

[文章编号] 1000-4718(2008)02-0344-06

## 无生长追赶 SGA 幼鼠生长激素和胰岛素受体后信号交联对话的研究

黄婷婷, 杜敏联<sup>△</sup>, 李燕虹, 马华梅  
(中山大学附属第一医院儿科, 广东 广州 510080)

**[摘要]** 目的: 在生长激素(GH)和胰岛素(INS)共享受体后 PI3K 通路基础上探讨无生长追赶的出生低体重(NCU-SGA)幼鼠 GH 和 INS 抵抗的受体后机制, 以及 2 者受体后信号通路的交联对话(cross-talk)。方法: 取 4 周龄 NCU-SGA 雄性大鼠, 采用 Western 印记及免疫共沉淀技术分别测定 NCU-SGA 幼鼠在基础状态下、胰岛素激发以及先给予 GH 受体后信号通路 JAK2 阻滞剂 AG490 后再行胰岛素激发后(AG490+INS 组)肝组织胰岛素受体底物-1(IRS-1)及其下游信号磷酸化 Akt(p-Akt)的表达。结果: (1) IRS-1 信号表达: SGA 鼠基础状态、INS 激发后和 AG490+INS 组, 3 组间的 IRS-1 总蛋白及 IRS-1 磷酸化水平与正常对照组(C 组)无显著差异( $P>0.05$ )。 (2) p-Akt 信号表达: C 组基础状态时无 p-Akt 信号表达, INS 刺激后表达明显增强。SGA 鼠基础状态时 p-Akt 已有显著表达(慢性激活), INS 刺激后表达较基础状态增加, 但增殖显著低于正常对照组( $P<0.01$ ); AG490+INS 组的 p-Akt 较 JAK2 未被阻断时明显增强( $P<0.01$ ), 但仍显著低于正常对照组( $P<0.01$ ), 提示 GH 的信号干扰了 INS 受体后 IRS-1 至 Akt 的信号转导。结论: NCU-SGA 幼鼠 INS 抵抗的发生与 IRS-1-Akt 通路受损有关, GH 抵抗经 GH 和 INS 2 者受体后信号通路间的交联对话(cross-talk)使 IRS-1 至 Akt 间的信号转导解偶联, 诱导和加重了 INS 抵抗; 而 PI3K-Akt 可能是发生该解偶联的主要交汇点。

**[关键词]** 小于胎龄儿; 大鼠; 生长激素抵抗; 胰岛素抗药性; 信号转导

**[中图分类号]** R363

**[文献标识码]** A

### Post-receptor signaling crosstalk between GH and insulin in non-catch-up growth rats born small for gestational age

HUANG Ting-ting, DU Min-lian, LI Yan-hong, MA Hua-mei

(Pediatric Department, The First Affiliated Hospital of Sun Yet-sen University, Guangzhou 510080, China. E-mail: szzxsums@163.com)

**[ABSTRACT]** **AIM:** To investigate the post-receptor mechanism of growth hormone (GH) resistance and insulin (INS) resistance and their relationship in non-catch-up growth rats born small for gestational age (NCU-SGA), based on the post-receptor signalling cross-talk between GH and INS at PI3K signaling pathway. **METHODS:** NCU-SGA rat model was developed by food restriction to pregnant dams. 4 weeks old male NCU-SGA rats were studied. Total and phosphate insulin receptor substrate-1 (IRS-1) and its downstream signal Akt levels in liver tissue were measured by Western blotting or immunoprecipitation at baseline, post-stimulating of insulin, and pre-treatment with JAK2 (post-receptor signaling protein of GH) inhibitor AG490 then given insulin stimulation, respectively. **RESULTS:** (1) Expression levels of total and phosphate IRS-1: No difference between NCU-SGA rats and normal control was observed ( $P>0.05$ ). (2) Expression levels of Akt: At baseline, Akt was already activated in NCU-SGA rats compared to no Akt activation in normal control rats. However, post-stimulating of insulin, the increase level of phosphate Akt in NCU-SGA rats was remarkably lower than that in control rats ( $P<0.01$ ). When pre-treatment with JAK2 inhibitor to block GH signaling pathway, the impaired Akt activity was significantly restored ( $P<0.01$ ), which suggested that the signaling of GH uncouples signal transduction from IRS-1 to Akt in NCU-SGA rats. **CONCLUSION:** Insulin resistance is related to impaired IRS-1-Akt signaling pathway in NCU-SGA rats. GH resistance mediates and aggravates INS resistance by uncoupling signal transduction from IRS-1 to Akt via signaling cross-talk at post-receptor level between GH and INS. PI3K/Akt may be the major site for this uncoupling.

