

无脊椎动物高血糖肽激素和速激肽相关肽

Hyperglycemic peptide hormone and tachykinin-related peptides in invertebrates

陈皓文¹, 刘洪展²

(1. 国家海洋局第一海洋研究所, 山东青岛 266001; 2. 山东大学威海分校海洋学院, 山东威海 264209)

中图分类号: Q517

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2005)09-0083-05

人们对海洋生物资源的需求越来越迫切。近十几年来, 人们从海洋甲壳动物等无脊椎动物中不断发现新的起生理作用等的活性物质, 包括高血糖肽激素、速激肽相关肽等等。作者介绍这 2 种肽类物质的研究进展。

1 高血糖肽激素

高血糖肽激素(hyperglycemic peptide hormone), 即高血糖激素, 是窦腺(sinus gland, 缩写为 SG)中最丰富的一种肽激素, 习惯上称为甲壳动物高血糖激素(Crustacean hyperglycemic hormone, 缩写为 CHH)。以 CHH 为首, 结合 SG 中形成的其他激素, 如 Molt-inhibiting hormone(蜕皮抑制激素)(MIH)、性腺抑制激素(GIH)、卵黄发生抑制激素(Vitellogenesis inhibiting hormone)(VIH)和大腮器抑制激素(MOIH)等构成了 SG 中的肽激素之 CHH 一族。

已从三叶真蟹(*Carcinus maenas*)、黄道蟹(*Cancer pagarus*)、美洲螯龙虾(*Homarus americanus*)、虾蛄(*Orcanectes limosus*)、原螯虾(*Procambarus bouvieri*)、克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)、陆生等足目种类(*Armadillidium vulgare*)及罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)、日本对虾(*Penaeus japonicus*)、凡纳对虾(*Penaeus vannamei*)、刀额新对虾(*Metapenaeus ensis*)及南方白对虾(*Penaeus schmitti*)等动物中测出过 CHH^[1]。

1.1 CHH 族

CHH 主要位于 X-器官的窦腺复合物中, 它是多功能的神经激素, 主要功能是调节血糖水平、肝醣和葡萄糖代谢, 刺激卵细胞生长, 抑制性腺活动^[2], 具有多态性。它由眼柄中髓质末端 X 器官(MTXO)合成, 具 72~74 个氨基酸, 在相同的位置中有 6 个 cys 残基。甲壳动物 CHH 的氨基酸序列高度相似, 但其

核苷酸和氨基酸序列仅有 40%~60% 的一致性。单一物种种类中普遍存在多重同工型或不同的 CHHs, 表明这些神经激素可能由几个基因编码。下面分述之。

1.1.1 刀额新对虾高血糖肽激素, 即 MeCHH

刀额新对虾(*Metapenaeus ensis*)的前 CHH 原样(即类似前 CHH 原, 下同)肽由一个信号肽、CHH 前体相关肽(CHH-Precursor-related peptide, 缩写为 CPRP)和 CHH 样肽组成, 该虾肽的信号肽和 CPRP 是所有 CHH 中最短者。刀额新对虾高血糖肽激素在眼柄中表达, 不在心脏、肝胰腺、肌肉、神经索和孵化前胚胎中表达^[3]。其基因组至少含 CHH 样基因 6 个拷贝。该基因在染色体上排成一簇。该 CHH 样基因 1.5~2.1 kb, 分享 98%~100% 的氨基酸序列同一性。每个 CHH 样基因有 3 个外显子、2 个内显子。第 1 个内显子分离信号肽, 第 2 个内显子在密码区分成熟肽。该 CHH 样基因的上游 5' 区的 150~200 dp 含类似于多数真核生物基因特征的启动子。该 CHH 样基因的组织类似于同一种虾和斑纹潜(*Charybdis feriatius*)的 MIH 基因。根据 CHH 基因的结构组织的信息可理解这些基因表达的调节, 提供此种群在肽水平上进化的信息。研究 CHH 对生物的分子种系发生(Molecular phylogeny)有价值^[3]。Perez 等^[4]已提议用有关信息进行虾亚属的分类。已分离出 *Metapenaeus ensis* 编码推测性 CHH₅ 的一个 cDNA, 并描述了其特征, 也展示了该 C

