

陈 凯, 谢 骏, 梁利国, 等. 黑素皮质素 2 型受体相关研究进展[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(5): 16–20.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.05.005

# 黑素皮质素 2 型受体相关研究进展

陈 凯<sup>1,2</sup>, 谢 骏<sup>2</sup>, 梁利国<sup>2</sup>, 习丙文<sup>2</sup>

(1. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306;

2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心/农业部淡水渔业和种质资源利用重点实验室, 江苏无锡 214081)

**摘要:**黑素皮质素受体是一种 G 蛋白偶联受体, 它在下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴调控的应激应答中扮演着重要角色。MC2R 本身由 1 条多肽链构成, 具有 7 个跨膜的  $\alpha$  螺旋, 其相应配体促肾上腺皮质激素 (ACTH) 是唯一能激活 MC2R 的内源性物质, 与此同时, MC2R 对辅助蛋白 (MRAP) 具有严格的依赖性, 只有 MRAP 存在的情况下, 才能实现 MC2R 的功能表达, 前人对其结构、功能和进化开展了大量研究。本研究就 MC2R 及其配体 (ACTH)、辅助蛋白 (MRAP) 以及这一受体在鱼类应激方面的研究进行了简要概述, 为渔业生产中的应激防控提供理论依据。

**关键词:**黑素皮质素受体-2 (MC2R); 促肾上腺皮质激素 (ACTH); 辅助蛋白 (MRAP); 应激调控

**中图分类号:** S942 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)05-0016-05

黑素皮质素 2 型受体 (melanocortin-2 receptor, MC2R) 属于 G 蛋白偶联受体的一个亚家族, 具有 7 个跨膜的  $\alpha$  螺旋, 由 1 条多肽链构成, 包括 3 个胞内环、3 个胞外环以及短的氨基末端和羧基末端, 其中氨基末端区域是已知 G 蛋白偶联受体家族中最短的<sup>[1]</sup>。通过对鸟类<sup>[2]</sup>以及四足类等大量动物<sup>[3-4]</sup> MC2R 的氨基酸序列比对发现, 第一胞内环、第二胞内环、第二跨膜区、第三跨膜区以及第七跨膜区表现出高度的保守性。这一保守性在关于 MC2R 的研究中被证实参与到配体结合位点的构成<sup>[5-6]</sup>。

早期, Schwyzer 等对包括人类在内的哺乳动物黑素皮质素 2 型受体及其配体促肾上腺皮质激素 (adrenocorticotrophic hormone, ACTH) 的结构与功能进行了大量研究<sup>[7-8]</sup>。后来陆续出现非哺乳类动物 MC2R 相关研究, 先后在鸟类<sup>[9]</sup>、四足类动物 (包括爬行类和两栖类)<sup>[10]</sup>、硬骨鱼类<sup>[11-12]</sup>以及软骨鱼类<sup>[13]</sup>中发现了 MC2R 基因, 上述研究成果为 MC2R 基因在进化方面的研究提供了丰富的研究材料<sup>[14-15]</sup>。同时也有报道表明, MC2R 在药理特性方面表现出对配体的高度选择性 [即 MC2R 仅为 ACTH 激活, 黑素细胞刺激素 (melanocyte-stimulating hormone, MSH) 类型的黑皮质素受体激动剂不能激活 MC2R]<sup>[7,16-17]</sup>; MC2R 在机体组织中的分布与功能表达存在限制性<sup>[18-19]</sup>, 并证实对黑素皮质素 2 型受体辅助蛋白 (melanocortin-2 receptor accessory protein, MRAP) 存在依赖性<sup>[2,5,13]</sup>。MC2R 只有在 MRAP 存在时才能实现由内质网向细胞膜表面的迁移, 而最终实现功能表达还需要 1 型辅助蛋白 (melanocortin-2 receptor accessory protein, MRAP1) 的参与<sup>[17,19-21]</sup>。

下丘脑-垂体-肾上腺在哺乳动物应激过程中的调控方面发挥着重要作用, 动物在应激源刺激之后, 下丘脑释放促肾上腺皮质激素释放激素作用于垂体前叶, 使垂体前叶促肾上腺皮质激素细胞合成加工并释放促肾上腺皮质激素 (ACTH), ACTH 作用于肾上腺, 并与 MC2R 结合启动相关信号通路, 诱导皮质醇合成。目前, 已在哺乳动物的相关研究中证实, MC2R 被 ACTH 激活后诱发的 cAMP 积累对皮质醇的合成具有关键作用<sup>[22]</sup>; 而在硬骨鱼中, 皮质醇的合成分泌是在头肾肾间组织中完成的。类似于哺乳动物中的下丘脑-垂体-肾上腺调控轴, 在硬骨鱼类中由下丘脑、垂体以及肾间组织构成<sup>[23-24]</sup>。早期研究中只是对头肾中 MC2R 基因进行了简单的检测, 后来通过分子技术以及原位杂交的手段确定了 MC2R 的存在, 最终通过体外试验的方法证实皮质醇同 ACTH 的关系, 为下丘脑-垂体-肾上腺/肾间组织轴在鱼类中的存在提供了依据, 为鱼类中的应激调控研究提供了理论结构基础<sup>[25]</sup>。

