶激素都有其相应的控制它的分泌的下丘脑激素。到目前为止,至少已确立了 9 个下丘脑激素 (表 1)。除 TRH, LH-RH, GHIH 外,其它仍尚未确定其化学结构。从表 1 中可以看出,有三个垂体激素即 GH, 催乳素和 MSH 都分别有两个下丘脑激素,一个是促进其分泌的,一个是抑制其分泌的。这可能是由于这些垂体激素的靶组织产物不能产生负反馈。其他垂体激素如 ACTH, TSH, LH, FSH 则都只各有一个促进其分泌的下丘脑激素,这些垂体激素的靶组织产物 (甲状腺素、甾体激素) 能通过负反馈作用于垂体或下丘脑,或同时作用于两处,抑制相应的垂体激素的分泌。LH-RH 同时能促进 LH 和 FSH 的释放,所以更确切地应缩写为 LH-RH/FSH-RH 或 Gn-RH。至今未分离到只专一地促进 LH 或 FSH 释放的下丘脑激素,也尚未能用人工合成的方法得到这样的类似物。

近年来,关于 TRH, LH-RH, GHIH 等下丘脑激素的结构功能、作用原理、细胞定位及应用的研究非常活跃,进展也非常快。A. V. Schally (1972, 1973), R. Guillemin (1972) 和 McCann 等以及最近龚^[8]对这方面的知识已经作了很好地综述和讨论。本节拟简略讨论下列三个问题。这些问题可以认为是受下丘脑激素的发现和研究的启发而活跃起来的内容。

1. 对于控制其他外周内分泌腺的下丘脑激素的寻找

很多外周内分泌腺如甲状腺、肾上腺皮质、性腺等都直接受垂体激素的控制、也就是说下丘脑通过垂体控制它们。而有些外周内分泌腺,像胰岛、胸腺等未发现控制它们的垂体激素,它们是否也受下丘脑控制呢?近年来的研究表明它们似乎也受下丘脑控制,例如已经证明GHIH能抑制胰岛素和胰高血糖素的释放。最近, Hill 等^[9]又报告从猴子的下丘脑腹侧的灌注物中发现了能促进胰岛素和胰高血糖素分泌的下丘脑激素。

2. 神经和内分泌的关系

通过对下丘脑激素的研究大大促进了神经内分泌学的发展。促进了对于神经和内分泌——脊椎动物的两种调节系统——的关系的了解。近来的研究表明,下丘脑的某些神经元具有两重性;它们既是神经细胞又是能分泌下丘脑激素的内分泌细胞。这些神经细胞用自己制造的下丘脑激素通过垂体(或直接)控制外周内分泌腺。那么什么东西控制下丘脑神经元分泌下丘脑激素呢?人们早就知道神经活动的信号是通过神经介质从一个神经元传入另一个神经元的。G. W. Bennett (1975)分离了下丘脑的神经突触,观察了各种神经介质对这些突触释放LH-RH和TRH的影响。结果表明,神经细胞可通过神经介质控制下丘脑中分泌下丘脑激素神经元,也就是说神经活动可通过这些特殊的下丘脑神经元影响内分泌系统。同时各级内分泌激素(下丘脑激素、垂体激素)的相应靶组织分泌的激素又以负反馈的方式抑制上一级激素的分泌。这样,我们从分子水平上看到了神经和内分泌这两种调节系统的紧密联系、相互制约的关系。

3. 脑肽的发现

下丘脑激素的研究,极大地促进了神经化学特别是神经多肽的研究。从大脑中分离活性肽是当前很热门的课题之一。例如神经加压素(Neurotensin)是从下丘脑中分离出的13肽,它的结构如下:



它具有升高血压,增加血管通透性等多方面的生物功能^[10]。自J. Hughes (1975)从脑中分离、鉴定了两个具有类吗啡活性的肽以后,引起了神经科学工作者的很大注意。它们的结构如下:

YGGFL L-脑啡肽

YGGFM M-脑啡肽

后来又从脑中发现 α -、 β -、 γ -内啡肽,它们的一级结构分别相当于 β -LPH的61—76, 61—91, 61—77的顺序,具有比脑啡肽更强的类吗啡活性。此外,还有一些工作者报道,在脑中发现和学习,行为等有关的多肽,但尚有争议。总之,这些研究都将有助于从分子水平上阐明脑的功能。

胃肠道激素

胃肠道激素是最早知道其存在的激素。在“激素”一词使用之前,1902年就指出肠促胰液肽(Secretin)是小肠分泌的,能刺激胰脏释放重碳酸盐的一个激素,但直到六十年代初才被分离纯化。胃肠道激素的研究长期停滞不前,所以如此,可能一方面由于当时在临床上对胃肠道激素的需要不像胰岛素那样迫切,另一方面胃肠道不是经典内分泌腺,自从本世纪二十年代初发现胰岛素后,在蛋白激素方面的研究主要集中在由经典内分泌腺产生的激素的研究上。还有,这类激素含量少,不易分离纯化。再加在消化系统中,生化工作者主要集中在对消化液和消化酶的研究上。因此,长期内进展缓慢。