收稿日期: 2003-05-12; 修回日期: 2004-01-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(40086001)

作者简介: 陈皓文(1941-), 男, 研究员, 主要从事海洋、环境、生态、水产微生物及活性物质研究, E-mail: haowen.chen@yahoo.com

HH样基因的结构组织,证实该虾的CHH样神经肽是由排列在同一染色体片断上的一簇基因的多重拷贝所编码的。

1.1.2 美洲螯龙虾 CHH

美洲螯龙虾(*Homarus americanus*) 腺中有2个CHH-免疫反应组。每组都有两个不同样氨基酸序列和分子量的同工型。已分离出两个全长的cDNA,它们编码两个不同的CHH前激素原的cDNA。此前激素原结构由一个信号肽、一个与CHH前体相关的肽和一个高度保守的CHH肽组成。X器官不是CHHmRNA的唯一来源^[2,5]。

Kleijn等^[2]从美洲螯龙虾腺液浸汁中提取出两组高血糖神经肽。腹神经系统也表达此mRNA,而且腹神经系统中的CHH可能参与生殖和蜕皮。

此螯龙虾CHH分2个,一个为CHH-A,另一个为CHH-B。CHH-B不仅具有高血糖活动,对卵母细胞生长还有刺激作用。另一个具有抑制蜕皮和高血糖活性的龙虾神经肽也与CHH-A序列高度相关^[3]。

1.2 蜕皮抑制激素 MIH

甲壳动物蜕皮甾类化合物(蜕皮类固醇)在软甲亚纲甲壳动物触角或颌节上的一对腺体中,组织学及功能上似昆虫的前胸腺,即Y器官中合成。主要作为,一蜕皮素发挥作用,后来则转换为20-OH-蜕皮素(在血淋巴和靶组织中)。腺液含阻遏循环蜕皮甾类化合物升高的因子,即蜕皮抑制激素,SG抽提物将阻遏蜕皮甾类化合物的生物合成^[6]。

已测定过美洲螯龙虾(*Homarus americanus*)、三叶真蟹(*Carinus maenas*)、凡纳对虾(*Penaeus vannamei*)、原螯虾(*Pracambarus bourieri*)和蓝蟹(*Callinectes sapidus*)的MIH一级结构。它们显出与几个甲壳动物高血糖激素有高度序列相似性。均属于同一神经肽家族,该类神经肽还包含卵黄生成抑制激素(VIH)^[6~8]。

Aguilar等^[9]已揭示出MIH的氨基酸序列,它有72残基的肽链组成,分子质量为8322u,其中有6个半胱氨酸形成3个二硫键,连接残基7-43、23-29和26-52,已封阻了N-端和C-端,缺少氨酸、组氨酸和甲硫氨酸。

1.2.1 斑纹蜉和美洲龙虾 MIH

已克隆出斑纹蜉(*Charybdis feriatius*)MIH的基因,并分离出几个重叠的基因组无性系和重组了MIH基因^[10]。该MIH基因全长4.3kb,由3个外显子和2个内显子组成。外显子1和2携带单一肽的编码序列,外显子2和3组成天然肽的编码序列。该MIH基因的外显子-内显子边界也遵循“GFAG规律”(剪接供体和受体)。该MIH的氨基酸序列与

蟹 *Callinectes sapidus* 和 *Carcinus maenas* 的MIH及大红虾的生殖腺抑制激素(GIH)显出高度全面相似性。蜕皮间的后蜕皮前期、孵化卵的雌体虾眼柄可测出MIH转录物,脑中也有,但卵巢中无,肝胰腺中无、肌肉和表皮中也无。该蟹的MIH的基因较简单,其启动子组成了一些共同的转录因子的推测性元素。该蟹MIH的基因是在成体眼柄和幼体神经组织中的全部抑皮周期中连续表达的^[10]。

