

脑内胰岛素及其可能的生理作用

朱 尚 权

(中国科学院上海生物化学研究所)

James, D. Young

(香港中文大学医学院生物化学系)

由于受血脑屏障概念的影响,长期以来很少有人注意到由胰脏产生和分泌的胰岛素是否也存在于脑中,以及是否对脑细胞有生理功能。因为象胰岛素这类蛋白质激素,一般认为从血液循环通过血脑屏障进入脑内是不可能或者非常慢。中枢神经系统通常亦不作为胰岛素的敏感组织。但是近十多年来,随着生物化学研究方法特别是放射免疫测定技术和放射受体测定技术的发展和运用,不仅证明脑中存在胰岛素或类胰岛素物质,而且发现胰岛素受体广泛存在于脑中不同的组织内。有关胰岛素对脑细胞的可能的生理功能已有不少报道。本文将就脑中的胰岛素和胰岛素受体以及胰岛素对脑细胞的可能作用作一简要的概述。

脑 内 胰 岛 素

1978 年, Havrankova 等^[1]报道了大鼠脑提取物用放射免疫和放射受体方法进行检测时,证明脑内不仅存在胰岛素,而且其浓度远远超过血液中的水平。在全脑中,胰岛素的浓度平均比血浆胰岛素水平高 25 倍。脑内不同区域的胰岛素含量有明显差异,其浓度比血浆中高 10—100 倍。按每克组织含胰岛素的量有如下次序: 下丘脑>嗅球>大脑>大脑皮层>中脑>其它。然而脑脊髓液的胰岛素浓度却只有血液中的 25%。脑内高浓度的胰岛素是从何而来的呢? 以往用大鼠进行体内实验得到的结论是胰岛素不能通过血脑屏障进入脑内。这可能是由于成年大鼠血脑屏障的胰岛素转胞作用(transcytosis)太慢以致不能检测到。已经知道,组成血脑屏障的脑毛细血管壁上存在胰岛素受

体^[2],而且这一受体的活性在动物发育时期要比成熟后高得多。用初生兔子作实验证明,胰岛素能通过转胞作用穿过血脑屏障^[3]。这些事实仍不能解释为什么脑内胰岛素的水平比血液中还高。除非脑内有一个主动传递系统将胰岛素从血液中摄取和贮存起来。但是,从血浆胰岛素水平和脑内胰岛素浓度之间的关系研究证明,遗传肥胖型小白鼠(ob/ob)的血浆胰岛素水平比瘦小白鼠约高 50 倍,但它们的脑胰岛素浓度却非常接近。另外,用链脲佐菌素(Streptozotocin)破坏大白鼠的胰脏造成其血浆胰岛素水平降低,其脑胰岛素的浓度却不变。换言之,脑内胰岛素的浓度不依赖于外周循环系统中胰岛素水平,因此,脑胰岛素完全来源于血液中的可能性不大。脑内胰岛素可能是由中枢神经系统中的某些细胞合成的。1983 年, Weghenmery 和 Follows^[4]报道了大白鼠胚胎脑神经元在体外培养时能检测到有免疫活性的类胰岛素物质。1984 年, Birch 等^[5]亦报道了在培养的小白鼠胚胎脑细胞中存在类胰岛素原物质。上述结果说明脑内某些细胞能合成胰岛素或者类胰岛素物质。

大鼠脑胰岛素在免疫性质、受体结合、葡聚糖(G-50)凝胶过滤行为以及促进葡萄糖氧化等方面都与胰脏胰岛素没有区别。脑胰岛素促进葡萄糖氧化活力亦可为胰脏胰岛素抗体中和。这些事实证明,脑胰岛素与胰脏胰岛素在结构上和生物活性上极为相似。