近十多年来,胃肠道激素的研究蓬勃发展。对胃肠道激素研究的热潮是从1961年获得纯的肠促胰液肽开始的。在胃肠道激素中,除了已被公认的三个胃肠道激素外(这三个激素是肠促胰液肽,促胃酸激素和缩胆囊肽)其它都尚在或多或少的争议中(表3)。这些争议中的激素一般称为“候选”激素,可将候选激素分为两类:(1)已获得纯的或不纯的多肽待确定其生

表3 胃肠道的激素及“候选”激素

胃肠道激素	胃肠道“候选”激素
1. 肠促胰液肽 (Secretin)	I 已获得纯的或不纯的多肽待确定其生理作用
2. 促胃酸激素 (Gastrin)	1. Chymodenin
3. 缩胆囊肽 (CCK)	2. 胃抑制剂肽 (GIP)
	3. 蠕动素 (Motilin)
	4. 小肠血管活性肽 (VIP)
	5. Coherin
	6. 尿抑胃素 (Urogastrone)
	7. Gastrone
	II 已知生理效应待寻找其相应的多肽
	1. Bulbogastrone
	2. Duocrinin
	3. 促肠液激素 (Enterocrinin)
	4. 肠抑胃素 (Enterogastrone)
	5. Enteroglucagon
	6. 肠降血糖素 (Incretin)
	7. 肠绒毛促动素 (Villikinin)
	8. Antral chalone
	9. Entero-oxyntin
	10. Vagogastrone

理功能。(2) 已知生理效应待寻找其相应的多肽。M. Bodanszky (1973), G. M. Makhlouf (1974), R. A. Gregory (1974) 和 Barrington 等的综述文章很好地总结了近年来关于胃肠道激素研究的成就。本节想简单地叙述以下三个值得注意的问题。

1. 胃肠道激素的促作用 (trophic action)

近来注意到胃肠道激素除了影响消化道的活动外,还具有促激素的作用,即能促进其他组织的 DNA、RNA 和蛋白质的合成^[1]。从表 4 可以看到,促胃酸激素不但能对所有的肠管起促作用,也对胰脏起促作用。缩胆囊肽的主要促作用组织是胰脏。另一个有趣的现象是几乎所有的胃肠道激素在适当条件下都能促进胰岛

表4 促胃酸激素促作用的组织专一性

有 效	无 效
1. Oxyntic gland area	1. 食道
2. 十二指肠	2. Antrum
3. 空肠	3. 平滑肌
4. 迴肠	4. 骨骼肌
5. 结肠	5. 肝
6. 胰	6. 肾

素的分泌。关于这种促作用的生理意义以及胃肠道激素和胰岛素的关系尚待进一步研究。

2. 胃肠道激素的存在地方

发现有些胃肠道激素在脑中也有。反之,有些神经激素或活性肽也存在于胃肠道中(表5)。这是一个很有趣的事实。怎样解释这种现象呢?有人认为胃肠道的内分泌细胞在胚胎学上和神经组织同源。根据这种观点也可以把胃肠道激素看作为神经内分泌激素。这有待进一步研究。

表5 胃肠道和脑中的共同多肽

多 肽	“原先的”定位	新的定位
P-物质	大脑皮层	胃肠道
生长激素释放抑制激素	大脑皮层, 松果体	胰岛, 胃肠道
促胃酸激素	胃窦, 十二指肠	大脑皮层
小肠血管活性肽 (VIP)	胃肠道	大脑皮层, 下丘脑

3. 胃肠道激素是一个广阔的天地

如前所述,很多候选激素有待确定,在进一步研究中有可能发现更多新的蛋白激素,通过对胃肠道激素的性质以及相互关系的研究,将促进从分子水平上阐明消化的调节生理,以及消化系统和神经及内分泌系统的关系。

激素的前体

1967年,Steiner 阐明了胰岛素原的一级结构。从此开始了激素原的研究,陆续发现了不少有激素原的蛋白激素(表6)。

胰岛素原由C肽将胰岛素A、B链连成一条链的蛋白质。C肽具有种属差异。胰岛素原经类胰蛋白酶及类羧肽酶B相继水解后切去C肽,转变成胰岛素。这一转变过程设想是在高尔基体或新生成的分泌颗粒中开始,然后在细胞质中完成。为什么胰岛素要有激素原?研究了胰岛素原的二硫键拆而复合的工作,发现比两条链的胰岛素产率高,可以高达85%以上。因此设想C肽的存在是胰岛素生物合成产生特定空间结构的需要。C肽本身的功能到目前尚未找到,但普遍怀疑C肽会没有功能。

