

人胰岛素基因 5' 末端多变区和糖尿病

韩晓亮 池芝盛 张世荣*

(北京协和医院内分泌科)

提 要

人胰岛素基因 5' 末端多变区的基因型依碱基对的多少分为 LL、SL 和 SS 三种形式。LL 基因型和 NIDDM 的关系密切; IDDM 患者中 SS 基因型多于正常对照。LL 基因型和糖代谢异常有关, 可能是动脉粥样硬化的基因标志; SL 基因型和高脂血症有关。

关键词 人胰岛素基因, 5' 末端多变区, 糖尿病

近年, 对人胰岛素基因 5' 末端多变区和糖尿病的关系方面提出了一些新的观点。本文就 5' 末端多变区和非胰岛素依赖型糖尿病 (NIDDM)、胰岛素依赖型糖尿病 (IDDM)、糖基化血红蛋白 (HbA_{1c})、高甘油三酯血症及动脉粥样硬化的关系做一简要的综述。

一、人胰岛素基因及其 5' 末端多变区

人胰岛素基因位于第 11 对染色体的短臂上, 现已知人胰岛素基因的全部核苷酸序列和

* 中国科学院动物研究所内分泌室

糖原合成酶作底物监测蛋白质激酶分离提纯时, 发现 GSK 的三种活性成分实际上是 cA-PrK、磷酸化酶激酶和酪蛋白激酶-II。其余两种活性成分是 GSK-3 和 GSK-4, 均为单独的激酶。GSK-4 对糖原合成酶是专一的, 其活性不受激素控制; GSK-3 可使糖原合成酶和 II 型 cA-PrK 的 R-亚基磷酸化, GSK-3 也参于蛋白质激酶的活性调节, 推测它可能参于胰岛素的作用, 此外, 能被 II 型酪蛋白激酶磷酸化的蛋白质也是 GSK-3 的底物。

参 考 文 献

- 1 Krehs E B *et al.* *Pharmacological Reviews*, 1966; 18: 163
- 2 Flockhart D A *et al.* *CRC Crit Rev Biochem*, 1982; 2: 133
- 3 Chock P B *et al.* *Ann Rev Biochem*, 1980; 49: 813
- 4 Sutherland E W *et al.* *Recent Progress in Hormone Research*, 1965; 21: 623
- 5 Hardman J G. In: Dumont J eds. *Hormones and cell regulation*, Amsterdam: Elsevier/North-Holland Bioche-

- mical Press, 1980; 4: 257
- 6 Robert J R *et al.* In: Choh H L ed. *Hormonal proteins and peptides*, London & New York: Academic Press, 1983; 3: 93
- 7 Ross E M *et al.* *J Biol Chem*, 1978; 253: 6401
- 8 Iyengar R *et al.* In: Schrader W T & Malley B W eds. *Laboratory Methods Manual for hormone action and molecular endocrinology*, Academic Press: New York, 1982: 244
- 9 Murad F *et al.* *Advances in Cyclic Nucleotide Research*, 1980; 11: 175
- 10 Kenneth J M *et al.* *Sci Prog*, 1987; 71: 221
- 11 Siddle K. In: Elkeles R S & Taivill A S eds. *Biochemical aspects of human disease*, London & New York: Academic Press, 1983: 147
- 12 Klee C B *et al.* *Ann Rev Biochem*, 1980; 49: 487
- 13 Tash J S *et al.* *Cell*, 1980; 21: 57
- 14 Wise B C *et al.* *J Biol Chem*, 1982; 257: 8481
- 15 Mazzei G J *et al.* *Life Sci*, 1983; 33: 119
- 16 Parkar P J *et al.* *EMBO J*, 1984; 3: 953
- 17 Castagan M *et al.* *J Biol Chem*, 1982; 257: 7847
- 18 Vandermeers A *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 1987; 84: 1076
- 19 刘富林, 生物科学动态, 1988: 2
- 20 王明运主编, 激素生物化学. 北京: 人民卫生出版社, 1987: 20--26

[本文于1989年1月7日收到]

结构。胰岛素基因中有两个插入段,一个位于启动子之后,由 179 个碱基对组成,对胰岛素的合成可能会有影响。另一个位于 C 肽基因中间,由 786 个碱基对组成,可能对胰岛素的分子影响较小。PRE-B-C-A 是胰岛素原基因外显区。整个人胰岛素基因由 1430 个碱基对组成(图 1)。

