

过氧化物还原酶促进葡萄糖代谢的作用机制

李甜甜 李连芹

摘 要 细胞在有氧代谢中,会产生活性氧簇或称活性氧自由基。这些活性氧簇包括超氧阴离子、过氧化氢、以及羟自由基等。同时,生物体内存在着多种抗氧化系统,用于消除活性氧簇。当活性氧簇的产生与清除之间的平衡被打乱时,就会形成所谓的“氧化应激状态”。过氧化物还原酶是哺乳类动物体内的抗氧化系统之一,可以利用其自身的半胱氨酸残基,将过氧化氢还原成水。这些抗氧化蛋白通过调控细胞内的活性氧簇水平,不仅参与细胞的生长、分化、凋亡等生理病理过程,而且通过抵御高糖环境下的氧化应激状态,减缓氧化应激诱导的炎性反应,保护胰岛 β 细胞免于氧化损伤和凋亡,维持胰岛素的分泌。更为重要的是,它们通过参与细胞活动中的信号转导,调控脂肪/葡萄糖代谢相关的基因水平或者蛋白活性,增强对葡萄糖的耐受性和对胰岛素的敏感度,从而减缓糖尿病及其并发症的发生。另外,某些血清 PRX 水平与胰岛素之间存在相关性,有望作为预测糖尿病发病、进展的生物学指标。

关键词 过氧化物还原酶 氧化应激 葡萄糖 胰岛素 糖尿病

中图分类号 R335+.6

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.12.046

细胞在进行有氧代谢的过程中,会产生类似于废气的活性氧簇(reactive oxygen species,ROS),其中包括超氧阴离子(O_2^-)、过氧化氢(H_2O_2)及羟自由基($\cdot OH$)等。低剂量的 ROS 可以作为一种信号分子,参与细胞的增殖、分化、凋亡等生理活动。当 ROS 的产生过多时,就会对细胞组分如核酸、脂质、蛋白质造成氧化损伤。生物体内存在着多种抗氧化系统,用于对抗 ROS。这些抗氧化系统包括超氧化物歧化酶(superoxide dismutases,SOD)、过氧化氢酶(catalase,CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase,GPX)、谷氧还蛋白(glutaredoxin,GRX)以及过氧化物还原酶(peroxiredoxin,PRX)。当机体出现病理状态时,细胞产生的 ROS 过多,或者抗氧化功能下降,细胞内 ROS 的水平超出了抗氧化系统的清除能力,氧化和抗氧化之间的平衡被打破,就会形成所谓的“氧化应激状态”(oxidative stress)。

过氧化物还原酶(PRX)是一组具有抗氧化功能的蛋白,1994 年被正式命名^[1]。虽然这些抗氧化蛋白是从不同的组织或者细胞中发现的,但它们有一个共同的特点,即利用自身的半胱氨酸残基,将 H_2O_2

还原成水,在机体的抗氧化系统中发挥重要作用,进而参与细胞的生长、分化、凋亡、恶性转化等生理病理过程^[1-11]。越来越多的研究显示,PRX 可以保护胰岛 β 细胞免于氧化损伤,对于维持胰岛素的分泌、提高对葡萄糖的耐受性,具有重要作用。本文将就 PRX 在葡萄糖代谢、胰岛素抵抗、糖尿病发病、进展等方面的作用机制加以综述。

一、过氧化物还原酶的抗氧化特性

哺乳动物的 PRX 家族包括 6 个成员,其中 PRX1 到 PRX4 在 N-端和 C-端各含有 1 个高度保守的半胱氨酸残基,两个残基之间相隔 121 个氨基酸残基,PRX5 的两个半胱氨酸残基位于同一肽段中,两个残基之间相隔 104 个氨基酸残基,而 PRX6 只在 N-端含有 1 个半胱氨酸残基^[12]。图 1 列出了人类 PRX 家族 6 个成员半胱氨酸残基的位置及其相邻的氨基酸序列。

