

Ghrelin: Et nytt peptidhormon som regulerer veksthormonutskillelse og energimetabolisme

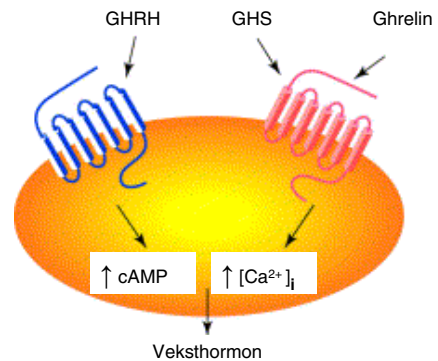
Robert Bjerknes¹, Dagfinn Aarskog

Seksjon for endokrinologi og metabolisme, Barneklubben,
Haukeland Universitetssykehus, Bergen

Innledning

Veksthormon er et multifunksjonelt hormon som regulerer cellevekst og bidrar i reguleringen av karbohydrat-, protein- og lipid-metabolismen, samtidig som det bidrar i vann- og elektrolytt balansen. Utskillelsen av veksthormon har tradisjonelt vært antatt å bli regulert av to mekanismer: 1) Stimulert av hypothalamisk veksthormon-releasing hormon (GHRH); og 2) Hemmet av somatostatin (Figur 1) (1). Midt på 1970-tallet ble det imidlertid rapportert at flere syntetisk fremstilte peptider derivert fra met-enkephalin (såkalte veksthormon-secretagogues) kunne stimulere veksthormonutskillelsen (2). I løpet av de neste årene ble en rekke slike substanser syntetisert (2-4), og i 1996 ble det vist at de virket gjennom en G-protein-koplet reseptor (5). Allerede tre år etter ble en endogen ligand, ghrelin, med sterk veksthormonutskillelse effekt karakterisert (6).

I det følgende vil vi gjennomgå noe av historikken bak karakteriseringen av denne tredje mekanismen for regulering av veksthormonutskillelsen, samtidig som vi vil gi en oversikt over struktur, distribusjon og fysiologiske effekter av ghrelin.



Figur 1

De to signalsystemene for utskillelse av veksthormon i hypofysen. Binding av GHRH til GHRH-reseptoren medfører aktivering av bl.a. adenylcyclase og intracellulær økning av cAMP, mens binding av veksthormon-secretagogues (GHS) eller den endogene liganden, ghrelin, aktiverer en annen signalvei som bl.a. gir økning av intracellulært fritt kalsium. Både GHRH-reseptoren (blå) og GHS-reseptoren (rød) hører til familien av G-protein-koplete reseptorer med syv transmembrane domener.

Veksthormon-secretagogues

I 1976 rapporterte Bowers og medarbeidere at derivater av opioid-peptider hadde en svak veksthormonutskillelse effekt (2). Kort tid etter ble hexapeptidene His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-

¹: Korrespondanse til:
Professor Robert Bjerknes
Barneklubben
Haukeland Universitetssykehus
Helse Bergen HF
5021 Bergen
Tlf. 55975250
Fax. 55975249
E-post: bjer@helse-bergen.no

amide (GHRP-6) og hexarelin (en metylert form av GHRP-6) vist å være kraftige stimulatorer av veksthormonutskillelsen (3,4,7) (Figur 2). På grunn av sin enkle struktur og veksthormonutskillende effekt ble flere farmasøytiske firma interessert i dette feltet, og senere ble en rekke nye substanser (både peptider og ikke-peptider) syntetisert, karakterisert og testet i kliniske sammenhenger (3,4,7) (Figur 2). Innen pediatrik endokrinologi er det særlig hexarelin som har vært studert, men uten at det er definert noen klar rolle for substansen i praktisk klinikk (4).

Veksthormon-secretagogues virker via andre signalmekanismer enn GHRH. Mens GHRH øker intracellulært cAMP, så aktiverer veksthormon-secretagogues fosfolipase C, inositol trifosfat signalsystemene og øker den intracellulære konsentrasjonen av fritt kalsium (5,7). Kunnskapen om de ulike signalmekanismene gjorde det mulig å identifisere og klonere reseptoren veksthormon-secretagogues (5). Reseptoren er en G-proteinkoplet reseptor som har syv transmembrane

domener (Figur 1), med visse likhetstrekk med motilin-reseptoren (7). Ved hjelp av ulike teknikker, bl.a. in situ hybridisering, er det vist at reseptoren er uttrykt i hypofysen, hypothalamus og i hippocampus (7,8). Senere studier med radiomerket GHRP-6 har vist binding også i andre vev, noe som kan indikere at veksthormon-secretagogues kan ha andre fysiologiske effekter og kanskje til og med utøve effekter via andre hittil ikke identifiserte reseptorer (7,8).

