

综述与专论

脑组织中的胰岛素及其受体

岳国华 朱尚权

(中国科学院上海生物化学研究所, 上海 200031)

提 要

在新发现的胰岛素敏感组织——脑的不同区域中, 胰岛素含量和胰岛素受体 (IR) 含量有明显的差异, 并且同一区域内的胰岛素含量与 IR 的含量之间不表现平行关系。作为 IR 的一个结构和功能亚型, 脑 IR 的 α -亚基和 β -亚基的分子量低于肝细胞和脂肪细胞的 IR。但脑 IR 的化学性质与后者基本相同。更为重要的是, 胰岛素在脑中表现了与经典胰岛素靶组织所不同的生理功能, 很值得探究。

关键词 脑胰岛素, 脑胰岛素受体, 脑胰岛素的功能, 脑胰岛素受体的性质

在过去几十年的多肽激素研究中, 人们得出了一条重要的经验——许多胃肠道激素在脑中被发现, 而许多最初发现于神经系统中的多肽也存在于神经外组织 (extraneural tissue) 中。脑中胰岛素及其受体的发现为上述结论提供了又一例证。

1 脑中胰岛素的发现及其证据

1978 年, Havrankova 及其合作者^[1]首次报道了大鼠脑提取物中有胰岛素的存在。他们用放射免疫测定法证明了大鼠脑的不同区域存在胰岛素, 并发现全脑的胰岛素浓度平均比血浆胰岛素高 25 倍, 而且脑内不同区域的胰岛素含量差异明显, 其含量为 3~91 ng/g 脑组织 (湿重), 依次为: 下丘脑 > 嗅球 > 小脑 > 大脑皮层 > 脑干 > 其它。事隔一年, 他们又发表了修正的数据, 其中大鼠脑的胰岛素平均含量为 8 ng/g 组织。以后, 其他研究者也相继证实了中枢神经系统 (CNS) 的胰岛素浓度高于血浆胰岛素这一现象, 大多数人报道的数值都是在 0.2~8 ng/g 组织范围内变动。

生物化学方面的研究也支持脑中有胰岛素的论点。大鼠脑的酸-乙醇抽提物中的胰岛素具有类似于胰腺胰岛素的免疫活性^[2], 并在凝胶过滤时以类似于胰腺胰岛素的表观分子量被洗脱出来^[2,3]。用反相 HPLC 分析, 其滞留时间 (retention time) 也与胰腺胰岛素大致相同。并且其受体结合能力及生物活性均类似于天然胰岛素^[3]。

此外, 用免疫细胞化学的方法探测组织切片和培养物的神经元细胞浆内的胰岛素和 C-肽的工作也已被几家实验室完成。

2 脑组织中胰岛素的功能

有关胰岛素对于肝脏、脂肪组织等传统靶器官的生物作用已经有了广泛而深入的研究, 人们通常将其归纳为如下几点: A. 通过增加细胞对葡萄糖的通透性、促进糖原合成和抑制糖原分解的方式来影响细胞的碳水化合物代谢, 从而促进细胞的葡萄糖利用; B. 通过增加

细胞对氨基酸的摄入和 mRNA 翻译的能力来促进蛋白质的合成; C. 抑制脂肪的分解, 加速 DNA 和 RNA 的合成; D. 影响细胞的增殖、生长和分化。但是, 胰岛素的这些生物功能并不一定适用于 CNS。这一方面是因为 CNS 具有明显区别于其他组织器官的功能特殊性, 另一方面还因为血浆胰岛素难以穿过血脑屏障去调节脑的生理功能。直到 1978 年胰岛素及其受体在脑组织中被发现, 才使探究胰岛素在 CNS 中的作用成为可能。多年来的研究也确实表明胰岛素是神经系统的一个重要调节因子。

2.1 胰岛素调节脑的葡萄糖利用 葡萄糖是脑细胞的主要能源, 它通过促进扩散机制 (facilitated diffusion mechanism) 从血液中进入脑细胞内, 然后再通过受胰岛素调节的己糖激酶的作用转变成葡萄糖-6-磷酸, 保留在细胞内。近年来的研究表明, 胰岛素受体的确能够调节培养的星状胶质细胞的葡萄糖吸收和刺激生物大分子的合成^[4]; 胰岛素也能刺激神经元的葡萄糖代谢和糖原的合成。但也有报道指出, 胰岛素对于下丘脑和脑的其他区域的葡萄糖利用有直接的抑制作用。因此, 胰岛素对于脑细胞的葡萄糖吸收和代谢起何种作用和如何起作用, 仍然是一个悬而未解的问题。