研究表明,虽然该家族的 6 个成员广泛存在于各种组织中,但在细胞中的分布不同,并具有不同的抗氧化特性。为了探讨 PRX 的抗氧化作用,研究者们制作了 PRX 基因敲除动物模型。结果表明,PRX 缺失导致机体的抗氧化能力下降,易于发生氧化应激状态,或者对氧化应激状态的敏感度增加,细胞易于受到氧化损伤,并出现不同的表现型。如表 1 所示,PRX1 和 PRX2 存在于细胞质中^[3]。在 PRX1 基因敲除型小鼠中,红细胞和自然杀伤细胞内的 ROS 水平升高,细胞受到氧化损伤,导致贫血和多种肿瘤发生,小鼠的寿命较野生型小鼠明显缩短^[13]。PRX2 的主

基金项目:山东省医药卫生科技发展计划(2015WS0478);滨州医学院校级科研启动基金(BY2015KYQD28)

作者单位:264003 烟台,滨州医学院(李甜甜);264100 滨州医学院烟台附属医院生殖医学科(李连芹)

通讯作者:李连芹,主任医师、教授、硕士生导师,电子信箱:lilq2005@bzmc.edu.cn

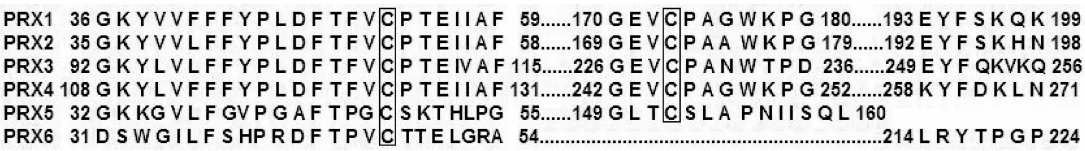


图 1 人类 PRX 家族 6 个成员半胱氨酸残基的位置及其相邻的氨基酸序列
方框内:高度保守的半胱氨酸残基;数字:氨基酸序号;省略号:未列出的氨基酸

表 1 过氧化还原酶基因敲除型小鼠的主要表现型

基因名称	细胞分布	基因敲除小鼠模型		参考文献
		受损组织/细胞	表现型	
PRX1	细胞质	NK 细胞、红细胞	贫血、肿瘤	3,13
PRX2	细胞质	红细胞	贫血、脾大	3,14,15
PRX3	线粒体	胎盘、脂肪细胞	死产、肥胖	3,18,20
PRX4	分泌型	精子细胞	少精症	22,23
PRX5	线粒体、过氧化物酶体、细胞质、细胞核	线粒体	细胞凋亡	9,24,25
PRX6	细胞质	肝、胰腺、骨骼肌	糖尿病	26~28

要作用是保护红细胞免于氧化损伤^[14,15]。PRX2 基因敲除型小鼠出现血球压积下降,网织红细胞反应性增多,以及脾大^[14]。PRX3 主要存在于线粒体中,并且作为线粒体内主要的抗氧化蛋白,可以清除线粒体内 90% 左右的过氧化氢,对于维持线粒体的状态稳定作用重大^[3,16,17]。笔者之前曾利用 PRX3 基因敲除型小鼠模型,对 PRX3 的抗氧化功能进行了较为深入的研究。结果发现,PRX3 基因敲除型雌鼠虽然可以正常妊娠,其胚胎数量和重量与野生型小鼠没有差异,但分娩时发生死产的概率很高,并证实 PRX3 在胎盘中具有不可或缺的抗氧化作用^[18,19]。另有研究指出,肥胖人群中脂肪细胞的 PRX3 表达显著降低,提示 PRX3 与肥胖密切相关^[20]。笔者随后的研究表明,PRX3 具有抗老化的作用。PRX3 基因敲除型小鼠过早出现体力下降,细胞尤其是脑细胞凋亡增加,细胞内的 DNA 复制数减少^[21]。PRX4 是一种分泌型蛋白,PRX4 基因敲除型小鼠的性腺存在氧化应激状态,并出现睾丸萎缩^[22,23]。因氧化损伤引起的精子细胞凋亡增加,精子数量减少^[23]。PRX5 分布于线粒体、过氧化物酶体、细胞质以及细胞核^[24]。虽然目前尚无 PRX5 基因敲除动物模型的报告,但研究证实 PRX5 可以抑制氧化损伤导致的细胞凋亡^[9,25]。PRX6 存在于细胞质中,只有 1 个半胱氨酸残基。PRX6 基因敲除的小鼠更容易受到氧化应激状态的影响,而且出现类似于 2 型糖尿病的症状(胰岛素分泌减少及胰岛素抵抗等)^[26~28]。另外,当细胞内的 ROS 水平升高时,PRX 家族的成员可以相互配合和代偿,共同抵御氧化应激状态^[18]。