**[KEY WORDS]** Small for gestational age; Rats; Grow hormone resistance; Insulin resistance; Signal transduction

[收稿日期] 2006-09-05

[修回日期] 2006-12-26

△通讯作者 Tel: 020-87755766-8301; E-mail: szzxsums@163.com

小于胎龄儿 (small for gestational age, SGA) 在我国的发生率较高, 约 2.75% - 15.53%。出生低体重可致生长障碍和代谢综合征, 其发病机制可能是由于宫内营养不良, 使胎儿的内分泌和代谢调控发生了一系列改变, 从而引致激素调控的重整 (reset) 而发生促生长素 (生长激素 GH) 轴抵抗和胰岛素 (INS) 抵抗, 2 者间具密切关系<sup>[1]</sup>。生后, 若促生长素轴的抵抗持续存在可与致无生长追赶, 使 10% - 15% SGA 表现为儿童期生长迟缓, 20% 的成年矮身材可由 SGA 所致。此外, 具胰岛素抵抗的 SGA 儿则成为成年期代谢综合征 (高血压、高血脂、肥胖、2 型糖尿病) 的高危人群, 其发生率是适于胎龄儿的 7 - 10 倍<sup>[2]</sup>。矮身材和代谢综合征的远期后果极大地影响了 SGA 儿的健康和生存质量, 但其发病机制仍不清楚。

生长激素 (GH)/胰岛素样生长因子 (IGF - 1) 和胰岛素对生长中的个体均具有代谢和生长的双重调

控作用。GH/IGF - 1 除了促生长作用外还具胰岛素样作用而能调节代谢; 而胰岛素则除了在代谢调控方面发挥重要作用外, 同时还具有生长介素样特性, 因而也被认为是一种生长因子。新近研究发现 GH/IGF - 1 与胰岛素共享部分受体后信号通路并存在受体后信号分子间的交联对话 (cross - talk, 见图 1)<sup>[3]</sup>。在已明确的通路中, PI3K 是 GH 和 INS 共享的受体后通路的交汇点, 也是 GH 产生胰岛素样作用所经通路的关键点。由此推测, 在此交汇点上 2 激素间的交联对话有可能是 SGA 的 GH 抵抗与 INS 抵抗间交互影响和联系的受体后分子机制。本研究通过建立无生长追赶的 SGA 大鼠模型, 探讨 SGA 的 GH 抵抗和 INS 抵抗间的相互关系, 并经对 2 者受体后通路及其交联对话的研究去探讨 SGA 的生长激素抵抗与胰岛素抵抗的发生和 2 者间的相互关系及其相关的受体后机制。

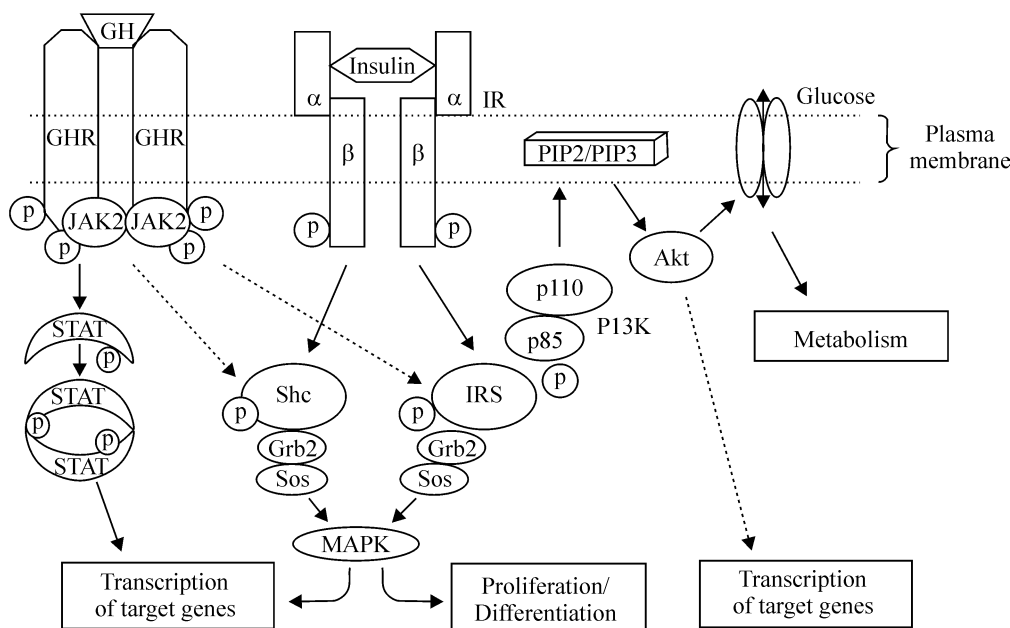


Fig 1 Convergence between insulin and GH signaling. The signaling crosstalk (represented by dotted lines) between GH and INS at IRS - 1 - PI3K - Akt pathway via JAK2 is thought to be important for the insulin - like effects of GH and may have a role in its anti - insulin like effects.

