



胰岛素作用原理研究近况

冯佑民 顾嘉琍

(中国科学院上海生物化学研究所)

我国科学工作者在 1965 年首次用化学方法全合成了具有全部生物活力的结晶牛胰岛素,开辟了人工合成蛋白质的新时期,也促进了我国对胰岛素的深入研究。1973 年,我国科学工作者又测定了 1.8 埃分辨率猪胰岛素分子的三维结构^[1],为胰岛素结构与功能关系的研究及胰岛素作用原理的研究提供了更多的信息和更好的基础。

胰岛素是一种蛋白激素^[2],其作用原理比较复杂。

在正常情况下,激素对机体的调节作用主要有两个因素:一个是激素本身,另一个是激素作用的对象。这两者是箭和靶的关系,是对立的统一,构成了激素调节作用的两个方面。对于激素本身,人们已经积累了非常丰富的知识,大量的激素都已分离、纯化,测定了它们的化学结构,并在此基础上进行化学结构的修饰,研究了结构与功能的关系。与此相反,长期以来人们对于激素的“靶”则了解很少。近几年的研究证明,激素和其他有选择性作用的因子(例如药物)和生物活性物质(例如乙酰胆碱)一样,都是作用于一定的器官。这些器官称为该激素的靶器官,被作用的细胞称为靶细胞,在细胞上特定地结合某一激素的成分称为该激素的受体。激素与其受体的关系,类似于抗原和抗体、酶和底物的关系,是专一的、非共价键的相互作用。因此,研究激素的受体对于阐明激素作用原理是很重要的。我国关于胰岛素与其受体间作用的一些特性的研究已有报道^[3]。

自 Sutherland, E. W. (1968) 提出第二信使学说以后,通过对激素受体和腺苷酸环化酶的研究,人们对于多肽激素的作用原理,已经有了一个粗浅的轮廓(参见本刊 1974 年第 4 期 23 页图 2)。即:由各种刺激引起内分泌腺分泌激素,激素作为第一信使与靶细胞膜上的受体结合,进而活化存在于膜上的腺苷酸环化酶,该酶使 ATP (腺三磷)变为环化腺一磷(cAMP);cAMP 是第二信使,它进一步把激素的信息传给细胞内特定的代谢过程,从而表现出特异的生理效应。

由这个粗浅的轮廓,可以看出研究激素作用原理的几个重要环节是:第一,激素与其受体的相互作用,包括确定激素分子上的“结合部位”及“信息部位”,受体的分离、纯化及其性质等;其次,单核苷酸环化酶(腺苷酸环化酶和鸟苷酸环化酶等)的分离、纯化及其性质,以及它们和受体的关系;第三,cAMP 怎样传递信

息,cAMP 作为第二信使的普遍性和特殊性,以及寻找其它第二信使物质等。本文从上述三方面介绍胰岛素作用原理的研究近况。

一、胰岛素受体

1. 受体的定位

Cuatrecasas, P. (1969) 把胰岛素通过 B₁-Phe (苯丙氨酸)或 B₂₉-Lys (赖氨酸)的氨基以共价键接在琼脂糖(粒度为 60—300 微米)上,然后用游离的脂肪细胞(50—100 微米)进行测定,证明这种胰岛素-琼脂糖衍生物和天然胰岛素一样,具有促进脂肪细胞的葡萄糖氧化和抑制脂肪降解的作用。胰岛素-琼脂糖衍生物是不能进入脂肪细胞的,这说明胰岛素首先是作用于细胞表面的某组份。将脂肪细胞匀浆,用碘(¹²⁵I)化胰岛素证明:完整细胞结合胰岛素的能力全部存在于细胞膜部分中。如果先用胰蛋白酶处理完整细胞,则该细胞全部丧失对胰岛素的结合能力,而且这种结合能力的丧失并不因细胞被匀浆而恢复。进一步将脂肪细胞膜翻转过来,即膜的内表面朝外,这样的膜不能结合胰岛素,证明胰岛素不但是首先和细胞膜作用,而且是结合在细胞膜的外表面。

2. 胰岛素与其受体的相互作用

用具有高度生物活力的单碘(¹²⁵I 或 ¹³¹I)化胰岛素,与脂肪细胞、脂肪细胞膜或肝细胞膜相互作用,证明胰岛素在脂肪细胞上的结合是可以达到饱和的,即当脂肪细胞的量固定时,结合胰岛素的量达到一定程度后,就不再随介质中胰岛素浓度的增加而增加了。已经结合在细胞上的碘化胰岛素可以用天然胰岛素取代,但不能为其他多肽激素如促肾上腺皮质激素(ACTH)、胰高血糖素、生长激素(GH)等所取代,说明这种结合是专一性的。胰岛素与其受体的结合是双分子反应,结合常数为 $1.5 \times 10^{-7} M^{-1} \text{秒}^{-1}$,解离常数为 $5.0 \times 10^{-11} M$,可以计算出平均每个脂肪细胞约结合 11,000 个胰岛素分子。“胰岛素-细胞”复合体可以用过量的抗胰岛素血清完全解离,解离下来的碘化胰岛素对于脂肪细胞的结合能力,和未使用过的碘化胰岛素是一样的。不存在“细胞-胰岛素-抗体”这样的复合体。胰岛素与其受体的结合,与 pH 和温度有关,最适 pH 为 7.5;低于 50℃ 时不影响结合,比 50℃ 高时破坏受体的结合能力,在 53℃ 时发生不可逆的破坏。胰

