

鱼类 spexin 系统鉴定及其生理功能研究

田振方^{1,2}, 王 滨^{2,3}, 崔爱君^{2,3}, 徐永江^{2,3}, 柳学周^{2,3}, 姜 燕^{2,3}, 田云臣^{1,4}

(1. 天津农学院 水产学院, 天津 300384; 2. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所 农业农村部海洋渔业可持续发展重点实验室, 山东 青岛 266071; 3. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室深蓝渔业工程联合实验室, 山东 青岛 266237; 4. 天津农学院 计算机与信息工程学院, 天津 300384)

摘要: 所有脊椎动物生殖均受下丘脑-垂体-性腺轴的调控, 多种下丘脑神经肽参与了生殖调控过程。大多数神经肽具有促进生殖的功能, 例如促性腺激素释放激素(gonadotropin-releasing hormone, GnRH)、神经激肽 B (neurokinin B, NKB)、神经肽 Y (neuropeptide Y, NPY)、神经分泌素(secretoneurin, SN)、刺鼠相关蛋白(agouti-related peptide, AgRP)、甘丙肽(galanin, GAL)和吻素(kisspeptin, Kiss)。Spexin (SPX) 是一种新型下丘脑神经肽, 属于 SPX/GAL/Kiss 家族成员。SPX 的成熟肽由 14 个氨基酸组成, 该氨基酸序列在不同物种间高度保守。SPX 可以激活 GAL 受体 2 和 3 (GALR2/3) 参与生殖、摄食等多种生理过程。本文围绕鱼类 SPX 基因鉴定、进化分析、组织分布、表达调控、生理功能以及信号转导机制等方面, 简要总结鱼类 SPX 及其受体的研究进展, 以为后续深入研究提供参考。

关键词: 鱼类; spexin; 甘丙肽受体; 生殖; 摄食; 信号转导; 基因表达

中图分类号: S917 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2023)2-0100-09

DOI: 10.11759/hyxx20220402002

Spexin(SPX), 也称作神经肽 Q(NPQ), 是一种新型下丘脑神经肽, 最初是通过生物信息学方法在人类蛋白组中发现的^[1-2]。随后, 从鱼类到哺乳类均鉴定出了 *spx* 的同源基因^[3]。SPX 的成熟肽是一种十四肽, 其氨基酸序列在不同物种间高度保守, 鱼类和四足类之间仅有 1 个氨基酸差异^[3-4]。*spx* 基因在不同脑区和外周组织中广泛表达, 表明 SPX 可能发挥了重要的生理功能。前期大量研究结果已证实 SPX 参与了脊椎动物摄食、生殖、血糖稳态、脂肪酸吸收、胃肠道蠕动等多种生理过程^[3-5]。此外, SPX 通过和甘丙肽受体 GALR2 和 GALR3 结合发挥了其生理功能^[6-8]。

基于共线性分析和数据挖掘, 韩国学者在非哺乳类中又发现了一种新型 *spx* 基因, 即 *spx2*, 之前所发现的 *spx* 基因重新命名为 *spx1*^[8]。目前对脊椎动物 *spx2* 基因结构、组织分布和生理功能等信息知之甚少, 有关鱼类 SPX 生理功能研究也主要集中在生殖和摄食调控方面。本文简要总结鱼类 SPX 及其受体的研究进展, 重点对 SPX 的基因种类、结构特征、组织分布、生理学功能以及信号转导机制等内容进行概括讨论, 旨在加深对鱼类 SPX 系统的认识 and 了解, 为后续深入研究提供参考。

1 鱼类 *spx* 基因种类、结构、进化分析及组织表达特征

目前, 已在金鱼(*Carassius auratus*)^[9-10]、斑马鱼(*Danio rerio*)^[10]、斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)^[11]、雅鱼(*Schizothorax prenanti*)^[12]、半滑舌鲷(*Cynoglossus semilaevis*)^[13]、金钱鱼(*Scatophagus argus*)^[14]、西伯利亚鲟鱼(*Acipenser baeri*)^[15]及尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[6]中鉴定出了 *spx1* 基因。但仅在斑马鱼、青鳉(*Oryzias latipes*)和半滑舌鲷中鉴定出了 *spx2* 基

收稿日期: 2022-04-02; 修回日期: 2022-06-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(32072949, 32072993); 中国水产科学研究院基本科研业务费项目(2020TD47); 中国水产科学研究院黄海水产研究所基本科研业务费项目(20603022022018); 财政部和农业农村部国家海水鱼产业技术体系资助项目(CARS-47)

[Foundation: National Natural Science Foundation of China, Nos. 32072949, 32072993; Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund, CAFS, No. 2020TD47; Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund, YSFRI, CAFS, No. 20603022022018; China Agriculture Research System of MOF and MARA, No. CARS-47]

作者简介: 田振方(1998—), 男, 河南漯河人, 硕士研究生, 主要从事海水鱼类生殖和生长神经内分泌调控机制研究, E-mail: tianzf0520@163.com; 王滨(1985—), 通信作者, 山东寿光人, 博士, 主要从事海水鱼类繁育理论与技术研究, E-mail: wangbin@ysfri.ac.cn; 田云臣(1967—), 通信作者, 山西孝义人, 硕士, 主要从事农业信息技术研究, E-mail: tianyunchen@tjau.edu.cn

因^[8, 16]。人类 *spx1* 基因位于第 12 号染色体上, 也称作 *c12orf39* 基因, 该基因由 6 个外显子和 5 个内含子组成, 编码 116 个氨基酸的前体多肽^[3]。同样, 斜带石斑鱼 *spx1* 基因也是由 6 个外显子和 5 个内含子组成, 编码 120 个氨基酸的前体多肽^[11]。然而, 斑马鱼和金鱼 *spx1* 基因由 5 个外显子和 4 个内含子组成, 编码 102 个氨基酸的前体多肽^[9]。

哺乳类中不存在 *spx2* 基因, 其他非哺乳类 *spx2* 基因结构与 *spx1* 基因结构类似。例如斑马鱼和青鳉 *spx2* 基因均由 5 个外显子和 4 个内含子组成, 分别编码 95 和 98 个氨基酸的前体多肽。图 1 总结了不同物种 *spx1* 和 *spx2* 基因结构特征: 第一和第二外显子编码信号肽, 第三和第四外显子编码成熟肽。另外, 金鱼 *spx1* 基因存在内含子选择性剪接现象,