脑内胰岛素受体

1974 年, Posner 等^[6]报道了¹²⁵I-胰岛素能

与大鼠、猴子和鸽子的脑膜专一性地结合,从而开始了脑胰岛素受体的研究。十多年来,已经取得了可喜的成果。尤其是胰岛素受体在脑中的分布和性质等方面进行了详细的鉴定。

胰岛素受体在中枢神经系统的分布。1976年, Landau 等^[7]报道了在猴子的下丘脑检测到胰岛素受体,而在脑皮质和丘脑则没有检测到。后来, Roth 等^[8]证明胰岛素受体广泛存在于大鼠中枢神经系统各个部分。但各部分结合胰岛素的能力有5—10倍的差异,其中嗅球结合胰岛素的能力最大,脑皮质和海马次之,垂体结合胰岛素的能力最小。胰岛素和胰岛素受体的浓度分布在中枢神经系统各区域不完全一致,这从另一个侧面似乎说明脑内胰岛素不可能完全依赖通过与受体结合从血液循环系统中转入到脑内。

用放射自显影技术也证明胰岛素受体广泛存在于大鼠脑内。将¹²⁵I-胰岛素注射到大鼠血液循环系统中,脑内只有很少区域能与标记胰岛素结合^[9]。但是,如果用脑切片与标记胰岛素一起保温,则标记胰岛素几乎能结合到所研究的脑的各个区域。

中枢神经系统内的胰岛素受体之性质。由于获得研究材料有困难,从目前的研究报告来看,大多数的研究仍停留在胰岛素与细胞上的受体相互作用的特性这一水平上。胰岛素与脑胰岛素受体的结合也是专一的、可饱和和可逆的。而且这一结合也与pH、温度、时间等有关,结合竞争曲线呈双曲线,即脑胰岛素受体也同样存在两种类型:高亲和低容量和低亲和高容量。所有这些性质都与肝细胞和脂肪细胞上的胰岛素受体性质相同。而不同点是脑胰岛素受体含低亲和高容量的比例较大,与胰岛素作用时,非专一结合一般较高。这可能意味着脑胰岛素受体在生理功能上与肝细胞和脂肪细胞上的胰岛素受体存在某些差异。此外,肝细胞和脂肪细胞上的受体浓度受血浆胰岛素浓度影响,即血浆胰岛素浓度升高,胰岛素受体的浓度下降。而脑胰岛素受体的浓度则不受血浆胰岛素浓度调节。

在受体分子结构上,脑胰岛素受体和脂肪细胞上的胰岛素受体也存在差异。根据 Heidenreich 等^[10]的报道,用光亲和标记技术证明嗅球、海马和下丘脑的胰岛素受体的表观分子量相同,均为390,000—400,000,而脂肪细胞上的胰岛素受体的分子量是430,000。说明脑胰岛素受体的分子量比脂肪细胞上的要小一些。此外,糖尿病患者的抗胰岛素受体血清能抑制¹²⁵I-胰岛素与脂肪细胞膜的专一结合,而不能抑制与嗅球膜的专一结合,这说明两者的抗原性不同。已经知道,肝、脂肪和胎盘上的胰岛素受体是糖蛋白。组成受体分子的两种亚基都含糖,并且是以唾液酸作为糖的末端基。当用神经氨酸酶水解除去唾液酸后,它们的电泳迁移率稍有变化。但这一变化在嗅球膜经同样处理后却不能观察到。当脂肪细胞和嗅球的胰岛素受体通过固相麦芽凝集素亲和层析柱时,两者的层析行为不同。这证明嗅球上的胰岛素受体的糖组成与脂肪细胞上的胰岛素受体不一样。这可能是引起两者的抗原性不同的原因。

星状胶质细胞上的胰岛素受体。1982年 Albrecht 等报道了从雄性大鼠脑分离出来的星状胶质细胞能与¹²⁵I-胰岛素可逆性结合。但所用材料仍含有其它脑的组分,如神经元等。我们用体外培养的初生小白鼠星状胶质细胞进行胰岛素受体的研究。结果表明:培养的星状胶质细胞能与胰岛素专一的、可逆的而且是可饱和的结合。细胞结合胰岛素的能力与作用时间、温度、反应pH和加入胰岛素的量有关。结合竞争曲线的 Scatchard 作图呈双曲线,这些结果说明星状胶质细胞膜上存在胰岛素受体,而且它的结合性质与胰岛素典型靶细胞上的受体相似。Clarke 等也曾报道了类似的结果,并证明胰岛素能促进培养星状胶质细胞摄取葡萄糖,这一作用只影响最大的反应速度而不改变 K_m 。