胰岛素与脂肪细胞相互作用的测定,一般是在 KR 缓冲系统中进行的,其中含有 Na^+ , K^+ , HCO_3^- , Mg^{2+} , PO_4^{3-} , Ca^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} 等离子;当改用 Tris-HCl, 磷酸钠或磷酸钾缓冲液进行测定时,结果和在 KR 缓冲系统中一样,这说明上述离子对结合没有什么影响。但提高 NaCl 的浓度可以使胰岛素受体结合胰岛素的能力增加,2M NaCl 时结合能力达最大。各种化合物,如腺三磷、腺一磷、乙酰胆碱等,对结合没有什么明显的影响。通过对膜蛋白进行化学修饰,证明—SH, 色氨酸侧链和—COOH 对于胰岛素与其受体的结合并不是必需的,但酪氨酸和组氨酸的侧链则是必需的。

3. 用酶处理细胞表面的影响

用胰蛋白酶和其他蛋白水解酶处理脂肪细胞后,这些细胞便丧失对胰岛素的结合能力,说明受体是一种蛋白质。基于这一事实,可把它作为一种方法来检查类胰岛素物质是否通过胰岛素受体起作用,即用胰蛋白酶处理脂肪细胞后,若类胰岛素物质仍能表现类胰岛素活力,则说明它不是通过胰岛素受体而起作用的。

用神经氨(糖)酸苷酶处理细胞,并不影响胰岛素与其受体的结合能力;但是,胰岛素不能促进这种处理后的细胞的葡萄糖氧化或降低脂解作用。用神经氨(糖)酸苷酶处理后引起的生物效应和结合能力的不同,说明膜上的唾液酸不参与受体的辨认功能,而可能是参与受体的传递功能。

经神经氨(糖)酸苷酶处理后,接着用 β -半乳糖苷酶处理,或用这两种酶同时处理,结果除了丧失胰岛素引起的生物效应外,还引起受体对胰岛素结合能力的降低。这说明半乳糖苷基团参与受体的辨认功能,并可能是受体分子的化学组分。因此,可以认为胰岛素受体是一种糖蛋白质。

用磷脂酶 C 和 A 处理细胞后,使其对胰岛素的结合能力增加 3—6 倍,说明磷脂酶处理后受体的总量增加了。这可能是由于磷脂酶作用后,暴露了被脂类掩盖了的受体。

4. 受体的增殖、分离纯化及其物化性质

用非离子去垢剂,如 Triton X-100,可以把胰岛素受体从肝细胞膜或脂肪细胞上溶解下来,超速离心(40,000 转/分,70—90 分钟)后,胰岛素受体留在上清液里。Cuatrecasas, P. (1972) 研究了碘化胰岛素与溶解下来的胰岛素受体的相互作用,测定了“碘化胰岛素-受体”复合体的一系列物化性质,见表 1。由于和受体相比,碘化胰岛素的分子量很小,所以这个复合体的物化性质,基本上可以代表胰岛素受体的物化性质。

联合使用硫酸铵沉淀和离子交换层析方法,可以将用 Triton X-100 溶解下来的胰岛素受体提纯大约 6 倍。进一步用固相胰岛素(琼脂糖-胰岛素)进行亲和层析,可以将胰岛素受体纯化大约 250,000 倍。Cuatrecasas, P. (1972) 认为,这个数值已接近于理论

表 1 “胰岛素-受体”复合体的性质

分子量	300,000
沉降常数	11 S
摩擦比	1.5
轴比	9
分子半径	约 70 埃
解离常数	约 10^{-10} M
复合体的形成速度	$2-3 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ 秒}^{-1}$
复合体的解离速度	约 $4 \times 10^{-4} \text{ 秒}^{-1}$
4℃ 或 -20℃ 贮存	稳定
酶处理:	
高浓度胰蛋白酶	丧失与胰岛素的结合能力
磷脂酶 C 或神经胺酸酶	不影响与胰岛素的结合能力
低浓度的蛋白质变性剂处理 (如磺酸十二酯钠,尿素,盐酸胍)	可逆变性
溶液中无去垢剂存在时	高度聚合

