

胰岛素样生长因子 2 研究进展

蒋思文, 彭 健, 熊远著

(华中农业大学动物科学技术学院, 武汉 430070)

摘要:胰岛素样生长因子 2 在胎儿生长发育、肿瘤细胞增殖、肌肉生长等方面具有重要的调控作用。综述了胰岛素样生长因子 2 基因结构、基因组印迹和作为影响肌肉重量数量性状基因座的研究进展。

关键词:胰岛素样生长因子 2; 印迹; 数量性状基因座

中图分类号: Q578

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2004)02-0271-03

Advance on insulin-like growth factor 2

JIANG Si-Wen, PENG Jian, XIONG Yuan-Zhu

(College of Animal Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Insulin-like growth factors play an important role in fetal growth and development, tumour cell proliferation and muscle growth. This review is focused on the insulin-like growth factor 2 gene structures, and their imprintings in mammalian genomes. In addition, we also discussed that IGF2 is the major paternally expressed candidate gene affecting muscle mass.

Key words: insulin-like growth factor 2; imprinting; quantitative trait locus

胰岛素样生长因子(insulin-like growth factors, IGFs)是在细胞增殖(proliferation)、分化(differentiation)、程序性细胞死亡(apoptosis)和转化(transformation)中具有重要作用的因子。IGFs 包括 IGF₁ 和 IGF₂, 两个单链多态分子在氨基酸组成上具有 62% 同源性, 与胰岛素原(proinsulin)具有 50% 同源性。其生物活性受 IGF₁ 受体(IGF₁R)、IGF₂ 受体(IGF₂R)、胰岛素受体、6 个 IGF 结合蛋白(IGF binding proteins, IGFBP₁~IGFBP₆), 以及其它激素和营养的调控。IGF₁、IGF₂、IGF₁R、IGF₂R 和 6 个 IGFBPs 构成了 IGF 家族, 从而影响人和哺乳动物的生长、发育和疾病进程^[1~3]。

人和哺乳动物 IGF₂ 分子质量为 7.5KDa, 含有 67 个氨基酸。由于在胎儿组织中 IGF₂ mRNA 水平高于成年动物相同组织中, 因此被认为在胎儿生长发育调控中具有重要作用, 这已被转基因鼠实验所证实。随后, IGF₂ 基因亲本印迹(parental imprinted)的发现, 使人们对 IGF₂ 基因结构和印迹机制的研究产生了浓厚的兴趣^[4]。

1 IGF₂ 基因结构研究进展

在已分析的生物物种中, IGF₂ 基因显示出复杂的基因组结构和转录单位。人和绵羊 IGF₂ 基因至少含有 9 个外显子, 大鼠、小鼠和马含有 6 个外显子, 在不同发育阶段和特异组织中, 其表达受不同启动子和选择性剪切所调控。

人的 IGF₂ 基因被定位在染色体 11P¹⁵, 跨越基因组 DNA 35 kb 区域, 含有 9 个外显子和 4 个启动子(P1~P4)。外显子 1~6 编码 5' 端非翻译区, 外显子 7~9 编码 IGF₂ 前体蛋白和 3' 端非翻译区^[5,6]。在胎儿所有组织和成年人非肝脏组织中启动子 P2~P4 表达; 而在成年人肝脏组织启动子 P2~P4 被完全关闭, 但启动子 P1 具有活性^[7]。在特异的组织和发育时期, 人 IGF₂ 基因可转录产生 6 种不同的 mRNA。在成年人肝脏组织 5.3kb mRNA 是显性; 而在胎儿肝脏和成年人非肝脏组织中, 6.0kb 和 4.8kb mRNA 为显性^[6]。

大鼠和小鼠 IGF₂ 基因被定位在 7 号染色体, 含有 6 个

收稿日期: 2003-02-17; 修回日期: 2003-05-28

基金项目: 国家“973”(G2000016105)和“863”(2001AA213121)资助项目 [Supported by National “973”(G2000016105) and “863”(2001AA213121)Program]

