

胰腺 α 细胞向 β 细胞转分化研究进展

高媛媛 陈琦 袁莉

摘要 功能性胰岛 β 细胞数量的减少会导致血糖升高,研究发现,可通过增加功能性 β 细胞数量来改善高血糖。补充 β 细胞数量的途径有很多,其中包括诱导 α 细胞转分化为 β 细胞。了解胰腺 β 细胞的发育分化过程、 α 细胞转分化为 β 细胞相关转录因子变化情况以及现有的促进转分化相关途径,有助于寻找更多促进转分化作用靶点,从而为补充功能性 β 细胞找到新途径,为治疗糖尿病提供新思路。

关键词 胰岛 β 细胞 转分化 胰岛 α 细胞 转录因子

中图分类号 R587

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2023.11.035

糖尿病是一种以持续高血糖为特征的常见慢性病,如果不加以控制会导致严重并发症,影响患者生存质量甚至导致死亡。现有疗法只能帮助缓解高血糖症和并发症的进展,达到治愈的目的仍遥遥无期。因此,糖尿病的最终治疗需要研发 β 细胞替代策略来补偿胰岛素缺乏。通过胰岛移植弥补 1 型糖尿病患者丢失的 β 细胞,在稳定血糖方面表现出显著的益处。但胰岛供体的缺乏以及健康胰岛难以避免免疫攻击限制其广泛应用^[1]。因此, β 细胞的内源性再生成为了备受关注的话题。 α 细胞是 β 细胞替代的理想来源:① α 细胞和 β 细胞来自共同的内分泌祖细胞,有密切的谱系关系;② α 细胞增生在糖尿病动物和患者中很常见,构成了转分化的潜在丰富来源;③ α 细胞分泌胰高血糖素促进血糖升高,若 α 细胞转分化为 β 细胞将减少其数量,有助于降血糖;④ 在 β 细胞极度缺失后, α 细胞转分化为 β 细胞是可行的^[2]。为了使 α 细胞更多地转分化为 β 细胞,必须了解 β 细胞发育和再生的相关机制,以及有哪些手段可以促进该转分化的发生。

一、胰腺 β 细胞发育、分化过程

人类胰腺来自内胚层的背侧和腹侧,在胚胎的不同时期形成背侧和腹侧胰腺芽,这些胰芽由表达胰腺十二指肠同源框蛋白 1 (Pdx1) 的多能祖细胞组成,随后,多能祖细胞分化为尖端和双能干细胞。尖端细胞进一步分化为腺泡细胞,而双能干细胞分化为导管细

胞或内分泌细胞。在内胚层背侧和腹侧区域的 Pdx1⁺ 细胞是内分泌祖细胞的起始^[3]。神经元素 3 (Ngn3) 是始动内分泌祖细胞分化为内分泌细胞的关键转录因子^[4]。由于髓鞘转录因子 1 (Myt1) 和 Ngn3 的表达不同,使内分泌祖细胞呈现异质性。Myt1⁺、Ngn3⁺ 的内分泌祖细胞向 β 细胞发育,Myt1⁻、Ngn3⁺ 细胞向 α 细胞发育^[5]。肌腱膜纤维肉瘤癌基因同源物 A (MafA) 促进 β 细胞最终成熟,NK6 同源盒 1 (Nkx6.1) 仅存在于 β 细胞中,如果缺少 Nkx6.1 会导致 β 细胞发育异常,而不影响胰腺中其他细胞的分化与发育。最后分化成熟的 β 细胞表达 Pdx1、MafA、Nkx6.1、NK2 同源盒 2 (Nkx2.2) 和配对盒基因 6 (Pax6) 等转录因子。

二、参与 α 细胞向 β 细胞转分化的转录因子

参与胰岛 β 细胞分化的转录因子主要包括 Pdx1、MafA、Pax4、Arx、Nkx6.1、肝细胞核因子 4 α (hepatocyte nuclear factor 4 α , HNF4 α) 等相关的转录因子,这些基因协调表达决定了胰岛 β 细胞的分化^[6]。因此,增强 β 细胞标志基因表达和(或)抑制 α 细胞标志基因表达的因子可用于设计从体内 α 细胞再生 β 细胞或体外发育 β 样细胞的方案。

