

从 1987 年美国糖尿病年会得到的一些信息

1987 年的美国糖尿病年会在 Indianapolis 举行。Joseph Laner 获今年的 Banting 奖, Banting 纪念报告的题目是“Insulin Signaling Mechanism—Lessons from the old Testament of Glycogen Metabolism and from the New Testament of Molecular Biology”。Lilly 奖授与 Ralph A. DeFronzo, 他作了“The Trimvitate—B-cell, liver, Muscle: A Collusion Responsible for Type II Diabetes Mellitus”的报告。会议组织了三个专题讨论会: 糖尿病中的脂代谢, 胰岛素作用机制新进展, 糖尿病的神经病理学——机制和控制。另有七十多个厂家提供了近 100 个展台。

对三天高节奏地强行输入的大量信息作了些回忆, 整理和选择, 在此与同行们交流讨论。

(1) 胰岛素结构功能关系的研究, 前几年有点陷于“山穷水尽疑无路”的窘境, 现在由于配合运用 DNA 重组技术和计算机图象显示结构分析, 出现了“柳暗花明又一村”的局面。仅举几例: NOVO 公司发表了通过蛋白质工程方法, 在酵母中表达了单链胰岛素前体, B(1—29)-A(1—21), B(1—29)-Ser-Lys-A(1—21) 和 B(1—29)-Ala-Ala-Lys-A(1—21) 三种小胰岛素原(mini proinsulin), 它们具有正确的二硫键和 B 链自由氨基。再用在有机溶剂体系内胰蛋白酶的转肽作用把单链前体断裂成双链分子, 并接上 $B_{30}\text{Thr-OR}$, 去酯得到人胰岛素, 其纯度(HPLC) 高于 99.5%, 酵母蛋白污染小于 1 ppm 临床试验表明该产物与他们生产的由猪胰岛素改造成的人胰岛素完全一样。他们声称该法的优点是发酵后处理只需胰蛋白酶一步反应, 并消除了溴化氰和巯基试剂的环境污染。NOVO 又从改变二个单体分子界面上的有关残基从而改变其缔合行为的想法出发, 用蛋白质工程方法制备了 $B_{29}\text{-Ser}$, $B_{12}\text{-Glu}$, $B_{28}\text{-Asp}$, $B_9\text{-Asp} + B_{27}\text{-Glu}$, $B_{27}\text{-Glu} + A_{21}\text{-Asp}$, $B_{12}\text{-Ile}$, $B_{27}\text{-Glu}$ 等七种衍生物, 多种指标鉴定表明前五种为完全解离的单体, 后二者的缔合降低, 单体衍生物经猪皮下注射后的吸收比人胰岛素快三倍, 它们的生物活力令人满意, $B_{28}\text{-Asp}$ 的整体活力达 100%, 脂生成活力甚至高于 100%。这些衍生物为制备快速吸收的胰岛素提供了可能性。从相反的角度, 他们又设计出 13 种可溶性的长效胰岛素, 即用碱性氨基酸残基取代 B 链 C 端的某些残基, 或用酰胺和酯封闭 B 链 C 端羧基, 这样使衍生物带更多正电荷, 使在中性 pH 时容易结晶而慢慢溶解被吸收。增加 Zn^{2+} 浓度可以加

强这种长效作用。他们研究了这些衍生物和不同浓度的 Zn^{2+} 配伍与长效性的定量关系, 并从体内的相互作用给予了结构解释。顺便提一点, 目前世界上虽然只有美国的 Eli Lilly 公司用基因工程生产人胰岛素(商品名 Humulin), 但 NOVO 和 Huchst 很快就要跻入该行列。1983 年刚刚投放市场的人胰岛素来源于分开的 A 链和 B 链, 1986 年以后的产品则完全来源于胰岛素原, 而且今后其他公司生产的人胰岛素也会是来源于胰岛素原的, 说明其后处理问题已完全解决, 这种产品内胰岛素原的污染仅 6 ppm。其疗效和免疫性质与从 A、B 链来源的人胰岛素完全相同。目前 Humulin 的售价每单位仅比动物来源胰岛素贵 0.3 美分, 一般病人每天仅多花费 10—12 美分。Lilly 正在研究胰岛素原潜在的治疗价值。胰岛素受体和作用机制的研究正处于有长足进步和丰富积累的阶段, 可以说是在突破的前夕。

五年前发现胰岛素受体具有一种特殊的对酪氨酸专一的蛋白激酶(TPK) 活力, 胰岛素与其膜外的 α 亚基结合, 激活膜内 β 亚基的酶活, 使其自身磷酸化, 并进一步引起细胞内许多蛋白和酶的一系列磷酸化作用。推测这很可能是把胰岛素的信息传递到细胞内而发挥生物功能的途径。几年来这方面的工作支持了这个假设, 并成为这次会议的一个热点。许多实验室都致力于寻找和鉴定受体 PTK 的生理底物, 现在已经可以排出一长列单子, pp^{185} , pp^{179} , pp^{170} , pp^{120} , pp^{115} , 等为胰岛素刺激而发生磷酸化的蛋白, 但仍不能确定为符合条件的生理底物。其中 pp^{115} 对葡萄糖摄取有明确的功能。由于 1985 年成功地从其 cDNA 序列推测出氨基酸全序列, 而使胰岛素受体结构与功能的研究大大向前推进。现在确知 β 亚基磷酸化作用发生在多个位点, 而且不同位置 Tyr 发生磷酸化的速度是不同的。最早是 1146, 1150, 1151, 接着是 1316, 1322, 最后是 953, 960, 它们的磷酸化负有不同的生物功能。例如, 1146, 1151、磷酸化后还不能激活 β 亚基的磷酸转移酶活力, 但这与 β 亚基的 TPK 活力成正比; 1316, 1322 的磷酸化对激活磷酸转移酶并不必需, 而 953, 960 的磷酸化对此是必需的, 但与 PTK 活力又无关。用定点突变技术改变 β 亚基组成, 如去掉对 PTK 活力十分关键的 Lys, 切除 C 端 43 个氨基酸残基, 会损伤受体的许多生物功能, 但当用癌基因产物 v-ros 代替 β 亚基膜内部份而做的杂交受体却仍可以在胰岛