作者简介: 蒋思文(1963-), 男, 教授, 研究方向: 分子遗传学与动物育种。E-mail: jiangsiwen@hotmail.com

外显子和 3 个启动子,大约跨越基因组 DNA 12kb^[8]。1994 年,Ohlsen 等人利用绵羊妊娠 75 天胎儿和成年羊肝脏组织,进行 DNA 和 cDNA 克隆和测序,并与人的 *IGF₂* 基因序列进行比较,结果表明绵羊 *IGF₂* 基因含有 9 个外显子,大约跨越基因组 DNA 25kb。其基因组结构和基因表达与人的 *IGF₂* 基因相似,推测也存在 4 个启动子。并通过反转录聚合酶链反应分析了绵羊 mRNA 表达图谱,揭示其表达调控受到复杂机制的控制^[9]。

1994 年,Otte 等人克隆和鉴定了马的 *IGF₂* 基因,仅跨越 9kb 区域,和鼠 *IGF₂* 基因一样含有 6 个外显子和 3 个启动子,并具有非常高的同源性。启动子 P2 和 P3 在胎儿组织具有活性,在成年马组织仅 P3 具有活性。同时,在 *IGF₂* 基因 3' 端发现了一个在物种间保守的反向重复序列,含有甲基化敏感蛋白结合座,推测可能与 *IGF₂* 印迹机制有关^[10]。

1989 年,Hedley 等人报道在猪胎儿肝脏 *IGF₂* 基因表达量高,产生 1 条显著的 2.3kb 和 1 条较弱的 5.4kb 转录物,而这两条带在成年猪肝脏中均不存在,却被 4.7kb 和 1.2kb 转录物所代替。据此,Hedley 等人推测在猪发育调控中 *IGF₂* 基因可能也存在不同的启动子^[11]。Catchpole 和 Engstrom(1990)利用含有人前 *IGF₂* 原(prepro *IGF₂*)编码区的 cDNA 作探针,从成年猪肝脏组织 cDNA 文库中分离得到了一个 1.2Kb 克隆。通过亚克隆和测序,得到了 1225 个核苷酸序列,含有完整的编码猪的 prepro *IGF₂* 氨基酸序列,与哺乳动物由 67 个氨基酸组成的 *IGF₂* 的氨基酸测序结果完全相同,同人的 *IGF₂* 仅有一个氨基酸差异。猪 prepro *IGF₂* 与人的 prepro *IGF₂* 具有 89% 同源性。同人的 *IGF₂* cDNA 序列比较,猪 *IGF₂* 基因含有 5 个外显子,同源性分别为 75%、74%、90%、91% 和 87%。猪 cDNA 3' 端非编码区更类似于牛和绵羊 *IGF₂* cDNA。最近,Andersson 及其同事于 2002 年报道了猪与人 *INS-IGF₂-H19* 基因簇的比较序列分析结果,猪 *IGF₂* 基因跨越基因组 DNA 约 23.8kb,含有 10 个外显子和 4 个启动子,不同年龄和组织中使用启动子有一定差异。研究结果将为研究猪 *IGF₂* 印迹,以及父系表达 QTL 机制提供依据^[12]。

2 *IGF₂* 基因组印迹

基因组印迹起源于双亲的某个基因中一个等位基因选择性失活的特殊遗传方式,即一个基因的两个等位基因仅一个表达,而另一个被抑制。是配子发生、早期胚胎发育和基因调控的重要遗传机制。*IGF₂* 和 *IGF₂R* 是最早被鉴定的 2 个印迹基因。其中,*IGF₂* 仅在父系表达,而 *IGF₂R* 仅在母系表达。截至 2003 年 1 月,在人或鼠中鉴定的印迹基因达到了 59 个,被排列在几个大的基因簇(gene clusters)或印迹中心(imprinting centre),并对印迹机制进行了大量研究(<http://www.mgu.har.mrc.ac.uk/imprinting/imprin->