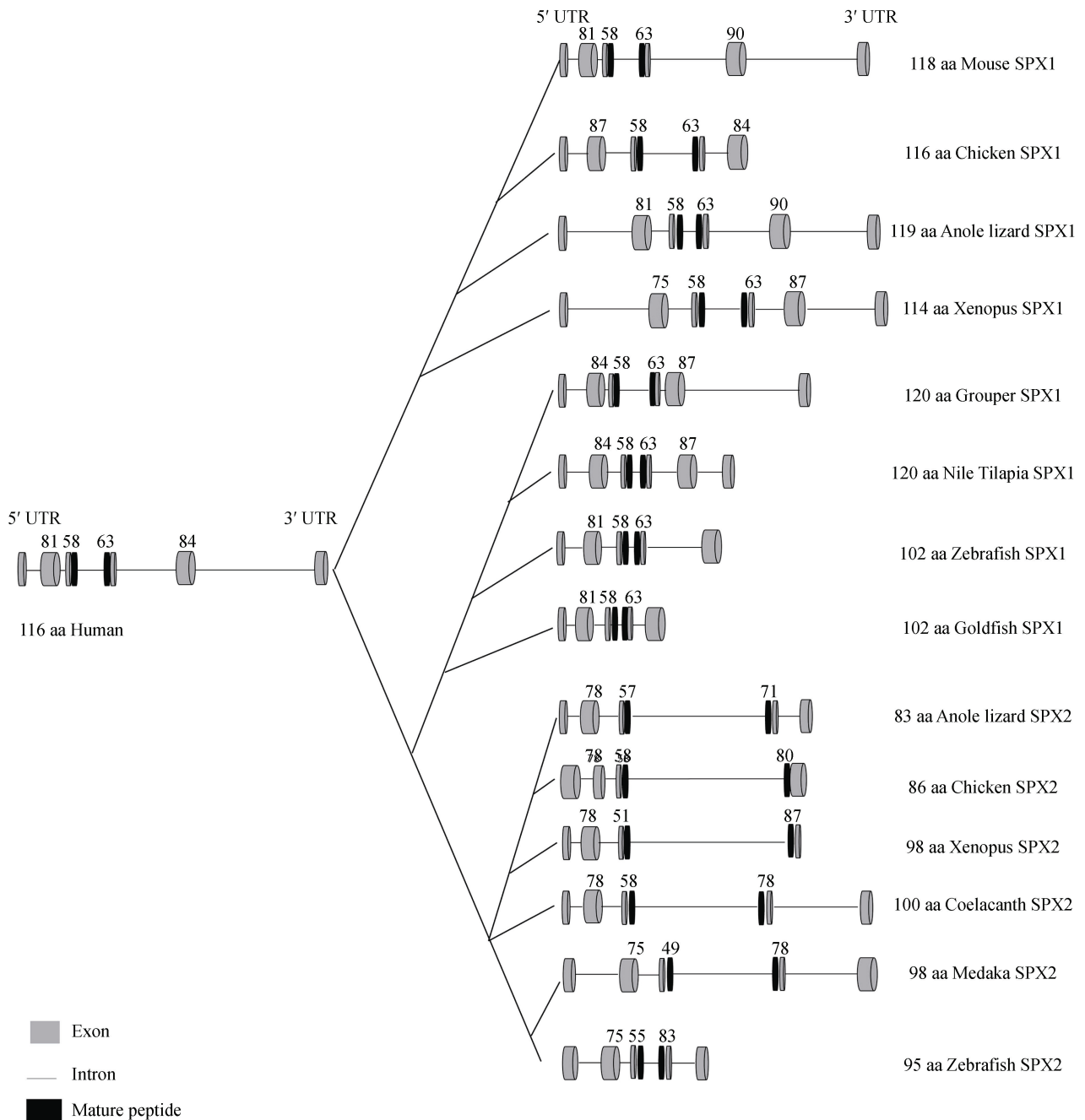


图 1 脊椎动物 *spx1* 和 *spx2* 基因结构特征^[3]
Fig. 1 Gene structure of *spx1* and *spx2* in vertebrates^[3]

注: 第一和第二外显子编码信号肽; 第三和第四外显子编码成熟肽

导致产生了 3 种不同长度的 mRNA 转录本, 分别包含内含子(574 bp)。由于前两种转录本内含子中含有终止密码子导致其不能编码 SPX1 成熟肽, 只有长度为 574 bp 的转录本能够编码 SPX1 成熟肽^[9]。spx2 基因中是否存在类似现象仍不得而知, 需要进一步深入研究。

脊椎动物 SPX1 的成熟肽是一种十四肽, 其氨基酸序列高度保守, 目前已知所有鱼类 SPX1 成熟肽氨基酸序列均为 NWTPQAMLYLKGTQ-NH₂, 这与四足类 SPX1 成熟肽氨基酸序列 NWTPQAMLYLKGAQ-NH₂ 相比仅有 1 个氨基酸差异(图 2a)。另一方面, 斑马鱼、非洲爪蟾(*Xenopus tropicalis*)、变色龙(*Anolis carolinensis*)、鸡(*Gallus gallus*)等 SPX2 成熟肽也是

一种十四肽, 但它们成熟肽之间有 4 个位点存在氨基酸序差异(图 2a)。然而, 青鳉和半滑舌鳎 SPX2 成熟肽包含 17 个氨基酸, 其氨基酸序列均为 LNIHWGPQSMMY LK GK Y-NH₂^[8, 16]。有意思的是, 尼罗罗非鱼等慈鲷科(Cichlidae)鱼类中也不存在 spx2 基因, 但有两种 spx1 基因, 即 spx1a 和 spx1b。尼罗罗非鱼 SPX1a 成熟肽氨基酸序列与其他鱼类 SPX1 序列完全相同, 但 SPX1b 成熟肽氨基酸序列为 NWTSQAILYLKGAQ-NH₂, 与 SPX1a 之间有 3 个位点存在氨基酸差异^[6]。综上所述, 尽管不同物种 SPX1 和 SPX2 成熟肽之间存在个别氨基酸差异, 它们的氨基酸序列还是高度保守的, 这说明 SPX1 和 SPX2 在脊椎动物中发挥了重要的生理功能。

