维普资讯 http://www.cqvip.com

208-211 胰岛素降解酶. IDE. 功能. 定位 (37)

第24卷 第2期 重庆医科大学学报 Vol.24 No.2
1999 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1999

胰岛素降解酶研究新进展

临床学院内分泌科 李晨钟* 综述 张素华 舒昌达 审校

Q556.9

中图分类号 R345

胰岛素是目前研究最深入的激素之一。但其代谢过程，包括胰岛素降解的部位、催化降解反应的特异性酶类，降解的机制及其生理意义等内容，尚不十分清楚。大量证据表明，细胞水平催化胰岛素降解的最重要的酶是胰岛素降解酶(Insulin Degrading Enzyme IDE)，能催化99.5%以上的胰岛素降解[1]。近年来，IDE的研究日趋广泛，并获得大量重要成果。本文就IDE研究的新进展作一文献综述。

1 胰岛素降解概述

肝脏是胰岛素分解代谢的主要器官，起着调节进入体循环的胰岛素量的作用。肾脏在胰岛素代谢中也起着非常重要的作用，而且此作用并不受血浆胰岛素浓度的影响。胰岛素在脂肪组织、肌肉组织等其他靶组织中也有较多降解。此外，胰岛素在某些非胰岛素靶组织中也能降解，如红细胞、单核细胞、淋巴细胞、皮肤及子宫等，而且这些组织的胰岛素降解活性并不低，与靶组织接近[2,4]。可见，胰岛素降解是一种广泛存在的现象。

胰岛素降解的方式包括非酶促降解和酶促降解。前者是指在体外，胰岛素可被亚硫酸钠、巯基乙醇、金属钠等非酶化学物质所降解。但这种方式目前认为在体内不存在。后者是指胰岛素在某些酶的催化下发生降解。这些酶包括IDE、谷胱甘肽—胰岛素转氢酶、羧肽酶、胰蛋白酶等。其中，IDE的特异性最高、催化活性最强。

2 IDE的结构

IDE是一种分子中含较多巯基的蛋白水解酶(EC3.4.22.11)，属于金属内肽酶家族，分子中含有Zn^{2+}的结合位点。在八十年末以前，由于此酶的纯化程度不够，给IDE结构的分析带来很大困难，因此各家报道的分子量、氨基酸序列及米氏常数等有较大差异。1988年，Affholter等首次报道了IDE的cDNA序列，并推导出该酶的氨基酸残基序列，发现此序列包含有纯化出的全部IDE酶解片段。而且此cDNA在体外转录及翻译出的蛋白质产物可被IDE单克隆抗体所沉淀。此外，该产物与天然IDE作SDS－PAGE共电泳时，二者形成一条电泳带，可见推导出的IDE一级结构是正确的[6]。进一步的研究表明，用嵌入IDE DNA的重组质粒(IDE－SRα)稳定转染中国仓鼠卵细胞(CHO)后，该细胞所表达的重组蛋白质与纯化的人IDE在免疫反应性、胰岛素降解特性等方面完全一致[6]。目前已经证明，IDE cDNA约3048bp，编码952个氨基酸残基。该酶分子量约110KD，由四个分子大小及其他特性都相同的亚基构成，分子中含较多半胱氨酸、组氨酸、谷氨酸和谷氨酰胺残基。

IDE的一级结构具有高度保守性，不同来源的IDE，甚至在进化上相距很远的种属，其一级结构有高度的同一性或相似性。cDNA序列分析表明，人、鼠、果蝇甚至细菌的IDE具有很高的同源性。氨基酸序列分析发现，人IDE与鼠IDE、果蝇IDE与大肠杆菌IDE之间分别有95%、66.7%、46%的氨基酸残基相同[6,7,8]。此外，这几种IDE的底物特异性、动力学常数、最适pH值及分子量均相同或相似[9]。这种现象提示IDE可能在生物进化和个体发

