

- 7 Sakaguchi M, Tanaka T, Fukushima W, *et al.* Impact of oral corticosteroid use for idiopathic osteonecrosis of the femoral head: a nationwide multicenter case – control study in Japan [J]. J Orthop Sci, 2010, 15(2): 185 – 191
- 8 Gunal I, Karatosun V. Avascular necrosis of the femoral heads after single corticosteroid injection [J]. CMAJ, 2006, 175(1): 31
- 9 Wolverson SE. Can short courses of systemic corticosteroids truly cause osteonecrosis? [J]. Dermatol Ther, 2009, 22(5): 458 – 464
- 10 Amin Kerachian M, Cournoyer D, Harvey EJ, *et al.* New insights into the pathogenesis of glucocorticoid – induced avascular necrosis: microarray analysis of gene expression in a rat model [J]. Arthritis Res Ther, 2010, 12(3): R124
- 11 Kerachian MA, Seguin C, Harvey EJ. Glucocorticoids in osteonecrosis of the femoral head: a new understanding of the mechanisms of action [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2009, 114(3 – 5): 121 – 128
- 12 Weinstein SP, Paquin T, Pritsker A, *et al.* Glucocorticoid – induced insulin resistance: dexamethasone inhibits the activation of glucose transport in rat skeletal muscle by both insulin – and non – insulin – related stimuli [J]. Diabetes, 1995, 44(4): 441 – 445
- 13 Moon JG, Shetty GM, Biswal S, *et al.* Alcohol – induced multifocal osteonecrosis: a case report with 14 – year follow – up [J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2008, 128(10): 1149 – 1152
- 14 Suh KT, Kim SW, Roh HL, *et al.* Decreased osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells in alcohol – induced osteonecrosis [J]. Clin Orthop Relat Res, 2005, 431: 220 – 225
- 15 Cui Q, Wang Y, Saleh KJ, *et al.* Alcohol – induced adipogenesis in a cloned bone – marrow stem cell [J]. J Bone Joint Surg Am, 2006, 88 Suppl 3: 148 – 154

(收稿: 2011 – 12 – 17)

(修回: 2011 – 12 – 27)

胰岛 β 细胞胰岛素分泌的调节及其机制

杨 希 李卫华 黄峥嵘

胰岛素是机体内促进合成代谢的蛋白质激素, 它由 51 个氨基酸组成 α 、 β 两条肽链, 通过两个二硫键连接在一起。主要作用是促进葡萄糖的氧化代谢和糖原生成, 抑制糖异生, 维持血糖浓度的恒定。调节胰岛素分泌的因素有很多, 其中, 葡萄糖、内分泌激素和细胞因子是较为重要的调节因素。机体能够整合这几大类调节因素的信号, 使胰岛素的分泌量维持在适当的水平。从细胞和分子水平上研究胰岛素分泌的调节及其机制有着十分重要的意义。

一、葡萄糖刺激的胰岛素分泌 (glucose – stimulated insulin secretion, GSIS)

营养物质是胰岛素分泌的重要调节因素, 其中葡萄糖是刺激胰岛素分泌的最强因子。葡萄糖刺激的胰岛素分泌 (GSIS) 对于血糖浓度的稳定起着非常重要的作用。目前, 对于 GSIS 的共识是: 胰岛 β 细胞属于电可兴奋细胞, 葡萄糖通过葡萄糖转运体 2 (Glut2) 进入胰岛 β 细胞后, 被葡萄糖激酶磷酸化代谢生成 ATP, 从而使 ATP 敏感的钾通道 (K_{ATP}) 关闭,