2.2 胰岛素调节脑细胞的神经传递活动 胰岛素既能抑制海马 (hippocampus) 和下丘脑神经元的神经信号发放, 也能影响神经突触活动。它不仅能加强交感神经元 (sympathetic neuron) 之间的电偶联^[5], 而且能调节培养的神经元细胞对单胺的吸收, 刺激突触体 (synaptosome) 吸收神经递质氨基酸^[6]。胰岛素也能增加儿茶酚胺 (catecholamine) 的周转速度和从脑细胞的释放。此外, 在像嗅球外网织层那样的突触层含有高浓度的胰岛素受体也意味着胰岛素可能参与了神经突触活动的调节。由于胰岛素能刺激细胞膜的离子转运和超极化作用, 这可以解释胰岛素对神经元电活动为何有明显的抑制作用, 因此, 胰岛素可能是通过改变神经突触膜电位来调节神经元的神经信号传递作用的。

2.3 胰岛素能促进神经系统的发育 有越来越多的证据表明, 胰岛素在脑的发育过程中起着重要的促生长作用。胰岛素不仅能刺激培养的神细胞和神经胶质细胞的酶活性以及核酸和蛋白质的合成^[4], 而且能促进小鼠胚胎的脑细胞培养物的神经元再生。此外, 在大鼠脑的生长和发育过程中, 胰岛素与受体的结合情况也是变化的, 在新生大鼠脑中结合能力最高。有人推测, 在 CNS 中胰岛素的促生长效应可能来自于它与 IGF-I 受体的相互作用。

2.4 胰岛素影响动物的进食和体重 证据之一是有人将胰岛素注入脑脊髓液后, 发现能抑制大鼠的进食并降低其体重。Baskin 等人观察到^[7], 肥胖 Zucker 鼠的脑脊髓液胰岛素水平要比同窝出生的瘦 Zucker 鼠过分地低 (后者因在脑脊髓液中注入了血浆胰岛素而患有胰岛素分泌过多症), 而肥胖 Zucker 鼠脑尤其是嗅球和下丘脑的胰岛素结合能力也被降低了。Wistar-Kyoto 胖鼠也出现了类似的情况。由于脑中胰岛素是作为神经系统的一个饱和信号起着作用, 而肥胖 Zucker 鼠对于脑脊髓液胰岛素的这种饱和效应并不敏感^[8], 因此可以推测, 这些肥胖动物的发病机理可能是由于脑胰岛素受体的丢失以及血浆胰岛素向脑脊髓液的运输有缺陷造成的。

除了影响动物的进食和体重外, 脑脊髓液胰岛素还影响其他外周组织的代谢。比如, 将胰岛素注入脑脊髓液后能刺激内分泌腺体的迷走神经, 并提高了血浆胰岛素的水平。这意味着脑脊髓液胰岛素与中枢自主途径 (central autonomic pathway) 发生了相互作用。中枢自主途径参与了外周组织的营养代谢平衡的调节, 它在 CNS 中的位置还不清楚。

应该指出的是, 脑胰岛素的上述生理功能仅仅代表了其全部生物功能中的一小部分, 许多其它作用还有待于进一步去发现和探究。目前的许多研究结果虽然在一定程度上说明了胰岛素在脑中的作用, 但他们并不能完全代表胰岛素在 CNS 中的真正生理功能。只有通过漫长而又艰苦的探索, 逐步揭示出胰岛素在传统靶

