

生长激素受体及其介导的信号转导

张明哲 叶丹 张志和 胡细连 韩凝 朱睦元*

(浙江大学生命科学学院, 杭州 310012)

摘要 生长激素受体(growth hormone receptor, GHR)是细胞因子/造血因子受体超级家族的一员。它通过二聚体的形式和生长激素(growth hormone, GH)相结合, 然后诱发 Janus 激酶 2 (Janus kinase 2, JAK2)等细胞因子酪氨酸磷酸化并通过 4 条不同的途径将信号传入细胞内从而产生一系列的生理效应。现在了解 GHR 的结构特征、组织分布的基础上, 对其介导的信号转导途径作进一步的阐明。

关键词 生长激素; 生长激素受体; 信号转导

生长激素(growth hormone, GH)除了促进动物生长之外, 还参与调节动物的多种生理活动, 如性腺的发育成熟、新陈代谢的调节等。对哺乳动物的研究显示, GH 还参与免疫调节^[1]。在组织和细胞水平, GH 发挥作用的第一步是和靶细胞膜表面的生长激素受体(GHR)结合, 由 GHR 介导, 通过不同的途径将信号转入细胞内, 从而产生一系列的生理效应。组织中 GHR 含量多少、功能正常与否都影响 GH 生理效应的发挥, 如性连锁矮小鸡的生长迟缓, 就是因为 GHR 基因异常, 导致动物组织中 GHR 含量显著减少甚至缺乏所致。GHR 及其介导的信号转导机制一直是近年来的研究热点。

1 GHR 的结构模式

1.1 基因结构

通过 Southern 印迹和原位杂交分析显示, 人的 GHR 基因(图1)是在第5号染色体近端短臂上的p13.1~p12区, 而小鼠的 GHR 基因则是在其 15 号染色体上。GHR 基因一个重要的特征就是存在几个 5' 端不翻译区(5' UTRs), 它们选择性地参与转录, 是导致 GHR 分子多态性的重要原因之一。在人肝脏中, 至少已经确定了 8 个不同的 GHR 5' UTRs(V1~V8)。GHR 基

因包含 10 个外显子(外显子 1~10), 其中外显子 2 编码 5' UTRs 最后的 11 bp 的氨基酸残基、18 个氨基酸残基的信号肽和胞外结合区起始的 5 个氨基酸残基; 外显子 3~7 编码胞外结构域; 外显子 8 编码胞外结构域的最后 3 个氨基酸残基、一个 24 个氨基酸残基的跨膜结构域和胞内区开始的 4 个氨基酸残基; 外显子 9 和 10 则编码胞内结构域和 3' UTR^[2]。

1.2 分子模型

GHR 是单链跨膜糖蛋白, 大约有 620 个氨基酸残基, 不同物种氨基酸残基的确切数目稍有不同。多数动物的 GHR 分子量在 100~130 kDa 之间。GHR 分为 3 个区: 胞外区、跨膜区和胞内区, 它们分别由 245、25 及 350 个氨基酸残基组成。在胞外区、GHR 有 5 个保守的糖基化位点, 是与配体结合的部位(图 2)。在胞外区特定的位置上有 7 个半胱氨酸残基, 其中有 6 个形成二硫键, 起着维持 GHR 胞外区段特定空间结构的作用; 在胞外区近细胞膜的位置上有一 WSXWS 样序列(Try-Gly-Glu-Phe-Ser), 它可能在 GH 与 GHR 结合过程中起关键作用^[3]。在胞内区, 人们发现了两段保守序列(序列框 1,2), 其中靠近细胞膜的序列框 1(Box 1)编码 8 个氨基酸残基, 以脯氨酸残基为主, 是 GHR 与酪氨酸激酶 JAK2 结合的一个位点; 序列框 2 (Box 2)则编码 15 个氨基酸残基, 如果这两段保守序列编码的某一个

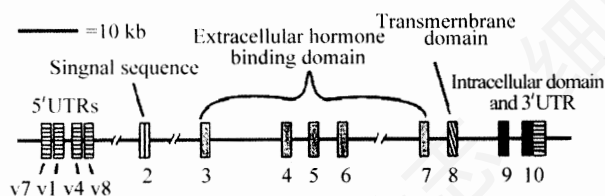


Fig.1 The structure of human GHR gene^[2]

收稿日期: 2004-06-04 接受日期: 2004-08-27

国家自然科学基金(No.30370876, No.39770420, No.30100115); 浙江省自然科学基金(No.300255)和成都大熊猫繁育研究基金(No.2000-19)资助项目

