

胰岛素的促生长作用

史 民 冯佑民

(中国科学院上海生物化学研究所, 分子生物学国家重点实验室, 上海 200031)

摘要 除了经典的代谢调节作用之外, 胰岛素还具有重要的促生长作用: 在体外胰岛素能够刺激众多细胞的增殖与分化, 一些实验证明胰岛素在体内可能也是一种重要的生长调节因子. 胰岛素的促生长作用通过细胞表面的胰岛素受体介导, 但在较高的胰岛素浓度下也可以通过类胰岛素生长因子 I (IGF- I) 受体进行, 在不同细胞体系中可能会有所不同. 受体后的信号转导经过了一系列磷酸化和去磷酸化等途径, 其中有胰岛素受体底物 1 (IRS- 1)、Shc 蛋白、Ras 蛋白以及磷酸肌醇 3 激酶 (PI3- K) 等的参与. 在胰岛素的分子表面很可能存在一些区域或位点, 对其促生长作用有着更大的贡献, 通过对一些高促生长活性的胰岛素类似物的研究已揭示出一些初步的证据.

关键词 胰岛素, 促生长作用, 胰岛素受体, 类胰岛素生长因子 I 受体, 信号转导, 胰岛素受体底物 1

作为一种多功能的蛋白质激素, 除了人们所熟知的代谢调节作用外, 胰岛素的促生长作用也已为越来越多的实验所证明. 胰岛素在体外能够刺激众多细胞的增殖与分化, 一些实验表明胰岛素在体内可能也是一种重要的生长调节因子. 尽管这方面已积累了不少的数据, 但有许多问题如胰岛素促生长作用的机制、与代谢调节作用的关系及与胰岛素分子结构的关系等等都尚待阐明, 有的已成为目前研究的热点. 本文即就这方面近来的进展及有关问题作一综述.

1 胰岛素的促生长作用

1.1 细胞广泛性与“专一性”

1924 年 Gey 和 Thalhimer 最早发现了胰岛素对培养的组织细胞生长的促进作用, 随后胰岛素被证实能够刺激从酵母细胞直至哺乳动物神经元等一系列细胞的 DNA 合成与增殖分化. 同时, 大量的研究也证明, 大多数的培养细胞株在无血清条件下生长时都需要胰岛素的存在; 恶性转化后的细胞往往大大减少或丧失了对血清或一些生长因子的需求, 但同时胰岛素的的需求却并没有或没有完全丧失^[1, 2].

尽管胰岛素广泛地促进或维持细胞的增殖与分化, 但在不同细胞体系中其效应又是不尽

相同的. 早期的研究发现, 对一些细胞体系, 特别是成纤维细胞, 胰岛素需在超出其生理浓度 (0.1 ~ 1 nmol/L) 的高浓度 (0.1 ~ 1 μmol/L) 下才有显著的促生长作用^[1], 因此也被认为是一种药理作用. 对此, 研究者们作出了不少的解释, 现在一般倾向于认为在这些细胞体系中胰岛素是通过与其亲和力较低的类胰岛素生长因子 I (IGF- I) 受体发挥其促生长作用的, 这将在稍后再详细讨论.

与上面的结果不同, 在另一些细胞体系中, 胰岛素在生理浓度下即可刺激细胞的增殖, 并显然是通过胰岛素自己的受体起作用的. 这样一些细胞可认为是对胰岛素“敏感”的细胞, 或者说具有“专一性”. 这些细胞包括 H35 肝癌细胞、F9 胚胎瘤细胞、成骨细胞样瘤细胞 UMR- 106- 01 等等^[1~ 4].

在特定的培养条件下胰岛素虽也可以单独促进一些细胞株的增殖, 但多数情况下还需与其他的生长因子如成纤维细胞生长因子 (FGF)、血小板衍生的生长因子 (PDGF)、佛波酯 TPA 等协同才能发挥作用或是发挥显著的作用. 进一步的研究揭示, 在细胞周期中存在两类生长因子, “感受态” (competence) 因

子如 PDGF、TPA 等, 能够促使细胞在 G_1/G_0 期发生一种稳定的生化改变而进入“感受态”; 胰岛素、类胰岛素生长因子等“进行态”(progression) 因子, 则使已处于感受态的细胞由 G_1 期进入 S 期^[1].