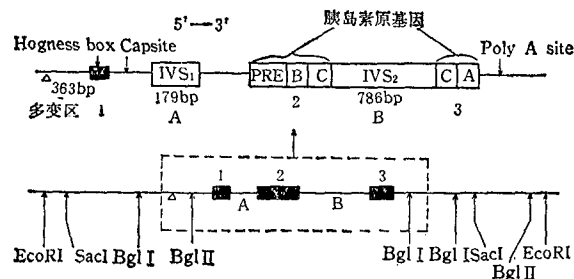


图 1 胰岛素基因和多变区位置示意图

1.2.3.: 胰岛素基因 A.B.: 插入片段

△: 多变区位置

在距胰岛素基因 5' 端 363 个碱基对处,有一核苷酸数目从 0 到 2200 个碱基对的变化不等的多变区。用不同的限制性内切酶(EcoRI、SacI、BglI、BglII 等)消化 DNA 后^[1],确定了这一多变区的确切位置及碱基对变化的数目范围。大多数作者采用 BglII 从不同个体基因所测得多变区的碱基对分为三类: I. 0—600 碱基对(Small, 以 S 表示), II. 600—1600 碱基对, III. 1600—2200 碱基对(Large, 以 L 表示)。由于 II 类非常少见,多将 II 类并入 III 中,文献中仅以 S 或 L 表示。S 和 L 是等位基因,个体的基因表型有三种形式(SS、SL 和 LL)。在直系亲属中,发现 S 和 L 等位基因的遗传规律符合孟德尔定律^[2],后代中未发现非父母基因型的存在。

5' 端多变区中有许多地方是以 14 个碱基对(ACAGGGGTGTGGGG)为单位的多次重复,这些单位的重复可从 26 次(含 364bp)至 209 次(2926bp)不等,从而就出现了 S 和 L。多变区碱基数目变化之大可达胰岛素结构基因碱基数目(1430bp)的二倍,该区的功能不清,可能与胰岛素基因表达的调节有关。

二、5' 端多变区和糖尿病

1. NIDDM 一些作者认为 5' 端多变区 L 等位基因和 NIDDM 有关,尤其当基因表型为 LL 时和 NIDDM 的关系更为密切。下述是一些文献中的结果, Rotwein^[3] 和 Hitman^[4] 对黑人、白人、Pima Indian 人和高加索人的研究表明 NIDDM 患者中 LL 频率大于正常对照,分别为 10.6:3.4 和 28:8,这些多变区均在 5' 端,在 3' 端没有。多变区是位于转录的起始区域,对胰岛素基因的表达可能起着一定作用。当患者表型为 LL 时,糖尿病的严重程度增加,需要更多的药物治疗^[5]。在 NIDDM 中,胰岛素抗拒性随着年龄增大而升高,而胰岛素基因调节异常也可共同导致疾病的发生。尽管对多变区的功能尚未了解,但作为一种标志,可能为 NIDDM 提供一个初步的基因分类参考^[3]。

2. IDDM Owerbach^[2] 首先报告了 IDDM 患者的 SS 基因型多于正常对照,为 73%:55.4%。Bell^[1] 认为 SS 和 IDDM 的关系密切,但他的结果中 NIDDM 患者 SS 基因型者也较多,可能部分 NIDDM 患者实际上是 IDDM 患者,但胰岛功能尚未完全破坏所致。SS 基因型患者 IDDM 的相对危险性为 3.9,而患 NIDDM 的相对危险性为 2.1。S 基因和 IDDM 及 NIDDM 共存提示两种糖尿病有共同特征^[6]。

3. 影响方式 DNA 分子序列上几百个碱基位于 mRNA 转录起始区域的 5' 侧端可以影响 RNA 聚合酶的结合和转录的启动,对胰岛素基因的表达可能会有影响,但体内试验未发现 5' 端多变区对人胰岛素基因表达的影响。

由于多变区域基数目的高度变化及内部结构以 14 个碱基为单位出现的高度重复,按其密码译出的肽链每第三个氨基酸将是脯氨酸或甘氨酸,故其不可能组成肽链^[7]。推测多变区可能是不平衡连锁的基因标志,标志着患者携带有易患糖尿病的某些未知基因,就象存在 HLA 抗原 DR₃ 和 DR₄ 位点或在 NIDDM 患者中存在 HLA A₂ 位点一样。第 11 对染色体上 S 和