纯度。胰岛素受体的含量是很少的,约占大鼠肝匀浆蛋白的百万分之一。

5. 水溶性受体

最初一般认为,胰岛素受体牢固地结合在细胞膜上,只能用强烈的手段,如 Triton X-100 等,才能把它从细胞膜上溶解下来。1972 年, Gavin III, J. R. 用 10mM 磷酸缓冲液-生理盐水,成功地从人工培养的淋巴细胞上获得了水溶性胰岛素受体。并证明:水溶性胰岛素受体不能通过透析膜;在 4℃ 下超离心(200,000g, 4 小时)仍然留在上清液中;能通过孔径为 0.3 微米的超滤膜;不滞留在交联葡聚糖 G-200 柱上;用胰蛋白酶消化可以破坏其与胰岛素的结合能力,但用 DNase 或 RNase 消化,则不影响它与胰岛素的结合能力。还证明,胰岛素与水溶性受体相互作用的性质,和用完整细胞所获得的结果一样。

6. 受体的分布

一般认为,胰岛素的靶器官为肝、脂肪细胞和肌肉。用碘化胰岛素证明:除了在靶器官上有与胰岛素专一结合的受体外,在很多器官和组织上都发现有胰岛素受体,如胸腺细胞、中枢神经系统、腓肠肌和垂体前叶等。此外还证明,外周循环细胞(如红细胞、白细胞和淋巴细胞)上都存在有胰岛素受体。

近来, Posner 等^[12]研究了猴子、大鼠、豚鼠、兔、羊、鸽子和青蛙的各种组织的粗提膜制剂与碘化胰岛素的特异性结合。结果表明,豚鼠的肾、胎儿的胎盘及肝与碘化胰岛素结合的能力最强,而在所谓靶器官中结合并不显著(见表 2)。

由此可见,胰岛素的靶器官很不专一,这种不专一性的意义有待进一步研究。

7. 受体的“再生”

Kono, T. (1970) 指出,用胰蛋白酶处理的脂肪

表 2 碘 (125 I) 化胰岛素与不同种属动物的不同组织的专一结合

种 属	专 一 性 结 合		
	>3%	<3%	<1%
猴	肾(6.5), 母体胎盘(6.0), 乳腺(4.9), 肝(4.7), 肺, 子宫, 脑, 肾上腺, 脾, 卵巢	心脏, 胰, 胎儿胎盘	骨骼肌, 睾丸
大鼠	肝(3.6), 心脏(3.3)	横膈膜, 肾, 肺, 脑, 脾, 脂肪组织, 母体胎盘, 子宫, 乳腺, 睾丸	胰, 骨骼肌, 胎儿胎盘
豚鼠	肾(35.0), 胎儿胎盘(20.3), 乳腺(12.8), 脂肪组织(11.8), 肝(11.1), 心脏(6.9), 肺(5.8)	脾, 骨骼肌, 子宫	—
兔	肝 (5.9), 子宫 (5.1), 卵巢 (4.4), 肾上腺(4.2)	肾, 心脏, 脂肪组织, 乳腺, 母体和胎儿胎盘	胰, 骨骼肌
羊	肝 (4.6), 肾 (3.5), 肾上腺 (3.3)	肺, 脾, 子宫, 卵巢, 母体和胎儿胎盘	胰, 骨骼肌, 乳腺
鸽	肝(7.1), 肾(5.3), 脑(3.8)	骨骼肌, 心脏	—
蛙		肝, 肾, 骨骼肌	心脏

表 3 胰岛素与其受体相互作用的亲合常数

	组 织	温 度 (°C)	亲 合 常 数	报 告 者
受体部位的多级性	肝细胞膜	30	2.0×10^9 ; 2.1×10^8	Kahn 等
	脂肪细胞膜	30	1.5×10^9 + 低亲合性	Freychet 等
	培养的淋巴细胞	15	1.2×10^{10} ; 1.1×10^9	} Gavin III 等
	外周循环的淋巴细胞	15	2.0×10^9 ; 1.4×10^8	
	胸腺淋巴细胞	15	1.1×10^8 ; 1.0×10^7	Goldfine 等
	肝细胞膜	37	3.0×10^8 ; 1.6×10^7	House
	脂肪细胞膜	24	2.0×10^9 ; 3.3×10^8	Hammond 等
	肝细胞膜	37	1.0×10^{10} ; 4.1×10^6 1.3×10^5	Marinetti 等
受体的单级部位	游离的脂肪细胞	37	3.3×10^8	Gammeltoft 等
	游离的脂肪细胞	24	2.0×10^{10}	} Cuatrecasas
	肝细胞膜	24	1.3×10^{10}	
	游离的脂肪细胞	25	1.4×10^8	Kono 等

