中国农业大学学报 2013,18(4):147-154
Journal of China Agricultural University
http://xuebao.cau.edu.cn
DOI:10.11841/j.issn.1007-4333.2013.04.23

促性腺激素释放激素(GnRHs)及其Ⅰ型受体在哺乳动物中的研究进展

吕慎金 刘兆斌
(临沂大学 生命科学学院,山东 临沂 276005)

摘 要 促性腺激素释放激素(GnRHs)是调节动物繁殖的关键激素,在哺乳动物中主要以2种形式存在。GnRHⅠ调节促性腺激素,GnRHⅡ则具有神经调节和促进性行为作用。GnRHs可通过自/旁分泌在生殖组织和肿瘤中发挥作用。但GnRHⅠ和GnRHⅡ似乎仍有信号的差异,通过Ⅰ型受体而产生不同的下游效应。配体受体的相互作用和受体构象变化参与受体激活原理已被部分确定。这些研究结果为选择新的促性腺激素释放激素类似物提供潜在的更广泛和更具体的应用前景。另外,通过合成新的促性腺激素释放激素类似物,可在生产中发挥更广泛和更具体的应用。

关键词 哺乳动物;GnRHs;GnRHⅠ;GnRH受体
中图分类号 S 811 **文章编号** 1007-4333(2013)04-0147-08 **文献标志码** A

Research development of gonadotropin releasing hormone (GnRHs) and its receptor Ⅰ in the mammals

LÜ Shen-jin, LIU Zhao-bin
(College of Life Sciences, Linyi University, Linyi 276005, China)

Abstract GnRHs is the pivotal hormone regulating animal reproduction. In mammals, there are two forms of hormone including GnRHⅠ which regulates gonadotropin and GnRHⅡ which appears to be a neuromodulator and stimulates sexual behavior. GnRHs also occurs in reproductive tissues and tumours in which a paracrine/autocrine role is postulated. However, GnRHⅠ and GnRHⅡ still appear to have distinct roles in signalling differentially through the type Ⅰ receptor (ligand-selective-signalling) to have different own stream effects. The ligand-receptor interactions and receptor conformational changes involved in receptor activation have been partly delineated. Together, these findings are setting the scene for generating novel selective GnRH analogues with potential for wider and more specific application. The research progress of GnRH and its receptor Ⅰ in the mammal has been reviewed in this paper.

Key words mammals; GnRHs; GnRHⅠ; GnRH receptor

促性腺激素释放激素(GnRHs)作为生殖激素级联反应的引发者,是一个首先在哺乳动物下丘脑分离出来的十肽(P-glu-his-trp-ser-tyr-gly-leu-arg-pro-gly-NH_2)[1-3]。促性腺激素释放激素在下丘脑神经元中加工,多肽前体通过酶处理包装,然后在存储颗粒中运输到脑正中隆起的下轴突外部区[4]。同步脉冲激素从神经末梢经过垂体门脉系统以30~120 min的频率刺激黄体生成素和卵泡刺激素的合成和分泌[4]。每个促性腺激素释放激素脉冲刺激促黄体生成素(LH)脉冲[5],但对卵泡刺激素(FSH)脉冲的影响尚不清楚。LH峰脉冲频率最高出现在排卵时,而最低出现在卵巢周期的黄体期。异步模式的黄体生成素和卵泡刺激素释放来源于促性腺激素释放激素脉冲频率的变化,调制性腺类固醇和肽类激素对卵泡刺激素、黄体生成素的激素反应。此外,LH激素的存储在很大程度上依赖于促性腺激

收稿日期:2012-11-21
基金项目:山东省中青年科学家奖励基金(BS2011NY004);国家自然科学基金资助项目(31001027,31272480)
第一作者:吕慎金,副教授,博士,主要从事动物行为学、动物繁殖学研究,E-mail:lvshenjin@lyu.edu.cn

素释放激素的分泌，卵泡刺激素往往持续分泌并且更加依赖于激素的生物合成。笔者综述了 GnRH 及其Ⅰ型受体在哺乳动物中的研究进展，并展望了将来的研究工作，旨在为开展 GnRH 研究提供基础资料。