1.2 胰岛素的体内促生长作用

胰岛素体内促生长作用的证据最早来自于一些临床的病例^[1,5]. 如不少糖尿病胎儿或新生儿往往伴有生长迟滞、缺乏脂肪以及肌肉瘦小等症状, 一些罕见的病例会表现出更极端的现象; 与此相反, 高胰岛素症的患者则会出现体形、体重的增大以及一些组织的不正常增殖现象.

近年来发现胰岛素在哺乳动物的胚胎发育、神经组织的发育与增殖^[6]及其他一些组织的生长中都有重要的作用, 一些直接的体内证据也已通过动物实验得到, 这些无疑都显示胰岛素在体内的生长与发育中可能也是一种重要的调节因子.

2 胰岛素促生长的作用机制

2.1 胰岛素受体与 IGF- I 受体

与它的代谢调节作用一样, 胰岛素促生长作用的第一步也是与细胞表面的受体相结合. 由于胰岛素与类胰岛素样生成因子 I (IGF- I)、胰岛素受体与 IGF- I 受体分别都具有相当的同源性及结构上的相似性, 胰岛素和 IGF- I 都可以与对方的受体相结合, 尽管这种结合同它们与自己的受体的结合相比要微弱得多^[7,8]. 而我们已经知道胰岛素在不少细胞体系中需在高浓度下刺激或维持细胞的增殖, 所以, 胰岛素的促生长作用究竟是通过自己的受体还是 IGF- I 受体介导成为一个令人困惑的问题.

胰岛素对人表皮成纤维细胞的促生长作用, 一直受到人们的关注. 早期有不少实验表明胰岛素对细胞 DNA 合成的刺激可能由 IGF- I 受体介导, 但通过仔细地建立和比较胰岛素及 IGF- I 促细胞生长的剂量- 效应曲线, 以及使用针对两种不同受体的“特定”抗体进行

研究, 人们证实在这种 IGF- I 受体占有优势地位的细胞体系中, 低浓度的胰岛素能够通过自己的受体促进细胞的增殖, 而高浓度时则可通过 IGF- I 受体产生更高的效应^[2]. 在另一类同样具有丰富的 IGF- I 受体、而胰岛素受体的数目相对稀少的血管平滑肌细胞中, 也得到了类似结果^[9].

只有少数的细胞体系缺乏 IGF- I 受体而表现出灵敏的胰岛素刺激作用, 如前面已经提到的 H35 小鼠肝癌细胞^[3]. 一种 CHO 细胞株 (CHO-K1) 在特定的培养液中生长时, 胰岛素是唯一必需的刺激因子, Mamounas 等^[10]证明胰岛素是通过细胞表面丰富的胰岛素受体刺激了 DNA 合成与细胞的分裂. 类似地, 在成骨瘤细胞 UMR-106-01 中, 胰岛素受体的数目大大高于 IGF- I 受体, 胰岛素也就具有比 IGF- I 高得多的促生长活性^[4]. 更有说服力的是, 细胞表面不存在 IGF- I 受体的 LBT 淋巴瘤细胞中, 胰岛素是一个十分有效的促有丝分裂剂^[11].

不过多数细胞同时具有数量相近的两种受体通常使解释工作变得复杂. 在 NIH 3T3 细胞中, 胰岛素受体与 IGF- I 受体的数量均相对稀少, 胰岛素的促生长作用非常微弱, 似乎是通过 IGF- I 受体进行的. 但通过受体 cDNA 的转入, Hofmann 等^[12]和 Randazzo 等^[13]发现细胞过量表达胰岛素受体后得到了非常灵敏的胰岛素刺激细胞 DNA 合成与增殖的曲线, 其最大刺激量和 10% 的胎牛血清相当. 在同样的细胞中 IGF- I 的活性也有提高, 但与胰岛素相比要差一些.

