



# Biochemie

## Hormonrezeptoren und ihre kinetischen Eigenschaften

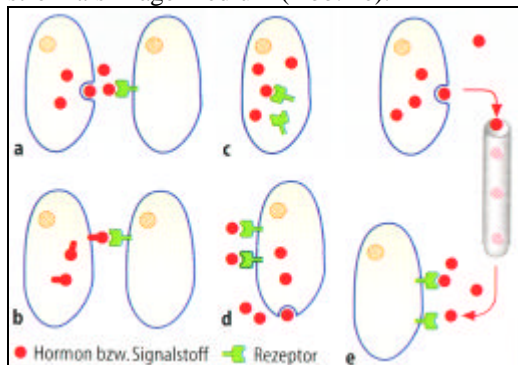


<http://www.uni-wuerzburg.de/fachschaftmedizin>  
Email: [fachschaftmedizin@mail.uni-wuerzburg.de](mailto:fachschaftmedizin@mail.uni-wuerzburg.de)

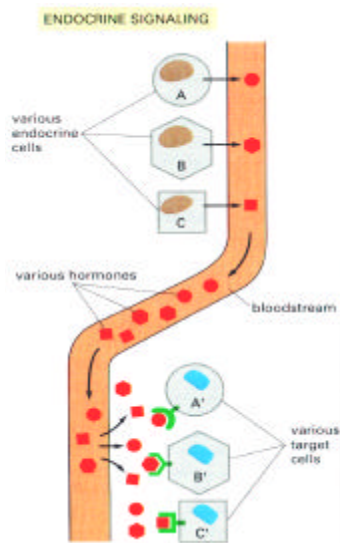
# Hormonrezeptoren und ihre kinetischen Eigenschaften

## 1. Einführung

Neben dem Nervensystem stellt das Hormonsystem den zweiten großen Informationsvermittler im menschlichen Körper dar. Dabei benutzt es Hormone, kleine Moleküle, die in den Extrazellulärraum abgegeben werden. Wirken diese Hormone direkt auf über Diffusion erreichbare Nachbarzellen, so spricht man von parakriner Sekretion (Abb. 1a), wirkt das Hormon auf die sezernierende Zelle zurück von autokriner Sekretin (Abb. 1c: intern autokrin; d: extern autokrin. 1b: juxtakrine Sekretion). Sind hormonproduzierende Drüse und Erfolgsorgan aber weiter voneinander entfernt, benutzt die hormonale Steuerung weitgehend den Blutstrom als Trägermedium (Abb. 1e).



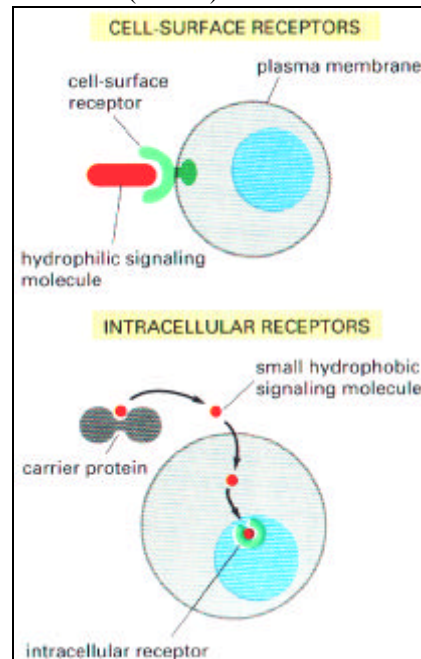
Im Gegensatz zum neuronalen Vermittlungsweg, der auf einer Vielzahl von gezielt ausgerichteten Nervenfasern beruht, sind die Hormone durch ihre gleichmäßige Verteilung im Blut nicht per se spezifisch. Um bestimmte



definierte Aufgaben erfüllen zu können, benötigen sie sehr spezifische Rezeptoren auf ihren

Zielzellen mit hoher Affinität, da Hormone üblicherweise in einer Konzentration von weniger als  $10^{-8}$  M vorliegen.