细胞膜去极化, 电压依赖性钙通道 (VDCC) 开放, 钙离子内流, 细胞内钙离子浓度升高, 从而激活胰岛素分泌所需的一系列酶或蛋白, 导致胰岛素的分泌。

1. K_{ATP} 通道 (ATP 敏感的钾通道) 对胰岛素分泌的调节: ATP 敏感的钾通道 (K_{ATP}) 是 1 个八聚体, 它由 4 个内向整流钾通道亚单位 (Kir6. x) 和硫脲类药物受体 (SURx) 亚单位组成。形成离子通道孔隙的 Kir6. x 亚单位是钾通道的内向整流家族, 它存在 2 个亚型, 即存在于血管平滑肌中的 Kir6. 1 和广泛分布于各种组织的 Kir6. 2。SURx 是调节亚单位, 在胰腺中主要是 SUR1。ATP 敏感型钾通道 (K_{ATP}) 把细胞内的糖代谢过程和胰岛 β 细胞膜的电活动相偶联, 在胰岛素分泌和血糖浓度之间扮演着重要的联结角色^[1]。Seino 等^[2] 也指出, K_{ATP} 通过调节细胞膜钾离子的流量, 将细胞代谢过程和细胞膜的生物电活动联系起来。钾离子通道有两个腺苷酸结合位点。当葡萄糖进入胰岛 β 细胞内并参与能量代谢后导致细胞内 ATP 含量增加, ATP/ADP 比例发生变化。ATP 或 ADP 结合 Kir6. 2 位于细胞内的氨基和羧基末端, 就会对通道产生抑制作用, 导致 K_{ATP} 通道的关闭, 引起 β 细胞膜去极化并导致电压依赖性钙通道开放, 钙离子内流入 β 细胞。细胞内游离钙离子浓度增加, 启动分泌颗粒和细胞膜的融合, 从而触发胰岛素分泌颗粒的出胞反应。胰岛素分泌的此途径被称为 K_{ATP} 通

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目 (2009D003); 福建省自然科学基金杰出青年基金资助项目 (2009D015)

作者单位: 350005 福州, 福建医科大学第一临床医学院 (杨希、李卫华); 361003 厦门大学附属第一医院心内科 (李卫华、黄峥嵘)

通讯作者: 李卫华, 电子信箱: liwei huaxm@ hotmail. com

道依赖途径。也有研究报道由 Kir6.2 和 SUR1 组成的胰岛 β 细胞型 K_{ATP} 通道的多因子调节机制,然而,去除 K_{ATP} 通道依赖途径后并不能完全阻断葡萄糖刺激的胰岛素分泌,这说明存在不依赖于 K_{ATP} 通道的途径^[3,4]。

2. Ca^{2+} 通道在胰岛素分泌中的作用:胰岛 β 细胞分泌胰岛素是一个相当复杂的过程,受到一个分子网络的精密调控,而电压依赖性钙通道(VDCC)在这一网络中则处于中心地位^[5]。在胰岛 β 细胞膜上,VDCC 主要包括 L 型钙通道和非 L 型钙通道,而以前者为主^[6]。在葡萄糖刺激的胰岛素分泌过程中需要有细胞外 Ca^{2+} 的存在,并且可以分别被 Ca_v 通道(电压依赖性钙通道)的激动剂和拮抗剂易化和阻断。这表明, Ca_v 通道在 β 细胞的刺激-分泌偶联中起着非常重要的作用。在 Ca^{2+} 触发的胰岛素分泌过程中, Ca_v1 通道是起主要作用的 Ca_v 通道亚型。

