

drogen index, FAI) 的显著降低, 并且这些患者在 LH 刺激后睾酮分泌水平也显著降低^[7]。女性月经周期的变化及 LH 水平升高所引起的雄激素分泌都与卵巢密切相关, 胰岛素增敏剂对 PCOS 患者内分泌机能的调节作用说明胰岛素增敏剂不仅调节了全身的胰岛素敏感度, 同时也影响了 PCOS 患者的卵巢功能^[8]。

通常认为, 卵巢的卵泡膜细胞与颗粒细胞分别受到 LH/FSH 的调节, 从而在一系列不同的合成酶的作用下合成睾酮、雄烯二酮及雌二醇, 在不同细胞中所表达酶的种类的不同决定了两种细胞分泌甾体激素的差异。卵泡膜细胞主要表达 17 α -羟化酶 (CYP17), 而颗粒细胞则表达较高水平的芳香化酶细胞色素 P450 及 3 β -羟基脱氢酶 (3 β -HSD), CYP17 是卵巢组织合成睾酮的关键酶, 通常在颗粒细胞当中几乎检测不到 CYP17 蛋白的表达^[9]。但无论是卵泡膜细胞还是颗粒细胞, 在使用信号通路抑制剂抑制磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (PI₃K) 途径后, 细胞的甾体激素合成能力都有增强的趋势, 尤其是雄激素合成能力上升, 而在 PI₃K 信号通路受到抑制的颗粒细胞中也能检测到 CYP17 基因表达水平的上调^[10,11]。说明胰岛素信号通路活性的改变与 PCOS 卵巢雄性化表现之间存在密切联系。在模型动物的研究中也发现, 胰岛素受体下游 PI₃K 信号通路的关键基因 AKT 敲除小鼠表现出血清雄激素水平上升的特征及卵巢多囊化表现, 说明胰岛素信号通路的异常对卵巢功能可能产生直接的影响, 甚至可能与卵巢多囊化表现的病因直接相关^[12]。

二、卵巢局部 AKT/GSK₃ β 通路功能的变化可能导致 PCOS 卵巢甾体激素合成方式的异化

虽然改变卵巢局部的胰岛素信号通路会影响卵巢的甾体激素合成, 但究竟是哪种类型细胞的胰岛素通路变化对 PCOS 高雄激素血症的临床表征起主要的贡献作用目前尚不清楚。在体外培养的卵巢颗粒细胞及卵泡膜细胞在胰岛素信号通路 PI₃K 阻断后都检测到雄激素合成量及相关甾体激素合成酶的表达上调, 提示 PCOS 患者血液中高水平的雄激素不仅可能来自功能亢进的卵泡膜细胞, 还有可能来源于胰岛素信号通路受损而发生内分泌功能转变的卵巢颗粒细胞^[13,14]。研究表明, 激动蛋白 1 家族 (AP-1 family) 分子 C-FOS 在 PCOS 患者卵巢颗粒细胞当中的表达量显著降低, C-FOS 能够显著抑制 CYP17 的活性并可能是卵巢颗粒细胞失去雄激素分泌功能的主

要原因之一^[9]。C-FOS 分子在 PCOS 患者卵巢颗粒细胞当中的表达量显著降低很可能造成卵巢颗粒细胞功能的异化, 使颗粒细胞由雌激素分泌细胞转化为雄激素分泌细胞^[15]。而在这一过程中卵巢局部的 AKT/GSK₃ β 信号通路分子表达及活性的变化可能起到了决定性的作用。

糖原合成酶激酶 β (GSK₃ β) 是 PI₃K 信号通路的关键分子, 通过抑制下游糖原合成酶的活性调控细胞糖原合成过程。GSK₃ β 本身的活性则受到同属 PI₃K 途径上游分子 AKT 的磷酸化抑制。GSK₃ β 丝氨酸磷酸化位点 (Ser9) 被 AKT 蛋白磷酸化后, 活性就会受到抑制, 降低对下游糖原合成酶 (GS) 的抑制作用从而启动糖原合成过程; 而酪氨酸磷酸化位点 (Tyr216) 被磷酸化后 GSK₃ β 的活性则被增强, 随着 GSK₃ β 活性的上调, 糖原合成酶的活性受到抑制, 细胞糖原合成能力降低^[16]。

