

综述与专论

胰岛素受体结构与功能研究概况

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

胰岛素受体 (IR) 是由两个 α -亚基和两个 β -亚基构成的跨膜糖蛋白。 α -亚基位于细胞表面, 是胰岛素结合区域。 β -亚基的 1/3 也位于细胞表面, 其余 2/3 则跨膜并插入胞浆中, 后者是 IR 的活力区域, 具有受胰岛素调节的酪氨酸蛋白激酶活性, 此活性受多位点磷酸化的调节并表现出变构酶行为。不同组织的 IR 在分子结构, 化学性质和生理功能上均有差异, 其中脑 IR 代表了 IR 的一个结构和功能亚型。IR 的生物合成类似于胰岛素的生物合成。

关键词 胰岛素受体, 胰岛素受体结构, 胰岛素受体功能

从 70 年代初人们开始研究胰岛素受体 (下称 IR) 以来, 现在已成为众所周知的事实是, 胰岛素发挥其生物功能首先是通过它与细胞膜上的受体相结合而实现的。尽管在不同的组织中 IR 的含量差别很大, 从血红细胞的少则 40 个受体到脂肪细胞和肝细胞的多则 20 万个受体, 但 IR 却基本上存在于所有的哺乳动物中。IR 具有两种功能: 一是能在血液内众多的物质中识别出胰岛素, 并以高亲和力和高度的专一性与之结合; 另一种是能够产生一种改变细胞内代谢过程的过膜信号。通过近 20 年对 IR 的研究, 人们不仅对胰岛素如何与其受体相互识别和作用有了一些了解, 而且对受体本身的性质、结构和功能也有了初步的认识。本文主要论述胰岛素受体本身的结构与功能关系研究概况。

1 胰岛素受体的结构特征

IR 是一个横跨细胞膜的糖蛋白, 分子量约为 450kD。它由两个分子量为 135kD 的 α -亚基和两个分子量为 95kD 的 β -亚基以二硫桥

键连接而成, 形成 β - α - α - β 结构 (见图 1)。 α -亚基由 719 个氨基酸残基组成, 其亲水性强, 位于细胞外表面, 具有胰岛素结合位点。 β -亚基含 620 个氨基酸残基, 是一个过膜蛋白质, 可以分为三个区域: 由 194 个氨基酸残基组成的 N-端区域露在细胞表面; 而由 23—26 个疏水性很强的氨基酸残基组成的第二个区域横跨过细胞膜从而将第一区域与第三区域分开; 第三区域是由 403 个氨基酸残基组成的 C-端区, 它插

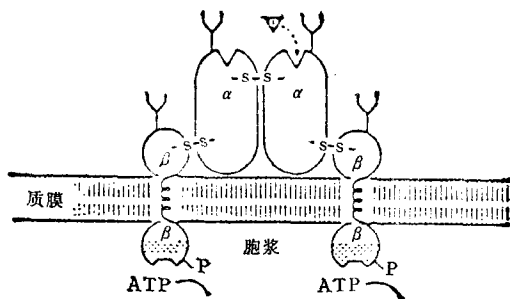


图 1 胰岛素受体结构示意图

入到细胞浆中并具有酪氨酸蛋白激酶催化位点,能使 β -亚基自身磷酸化和细胞质内相关蛋白质底物的磷酸化^[1]。此特性对于细胞内的信号产生和传递有重要作用^[2]。

IR 含有低聚糖,这些寡糖链共价连接到 IR 多肽骨架中的天冬酰胺的氮原子上,而且 α -亚基的糖基化程度高于 β -亚基,并属于高甘露糖类型^[3]。此外,寡糖链中还含有 N-乙酰葡萄糖胺、半乳糖、岩藻糖和唾液酸。研究表明,IR 的糖基化是其功能表现所必须的。从整体上看,人的 IR 包含着两大区域,第一区域位于细胞外,含 929 个氨基酸,即两个 α -亚基的全部和两个 β -亚基的三分之一部分。另一个区域在细胞内,含 403 个氨基酸,即两个 β -亚基的三分之二部分(C-端)。前者是胰岛素结合区域,后者是活力区域。