* 男，1971－01出生，博士生

维普资讯 http://www.cqvip.com

育中也起着一定的作用。

研究表明，IDE活性中心的关键部位是此酶的Zn^{2+}结合部位。Gehm等发现该区域的一级结构高度保守，人IDE与鼠IDE的此部分完全相同[10]，与果蝇IDE、大肠杆菌IDE也仅相差一个氨基酸残基[6,8]。当采用寡聚核苷酸引物诱导的体外定点突变技术，将该部位结合Zn^{2+}的组氨酸残基用亮氨酸残基或谷氨酸残基取代后，表达出的IDE基本上丧失了胰岛素降解活性，但与胰岛素的亲合力却增加数倍。这是由于IDE的Zn^{2+}结合位点丧失，使其失去降解胰岛素的活性；同时，由于对该酶分子的空间构象也起着维持作用的组氨酸残基被取代后，IDE的空间构象发生改变，分子的刚性下降，导致与胰岛素的结合力增强。其他作者也有类似报道[6,11]。这些研究均证明Zn^{2+}结合位点对IDE活性维持有重大意义。

3 IDE的功能

IDE的功能主要是高度特异性降解胰岛素，生成短肽和氨基酸，而不必经过分解为A链和B链的阶段。Shii等采用微注射技术向肝细胞内注入IDE的特异性单克隆抗体后，肝细胞的胰岛素降解能力基本上消失[12]。还有其他一些证据都证明IDE的确在细胞水平的胰岛素降解中起决定性作用。

IDE降解胰岛素所生成的确切产物目前还有争议。Hamel等采用高效液相色谱技术，发现胰岛素的早期降解产物是经二硫键连接完整A链的B链片段[13]。Misbin则指出IDE通过同时与胰岛素A链和B链结合并依次断裂结合点的肽键来催化降解反应，共有三个结合点，即LeuA13－TypA14，SerB9－HisB10和PheB25－TyrB26。因此，他认为IDE的产物是兼有A链和B链氨基酸残基的片段[14]。

IDE的底物除了胰岛素外，还能够降解胰高糖素、松弛肽、蚕肽(bombyxin)以及某些生长因子，如胰岛素样生长因子Ⅰ和Ⅱ、转化生长因子等等[14,16]。近年来，一些研究发现IDE还具有其他一些功能。Baumeister等曾采用^{32}P标记的IDE cDNA片段作为探针，通过Northern杂交技术，检测大鼠各种组织中IDE的mRNA[7]，结果从大鼠的肝、肾、肾上腺、心脏、脑组织及睾丸中均检出IDE基因的转录产物。此外，对不同发育阶段的大鼠睾丸组织作Northern印迹杂交，结果显示IDE mRNA在14天的大鼠睾丸组织中基本上不能检出，在28天时则可很清楚地检出；在28天至6个月期间，IDE mRNA的量又有明显增加。IDE基因在大鼠睾丸组织的不同发育阶段有不同程度表达的现象，提示IDE可能与大鼠的性成熟有关。Kuo等的报道也提示该酶可能与细胞分化和发育有关[17]。还有作者报道IDE与肌肉细胞的分化[18]以及肽类激素原的加工和成熟有关[19]。此外，来源不同的IDE 的一级结构有高度保守性也提示IDE具有这方面功能。有人认为IDE的这些功能可能与其选择性降解生长因子有关[11]。

IDE的活性可受多种因素影响，除了对该酶活性维持起极为重要作用的Zn^{2+}外，Ca^{2+}、Mg^{2+}及谷胱甘肽也可以增强此酶作用[20]。Cu^{2+}则对IDE有弱抑制作用，乙基马来酰胺、氯乙烯苯甲酸汞及羟基苯甲酸汞有强烈抑制作用[21]。此外，氯喹以及氯化物的缓冲液也能明显抑制IDE。Medina等还从杆菌肽中分离出一种非抗体性IDE抑制剂[22]。

4 IDE的定位

凡是有胰岛素降解活性的组织均有IDE存在。其中，肝脏是IDE最富含的器官，其次是骨骼肌、脑组织和生殖器官。但IDE的亚细胞定位目前尚无定论。一些作者认为，IDE主要存在于胞内体(endosome)。因为多项研究发现内化入细胞的胰岛素主要在胞内体被降解(除极少数组织以溶酶体为主外)。胞内体是一种膜性囊泡，由内化的胰岛素被膜性结构包被后所形成的。由于细胞分级分析技术显示，IDE主要分布在胞浆中，因此对于IDE是否以及怎样进入胞内体还有争议[23]。有人认为，内化的胰岛素并不局限于胞内体中，胞浆中的胰岛素－IDE复合物以及胰岛素受体还可以转移到细胞核上[24]。近年来，由于发现不同来源的IDE具有相同或相似的羧基末端：Ala/Ser－Lys－Leu，而这一序列恰好是过氧化酶体的定位序列，是所有进入过氧酶体的酶类都具备的。因此，有作者推测IDE可能定位于过氧酶体中，并采用免疫荧光、免