细胞丧失了对胰岛素的结合能力, 但去掉胰蛋白酶后继续保温 1—2 小时, 这些细胞又恢复了对胰岛素的结合能力。这种恢复作用可以用蛋白质生物合成的抑制剂抑制。

Kono, T. 等 (1972) 还指出, 胰蛋白酶不影响腺苷酸环化酶的活力, 说明该酶不在细胞表面或胰蛋白酶不能水解它。

8. 受体浓度的变化

人们发现, 每个细胞上胰岛素受体的浓度是随着条件的变化而波动的。例如, 饥饿会引起细胞上胰岛素受体浓度的增加, 同时使细胞增强对胰岛素的敏感

性; 相反, 肥胖会减低胰岛素受体的浓度。Kahn, C. R. 等 (1973), Freychet, P. 等 (1972) 证明, 在同样条件下, 肥而大的鼠的肝细胞膜结合胰岛素的量, 只有瘦而小的鼠的四分之一到三分之一。Robinson, C. A. 等 (1972) 比较了幼年大鼠 (150—175 克) 和老年大鼠 (350 克以上) 的脂肪细胞和肝细胞膜, 对于碘化胰岛素的结合能力, 证明幼年大鼠比老年大鼠的结合能力约高一倍。Gavin III^[5] 用淋巴细胞进行体外观察, 发现缓慢升高介质中的胰岛素浓度 (在胰岛素的生理浓度范围内), 会引起细胞上胰岛素受体浓度的降低; 而如果快速提高介质中胰岛素浓度时则无此影响。Goldfine,

I. D. 等 (1973) 和 Freeman, C. 等 (1973) 也证明胰岛素受体浓度随条件变化而变化。

但是, Cuatrecasas, P. (1972) 得到与上述相反的结果。他认为, 由于肥胖等引起的对抗胰岛素的动物, 其脂肪细胞表现出对胰岛素反应能力的降低, 并不是因为这些细胞上胰岛素受体浓度的变化, 也不是因为这些受体对胰岛素亲合力的改变, 而在于胰岛素与细胞结合以后的某一个或几个步骤发生变化所引起的。

9. 受体的不均一性

关于胰岛素与其受体相互作用的定量关系, 人们用各种材料如脂肪细胞、肝细胞膜和淋巴细胞进行了测定, 结果列于表^[6]。在表 3 中, 七人认为胰岛素受体是不均一的, 三人认为是均一的。

Hammond, J. M. 等在 1972 年指出, 脂肪细胞上胰岛素受体的不均一性, 表明在高度纯化的脂肪细胞膜上有两个主要的胰岛素结合部位。一个是高亲合-低容量的部位; 另一个是低亲合-高容量的部位。并认为后者在了解激素作用原理方面可能有重要的意义。

Kahn 等^[3]用肝细胞膜详细地研究了胰岛素受体的不均一性, 指出胰岛素受体部位有三级: (1) 高亲合-低容量部位, 平衡常数为 $2 \times 10^9 M^{-1}$; (2) 低亲合-高容量部位, 平衡常数为 $2 \times 10^8 M^{-1}$; (3) 非专一性的部位 (非常低的亲合-高容量部位)。他们认为, 由于 Kono 使用的胰岛素浓度很高 ($0.25 nM$), 所以他不能发现高亲合的部位; 相反, Cuatrecasas 忽略了比较高的胰岛素浓度的数据。因此, 他们认为受体的部位是均一的。

Jerums^[7]报告, 在脂肪细胞上有两类胰岛素受体, 一类可引起 cAMP 浓度的降低, 另一类可引起 cAMP 浓度的升高。用胰蛋白酶处理脂肪细胞后, 破坏了第一类受体, 而不影响第二类受体, 故用胰蛋白酶处理后的脂肪细胞仍然会使 cAMP 浓度升高。

10. 胰岛素受体的负协同作用

Gavin III, J. R. 等 (1973) 研究了碘化胰岛素从受体上的解离作用。将“碘化胰岛素-受体”复合体, 稀释到已经解离下来的碘化胰岛素不能再与受体结合的程度, 在这种条件下加入大量未标记的胰岛素, 结果大大增加碘化胰岛素从受体上解离的速度。他称这种现象为负协同作用。并认为, 未标记胰岛素充满“位置”引起碘化胰岛素从另外“位置”上解离下来的速度增加的现象, 是由于“位置-位置”相互作用的结果。相反, 如果结合激素的“位置”是独立的, 彼此没有关系, 则未标记激素充满“位置”, 不致于影响另外“位置”上的标记激素的解离; GH 就是呈现这种情况的一个例子。

11. 关于胰岛素与其受体结合的“专一”性

前已述及, 结合在受体上的碘化胰岛素可以为天然胰岛素取代, 但不能用其它多肽激素 (如 ACTH、胰高血糖素、GH 等) 取代, 这说明胰岛素与其受体的结

合是专一的。但是具有胰岛素活性的植物凝集素, 如伴刀豆球蛋白 A 和小麦胚芽凝集素 (WGA), 可以与脂肪细胞上的胰岛素受体相互作用。一个脂肪细胞最多约可结合 3×10^8 个 WGA 分子, 4×10^8 个伴刀豆球蛋白 A 分子。高浓度的 WGA 以及伴刀豆球蛋白 A, 能竞争性地取代结合在受体上的碘化胰岛素。用从细胞膜上增溶下来的胰岛素受体所观察到的现象, 和用脂肪细胞及肝细胞膜所观察到的一样。这更进一步证明, 这些植物凝集素是直接胰岛素受体作用。

