

胰岛素受体底物在乳腺发育和恶性转化中的作用

卜艳红 综述 唐爱国 审校
(中南大学湘雅二医院检验科,长沙 410011)

[摘要] 胰岛素受体底物 (insulin receptor substrates, IRSs) 家族是胰岛素受体 (insulin receptor, IR)、胰岛素样生长因子-1受体 (insulin like growth-1 receptor, IGF-1R) 酪氨酸蛋白激酶的主要细胞内底物, 主要介导细胞对胰岛素、胰岛素样生长因子-1、白介素、干扰素、肿瘤坏死因子等多种细胞因子的反应。作为结合蛋白, 它们通过连接并传递从上游的激活子到下游的效应器之间的信号, 从而调节细胞正常的生长、代谢、生存与分化。在胰岛素受体底物家族接受并应答的众多细胞外信号中, 大部分是与乳腺发育相关的关键信号, 该蛋白在乳腺细胞中的表达是否正常决定乳腺细胞是正常发育还是恶性转化。

[关键词] 胰岛素受体底物; 乳腺发育; 恶性转化; 乳腺癌

[中图分类号] R737.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-2588(2008)06-0496-04

Role of insulin receptor substrates in the development and oncogenic transformation of mammary gland

BU Yan-hong, TANG Ai-guo

(Department of Clinical Laboratory, Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, China)

[Abstract] The family of insulin receptor substrates (IRSs) are important intracellular substrates for tyrosine protein kinase of insulin receptor and insulin-like growth factor receptor, which mediate the responses of the cells to insulin, insulin-like receptor growth-1 receptor, interleukins, interferons, and tumor necrosis factor. IRSs act as binding proteins that connect and transduce the biological signals from up-stream activators to down-stream effectors, so as to regulate the normal growth, metabolism, survival and differentiation of the cells. The family of IRSs responds to a lot of extracellular signals, most of which are the key signals for mammogenesis. IRSs play important roles in physiological development and oncogenic transformation of mammary gland cells, and the later leads to the carcinogenesis of breast cancer.

[Key words] insulin receptor substrates; mammogenesis; oncogenic transformation; breast cancer

[Int J Pathol Clin Med, 2008,28(6):496-04]

随着对胰岛素信号转导通路的深入研究, 人们发现胰岛素受体底物 (insulin receptor substrates, IRSs) 可作为细胞信号转导通路中的原始底物直接与受体结合发挥作用, 不但调节细胞正常的生长、生存和分化^[1], 而且在细胞恶性转化中发挥关键作用,

尤其在乳腺癌发病机制的研究中越来越受到重视^[2]。

1 胰岛素受体底物的结构与分类

IRSs 家族包含 (IRS-1 ~ 6) 6 个家族成员, 由 6 个结构相似的细胞内信号结合蛋白组成, 它们整合

收稿日期: 2008-07-29 修回日期: 2008-10-12

作者简介: 卜艳红 (1976—), 女, 湖南益阳人, 硕士研究生, 主要从事临床检验诊断学研究。

通讯作者: 唐爱国, Email: aiguoat@yahoo.com.cn

基金项目: 国家自然科学基金 (30872617) This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (30872617)

协调许多生物学上关键的细胞外信号。研究表明^[3],几乎所有生理上的促有丝分裂和代谢反应的调节都有 IRSs 的参与,如类固醇、细胞因子、激素、细胞黏附分子等均调节 IRSs 的表达。

IRS-1 是家族中第 1 个被鉴定和克隆的,是经典的由 IGF 和 IR 磷酸化激活的信号结合子。1991 年 Sun 等^[4]发现胰岛素能促使一种分子质量为 165 ~ 185 kD 蛋白的酪氨酸磷酸化,并证实它是胰岛素受体酪氨酸激酶的特异性底物即 IRS-1。IRS-1 经酪氨酸磷酸化而激活,进而结合并活化下游含有 Src 瘤基因同源结构域 2 (src homology 2, SH2) 的胞内信号分子,如磷脂酰肌醇-3-激酶 (phosphoinositide-3 kinase, PI3K) 等。当 IGF 或 IR 发生变异时,它的磷酸化下降,从而导致信号通路转导障碍。