本文综述了近年来对 MC2R 相关配体、辅助蛋白以及应激调控方面的研究进展, 为实际生产中的应激防控提供理论依据。

## 1 MC2R 的配体

迄今为止, 在哺乳动物<sup>[17]</sup>、鸟类<sup>[9]</sup>、爬行动物<sup>[26]</sup>、两栖动物<sup>[26]</sup>以及鱼类<sup>[27-28]</sup>代表物种中, 关于 MC2R 的研究均显示其在配体选择性方面具有专一性, 即 MC2R 不能被 MSH 类型的 MC2R 配体激活, 仅能被 ACTH 激活。Schwyzer 等在 MC2R 相关配体结构的研究中发现, 能激活 MC2R 的配体均含有 H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup> 结构<sup>[7]</sup>, 以致于一度被认为, MSH 类型的配体虽不能激活 MC2R, 但存在与 MC2R 结合的能力, 即 MSH 类型的配体可能与 ACTH 之间存在着竞争抑制的关系。随着研究深入, 结果证实, MSH 类型的配体虽然同 ACTH 有同样的 H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup> 结构, 但仍然不能与 MC2R 结合, 试验中也证实 MSH 类型配体的存在并不能抑制 ACTH 同 MC2R 结合<sup>[7]</sup>。

最初被研究的 MC2R 配体是人类的 ACTH, 因其由 39 个

收稿日期: 2014-12-09

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项 (编号: CARS-46-10);

江苏省水产三新工程 (编号: D2013-5)。

作者简介: 陈 凯 (1990—), 男, 四川成都人, 硕士研究生, 研究方向为水产动物营养与疾病防控。E-mail: kaiaitg2009@163.com。

通信作者: 谢 骏, 研究员。E-mail: xiej@ffrc.cn。

氨基酸构成,所以被记作 ACTH(1-39),早期研究中,通过对氨基酸序列的比对以及对 ACTH(1-39)的人为改造(包括切除/丙氨酸替换等方式)以及自然突变体的研究发现,包括 ACTH(1-39)在内的 MC2R 配体均具有 H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup> 结构<sup>[7,29-30]</sup>。然而,由于 MC2R 表现出在配体选择性方面有异与其他 MC2R 的专一性,说明其在结构上应有相应的特殊性;与此同时,Schwyzner 等也发现,当类似物 ACTH(1-24)[为人工改造的 ACTH(1-39)的类似物,具有同 ACTH(1-39)完全相同生物活性]的 R<sup>18</sup>、R<sup>17</sup>、K<sup>16</sup> 残基被删除时,ACTH(1-39)类似物 ACTH(1-16)显示出的相关生物活性的消失与降低以及类似物 ACTH(11-24)对 ACTH(1-39)的拮抗作用,都显示出碳端某种重要结构的存在。最终,ACTH 的 K<sup>15</sup>K<sup>16</sup>R<sup>17</sup>R<sup>18</sup> 结构得以发现<sup>[7]</sup>。2004 年,Costa 等进一步指出 hACTH(1-24)中的 P<sup>19</sup> 残基也参与到这一结构序列的组成,于是这一结构被拓展为 K<sup>15</sup>K<sup>16</sup>R<sup>17</sup>R<sup>18</sup>P<sup>19</sup> 结构<sup>[31]</sup>。

随后有研究进一步显示,MC2R 虽然与其他 MC2R 有相同的结合 H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup> 结构的位点,但其在自然状态下是被隐藏了,因此 ACTH 与之相结合的过程并不是一步完成,于是双重结构模型被提出<sup>[7,32]</sup>。在 MC2R 中与 ACTH 结合相对应的位点中只有 K<sup>15</sup>K<sup>16</sup>R<sup>17</sup>R<sup>18</sup>P<sup>19</sup> 结合位点暴露在外,在两者发生结合时,K<sup>15</sup>K<sup>16</sup>R<sup>17</sup>R<sup>18</sup>P<sup>19</sup> 结构首先与 MC2R 上的对应位点相结合,继而改变 MC2R 的空间构象,致使 H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup> 结构的对应位点暴露,然后 H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup> 结构得以与 MC2R 相应位点结合,最终促发下游偶联蛋白<sup>[17]</sup>。Schwyzner 将 ACTH(1-24)中的 K<sup>15</sup>K<sup>16</sup>R<sup>17</sup>R<sup>18</sup> 结构定义为定位结构序列,它能选择性的结合到 ACTH 受体上,但其本身不具备激活受体的能力<sup>[7]</sup>。而 H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup> 结构被定义为信息结构序列,当其与 ACTH 受体结合时,相应的下游应答反应随即出现。因此,MC2R 的激活需要 H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup> 和 K<sup>15</sup>K<sup>16</sup>R<sup>17</sup>R<sup>18</sup> 等 2 种结构同时存在;由于  $\alpha$ -MSH 只具备 H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup> 结构,缺少 K<sup>15</sup>K<sup>16</sup>R<sup>17</sup>R<sup>18</sup> 结构,使得  $\alpha$ -MSH 不具备激活 ACTH 受体的能力,因而不能诱导肾上腺细胞产生糖皮质激素<sup>[30,33]</sup>。