L 位点的存在和第 6 对染色体上与糖尿病相关的抗原 (HLA A₂、B₁₅、DR₄) 互不相关。通过家系的研究,有人认为胰岛素基因 5'端多变区和糖尿病无关^[8],和糖尿病的重要诱因——肥胖也无相关关系^[9],在自发性糖尿病大鼠中也未发现二者的关系^[10]。这些结果与前述研究结果不相一致,可能由于糖尿病是一种多基因性的遗传病,环境因素的不同对糖尿病的发病有很大的影响。

三、5'端多变区和糖、脂肪代谢及动脉粥样硬化之间的关系

1. 糖代谢 Owerbach^[11] 在一个有 53 个成员的家庭中研究了 5'端多变区和糖代谢的关系及其遗传方式,证实了 S 和 L 等位基因在该家庭中的分布符合孟德尔定律,未见不符合者。将家庭成员按 LL + LS 和 SS 分为两组 (即 L 组和 S 组),每组中再按血缘关系和婚缘关系分为二组,以糖化血红蛋白 (HbA_{1c}) 为观察指标,发现血缘组中 L 组 HbA_{1c} 含量 (5.5%) 大于 S 组 (5.06%),婚缘组中 L 组 (5.74%) 也大于 S 组 (4.81%)。正常时 HbA_{1c} 和年龄无关,但血、婚缘二组中的 L 组 HbA_{1c} 含量随年龄增大而增高,而 S 组则不增高。这些结果提示 L 基因可能和糖代谢异常有关,也和 NIDDM 的发病有关。还有人认为 LL 基因型和糖耐量异常有关。

2. 高甘油三酯血症 对 74 名高血脂及糖尿病病人和 52 名正常人进行分析,发现糖尿病性高脂血症和 LL 基因型有关^[12]。一般人群有 LL 者发生糖尿病和高脂血症的危险因数为 10.5,已发病的非胰岛素依赖型糖尿病有 LL 者发展为高脂血症的危险因素为 4.0。Jowett^[13] 认为 LL 基因型和糖尿病有关,LS 基因型和高脂血症有关。尽管 5'端多变区距胰岛素基因很近,但可能不是靠影响转录而产生效应,而是和 11 号染色体短臂上某些其它基因的不平衡连锁有关,后者能引起高甘油三酯血症及糖耐量异常。

3. 动脉粥样硬化 在 NIDDM 患者中,LL

基因型者大血管病发病率高于 SS 型者,非糖尿病患者也是如此。糖尿病组男女的大血管病发病率相同,非糖尿病组女性小于男性,后者用 L-S 分组后则男女大血管病发病率相同。提示性别的影响不如 5'多变区的影响大,并且 SS 型女性不患大血管病。是 LL 基因还是 NIDDM 和动脉粥样硬化有关尚难定论,或许 L 基因有促进作用, S 基因有保护作用。为解决这一疑点,有人排除了糖耐量异常的影响后,证实了 L 基因是动脉粥样硬化的基因标志^[14]。LL 和 LS 基因型在动脉粥样硬化者中占 49%,正常人为 24%,相对危险度为 3.36。Awata^[15] 研究了 3154 名日本人的 5'端多变区,在正常人、IDDM 和 NIDDM 中均未发现 LL 基因型,LS 型也很少见,认为日本人 NIDDM 患者并发大血管病少的原因可能和 L 等位基因少有一定关系。但也有人认为 L 等位基因和冠心病无关^[16]。L 等位基因导致对大血管病易感性的机制不清,可能和与其它导致易感因素的基因有不平衡连锁有关^[14]。L 等位基因和动脉粥样硬化的关系支持了动脉粥样硬化是一个多基因病的观点,在这些基因异常的基础上,环境因素显示了致病作用。

由于上述疾病均系多基因遗传,故不可用单一基因的异常来解释全部现象。人种系的不同遗传基因亦有所别。目前人们对人胰岛素基因 5'端多变区的认识是: 1. 可能影响转录和翻译; 2. 和其他致病基因的不平衡连锁; 3. 多基因遗传病中的一个基因成分和其他异常基因协同作用,也与环境因素有关。