维普资讯 http://www.cqvip.com

疫电镜等技术来确定被嵌有IDE cDNA的重组质粒稳定转染的细胞系中，IDE的亚细胞分布部位。结果表明，IDE的确主要存在于过氧酶体中，而且在细胞浆中也有少量分布[26]。总之，关于IDE的亚细胞定位目前还不完全清楚。

5 IDE基因的结构、定位及表达

IDE基因的结构迄今尚不清楚，其原因主要是内含子数目较多且长度较长。有学者用接近全长的IDE cDNA作探针，对人基因组DNA作Southern印迹杂交。结果显示，不管杂交反应的严格度(Stringency)高低，均显示出相同的条带，证明IDE基因是一个单一的基因，而不是多基因家族。还有研究表明，IDE基因长约50Kb左右(其cDNA仅3Kb左右)，至少含有10个内含子，具有复杂的内含子－外显子结构[6]。

IDE基因的染色体定位目前已经基本确定Affholter等采用体细胞杂交技术，获得人/鼠杂交细胞系，并用^{32}P标记的IDE cDNA为探针，与经内切酶消化的杂交细胞或鼠或人细胞的基因组DNA作Southern杂交，结果证明IDE基因定位在10号染色体上[6]。Espinosa等在此基础上，用^{3}H标记的IDE cDNA为探针，作染色体原位杂交，进一步确定IDE基因位于10号染色体长臂2区3带至5带，即10q23－10q25[26]。在10q23－10q25，除IDE基因外，还有磷酸甘油变位酶、谷草转氨酶，DNA末端转移酶，脂酶A及细胞色素P450五个酶基因。这些基因与IDE基因的关系还有待进一步探讨。

IDE基因的表达目前有较多的研究。表达该酶常用的宿主细胞是CHO、COS、AG1和人成纤维细细胞[6,25,26]。常用的启动子有SRα启动子、巨细胞病毒启动子和鼠乳房肿瘤病毒启动子等[6,25,26]。有研究表明，糖皮质激素及低浓度的胰岛素有诱导IDE基因表达的作用[26]，而浓度过高的胰岛素则会抑制IDE基因的表达。

6 IDE与胰岛素抵抗

胰岛素抵抗(Insulin Resistance)是指超常量胰岛素才能引起正常量反应的一种状态，常伴有高胰岛素血症。IR的原因很多，细胞水平胰岛素降解过快所致胰岛素量相对不足是其原因之一[27]。因为内化入细胞的胰岛素在细胞浆内降解过快，可导致在单位时间内发挥作用的胰岛素量减少，胰岛素的效应减弱，从而刺激胰岛β细胞分泌过多的胰岛素进行代偿，这样即引起IR和高胰岛素血症。由于IDE是细胞水平催化胰岛素降解最重要的酶类，故有人推测IDE活性过高可能是引起IR的原因之一。研究表明，在以IR为重要发病机理的Ⅱ型糖尿病患者中，红细胞IDE活性显著高于正常人，以口服降血糖药治疗失败的患者尤为明显(红细胞虽不是胰岛素的靶组织，但其IDE的性质和量与靶组织无异)[2]。还有学者报道，有明显IR的肥胖症患者，其红细胞IDE活性也显著高于正常人。目前，我国也开始从事这方面研究[28]。这些报告均提示IDE活性异常升高与IR有关。

由于目前测量IDE活性的方法灵敏度虽高，但影响因素多，重复性差[29]。因此，在今后IR与IDE关系的研究中，分子生物学技术将会越来越广泛使用。如采用Western印迹或Northern印迹来直接检测IDE基因的翻译产物或转录产物的量。运用这些技术，可以检测有严重IR的Ⅱ型糖尿病患者的IDE mRNA的量，并与正常对照相比较，以探讨胰岛素代谢异常与Ⅱ型糖尿病发病的关系；也可以对多发糖尿病家系中、Ⅱ型糖尿病患者的IDE 活性异常升高的非糖尿病一级亲属(这些个体也存在着IR)进行上述研究，了解他们的IDE基因表达情况，或者采用PCR－单链构型多态性分析(SSCP)技术或PCR结合等位特异寡聚核苷酸探针(ASO)杂交技术，对上述个体的淋巴细胞IDE Zn^{2+}结合区的基因编码区进行检测，了解该区有无突变等等。这些研究对Ⅱ型糖尿病病因及发病机理的探讨，以及发病前的诊断和预防均有积极的指导意义。总之，关于IDE与IR的研究正方兴未艾。

