

自噬在 2 型糖尿病和胰岛 β 细胞中作用研究进展

胡艳茹 匡洪宇[△]

(哈尔滨医科大学附属第一医院内分泌科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 胰岛素分泌缺陷和胰岛素抵抗是 2 型糖尿病发病的主要机制之一。高血糖和脂质代谢紊乱,是糖尿病发病机制中最重要的获得性因素。最近研究表明自噬在维持内环境稳定、胰岛 β 细胞数量分泌能力,及对抗胰岛素抵抗等方面有重要作用。本文就自噬的基本概念及在糖尿病发病和维持 β 细胞功能方面作一综述。

关键词 自噬 2 型糖尿病 胰岛 β 细胞

中图分类号:R587.1 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2012)19-3738-03

The Progression of Role of Autophagy in Pancreatic Beta Cells and Diabetes

HU Yan-ru, KUANG Hong-yu[△]

(Department of Endocrinology, The First hospital affiliated Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT: Disrupted pancreatic β -cell function and decreased β -cell number are two of the main causes of type 2 diabetes. glucotoxicity and lipotoxicity are the most important acquired character associated with type 2 diabetes. Recent studies have indicated that autophagy plays an important role in maintaining internal environment stabilization, number, secretive function of pancreatic β -cell and counteracting insulin resistance. In this paper, we review the concept of autophagy and its role in pancreatic β -cells and type-2 diabetes.

Key words: Autophagy; Type-2 diabetes; Pancreatic beta cells

Chinese Library Classification(CLC): R587.1 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2012)19-3738-03

前言

自噬过程是生物进化过程中保留下来的一种细胞蛋白和细胞器的循环利用机制,一般认为自噬过程对于细胞在恶劣环境下生存具有重要意义,是真核细胞特有的生命现象。在细胞的生长、发育和疾病发生中起着重要的作用。自噬消化过程既广泛存在于正常的生理过程中,又是细胞对不良环境的一种防御机制,同时还参与多种疾病的病理过程,无论是自噬过度还是自噬不足都可能导致疾病发生。目前研究表明,自噬异常与肿瘤、神经退行性疾病以及病原微生物的入侵等相关。但自噬与 2 型糖尿病(T2DM)发病相关性的研究尚少,本文就其最新的研究进展做一综述。

1 关于自噬的基本概念

1.1 自噬的概念

细胞死亡包括 3 种类型:坏死、凋亡和自噬性细胞死亡。凋亡,即 I 型程序性细胞死亡,具有依赖 caspase 参与、染色体凝聚、细胞皱缩、凋亡小体形成特征^[1]。自噬(autophagy)是一种真核细胞特有的生命现象,无论细胞处于正常还是病态中,它的作用主要是为了维持细胞的自我稳态或促进细胞生存^[2]。也就是 II 型程序性细胞死亡,以自噬体出现为特征,不依赖于 caspase 的参与,自噬体和其内的成分最终通过自身溶酶体系统

被清除。

1.2 自噬的分类

自噬主要分为三种类型:巨自噬、微自噬、分子伴侣介导的自噬。其中最常见的是巨自噬^[3]。在巨自噬形式的自噬中,细胞浆中可溶性蛋白和变性坏死的细胞器被非溶酶体来源的双层膜结构的自噬泡所包裹,并由自噬泡将其携带到溶酶体中降解加工^[4]。其发生过程大致分为三个阶段:细胞损伤情况下前自噬泡围绕在被降解物周围,前自噬泡逐渐延伸,将要被降解的胞浆成分完全包裹形成自噬体,自噬体通过细胞骨架微管系统运输至溶酶体,与之融合形成自噬溶酶体并降解其内成分,自噬体膜脱落再循环利用^[5]。

1.3 自噬调节和检测

细胞对自噬的形成有着精细的调节,有多种基因的参与,这些基因总称为自噬相关基因 (autophagy related gene, ATG),它们编码的蛋白参与自噬的诱导、产生、成熟和再循环,同时自噬还受到一些信号途径如 PI3K/AKT/mTOR 及 p38 MAPK 等的调控^[6]。

