

胰岛素受体底物-1 与骨代谢

何玉玲(综述), 周后德(审校)

作者单位: 530021 南宁, 广西医科大学第一附属医院代谢糖尿病中心

作者简介: 何玉玲(1972-), 女, 医学博士, 副教授, 研究方向: 糖尿病及代谢性骨病的诊治。E-mail: heyulingy@163.com

[摘要] 胰岛素受体底物(insulin receptor substrate, IRS)是胰岛素信号传导通路中受体后水平的重要信号蛋白。IRS-1 对骨骼生长、骨转换以及骨折愈合等均具有重要作用, 为代谢性骨病和骨质疏松的防治提供了新思路。

[关键词] 胰岛素受体底物-1; 骨代谢

[中图分类号] R 587 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2012)08-0792-03

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2012.08.38

Insulin receptor substrate-1 and bone metabolism HE Yu-ling, ZHOU Hou-de. *The Metabolism and Diabetes Mellitus Research Center, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China*

[Abstract] Insulin receptor substrate (IRS) is an important signaling proteins in insulin signal transduction pathways. IRS-1 plays an important role in skeletal growth, bone turnover and bone fracture healing. It may be a new point for the prevention and treatment of metabolic bone disease and osteoporosis.

[Key words] Insulin receptor substrate-1; Bone metabolism

胰岛素受体底物(insulin receptor substrate, IRS)家族是胰岛素、胰岛素样生长因子-1(IGF-1)等信号调节中的受体后关键分子, 主要连接胰岛素受体、IGF-1受体和白介素、干扰素、肿瘤坏死因子等多种效应分子, 在它们介导的信号转导最初阶段发挥作用^[1,2]。近年来研究认为, IRS-1和IRS-2在骨代谢中起着重要作用^[3~11]。骨组织中IRS-1只在成骨细胞表达, IRS-2在成骨细胞和破骨细胞均有表达^[5,6]。本文就IRS-1在骨代谢中的作用做一综述。

1 IRS-1的一般特性

IRS-1是首先发现的胰岛素受体底物^[12], 人类的IRS-1基因定位于染色体2q36-37(小鼠位于1号染色体)^[13,14], IRS-1为单拷贝基因, 人IRS-1基因包括完整的5'端非翻译区、编码区和24 bp的3'端非翻译区, IRS-1编码区位于一个外显子内。根据IRS-1 cDNA编码区推算, IRS-1的相对分子质量为131 KD, 但是由于广泛磷酸化使其在SDS-PAGE中电泳迁移速率较慢, 相对分子量为185 KD。IRS-1 N末端具有血小板-白细胞C激酶同源结构域(pleckstrin-homology domain, PH结构域)和磷酸酪氨酸结合区(phosphotyrosine-binding, PTB结构域)。IRS-1含有21个酪氨酸磷酸化位点, 可直接与含SH2结构域的蛋白结合, 包括磷脂酰肌醇3-激酶(PI3-K)调节亚基(P85, P55, P50, P85和P55PIK)、生长因子结合蛋白2(Grb-2)、Nck、crK、c-fyn、磷脂酶C γ 和酪氨酸磷酸酶SHP-2, 因此又被称为SH2船坞蛋白(docking protein)^[11,15]。此外IRS-1还含有30个以上的丝氨酸/苏氨酸

残基, 可被丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶磷酸化。当IRS-1的丝氨酸/苏氨酸残基被磷酸化, 则抑制胰岛素受体酪氨酸蛋白激酶活性。IRS-1在全身分布广泛, 主要分布在骨骼肌、肝脏、肾脏、心脏、脂肪。近年研究发现IRS-1在成骨细胞和软骨细胞中表达, 而不在破骨细胞表达, 在骨代谢中发挥重要作用。

