

哺乳动物黑素皮质素受体-4的生物学功能 及其基因多态性研究进展

吴结革, 徐世永, 刘京鸽

(金陵科技学院动物科学与技术学院, 江苏 南京 210038)

摘要:黑素皮质素受体-4(Melanocortin receptor-4, MC4R)主要是由动物下丘脑分泌的一种肽类物质,是调节哺乳动物摄食和体重的重要信号分子。介绍了 MC4R 基因的结构与生物学功能,重点阐述了 MC4R 基因多态性与哺乳动物生产性能的相关性,为应用 MC4R 进行哺乳动物分子标记辅助育种提供借鉴。

关键词:黑素皮质素受体-4;能量平衡;单核苷酸多态性;生产性能

中图分类号:R459

文献标识码:A

文章编号:1672-755X(2020)03-0077-05

Research Progress in Biological Function and Gene Polymorphism of Mammalian Melanocortin-4 Receptor

WU Jie-ge, XU Shi-yong, LIU Jing-ge

(Jinling Institute of Technology, Nanjing 210038, China)

Abstract: The melanocortin-4 receptor(MC4R), a type of peptide expressed predominantly in the hypothalamus, is an important signaling molecule involved in the control of food intake and body weight. This paper first induces the structure and biological function of MC4R, then focuses on the correlation of MC4R polymorphism and mammalian production performance, which would provide references for molecular marker assisted breeding with MC4R in mammals.

Key words: MC4R; energy homeostasis; single nucleotide polymorphism; production performance

哺乳动物的体重受遗传、环境和营养等诸多因素的影响。体重的维持通过分解和合成代谢通路的反馈机制调控,中枢黑素皮质素系统在此过程中起关键作用,该系统包括前阿黑皮素原、神经肽 Y、刺鼠相关蛋白和黑素皮质素受体等。黑素皮质素受体是 G-蛋白耦联受体超家族的一员,包括 5 个亚型(MC1R-MC5R),在调节动物采食、能量代谢、表皮色素沉积、皮脂腺分泌和繁殖等生理过程中起着重要的作用。研究表明,黑素皮质素受体-4(Melanocortin-4 receptor, MC4R)主要分布于机体的下丘脑、丘脑、边缘系统、后脑、脑干、脊髓、肌肉、皮质和胃肠道,在控制体重、采食量和能量稳态的过程中发挥关键作用^[1]。本文首先介绍 MC4R 基因的结构与生物学功能,然后重点阐述 MC4R 基因多态性与哺乳动物生产性能的相关性,为应用 MC4R 进行分子标记辅助育种提供借鉴。

收稿日期:2020-08-13

基金项目:金陵科技学院校级畜牧学重点学科科研项目;金陵科技学院校级生态养殖信息化科技创新团队建设项目

作者简介:吴结革(1970—),男,安徽枞阳人,副教授,硕士,主要从事动物繁殖与养猪生产研究。

1 MC4R 基因的结构

Gantz 等^[2]于 1993 年首次应用简并 PCR 法克隆出人类 MC4R 基因,并将其定位于染色体 18q21.3。人类 MC4R 基因由 996 bp 构成单一外显子,编码 332aa,具有 7 次明显的跨膜结构。其中,N 和 C 末端的第 3 跨膜段和第 2 个胞内区是 MC4R 与 G 蛋白作用的重要位点,结合位点的改变或氨基酸残基的不同可能引起 MC4R 功能的改变。Kim 等^[3]于 2000 年将猪基因定位于染色体 1q22-q27,包含 2 个外显子和 1 个内含子,与微卫星标记 S0082、SO313 紧密连锁,且在下丘脑室旁核、视上核高度表达。张菊等^[4]根据牛的序列克隆出绵羊 MC4R 基因。后者是由 1 919 bp 构成,其中 CDS 编码区 999 bp,编码 332aa,与山羊的同源性最高(98.7%),其次是牛(95.2%),其余依次为猪(87.9%)、犬(86.8%)、人(86.0%)、兔(86.0%)和鼠(85.3%),表明 MC4R 基因的核苷酸及氨基酸序列具有较高的种间同源性。