Homarus americanus 的MIH的氨基酸序列于1990年首报^[6]。这是从该龙虾的腺液浸液中分离出来的。它是71个残基的疏水肽,可延长蜕皮间期、降低幼体的蜕皮甾类化合物的值。N-端焦谷氨酸残基的移去使前36个残基中的30个序列化。该MIH还有高血糖活性。三叶真蟹(*Carcinus maenas*)的Cam-CHH则有72个氨基酸残基,分子质量为8524u。Hoa-MIH与Cam-CHH有61%的序列相似性,6个cys残基位置是一样的,Cam-CHH有某些MIH活性,但与Cam-MIH则不同。

1.2.2 日本对虾 MIH

日本对虾(*Penaeus japonicus*)的MIH,有6个,均分离于腺液浸汁,其中之一为Pej-SGP-IV,它活跃地抑制ecdysteroid合成。Pej-SGP-IV由7个氨基酸残基组成,有游离氨基端和羧基端。它的氨基酸序列与三叶真蟹(*Carcinus maenas*)MIH相当类似,与Pej-SGP-III相似性很少。甲壳动物X-器官腺液系统是神经内分泌调节的中心,结构和功能类似于脊椎动物下丘脑神经垂体后叶系统。甲壳动物许多生理过程如糖原代谢、蜕皮和生殖均为该系统分泌的神经肽激素所调节。眼柄中的X器官合成MIH,故Y器官进行的蜕皮类固醇合成被认为是为X-器官腺液系统的MIH所调节^[11]。

CHH、MIH、VIH组成甲壳动物高血糖激素即CHH家族或CHH/MIH/VIH家族,它们的共性是:由72~78个氨基酸残基组成,在保守的分子中具6个cys残基的类似氨基酸序列^[1~3,5~10]。

在某些X-器官核周体(Perikaryon)(文中为Perikarya)中的甲壳动物高血糖激素(CHH)、蜕皮抑制激素(MIH)和卵黄形成抑制激素(VIH)组成结构上同源的神神经肽,均在眼柄中经髓质终端X-器官的神经元合成并沿着轴索传输至神经血(neurohaemal)贮存器官,从腺液释放入循环中。CHH在糖代谢,MIH在生长调节上,VIH在生殖发育中各起主要作用。三者血免疫学上的相似性可在免疫组织化学水平上测得^[7]。

McGAW等^[12]指出十足类甲壳动物中肽神经激素还包括五肽原肌肽,甲壳动物心脏激活肽(CCAP)和FMRF酰胺相关肽F1和F2,它们在功能上类似,

与心脏血管调节(蛋白)有关,均位于心脏上游的围心血管中。

不仅从三叶真蟹(*Carcinus maemas*)和美洲螯龙虾(*Homarus americanus*)中已分出 MIHs,还测了序^[6,8]。也描述了美洲螯龙虾 VIH^[12]。

2 无脊椎动物速激肽相关肽

2.1 速激肽相关肽(TRPs)由来

速激肽(tachykinin)存在于许多动物中,它是一

组具有多种生物学活性功能的神经多肽家族,也称 neurokinins(神经激肽),量大且结构各异,其共同之处在于共有保守的 C-末端序列,即苯丙-X-甘-亮-甲硫-NH₂,其中的 X 或为一芳(香)族氨基酸,或为一支链脂肪族氨基酸。它分布在中枢、外周神经系统及许多其他组织中,并因其受体的亚型差异而发挥不同作用,包括从炎症到神经传递的作用。速激肽还包括 P 样物质等。