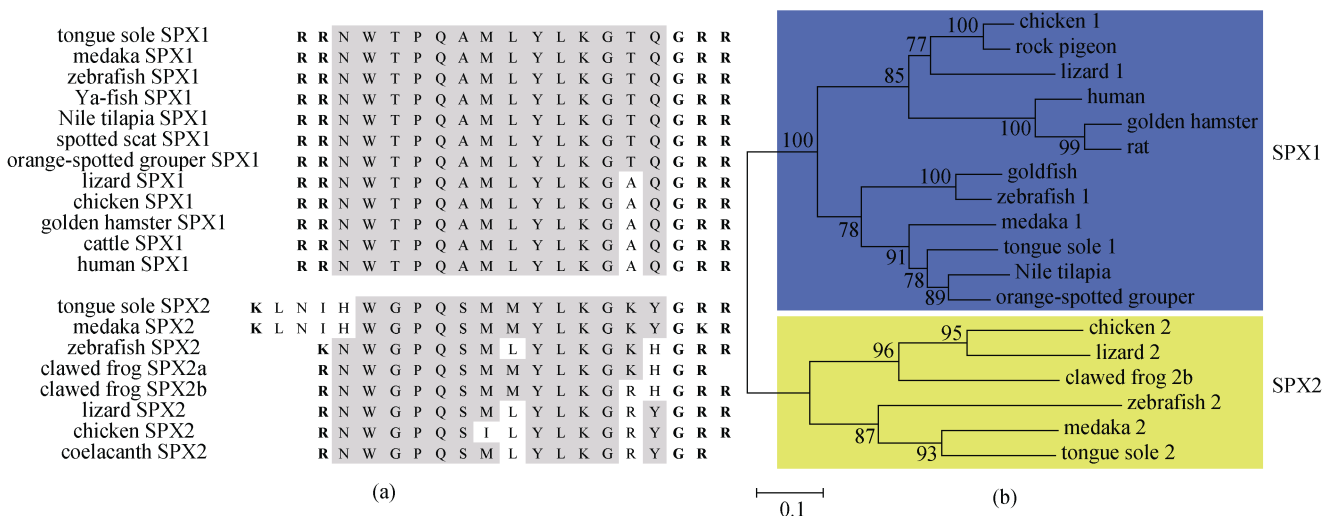


图 2 脊椎动物 SPX 成熟肽氨基酸序列比对(a)及进化树分析(b)

Fig. 2 Alignment of amino acid sequences for SPX mature peptides (a) and phylogenetic analysis (b) in vertebrates

进化树分析结果表明, 脊椎动物 SPX 序列分为明显的两支, 即 SPX1 进化支和 SPX2 进化支(图 2b)。硬骨鱼类 SPX1 序列之间亲缘关系更近, 聚为一支, 然而四足类 SPX1 序列聚为另一支。同样, 硬骨鱼类和四足类 SPX2 序列明显分为两个进化支。基因组共线性分析结果进一步表明, SPX 与 GAL (galanin, 甘丙肽)、Kiss (kisspeptin, 吻素)基因起源于同一祖先, 这 3 个基因是在第二轮全基因组复制(2R)之前通过局部复制产生的^[8]。如图 3 所示, 腔棘鱼(Coelacanth)、变色龙、斑马鱼、河鲀(*Tetraodon*)等 spx1 基因与 kiss2 基因位于同一染色体上, 但人类不存在 kiss2 基因; 腔棘鱼、变色龙、鸡、非洲爪蟾、斑马鱼、青鳉 spx2 基因和 gal 基因也位于同一染色体上; 腔棘鱼和非洲爪蟾的 GAL 样多肽(galp)基因和 kiss3 基因相邻。因此, 这 3 种神经肽

构成了 SPX/GAL/Kiss 家族^[17]。

RT-PCR 和 IHC 结果显示 spx1 基因广泛表达于人和大鼠多种组织, 表明 SPX1 可能参与了多种生理过程^[18-19]。与之类似, spx1 也在多种鱼类组织中广泛表达, 但表达模式具有物种特异性。总体而言, spx1 在金鱼^[9-10]、斑马鱼^[10]、斜带石斑鱼^[11]、雅鱼^[12]、半滑舌鳎^[13]和西伯利亚鲟鱼^[15]的脑中高表达; spx1 在斑马鱼、斜带石斑鱼和金钱鱼卵巢^[10, 11, 14]以及斜带石斑鱼肝脏^[11]中的表达量也较高。尼罗罗非鱼 spx1a 主要在中脑和卵巢中高表达, 然而 spx1b 在垂体、肾脏以及所有脑区中均有表达, 尤其是在前脑中高表达。另外, spx1b 的表达水平远远高于 spx1a 的表达水平^[6]。目前, 有关脊椎动物 spx2 组织分布的信息很少。RT-PCR 结果表明 spx2 在半滑舌鳎不同脑区