在双重结构模型中,一旦 K<sup>15</sup>K<sup>16</sup>R<sup>17</sup>R<sup>18</sup>P<sup>19</sup> 结合位点被相应结构结合,就会导致 H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup> 结构结合位点暴露,有研究提出,K<sup>15</sup>K<sup>16</sup>R<sup>17</sup>R<sup>18</sup>P<sup>19</sup> 结合位点与相应结构结合之后, $\alpha$ -MSH 能激活 MC2R,因为  $\alpha$ -MSH 同样具有 H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup> 结构<sup>[7]</sup>。而在 Navolotskaya 等的研究中发现,类似物 ACTH(11-24)以及源自人类白细胞介素前体-1a(pro-interleukin-1a)虽然能结合受体上的 K<sup>15</sup>K<sup>16</sup>R<sup>17</sup>R<sup>18</sup>P<sup>19</sup> 位点;但其氮端可能干扰  $\alpha$ -MSH 的进入,从而不适合这一猜想的验证<sup>[34]</sup>。因此,在验证性试验中使用了 ACTH(15-24),它既保证 K<sup>15</sup>K<sup>16</sup>R<sup>17</sup>R<sup>18</sup>P<sup>19</sup> 结构与其结合位点的正常结合,又避免对 H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup> 结合位点的干扰。试验中将 hMC2R/mMRAP 转染 CHO 细胞以 hACTH 刺激作为阳性对照,使用组合  $\alpha$ -MSH 与 ACTH(15-24)或者是组合 ACTH(4-10)和 ACTH(15-24)共同刺激作为试验组。结果发现,仅对照组受体被激活,试验中均未引起受体的激活。这显示 K<sup>15</sup>K<sup>16</sup>R<sup>17</sup>R<sup>18</sup>P<sup>19</sup> 结构和 H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup> 结构之间可能还存在一些关键的氨基酸残基<sup>[7,10]</sup>。进一步研究显示,以丙氨酸替换 G<sup>10</sup>K<sup>11</sup>P<sup>12</sup>V<sup>13</sup>G<sup>14</sup> 残基中的任何一个时,都会对人类 MC2R 的激活造成干扰,而对四足爬行动物的相关研究同样显示丙氨酸替换会引起不同程

度的影响。其中,3 种四足爬行动物的 MC2R 结构十分相似,因此出现的不同影响是由 ACTH 的精细三级结构变化造成的。那些同时具备 K<sup>15</sup>K<sup>16</sup>R<sup>17</sup>R<sup>18</sup>P<sup>19</sup> 结构以及 H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup> 结构而中间缺失了氨基酸残基的 ACTH(1-21)以及 ACTH(1-22)类似物之所以不能激活受体是由 G<sup>10</sup>K<sup>11</sup>P<sup>12</sup>V<sup>13</sup>G<sup>14</sup> 结构所拥有的精细调控功能丧失所造成的<sup>[10]</sup>。最终 MC2R 的结构被划分为 3 个结构区域。

近年来,有关 MC2R 的研究中所涉及相关配体 3 个区域的细节方面的研究,常常采取丙氨酸替换的方式对单一或是几个氨基酸的重要性进行评价分析<sup>[2,17,27]</sup>。对人类、两栖类以及爬行动物 H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup> 结构<sup>[10]</sup>进行研究时发现,3 个物种在 W<sup>9</sup> 残基被丙氨酸替换时均表现出生物活性的完全丧失。对于人类 MC2R 而言,丙氨酸替换之后造成的破坏程度紧居其后的是 F<sup>7</sup> 和 R<sup>8</sup>,造成影响最小的是 H<sup>6</sup>。爬行动物和两栖类对 H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup> 结构的要求更加严格,丙氨酸替换 F<sup>7</sup>、R<sup>8</sup>、W<sup>9</sup> 都会阻碍其与受体结合,在爬行动物中,甚至是 H<sup>6</sup> 发生替换也会阻碍其对相关受体激活。至于 K<sup>15</sup>K<sup>16</sup>R<sup>17</sup>R<sup>18</sup>P<sup>19</sup> 结构中,由丙氨酸替换时,人类 MC2R 相较于爬行类和两栖类的 MC2R 有更高的耐受能力<sup>[2,10]</sup>。总体上看,丙氨酸替换试验与早期依赖于 ACTH 类似物的研究结果很一致,结果支持早期提出的配体 ACTH 双重结构模型,即 H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup> 结构与 K<sup>15</sup>K<sup>16</sup>R<sup>17</sup>R<sup>18</sup>P<sup>19</sup> 结构是配体激活受体必需条件。