Dabei unterscheidet man zwei verschiedene Methoden (Abb. 3):



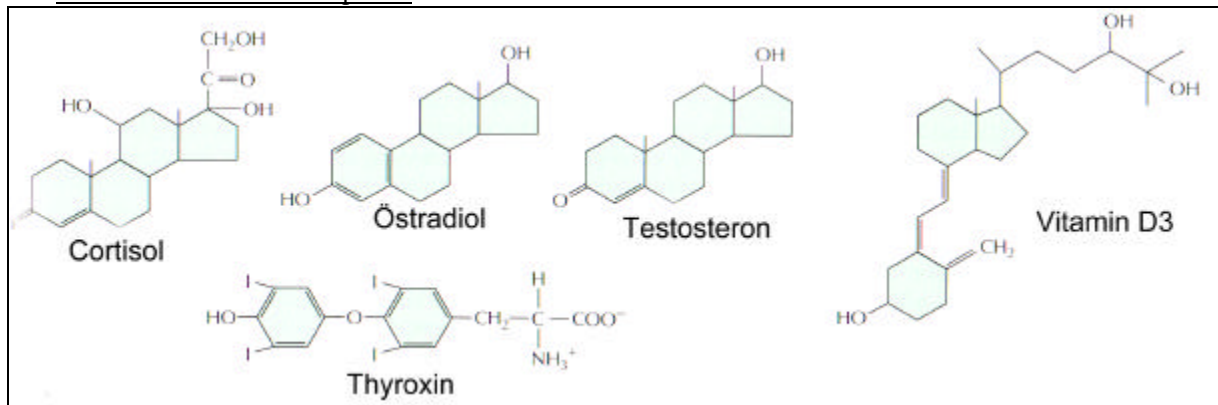
Hydrophile Hormone benutzen weitgehend Rezeptoren, die in der Zellmembran liegen und das Molekül außerhalb der Zelle binden, um die ankommende Information auf verschiedene Wege ins Innere zu leiten.

Lipophile Hormone, die aufgrund ihrer schweren Wasserlöslichkeit im Blut an Trägerproteine gebunden sind, überwinden aufgrund ihrer lipophilen Natur die Zellmembran und finden ihren Rezeptor im Zellinneren, meistens im Kern.

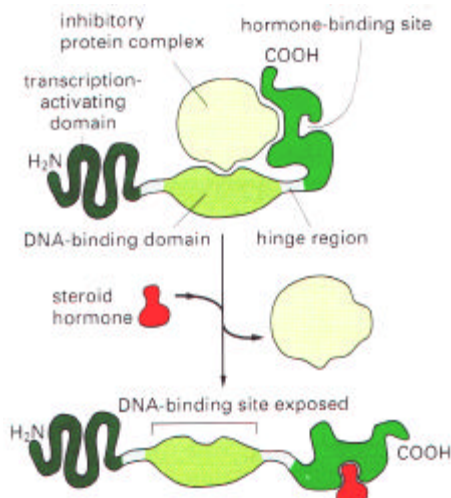
Dabei sind Hormone, die Abkömmlinge der Cholesterins oder mehrfach ungesättigter Fettsäuren sind, lipophil, Peptide und Proteine weitgehend hydrophil. Derivate von Aminosäuren verhalten sich meist wie ihre Ursprungsformen.

Im folgenden werden wir diese beiden recht einfachen Kategorien noch weiter unterteilen.

## 2. Intrazelluläre Hormonrezeptoren



Steroidhormone, Schilddrüsenhormone und Vitamin D<sub>3</sub> (Abb. 4) sind kleine, hydrophobe Moleküle, die sich zwar chemisch und funktionell weitgehend voneinander unterscheiden, aber den selben Wirkmechanismus besitzen. Sie überwinden alle die lipophile Zellmembran und binden intrazellulär an spezielle ligandenaktivierte Genregulations-Proteine. Diese Rezeptoren sind strukturell eng miteinander verwandt und werden deshalb zur Steroid-Hormon-Oberfamilie zusammengefasst (Abb. 5). Am

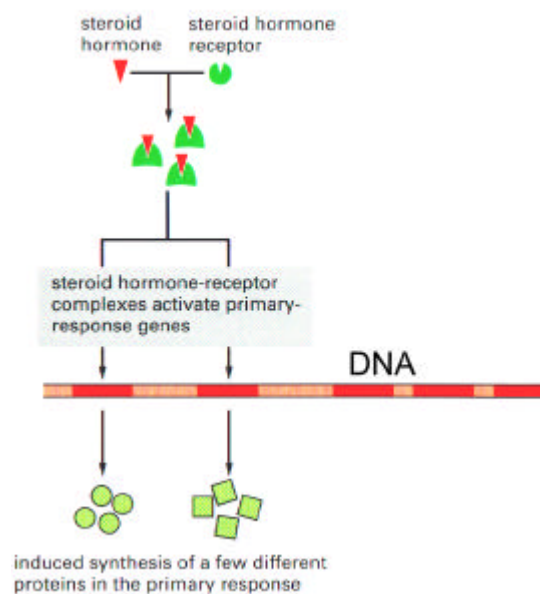


Carboxylterminus besitzen sie eine Hormon-Bindungsstelle, am Aminoterminus eine transkriptionsaktivierende Domäne. Dazwischen befindet sich die DNA-Bindungsstelle, die in Ruhe von einem Hitzeschockprotein, Hsp 90, inhibitorisch besetzt wird.