参 考 文 献

1.Duckworth WC. Endocr Rev 1988;9:319
2. Snehalatha C, et al. J Assoc Phy India 1990;38:558
3.Semple JW, et al. Int Immunol 1992;4:116
4.Bai JP, et al. Pharm Res 1995;12:1171
5.Affholter JA, et al. Science 1988;242:1415

维普资讯 http://www.cqvip.com

6.Affholter JA, et al. Mol Endocrinol 1990;4:1125
7.Baumeister H, et al. FEBS 1993;17:250
8.Kuo WL, et al. Mol Endocrinol 1991;5:1580
9.Garcia JV, et al. Biochemistry 1988;27:4237
10.Gehm BD, et al. J Biol Chem 1993;268:7943
11.Perlman BK, et al. J Biol Chem 1994;269:33140
12.Shii K, et al. Diabetes 1987;36:702
13.Hamel FG, et al. Diabetes 1989;38:152
14.Misbin RI, et al. Proc Natl Acad Sci USA 1986;93:4147
15.Ding L, et al. J Biol Chem 1992;267:2418
16.Garcia JV, et al. J Cell Biol 1989;109:1301
17.Kuo WL, et al. Endocrinology 1993;132:604
18.Kayalar C, et al. J Biol Chem 1989;264:8928
19.Adames N, et al. Science 1995;270:464
20.Duckworth WC. J Biol Chem 1990;265:2984
21.Ogawa W, et al. J Biol Chem 1992;267:1310
22.Media V, et al. Biochem Biophys Res Comm 1988;155:914
23.Akiyama H, et al. Biochem Med metab Biol 1993;49:255
24.Harada S, et al. Endocrinology 1993;132:2293
25.Kuo WL, et al. J Biol Chem 1994;269:22599
26.Espinosa 3rd, et al. Cytogenet Cell Genet 1991;57:134
27.Blazar BR, et al. Diabetes 1984;33:1133
28.Li CZ, et al. Chin J Med 1998;111:1024
29.Duckworth WC. Biochim Biophys Acta 1976;437:531

(收稿日期 1997－07－07)

211-214 斜视、共同性、治疗 (38)

共同性斜视的治疗现状

第二临床学院眼科 罗莉霞* 综述 陈公洁 审校

R777.410.5

中图分类号 R777.41

斜视不仅有碍外观，而且严重影响双眼视觉的发育及形成，往往形成弱视，给患者择业及日常生活带来极大不便。因此国内外一直重视对此病的诊治。共同性斜视多发于儿童期。Duke Elder统计其发病率为1%～1.5%，国内(天津)统计占儿童群体的1.3%[1]。其病因目前尚未彻底了解。目前对共同性斜视的治疗原则为：尽早矫正眼位，提高斜眼视力，以增加获得立体视的机会[2]。国外对此病的治疗原则：形成正常的视锐度，矫正眼位，获得立体视觉[3]。围绕治疗原则，实施了一系列治疗措施。本文结合国内外文献在治疗方面作综述。

1 共同性斜视治疗时机

儿童斜视能引起弱视及立体视丧失。自电生理，电视随机点立体视锐度检查等新颖检测手段广泛运用于视觉研究以来，以动物实验为基础结合临床进行婴幼儿双眼视觉发育过程的观察，1980年Oliver[4]提出婴儿生后3个月产生立体视觉。同年，Held[5]提出生后16周产生立体视觉，并在几周内迅速发育。次年，Benno[6]运用VEP证明婴儿生后10～19周产生立体视觉。李绍珍等[7]发现视功能发育的三个阶段：即生后至生后4个月为开始发育阶段；生后5个月至4岁为发育高峰期；5～9岁发育至成人水平。王政等[8]通过临床观察认为儿童立体视锐度6岁发育至成人水平。Wiesel和Hubel[9,10]首先提出了"双眼视觉发育的关键期"，证明视皮层双眼性神经细胞是产生立体深度觉的中枢机制。通过动

* 女，1970－05出生，硕士生