二、过氧化物还原酶对葡萄糖代谢的促进作用

食物经过消化分解,其中的糖类被分解为单糖,其中主要是葡萄糖。葡萄糖进入血液,由胰腺产生的胰岛素控制其在血液中的转运以及在身体中的分布。胰岛素的生理作用如同向导,引导葡萄糖分布到身体的不同部位,发挥不同的生理功能。有些葡萄糖被立即吸收利用,向细胞提供短期内所需的能量;有些被储存起来(即脂肪),供身体长期使用。糖尿病是一组以高血糖为特征的代谢性疾病。高血糖则是由于胰岛素分泌缺陷或其生物作用受损(例如胰岛素抵抗),或两者兼有引起。研究表明,糖尿病时长期存在的高血糖,会导致活性氧簇的产生增加以及氧化应激状态,进而导致各种组织,特别是眼、肾、心脏、血管、神经的慢性损害、功能障碍,说明氧化应激状态与糖尿病及其并发症的发生、进展密切相关。随着研究的不断扩展,越来越多的报告显示:过氧化物还原酶在促进葡萄糖代谢以及降低胰岛素抵抗中发挥重要作用,从而抑制或者延缓糖尿病及其并发症的发生、进展。从直接的作用而言,PRX1、PRX2、PRX3 均可以抑制由氧化应激诱导的胰岛 β 细胞的凋亡,从而维持胰岛素的分泌。而 PRX3、PRX4、PRX6 通过影响代谢通路中的信号转导,促进葡萄糖代谢,改善胰岛素抵抗。在脂肪细胞分化过程中,ROS 的产生增多,激活增强子结合蛋白 β 的 DNA 结合活性,进而通过加速有丝分裂克隆扩增进程,促进脂肪细胞的分化。同时,过量的 ROS 会导致脂肪淤积。Huh 等^[20]研究表明,PRX3 通过提高线粒体的生命力和线粒体的合成,维持线粒体的功能相对稳定,并且增加组织对胰