和外周组织中均有表达, 其中在卵巢中的表达量最高^[16]。KIM 等^[20]通过原位杂交方法详细研究了斑马

鱼 *spx1* 和 *spx2* 的脑区分布特征: *spx1* 在中脑和脑干中表达, 而 *spx2* 在下丘脑视前区表达。

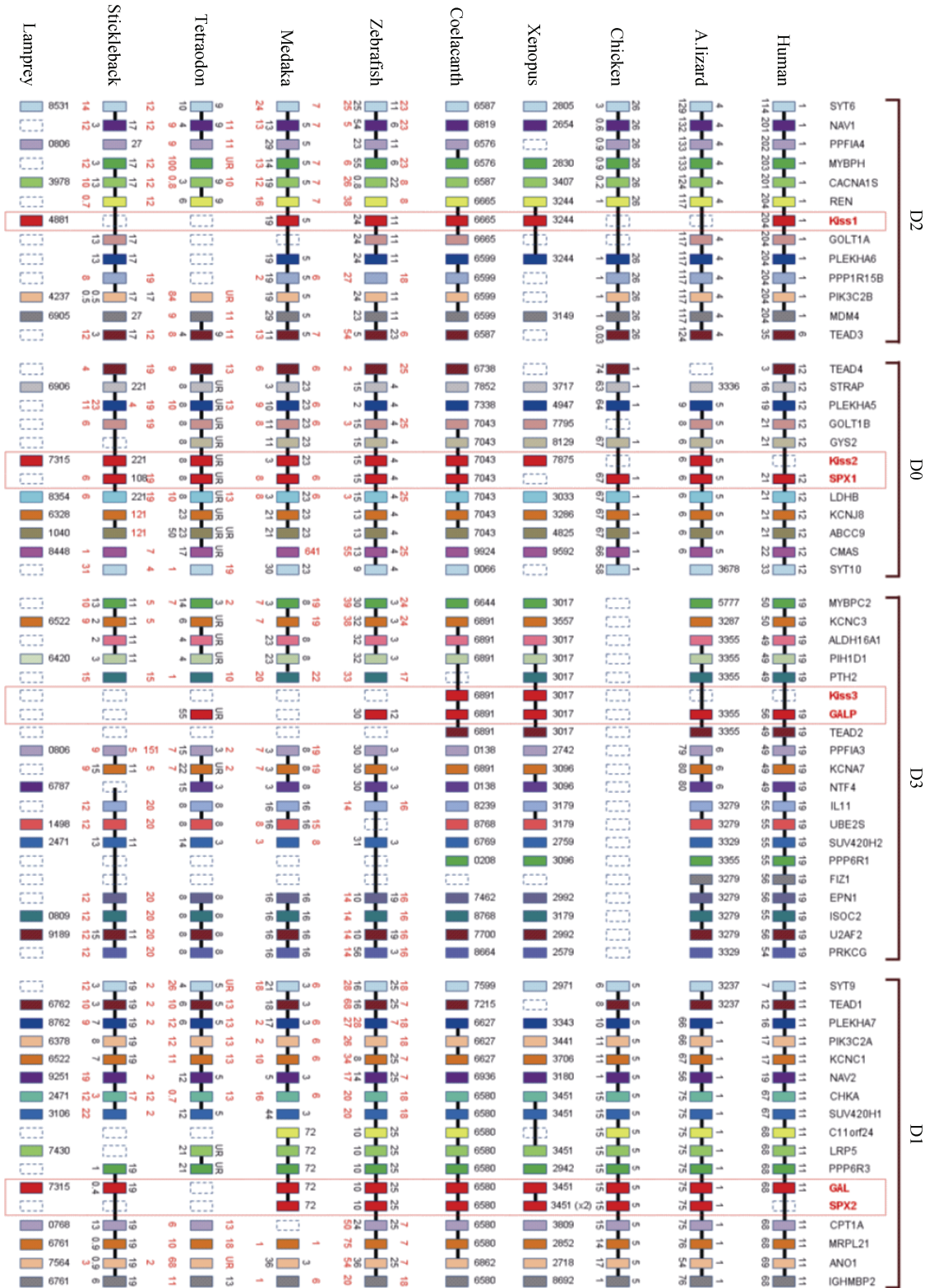


图3 脊椎动物 *spx/gall/kiss* 基因共线性分析^[8]

Fig. 3 Conserved synteny for the *spx/gall/kiss* genes in vertebrates^[8]

2 鱼类 SPX 受体鉴定、进化分析、组织表达特征及信号转导机制

KIM 等^[8]首次开展了脊椎动物 SPX 的进化机制研究,共线性分析结果表明 *spx*、*gal* 和 *kiss* 基因紧密地位于同一连锁群中,并且相对于 *kiss* 而言, *spx* 与 *gal* 进化关系更近,暗示这 3 种神经肽可能起源于同一基因。此外,SPX1 序列中第 2、3、9、10 和 12 位氨基酸与 GAL 所对应位置的氨基酸完全相同,并且 GAL 第 2、3 和 9 位氨基酸对受体结合和活化

至关重要。鉴于 SPX1 和 GAL 结构相似性,故推测 SPX1 可能激活 GAL 受体(GALR)。斑马鱼 SPX、GAL 和 Kiss 成熟肽氨基酸序列比对见图 4。

哺乳类有 3 种 GALR 类型,即 GALR1、GALR2 和 GALR3;鱼类只有 GALR1 和 GALR2,不存在 GALR3。但是鱼类每种 GALR 都有 2 种旁系同源基因,即 *galr1a*、*galr1b*、*galr2a* 和 *galr2b*^[21]。最近,在尼罗罗非鱼中鉴定出了 6 种 GALR 类型,除了上述 4 种类型外,还存在另外 2 种类型,称作 1 型 *galr* 和 2 型 *galr*^[6]。

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
XP_005164831	SPX1	N	W	T	P	Q	A	M	L	Y	L	K	G	T	Q
AIL31447	SPX2	N	W	G	P	Q	S	M	L	Y	L	K	G	K	H
XP_005163049	GAL	G	W	T	L	N	S	A	G	Y	L	L	G	P	H
ABR24159	Kiss1	Y	N	L	-	-	N	S	F	G	L	R	Y		
BAG86622	Kiss2	F	N	Y	-	-	N	P	F	G	L	R	F		

图 4 斑马鱼 SPX、GAL 和 Kiss 成熟肽氨基酸序列比对

Fig. 4 Alignment of amino acid sequences for SPX, GAL and Kiss mature peptides in zebrafish

GALR 属于 7 次跨膜 G 蛋白偶联受体家族(GPCR),该受体 N 末端包含 1~2 个潜在的 N 连接糖基化位点(NXT/S)以及 1~3 个 PKC 磷酸化位点(SSR/SKK/SKR)^[6]。脊椎动物 GALR 和 KissR 进化树分析表明:GALR 和 KissR 明显分为两个进化支;GALR 分支进一步分为 GALR1 和 GALR2/3 两个分支;KissR 分支也进一步分为 KissR1、KissR2、KissR3 和 KissR4 4 个分支;需要注意的是,尼罗罗非鱼 1 型 GALR 和 2 型 GALR 以及青鳉 1 型 GALR 属于 GALR1 姐妹分支(图 5)。