有研究表明, AKT/GSK₃ β 信号通路的活性变化与 PCOS 疾病的发生关系密切。早在 2002 年 Gonzalez 等^[17]的研究就表明, 在人 HaCaT 细胞中由紫外线所引起的细胞 C-FOS 表达水平的升高受到 PI₃K 信号通路分子 AKT 及 GSK₃ β 调节。在胰腺癌细胞中 AKT 能够通过调节 C-JNK 的磷酸化水平对 C-FOS 的表达水平产生调节作用^[18]。而在破骨细胞中抑制 GSK₃ β 的表达也会对 C-FOS 基因的表达产生降调节作用^[19]。尽管目前尚无明确的研究表明卵巢组织中 AKT/GSK₃ β 分子表达水平的变化对 C-FOS 基因表达水平的直接影响, 但综合 AKT/GSK₃ β 在其它类型细胞中对 C-FOS 表达水平的调控作用、PCOS 卵巢颗粒细胞中 C-FOS 基因的异常表达以及 PCOS 患者表现出的异常的甾体激素合成模式, 笔者推测卵巢组织中的 PI₃K/AKT/GSK₃ β 信号通路功能的变化很可能改变卵巢细胞 C-FOS 基因的表达模式而造成 PCOS 患者卵巢来源的雄激素水平异常。

三、AKT/GSK₃ β 通路因子在 PCOS 患者及 P-COS 模型动物中的异常表达

在 PCOS 患者中发现卵巢中的主要雄激素合成细胞-卵泡膜细胞有增殖的现象, 这可能与 PCOS 患者体内较高的胰岛素水平有关。高浓度的血胰岛素水平可能刺激卵泡膜细胞的增生从而使卵巢雄激素的合成量提高, 但不具有高胰岛素血症及代谢综合征的某些 PCOS 患者也表现出高雄激素血症的特征。这就提示单纯的卵泡膜细胞增生可能不是造成 PCOS 高雄激素血症的成因, 卵巢细胞甾体激素合成能力的

变化可能才是导致 PCOS 卵巢内分泌异常的关键因素。AKT/GSK₃β 信号通路异常能导致卵巢的雄性化表现,那么 PCOS 患者所体现出的高雄化特征很可能也与这一信号通路的活性变化相关。

一项关于 PCOS 患者 AKT 基因与 GSK₃β 基因多态性的研究发现,在这两种基因发生点突变的人群中 PCOS 的发生率显著提高,对这些患者脂肪组织 GSK₃β 蛋白活性的研究中也发现,GSK₃β 蛋白酪氨酸磷酸化水平上升而丝氨酸磷酸化水平下降^[20]。PCOS 患者体内 GSK₃β 丝氨酸磷酸化水平的下降,说明胰岛素信号通路对糖原合成过程的调控作用受到了抑制,在 PCOS 患者体内 GSK₃β 可能处于一种过度激活的状态。在 PCOS 模型动物中同样也发现 AKT/GSK₃β 通路因子的异常表达,在脱氢表雄酮构建的 PCOS 大鼠模型的卵巢组织中以及出生前高雄化的绵羊 PCOS 模型的肌肉组织中都发现 AKT 基因表达量的降低及 GSK₃β 表达水平的上升^[21,22]。相似的情况也出现在 AKT 的亚型基因 AKT2 基因敲除的小鼠中,AKT2 基因敲除的小鼠除表现为糖脂代谢异常、胰岛素抵抗等代谢异常特征外,还具有发情周期延长、血清雄激素水平升高等典型的生殖功能障碍,在这些小鼠的卵巢组织中也发现 GSK₃β 基因丝氨酸磷酸化水平的降低^[12]。这些结果都提示 GSK₃β 基因表达水平及活性的提高可能与模型动物雄激素水平的升高密切相关,而 PCOS 患者中 AKT/GSK₃β 基因点突变的高发也预示着这一信号通路可能与 PCOS 疾病发生的病理机制有关,卵巢局部胰岛素信号通路功能的异常很可能是导致卵巢组织雄激素异常分泌的主要原因。