胰岛素的敏感度,提高对葡萄糖的耐受性。而在 PRX3 基因敲除型的小鼠中,脂肪细胞的线粒体内出现氧化应激状态,线粒体的生成和健康受到损害(包括线粒体 DNA 的数目减少),参与氧化磷酸化和脂肪酸代谢的蛋白(如中链脂酰基辅酶 A 脱氢酶、ATP 合成酶亚单位 d、脂联素)水平显著下降,对葡萄糖的耐受力下降,对胰岛素的敏感度降低,葡萄糖和脂肪代谢紊乱,小鼠出现脂肪堆积和肥胖。反之,在高表达 PRX3 的转基因小鼠中,细胞内的 H_2O_2 水平降低,并且可以抵抗由氧化应激诱导的细胞凋亡。我们知道,磷脂酰肌醇 3 - 激酶/丝氨酸 - 苏氨酸蛋白激酶 (PI_3K/AKT) 是重要的胰岛素信号转导通路。在上述研究中,提高 PRX3 的表达水平,可以激活 PI_3K/AKT 通路,使得其下游的糖原合成酶激酶 3 (glycogen synthase kinase 3, GSK3) 被磷酸化,其结果是改善了肝细胞对葡萄糖的耐受性,对葡萄糖的清除能力提高,血糖下降。在 Arkat 等最近发表的一篇研究报告中,他们利用大鼠所制作的糖尿病动物模型表明,PRX3 可以阻止高血糖诱发的心肌损伤和细胞凋亡。PRX4 作为一种分泌型蛋白,当 INS - 1E 细胞受到高糖环境的刺激时,通过上调胰岛素 1 和胰岛素 2 的基因表达,提高胰岛素的分泌水平。在利用链脲霉素制作的 1 型糖尿病小鼠模型中,高表达 PRX4 可以显著降低小鼠高血糖和低胰岛素的发生率,对葡萄糖的耐受力提高。同时,胰岛 β 细胞凋亡的发生率降低,生长率提高,与炎症有关的转录因子的表达也显著降低,证实 PRX4 可以抑制由链脲霉素诱导的胰腺炎以及 1 型糖尿病的发生和进展。另一项利用高糖饮食的转基因小鼠模型证明,提高 PRX4 的表达水平,可以降低小鼠的氧化应激状态,改善胰岛素抵抗(血液中的脂联素水平升高、肝细胞和骨骼肌细胞中脂联素受体的水平升高),同时减缓炎症反应(肝细胞中肿瘤坏死因子 α 和肿瘤坏死因子受体的表达下降),改善肝脏的脂肪变性和纤维化,从而抑制非酒精性脂肪肝和 2 型糖尿病的发生和进展。PRX6 是过氧化物还原酶家族中唯一的具有单个半胱氨酸残基的成员。动物实验表明,当肾间质细胞处于高糖及氧化应激状态时,PRX6 的表达显著升高,提示 PRX6 对于高糖环境下的氧化应激状态作出积极反应。在 Oliva 等进行的一项研究表明,患有妊娠期糖尿病 (gestational diabetes mellitus, GDM) 的孕妇其网膜脂肪组织中的 PRX6 的表达显著降低,提示 PRX6 与 GDM 的发生、进展有关。而在另一项由 Pacifici 等^[28] 进行的研究中,

PRX6 基因敲除型小鼠的胰岛体积和密度减小,胰岛素分泌下降,胰岛素抵抗增加,出现类似于 2 型糖尿病的表型。同时,在 PRX6 基因敲除型小鼠的肝脏、脂肪、骨骼肌中,参与脂质代谢的基因表达异常,与炎症有关的细胞因子表达升高。进一步研究显示,PRX6 可以维持胰岛素的分泌,激活骨骼肌中的 IRS1,对于促进 Akt 的磷酸化、增加外周组织对葡萄糖的吸收,具有重要作用^[28]。

总之,根据目前所发表的文献,在哺乳动物 PRX 家族的 6 个成员中,除了 PRX5 以外,其他成员均参与胰岛素分泌和葡萄糖代谢。

三、展 望

葡萄糖是生物体内新陈代谢不可缺少的营养物质,它的氧化反应所释放出的热量是生命活动所需的重要能源。当葡萄糖代谢出现异常时,就会发生高血糖和糖尿病。高糖环境可以通过葡萄糖的自氧化、醛糖还原酶活性的增加、蛋白激酶 C 的激活等途径,引发氧化应激状态。在氧化应激状态下,PRX 的表达反应性升高。一方面,PRX 保护胰岛 β 细胞免于氧化应激诱发的细胞凋亡;另一方面,PRX 通过调控参与脂肪/葡萄糖代谢的基因表达,促进葡萄糖吸收、降低胰岛素抵抗,从而减缓糖尿病及其并发症的发生、进展。近几年的研究指出,糖尿病患者的外周血中的过氧化物还原酶的水平升高,提示血清 PRX 水平有望作为预测糖尿病发病、进展的生物学指标。但是,过氧化物还原酶在葡萄糖代谢中详细的作用机制,它们与其上下游基因(蛋白)之间的作用关系,目前尚未可知。而且,目前大多数的研究成果来自于动物实验,而人类与鼠类在氧化还原以及糖代谢方面的基因表达存在显著差异。所以,笔者期待更多以人为对象的研究,以进一步明确 PRX 在糖尿病发生、发展中的作用机制,从而为糖尿病及其并发症的防治提供理论基础。

