

鱼类生长抑素的研究进展

Study review of fish somatostatin

刘 扬¹, 王静凤¹, 宋微波²

(1. 中国海洋大学 海洋生命学院, 山东 青岛 266003; 2. 中国海洋大学 教育部海水养殖重点实验室, 山东 青岛 266003)

中图分类号: Q959.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2004)07-0067-04

生长抑素(Somatostatin, 缩写为SS)是一类抑制动物生长的多肽类激素。Brazeur^[1]于1973年首次从羊的下丘脑提取液中分离得到,其氨基酸序列为Ala-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys(14肽)。随后的研究发现,最初分离得到的14肽,仅是结构相关的SS家族成员中的一种,这类多肽在脊椎动物中广泛存在,主要分布于中枢及外周神经系统、肠、胃、胰腺和甲状腺等组织,其长度从14到37个氨基酸不等。动物种类不同,氨基酸的组成也有差异。生长抑素主要具有抑制机体生长激素分泌的作用,也具有抑制胃、肠、胆、胰腺的内、外分泌和抑制胃肠运动等作用,是生物体内重要的神经递质和神经调质。目前,围绕SS展开的研究工作主要集中在哺乳类动物上,其2种主要的生物活性形式为SS-14和SS-28(SS-14的N末端延长了14个氨基酸形式),由同一基因编码^[2]。对于鱼类生长抑素的研究,国外始于80年代。至目前为止,已完成了多种鱼SS分泌细胞的鉴别与定位、分离纯化、基因表达和受体克隆等方面的研究工作。已证明,硬骨鱼类至少含有2种编码SS的基因^[3]。下面就鱼类生长抑素研究中有关SS的多基因表达、受体克隆、作用机制及影响因素等方面的进展情况做一简述。

1 生长抑素的多基因表达及家族成员

生长抑素家族由结构类似的一类SS多肽所组成,这些多肽在分子组成上也存在某些差异,这种差异主要源于两个方面:一是生物体内存在某一较长的SS前体(preprosomatostatin,缩写为PSS),加工的场所不同,形成的SS多肽的组成和结构不同;二是生物体内存在多种SS基因,可编码出不同形式的PSS^[4]。目

前的研究表明,硬骨鱼类体内至少含有2种SS前体,分别由不同的PSS mRNA编码^[5]。PSS都是较长的蛋白质多肽,其C末端都含有某一特征性的肽段,这些PSS序列中包含一些特别位点,可自身断裂,包含C末端的那段多肽就是一种SS形式,或经进一步剪切加工形成SS。因此,在硬骨鱼类体内存在多种形式的SS多肽。

目前,已在多种鱼类中得到PSS-I的cDNA片段。分析表明,黑鲷(*Lophiomus setigerus*)^[4]和鲶鱼(*Silurus asotus*)^[6]的PSS-I分别含有121和114个氨基酸残基,可加工形成SS-14。虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[7]的PSS-I含有114个氨基酸残基,可形成SS-26,并进一步加工形成SS-14。核苷酸序列分析表明,虹鳟与鲶鱼PSS-I的核苷酸序列具有73.5%的同源性,与黑鲷PSS-I仅有58.1%的同源性。非洲肺鱼(*Protopterus annectens*)^[8]的PSS-I为115个氨基酸多肽,与四足动物(tetrapods)的PSS-I具有较高的同源性。

七鳃鳗、软骨鱼类和多种硬骨鱼类体内除了含有PSS-I外,还含有PSS-II。目前,PSS-II的cDNA完整片段已在黑鲷^[4]、虹鳟^[5]和金鱼^[9]体内获得。研究

收稿日期:2003-12-30;修回日期:2004-05-11

基金项目:中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室开放课题经费资助

作者简介:刘扬(1978-),男,山东烟台人,中国海洋大学硕士研究生,电话:0532-2031948, E-mail: ly-1206@hotmail.com;王静凤,通讯作者

