

综述与专论

类胰岛素生长因子- I 和胰岛素表现其功能的结构和分子基础

王萍¹⁾ 冯佑民

(中国科学院上海生物化学研究所, 分子生物学国家重点实验室, 上海 200031)

摘要 综述了近年来关于 IGF- I 和胰岛素表现生理功能的结构基础和分子基础研究进展. IGF- I 和胰岛素是胰岛素家族中的 2 个重要成员, 两者的分子结构高度同源, 两者的受体相似且属同一家族, 两者的生理功能可彼此交叉, 但各自具有主要的生理功能. IGF- I 的主要生理功能是促进细胞生长, 胰岛素的主要生理功能是促进葡萄糖的摄取和代谢. 生物大分子的功能及其表现的基础是分子结构及参与功能表现的诸多分子, 如受体、信号分子等等.

关键词 类胰岛素生长因子- I, 胰岛素, 受体, 信号分子, 信号转导

学科分类号 Q71

类胰岛素生长因子- I (insulin-like growth factor- I, IGF- I) 是胰岛素家族成员之一, 其 A、B 结构域氨基酸序列分别和胰岛素的 A、B 链约 50% 等同, C、D 结构域是比胰岛素分子多出的两个部分^[1]. 虽然至今尚未获得 IGF- I 的结晶, 但通过 2D-NMR 研究, 肯定了 IGF- I 在溶液中的结构与胰岛素非常相似^[2].

1 IGF- I 和胰岛素的生理功能

1.1 IGF- I 的生理功能

IGF- I 是具有多种生理功能的生长因子^[3], 它的主要功能是调节机体出生后的生长. IGF- I 对众多细胞系具有促进有丝分裂的作用, 包括角质细胞、成骨细胞、平滑肌和骨骼肌细胞, 等等. 作为促进细胞增殖的另一种表现, IGF- I 可以抑制许多细胞系在成熟之前的凋亡. IGF- I 及其受体对胚胎的正常发育是必需的. IGF- I 还参与皮肤、骨骼和神经系统的发育和分化.

IGF- I 在体内具有胰岛素活性, 影响糖和脂肪的代谢. 高剂量的 IGF- I (13.3 nmol/kg) 在正常人体中能产生和胰岛素 (1 nmol/kg) 相似的降血糖作用^[4].

1.2 胰岛素的生理功能

胰岛素是一个多生理功能的蛋白质激素, 其主要功能是通过调节外周组织的葡萄糖摄取和代谢及

在肝脏中葡萄糖的产生和储存, 以维持体内葡萄糖的平衡. 此外, 胰岛素对脂肪、蛋白质的代谢, 核酸的合成和某些基因的表达也具有调节作用. 除以上代谢功能外, 胰岛素还具有促进细胞生长的功能^[5].

由此可见, IGF- I 和胰岛素不仅结构相似, 功能也相似, 都能产生快速的代谢作用和慢速的促生长作用, 但胰岛素的主要功能是调节碳水化合物的代谢, IGF- I 的主要功能是促生长 (图 1).

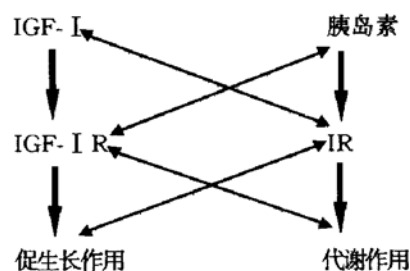


图 1 IGF- I 与胰岛素的交叉活性

2 IGF- I 和胰岛素表现生理功能的分子基础

2.1 IGF- I 和胰岛素的受体

IGF- I 受体 (IGF- I R) 和胰岛素受体 (IR) 都是跨膜异源四聚体糖蛋白, 由两条结合配体的 α 亚基和两条跨膜的具有酪氨酸蛋白激酶活性的 β 亚基组成, 同属酪氨酸蛋白激酶受体家族, 整体上两