[viewdatagenes.html](http://www.mgu.har.mrc.ac.uk/imprinting/imprintingdatagenes.html))。小鼠 7 号染色体和人 11 号染色体短臂末端是最大的印迹中心之一,存在 4 个父系表达基因(*IGF₂*、*IGF₂as*、*INS2*、*KvLQTLas*)和 10 个母系表达基因(*H19*、*Mash2*、*KvLQTL*、*TAPAI/CD81*、*p57^{KIP2}*、*ORCTL2*、*ITM*、*IMP1*、*IPI/TSSC3* 和 *TSSC4*)。*H19* 基因与 *IGF₂* 相邻,并控制 *IGF₂* 的印迹。*H19* 基因的缺失,将导致 *IGF₂* 基因母系等位基因表达。印迹丧失(loss of imprinting)或双等位基因表达,将导致 *IGF₂* 基因过量表达,而引起人和鼠生长紊乱和肿瘤发生^[13,14]。

在绵羊和猪中分别发现了 2 个和 1 个特异染色体区域存在印迹的证据^[15~17]。在绵羊发现的第一个母系表达印迹基因是 *Callipyge* 基因,定位在 18 号染色体末端,并导致了人和鼠印迹基因 *DLK1* 的发现。第 2 个父系表达印迹基因是 *IGF₂*,定位在 21 号染色体,并对绵羊 *IGF₂* 基因组印迹状态进行了研究。1999 年,Andersson 和 Georges 等 2 个研究小组发现了影响肌肉含量和脂肪沉积的父系印迹 QTL(quantitative trait loci,数量性状座),并定位在 *IGF₂* 座^[15,16]。但影响 *IGF₂* 基因表达的印迹机制尚未见报道。

3 *IGF₂* 做为 QTL 候选基因研究进展

利用大白猪和欧洲野公猪或大白猪和皮特兰猪杂交建立参考家系,收集所有 F_2 代个体表型性状资料,表型性状包括生长性状、胴体性状和肌肉品质等。通过 250 个遗传标记的基因组扫描,鉴定了几个重要经济性状的 QTL。其中,影响肌肉含量和脂肪沉积的 QTL 定位在猪 2 号染色体短臂末端(SSC2p)^[18]。有趣的是,猪 SSC2p 与人 HSA11p¹⁵ 具有同源性,两个候选基因 *MYOD₁* 和 *IGF₂* 被分别定位在 HSA11p^{15.4} 和 HSA11p^{15.5}。猪 *MYOD₁* 基因扩增序列多态性(amplified sequence polymorphism)能在 F_2 代群体中进行分离,并通过连锁分析定位在 SW240—SW776 之间,SW240 和 SW776 已定位在 SSC2p。1996 年,Alexander 等人分离得到了含有猪 *IGF₂* 基因的细菌人工染色体(bacterial artificial chromosome,BAC)克隆,采用荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization,FISH)定位在 SSC2p^{1,7}。*IGF₂* 3' 段未翻译区 BAC 直接测序发现了一个微卫星(SWC9),位于 *IGF₂* 终止密码下游 800bp,并在大白猪和欧洲野公猪具有很高的多态性。连锁分析显示 *IGF₂* 位于末端标记 SW256 的末端 25cM。因此,SSC2p 和 HSA11p 具有保守同线性(conserved synteny),建议 *IGF₂* 可以作为观察 QTL 效应的位置候选(positional candidate)基因。

1999 年,Andersson 及其同事统计分析 SSC2p QTL 印迹效应,得到了 SSC2p 存在父系印迹 QTL 的证据。该 QTL 具有较大效应,影响后腿中肌肉含量,能解释 F_2 代群体中 30% 剩余表型方差;同时影响眼肌面积、心脏重量和背膘厚。对肌肉颜色反射值有中等效应,而对腹脂、初生重、活重等性状没有显著影响。并认为印迹效应由单一基因座造成。20

世纪末 Nezer 和 de Koning 等人同样观察到了影响肌肉含量和脂肪沉积的印迹 QTL 存在于 SSC2p^[15~16, 20]。IGF₂ 在人、鼠和绵羊已证实为父系印迹,仅父系 IGF₂ 表达。因此, IGF₂ 基因座提供了分子鉴别这个 QTL 的惟一机会。