3. AMPK[单磷酸腺苷(AMP)激活的蛋白激酶]在 GSIS 中的作用:(1) AMPK 简介:单磷酸腺苷(AMP)激活的蛋白激酶(AMPK)是由 α 、 β 、 γ 3 个亚基组成的异源三聚体,3 个亚基各有不同的亚型,在不同的细胞中,AMPK 以不同亚型的组合存在,胰岛 β 细胞中以 α_1 表达为主。AMPK 的活性是由其上游的 AMPK 激酶(AMPKK)进行磷酸化的调节,从而组成了 1 个蛋白激酶级联系统,该系统可以被 AMP 激活。对于 AMPK 来说,其 α 亚基 172 位苏氨酸的磷酸化对于它的活性是至关重要的。AMPK 可以感受细胞内 AMP/ATP 的变化,当 AMP/ATP 比值升高,可以启动 AMPK 级联系统,导致消耗 ATP 的路径关闭,ATP 再生途径开启,从而调节胰岛素的分泌。(2) AMPK 与胰岛素的分泌:有关 AMPK 在胰岛素分泌调控中的作用说法不一。在大多数的细胞类型中,AMPK 的磷酸化水平和活性较低。有研究显示,随着 β 细胞外葡萄糖浓度的升高,胰岛素分泌量逐渐增加,AMPK 的磷酸化程度逐渐降低,即活性降低,因此,AMPK 活性和胰岛素分泌呈负相关。但 Park 等^[7] 的研究表明,在胰岛 β 细胞中,磷酸化的 AMPK 能够抑制 K_{ATP} 通道电流,从而触发葡萄糖刺激的胰岛素分泌。在葡萄糖依赖性途径中,细胞外的胰岛素可以通过胰岛素受体底物-1(insulin receptor substrate-1, IRS-1)调节 AMPK 的磷酸化状态,从而进一步调节胰岛素的分泌。细胞的能量代谢状态可以通过 AMPK 来调节 K_{ATP} 通道的关闭与开放,这种机制在低能量代谢状态下抑制胰岛素的分泌作用中可能扮演

关键性的角色^[8]。Okazaki 等^[9] 也认为抑制 β 细胞中 AMPK 的活性可以抑制葡萄糖刺激的胰岛素分泌。

4. 胰岛素分泌的双相模型:1968 年,在大鼠胰腺灌流实验中发现葡萄糖刺激的胰岛素分泌存在双相分泌,在随后的大鼠胰岛灌流试验中得到证实。当葡萄糖浓度从亚刺激水平突然升高并维持在刺激水平时,可出现胰岛素的双相分泌。在这一过程的起始阶段,胰岛素快速释放并上升达到峰值,此为第 1 相,大约持续 10min,紧接着是一个最低点;随后是一个逐步升高的第 2 相,再经过 25~30min 后达到一个平台期^[10]。小鼠的第 2 相呈缓慢的稳定的分泌,而大鼠和人类的第 2 相呈进行性增加的分泌^[11]。有文献报道胰岛素分泌的第一相与 K_{ATP} 通道依赖途径有关,而第 2 相分泌与 K_{ATP} 通道非依赖途径有关两者都需要胞内 Ca^{2+} 的调控,以维持胰岛素的正常分泌^[12,13]。

二、内分泌激素对胰岛素分泌的调节

多种激素参与胰岛 β 细胞功能的调节,如胰高血糖素、生长激素、糖皮质激素等。肠-胰岛和脂肪-胰岛内分泌轴的发现,使胰高血糖素样肽-1(GLP-1)和瘦素对胰岛 β 细胞功能的调节作用备受关注。

1. 胰高血糖素样肽-1(GLP-1)对胰岛素分泌的调节:GLP-1 是由肠黏膜内分泌 L 细胞受营养刺激而合成和分泌的多肽类激素。临床研究显示,GLP-1 及其类似物可以增加胰岛素的分泌和抑制胰高血糖素的释放,调节营养代谢,在 2 型糖尿病的治疗中具有潜在的应用价值^[14]。

GLP-1 的功能由 GLP-1 受体(GLP-1R)介导。GLP-1R 属于 7 次跨膜 G 蛋白偶联受体亚家族,含有 463 个氨基酸残基,广泛分布在胰岛 β 细胞、肾脏、心脏等的多个区域。GLP-1 与 GLP-1R 特异性结合以后,可以激活腺苷酸环化酶(AC),引起细胞内环磷酸腺苷(cAMP)增加,cAMP 的增加可以进一步激活下游的效应蛋白,包括蛋白激酶 A(PKA)以及直接被 cAMP 活化的交换蛋白(EPAC)。但有研究显示,生理浓度的 GLP-1(1pmol/L)刺激胰岛素的分泌并未经 cAMP 依赖的 PKA 途径^[15]。