图 1 GH 与胰岛素受体后信号传递交互对话示意图

## 材 料 和 方 法

### 1 材料

①胰岛素:生物合成人胰岛素 (诺和灵 R), 丹麦诺和诺德公司。②AG490, Sigma 公司。③GH 放免试剂盒, 肌苷试剂盒, 上海生物制品研究所。④胰岛素放免试剂盒, 北京北免东雅生物技术研究。⑤大鼠 IGF - 1 ELISA 试剂盒, DSL 公司。⑥STAT5 antibody (C - 17), IRS - 1 (C - 20) antibody 购自 Santa Cruz 公司。⑦phosphor - STAR5 (Tyr694)、phospho -

Akt (Ser473) antibody、phospho - tyrosine mouse mAb (P - Tyr - 100)、biotinylated protein ladder detection pack 购自 Cell Signaling 公司。⑧protein A - agarose solution 购自 Calbiochem 公司。⑨羊抗兔 IgG II 抗 (辣根过氧化物酶标记), 武汉 Boster 公司。⑩ECL 发光试剂盒、PVDF 膜, Amersham 公司。

### 2 无生长追赶 SGA 幼鼠动物模型的建立

由中山大学北校区实验动物中心提供清洁级 Sprague - Dawley 大鼠。孕母鼠全程饮食限制建立 SGA 幼鼠模型<sup>[4]</sup>。选取体重 220 - 250 g 雌鼠 20 只

及体重 250 - 300 g 雄鼠 10 只, 自然交配, 以阴道涂片找到精子为受孕第 1 d, 怀孕母鼠孕全程饲料限制 (较正常常规饲料减少 2/3, 每天约 8 - 9 g)。孕 21 - 22 d 自然分娩, 以出生体重和身长在正常喂养孕母鼠所生幼鼠的 -2SD 以下者为 SGA 模型。自由摄食的孕鼠所生的适于胎龄 (AGA) 鼠为正常对照模型。分娩后所有母鼠均予常规饲料自由进食, 幼鼠母乳喂养, 满 3 周龄断乳, 断乳后幼鼠予常规饲料自由进食。每周测量体重 (精确至 0.1 g)、鼻肛长 (精确至 1 mm)。出生为 SGA 鼠至第 4 周时身长及体重仍低于 AGA 组 -2SD 以下 ( $\leq -2SD$ ) 者为无生长追赶 (NCU), 位于 -2SD 以上者 ( $> -2SD$ ) 为有生长追赶 (CU)。取无生长追赶的青春期前 SGA 雄性鼠为研究对象。

### 3 实验动物分组

**3.1 研究 SGA 幼鼠 GH 抵抗和胰岛素抵抗** 实验动物分为 2 组: ①无生长追赶 SGA 组 (NCU - SGA 组) 15 只。②正常对照组 (C 组) 17 只。各组幼鼠出生后每周测量体重、身长。4 周龄时置于代谢笼内留取 48 h 尿, 完整收集尿样, 低温离心去除杂质, 分离上清液后低温 (-20 °C) 冻存, 备测尿 GH 及肌苷浓度。留尿后于第 2 d 晨 (禁食 10 h 后) 8 - 10 时采血。

**3.2 探讨 NCU - SGA 幼鼠 GH 抵抗对胰岛素抵抗影响的受体后机制**

①SGA 组 取无生长追赶的 4 周龄 SGA 雄性幼鼠 18 只按同窝内体重、身长匹配后分为 3 组, 分别给予以下不同处理。①基础对照组 (SGA - NS 组, 6 只): 处死前 2 h 及 30 min 分别予腹腔注射生理盐水 2 mL 外, 未予任何特殊处理; ②胰岛素激发组 (SGA - INS 组, 6 只): 处死前 2 h 予腹腔注射生理盐水, 处死前 30 min 予腹腔注射胰岛素 30 U/kg (用 0.9% 生理盐水稀释至 2 mL); ③AG490 预处理再行胰岛素激发组 (AG490 + INS 组, 6 只): 处死前 2 h 先予 8 mg/kg 的 JAK2 阻滞剂 - AG490 腹腔内注射, 再于处死前 30 min 予胰岛素激发 (剂量和方法同 SGA - INS 组)。处死后即刻取出肝脏保存于 -80 °C 备检, 用其裂解组织蛋白用于受体后信号表达分析。

