

文章编号:1672-058X(2011)01-0067-03

GLP-1 及其类似物调节 β 细胞增殖的分子机制*

肖 何¹, 刘建辉², 莫志宏¹

(1. 重庆大学 化学化工学院, 重庆 400044; 2. 重庆工商大学 药物化学与化学生物学研究中心, 重庆 400067)

摘 要:胰高血糖素样肽 1 (Glucagon-like peptide1, GLP-1) 是一种 L 细胞产生的内源性激素, 其主要作用是调节胰岛素和胰高血糖素的分泌; 越来越多的研究表明, GLP-1 及其类似物通过激活其受体, 在调节胰岛 β 细胞的增殖和分化、抑制细胞凋亡、促进胰岛素释放、降低血糖以及改善糖耐量等方面都有十分重要的作用; 近年来, 特别是有关 GLP-1 及其类似物激活其受体引起的下游细胞信号转导机制有大量的报道, 现就 GLP-1 及其类似物调节 β 细胞增殖的分子机制及细胞信号转导途径进行综述。

关键词:胰高血糖素样肽 1; 细胞增殖; 反式激活; 细胞周期蛋白

中图分类号: Q279

文献标志码: A

1 GLP-1 的生理功能

胰高血糖素样肽 1 (Glucagon-like peptide1, GLP-1) 发现于 20 世纪 80 年代中期, 是由 L 细胞分泌的多肽, 由 30 个氨基酸残基组成。GLP-1 通过与细胞表面特异性 GLP-1 受体结合而发挥其生物学作用。GLP-1 受体属于跨膜 G 蛋白偶联受体超家族, 广泛表达于胰岛、胃肠道、肾、心、肺和中枢神经系统。目前发现的 GLP-1 的主要生理作用包括葡萄糖依赖性的胰岛素分泌增加和胰高血糖素的释放受抑, 从而发挥其良好的降糖作用。GLP-1 的其他作用还包括刺激胰岛 β 细胞增殖, 诱导胰岛 β 细胞再生, 阻止胰岛 β 细胞凋亡; 减弱胃肠蠕动, 延缓胃排空, 降低食欲和食物摄入; 增加葡萄糖的利用, 改善胰岛素敏感性; 保护心脏和心血管系统等^[1]。因此, GLP-1 在糖尿病治疗领域具有广阔的应用前景。但是, 由于内源性 GLP-1 半衰期极短, 在体内很容易被 DPP-IV 降解, 因此临床上难以应用。在此背景下, GLP-1 类似物(如 Liraglutide, Exenatide) 和 DPP-IV 抑制剂受到了广泛关注。

人和啮齿类动物一样, 在出生前后一个短暂段时间内胰腺 β 细胞数量将迅速增加, 对此后的生长发育和成熟期提供足够数量的 β 细胞以维持正常的生理胰岛素水平起着关键作用^[2]。然而, 在 2 型糖尿病中, 由于外周组织的胰岛素抵抗引起的氧化应激、高糖高脂诱发的 β 细胞丙酮酸代谢循环的紊乱以及与之密切相关的人胰岛淀粉样蛋白 (human islet amyloid polypeptide, hIAPP) 的聚集等原因, 促使 β 细胞凋亡, 使 β 细胞数量下降导致胰岛素分泌不足^[3]。因此, 通过促进 β 细胞功能和增殖甚至诱导胰腺导管细胞分化成新的 β 细胞已成为治疗 II 型糖尿病的重要途径^[4]。传统的糖尿病治疗药物通过刺激胰岛素分泌来降低血糖, 加重了 β 细胞的负担, 容易引起 β 细胞功能衰竭, 因此若能促进 β 细胞增生, 提供具有完整功能的 β 细胞, 将有可能从根本上治疗 2 型糖尿病。

2 GLP-1 及其类似物诱导细胞增殖的细胞信号转导机制

GLP-1 能够激活调节胰岛细胞增殖和分化的编码早期即刻基因 (Immediate early genes) 而增加 β 细胞增殖和新生, 抑制 β 细胞凋亡从而增加 β 细胞量。GLP-1 一方面经由反式激活方式激活蛋白激酶 B (protein

收稿日期: 2010-07-20; 修回日期: 2010-08-27.