¹⁾ 华东理工大学生物工程学院, 上海 200237.
收稿日期: 1998-09-15, 修回日期: 1999-02-07

种受体残基的同源性大于 50%^[6]。尽管 IGF- I R 和 IR 在结构上高度同源, 但分别只与自己的配体以高亲和力结合, 配体与受体的交叉结合活性降低 2~ 3 个数量级^[7]。嵌合受体研究表明, IGF- I R α 亚基的 190~ 290 富含 Cys 的区域与 IGF- I 的特异结合有关, 但 IGF- I R 的前 3 个结构域的表达产物, 即“L1-富含 Cys 区-L2”, 不能与 IGF- I 结合^[8]。而含有“L1-富含 Cys 区-L2”的 IR 片段的表达产物能专一结合胰岛素^[9]。

两种受体都能通过 Ras 途径引发一系列级联反应, 参与信号转导的分子包括胰岛素受体底物 1 (IRS-1), 胰岛素受体底物 2 (IRS-2), 胰岛素受体底物 3 (IRS-3), 具有 SH2 结构域的蛋白质 (如 Grb, p85 等), 磷酸肌醇三磷酸 (PI3-K), Shc 蛋白以及促有丝分裂激活蛋白激酶 (MAPK) 等^[3, 10]。

虽然 IGF- I R 与 IR 活化相同的受体底物, 但它们在体内却表现出不同的生理功能, 表明它们在受体底物后的信号转导途径是不同的^[11]。

2.2 IGF 结合蛋白

IGFs (包括 IGF-1 和 IGF-2) 不像胰岛素那样在循环中是游离的, 而是与一族蛋白质结合在一起, 它们被称为 IGF 结合蛋白 (insulin-like growth factors binding proteins, IGFbps), 至今已发现 6 个家族成员, 它们结构相关, 对 IGFs 亲和性高, 但不与胰岛素结合。IGFBP 一方面作为 IGF 的运输载体, 另一方面调节 IGF 的有效浓度, 最终影响 IGF 的作用^[3]。

3 IGF- I 和胰岛素表现其功能的结构基础

IGF- I 和胰岛素氨基酸序列的同源和差异, 决定了功能的相似和不同、与受体结合的交叉与专一、信号分子的共享与专一。

3.1 胰岛素、IGF- I 与 IR 的结合

3.1.1 胰岛素与 IR 的结合: 由于尚无“胰岛素-IR”复合物晶体可利用, 所以还不了解胰岛素与受体结合时的构象变化及确切的参与结合的残基。但通过胰岛素及其类似物与受体相互作用的大量研究, 已建立了比较公认的胰岛素分子的受体结合部位, 主要是由 B12、B16、B24、B25、B26 等残基形成的疏水面以及 A1、A2 和 A3 等残基 (称受体结合部位 1)。近年来认为胰岛素六聚体形成面的 A13Leu 和 B17Leu 也参与受体结合, 称“受体结合部位 2”, 在分子上处于“受体结合部位 1”的对面。IR 的每个 α 亚基有两个胰岛素结合部位, IR

与胰岛素结合时, 首先由一个 α 亚基提供结合部位 I 与胰岛素的“受体结合部位 1”结合, 然后“受体结合部位 2”与 IR 的另一 α 亚基提供的结合部位 II 结合, 将 IR 的两个 α 亚基连接起来, 形成高亲和力的复合物^[7]。

胰岛素与 IR 结合时, B 链 C 端可能发生远离 A 链 N 端的构象变化, 使 A2、A3 暴露, 成为活化形式。如果将胰岛素 A 链 N 端与 B 链 C 端共价交连, 观察到随连接肽长度的增加, 其与 IR 结合的能力呈现上升再下降的变化, 小胰岛素原 (B (1~29) -A (1~21) 和 B (1~30) -Ala-Lys-A (1~21)) 与 IR 的结合能力很低, 用胰岛素原的一段九肽 Arg-Arg-Tyr-Pro-Gly-Asp-Val-Lys-Arg 连接胰岛素的 B、A 链, 保留 48% 的受体结合活力, 但胰岛素原 (由 35 个氨基酸残基组成的 C 肽连接 B、A 链) 与 IR 的结合能力只有胰岛素的 1%~ 2%^[12]。