四、胰岛素增敏剂对 PCOS 高雄激素血症的疗效分析

既然卵巢局部的胰岛素信号通路异常与 PCOS 高雄激素血症之间关系密切,那么应用胰岛素增敏剂则可能对 PCOS 高雄激素血症的临床表征起到治疗和控制作用。事实上临床应用胰岛素增敏剂治疗 PCOS 时已经发现其对血清雄激素的调节作用,如本研究之前提到的二甲双胍对 PCOS 患者血清游离雄激素水平及短期使用二甲双胍对 PCOS 患者 FAI 的调节作用^[6,7]。除了二甲双胍,其他胰岛素增敏剂也对 PCOS 患者的雄激素水平起到调节作用。《多囊卵巢综合征中国诊疗指南》中推荐的胰岛素增敏剂吡格列酮及阿卡波糖都能够降低 PCOS 患者的血清睾酮水平^[23,24]。虽然胰岛素增敏药物对 PCOS 高雄激素

血症的疗效作用已经临床验证,但药物的作用机制仍未明确,相关的机制研究仍局限于动物模型当中。

在 DHEA 及 DHT 诱导的 PCOS 大鼠模型中,二甲双胍能通过影响卵巢细胞内 AMPK 信号通路调节睾酮的合成,而吡格列酮的作用机制则可能与激活卵巢细胞内的 PPAR γ 信号通路有关。而 AMPK 信号通路及 PPAR γ 信号通路都能对 AKT/GSK₃β 信号通路的活性产生影响,故上述胰岛素增敏剂降低 PCOS 患者雄激素水平的药理机制与改善胰岛素信号通路关键分子的活性关系密切^[25,26]。而阿卡波糖降低 PCOS 患者血清雄激素的机制目前尚无明确的研究结论。尽管二甲双胍及吡格列酮能降低 PCOS 的血清雄激素水平,但并不是所有的胰岛素增敏剂都有降低雄激素的作用。临床广泛使用的肌醇(myoinositol)使用 3 个月后,虽然能够显著提高 PCOS 患者的葡萄糖耐量、胰岛素敏感度及降低空腹胰岛素水平,但对患者的睾酮及游离睾酮水平没有产生显著的影响^[6]。这一结果进一步表明胰岛素水平的升高并不是造成 PCOS 患者高雄激素血症的直接因素,而卵巢等雄激素合成器官中胰岛素信号通路的异化才可能是造成 PCOS 高雄激素血症的主要原因。

五、中国 PCOS 患者流行病学特征及胰岛素增敏剂的临床疗效分析

多个国家和地区的流行病学报道表明,不同地域、种族及不同生活习惯人群中的 PCOS 发病情况和临床表现各不相同,我国 PCOS 患者的发病特征与欧美人群相比有较大的差异。在我国 PCOS 的主要临床表征以排卵障碍为主。美国 PCOS 患者中稀发排卵的发生率为 23%,而国内报道在 PCOS 人群中稀发排卵的发生率可达 60%^[27]。同时中国 PCOS 人群中 51.8% 发生痤疮,其中有 38.8% 为持续痤疮,且部分患者在生育后或随着年龄增长痤疮逐渐消失^[28]。这些流行病学的研究结果提示,与欧美人群比较,中国 PCOS 患者卵巢功能的异化对卵巢排卵及生殖机能的影响更为明显。而 PCOS 患者痤疮的发生与患者体内卵巢来源的雄激素水平的异常有关,随着生育对卵巢功能的影响及年龄增长导致患者痤疮症状的减弱或消失恰好与生育或衰老对卵巢功能的影响相呼应,这也从另一方面验证了 PCOS 患者卵巢功能的异化可能是导致其体内内分泌水平异常的根本原因。