1 GnRHs 结构、功能及其同系物

1.1 GnRHs 的基本结构

促性腺激素释放激素处于下丘脑-垂体-性腺生殖激素链的中心，结构为 9 种不同氨基酸残基组成的 10 肽。GnRH 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[6](GnRH-associated peptide，GAP)。而禽类、两栖类及鱼类的 GnRH 则有不同的结构[7]，家禽的下丘脑包含 2 种结构的 GnRH。鸡的 GnRH Ⅰ第 8 位氨基酸为 Gln8，GnRH Ⅱ为[His5-Trp7-Tyr8]-GnRH，尽管 GnRH Ⅱ可能比 GnRHⅠ活性更高，但是 GnRH Ⅰ则具有更重要的生理作用[8]。GnRH 由丘脑下部的 GnRH 神经元细胞合成并贮存于细胞内，受到一定的刺激后释放并调节 LH 和 FSH 这 2 种性腺激素，在生理条件下调节机体生殖系统的功能[9]。虽然从哺乳动物下丘脑分离的促性腺激素释放激素具有独特的结构，其主要作用仍是调节黄体生成素和卵泡刺激素，但在脊椎动物可能有不同存在形式。目前已分离鉴定了 23 种不同形式的结构，大多数脊椎动物至少有 2 种，鸡中最普遍的是 cGnRH Ⅱ并首次在鸡脑中分离。由于从硬骨鱼到人 cGnRH Ⅱ结构完全保守，所以这可能是最早的具有关键功能的 cGnRH Ⅱ结构。因此这种形式的促性腺激素释放激素为 GnRH Ⅱ，而促垂体形式的则为 GnRH Ⅰ。在许多脊椎动物中也存在第 3 种形式的促性腺激素释放激素(鲑鱼促性腺激素释放激素)，被命名为 GnRH Ⅲ，分析 GnRH 的基因编码结果支持这一分类[10]。

1.2 同系物的应用、功能域和构象

低剂量的促性腺激素释放激素以脉冲的形式在门静脉血管中传送，能恢复性腺机能减退的雄性与雌性生殖力，且具有促进精子发生和促进性欲的作用。可有效治疗家畜等青春期延迟[11]，一定量的 GnRH 激动剂和类似物能使其脱敏，导致雌性动物发生卵巢衰退。这种脱敏现象广泛应用于医学临床治疗各种疾病，比如不孕、隐睾和青春期延迟等[12]。其原理为多肽激素拮抗剂通过与内源性 GnRH 竞争抑制生殖系统。研究表明，GnRH 类似物有望成为新一代避孕制剂[13]。GnRH 同系物的临床应用已有大量研究报道[14-16]。其同系物还可用于治疗前列腺癌和乳腺癌，对各类性腺依赖性疾病有良好的疗效，还可作为某些肿瘤的辅助治疗及保护性腺在肿瘤化疗时不受损害，其应用和开发前景非常广阔。

从原索动物到脊椎动物的 23 种 GnRHs，已超过 500 万年的演变。但其氨基末端与羧基端序列则一直是保守的，这表明与受体结合并激活受体是这些残基功能之一。数以千计的类似物结构与活性均证实此点。从结构来看，GnRH 位置八上的氨基酸变异最大，其次是位置六、五和七。研究表明，几乎任何残基在位置八上均可耐受。然而，有时候这并不适合哺乳动物垂体Ⅰ型受体[17](需精氨酸在位置八)，最近克隆的非哺乳动物受体还表明在位置八上是某些特异性的氨基酸[18]。因此，这个残基似乎在不同的 GnRH 受体的配基选择性上发挥重要作用。

哺乳动物垂体 GnRH 受体在配体构象上有更为严格的要求。研究表明，保守 GnRH 氨基和羧基末端密切对应的是哺乳动物其结合受体产生的涉及残基 5～8 的Ⅱ型转向。这部分是由于侧链精氨酸(Arg8)的分子内相互作用，各种研究，包括色氨酸荧光，计算机模拟技术和核磁共振技术表明[19]，替代 Arg8 将产生一个更伸展的结构并丧失占支配地位的折叠构象，且替代物生物活性较低。然而，在许多非哺乳动物 GnRH 受体配体作用中这些伸展形式(如 Gln8 促性腺激素释放激素)具有较高的活性，尽管它们在哺乳动物受体中具有的活性较低[20]。GnRH 的氨基末端残基参与受体激活，修饰这些残基能产生具有拮抗性能的促性腺激素释放激素类似物。

1.3 GnRHs 的功能

众所周知 GnRH 的功能是刺激性腺激素释放，本课题组以小尾寒羊为实验动物，对其分泌机制的研究表明，GnRH 对小尾寒羊发情行为中 LH 峰的调节具有极其重要的促进作用；其中重要一点就是小尾寒羊产后发情这一现象，其分娩后雌二醇浓度在持续下降，但 LH 峰的到来启动了动物发情行为，对 FSH 分泌的调节正在研究中，但对 GnRH 本身分泌机制仍然不清。GnRH 在脊椎动物和原索动