Ghreltin

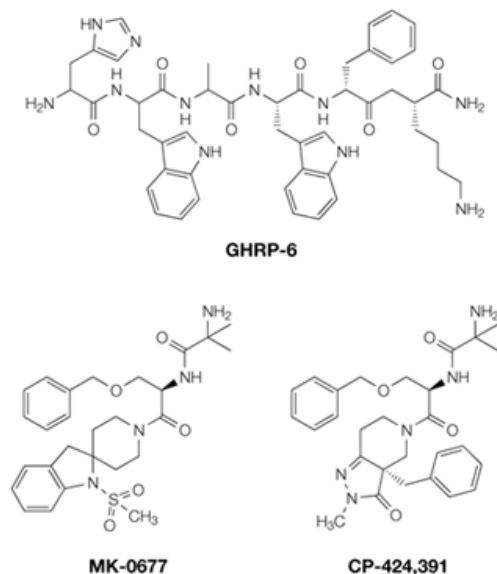
I de siste årene er en rekke hormoner og andre signalmolekyler identifisert på bakgrunn av at man først har identifisert reseptoren disse substansene virker på (såkalte orphan-reseptorer). I forsøkene på å identifisere en endogen ligand for veksthormon-secretagogue reseptoren lette man først i hypofysen og hypothalamus, siden det var her reseptoren var uttrykt. Dette viste seg ikke å være en suksess, og det var først når man screenet vevsekstrakter fra andre deler av kroppen at et peptid som bandt seg til og kunne aktivere reseptoren ble identifisert (6,9). Det var svært uventet at peptidet særlig ble funnet i ekstrakter fra magesekken hos forsøksdyrene.

Peptidet, som ble kalt ghreltin, består av 28 aminosyrer (9) (Figur 3). Peptidet produseres som et pro-pre-peptid på 117 aminosyrer (9,10). Det er også vist at hos rotter så produseres to ulike former av peptidet, nemlig ghreltin og des-Gln¹⁴-ghreltin (10). Dette siste peptidet har identisk aktivitet med ghreltin, men siden det bare produseres i små mengder i magesekken, antas det at ghreltin er den viktigste aktive formen av hormonet in vivo.

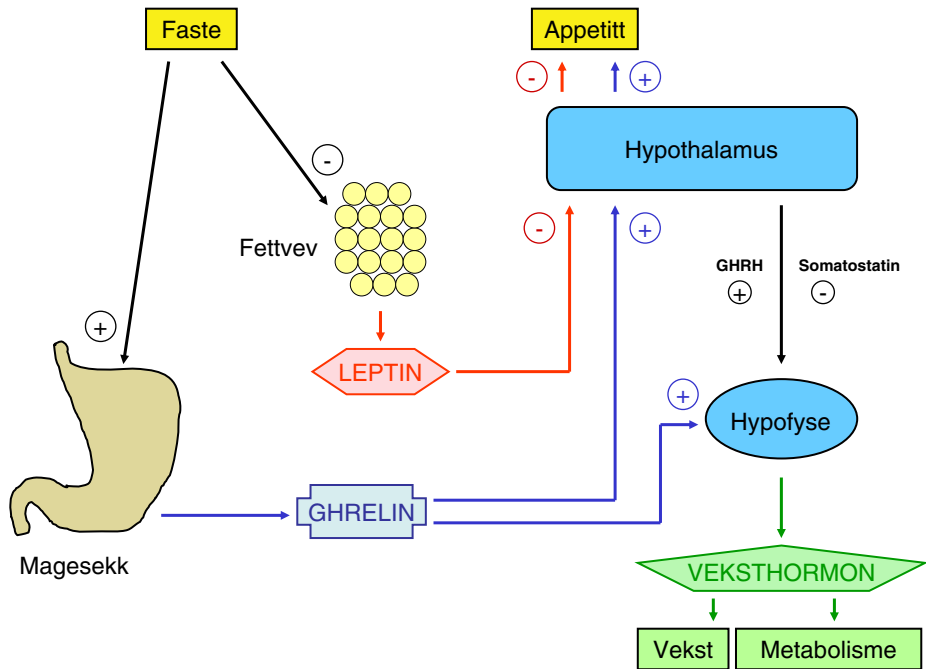
Genet for humant ghreltin er lokalisert på kromosom 3p26-p25 (9,11). Genet for pro-pre-peptidet har fire exoner, og de 28 aminosyrene som inngår i ghreltin kodes av deler av henholdsvis exon 1 og 2 (11).