形成激素原的增添结构可能处在激素的N

表 6 激素原及前激素原

活 性 激 素	激素原到激素的变化	前激素增加的结构
胰岛素	切去 A、B 链间的连接肽——C 肽 ——RR*****KR—— B 链 C 肽 A 链	NH ₂ X(M)MXFLF ^L _F L(K)LLXLXXXXXXXX-胰岛素原
胰高血糖素	从羧端切去 49 肽, 激素原 78 个残基 ——KR*****	
甲状旁腺激素	从 N 端切去 6 肽 *****KR—— PTH	NH ₂ MMXAKDMXKXMXMLAIXXLARXDX-甲状旁腺激素原
促胃酸激素	从 N 端切去 17 肽 *****KK——	
生长激素	分子量从 24000δ 降到 19500δ	
降钙素	分子量从 7,000—10,000δ 降到 32 个残基	
催乳激素		NH ₂ PXXXXXLXLXXXLLXLP-催乳激素
促肾上腺皮质激素	分子变小, 未最后定。	
β-促黑素细胞激素	β-促脂肪分解激素的中间一段结构 *****KK+++—KR***** r-促脂肪分解激素的 C 端一段结构 βMSH *****KK——	
α-促黑素细胞激素	从 ACTH 切去 C 端 26 肽 ——GKKRR***** αMSH	
牛垂体脂解因子	促黄体生成激素 β 是它的前体	
胰蛋白酶	从 N 端切去六肽	NH ₂ KLFLFLALLLAYVAFPLDDDDKL-胰蛋白酶原
免疫球蛋白 L 链		NH ₂ MXMXXPXXIXXXLLXPXXXL-L 链
白蛋白		NH ₂ MXXXXFLLLLFXXXXFX-白蛋白
溶菌酶		-MRSLILVLCFLPLAALG-溶菌酶

***** 增长部分 ——活性激素部分

端,也可能在 C 端,或二者都有,或夹在中间,如表 6。因此激素原的普遍功能还难于讨论。

近年来发现,一些激素原还有前体,如胰岛素原^[12]、甲状旁腺激素原^[13]等(见表 6)。发现这类前体的方法基本上是相同的,大多都利用麦胚的核糖核蛋白体体系。这是一个无细胞制剂,它具有翻译信使 RNA 的能力,但缺乏内源的蛋白质合成背景,并且还没有蛋白水解酶来降解最初翻译出来的产物。当将甲状旁腺激素的信使 RNA 加入上述体系中时,合成出比甲状旁腺激素原还要大的蛋白质。经一级结构测定,它是甲状旁腺激素原前体,即前甲状旁腺激素原。它在甲状旁腺激素原的 N 端上多出一段肽,结构列于表 6 中。

与此同时,还发现了前胰岛素原等。非激素蛋白质也有同类的发现^[14]。前体多出来的肽

段都在 N 端上,并且已经测出的结构中大多是疏水的残基。最近发现,这类前体在蛋白质生物合成体系中可以找到它们。因此设想,这最初合成的一段肽可能是用来使与细胞质内质网相作用,以促使合成蛋白质的核糖核蛋白体与内质网相作用,到这里 N 端的肽段被切除,然后进入分泌颗粒。

因此有两种前体,后者可能系一般蛋白质所共有,是生物合成所需要。本文建议,凡此类前体于激素名前加一“前”字(相应于英文 pre-)。另一类如胰岛素原,功能并未搞清,建议一律用“原”字加于词尾(相当于英文 pro-)。有的激素有“原”并有“前体”,但有的并不兼有。

激素的构象与功能关系

蛋白质的晶体结构与溶液构象测定方法到

七十年代开始,有了相当的发展,测定了相当大量的蛋白质的构象。在这一背景下人们认识到,要了解蛋白质的结构与功能关系,构象是必不可少的内容。

六十年代末七十年代初,胰岛素的晶体结构的结果陆续发表^[15,16],在此基础上纷纷讨论胰岛素的空间结构与功能的关系。结合胰岛素的类似物的功能分析,提出了胰岛素结构中可能包含着与受体结合的结合部位及结合后传递激素信息的信息部位的设想。在此基础上,1974年动物所与我们共同发表了胰岛素二体内单体间的疏水结合面就是胰岛素与受体结合的部位^[17]。此后利用B链C端去五肽胰岛素具有基本完整的活力的特点,证明此类物质于接近生理条件下是单体,并主链构象与天然胰岛素基本相同,从而进一步支持上述设想^[18]。与此同时,国外 Blundell 等西欧几家研究胰岛素结构功能关系的工作者总结了以前的工作,也共同地提出了与上述十分类似的与受体结合的部位的结构的设想,表达如图1。这是蛋白质激素中构象与功能关系讨论得最具体的例子。

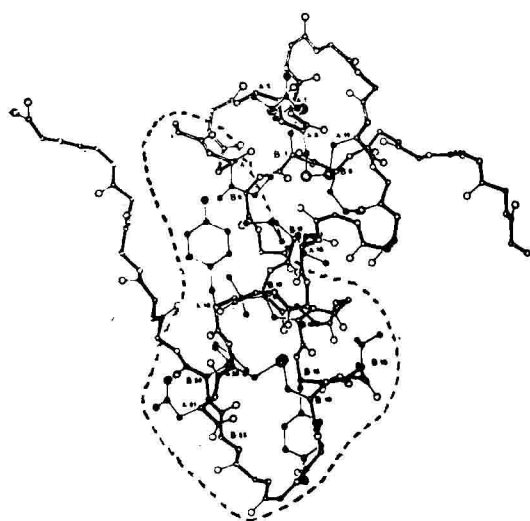


图1 胰岛素分子中与结合部位有关的结构
(虚线划出的部分)

