

促性腺激素释放激素的结构及其生物学功能*

叶 丹 潘建伟 廖鸣娟 张志和 朱陆元**

(浙江大学生命科学院, 杭州 310012)

摘要 促性腺激素释放激素 (GnRH) 是下丘脑分泌的十肽激素, 是神经、免疫、内分泌三大调节系统互相联系的重要信号分子, 对生殖调控具有重要意义. GnRH 类似物是近年来应用最广的多肽类激素新药之一. 就 GnRH 及其受体的结构及分布、GnRH 在垂体和性腺水平调控生殖的一系列证据、影响 GnRH 释放的因素等进行了综述, 并展望了 GnRH 研究的发展趋势及应用前景.

关键词 促性腺激素释放激素, 结构, 生物学功能

学科分类号 Q575

1971 年 Shally^[1] 和 Guillemin^[2] 从猪下丘脑首先分离促性腺激素释放激素 (gonadotropin releasing hormone, GnRH) 并由此获得诺贝尔奖. 至今, 人们从各种脊椎动物和原索动物中已鉴别出 15 种 GnRH 的分子结构. 最近又从两栖类 *Rana dybowskii* 垂体中分离出编码 GnRH 的全长 cDNA^[3]. 近 10 年来, 分子遗传学发展迅速, GnRH 已被证明是下丘脑-垂体-性腺轴 (hypothalamus-pituitary-gonadal axis, HPG) 的关键信号分子 (information molecule). GnRH 的类似物、激活物及拮抗物的发现, 促进了 GnRH 的生理功能研究. GnRH 受体的研究也日渐受到重视. 在生产中, 一般用人工合成的高活性 GnRH 类似物, 如促黄体生成素释放激素激动剂 (luteinizing hormone releasing hormone agonist, LHRH-A)、促性腺激素释放激素激动剂 (gonadotropin releasing hormone agonist, GnRH-A) 进行动物的催熟、催产. 最近国外利用新生大鼠和新生小鼠下丘脑-视前区器官培养来研究 GnRH 神经元获得成功^[4], 为进一步研究 GnRH 分子调控机制提供了宝贵的实验材料. GnRH 的结构及其生物学功能已成为神经内分泌和生殖生物学的热点之一, 本文拟就 GnRH 的结构与功能作一扼要介绍, 以供国内同行参考.

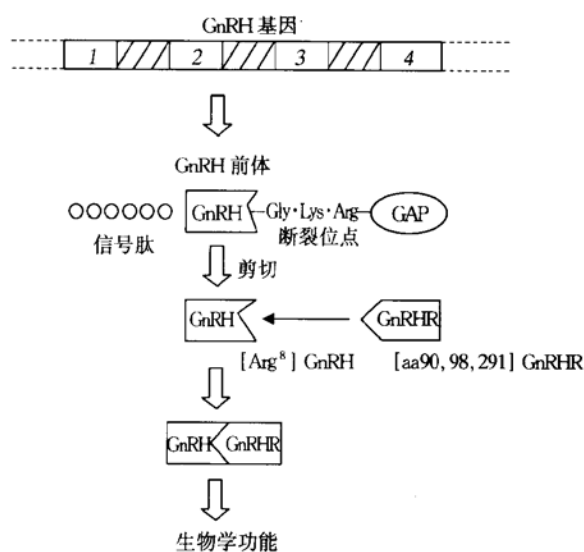
1 GnRH 及其受体的结构和分布

1.1 GnRH 的结构及其分布

哺乳类 (猪和羊的下丘脑以及人的胎盘) GnRH (mammalian GnRH, mGnRH) 具同一化学结构, 是由 9 种不同氨基酸残基组成的十肽 (P₁Glu¹·His²·Try³·Ser⁴·Tyr⁵·Gly⁶·Leu⁷·Arg⁸·Pro⁹·Gly¹⁰·NH₂,

其中 P₁Glu 为末端带一个磷酸基的谷氨酸), 而禽类、两栖类及鱼类的 GnRH 则有不同的结构^[5].