Det var svært uventet at den biologiske aktiviteten viste seg å være knyttet til binding av n-octanoylsyre til serin i posisjon 3 (Figur 3) (9,10). Ghreltin er det første peptidet som noen gang er vist å ha en slik struktur. Genene for pro-pre-ghreltin hos rotte og menneske har 82 % homologi, og humant ghreltin skiller seg bare i to posisjoner fra ghreltin hos rotte (10). På den annen side er det ingen homologi mellom ghreltin og dagens kjente veksthormon-secretagogues.

Ghreltin produseres av de såkalte X/A-like cellene i submukosa av ventrikkelen (12). Ghreltin utskilles til



Figur 2
Veksthormon-secretagogues. GHRP-6, og dets metylerte form hexarelin, er eksempel på peptidmolekyler som binder seg til veksthormon-secretagogue reseptoren og medfører veksthormonfrisetting. MK-0677 og CP-424,391 er eksempel på veksthormon-secretagogues som ikke er peptider.



Figur 5

En forenklet modell for virkningen av leptin og ghrelin på reguleringen av matinntaket.

Leptin deltar i en feedbacksløye for å opprettholde en konstant mengde fett, og leptin frisettes fra fettvevet som en funksjon av hvor mye fettvev det er i kroppen. Leptin hemmer også matinntaket via to ulike hypothalamiske mekanismer som bl.a. involverer nucleus arcuatus og nucleus paraventricularis. Ghrelin frisettes fra magesekken. Ghrelins effekt på hypothalamus er den motsatte av leptinets, ved at appetitten stimuleres. Ghrelin stimulerer også energimetabolismen og frisettingen av veksthormon, med andre ord genereres en anabol tilstand. Faste stimulerer til frisetting av ghrelin, mens mengden leptin reduseres.

In vitro stimulering av isolerte hypofyseceller med ghrelin induserer isolert veksthormonutskillelse (9), mens stimulering in vivo gir også en svakere, men signifikant stigning i de sirkulerende nivåene av ACTH, kortisol og prolaktin (Figur 4A) (18,19). Ghrelin synes ikke å påvirke TSH- eller gonadotropinnivåene (Figur 4B) (18,19). Administrasjon av GHRH sammen med ghrelin viser at de har en klar synergistisk effekt på utskillelsen av veksthormon, mens en slik synergisme ikke ses for utskillelsen av ACTH eller prolaktin (19,21). Eksperimentelt er det også vist at ghrelin kan regulere ekspresjon av den hypofysespesifikke transkripsjonsfaktoren Pit-1 (22).

Det er foreløpig ikke beskrevet pasienter som har forstyrrelser i ghrelinmengde eller virkning. Det er imidlertid kjent at en del barn med veksthormonmangel responderer på behandling med veksthormon-secretagogues, og det vil trolig snart være

avklart om noen av disse kan ha ghrelinmangel. På samme måte kan man tenke seg at økt produksjon av ghrelin kan gi gigantisme eller akromegali.

Veksthormon-secretagogues har vært bruk noe i testing for veksthormonmangel. Teoretisk kan man tenke seg at ghrelin som et endogent peptid, kanskje spesielt i kombinasjon med GHRH, vil kunne bli en provokasjonstest som kunne være av nytte i utredningen. Det gjenstår imidlertid å se om dette er noe som kan omsettes i praksis.

Effekter på matinntak og enegimetabolisme: En meget interessant effekt av ghrelin er at hormonet virker appetittstimulerende uavhengig av veksthormon (20,23,24). Det at perifert administrert ghrelin øker appetitten, viser også at dette hormonet har en annen effektorløye enn andre hittil kjente appetittstimulerende peptider som bare virker lokalt

i hjernen. Ghrelin skilles altså ut fra magesekken til blodet, for så å krysse blod-hjerne-barriæren og utøve sin effekt i hjernen.