IRS-1 由人类染色体 2q36-37 上单一的外显子编码(小鼠的 1 号染色体),分子质量为 132 kD;但由于其丝氨酸磷酸化,在 SDS-PAGE 凝胶上移行的表观分子量为 185 kD。IRS-1 的氨基端高度保守,包含有与血小板-白细胞激酶 C 底物相似的结构域;紧随其后的是一个磷酸酪氨酸结构域,含有连接 IGF 和 IR 的 NPEY 序列。在羧基端区域包含多个丝氨酸和酪氨酸的残基,使其成为含有磷酸酪氨酸结合 (phosphotyrosine binding, PTB) 结构域蛋白的停泊位点,结构上类似 SH2 结构域^[5];IRS-1 自身并不含有 SH2 或 SH3 结构域^[6]。IRS-1 在人体组织中广泛表达,尤其在 IR 或 IGF 高表达的组织,如大脑、肌肉、卵巢、心脏、脾、胸腺、前列腺、小肠、子宫、结肠、肾和乳腺等。

IRS-2 在结构上与 IRS-1 高度同源,由人类染色体 13q34.1 (鼠 8 号染色体) 上的 2 个外显子编码;其预计分子质量为 145 kD,但在 SDS-PAGE 凝胶上移行的速度比 IRS-1 快。IRS-2 同样具有高度保守的 (75%) 氨基端和非保守的羧基端,与 IRS-1 不同的是,IRS-2 结合 IGF 和 IR 时需要一个特殊的中心结构域,这个结构域位于第 591 ~ 733 位氨基酸(除 PTB 结构域外)。在组织中的表达分布与 IRS-1 相似,IRS-2 定位于大脑、肌肉、卵巢、心脏、肾和乳腺^[5]。

IRS-3 和 IRS-4 具有种属特异性或组织特异性,特别是 IRS-3,仅仅在啮齿类动物中表达^[7]。IRS-4 是一种支架蛋白,作为 IGF-1 和 IR 的结合子在大脑、胸腺和肝母细胞瘤细胞中表达,是人肝母细胞瘤

细胞增殖和分化信号转导通路中的关键因子^[8]。IRS-5 和 IRS-6 的表达非常普遍,在结构与功能上与其他 IRSs 家族成员存在很大的差异,是 IRS 家族的远亲^[9]。

2 胰岛素受体底物的作用

IRSs 蛋白作为多种蛋白的停泊蛋白,可以结合或激活具有 SH2 结构域的蛋白,借其 SH2 结构域与胰岛素受体分子中含有磷酸化酪氨酸的序列结合,在受体蛋白酪氨酸激酶 (protein tyrosine kinase, PTK) 的作用下被磷酸化,由此启动磷酸化的级联反应而使信号进一步转导。

2.1 胰岛素受体底物与有丝分裂原激活的蛋白激酶通路 IRSs 与生长因子受体结合蛋白 2 (growth factor receptor binding protein 2, Grb2) 和包含 SH2 结构域的蛋白 (SH2-containing protein, Shc) 结合,通过 Sos 激活 Ras-MARK-RSK 信号转导通路,进一步激活转录因子并启动相关基因的表达,使与蛋白质翻译相关的因子磷酸化而促进蛋白质合成与细胞增殖^[10]。

2.2 胰岛素受体底物与磷脂酰肌醇-3-激酶通路 PI3K 的 p85/p110 复合体与 IRSs 分子连接,从而使 PI3K 激活,生成磷脂酰肌醇 3 磷酸 (phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate, PIP3)。进而 PIP3 与 PI3K 依赖性激酶 1 (3-phosphoinositide-dependant protein kinase-1, PDK-1) 同丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 B (Serine/threonine protein kinase B, Akt) 的 PH 区结合,激活 PDK-1,磷酸化并激活 Akt^[11]。Akt 是一种激活级联反应的激酶,在生理状态下,Akt 调节细胞内的胰岛素敏感性葡萄糖转运体 (glucose transporter-4, Glut4) 的转位,促进糖原合成;同时通过哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 激酶和起动力因子 4E 结合蛋白 (4E binding protein 1, 4E-BPI) 的磷酸化,从而在翻译水平促进蛋白质的合成,维持细胞的正常生长^[12]。在病理状态下,IRSs 通过磷酸化 Bcl-2/Bcl-XL 相关的死亡促进子 (Bcl-xL/ Bcl-2 associated death promoter, Bad) 和叉头转录因子蛋白 O (forkhead box class O, FOXO), 阻断细胞的凋亡,从而使细胞过度生长。而且磷酸化的 Akt 可使结节性硬化复合物 2 (tuberous sclerosis complex 2, TSC2) 磷酸化而激活,激活的 TSC2 进一步解除其对入脑组织中丰富表达的 Ras 同源类似物 (Ras homolog enriched in brain, Rheb) 的抑制,Rheb