②AGA 组 鼠 12 只, 于 4 周龄时按同窝内体重、身长匹配后分为 2 组: (a) 模型组 (C - NS 组, 6 只) 及 (b) 胰岛素激发组 (C - INS 组, 6 只), 处理与 SGA - NS 组及 SGA - INS 组相同。

### 4 各指标检测及定量方法

**4.1 GH 分泌** 已有研究表明尿 GH 排泄量与血 GH 水平相关, 24 h 或夜间 12 h 的尿 GH 排泄量可较准确地反映体内内源性自主性的 GH 分泌。夜间

12 h 尿 GH 排泄率的敏感性和特异性分别为 80% 和 98%<sup>[5]</sup>。因此, 采用 24 h 尿 GH 排泄率反映 SGA 鼠内源性自主性 GH 分泌。

24 h 尿 GH 排泄率: 以放射免疫法 (RIA) 测定 48 h 尿 GH 排泄总量 (批间差异 < 9.5%, 批内差异 < 6.5%)。

24 h 尿 GH 排泄率 ( $\mu\text{g/g}$ ) = 48 h GH 排泄量 ( $\mu\text{g}$ ) / (肌酐  $\times 2$ ) (g)。

**4.2 血浆胰岛素 (INS) 浓度测定** 用放射免疫法 (RIA), 灵敏度 1.5 mU/L, 批间差异 < 10%, 批内差异 < 8.1%。糖浓度测定用过氧化物酶法, 批间差异 < 3%。胰岛素敏感指数 (ISI) =  $\ln[1000 / (\text{空腹血糖} \times \text{空腹胰岛素})]$ <sup>[6]</sup>。

**4.3 肝组织蛋白提取** 取冰冻肝脏组织, 用组织裂解液 [含 1% Triton X - 100、100 mmol/L Tris - HCl (pH 7.4)、100 mmol/L sodium pyrophosphate、100 mmol/L NaF、10 mmol/L EDTA、10 mmol/L  $\text{Na}_3\text{VO}_4$ 、2 mmol/L PMSF and 0.1 g/L aprotinin] 置于冰上用超声破碎仪裂解匀浆。不溶物质用经 13 800  $\times g$  离心 30 min 去除, 上清蛋白提取物用 Bradford 方法定量后与等量 2  $\times$  SDS 上样缓冲液混合, 于 100 °C 加热 5 min, 使之充分变性。

**4.4 IRS - 1 总蛋白及 Akt 总蛋白及磷酸化蛋白测定** 用 Western blotting 法。先采用 Bradford 检测法进行蛋白定量, 取上法提取的 50  $\mu\text{g}$  肝组织裂解蛋白上样行 SDS - PAGE 电泳、封闭, 孵育 I 抗 (IRS - 1 抗体 1:200 稀释, Akt 抗体 1:2 000 稀释, 磷酸化 Akt 抗体 1:1 000 稀释), 4 °C 孵育过夜。孵育 II 抗后将 PVDF 膜放入 ECL 化学发光试剂中反应 1 min, 用化学发光分析仪系统记录信号。将记录的信号在 Gene Tools 图像处理系统上分析处理, 并将感光区带吸光度 (A) 值进行积分处理, 统计分析。将对照组的免疫活性定为 100%, 其余实验组的免疫活性与对照组相比得出相对免疫活性。

**4.5 磷酸化 IRS - 1 水平测定** 用免疫共沉淀法, 以肝组织裂解蛋白质样品 1 000  $\mu\text{g}$  加入兔抗鼠多克隆 IRS - 1 抗体 (1:100 稀释, 即 10  $\mu\text{L}$  抗), 4 °C (冷库) 三维摇床轻摇过夜后, 加入 A - agarose beads 30  $\mu\text{L}$  4 °C 孵育 1 - 2 h, 沉淀的 Ag - Ab 复合物于 7.5% 丙烯酰胺凝胶行 SDS - PAGE 电泳后行 Western blotting。I 抗用磷酸化酪氨酸抗体 (P - Tyr - 100) 1:1 000 稀释 4 °C 轻摇过夜。

### 5 统计学处理

数据用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。两组间比较采用 *t* 检验。3 组以上比较采用 ANOVA 方差分析。

