

胰岛素样生长因子 1 的结构与功能研究进展

刘宝英 王会信

(北京基础医学研究所, 北京 100850)

摘要 胰岛素样生长因子 1 (IGF1) 是一种多功能细胞调控因子. 它的结构特征为其促生长和物质代谢功能提供依据. 集中介绍了 IGF1 的三维结构、IGF1 与相关受体和结合蛋白的结合区以及二硫键在蛋白质折叠中的重要作用.

关键词 胰岛素样生长因子 1, 结构, 功能, 受体, 结合蛋白

学科分类号 Q71

胰岛素样生长因子 1 (IGF1) 是胰岛素样生长因子系统的重要成员, 与胰岛素高度同源. 这个系统的其他成员还包括 IGF2、IGF1 受体 (IGF1R)、IGF2 受体 (IGF2R) 以及 IGF 结合蛋白 (IGFBP). 该系统中各成员之间的错综复杂的关系决定了 IGF1 在生命活动中具有重要的调控作用. 蛋白质的生物功能, 不仅决定于分子的一级结构, 更决定于它的三维结构. 因而, 研究 IGF1 结构与功能的关系, 对于阐明 IGF1 在生物体中的作用具有重要意义. 本文对 IGF1 结构与功能方面的研究进展作一文献综述.

1 IGF1 一级结构

IGF1 又叫生长介素 (SMC), 是由 70 个氨基酸组成的单链碱性多肽, 分子质量 7 648.7 u. IGF1 的一级结构首先是由 Rinderknecht 和 Hummel 阐明的^[1]. 正如其名, IGF1 与胰岛素原高度同源 (49%), 含有 B、C、A 三个区域, 除此之外, 还在 C 端有一个 D 域. 在胰岛素种属之间保守的残基在 IGF1 中也同样保守, 尤为值得一提的是 Cys、Gly 残基很保守, 预示着 IGF1 和胰岛素的三维结构极为相似.

2 IGF1 的空间结构

因为 IGF1 结晶很困难, 因而用 X 射线衍

射方法对它进行结构分析还未成功. 1991 年 Robert^[2]通过核磁共振方法阐述了 IGF1 的溶液结构. 结果显示: IGF1 的溶液结构类似于胰岛素, 但还存在一定的差异: 与胰岛素同源的地区有序, 而在其他部分则表现很大的无序性. IGF1 分子有三个 α 螺旋, 第一个螺旋位于残基 8~17 之间, 经过 Gly19~Gly22 的 β 转角构象之后是 Phe23~Asn26 的一个延展结构^[3]. 接着是 44~49 残基间的第二个 α 螺旋. 第三个螺旋位于 54~59 残基之间, 看起来很不规则.

IGF1 分子有三对二硫键, Cys6~Cys48 位于分子表面, 而 Cys18~Cys61 和 Cys47~Cys52 之间的二硫键则全部包埋 in 蛋白质核心. 其他的残基, 如 Leu10、Ala13、Leu14、Val17、Ile43、Leu57、Tyr60 的侧链也大部分被包埋. IGF1 的疏水核心被三个 α 螺旋和一些多肽骨架包绕, 使之远离溶剂. Leu5、Phe16、Arg21、Glu58 的侧链填补 1、3 螺旋间的空隙, Val11、Phe23、Phe25、Val44 的侧链填补 1、2 螺旋和 22~26 残基骨架间的空隙, Gln40 和 Glu46 的侧链覆盖 Tyr60 所处的疏水核心区. IGF1 的 C、D 域是 IGF1 分子中两个突出的区域, C 域亲水性强, 有观点认为 IGF1 在 B28~C5 中包括两个 β 转角, 因而 C3~C8 远离表面, 形成一个很柔韧的结构, 使

收稿日期: 1997-05-08, 修回日期: 1997-07-17

所有的侧链处于溶液中. D域有发夹结构, 两个侧枝因疏水作用而紧密靠拢, 允许亲水侧链暴露至溶液^[4]. 也许正因为 C、D 域的不规

则, IGF1 结晶才很困难. IGF1 的三维结构见图 1.