2 胰岛素受体分子的生物合成

已经证明 IR 分子的四个亚基($\alpha_2\beta_2$)是由一个单链多肽前体——前受体加工形成的^[3]。在细胞的粗面内质网上首先翻译出一单链多肽并同时将多条富含甘露糖的核心寡糖链(GlcNAc₃Man₉GlcNAc₇)共价连接到新生的多肽链上,从而形成一表观分子量为 190kD 的前受体。然后前受体被运送到高尔基复合体,在此进行蛋白质的剪切加工,形成未成熟的 α -亚基(分子量约 120kD)和 β -亚基(分子量为 80 kD);这两个含有高甘露糖型寡糖的未成熟亚基再从一些寡糖链上去除一些甘露糖残基,而由一些末端糖基取代,这些末端糖基包括岩藻糖、N-乙酰葡萄糖胺、半乳糖和唾液酸等。最后,成熟的 α -亚基和 β -亚基形成 $\alpha_2\beta_2$ 四聚体,插入到细胞膜中^[4]。应该指出,IR 的生物合成是一个非常复杂的过程,这里只能简述之。

3 胰岛素受体的酪氨酸蛋白激酶性质

在细胞内,蛋白质的磷酸化通常发生在丝氨酸和苏氨酸残基上,只有极少数发生在酪氨酸残基上。研究表明,一些 RNA 肿瘤病毒的癌基因能够为酪氨酸专一的蛋白激酶编码,此

酶与正常组织的癌变有关。然而一些激素和生长因子的受体,如表皮生长因子(EGF)、类胰岛素生长因子(IGF)、血小板来源生长因子(PDGF)、集落刺激因子(colony-stimulating factor)和胰岛素等的受体的胞内区域也具有配体刺激的酪氨酸专一的蛋白激酶活性^[2]。这么多涉及控制细胞生长和代谢的蛋白质具有相同的酶活性,这一事实促使人们推测,酪氨酸残基的磷酸化可能启动了正常细胞的生长过程和与肿瘤形成有关的生长失控过程。已有直接的证据表明,IR 的 β -亚基的酪氨酸蛋白激酶活性对于细胞内的信号传递是极为重要的。由于近几年来对 IR 的这种激酶活性已有较多的研究,有关文献很多,这里只能简要叙述如下:

3.1 IR 是一个受胰岛素调节的酪氨酸激酶,具有典型的变构酶行为。胰岛素与 IR 的 α -亚基结合,刺激了 β -亚基的酪氨酸残基的磷酸化。这一特性已在完整的细胞、可溶性受体制剂、免疫沉降受体和均一纯化的受体中观察到^[1,5,6]。可溶性的纯化受体在胰岛素存在下也能使其它外源蛋白质或多肽的酪氨酸残基磷酸化。不论是哪一种蛋白质或多肽作为底物,ATP 都是磷酸基团的供体,而且磷酸化只发生在酪氨酸残基上。已证明胰岛素是通过增大最大反应速度($V_{\max}$),而不是通过改变底物(ATP)的亲合力(K_m)来刺激酶活性的^[7]。尽管胰岛素的这种刺激酶活性的机理还不清楚,但它似乎与 α -亚基对于 β -亚基的抑制作用被解除有关。因为用温和的胰蛋白酶处理或者体外诱变的方法去除 α -亚基的胰岛素结合区域也能产生模拟胰岛素效应的酪氨酸蛋白激酶活化现象^[8]。

3.2 胰岛素受体的激酶活性是受多位点磷酸化调节的。IR 的自身磷酸化是瀑布式的分子内磷酸化。 β -亚基的细胞浆部分至少有 5 个酪氨酸残基可以被磷酸化,其中的 3 个发生在 β -亚基的第 1158 位、1162 位和 1163 位残基上^[9]。当这 3 个残基都被磷酸化时,受体激酶被进一步激活而转向催化外源底物。这一性质对于信号传递尤为重要,因为在此情况下,即使胰岛