表 1 无脊椎动物速激肽相关肽来源生物及其氨基酸序列

生物名称	缩写	起源组织	序列	备注
马德拉蚌螯 (<i>Leucophaea maderae</i>)	LemTRP-1	脑、中肠	APSGFLGVRa	蚌螯速激肽相关肽
	LemTRP-2	脑、中肠	APEESPKRAPSGFLGVRa	蚌螯速激肽相关肽
	LemTRP-3	中肠	NGERAPGSKKAPSGFLGTRa	蚌螯速激肽相关肽
	LemTRP-4	中肠	APSGFMGMRa	蚌螯速激肽相关肽
	LemTRP-5	脑、中肠	APAMGFQGVa	蚌螯速激肽相关肽
	LemTRP-6	脑	APAAGFFGMRa	蚌螯速激肽相关肽
	LemTRP-7	脑	VPASGFFGMRa	蚌螯速激肽相关肽
	LemTRP-8	脑	GPSGFYGVa	蚌螯速激肽相关肽
	LemTRP-9	脑	APSMGFQGMRa	蚌螯速激肽相关肽
	LemTRP-10	脑	SGLDSLGSATFGGNRb	蚌螯速激肽相关肽
非洲蝗虫 (<i>Cocusta migratoria</i>)	LomTK-I	脑集合物	GPSGFYGVa	蝗虫速激肽
	LomTK-II	脑集合物	APLSGFYGVa	蝗虫速激肽
	LomTK-III	脑集合物	APQAGFYFVRa	蝗虫速激肽
	LomTK-IV	脑集合物	APSLGFHGVa	蝗虫速激肽
	LomTK-V	脑集合物	XPSWFYGVa	蝗虫速激肽
反吐丽蝇 (<i>Calliphora voonitoria</i>)	CavTK-I	全身、头	-APTAFYGVa	(反吐)丽蝇速激肽
	CavTK-II	全身、头	-GLGNNAFVGVRa	(反吐)丽蝇速激肽
草潭库蚊 (<i>Culex salinarius</i>)	CTK-I**	全身、头	APSGFMGMRa	(草潭)库蚊速激肽
	CTK-II	全身、头	APYGFTGMRa	(草潭)库蚊速激肽
	CTK-III	全身、头	-APSGFFGMRa	(草潭)库蚊速激肽
埃及伊蚊 (<i>Aedes aegypti</i>)	Sialokimin I ^d	唾液腺	NTGDKFYGLMa	(埃及库蚊)唾液激肽 I
	Sialokimin II ^d	唾液腺	DTGDKFYGLMa	(埃及库蚊)唾液激肽 II
黄道蟹 (<i>Cancel borealis</i>)	CabTRP-I a ^c	中枢神经系统	APSGFLGMRa	黄道蟹速激肽相关肽 Ia
	CabTRP-I b	中枢神经系统	SGFLGMRa	黄道蟹速激肽相关肽 Ib

生物名称	缩写	起源组织	序列	备注
刺虫	UruTK-I	中枢神经系统	LAQSQFVGSRa	刺虫速激肽-I
(<i>Urechis uncinotus</i>)	UruTK-II	中枢神经系统	AAGMGFFGARa	刺虫速激肽-II
无齿蚌	AncTK	中枢神经系统	PQYGFHAVRa	无齿蚌速激肽
(<i>Anodonta cygnea</i>)				
章鱼	Eledoisin ^d	唾液腺	pEPSKDAFIGLMa	章鱼涎肽
(<i>Eledone moschate</i>)				

注:修改自文献[14];* * 单一的;a. 分离出肽的组织;b. 该肽非酰胺化;c. 最初自凡纳对虾来;d. 其序列与脊椎动物速激肽有较大序列同一性

无脊椎动物中与速激肽有某些序列相似性的肽是在1991年发现的,以后有关研究发展很快^[13]。由于它与速激肽相似相关,因而被暂定名为速激肽相关肽(tachykinin-related peptides,缩写为TRPs),其氨基酸最多的与速激肽有40%的相似性。表1列出了这些TRPs的名称、生物来源和器官、缩写名及氨基酸序列等。