综上所述, 胰岛素可以通过自己的受体刺激细胞的增殖与分化, 高浓度下这种作用则也可以由 IGF- I 受体介导, 似乎是由细胞表面的胰岛素受体数量决定了其在不同细胞体系中的倾向. 由于这种细胞间的差异性, 在解释有关胰岛素促生长作用的问题时, 需要充分考虑到这一点.

2.2 受体后机制

无论是胰岛素受体还是 IGF- I 受体, 都

属于酪氨酸激酶 (TK) 受体家族, 即具有受体自磷酸化激活的 TK 活性^[14, 8]. 在过去的几年中, 为数不少的胰岛素受体酪氨酸激酶的胞内底物被发现和鉴定出来^[14]. 其中广泛存在的胰岛素受体底物 1 (IRS-1), 被认为是作为一种“坞”蛋白, 参与了级联反应的第一步. IRS-1 上具有至少 20 个潜在的酪氨酸磷酸化位点, 可以被活化的胰岛素受体或 IGF-1 受体迅速地磷酸化, 而通过这些磷酸化位点 IRS-1 可进一步与一些具有 SH2 结构域的蛋白 (SH2 蛋白) 如磷酸肌醇 3 激酶 (PI3-K)、GRB-2、Syp/SH-PTP2 等进行作用. PI3-K 是一个重要的生长和代谢的调节因子, 而 GRB-2 通过再结合 SOS 蛋白可以激活在许多生长因子的信号转导中起着关键作用的 Ras 蛋白, 这样就与一些已知的途径统一起来, 接下来是从 Raf 到促有丝分裂剂激活的蛋白激酶

(MAPK) 的一连串磷酸化反应, 从而启动 DNA 合成和细胞分裂增殖^[15].

IRS-1 在胰岛素促生长信号转导中的重要作用已得到了许多实验的证实, 如向缺乏 IRS-1 的细胞中注入外源 IRS-1 或转入 IRS-1 基因后, 胰岛素即对细胞的增殖有了明显的促进作用; 而利用反义 RNA 和抗 IRS-1 抗体减少细胞内的 IRS-1 水平, 则干扰和降低了胰岛素的促生长作用^[16]. 但将小鼠的 IRS-1 基因“敲除” (knockout) 的实验^[17] 显示, IRS-1 的缺失与受体基因的“敲除”相比, 要温和得多. 这一矛盾的现象也许可以用最近发现的胰岛素受体底物 2 (IRS-2) /4PS^[18] 来解释, 它与 IRS-1 有相当的同源性, 并广泛存在于各种细胞中, 可能在胰岛素信号转导中具有类似于 IRS-1 的作用.