3.1.2 IGF- I 与 IR 结合: 在 IGF- I 中, 相应于胰岛素“受体结合部位 1”的残基都和胰岛素等同或类似, 尤其是 B24~ 26 肽段, 都是芳香族残基, 可能是 IR 能与 IGF- I 有交叉结合的基础。

IGF- I 在结构上与胰岛素最明显的差别是多出了 C 和 D 两个结构域, 它们在 IGF- I 与 IR 结合时, 可能产生空间位阻, 影响结合。从 IGF- I 中删除 D 结构域或用 4 个 Gly 代替 C 结构域的 IGF- I 类似物, 与 IR 的结合能力比野生型 IGF- I 高 2 倍^[13]。

分别用 IGF- I 的 A、B 结构域与胰岛素的 A、B 链杂交, 得到的杂交分子 InsB/IGF- I A 和 IGF- I B/InsA, 它们与 IR 的结合能力分别为胰岛素的 41% 和 2%, 表明 IGF- I 在 A、B 结构域尤其是 B 结构域与胰岛素不同的序列妨碍了它与 IR 的结合。

3.2 胰岛素、IGF- I 与 IGF- I R 的结合

3.2.1 IGF- I 与 IGF- I R 的结合: 同胰岛素比较, 对于 IGF- I 与 IGF- I R 的结合了解的比较少。IGF- I 分子的 24Tyr, 31Tyr 和 60Tyr 在其与 IGF- I R 的结合中起着重要作用, 它们被取代后, 使 IGF- I 与 IGF- I R 的结合能力明显降低^[14]。在 IGF- I 和胰岛素的氨基酸序列中, 24Tyr 相应于胰岛素的 B25Phe, 60Tyr 相应于胰岛素的 A19Tyr。24Tyr 和 60Tyr 在受体结合中的作用对 IR 和 IGF- I R 来说可能是共享的, 而 31Tyr 位于 IGF- I 的 C 结构域, 在胰岛素分子中不存在, 它对 IGF- I R 结合的贡献可能是特异的。

将胰岛素的 B10His 改变为 Asp 后, 显著提高了其与 IGF- I R 的结合能力^[15]. 这可能是由于在 IGF- I 中, 相应于胰岛素 B10 的位置是酸性残基 Glu 之故.

在胰岛素分子中不存在的 C 结构域被认为对 IGF- I 与 IGF- I R 的专一结合有重要作用. 完全去除 C 结构域的小 IGF- I (miniIGF- I), 全部丧失了与 IGF- I R 的结合能力^[16], 然而保留 31Tyr 和全部 C 结构域的双链杂交分子“胰岛素/IGF- I (C)”, 其促生长活性只与胰岛素类似^[17], 提示 C 结构域需与 A 结构域共价键相连形成单一肽链.

IGF- I 的 D 结构域对 IGF- I 与其受体结合似乎不重要, 删除 D 结构域的 IGF- I 与 IGF- I R 的结合能力变化不大^[13].

Schäffer^[7]在提出胰岛素与 IR 双位点结合的同时, 根据胰岛素与 IGF- I 类似的特征, 指出 IGF- I 与 IGF- I R 的结合可能也存在双位点结合关系. 这与 IR 和 IGF- I R 均各有特有结合部位又有共享结合部位的观点相吻合^[18].

综上所述, IGF- I 与 IGF- I R 的结合涉及 IGF- I 分子的多个部位, 其中 C 结构域对 IGF- I 与其受体的特异结合以及启动 IGF- I 的促生长功能可能具有重要贡献.

3.2.2 胰岛素与 IGF- I R 的结合: 在鉴别 IGF- I 与 IGF- I R 结合部位的同时, 也显示了胰岛素与 IGF- I 在这些部位上的差异. 这些差异导致了胰岛素与 IGF- I R 结合能力的降低. 胰岛素 B 链 C 端可能对其促生长功能起了负协调作用, 去 B 链 C 端五肽胰岛素 (DPI) 的促生长活性显著高于胰岛素^[19], 这和 DPI 与 IGF- I R 的结合能力比胰岛素高是一致的^[20].

3.3 IGFBP 对 IGF- I 功能的影响

在许多体内外系统中观察到, IGF- I 的活性受 IGFBP 的调节. IGF- I B 结构域的 N 端和螺旋区参与了 IGF- I 与所有 IGFBP 的结合^[21]. 对该部位进行改变的突变体与 IGF- I R 的结合能力无明显变化, 而促生长活力和代谢活力明显增加, 可能的原因是由于突变体与 IGFBP 的亲水性大大降低, 使游离 IGF- I 增加.