进而激活 mTOR,促进蛋白的合成与细胞增殖,从而导致肿瘤的形成,促进肿瘤的转移^[13]。

3 胰岛素受体底物与乳腺的发育

乳腺是多种内分泌激素和生长因子的靶器官,乳房的生长发育及其各种生理功能的发挥均有赖相关的内分泌激素和生长因子的共同作用。在乳腺的发育过程中,大量分泌的雌激素可促进乳腺导管上皮增生,乳管及小叶周围结缔组织发育,使乳管延长并分支。孕激素中最具生理活性的是孕酮,其主要作用为促进乳腺小叶及腺泡的发育,在雌激素刺激乳腺导管发育的基础上,使乳腺得到充分发育。在青春发育期,催乳素在雌激素、孕激素及其他激素的共同作用下,促使乳腺发育;在妊娠期可使乳腺得到充分发育,使乳腺小叶终末导管发育成为小腺泡,为哺乳作好准备。妊娠期大量的雌、孕激素抑制了催乳素的泌乳作用;分娩后,雌、孕激素水平迅速下降,解除了对催乳素的抑制作用,使催乳素的分泌大量增加,乳腺开始泌乳^[14]。IRSs 是应答这些激素和生长因子的关键下游分子,在这整个发育过程中 IRS-1,IRS-2 均扮演重要角色^[15]。在小鼠乳腺实验中显示随着动物发情期性激素水平的改变,IRS-1,IRS-2 表达水平也发生相应的改变。IRS-1 的表达水平在动物发情期是平时的 4 倍。怀孕期和哺乳期 IRS-1,IRS-2 蛋白在乳腺上皮细胞内表达也显著的升高,这种增高可能是由于乳腺上皮细胞对胰岛素的敏感性增高所致。IRS-1,IRS-2 随着性激素水平的变化与乳腺发育时性激素的分泌变化是一致的^[15-16]。但也有研究表明 IRS-1 或 IRS-2 阴性小鼠的乳腺发育是正常的,但是其泌乳能力下降;说明在乳腺发育的过程中 IRS-1 和 IRS-2 之间有可能存在补偿机制和相互作用^[17]。在乳腺退化期 IRS-1,IRS-2 的表达是完全缺失的,其机制可能是由于 caspase-10 介导 IRSs 基因的断裂降解所致。用 caspase-10 处理培养的乳腺上皮细胞发现,caspase-10 可激活促分裂原活化蛋白激酶激酶 1 (MAP kinase kinase, MKK-1) 信号通路,从而去除或抑制 IRS-1 的作用,阻止胰岛素样生长因子介导的 Fox 蛋白上 FKHRL 序列的磷酸化,从而激活 caspase-10,诱导细胞凋亡^[18]。这种凋亡不通过磷脂酰肌醇激酶 3 和细胞外前凋亡的配体 FasL 诱导。

4 胰岛素受体底物与乳腺癌

IRSs 蛋白家族作为一种信号结合蛋白,不但应

答与正常细胞生长发育相关的细胞外信号,同时也可以与恶性蛋白结合导致细胞恶性转化。IRSs 没有内在的激酶活性,但是它能通过 PTB 结构域与有活性的受体结合后发生组成性活化 (constitutive activation)^[19];IRSs 的这种组成性活化不仅发生在脂肪肉瘤、肌肉瘤、肾母细胞瘤,也发生在乳腺癌中^[20]。IRSs 能与许多癌基因编码蛋白直接结合,包括 JCV 抗原,SV40 抗原, β -catenin,RET 癌蛋白,ETV6-NTRK3 易位的癌蛋白,ERa 蛋白等。这些癌蛋白不但直接与 IRSs 相互作用,而且依赖与 IRSs 的酪氨酸磷酸化来促进有丝分裂和维持转化活性^[21]。在癌组织和肿瘤细胞株中的 IRS-1,IRS-2 均过度表达,胰岛素和胰岛素样生长因子途径活动增强。当 IRSs 蛋白下调或者其酪氨酸去磷酸化时,这些癌基因的转化作用也随之削弱^[20]。 β -catenin 蛋白、ERa 蛋白、Bcl-2 蛋白与 IRSs 相互作用是乳腺癌形成和转移的关键^[22]。