* 基金项目: 重庆市重点基金项目 (CSTC, 2009BA5069).

作者简介: 肖何 (1984-), 男, 重庆人, 硕士研究生, 从事药物化学研究.

kinase B, PKB), 负调控叉头状转录因子(Forkhead box O1, FoxO1), 进而促进 β 细胞的增殖。另外, GLP-1 及其类似物 Exendin-4 可直接上调细胞周期蛋白, 包括 cyclin D1, cyclinD2 和 cyclin A2 等控制细胞周期进程的关键性蛋白, 从而实现对(细胞增殖的调控作用)。

反式激活机制是 G 蛋白偶联受体通过相应的第二信使如钙离子、二酰甘油等激活细胞膜锚泊蛋白去整合素金属蛋白酶(a disintegrin and metalloprotease, ADAM), 释放表皮生长因子样配基从而激活表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)。这在炎症、肿瘤发生和细胞存活过程中有重要意义^[5]。早在 1999 年, J. Buteau 等就观察到 10 nM GLP-1 对大鼠胰腺瘤细胞系 INS-1 有显著的促增殖作用, 并且 PKB 特异性抑制剂 Wortmanin 和 LY294002 均有抑制 GLP-1 的促增殖作用^[6]。他在讨论中只是推测 Gs 可能是直接作用于磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)或者由 cAMP/PKA 系统调节 PI3K 的磷酸化而使之激活。此后, 他又在 INS(832/13) 细胞上再次观察到 GLP-1 对 EGFR 典型的下游效应激酶的激活作用, 包括 ERK1/2, p38 MAPK 和 PKB^[7]。并且, 11mM 葡萄糖和 10 nM GLP-1 在促增殖效应上没有叠加效应。通过特异性激酶抑制实验发现, p38 MAPK, PKC ζ , cPKC 可介导一般实验培养条件下 INS(832/13) 的增殖, 而只有前两者才介导由 GLP-1 诱导的促增殖作用, 提示, GLP-1 可能通过有别于一般培养条件下 INS(832/13) 生长的方式而促增殖, 就像 β 细胞在能量代谢紊乱的情况下还是可以保持对 GLP-1 的胰岛素分泌响应一样。同时, 他们观察到 GLP-1 作用细胞之后, PKC ζ 在几分钟内实现核转移, 因此, PKC ζ 的核转移在 GLP-1 的促增殖上可能有重要意义。后来, 他把成熟的动物纤维素分子(β -cellulin BTC)从细胞膜上的释放与 EGFR 的酪氨酸磷酸化及 PI3K 活性联系起来^[8]。在进一步探索介导 GLP-1 增殖的 PI3K/PKB 下游效应蛋白时, 发现叉头状转录因子 FoxO1 (forkhead transcription factor FoxO1) 的细胞核定位有抑制 GLP-1 增殖效应的作用^[9]。在此之前, Tadahiro Kitamura 等用胰岛素受体底物 2 (insulin receptor substance 2 IRS-2) 敲除小鼠研究发现, FoxO1 有负调控 β 细胞增殖的作用^[10]。至此, J. Buteau 等认为, GLP-1 激活 EGFR 并由 PKB 负调控 FoxO1 使其核排除而促进 β 细胞增殖。虽然该文进一步确定和阐释了其早期观察到的 GLP-1 促进胰腺十二指肠同源型框(pancreatic and duodenal homeobox 1, PDX-1)的表达和对大鼠胰岛素启动子的结合活性^[6], 但他并没就 FoxO1 所涉及的调控细胞周期进程的蛋白进行探讨。而且, 正如该文献描述, GPCR 激活 EGFR 的上游机制也还不清楚。