2. 瘦素对胰岛素分泌的调节:瘦素(leptin)是由肥胖相关基因 ob 基因编码的、脂肪细胞分泌的蛋白质激素,在机体的新陈代谢和能量平衡中起着非常重要的作用。leptin 是一种循环激素,通过其不同表达组织的多种形式的 leptin 受体(OB-R)发挥广泛的

生物学效应。leptin 被证实可以抑制脂肪的异位堆积,从而预防 β 细胞功能紊乱,保护 β 细胞免受细胞因子和脂肪酸诱导的细胞凋亡^[16]。

在胰岛 β 细胞中有 leptin 受体的表达,提示 leptin 在胰岛内分泌中具有一定的生理作用。胰岛素能刺激 leptin 分泌,增加 leptin mRNA 的表达,同时 leptin 又能直接抑制胰岛素的分泌。有关瘦素抑制胰岛素分泌的机制尚未完全清楚。有研究发现瘦素可以通过激活 K_{ATP} 通道使胰岛 β 细胞膜超级化而抑制胰岛素的分泌。另有研究则认为瘦素是通过影响 cAMP 水平而抑制胰岛素的分泌。瘦素可以抑制胰岛素基因的表达和胰岛素的分泌,也可以抑制葡萄糖向 β 细胞内的转运。最近的 1 项研究显示,瘦素可以下调 INS-1 胰岛 β 细胞中蛋白磷酸酶-1 (protein phosphatase 1, PP-1) 的催化亚单位 PP-1 α 的 mRNA 和蛋白的表达。已证实在人类的胰腺中也有 PP-1 α 的表达。此外,PP-1 的核抑制剂可以抑制葡萄糖诱导的胰岛素分泌,抑制 INS-1 胰岛 β 细胞中 PP-1 可以在一定程度上减少 PP-1 依赖的钙离子内流^[17]。

三、细胞因子对胰岛素分泌的影响

1. 白细胞介素-6 (IL-6): 研究表明,某些细胞因子会影响胰岛素的分泌过程。其中白细胞介素-6 (IL-6) 对葡萄糖代谢有着显著地影响。然而,IL-6 对胰岛 β 细胞胰岛素分泌的影响尚有争议。有研究表明不同浓度的白细胞介素-6 (IL-6) 作用于胰岛会产生不同的结果,低浓度的 IL-6 促进胰岛素的分泌,高浓度的 IL-6 则抑制胰岛素的分泌。IL-6 对胰岛素分泌的影响主要是通过 JAK/细胞因子信号转导分子途径发挥作用,与瘦素有着相同的信号转导通路。Suzuki 等^[18] 进行的小鼠体内和体外实验均表明,IL-6 可以直接作用于胰岛 β 细胞从而增强葡萄糖刺激的胰岛素分泌 (GSIS)。磷脂酶 C-三磷酸肌醇 (PLC-IP₃) 信号通路可能参与 IL-6 介导的 GSIS 的增强过程。最近的研究显示,IL-6 可以通过增加肠黏膜 L 细胞和胰腺 α 细胞 GLP-1 的分泌,从而增加胰岛素的分泌^[19]。

2. 转化生长因子- β (TGF- β): 是由二硫键连接的二聚体结构,由两条含 112 个氨基酸残基的肽链组成。TGF- β 通过其受体发挥作用,免疫组化显示,TGF- β 受体存在于胰腺内外分泌组织中。TGF- β 能以葡萄糖依赖和剂量依赖的方式刺激胰岛素基因的表达,使胰岛素合成和分泌增加。转基因技术

研究证明,TGF- β 受体基因突变会造成胰岛发育不良,胰岛 β 细胞对葡萄糖刺激的胰岛素分泌功能缺陷。TGF- β 对胰岛素分泌的影响,其作用机制是 TGF- β 能够增加胰岛素基因转录因子 PDX-1 与顺式作用元件 A3 的亲和力,同时,也可以提高细胞核内 PDX-1 的浓度。