Bindet nun ein Hormon an den Rezeptor, führt eine allosterische Konformationsänderung zur Ablösung des Hsp 90 und damit zur Freilegung der DNA-Bindungsstelle. Der Aminoterminus induziert die Transkription der erforderlichen Gene.

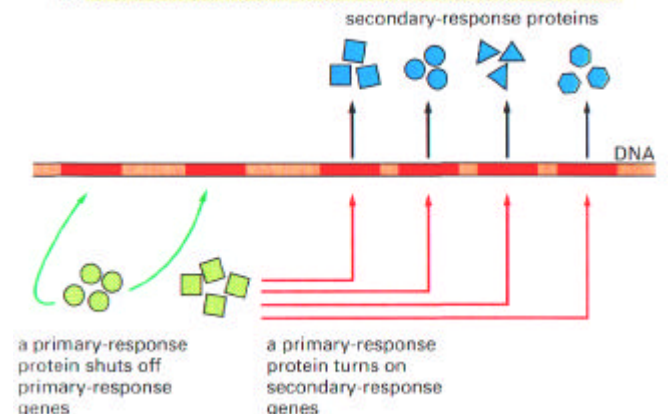
Hierbei unterscheidet man zwei Antwortschemata: die schnelle Erstantwort und die verzögerte Zweitantwort (Abb. 6). Bei der schnellen Erstantwort werden wie oben beschrieben Gene transkribiert und damit bestimmte Proteine

### (A) EARLY PRIMARY RESPONSE TO STEROID HORMONE



synthetisiert. Diese Proteine können nun ihrerseits durch negativen feed-back auf ihre eigene Transkription einwirken oder aber auch anderer Gene induzieren oder verstärken. Dadurch kann es zu einer Vielzahl von neu synthetisierten Proteinen kommen, die von der ursprünglich transkribierten DNA des hormoninduzierten Proteins völlig unabhängig sind. Dieser Mechanismus erklärt zum Teil die langanhaltende Wirkung von lipophilen Hormonen.

### (B) DELAYED SECONDARY RESPONSE TO STEROID HORMONE

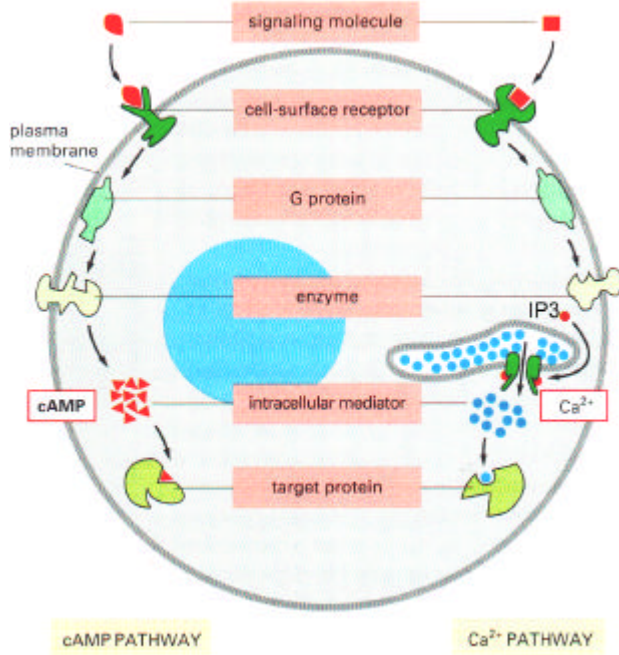


Zum anderen beruht diese aber auch an die Bindung der Hormone im Blut an Trägerprote-

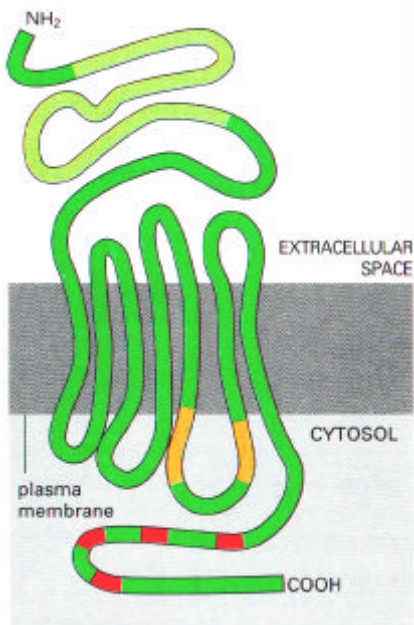
ine, die den Bluthormonpegel weitgehend in einem Gleichgewicht halten.