另一种胰岛素受体的直接底物——Shc,

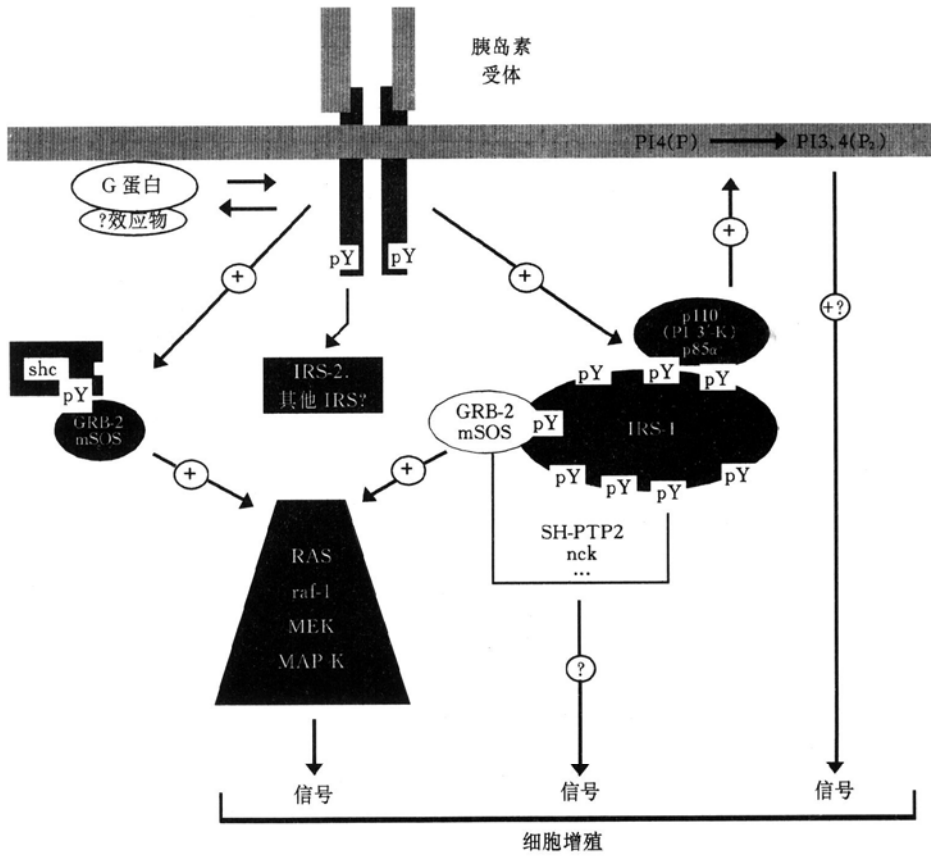


图 1 胰岛素促生长信号的受体后转导途径

可能也在胰岛素促生长信号的传递中有着不可或缺的作用. Pruettt 等^[19]最近成功地证明在 L6 成肌细胞中是由这种 SH2-蛋白而不是 IRS-1 激活 Ras 途径,并在胰岛素的促生长作用中起主导的作用. 这样,有理由认为在胰岛素促生长作用的信号传递过程中,很可能需要多种因子的共同参与,如 IRS-1、Shc、IRS-2 或其他未知的 IRS,以及 GRB-2、PI3-K、Syp 等 SH2 蛋白,其中起主要作用的因素在不同的组织和细胞中也可能会有所不同(图 1).

除了受体酪氨酸激酶途径外,胰岛素受体的非酪氨酸激酶途径可能也参与了胰岛素的促生长作用. 这种途径包括受体与胞内的一些蛋白质非共价地但是稳定地进行相互作用,也许有 G 蛋白参与其中^[20].

由于胰岛素既具有代谢调节作用,又具有促生长作用,但这两种信号似乎都需要 IRS-1、PI3-K,甚至 MAPK^[8,16],两种信号如何区分或者从什么地方开始分离,成为一个有趣而又有待解决的问题. 有一些数据显示胰岛素受体的不同部位对两类信号可能有不同的贡献,但仍存在不少争议^[21].

3 胰岛素促生长作用与其结构的关系

胰岛素的代谢效应与其分子结构的关系已有大量的研究,但关于其刺激生长的效应与分子结构的关系到目前还只有零星的报道与讨论. 由于两类效应都可以通过相同的受体介导,那么是不是可能在配体与受体结合这一步就导致了受体后的不同效应呢? 可能在胰岛素的分子结构上存在一些区域或位点,对胰岛素的促生长作用有着更大的贡献,是胰岛素分子促生长功能的结构基础. 但由于胰岛素的促生长作用可以通过不同的受体进行,为其结构功能的研究增加了很大的复杂性.

早期人们曾对一些不同种属的胰岛素及胰岛素-IGF 杂交分子^[7]等胰岛素类似物的代谢效应和促生长效应进行了比较研究,但这些数据都未能给出确定的结果. 近年来,由于已可以获得大量的各种胰岛素的类似物,使进一步

的验证成为可能.