组织以及 CNS 中的作用机理,我们才能理解胰岛素在这两类组织中的功能差异性。

3 脑组织内的胰岛素来源

尽管脑中存在有胰岛素及其受体这一事实已经为研究者们广泛接受,但脑中胰岛素的来源问题却仍然没有搞清楚。一些研究者认为胰岛素是通过血管系统进入脑中的。Frank 等人^[9]用 ^{125}I -胰岛素证明胰岛素能通过转胞作用(transcytosis)穿过新生兔的血脑屏障;Sanvitto 等人^[10]将 ^{125}I -胰岛素直接注入 Wistar 鼠的侧脑室,他们不仅用这种体内实验方法证明了脑的不同区域的胰岛素含量差异(其结果类似于体外实验),而且还在鼠血清中测得了 ^{125}I -胰岛素的放射性,表明 ^{125}I -胰岛素穿过了血脑屏障。还有人证明在缺少血脑屏障的围室器(circumventricular organ)例如中央隆起(median eminence)和脑微血管中存在有血浆胰岛素的专一吸收位点^[11],这与“围室器的神经末梢胰岛素受体能调节血浆胰岛素在 CNS 中的作用”的假设是一致的。Baskin 等人^[12]用定量放射自显影技术(quantitative autoradiography, QAR)发现,在嗅球的外网织层(external plexiform layer)有高、低亲和力两种 IR,这表明胰岛素可能参与调节了与嗅觉刺激神经过程有关的突触活动。Baskin 的 QAR 研究^[13]还揭示出,在大鼠脑的脉络丛(choroid plexus)含有高密度的 IR,而且它们对胰岛素是专一结合的(而不是 IGF-I),这暗示脉络丛的运输功能以及脑脊髓液成分的调节可能受血浆和脑脊髓液中的胰岛素的影响,表明脉络丛可能是胰岛素运输越过血脑屏障的一个位点。不过血浆胰岛素并不容易穿过血脑屏障。由于脑内胰岛素水平要比血液中高,因而,即使血浆胰岛素能进入脑组织,也需要脑内有一个主动传递系统将胰岛素从血液中摄取、贮存和再分配,以便形成脑胰岛素的区域差异性。但是研究表明,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。此外,用链脲佐菌素(strepto-

zotocin)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,脑内胰岛素的浓度并不依赖于外周循环系统中的胰岛素水平,因此,脑胰岛素完全来源于血液中的可能性不大。在将要讨论的胰岛素受体研究中,脑各个区域中的胰岛素受体的浓度分布与胰岛素的分布并不完全一致,这似乎从另一个角度说明了脑内胰岛素不可能完全依赖于通过与受体的结合从血液循环系统中转入脑内,而由脑组织中某些细胞合成的可能性较大。因此一些研究者^[1,14]认为,神经系统的胰岛素是原位起源(local origin)的。已经有证据表明脑中胰岛素是脑组织自身合成的。脑中胰岛素 mRNA 的存在为胰岛素原位合成的观点提供了生物化学基础^[14],而 Devaskar 等人^[15]用抗胰岛素抗体检测富含神经元(80%)的培养物和神经胶质细胞培养物时,不仅证实了胰岛素合成确实发生在 CNS 中,而且还确认胰岛素是一小部分神经元的分泌产物。Schechter 也发现新生兔脑中的一个神经元亚群(neuron subset)能产生胰岛素。不过,支持上述两种观点的实验证据还都不能圆满地解释脑的不同区域的胰岛素含量差异明显这一事实。

4 脑组织中的胰岛素受体

1974 年,Posner 等报道了 ^{125}I -胰岛素能与大鼠、猴子和鸽子的脑膜专一地结合,从而开始了脑 IR 的研究。十多年来,有关这方面的研究已有了重要进展。

4.1 脑组织中的 IR 分布

1978 年,Havrankova 等在报道了脑中存在胰岛素以后,又证明了 IR 广泛存在于大鼠 CNS 的各个区域,这些区域结合胰岛素的能力有高达十倍的差异,其中嗅球的 IR 浓度最高,脑皮质和海马次之,垂体最少。而且在脑各区域中的 IR 浓度与胰岛素的分布并不完全一致。此外,IR 还存在于混合的脑细胞培养物和神经元、神经胶质细胞以及脑内皮细胞(endothelial cell)中。

4.2 脑 IR 的结构

用光亲和标记技术已经证明了脑 IR 具有与外周靶组织的 IR 相类似的亚基组成^[46], 即 $\alpha_2\beta_2$ 结构。但是, 脑胰岛素受体的亚基要比肝细胞和脂肪细胞的胰岛素受体亚基小一些。在 SDS-PAGE 图谱上, 脑 IR 的 α -亚基的表观分子量约为 115kD, 要比脂肪细胞 IR 的 α -亚基小约 10kD; 同样, 脑 IR 的 β -亚基的表观分子量为 83kD, 而脂肪细胞 IR 的 β -亚基为 90kD。上述现象已得到了下列证据的支持, Rees-Jones 等^[17]发现脑 IR 也具有酪氨酸蛋白激酶活性, 并且自身磷酸化发生在比肝细胞的 β -亚基小约 10kD 的蛋白质上。不过, 也有报道说^[18]在脑和肝细胞的 IR 的 α -亚基之间存在着差异, 但 β -亚基之间是相似的。