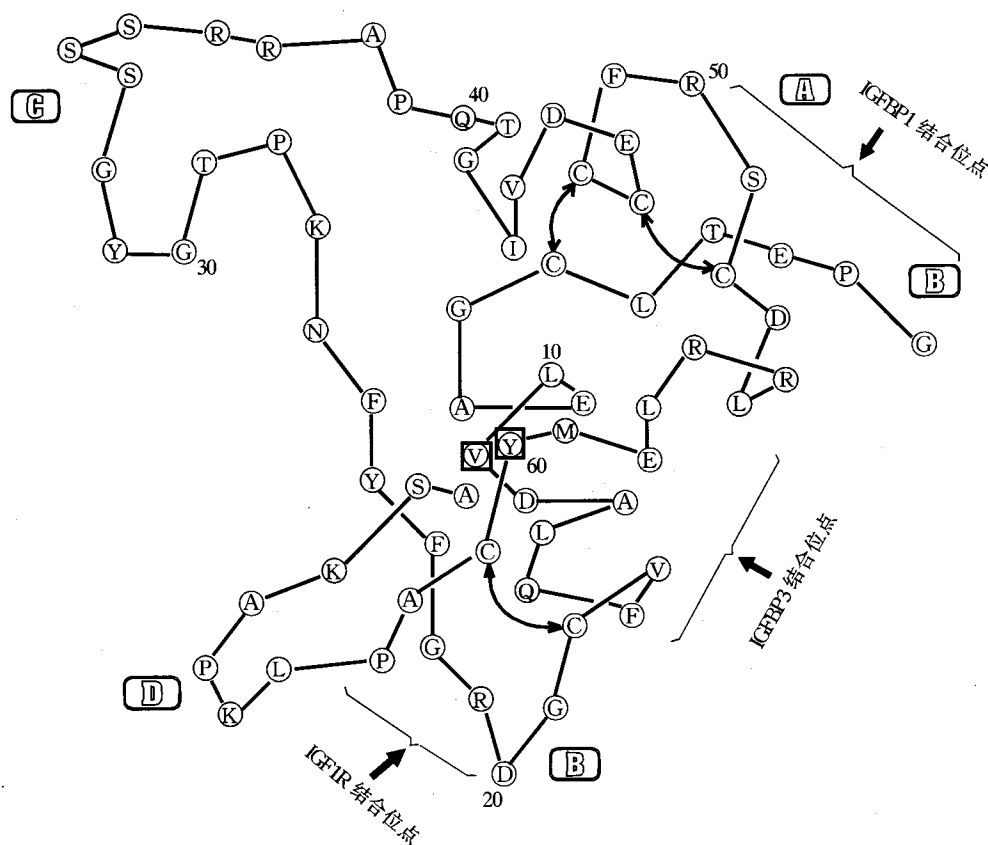


图 1 IGF1 三维结构图

3 IGF1 与受体结合区

IGF1 可以与 IGF1R、IGF2R 和胰岛素受体结合而发挥作用, 结合力顺序分别为: IGF1R > IGF2R > 胰岛素受体^[5].

3.1 IGF1 与胰岛素受体

IGF1 与胰岛素最大的不同是增加了 C、D 两域, 阻滞了 A 域的 C 端和 N 端, 使 IGF1 与胰岛素受体结合发生了阻碍. 实验证明: 移走 IGF1 的 D 域或用四个甘氨酸替代 C 域可以使之与胰岛素受体结合增加 2~4.5 倍. 从胰岛素结构/功能外推: IGF1 第 21、23、24、25、42、43、44、46、60、62 残基对与胰岛

素受体结合很重要, Arg21、Phe23、Tyr24、Phe25、Val44 沿着 IGF1 表面的裂口排列, 使 A、B、C 域分离, B23~24 两个芳香环残基在与胰岛素受体的结合过程中起着关键作用. 如果将这两个位置突变成非芳香环残基, 则 IGF1 与胰岛素受体的结合大大减弱. 其他 5 个重要残基没有直接在裂口表面, Gly42、Ile43 埋在 Phe25、Val44 下面, 起着固定它们的作用, 特别是 Gly42 对维持因子的三维构象起关键作用, 而且它也被认为是与胰岛素受体表面结合的核心残基, 它的阻滞可以大大减小 IGF1 与胰岛素受体的相互作用. Glu46 位于裂口相反一侧的分子表面, 同时 Tyr60、

Ala62 位于疏水核心区, 可能对稳定三维结构很重要. 另外, 将位于裂口边缘的 B15Q → B15Y, 也可使之与受体的亲和力增加4~14 倍.