关于植物凝集素与细胞相互作用的性质, 已经用碘 (^{125}I) 化植物凝集素进行了详细的研究。

此外, 神经生长因子 (NGF) 是由两个单体靠非共价键形成的二聚体, 每个单体含 118 个氨基酸残基, 构象类似胰岛素原。它也能与胰岛素的受体结合, 而胰岛素也能取代结合在 NGF 受体上的 NGF^[8]。

由此可见, 胰岛素与其受体的相互作用似乎并非绝对“专一”, 因为上述一些蛋白质也能与胰岛素受体相互作用。研究胰岛素受体与非胰岛素蛋白质的相互作用, 对于阐明胰岛素与其受体相互作用的性质以及胰岛素作用原理是很有意义的。

12. 胰岛素与其受体的结合部位

通过对于 ACTH^[9], 胰高血糖素及血管紧张肽^[10]与其受体相互作用的研究, 说明在一个蛋白或多肽激素分子上, 存在有“结合部位”和携带信息的“信息部位”。那么在胰岛素分子上与其受体结合的部位是什么? 北京胰岛素结构研究组^[1]根据胰岛素分子的晶体结构指出, 胰岛素与其受体的专一性结合可能是疏水性的和集合性的; 推测 B_{14} -Phe, B_{15} -Phe [或 Tyr (酪氨酸)], B_{16} -Tyr 和 B_{12} -Val (缬氨酸) 及其附近的一些疏水性基团共同组成的疏水面, 可能是胰岛素与其受体分子专一结合的部位。这个疏水面是形成二聚体的表面, 呈粗略的平面状, 在化学上的特点是包括众多的芳香环, 从种属差异看这些残基都是不变的, 或很少发生变化的。近来的工作证明, 胰岛素的作用单位并非二聚体而是单体, 单体起作用是和胰岛素与其受体结合部位的假设相吻合的。

阐明胰岛素的“结合部位”及“信息部位”, 对于胰岛素作用原理的研究以及临床上的意义都是很重要的。中国科学院北京动物研究所和中国科学院上海生物化学研究所胰岛素组^[1]近来的工作表明, 去 B 链羧端五肽胰岛素与其受体的结合能力, 和天然胰岛素一样; 去 B 链羧端六肽胰岛素及 B_{23} -Gly (甘氨酸) 被 D-Ala (丙氨酸) 取代的去 B 链羧端六肽胰岛素有明显的结合能力; 去 B 链羧端八肽胰岛素具有极微的结合能力。最近, 他们进一步证明仅是 B 链羧端 B_{23-27} 之间含有 B_{14} -Phe, B_{15} -Phe 的肽段也能与胰岛素受体结合。这些结果表明, 胰岛素与其受体的结合是疏水的结合, B_{14} -Phe 和 B_{15} -Phe 是结合部位的一部分。这与北京

胰岛素结构研究组的前述推测是一致的。法国的 Freychet^[11] 和西德 Brandenburg 等, 对他们已经报道过的 20 多个胰岛素类似物, 进行了与胰岛素受体结合能力的测定, 企图阐明胰岛素的结合部位, 但是没有成功。

二、胰岛素和腺苷酸环化酶

一般认为, 使 ATP 变为激素第二信使 cAMP 的腺苷酸环化酶也存在于细胞膜上。最近, Neer^[12] 用 Triton X-100 和 Lubrol PX 从肾髓质增溶下具有腺苷酸环化酶活性的大分子, 经 Sepharose 4B 柱层析分离, 结果用 Lubrol PX 增溶的得三个峰, 用 Triton X-100 增溶的得两个峰, 都有腺苷酸环化酶活性。较大的成分沉降常数 5.9S, 比容 0.74 毫升/克, 分子量 159,000 道尔顿, 轴比 1.6; 较小的成分沉降常数 3.0S, 分子量 38,000 道尔顿, 轴比 1.2。

但是, 到现在还不了解激素与其受体结合后, 怎样导致腺苷酸环化酶的活化从而放出 cAMP。Robison, G. A. 曾想象腺苷酸环化酶是由两个亚基组成的: 一个是调节亚基, 在细胞表面(受体是其中一部分); 另一个是催化亚基, 催化 ATP 转化为 cAMP。后来人们把它进一步形象化如图 1 所示。