脑和外周组织的受体 α -亚基在大小上的差异似乎是由于亚基的 N-糖基化状况不同造成的^[18]。因为如果用一种 N-乙酰葡萄糖胺酶-Endo F(一种能水解高甘露糖和复合型寡糖的 2-N-乙酰壳二糖苷键的酶)从受体上去除寡糖链, 脂肪细胞和脑细胞的受体 α -亚基分子量都降到 100kD。这表明这两类受体 α -亚基的蛋白质骨架是相同的, 它们的差异只是在于糖基化位点的数目和寡糖的位置不同^[19]。根据从 IR 基因的核苷酸序列推断出的氨基酸顺序, 可推测受体 α -亚基有 15 个可能的糖基化位点^[20]。但到目前为止, 确切的糖基化位点数目仍不清楚, 也不知道脑与外周组织之间有多少个糖基化位点数目的差异。相比之下, 已经有证据表明 125kD 亚基与 115kD 亚基在寡糖组成上, 尤其是在寡糖链的末端化过程上的不同。来自外周组织的受体 α -亚基对唾液酸苷酶是敏感的, 而脑组织的 α -亚基则不受此酶的影响。因此, 用唾液酸苷酶处理这两类组织的光亲和标记受体会增加 125kD 亚基在 SDS 凝胶电泳上的迁移率, 但不影响 115kD 亚基的泳动。脑受体 α -亚基的这种唾液酸苷酶不敏感性似乎意味着它的寡糖链都是高甘露糖型的。若果真如此, 那么用另一种 N-乙酰葡萄糖胺酶-Endo H(一种只切除高甘露糖残基的酶)处理 115kD 亚基, 应该得到与 Endo F 处理相类似的结果。实

验结果表明 125kD 和 115kD 亚基均已被剪切, 但剪切后两者的泳动速度都比用 Endo F 处理的小。这又说明在 125kD 和 115kD 亚基中均有高甘露糖和复合寡糖链^[19]。至此我们不难推断出, 脑受体 α -亚基的复合寡糖链要么不是以唾液酸为末端糖基, 要么就是以能耐受上述两种酶活性的某种类型的唾液酸结尾。

综上所述, 我们不难得出如下结论: 脑 IR 实际上代表了 IR 的一个结构和功能亚型。

4.3 脑 IR 的性质

尽管脑与外周组织的 IR 之间存在着结构上的差异, 但它们在胰岛素结合的动力学方面却是相似的。所不同的是脑 IR 低亲和和高容量的比例较大; 与胰岛素作用时, 非专一结合通常较高; 胰岛素也不能诱导成年大鼠脑 IR 的内部化作用和下降调节 (down regulation)。

由于改变血浆胰岛素的浓度, 并不影响胰岛素分泌过多型的肥胖小白鼠的脑细胞膜与胰岛素的结合能力, 却改变了肝细胞和脂肪细胞的 IR 浓度, 表明脑 IR 的浓度不受血浆胰岛素浓度的调节。相反, 将胰岛素注入新生兔脑的脑室则会导致脑细胞膜与胰岛素的结合能力下降 60%, 这又意味着脑 IR 浓度受到了脑脊液中胰岛素的影响。

脑胰岛素及其受体的研究只有十几年的历史, 还处于研究的初级阶段。但是可以预测, 该领域的研究很可能对揭示脑的记忆等众多功能的奥秘提供帮助。

参 考 文 献

- 1 Havrankova J *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1978; 75: 5737
- 2 Yalow R S, Eng J. *Adv Metab Disorders*, 1983; 10: 34
- 3 LeRoith D *et al.* *Adv Metab Disorders*, 1983; 10: 304
- 4 Clarke D W *et al.* *Am J Physiol*, 1985; 249: C484
- 5 Wolinsky E J. *J Neurosci*, 1985; 5: 1675
- 6 Rhoads D E. *Biochem Biophys Res Commun*, 1984; 119: 1198
- 7 Stein L J *et al.* *Int J Obesity*, 1985; 9: A31 (Abstr)
- 8 Woods S C *et al.* *Am J Clin Nutr*, 1985; 42: 1063
- 9 Frank H J L *et al.* *Diabetes*, 1985; 34: 728
- 10 Gilberto L, Sanvitto *et al.* *Med Sci Res*, 1988; 16: 691
- 11 van Houten M, Posner B I. *Adv Metab Disorders*, 1983; 10: 269