在 ACTH 丙氨酸替换试验中所表现出来的,高等动物明显存在高于较低等动物的耐受性,从进化的角度来看,这可能是进化过程中生物形成的保护机制,进而减少由于偶然突变带来的不利影响。而在海七鳃、白斑角鲨以及文昌鱼的研究中发现,ACTH 在受体亲和力方面明显比 MSH 类型的配体更具优势<sup>[28,35]</sup>。与此同时,在药理方面的研究中 ACTH 的效能也明显高于 MSH 类型的配体。由此原始受体对天然激动剂的相关表现来看,ACTH 较 MSH 类型配体更原始。

## 2 MC2R 辅助蛋白

在 MC2R 的研究中发现其分布与其他 MC2R 相比,存在明显的局限性,MC2R 基因几乎只能在肾上腺皮质的细胞中才能实现功能表达,如 INS-1  $\beta$ -cells<sup>[11,32]</sup>。在人类有关 MC2R 的研究中,对脑、肝脏以及肾上腺 3 种组织(其中 MC2R 仅能在肾上腺中实现功能表达)中的 cDNA 进行 RT-PCR 操作,结果发现了 1 个仅在肾上腺中表达的基因,最终证实为 MC2R 辅助蛋白(MRAP)<sup>[20]</sup>。在大量关于 MC2R 进行研究利用中国仓鼠卵巢(Chinese hamster ovary,CHO)细胞系对非哺乳动物 MC2R 进行研究,基本上都需要 MRAP1 的存在,才能实现 MC2R 的功能表达<sup>[11,36-37]</sup>,仅米氏叶吻银鲷例外<sup>[13]</sup>。

就目前研究结果可知,MRAP 存在 MRAP1(MRAP $\alpha$  和 MRAP $\beta$ )和 MRAP2(MRAP2a 和 MRAP2b)2 个类型<sup>[38-39]</sup>。MRAP 为单链肽链,含有 1 个横跨膜区域,在内质网中,MRAP 单体以同源二聚体存在。在这一聚体、二聚体中,2 个多肽以反向平行的方式结合<sup>[40]</sup>。在内质网中,2 个 MRAP1 二聚体同 1 个 MC2R 二聚体形成 1 个复合物,最终以这种六亚基复合物的形式迁移到细胞膜上<sup>[2,9,12,40]</sup>。MRAP 在内质网中参与协助 MC2R 正确折叠,如果缺少 MRAP 的存在,MC2R 不能

进行折叠,随后将插入到内质网膜中,最终被内质网的监控机制所清除。虽然 MRAP1 与 MRAP2 在辅助 MC2R 向细胞膜上迁移的效能是等价的,但是,只有 MC2R 同 MRAP1 相互结合之后的构象才能在细胞膜上同 ACTH 发生反应<sup>[40-41]</sup>。

Simon 等研究还发现,当 MRAP2 存在时,MRAP $\alpha$  和 MRAP $\beta$  的表达量会增加;而当 MRAP $\alpha$  或 MRAP $\beta$  存在时,MRAP2 的表达量也会增加<sup>[39]</sup>。将 MRAP $\alpha$  和 MRAP $\beta$  进行生物活性比较,结果显示,MRAP $\alpha$  存在时 MC2R 的复合物对 ACTH 具有更高的效能,而这一结果源于 MARP 的碳端结构,试验结果证实,当以碳端切除之后的 MRAP 类似物与 MC2R 进行共表达时,MC2R 复合物对 ACTH 的亲合力显著降低。由此显示 MRAP 碳端结构与 MC2R 复合物对 ACTH 的亲合力密切相关<sup>[39]</sup>。

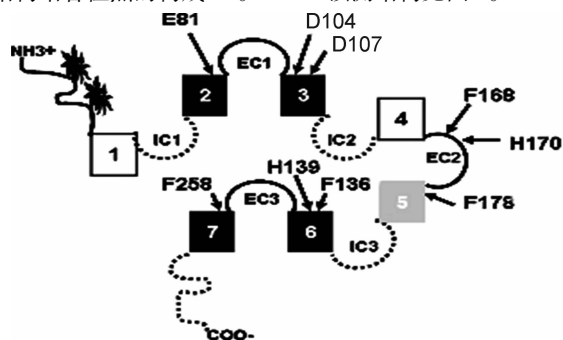
以 MRAP1 基因进行系统进化分析,结果表明,四足爬行动物与硬骨鱼类的 MRAP1 基因在进化上呈现出不同趋势<sup>[21]</sup>。Travis 等在其研究中也证实了这一现象<sup>[2]</sup>,试验通过将两栖类的 MC2R 基因分别与鼠、斑马鱼的 MRAP1 基因共表达于 CHO 细胞中,再以人源 ACTH 进行激活,结果显示,鼠 MRAP1 基因存在的 1 组中应答明显更为强烈;而在 cAMP 应答试验中,斑马鱼 MRAP1 存在时,虹鳉 MC2R 对于 ACTH 的应答明显强于鼠 MRAP1 存在时的表现。结果显示,MC2R 与相应的辅助蛋白间存在协同进化<sup>[2]</sup>。