对中国 PCOS 患者应用胰岛素增敏剂的临床研究表明,胰岛素增敏剂单独使用或与炔雌醇环丙孕酮片(达英-35)联合使用都能够有效改善患者胰岛素

抵抗症状及内分泌紊乱状态,尤其对 PCOS 患者体内异常的睾酮水平有显著的调节作用^[29,30]。尽管中国 PCOS 患者的流行病学特征与欧美人群存在差异,但二者都具有卵巢内分泌功能的异常及胰岛素增敏剂治疗的明确疗效,有理由推测胰岛素增敏剂对 PCOS 内分泌紊乱的疗效很可能与其对卵巢局部胰岛素敏感度的影响有关。对于卵巢局部胰岛素敏感度与卵巢甾体激素合成能力相互影响的机制研究对开发针对卵巢器官胰岛素增敏的药物、拓展临床 PCOS 的治疗思路可能具有重要的参考价值。

六、展 望

高雄激素血症是 PCOS 患者常见的临床表现之一,雄激素水平的升高不仅对患者的生育功能产生不良影响,而且由雄激素过高所导致的多毛、痤疮等并发症也不利于患者生活质量的提高。卵巢是体内主要的雄激素合成器官之一,卵巢局部胰岛素信号通路活性的改变很可能导致卵巢雄激素分泌量升高及卵巢细胞甾体激素分泌模式的变化,是 PCOS 患者高雄激素血症发生的分子基础。目前胰岛素增敏剂降低 PCOS 患者高雄激素水平的临床疗效已经得到证实,但其降低雄激素水平的药理机制及胰岛素增敏剂对卵巢生殖内分泌的影响仍处于实验研究阶段。有关卵巢组织中胰岛素信号通路对卵巢甾体激素合成能力影响的研究对阐明 PCOS 发病机制、制定有针对性的治疗方案有重要的临床指导意义。