- 12 Baskin D G *et al.* *J Neurosci Meth*, 1986; 16: 119
13 Baskin D G *et al.* *Diabetes*, 1986; 35: 246
14 Boyd Jr F T *et al.* *J Biol Chem*, 1985; 260: 15880
15 Sherin Devaskar *et al.* In: Raizad M K *et al.* eds, *Insulin, insulin-like growth factors, and their receptors in the central nervous system*, New York: Plenum Pres, 1987: 131
16 Yip C C *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 1980; 96: 1671
17 Rees-Jones R W *et al.* *J Biol Chem*, 1984; 259: 3470
18 Heidenreich K A, Brandenburg D. *Endocrinology*, 1986; 118: 1835
19 Kim A Heidenreich. *Receptor Biochem and Methodol*, 1988; 12A: 281
20 Ullrich A *et al.* *Nature* (London). 1985; 313: 756

一种新的淋巴因子——白细胞调节素

陆承荣* 丰美福

(中国科学院动物研究所, 北京 100080)

提 要

白细胞调节素能直接特异地防止细胞癌变, 抑制癌前细胞及癌细胞的生长, 溶解癌细胞, 增强癌细胞对自然杀伤 (NK) 细胞的敏感性, 在医学临床上具有重要意义。文章详细介绍了白细胞调节素不同于干扰素、肿瘤坏死因子、淋巴毒素、和自然杀伤细胞毒因子, 及其近年来的研究进展。

关键词 白细胞调节素, 淋巴因子, 癌细胞

1 白细胞调节素的生化特性

人淋巴因子制剂能直接溶解或抑制人肿瘤细胞, 提高人肿瘤细胞对自然杀伤 (NK) 细胞的细胞毒作用的敏感性^[1]。从前这些抗肿瘤的活性皆归于淋巴毒素 (LT) 的作用。然而, Ransom 等 1985 年研究证明这些抗肿瘤活性主要是由一种新的淋巴因子所产生。因为它是由淋巴细胞产生, 并能调节靶细胞的生理和生长功能, 所以命名为白细胞调节素 (leukoregulin; LR)^[2]。经过高效液相层析, 等电聚焦分离出的 LR, 不含可测的 LT, 干扰素 (IFN), 白细胞介素 1 和 2 (interleukin 1, 2, IL1, IL2), 并且不含激活巨噬细胞的活性^[1,2]。用线性梯度聚丙烯酰胺凝胶电泳和凝胶过滤测得 LR 的表现分子量为 135000, 有两个等电点, 分别为 pH5.7 和 pH7.3。经过 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳测得 LR 解离分子量为 32000^[3]。

用高效液相色谱 (HPLC) 和等电聚焦 (IEF) 分离人外周血淋巴细胞 (PBL) 的淋巴

因子制剂, LT 活性分布于高、中、低分子量的组分中, 活性富集在 pH6.0—6.8 范围内。而 LR 仅存在于高分子量组分中, 并且大部分 LR 的等电点在 pH5.0—5.8, 一小部分的等电点在 pH7.1—8.3。所有 IL1, IL2, 和 IFN 的活性则主要存在于低分子量组分中。所有分离组分中检测不出激活巨噬细胞的活性。

此外, 通过对淋巴因子溶解 α -L929 细胞的活性及抑制人肿瘤细胞 K562 生长活性的检测, 和通过对唾液酸苷酶和蛋白酶消化作用敏感性的检测进一步证明白细胞调节素是不同于 LT 的新淋巴因子。0.2 和 0.4 单位的唾液酸苷酶分别能使 LT 的活性减少 49% 和 92%, 但对纯化的 LR 活性无显著抑制作用^[4]。LR 和 LT 的活性均可受蛋白酶抑制, 但抑制程度不一样。6 单位链霉蛋白酶足以完全消化 LT 溶解 α -L929 细胞的活性, 但处理 LR 后, 仍保留该样品的 52% 的抑制 K562 细胞的活

* 现工作单位: 空军总医院基础实验室

收稿日期: 1991-01-18 修回日期: 1991-04-12