2 MC4R 基因的生物学功能及其机制

2.1 MC4R 基因的生物学功能

2.1.1 调控能量平衡 MC4R 作为瘦素介导食欲调节的最末端基因,在摄食和能量稳态中的功能备受关注。研究表明,MC4R 不仅可以介导瘦素调控能量稳态,还能直接调控摄食、减少体重。MC4R 通过结合其激动剂 α -黑素细胞刺激素(α -Melanophore stimulating hormone, α -MSH)其抑制剂 AgRP 参与下丘脑对能量平衡的调控。Crovesy 等^[5]研究发现,与家族其他成员相比较,MC4R 对能量平衡和自主神经外输有较强的调节功能。MC4R 是第一个被发现与人类显性遗传性肥胖相关的靶位点。Huszar 等^[6]研究发现,敲除 MC4R 基因的小鼠出现类似 Agouti 肥胖综合征(即多食、肥胖、胰岛素分泌过多等症状),从而证实 MC4R 在能量平衡中的关键作用。Rosmond 等^[7]对瑞典人群的研究发现,MC4R 基因 G/A 错义突变与腹内脂肪含量、胰岛素、血糖及脂代谢水平相关,进一步说明 MC4R 与人的食欲和能量消耗紧密相关。

2.1.2 调控生殖机能 研究表明,MC4R 缺陷的雄性小鼠勃起机能和性行为受损,雌性小鼠发情周期紊乱,排卵率和受精率下降。邵春格等^[8]研究发现,绵羊卵巢黄体组织 MC4R 基因表达呈现一定的规律性,表现为退化黄体 MC4R 的 mRNA 表达量极显著高于新鲜黄体 and 成熟黄体,提示 MC4R 可能参与调控动物的繁殖机能。李婷等^[9]研究了不同发情周期的 C57 小鼠,发现 MC4R 神经元广泛分布于下丘脑第三脑室,发情期的下丘脑 MC4R 蛋白表达量显著低于其他 3 个时期,同时期卵巢 MC4R 蛋白表达量显著低于发情前期和发情后期,且发情后期 MC4R 蛋白表达量极显著高于其他 3 个时期,提示 MC4R 可能通过下丘脑-垂体-卵巢轴调控动物的生殖机能。

2.1.3 其他功能 李微微等^[10]研究发现,选择性激动 MC4R 可能通过抑制 HMGB1/TLR4/NF- κ B 信号途径,减轻炎症反应,并最终降低脓毒症引起的肝损伤。邱玲玲等^[11]研究发现,MC4R rs17782313 位点多态性与长沙地区汉族人群高血压发病相关。Rana 等^[12]对巴基斯坦人的研究发现,MC4R rs17782313 位点与体脂参数、代谢综合征,尤其是女性显著相关。Chaffin 等^[13]研究发现,MC4R 与应激反应性有关,可作用于下丘脑-垂体-肾上腺轴,但与 Rana 研究结果类似,同样存在性别依赖性。

2.2 MC4R 基因介导的信号传导机制

MC4R 与其配体结合后能够释放 G 蛋白的 Gas、Gai、Gaq,分别激活 cAMP-PKA、ERK1/2-MAPK、PKC 信号通路^[14]。MC4R 与 G 蛋白偶联后,发挥以下作用:①通过磷脂酶 C(PLC)通路,生成的三磷酸肌醇(IP3)动员内质网钙库释放,增加细胞质中游离 Ca^{2+} ,与钙调蛋白结合,PLC 激活后同时生成的二酰甘油(DAG)在 Ca^{2+} 的协助下激活蛋白激酶 C(PKC);②活化腺苷酸环化酶(AC),催化 ATP 转化为 cAMP,激活 cAMP 依赖性的蛋白激酶(PKA);活化的 PKA、PKC 可以使胞浆内的底物磷酸化或者进入细胞核作用于 cAMP 应答元件(cAMP-responsive element,CRE),调控下游基因的转录,进而调节细胞代谢和增殖;③激活丝裂原活化蛋白激酶(Mitogen-activated protein kinases,MAPKs),特别是细胞外调节蛋白激酶(Extra-cellular regulated protein kinases,ERK1/2)途径。MC4R 激活这些激酶之后,还可以调控离子

