

GLP-1 受体激动剂呈葡萄糖依赖性刺激胰岛 β 细胞胰岛素分泌的机制

刘艳 田秀标 韩颖

【摘要】 2 型糖尿病的主要治疗目标是控制高血糖,然而传统的治疗药物如胰岛素和磺脲类药物在降低血糖的同时也可以出现低血糖。因此,应在一定的血糖范围内自我调整用药量,避免出现低血糖。低血糖会造成身心障碍,同时可引起心血管事件。因此临床用药应最大限度的降低低血糖风险。胰高血糖素样肽-1 受体激动剂呈葡萄糖依赖性的刺激胰岛素分泌,在胰岛素剂量很小或者缺乏,以及血糖浓度不高时,胰高血糖素样肽-1 受体激动剂则不会刺激或很少刺激胰岛素分泌。

【关键词】 β 细胞;抗糖尿病药物; GLP-1;胰岛素分泌;2 型糖尿病

Mechanism of GLP-1 receptor agonists in the stimulation of insulin secretion of islet β cell in a glucose-dependent manner Liu Yan*, Tian Xiubiao, Han Ying. * Graduate School of Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

【Abstract】 The aim to treat type 2 diabetes is to control the high blood glucose. However, the traditional drugs such as insulin and sulfonylureas can not only lower the blood glucose, but also cause hypoglycemia. Therefore, the drug dosage should be adjusted frequently in order to maintain the blood glucose in a certain range and to avoid hypoglycemia. Hypoglycemia can cause physical and mental disorders, as well as cardiovascular events. Therefore, great efforts should be made in clinical medication to reduce the risk of hypoglycemia. Glucagon-like peptide -1 receptor agonists can stimulate the secretion of insulin in a blood glucose-dependent manner. When the insulin dose is very low or deficient, or the concentration of blood glucose is not high, glucagon like peptide-1 receptor agonists will not or rarely stimulate insulin secretion.

【Key words】 β cells; Anti diabetic drugs; GLP-1; Insulin secretion; Type 2 diabetes mellitus

(Int J Endocrinol Metab, 2015, 35:66-69)

胰岛素和胰高血糖素共同维持血糖的稳定。外源性胰岛素或磺脲类药物治疗,虽然可降低高血糖,但是达到理想的血糖水平后会继续发挥降糖作用,因此会增加低血糖风险^[1]。中、重度低血糖可降低患者生活质量^[2]。同时,低血糖也与 QT 间期延长、心律失常和其他心血管不良事件有关^[3-4]。因此,对于糖尿病患者来说,降低低血糖的风险非常关键。胰高血糖素样肽 (GLP)-1 是由肠道 L 细胞分泌的肠促胰岛素。与 GLP-1 受体 (GLP-1R) 结合后通过葡萄糖依赖方式诱导胰岛素的分泌。研究显示, GLP-1R 激动剂改善胰岛素分泌的能力取决于血糖水平。当血糖水平降至正常时, GLP-1R 激动剂也不再发挥作用。本文对 GLP-1R 激动剂呈葡萄糖依赖

性促进胰岛素分泌的机制进行综述

1 GLP-1R 激动剂呈葡萄糖依赖性的促进胰岛素分泌

一项大鼠胰岛素瘤细胞株的体外实验证实, GLP-1R 激动剂促进胰岛素分泌的作用是呈葡萄糖依赖性的。GLP-1 (10 nmol/L) 诱导的胰岛素分泌量和单独 10 mmol/L 葡萄糖环境下所诱发的胰岛素最大分泌量较基础水平的胰岛素分泌量分别增加 1.5 倍和 2.5 倍,而当同时给予 10 mmol/L 葡萄糖和 GLP-1 (10 nmol/L) 所诱发的最大胰岛素分泌量较基线水平增加了 6 倍^[5]。同样,在大鼠胰腺灌注实验中,基线葡萄糖浓度 (2.8 mmol/L) 时 GLP-1 (25 nmol/L) 介导的胰岛素分泌量仅轻度增加,当葡萄糖浓度增加到 5 mmol/L 时, GLP-1 介导的胰岛素分泌量较单独的 5 mmol/L 葡萄糖所诱导的胰岛素分泌量明显增加^[6]。另有研究显示,给空腹的健康