* 通讯作者。Tel: 0571-88273325, E-mail: myzhu@zju.edu.cn

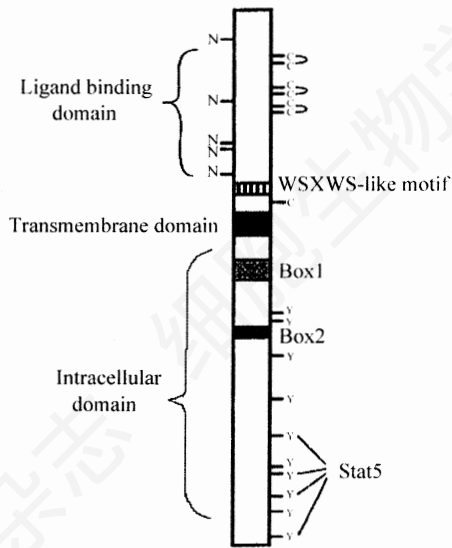


Fig.2 The structure of GHR molecule^[2]

氨基酸残基发生突变, GH 将失去促进生长的作用。由此表明 Box 1、Box 2 在 GHR 介导的信号转导过程中起着关键作用 (图 2)。

2 GHR 的分布

开始人们认识到富含 GHR 的组织是肝脏, 随着辐射受体分析 (radio-receptor assays, RRA)、Northern 印迹和 PCR 技术的出现, 进一步探明在肌肉、脂肪、乳腺、骨、肾和胚胎干细胞, 甚至在免疫组织中都存在着 GHR 位点。近几年, 发现人和大鼠的大脑中也存在着 GHR^[4], 这意味着 GH 能够穿过血脑屏障。在大鼠视丘下部和海马区, GHR 含量较低, 而 GHR 在脉络丛中的含量就很高。随着年龄增长, 人和大鼠大脑各个区中的 GHR 含量急剧减少, 这是由于 GHR 受到选择性的剪切, 蛋白质分解和翻译后修饰等作用造成的。

3 GHR 介导的信号转导

3.1 受体的二聚作用

经典的 GH 诱导模型认为, 一个 GH 和两个 GHR 相互作用, GHR 以二聚体形式存在。因此 GH 有 2 个 GHR 结合位点: 一个亲和性强的“位点 1(site 1)”, 另一个亲和性较弱的“位点 2(site 2)”, 它们分别与 2 个受体分子中的结合“袋(pockets)”相结合^[2]。GH 和 GHR 二聚体的结合是有序的, 先是 GH 的位点 1 与二聚体的第一个 GHR 结合, 然后是位点 2 和第二个 GHR 相互作用。这种结合不能反向进行。

但是, 近来的研究表明, GHR 在内质网中形

成后, 立即二聚化^[5], 然后再被转运到细胞的表面。也就是说, GHR 二聚体形成并不是 GH 诱导的。另外, 人们发现 GHR 的跨膜区(transmembrane domain, TMD)对于维持受体二聚体形式起了重要作用, 右手 α 螺旋 MD 相互交叉形成一个超螺旋, 其中一个特殊的序列 GXXXG(G 代表甘氨酸; X 代表任意的氨基酸)是这个 TMD 螺旋相互作用的框架基础, 它是二聚体接口(interface)的中心, 其中的甘氨酸通过范德华力和对立螺旋的残基相互作用加强了结构的稳定^[6]。这种非 GH 诱导的二聚体形式有利于信号转导。它既能增加信号传输效率又能降低诱导信号转导起始所需的 GH 浓度^[7]。尽管二聚体的形成不依赖于 GH, 但信号起始依赖于 GH 的诱导, 使 GHR 发生构象变化, 形成了 GHR-JAK2-IGF-IR 复合物^[8], 并导致了下游信号转导的活化。

3.2 Janus 激酶(JAK)

GHR 是细胞因子/造血因子受体超级家族的一员, 该家族的特点是缺乏内在的酪氨酸激酶活性, 这就使得它们需要动员和活化细胞质中不同于受体酪氨酸激酶的另外一类激酶非受体酪氨酸激酶参与二聚作用。

JAK 家族就是非受体酪氨酸激酶中的重要成员之一, 它包括两个酪氨酸激酶的结构域, 因此以古罗马的两面神“Janus”命名。JAK 家族成员包括 JAK1、JAK2、JAK3 和 Tyk2。除 JAK3 主要在造血细胞中存在外, 其他成员均广泛分布于各种组织。JAK 激酶的主要特征之一是不含 SH2(src homology 2)或 SH3 区, 但存在 7 个 JH(JAK homology)保守区 (JH1~JH7)。JH1、JH2 区和激酶活性相关, 而 JH3~JH7 区和受体结合相关, 其中 JH4~JH7 区组成了 FERM (four.1 protein, ezrin, radixin, moesin)区^[9]。二聚作用使得每个 GHR 附近的 JAK2 都相互靠近且磷酸化, 同时, 被活化的 JAK2 反过来又对 GHR 上的酪氨酸残基和自身进行磷酸化, 从而形成了高稳定性的信号分子结合位点, 近来的研究表明, FERM 区在这过程中起了关键性的作用^[10]。