3. Signalwege über G-Proteine

Zelloberflächenrezeptoren sind entweder selbst Enzyme, wie wir später noch sehen werden, oder aber sie sind über ein sogenanntes G-Protein an ein Enzym gekoppelt (Abb. 7).

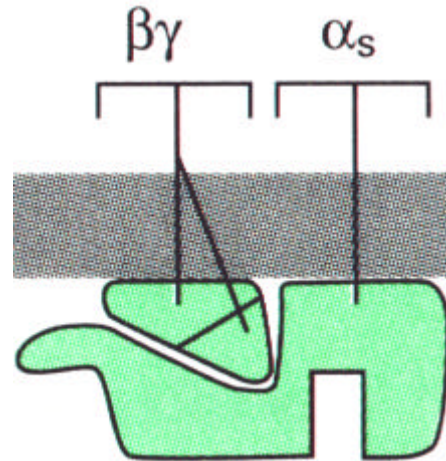


Dabei unterscheidet man wiederum zwei Signalwege: Der eine erzeugt die second messengers IP<sub>3</sub> und DAG, der andere cAMP. Beide Wege laufen in ihren ersten beiden Schritten gleich ab: Ein Hormon bindet an einen Rezeptor, der als Transmembranprotein in der Zellmembran sitzt (Abb. 8). Die G-Protein-assoziierten Hormonrezeptoren gehören zu der großen Familie der Sieben-Helix-Proteine, die, wie der Name schon sagt, die Plasmamembran mit sieben  $\alpha$ -Helices durchdringen. Ihr Amino-



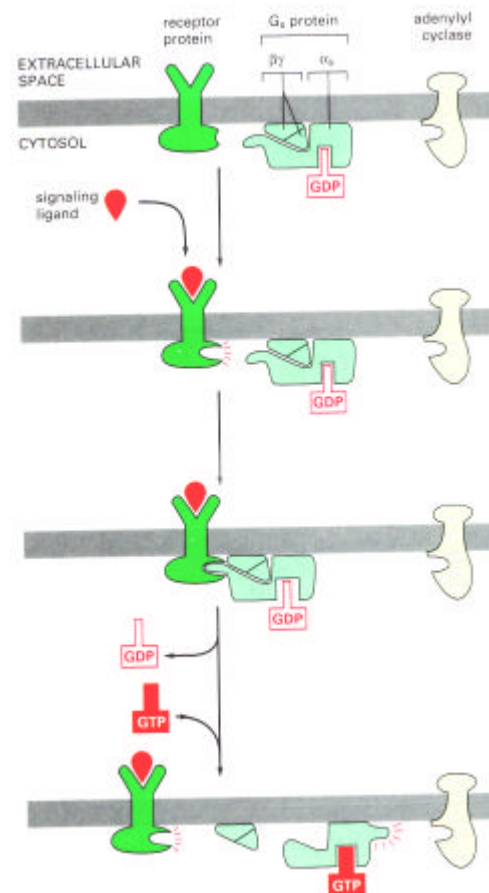
terminus ragt in den Extrazellulärraum hinaus und besitzt eine große Hormonbindungsdomäne. Am intrazellulären Carboxyterminus besitzt der Rezeptor Domänen für die Bindung des G-Proteins.

Das G-Protein (Abb. 9) ist ein Heterotrimer mit der katalytischen  $\alpha_s$ -Untereinheit und den beiden regulatorischen  $\beta$ -/ $\gamma$ -Untereinheiten. Die



$\alpha_s$ -Untereinheit besitzt eine GTP-Bindungsdomäne, die dem ganzen Protein auch seinen Namen gegeben hat. In Ruhe ist dort ein GDP gebunden.