结果表明, 欧洲鳗鲡 (*Anguilla anguilla*)、双角冰杜父鱼 (*Icelus bicornis*)、银鲑 (*Oncorhynchus kisutch*) 和金鱼 (*Carassius auratus*) 体内的 PSS-II 可被进一步加工成 SS-25 和 SS-28, 其 C 末端含有 [Tyr⁷, Gly¹⁰] SS-14 或其异构体^[2]。多种 [Tyr⁷, Gly¹⁰] SS-14 的异构体序列已在 PSS-II 和 SS 多肽中被发现^[3], 例如金鱼体内的 PSS-II 含有 [Glu¹, Tyr⁷, Gly¹⁰] SS-14; 罗非鱼 (*Oreochromis mossambicus*) 胰腺中的 SS-28 含有 [Tyr⁷, Gly¹⁰, Leu¹¹] SS-14; 欧洲鳗鲡胰腺和肠等部位的 SS-25 含有 [Tyr⁷, Gly¹⁰, Pro¹¹] SS-14。另外, 在金鱼的脑组织中还发现另外一种 SS-28^[10], 通过与 PSS-II cDNA 片段推算出的 SS-28 相比较, 发现二者之间有 5 个氨基酸差异, 表明在金鱼体内至少含有两种形式的 SS-28。虹鳟体内还发现两种亚型的 PSS-II 前体^[11], 分别为 PSS-II' 和 PSS-II'', 均含有 115 个氨基酸残基。虹鳟的 PSS-II', PSS-II'' 与自身 PSS-I 的同源性较低, 分别为 49% 和 48.2%, 证明了虹鳟 PSS-II 与 PSS-I 分别来源于不同的基因。

已有 3 种 PSS cDNA 在金鱼的脑组织中被确定^[9], 其中 2 个分别编码 PSS-I 和 PSS-II, 另外一个编码 C 末端连有 [Pro¹²] SS-14 的 PSS-III。这是首次在同一种脊椎动物体内发现有 3 种不同的 SS 基因, 表明金鱼是研究 SS 多基因家族的理想模型。金鱼的 PSS-I 和 PSS-II 基因可在脑和外周组织中表达, 分别产生 SS-14 和 SS-28 (C-末端连有 [Glu¹, Tyr⁷, Gly¹⁰] SS-14); 而 PSS-III 基因仅能在脑组织中表达, 生成 [Pro¹²] SS-14。[Pro¹²] SS-14 发现于俄罗斯鲟 (*Acipenser gueldenstaedti*)^[12] 体内, 并在非洲肺鱼^[8] 的脑组织中得到克隆。系统发生学的研究表明, 金鱼的 PSS-III 与非洲肺鱼 [Pro¹²] SS-14 的前体具有很高的同源性, 且它们的基因表达场所都仅限于各自的脑组织, 从而证明了金鱼和非洲肺鱼在系统发生上存在较近的亲缘关系^[3]。

已证明, 脊椎动物体内的 SS-14 全部来源于 PSS-I。圆口纲、软骨鱼纲、硬骨鱼纲、两栖纲、爬行纲、鸟纲和哺乳纲动物体内的 SS-14, 其氨基酸序列均相同, 表明 SS-14 在进化过程中具有高度的保守性。

Wang 等^[13] 在弓鳍鱼 (*Amia calva*) 的胰岛组织发现一种 SS-26 (C 末端含有 [Ser⁵] SS-14), 且含量较高, 而胰岛中 SS-14 含量很低, 表明弓鳍鱼胰腺组织中 PSS-I 的加工途径与其它硬骨鱼、软骨鱼和高等

脊椎动物存在不同。另外, 大分子的 SS, 例如, SS-33, SS-34 和 SS-37, SS-35 分别在 *Geotria australis*, *Petromyzon marinus*, *Lampetra fluviatilis* 3 种七鳃鳗体内发现^[2]。

2 SS 受体

生长抑素受体是一种膜蛋白受体。自 1991 年以来, 通过 cDNA 克隆等手段, 在哺乳动物体内相继发现了 5 种亚型的 SS 受体, 并命名为 sst₁~sst₅^[14]。这 5 种亚型的 SS 受体, 都是视紫红质的家族成员, 且与 G 蛋白偶联, 它们之间的同源性为 39%~57%。根据氨基酸序列同源性的低和对配体的应答特性, 5 种亚型的 SS 受体可分为 2 个亚群: sst₂, sst₃ 和 sst₅ 为第一亚群; sst₁ 和 sst₄ 为第二亚群。迄今为止, 已发现的哺乳类动物的 SS 受体都含有一段高度保守的特异性序列区: Tyr-Ala-Asn-Ser-Cys-Ala-Asn-Pro-Ile/Val-Leu-Tyr, 存在于第 7 个跨膜区域, 可作为这个受体家族的信号序列^[14]。5 种亚型的 sst 与 SS-14 和 mSS-28 (mammalian SS-28) 具有相同的亲和力, 而 sst₅ 对 mSS-28 的亲合则表现出某种选择性^[3]。哺乳动物的 SS 受体在中枢神经系统和外周组织中有着复杂的表达途径和方式, 表现为受体特异性、组织特异性及生物种类特异性^[14]。