对自噬过程的观察和检测尤为重要,检测自噬的金指标为:电子显微镜下观察到内含胞浆成分的空泡状双层膜样结构^[7]。自噬体膜标志性蛋白质:利用 Western Blot 检测 LC3-II/I 比值的变化以评价自噬形成或在荧光显微镜下采用 GFP-LC3 融合蛋白来示踪自噬形成^[8]。此外,Beclin-1 蛋白也是检测自噬的常用指标。

2 自噬在维持胰岛 β 细胞功能中的作用

2.1 自噬可维持胰岛 β 细胞的内环境稳定

作者简介:胡艳茹(1985-),女,硕士研究生,

E-mail: huyanru19850101@126.com

[△]通讯作者:匡洪宇 E-mail: kuangzou2010@yahoo.com.cn

(收稿日期:2011-10-30 接受日期:2011-11-26)

蛋白质合成与降解间的平衡对细胞的生长发育,维持内环境稳态有重要意义。胞内蛋白质降解系统分为2种:选择性降解-蛋白酶体系统,由泛素化蛋白参与主要降解短寿命蛋白。非选择性降解-由溶酶体介导的细胞自噬系统^[9],是唯一可降解细胞器的系统。

2007 Kaniuk,报道自噬可调节在高血糖引起的氧化应激状态下的 β 细胞中,泛素蛋白聚集的现象^[10]。由于泛素蛋白蓄积可破坏细胞,有数据表明自噬可以调节 β 细胞的存活或者死亡,但是自噬与 β 细胞死亡的直接关系还没有阐明。因此,我们可以验证自噬缺乏性 β 细胞内是否有泛素蛋白聚集。免疫组化显示大量的泛素包涵体在细胞内。另外,p62自噬特殊底物蛋白,也在自噬缺乏型 β 细胞内聚集^[11]。聚焦免疫荧光显微镜检测显示,泛素和p62在同一个包涵体内。因此,在自噬缺乏性 β 细胞内形成的大包涵体是由泛素,p62,退化的蛋白质组成。自噬缺乏型细胞内形成的包涵体,其病理生理学作用有待于进一步的研究^[12]。

以上研究可证明自噬可以通过降解蛋白质维持 β 细胞内环境的稳定。

2.2 自噬对胰岛 β 细胞数量及合成分泌功能的影响

自噬是机体应对体内外应激的主要反应机制之一,它在维持胰岛 β 细胞正常功能方面发挥着非常重要的作用。这不仅体现在自噬的激活是胰岛 β 细胞的一种自我保护机制,使其免受各种有害应激所诱导的细胞凋亡,保持着胰岛 β 细胞数量上的稳定;同时也表现在维持胰岛 β 细胞分泌能力。

自噬缺乏引起的胰岛 β 细胞数量的改变主要是由于线粒体和内质网这样的细胞器发生变化。为了检验自噬在维持胰岛 β 细胞的功能中的作用,我们从 β 细胞特异的自噬基因ATG7敲除小鼠($Atg7 \Delta\beta$ -cell)体内分离胰岛 β 细胞,研究体外高糖诱导前后胰岛素分泌情况。与对照组相比,ATG7基因缺失的胰岛 β 细胞无论是基础水平还是高糖刺激后胰岛素分泌均明显缺失。同时,ATG7基因缺失的胰岛 β 细胞的细胞凋亡增加、细胞增殖降低,从而导致胰岛 β 细胞绝对数量的减少。当我们使用电子显微镜观察细胞亚细胞形态学时,我们发现一些ATG7基因缺失的胰岛 β 细胞胰岛素分泌颗粒明显减少与 $Atg7^{+/+}$ 胰岛 β 细胞相比。进一步放大可以看到,肿胀的线粒体,膨胀的粗面内质网和高尔基复合体^[13]。因为线粒体和内质网这些主要的细胞器由自噬使其恢复活性,因此我们可以推断ATG7基因缺失的鼠胰岛 β 细胞功能异常,数量减少是由于线粒体机能障碍和(或)内质网应激^[14]。