3.2 IGF1 与 IGF1R

IGF1 主要是与其本身受体 (即 IGF1R) 结合而发挥其生物学作用的^[6]. 研究发现: 在疏水核心处三肽芳香族残基 Phe23-Tyr24-Phe25 在 IGF1 与 IGF1R 结合中起重要作用^[7], B24Y → B24S 或 B24L 可以大大减弱与 IGF1R 的相互作用, 而且 Tyr24 的修饰效应对 IGF1R 亲和力的影响比对胰岛素受体影响明显. 残基 B1~16 在与受体的结合过程中作用似乎不重要, 值得一提的是, B15 重新引进 Tyr 并没有减小 IGF1 与 IGF1R 的结合. 人们推测, 那些对胰岛素受体结合起作用, 而且在 IGF1 和胰岛素中保守的残基可能在与 IGF1R 的结合过程中也起作用, 例如 Arg21 和 Val44, 这方面的工作有待深入. 若 Tyr60 → Leu60, IGF 与受体的结合大大减弱, 说明芳香族残基, 而不是羟基在与受体的相互结合过程中起关键作用^[8]. IGF1 D 域没有直接参与与 IGF1R 的结合. 而 C 域作用不容忽视, C 域中的一些残基, 毗邻 IGF1 的裂口, 可能在分辨胰岛素受体和 IGF1R 中起作用, 缺失 C 域的 IGF1 与 IGF1R 的相互作用降低 30 倍左右. A8~10、A14~35 是 IGF1 与胰岛素差异较大的残基, 突变 IGF1 使之携带胰岛素中相应的残基, 对 IGF1 与 IGF1R 的结合影响不大.

3.3 IGF1 与 IGF2R

Bayne^[9]和 Cascieci 等^[10]指出: IGF1 的第 1、2、8、9、12、49、50、51、55、56 残基在与 IGF2R 的结合中起重要作用. 这些残基在 IGF1 表面形成两块“补丁”, 很可能是通过两块不连续的“补丁”与一个相对大的受体相互作用. 其他残基对 IGF1 与 IGF2R 结合的重要性还未阐明, 例如: Asp53 在 IGFs 中保守, 但在胰岛素中不保守, 位于 IGF1 “补丁”之间, 可能对结合有作用. 值得一提的是

IGF1 三肽 Phe49-Arg50-Ser51 这个位置暴露于溶剂, 形成一个转弯结构, 这个结构不仅在与 IGF2R 结合中起作用, 而且也为抗原和 IGF-BP-1 提供了结合位点.

总之, IGF1 与 IGF1R 和胰岛素受体结合的残基重迭, 同时 IGF1 与 IGF2R 和 IGFBP 的结合位置也重迭. IGF2R 可能与血清结合蛋白相关, 虽然它们之间并无序列同源, 但它们都有 Cys 富含区参与与配体的结合^[11].

4 IGF1 与结合蛋白结合区

IGFBP 与 IGF1 以高亲和力结合, 对 IGF1 的功能起着重要的调控作用. 目前, 六种结合蛋白都已从结构上加以鉴定. 它们的功能也主要表现在: a. 协助 IGF1 在血管内及跨管壁运输; b. 将 IGF1 定位到特定的组织细胞; c. 调整 IGF1 与其受体的结合^[12]. 过去一直认为 IGFBP 是与 IGF1R 竞争性结合 IGF1, 从而减弱 IGF1 的生物学效应. 但是, 人们发现, 如果事先将 IGFBP3 与细胞孵育 24~72 h 以后, 可以增强 IGF1 的生物学效应, 这可能是由于 IGFBP 通过与细胞表面结合, 增强细胞局部有效 IGF1 的浓度^[13]. 利用体外突变技术, 人们已经对 IGF1 与六种结合蛋白的结合区有了一定的认识. 其中对 IGFBP1 和 IGFBP3 的结合区认识得较清楚. IGFBP1 结合于 IGF1 的 N 端 (即 Gly1、Pro2、Glu3) 和 A 区的 Phe49、Arg50、Ser51, 从获得的结构资料来看, BP1 的结合点处于 IGF1 与 IGF1R 结合处的相反一面 (图 1).