2 IRS-1基因剔除小鼠模型

通过对IRS-1基因剔除小鼠模型研究发现^[5], IRS-1^{-/-}小鼠生长迟缓, 对胰岛素和IGF-1的降糖效应产生抵抗, 而且出现严重的骨量丢失, 说明IRS-1在骨代谢中具有重要作用。用X-ray和三维成像CT检测发现IRS-1^{-/-}小鼠骨的形状与野生型(wild type, WT)小鼠相比无差别, 但长骨和椎骨都显示出严重的骨量丢失, 骨密度下降30%。组织学分析结果显示小梁骨及皮质骨的厚度分别下降51%和45%, 而且IRS-1^{-/-}小鼠骨组织中的TRAP阳性多核破骨细胞数目也显著减少。组织形态学测定表明骨形成参数(Ob. S/BS和BFR/BS)和骨吸收参数(Oc. N/B. Pm, Oc. s/Bs和ES/BS)均降低, 而且骨形成的减少超过骨吸收。说明IRS-1既可促进骨形成, 又可促进骨吸收, 因而IRS-1主要在维持骨转换的平衡过程中起作用。

3 IRS-1与成骨细胞

应用胰岛素或IGF-1培养来自WT和IRS-1^{-/-}小鼠颅盖骨成骨细胞^[5], 结果表明IGF-1不但促进WT小鼠成骨细胞增殖, 还能促进其分化; 胰岛素可促进细胞增殖, 对分化无明

显影响。但二者均不能促进 IRS-1^{-/-}小鼠成骨细胞的增殖与分化。然而纤维生长因子-2 (FGF-2) 可以刺激 WT 和 IRS-1^{-/-}小鼠细胞增殖,骨形成蛋白 (BMP-2) 可以刺激其分化。说明 IGF-1 和胰岛素对成骨细胞的增殖与分化是通过 IRS-1 传递信号而发挥作用的。Bu 等^[3]应用 shRNA 干扰技术沉默小鼠前成骨样细胞 MC3T3-E1 细胞 IRS-1 基因的表达在体外模拟 IRS-1 基因敲除小鼠的细胞学状态。研究发现 IRS-1 不仅促进骨形成和矿化,而且可能通过调节基质金属蛋白酶和核因子 κ B 受体活化因子配体/护骨素 (RANKL/OPG) 的比例来调节骨转换。

4 IRS-1 与破骨细胞

破骨细胞是由造血细胞分化而来,这一分化过程需要与成骨细胞/基质细胞相互作用。将骨髓细胞与原代成骨细胞共培养^[5],予以 IGF-1 和 (或) 1,25(OH)₂D₃ 诱导破骨形成,计数 TRAP(+) 多核破骨细胞的形成差异时发现,骨髓细胞与原代成骨细胞均来自 IRS-1^{-/-}小鼠时,破骨形成下降,当用脾细胞代替骨髓细胞作为造血细胞来源时能得出同样的结果。但换为 WT 的成骨细胞时破骨形成障碍可纠正,若换为 WT 骨髓细胞,破骨形成障碍不能被纠正,换为脾细胞亦得出相同的结果。共培养时破骨细胞形成后分离接种至牙片,形成的吸收陷窝的面积与破骨细胞形成相一致,另外单独培养 IRS-1^{-/-}小鼠来源的破骨细胞,其形成的吸收陷窝与 WT 相近。而且研究还显示 IGF-1 和 (或) 1,25(OH)₂D₃ 不能诱导 IRS-1^{-/-}小鼠成骨细胞产生破骨细胞的分化因子 (RANKL/ODF),而 RANKL/ODF 的表达与破骨形成具有良好的相关性^[16]。这些结果有力地证明了 IRS-1^{-/-}小鼠破骨吸收减少是由于成骨细胞支持破骨细胞分化障碍引起,并不是破骨细胞内在异常所致。

5 IRS-1 与软骨细胞

IRS-1 对软骨细胞也有调节作用^[17]。IRS-1^{-/-}小鼠股骨和胫骨的长度比 WT 小鼠短 20%,说明 IRS-1 参与调节骨骼生长。研究表明 IRS-1 和 IGF-1 在 WT 小鼠骺软骨及其周围有表达。实验观察显示 WT 小鼠随着老化骺软骨增殖区高度降低,肥大软骨细胞的体积减小,这种降低在 IRS-1^{-/-}软骨加速,12 周龄的改变与 WT 小鼠 24 周相似。在 IRS-1^{-/-}软骨中含有增殖细胞核抗原 (PCNA) 或甲状旁腺素/甲状旁腺素相关肽 (PTH/PTHrP) 受体免疫染色阳性的软骨细胞到 12 周几乎消失,而 TUNEL 阳性的凋亡细胞在肥大区增加,在底部大多数软骨细胞由矿化的基质包围,提示骺软骨闭合。在初级骨化中心,骨容积、碱性磷酸酶阳性的成骨细胞、TRAP 阳性的破骨细胞和骨桥蛋白阳性的粘合线均显著降低。这些异常可能是由于 IRS-1 基因敲除后 IGF-1 的作用不能传导所致,说明 IRS-1 信号传导对骨骼生长非常重要,可抑制骺软骨过早闭合。