(下转第 63 页)

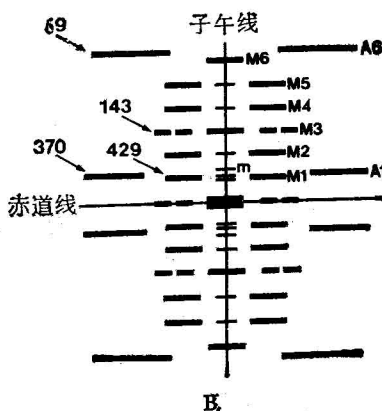
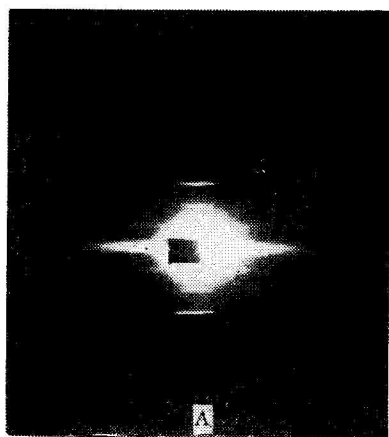


图 5 (A) 青蛙活缝匠肌子午线方向的衍射图样

样品—底片的距离 261 mm。曝光时间: 20 小时; 温度: 3—5°C。

(B) 衍射图样示意图

M_1, M_2 等表示肌球蛋白各级反射的层线。 A_1, A_6 表示肌动蛋白的第一、第六级层线。

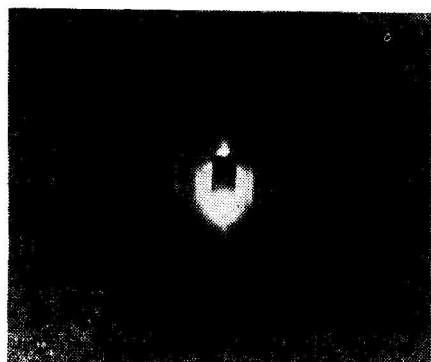


图 6 青蛙活缝匠肌赤道方向的衍射图样

样品—底片的距离 216 mm。曝光时间: 4 小时;
温度: 3—5°C。

参 考 文 献

- [1] Huxley HE, Brown W: *J. Mol. Biol.*, 30, 383, 1967.
- [2] Haselgrove JC. et al.: *J. Sci. Instrum.*, 10, 1035, 1977.
- [3] Robertson JD.: *JBBC*, 4, 349, 1958.
- [4] Finean JB. et al.: *J. Mol. Biol.*, 7, 672, 1963.
- [5] 徐森根, 范世藩: 《全国第一届显微和亚微结构研究学术会议论文摘要汇编》, p. 35, 1981.
- [6] Huxley HE.: *J. Mol. Biol.*, 37, 507, 1968.

[本文于 1986 年 11 月 24 日收到]

(上接第 80 页)

素刺激下进行内部化作用并作进一步加工, 所以 β 亚基对内部化作用似乎是不必需的。研究各种疾病条件下, 胰岛素受体的结构、性质和功能, 以及受体 mRNA 和基因的结构、表达。也是研究受体和作用机制的重要手段, 这方面与临床相结合的研究占有相当的比例, 尽管十几年前就认识到胰岛素与受体相结合是其发挥生物功能的第一步, 但这种结合的细节实际上一直不清楚, 好几个实验室现在在研究二者相互作用亲和力的结构基础, 他们分离到 $\alpha\beta$ 和 $\alpha_2\beta_2$ 二种形式, 发现它们与胰岛素结合的动力学行为不同, 这可进一步研究受体在发挥生物功能过程中亚基之间的相互作用和亲和力调节的本质。以前提出的受体的负协同性理论将会受到检验。

长期来积累了许多关于胰岛素刺激细胞内许多酶

和蛋白发生变化的知识, 近年来都已深入到基因水平去研究这种变化的调节原理。如 GAPDH, ATPase, 磷脂酶C, 苹果酸酶, 磷酸烯醇丙酮酸羧激酶, Calmodulin, 核糖体蛋白 S_b 等, 现在不是单纯研究胰岛素本身的作用, 而是在各种水平, 特别是受体和基因水平研究胰岛素与其他激素, 特别是生长激素或生长因子, 如 GH, EGF, IGF_I, IGF_{II}, 糖皮质激素的相互作用。此外, 一些非胰岛素物质, 如 vanadate, phorbol ester 的类胰岛素效应也引人注意。总之对胰岛素作用原理的研究已扩大到在许多生命现象(包括正常的和异常的癌变)的网络水平去研究, 同时也深入到最根本的基因水平去研究。

[中国科学院生物物理研究所 王志珍]