GnRH 基因内有 3 个内含子和 4 个外显子, 由第 2、3 外显子和第 4 外显子的一部分共同编码 GnRH 前体, 该前体包含一段 21~23 个氨基酸的信号肽、10 个氨基酸的 GnRH、一个断裂位点



(Gly-Lys-Arg) 和 40~60 个氨基酸的相关肽 (GnRH-associated peptide, GAP) (图 1). 有研究
Fig. 1 structure of GnRH gene and reciprocity between GnRH and GnRHR

图 1 GnRH 基因结构及其与 GnRHR 相互作用模式示意图
GnRH 基因结构中的阴影部分为内含子, 1~4 为外显子,
aa: 氨基酸残基.

* 国家自然科学基金 (39770420, 30100115)、浙江省自然科学基金 (300255) 和成都大熊猫繁育研究基金资助项目 (2000-19).

** 通讯联系人.

Tel: 0571-88273325, E-mail: lsczhumy@mail.hz.zj.cn

收稿日期: 2002-08-12, 接受日期: 2002-10-16

表明,第2外显子的序列十分保守,而其他外显子则具高变异性,因此,信号肽和GnRHs非常保守,但GAPs在不同物种间同源性很低^[6].利用放射免疫和免疫酶标定位技术,现已基本确定GnRH主要由下丘脑产生.另外,在松果体、脊髓液和脑外组织,包括肠、胃^[7]、胰脏^[8]、卵巢、输卵管、子宫内膜、胎盘^[9]及交感神经节^[10]等器官和组织中也发现有GnRH类似物存在.可见,GnRH广布于神经、内分泌、生殖、消化系统和免疫系统,通过传递信息,使各系统达到协调统一.

1.2 GnRH受体的结构及其分布

GnRH受体(gonadorelin receptor, GnRHR)属GnRH结合蛋白偶联体系家族成员^[11],是具有7个跨膜结构域(transmembrane domains, TM)的糖蛋白,它有3个N糖基化位点,但没有一个细胞内的C终端区.GnRH在体内的重要功能必须通过GnRHR来介导,GnRHR在90、98、291位的酸性氨基酸残基可能和GnRH的第8位精氨酸相互作用(图1),因而对GnRH的活性起重要作用.目前已对编码小鼠、大鼠、羊、牛和人GnRHR的cDNA进行了克隆和测序^[12].经过比较,发现这些不同种的cDNA结构具有很强的保守性,大鼠、人、羊的GnRHR与小鼠GnRHR cDNA序列分别有97%、89%、87%的同源性,且这些动物的GnRHR基因和人的基本相同,也含有3个外显子和2个内含子.

RNA印迹、逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)、原位杂交及受体结合分析表明,在大鼠、猪、牛、羊等哺乳动物中,除HPG轴外,GnRHR基因在胃肠道^[7]、生殖器官组织^[9]、某些肿瘤细胞及外周血单核细胞中也有表达^[12].

2 GnRH的生物学功能

传统观念认为,下丘脑GnRH十肽以脉冲形式通过垂体门脉循环(如高等脊椎动物)或神经分泌细胞的轴突末梢(如鱼类)到达垂体前叶^[6],特异地与垂体促性腺细胞上的高亲和力受体结合,刺激垂体前叶促性腺激素(gonadotropin, Gn)如促黄体素(luteinizing hormone, LH)和促卵泡素(follicle stimulating hormone, FSH)的合成和分泌,进而通过血液循环调节性腺类固醇激素的产生和配子发生.

GnRH在哺乳动物中含量极低,但其作用异常重要.不同组织中的GnRH具不同的生物学功能.

下丘脑中GnRH可调控促性腺激素(Gn)的释放;胎盘中的GnRH可调控人体绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, hCG)的分泌;肿瘤中的GnRH可抑制癌细胞的增殖;消化系统中的GnRH的功能目前尚不明确,但最近有研究表明,GnRH对消化系统具重要的调节作用,例如与胃凹陷上皮细胞分泌黏液、胃壁细胞分泌胃酸等有关^[7].一般认为,GnRH通过旁分泌/自分泌机制,局部调节血浆Gn以及性类固醇激素的水平,从而改变动物的性行为,因此GnRH可在垂体、性腺等多个水平上影响生殖(图2)^[11].