## 结 果

### 1 SGA 幼鼠动物模型的建立

共获得 SGA 幼鼠 138 只,125 只 SGA 幼鼠追踪至 4 周龄(出生后 1 周内死亡 13 只,存活率 90.6%)。125 只中生长追赶 30 只(24%);95 只无生长追赶(76%),其中雄性大鼠 53 只(55.8%)。随机选取无生长追赶 SGA 雄性幼鼠 15 只及正常对照雄性幼鼠 17 只研究生长轴抵抗与胰岛素抵抗的关系。

### 2 SGA 幼鼠体格生长、生长轴抵抗与胰岛素抵抗的关系

NCU - SGA 幼鼠平均出生体重及身长均明显低于 AGA 组( $P < 0.01$ ),分别为 AGA 鼠的  $-4.2SD$  及  $-4SD$  水平,4 周龄时分别达到  $-2.8SD$  及  $-3.8SD$  水平( $P < 0.01$ )。SGA 鼠 24 h 尿 GH 排泄率与 AGA 鼠无显著差异( $P > 0.05$ ),而血清 IGF - 1 浓度显著低下( $P < 0.05$ )。NCU - SGA 组血浆空腹胰岛素浓度及空腹血糖显著高于 AGA 组;但 ISI 低下(均  $P < 0.05$ )。NCG - SGA 组 24 h 尿 GH 排泄率与空腹胰岛素水平呈显著正相关( $r = 0.680, P < 0.01$ ),但与 ISI 呈负相关( $r = -0.459, P < 0.01$ );血清 IGF - 1 与空腹胰岛素及 ISI 均不相关( $P > 0.05$ ),见表 1、图 2。

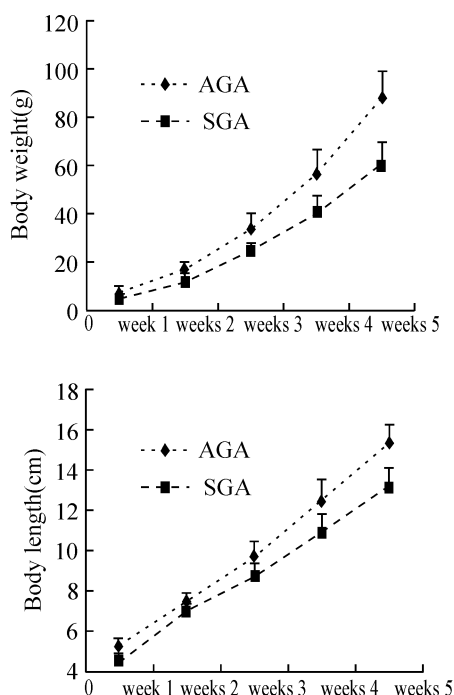


Fig 2 Growth curves of NCU - SGA rats and AGA rats, body weight and length were followed up to 4 weeks of age. Both body weight and length of SGA rats were significantly lower than those of AGA rats at birth ( $< -3SD, P < 0.01$ ), and they were persistently lower than  $-2SD$  with follow - up to 4 weeks of age.

图 2 SGA 幼鼠与 AGA 幼鼠体重(左图)及身长(右图)增长曲线

表 1 SGA 鼠及 AGA 鼠体格生长、GH/IGF - 1 生长轴及胰岛素敏感性指标

Tab 1 Body growth, GH/IGF - 1, and INS sensitivity of SGA rats and AGA rats( $\bar{x} \pm s$ )

Items/groups	NCU - SGA rats( $n = 15$ )	AGA rats( $n = 7$ )
0week weight (g)	4.4 ± 0.5*	6.8 ± 0.6
4weeks weight (g)	62.7 ± 12.4*	88.3 ± 11.8
0week length (cm)	4.5 ± 0.2*	5.3 ± 0.2
4weeks length (cm)	13.2 ± 1.0*	15.3 ± 0.5
Urine GH (ng/g)	1.02 ± 0.85	0.72 ± 0.55
IGF - 1 (μg/L)	247.7 ± 57.9*	382.6 ± 62.2
Insulin (IU/L)	24.70 ± 9.57*	9.82 ± 2.83
FPG (mmol/L)	5.40 ± 0.32*	4.52 ± 0.71
ISI	2.24 ± 0.58*	2.99 ± 0.33

\*  $P < 0.01$  vs AGA rat.