参考文献

- 1 Chae HZ, Robison K, Poole LB, *et al.* Cloning and sequencing of thiol - specific antioxidant from mammalian brain: alkyl hydroperoxide reductase and thiol - specific antioxidant define a large family of antioxidant enzymes [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91 (15): 7017 - 7021
- 2 Kang SW, Chae HZ, Seo MS, *et al.* Mammalian peroxiredoxin isoforms can reduce hydrogen peroxide generated in response to growth factors and tumor necrosis factor - α [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273 (11): 6297 - 6302
- 3 Chae HZ, Kim HJ, Kang SW, *et al.* Characterization of three isoforms of mammalian peroxiredoxin that reduce peroxides in the presence of thioredoxin [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 1999, 45 (2 - 3):

101 – 112

- 4 Prosperi MT, Ferbus D, Karczinski I, *et al.* A human cDNA corresponding to a gene overexpressed during cell proliferation encodes a product sharing homology with amoebic and bacterial proteins[J]. J Biol Chem, 1993, 268(15):11050 – 11056
- 5 Nemoto Y, Yamamoto T, Takada S, *et al.* Antisense RNA of the latent period gene (MER5) inhibits the differentiation of murine erythroleukemia cells[J]. Gene, 1990, 91(2):261 – 265
- 6 Rabilloud T, Berthier R, Vinçon M, *et al.* Early events in erythroid differentiation: accumulation of the acidic peroxidoxin (PRP/TSA/NKEF – B)[J]. Biochem J, 1995, 312(Pt 3):699 – 705
- 7 Kim H, Lee TH, Park ES, *et al.* Role of peroxiredoxins in regulating intracellular hydrogen peroxide and hydrogen peroxide – induced apoptosis in thyroid cells[J]. J Biol Chem, 2000, 275(24):18266 – 18270
- 8 Chang TS, Cho CS, Park S, *et al.* Peroxiredoxin III, a mitochondrion – specific peroxidase, regulates apoptotic signaling by mitochondria[J]. J Biol Chem, 2004, 279(40):41975 – 41984
- 9 Zhou Y, Kok KH, Chun AC, *et al.* Mouse peroxiredoxin V is a thioredoxin peroxidase that inhibits p53 – induced apoptosis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 268(3):921 – 927
- 10 Pak JH, Manevich Y, Kim HS, *et al.* An antisense oligonucleotide to 1 – cyst peroxiredoxin causes lipid peroxidation and apoptosis in lung epithelial cells[J]. J Biol Chem, 2002, 277(51):49927 – 49934
- 11 Wonsey DR, Zeller KI, Dang CV. The c – Myc target gene PRDX3 is required for mitochondrial homeostasis and neoplastic transformation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(10):6649 – 6654
- 12 Rhee SG, Kang SW, Chang TS, *et al.* Peroxiredoxin, a novel family of peroxidases[J]. IUBMB Life, 2001, 52(1 – 2):35 – 41
- 13 Neumann CA, Krause DS, Carman CV, *et al.* Essential role for the peroxiredoxin Prdx1 in erythrocyte antioxidant defence and tumour suppression[J]. Nature, 2003, 424(6948):561 – 565
- 14 Lee TH, Kim SU, Yu SL, *et al.* Peroxiredoxin II is essential for sustaining life span of erythrocytes in mice[J]. Blood, 2003, 101(12):5033 – 5038
- 15 Low FM, Hampton MB, Peskin AV, *et al.* Peroxiredoxin 2 functions as a noncatalytic scavenger of low – level hydrogen peroxide in the erythrocyte[J]. Blood, 2007, 109(6):2611 – 2617
- 16 Cox AG, Winterbourn CC, Hampton MB. Mitochondrial peroxiredoxin involvement in antioxidant defence and redox signalling[J]. Biochem J, 2009, 425(2):313 – 325
- 17 Rabilloud T, Heller M, Rigobello MP, *et al.* The mitochondrial antioxidant defence system and its response to oxidative stress[J]. Proteomics, 2001, 1(9):1105 – 1110
- 18 Li L, Shoji W, Oshima H, *et al.* Crucial role of peroxiredoxin III in placental antioxidant defense of mice[J]. FEBS Lett, 2008, 582(16):2431 – 2434
- 19 Li L, Obinata M, Hori K. Role of peroxiredoxin III in the pathogenesis of pre – eclampsia as evidenced in mice[J]. Oxid Med Cell Longev, 2010, 3(1):71 – 73
- 20 Huh JY, Kim Y, Jeong J, *et al.* Peroxiredoxin 3 is a key molecule regulating adipocyte oxidative stress, mitochondrial biogenesis, and adipokine expression[J]. Antioxid Redox Signal, 2012, 16(3):229 – 243
- 21 Zhang YG, Wang L, Kaifu T, *et al.* Accelerated decline of physical strength in peroxiredoxin – 3 knockout mice[J]. Exp Biol Med, 2016, 241(13):1395 – 1400
- 22 Okado – Matsumoto A, Matsumoto A, Fujii J, *et al.* Peroxiredoxin IV is a secretable protein with heparin – binding properties under reduced conditions[J]. J Biochem, 2000, 127(3):493 – 501
- 23 Iuchi Y, Okada F, Tsunoda S, *et al.* Peroxiredoxin 4 knockout results in elevated spermatogenic cell death via oxidative stress[J]. Biochem J, 2009, 419(1):149 – 158
- 24 Knoops B, Clippe A, Bogard C, *et al.* Cloning and characterization of AOEB166, a novel mammalian antioxidant enzyme of the peroxiredoxin family[J]. J Biol Chem, 1999, 274(43):30451 – 30458
- 25 Banmeyer I, Marchand C, Clippe A, *et al.* Human mitochondrial peroxiredoxin 5 protects from mitochondrial DNA damages induced by hydrogen peroxide[J]. FEBS Lett, 2005, 579(11):2327 – 2333
- 26 Wang X, Phelan SA, Forsman – Semb K, *et al.* Mice with targeted mutation of peroxiredoxin 6 develop normally but are susceptible to oxidative stress[J]. J Biol Chem, 2003, 278(27):25179 – 25190
- 27 Wang Y, Feinstein SI, Manevich Y, *et al.* Peroxiredoxin 6 gene – targeted mice show increased lung injury with paraquat – induced oxidative stress[J]. Antioxid Redox Signal, 2006, 8(1 – 2):229 – 237
- 28 Pacifici F, Arriga R, Sorice GP, *et al.* Peroxiredoxin 6, a novel player in the pathogenesis of diabetes[J]. Diabetes, 2014, 63(10):3210 – 3220