6 IRS-1 与骨折

IRS-1 缺乏还可影响骨组织的愈合。对胫骨骨折的 WT 和 IRS-1^{-/-}小鼠观察发现^[9],WT 小鼠在术后 3 周即形成坚硬的骨性愈合,而 IRS-1^{-/-}小鼠术后 10 周仍处于未愈合状态。

这是由于 IRS-1^{-/-}小鼠软骨细胞增殖能力下降、肥大软骨细胞分化和凋亡加速而导致骨痂形成障碍。利用腺病毒载体转染 IRS-1 基因后,能够显著改善骨痂的形成,促进骨组织的愈合。与 WT 小鼠软骨细胞相比,IRS-1^{-/-}小鼠软骨细胞促有丝分裂的能力及 Akt 磷酸化明显下降,导致软骨细胞数目及活性下降,这可能是因为 IGF-1 不能够通过 IRS-1 对软骨细胞发挥作用。Akt 抑制剂能显著抑制 IGF-1 对 WT 小鼠软骨细胞 DNA 合成的刺激作用,因此推论 IRS-1 缺乏至少部分通过 PI-3K/Akt 途径抑制软骨细胞增殖而影响骨组织的愈合。

综上所述,IRS-1 对骨骼生长、骨转换以及骨折愈合等均具有重要作用,为代谢性骨病和骨质疏松的防治提供了新思路。

参考文献

- Burks DJ, White MF. IRS proteins and beta-cell function[J]. Diabetes, 2001, 50(Suppl 1): S140-S145.
- White MF. The insulin signalling system and the IRS proteins[J]. Diabetologia, 1997, 40(Suppl 2): S2-S17.
- Bu YH, He YL, Zhou HD, et al. Insulin receptor substrate 1 regulates the cellular differentiation and the matrix metalloproteinase expression of preosteoblastic cells[J]. J Endocrinol, 2010, 206(3): 271-277.
- Bu YH, Peng D, Zhou HD, et al. Insulin receptor substrate 2 plays important roles in 17beta-estradiol-induced bone formation[J]. J Endocrinol Invest, 2009, 32(8): 682-689.
- Ogata N, Chikazu D, Kubota N, et al. Insulin receptor substrate-1 in osteoblast is indispensable for maintaining bone turnover[J]. J Clin Invest, 2000, 105(7): 935-943.
- Akune T, Ogata N, Hoshi K, et al. Insulin receptor substrate-2 maintains predominance of anabolic function over catabolic function of osteoblasts[J]. J Cell Biol, 2002, 159(1): 147-156.
- Yamaguchi M, Ogata N, Shinoda Y, et al. Insulin receptor substrate-1 is required for bone anabolic function of parathyroid hormone in mice[J]. Endocrinology, 2005, 146(6): 2620-2628.
- Hoshi K, Ogata N, Shimoaka T, et al. Deficiency of insulin receptor substrate-1 impairs skeletal growth through early closure of epiphyseal cartilage[J]. J Bone Miner Res, 2004, 19(2): 214-223.
- Shimoaka T, Kamekura S, Chikuda H, et al. Impairment of bone healing by insulin receptor substrate-1 deficiency[J]. J Biol Chem, 2004, 279(15): 15314-15322.
- 黄秋霞, 周后德, 廖二元, 等. 雌二醇和孕酮对人成骨细胞胰岛素受体底物的作用[J]. 中华医学杂志, 2005, 85(11): 743-746.
- 黄秋霞, 周后德, 杜巍, 等. 雌二醇和孕酮对人成骨细胞胰岛素受体底物基因表达的时间与剂量依赖性[J]. 中华老年医学杂志, 2005, 24(10): 775-778.
- Sun XJ, Rothenberg P, Kahn CR, et al. Structure of the insulin receptor substrate IRS-1 defines a unique signal transduction protein[J]. Nature, 1991, 352(6330): 73-77.
- Nishiyama M, Inazawa J, Ariyama T, et al. The human insulin re-