(R. A. Pullen 等, *Nature*, 259, 369, 1976)

其他蛋白激素中,几个糖蛋白激素在溶液中的构象已有不少研究,但因晶体结构的研究

尚无结果,因此还未得到明确的部位的结果。胰高血糖素的晶体结构刚刚解决,工作正在进一步进展。

肽激素早年认为没有特定的构象,因此只从化学结构上去区分结合部位与信息部位。近三、五年内,特别是一、二年内,肽的构象开始受到注意,出现一些颇有意义的结果。LRH^[19], SRIH^[20], MRIH^[21], TRH^[22], 催产素^[23]以及增血压素与舒缓激肽等都有较详细的研究。关于脑啡肽的构象也有不少报道,普遍的结论认为,这些肽具有一定的构象,主要构象特征有 β -转角、 β -折迭,在肽比较大的时候,在有机溶剂中也有 α -螺旋出现。肽的构象与蛋白质不同的地方是它可能是在几种构象之间摆动。

从肽激素的构象研究中推论,肽与受体结合时,结合的微环境与三氟乙醇相似。特别有意思的是从M-脑啡肽的构象研究中得到的一些推想。Anteunis 等人从核磁共振研究中推论,GG 间肽键较容易转动,F. M 间肽键比较僵硬,Y 与M在空间上相互接近。在此基础上进一步推想,其受体蛋白质上与脑啡肽有两个结合点,一个点与F相结合后,F. M 因分子扭转而与第二个点结合,导致完整的生物活力。Y. G. G. F 活力降低就是失去第二点结合的结果。这一推论虽然还待进一步证实,但在我们面前展现出一个重要的课题:肽激素的构象与功能关系。到目前为止,可以说肽的构象测定问题原则上已没有重大的困难,但要直接测定它们与受体结合过程中的构象及变化,还是十分困难的问题,是值得加以探索的。

蛋白激素作用原理

激素到达靶器官后,是怎样发挥作用的?当前最流行的也是发展最快的一种学说即所谓第二信使学说。这个学说假设在激素和其生理效应的表现之间有一个中间者——第二信使。也就是说,各种刺激引起内分泌腺分泌激素,激素是第一信使,它与靶器官膜上的特定受体结合,进而活化存在于膜上的腺苷酸环化酶,该酶使ATP 变为 cAMP。cAMP 是第二信使,它进一

步把第一信使的信息传递给细胞内的特定的代谢过程,最终表现出该激素的生理效应。在这个假设中,有几个环节是当前研究得最活跃的,进展也是最快的。这几个环节是受体,腺苷酸环化酶、第二信使,以及 cAMP 是怎样发挥作用的等等。

本节限于篇幅只简略地叙述各环节中最近的情况。如果希望比较全面地了解这些方面的成就,请参看近两三年中关于这方面的一些综述性文章。

受体

激素发挥作用的第一步是识别和结合其特定的受体。几年来迅速地报道了各种蛋白激素与其受体相互作用的性质的研究。激素与受体的相互作用是非共价的双分子反应,这种反应具有专一性、高亲和性、可逆性和可饱和性。有好几个激素受体具有协同效应以及不均一性和浓度的可变性等。这些性质都是从研究激素与完整细胞或膜制剂相互作用中获得的,关于激素受体的研究目前最大的困难仍然是未能获得纯的受体制剂。这首先是由于激素受体的量很少。不同激素的靶细胞所含的受体的数目不同,每个细胞大约含 500—250,000 个受体分子。受体含量之少给分离纯化带来了很大的困难,例如按 P. Cuatrecasas (1972) 的报道,胰岛素受体的分子量为 300,000。有人报告如果一个受体分子结合一个胰岛素分子,那么每毫克肝膜蛋白可结合 0.1 沙克(微微克)分子胰岛素,用 1 克肝膜蛋白才能得到 30 微克胰岛素受体。其次,这些激素受体都是膜蛋白质,水不溶,不能用一般的蛋白质的分离纯化方法。因此,到目前为止还没有任何一个蛋白激素的受体蛋白被纯化成均一的制剂。LH 受体制剂的 SDS 凝胶电泳是单一的组份,分子量 80,000。即使这样也只有 25% 的纯度。其它已经部分纯化的有胰岛素、乙酰胆碱,FSH、胰高血糖素和生长激素的受体。其中除胰高血糖素受体是脂蛋白外其他都是糖蛋白。基于以上情况,很多实验室正在积极改进现有的分离纯化的手段,以获得纯的受体蛋白质。近来动物所胰岛素组和 P.