目前有关鱼类 *galr* 基因组织分布的研究较少。尼罗罗非鱼 *galr1a* 和 *galr2a* 表达谱类似,二者在所有组织中均有表达,其中在肾脏表达量最高;*galr1b* 在前脑中高表达,其次为前脑,但在其他组织中表达量较低;*galr2b* 主要在前脑和中脑表达,在其他组织中几乎不表达^[6]。在欧洲海鲈中也鉴定出了 *galr1a*、*galr1b*、*galr2a* 和 *galr2b* 基因,这 4 种基因均在雌雄鲈鱼前脑和中脑高表达,其次为性腺和嗅上皮组织;其中 *galr1a* 和 *galr1b* 表达具有性别二态性,二者在精巢中表达量高于卵巢^[22]。斑马鱼 *galr1a* 只在脑和肠中表达,但 *galr1b* 广泛表达于中枢和外周组织^[23]。另一方面,斑马鱼 *galr2a* 和 *galr2b* 只在胚胎的中枢神经系统表达,其中 *galr2a* 在端脑腹侧区域低表达,而 *galr2b* 则在嗅球、中脑被盖、脊髓等不同脑区均有表达^[24]。此外,在金鱼脑和肠中均可检测到 GALR1 和 GALR2 的免疫阳性

信号^[25]。综上所述,不同 GALR 基因的表达模式具有物种和组织特异性,也可能与生殖周期、营养状况、性别差异等因素有关。

尽管 SPX 在脊椎动物多种生理过程中发挥了重要作用,但有关其信号转导机制研究较少。在人、非洲爪蟾和斑马鱼中,配体和受体互作研究表明 SPX1 和 SPX2 均可激活 GALR2 (GALR2a 和 GALR2b)和 GALR3,但不能激活 GALR1。此外,相比较 GAL 而言,非洲爪蟾和斑马鱼 SPX 多肽与 GALR2b 有更强的结合能力。这些结果表明 GALR2 和 GALR3 是 SPX 的内源性受体^[8]。但是,SPX 不能激活 Kiss 受体(KissR)^[8]。SPX1 和 SPX2 均显著性增加了转染了人 GALR2 和 GALR3 的 HEK293 细胞中 SRE-luc 的活性。同样,SPX1 和 SPX2 也增加了转染了非洲爪蟾 GALR2b 和 GALR3 的 HEK293 细胞中 SRE-luc 的活性。上述结果表明,PKC 通路介导了 SPX 的生理功能^[8]。斑马鱼中存在 4 种 GALR 类型(GALR1a、GALR1b、GALR2a 和 GALR2b),但 SPX1 和 SPX2 只能增加转染了斑马鱼 GALR2a 和 GALR2b 的 HEK293 细胞中 SRE-luc 的活性。然而 GAL 却能激活这 4 种受体,进而增加了 SRE-luc 的活性。该结果表明 SPX1 和 SPX2 主要通过 GALR2a 和 GALR2b 发挥其生理功能,并且 PKC 通路参与了此过程^[8]。尼罗罗非鱼 SPX1a 和 SPX1b 只能增加转染了 GALR2b 的 COS-7 细胞中 SRE-luc 和 CRE-luc 的活性,表明 GALR2b 介导了尼

罗罗非鱼 SPX1 的生理功能, 并且 PKC 和 PKA 通路参与了此过程^[6]。进一步深入研究 SPX 与 GnRH^[26]、GnIH^[27-28]、Kiss^[29-30]等其他神经肽之间的信号互作机制, 将有助于了解这些神经肽如何协同作用于生殖轴进而影响脊椎动物生殖活动。

3 鱼类 SPX 生理功能及表达调控研究

目前, 有关鱼类 SPX 生理功能的研究主要集中在摄食和生殖两方面。脑室注射 SPX1 显著性降低了金鱼本底以及神经肽 Y (NPY)或者食欲素(orexin)诱导的摄食量和摄食行为。此外, SPX1 也降低了脑中摄食促进因子(*npv*、*apelin*、*agrp*)的表达水平, 同时增加了摄食抑制因子(*cck*、*pomc*、*cart*、*crh*)的表达水平^[9]。腹腔注射 SPX1 也降低了西伯利亚鲟鱼的摄食量; 增加了下丘脑摄食抑制因子(*nucb2*、*cart*、*ucn3*、*pvy*)的表达水平, 降低了下丘脑摄食促进因子 *npv* 的表达水平; 与此同时, SPX1 也上调了胃中 *nucb2* 和 *pvy* 的表达水平, 下调了胃中 *ucn3*、*cck* 以及 *apelin* 的表达水平^[15]。与野生型斑马鱼相比, 敲除 *spx1* 基因的斑马鱼的摄食量显著性增加; 脑室注射 SPX1 降低了下丘脑 *agrp* 的表达水平, 增加了 *pomc* 的表达水平^[31]。上述结果表明 SPX1 抑制了鱼类摄食。

腹腔注射 SPX1 显著性降低了金鱼血清 LH 含量; SPX1 也抑制了金鱼垂体细胞 LH 分泌^[10]。同样, 腹腔注射 SPX1a 和 SPX1b 均降低了尼罗罗非鱼血清 LH 和 FSH 含量^[6]。有意思的是, 基因敲除 *spx1* 并不影响斑马鱼正常生殖能力^[31]。这可能是由于鱼类中存在生殖补偿机制, 敲除某一神经肽并不能影响鱼类正常生殖, 因为其他神经肽可能发挥了此神经肽的类似功能^[32]。在体和离体研究结果显示 SPX1 降低了斜带石斑鱼垂体 *gh* 表达水平, 但不影响 *fshβ* 和 *lhβ* 表达水平^[11]。腹腔注射 SPX1 促进了半滑舌鳎下丘脑 *gnih* 和 *gnrh3* 的表达水平, 抑制了垂体 *gh*、*gtha* 和 *fshβ* 表达水平, 但对 *lhβ* 表达水平没有影响^[13]。此外, 在斑马鱼背侧缰核中过表达 *spx1* 可以降低其焦虑行为^[33]。目前, 尚无有关脊椎动物 SPX2 生理功能的报道。综上所述, 鱼类 SPX 发挥了重要的生理功能。然而, 多种因素也可通过影响 SPX 基因表达, 进而间接调控鱼类摄食和生殖等生理过程。