物有更多功能。这些功能包括神经内分泌(如某些鱼类物种促进生长激素释放)、旁分泌(如胎盘和性腺)、自分泌(如促性腺激素释放激素神经元和免疫细胞)以及神经系统(如交感神经节)的神经转换、神经调节作用[21]。分离获得几种形式的 GnRH 和它们在性腺中的活性表明,其在早期进化中的功能是调节性腺和后来进化发展的神经内分泌调节作用。目前存在于脊椎动物的各种 GnRH 受体,可能反映了这一早期功能,因此,可以推断神经元可能是最早进化的复杂的多肽激素细胞。多肽激素可能最初参与简单的有性繁殖中单细胞和多细胞生物体细胞间的通信,后来它们在神经细胞中被用做外部和内部信号来调节生殖活性,最初直接激活干细胞,并随后激活垂体促性腺细胞。GnRH 的另一种作用是在嗅觉神经元中作为信息素来调节硬骨鱼类性行为,而多肽参与若干层次的生殖系统调节(下丘脑、性腺、乳腺、子宫和胎盘),同时也调节非生殖组织(如肾上腺、脑视丘外区和免疫系统)。

2　GnRH 受体

2.1　受体的基本结构

GnRH 受体的氨基酸序列首次从小鼠垂体 T3 促性腺细胞株受体克隆中推导,并在大鼠、羊、牛和猪中得到克隆。垂体激素受体的序列超过 80%具有相似性,同源哺乳动物 GnRH 受体也在有袋动物(鼠)中克隆[22],许多鱼类物种的受体也获得克隆[23]。非哺乳类受体与哺乳动物垂体受体有 42%～47%的氨基酸相似,所有这些受体均为Ⅰ型 GnRH 受体。这尚不是完全同源性比较,但相似的微域(如边界跨膜结构域 EC3)支持这种分类。从进化时间上看,两栖动物和哺乳动物分开的时间,与两栖类和硬骨鱼类分开的时间相等。因此,哺乳动物 GnRHⅠ型受体保守序列与两栖动物受体保守序列之间缺乏同源性,而两栖类和硬骨鱼类受体则有相近的同源性,这意味着哺乳动物加速了进化。但也可能是由于损失的羧基末端尾巴驱动而引起的。

GnRHⅠ型受体在金鱼中有 2 个亚型(Ⅰa 型、Ⅰb 型)。其 Ia 型有羧基端尾的 SH3 结构域能耦合 MAP 激酶。在大多数脊椎动物中存在 3 个同源激素受体亚型。作为细胞外环域 3(EC3)结构域是针对 GnRH 结构变异具有受体特异性的决定因素。用简并寡核苷酸来扩增保守的 EC3 作为边界跨膜结构域的 DNA 序列,这些序列确定为人类Ⅱ型受体[24]。然后用克隆蛙[25]和狨猴[26]受体的方法从牛蛙中克隆Ⅲ型受体[25]。研究结果表明在脊椎动物的早期演化中 GnRH 受体亚型与 GnRH 配体类似。GnRH 受体的同源基因已在果蝇和线虫发现确定,表明受体有很早的进化起源。

人的 GnRH 受体基因位于染色体 4q(1312～1313)上,包括 3 个外显子和 2 个内含子。外显子 1 编码 5′末端及开放阅读框的第 1 号到第 522 号核苷酸,外显子 2 编码开放阅读框第 523 号到第 742 号核苷酸,外显子 3 编码开放阅读框的第 743 到第 987 号核苷酸和 3′末端序列,其 5′侧翼区有一段 700 bp 的核酸区,有 5 个 TATA 盒,与不同的基因转录起始点有关。

GnRH 受体有 G 蛋白偶联受体的特点。氨基末端域之后是 7 个螺旋跨膜域(TM)连接 3 个细胞外环域(EL)和 3 个内环域(IL)。细胞外域和 TM 的表面区域通常涉及结合多肽激素,该系统被认为是参与了信号转导(激活受体)中的构象变化,而细胞内域参与 G 蛋白和其他蛋白质在细胞内信号转导中的相互作用。

哺乳动物 GnRH 受体一个独特的特征是存在于其他 G 蛋白偶联受体和所有的非哺乳动物 GnRH 受体都没有的羧基-腹尾。这表明最近的演变特征或许在哺乳动物 GnRH 受体的功能中起重要作用。从硬骨鱼类到哺乳动物进化过程中的保守氨基酸序列或许对 GnRH 受体功能起关键作用。研究表明这些残基有可能参与受体激活。

2.2　哺乳动物 GnRH Ⅰ型受体的基本结构

目前已对编码小鼠、大鼠、人、羊、牛和猪 GnRH 受体进行了克隆和测序[27],经过比较,发现这些不同种的受体结构具有很强的保守性,大鼠、人和羊的 GnRH-R 与小鼠 GnRH-R cDNA 序列分别有 97%、89%和 87%的同源性,这些哺乳动物 GnRH 受体序列均具有 80%以上的同源性,都被归类为 GnRH Ⅰ型受体。哺乳动物 GnRH Ⅰ型受体羧基末端尾部缺失,该特征在 G 蛋白耦联受体家族中是独特的。在大鼠及猪、牛、羊等哺乳动物垂体细胞中 GnRH 受体分布于表达 LH 和/或 FSH 的促性腺细胞上。除下丘脑-垂体轴系以外,GnRH 受体在性腺和胎盘中的局部调控机制也一直受到重视。用 RT-PCR 等方法证实卵泡颗粒细胞和黄体细胞、睾丸间质细胞、胎盘细胞、滋养层细胞和合体滋养层