- ceptor substrate-1 gene (IRS1) is localized on 2q36[J]. Genomics, 1994, 20(1): 139 - 141.
- 14 Araki E, Haag BL 3rd, Kahn CR. Cloning of the mouse insulin receptor substrate-1 (IRS-1) gene and complete sequence of mouse IRS-1[J]. Biochem Biophys Acta, 1994, 1221(3): 353 - 356.
- 15 Hanke S, Mann M. The phosphotyrosine interactome of the insulin receptor family and its substrates IRS-1 and IRS-2[J]. Mol Cell Proteomics, 2009, 8(3): 519 - 534.
- 16 Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling[J]. Arch Biochem Biophys, 2008, 473(2): 139 - 146.
- 17 Hoshi K, Ogata N, Shimoaka T, et al. Deficiency of insulin receptor substrate-1 impairs skeletal growth through early closure of epiphyseal cartilage[J]. J Bone Miner Res, 2004, 19(2): 214 - 223.
- [收稿日期 2012 - 03 - 21][本文编辑 谭毅 刘京虹]

新进展综述

高压氧治疗肾脏疾病的研究进展

刘 刚, 罗权海, 陈富昌(综述), 许立民(审校)

基金项目: 广西科学研究与技术开发项目(编号:桂科攻 1298003 - 5 - 4)

作者单位: 530021 南宁,广西壮族自治区人民医院泌尿外科(刘 刚),高压氧科(许立民); 530021 南宁,广西医科大学在读研究生(罗权海,陈富昌)

作者简介: 刘 刚(1972 -),男,医学硕士,硕士研究生导师,副主任医师,研究方向:泌尿系结石的诊治及肾脏保护。E-mail: dr. lg@163. com

[摘要] 高压氧治疗是许多急性、慢性疾病的首选或辅助治疗的方法。新近的研究表明,高压氧治疗对慢性肾炎、肾病综合征、糖尿病性肾病、急性肾功能衰竭、肾脏的缺血再灌注损伤等有着良好的治疗作用,而且对另外一些肾脏相关疾病也显示了潜在的疗效,高压氧治疗在肾脏疾病的治疗中占据着越来越重要的地位。该文对高压氧治疗肾脏疾病的研究进展进行综述。

[关键词] 高压氧; 肾脏疾病; 治疗

[中图分类号] R 459. 6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674 - 3806(2012)08 - 0794 - 04

doi:10. 3969/j. issn. 1674 - 3806. 2012. 08. 39

The research progress on hyperbaric oxygen therapy of kidney disease LIU Gang, LUO Quan-hai, CHEN Fu-chang, et al. Department of Urology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] Hyperbaric oxygen therapy (HBOT) is the primary or adjuvant therapy for acute and chronic diseases. Studies recently have proved that HBOT is not only useful for chronic glomerulonephritis, nephritic syndrome, diabetic nephropathy, acute renal failure, ischemia reperfusion injury of kidney etc, but also has potential effects in the treatment of other kidney-related diseases. HBOT plays more and more important role in the treatment of kidney diseases. The research progress of HBOT for kidney diseases would be summarized in this paper.

[Key words] Hyperbaric oxygen; Kidney disease; Therapy

高压氧治疗(hyperbaric oxygen therapy, HBOT)是指机体在超过一个大气压的环境内呼吸纯氧或混合氧以达到治疗疾病的方法。自 1887 年 Valenzuela 第一次成功地在 2 个大气压下用纯氧治疗疾病以来,HBOT 已成为了急性一氧化碳中毒、减压病、气栓病、突发性耳聋、缺血缺氧性脑病等疾病的标准治疗方案,随着研究的不断深入,HBOT 的治病机理逐步明晰,治疗范围不断扩大,现已基本涵盖了人体心、脑、

肝、肺、肾等多个系统,本文对近 10 年来 HBOT 肾脏疾病的研究进展综述如下。

1 HBOT 的作用机理

1662 年, Henshaw 首先用压缩空气治疗疾病,开创了高压氧治疗疾病的先河,而 1960 年 Boerema《无血生命》的发表则为 HBOT 的快速发展奠定了科学的理论基础^[1]。随后,人们对 HBOT 进行了各式各样的探究,在基础研究及临床应