四、展望

胰岛 β 细胞胰岛素分泌的调节是一个复杂的过程,受到营养物质、激素、细胞因子等的共同调控。目前,对胰岛素分泌调节的部分机制还不是很明了,特别是 β 细胞的分泌功能和脂肪代谢之间的相互关系未完全阐明,需要更进一步的研究探讨。深入了解胰岛 β 细胞的调节特性,将有利于加深对糖尿病发病机制的认识,为糖尿病的治疗提供很好的基础资料,也将开阔糖尿病治疗的新视野。

参考文献

- 1 Taneja TK, Mankouri J, Karnik R, *et al.* Sarl - GTPase - dependent ER exit of KATP channels revealed by a mutation causing congenital hyperinsulinism [J]. *Hum Mol Genet*, 2009, 18 (13): 2400 - 2413
- 2 Seino S, Miki T. Gene targeting approach to clarification of ion channel function: studies of Kir6. x null mice [J]. *J Physiol*, 2004, 554 (Pt2): 295 - 300
- 3 Tarasov A, Disonchet J, Ashcroft F. Metabolic regulation of the pancreatic beta - cell ATP - sensitive K^+ channel: a pas de deux [J]. *Diabetes*, 2004, 53 (Suppl 3): S113 - 122
- 4 Nichols CG. KATP channels as molecular sensors of cellular metabolism [J]. *Nature*, 2006, 440 (7083): 470 - 476
- 5 Yang SN, Berggren PO. Beta - cell CaV channel regulation in physiology and pathophysiology [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2005, 288 (1): E16 - E28
- 6 Gilbert M, Jung SR, Reed BJ, *et al.* Islet oxygen consumption and insulin secretion tightly coupled to calcium derived from L - type calcium channels but not from the endoplasmic reticulum [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283 (36): 24334 - 24342
- 7 Park SH, Kim SY, Baek WK, *et al.* Regulation of glucose - dependent insulin secretion by insulin: possible role of AMP - activated protein kinase [J]. *Life Sci*, 2009, 85 (3 - 4): 178 - 183
- 8 Lim A, Park SH, Sohn JW, *et al.* Glucose deprivation regulates KATP channel trafficking via AMP - activated protein kinase in pancreatic beta - cells [J]. *Diabetes*, 2009, 58 (12): 2813 - 2819
- 9 Okazaki Y, Eto K, Yamashita T, *et al.* Decreased insulin secretion and accumulation of triglyceride in beta cells overexpressing a dominant - negative form of AMP - activated protein kinase [J]. *Endocr J*, 2010, 57 (2): 141 - 152
- 10 Yang SN, Berggren PO. CaV2. 3 channel and PKC λ : new players in insulin secretion [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115 (1): 16 - 20
- 11 Henquin JC, Nenquin M, Stienet P, *et al.* In vivo and in vitro glucose - induced biphasic insulin secretion in the mouse: pattern and

- role of cytoplasmic Ca^{2+} and amplification signals in beta - cells[J]. Diabetes, 2006,55(2):441 - 451
- 12 Thams P, Anwar MR, Capito K. Glucose triggers protein kinase A - dependent insulin secretion in mouse pancreatic islets through activation of the K^{+} ATP channel - dependent pathway[J]. Eur J Endocrinol, 2005,152(4):671 - 677
- 13 Hatakeyama H, Kishimoto T, Nemoto T, *et al.* Rapid glucose sensing by protein kinase A for insulin exocytosis in mouse pancreatic islets[J]. J Physiol, 2006,570(Pt2):271 - 282
- 14 Holst JJ, Orskov C. The incretin approach for diabetes treatment: modulation of islet hormone release by GLP - 1 agonism[J]. Diabetes, 2004,53(Suppl 3):S197 - S204
- 15 Shigeto M, Katsura M, Matsuda M, *et al.* Low, but physiological, concentration of GLP - 1 stimulates insulin secretion independent of the cAMP - dependent protein kinase pathway[J]. J Pharmacol Sci, 2008,108(3):274 - 279
- 16 Lee YH, Magkos F, Mantzoros CS, *et al.* Effects of leptin and adiponectin on pancreatic β - cell function[J]. Metabolism, 2011,60(12):1664 - 1672
- 17 Kuehnen P, Laubner K, Raile K, *et al.* Protein phosphatase 1(PP - 1) - dependent inhibition of insulin secretion by leptin in INS - 1 pancreatic β - cells and human pancreatic islets[J]. Endocrinology, 2011,152(5):1800 - 1808
- 18 Suzuki T, Imai J, Yamada T, *et al.* Interleukin - 6 enhances glucose - stimulated insulin secretion from pancreatic beta - cells: potential involvement of the PLC - IP3 - dependent pathway[J]. Diabetes, 2011,60(2):537 - 547
- 19 Ellingsgaard H, Hauselmann I, Schuler B, *et al.* Interleukin - 6 enhances insulin secretion by increasing glucagon - like peptide - 1 secretion from L cells and alpha cells[J]. Nat Med, 2011,17(11):1481 - 1489