细胞、正常子宫组织、乳腺组织和前列腺均有GnRH受体mRNA的表达[28]。从鸡分离出c-GnRH-Ⅰ的受体结构[29]由4个外显子组成,转录成为hnRNA,由hnRNA成熟为m RNA后,内含子被切除,4个外显子被联结在一起;成熟mRNA从5′端至3′端的功能依次是:5′端非翻译区,信号肽编码区,GnRH区,GnRH相关肽区(GAP)和3′端非翻译区。5′端非翻译区基本上由第1个外显子组成;第2个外显子编码信号肽、GnRH和GAP的一部分,信号肽长约21-23个氨基酸残基,为GnRH成熟与分泌所必需;第3个外显子编码GAP的中间部分;第4个外显子的5′编码GAP,3′端为非翻译区。

GnRH受体的三维结构与分子功能的关系非常密切,迄今仅能从视紫红质G蛋白偶联受体的结晶化和X-射线结构获得信息[30],其他的GPCRs结构信息是从细菌视紫红质和视紫红质的低分辨率电子显微镜获得。一个GPCRs分子模型是在视紫红质TM螺旋的起始位置和角度,包含在GnRH受体TM螺旋氨基酸的扭结和侧链取向的基础上发展起来的,模型的有效性与相互作用可通过TM螺旋侧链定点突变来验证。研究表明高度保守的蛋白上有2个残基,即在TM2上的天门冬氨酸(Asp)和TM7上的天门冬酰胺(Asn),在小鼠促性腺受体似乎都发生了相互的突变。在TM2上Asn87到Asp的突变废除了受体功能,但另一个在TM7上的突变Asp318,GPCRs(Asp87-Asn318)的重新排列则恢复了配体结合活性。相互突变的恢复结合表明TM2和TM7上的侧链在保持受体结构和在受体范围内占有相同的微环境,且二者具有互补功能。但在视紫红质晶体结构[31]上看虽然受体结构完整,但相互突变的受体结构恢复活性仍然受损。

GnRH分子7个TM螺旋域位于一个内附亲水区域和周围有疏水膜环境的区域内[31]。在各种激素受体中进化保守残基沿TM不同面排列。TM2/TM7中Asn和Asp的相互作用证明了这一点,因为Asn87是作为TM2保守亲水面的一部分而存在。TM3和TM4相对位置可以通过在EC1cys114和EC2 cys196形成的二硫键桥进行预测,结合荧光亲和标记形成光活性GnRH后被蛋白酶消化,还原S-S键并通过凝胶电泳分离受体片段。该实验证实了上述结构的存在。研究还表明,氨基末端结构域的半胱氨酸(Cys14)和EC2的cys200形成第2个二硫键桥,从而进一步确定NH2末端的位置和EC2的环状结构。糖基化位点已被证明存在于小鼠受体Asn4和Asn18位点和人类受体Asn18位点上。糖基化不影响受体与GnRH的结合,但增加了一些细胞膜上的受体。虽然在建立一个GnRH受体跨膜螺旋束的分子模型上已经取得重大进展,但是对细胞内和细胞外环的结构的认识仍然不足。而且这些都不适用于大的环序列,因此确立一个GnRH受体环的结构是未来的一大挑战。在EC3上交联一个距离与TM6和TM7之间距离相似的EL3合成肽,通过对这种结构的NMR结构分析已经取得了一些进展[32]。

3 GnRH在哺乳动物Ⅰ型受体的结合位点

3.1 Aspartate 302(D302)

在GnRH受体位置8上的精氨酸对GnRH受体的高亲和力和选择性非常关键。弗拉纳根等人假设酸性氨基酸通过离子作用与带正电的精氨酸侧链相互作用。GnRH受体细胞外酸性氨基酸突变转变成酰胺产物,如在小鼠受体谷氨酸(Glu301)突变到谷氨酰胺(Gln301)导致亲和力降低100倍,而GnRH Arg8到Glu8的突变导致特异性降低,但该突变则能够提高GnRH的结合力。这些数据说明受体EL3上的Glu301与GnRH Arg8具有相互作用。这是由于存在一个在人类受体EL2上的Asp302氨基酸,与Glu301具有相同的性能[33-34]。这些研究结果表明受体Glu301(asp302在人类)选择性决定GnRH Arg8。这些残基能够相互作用,当GnRH锚定在受体上的时候,受体构象被限定在具有高亲和力的Ⅱ型构象中,GnRH类似物是限制在Ⅱ型构象中,无论哪个氨基酸在位置八,受体都具有高亲和力。GnRH Arg8和受体酸性残基相互作用有诱导并选择配体的Ⅱ型构象并能使其结合到受体的其他位点[33]。