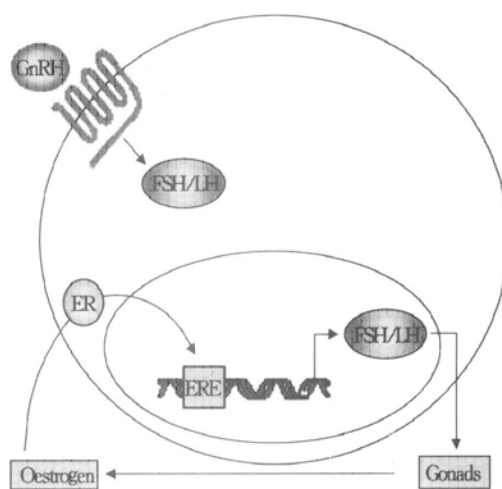


Fig. 2 Regulatory pathways of GnRH in pituitary gonadotrophs^[11]

图2 垂体促性腺激素细胞中GnRH的调控途径^[11]

2.1 在垂体水平的功能

在垂体促性腺激素分泌细胞中同时发现有LH和FSH存在,故曾有人认为GnRH是促黄体素释放激素(luteinizing hormone releasing hormone, LHRH)和促卵泡素释放激素(follicle stimulating hormone releasing hormone, FSHRH)的总称^[6].目前从脑中只得到一种释放激素,并证明它对LH和FSH都有促进释放的作用,由于它促进LH释放效率大于FSH,故一般把GnRH称作LHRH^[11].

在正常生理状态下GnRH呈脉冲式释放,故垂体促性腺细胞也呈脉冲式分泌LH与FSH.GnRH的脉冲式释放可调节LH/FSH的比值.当GnRH的脉冲频率减慢时,卵巢去势和下丘脑功能丧失的猴血中FSH水平升高,LH水平下降,这样LH/FSH值下降,在人类中也有相似的研究结果^[13].这可能是因为LH的半衰期较短(47 min),很快被清除,而

FSH 的半衰期较长 (240 min), 从而在血中积累. 反之, GnRH 的脉冲频率增加, 使 LH/FSH 值上升. 此外, LH 和 FSH 对 GnRH 的促分泌反应有所不同. 给大鼠、兔、绵羊等动物快速静脉注射 GnRH 时, 主要引起血浆中 LH 水平明显升高, 可是当用相当剂量的 GnRH 缓慢注射时, 不但使 LH 的水平升高, 而且 FSH 水平也明显升高; 给人注射人工合成的 GnRH 类似物时发现, 注射后 5 min 血浆中 LH 水平就升高, 25~30 min 达到峰值, 而 FSH 的反应较缓慢, 在 45 min 才达到峰值^[13]. 一些体外实验亦证实, 垂体细胞受 GnRH 刺激时, LH 分泌量的变化幅度比 FSH 的大. 另有研究表明, GnRH 主动免疫引起动物血浆 LH 水平急剧降低, 而 FSH 只有轻度降低^[14], 从而进一步证实上述差异的存在, 即在 GnRH 刺激下, 垂体细胞 LH 分泌相应地出现明显脉冲, 而 FSH 分泌则缓慢而持久.

2.2 在性腺水平的功能

有研究表明, 生殖细胞发育除受到 HPG 轴神经内分泌调控外, 还受到性腺局部组织细胞之间的相互调节. GnRH 类似物由性腺产生的间接证据: a. 用受体测定和免疫测定能检测类似 GnRH 的物质; b. 卵巢和精巢都含有 GnRHR; c. 血液循环中的 GnRH 含量非常低, 甚至检测不出来; d. GnRH 及其类似物能直接作用于性腺而抑制其生殖活动.

GnRH 在体内可能起到调节生殖系统的发育和生殖细胞形成的作用. 大剂量的 GnRH 会起到“异相作用”, 即具有抑制性腺而产生抗生育作用. 活体内, GnRH 能抑制去垂体鼠卵巢、子宫增重, GnRH 不仅能终止正常大鼠的妊娠, 而且还能终止去垂体大鼠的妊娠^[15]. 这说明 GnRH 可能直接作用于卵巢、子宫、胎盘或胚胎上. 利用免疫组织化学 ABC 法及图像分析技术, 发现妊娠与非妊娠大鼠子宫内膜均能表达 GnRH 及其受体^[16], 由此推测, GnRH 可能在 GnRHR 介导下直接参与子宫内膜功能及妊娠维持的调节. 然而, 关于 GnRH 直接调节性腺功能的作用机理和意义, 目前仍了解甚少.