1. Pdx1; Pdx1 是一种含有同源框的转录因子,在早期胰腺上皮形成、 β 细胞发育过程和成熟胰岛 β 细胞中必不可少。缺乏该因子的人类或小鼠无法产生导管、外分泌或内分泌细胞类型而导致胰腺发育不全。成熟 β 细胞中,Pdx1 的消耗和减少会导致葡萄糖耐受不良,这表明 Pdx1 在维持 β 细胞功能中的关键作用^[7]。Pdx1 在胚胎内分泌祖细胞中的高表达导致围生期 α 细胞通过以胰岛素/胰高血糖素共表达为特征的中间阶段转化为 β 样细胞,并且细胞表型

基金项目:国家自然科学基金资助项目(82170812,81974104)

作者单位:430022 武汉,华中科技大学同济医学院附属协和医院内分泌科

通信作者:袁莉,电子邮箱:yuanli18cn@126.com

也发生变化,导致胰高血糖素阳性细胞转变为胰岛素阳性细胞。敲除成熟 β 细胞中 Pdx1,并用谱系示踪剂追踪,发现 Pdx1 缺失导致 β 细胞身份丧失,获得了 β 细胞到 α 细胞重编程的超微结构、 α 细胞生理特征以及与内源性 α 细胞高度相似的转录谱^[8]。

2. MafA: MafA 是基本亮氨酸拉链家族转录因子成员,在胰腺后期发育中能检测到,可作为胰腺组织的特殊标志物^[9]。在小鼠胰腺发育过程中失去 MafA 并不会改变胰岛素阳性细胞的比例,然而缺乏 MafA 的小鼠在出生后会患上糖尿病,这表明 MafA 调节 β 细胞成熟并且是成人 β 细胞胰岛素葡萄糖反应性表达所必需。MafA 和 Pdx1 的共表达可促进胰岛 α 细胞向 β 细胞转分化。在一项动物实验中通过胰管输注携带 Pdx1 和 MafA 表达盒的腺相关病毒可将 β 细胞毒素诱导的糖尿病小鼠和自身免疫性非肥胖糖尿病小鼠中 α 细胞重新编程为功能性 β 细胞,也使血糖水平正常化持续 4 个月。在体外 Pdx1 和 MafA 的表达也能将人类 α 细胞重编程为 β 细胞^[10]。

3. Pax4: Pax4 在胰腺早期分化及成熟胰岛细胞增殖过程中起重要作用。早期在胚胎胰芽中表达,晚期局限于分化的 β 细胞中,胰腺发育成熟后便不再表达。Pax4 在胚胎 α 细胞中异位表达后,会导致其发育为 β 样细胞,这表明了 Pax4 对诱导分化胰腺内分泌细胞为 β 细胞的重要性。通过腺病毒将 Pax4 转入 α TC1.9 细胞中,可导致胰岛素合成增加和胰高血糖素抑制,并上调 β 细胞转录因子 Pdx1、MafA、Ngn3 和 Nkx6.1 的表达。此外携带 Pax4 表达盒的腺病毒直接输注到胰腺中会导致糖尿病小鼠的葡萄糖耐量略有改善^[11]。因此,胰岛中 Pax4 高表达不仅增加了 β 细胞质量,也使葡萄糖耐量得到改善。

4. Nkx6.1: Nkx6.1 是一种含有同源框的转录因子,在胰腺发育的早期以及成人 β 细胞中表达。它通过同时诱导 β 细胞基因和抑制非 β 内分泌基因来促进 β 细胞数量的增加。例如 Nkx6.1 可通过与 Arx 基因激活剂 Isl1 的竞争直接抑制 Arx。当 β 细胞中 Nkx6.1 缺失时, β 细胞转分化为 δ 细胞,不会转分化为 α 或胰多肽生成细胞。Nkx6.1 在 Ngn3 阳性区域中表达并不能促进 β 细胞分化发育,而当 Nkx6.1 在 Pdx1 阳性区域表达时, β 细胞的分化发育完全恢复,提示 Pdx1 和 Nkx6.1 在 β 细胞分化与发育过程中及维持 β 细胞正常功能等方面可能具有重要的协同作用^[12]。