3.2 Lysine121(K121)

在TM3中高度保守的天门冬氨酸与带正电胺相互作用在GnRH受体中发挥类似作用。受体赖氨酸(Lys121)突变天冬氨酸,丙氨酸和亮氨酸导致了激动剂结合力降低1 000倍,但不影响拮抗剂的结合力。据此认为,Lys121与GnRH Glu1或His2是通过氢键相互作用[34]。

3.3 Asparagine102(N102)

研究表明,位于TM2细胞外表面的Asn102,

与 GnRH 甘氨酸 Gly10-NH2 形成氢键结合，突变为丙氨酸的结果是在刺激磷酸肌醇水解时效力损失达 100～1 000 倍。另一项研究还表明，相邻色氨酸(Trp101)的突变与 Gly10-NH2 同系物的亲和力与 NH-CH2-CH210 同系物相比降低更大。然而，Trp101 扭曲了结合域。但拮抗剂结合力很少受突变影响，这表明拮抗剂结合位点不同[34]。

3.4 Aspartate 98(D98)

有研究指出，Asp98 天冬酰胺突变成 Asn 造成肌糖磷酸产物的大量减少。进一步研究显示，这种突变对 Trp2 GnRH 半数有效量影响不大，而对组氨酸(His2)-GnRH 半数有效量影响很大。Trp2 可替代在野生受体中 His2 并仍然能够与 Asn 变异相互作用。这些发现提示 Asp98 或许通过 His2 与 GnRH 发生相互作用。

总之，推定配体与 GnRH 受体，即 Asp302、Lys121 和 Asn102 氨基和 Asp98 的相互作用位点已确定。从脊椎动物到硬骨鱼类，两栖类到鸟类物种 GnRH 受体克隆中所有这些位点是保守的。有趣的是，在非哺乳动物中 EL3 酸性基团是保守的，对 Arg8 没有选择性。虽然其他一些自然突变和实验突变[35]，影响促性腺激素释放激素结合，但并不确定他们是否代表配体接触位点或影响配体的构象、表达或者稳定性。

4 受体激活

GnRH 神经元是中枢生殖调控体系的最终共同通路，其必须与垂体促性腺细胞表面的相应受体结合后才能引起相关的信号转导系统的启动[36]。任何影响 GnRH 受体基因表达及蛋白含量的因素均可影响 GnRH 的作用，从而影响下丘脑-垂体-性腺轴(Hypothalamic-Pituitary-Gonadal axis，HPGA)的功能。

配体调节受体激活的分子机制了解最透彻的是视紫红质，G 蛋白偶联受体激活机制仅部分被了解[37]，信息传播通过受体激活细胞内与受体构象变化有关的细胞内途径，对 GPCRs 构象活性与激素，受体和 G 蛋白组成的三元复合物有关。该模型包括一个初步步骤，对激动剂和拮抗剂的结合是一样的，其次是一个过渡步骤，主要存在于激动剂，从而导致形成三元复合物。该模型还允许自发形成一种受体-G 蛋白复合物，与激动剂有较高的亲和系数，与激动剂结合能够稳定这种结构。当 GTP 结合到 G 蛋白受体时返回到低亲和力构象并具备复杂的解离结构。经修订的模型结果表明，受体之间波动在无效的 R 构象和 R^* 活性构象之间。激动剂结合使平衡活性构象移动。R 构象对受体激动剂具有高亲和力，并且是唯一可以结合 G 蛋白的形式。该模型是相似的，它们都需要受体的构象变化；一个配体诱导(构象诱导)其他配体稳定构象。研究受体激活机制，有一些不同机制受体的活性构象选择不同 GnRH 类似物从而具有不同的细胞内信号途径。

4.1 TM Ⅱ/Ⅶ上 Asn/Asp 相互作用

在小鼠促性腺激素释放激素受体(Asn87 和 Asp319)的突变 Asn87 和 Asp318 显示，Asp318 参与受体激活。突变 Asn87 和 Asn318 保留了良好的配体结合，但刺激磷酸肌醇产生的能力变弱。这些结果表明，Asn87 在 TM7 中不寻常的排列是一个配体介导的受体激活的重要组成部分。其他 GPCRs TM2 上存在保守的 Asp，非哺乳动物受体 TM2 和 TM7 上存在 Asp。果蝇 GnRH 受体也具有 GPCR 通常所具有的 TMⅦ上的 Asn 和 TMⅡ上的 Asp 所具有的相互作用。

GnRH 受体 Tm7 上存在 Asp 便于通过 Gq 蛋白与磷脂酶 C(CPLC)的结合但是阻碍了通过小的 G 蛋白同磷脂酶 D 结合。Asp 突变为 Asn，再现与磷脂酶 D 的结合能力。Asn/Asp 的颠倒排列能够选择性结合磷脂酶 C，并且阻止磷脂酶 D 结合。TM7 Asp 和 TM2 Asn 变成不同的氨基酸证实 TM2 上的 Asn 对维持受体的构象是必需的，而 TM7 上的 Asp 对受体的激活是必需的。