通过对哺乳动物<sup>[18]</sup>、鸟类<sup>[2]</sup>、四足类动物(包括爬行类和两栖类)<sup>[10]</sup>、鱼类<sup>[12,28]</sup>以及早期脊椎动物(无颌类)<sup>[21]</sup>等大量物种的 MRAP 基因序列进行比较分析,结果在早期脊椎动物(如海七鳃鳗)<sup>[21]</sup>的研究中发现 MRAP2 存在,而 MRAP1 缺少,反映出 MRAP2 为早期 MRAP 家族的成员;研究结果还显示,MRAP 在肉鳍鱼类、两栖类以及爬行类动物中缺失;而鸟类以及哺乳动物则同时存在 MRAP 中的 2 个类型<sup>[21]</sup>。

### 3 MC2R

研究者对 MC2R 的结构进行了相应的研究,例如, Pogozheva 等应用计算机模拟,结合点突变的方法对人类 MC4R 的 H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup> 结构结合位点进行研究<sup>[6]</sup>。基于模拟结果,H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup> 结构结合位点由 TM2、TM3、TM6 和 TM7 中的残基构成,这些残基在受体中形成一个亲水口袋,并暴露于细胞外的空间中。结果显示,G 蛋白偶联受体的跨膜区域拥有 1 个筒状构型。在这一构型中,4 个跨膜区域相互之间靠得很近。在人类 MC2R 的相关研究中同样得到了类似的 H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup> 结构结合位点,相关氨基酸残基(E<sup>81</sup>、D<sup>107</sup>、F<sup>136</sup>、

H<sup>139</sup>)分别位于 TM2、TM3 和 TM6。Chen 等采用单一丙氨酸突变的方法对 E<sup>81</sup>、F<sup>136</sup>、H<sup>139</sup> 等氨基酸残基进行替换,结果发现每一个单一丙氨酸替换之后的 MC2R 突变体对 hACTH 刺激应答能力显著下降<sup>[29]</sup>。并且发生在 TM7 中 F258 氨基酸残基的自然突变,同样引起受体刺激应答能力下降。系列研究结果显示,hMC2R 中 H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup> 结构结合位点的构成残基位于 TM2、TM3、TM6 和 TM7 上。此外,1 个发生在人类 MC2R 的 EC2 中的 H<sup>170</sup>残基的自然突变对 hACTH 刺激应答能力下降<sup>[42]</sup>。研究者对 EC2 以及 TM5 区域进行丙氨酸替换试验时发现,EC2 以及 TM5 区域发生突变时,hACTH(1-24)不能激活受体,由于 EC2 和 TM5 相对远离构成 H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup> 结构的结合位点,因此,提出 EC2 以及 TM5 参与了 K<sup>15</sup>K<sup>16</sup>R<sup>17</sup>R<sup>18</sup>P<sup>19</sup> 结构结合位点的构成<sup>[43]</sup>。MC2R 预测结构见图 1。



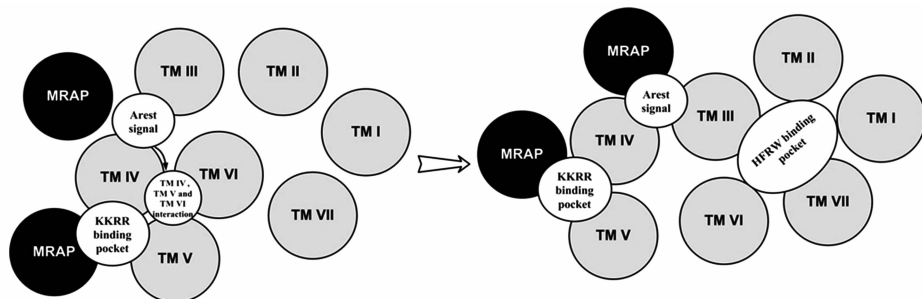
注: 7 个方块代表 7 个跨膜的  $\alpha$  螺旋, 其中黑色方块所代表的跨膜区构成了 HFRW 结构结合位点, 灰色方块所代表的跨膜区构成了 KKRRP 结构结合位点。箭头所标示的数字是一些关键氨基酸残基, 其中黑色显示的氨基酸残基是在人为丙氨酸替换研究中发现的, 而以灰色显示的氨基酸残基则是在自然突变体中发现的。图片来源于文献[26]

图1 MC2R 模型

Kovalitskaia 等提出了 MC2R 与 MRAP 的模型<sup>[44]</sup>,如图 2 所示,MRAP 二聚体中的 1 个 MRAP 分子同 MC2R 的第三、第四跨膜区结合,从而对 ER 信号分子的捕捉进行修饰。同时,另 1 个 MRAP 分子与第四、第五跨膜区共同构建了 KKRR 结构的结合位点。当 ACTH 特异性结合到 KKRR 结构结合位点时,促使第四、第五跨膜区同第六、第七跨膜区的结合发生分离,进而形成 HFRW 结构的结合位点,最终激活下游信号。

### 4 MC2R 与机体的应激调控

硬骨鱼中皮质醇是一种肾脏组织分泌的主要的类固醇类,其在调节应激应答中扮演着重要角色,但其在应激应答过程中的释放受下丘脑-垂体-肾脏组织轴调控<sup>[45-46]</sup>。其中