Det er i tråd med dette vist at administrasjon av ghrelin til forsøksdyr medfører en klar oppregulering av mRNA for neuropeptid Y og agouti-related protein i nucleus arcuatus (25). Det er derfor sannsynlig at ghrelin virker på matinntaket ved å øke mengden av disse appetittstimulerende peptidene, og at økning av kroppsvekten etter ghrelin-administrasjon er et resultat av dette (25). Det er kjent at leptin reduserer ekspresjonen av mRNA for neuropeptid Y i hypothalamus og hemmer matinntaket (26). Disse effektene kan oppheves om ghrelin administreres samtidig med leptin (23,26), noe som tyder på at ghrelin kan være et slags "sult-signal" i en kompleks reguleringskaskade for å opprettholde energibalanse der også leptin og en rekke andre signalsubstanser inngår (Figur 5).

I en studie fra i år ble det også vist at intravenøs administrasjon av ghrelin stimulerer både utskillelsen av insulin og gastrin hos forsøksdyr (27). Videre senket inntak av svært fettrik mat de sirkulerende mengdene av ghrelin, mens lavprotein diett økte plasmakonsentrasjonen signifikant (27). Det synes derfor som det er en toveis regulering der ghrelin på den ene siden påvirker matinntaket, mens dietten igjen virker inn på utskillelsen av ghrelin. Det er likevel ikke endelig avklart hvordan disse mekanismene henger sammen, og det finnes bl.a. data som tyder på at ghrelin kan virke annerledes på bl.a. insulinsekresjonen hos mennesker enn hos forsøksdyr (28).

Som nevnt over medfører ghrelin vektoppgang gjennom økt matinntak, men i tillegg er det vist i dyreforsøk at ghrelin også har en klar innvirkning på metabolismen, ved at denne dreies i retning av forbruk av karbohydrater (29). Parallelt med dette øker fettmassen (29). Disse metabolske effektene synes å være uavhengige av veksthormon i alle fall hos forsøksdyr.

Det foreligger klart færre data når det gjelder ghrelinets effekt på energibalansen hos mennesker. Det er imidlertid vist at ghrelin i plasma påvirkes av så vel akutt som kronisk endring i ernæringsmessig status, og nylig ble det rapportert at ghrelinnivåene var nedregulert hos en gruppe overvektige voksne (14), mens de sirkulerende nivåene var økt hos pasienter med anorexia nervosa (30,31). Dersom pasienter med anorexi senere går opp i vekt, vil økningen i ghrelin-konsentrasjon gå ned (31).

Ghrelin endres også raskt og signifikant i forbindelse med måltider, og umiddelbart før et måltid kommer det en kraftig topp i utskillelsen av ghrelin etterfulgt av et raskt postprandialt fall (32). Dette har bl.a. blitt tolket slik at ghrelin kan ha en rolle som initiator av så vel sultfølelse som spiseadferd hos mennesker. Det er i denne forbindelse svært interessant at det tidligere i år ble rapportert klart høyere sirkulerende nivåer av ghrelin hos pasienter med Prader-Willi syndrom enn hos friske (33). Nivåene av ghrelin var sammenlignbare med de som tidligere er rapportert å stimulere appetitt og matinntak (24). Samlet sett postuleres det at hyperghrelinemi kan være en faktor som bidrar til hyperfagien ved Prader-Willi syndrom.

I forlengelsen av dette har det vært postulert at mutasjoner i ghrelinogenet kunne gi eller medvirke til utvikling av overvekt. Dette har vært undersøkt hos en gruppe av 96 kvinner med uttalt adipositas (mean BMI 42,3 kg/m²) (34). Man fant da mutasjon i posisjon 51 (Arg51Gln) i sekvensen som koder for den siste aminosyren i ghrelin hos 6,3% av de overvektige individene (alle heterozygote), mens denne ikke ble funnet i en kontrollgruppe på 96 ikke-overvektige (34). Det ble også funnet en forandring Leu72Met hos 15 av de med adipositas (12 heterozygote og 3 homozygote) og hos 12 kvinner i kontrollgruppen (alle heterozygote), forenlig med at denne trolig representerte en polymorfisme. Andre har rapportert at Leu72Met kan være assosiert med tidlig debut av alvorlig adipositas (35). Flere studier er imidlertid nødvendig for å avklare om mutasjoner i ghrelinogenet kan forklare adipositas hos pasienter.

Siden ghrelin medfører økt matinntak og vektoppgang (23,24,26,29), er en logisk hypotese at blokkering av ghrelinets virkning i kroppen kunne være en mulig måte begrense eller behandle adipositas på. En slik tilnærming vil imidlertid være assosiert med redusert veksthormonutskillelse, en tilstand som vi vet er assosiert med økt fettmasse. Dermed er det usikkert hvorvidt en slik tilnærming kan ha noe for seg.