4.2 TM Ⅲ上 Asp/Arg 相互作用

TM3 末端的高度保守序列 DRXXXI/V 与受体激活有关。在分子模型中 Asp137 和 Arg138 有电荷相互作用，这在视紫红质的晶体结构中得到证实。通过 Asp 突变成一个无电荷残基破坏这种结构传达活性并增加活性，这大概是通过释放精氨酸与其他残基的相互作用。在 Arg 下面位于 a 螺旋转角处的异亮氨酸在精氨酸链上所起的作用对它的运动具有空间位阻作用。这样，作为 GnRH 受体活性和 GPCRs 最基本的元素是质子化的 Asp132 释放 Arg138 与 TMs 2 和 7 残基上的 Asp/Asn 相互作用。既然视紫质 TM1 上保守的 Asn 与无活性的 TM2 上 Asp 相互作用，那么可推断该残基或许在跨膜结构域网络受体激活过程中扮演一个重要的角色。

5 配体受体诱导信号转导和细胞内信号化

最新的研究表明,GnRH 可能有不同的活性构象。经典的活化形式是激活磷脂酶生产肌醇,动员钙产生甘油二酯,激活蛋白激酶。在垂体前叶激素受体耦合 Gq/11 蛋白激活磷脂酶 C,传送下游信号肌醇三磷酸(IP3)和甘油二酯,三磷酸肌醇刺激释放细胞内钙,甘油激活细胞内蛋白激酶(蛋白激酶)途径。GnRH 也可以激活磷脂酶 A2 和磷脂酶 D,磷脂酶 A2 提供长链不饱和脂肪酸,如花生四烯酸。磷脂酶 D 作用于细胞膜磷脂,转换成磷脂酸,可代谢成甘油,从而延长激活蛋白激酶 C 的活性。蛋白激酶 C 代表主要调停者下游激活的蛋白激酶 MAPK 级联。GnRH-R 内信号已发现有 4 种 MAPK 激活级联途径。

另有研究表明,在神经末梢区域细胞和肿瘤细胞,激素可能被激活抑制肿瘤细胞增殖。这明显不同于在性腺中的药理学作用,如激活 Gq 的能力很弱,一定的拮抗剂竞争性与 Gq 结合,并具有抑制性 G 蛋白(Gi)的可能活性。这表明,这些类似物稳定受体在不同的构象情况下来激活抑制性 G 蛋白。在不同的细胞类型中通过 GnRH 和 GnRH 受体的细胞内信号途径是不同的,细胞内信号通过激素和Ⅰ型促性腺激素释放激素受体依赖于细胞类型。该配体影响的信号,称之为 ligand-induced-selective 信号。另外一种形式是 GnRH 配体介导受体导致细胞内环的构象变化[38]。活性 G 蛋白和非活性 G-蛋白下游信号通路最终导致促性腺激素基因的表达和分泌[39-40]。

6 结论与展望

下丘脑促性腺激素释放激素在动物生殖系统最根本的作用是通过刺激-调节垂体促性腺激素分泌,已成为治疗不孕症、性激素依赖性疾病和新避孕药的首选药物。同时越来越多出于动物实验和实践目的更增加了这种应用。其机理在于 GnRH 一方面通过下丘脑-垂体-卵巢轴引起垂体释放 LH 和 FSH,在二者协同下,作用于卵巢促进卵泡破裂排卵;另一方面,LH 的分泌又促进了黄体的发育,增加了孕酮分泌量,有利于胚胎存活,研究表明,经过 GnRH 处理后的母牛孕酮水平要比未处理的高出许多,并且明显缩短了产后发情时间。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 激动剂类似物治疗人类疾病诸如前列腺癌、子宫内膜异位症、青春期早熟。用在家畜上则促进动物发情、诱导排卵以及治疗动物内分泌紊乱等繁殖障碍。目前促性腺激素释放激素及其受体基因已用于猪窝产仔数的候选基因。

当前,众多学者已经认识到下丘脑存在内在 GnRH 脉冲发生器。它可不受信号分子及其受体的影响而独立、持续、微量分泌 GnRH,这对进一步阐明生殖发生的内在本质机理具有极为重要的意义。此外,从分子水平对影响 GnRH 释放的信号转导机制、动物性别差异、对其他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 及其受体的生理功能和机体维持自身内部稳态机制将有更全面、更深刻的理解,特别是研究确定不同的 GnRH 结构、在哺乳动物中的同源受体、在信号转导中配体和细胞内因子的影响,可使研究者对上述这些过程的生理学和病理生理学的影响理解更深刻。在人类、猕猴、小鼠和家畜中,GnRH Ⅱ受体作为 GPCR 并没有功能,尽管如此,GnRH Ⅱ也能和Ⅰ型受体结合,但是并不同于 GnRH Ⅰ的信号转导方式。这些在不同细胞环境内不同 GnRH 和 GnRH 类似物与 GnRH 受体相互作用的分子机制有助于发展新的 GnRH 治疗物,实践上将为 GnRH 应用于临床增强人体及动物免疫功能、生殖功能等问题提供新的理论指导。