素从受体上解离,只要不发生受体的去磷酸化,受体的激酶活性仍会持续下去^[10]。由此看出,受体对外源底物的激酶活性是受受体的自身磷酸化刺激而产生的。

3.3 IR 的酪氨酸蛋白激酶活性是胰岛素发挥其生物功能所必需的。已有几个方面的直接证据支持这一观点。最令人信服的证据来自体外诱变实验,通过诱变可以将受体的第 1018 位的赖氨酸变为丙氨酸。这种突变受体能正常地结合胰岛素,但却完全不具有激酶活性,也完全不能调节胰岛素对细胞代谢的刺激作用^[11]。同样,IR 的某一个重要的自身磷酸化位点被诱变后也会产生类似效果。此外,用受体的细胞内功能区抗体或受体的磷酸化酪氨酸残基抗体也证明了受体激酶活性对胰岛素功能发挥的重要性。当这些抗体引入到细胞内时,它们既抑制受体激酶的活力,也抑制胰岛素的刺激效应^[12]。

4 不同组织胰岛素受体的比较

前面我们已经论述了不同组织的 IR 在结构和功能上的同源性,不论是 α -亚基还是 β -亚基都具有高度的功能保守性。然而也有越来越多的证据表明,胰岛素受体具有结构和功能上的显著不均一性。

4.1 胰岛素受体结构上的差异

不同种属动物的各种组织中的 IR 在结构上的差异主要表现在下列几个方面:(1)受体的抗原决定簇不同,因而 IR 在与受体的单克隆抗体和多克隆抗体相互作用时表现出了明显的组织差异性^[13]。(2)受体的糖基化状况不同。用植物凝集素、糖苷酶和 SDS-PAGE 技术已证明,不同组织的 IR 在糖基化位点的数目、寡糖的位置和糖链的长短等方面是有差异的^[14]。这可能就是不同组织的受体 α -亚基和 β -亚基的分子量不尽相同的原因。(3)在研究胰岛素前受体的 cDNA 结构时,发现肝细胞 IR 的 α -亚基的 C-末端比胎盘细胞 IR 少 12 个氨基酸,其原因还不清楚。

事实已经证明, β -亚基不仅在不同的组织巾存在着差异,即使同一组织来源的 IR,也并

非均一的。如人胎盘 IR,经分析存在三种形式,即 $(\alpha\beta)_2$ 、 $(\alpha\beta)(\alpha\beta')$ 和 $(\alpha\beta')_2$,它们与胰岛素结合的缔合常数相似,但只有 $(\alpha\beta)_2$ 能引起胰岛素诱导的自身磷酸化和外源肽(Glu/Tyr 4:1)的磷酸化, $(\alpha\beta)(\alpha\beta')$ 活力较低,而 $(\alpha\beta')_2$ 则完全无活力^[15]。 β' 是 β -亚基蛋白酶部分水解产物。

4.2 胰岛素受体在化学性质和功能上的差异

上述结构上的差异必然会在化学性质和功能上表现出来。下面以大鼠肝、脂肪组织和脑组织的实验结果来说明这种差异性。

在胰岛素与受体结合的动力学中 K_d 表示解离常数, K_a 代表缔合常数, ED_{50} 是指产生 50% 的最大刺激效应时的胰岛素浓度。研究表明,由于胰岛素结合到肝细胞上的 K_a 值较高,它的 K_d 值 (5×10^{-10} mol/L) 就明显地低于脂肪细胞 (3.3×10^{-9} mol/L); 而脑的皮层细胞膜受体的 K_d 值 (2.8×10^{-9} mol/L) 则类似于脂肪细胞,但缺乏负协同相互作用^[16]。此外,这三种细胞的胰岛素作用的剂量效应也不相同。肝细胞的 ED_{50} 在 $0.3—1.0 \times 10^{-9}$ mol/L 之间,这与它的 K_d 值是一致的,相反脂肪细胞的 ED_{50} 值为 $3.0—7.0 \times 10^{-11}$ mol/L,这要比它的 K_d 值低 50—100 倍。脂肪细胞的这种效应可以用“空余受体 (spare receptor)” 的概念来解释,即脂肪细胞上的 IR 只须有 5—10% 被胰岛素占据就能引发最大的刺激效应,而且所有的受体都是功能性的,可随机地被激活。