通道活性,增强胰岛素信号通路。研究表明,MC4R 还能关闭 Kir7.1 钾离子通道,引起神经元的去极化^[15],这种特殊的机制可能在调控机体能量稳态和采食方面具有重要的作用。

3 MC4R 基因多态性与动物生产性能的相关性

众多研究表明,MC4R 在人和动物的体重维持、能量稳态和采食量的调控中具有重要作用,可以作为动物生长性状选择的遗传标记。

3.1 猪

MC4R 多态性与猪的生长性能和脂肪性状等密切相关。Kim 等^[16]首次发现 MC4R 基因的 Asp298Asn 突变与猪的背膘厚、生长速度和采食量显著相关。后续研究发现该突变还与猪的瘦肉率显著相关^[17]。Chao 等^[18]发现 MC4R/TaqI 基因型与猪的平均背脂厚和瘦肉率显著相关。赵聪哲等^[19]发现 MC4R 基因对大白猪体重及日增重具有显著影响。熊琪等^[20]研究表明 MC4R 基因影响背膘厚与平均日增重。李俊等^[21]研究发现 MC4R 基因 G1577A、G1699A、T1702A 位点可能是影响江香猪胴体性能、肌内脂肪、眼肌面积、背膘厚和皮厚的重要因素。赵乔辉等^[22]研究发现,MC4R 基因 G892A 位点突变不仅影响杜洛克猪个体初生重和背膘厚,还影响猪的总产仔数。

3.2 牛

Zhang 等^[23]对南阳牛的研究发现,MC4R 基因 5'侧翼区存在 4 个单核苷酸多态性(SNP)位点,由 -293C>G 和 -129A>G 突变引起的不同基因型个体间的 6 月龄体重和采食量差异显著。在秦川牛群体中,MC4R 基因突变对活体重、屠体重、背膘厚、大理石样纹评分有显著影响^[24]。Huang 等^[25]研究也证实 MC4R 基因多态性与牛背膘厚显著相关。Seong 等^[26]研究发现牛 MC4R 基因编码区存在 5 个 SNPs 位点,其中 C927T 位点的 SNPs 显著影响大理石纹评分,C1069G 和 C1343A 位点的突变与背膘厚显著相关,而 C1786T 位点的突变与背膘厚及大理石纹评分均显著相关。冯健等^[27]研究发现,MC4R 基因的 C1069G 突变与延边黄牛背膘厚、肉色相关。

3.3 羊

王春玲^[28]和 Wang^[29]等研究发现绵羊 MC4R 基因存在 10 个 SNPs。选择 MC4R 基因 C548T 位点,建立 CRS-PCR-RFLP 法分析发现,在阿勒泰、Romney 和中国美利奴×Romney 的 3 个群体中,仅检测到 CC 1 种基因型,在东湖杂交羊(东弗里升×湖羊)和中国美利奴 2 个群体中检测到 2 种基因型,而在湖羊群体中检测到 3 种基因型。相关性分析发现,湖羊与东湖杂交羊(东弗里升×湖羊)的 g. 1267G/A、g. 548C/T 和 g. 706C/A 突变均与体重相关;g. 306G/A、g. 1267G/A、g. 548C/T 和 g. 706C/A 突变与体尺性状(体长、体高、胸围、胸深、尻高、腰角宽和管围)相关;其构成的单倍型 GA-CC-GA(H1H3)与湖羊体重体尺显著相关。Song 等^[30]研究发现湖羊 MC4R 基因 3'非翻译区(3'-untranslated regions,3'-UTR)的 4 个 SNPs(g. 1016 G>A、g. 1240 T>C、g. 1264 G>A 和 g. 1325 A>G)与初生重和断奶重相关,其构成的 CC-AA-GG 单倍型与湖羊早期生长性状亦相关。赵宪林等^[31]研究发现,MC4R 基因上检测到 4 个 SNPs 位点影响体重、体高、体长和胸围;合并基因型分析发现,双倍型 H13H7(GTGC-ATAC)的各个生长性状表现最优。张浩等^[32]以甘肃境内具有良好适应性的藏绵羊、蒙古羊、甘肃高山细毛羊和滩羊为研究对象,发现 MC4R 基因型对 1、3 和 6 月龄的体重有显著影响。张俊等^[33]研究发现,MC4R 基因的 A502G 位点 A 基因对山羊早期体重增加更有利,基因型组合 AACCAACT 对山羊周岁体重增加更有利,可以作为山羊生长性状选择的候选分子标记。