Bindet nun ein Hormon am Rezeptor (Abb. 10), verändert dieser allosterisch seine Kon-

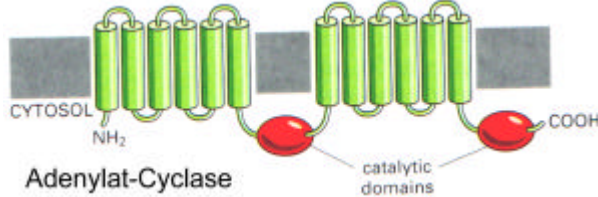




formation und bietet dem G-Protein seine frei-liegende Bindungsstelle an. Das in der Plas-mamembran umherdiffundierende G-Protein bindet an den Rezeptor, was zu einer Schwä-chung der Affinität der  $\alpha_s$ -Untereinheit zu GDP führt. GDP diffundiert vom gebundenen G-Protein ab und ermöglicht nun einem GTP-Molekül, die freigewordene Bindungsstelle der  $\alpha_s$ -Untereinheit zu besetzen. Dies führt durch allosterische Wirkungen zur Dissoziation der  $\alpha_s$ -Untereinheit vom Rezeptor-G-Protein-Komplex. Der so aktivierten  $\alpha_s$ -Untereinheit bieten sich nun zwei Möglichkeiten an:

a) Der Adenylatcyclase-Weg

Hierbei bindet die  $\alpha_s$ -Untereinheit an eine membranassoziierte Adenylatcyclase (Abb. 11)

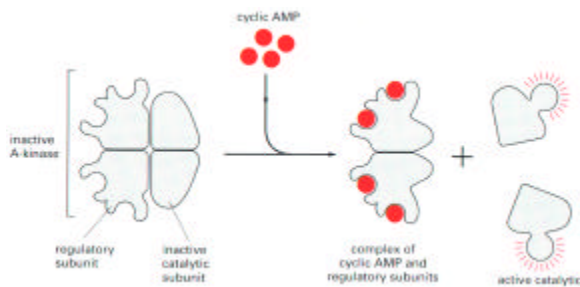


**Adenylat-Cyclase**

und aktiviert diese. Während die Adenylatcyc-lase nun aus ATP cAMP synthetisiert, diffun-diert das Hormon vom Rezeptor ab. Die Hyd-rolyse von GTP zu GDP an der  $\alpha_s$ -Untereinheit bringt diese in ihre ursprüngliche Konformati-on zurück. Dies führt dazu, daß sie von der Adenylatcyclase dissoziiert, die daraufhin die Produktion von cAMP einstellt. Die  $\alpha_s$ -Untereinheit verbindet sich wieder mit den  $\beta$ -/ $\gamma$ -Untereinheiten und ist für den nächsten Akti-vierungszyklus bereit.

Das cAMP seinerseits stellt nun die Überset-zung des extrazellulären Hormonreizes in eine intrazelluläre, vielfach verstärkte Informati-onsform dar.

cAMP seinerseits aktiviert die Proteinkinase A

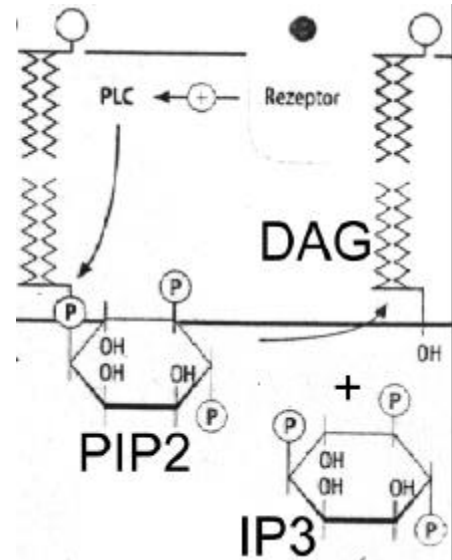


(Abb. 12), PK A, die nun durch Phosphorylie- rung anderer Proteine die Divergenz des Sys-tems erreicht. Dabei ist auch hier zu beachten, daß durch die aktivierende Funktion der PK A eine weitere Verstärkung des Signals auftritt.

b) Der Phospholipase C-Weg

Bei dieser Art der Signaltransduktion aktiviert das G-Protein die Phospholipase C, ebenfalls ein membranassoziiertes Protein. Diese spaltet daraufhin das membranständige Phosphatidyl- inositolbiphosphat, PIP<sub>2</sub> (Abb. 13), in Inositoltriphosphat, IP<sub>3</sub>, und Diacylglycerin, DAG.