受试者静脉注射药理浓度的 GLP-1 (7-36 酰胺), 不会引起低血糖^[7]。表明 GLP-1 的促胰岛素分泌作用是葡萄糖依赖性的, 并且需要一定浓度的葡萄糖才能发挥作用。

与天然的 GLP-1 相似, GLP-1R 激动剂 (如 exendin-4) 促进胰岛素分泌的作用也需要一定水平的葡萄糖。给健康空腹的受试者分别连续静脉输注艾塞那肽或安慰剂, 与安慰剂组相比, 在正糖钳夹试验中 (5.0 mmol/L), 艾塞那肽组胰岛素分泌更多。在同样的受试者中, 当血浆葡萄糖浓度降低至低血糖水平 (4.0 mmol/L) 时, 艾塞那肽组的胰岛素分泌量迅速下降到安慰剂组水平^[8]。临床中, 艾塞那肽治疗引起低血糖的发生率很低^[9-10]。同样, 艾塞那肽或利拉鲁肽单药治疗或与口服降糖药物联合治疗, 在降低糖化血红蛋白之外, 重度或轻度低血糖的发生率与安慰剂相比, 差异无统计学意义^[11-12]。甘精胰岛素和格列美脲与 GLP-1R 激动剂相比, 低血糖的发生率均增加。另外, 磺脲类药物 (如格列美脲) 可以影响 GLP-1R 激动剂的葡萄糖依赖性, 因此 GLP-1R 激动剂联用磺脲类药物时低血糖发生率增加^[13-16]。

2 葡萄糖诱导的胰岛素分泌

胰岛素分泌的主要启动步骤是 K_{ATP}^+ 通道的失活及其导致的 β 细胞去极化。葡萄糖浓度和 ATP/ADP 比值降低时, 通道开放, 从而允许 K^+ 顺浓度梯度出胞。而葡萄糖浓度升高时, ATP/ADP 比值增加, 最终导致通道的关闭和细胞膜去极化。

胰岛素主要在致密核心囊泡 (最终变成分泌颗粒) 中被储存和转运。胞吐过程包括修饰和分泌颗粒融合于细胞膜。该过程由可溶性的 NSF 附着蛋白受体复合蛋白调节。囊泡膜上的 NSF 附着蛋白受体即小突触泡蛋白与细胞膜上的 NSF 附着蛋白受体, 突触融合蛋白-1 和 SNAP25 结合, 并在细胞膜附近形成一个稳定的复合物, 从而利于膜的融合定位, 促进胰岛素从胰岛 β 细胞的分泌^[17]。

胰岛素分泌的速率主要取决于含胰岛素颗粒的数量和分泌能力。大部分胰岛素颗粒 (95%~99%) 存在于储存池, 一小部分 (1%~5%) 存在于待释放池, 后者离细胞膜更近^[18]。待释放池可进一步分化为立即释放池。立即释放池与电压依赖性钙离子通道 (VDCC) 结合后镶嵌在细胞膜上, 当 VDCC 开放, Ca^{2+} 内流时迅速准备释放胰岛素。待释放池内容物的释放主要负责胰岛素第一时相的分泌, 而相对缓慢的第二时相则反映了待释放池的再填充即颗粒从

储存池向待释放池的移动和装填过程。研究显示, 胰岛素颗粒的酸化有助于储存池的颗粒移动到待释放池, 而颗粒的低 pH 值可能诱导 SNARE 蛋白的结构变化, 从而促进膜的融合及定位^[19]。

3 GLP-1R 信号转导与葡萄糖介导的胰岛素分泌

GLP-1R 是一个有 7 次跨膜区域的 G 蛋白耦联受体。GLP-1R 激活细胞膜结合的腺苷酸环化酶, 从而迅速产生 cAMP。cAMP 的下游效应器分别为蛋白激酶 A (PKA) 和 cAMP 调节的鸟嘌呤核苷酸交换因子 (cAMP-GEF)——Epac。研究显示, PKA 和 Epac 在 GLP-1 介导的胰岛素释放过程中起关键作用^[20-22]。