### 3 SGA 幼鼠胰岛素与 GH 受体后信号转导通路信号改变及 2 者的关系

3.1 体重和身长 SGA - NS 组、SGA - INS 组和 AG490 + INS 组的体重和身长在出生及 4 周龄时均显著小于 AGA 组,分别位于 AGA 组的  $-4SD$  及  $-3SD$  以下( $P < 0.01$ );而 SGA 幼鼠 3 组间比较无显著差异( $P > 0.05$ );AGA - NS 组及 AGA - INS 组 2 组间体重、身长则均无显著差异( $P > 0.05$ ),见表 2。

3.2 IRS - 1 信号蛋白表达 SGA 鼠基础及胰岛素刺激后和给予 AG490 预处理组的 IRS - 1 磷酸化蛋白与总蛋白比率与正常对照组无显著差异( $P > 0.05$ ),见图 3。

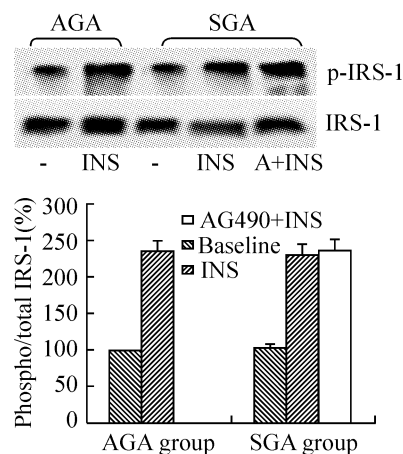


Fig 3 Western blotting of hepatocyte lysates of IRS - 1 in SGA group and AGA group. Phospho/total IRS - 1 ratio in the basal state was set as 100%; thus relative activity in SGA group was obtained from the comparison with AGA group, expressed in percentage. Phospho/total IRS - 1 ratio was not significantly different between the SGA - NS, SGA - INS, and SGA - AG490 + INS groups and the AGA group ( $P > 0.05$ ).

图 3 SGA 鼠与 AGA 鼠 IRS - 1 磷酸化蛋白与总蛋白水平

表2 各SGA组及AGA组体格指数比较

Tab 2 Body growth of the SGA - NS group, the SGA - INS group, the AG490 + INS group, the AGA - NS group, and the AGA - INS group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

	SGA - NS rats	SGA - INS rats	AG490 + INS rats	AGA - NS rats	AGA - INS rats
0week weight(g)	4.4±0.5*	4.2±0.4*	4.3±0.3*	6.9±0.6	6.8±0.9
4weeks weight(g)	62.7±12.4*	53.6±9.3*	55.3±9.7*	84.8±9.2	85.0±8.7
0week length(cm)	4.5±0.2*	4.4±0.2*	4.5±0.2*	5.4±0.2	5.4±0.2
4weeks length(cm)	13.2±1.0*	13.0±1.1*	12.9±1.0*	15.0±0.5	15.3±0.5

\*  $P < 0.01$  vs control.

3.3 Akt 信号蛋白表达 AGA 鼠基础状态下未见磷酸化的 Akt (p - Akt) 信号表达,而在给予胰岛素刺激后信号表达明显增强。SGA 组在基础状态下已有磷酸化 Akt 表达,给予胰岛素刺激后 p - Akt 水平的增加显著低于 AGA 组 ( $P < 0.01$ );而给予 AG490 预处理阻断 GH 作用后 p - Akt 表达对胰岛素应答明显增加 ( $P < 0.01$ ),但仍未能达到 AGA 鼠水平 ( $P < 0.01$ ),见图 4。

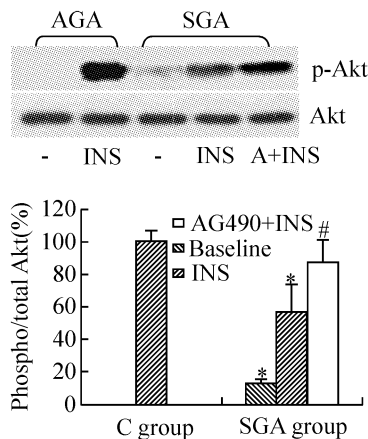


Fig 4 Western blotting of hepatocyte lysates of Akt in SGA group and AGA group. In AGA group, no phosphorylated Akt was found at baseline level; phospho/total Akt level after INS stimulation was set to be 100%. Relative activity in SGA group was obtained from the comparison with AGA group, expressed in percentage in SGA group, Akt was mildly phosphorelated at baseline ( $13.6\% \pm 2.1\%$ ). After INS stimulation, the phospho/total Akt level only increased to  $57.0\% \pm 17.3\%$ . When pre-treatment with AG490 to block the cross-talk between GH and INS, the phospho/total Akt level increased significantly, to  $87.30\% \pm 13.41\%$ , but was still less than that in the controls. \*  $P < 0.01$  vs AGA group; #  $P < 0.01$  vs SGA - INS group.