参 考 文 献

[1] Lee Vhy, Lee Lto, Chow B K. Gonadotropin-releasing hormone regulation of the GnRH gene[J]. FEBS J, 2008, 275(22): 5458-5478

[2] Herde M K, Geist K, Campbell R E, et al. Gonadotropin-releasing hormone neurons extend complex highly branched dendritic trees outside the blood-brain barrier [J]. Endocrinology, 2011, 152: 3832-3841

[3] Roland A V, Moenter S M. Prenatal androgenization of female mice programs an increase in firing activity of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neurons that is reversed by metformin treatment in adulthood[J]. Endocrinology, 2011, 152: 618-628

[4] Burger L L, Haisenleder D J, Wotton G M, et al. The regulation of FSH beta-transcription by gonadal steroids: Testosterone and estradiol modulation of the activin intracellular signaling pathway [J]. American Journal of Physiology Endocrinology Metabolic, 2007, 293(1): E277-285

[5] Ginther O J, Fuenzalida M J, Pugliesi G M A, et al. Effect of

luteinizing hormone oscillations on progesterone concentrations based on treatment with a gonadotopin-releasing hormone antagonist in heifers[J]. Domestic Animal Endocrinology, 2011,128:618-628

[6] Dubois E A, Zandbergen M A, Peute J, et al. Evolution and development of three GnRH systems in vertebrates[J]. Brain Research Bulletin,2002,57(34):413-418

[7] Montaner A D, Mongiat L, Luw-Lantos V A, et al. Guinea pig gonadot ripin-releasing hormone: Expression pattern, characterization and biological activity in rodent [J]. Neuroendocrinology,2002,75(5):326-338

[8] Guemene D, Williams J B. LH responses to chicken luteinizing hormone releasing hormone Ⅰ and Ⅱ in laying, incubating, and out of lay turkey hens[J]. Domestic Animal Endocrinology, 1999,17(1):1215-1219

[9] Peters A R. Veterinary clinical application of GnRH-questions of efficacy[J]. Animal Reproduction Science,2005,88:155-167

[10] Sieme H, Troedsson M H, Weinrich S, et al. Influence of exogenous GnRH on sexual behavior and frozen/thawed semen viability in stallions during the non-breeding season [J]. Theriogenology,2004,61(1):159-171

[11] Patrizia L, Marina M M, Stefania M, et al. GnRH receptors in cancer: From cell biology to novel targeted therapeutic strategies[J]. Endocrine Reviews,2012,33(5):151-156

[12] Millar R P, Zhu Y F, Chen C et al. Progress towards the development of non-peptide orally-active gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonists: Therapeutic implications[J]. Brain Medecine Bulletin,2000,56:761-772

[13] Mancini F, Tur R, Martinez F, et al. Gonadotrophin-releasing hormone-antagonists vs long agonist in in-vitro fertilization patients with polycystic ovary syndrome: A meta-analysis[J]. Gynecology Endocrinology,2011,27:150-155

[14] Griesinger G, Kolibianakis E M, Venetis C, et al. Oral contraceptive pretreatment significantly reduces ongoing pregnancy likelihood in gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles: An updated meta-analysis[J]. Fertil Steril, 2010,94(6):2382-2384

[15] Magon N. Gonadotropin releasing hormone agonists: Expanding vistas [J]. Indian Journal of Endocrinology Metablism,2011,15:261-267

[16] Aheshwari A, Gibreel A, Siristatidis C S, et al. Gonadotrophin-releasing hormone agonist protocols for pituitary suppression in assisted reproduction [J]. Cochrane Database System Review,2011,8:CD006919

[17] Crawford E D, Phillips J M. Six-month gonadotropin releasing hormone (GnRH) agonist depots provide efficacy, safety, convenience and comfort[J]. Cancer Management Research, 2011,3:201-209

[18] Millar R P, Zhu Y F, Chen C, et al. Progress towards the development of non-peptide orally- active gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonists: Therapeutic implications[J]. Brain Medecine Bulletin,2000,56:761-772

[19] Millar R P. Gonadotropin releasing hormones and their receptors[C]// Fauser B C J M. ed. Molecular Biology in Clinical Reproductive Medicine,2002,(2):199-224

[20] Fromme B J, Katz A A, Roeske R W, et al. Role of aspartate 7.32(302) of the human gonadotropin-releasing hormone receptor in stabilizing a high-affinity ligand conformation[J]. Molecular Pharmacology,2001,60:1280-1287