自噬维持在 β 细胞胰岛素合成与分泌功能中也有重要作用。为了保证细胞内激素的储存维持在适当的水平,内分泌细胞不断的调整着激素的生物合成,分泌,细胞内激素降解三者之间的平衡。胰岛素贮存在胰岛 β 细胞的 β -颗粒之中。通常, β 细胞保持相对恒定数量的 β -颗粒,一般的半衰期在3-5天^[15]。在胰岛分泌受损的Rab家族小GTP结合蛋白3A $^{-/-}$ (Rab3A $^{-/-}$)小鼠模型中,与对照组相比,葡萄糖诱导的胰岛素分泌量明显减少,大约减少70%。与之相反,胰岛素合成是正常的,并且前胰岛素mRNA水平和葡萄糖诱导的前胰岛素合成并没有改变。还有,前胰岛素转化胰岛素也是正常的。最终结

果,胰岛素的净产量是增加的,但是,在Rab3A $^{-/-}$ 鼠胰岛 β 细胞内胰岛素的含量没有明显的增加。这意味着, β 细胞必须降解过剩的胰岛素来维持最佳的胰岛素储存量^[16]。在Rab3A $^{-/-}$ 小鼠模型中,能观察到大自噬和微自噬均参与了 β -颗粒的降解。分泌吞噬仅降解 β -颗粒中的内容物,胞膜则回收利用;而在自噬途径中,颗粒连同胞膜均被降解,所以自噬是更彻底更为重要的降解^[16]。增加分泌自噬和自噬可提高细胞内胰岛素的降解。LAMP-2在Rab3A $^{-/-}$ 鼠胰岛 β 细胞内的基因表达量大约减少了80%与正常组相比。LAMP-2是自噬的负性调节蛋白^[17],这样减少LAMP-2的表达就可以增加自噬,表明自噬在胰岛素降解起到了关键作用^[16]。

以上表明,自噬似乎可以通过增加胰岛素的降解率维持细胞内正常的胰岛素含量。

3 自噬增加可对抗胰岛素抵抗

2型糖尿病引起的代谢综合征主要表现在糖毒性和脂质代谢障碍。在2型糖尿病中,糖毒性和脂毒性可以引起 β 细胞的数量减少。游离脂肪酸水平可影响,胰岛素抵抗的状态。游离脂肪酸由饱和和不饱和脂肪酸组成,它们对 β 细胞有明显的作用。饱和棕榈酸可减少 β 细胞增殖和诱导 β 细胞死亡。棕榈油酸和不饱和脂肪酸有相同数量的碳链,可抵抗棕榈酸带来的毒性作用,促进细胞的增殖。棕榈酸诱导细胞死亡主要通过凋亡,以细胞色素C释放,细胞凋亡蛋白酶激活,DNA断裂为特征^[18]。

最近有体外研究证明,游离脂肪酸可调节自噬。游离脂肪酸诱导的 β 内自噬增加,是对胰岛素抵抗增加条件下,保护 β 细胞存活的适应性反应。Maedler研究证明,棕榈酸酯可引起INS-1 β 细胞凋亡和提高血糖浓度^[18]。棕榈酸酯可刺激自噬的全过程,在棕榈酸酯处理的INS-1 β 细胞内,可同时观察到单层膜自噬体,双层膜自噬体。棕榈酸酯激活自噬涉及内质网应激和经典III磷脂酰肌醇(-3)激酶途径。当自噬增加时棕榈酸酯诱导的INS-1 β 细胞死亡减少。相反在自噬体形成障碍,自噬体与溶酶体融合受阻或者溶酶体内蛋白质分解阶段异常,由棕榈酸酯诱导的INS-1 β 细胞死亡增加^[19]。