图4 SGA鼠与AGA鼠Akt磷酸化蛋白与总蛋白水平

### 讨论

在胎儿发育的早期,包括了神经 - 内分泌调控

机制形成在内的每个器官发育及其功能的形成具其各自的关键“窗口”时刻 (critical window);在此刻形成了1个对生后调控固有功能的能力。因此,各激素轴在宫内发育特定的时间段形成了其特定的调控程序和调节点 (set point),此即为“程序化” (programming) 现象<sup>[7]</sup>。SGA 的个体为适应宫内营养不良的生存环境,胎儿产生一系列的代谢适应性改变以节省“能源”,将有限的营养保证重要器官的发育;其结果是多内分泌激素轴信号调控的再程序化 (re-programming) 以及器官大小、形态的改变。再程序化导致相关的激素分泌调节的重整 (Reset);如重整状态生后仍持续存在时将成为 SGA 生后多激素抵抗的病理基础<sup>[1]</sup>。胎儿的生长由代谢轴调控,即营养物质 - 胰岛素 (INS) - 胰岛素样生长因子 - 1 (IGF - 1) 分泌实现促长效应,胰岛素是胎儿生长的关键决定性介导体。生后,生长激素 (GH)/IGF - 1 和胰岛素对生长中的个体也均具有代谢和生长的双重调控作用。因此,研究生后激素重整有关的生长激素和胰岛素抵抗及其与临床发生生长障碍和代谢综合征间的关系有重要意义<sup>[7]</sup>。

本研究结果显示 NCU - SGA 鼠 24h 尿 GH 排泄率与正常对照组比较无显著差异,但 GH 下游的生长因子 - 循环中的 IGF - 1 浓度显著低下,证实了 SGA 鼠存在 GH 抵抗,与无生长追赶有关。同时,SGA 鼠于 4 周龄时已出现显著 INS 抵抗,表现为空腹高胰岛素血症及 ISI 下降和空腹血糖升高。以上证实本研究对象同时存在 GH 和 INS 抵抗。处在生长中的个体 GH/IGF - 1 和 INS 均对生长和代谢有双重调控作用,生理情况下,GH 有对抗 INS 的作用。本研究发现 SGA 幼鼠空腹高胰岛素水平与 24 h 尿 GH 排泄率呈正相关,提示 GH 可能直接参与和介导了 SGA 的胰岛素抵抗,这与对 SGA 儿童的临床研究结果报道一致<sup>[9]</sup>。

胰岛素受体后通路包括 MAPK 途径和 PI3K 途径,前者主要涉及促进细胞生长和增殖,实现基因的转录调控;后者则主要与胰岛素的代谢效应有关。Akt/PKB 为 PI3K 通路中实现其生物效应的关键信号分子。PI3K - Akt 通路与多种代谢调控有关<sup>[10]</sup>。目前研究认为胰岛素抵抗的机制主要与胰岛素受体后信号转导的缺陷有关<sup>[11]</sup>。GH 受体后通路包括 JAK2 - STAT5、MAPK 和 PI3K 通路。GH 与胰岛素及 IGF - 1 等细胞因子的受体虽不属同一类;但近年发现 GH 和 INS 能共享 PI3K 通路信号,PI3K 通路是 GH 实现其促生长及其它生物作用的交叉 (汇) 点,也是 GH 发挥胰岛素样代谢作用的生理基础<sup>[12]</sup>,使 GH

与胰岛素的信号能在受体后水平融合<sup>[13]</sup>,但这种交叉和融合也可能成为 SGA 个体的 GH 抵抗和胰岛素抵抗相互加重的病理基础。已有研究显示 GH 可通过与 INS 受体后通路的交联对话,影响其信号转导而诱导 INS 抵抗。慢性高 GH 血症大鼠的在体实验显示其骨骼肌细胞对 INS 刺激应答减少,其下游信号分子 PI3K 活性下降<sup>[14]</sup>。在过度表达 GH 的转基因大鼠的研究中也发现,基础状态下肝脏 IRS - PI3K 通路慢性激活导致了对 INS 刺激的应答下降<sup>[15]</sup>。