[21] Meresman, Gabriela F, Mariela A, et al. Effect of GnRH analogues on apoptosis and release of interleukin-1 {beta} and vascular endothelial growth factor in endometrial cell cultures from patients with endometriosis[J]. Human Reproduction, 2003,18:1767-1771

[22] Adams B A, Tello J A, Erchegyi J, et al. Sic novel gonadotropin-releasing hormones are encoded as triplets on each of two genes in the protochordate. Ciona intestinalis[J]. Endocrinology,2003,144:1907-1919

[23] Faurholm B, Millar R P, Katz A A. The genes encoding for the Type Ⅱ gonadotropin-releasing hormone receptor and the ribonucleoprotein RBM8A overlap in two genomic loci[J]. Genomics,2001,78:15-18

[24] Wang L, Bogerd J, Choi H S, et al. Three distinct types of GnRH receptor characterized in the bullfrog [J]. Process Natural Academic Science, U. S. A. 2001,98:361-366

[25] Millar R M, Lowe S, Conklin D, et al. A novel mammalian receptor for the evolutionarily conserved Type Ⅱ gonadotropin-releasing hormone[J]. Process Natural Academic Science,2001,98:9636-9641

[26] Palczewski K, Kumasaka T, Hori T. Crystal structure of rhodopsin: A G protein-coupled receptor[J]. Science, 2000, 289:739-745

[27] Hong Y, Kwai W C, Hwa H L, et al. Expression of the messenger RNA for gonadotropin-releasing hormone and its receptor[J]. Life Science Including Pharmacology Letters, 1998,62(22):2015-2023

[28] Sylvia L A, Shereen E. The pathogenesis of pituitary turmours [J]. Nature,2002,2(3):836-849

[29] Dun I C, Chen Y, Hook C, et al. Characterization of the chicken gonnadotrophin-releasing hormone-I-gene [J]. Journal of Molecular Endocrinology,1993,11:19-29

[30] Grundlker C, Gunthert A R, Millar R P, et al. Expression of gonadotropin-releasing hormone Ⅱ (GnRH-Ⅱ) receptor in human endometrial and ovarian cancer cells and effects of GnRH-Ⅱ on tumor cell proliferation [J]. Journal Clinical Endocrinology Metablism,2002,87:1427-1430

[31] Petry R, Craik D, Haaima G, et al. Secondary structure of the third extracellular loop responsible for ligand selectivity of a mammalian gonadotropin-releasing hormone receptor [J]. Journal of Medecine Chemistry,2002,45:1026-1034

[32] Fromme B J, Katz A A, Roeske R W, et al. Role of aspartate 7.32(302) of the human gonadotropin-releasing hormone

receptor in stabilizing a high-affinity ligand conformation[J]. Molecular Pharmacology,2001,60:280-1287

[33] Hoffmann S H, Laak T T, Ku hne R, et al. Residues within transmembrane helices2 and 5 of the human gonadotropin-releasing hormone receptor contribute to agonist and antagonist binding[J]. Molecular Endocrinology, 2000, 14: 1099-1115

[34] Chauvin S, Berault A, Lerrant Y, et al. Functional importance of transmembrane Helix 6 Trp279 and Exolop 3 Val 299 of rat gonadotropin-releasing hormone receptor [J]. Molecular Pharmacology,2000,57,625-633

[35] Richards J S, Pangas S A. The ovary: Basic biology and clinical implications[J]. Journal of Clinical Investigation, 2010, 120 (4):963-972

[36] Crawford J L, Heath D A, Haydon L J, et al. Gene expression and secretion of LH and FSH in relation to gene expression of GnRH receptors in the brush tail possum (*Trichosurus vulpecula*) demonstrates highly conserved mechanisms[J]. Journal Reproduction,2009,137(1):129-140

[37] Begriche K, Levasseur P R, Zhang J, et al. Genetic dissection of the functions of the melanocortin-3 receptor, a seven-transmembrane G-protein-coupled receptor, suggests roles for central and peripheral receptors in energy homeostasis[J]. Journal Biology Chemistry,2011,286:40771-40781

[38] Kanasaki H, Bedecarrats G Y, Kam K Y, et al. Gonadotropin releasing hormone pulse frequency-dependent activation of extracellular signal regulated kinase pathways in perifused LbetaT2 cells[J]. Endocrinology,2005,146(12):5503-5513

[39] Zhang T, Roberson M S. Role of MAP kinase phosphatases in GnRH-dependent activation of MAP kinases[J]. Journal of Molecular Endocrinology,2006,36(1):41-50

[40] Armstrong S P, Caunt C J, McArdle C A. Gonadotropin-releasing hormone and protein kinase C signaling to ERK: spatiotemporal regulation of ERK by docking domains and dual-specificity phosphatases[J]. Molecular Endocrinology, 2009,23(4):510-519

责任编辑：苏 燕