在 GH 和 GHR 引发的信号转导过程中, 虽然存在着一种不依赖于 JAK2 的 L 型钙离子通道途径, 如激素 PRL 和 Src 家族激酶, 但几乎所有的下游信号途径都是经过 JAK2 诱导的。由 JAK2 诱导的下游信号转导途径主要有 4 条 (图 3): (1) 信号转导与转录活化蛋白 (signal transducer and activator of transcription, STAT) 途径^[11~13], (2) 促分裂原活化蛋白激酶 (mitogen-

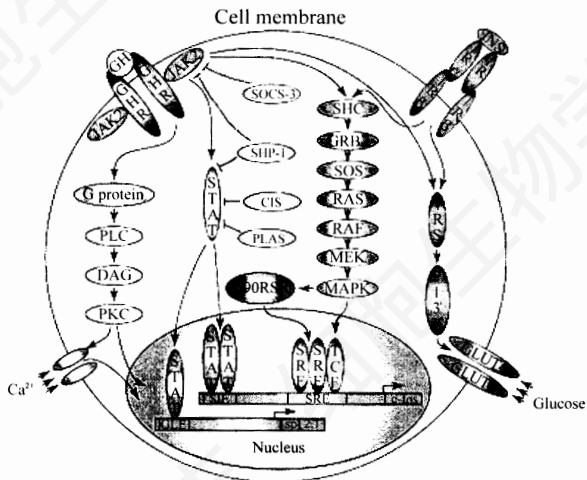


Fig.3 Schematic representation of GH intracellular signal transduction pathway^[19]

activated protein kinase, MAPK)途径^[14,15], (3)蛋白激酶C (protein kinase C, PKC)途径^[16], (4)胰岛素受体底物 (insulin receptor substrate, IRS)途径^[17,18]。

3.3 GHR 信号转导的负向调节

细胞受体信号转导的精确调控是通过负向调节信号因子的数量和作用时间来实现的。到目前为止,研究表明至少有3种蛋白质家族参与阻止 JAK/STAT 信号途径(图 3): 磷酸酯酶家族,如包含 SH2 区的酪氨酸磷酸酯酶(SH2 domain-containing protein tyrosine phosphatase, SHP-1),细胞因子信号转导抑制因子(suppressor of cytokine signalling, SOCS)家族^[20],STAT 活化的蛋白质抑制因子(protein inhibitor of activated STAT, PIAS)家族。抑制机制各异。以 SOCS 为例, (1)它们能和磷酸化的 JAK2 紧密结合,其上的激酶抑制区(kinase inhibitory region, KIR)导致 JAK2 失活; (2)SOCS 能和 STAT 竞争,阻止 STAT 和受体结合; (3)能够使信号蛋白泛素化,并随后降解。近来的研究表明,雌激素就是诱导了 SOCS-2 蛋白的大量合成而抑制了 JAK2 的下游诱导,从而发挥了负向调节的作用^[21],与此类似,营养不良则导致了 SOCS-3 的过量表达,从而阻碍了 GH 相关的生长调控^[22]。

3.4 GHR 的降解和信号终结

GHR 从细胞表面脱离并降解导致了 GH 信号转导的终结,其中泛素-蛋白酶体起了重要的作用。研究表明,泛素-蛋白酶体降解 GHR 分两步进行:第一步, GHR 与泛素结合;第二步,泛素-GHR

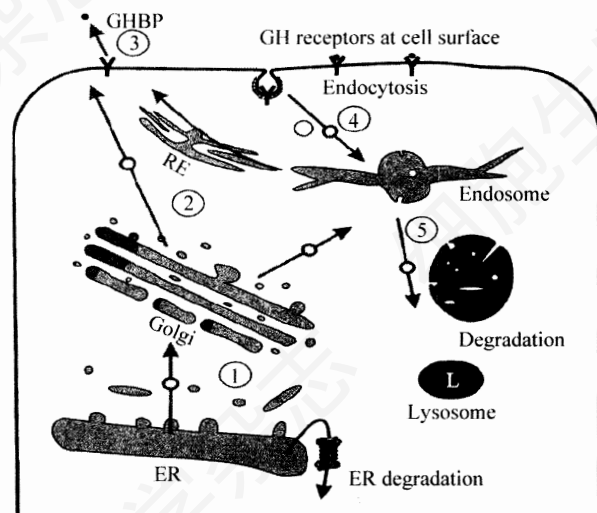


Fig.4 The Nature of the GHR^[23]

GHR are synthesized in the endoplasmic reticulum (ER) and transported to Golgi complex ①, sorted in the Golgi complex and transported to the cell surface ②, receptors are shed into the blood to form growth hormone binding protein (GHBP^[24]) ③, or endocytosed into the cells ④, and transported to the lysosomes for degradation ⑤.