本研究结果显示 SGA 鼠在基础状态下 p - Akt 已有显著表达,提示 Akt 已被慢性激活,使对胰岛素刺激后反应低下,显示了 SGA 鼠存在肝脏 PI3K - Akt 信号通路紊乱。PI3K - Akt 是介导胰岛素代谢作用的主要通路,故 SGA 鼠 PI3K - Akt 通路的受损可能是其胰岛素抵抗发生的主要受体后机制之一。JAK2 是 GH 受体后通路的上游信号蛋白,阻断了 JAK2 信号后再行胰岛素刺激的结果显示,Akt 对胰岛素应答获显著改善至接近正常对照组水平;这证实了 GH 信号介导或加重了其胰岛素抵抗(Akt 基础状态下被慢性激活)。但是,Akt 的上游信号蛋白 IRS - 1 对胰岛素应答反应却正常,此结果可能提示 IRS - 1 与应被其激活的下游信号通路 Akt 的正常偶联状态被解除,称之为解偶联(uncoupling)。当给予 JAK2 阻滞剂去除 GH 的影响后,被解偶联的 Akt 磷酸化活化获显著改善,提示因 GH 抵抗所致的受体后信号改变可能介导了该解偶联作用,而 PI3K - Akt 可能就是该解偶联的主要交汇点。GH 抵抗时的高 GH 分泌引致的 Akt 被解偶联有可能是 GH 使肝组织产生胰岛素抵抗的介导机制之一。但是,在既往关于 SGA 胰岛素抵抗的受体后研究结果中并没有报道 PI3K - Akt 解偶联现象,而是对胰岛素刺激后的 IRS - 1、PI3K 及 Akt 磷酸化活化均下降<sup>[16]</sup>,此不同研究结果可能与选择 SGA 的模型不同有关,既往的研究多采用成年肥胖 SGA 鼠的模型,而本研究是 GH 对生长和代谢具双重调控的生长中的个体。

#### [参 考 文 献]

- [1] Chatelain PG, Nicolino M, claris O, et al. Multiple hormone resistance in short children born with intrauterine growth retardation[J]. *Horm Res*, 1998, 49(Suppl 2): 20 - 22
- [2] Jaquet D, Czernichow P. Born small for gestational age: increased risk of type 2 diabetes, hypertension and hyperlipidemia in adulthood[J]. *Horm Res*, 2003, 59(Suppl 1):131 - 137
- [3] Dominici FP, Turyn D. GH induced alteration in the insulin signaling system[J]. *Exp Biol Med*, 2002, 227(3): 149 - 157.
- [4] Desai M, Gayle D, Babu J, et al. Programmed obesity in intrauterine growth - restricted newborns: modulation by newborn nutrition[J]. *Am J Physiol*, 2005, 288(1): R91 - R96.
- [5] Skinner Am, Clayton PE, Price DA, et al. Urinary growth hormone excretion in the assessment of children with disorders of growth[J]. *Clin Endocrinol*, 1993, 39(2):201 - 206.
- [6] Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al, Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta - cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man[J]. *Diabetologia*, 1985, 28(7):412 - 419.
- [7] 李 伶, 杨刚毅, 李 荣, 等. 脂质灌注对大鼠血浆抵抗素和 ghrelin 的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2006, 22(2):322 - 325.
- [8] Lucas A. Programming by early nutrition: an experimental approach[J]. *J Nutr*, 1998, 128(2 Suppl):401s - 406s.
- [9] Woods KA, van Helvoirt M, Ong KK, et al. The somatotropic axis in short children born small for gestational age: relation to insulin resistance[J]. *Pediatr Res*, 2002, 51(1):76 - 80.
- [10] Offer PJ, Jin J, Woodget JR. Protein kinase B(c - Akt): a multifunctional mediator of PI 3 - kinase activation[J]. *Biochem J*, 1998, 335(Pt 1):1 - 13.
- [11] Ithers DJ, White M. Perspective: the insulin signaling system: a common link in the pathogenesis of type 2 diabetes[J]. *Endocrinology*, 2000, 141(6):1917 - 1921.
- [12] Moutoussamy S, Kelly PA, Finidori J. Growth - hormone receptor and cytokine receptor family signaling. *Eur J Biochem*, 1998, 255(1):1 - 11.
- [13] Opchick JJ, Andry JM. Growth hormone (GH), GH receptor, and signal transduction[J]. *Mol Genet Metab*, 2000, 71(1 - 2):293 - 314.
- [14] Hirone ACP, Carvalho CRO, Brenelli SL, et al. Effect of chronic growth hormone treatment on insulin signal transduction in rat tissues[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 1997, 130(1 - 2):33 - 42.
- [15] Ominici FP, Cifone D, Bartke A, et al. Loss of sensitivity to insulin at early events of the insulin signaling pathway in the liver of growth hormone - transgenic mice[J]. *J Endocrinol*, 1999, 161(3): 383 - 392.
- [16] Vuguin P, Raab E, Liu B, et al. Hepatic insulin resistance precedes the development of diabetes in a model of intrauterine growth retardation[J]. *Diabetes*, 2004, 53(10):2617 - 2622.