Vekttap er vanligvis et stimulus for matinntak, og den anorexi som ses ved en rekke kroniske tilstander som infeksjoner, inflammasjonstilstander og cancer indikerer at det ved disse tilstandene er en feil i den normale adaptive spiseadferden. Det er vist at interleukin-1 β , som er et proinflammatorisk cytokin, hemmer både mRNA-produksjon for neuropeptid Y i hypothalamus og mRNA-produksjon for ghrelin i magesekken (36,37). Samtidig er det i dyreforsøk vist at eksternt tilført

ghrelin er i stand til i alle fall delvis å reversere IL-1 β -indusert appetittløshet og vekttap (36). Dermed kan man tenke seg at ghrelin eller ghrelinreseptoragonister i fremtiden kan vise seg å bli mulige kandidater i behandlingen av hypermetabole tilstander ved å indusere en positiv energibalanse.

Kardiovaskulære effekter: Det er vist i flere studier at ghrelin har hemodynamiske effekter, og hos friske individer reduseres den kardiale afterload, samtidig som cardiac output øker uten samtidig ledsagende økning av hjerterytmen (38). Videre er det rapportert at en enkelt injeksjon av ghrelin også forbigående bedrer hjertefunksjonen til pasienter med kronisk hjertesvikt (39). Det er således mulig at ghrelin kan få en rolle i behandling av hjertesvikt i fremtiden. Det er også grunn til å merke seg at ghrelin ser ut til å ha effekter på karveggen, og at hormonet kan spille en rolle i patogenesen for utviklingen av atherosklerotiske lesjoner (40).

Andre effekter: Det er nylig funnet at ghrelin kan hemme vekst av kreftceller (16,41). Andre har vist at ghrelin og dets reseptor finnes både på humane T-celler, B-celler og neutrofile granulocytter (16), noe som kan indikere at dette hormonet også kan ha immunoregulatoriske effekter vi ikke kjenner i dag. Det finnes også data som tyder på at ghrelin kan være en viktig regulator av kroppens stressreaksjoner (41), samtidig som hormonet også synes å virke inn på søvnmønsteret (42) og på den eksokrine pancreas (16).

Oppsummering

Ghrelin er et hormon som utskilles fra magesekken og som øker veksthormonutskillelsen. Ghrelin stimulerer også sult og spiseadferd, og disse virkningene, sammen med metabolske effekter som synes å være motsatte av leptin, bidrar til vektøkning. Ghrelin representerer dermed et nytt bindeledd mellom vekst og energibalanse, og det er sannsynlig at vi i nær fremtid vil få ny kunnskap som vil utdype disse virkningsmekanismene og som kanskje kan danne grunnlag for utvikling av nye terapeutiske modaliteter.

Referanser

1. Carter-Su C, et al. Molecular mechanisms of growth hormone action. *Annu Rev Physiol* 1996;58:187-207.
2. Bowers Cy, Chang J, Momany F, Folkers K. Effects of the enkephalins and enkephalin analogs on release of pituitary hormones in vitro. I: *Molecular endocrinology*. MacIntyre I, red. Elsevier, Amsterdam, 1977, 287-92.
3. Bowers CY. Unnatural growth hormone-releasing peptide begets natural ghrelin. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1464-9.
4. Baldelli R, et al. Growth hormone secretagogues as diagnostic tools in disease states. *Endocrine* 2001;14:95-9.
5. Howard AD, et al. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 1996;273:974-7.
6. Kojima M, Hosoda H, Kangawa K. Purification and distribution of ghrelin. *Hormone Res* 2001;56 Suppl 1:93-7.
7. Smith EG, et al. Growth hormone secretagogue receptor family members and ligand. *Endocrine* 2001;14:9-14.
8. Guan XM, et al. Distribution of mRNA encoding the growth hormone secretagogue receptor in brain and peripheral tissues. *Brain Res Mol Brain Res* 1997;48:23-9.
9. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999;402:656-60.
10. Kojima M, Hosoda H, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin: Discovery of the natural endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *Trends Endocrinol Metab* 2001;12:118-22.
11. Wajnrajch MP, Ten IS, Gertner JM, Leibel RL. Genomic organization of the human GHRELIN gene. *J Endocrinol Genet* 2000;1:231-3.

