

胰岛素样生长因子结合蛋白研究进展

杜清友 王会信

(军事医学科学院基础医学研究所, 北京 100850)

摘要 胰岛素样生长因子结合蛋白 (IGFBPs) 是一组能够和胰岛素样生长因子 (IGF) 以高亲和力结合的可溶性蛋白, 它们不仅携带 IGF, 延长 IGF 的半衰期, 而且还调控 IGF 的生物活性, 影响 IGF 的分布. 在不同的实验条件下, IGFBPs 能够增强或抑制 IGF 的活性. 另外, 又发现 IGFBPs 有独立于 IGF 之外的内在的生物活性. 简单介绍一下近年来 IGFBPs 在分子结构、基因表达、翻译后的修饰及生物功能等方面的研究.

关键词 胰岛素样生长因子结合蛋白 (IGFBPs), 分子结构, 基因表达, 蛋白质修饰, 生物功能

学科分类号 Q78

从发现 IGF 的第一个结合蛋白至今仅有 20 多年的时间, 在这短短的时间里, 人们对 IGFBPs 的认识已经获得了突飞猛进的进展. 从当初发现的第一种 IGF 结合蛋白, 到现在已经确定 6 种 IGFBPs. 最近报道^[1], 又发现另一种 IGFBP, 其基因也获得克隆, 蛋白质序列与已确定的 6 种有很高的同源性, 很可能就是将来的 IGFBP-7. 另外, 人们对 IGFBPs 生物学意义的认识也有了很大变化^[2]. 以前, 研究 IGF/IGFBPs 系统时, 是以 IGF 为中心, 发现 IGFBPs 对 IGF 的代谢与分布起着关键作用; 但是随着研究进展, 发现 IGFBPs 有独立于 IGF 之外的生物活性, 并且受到翻译后的多种修饰, 因此人们逐渐把目光从 IGF 转移到 IGFBPs 上.

1 IGFBPs 的分子结构

目前, 已经确定的 IGF 结合蛋白有 6 种, 分别命名为 IGFBP-1, 2, 3, 4, 5, 6. 成熟的鼠 IGFBPs 的氨基酸残基数目在 201 (IGFBP-6) 和 270 (IGFBP-2) 之间; 而人 IGFBPs 的氨基酸残基数目在 216 (IGFBP-6) 和 278 (IGFBP-2) 之间. 除 IGFBP-6 之外, 所有鼠和人 IGFBPs 都含有同源的 18 个半胱氨酸残基, 组成 9 对链内二硫键. 如果把 IGFBPs 平

均分成三个区, 即 N 端区、中间区、C 端区, 则其中 12 个 Cys 分布在 N 端区, 另 6 个分布在 C 端区, 且 N 端区和 C 端区之间无二硫键连接^[2].

在 6 种 IGFBPs 中, IGFBP-3, 4, 5, 6 均有糖基化现象^[3], 并且除 IGFBP-6 的糖基化位点在 C 端外, 其余的均位于肽链中间区. 糖基化的具体生物意义还不清楚, 据推测很可能在肽链合成分泌过程中参与肽链的空间结构形成, 或者保护蛋白质免受蛋白酶的降解. IGFBP-1, 2 还没有发现有糖基化的形式, 但在其 C 端区域均保留有一致序列 Arg-Gly-Arg (RGD).

2 IGFBPs 的基因表达调控

已经确定, 每种 IGFBPs 的表达与分布都受到严格精细的调控, 并随着发育阶段的不同而发生变化^[4]. 胎儿时期, IGFBP-1, 2 在血液中的含量最高, 但出生后其含量迅速下降, 至青春期后就维持在一个低水平下; 相反, IGFBP-3, 4, 5, 6 在胎儿时期的含量很低, 但在成年人中的含量较高. 6 种 IGFBPs 中, IGFBP-1 基因表达调控研究得较为透彻, 发现 IGFBP-1 含量变化与分解代谢过程紧密相联,

收稿日期: 1997-06-27, 修回日期: 1998-01-04

并由一些激素所调控^[2]. IGFBP-1 基因转录的强弱是多个转录因子共同调控的结果, 其中既有转录增强因子 (高血糖素、糖皮质激素), 也有抑制转录因子 (胰岛素).

3 IGFbps 翻译后的修饰

研究发现, IGFbps 存在翻译后的蛋白质修饰, 而且这种修饰作用对部分 IGFbps 的生物活性及分布有着重要的影响. IGFbps 翻译后的修饰主要有三种形式: 糖基化、磷酸化及蛋白质降解.