跨膜区(helical transmembrane, TM)以灰色圆圈表示,蛋白复合物的功能区以白圈表示,MRAP以黑圈表示。图片来源于文献[45]

图2 结合 KKRR 结构前后的 MC2R 与 MRAP 复合物模型

皮质醇的合成是由 ACTH 与位于肾间组织中的 MC2R 受体结合后所介导合成释放的<sup>[24,47]</sup>。在虹鳟摄食含硒日粮的相关研究中发现,急性应激导致血清皮质醇浓度显著升高期间,血清 ACTH(应激 1 h 后)含量也会显著升高,而 MC2R mRNA 的表达量也显著上调<sup>[48]</sup>,在鲤鱼的相关研究中也类似的结论<sup>[49]</sup>。在关于 MC2R 基因的相关研究中发现,MC2R 基因突变导致的 MC2R 失活,会阻断对 ACTH 刺激的应答反应,从而阻碍皮质醇合成<sup>[22]</sup>。在早期垂体切除试验中观察到血清皮质醇浓度下降,当以 ACTH 进行处理时,则避免了血清皮质醇浓度下降<sup>[50]</sup>。这反映出 ACTH 对皮质醇合成的影响。而在一些鱼类的毒理性试验<sup>[51-52]</sup>中,则反映出 MC2R 本身对于皮质醇合成的影响;例如,以有机氯、 $\beta$ -萘黄酮或是镉离子处理肾间组织时,研究人员发现 ACTH 对皮质醇合成的刺激失效,而使用 cAMP 进行处理时,观察到皮质醇水平的升高。试验结果表明,MC2R 及其配体在鱼类应激调控中的重要作用。

## 5 结论

MC2R 之所以有别于其他 MCRs,主要体现在 2 个方面:一是其对配体选择的专一性,就目前已有研究而言,绝大多数的研究结果都显示出 MC2R 只能被 ACTH 激活,这一现象的阐明得益于对 ACTH 中 K<sup>15</sup> K<sup>16</sup> R<sup>17</sup> R<sup>18</sup> P<sup>19</sup>、H<sup>6</sup>F<sup>7</sup>R<sup>8</sup>W<sup>9</sup>、G<sup>10</sup>K<sup>11</sup>P<sup>12</sup>V<sup>13</sup>G<sup>14</sup> 等 3 个结构区域的认识;二是由于 MC2R 对于辅助蛋白 MRAP 依赖性所表现,MC2R 从内质网向细胞膜表面的迁移需要 MRAP 的辅助,并且几乎所有 MC2R 功能表达的实现都离不开 MRAP1 的存在。就 MC2R 的这 2 个特点而言,其起源尚不明确,MCRs 仅出现于脊索动物的共识<sup>[37]</sup>以及米氏叶吻银鲛<sup>[13]</sup>在 MC2R 功能表达的特殊表现都显示出鱼类 MC2R 相关研究,今后还需进一步加强鱼类 MC2R 相关基础研究。

在生理机能的研究中,MC2R 与其配体都是皮质醇合成过程中的关键,并且参与下丘脑-垂体-肾间组织轴的构建,大量研究结果显示,MC2R 及其相关配体在鱼类应激方面紧密相关。但是,对于应激过程中基因表达量的变化是否引起蛋白水平上的量变,或是仅仅引起受体本身敏感度的变化还有待进一步研究。目前,鱼类在相关技术方面与高等动物还存在差距,相关研究手段在鱼类中的应用尚存在困难。因此,对鱼类等低等脊椎动物 MC2R 的研究不仅有助于了解鱼类在应激下皮质醇合成释放的基本机制,而且对整个渔业的健康发展也具有重要意义。