胰岛素对脑的作用

历年来关于胰岛素促进中枢神经系统代谢效应的报道曾引起许多争论,这是由于受血脑

屏障概念的影响,认为胰岛素不能通过血脑屏障进入中枢神经系统内。因此中枢神经系统一直被认为是不依赖于胰岛素的组织。近年来,不仅证实了脑内存在着胰岛素而且存在能与胰岛素专一结合的受体,这就支持了胰岛素对脑有生理效应的观点。目前推测胰岛素可能在脑子的生长发育和神经传导方面起作用。

我们虽然还不能确切知道胰岛素对脑的真正的生理功能,但许多体内和体外研究的结果都证明胰岛素能影响脑细胞的代谢效应,这为我们最终了解胰岛素对中枢神经系统的作用提供了许多有意义的信息。

1. 促进葡萄糖进入脑细胞 葡萄糖是脑细胞的主要能源,它通过促进扩散机制(facilitated diffusion mechanism)从血液进入脑细胞内。早期的一些报道认为胰岛素对这一作用是没有影响的。近年来从体内和体外的研究结果证明脑微管含有丰富的胰岛素受体。这些受体的生理功能是什么呢? 1983年,Djuricic等报道了在每毫升含0.5单位胰岛素的情况下,离体大白鼠脑微管传递2-脱氧葡萄糖的速率提高近18倍^[11]。由于葡萄糖进入细胞后通过己糖激酶的作用转变成葡萄糖6-磷酸保留在细胞内。早已知道脑内己糖激酶的活性是受胰岛素影响的。因此,胰岛素促进2-脱氧葡萄糖进入离体脑毛细管,可能是通过增加传送能力和提高磷酸化速率双重作用的结果。用大鼠大脑半球切片的实验结果也证明胰岛素能促进葡萄糖进入脑组织内。

2. 促进生物大分子的合成 胰岛素能促进其靶细胞合成蛋白质、核酸、糖原等生物大分子。早在1977年,Daniel就报道过,给具有正常血液葡萄糖浓度的动物注射胰岛素不能改变动物脑内糖原的含量。但若给具有高血液葡萄糖浓度的动物注射胰岛素,动物脑内的糖原含量明显提高。而且这一变化在开始10分钟内非常迅速,然后缓慢。在离体实验方面,Raizada等^[12]发现胰岛素能促进培养的大鼠脑细胞摄取尿苷和胞苷,并将它们掺入到三氯乙酸不能溶解的大分子内,而且这一作用依赖于培养细胞

与胰岛素一起保温的时间。最近又有资料证明出生后的脑蛋白合成速率与胰岛素的数目相关。这说明胰岛素可能有促进脑细胞合成蛋白质的功能。

3. 促进细胞生长 已经知道,胰岛素是各种非神经细胞培养的生长因子,因此无血清培养基中都含有胰岛素。此外我们也知道,鸟氨酸脱羧酶与许多活细胞的生长过程相关,并用它作为脑成熟的一种指标。胰岛素能促进大鼠肝和新生欧洲大鼠肾细胞的鸟氨酸脱羧酶的活性。根据Parker等^[13]报道,胰岛素亦能促进体外培养的鸡胚胎神经细胞的鸟氨酸脱羧酶的活力。而且酶活力的增加与加入的胰岛素量相关。从而推测胰岛素可能介入脑鸟氨酸脱羧酶的控制系统,并在脑细胞的生长发育过程中起作用。