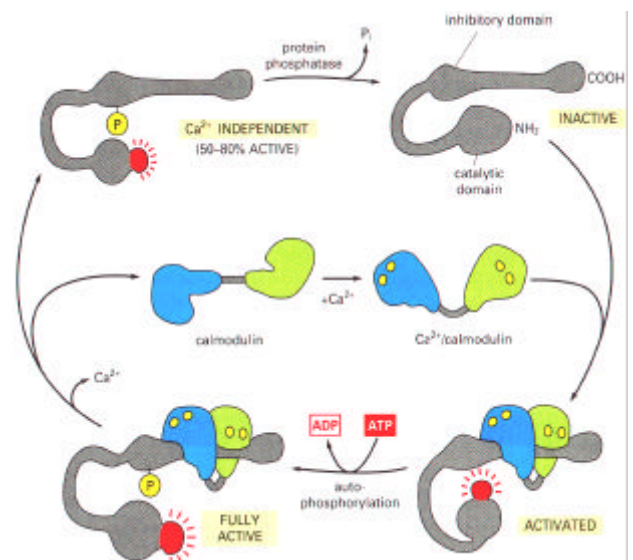
IP<sub>3</sub> diffundiert ab und wirkt als second mes-senger über Öffnung von Ca<sup>++</sup>-Kanälen im En-doplasmatischen Retikulum. DAG verbleibt in



der Plasmamembran und aktiviert seinerseits die Proteinkinase C. Diese ist wiederum Ca<sup>++</sup>-abhängig: Zum einen nähert sie sich nur unter bestimmten Ca<sup>++</sup>-Konzentrationen der inneren Plasmamembran, zum anderen kann sie dort nur unter Anwesenheit von Ca<sup>++</sup> aktiviert wer-den.

Die PK C wirkt auf die Transkription von bes-timmten Genen und hat damit auch eine lang-anhaltende Wirkung.

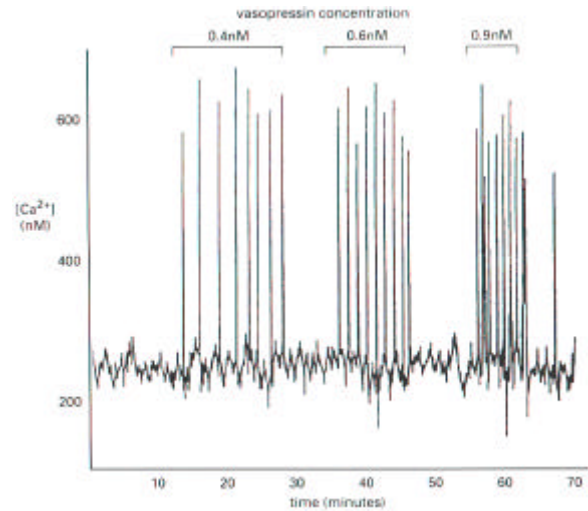
Das durch IP<sub>3</sub> aus dem ER freigesetzte Ca<sup>++</sup> seinerseits wirkt über die Bindung an Cal-modulin. Calmodulin ist ein relativ kleines (150 AS) Protein mit vier hochaffinen Ca<sup>++</sup>-Bindungsstellen, das eine extreme Konformati-onsänderung nach Ca<sup>++</sup>-Bindung vollführt. Calmodulin besitzt seinerseits keine enzymati-sche Funktion, kann aber andere Proteine akti-vieren. Diese können die verschiedensten Funktionen besitzen (Ca<sup>++</sup>-ATPasen, Kinasen etc.), die wichtigsten Vertreter sind aber die Ca<sup>++</sup>/Calmodulin-abhängigen Kinasen, die CaM-Kinasen. Berühmtestes Beispiel ist die Phosphorylase-Kinase, die für den Glykogen-



Abbau zuständig ist.