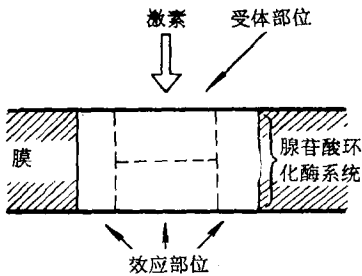


图 1 受体和腺苷酸环化酶关系示意图

胰岛素与腺苷酸环化酶的关系和一般多肽激素活化腺苷酸环化酶相反, 很多报道表明, 胰岛素抑制腺苷酸环化酶的活性。生理浓度的胰岛素(5微单位/毫升)可以直接抑制腺苷酸环化酶的活性。胰岛素浓度为5—50微单位/毫升时, 能抑制为 NaF 所激活的腺苷酸环化酶的活性。但也有人指出, 用 NaF 激活的腺苷酸环化酶的活性, 以及正常大鼠和患糖尿病大鼠的心肌腺苷酸环化酶的活性, 都不受胰岛素影响。Hetenyi, G. (1973) 报道, 注射胰岛素后可以增加大鼠脑的腺苷酸环化酶的活性。

总之, 关于受体与腺苷酸环化酶的关系以及胰岛素与腺苷酸环化酶的关系, 还知道的很少。

三、关于胰岛素的第二信使

cAMP 作为激素的第二信使, 已经得到广泛的证

实。激素首先与其专一的受体结合, 进而活化腺苷酸环化酶, 使细胞内 cAMP 的浓度发生变化。绝大多数激素使 cAMP 的浓度升高。至于 cAMP 如何把第一信使(激素)的信息传下去, 似乎有两个途径: 一是 cAMP 与蛋白激酶结合, 蛋白激酶与 cAMP 结合后变成活化的蛋白激酶, 后者进一步影响一系列酶的活性^[13]; 另一个途径是 cAMP 与其受体结合, 而 cAMP 受体是一种能结合 DNA 的蛋白质。Krakow, J. S. 等 (1973) 指出 cAMP 受体是一种变构蛋白, 即 cAMP 与其受体结合后, 引起后者的构型变化, 这种变化是结合 DNA 所必需的。这样就把激素的信息传递给 DNA 了。

和其它激素引起 cAMP 浓度增加相反, 胰岛素使细胞内 cAMP 浓度下降。一般认为, 胰岛素的抗脂解和增加糖元合成的作用, 至少一部分是通过降低细胞内 cAMP 的浓度而实现的。至于胰岛素降低 cAMP 的浓度是由于抑制腺苷酸环化酶而引起的, 还是由于激活 cAMP 磷酸二酯酶而引起的, 或两者兼之或有其他原因, 尚在争论中。

胰岛素与腺苷酸环化酶的关系, 上面已经谈到了。关于胰岛素与磷酸二酯酶的关系, 普遍认为胰岛素能激活磷酸二酯酶。Manganielli, V. 等 (1973) 指出, 胰岛素(1毫克分子/毫升)能增加磷酸二酯酶的活力。也有人证明, 患糖尿病大鼠的心肌磷酸二酯酶活力比正常大鼠低; 还指出胰岛素(4单位/公斤)对正常大鼠的心肌磷酸二酯酶活力无影响, 但它能使患糖尿病大鼠的磷酸二酯酶活力恢复到正常大鼠的水平。

1973 年, Abou-Sabe, M. A 指出, 葡萄糖能刺激 cAMP 的合成; 并证明葡萄糖能激活连接在膜上的腺苷酸环化酶, 使其活力提高 2.7 倍。这样, 可以推想胰岛素降低 cAMP 的浓度, 可能是由于胰岛素降低血糖引起的。

前面已经提到, 胰岛素的抗脂解和增加糖元合成的部分原因, 是由于降低了 cAMP 的浓度。但 Bibhop, J. (1971) 证明, 在肌肉中, 在 cAMP 浓度不变或增加的条件下, 胰岛素能促进糖元的合成。Frahlich, A. A. 等 (1973) 也指出, 给鸡注射胰岛素后, 在其血液、肝和肌肉中发现 cAMP 的浓度增加。

由上所述, 胰岛素的效应是通过降低 cAMP 浓度还是提高 cAMP 浓度而实现的, 仍然不清楚。

那么, 胰岛素与其受体结合后, 如何把信息传下去? Cuatrecasas, P. (1973) 提出了三种可能性(图 2): (1) 胰岛素与其受体结合后, 使腺苷酸环化酶活性下降, cAMP 浓度因而减少; (2) 胰岛素与其受体结合后产生一个新的中间体; (3) 胰岛素与其受体结合后引起其他代谢的变化。