5. Arx: Arx 是维持 α 细胞表型所需的转录因子,

其在 α 细胞中选择性抑制后,可以促进 α 细胞转化为 β 样细胞。Chakravarthy 等^[13]灭活 Arx 和 DNA 甲基转移酶 1 (Dnmt 1),3 个月内导致 α 细胞向 β 细胞的转变。新形成的 β 细胞在用 RNA 序列分析和谱系追踪其基因表达时类似于天然 β 细胞,新 β 细胞的葡萄糖刺激胰岛素分泌试验也呈阳性。生理学研究表明,转化的 α 细胞获得标志性的 β 细胞电生理学,并显示葡萄糖刺激的胰岛素分泌,表明 Arx 是 α 细胞介导的 β 细胞新生主要触发因子。

6. Hnf4 α : Hnf4 α 是调节许多负责维持成人 β 细胞基因表达所必需的关键转录因子,据报道,它可以抑制胰高血糖素表达,诱导胰岛素表达和分泌,并上调其他 β 细胞表型标志物,如 Pax4、葡萄糖转运蛋白 2 (glucose transporter - 2, GLUT2) 和葡萄糖激酶 (glucokinase, GCK)。 α TC1.9 细胞系中 Hnf4 α 的过表达上调 Pax4,并抑制 α TC1.9 细胞中胰高血糖素的表达。Hnf4 α 具有诱导 β 样细胞表型 - 胰岛素表达和胰岛素分泌的潜力,这包括 β 细胞特异性 GLUT2 以及未加工的胰岛素原 C 肽成分的表达,还包括以葡萄糖剂量依赖性调节方式分泌胰岛素的能力^[14]。尽管 Hnf4 α 在 α TC1.9 细胞中诱导了显著的表型变化,但一些重要的 β 细胞转录因子如 Pdx1 没有被诱导,因此重编程并不完整。

三、促进 α 细胞向 β 细胞转分化的分子

1. γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA): GABA 是一种广泛存在于中枢和外周神经系统的抑制性神经递质,由谷氨酸脱羧酶作用于谷氨酸合成。研究发现,用 GABA 处理啮齿动物可将 α 细胞转化为大量 β 样细胞^[15]。Ben - Othman 等^[16]研究认为,用 GABA 处理 α TC1.6 细胞,可以抑制 α 细胞中 Arx 的表达,并使 Arx 从细胞核转移到细胞质,导致胰高血糖素表达减少,胰岛素和 Pax4 表达增加,说明 GABA 有利于体内 α 细胞向 β 细胞的转化。Li 等^[17]创造了一种诱导型 Arx 过表达的小鼠 Min6 细胞系,并寻找能抑制 Arx 功能的药物,发现青蒿素家族的抗疟药物 (特别是蒿甲醚) 能增强体内 GABA 信号,体外研究发现可改善人类胰岛细胞葡萄糖刺激的胰岛素释放,改变人类胰岛的基因谱,诱导 α 细胞转化为 β 细胞。

青蒿素已在临床上用于疟疾治疗,尽管有庞大的患者队列,但关于青蒿素对人类胰腺内分泌功能影响的体内研究数据仍然缺乏。除了在小鼠细胞系中观察到青蒿素和 GABA 的作用,后续在小鼠 (使用谱系

追踪)、大鼠和斑马鱼体内也得到证实。但近年来有研究表明,使用青蒿素或 GABA 对小鼠进行长期治疗后,并没有刺激 α 细胞向 β 细胞转分化或胰岛素分泌,因此对此途径提出了质疑^[19]。