Cuatrecasas 分别报告,得到了纯的胰岛素受体的亚基。hCG 受体的纯化也有突破。此外,发现在某种糖尿病患者的 IgG 中含有胰岛素受体的抗体,不少人努力制备受体的抗体,以使用少量的受体得到大量抗体。

腺苷酸环化酶

腺苷酸环化酶的作用是经激素或其他活性物质激活后催化 ATP 转变成 cAMP。用蛋白水解酶处理完整的细胞后,不影响该酶的活力,说明它不在细胞外表面或不被胰蛋白酶破坏。

关于影响腺苷酸环化酶活性的各种因子的报道很多,例如在很多条件下 Ca^{++} 抑制该酶活性,但 ACTH 活化对其敏感的腺苷酸环化酶时却需要 Ca^{++} 。还不清楚为什么 ACTH 活化腺苷酸环化酶时需要 Ca^{++} 而其他激素则不需要。此外,较早就知道 F^- 能激活破碎细胞制剂的腺苷酸环化酶,而对完整细胞就没有这种作用,至今还没有从这个事实中引出关于腺苷酸环化酶激活机制的线索。一个更有趣的报告是霍乱毒素能不可逆的激活腺苷酸环化酶。即将完整细胞和霍乱毒素放在一起,几分钟后就引起腺苷酸环化酶活性增加。把霍乱毒素洗去以后,该酶活性仍能维持几小时。有很多报告指出,腺苷是腺苷酸环化酶的抑制剂。G. S. Lescy (1975) 报告了一个腺苷酸环化酶的多肽抑制剂,它可使 PTH 和胰高血糖素激活的腺苷酸环化酶活性降低 75—100%。已经将它提纯 50,000 倍,初步测定分子量约 1,000,对热、酸稳定,对碱和蛋白水解酶不稳定。

认为腺苷酸环化酶是一种膜脂蛋白。关于该酶在分离纯化中所碰到的困难和受体一样。E. J. Neer (1974) 曾报告用无离子去垢剂从肾髓质细胞膜增溶下具有腺苷酸环化酶活性的大分子,经分离纯化得到两个具有腺苷酸环化酶活性的组份。近来 E. Hanski 等也报告用 Lubrol-px 从火鸡红细胞膜上增溶了腺苷酸环化酶,分子量为 316,000。

受体和腺苷酸环化酶的关系

激素作用的第一步是和其相应的受体结合,这方面的证据是充分的,腺苷酸环化酶的第

二信使 cAMP 的产生的, 其证据也是充分的。但受体和激素结合后怎样把信息传给腺苷酸环化酶的, 两者之间的关系怎样? 现仍停留在假设的阶段。主要有以下三种:

1. 比较早期, Sutherland 等 (1967) 认为, 受体和腺苷酸环化酶之间有着直接的固定的联系。假设两者是一个统一的系统, 这个统一系统由两个亚基组成: 一个是调节亚基, 在细胞外表面(受体是其一部分), 另一个是催化亚基, 在细胞的内表面, 和细胞浆中的 ATP 接触, 具有腺苷酸环化酶活性。根据这种假设, 认为受体和激素结合后, 引起该系统蛋白质构象的扰动, 进而导致位于细胞内表面的催化亚基的活化, 最终产生第二信使。

2. G. S. Levy 等 (1974) 认为, 受体和腺苷酸环化酶本来是联在一起的, 受体结合激素后, 腺苷酸环化酶就脱离了“激素-受体复合体”, 变成活化型。这种过程类似于 cAMP 活化依赖于 cAMP 的蛋白激酶的过程, 即 cAMP 和蛋白激酶的调节单位结合后, 调节单位就和催化单位分离, 催化单位成为活化型。

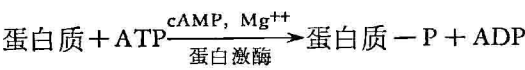
3. 当前为大家所普遍接受的一种学说, 叫流动受体学说。它是在细胞膜流动相嵌的模型基础上提出的。假设受体和腺苷酸环化酶是两个在膜上可以两度空间流动的彼此独立的蛋白质分子(图 2)。在没有激素的情况下, 两者是分离的, 受体具有暴露于细胞外表面的结合激素的部位。当受体和激素结合后, 形成了“激素

-受体复合体”。这个复合体一旦形成, 就获得新的独特的性质, 这种新性质之一就是对于腺苷酸环化酶的专一性结合。

近年来, 不同细胞之间的融合技术发展很快, 靠这种方法能够使两种不同细胞的细胞膜的组份互混。用这种方法表明 β -类肾上腺素功能的受体可以和各种来源的细胞的腺苷酸环化酶偶联, 这进一步证明受体和腺苷酸环化酶在细胞膜上是彼此独立的。

第二信使及其如何发挥作用

自从 Sutherland (1956) 提出激素作用的第二信使学说以后, 一般认为激素通过 cAMP 发挥作用。cAMP 在生理学上的重要意义是它能够激活“依赖于 cAMP 的蛋白激酶”, 这种酶被激活以后, 能使其它蛋白质(包括酶)磷酸化。