参考文献

- 1 Spritzer PM, Lecke SB, Satler F, *et al.* Adipose tissue dysfunction, adipokines, and low - grade chronic inflammation in polycystic ovary syndrome[J]. *Reproduction*, 2015, 149(5):219 - 227
- 2 Escobar - Morreale HF. Polycystic ovary syndrome: definition, aetiology, diagnosis and treatment[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 14(5):270 - 284
- 3 Yilmaz B, Vellanki P, Ata B, *et al.* Diabetes mellitus and insulin resistance in mothers, fathers, sisters, and brothers of women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and Meta - analysis[J]. *Fertil Steril*, 2018, 110(3):523 - 533
- 4 Pluta D, Franik G, Blukacz Ł, *et al.* The correlation between the concentration of hepcidin in serum and the occurrence of insulin resistance and hyperandrogenemia in women with polycystic ovary syndrome [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(21):7379 - 7384
- 5 Ortiz - Flores AE, Luque - Ramírez M, Escobar - Morreale HF. Pharmacotherapeutic management of comorbid polycystic ovary syndrome and diabetes[J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2018, 19(17):1915 - 1926
- 6 Tagliaferri V, Romualdi D, Immediata V, *et al.* Metformin vs myoinositol: which is better in obese polycystic ovary syndrome patients? A randomized controlled crossover study[J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2017, 86(5):725 - 730
- 7 Kurzthaler D, Hadziomerovic - Pekic D, Wildt L, *et al.* Metformin induces a prompt decrease in LH - stimulated testosterone response in women with PCOS independent of its insulin - sensitizing effects[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2014, 12(6):98 - 102
- 8 Hwang KR, Choi YM, Kim JJ, *et al.* Effects of insulin - sensitizing agents and insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome [J]. *Clin Exp Reprod Med*, 2013, 40(2):100 - 105
- 9 Patel SS, Beshay VE, Escobar JC, *et al.* Molecular mechanism for repression of 17alpha - hydroxylase expression and androstenedione production in granulosa cells[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009, 94(12):5163 - 5168
- 10 Huang Y, Li W, Wang CC, *et al.* Cryptotanshinone reverses ovarian insulin resistance in mice through activation of insulin signaling and the regulation of glucose transporters and hormone synthesizing enzymes[J]. *Fertil Steril*, 2014, 102(2):589 - 596
- 11 Zhao L, Li W, Han F, *et al.* Berberine reduces insulin resistance induced by dexamethasone in theca cells in vitro [J]. *Fertil Steril*, 2011, 95(1):461 - 463
- 12 Restuccia DF, Hynx D, Hemmings BA. Loss of PKB β /Akt2 predisposes mice to ovarian cyst formation and increases the severity of polycystic ovary formation in vivo[J]. *Dis Model Mech*, 2012, 5(3):403 - 411
- 13 Yan M, Wang J, Wu X, *et al.* Induction of insulin resistance by phosphatidylinositol - 3 - kinase inhibitor in porcine granulosa cells [J]. *Fertil Steril*, 2009, 92(6):2119 - 2121
- 14 Lan ZJ, Krause MS, Redding SD, *et al.* Selective deletion of Pten in theca - interstitial cells leads to androgen excess and ovarian dysfunction in mice[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2017, 15(44):26 - 37
- 15 Ye D, Li M, Zhang Y, *et al.* Cryptotanshinone regulates androgen synthesis through the ERK/c - Fos/CYP17 pathway in porcine granulosa cells [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 20(59):588 - 598
- 16 Wu J, Zhu D, Zhang J, *et al.* Lithium protects against methamphetamine - induced neurotoxicity in PC12 cells via Akt/GSK β /mTOR pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 465(3):368 - 373
- 17 Gonzales M, Bowden GT. The role of PI 3 - kinase in the UVB - induced expression of c - fos [J]. *Oncogene*, 2002, 21(17):2721 - 2728
- 18 Shin S, Asano T, Yao Y, *et al.* Activator protein - 1 has an essential role in pancreatic cancer cells and is regulated by a novel Akt - mediated mechanism[J]. *Mol Cancer Res*, 2009, 7(5):745 - 754
- 19 Kim JY, Oh HM, Kwak SC, *et al.* Purslane suppresses osteoclast differentiation and bone resorbing activity via inhibition of Akt/GSK β - c - Fos - NFATc1 signaling in vitro and prevents lipopolysaccharide - induced bone loss in vivo[J]. *Biol Pharm Bull*, 2015, 38(1):66 - 74
- 20 Chang W, Goodarzi MO, Williams H, *et al.* Adipocytes from women with polycystic ovary syndrome demonstrate altered phosphorylation

- and activity of glycogen synthase kinase 3[J]. *Fertil Steril*, 2008, 90(6):2291-2297
- 21 Di Pietro M, Parborell F, Irueta G, *et al.* Metformin regulates ovarian angiogenesis and follicular development in a female polycystic ovary syndrome rat model[J]. *Endocrinology*, 2015, 156(4):1453-1463
- 22 Cardoso RC, Burns A, Moeller J, *et al.* Developmental programming: insulin sensitizer prevents the GnRH-stimulated LH hypersecretion in a sheep model of PCOS[J]. *Endocrinology*, 2016, 157(12):4641-4653
- 23 Stabile G, Borrielli I, Arsenio AC, *et al.* Effects of the insulin sensitizer pioglitazone on menstrual irregularity, insulin resistance and hyperandrogenism in young women with polycystic ovary syndrome[J]. *J Pediatr Adolesc Gynecol*, 2014, 27(3):177-182
- 24 Zhang YY, Hou LQ, Zhao TY. Effects of acarbose on polycystic ovary syndrome: a Meta-analysis[J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2014, 122(6):373-378
- 25 Gwak H, Kim Y, An H, *et al.* Metformin induces degradation of cyclin D1 via AMPK/GSK β axis in ovarian cancer[J]. *Mol Carcinog*, 2017, 56(2):349-358
- 26 Højlund K, Glinborg D, Andersen NR, *et al.* Impaired insulin-stimulated phosphorylation of Akt and AS160 in skeletal muscle of women with polycystic ovary syndrome is reversed by pioglitazone treatment[J]. *Diabetes*, 2008, 57(2):357-366
- 27 郭美运, 姜晨蕾, 张红娜. 女性不孕患者多囊卵巢综合征患病率及临床特征的研究[J]. *实用妇科内分泌杂志*, 2008, 5(23):26-30
- 28 袁莹莹, 赵君利. 多囊卵巢综合征流行病学特点[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2019, 35(3):261-264
- 29 杨红燕. 胰岛素增敏剂对多囊卵巢综合征内分泌紊乱患者的疗效观察[J]. *实用妇科内分泌杂志:电子版*, 2017, 33(16):46-48
- 30 王茜, 张丽桢, 胜楠. 达英-35联用胰岛素增敏剂治疗多囊卵巢综合征效果研究[J]. *中国妇幼保健*, 2015, 8(6):912-914
(收稿日期:2019-03-03)
(修回日期:2019-04-26)