目前, 在鱼类展开的 SS 受体研究主要集中在硬骨鱼类, 尤其是金鱼。例如, 已在金鱼脑组织中克隆得到 sst₁, sst₂, sst₃ 和 sst₅。

金鱼脑组织中的 sst₁^[9] 具有 2 种亚型: sst_{1A} 和 sst_{1B} (同有 367 个氨基酸), 分别由两种 cDNA 编码, 这 2 种 cDNA 核苷酸序列具有 92% 的同源性, 推测它们来源于同一复制基因; 金鱼 sst₁ 与哺乳类 sst₁ 具有 75%~76% 的同源性, 对 SS-14 和 [Pro²] SS-14 具有相同的亲和力; 金鱼 sst₁ mRNA 在脑组织中广泛分布, 前脑中的分布密度明显高于垂体部位。金鱼 sst₂^[15] 的核苷酸序列与人、鼠的 sst₂ 具有 61%~62% 的同源性, 而与金鱼的 sst₁ 仅有 42% 的同源性。金鱼 sst₂ mRNA 广泛分布于脑部区域 (嗅球除外), 端脑-视前区密度较高, 垂体部位密度最高; 将金鱼 sst₂ 和哺乳类 sst₂ 进行比较, 发现它们中 ECL2 (2-Extracellular loops) 和 ECL3 (3-Extracellular loops) 的序列比 TMD (transmembrane domain) 和 ICL (intracellular loops) 更易发生变化, 19 个残基中只有 4 个保守, 其它的都易突变, ECL2 和 ECL3 中序列的这种易变性可影响金鱼 sst₂ 对结合物的选择性^[15]。通过

Southern blot 方法发现金鱼体内至少存在两个亚型的 ssr_2 基因拷贝,第二种亚型的 ssr_2 cDNA 仍待鉴别。金鱼 ssr_3 受体也有 2 种亚型^[15], 分别由 ssr_{3A} mRNA 和 ssr_{3B} mRNA 编码, ssr_{3A} mRNA 主要分布于端脑和垂体部位, 而 ssr_{3B} mRNA 主要分布于前脑(端脑和下丘脑)和嗅球, 两种亚型的 ssr_3 基因分别在脑的不同区域进行表达, 说明其执行的生理功能不同。金鱼的 ssr_5 有 3 种亚型^[15]: ssr_{5A} , ssr_{5B} 和 ssr_{5C} 。其中, ssr_{5A} mRNA 主要分布于垂体部位, 端脑——视前区和下丘脑部位分布甚少, ssr_{5B} mRNA 主要分布于垂体和脊髓, 而 ssr_{5C} mRNA 则广泛分布于脑部和垂体; 目前对于 ssr_{5C} 与 ssr_{5A} , ssr_{5B} 之间是否具有功能性的联系还不十分清楚。

此外, 非洲肺鱼的卵巢和虹鳟的肝脏上也有 SS 受体分布^[9]。这表明 SS 作为神经递质和神经调质在鱼类体内执行多种生理功能。

3 SS 的作用机制及影响因素

已证明, 鱼类生长激素 (Growth hormone, 缩写为 GH) 的释放受 GH 释放因子和 GH 释放抑制因子的双重控制。生长抑素被认为是 GH 分泌的主要调控因子, 其调控作用具有 SS 种类和鱼类种类的特异性。 $SS-14$ 和 $[Pro^2]SS-14$ 可抑制金鱼垂体 GH 的基础分泌和刺激分泌^[9], 且二者的抑制能力相近; $mSS-28$ 也可降低金鱼 GH 的基础分泌^[2]; 但 $cSS-22$ (catfish $SS-22$) 和 $sSS-25$ (Salmonid $SS-25$) 对金鱼 GH 的释放则无明显的抑制作用^[2]。Very 等^[16]将外源性的 $SS-14$ 植入虹鳟鱼体内 20 d, 结果引起虹鳟对食物的转化率显著降低、生长迟缓等现象。进一步研究发现, 外源性 $SS-14$ 的植入, 除了引起血浆中 GH 水平显著降低外, 血浆 IGF-1 水平也显著下降。说明 $SS-14$ 也通过 GH-IGF-1 轴的介导影响机体的生长。