4. 促进突触体(Synaptosomal)摄取神经递质氨基酸 胰岛素的浓度在 $0.1\mu\text{M} \sim 10\mu\text{M}$ 时,能增加突触体摄取谷氨酸、门冬氨酸、脯氨酸和 γ -氨基丁酸。增加的量与胰岛素的浓度有关。但对其摄取亮氨酸和苯丙氨酸则没有影响^[14]。前四种氨基酸是神经递质,它们的传递系统严格依赖于外加的钠离子,并能为去极化剂所抑制。当胰岛素的浓度为 $10\mu\text{M}$ 时,促进突触体摄取谷氨酸达到最大值。而这一胰岛素浓度远远高于血浆胰岛素水平,这可能与脑内胰岛素含量高相关。亮氨酸和苯丙氨酸不是神经递质,它们的传递不受钠离子的影响,胰岛素对它们的传递也没有影响。因此胰岛素对神经系统的作用之一是作为神经抑扬调节剂(neuromodulator)。然而它是通过什么样的方式来行使这一作用的目前仍不清楚。

5. 受体自身磷酸化作用 目前我们研究胰岛素对脑的作用往往都是观察它的最终效应,而对于中间发生的事情了解甚少或完全不了解。这是我们对胰岛素作用的分子基础不了解的缘故。通过受体的研究,我们现在已经知道,胰岛素是与细胞膜上胰岛素受体分子的 α -亚基相结合(胰岛素受体分子是由两条分子量为13.5 k的 α -亚基和两条分子量为9.5 k的 β -亚

基组成), 结合后将信号传给 β -亚基, 或许还包括受体分子构象改变。 β -亚基得到信号后的重要表达方式之一是自我催化磷酸化作用, 即 β -亚基本身的一部分可能是酪氨酸激酶, 在胰岛素存在下, 它不仅可以催化自身分子的酪氨酸基磷酸化作用, 也可使一些模拟人造底物磷酸化。根据 Rees-Jones 等^[15]的报道, 从大鼠全脑膜分离得到的可溶性胰岛素受体也具有上述的性质。因此可以推测胰岛素对脑可能是有生理功能的。

目前大多数的研究说明, 胰岛素及其受体存在于脑内许多区域。但关于胰岛素对脑的真正生理功能的问题仍了解甚少。而且目前的研究大多数是套用了胰岛素对靶细胞的典型作用的方法, 这虽然能给我们许多有用的信息, 但要真正解决问题尚需进行许多工作。但有一点是可以肯定的, 随着研究材料和研究方法的不断改进和提高, 随着胰岛素作用的分子基础逐步阐明, 这一问题将会很成功地得到解决。

参 考 文 献

- [1] Havrankova, J. et al.: *Proc Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **75**, 5737, 1978.
- [2] Pardridge, W. M. et al.: *J. Neurochem.*, **44**, 1771, 1985.
- [3] Frank, H. J. L. et al.: *Diabetes*, **34**, 728, 1985.
- [4] Weyhenmeyer, J. A. et al.: *Cellular and Molecular Neurobiology*, **3**, 81, 1983.
- [5] Birch, N. P. et al.: *FEBS*, **168**, 299, 1984.
- [6] Posner, B. I. et al.: *Endocrinology*, **95**, 521, 1974.
- [7] Landau, B. R. et al.: *Diabetes*, **25**, Suppl. 1, 322, 1976.
- [8] Havrankova, J. et al.: *Nature*, **272**, 827, 1978.
- [9] Van Houten, M. et al.: *Science*, **207**, 1081, 1980.
- [10] Heidenreich, K. A. et al.: *J. Biol. Chem.*, **258**, 8527, 1983.
- [11] Djuricic, B. M. et al.: *Brain Res.*, **275**, 186, 1983.
- [12] Raizada, M. K. et al.: *Brain Res.*, **200**, 389, 1980.
- [13] Parker, K. et al.: *J. Neurochem.*, **35**, 155, 1980.
- [14] Rhoads, D. E. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **119**, 1198, 1984.
- [15] Eng, J. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **78**, 4576, 1981.

[本文于 1986 年 2 月 17 日收到]