在脂肪细胞和肝细胞中,这种受体与代谢作用之间的数量差异反映了在门脉循环和门脉外循环中细胞对不同胰岛素浓度的适应性。体外测得的肝细胞的 K_d 和 ED_{50} 值刚好在门脉胰岛素浓度的生理变动范围内,这表明,当胰岛素占据了肝细胞的几乎所有受体时,可以达到体内的最大刺激效应。而脂肪细胞的 ED_{50} 值处在外周静脉血的胰岛素水平之内,后者在体内发挥最大效应时只须占据脂肪细胞 5—10% 的受体。由此可以推断,在生理的胰岛素浓度下,胰岛素与肝细胞的结合速度要快于脂肪细

胞。这既反映了门脉的胰岛素浓度变化要比外周血的胰岛素浓度变化来得迅速,也说明肝脏对胰岛素刺激的应答比脂肪组织快。

有趣的是,这三个组织器官之间,IR 的专一性也不相同^[16]。这可能预示着它们的胰岛素结合区域有一定的差别。尤其是脑细胞的 IR 对猪胰岛素原、海狸鼠胰岛素、人的 IGF-1 和 IGF-II 的亲合力要高出肝和脂肪细胞的 2—5 倍,再加上其他差异,表明脑 IR 代表了 IR 的一个结构和功能亚型。

5. 胰岛素受体的分子克隆和突变

IR 的 cDNA 已经从人和果蝇体内克隆出并测出序列^[2,17],两者的 cDNA 序列很相似。人 IR 的 cDNA 约 4kb 长,据此可推断人的胰岛素前受体约含 1343 个氨基酸(图 2)。在这条多肽链的 N-端是一个含 27 个疏水性氨基酸残基的信号肽,它们并不出现在成熟的受体中;接下来的是 α -亚基(残基 1—719);残基 720—723 是 4 个碱性氨基酸,在胰岛素前受体剪切形成

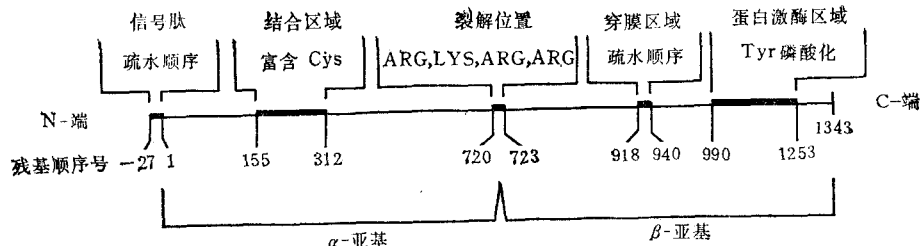


图 2 根据 cDNA 序列推断出的胰岛素受体的功能区域图解

α -和 β -亚基的过程中,它们是蛋白水解酶的专一作用位点;残基 724—1343 则组成了 β -亚基,其中残基 990—1253 与具有酪氨酸蛋白激酶活性的几种 RNA 病毒癌基因产物和表皮生长因子受体的氨基酸序列有同源性,可推定这个区域是 IR 的酪氨酸蛋白激酶功能区。 β -亚基中残基 724—917 序列与 α -亚基共同位于细胞膜表面,中间的一段疏水性序列(残基 918—940)可认为是跨膜区域;C-端区域(残基 941—1343)则位于细胞浆内。 α -亚基中含有几个 N-连接的糖基化位点和一个富含半胱氨酸区域,据推测,可能是胰岛素结合区。目前,IR 基因不仅在哺乳动物细胞而且在昆虫细胞得到了克隆和表达,这为深入研究 IR 及胰岛素作用机制提供了必要的条件。

世界上第一个因 IR 突变而引起胰岛素抗性的糖尿病家族也已发现,在这个家族中,病人体内的 IR 的 α -亚基第 233 位亮氨酸被脯氨酸取代,正是这一氨基酸的替代导致了胰岛素的作用不能正常发挥^[18]。随着 IR 基因工程及定点突变研究的进展,已得到多个 IR 突变种,

如第 1018 位赖氨酸换成丙氨酸后,基因表达产物仍可加工成亚基并与胰岛素结合,但不仅丧失了受体本身的酪氨酸蛋白激酶活性,而且也使其依赖于胰岛素的生物活力丧失^[10],因此认为赖氨酸在 IR 的 ATP 结合域中起着重要作用。又如第 1162 位和 1163 位的两个酪氨酸在控制胰岛素对葡萄糖的作用方面起着关键作用,因为将这两个酪氨酸换成苯丙氨酸后会使胰岛素丧失对葡萄糖代谢的影响,但对细胞的有丝分裂却没有影响^[19]。通过删除基因部分序列而得到的去除 β -亚基 C-端 43 个氨基酸的 IR,照样可以发生自身磷酸化和使外源底物磷酸化^[20]。我们相信,今后会有更多的突变 IR 问世,那时关于 IR 结构与功能的关系也将更清楚。