BP3 是目前研究得较深入的一个结合蛋白, 在血清中与 IGF1 和一个酸不稳定糖蛋白 (ALS) 形成一个 140 ku 的三元复合物, 这个三元复合物很可能在调控 IGF1 的功能方面具有重要作用, 因为三元复合物不能穿过毛细血管屏障, 而二元复合物 (IGF1-IGFBP3) 则可以穿过屏障并达到特定的组织^[14]. IGF1 与 IGFBP3 形成二元复合物是 IGFBP3 进一步与 ALS 结合的先决条件, 而且 ALS 与 BP3 的结

合对 IGF1 的结构具有一定的依赖性. 从 IGF1 的三维结构来看, IGF1 第 3~4、49~51、55~56 残基位于分子表面, 参与了与 BP3 的结合, B 区 8~18 残基的 α 螺旋也参与了这种相互作用. [Tyr55, Gln56] IGF1 以及 C、D 域的缺失突变体与 IGFBP3 的结合力比天然 IGF1 高 2~4 倍, 而 [Gln3, Ala4] IGF1, [Tyr15, Leu16] IGF1, [Thr49, Ser50, Ile51] IGF1 则与 BP3 的结合力降低 2~10 倍, [Gln3, Ala4, Tyr15, Leu16] IGF1 与 BP3 的亲合力降低 100 倍. ALS 与 BP3 的结合主要涉及到 IGF1 的两种结构区域^[15], 一是 IGF1 的第 3、4、49、51 残基, 这些残基的突变, 使二元复合物形成减少, 导致三元复合物也相应地减少; 再就是远离 BP3 结合位点的 D 域和 B 域第 24 残基附近的区域, 它们虽然对 IGF1 与 BP3 的结合有轻微地抑制作用, 但是却促进二元复合物与 ALS 结合. 这些研究为我们设计具有生物学活性的 IGF 类似物提供了线索.

与 IGFBP1 相似, 突变第 49、50、51 残基或 B 链的 3、4 残基, 使 IGF1 与 IGFBP2 和 IGFBP5 的结合力降低 20 和 100 倍. pH 7.4 时, IGF1 突变体与 IGFBP4 的结合, B 链替代影响不大, 但 A 链的突变则使两者亲合力大大减小. 这些结果揭示: 不同的结合蛋白对 IGF1 的最适结合有不同的结构需要.

5 二硫键与 IGF1 折叠中间体

IGF1 分子含有三对二硫键, 其中 Cys18-Cys61 间的二硫键是在氧化还原过程中最早形成的, 而且它也被认为是氧化重折叠途径的分支点^[17]. 实验证明天然 IGF1 与错配的 IGF1 [6~47; 18~61; 48~52] 具有相同的二级结构, 但三维结构不同, 后者受体结合活性为天然体的 10%. 这种差异被认为是由于疏水核心的重排和芳香环残基的重新取向造成的^[18].

总的说来, IGF1 的生物学功能必须通过揭示 IGF1 与胰岛素受体、IGF1R、IGF2R 及 IGFBP 的相互作用才能作出评价. 探讨其结

构与功能的关系为阐明 IGF1 作用的分子机制提供依据.

参 考 文 献

- 1 Rinderknecht E, Humbel R E. The amino acid sequence of human insulin-like growth factor I and its structural homology with proinsulin. *J Biol Chem*, 1978, **253** (8): 2769~2776
- 2 Robert M C, Timothy S H, Iain D C. Solution structure of human insulin-like growth factor I: a nuclear magnetic resonance and restrained molecular dynamics study. *Biochemistry*, 1991, **30** (22): 5484~5491
- 3 Akihiro S, Shigenori N, Tadayasu O *et al.* ¹H-NMR assignment and secondary structure of human insulin-like growth factor I (IGF1) in solution. *J Biochem*, 1992, **111** (4): 529~536
- 4 Van den Brande J L. Structure of human insulin-like growth factors: relationship to function. In: Paul N eds. *The insulin-like growth factors*. New York: Oxford university press, 1992. 12~44
- 5 John I J, David R C. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocrine Reviews*, 1995, **16** (1): 3~33
- 6 刘宝英, 王会信 (Liu B Y, Wang H X). 胰岛素样生长因子研究进展. 国外医学分子生物学分册 (Foreign medical sciences—Molecular biology), **18** (3): 103~108
- 7 Akihiro S, Shigenori N, Tadayasu O *et al.* Three-dimensional structure of human insulin-like growth factor-I (IGF1) determined by ¹H-NMR and distance geometry. *Int J Peptide Protein Res*, 1993, **41** (5): 433~440
- 8 Darren R H, Felicity E B M, Bruce R W. Mutations at positions 11 and 60 of insulin-like growth factor I reveal differences between its interactions with the type I insulin-like growth factor receptor and the insulin receptor. *Eur J Biochem*, 1995, **233** (1): 299~309
- 9 Bayne M L, Applebaum J, Chicchi C G *et al.* Structural analogs of human insulin-like growth factor I with reduced affinity for serum binding proteins and type 2 insulin-like growth factor receptor. *J Biol Chem*, 1988, **263** (13): 6233~6239
- 10 Cascieri M A, Chicchi G C, Applebaum J *et al.* Structural analogs of human insulin-like growth factor (IGF) I with altered affinity for type 2 IGF receptor. *J Biol Chem*, 1989, **264** (4): 2199~2202
- 11 Morgan D O, Edman J C, Standring D N *et al.* Insulin-like growth factor 2 receptor as a multifunctional binding protein. *Nature*, 1987, **329** (24): 301~307
- 12 Victor K M H, Douglas G M, Patric J D D *et al.* IGF-binding protein mRNAs in the human fetus. tissue and cellular distribution of developmental expression. *Human Res*,