综上所述,MC4R 基因是哺乳动物经济性状的重要候选基因,可通过调节采食量和能量平衡影响哺乳动物的体重和生产性能。此外,MC4R 基因还可能对生殖、炎症反应和应激具有一定的调控作用。

参考文献:

- [1] Yeo G S, Farooqooqi I S, Challis B G, et al. The role of melanocortin signalling in the control of body weight: evidence from human and murine genetic models[J]. An International Journal of Medicine, 2000, 93(1): 7-14

- [2] Gantz I, Miwa H, Konda Y, et al. Molecular cloning, expression, and gene localization of a fourth melanocortin receptor [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268(20): 15174 – 15179
- [3] Kim K S, Larsen, Rothschild M F. Rapid communication; linkage and physical mapping of the porcine melanocortin-4 receptor(MC4R) gene [J]. *Journal of Animal Science*, 2000, 78(3): 791 – 792
- [4] 张菊, 杜立新, 李宏滨, 等. 绵羊 MC4R 基因的半定量 RT-PCR 及生物信息学分析 [J]. *畜牧兽医学报*, 2010, 41(7): 804 – 810
- [5] Crovesy L, Rosado E. Interaction between genes involved in energy intake regulation and diet in obesity [J]. *Nutrition*, 2019(67 – 68): 110 – 118
- [6] Huszar D, Lynch C A, Fairchild-Huntress V, et al. Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice [J]. *Cell*, 1997, 88(1): 131 – 141
- [7] Rosmond R, Chagnon M, Bouchard C, et al. A missense mutation in the human melanocortin-4 receptor gene in relation to abdominal obesity and salivary cortisol [J]. *Diabetologia*, 2001, 44(10): 1335 – 1338
- [8] 邵春格, 张占文, 王彩云, 等. 绵羊卵巢周期性黄体 Ghrelin/MC4R 表达变化 [J]. *内蒙古农业大学学报(自然科学版)*, 2013(6): 1 – 4
- [9] 李婷, 潘登, 范奎奎, 等. MC4R 在小鼠下丘脑的定位及其基因在发情周期下丘脑、卵巢中的表达变化 [J]. *中国畜牧杂志*, 2017, 53(7): 25 – 28
- [10] 李微微, 仇大鹏, 高琴, 等. 选择性激动黑皮质素 4 型受体 (MC4R) 通过 HMGB1/TLRM/NF- κ B 信号途径对抗大鼠脓毒症致急性肝损伤 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2016, 32(8): 1055 – 1059
- [11] 邱玲玲, 胡中扬, 杨锡荣, 等. 黑素皮质素受体-4 基因 rs17782313 位点多态性与长沙地区汉族人群原发性高血压病的相关性研究 [J]. *中国全科医学*, 2014, 17(11): 1257 – 1261
- [12] Rana S, Sultana A, Bhatti A A. Association of BDNF rs6265 and MC4R rs17782313 with metabolic syndrome in pakistans [J]. *Journal of Biosciences*, 2019, 44(4): 95
- [13] Chaffin A T B, Fang Y, Larson K R, et al. Sex-dependent effects of MC4R genotype on HPA axis tone; implications for stress-associated cardiometabolic disease [J]. *Stress*, 2019, 22(5): 571 – 580
- [14] Andreas B, Thomas R H, Boekhoff I, et al. Alternative G protein coupling and biased agonism; new insights into melanocortin-4 receptor signalling [J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2011, 331: 232 – 240
- [15] Ghamari M, Digby G, Sebag J A, et al. G-protein independent coupling of MC4R to Kir7. 1 in hypothalamic neurons [J]. *Nature*, 2015, 520: 94 – 98
- [16] Kim K S, Larsen, Short T. A missense variant of the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene is associated with fatness, growth and feed intake trait [J]. *Mammalian Genome*, 2000, 11(2): 131 – 135
- [17] Jokubka R, Maak S, Kerziene S, et al. Association of a melanocortin 4 receptor (MC4R) polymorphism with performance traits in lithuanina white pigs [J]. *Journal of Animal Breeding and Geneitics*, 2006, 123(1): 17 – 22
- [18] Chao Z, Wang F, Deng C Y, et al. Distribution and linkage disequilibrium analysis of polymorphisms of MC4R, LEP, H-FABP genes in the different populations of pigs, associated with economic traits in DIV(2) line [J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2012, 39(5): 6329 – 6335
- [19] 赵聪哲, 罗晓彤, 李兆华, 等. 大白猪 MC4R、CDC16 基因多态性及其与生长性状的关联分析 [J]. *中国畜牧兽医*, 2019, 46(3): 792 – 799
- [20] 熊琪, 陈文娟, 彭健, 等. MC4R 和 NR6A1 基因与大白猪 $\times$ 清平猪 F2 黑色群体的经济性状关联分析 [J]. *湖北农业科学*, 2019, 58(5): 88 – 91
- [21] 李俊, 毛世明, 陈大芳, 等. 从江香猪 MC4R 基因 SNP 位点遗传性状及关联性分析 [J]. *养猪*, 2019(5): 73 – 77
- [22] 赵乔辉, 董文华, 刘颖, 等. 猪 MC4R 基因 G892A 位点对生长和繁殖性能的遗传效应分析 [J]. *中国畜牧杂志*, 2014, 50(19): 5 – 9
- [23] Zhang C L, Wang Y H, Chen H, et al. Association between variants in the 5'-untranslated region of the bovine MC4R gene and two growth traits in Nanyang cattle [J]. *Molecular Biology Reports*, 2009, 36(7): 1839 – 1843
- [24] Liu H, Tia W, Zan L, et al. Mutations of MC4R gene and its association with economic traits in Qinchuan cattle [J]. *Molecular Biology Reports*, 2010, 37(1): 535 – 540
- [25] Huang M, Gao X, Li J Y, et al. Polymorphisms in MC4R gene and correlations with economic traits in cattle [J]. *Molec-*