由此可见, 蛋白质的磷酸化是以 cAMP 作为第二信使的激素的又一关键步骤。通过磷酸化激活或抑制被磷酸化的蛋白质(包括酶)的活性, 最后表达出生理效应。不幸的是, 到目前为止, 已确认的依赖于 cAMP 的蛋白激酶的生理底物很少, 至今只发现六种这样的底物, 如果这种依赖于 cAMP 的蛋白激酶是各种激素的所有的生理效应的基础的话, 它们的底物实在太少了! 另外, 在细胞内很多其他蛋白激酶是不受环化核苷酸影响的, 它们的生理功能大部分还不知道^[16]。

有不少报告指出, cAMP 本身有其特定的受体, 在大肠杆菌中, 证明 cAMP 先和其受体蛋白质结合, 进而 cAMP 受体和 DNA 结合, 并促进特定的基因转录开始, 合成出一系列酶, 后来在真核细胞中也证明有 cAMP 受体存在, S. O. D φ Skeland 等 (1975) 指出: 在小鼠肝细胞浆中 cAMP 与其受体的结合受 Mg^{++} 及 ATP 影响, 解离常数为 $2 \times 10^6 \text{ M}$; 胚胎中 cAMP 受体分子量为 200,000,

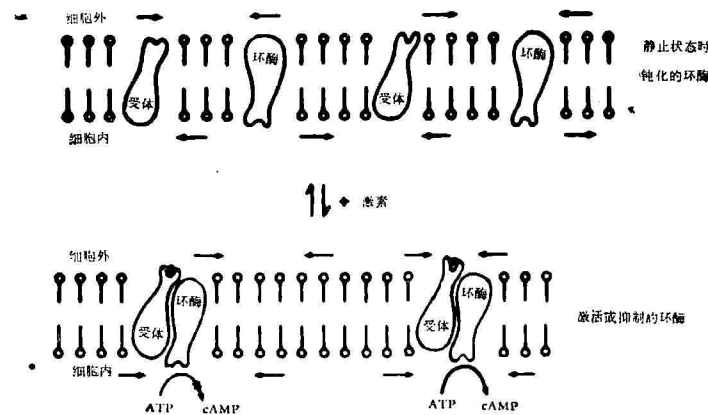


图 2 流动受体学说模型

表1 蛋白质类激素的一级结构和生物功能

腺体	分泌细胞	激素	缩写符号	一级结构			主要生物功能
				基本组成	种属	氨基酸顺序	
下丘脑		促肾上腺皮质激素释放激素	CRH			未定	促进肾上腺皮质激素分泌
		促甲状腺激素释放激素	TRH	3 肽	猪	[] EHP, NH ₂	促进甲状腺激素的分泌
		促黄体激素释放激素	LH-RH	10 肽	猪	[] EHWSYGLRPG, NH ₂	促进促黄体激素及促滤泡激素的分泌
		促黑激素释放激素	MRH			未定	促进促黑激素的分泌
		促黑激素释放抑制激素	MRIH			未定	抑制促黑激素的分泌
		生长激素释放激素	GHRH; SRH			未定	促进生长激素的分泌
		生长激素释放抑制激素	GHIH; SRIH	14 肽	羊	AGCKNFFWKTF ¹ SC	抑制生长激素的分泌, 抑制胰岛素、胰高血糖素和促胃液激素的分泌
		催乳激素释放激素	PRH			未定	促进催乳激素的分泌
		催乳激素释放抑制激素	PRIH			未定	抑制催乳激素的分泌
	C 细胞	促肾上腺皮质激素	ACTH	39 肽	牛	SYSMEHFRWGKPVGKKRRPVKVYPDPGEAEDSAQAPPLEF	促进肾上腺皮质激素和分泌垂体激素
		生长激素	GH	蛋白质 (191 个残基)	人	FFTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEEEA ¹ YIPKEQ KYSFLQNPQT ¹ SLCFSESIP ¹ TPSNREET ¹ QQKSNLQLLRISLLL IQSWLEPVQ ¹ FLRSVFANSLVYGASNSDVYDLLKDL ¹ EEG ¹ Q ¹ T LMGRLEDGSPRTGQIFKQ ¹ TSYK ¹ FD ¹ TNSHNDDALLK ¹ NYG LLYCGFRKDMDKVE ¹ TFLRIVQCRSVEGSGCF	促进蛋白质合成和骨组织的生长影响脂肪和糖的代谢
		催乳激素		蛋白质 (198 个残基)	羊	TPVCPNGPGDCQVSLRDLFDRVMVSHYIHNLSS ¹ EMFNE FDKRYAQGGKGFITMALNSCHTSS ¹ LPTPEDKEQAQQ ¹ THIE VLM ¹ SLILGLRSWN ¹ DPLYHLVTEVRGMKGVPDAILSR ¹ AIEIEEF NKRLL ¹ EGMEMIFGQVIPGAKETEPYPVWSGLPSLQ ¹ TKDED	促进乳汁的分泌, 促进卵巢黄体分泌孕酮