3.1 营养状况对 *spx* 基因表达调控的影响

营养状况对鱼类 *spx* 基因表达具有重要的影响。在金鱼、雅鱼、西伯利亚鲟鱼和尼罗罗非鱼中, 饥饿导致脑中 *spx1* 基因表达量下降^[6, 9, 12, 15]。相反, 饥饿上调了斜带石斑鱼、半滑舌鳎和金钱鱼脑中 *spx1* 的表达水平^[11, 13, 14]。目前, 仅有一篇报道关于营养状况对 *spx2* 基因表达调控的影响。饥饿 2 周显著性上调了半滑舌鳎脑、垂体和卵巢中 *spx2* 的表达水平^[16]。这些

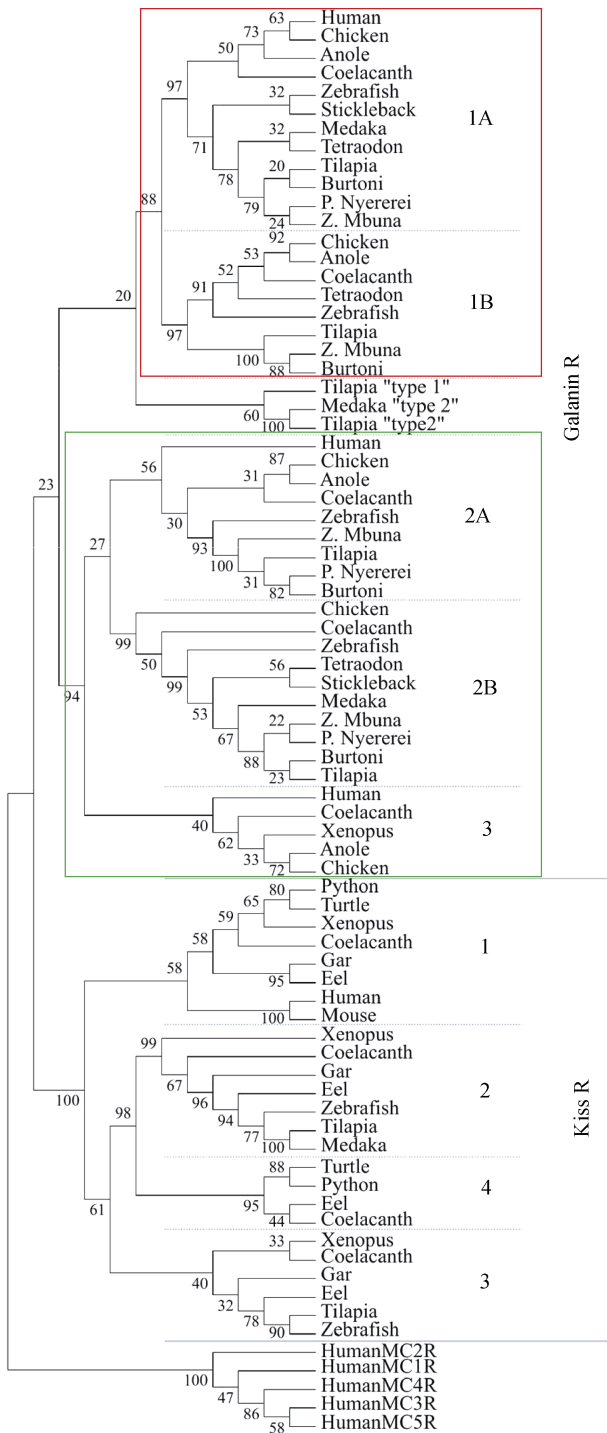


图 5 脊椎动物 GALR 和 KissR 进化树分析^[6]

Fig. 5 Phylogenetic analysis of vertebrate galanin and kisspeptin receptors^[6]

结果表明 SPX 可能参与了鱼类摄食调控和能量平衡, 并且营养状况对 *spx* 基因表达调控具有物种特异性。

MA 等^[34]以金鱼为实验模型进一步深入研究了营养状况与 *spx1* 基因表达之间的功能联系和信号转导机制。摄食增加了金鱼血清中葡萄糖、胰岛素和 SPX1 的含量, 同时上调了肝脏中胰岛素和 *spx1* 的表达水平。皮尔逊相关性分析表明血清中胰岛素和葡萄糖、SPX1 和葡萄糖、SPX1 和胰岛素之间存在正相关。腹腔注射葡萄糖增加了血清中葡萄糖含量, 上调了肝脏中胰岛素和 *spx1* 以及不同脑区中 *spx1* 的表达水平。此外, 腹腔注射胰岛素降低了血清中葡萄糖含量, 但增加了血清中 SPX1 含量, 上调了肝脏以及不同脑区中 *spx1* 的表达水平。胰岛素拮抗剂 S961 阻断了葡萄糖诱导的血清中 SPX1 含量以及肝脏和不同脑区中葡萄糖诱导的 *spx1* 的表达水平。与在体实验结果类似, 葡萄糖增加了金鱼肝脏细胞中胰岛素和 *spx1* 的表达水平; 胰岛素也增加了肝脏细胞中 *spx1* 的表达水平; 然而 S961 以及胰岛素受体抑制剂 HNMPA 均阻断了葡萄糖诱导的 *spx1* 的表达水平。胰岛素也上调了金鱼脑细胞中 *spx1* 的表达水平, 但 HNMPA 阻断了胰岛素诱导的 *spx1* 的表达水平。另外, 胰岛素处理肝脏细胞和脑细胞后均增加了 MEK_{1/2}、ERK_{1/2}、MKK_{3/6}、P₃₈^{MAPK}、PI3K 和 Akt 的磷酸化水平, 但 P₃₈^{MAPK}、PI3K 和 Akt 的抑制剂均降低了胰岛素诱导的 *spx1* 的表达水平。综上所述, 摄食后血糖浓度升高可以上调肝脏中胰岛素表达水平, 胰岛素通过其受体介导进而促进肝脏和脑中 *spx1* 表达, P₃₈^{MAPK} 和 PI3K/Akt 信号通路参与了此过程^[34]。此前已证实 SPX1 是金鱼摄食抑制因子, 它可以通过降低脑中摄食促进因子的表达和升高脑中摄食抑制因子的表达进而发挥其生理功能^[9]。这两个研究初步阐明了 SPX1 作为鱼类摄食抑制因子的分子机制。