3.1 糖基化修饰

在糖基化的 IGFBP-3, 4, 5, 6 中, 对 IGFBP-3 糖基化修饰作用研究得较为透彻^[2]. 天然的 IGFBP-3 存在两种糖基化形式, 分别带有两个或三个糖基, SDS-PAGE 的表观分子质量分别为 42 ku 和 45 ku. 糖基化的 (CHO 表达) 和未糖基化的 IGFBP-3 (*E. Coli* 表达), 无论是在对 IGF 的亲合上, 还是在不同细胞中对 IGF 活性影响上, 均没有显著差异. 但有一点可以确定, 糖基化的 IGFBP-3 更有利于与 IGF 及另一种糖蛋白 (acid labile subunit ALS) 形成分子质量约为 150 ku 的蛋白质三元复合物, 更有效地延长 IGF 的半衰期.

3.2 磷酸化修饰

IGFBP-1, 3, 5 均在丝氨酸残基上有磷酸化现象, 但磷酸化对 IGFBP-1 的影响较大, 对其他两种 IGFbps 的影响较小^[3]. 已经确定, 磷酸化能够增强 IGFBP-1 对 IGF 的亲合力 (约提高 4~6 倍), 并且亲和力的增大与磷酸化的数目成正比关系; 同时, 磷酸化还导致 IGFBP-1 与细胞表面的结合能力大大下降. 磷酸化的 IGFBP-1 表现出抑制 IGF 活性; 相反, 非磷酸化的则表现出增强 IGF 活性.

3 蛋白质降解

在早期 IGFbps 研究中, IGFbps 的蛋白质降解现象就被发现. 最初人们认为, IGFbps 蛋白质降解以后, 蛋白质降解片段与 IGF 的亲合力大大下降, 丧失了对 IGF 的抑制作用, 从而有利于 IGF 与受体的结合, 表

现出 IGF 活性. 但是随着研究的深入, 又发现一些意想不到的结果. 例如, Schmid 等^[2]报道, 在鼠成骨细胞中, 一个分子质量约 30 ku 的 IGFBP-3 降解片段能够增强 IGF 活性, 完整的 IGFBP-3 则没有这种活性; 而 Lalou 等^[1]则报道, 当用血纤维蛋白溶酶降解 IGFBP-3 时, 产生的降解片段 27 ku 则有独立于 IGF 之外的抑制细胞分裂活性. 以上实验结果提示, IGFbps 蛋白质降解是一个复杂的现象, 在 IGF/IGFbps 系统中起着重要作用.

4 IGFbps 生物功能

可以把 IGFbps 生物功能归结成以下四点^[3]: a. 血管中运输 IGF, 并且影响着 IGF 是否透过血管内皮细胞层; b. 延长 IGF 的半衰期以及调控 IGF 的清除率; c. 调控 IGF 定位于特定组织及细胞上; d. 通过调节 IGF 与受体的结合间接地或直接地调控 IGF 生物活性.

5 研究前景

IGF、IGFbps、IGFbps-protease、IGF-receptor 组成了一个复杂的系统, 其中 IGFbps 在调控 IGF 活性及其内在生物活性方面, 越来越引起人们的重视. 今后, IGFbps 研究将集中在以下几个方面: a. IGFbps 家族的基因表达调控机制; b. IGFbps 翻译后的蛋白质修饰作用; c. IGFbps 结构与功能的关系; d. IGFbps 直接的或间接的生物活性; e. 各种 IGFbps 之间的协调关系及其在临床上的应用.

参 考 文 献

- 1 Blum W F, Hall K, Proceedings of the Third International Symposium on IGF Proteins. Prog Growth Factor Res, 1995, 6 (2~4): 79~89
- 2 Kelley K M, OH Y, Gargosky S E *et al.* Insulin-like growth factor-binding proteins (IGFBPs) and their regulatory dynamics. Int J Biochem Cell Biol, 1996, 28 (6): 619~637
- 3 Jones J I, Clemmons D R. Insulin-like growth factors and their binding proteins, biological actions. Endocr Rev, 1995, 16 (1): 3~34

(下转第 158 页, Continued on page 158)

化载体。NaIO₄ 氧化固定法, 操作简便、安全, 步骤少, 制成的固定化酶稳定性较好, 但是固定化使酶与底物的亲和力降低。在载体制备工艺和固定化方法方面有待进一步的研究。另外, 固定化对酶催化作用的影响及此技术对其他酶的效果, 也需进行深入研究。