3 胞周期蛋白在细胞增殖过程中的作用

EGFR 不但如 J. Buteau 提出的在介导 GLP-1 的增殖效应中起作用, 而且在小鼠胰腺胰岛发育中也有决定性作用^[2]。P. J. Miettinen 等用敲除 EGFR 的小鼠表明, 尽管出生后胰岛的数目不变, 但是 β 细胞区域缩小, 其原因是小鼠出生后 β 细胞的正常增殖被抑制所致。作者联系其前期结果, 认为这与细胞周期素 D2 (cyclin D2) 活性的缺乏相关。Jake A. Kushner 则指出 cyclinD1 在小鼠出生早期的 β 细胞增殖中起作用而 cyclinD2 在出生 3 个月后的生长中起作用, 说明胰岛发育的不同阶段不同细胞周期蛋白的不同特异活性^[11]。Brigitte N Friedrichsen 等用糖依赖性胰岛素释放肽(glucose-dependent insulinotropic peptide GIP) 和 GLP-1 作用新鲜分离的 Wistar 大鼠胰岛表明, GIP 和 GLP-1 均可诱导 β 细胞增殖, 并且两者有叠加效应^[12]。GLP-1 以更加依赖于 PI3K, GIP 以更加依赖于 p42 MAPK 的方式促进增殖。在 INS-1E 细胞系上, GLP-1 可时间依赖地上调 cyclinD1 蛋白的表达, 而 cyclin D2 和 cyclinD3 未受影响。M. J. Kim 等表明, Exendin-4 诱导 INS-1 细胞的 cyclin D1 的表达并不依赖于 ERK, 通过 CREB 直接结合到 cyclin D1 启动子回文序列区而诱导其表达^[13]。在细胞信号传导上, 这似乎与 J. Buteau 的结果一致, 即在 INS-1 和 INS(832/13) 中, Exendin-4 或 GLP-1 诱导 cyclinD1 或增值均不涉及 p42/p44MAPK^[7]。最近 Woo-Jin Song 等研究表明, Exendin-4 可上调 C57B1/6 小鼠分离的胰岛中 PDX-1, cyclinA2, Skp2 蛋白的表达, 而对 cyclinD1 没有影响^[14]。并且, Skp2 是通过 PI3K 通路上调的。这似乎是反式激活机制与细胞周期调控机制相联系的暗示。然而, 与 M. J. Kim 的结果相反, 他们检测到 CREB 结合到 cyclin A2 和 PDX-1 的启动子上而不是 cyclin D1 或 cyclinD2。更有意思的是, 反义 RNA 干扰 PDX-1 表达表明, 敲除 PDX-1 48 小时后, 同时下调了 GLP-1R 和 Gs α 的转录, 进而降低了 cAMP 的产生和 cyclinA2 的诱导表达, 这似乎印证了 Buteau 早期有关 GPCR 信号转导机制的推测^[6]。

4 结 论

在反式激活机制上, Buteau 趋向于认为非受体酪氨酸激酶 c-Src 介导激活 EGFR, 但具体机制尚不清楚。而在下游, 特别是核内的事件, 考虑到 PDX-1 在增殖上的作用以及 Woo-Jin Song 的敲除 PDX-1 的实验, PDX-

1 和 FoxO1 相互拮抗从核内排除的机制就显得格外重要。但现在还缺乏关于两者在核内相互拮抗的机制。只是有文献表明在氧化应激情况下,PKB 活性降低而导致 PDX-1 的核排除,同时 FoxO1 进入核内^[15]。阐明上述两个问题对于完全了解 GLP-1 对 β 细胞的增殖作用机制有决定性作用。

参考文献:

- [1] NAUCK M A. Unraveling the science of incretin biology [J]. *Am J Med*,2009,122(6):3-10
- [2] MIETTINEN P J,USTINOV J,ORMIO P,et al. Downregulation of EGF receptor signaling in pancreatic islets causes diabetes due to impaired postnatal beta-cell growth [J]. *Diabetes*,2006,55(12):3299-3308
- [3] MUOIO D M, NEWGARD C B. Mechanisms of disease; molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and beta-cell failure in type 2 diabetes [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*,2008,9(3):193-205
- [4] DOYLE M E, EGAN J M. Mechanisms of action of glucagon-like peptide 1 in the pancreas [J]. *Pharmacol Ther*,2007,113(3):546-593
- [5] OHTSU H,DEMPSEY P J,and EGUCHI S. ADAMs as mediators of EGF receptor transactivation by G protein-coupled receptors [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*,2006,291(1):1-10
- [6] BUTEAU J,RODUIT R,SUSINI S,et al. Glucagon-like peptide-1 promotes DNA synthesis, activates phosphatidylinositol 3-kinase and increases transcription factor pancreatic and duodenal homeobox gene 1 (PDX-1) DNA binding activity in beta (INS-1)-cells [J]. *Diabetologia*,1999,42(7):856-864
- [7] BUTEAU J,FOISY S,RHODES C J,et al. Protein kinase Czeta activation mediates glucagon-like peptide-1-induced pancreatic beta-cell proliferation [J]. *Diabetes*,2001,50(10):2237-2243
- [8] BUTEAU J,FOISY S,JOLY E,et al. Glucagon-like peptide 1 induces pancreatic beta-cell proliferation via transactivation of the epidermal growth factor receptor [J]. *Diabetes*,2003,52(1):124-132
- [9] BUTEAU J,SPATZ M L,and ACCILI D. Transcription factor FoxO1 mediates glucagon-like peptide-1 effects on pancreatic beta-cell mass [J]. *Diabetes*,2006,55(5):1190-1196
- [10] KITAMURA T,NAKAE J,KITAMURA Y,et al. The forkhead transcription factor Foxo1 links insulin signaling to Pdx1 regulation of pancreatic beta cell growth [J]. *J Clin Invest*,2002,110(12):1839-1847
- [11] KUSHNER J A,CIEMERYCH M A,SICINSKA E,et al. Cyclins D2 and D1 are essential for postnatal pancreatic beta-cell growth [J]. *Mol Cell Biol*,2005,25(9):3752-3762
- [12] FRIEDRICHSEN B N,NEUBAUER N,LEE Y C,et al. Stimulation of pancreatic beta-cell replication by incretins involves transcriptional induction of cyclin D1 via multiple signalling pathways [J]. *J Endocrinol*,2006,188(3):481-492
- [13] KIM M J,KANG J H,PARK Y G,et al. Exendin-4 induction of cyclin D1 expression in INS-1 beta-cells; involvement of cAMP-responsive element [J]. *J Endocrinol*,2006,188(3):623-633
- [14] SONG W J,SCHREIBER W E,ZHONG E,et al. Exendin-4 stimulation of cyclin A2 in beta-cell proliferation [J]. *Diabetes*,2008,57(9):2371-2381
- [15] KAWAMORI D,KANETO H,NAKATANI Y,et al. The forkhead transcription factor Foxo1 bridges the JNK pathway and the transcription factor PDX-1 through its intracellular translocation [J]. *J Biol Chem*,2006,281(2):1091-1098

Molecular Mechanism of Glucagon-like Peptide 1 and Its Analogies Regulating the Proliferation of β Cells

XIAO He¹, LIU Jian-hui², MO Zhi-hong¹

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Chongqing University, Chongqing 400044;

2. Research Center of Medicine Chemistry and Chemical Biology, Chongqing Technology and Business University, Chongqing 400067, China)

Abstract: Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) is a kind of endogenous hormone produced in enteroendocrine L cells of the gut and its particular role is to regulate the secretion of insulin and glucagon. More and more research results show that GLP-1 and its analogies play an important role in the regulation of proliferation and differentiation of β cells, the inhibition of cell apoptosis, promotion of insulin release, the decrease of blood sugar, the improvement of sugar tolerance and so on through activating its receptor. In recent years, there are a lot of reports on downstream cell signal transform mechanism resulting from the receptor activated by GLP-1 and its analogies. This paper reviews molecular mechanism of GLP-1 and its analogies regulating the proliferation of β cell and its cell signal transform channel.

Key words: glucagon-like peptide 1; cell proliferation; transactivation; cyclins

责任编辑:田 静