3 影响 GnRH 分泌的因素

3.1 信号分子

形态学研究表明, 大部分脑区, 特别是皮层、边缘系统以及间脑都有 GnRH 神经纤维分布到丘脑下部, 形成突触联系. 从其他神经元而来的传入

性突触释放多种信号分子如氨基酸、胺类、单胺、可扩散气体 (NO) 等, 以专一位点 (site specific) 方式, 构成“交互对话 (cross-talk)”^[17] 的不同神经元回路和网络, 通过递质共存、共释放、共作用来控制下丘脑 GnRH 神经元分泌.

生理学研究表明, 信号分子对 GnRH 分泌有促进、抑制、促进/抑制双相调节三种作用. 在有关促进 GnRH 分泌的信号分子研究中, 报道较多的有神经肽 Y (neuropeptide Y, NPY)、去甲肾上腺素 (norepinephrine, NE)、甘丙肽 (galanin, GAL)、谷氨酸 (glutamate, Glu) 等. 目前较公认抑制中枢 GnRH 分泌的主要信号分子有 γ 氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA)、 β 内啡肽 (β -endorphin, β -END) 等.

3.2 靶腺激素

目前一般认为 GnRH 靶腺 (垂体和性腺) 激素可构成各种反馈, 如血液中的超短反馈、垂体激素短反馈和性腺激素长反馈. 男性睾丸酮 (testosterone, T) 通过负反馈作用调节 GnRH 和 LH 的分泌. 女性下丘脑 GnRH 主要受到雌激素的调节, 其调节机理尚不明确. 但最近研究证实, T 和雌激素均可抑制下丘脑 GnRH 分泌, 两者并无直接关系^[18].

许多信号分子是性激素的靶分子, 性激素通过改变靶分子上作用部位的感受能力 (reception capability) 而促进其合成、储存及释放^[17]. 因此, 性激素在下丘脑调控 GnRH 不同神经通路间“相互对话”中起着“开 (turn-on)”或“关 (turn-off)”的闸门式作用, 这在精确调控不同信号对 GnRH 的作用中是非常重要的. 虽然免疫组化和放射自显影未能在 GnRH 神经元上找到性激素受体, 但最近发现 GnRH 基因的启动子区域包含一些性类固醇激素反应元件, 表明性类固醇激素对 GnRH 的释放可能有直接作用^[11, 18]. 通过 G 蛋白偶联受体介导的信号传导途径, GnRH 可以调控促性腺激素细胞的增殖和激素分泌. 该途径刺激促性腺激素细胞分泌 LH 和 FSH, 进而刺激性腺细胞产生类固醇激素, 如雌激素和睾丸激素. 雌激素作用于促性腺激素细胞, 并与雌激素受体 (oestrogen receptor, ER) 结合, 改变核的位置, 通过雌激素反应元件 (oestrogen response elements, EREs) 的作用, 抑制靶基因的转录, 从而调节 FSH 和 LH 的分泌 (图 2).

3.3 松果体激素

哺乳动物体内, 松果体分泌抗性腺物质, 如褪黑激素 (melatonin, MT)、5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 和 8-精加催产素 (vasotocin) 等, 经血液循环和脑脊髓液扩散到丘脑下部, 抑制 GnRH 分泌。有趣的是, 除发现上述抑制 GnRH 的活性物质外, 在松果体内还发现 GnRH。有人用放射免疫分析法, 发现在新鲜的羊松果体组织中 GnRH 浓度比丘脑下部高 20 倍, 因此, 推测松果体可能是垂体激素 GnRH 组成型分泌的另一来源。

3.4 应激及代谢

已经证实, 各种应激刺激 (包括感染、精神紊乱、外伤、剧烈运动 and 环境污染等) 可干扰人类的生殖功能。许多研究者观察了各种应激刺激对 LH 和性腺类固醇激素分泌以及对月经和排卵等过程的影响, 结果表明, 性腺可使下丘脑 GnRH 脉冲发生器对环境的变化更敏感。同时, 应激导致的机体能量失衡, 可抑制下丘脑 GnRH 脉冲发生器活动^[19], 但精确的分子机理还不清楚。