由表1可以查见,至此用于TRPs研究的生物至少有9种,其中来自海洋的仅有2种。

2.2 TRPs 所在部位

TRPs在神经系统和肠中的丰度分布与速激肽有某些相似性。它们在所研究的动物中,其所在部位如表2所示。

表2 速激肽相关肽(TRPs)在所研究的动物中的部位表

所研究的动物	TRPs 所在部位
鲎、甲壳动物、昆虫	中枢神经系统(CNS),眼
甲壳动物、昆虫	胃神经系统
昆虫	中肠的内分泌细胞
腔肠动物、扁虫、软体动物	肠神经
马德拉蛭	2个TRPs在中肠,另有4个专一地在脑中,还有3个在脑及肠组织中
昆虫、甲壳动物	脑中有TRPs的神经元
蟑螂	脑、中肠
甲壳动物、蜗牛	中央及外神经系统、内脏肌肉、腺体
双壳类软件动物	成熟的神经系统、一些腺体、内脏肌
小章鱼	唾液腺
大蜗牛	脑、足神经节、原小脑
无齿蚌	脑、足、内脏神经节

注:引自文献[14]

2.3 TRPs 性状、作用与功能

TRPs的活动构象和哺乳动物速激肽相似。

鲎脑的P样物质的免疫反应性与昆虫的TRPs类似。在眼里它调节外周视觉加工、光敏的昼夜节律,使小眼结构中的形态变化以增加光敏性。在鲎视觉系统、乌贼巨神经胶质、低等无脊椎动物发育中,TRPs起调控作用。果蝇胚胎发育中有TRPs受体。

黄道蟹的CabTRP-Ia调节和刺激胃神经节Sto-

matogastric ganglion(STG)中幽门不同类型的运动神经活动。

迄今所分离的无脊椎动物TRPs都对蟑螂后肠自然收缩有一个刺激作用。昆虫和甲壳动物的TRPs在中央和外周神经系统中及内脏肌肉及腺中发挥作用。脊椎动物速激肽作为神经调节子起作用。无脊椎动物中TRPs也起神经调节作用、局部释放的神经调节子和循环激素作用。

Christie 等^[15]揭示出黄道蟹(*Cancer borealis*)神经系统中的 CabTRPIa 和 CabTRPIb 均含羧基端序列: -FLG-MR-NH₂。CabTRPIa 在 STG 中有 3.75×10^{13} mol 调节幽门运动神经类型,对幽门节律有刺激作用,但该作用为脊椎动物 NK-13 受体的一个肽拮抗物-SpantideI 所抑制。

CabTRPI 的量比 CabTRPIb 高出 20 倍,其潜力更比 CabTRPIb 强 500 倍。CabTRPIb 是 CabTRPIa 的降解产物。CabTRPIb 可能在 *C. borealis* 的一些其他系统中起生理作用,包括对 STG 功能在内,对幽门节律无连续干扰。CabTRPIa 与 Ib 的序列也不一,前者为 APSGFLGMR-NH₂, 后者为 SGFLGMR-NH₂。

TRPs 以保守的 C-端的五肽 FX₁GX₂ 酰胺(X₁和 X₂是可变残基)为特征。研究表明 TRPs 在中枢和外周神经系统,在其他组织中是有靶的多功能肽。

TRPs 主要功能归结如下:1) 对昆虫(如蟑螂)后肠肌肉有肌刺激作用。2) 诱导蟑螂前肠、输卵管及蛾心肌收缩。3) 触发蟹胃神经中枢运动物的神经节律。4) 作为触发蝗虫、蜗牛的去极化或超极化一致的中间神经之节奏。5) 诱导蝗虫心侧体释放脂动激素。6) 在甲壳动物、昆虫胃神经系统及昆虫中肠的内分泌细胞中起 TRP-免疫反应作用。7) 在节肢动物、腔肠动物、扁虫、软体动物中,TRPs 在(肠)神经过程中发挥类似作用。8) 在果蝇胚胎发育过程中 TRPs 也发挥作用。9) 鲎视觉系统、乌贼巨(神经)胶质中起调节作用。10) 其他各种附加作用及至今不明的生理作用。