实际上,已有报道证实线粒体功能异常和异常的内质网应激都可以引起胰岛素抵抗^[20]。自噬被认为具有维持线粒体,内质网功能的作用,所以自噬受损会引起线粒体功能异常和内质网应激^[14]。然而在在胰岛素抵抗是否是由线粒体功能受损或者内质网应激引起还是与争议最近有报道,在自噬参与了下调胰岛素受体和胰岛素抵抗介导内质网应激作为内质网应激的适应性过程^[21]。相反的报道也有,认为胰岛素抵抗可抑制自噬^[22]。

尽管这些研究表明自噬与胰岛素抵抗有关,但是他们之间的直接关系有待于进一步研究。如果自噬确实在胰岛素抵抗中有作用,那么自噬在调节2型糖尿病的两个基本过程——胰岛素抵抗, β 细胞功能中都有作用。

4 展望

以上研究充分证明了自噬在保护胰岛 β 细胞功能,对抗胰岛素抵抗方面的重要作用,同时可能与2型糖尿病的发病有

关,但是自噬是否真正参与了2型糖尿病的发病还不清楚,有待进一步的研究。Masini^[23]报道抗糖尿病药物二甲双胍可以使LAMP-2 转录标准化,减少被空泡吞食的死亡 β 细胞数量。进一步研究有待证明自噬是否可以精确调节而减轻糖尿病的临床表现,或者延缓糖尿病的进程。因此,自噬可能会成为预防和治疗糖尿病新的药物靶点。

参考文献(References)

- [1] Lockshin RA, Zakeri Z. Apoptosis, autophagy, and more [J]. *Int J Biochem Cell Biol*,2004,36(12):2405-2419
- [2] Levine B,Kroemer G.Autophagy in the pathogenesis of disease [J]. *Cell*,2008,132(1):27-42
- [3] Mizushima N. Autophagy: process and function [J]. *Genes Dev* 2007, 21:2861-2873
- [4] Münz C. Enhancing immunity through autophagy [J]. *Annu Rev Immunol*,2009,27:423-449
- [5] Klionsky DJ. The molecular machinery of autophagy: unanswered questions[J]. *J Cell Sci*, 2005,118:7-18
- [6] Levine B, Klionsky DJ. Development by self-digestion: molecular mechanisms and biological functions of autophagy [J]. *Dev Cell*, 2004,6:463-477
- [7] Yl-Anttila P., Vihinen H., Jokitalo E., et al. Monitoring autophagy by electron microscopy in Mammalian cells [J]. *Methods Enzymol*, 2009,452:143-164
- [8] Klionsky DJ, Abeliovich H, Agostinis P, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy in higher eukaryotes[J]. *Autophagy*,2008,4(2):151-175
- [9] Klionsky DJ. The molecular machinery of autophagy: unanswered questions[J]. *J Cell Sci*,2005,118:7-18
- [10] Kaniuk, N.A. Kiraly M, Bates H. et al. Ubiquitinated-protein aggregates form in pancreatic beta-cells during diabetes-induced oxidative stress and are regulated by autophagy[J]. *Diabetes*,2007,56:930-939
- [11] Ichimura Y, Kumanomidou T, Sou YS, et al. Structural basis for sorting mechanism of p62 in selective autophagy [J]. *J Biol Chem*, 2008,283:22847-22857
- [12] Nakai, A, Yamaguchi O, Takeda T, et al. The role of autophagy in cardiomyocytes in the basal state and in response to hemodynamic stress[J]. *Nat Med*,2007,13:619-624
- [13] Jung, HS, Chung KW, Kim JW, et al. Loss of autophagy diminishes pancreatic Beta cell mass and function with resultant hyperglycemia [J]. *Cell Metab*,2008,8:318-324
- [14] Bernales S, Schuck S, Walter P. ER-phagy: selective autophagy of the endoplasmic reticulum[J]. *Autophagy*,2007,3:285-287
- [15] Halban PA. Structural domains and molecular lifestyles of insulin and its precursors in the pancreatic beta cell[J]. *Diabetologia*,1991,34: 767-778
- [16] Marsh BJ, Soden C, Alarcón C, et al. Regulated autophagy controls hormone content in secretory-deficient pancreatic endocrine β -cells [J]. *Mol Endocrinol*,2007,21:2255-2269
- [17] Eskelinen EL. Roles of LAMP-1 and LAMP-2 in lysosome biogenesis and autophagy[J]. *Mol Aspects Med*,2006,27:495-502
- [18] Maedler K, Spinas GA, Dytar D, et al. Distinct effects of saturated and monounsaturated fatty acids on β -cell turnover and function[J]. *Diabetes*,2001,50:69-76
- [19] Choi SE, Lee SM, Lee YJ, et al. Protective role of autophagy in palmitate-induced INS-1 β -cell death [J]. *Endocrinology*,2009,150: 126-134
- [20] Özcan U, Yilmaz E, Özcan L, et al. Chemical chaperones reduce ER stress and restore glucose homeostasis in a mouse model of type 2 diabetes[J]. *Science*,2006,313:1137-1140
- [21] Zhou, L, Zhang JJ, Fang QC., et al. Autophagy-mediated insulin receptor down-regulation contributes to endoplasmic reticulum stress-induced insulin resistance[J]. *Mol.Pharmacol*,2009,76:596-603
- [22] Liu HY, Cao SY, Hong T, et al. Hepatic autophagy is suppressed in the presence of insulin resistance and hyperinsulinemia: inhibition of FoxO1-dependent expression of key autophagy genes by insulin [J]. *J Biol Chem*,2009,284:31484-31492
- [23] Masini M, Bugliani M, Lupi R, et al. Autophagy in human type 2 diabetes pancreatic beta cells[J]. *Diabetologia*,2009,52:1083