偶联体被 26S 蛋白酶体降解,并释放出泛素进行再循环。GHR 与泛素的结合过程需要 3 种泛素活化酶的一系列催化才能实现^[23]。实际上,从 GHR 的“诞生”到“终结”都和泛素-蛋白酶体相关(图 4)。泛素-蛋白酶体能够通过不同机制对各个阶段的 GHR 进行调控。同时有研究表明 GHR 在细胞表面作用的有效性很大程度上取决于泛素-蛋白酶体途径介导的胞饮作用^[25]。

参考文献 (References)

- [1] Haddad JJ et al. *J Neuroimmunol*, 2002, **133**: 1
- [2] Kopchick JJ et al. *Mol Genet Metab*, 2000, **71**: 293
- [3] Gent J et al. *Mol Endocrinol*, 2003, **17**: 967
- [4] Castro JR et al. *Neurosci Lett*, 2000, **281**: 147
- [5] Gent J et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**: 9858
- [6] Smith SO et al. *Biochemistry*, 2001, **40**: 6553
- [7] Strous GJ et al. *FEBS Lett*, 2002, **529**: 102
- [8] Huang Y et al. *Mol Endocrinol*, 2004, **18**: 1471
- [9] Giordanetto F et al. *Protein Eng*, 2002, **15**: 727
- [10] He K et al. *Mol Endocrinol*, 2003, **17**: 2211
- [11] Darnell JE Jr et al. *Science*, 1997, **277**: 1630
- [12] Herrington J et al. *Oncogene*, 2000, **19**: 2585
- [13] Woelfle J et al. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2004, **286**: E393
- [14] Farooq A et al. *Cell Signal*, 2004, **16**: 769
- [15] Chang L et al. *Nature*, 2001, **410**: 37
- [16] Pinton P et al. *J Cell Biol*, 2004, **165**: 223
- [17] Urso B et al. *Cell Signal*, 2003, **15**: 385
- [18] Fang X et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**: 11960

- [19] Okada S *et al. Trends Mol Med*, 2001, **7**: 126
- [20] Greenhalgh CJ *et al. Growth Horm IGF Res*, 2004, **14**: 200
- [21] Leung KC *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**: 1016
- [22] Umana A *et al. Biomedica*, 2003, **23**: 301
- [23] Strous GJ *et al. Mol Cell Endocrinol*, 2002, **197**: 143
- [24] Conte F *et al. Biochem Biophys Res Commun*, 2002, **290**: 851
- [25] van Kerkhof P *et al. Mol Cell Endocrinol*, 2003, **201**: 57

Growth Hormone Receptor and Signal Transduction

Ming-Zhe Zhang, Dan Ye, Zhi-He Zhang, Xi-Lian Hu, Ning Han, Mu-Yuan Zhu *

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

Abstract Growth hormone receptor (GHR) is a member of cytokine/hematopoietin receptor superfamily. The dimerization of two GHRs binding to growth hormone (GH) is the initiating step of signal transduction. It rapidly phosphorylates Janus kinase 2 (JAK2) to activate four different pathways into cells and elicit various physiological effects *in vivo*. This review introduces the structure characteristic and tissue distributions of GHR, and discusses GHR-media signal transduction.

Key words GHR; signal transduction; activation

Received: June 4, 2004 Accepted: August 27, 2004

This work was supported by the National Natural Sciences Foundation of China (No.30370876, No.39770420, No.300255), the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (No.300255) and the Panda Breeding Foundation of Chengdu (No.2000-19)

*Corresponding author. Tel: 86-571-88273325, E-mail:myzhu@zju.edu.cn

中国细胞生物学学会 2005 年学术大会（第一轮通知）

中国细胞生物学学会 2005 年学术大会定于 2005 年 10 月 31 日~11 月 1 日在福建省武夷山国际远华大酒店举行。本次会议由中国细胞生物学学会主办，福建省细胞生物学学会、福建省生物工程学会、福建省留学生同学会协办，会期 2 天。本次大会是继 2003 年南京全国会员代表大会暨学术会议之后的又一次全国性的学术盛会。

会议将以分组报告和墙报的形式围绕“染色体、基因、蛋白质”、“细胞精细结构与功能”、“干细胞、细胞分化和发育生物学”、“细胞信号转导和细胞通讯”、“免疫细胞生物学”、“医学细胞生物学”、“细胞工程和转基因生物”、“细胞生物学教学和普及”等方面进行广泛的学术交流。同时将进行青年优秀论文评奖，评选在 2003 年 8 月到 2005 年 7 月之间正式发表的论文，鼓励在细胞生物学领域做出杰出成绩的青年学者。

欢迎踊跃报名参加，详情请见 <http://www.cscb.org.cn>。