## 参考文献:

- [1] Horn F, Bettler E, Oliveira L, et al. GPCRDB information system for G protein-coupled receptors[J]. Nucleic Acids Research, 2003, 31(1): 294-297.
- [2] Barlock T K, Gehr D T, Dore R M. Analysis of the pharmacological properties of chicken melanocortin-2 receptor (cMC2R) and chicken melanocortin-2 accessory protein 1 (cMRAP1)[J]. General and Comparative Endocrinology, 2014, 205: 260-267.
- [3] Dore R M. ACTH, the MSHs and the melanocortin receptors: revisiting the work of Robert Schwyzner—a 30 year retrospective[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2009, 1163: 93-100.
- [4] Baron A, Veo K, Angleson J, et al. Modeling the evolution of the MC2R and MC5R genes: studies on the cartilaginous fish, *Heterodontus francisci*[J]. General and Comparative Endocrinology, 2009, 161(1): 13-19.
- [5] Klovins J, Haitina T, Fridmanis D, et al. The melanocortin system in fugu: determination of POMC/AGRP/MCR gene repertoire and synteny, as well as pharmacology and anatomical distribution of the MCRs[J]. Molecular Biology and Evolution, 2004, 21(3): 563-579.
- [6] Pogozheva I D, Chai B X, Lomize A L, et al. Interactions of human melanocortin 4 receptor with nonpeptide and peptide agonists[J]. Biochemistry, 2005, 44(34): 11329-11341.
- [7] Schwyzner R A. A short introductory review[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 1977, 297: 3-26.
- [8] Li C H, Geschwind I I, Cole R D, et al. Amino acid sequence of alpha-corticotrophin[J]. Nature, 1955, 176: 687-689.
- [9] Ling M K, Hotta E, Kilianova Z, et al. The melanocortin receptor subtypes in chicken have high preference to ACTH-derived peptides[J]. British Journal of Pharmacology, 2004, 143(5): 626-637.
- [10] Davis P, Franquemont S, Liang L, et al. Evolution of the melanocortin-2 receptor in tetrapods: studies on *Xenopus tropicalis* MC2R and *Anolis carolinensis* MC2R[J]. General and Comparative Endocrinology, 2013, 188: 75-84.
- [11] Aluru N, Vijayan M M. Molecular characterization, tissue-specific expression, and regulation of melanocortin 2 receptor in rainbow trout[J]. Endocrinology, 2008, 149(9): 4577-4588.
- [12] Agulleiro M J, Roy S, Sánchez E, et al. Role of melanocortin receptor accessory proteins in the function of zebrafish melanocortin receptor type 2[J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2010, 320(1/2): 145-152.
- [13] Reinick C L, Liang L, Angleson J K, et al. Identification of an MRAP-independent melanocortin-2 receptor: functional expression of the cartilaginous fish, *Callorhynchus milii*, melanocortin-2 receptor in CHO cells[J]. Endocrinology, 2012, 153(10): 4757-4765.
- [14] Logan D W, Bryson-Richardson R J, Pagán K E, et al. The structure and evolution of the melanocortin and MCH receptors in fish and mammals[J]. Genomics, 2003, 81(2): 184-191.
- [15] Dore R M. Observations on the evolution of the melanocortin receptor gene family: distinctive features of the melanocortin-2 receptor[J]. Frontiers in Neuroscience, 2013, 7(7): 28.
- [16] Cerdá-Reverter J M, Agulleiro M J, Raúl R G, et al. Fish melanocortin system[J]. European Journal of Pharmacology, 2011, 660(1): 53-60.
- [17] Veo K, Reinick C, Liang L, et al. Observations on the ligand selectivity of the melanocortin 2 receptor[J]. General and Comparative Endocrinology, 2011, 172(1): 3-9.
- [18] Hinkle P M, Sebg J A. Structure and function of the melanocortin 2 receptor accessory protein (MRAP)[J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2009, 300(1/2): 25-31.
- [19] Webb T R, Clark A J. Minireview: the melanocortin 2 receptor accessory proteins[J]. Molecular Endocrinology, 2010, 24(3): 475-484.
- [20] Cooray S N, Clark A J. Melanocortin receptors and their accessory proteins[J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2011, 331(2): 215-221.
- [21] Valsalan R, Krishnan A, Almén M S, et al. Early vertebrate origin of melanocortin 2 receptor accessory proteins (MRAPs)[J]. General and Comparative Endocrinology, 2013, 188: 123-132.
- [22] Chida D, Nakagawa S, Nagai S, et al. Melanocortin 2 receptor is