4 结 语

对胰岛素和 IGF- I 已进行了几十年的大量研究, 随着研究的深入, 对它们的结构功能、受体、信号转导等知识在不断丰富. 例如, 虽然它们的结

构高度同源、受体属同一家族、共享部分信号分子, 但最终产生的主要生理功能不同. 不同生理功能的基础是由于分子结构的差异, 使他们活化不同受体, 具有不同的信号转导途径. 在这一领域中尚有很多问题有待深入, 如它们与受体结合的分子机制, 信号产生和转导途径的异同, 等等. 胰岛素和 IGF- I 在临床上具有重要的应用价值, 对它们的深入研究也有助于更好地将其应用于临床并改善其治疗性能.

参 考 文 献

- 1 Rinderknecht E, Humbel R E. The amino acid sequence of human insulin-like growth factor I and its structure homology with proinsulin. *J Biol Chem*, 1978, **253** (8): 2769~ 2776
- 2 Cooke R M, Harvey T S, Campbell I D. 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 Stewart C E H, Rotwein P. Growth, differentiation, and survival: multiple physiological functions for insulin-like growth factors. *Physiol Rev*, 1996, **76** (4): 1005~ 1026
- 4 Beng P, Hail K. Insulin-like growth factors as endocrine and paracrine hormones. In: Schofield P N ed. *The Insulin-like Growth Factors: Structure and Biological Function*. Oxford: Oxford Univ Press, 1992. 151~ 157
- 5 史 民, 冯佑民 (Shi M, Feng Y M). 胰岛素的促生长作用. *生物化学与生物物理进展 (Prog Biochem Biophys)*, 1997, **24** (3): 215~ 219
- 6 Ullrich A, Gray A, Tam A W, *et al.* Insulin-like growth factor I receptor primary structure: comparison with insulin receptor suggests structural determinants that define functional specificity. *EMBO J*, 1986, **5** (10): 2503~ 2512
- 7 Schäffer L. A model for insulin binding to the insulin receptor. *Eur J Biochem*, 1994, **221** (3): 1127~ 1132
- 8 Garrett T P J, McKern N M, Lou M, *et al.* Crystal structure of the first three domains of the type I insulin-like growth factor receptor. *Nature*, 1998, **394** (23): 395~ 399
- 9 Kristensen C, Wiberg F C, Schäffer L, *et al.* Expression and characterization of a 70-kDa fragment of the insulin receptor that binds insulin. *J Biol Chem*, 1998, **273** (28): 17780~ 17786
- 10 Strålfors P. Insulin second messengers. *BioEssays*, 1997, **19** (4): 327~ 335
- 11 Blakesley VA, Scrimgeour A, Esposito D, *et al.* Signaling via the insulin-like growth factor I receptor: does it differ from insulin receptor signaling? *Cytokine Growth Factor Rev*, 1996, **7** (2): 153~ 159
- 12 Chang S G, Kim D Y, Choi K D, *et al.* Human insulin production from a novel mini-proinsulin which has high receptor binding activity. *Biochem J*, 1998, **329** (Part 3): 631~ 635
- 13 Bayne M L, Applebaum J, Underwood D, *et al.* The C region of human insulin-like growth factor (IGF) I is required for the high affinity binding to the type I IGF receptor. *J Biol Chem*, 1988, **263** (19): 11004~ 11008
- 14 Bayne M L, Applebaum J, Chicchi G G, *et al.* The roles of tyrosines 24, 31, and 60 in the high affinity binding of insulin-like growth factor I to the type I insulin-like growth factor receptor. *J Biol Chem*, 1990, **265** (26): 15648~ 15652
- 15 Drejer K. The bioactivity of insulin analogues from *in vitro* receptor binding to *in vivo* glucose uptake. *Diabetes Metab Rev*, 1992, **8** (3): 259~ 285