- ular Biology Reports,2010,37(8):3941-3944
- [26] Seong J,Suh D S,Park K D,et al. Identification and analysis of MC4R polymorphisms and their association with economic traits of Korean cattle(Hanwoo)[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews,2012,39(4):3597-3601
- [27] 冯健,李英花,严昌国,等. 延边黄牛黑皮质素受体-4 基因多态性及其与肉质性状的相关性分析[J]. 中国畜牧兽医,2017,44(5):1406-1413
- [28] 王春玲,茆达干,曹少先,等. 6 个绵羊群体 MC4R 基因 CRS-PCR 多态性及其与湖羊、东湖杂交羊生长性状的关联分析[J]. 南京农业大学学报,2014,37(1):121-126
- [29] Wang Y L,Wang C L,Zhang J,et al. Three novel MC4R SNPs associated with growth traits in Hu sheep and East friesian $\times$ Hu crossbred sheep[J]. Small Ruminant Research,2015,125:26-33
- [30] Song X M,Jiang J F,Zhang G Z,et al. DNA polymorphisms of the Hu sheep melanocortin-4 receptor gene associated with birth weight and 45-day weaning weight[J]. Genetics and Molecular Research,2012,11(4):4432-4441
- [31] 赵宪林,曹少杰,王俊全. MC4R 基因多态性及基因型组合与藏羊生长性状的关联分析[J]. 农业生物技术学报,2018,26(3):429-436
- [32] 张浩,张明军,马武,等. 5 个绵羊品种 MC4R 基因多态性及其与生长性状的相关性分析[J]. 基因组学与应用生物学,2019(3):123-128
- [33] 张俊,李隐侠,钱勇,等. 山羊 MC4R 基因多态性与体质量性状的关联性分析[J]. 江苏农业科学,2019,47(19):53-56

(责任编辑:谭彩霞)

声 明

1. 本刊已许可相关合作单位以数字化方式复制、汇编、发行、信息网络传播本刊全文,相关著作权使用费与本刊稿酬一次性给付。

2. 本刊已加入“中国知网”学术期刊优先数字出版平台。

作者向本刊提交文章发表的行为视为同意我刊上述声明。

本刊编辑部