究竟胰岛素的第二信使是什么? 目前仍没有明确的结论。可能就是 cAMP, 通过 cAMP 浓度的降低或

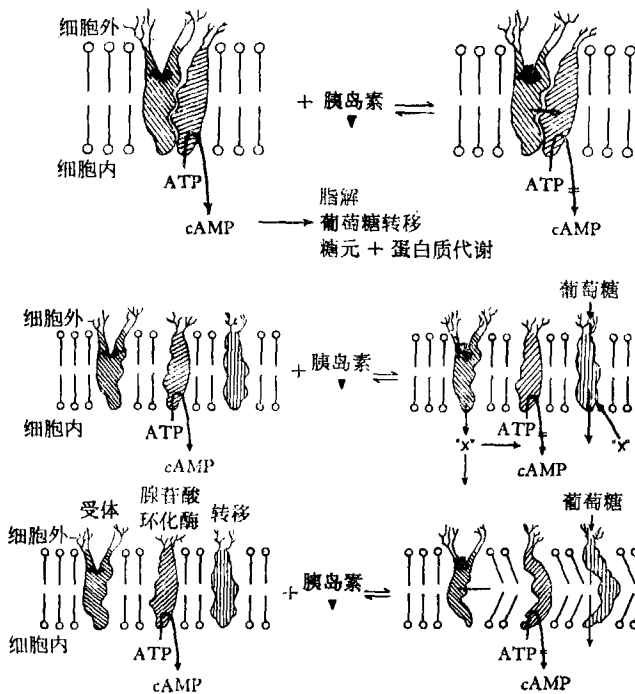


图2 胰岛素信息传递的三种可能性的示意图

上：直接影响腺苷酸环化酶活性；
中：产生新的中间化学物质“X”；
下：引起细胞的其他代谢发生变化

升高来实现胰岛素的效应。也可能是 cGMP (环化鸟一磷)。近年来,关于 cGMP 在体内的作用已经广泛地引起人们的注意。Illiano, G. 等(1973)证明,低浓度胰岛素(120 微单位/毫升)作用于脂肪细胞后,可以增加细胞内 cGMP 的浓度。Kolatc, G. B. (1973)指出,细胞内 cGMP 的增加是和细胞对激素的反应有直接关系的。cGMP 也广泛存在于组织中,但浓度很低,一般只有 cAMP 的 2—10%^[11]。有人认为,细胞的调节过程可能是受 cAMP 和 cGMP 的相互作用的影响。第三种可能是胰岛素与其受体作用后,引起一个未知的新的第二信使的生成。

四、结 束 语

综上所述,通过对胰岛素受体、第二信使等的研究,使人们对胰岛素的作用原理有了一个大的轮廓。即:胰岛素首先与其受体结合,然后通过降低 cAMP 浓度或升高 cGMP 浓度,或其他因素,将胰岛素的信息传下去,最后表现出生理效应。无疑,这样一个轮廓对于进一步阐明胰岛素作用原理是一个良好的基础。

但是,在胰岛素作用原理的研究中,有一些现象是值得注意的。首先,与一般激素都有其专一的靶器官相反,胰岛素的靶器官非常不专一。已经证明,机体中几乎所有器官的细胞膜制剂都能和胰岛素专一结合

(见表2)。是这些器官都有胰岛素受体,还是胰岛素受体本身是不专一的?当然,也可能是胰岛素对不同器官的生理效应不一样。其次,一些植物凝集素(蛋白质)也能和胰岛素受体专一结合。是这些蛋白质具有和胰岛素的“结合部位”一样的结构,还是胰岛素与其受体的结合本身是不专一的?如果两者都属于后一种情况,那么说明,胰岛素的受体是不专一的或胰岛素不是通过受体而起作用。Benzamin^[14] 等曾报道:他们发现生理浓度的胰岛素,在体外能特异地引起某些高分子量蛋白质的磷酸化作用,并认为这是胰岛素在体内作用的一种方式。显然,这种作用方式并不通过受体而是直接引起某些蛋白质的磷酸化作用。虽然,这些矛盾可能并不足以动摇上述“大体轮廓”,但也说明胰岛素的作用原理和其它多肽激素的相比,除共性外还有其特性,在今后研究中,对这一点必须予以充分注意;同时也说明关于胰岛素作用原理的研究,至今仍处于非常初期的阶段。

此外,还有两点是值得提出的。

其一, Schneider, A. B. (1972) 用紫外吸收和圆二色性方法证明,当胰高血糖素与溶血卵磷脂结合时,胰高血糖素的构象发生变化。基于这一事实,我们可以想象:胰岛素与其受体结合后,胰岛素本身的构象发生一定的变化,通过构象的改变把胰岛素的信息传给“信息接受者”。也就是说,通过胰岛素构象的改变,胰岛素分子上带着胰岛素信息的“信息部位”就象“钥匙”一样深入到“信息接受者”的“锁”中,从而打开这把“锁”。“信息接受者”可能是受体的一部分。北京胰岛素结构研究组^[1]推测胰岛素的“信息部位”是 A 链的两端。

其二,我们看到,在很多方面胰岛素表现出和其它多肽激素相反的效应。第一,其它多肽激素使细胞内 cAMP 浓度上升,而胰岛素则使 cAMP 浓度降低。第二, Rasmussen, H. (1970) 指出,除 cAMP 外, Ca^{2+} 是细胞中第二种起调节控制作用的物质。细胞中 Ca^{2+} 浓度的增加,可能引起细胞内其它酶的反应,或反馈地控制腺苷酸环化酶。Sheatz, L. 等 (1972) 证明,激素对于细胞膜有两个独立的作用:一是活化或抑制腺苷酸环化酶;二是刺激或抑制细胞膜对 Ca^{2+} 的结合。其它多肽激素的作用是活化腺苷酸环化酶、增加细胞膜对 Ca^{2+} 的结合,而胰岛素则是抑制腺苷酸环化酶、减少细胞膜对 Ca^{2+} 的结合。第三,胰岛素受体具有负协同作用,而 GH 受体则与之相反。第四,细胞外胰岛素浓度缓慢增加会引起细胞上胰岛素受体浓度的降低,其他激素没有这种现象。也许多肽激素对机体的