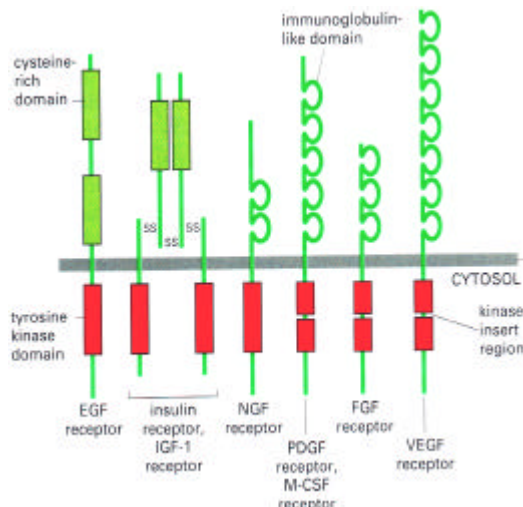
Am besten verstanden ist allerdings die CaM-Kinase II (Abb. 14), die vor allem in Nervenzellen vorkommt. Sie wird durch die Bindung von Calmodulin aktiviert, autophosphoryliert sich dann, was zur festeren Bindung von Calmodulin führt, was aber auch nach Verschwinden des Ca<sup>++</sup>-Signals und damit der Dissoziation des Calmodulin zu einer verlängerten Aktivität führt. Damit muß die für die Zelle ungute Ca<sup>++</sup>-Konzentration nicht kontinuierlich aufrecht gehalten werden, sondern es reichen oszillierende Konzentrationsschwankungen (Abb. 15, rechts).

Interessant ist dabei, daß unterschiedlich hohe Hormonkonzentrationen nicht die peak-Höhe der Ca<sup>++</sup>-Konzentration ändern, sondern auf die Frequenz der peaks wirken.



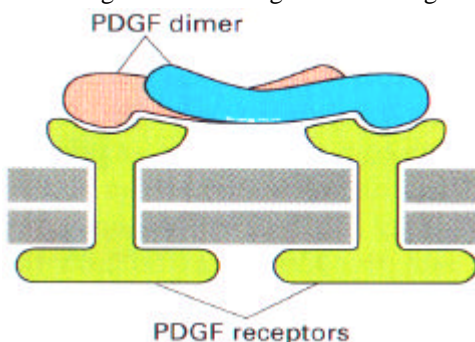
#### 4. Tyrosinkinaserzeptoren

Eine weitere große Gruppe von Hormonrezeptoren sind integrale Membranproteine mit Tyrosinkinaseaktivität (Abb. 16). Allen Rezeptoren



ist gemein, daß Bindung eines Hormons zur Autophosphorylierung an spezifischen Tyrosylresten führt. Dabei gibt es wieder verschiedene Mechanismen:

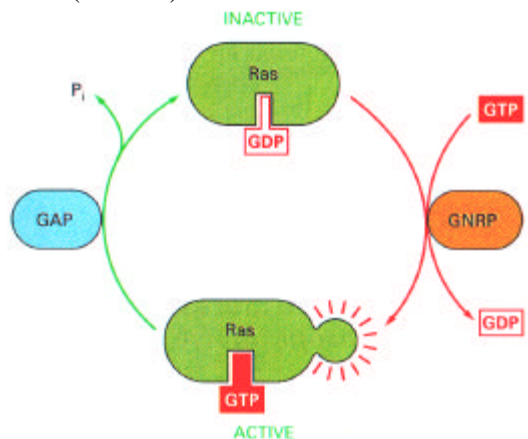
Der Insulinrezeptor ist ein Heterotetramer mit zwei extrazellulären und zwei Transmembrandomänen. Hier führt wohl eine Konformationsänderung nach Ligandenbindung zur



seitigen Phosphorylierung der Tyrosinkinaseeinheiten. Die Bindung eines spezifischen Insulin-Rezeptor-Substrats, IRS-1, ermöglicht die Aktivierung weiterer intrazellulärer Signalproteine.

Leicht anders funktioniert es beim Plättchenwachstumsfaktor, PDGF (Abb. 17). Dessen Rezeptor liegt als Monomer in der Plasmamembran vor. Bindung eines PDGF-Dimers führt zur Assoziation zweier Rezeptorproteine und deren gegenseitiger Autophosphorylierung.

Die phosphorylierten Tyrosylreste dienen bestimmten intrazellulären Adapterproteinen als Erkennungssequenz. Diese besitzen eine SH2-Domäne (src homologue domain), die für die Anlagerung unabdingbar ist. Eines dieser SH<sub>2</sub>-Proteine ist GAP, GTPase-activating protein, das ein GTP eines Ras-Proteins zu GDP + P<sub>i</sub> hydrolysiert und damit das Ras-Protein inaktiviert (Abb. 18). Ras-Proteine übermitteln ext-



razelluläre Signale über Phosphorylierung von MAP-Kinasen in den Zellkern und stimulieren

die Zelle dazu, sich zu teilen oder zu differenzieren. GAP übermittelt also ein negatives Signal an die Zelle.