- 16 Gill R, Willach B, Verma C, *et al.* Engineering the G-region of human insulin like growth factor I: implications for receptor binding. *Protein Eng*, 1996, **9** (11): 1011~ 1019
- 17 张新, 唐月华, 冯佑民, 等 (Zhang X, Tang Y H, Feng Y M, *et al.*). “胰岛素-类胰岛素生长因子-I 片段” 杂交分子的促生长活性研究. *生物化学与生物物理学报 (Acta Biochem Biophys Sin)*, 1996, **28** (4): 434~ 437
- 18 Mynarcik D C, Williams P F, Schäffer L, *et al.* Identification of common ligand binding determinants of the insulin and insulin-like growth factor I receptors: insight into mechanisms of ligand binding. *J Biol Chem*, 1997, **272** (30): 18650~ 18655
- 19 Shi M, Feng Y M. Studies on growth promoting action of insulin: mitogenic activity of insulin and its analogues in mouse mammary tumor cells. *Biochem Mol Bio Int*, 1997, **43** (4): 705~ 711
- 20 Cara J F, Nakagawa S H, Tager H S. Structural determinants of ligand recognition by type I insulin-like growth factor receptors: use of semisynthetic insulin analog probes. *Endocrinology*, 1988, **122** (4): 2881~ 2887
- 21 Cascieri M A, Bayne M L. Analysis of the interaction of IGF- I analogs with the IGF- I receptor and IGF binding protein. In: LeRoith D, Razada M K, eds. *Current Directions in Insulin-like Growth Factor Research*. New York: Plenum Press, 1994. 33~ 40

Structural and Molecular Bases of IGF- I and Insulin for Expressing Their Physiological Function.

WANG Ping, FENG You-Min (State Key

Laboratory of Molecular Biology, Shanghai Institute of Biochemistry, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China).

Abstract Insulin-like growth factor I (IGF- I) and insulin are two important members in the insulin family with highly homologous structure. They bind to the homologous receptor and produce similar physiological function, but the major function is different. The major function of IGF- I is growth-promoting whereas insulin plays a key role in the glucose uptake and metabolism. The bases of the physiological function and its expression of a protein are the molecular structure of the protein and the molecules involved in the expression of the function, such as receptors and signal molecules, etc. The recent progresses in the studies on the structural basis and molecular basis of physiological function of IGF- I and insulin are reviewed.

Key words insulin-like growth factor I, insulin, receptor, signal molecule, signal transduction

EB 病毒潜伏膜蛋白-1 介导的信号传导*

王承兴 曹亚

(湖南医科大学肿瘤研究所, 长沙 410078)

摘要 EB 病毒编码 LMP-1 介导的信号传导途径已引起人们广泛的注意. 它涉及 TRAF/TRADD 途径, AP-1 途径, JAK/STAT 及其他途径. 就此作一综述, 有助于人们认识 LMP-1 的致癌效应.

关键词 LMP-1, 信号传导, EB 病毒

学科分类号 R77, R372

EB 病毒 (Epstein-Barr virus, EBV) 与人类一些恶性肿瘤紧密相关. 但是, 其致癌机制却不甚清楚. LMP-1 (latent membrane protein-1) 作为 EBV 的重要致癌蛋白, 在 EBV 致癌过程中扮演着重要角色, 多年来, 一直是人们关注的焦点. 最近, Kieff^[1]提出一种新的 LMP-1 作用机制, 引起了广泛的注意. 这种机制假定 LMP-1 的作用类似肿瘤坏死因子受体家族中的 CD40: 通过模拟活化的 CD40, LMP-1 介导信号传导从而参与肿瘤的发生与发展. 目前, 有关此方面的研究日益增多, 对于这一信号传导途径的认识也已初见端倪.

1 LMP-1 的蛋白质结构及生化功能

LMP-1 是一个由 386 个氨基酸残基组成的跨膜蛋白, 包括三种不同的结构域: a. 由 24 个氨基酸残基所组成的亲水性氨基端胞浆区; b. 5 个短的反转结构分开而形成 6 个不同的疏水性跨膜区; c. 200 个氨基酸残基所构成的亲水性羧基端胞浆区. 这三种不同的结构域具有各自不同的生化功能. 氨基端胞浆区与 LMP-1 在胞膜上的定位有关;

* 国家自然科学基金重点项目 (39830410), CMB (96655).

收稿日期: 1998-09-15, 修回日期: 1999-03-08