T 淋巴细胞激活蛋白家族 2 对白细胞的调控作用

梁 卉 王 尊 庄学玲 熊礼宽

摘 要 T 淋巴细胞激活蛋白家族 2 (the linker for activator of T-cells family member 2, LAT2) 蛋白是一个跨膜转接蛋白 (transmembrane adaptor proteins, TRAPs), 具有多个酪氨酸磷酸化位点和支架功能, 可捕获细胞内下游转接蛋白和效应蛋白, 发挥生物学作用。LAT2 在白细胞中呈现“表达二分法”, 参与白细胞的成熟分化和免疫应答。LAT2 的差异性表达与白细胞的分化成熟, 髓性白血病的类型和药物敏感度以及肿瘤的预后有关。本文就 LAT2 的基因克隆和表达、蛋白结构和功能及其在细胞中的作用以及可能机制进行综述。

关键词 T-细胞激活蛋白家族 2 蛋白 调控 细胞内信号 磷酸化 白细胞

中图分类号 R511 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.01.005

T 淋巴细胞激活蛋白家族 2 基因 (the linker for activator of T-cells family member 2, LAT2) 由 Doyle 等于 2000 年在人类和小鼠编码 Williams Beuren 综合征关键位点 5 蛋白 (Williams Beuren syndrome critical region 5, WBSCR5) 区域内发现, 命名为 WBSCR15。2002 年 Brdicka 等利用体外激酶分析, 在髓细胞鞘糖脂富集膜 (glycophingolipid-enriched membrane,

GEMs) 蛋白区域蛋白中发现并命名为非 T 淋巴细胞激活蛋白 (non-T-cell activator linker, NTAL)。2003 年 Janssen 等成功克隆了 WBSCR15 序列, 由于其在 B 淋巴细胞中表达和发挥作用, 因此命名为 B 淋巴细胞激活蛋白 (linker activator for B-cells, LAB)。2006 年人类基因组命名委员会根据蛋白结构特点, 将其命名为 LAT2。

LAT2 是一个跨膜转接蛋白 (transmembrane adaptor proteins, TRAPs), 具有多个酪氨酸磷酸化位点, 在后续通路中发挥支架和信号传递功能。LAT2 主要表达于髓样细胞和淋巴样细胞中, 如肥大细胞、B 淋巴细胞、自然杀伤细胞 (natural killer cells, NKs)、嗜碱性粒细胞和单核细胞等。LAT2 磷酸化后可直接或间接捕获细胞质内信号分子, 包括生长因子受体结合蛋白 2 (growth factor receptor-bound protein 2,

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81800109); 深圳市科技计划项目 (JCYJ20160429172031572); 深圳市出生缺陷重点实验室基金资助项目 (ZDSYS201504301707152); 深圳市“三名工程”出生缺陷防治研究与转化团队基金资助项目 (SZSM201406007)

作者单位: 518133 暨南大学附属深圳市宝安区妇幼保健院中心实验室、深圳市出生缺陷研究重点实验室 (梁卉、熊礼宽), 乳腺科 (王尊), 新生儿科 (庄学玲)

通讯作者: 熊礼宽, 博士生导师, 研究员, 电子信箱: xionglk@sina.cn