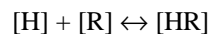
Aber auch das aktivierende GNRP, guanine nucleotide releasing protein, wird seinerseits von einer Tyrosinkinase aktiviert und tauscht daraufhin am Ras-Protein GDP gegen GTP aus. So besitzt der Organismus die Möglichkeit der Feinregulation der Mitose- und Differenzierungsfähigkeit der Zelle.

Vor allem medizinische Relevanz besitzt der Rezeptor des natriuretischen Atriumpeptids. Dieses Transmembranprotein besitzt Guanylatcyclase-Aktivität und wandelt somit GTP in cGMP um. Neben dieser membrangebundenen Guanylatcyclase existiert auch eine lösliche,

die vor allem von NO aktiviert wird. Das auf beide Wege synthetisierte cGMP aktiviert eine Proteinkinase, die ihrerseits wieder eine in der Plasmamembran von glatten Muskelzellen vorkommende  $\text{Ca}^{++}$ -ATPase phosphoryliert. Somit wird der  $\text{Ca}^{++}$ -Spiegel der Muskelzelle gesenkt, was zu deren Erschlaffung führt. Durch die Wirkung auf die glatte Muskulatur der Gefäßwand senkt cGMP somit den Blutdruck, was zu einer Entlastung des Herzens führt. Dies ist das Prinzip der therapeutischen Vasodilatoren auf Nitroglycerin-Ebene zur Behandlung coronarer Herzkrankheit, aber auch der biochemischen Wirkung von Viagra®.

#### 5. Kinetik der Hormonrezeptoren

Die Hormonrezeptor-Kinetik ähnelt weitgehend der schon bekannten Michaelis-Menten-Kinetik. Wie in dieser wird davon ausgegangen, daß Hormon und Rezeptor vorübergehend den Hormon-Rezeptor-Komplex bilden:



Dabei bezeichnet man die Gleichgewichtskonstante der Hinreaktion als  $k_{+1}$  und die der Rückreaktion als  $k_{-1}$ . Entsprechend ergibt sich die Dissoziationskonstante

$$K_d = k_{-1}/k_{+1}.$$

Nach Umformungen erhält man das für Hormonbindungen geltende Äquivalent der Michaelis-Menten-Gleichung:

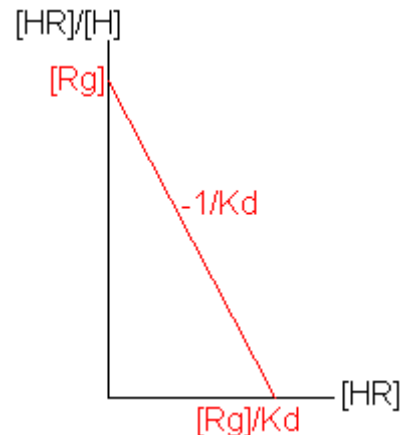
$$[HR]/[R_g] = [H]/(K_d + [H])$$

Dabei ist  $[R_g]$  die Konzentration des gesamten Rezeptors. Diese Gleichung kann zu einer Geradengleichung umgeformt werden:

$$[HR]/[H] = -1/K_d * [HR] + [R_g]/K_d$$

Bei Auftragung von  $[HR]/[H]$  gegen  $[HR]$  er

hält man eine Gerade, den sogenannten Scat-



chard-Plot (Abb.19). Dabei ergibt sich eine Steigung von  $-1/K_d$ , ein Abszissenschnittpunkt von  $[R_g]/K_d$  und ein Ordinatenschnittpunkt von  $[R_g]$ .  $K_d$  liegt dabei sehr tief, meist zwischen  $10^{-11}$  und  $10^{-8}$  mol/l, was auf die sehr spärliche Hormonkonzentration im Blut zurückzuführen ist.

Kennt man  $[R_g]$  und die entsprechende Zellzahl, so kann man leicht die Anzahl der Rezeptormoleküle pro Zelle ausrechnen:

$$\text{Rezeptorzahl} = [R_g] * 6,022 \times 10^{23} / (\text{Zellzahl/l})$$

Für Peptidhormone sind Werte zwischen 4000 und 5000 Rezeptoren pro Zelle üblich.

6. Quellen

Bruce Alberts, Dennis Bray et al., Molecular Biology of The Cell, 3<sup>rd</sup> edition, 1994, Garland Publishing, New York - London.

G. Löffler, P.E. Petrides, Biochemie und Pathobiochemie, 6. Auflage, 1998, Springer, Berlin – Heidelberg – New York

Michael Zeller, SS 1999