3.2 性类固醇激素对 *spx* 基因表达调控的影响

在金鱼、斜带石斑鱼和金钱鱼中研究发现, 下丘脑 *spx1* 表达水平在卵巢成熟过程中逐渐降低, 暗示性类固醇激素可能调控 *spx1* 基因表达^[10, 11, 14]。金鱼卵巢切除后下丘脑 *spx1* 的表达量显著性上升, 而注射雌二醇(E₂)后其表达量又回到了本底水平, 表明 E₂ 抑制了金鱼下丘脑 *spx1* 的表达^[10]。同样, E₂ 也降低了金钱鱼下丘脑 *spx1* 的表达水平^[14]。迄今为止, 性类固醇激素是否也影响脊椎动物 *spx2* 的表达尚未有报道。

3.3 压力对 *spx* 基因表达调控的影响

尼罗罗非鱼群体具有明显的社会等级, 是研究社会失败压力(social defeat stress)的良好动物模型。它有 *spx1a* 和 *spx1b* 两种基因, 但不存在 *spx2* 基因; *spx1a* 在脑区 2(视顶盖、中脑、下丘脑)中表达量最高, 其次为脑区 3(小脑、后脑), 在脑区 1(端脑、视前区)中表达量最低, 远远低于脑区 2 和脑区 3; 相反, *spx1b* 在脑区 1 中表达量最高, 其次为脑区 3 和脑区 2^[35]。与对照组相比, 长期社会失败压力导致实验鱼血清中皮质醇含量上升; 脑区 2 中 *spx1a* 和 *spx1b* 的表达量也显著性增加, 但脑区 1 和脑区 3 中 *spx1a* 和 *spx1b* 的表达量无显著性差异, 此结果说明脑区 2 对压力应答很敏感。因为长期压力会抑制生殖、生长和摄食, 长期社会失败压力下导致尼罗罗非鱼脑区 2 中 *spx1* 的表达量上升, 说明 SPX1 可能抑制了这些生理过程, 这与之前 SPX1 生理功能研究结果是一致的^[3-4]。

4 小结与展望

SPX 是一种氨基酸序列高度保守的新型下丘脑神经肽, 通过 GALR2 和 GALR3 介导参与了哺乳类脂质代谢、血糖稳态、胃肠道蠕动、心血管功能等多种生理过程。目前, 仅在几种鱼类中鉴定出了 *spx1* 和 *spx2* 基因, 以及 6 种潜在的受体 *galr* 基因, 有关其生理功能研究也主要集中在摄食和生殖调控两方面。因此, 进一步深入开展以下方面的研究工作, 将有助于更好地了解 SPX 参与鱼类摄食和生殖等生理过程的协同作用机制: (1)阐明 SPX 组织分布特征。由于缺少特异性抗体, 有关鱼类 SPX 在脑等组织中的精确细胞定位研究较少。通过制备特异性抗体, 阐明 SPX 以及与其他神经肽之间的组织分布特征, 可为研究 SPX 生理学功能以及与其他神经肽之间的功能互作提供基本依据。(2)通过基因编辑等手段深入开展鱼类 SPX 生理学功能研究。哺乳类 SPX 的生理学功能受到了广泛研究, 然而鱼类 SPX 生理学功能研究刚刚起步, 尤其是关于 SPX2 的生理功能尚未见有报道。此外, 进一步开展 SPX 与其他神经肽(GnRH、GnIH、Kiss 等)之间的功能互作, 阐明鱼类生殖内分泌调控网络机制, 为研发鱼类新型生殖调控剂提供理论依据。(3)解析 SPX 受体下游信号通路, 完善信号转导网络机制。前期初步研究结果证实 SPX 能够通过 GALR2 和 GALR3 激活 PKC 和 PKA 通路, 然而 ERK、Ca²⁺等其他信号通路是否介导了

SPX 的生理功能仍不得而知。总之, 阐明上述研究内容才能更好地了解 SPX 参与鱼类摄食和生殖等生理功能的作用机制。

参考文献:

- [1] MIRABEAU O, PERLAS E, SEVERINI C, et al. Identification of novel peptide hormones in the human proteome by hidden Markov model screening[J]. *Genome Res*, 2007, 17(3): 320-327.
- [2] SONMEZ K, ZAVERI N T, KERMAN I A, et al. Evolutionary sequence modeling for discovery of peptide hormones[J]. *PLoS Comput Biol*, 2009, 5(1): e1000258.
- [3] LIM C H, LEE M Y M, SOGA T, et al. Evolution of structural and functional diversity of spexin in mammalian and non-mammalian vertebrate species[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2019, 10: 379.
- [4] MA A N, BAI J, HE M L, et al. Spexin as a neuroendocrine signal with emerging functions[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2018, 265(1): 90-96.
- [5] LV S Y, ZHOU Y C, ZHANG X M, et al. Emerging roles of NPQ/Spexin in physiology and pathology[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 457.
- [6] COHEN Y, HAUSKEN K, BONFIL Y, et al. Spexin and a novel cichlid-specific spexin paralog both inhibit FSH and LH through a specific galanin receptor (Galr2b) in tilapia[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2020, 11: 71.
- [7] LIN C Y, ZHANG M, HUANG T, et al. Spexin enhances bowel movement through activating L-type voltage-dependent calcium channel via galanin receptor 2 in mice[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 12095.
- [8] KIM D K, YUN S, SON G H, et al. Coevolution of the spexin/galanin/kisspeptin family: Spexin activates galanin receptor type II and III[J]. *Endocrinology*, 2014, 155(5): 1864-1873.
- [9] WONG M K, SZE K H, CHEN T, et al. Goldfish spexin: solution structure and novel function as a satiety factor in feeding control[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2013, 305(3): E348-366.
- [10] LIU Y, LI S S, QI X, et al. A novel neuropeptide in suppressing luteinizing hormone release in goldfish, *Carassius auratus*[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2013, 374(1/2): 65-72.
- [11] LI S S, LIU Q Y, XIAO L, et al. Molecular cloning and functional characterization of spexin in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*)[J]. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 2016, 196/197: 85-91.
- [12] WU H W, LIN F J, CHEN H, et al. Ya-fish (*Schizothorax prenanti*) spexin: identification, tissue distribution and mRNA expression responses to periprandial and fasting[J]. *Fish Physiol Biochem*, 2016, 42(1): 39-49.
- [13] WANG S P, WANG B, CHEN S L. Spexin in the half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*): molecular cloning, expression profiles, and physiological effects[J]. *Fish Physiol Biochem*, 2018, 44(3): 829-839.
- [14] DENG S P, CHEN H P, ZHAI Y, et al. Molecular cloning, characterization and expression analysis of spexin in spotted scat (*Scatophagus argus*)[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2018, 266: 60-66.
- [15] TIAN Z Z, XU S Q, WANG M, et al., Identification, tissue distribution, periprandial expression, and anorexiogenic effect of spexin in Siberian sturgeon, *Acipenser baeri*[J]. *Fish Physiol Biochem*, 2020, 46(6): 2073-2084.
- [16] WANG B, CUI A J, TIAN J, et al. Characterization of a novel spexin gene (spx2) in the half-smooth tongue sole and regulation of its expression by nutritional status[J]. *Aquac Rep*, 2020, 18: 100544.
- [17] YUN S, KIM D K, FURLONG M, et al. Does kisspeptin belong to the proposed RF-amide peptide family?[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2014, 5: 134.
- [18] GU L P, MA Y H, GU M Y, et al. Spexin peptide is expressed in human endocrine and epithelial tissues and reduced after glucose load in type 2 diabetes[J]. *Peptides*, 2015, 71: 232-239.
- [19] PORZIONATO A, RUCINSKI M, MACCHI V, et al. Spexin expression in normal rat tissues[J]. *J Histochem Cytochem*, 2010, 58(9): 825-837.
- [20] KIM E, JEONG I, CHUNG A Y, et al. Distribution and neuronal circuit of spexin 1/2 neurons in the zebrafish CNS[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 5025.
- [21] MILLS E G, IZZI-ENGBEAYA C, ABBARA A, et al. Functions of galanin, spexin and kisspeptin in metabolism, mood and behaviour[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2021, 17(2): 97-113.
- [22] MARTINS R S, PINTO P I, GUERREIRO P M, et al. Novel galanin receptors in teleost fish: identification, expression and regulation by sex steroids[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2014, 205: 109-120.
- [23] LI L F, WEI S L, HUANG Q Y, et al. A novel galanin receptor 1a gene in zebrafish: tissue distribution, developmental expression roles in nutrition regulation[J]. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 2013, 164(3): 159-167.
- [24] KIM E, JEONG I, KIM S, et al. Distribution of galanin receptor 2b neurons and interaction with galanin in the zebrafish central nervous system[J]. *Neurosci Lett*, 2016, 628: 153-160.
- [25] MENSAH E T, BLANCO A M, DONINI A, et al. Brain and intestinal expression of galanin-like peptide (GALP), galanin receptor R1 and galanin receptor R2, and GALP regulation of food intake in goldfish (*Carassius auratus*)[J]. *Neurosci Lett*, 2017, 637: 126-135.

- [26] MUNOZ-CUETO J A, ZMORA N, PAULLADA-SALMERON J A, et al. The gonadotropin-releasing hormones: Lessons from fish[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2020, 291: 113422.
- [27] WANG B, YANG G K, XU Y F, et al. Recent studies of LPXRFa receptor signaling in fish and other vertebrates[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2019, 277: 3-8.
- [28] MUNOZ-CUETO J A, PAULLADA-SALMERON J A, ALIAGA-GUERRERO M, et al. A journey through the gonadotropin-inhibitory hormone system of fish[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2017, 8: 285.
- [29] WANG B, MECHALY A S, SOMOZA G M. Overview and new insights into the diversity, evolution, role, and regulation of kisspeptins and their receptors in teleost fish[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 862614.
- [30] OHGA H, SELVARAJ S, MATSUYAMA M. The roles of kisspeptin system in the reproductive physiology of fish with special reference to chub mackerel studies as main axis[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2018, 9: 147.
- [31] ZHENG B B, LI S S, LIU Y, et al. Spexin suppress food intake in zebrafish: Evidence from gene knockout study[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 14643.
- [32] TRUDEAU V L. Facing the Challenges of neuropeptide gene knockouts: Why do they not inhibit reproduction in adult teleost fish?[J]. *Front Neurosci*, 2018, 12: 302.
- [33] JEONG I, KIM E, SEONG J Y, et al. Overexpression of spexin 1 in the dorsal habenula reduces anxiety in zebrafish[J]. *Front Neural Circuits*, 2019, 13: 53.
- [34] MA A N, HE M L, BAI J, et al. Dual role of insulin in spexin regulation: Functional link between food intake and spexin expression in a fish model[J]. *Endocrinology*, 2017, 158(3): 560-577.
- [35] LIM C H, SOGA T, LEVAVI-SIVAN B, et al. Chronic social defeat stress up-regulates spexin in the brain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Sci Rep*, 2020, 10: 7666.

Identification of the spexin system and its physiological functions in fish

TIAN Zhen-fang^{1, 2}, WANG Bin^{2, 3}, CUI Ai-jun^{2, 3}, XU Yong-jiang^{2, 3}, LIU Xue-zhou^{2, 3}, JIANG Yan^{2, 3}, TIAN Yun-chen^{1, 4}

(1. College of Fisheries, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China; 2. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China; 3. Joint Laboratory for Deep Blue Fishery Engineering, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266237, China; 4. College of Computer and Information Engineering, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China)

Received: Apr. 2, 2022

Key words: fish; spexin; galanin receptor; reproduction; feeding; signal transduction; gene expression

Abstract: Reproduction is regulated by the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in all vertebrates, and a plethora of neuropeptides are involved in the control of reproduction. Most are stimulatory neuropeptides, such as gonadotropin-releasing hormone, neurokinin B, neuropeptide Y, secretoneurin, agouti-related peptide, galanin (GAL), and kisspeptin (Kiss). Spexin (SPX) is a novel hypothalamic neuropeptide and a member of the SPX/Gal/Kiss family. The mature SPX peptide contains 14 amino acids in a highly conserved sequence. SPX is involved in various physiological processes, such as reproduction and feeding, among others, through GAL receptors 2 and 3 (GALR2/3). This review briefly summarizes research progress on SPX and its receptors in fish, focusing on gene identification, evolutionary analysis, tissue distribution, expression regulation, physiological function, and signal transduction mechanisms to provide a reference for subsequent in-depth research.

(本文编辑: 谭雪静)