(收稿:2011 - 12 - 12)

(修回:2012 - 07 - 01)

转化生长因子 - β 激活激酶 1 在 NF - κ B 信号通路中的作用及临床意义

邵天伟 梁小明 陈昌辉

丝裂原活化蛋白激酶(mitogen - activated protein kinase, MAPK)级联是真核生物信号传递网络中的重要途径之一。MAPK 链由 3 类蛋白激酶(MAP3K - MAP2K - MAPK)组成。转化生长因子 - β 激活激酶 1(transforming growth factor - β activated kinase - 1, TAK1)是 MAP3K 家族的主要成员,具有丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活性,是 NF - κ B 信号通路中的重要调节因子,在炎症基因表达中起着关键性的调节作用^[1]。TAK1 作为通路中的上游信号分子,可以使 I κ B 激酶(I κ B kinase, IKK)磷酸化,活化 NF - κ B,触发下游的 NF - κ B 级联反应^[2]。

NF - κ B 信号通路在多种细胞中都有表达,且在多种病理生理过程(包括炎症、免疫、细胞凋亡等)中发挥作用^[3-5];NF - κ B 的异常活化与多种疾病的发

生、发展及转归密切相关。现就 TAK1 激活 NF - κ B 信号通路的研究进展及临床意义进行阐述。

一、TAK1 的结构和生物学作用

1. TAK1 的结构:TAK1 为单跨膜蛋白,具有保守的激酶活性域、疏水性强的 N 端跨越类囊体膜,处于基质中的亲水性 C 端结构。TAK1 蛋白含有 9 个 α - 螺旋和 18 个 β - 折叠,无规卷曲约占 57%,在第 168 ~ 190 位点存在一个 ATP 结合域,第 162 ~ 440 位点为激酶功能域。TAK1 激酶活性区是 VVHRDIKSSNILL(285 ~ 297),具有典型的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的特点,第 289 位的天冬氨酸(Asp, D)是激活丝氨酸 - 苏氨酸羟基的催化残基,即活性位点^[6]。TAK1 是 NF - κ B 经典信号通路中的调节蛋白,其激活 NF - κ B 的磷酸化位点为苏氨酸(Thr) - 184 位和 Thr - 187 位^[7]。

2. TAK1 的生物学作用:TAK1 在固有免疫和适应性免疫中均发挥关键作用^[8]。Vidal 等^[9]研究 dTAK1 基因突变的果蝇时发现,TAK1 基因突变的果蝇虽然能够生存和繁殖,但其产生抗菌肽的能力消失,对革兰阴性菌高度易感。表明 TAK1 在固有免疫

基金项目:四川省科技厅科研基金资助项目(05JY029 - 054 - 2; 07SG004 - 005)

作者单位:610072 成都,四川省医学科学院·四川省人民医院儿科

通讯作者:陈昌辉,主任医师,硕士生导师,电子信箱:chen966888@yahoo.com.cn