2. 胰高血糖素样肽 1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1): GLP-1 是肠道 L 细胞因食糜刺激而分泌,已知具有重要的生理作用,它能诱导胰岛素基因转录和胰岛素生物合成,增强葡萄糖刺激的胰岛素分泌,增强 β 细胞增殖,并抑制 β 细胞凋亡^[20]。研究发现,胰腺 α 细胞是 GLP-1 作用靶点,在体外应用 GLP-1 激动剂 (Exendin-4) 和体内应用表达 GLP-1 的重组腺病毒 (rAd-GLP-1) 处理可促进 α 细胞增殖和转分化。由 GLP-1 引起的 α 细胞扩增和转分化可能有助于 β 细胞补偿。用 rAd-GLP-1 处理小鼠,发现小鼠胰腺 β 细胞比例增加,说明 rAd-GLP-1 处理的小鼠中 α 细胞可能转分化为 β 细胞,并且由 GLP-1 引起的 α 细胞增殖不会对葡萄糖的代谢控制产生不利影响。

成纤维细胞生长因子 21 (fibroblast growth factor 21, FGF21) 是一种在肝脏中高表达的循环蛋白,在胰腺的 α 细胞和 β 细胞中也能检测到其表达^[21]。FGF21 能诱导 α 细胞中 Pdx1 和 Ngn3 产生,刺激 β 细胞形成,而 GLP-1 通过 α 细胞中 cAMP 的增加,提高 FGF21 表达水平。用 rAd-GLP-1 或 Exendin-4 可以诱导 FGF21,并随后增加 β 细胞转录因子^[22]。因此,GLP-1 能增强 Pdx1 和 Ngn3 的表达,促进体外人胰岛细胞和小鼠体内 α 细胞向 β 细胞的转分化。然而 GLP-1 作为一类广泛使用的降糖药物,其降糖效应是否涉及人胰岛 α 细胞向 β 细胞的转分化,还需进一步临床研究。

3. 胰高血糖素受体单克隆抗体 (GCGRmAb): GCGRmAb 通过抑制胰高血糖素功能不仅可以改善血糖控制,还可以促进 db/db 小鼠和 HFD + STZ 诱导的 T2D 小鼠的胰岛素分泌并增加 β 细胞质量^[23]。GCGRmAb 处理促进了 α 细胞回归到祖细胞状态,并诱导了祖细胞衍生的 β 细胞新生^[24]。Cui 等^[25] 通过使用了可诱导的 Ngn3⁺ 细胞谱系追踪 2 型糖尿病小鼠,发现 GCGRmAb 组胰岛素阳性细胞比对照组多,表明 GCGRmAb 在 2 型糖尿病小鼠中诱导胰腺内分泌祖细胞重新激活并向 β 细胞分化。此外,发现 GCGRmAb 增强了胰岛素分泌并上调了培养的原代小鼠胰岛中与 β 细胞再生相关的基因的表达 (Ngn3、Glut2 和 Pdx1),表明 GCGRmAb 对胰岛细胞表型转

化有直接影响。

4. 达格列净:达格列净是 SGLT2 抑制剂,除降糖作用外对 β 细胞具有直接保护作用。达格列净上调啮齿动物胰岛和 α TC1.9 细胞中胰腺祖细胞和 β 细胞特异性标志物 mRNA 水平,表明达格列净可能诱导 α 细胞转化为 β 细胞,并通过使用 α 细胞谱系追踪证实 α 细胞转化为 β 细胞。此外,达格列净上调 Pcsk1 (编码激素原转化酶 1/3,一种将胰高血糖素前体加工成 GLP-1 的重要酶) 的表达,并增加 α TC1.9 细胞中 GLP-1 的含量和分泌^[26]。鉴于 GLP-1 具有增强 β 细胞增殖,促进干细胞向 β 细胞分化,并诱导 α 细胞到 β 细胞转分化的能力,因此,达格列净对 β 细胞再生的促进作用可能部分通过 α 细胞分泌的 GLP-1 介导。还发现达格列净上调了培养的原代啮齿动物胰岛和 α TC1.9 细胞中 Hnf4 α 的表达,如前所述 Hnf4 α 促进 α 细胞向 β 细胞的转化^[14]。因此,Hnf4 α 可能参与了达格列净诱导的胰腺内分泌细胞表型转换。