促黄体激素;促间质 细胞激素	LH; ICSSH	糖蛋白: α 亚基 (96 个残基)	羊	ARHSAFYNLLHCLRRDSSKIDTYLKLNCRIYNNNG (Q) (Q) (Q) (N) FPDGEFTMEGCECKLKENKYFSKPDAPYQCMGCCFSRA YPTPARSKKTMLVPKNITSEATCCVAKAFTKATVMGNVR CH CHO VENHTECHSCSTCYVYHKS (Q)CHO(Q)	雌性中促进黄体的生成 和非卵; 雄性中刺激辜 丸间质细胞
				SRGPIRLCEPINALAAEKEACPVCITFTTISGAYCCPSM KRVLVPPLIPMPQRCVCTYHQLRFASVRLPGPCVPDPGMV SFPVALSCHGPGCCRLSSIDCGPGRTEPLACDHPPLPDIL CHO	
	FSH	糖蛋白: α 亚基 (92 个残基)	人	APDVEDCEPTLQENPFPSQPGAPILQCMGCCFSRAYPTPL RSKKTMLVQKNVTSESTCCVAKSYNRVTVMGGFKVENH CHO TACHCSTCYVYHKS	雌性中促进卵泡生长; 雄性中促进精子的成熟
				NSCELTNITIAIEKEECRFCLTNTTWAGYCYTRDLVYK NPAPKINKTCTFKELVYETVRVPGCAHHADSLYTPVA TQCHGKGKDSIDTCTVRGLGPSYDFGEMKQYPTALSY CHO CHO	
促脂肪分解激素	β -LPH	蛋白质 (90 个残基)	羊	ELGTERLEQARGPEAAEESAAARAEEYGLVAEAQAFAEK KDSGPYKMEHFRWGSPPKDKRYGGFMTEKSQLPLVTLF KNAIKKNHAKGQ	促进脂肪分解
	γ -LPH	蛋白质 (58 个残基)		同上 1-58	
促甲状腺激素	TSH	糖蛋白: α 亚基 (96 个残基)	牛	(Q) (Q) (N) FPDGEFTMEGCECKLKENKYFSKPDAPYQCMGCCFSRA YPTPARSKKTMLVPKNITSEATCCVAKAFTKATVMGNVR CHO(Q) VENHTECHSCSTCYVYHKS (Q)CHO	促进甲状腺素的合成 与分泌

续表 1

腺体	分泌细胞	激素	缩写符号	一级结构			主要生物功能
				基本组成	种属	氨基酸顺序	
垂体前叶		促甲状腺激素	TSH	β 亚基 (113个残基)	牛	FCIPTYYMMHVERKECAYCLTI ^{CHO} NT ^{(N)(N)} TVCAGYCMTRDVGK LFLPKYALSDQDVCTYRDFMYKTAIEIPGPRHVTPTYFSPV ALSCKGKGCDDTDYSDCIHEAIK ^{(N)(N)} TNYCTKPQKSYM	促进甲状腺素的合成与分泌
				13肽 α -MSH 18肽 β -MSH	猪	SYSMEHFRWGKPV. NH ₂ DEGPYKMEHFRWGSPPKID	促进皮肤黑色素细胞分泌黑色素
垂体中叶		促黑(色素细胞)激素	MSH	9肽	牛	CYIQNCPLG. NH ₂	促进平滑肌收缩
				9肽	牛	CYFQNCPRG. NH ₂	促使血管平滑肌收缩和抗利尿作用
垂体后叶		催产素		32肽	猪	CSNLSTCVLSAYWRNLNNFHRFSGMGPGPTP. NH ₂	减少血钙, 抑制骨组织吸收
甲状腺		降钙素M		蛋白质 (84个残基)	牛	AVSEIQFMHNLGKHLSSMERVEWLRRKKLQDVHNFVALG ASIAYRIDSSQRPKKEDNVLVESHQKSLGEADKADV ^{IKAKPQ} DVL	维持血钙和血磷的恒定水平
甲状旁腺		甲状旁腺激素	PTH	49肽	牛	SQPLEDP ^{YLQTLTAVKR} SVLTKEKLKSELVANNVTLTLPAGEQRKDVVQVL	促使原甲状腺细胞分化为甲状腺细胞
胸腺		胸腺激素 II				未定	
		胸腺激素 I				HSQGTFTSDYSKYLD ^{HSQGTFTSDYSKYLD} SRRAQDFVQWLMNT	促进糖元分解, 升高血压
α -细胞		胰高血糖素		29肽	猪		
胰岛	β -细胞	胰岛素		蛋白质: A链: 21残基 B链: 30残基	牛	GIVEQCCASVC ^{GIVEQCCASVC} SLYQLENYCN FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFF ^{FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFF} YTPKA	调节糖、蛋白质和脂肪代谢, 增加细胞膜通透性
				36肽	鸡	GPSQPTYPGDDAPVEDLIRFYDNLQ ^{GPSQPTYPGDDAPVEDLIRFYDNLQ} YLVNVVTRHRY. NH ₂	不详
S-细胞		肠促胰液肽	APP	27肽	猪	HSDDGTF ^{HSDDGTF} TSELSRLRDSARLQRL ^{HSDDGTF} LQGLV	刺激胰脏分泌重碳酸盐