参 考 文 献

- 1 Katchalski Katzir E. Immobilized enzymes: learning from past successes and failures. *Trends Biotechnol*, 1993, **11** (11): 471~ 478
- 2 Clark D S. Can immobilization be exploited to modify enzyme activity. *Trends Biotechnol*, 1994, **12** (11): 439~ 443
- 3 Lee J M. *Biochemical Engineering*. Englewood Cliffs: Prentice-Hall Inc, 1992. 54~ 68
- 4 张树政主编. 酶制剂工业. 北京: 科学出版社, 1984. 355~ 356
- 5 陈陶声, 居乃斌, 陈石根等编著. 固定化酶理论与应用. 北京: 轻工业出版社, 1987. 118~ 120
- 6 徐冠珠, 王祯祥, 朱丽钊等. 固定化青霉素酰化酶的研究. *微生物学报*, 1992, **32** (3), 212~ 217
- 7 袁中一, 刘树煌, 汪静英等. 固定化核酸酶 P1 应用于 5'-核苷酸生产. *科学通报*, 1980, (14): 654~ 657
- 8 黎高翔, 张绍恺, 孙万儒等. 水不溶酶的研究 II 对氨基苯磺酸乙基纤维素-葡萄糖淀粉酶的制备. *微生物学报*, 1973, **13** (1): 31~ 37
- 9 郭胜清, 赵华月. 两种 CNBr 活化 Sepharose 固定化胆碱酯酶方法的研究. *生物化学杂志*, 1995, **11** (2): 239~ 242
- 10 徐 俊, 郭 俊, 袁中一. 共价法固定化胰蛋白酶的研. *生物工程学报*, 1993, **9** (1): 69~ 73
- 11 蔡 瑾, 杨歧光, 王顺光等. 虫荧光素酶的固定化及其应用. 见: 何鸣鸿, 刘大陆, 刘德华编. 第五届全国生物化

工学术会议论文集. 北京: 化学工业出版社, 1993. 192 ~ 195

- 12 Hartmeier W. *Immobilized Biocatalysis*. Berlin: Spinger-Verlag Berlin Heidelberg, 1988. 150~ 153
- 13 陈 尊, 孔 维, 周 慧等. 接枝淀粉载体固定化糖化酶的研究. *生物化学杂志*, 1995, **11** (2): 150~ 153
- 14 王时珍著. 造粒塔与造粒喷头. 北京: 化学工业出版社, 1987. 1~ 5

Study on Porous Cellulose Acetate Beads for Amyloglucosidase Immobilization .

QU Hong-bo, CONG Wei, WEI Xin-gui, CHEN Jian-fei, OUYANG Fan (*State Key Laboratory of Biochemical Engineering, Institute of Chemical Metallurgy, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China*).

Abstract Porous cellulose acetate beads are formed for enzyme immobilization. The carrier is activated by being oxidized with NaIO₄, after which amyloglucosidase is attached to it. The optimal reaction conditions and the kinetics of the immobilized amyloglucosidase are determined and compared with those of the free enzyme. The activity of the immobilized amyloglucosidase shows no decay after 10 batches of starch hydrolyses, the total reaction time of which is more than 24 h at 55 °C.

Key words porous cellulose acetate beads, amyloglucosidase, immobilization

(上接第 105 页, Continued from page 105)

- 4 Han V K, Matsell D G, Delhanty P J *et al.* IGF-binding protein mRNAs in the human fetus: tissue and cellular distribution of developmental expression. *Horm Res*, 1996, **45** (1): 160~ 166

Progress on the Studies of Insulin-like Growth Factor Binding Proteins. DU Qing-you, WANG Hu-xin (*Institute of Beijing Basic Medical Sciences, Beijing 100850, China*).

Abstract The insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs) are a family of soluble proteins that bind the insulin-like growth factors (IGFs) with high affinity. These proteins not merely carry the IGFs and prolong the half-life

of IGFs, but have influences on both the bioactivity and distribution of IGFs in the extracellular environment. Under the different experiment conditions, IGFBPs can either inhibit or augment IGFs actions. In addition, IGFBPs appear to have intrinsic biological activity independent on IGFs. Research on molecular structure, gene expression, post-translational modifications, and bioactivity of IGFBPs were summarized.

Key words IGFBPs, molecular structure, gene expression, post-translational modifications, bioactivity