参 考 文 献

1. Kasuga M et al. *J Biol Chem*, 1982; 257: 9891
2. Ullrich A et al. *Nature (London)*, 1985; 313: 756
3. Hedo J A et al. *J Biol Chem*, 1983; 258: 10020
4. Hedo J A *Receptor Biochem and Methodol*, 1988; 12A:

- 5 White M F, Kahn C R. In: Boyer P D et al eds., *The insulin receptor and tyrosine phosphorylation, in the enzymes*, Orlando FL: Academic Press Inc, 1986: 247
- 6 Petruzzelli L M et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1982; 79: 6792
- 7 White M F et al. *J Biol Chem*, 1984; 259: 255
- 8 Sheolson S E. *J Biol Chem*, 1988; 263: 4852
- 9 White M F et al. *J Biol Chem*, 1988; 263: 2969
- 10 Chou C K et al. *J Biol Chem*, 1987; 262: 1842
- 11 Ebina Y et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987; 84: 704
- 12 Morgan D O, Roth R A. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987; 84: 41
- 13 Jacobs S. In: Czech MP ed, *Molecular Mechanism of insulin action*, New York: Plenum Press, 1984: 31—43
- 14 Hendricks S A et al. *J Neurochem*, 1984; 43: 1302
- 15 O'Hare T, Pilch P F. *Biochem*, 1988; 27: 5693
- 16 Gammeltoft S et al. *Pepitides*, 1984; 5: 937
- 17 Petruzzelli L et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 83: 4710
- 18 Klinkhamer M P et al. *EMBO J* 1989; 8: 2503
- 19 Debant A et al. *Biochem*, 1989; 28: 14
- 20 McClain Donald A et al. *J Biol Chem*, 1988; 263(18): 8904

脑科学中的计算观及其最新发展

景 健*

(北京神经外科研究所, 北京 100050)

提 要

科学家们对大脑本质的认识,是物理的还是整体论的,是功能定位的还是不定位的,一直争论不休。脑科学的突破性进展澄清了争论中在概念上的混乱状态。文章着重讨论了这种进展的几个方面: 计算观在脑科学中的确立与发展,大脑的实验与模型研究对计算概念的影响,联系主义模型以及生物神经网络的研究对理解大脑信息表达与处理机制的促进作用。

关键词 计算观,算法,联系主义模型,生物神经网络,长时程增强

人类最激动人心的研究莫过于大脑研究大脑。70 年代以来,尤其是 80 年代,对大脑的研究已取得重要进展,这包括更有效的问题求解系统的设计,专家系统的发展,并行处理机的出现及相关理论(如计算观)研究的进展。本文分析了脑科学中的现代观点,详细的文献综述请见文献[1]。

1 计算观的现代发展——从计算机比喻到脑比喻

脑科学中的计算观可这样描述,即把神经元这个信号单位看做计算基元,每个基元的状态用一定的激励值(activation value)来表示,两个基元的联系用权(weight)表示,正的权表示兴奋性联系,负的权表示抑制性联系。这样,

一个特定网络的基元联系模式及其变化可以表示为数学运算。于是,几个或更多的神经元(计算基元)组成的网络,加上一些物理的约束或假定,在恰当的输入情况下,通过一定的计算过程,有可能达到确定的输出状态(计算结果)。这种输出状态可通过不同方法与该网络所期望的行为联系起来,我们就可以形式地(或计算地)研究一个神经网络,通过其计算特性以了解其行为,并与其生物学含义联系起来。我们称这种观点为细胞计算论(cellular computationism),由此产生的研究方法称作细胞计算论或计算神

* 现地址: Division of Physiology, Box 3709
Duke University Medical Center, Durham, NC
27710, USA.

收稿日期: 1990-10-18 修回日期: 1991-03-27