Bornfoldt 实验室首先报道一种胰岛素的类似物 [B10Asp] 胰岛素 ([B10Asp] Ins) 对主动脉平滑肌细胞增殖的刺激作用与猪胰岛素相比提高了 10~20 倍,但与 IGF-I 受体的结合能力仅提高 3 倍^[22],两者的不平行关系预示胰岛素分子结构上有可能存在着不同的区域. 进一步地, Gammeltoft 等和 de Meyts 等分别利用只具有 IGF-I 受体的 NIH 3T3 细胞和只具有胰岛素受体的 LB T 淋巴瘤细胞比较了多种特殊的胰岛素类似物的促生长作用,结果发现几种高促生长活性的类似物如 [A8His, B4His, B10 Glu, B27His] Ins、[B10Asp] Ins 的刺激生长能力与它们和受体的结合能力以及代谢调节能力也都存在着不平行的关系^[23,24]. 同时还发现一个有趣的现象是,这些高活性的类似物都具有较低的从胰岛素受体或 IGF-I 受体上解离的速率,与受体结合的负协同效应也相对减弱. 近来的一些体内实验又表明,尽管 [B10Asp] 胰岛素在体内的代谢效应未能增加^[23],但却仍具有较高的促生长活力^[25,26].

目前还不清楚这些高促生长活性的类似物的机制, de Meyts^[8]提出了一个模型试图从结合动力学上进行解释,还有待实验的进一步证实. 但可以注意到的是,这些工作已为深入研究胰岛素分子促生长功能的结构基础树立了良好开端.

参 考 文 献

- 1 Straus D S. Growth-stimulatory actions of insulin *in vitro* and *in vivo*. *Endocr Rev*, 1984, **5**: 356~369
- 2 Moses A C, Tsuzaki S. Is insulin a growth factor? In: LeRoith D ed. *Insulin-like growth factors: Molecular and cellular aspects*. Boca Raton: CRC Press, 1991. 245~270
- 3 Massague J, Blumberg P M, Czech M P. The high affinity insulin receptor mediates growth stimulation in rat hepatoma cells. *J Biol Chem*, 1982, **257**: 13958~13963
- 4 Hickman J, McElduff A. Insulin promotes growth of cultured rat osteosarcoma cell line UMR-106-01: an osteoblast-like cell. *Endocrinology*, 1989, **124**: 701~706
- 5 Clarke W L, Vance M L, Rogol A D. Growth and child with diabetes. *Diabetes Care*, 1993, **16** (Suppl 3): 101
- 6 de Pablo F, de la Rosa E J. The developing CNS: a scenario