- 1996, 45 (1): 160~ 166
- 13 Jurgen Zapf. Physiological roles of IGF binding proteins. *European Journal of Endocrinology*, 1995, 132 (6): 645 ~ 654
- 14 Kevin M K, Youngman O, Sharron E *et al.* Insulin-like growth factor-binding proteins (IGFBPs) and their regulatory dynamics. *Int J Biochem Cell Biol*, 1996, 28 (6): 619~ 637
- 15 Robert C B, Marvin L B, Margaret A C. Structural determinants for binary and ternary complex formation between IGF-1 and IGF binding protein 3. *J Biol Chem*, 1992, 267 (1): 60~ 65
- 16 David R C, Marlin L D, Walker H B *et al.* Competition for binding to IGF binding protein 2, 3, 4 and 5 by the IGFs and IGF Analogs. *Endocrinology*, 1992, 131 (3): 890~ 895
- 17 Linda O N, Qing X H, Tsutomu A *et al.* Role of native disulfide bonds in the structure and activity of insulin-like growth factor 1: Genetic models of protein-folding intermediates. *Biochemistry*, 1993, 32 (19): 5214~ 5221
- 18 James A M, Linda O N, Qing X H *et al.* Oxidative refolding of IGF1 yields two products of similar thermodynamic stability: A bifurcating protein folding pathway. *Biochemistry*, 1993, 32 (19): 5203~ 5213

Progress in the Studies of Structure and Function of Insulin-like Growth Factor 1. LIU Bao-ying, WANG Huì-xin (*Institute of Beijing Basic Medical Sciences, Beijing 100850, China*).

Abstract Insulin-like growth factor 1 is a multifunctional cell regulating factor. It has been demonstrated that structural characteristics of IGF1 provide clues for its growth promoting and anabolic effect. It is concentrated on the three dimensional structure of human IGF1, and the combining regions between IGF1 and relative receptors and binding proteins. It also shows the important role of disulfide bonds in the protein folding.

Key words insulin-like growth factor 1, structure, function, receptor, binding proteins

神经系统遗传病与三核苷酸重复

王德安 夏家辉

(湖南医科大学医学遗传学国家重点实验室, 长沙 410076)

摘要 三核苷酸重复与神经系统遗传病的关系引起了许多科研工作者的关注, 介绍了近年来与三核苷酸重复相关的神经系统遗传病致病基因克隆的研究进展, 并对其可能的致病机理作了综述.

关键词 三核苷酸重复, 不稳定扩增, 遗传早发

学科分类号 Q75

自 1991 年至今, 十二种与三核苷酸重复相关的神经系统遗传病致病基因已被克隆, 从而证实了一种新的遗传突变方式, 即由于异常的不稳定的三核苷酸重复扩增导致基因突变. 它们的作用机制有许多相似之处: 患者的发病年龄与三核苷酸重复扩增数成反比例关系; 通过父系遗传的三核苷酸重复扩增数比通过母系遗传的多; 具有遗传早发现象 (anticipation), 即发病年龄逐代减小, 发病程度逐代加重等.

1 十二种相关的神经系统遗传病基因

1.1 三核苷酸重复位于基因的编码区

现在已知 7 种神经系统遗传病基因在它们的编码区内含有高拷贝数的三核苷酸重复, 并且发现位于编码区的三核苷酸重复只有一种即 $(CAG)_n^{[1]}$, 这 7 种遗传病中 6 种为常染色体显性遗传, 一种呈 X 连锁隐性遗传.

收稿日期: 1997-05-08, 修回日期: 1997-07-28