3 结语

综上所述,高血糖肽激素,速激肽相关肽是无脊椎动物体内的重要肽类物质。近年来,中国对海洋的一些无脊椎动物从药理上进行过许多研究,但与先进国家相比,我们的差距还是很明显的,摆在面前的一个紧迫任务是逐步应用和发展高新技术,分离、分析肽等活性物质的结构、功能和作用机理,调动它们的免疫功能,包括先天免疫功能。从中筛选出高活性的肽类化合物,有的放矢地进行增殖及其病害防治,有望人工合成相关的化合物。

参考文献:

- [1] Huberman A, Aguilar MB, Navarro-Quiroga I, *et al.* A hyperglycemic peptide hormone from the Caribbean Shrimp *Penaeus (Litopenaeus) Schmitti*[J]. *Peptides*, 2000, 21: 331-338.
- [2] De Kleijn DPV, Leeuw EPHd, Berg MCvd, *et al.* Cloning and expression of tub mRNAs encoding structurally different crustacean hyperglycemic hormone precursors in the lobster *Homarus Americanus* [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 1995, 1260: 62-66.
- [3] Gu P L, Chan S M. The shrimp hyperglycemic hormone-like neuro peptide is encoded by multiple copies of genes arranged in a cluster[J]. *FEBS Letters*, 1998, 441: 397-403.
- [4] Perez Farfante I, Kensley B. Penaeoid and serges-toid shrimps and prawns of the world. Keys and diagnoses for the families and genera[M]. Leiden: Universal Book Services, 1997. 89-100.
- [5] Tensen CP, De Kleijn DPV, Van Herp F. Cloning and sequencing analysis of cDNA encoding two crustacean hyperglycemic hormones from the lobster, *Homarus americanus*[J]. *Eur J Biochem*, 1991, 200: 130-106.
- [6] Chang E S, Probst G D, Bruce M J. Amino acid sequence of a peptide with both molt-inhibiting activity and hyperglycemic activities in the lobster *Homarus Americanus*[J]. *Biophys Biochem Res Colu*, 1990, 171: 818-826.
- [7] Marco HG, Gade G. A. Comparative immunocyto-chemical study of the hyperglycaemic, molt-inhibiting and votellogenesis-inhibiting neurohormone family in three species of otecapod crustacea[J]. *Cell Tissue Res*, 1999, 295: 175-182.
- [8] Webster S G. Amino acid sequence of putative molt-inhibiting hormone from the crab, *Carcinus maenas* [J]. *Proc R Soc Cond B*, 1991, 244: 247-252.
- [9] Aguilar M B, Falchetto R, Shabanowitz J, *et al.* Complete primary structure of the molt inhibiting hormone (MIH) of the Mexican crayfish *Procambarus bouvieri* (Ortmann)[J]. *Peptides*, 1996, 17: 367-374.
- [10] Chan S M, Chen X G, Gu P L. PCR cloning and expression of the molt-inhibiting hormone gene for the crab (*Charydais feriatius*)[J]. *Gene*, 1998, 224: 23-33.
- [11] Yang W J, Aide K, Terauchi, *et al.* Amino acid sequence of peptide with molt inhibiting activity from Kuroma prawn *Penaeus japonicus* [J]. *Peptides*, 1996, 17: 197-202.
- [12] McGAW I J, Wilkens J L, McMahon BR, *et al.* Crustacean cardioexcitatory peptides may inhibit the heart in vivo[J]. *J Exp Biol*, 1995, 198: 2 547-2 550.
- [13] Soye D, Le Caer J P, Noel PY, *et al.* Primary structure of two isoforms of the vitellogenesis inhibiting hormone from the Lobster *Homarus americanus* [J]. *Neuropeptides*, 1991, 20: 25-32.
- [14] Nässel D R. Tachykinin-related peptides in invertebrates; a review[J]. *Peptides*, 1999, 20: 141-158.
- [15] Christie A C, Lundquist C T, Nässel D R, *et al.* Two novel tachykinin-related peptides from the nervous system of the crab *Cancer borealis*[J]. *J Exp Biol*, 1997, 200: 2 279-2 294.

(本文编辑:张培新)