解离常数为 $10^{-7} M$ 。近来有人指出, cAMP 受体具有两个分别结合 cAMP 和 DNA 的不同区域, 并用蛋白水解酶限制性水解, 获得了只结合 cAMP 的区域^[24]。这样, 激素可通过 cAMP 受体将信息传到 DNA, 最后通过 DNA 引起激素的调节作用。

关于激素的第二信使, 除 cAMP 外, 近来还提出不少其它物质和途径。最突出的是关于胰岛素的第二信使的问题。M. P. Czech 详细地讨论了 cAMP, cGMP, Ca^{++} 等作为胰岛素第二信使的可能性和存在的矛盾。近来, I. D. Goldfine 证明胰岛素能进入细胞并和细胞核专一性结合。考虑到胰岛素生理效应的多样性, 可能有些效应例如改变细胞膜的通透性等是胰岛素和细胞表面受体相互作用的结果, 另一些效应例如促进 DNA, RNA 和蛋白质的合成等是胰岛素进入细胞直接与细胞器结合的结果。由此认为胰岛素可能不需要什么特殊的第二信使^[25]。此外, 很多报告证明, 胰岛素和受体结合后容易被降解。L. K. Dial 等指出, 与受体结合的胰岛素比游离的胰岛素降解速度快 25 倍。所以有可能胰岛素和受体结合后的降解是胰岛素发挥作用所必需的, 即降解后, 一定的分子碎片进入细胞, 这些碎片就是胰岛素的第二信使。D. F. Steiner 也有类似的想法。

总之, 关于蛋白激素作用原理的各种理论还都是不完善的, 有待进一步发展。

结 束 语

多学科的综合性协同作战是现代生物学的重要特征之一, 激素研究也是如此。药理学、生物膜、蛋白质的生物合成、免疫学、神经科学和临床研究的发展推动着激素研究迅速地前进, 而激素研究的进展又反过来促进了这些学科的进程, 纵观激素研究, 近十年来进展十分巨

大。一系列新的蛋白激素的发现, 动摇了“内分泌腺”与“激素”等的经典定义。cAMP 的发现和受体概念的引入, 为激素作用原理的研究开辟了道路, 取得了不少的成就。但这一、二年来关于激素作用原理的研究遇到了一些困难, 工作虽然不少, 尚无新的突破。要改变这一状况, 似乎需要提出新的思想和新的方法。我们预计, 在这一方面很快将会有一些新的突破出现到地平线上来。

主要参考文献

[1] 朱尚权: 《生物化学与生物物理进展》, 1976 年, 第 4 期, 第 58 页; 1977 年, 第 1 期, 第 47 页。
[2] Tran D. et al.: *Nature*, **269**, 411, 1977.
[3] Schwabe C. et al.: *Science*, **179**, 4306, 1977.
[4] Larsson L. I. et al.: *Nature*, **269**, 335, 1977.
[5] Barrington E. J. W. et al.: *J. Endocrinol.*, **69**, 299, 1976.
[6] Gregarg H.: *Nature*, **257**, 325, 1975.
[7] Ledley F. D. et al.: *B. B. R. C.*, **69**, 852, 1976.
[8] 龚岳亭: 《生物化学与生物物理学报》, 1977 年, 第 9 卷, 第 1 期。
[9] Hill D. E. et al.: *Diabetes*, **26**, 726, 1977.
[10] Carrway R. E. et al.: *Endocrinology*, **99**, 1452, 1976.
[11] Johnson L. R. et al.: *Fed. Pro.*, **36**, 1929, 1977.
[12] Chan S. J.: *P. N. A. S.*, **73**, 1964, 1976.
[13] Habenr J. F.: *J. B. C.*, **251**, 3893, 1976.
[14] Boime I. et al.: *Eur. J. Biochem.*, **73**, 515, 1977.
[15] 北京胰岛素结构研究组: 《中国科学》, 1974 年, 第 591 页。
[16] Bentley G. et al.: *Nature*, **261**, 166, 1976.
[17] 中国科学院北京动物研究所内分泌室胰岛素组等: 《中国科学》, 1974 年, 第 612 页。
[18] 中国科学院上海生物化学研究所胰岛素组: 《中国科学》, 1976 年, 第 429 页。
[19] Mabrey S. et al.: *Biochem.*, **15**, 234, 1976.
[20] Holladay L. A. et al.: *Biochem.*, **16**, 4895, 1977.
[21] Deslaurier R. et al.: *Nature*, **266**, 747, 1977.
[22] Bellecq A. M. et al.: *B. B. R. C.*, **74**, 577, 1977.
[23] Glickson J. D. et al.: *Biochem.*, **15**, 1111, 1976.
[24] Eihen E. et al.: *B. B. A.*, **493**, 115, 1977.
[25] Geldfine I. D. et al.: *Diabetes*, **26**, 148, 1977.

[本文于 1978 年 4 月 6 日收到]

勘 误

现将 1979 年第三期中的错误更正如下

正	图版 I	图版 II	图版 III	图版 IV
误	图版 III	图版 IV	图版 I	图版 II

原图版 I 图 4 中 D_1 改为 D_2 , D_2 改为 D_1 。
p71 正文第五行右起第 5 字“钠”改为铀。