参 考 文 献

- 1 Bell G I *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1981; 76: 5759
- 2 Owerbach D *et al.* *Diabetes*, 1982; 31: 275
- 3 Rotwein P S *et al.* *New Engl J Med*, 1983; 308: 65
- 4 Hitman G A *et al.* *Clin Sci*, 1984; 66: 383
- 5 Knowler W C *et al.* *J Clin Invest*, 1984; 74: 2129
- 6 Hitman G A *et al.* *Diabetologia*, 1985; 28: 128
- 7 Bell G I *et al.* *Diabetes*, 1984; 33: 176
- 8 Elbeim S C *et al.* *Diabetes*, 1988; 37: 569
- 9 Isernia C *et al.* *Diabetes Care*, 1988; 11: 511
- 10 Winter W E *et al.* *Diabetes*, 1987; 36: 193

研究工作

河豚毒素和 Cd^{2+} 对 Zn^{2+} 诱发爆发波放电的影响

吴本玠 张川里

(北京医科大学生物物理教研室)

提 要

本文用微电极细胞内电位记录、通道阻断剂和放射性同位素等技术发现, 锌离子可诱发爆发波放电 (BD), 钠通道阻断剂——河豚毒素对 BD 无效应, 而钙通道阻断剂—— Ca^{2+} 则可使 BD 消失, Cd^{2+} 可使 $[\text{Zn}^{2+}]_i$ 量减少。以上结果说明, Zn^{2+} 诱发 BD 的产生机理很可能是 Zn^{2+} 代替 Ca^{2+} 通过钙通道进入胞内引起的。

关键词 Zn^{2+} , 爆发波放电, 河豚毒素, Cd^{2+}

癫痫是神经系统的一种常见病、多发病。癫痫的发病机理尚未完全阐明, 目前的主要看法是: (1) 一些因素共同作用, 使神经细胞过度兴奋, 产生 BD; (2) 在此基础上, 许多神经细胞发生同步化放电, 从而引起癫痫的发作^[1,2]。锌等多种二价阳离子可使实验动物诱发癫痫^[3], 这是研究癫痫发病机理的良好动物模型。本文研究钠通道阻断剂河豚毒素 (Tetrodotoxin, TTX) 和钙通道阻断剂 Cd^{2+} 对锌离子诱发 BD 的效应, 并对 Zn^{2+} 诱发 BD 的机理进行初步分析。

材 料 和 方 法

实验动物为非洲蜗牛 (*African Snail*), 学名为褐云玛瑙螺 (*Achatina Fulica Ferussac*), 体重为 25—35g。关于蜗牛离体神经节标本的制备方法, 用玻璃微电极细胞内记录神经节细胞电位的方法以及用 ^{45}Ca 放射性同位素和 Beckman 液体闪烁仪测定胞内钙离子浓度的

方法请见参考文献 4。 ^{65}Zn 放射性同位素示踪方法基本上与 ^{45}Ca 的方法相同, 最后是用 FT-1901 型医用 γ 谱仪测量。

结 果 和 讨 论

(一) 锌离子对神经细胞放电的效应

在 10 个有自发放电 (spontaneous discharge, SD) 的细胞上观察了加 17mmol/L ZnSO_4 溶液后的变化。加 Zn^{2+} 后 10 个细胞均出现 BD, 平均出现时间为 $2.2 \pm 0.9\text{min}$ 。这种 BD 的形状与正常动作电位 (AP) 完全不同, BD 都有一个慢的去极化电位, BD 的振幅比正常 AP 为小; 持续时间比 AP 长很多 (表 1)。BD 间的时间间隔 (一般为 10s 左右) 较正常 AP 间的时间间隔 (一般为 1s 左右, 最长不超过 3s) 为长。每个 BD 的峰电位数相差较大, 在 3—22 个之间, 平均为 12.6 ± 0.9 个。BD 的复极化过程较慢, 并有一个 5mV 左右的超极化电位。BD 由上部的峰电位和下部的去极化电位两部分组成。去

- 11 Owerbach D et al. *Lancet*, 1982; 1: 880
- 12 Jowett N I et al. *Diabetologia*, 1983; 25: 168
- 13 Jowett N I et al. *Br Med J*, 1984; 288: 96
- 14 Mandrup-Poulsen T et al. *J Inher Metab Dis*, 1986; 9(Suppl 1): 98

- 15 Awata T et al. *Diabetologia*, 1985; 28: 911
- 16 Aalto-Setälä K et al. *Atherosclerosis*, 1987; 66: 145

[本文于1989年1月17日收到]