(上接第 3750 页)

- [17] Schwartz RH. Natural regulatory T cells and self-tolerance [J]. *Nat Immunol*,2005,6(4):327-330
- [18] Gross JT, Benton HP. The roles of interleukin-6 and interleukin-10 in B cell hyperactivity in systemic lupus erythematosus [J]. *Inflamm Res*,1999,48(5):255-261
- [19] Von Boehmer H. Mechanisms of suppression by suppressor T cell [J]. *Nat Immunol*,2005,6(4):338-344
- [20] Lourenço EV, La Cava A. Natural regulatory T cells in autoimmunity[J]. *Autoimmunity*,2011,44(1):33-42
- [21] Nishikawa H, Jäger E, Ritter G, et al. CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells control the induction of antigen-specific CD4⁺ helper T cell responses in cancer patients [J]. *Blood*,2005,106(3):1008-1011
- [22] Link A, Ayadhi T, Böhm M, et al. Rapid immunomodulation by rosuvastatin in patients with acute coronary syndrome [J]. *Eur Heart J*, 2006,27(24):2945-2955
- [23] Cheng X, Liao YH, Zhang J, et al. Effects of Atorvastatin on Th polarization in patients with acute myocardial infarction [J]. *Eur J Heart Fail*,2005,7(7):1099-1104
- [24] Xia J, Jiang X, Huang Y, et al. Anti-CD25 monoclonal antibody modulates cytokine expression and prolongs allografts survival in rats cardiac transplantation[J]. *Chin Med J (Engl)*,2003,116(3):432-435
- [25] 李敬来,萧明第. CD25mAb 及联合供体脾细胞诱导心脏移植免疫低反应性 [J]. *罕见疾病杂志* 2008,15(3) 3-6
Li Jing-lai, Xiao Ming-di. The Induction of Hyporesponse to Heart Allografts by Vein Injecting of CD25mAb or Associated with Donor Splenocytes [J]. *Journal of Rare and Uncommon Diseases*,2008,15(3): 3-6
- [26] Arefeva TI, Provatorov SI, Potekhina AV, et al. The influence of coronary stenting with rapamycin-eluting stents on the number of circulating CD4⁺CD25^{high}+regulatory T-cells [J]. *Ter Arkh*,2009,81 (9):33-37