在不同乳腺癌细胞中,IRS-1 和 IRS-2 的表达不同;在雌激素受体阳性的乳腺癌细胞中 IRS-1 表达量比 IRS-2 高,而在雌激素受体阴性的乳腺癌细胞中 IRS-2 的表达占优势^[23]。同时 IRS-1 与 IRS-2 在乳腺癌增殖和转移中也发挥不同的作用。在 MCF-7 人类乳腺癌细胞中 IRS-1 的过度表达可以导致乳腺癌细胞自分泌生长。雌二醇可显著促进 MCF-7 人类乳腺癌细胞中 IRS-1 的转录,而抑制 IRS-2 表达^[24]。如果通过 siRNA 下调 MCF-7 细胞株中的 IRS-1,阻断 IGF-1 和雌激素介导的细胞生长,MCF-7 细胞在无血清的培养基中会自发死亡;其机制是由于 IRS-1 的低表达导致了 IRS-1 介导的 Akt 下调,从而诱导了 MCF-7 细胞的凋亡^[24-25];而且降低 MCF-7 细胞 IRS-1 的表达水平可以使他莫昔芬诱导 MCF-7 细胞死亡的能力加强,进一步说明 IRS-1 在乳腺癌细胞增殖过程中起重要作用^[26]。

与 IRS-1 不同的是,IRS-2 在乳腺癌细胞中的过度表达会增强乳腺癌细胞的转移。由于多瘤病毒中 T 抗原 (polyomavirus middle T antigen, PyV-MT) 在野生型老鼠和 IRS-2 阴性的小鼠中均能诱导乳腺肿瘤的生长,通过观察转入 PyV-MT 基因的 IRS-2 基因敲除小鼠与同窝出生的野生型小鼠,发现其在肿瘤形成的潜伏期和生长期没有差别,说明 IRS-2 表达并不是 PyV-MT 诱导乳腺肿瘤形成、生长所必需的。但是由于 IRS-2 的表达缺乏,PyV-MT 衍生肿瘤转移

到肺的作用却受到影响,而且在同窝出生的野生型小鼠中 IRS-2 的表达与肿瘤的转移呈正相关^[27]。MCF-7 细胞试验也表明 IRS-2 的表达增加促进肿瘤细胞浸润的同时也阻碍应激诱导的细胞凋亡。这些证据表明 IRS-2 在乳腺癌细胞转移过程中扮演重要角色。