12. Date Y, et al. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tract of rats and humans. *Endocrinology* 2000;141:4255-61.
13. Chanoine J-P, Yeung LPK, Wong ACK. Umbilical cord ghrelin concentrations in caucasian and chinese neonates. *Hormone Res* 2002;58(Suppl. 2):141.
14. Tschöp M, Viswanath D, Weyer C, Tataranni PA, Ravussin E, Heiman ML. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 2001;50:707-9.
15. Ghizzoni L, Vottero A, Mastorakos G, Folli F, Ziveri M, Bernasconi S. Spontaneous 24-hour secretion in short-normal prepubertal children. *Hormone Res* 2002;58(Suppl. 2):152.
16. Yoshihara F, Kojima M, Hosoda H, Nakazato M, Kangawa K. Ghrelin: a novel peptide for growth hormone release and feeding regulation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002;5:391-5.
17. Date Y, et al. Central effects of a novel acylated peptide, ghrelin, on growth hormone release in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;275:477-80.
18. Takaya K, et al. Ghrelin strongly stimulates growth hormone (GH) release in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:4908-11.
19. Arvat E, et al. Endocrine activities of ghrelin, a natural growth hormone secretagogue (GHS), in humans: Comparison and interactions with hexarelin, a nonnatural peptidyl GHS, and GH-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1169-74.
20. Wren AM, et al. The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology* 2000;141:4325-8.
21. Hataya Y, et al. A low dose of ghrelin stimulates growth hormone (GH) release synergistically with GH-releasing hormone in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;86:4552-5.
22. Garcia A et al. Regulation of Pit-1 expression by ghrelin and GHRP-6 through the the GH secretagogue receptor. *Mol Endocrinol* 2001;15:1484-95.
23. Nakazato M, et al. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 2001;409:194-8.
24. Wren AM, et al. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5992-5.
25. Kamegai J, et al. Chronic central infusion of ghrelin increases hypothalamic neuropeptide Y and agouti-related protein mRNA levels and body weight in rats. *Diabetes* 2001;50:2438-43.
26. Injui A. Ghrelin: An orexigenic and somatotrophic signal from the stomach. *Nature Rev Neurosci* 2001;2:551-60.
27. Lee H-M, Wang G, Englander EW, Kojima M, Greeley Jr GH. Ghrelin: A new gastrointestinal endocrine peptide that stimulates insulin secretion: Enteric distribution, ontogeny, influence of endocrine, and dietary manipulations. *Endocrinology* 2002;143:185-90.
28. Broglio F, et al. Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5083.
29. Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2000;407:908-13.
30. Shiya T, et al. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:240-4.
31. Otto B, et al. Weight gain decreases elevated plasma ghrelin concentrations of patients with anorexia nervosa. *Eur J Endocrinol* 2001;145:669-73.
32. Cummings DE, et al. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 2001;50:1714-9.
33. Cummings DE, et al. Elevated plasma ghrelin levels in Prader-Willi syndrome. *Nature Med* 2002;8:643-4.
34. Ukkola O, et al. Mutations in the preproghrelin/ghrelin gene associated with obesity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3996-9.

35. del Giudice EM, et al. The variant Leu72Met of the ghrelin gene is associated with early obesity onset. *Hormone Res* 2002;58(Suppl. 2):71.
36. Asakawa A, et al. Ghrelin is an appetite stimulatory signal from stomach with structural resemblance with motilin. *Gastroenterology* 2001;120:337-45.
37. Gayle D, Ilyin SE, Plata-Salaman CR. Central nervous system IL-1 beta system and neuropeptide Y mRNAs during IL-1 beta-induced anorexia in rats. *Brain Res Bull* 1997;44:311-7.
38. Nagaya N, et al. Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. *Am J Physiol (Regul Integr Comp Physiol)* 2001;280:R1483-7.
39. Nagaya N, et al. Chronic administration of ghrelin improves left ventricular dysfunction and attenuates development of cardiac cachexia in rats with heart failure. *Circulation* 2001;104:1430-5.
40. Katugampola SD, Pallikaros Z, Davenport AP. [¹²⁵I-His⁹]-ghrelin, a novel radioligand for localizing GHS orphan receptors in human and rat tissues; up-regulation of receptors with atherosclerosis. *Br J Pharmacol* 2001;134:143-9.
41. Ukkola O, Pöykkö S. Ghrelin, growth and obesity. *Ann Med* 2002;34:102-8.
42. Weikel JC, et al. Ghrelin promotes slow-wave sleep in man. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002 Oct 15 (epub ahead of print).