可见, GnRH 神经活动是一个非常复杂的生理过程, 它受到许多内外因素的影响和调节 (图 3)。

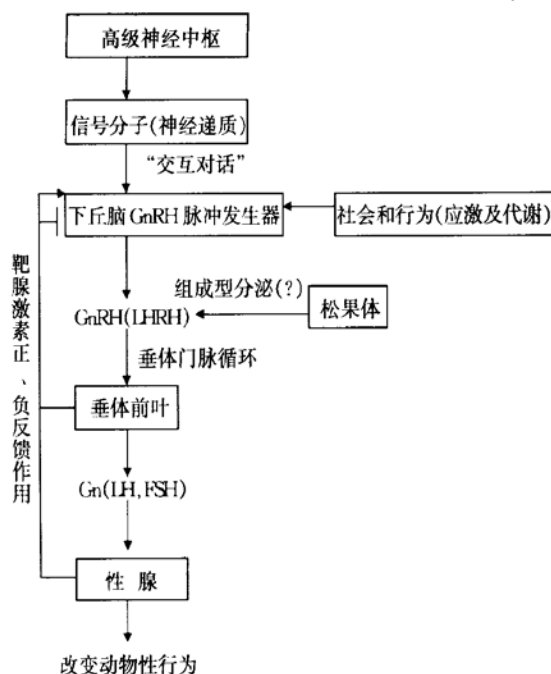


Fig. 3 Possible factors that can regulate synthesis and secretion of GnRH

图 3 GnRH 的合成、分泌及其调节综合示意图

“?” 表示该推断尚待进一步证实。

4 展 望

近年来, GnRH 类似物大量人工合成并很快转为临床应用, 美国 FDA 批准 GnRH 激动剂类似物治疗前列腺癌、子宫内膜异位症、青春期早熟, 以及用天然 GnRH 诱导排卵等。目前, 国外已广泛应用外源性 GnRH 脉冲式治疗特发性低促性腺激素性性功能减退症、不育症以及由于缺乏 GnRH 所致的闭经、不排卵和多囊卵巢综合症等疾病, 取得了令人满意的效果。

最近利用转基因小鼠将致癌 SV40 抗原基因在 GnRH 神经元内表达, 得到“永生 (immortalized)” GT1 细胞系^[20], 但作为理想细胞模型的 GT1 株毕竟是一种转入了致癌基因的变异细胞, 并不完全等同于 GnRH 神经内分泌细胞, 所以未来的挑战是在体外利用 GT1 细胞探讨各种信号分子对 GnRH 释放的影响。更富有挑战性的是, 许多学者已经认识到下丘脑存在内在 GnRH 脉冲发生器, 它可能不受信号分子及其受体的影响而独立、持续、微量地分泌 GnRH, 进一步阐明其存在及作用为弄清生殖发生的内在本质机理具有极为重要的意义。此外, 若能从分子水平对影响 GnRH 释放的信号转导机制, 性别差异, 对其他非神经免疫内分泌细胞的作用等问题进行深入研究, 理论上将有益于对 GnRH 生理功能和对机体维持自身内部稳态机制有更全面、更深刻的理解, 实践上将为 GnRH 应用于临床增强人体免疫功能、生殖、抗癌及延缓衰老等问题提供新的理论指导。

参 考 文 献

- Shally A V. Structure of the porcine LH- and FSH-releasing hormone confirmation of the proposed structure by conventional sequential analyses. *Biochem Biophys Res Commun*, 1971, **44** (1): 459~ 463
- Guillenmin R. Purification amino acid composition and N-terminus of the hypothalamic luteinizing hormone releasing factor (LRF) of ovine origin. *Biochem Biophys Res Commun*, 1971, **44** (1): 205 ~ 210
- Myung S Y, Hac M K, Hueng S C, *et al.* Molecular cloning distribution and pharmacological characterization of a novel gonadotropin releasing hormone in frog brain. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2000, **164** (1): 197~ 204
- Chandran U R, DeFranco D B. Regulation of gonadotropin releasing hormone gene transcription. *Behavioural Brain Research*, 1999, **105** (1): 29~ 36
- Montaner A D, Mongiat L, Luw-Lantos V A, *et al.* Guinea pig gonadotropin releasing hormone: expression pattern, characterization and biological activity in rodent. *Neuroendocrinology*, 2002, **75** (5): 326 ~ 338