参 考 文 献

- [1] Laviola L, Natalicchio A, Giorgino F. The IGF-I signaling pathway [J]. *Curr Pharm Des*, 2007,13(7):663-669.
- [2] Dearth RK, Cui X, Kim HJ, et al. Oncogenic transformation by the signaling adaptor proteins insulin receptor substrate (IRS)-1 and IRS-2[J]. *Cell Cycle*, 2007,6(6):705-713.
- [3] Rother KI, Accili D. Role of insulin receptors and IGF receptors in growth and development[J]. *Pediatr Nephrol*, 2000,14(7):558-561.
- [4] 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.
- [5] Sesti G, Federici M, Hribal ML, et al. Defects of the insulin receptor substrate (IRS) system in human metabolic disorders[J]. *FASEB J*, 2001, 15(12):2099-2111.
- [6] Kaburagi Y, Okochi H, Satoh S, et al. Role of IRS and PHIP on insulin-induced tyrosine phosphorylation and distribution of IRS proteins[J]. *Cell Struct Funct*, 2007,2(1):69-78.
- [7] Björnholm M, He AR, Attersand A, et al. Absence of functional insulin receptor substrate-3 (IRS-3) gene in humans[J]. *Diabetologia*, 2002,45(12):1697-1702.
- [8] Cuevas EP, Escribano O, Chiloeches A, et al. Role of insulin receptor substrate-4 in IGF-I-stimulated HEPG2 proliferation[J]. *J Hepatol*, 2007,46(6):1089-1098.
- [9] Cai D, Dhe-Paganon S, Melendez PA, et al. Two new substrates in insulin signaling, IRS5/DOK4 and IRS6/DOK5 [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(28):25323-25330.
- [10] White MF. IRS proteins and the common path to diabetes[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2002,283(3):E413-422.
- [11] Draznin B. Molecular mechanisms of insulin resistance;serine phosphorylation of insulin receptor substrate-1 and increased expression of p85alpha; the two sides of a coin[J]. *Diabetes*, 2006,55(8):2392-2397.
- [12] O'Reilly KE, Rojo F, She QB, et al. mTOR inhibition induces upstream receptor tyrosine kinase signaling and activates Akt [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(3):1500-1508.
- [13] Ma L, Chen Z, Erdjument-Bromage H, et al. Phosphorylation and functional inactivation of TSC2 by Erk implications for tuberous sclerosis and cancer pathogenesis[J]. *Cell*, 2005, 121(2):179-193.
- [14] Lamb R, Harrison H, Clarke RB. Mammary development, carcinomas and progesterone: role of Wnt signalling[J]. *Ernst Schering Found Symp Proc*, 2007(1):1-23.
- [15] Lee AV, Zhang P, Ivanova M, et al. Developmental and hormonal signals dramatically alter the localization and abundance of insulin receptor substrate proteins in the mammary gland[J]. *Endocrinology*, 2003,144(6):2683-2694.
- [16] Hovey RC, Harris J, Hadsell DL, et al. Local insulin-like growth factor-II mediates prolactin-induced mammary gland development [J]. *Mol Endocrinol*, 2003,17(3):460-471.
- [17] Hadsell DL, Olea W, Lawrence N, et al. Decreased lactation capacity and altered milk composition in insulin receptor substrate null mice is associated with decreased maternal body mass and reduced insulin-dependent phosphorylation of mammary Akt[J]. *J Endocrinol*, 2007,194(2):327-336.
- [18] Green KA, Naylor MJ, Lowe ET, et al. Caspase-mediated Cleavage of Insulin Receptor Substrate[J]. *J Biol Chem*, 2004,279(24):25149-25156.
- [19] Chen J, Capozza F, Wu A, et al. Regulation of insulin receptor substrate-1 expression levels by caveolin-1 [J]. *J Cell Physiol*, 2008,217(1):281-289.
- [20] Dearth RK, Cui X, Kim HJ, et al. Mammary tumorigenesis and metastasis caused by overexpression of insulin receptor substrate 1 (IRS-1) or IRS-2[J]. *Mol Cell Biol*, 2006,26(24):9302-9314.
- [21] Boulay A, Breuleux M, Stephan C, et al. The Ret receptor tyrosine kinase pathway functionally interacts with the ERalpha pathway in breast cancer[J]. *Cancer Res*,2008,68(10):3743-3751.
- [22] Akar U, Chaves-Reyez A, Barria M, et al. Silencing of Bcl-2 expression by small interfering RNA induces autophagic cell death in MCF-7 breast cancer cells[J]. *Autophagy*,2008,4(5):669-679.
- [23] Lanzino M, Garofalo C, Morelli C, et al. Insulin receptor substrate 1 modulates the transcriptional activity and the stability of androgen receptor in breast cancer cells[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2008 Jun 4, [Epub ahead of print].
- [24] Bradley LM, Gierthy JF, Pentecost BT. Role of the insulin-like growth factor system on an estrogen-dependent cancer phenotype in the MCF-7 human breast cancer cell line[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2008,109(1-2):185-196.
- [25] Cesarone G, Edupuganti OP, Chen CP, et al. Insulin receptor substrate 1 knockdown in human MCF7 ER + breast cancer cells by nuclease-resistant IRS1 siRNA conjugated to a disulfide-bridged D-peptide analogue of insulin-like growth factor 1 [J]. *Bioconjug Chem*, 2007,18(6):1831-1840.
- [26] Cesarone G, Garofalo C, Abrams MT, et al. RNAi-mediated silencing of insulin receptor substrate 1 (IRS-1) enhances tamoxifen-induced cell death in MCF-7 breast cancer cells [J]. *J Cell Biochem*, 2006,98(2):440-450.
- [27] Nagle JA, Ma Z, Byrne MA, et al. Involvement of insulin receptor substrate 2 in mammary tumor metastasis [J]. *Mol Cell Biol*, 2004,24(22):9726-9735.