- required for adrenal gland development, steroidogenesis, and neonatal gluconeogenesis [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104 (46): 18205 – 18210.
- [23] Wendelaar B S E. The stress response in fish [J]. *Physiological Reviews*, 1997, 77: 591 – 625.
- [24] Alsop D, Vijayan M M. Molecular programming of the corticosteroid stress axis during zebrafish development [J]. *Comp Biochem Physiol a Mol Integr Physiol*, 2009, 153 (1): 49 – 54.
- [25] Kobayashi Y, Chiba H, Yamanome T, et al. Melanocortin receptor subtypes in interrenal cells and corticotropic activity of  $\alpha$  – melanocyte – stimulating hormones in barfin flounder, *Verasper moseri* [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2011, 170 (3): 558 – 568.
- [26] Dorés R M, Liang L. Analyzing the activation of the melanocortin – 2 receptor of tetrapods [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2014, 203: 3 – 9.
- [27] Liang L, Schmid K, Sandhu N, et al. Structure/function studies on the activation of the rainbow trout melanocortin – 2 receptor [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2015, 210: 145 – 151.
- [28] Haitina T, Takahashi A, Holmén L, et al. Further evidence for ancient role of ACTH peptides at melanocortin (MC) receptors; pharmacology of dogfish and lamprey peptides at dogfish MC receptors [J]. *British Journal of Pharmacology*, 2007, 28 (4): 798 – 805.
- [29] Chen M, Aprahamian C J, Kesterson R A, et al. Molecular identification of the human melanocortin – 2 receptor responsible for ligand binding and signaling [J]. *Biochemistry*, 2007, 46 (40): 11389 – 11397.
- [30] Liang L, Angleson J K, Dorés R M. Review: the human melanocortin – 2 receptor – a model system for analyzing hormone/receptor interactions in the HPA axis [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2013, 181: 203 – 210.
- [31] Costa J L, Bui S, Reed P, et al. Mutational analysis of evolutionarily conserved ACTH residues [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2004, 136 (1): 12 – 16.
- [32] Buckley D I, Ramachandran J. Characterization of corticotropin receptors on adrenocortical cells [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1981, 78 (12): 7431 – 7435.
- [33] Yang Y K. Structure, function and regulation of the melanocortin receptors [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2011, 660 (1): 125 – 130.
- [34] Navolotskaya E V, Kovalitskaya Y A, Sadovnikov V B, et al. Synthetic ACTH – like peptide GKVLKKRR, corresponding to the fragment 81 – 88 of human pro – interleukin – 1 $\alpha$ , acts as an antagonist of ACTH receptor [J]. *The International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 2008, 14 (1): 10 – 15.
- [35] Västermark A, Schiöth H B. The early origin of melanocortin receptors, agouti – related peptide, agouti signalling peptide, and melanocortin receptor – accessory proteins, with emphasis on pufferfishes, elephant shark, lampreys, and amphioxus [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2011, 660 (1): 61 – 69.
- [36] Kobayashi Y, Chiba H, Yamanome T, et al. Melanocortin receptor subtypes in interrenal cells and corticotropic activity of  $\alpha$  – melanocyte – stimulating hormones in barfin flounder, *Verasper moseri* [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2011, 170 (3): 558 – 568.
- [37] Liang L, Sebag J A, Egelston L, et al. Functional expression of frog and rainbow trout melanocortin 2 receptors using heterologous MRAP1s [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2011, 174 (1): 5 – 14.
- [38] Roy S, Perron B, Gallo – Payet N. Role of asparagine – linked glycosylation in cell surface expression and function of the human adrenocorticotropin receptor (melanocortin 2 receptor) in 293/FRT cells [J]. *Endocrinology*, 2010, 151 (2): 660 – 670.
- [39] Roy S, Roy S J, Pinard S, et al. The C – terminal domains of melanocortin – 2 receptor (MC2R) accessory proteins (MRAP1) influence their localization and ACTH – induced cAMP production [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2012, 176 (2): 265 – 274.
- [40] Sebag J A, Hinkle P M. Regions of melanocortin 2 (MC2) receptor accessory protein necessary for dual topology and MC2 receptor trafficking and signaling [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284 (1): 610 – 618.
- [41] Sebag J A, Hinkle P M. Regulation of G protein – coupled receptor signaling: specific dominant – negative effects of melanocortin 2 receptor accessory protein 2 [J]. *Science Signaling*, 2010, 3 (116): 28.
- [42] Metherell L A, Chapple J P, Cooray S, et al. Mutations in MRAP, encoding a new interacting partner of the ACTH receptor, cause familial glucocorticoid deficiency type 2 [J]. *Nature Genetics*, 2005, 37 (2): 166 – 170.
- [43] Liang L, Angleson J K, Dorés R M. Review: the human melanocortin – 2 receptor – a model system for analyzing hormone/receptor interactions in the HPA axis [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2013, 181: 203 – 210.
- [44] Kovalitskaia I A, Kolobov A A, Kampe – Nemm E A, et al. Synthetic peptide KKRR corresponding to the human ACTH fragment 15 – 18 is an antagonist of the ACTH receptor [J]. *Bioorganicheskaya Khimiya*, 2008, 34 (1): 29 – 35.
- [45] Fridmanis D, Petrovska R, Kalnina I, et al. Identification of domains responsible for specific membrane transport and ligand specificity of the ACTH receptor (MC2R) [J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2010, 321 (2): 175 – 183.
- [46] Flik G, Klaren P H, van den Burg E H, et al. CRF and stress in fish [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2006, 146 (1): 36 – 44.
- [47] To T T, Hahner S, Nica G, et al. Pituitary – interrenal interaction in zebrafish interrenal organ development [J]. *Molecular Endocrinology*, 2007, 21 (2): 472 – 485.
- [48] Wiseman S, Thomas J K, McPhee L, et al. Attenuation of the cortisol response to stress in female rainbow trout chronically exposed to dietary selenomethionine [J]. *Aquatic Toxicology*, 2011, 105 (3/4): 643 – 651.
- [49] Metz J R, Geven E J, van den Burg E H, et al. ACTH,  $\alpha$  – MSH, and control of cortisol release: cloning, sequencing, and functional expression of the melanocortin – 2 and melanocortin – 5 receptor in *Cyprinus carpio* [J]. *American Journal of Physiology – Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 2005, 289 (3): 814 – 826.
- [50] Takahashi A, Kobayashi Y, Mizusawa K. The pituitary – interrenal axis of fish: a review focusing on the lamprey and flounder [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2013, 188: 54 – 59.
- [51] 徐磊, 谢骏, 刘波, 等. 应激状态下鱼类糖皮质激素代谢及作用机理的研究进展 [J]. *江西农业学报*, 2010, 22 (8): 132 – 137.
- [52] Sandhu N, Vijayan M M. Cadmium – mediated disruption of cortisol biosynthesis involves suppression of corticosteroidogenic genes in rainbow trout [J]. *Aquatic Toxicology*, 2011, 103 (1/2): 92 – 100.