- for the action of proinsulin, insulin and insulin-like growth factors. Trends Neurosci, 1995, **18**: 143~ 150
- 7 van den Brande J L. Structure of the human insulin-like growth factors: relationship to function. In: Schofield P N ed. The insulin-like growth factors: Structure and biological functions. New York: Oxford University Press, 1992. 12~ 44
 - 8 de Meyts P, Wallach B, Christoffersen C T *et al.* The insulin-like growth factor-I receptor. Horm Res, 1994, **42**: 152~ 169
 - 9 Bornfeldt K E, Arnqvist H J. Actions of insulin-like growth factor I and insulin in vascular smooth muscle: receptor interaction and growth-promoting effects. In: Flyvbjerg A eds. Growth hormone and insulin-like growth factor I. Chichester: John Wiley & Sons, 1993. 159~ 191
 - 10 Mamounas M, Gervin D, Englesberg E. The insulin receptor as a transmitter of a mitogenic signal in Chinese hamster ovary CHO-K1 cells. Proc Natl Acad Sci USA, 1989, **86**: 9294~ 9298
 - 11 Pillemmer G, Lugasi Evgi H, Scharovski G *et al.* Insulin dependence of murine lymphoid T-cell leukemia. Int J Cancer, 1992, **50**: 80~ 85
 - 12 Hofmann C, Goldfine I D, Whittaker J. The metabolic and mitogenic effects of both insulin and insulin-like growth factor are enhanced by transfection of insulin receptors into NIH3T3 fibroblasts. J Biol Chem, 1989, **264**: 8606~ 8611
 - 13 Randazzo P A, Morey V A, Polishhook A K *et al.* Characterization of the growth of murine fibroblasts that express human insulin receptors. Exp Cell Res, 1990, **190**: 25~ 30
 - 14 Anderson C M, Olefsky J M. Regulation of insulin receptor function by phosphorylation. In: Sibley D R eds. Regulation of cellular signal transduction pathways by desensitization and amplification. Chichester: John Wiley & Sons, 1994. 251 ~ 276
 - 15 White M F, Kahn C R. The insulin signaling system. J Biol Chem, 1994, **269**: 1~ 4
 - 16 Quon M J, Butte A J, Taylor S I. Insulin signal transduction pathways. Trends Endocrinol Metab, 1994, **5**: 369~ 376
 - 17 Lienhard G E. Life without the IRS. Nature, 1994, **372**: 128~ 129
 - 18 Sun X J, Wang L M, Zhang Y *et al.* Role of IRS-2 in insulin and cytokine signalling. Nature, 1995, **377**: 173~ 177
 - 19 Pruett W, Yuan Y, Rose E *et al.* Association between GRB2/Sos and insulin receptor substrate 1 is not sufficient for activation of extracellular signal-regulated kinases by interleukin-4: implications for Ras activation by insulin. Mol Cell Biol, 1995, **15**: 1778~ 1785
 - 20 Sung C K. Insulin receptor signaling through non-tyrosine kinase pathways: evidence from anti-receptor antibodies and insulin receptor mutants. J Cell Biochem, 1992, **48**: 26~ 32
 - 21 Tavaré J M, Siddle K. Mutational analysis of insulin receptor function: consensus and controversy. Biochim Biophys Acta, 1993, **1178**: 21~ 39
 - 22 Bornfeldt K E, Gidlof R A, Wasteson A *et al.* Binding and biological effects of insulin, insulin analogues and insulin-like growth factors in rat aortic smooth muscle cells. Comparison

of maximal growth promoting activities. Diabetologia, 1991, **34**: 307~ 313

- 23 Drejer K. The bioactivity of insulin analogues from *in vitro* receptor binding to *in vivo* glucose uptake. Diabetes/Metabolism Rev, 1992, **8**: 259~ 286
- 24 De Meyts P, Christoffersen C T, Iskr-Shalom D *et al.* Enhanced mitogenic potency of insulin analogues in a cell line devoid of IGF I receptors correlates with slow dissociation from insulin receptors. Diabetes, 1993, **42** (Suppl 1): 163A (Abstract)
- 25 Dideriksen L H, Jorgensen L N, Drejer K *et al.* Carcinogenic effect on female rats after 12 months administration of the insulin analogue B10 Asp. Diabetes, 1992, **41** (Suppl 1): 143A (Abstract)
- 26 Vincent M, Carroll R, Chan S J *et al.* A transgene coding for a human insulin analog has a mitogenic effect on murine embryonic β cells. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, **92**: 6239~ 6243

The Growth Promoting Effects of Insulin. SHI Min, FENG Youmin (State Key Laboratory of Molecular Biology, Shanghai Institute of Biochemistry, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China).

Abstract In addition to its well-known effects on metabolism, insulin stimulates the growth and proliferation of a variety of cells in culture, and evidence suggests that insulin may also be an important regulator of growth *in vivo*. The growth-promoting effects of insulin appear to be mediated by its own receptors, but in some cells, insulin appears to stimulate growth at high concentrations by activating insulin-like growth factor I (IGF-I) receptors. The post-receptor signal transduction consists of a series of receptor-associated tyrosine protein kinase activated intracellular protein phosphorylation and dephosphorylation reactions, such as the phosphorylation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1), Shc, Ras and phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-K). It is supposed that some regions or sites on the insulin molecule may contribute more to the growth-promoting effects, and some preliminary evidences have come from the studies on several high mitogenic potent insulin analogues.

Key words insulin, growth-promoting effect, insulin receptor, insulin-like growth factor I receptor, signal transduction, insulin receptor substrate-1