综上所述, IGF₂ 是影响肌肉发育父系表达 QTL 的主要候选基因,因此肌肉中 IGF₂ 表达的调控和印迹机制的研究将成为研究的重点。

参 考 文 献 (References):

- [1] Jones J I, Clemmons D R. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev*, 1995, 16(1):3~34.
- [2] O'Dell S D, Day I N. Insulin-like growth factor II (IGF-II). *Int J Biochem Cell Biol*, 1998, 30(7):767~771.
- [3] Yu H, Rohan T. Role of the insulin-like growth factor family in cancer development and progression. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92(18):1472~1489.
- [4] DeChiara T M, Efstratiadis A, Robertson E J. A growth-deficiency phenotype in heterozygous mice carrying an insulin-like growth factor II gene disrupted by targeting. *Nature*, 1990, 345(6270):78~80.
- [5] Ikejiri K. Identification of a novel transcription unit in the human insulin-like growth factor-II gene. *Biochem J*, 1991, 280: 439~444.
- [6] Hyun S W, Kim S J, Park K, Rho H M, Lee Y I. Characterization of the P4 promoter region of the human insulin-like growth factor II gene. *FEBS Lett*, 1993, 332(1-2):153~158.
- [7] Schepers W, Holthuisen P E, Sussenbach J S. Growth-condition-dependent regulation of insulin-like growth factor II mRNA stability. *Biochem J*, 1996, 318 (Pt 1):195~201.
- [8] Rotwein P, Hall L J. Evolution of insulin-like growth factor II: characterization of the mouse IGF-II gene and identification of two pseudo-exons. *DNA Cell Biol*, 1990, 9(10):725~735.
- [9] Ohlson S M, Lugenbeel K A, Wong E A. Characterization of the linked ovine insulin and insulin-like growth factor-II genes. *DNA Cell Biol*, 1994, 13(4):377~388.
- [10] Otte K. A conserved structural element in horse and mouse IGF2 genes binds a methylation sensitive factor. *Nucleic Acids Research*, 1998, 26(7): 1605~1612.
- [11] Hedley P E, Dalin A M, Engstrom W. Developmental regulation of insulin like growth factor II gene expression in the pig. *Cell Biol Int Rep*, 1989, 13(10):857~862.
- [12] Amarger V, Nguyen M, Van Laere A S, Braunschweig M, Nezer C, Georges M, Andersson L. Comparative sequence analysis of the INS-IGF2-H19 gene cluster in pigs. *Mamm Genome*, 2002, 13(7):388~398.
- [13] Morison I M, Eccles M R, Reeve A E. Imprinting of insulin-like growth factor 2 is modulated during hematopoiesis. *Blood*, 2000, 96(9):3023~3028.
- [14] Morison I M, Becroft D M, Taniguchi T, Woods C G, Reeve A E. Somatic overgrowth associated with overexpression of insulin-like growth factor II. *Nat Med*, 1996, 2(3):311~316.
- [15] Jeon J T, Carlborg O, Tornsten A, Giuffra E, Amarger V, Chardon P, Andersson-Eklund L, Andersson K, Hansson I, Lundstrom K, Andersson L. A paternally expressed QTL affecting skeletal and cardiac muscle mass in pigs maps to the IGF2 locus. *Nat Genet*, 1999, 21(2):157~158.
- [16] Nezer C. An imprinted QTL with major effect on muscle mass and fat deposition maps to the IGF2 locus in pigs. *Nat Genet*, 1999, 21(2):155~156.
- [17] Cockett N E. Polar overdominance at the ovine callipyge locus. *Science*, 1996, 273: 236~238.
- [18] Andersson L. Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. *Science*, 1994, 263: 1771~1774.
- [19] Alexander L J. Physical assignments of 68 porcine cosmid and lambda clones containing polymorphic microsatellites. *Mamm Genome*, 1996, 7: 368~372.
- [20] de Koning D. Genome-wide scan for body composition in pigs reveals important role of imprinting. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(14): 7947~7950.