多巴胺 (Dopamine, 缩写为 DA) 是脊椎动物脑组织中一种重要的儿茶酚胺类神经递质, 控制和调节生物体内一系列生理功能。DA 的这种生理多效性由 5 种不同的、与 G 蛋白偶联的受体亚型介导, 这 5 类受体亚型大致可分为 2 个亚群^[17]: D1 亚群(包括 D_1 和 D_5) 和 D2 亚群(包括 D_2 , D_3 和 D_4)。体内、体外实验已证明, 金鱼中 DA 可通过 D1 受体的介导直接影响垂体 GH 的释放。Otto 等^[17]向性腺退化的金鱼腹腔内

注射非选择性 DA 兴奋剂, 通过 Northern blot 法证明 DA 能够显著降低金鱼脑组织中 3 种 PSS mRNA 水平, 表明 DA 对 PSS 基因表达具有抑制性调节作用。进一步研究证明, DA 对 PSS 的调节作用与其受体亚型有关: Otto 等分别用 D1, D2 受体兴奋剂和抑制剂对性腺发育恢复不同时期的金鱼进行腹腔注射, 结果发现 D1 受体兴奋剂能够显著减少 PSS-I 和 PSS-II mRNA 水平, 而提高 PSS-III mRNA 水平, 而 D1 受体抑制剂的作用则相反。这是首次报道了在金鱼中 DA 影响 PSS 的基因表达也可通过 D1 受体介导模式。D2 受体兴奋剂和抑制剂的实验结果证明, 在金鱼性腺发育恢复早期和晚期, D2 受体对 PSS-I, PSS-II 基因的表达分别表现为抑制和刺激作用, 而对 PSS-III 的基因表达主要表现为刺激作用。金鱼体内的性类固醇水平在性腺发育恢复早期较低, 而在性腺发育恢复晚期则较高, 因此 Otto 等认为性类固醇水平的高低能够影响 DA 对 PSS 基因表达的作用, 或者性类固醇水平本身直接影响 PSS 基因的表达^[20]。在哺乳类动物中已经证明了 DA 系统可通过雄性激素或雌性激素的介导影响 SS mRNA 水平。

已证明, 性激素能够影响 PSS 的基因表达: Canosa 等^[18]用雌二醇处理性腺退化的雌性金鱼, 结果发现, 雌性金鱼体内 $SS-14$ 的基因表达水平大幅度增加; $[Pro^2]SS-14$ 的基因表达水平中等程度增加; 而 $SS-28$ 的基因表达水平则没有显著性改变。进一步研究证明, 金鱼的端脑-视前区和下丘脑部位的 PSS-I mRNA 的水平可受到雌二醇的影响^[17]。Marchant 等^[19]报道了在金鱼脑部的不同区域, $SS-14$ 水平的变化规律与血清中 GH 水平随季节变化的规律以及生殖周期的变化规律相反。

4 结束语

鱼类生长抑素的研究, 国外始于 20 世纪 80 年代。已经证明, 鱼类生长抑素具有抑制生长, 调节渗透压和参与变态发育调控等生理功效。我国对鱼类生长抑素的研究尚处于起步状态, 仅有少量的关于淡水鱼胃肠胰系统中生长抑素分泌细胞的鉴别和定位的报道, 因此, 开展鱼类(尤其是海水鱼类)生长抑素的研究, 可填补和丰富鱼类内分泌学、鱼类生理学的基础资料, 为经济养殖鱼类的生长研究开辟新的方向。

参考文献:

- [1] Brazeau P, Vale W W, Burgus R, *et al.* Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone[J]. **Science**, 1973, 179: 77 - 79.
- [2] Lin X W, Otto C J, Peter R E. Evolution of neuroendocrine peptide systems: gonadotropin-releasing hormone and somatostatin[J]. **Comp Biochem Physiol**, 1998, 119C: 375 - 388.
- [3] Lin X W, Peter R E. Somatostatins and their receptors in fish[J]. **Comp Biochem Physiol**, 2001, B129: 543 - 550.
- [4] Hobart P, Crawford R, Shen L P, *et al.* Cloning and sequence analysis of cDNAs encoding two distinct somatostatin precursors found in the endocrine pancreas of anglerfish[J]. **Nature**, 1980, 288: 137 - 141.
- [5] Moore C A, Kittilson J D, Ehrman M M, *et al.* Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) possess two somatostatin mRNAs that are differentially expressed [J]. **Am J Physiol**, 1999, 277: R1 553 - R1 561.
- [6] Minth C D, Taylor W L, Magazine M, *et al.* The structure of cloned DNA complementary to catfish pancreatic somatostatin - 14 messenger RNA[J]. **J Biol Chem**, 1982, 257: 10 372 - 10 377.
- [7] Kittilson J D, Moore C A, Sheridan M A. Polygenic expression of somatostatin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): evidence of a preprosomatostatin encoding somatostatin - 14[J]. **Gen Comp Endocrinol**, 1999, 114: 88 - 96.
- [8] Trabucchi M, Tostivint H, Lihmann I, *et al.* Molecular cloning of the cDNAs and distribution of the mRNAs encoding two somatostatin precursors in the African Lungfish *Protopterus annectens* [J]. **J Comp Neurol**, 1999, 410: 643 - 652.
- [9] Lin X W, Otto C J, Peter R E. Expression of three distinct somatostatin messenger ribonucleic acids (mRNAs) in goldfish brain: characterization of the complementary deoxyribonucleic acids, distribution and seasonal variation of the mRNAs, and action of a somatostatin - 14 variant[J]. **Endocrinology**, 1999, 140: 2 089 - 2 099.
- [10] Uesaka T, Yano K, Yamasaki M, *et al.* Somatostatin, vasoactive intestinal peptide -, and granulinlike peptides isolated from intestinal extracts of goldfish, *Carassius auratus* [J]. **Gen Comp Endocrinol**, 1995, 99: 187 - 206.
- [11] Moore C A, Kittilson J D, Kahl S K, *et al.* Isolation and characterization of a cDNA encoding for preprosomatostatin containing [Tyr⁷, Gly¹⁰] - somatostatin - 14 from the endocrine pancreas of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. **Gen Comp Endocrinol**, 1995, 98: 253 - 261.
- [12] Nishi M, Moverus B, Bukovskaya O S, *et al.* Isolation and characterization of [Pro²]somatostatin - 14 and melanotropins from Russian sturgeon, *Acipenser gueldenstaedti* Brandt [J]. **Gen Comp Endocrinol**, 1995, 99: 6 - 12.
- [13] Wang Y, Youson J H, Conlon J M. Prosomatostatin - I is processed to somatostatin - 26 and somatostatin - 14 in the pancreas of the bowfin, *Amia calva* [J]. **Regul Pept**, 1993, 47: 33 - 39.
- [14] Patel Y C. Somatostatin and its receptor family [J]. **Front Neuroendocrinol**, 1999, 20: 157 - 198.
- [15] Lin X W, Peter R E. Somatostatin-like receptors in goldfish: cloning of four new receptors [J]. **Peptides**, 2003, 24: 53 - 63.
- [16] Very N M, Knutson D, Kittilson J D, *et al.* Somatostatin inhibits growth of rainbow trout [J]. **J Fish Biol**, 2001, 59: 157 - 165.
- [17] Otto C J, Lin X W, Peter R E. Dopaminergic regulation of three somatostatin mRNAs in goldfish brain [J]. **Regul Pept**, 1999, 83: 97 - 104.
- [18] Canosa L F, Lin X W, Peter R E. Regulation of expression of somatostatin genes by sex steroid hormones in goldfish forebrain [J]. **Neuroendocrinology**, 2002, 76: 8 - 17.
- [19] Marchant T A, Peter R E. Hypothalamic peptides influencing growth hormone secretion in the goldfish, *Carassius auratus* [J]. **Fish Physiol Biochem**, 1989, 7: 133 - 139.

(本文编辑:刘珊珊)