- 6 Dubois E A, Zandbergen M A, Peute J, *et al.* Evolutionary development of three GnRH systems in vertebrates. *Brain Research Bulletin*, 2002, **57** (3~4): 413~418
- 7 Huang W Q, Yao B, Sun L, *et al.* Immunohistochemical and *in situ* hybridization studies of GnRH and its receptor. *Life Science*, 2001, **68** (15): 1727~1734
- 8 Wang L, Xie L P, Huang W Q, *et al.* Presence of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its mRNA in rat pancreas. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2001, **172** (1~2): 185~191
- 9 Siler K, Theresa M, Grayson M, *et al.* Salmon GnRH and its analogues bind the human placental receptor. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 2001, **8** (4): 233~238
- 10 Jan Y N, Jan L Y, Kuffler S W. A peptide as a possible transmitter in sympathetic ganglia of the frog. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979, **76** (3): 1501~1505
- 11 Sylvia L A, Shereen E. The pathogenesis of pituitary tumours. *Nature*, 2002, **2** (3): 836~849
- 12 Hong Y, Kwai W C, Hwa H L, *et al.* Expression of the messenger RNA for gonadotropin-releasing hormone and its receptor. *Life Science Including Pharmacology Letters*, 1998, **62** (22): 2015~2023
- 13 John C M, Christine A E, Christopher R M. Hypothalamic dysfunction. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2001, **183** (1~2): 29~32
- 14 Zeng X Y, Turdstra J A, Meloen R H, *et al.* Active immunization against gonadotropin-releasing hormone in Chinese male pigs: effects of dose on antibody titer, hormone levels and sexual development. *Animal Reproduction Science*, 2002, **70** (3~4): 223~233
- 15 Bex F J. LHRH agonist termination of pregnancy in hypophysectomized rats: extrapituitary site of action. *Endocrinology*, 1981, **108** (2): 273~275
- 16 夏永娟, 黄威权. 妊娠与非妊娠大鼠子宫内膜 GnRH 及其受体的免疫组织化学研究. *解剖学杂志*, 2001, **24** (1): 33~36
- 17 Xia Y J, Huang W Q. *Anatomic magazine*, 2001, **24** (1): 33~36
- 17 Kalra S P, Horvath T L. Cross-talking of information molecule. *Ann NY Acad Sci*, 1998, **863** (4): 236~240
- 18 Habibi H R, Huggard D L. Testosterone regulation of gonadotropin production in goldfish. *Toxicology & Endocrinology*, 1998, **119** (3): 339~344
- 19 Caprio M, Fabbri E, Isidori A M, *et al.* Leptin in reproduction. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 2001, **12** (1): 65~72
- 20 Krsmanovic L Z. Gonadotropin-releasing hormone neuronal cell lines. *Endocrinology*, 1999, **140** (3): 1423~1431

The Structure and Biological Functions of Gonadotropin-releasing Hormone (GnRH)*

YE Dan, PAN Jian-Wei, LIAO Ming-Juan, ZHANG Zhi-He, ZHU Mu-Yuan**

(College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310012, China)

Abstract The decapeptide gonadotropin-releasing hormone (GnRH) is a kind of regulative neuropeptide synthesized by GnRH-producing cell bodies in hypothalamus and is an important information molecule among nervous, immune and neuroendocrine systems. GnRH plays a pivotal role in the regulation of reproduction. In recent years, GnRH-analogues have been one of the most widely applied hormonal medicine. The research progresses of GnRH were reviewed, including structure, localization and distribution of GnRH and its receptor. A series of evidences on GnRH regulating reproduction activity at different levels such as pituitary and gonad, factors affecting secretion of GnRH, as well as prospects of studies on GnRH are also introduced.

Key words GnRH, structure, biological functions

* This work was supported by grants from The National Natural Sciences Foundation of China (39770420, 300255), The National Science Foundation of Zhejiang Province (300255) and The Giant Panda Breeding Foundation of Chengdu (2000-19).

** Corresponding author. Tel: 86-571-88273325, E-mail: lsczhumy@mail.hz.zj.cn

Received: August 12, 2002 Accepted: October 16, 2002