5. 白藜芦醇:白藜芦醇已成为一种很有前途的降糖药,有研究报道其能诱导胰腺 α 细胞中几种 β 细胞基因表达和胰岛素生成。白藜芦醇增加关键 β 细胞转录因子的表达,例如 Pdx1、Ngn3、NeuroD1、Nkx6.1 以及 FOXO1。用白藜芦醇处理细胞 24h 后,发现在细胞中以 SirT1 依赖性机制显著增加小鼠胰岛素 mRNA 的表达,而胰高血糖素 mRNA 没有显著改变。将 HDAC 抑制剂与白藜芦醇结合使用可进一步增强 mRNA 和蛋白质水平的胰岛素诱导^[27]。

6. BRD7389:小分子 BRD7389 对 α 细胞具有特异性,可在终末分化的 α 细胞中以剂量依赖性上调胰岛素和 Pdx1 的表达。BRD7389 还增加人原代胰岛细胞中 β 细胞特异性基因的表达,可能涉及的机制是 BRD7389 抑制 p90 核糖体 S6 蛋白激酶 (Rsk) 激酶活性,导致胰岛素表达增加^[28]。Rsk 是高度保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族,可作为 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路的下游效应器调节葡萄糖稳态。BRD7389 在体外和细胞培养中具有作为 Rsk 家族激酶抑制剂的活性,通过同时抑制多个 Rsk 家族成员发挥作用,促进胰岛 α 细胞向 β 细胞的转分化。

综上所述, α 细胞在 β 细胞数量急剧减少的条件下可转分化为 β 细胞的研究,提示 α 细胞可作为新的 β 细胞产生来源。成熟 β 细胞表达 Pdx1、Ngn3、Pax4、MafA、Nkx6.1 等转录因子,成功的转分化即通过各种方式使 α 细胞表达 β 细胞标志物和 (或) 抑制

α 细胞标志物的表达,并使新形成的 β 样细胞具有一定的生物学功能。几种临床药物包括 GLP-1、达格列净和 GABA,已被证明可促进成年啮齿动物 β 细胞增殖,但在人体中是否具有相同的作用还缺乏相关数据。此外,转分化细胞的生理调节功能仍需进一步研究,例如细胞是否在低葡萄糖条件下终止胰岛素分泌,或者细胞是否对各种生理刺激如增加的代谢需求有反应,因此后续还需不断地探索研究。总而言之,以 α 细胞转分化为 β 细胞作为增加功能性 β 细胞数量的靶点,在糖尿病治疗中具有巨大潜力。