(收稿日期:2017 – 03 – 02)

(修回日期:2017 – 03 – 27)

(上接第 184 页)

- 16 Illy C, Quraishi O, Wang J, *et al.* Role of the occluding loop in cathepsin B activity[J]. J Biol Chem, 1997, 272(2):1197 – 1202
- 17 Pratt MR, Sekedat MD, Chiang KP, *et al.* Direct measurement of cathepsin B activity in the cytosol of apoptotic cells by an activity – based probe[J]. Chem Biol, 2009, 16(9):1001 – 1012
- 18 Arora S, Chauhan SS. Identification and characterization of a novel human cathepsin L splice variant[J]. Gene, 2002, 293(1 – 2):123 – 131
- 19 Chapman HA, Riese RJ, Shi GP. Emerging roles for cysteine proteases in human biology[J]. Ann Rev Physiol, 2003, 59(1):63 – 88
- 20 Mason RW. Emerging functions of placental cathepsins[J]. Placenta, 2008, 29(5):385 – 390
- 21 Tepel C, Bromme D, Herzog V, *et al.* Cathepsin K in thyroid epithelial cells: sequence, localization and possible function in extracellular proteolysis of thyroglobulin[J]. J Cell Sci, 2000, 113 Pt 24(Pt 24):4487
- 22 Liu A, Gao X, Zhang Q, *et al.* Cathepsin B inhibition attenuates cardiac dysfunction and remodeling following myocardial infarction by inhibiting the NLRP3 pathway[J]. Mol Med Rep, 2013, 8(2):361 – 366
- 23 Sun M, Chen M, Liu Y, *et al.* Cathepsin – L contributes to cardiac repair and remodelling post – infarction[J]. Cardiovasc Res, 2011, 89(2):374 – 383

(收稿日期:2017 – 03 – 26)

(修回日期:2017 – 04 – 11)