(下转第 49 页)

表7 G/M 值与 $(G)_n/(M)_n$ 值的差异

褐藻酸钠 编号及藻源	区 段 (%)			G/M	$(G)_n/(M)_n$
	$(G)_n$	$(M)_n$	$(GM)_n$		
1. 北方昆布	60.5	12.7	26.8	2.45	4.76
2. 北方昆布	66.0	14.5	19.5	2.57	4.55
3. 北方昆布	62.1	13.6	24.3	2.70	4.56
4. 北方昆布	58.6	18.7	22.7	2.45	3.13
5. 北方昆布	55.5	21.7	22.8	2.45	2.56
6. 北方昆布	49.3	20.3	30.4	1.63	2.43
7. 泡叶藻	20.7	38.4	41.0	0.79	0.54
8. 泡叶藻	19.4	32.3	48.4	0.89	0.60
9. 泡叶藻	23.6	38.0	38.4	0.85	0.62
10. 巨藻	17.7	40.6	41.7	0.72	0.44
11. 棕色固氮菌	0.5	17.8	81.7	0.67	0.03

衰期长的一种放射性同位素,它通过各种动、植物性食物均可能进入人体内,积存于骨骼系统。危险在于其辐射可能对骨髓造成损伤,损坏造血机能,影响骨骼正常生长,并可能发展成恶性骨瘤或产生白血病。

2. 褐藻酸钠是迄今发现的能抑制 ^{90}Sr 吸收的最有效防治剂,而又不影响钙的正常代谢,并且无毒、可口、易得、价廉。对于其他因锶毒害而引起的如“锶佝偻病”、“大骨节病”等,从理论上说也有预防效果。

3. 褐藻酸大分子结构内嵌段之一的多聚古罗糖醛酸,其化学结构严密、特殊,具有选择性结合碱土金属离子的效能,是整个大分子的活性机能所在。提高多聚古罗糖醛酸含量,是提高疗效的主要途径,生物学方法可以筛选藻源、菌源,考虑人工养殖;化学方法有部

分降解、选择性沉淀和离子交换等;生化方法有酶促转化。

4. 对于 ^{90}Sr 毒害,应以预防为主。建议有关专业人员和地方性锶毒害较严重地区的人员,可长期低剂量服用褐藻酸钠;一般人员可经常在食品及饮料中添加适量褐藻酸钠;如发生意外事故或遇到紧急情况以致 ^{90}Sr 急性中毒,可大量服用褐藻酸钠;群养家畜也可饲喂褐藻酸钠。无论人畜服用褐藻酸钠,均以溶解状态为宜,并应在进食或喂料时同时服用。

5. 建议有关部门对褐藻酸钠推广应用;藻胶工业可设法增产多聚古罗糖醛酸含量高的褐藻胶;制药工业可生产药用制剂;食品业、饮料业和冷饮业等,可视情况适当采用褐藻酸钠作为辅佐原料。

(上接第40页)

调节作用分为两大类:一类是“正”的,另一类是“负”的,也就是说起相反作用的;如果是这样的话,胰岛素应该属于后者。

参 考 资 料

- [1] 北京胰岛素结构研究组:中国科学, 1974, 6, 591.
- [2] 朱尚权:化学通报, 1974, 6, 20.
- [3] 中国科学院北京动物研究所内分泌室胰岛素组, 中国科学院上海生物化学研究所胰岛素组:中国科学, 1974, 6, 612.
- [4] Posner, B. I. et al: *Endocrinology*, 95, 521, 1974.
- [5] Gavin III, J. R. et al: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 71, 84, 1974.
- [6] Kahn, C. R. et al: *J. Biol. Chem.*, 249, 2249, 1974.
- [7] Jerums G. et al: *Horm. Metab. Res.*, 6, 242, 1974.
- [8] Marx, J. L.: *Science*, 185, 930, 1974.
- [9] Hofmann K. et al: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 71, 80, 1974.
- [10] Devynck, M. A. et al: *Nature*, 249, 67, 1974.
- [11] Freychet, P. et al: *Diabetologia*, 10, 1, 1974.
- [12] Neer, E. J.: *J. Biol. Chem.*, 249, 6527, 1974.
- [13] 中国科学院上海生物化学研究所一室(译):本刊, 1974, 2, 17.
- [14] Benzamin, W. B. et al: *Biochem. Biophys. Acta*, 351, 28, 1974.