参考文献

- 1 Yu M, Agarwal D, Korutla L, *et al.* Islet transplantation in the subcutaneous space achieves long-term euglycaemia in preclinical models of type 1 diabetes[J]. *Nat Metab*, 2020, 2(10): 1013-1020
- 2 Thorel F, Nepote V, Avril I, *et al.* Conversion of adult pancreatic alpha-cells to beta-cells after extreme beta-cell loss[J]. *Nature*, 2010, 464(7292): 1149-1154
- 3 Li LC, Qiu WL, Zhang YW, *et al.* Single-cell transcriptomic analyses reveal distinct dorsal/ventral pancreatic programs[J]. *EMBO Rep*, 2018, 19(10): e46148
- 4 洪洋, 杨开明. 胰腺十二指肠同源盒基因-1/神经生成素 3 信号通路在胰岛 β 细胞分化中的作用机制研究进展[J]. *山东医药*, 2020, 60(30): 92-96
- 5 Liu J, Banerjee A, Herring CA, *et al.* Neurog3-independent methylation is the earliest detectable mark distinguishing pancreatic progenitor identity[J]. *Dev Cell*, 2019, 48(1): 49-63, e7
- 6 林泽明, 肖新华. 胰岛细胞转分化及相关转录因子的研究进展[J]. *医学研究杂志*, 2017, 46(3): 182-185
- 7 Zhu X, Oguh A, Gingerich MA, *et al.* Cell cycle regulation of the Pdx1 transcription factor in developing pancreas and insulin-producing β -cells[J]. *Diabetes*, 2021, 70(4): 903-916
- 8 Gao T, McKenna B, Li C, *et al.* Pdx1 maintains β cell identity and function by repressing an α cell program[J]. *Cell Metab*, 2014, 19(2): 259-271
- 9 Nishimura W, Iwasa H, Tumurkhuu M. Role of the transcription factor MAFA in the maintenance of pancreatic β -cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(9): 4478
- 10 Xiao X, Guo P, Shiota C, *et al.* Endogenous reprogramming of alpha cells into beta cells, induced by viral gene therapy, reverses autoimmune diabetes[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 22(1): 78-90, e4
- 11 Zhang Y, Fava GE, Wang H, *et al.* PAX4 gene transfer induces α -to- β cell phenotypic conversion and confers therapeutic benefits for diabetes treatment[J]. *Mol Ther*, 2016, 24(2): 251-260
- 12 Agha H, Abdelalim EM. NKX6.1 transcription factor: a crucial regulator of pancreatic β cell development, identity, and proliferation[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 459
- 13 Chakravarthy H, Gu X, Enge M, *et al.* Converting adult pancreatic islet α cells into β cells by targeting both Dnmt1 and Arx[J]. *Cell Metab*, 2017, 25(3): 622-634
- 14 Sangan CB, Jover R, Heimberg H, *et al.* In vitro reprogramming of pancreatic alpha cells towards a beta cell phenotype following ectopic HNF4 α expression[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 399: 50-59
- 15 Yi Z, Waseem Ghani M, Ghani H, *et al.* Gimmicks of gamma-aminobutyric acid (GABA) in pancreatic beta-cell regeneration through transdifferentiation of pancreatic alpha-to-beta-cells[J]. *Cell Biol Int*, 2020, 44(4): 926-936
- 16 Ben-Othman N, Vieira A, Courtney M, *et al.* Long-term GABA administration induces alpha cell-mediated beta-like cell neogenesis[J]. *Cell*, 2017, 168(1-2): 73-85, e11
- 17 Li J, Casteels T, Frogne T, *et al.* Artemisinins target GABA_A receptor signaling and impair α cell identity[J]. *Cell*, 2017, 168(1-2): 86-100, e15
- 18 van der Meulen T, Lee S, Noordeloos E, *et al.* Artemether does not turn α cells into β cells[J]. *Cell Metab*, 2018, 27(1): 218-225, e4
- 19 Müller TD, Finan B, Bloom S, *et al.* Glucagon-like peptide 1 (GLP-1)[J]. *Mol Metab*, 2019, 30: 72-130
- 20 Lu W, Li X, Luo Y. FGF21 in obesity and cancer: new insights[J]. *Cancer Lett*, 2021, 499: 5-13
- 21 Lee YS, Lee C, Choung JS, *et al.* Glucagon-like peptide 1 increases beta-cell regeneration by promoting alpha-to-beta-cell transdifferentiation[J]. *Diabetes*, 2018, 67(12): 2601-2614
- 22 Wang MY, Dean ED, Quittner-Strom E, *et al.* Glucagon blockade restores functional β -cell mass in type 1 diabetic mice and enhances function of human islets[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118(9): e2022142118
- 23 Rubin de Celis MF, Bonner-Weir S. Glucagon receptor antagonists might stimulate β -cell expansion[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2022, 18(11): 659-660
- 24 Cui X, Feng J, Wei T, *et al.* Pro- α -cell-derived β -cells contribute to β -cell neogenesis induced by antagonistic glucagon receptor antibody in type 2 diabetic mice[J]. *iScience*, 2022, 25(7): 104567
- 25 Wei R, Cui X, Feng J, *et al.* Dapagliflozin promotes beta cell regeneration by inducing pancreatic endocrine cell phenotype conversion in type 2 diabetic mice[J]. *Metabolism*, 2020, 111: 154324
- 26 Xie S, Sinha RA, Singh BK, *et al.* Resveratrol induces insulin gene expression in mouse pancreatic α -cells[J]. *Cell Biosci*, 2013, 3(1): 47
- 27 Fomina-Yadlin D, Kubicek S, Walpita D, *et al.* Small-molecule inducers of insulin expression in pancreatic α -cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(34): 15099-15104

(收稿日期: 2022-09-07)

(修回日期: 2022-10-05)