葡萄糖介导的胰岛素分泌的初始步骤就是 K_{ATP}^+ 通道受抑制和 β 细胞去极化。 K_{ATP}^+ 通道上的 $K_{ir6.2}$ 亚单位结合 ATP 后通道关闭和细胞去极化, 而磺脲基团受体 1 亚单位通过结合 ADP, 增加通道的通透性。磺脲基团受体亚单位经 GLP-1R 激动剂——PKA 磷酸化后, 结合 ADP 的能力受干扰, 从而促进通道的关闭和细胞的去极化。研究显示, PKA 调节 K_{ATP}^+ 通道的作用也是葡萄糖依赖性的。因此, GLP-1R 激动剂在低糖时不会继续引起 β 细胞去极化。

另外, GLP-1R 的调节因子——Epac 也作用于 K_{ATP}^+ 通道。Epac 是选择性 cAMP 类似物, 可显著降低 ATP 浓度, 从而抑制 K_{ATP}^+ 通道^[23]。因此, PKA (通过与 ADP 结合) 和 Epac (通过与 ATP 结合) 共同调节葡萄糖启动的细胞膜去极化。

除了抑制 K_{ATP}^+ 通道, GLP-1R 也可抑制由于电压依赖的 K^+ (K_v) 通道开放而产生代偿性的复极化。对大鼠 β 细胞的研究证实, GLP-1R 激动剂可抑制电压依赖的 K^+ (K_v) 外流, 从而延迟膜的复极化, 使得通过 VDCC 的 Ca^{2+} 内流的时间延长, 最终导致更多的胰岛素分泌^[24]。GLP-1 通过促进 VDCC 产生, 增加 Ca^{2+} 内流来增强葡萄糖介导的胰岛素分泌, 该过程是 PKA 依赖的。由于葡萄糖通过 β 细胞的去极化激活了 VDCCs, GLP-1 又通过改变 VDCC 的通透性而增强了这个活动, 最终导致更大量的 Ca^{2+} 内流。 Ca^{2+} 一旦进入 β 细胞, 通过待释放颗粒的膜融合作用, 启动胞吐作用。诱导更多的 Ca^{2+} 从细胞内的内质网和分泌颗粒中释放出来^[25]。细胞内游离的 Ca^{2+} 增加之后, 胞吐作用增强, 最终导致胰岛素分泌的增加。

研究显示, 肌醇三磷酸受体和兰尼碱受体可控制 Ca^{2+} 从胞内释放, 这些受体的拮抗剂可抑制钙诱

导的钙释放^[26]。肌醇三磷酸受体的调节性区域包括 Ca^{2+} 的结合位点,依赖于游离 Ca^{2+} 的浓度,可以控制通道的活动。兰逆碱受体同样受 Ca^{2+} 调节。GLP-1R 激动剂通过 Ca^{2+} 依赖的方式促进钙诱导的钙释放,该过程需要细胞内游离 Ca^{2+} 的浓度迅速增加,从而调节 Ca^{2+} 从胞内释放^[27]。

GLP-1R 活化 PKA 后不仅促进胞吐颗粒中含有的胰岛素分泌,而且可以调节待释放池的重填,而这两个过程对于第二相胰岛素分泌至关重要。采用穿孔膜片钳全细胞记录法可以让小鼠 β 细胞膜产生强烈而重复的去极化,从而诱导 Ca^{2+} 内流,促进胞吐作用。而用 forskolin 持续增加 cAMP 浓度,使得 Ca^{2+} 内流,细胞去极化,通过这种方式产生的胞吐作用持续的时间显著延长。提示 cAMP 可促进囊泡从储存池流动到待释放池。应用 PKA 抑制剂仅可抑制部分胞吐作用,表明 cAMP 促进胞吐作用是通过依赖和不依赖 PKA 两种途径来进行的。进一步的研究证实,依赖 PKA 的 cAMP 的调节作用是 Epac 依赖性的。给小鼠使用选择性的 Epac 激动剂 (8CPT-2Me-cAMP),结果小鼠 β 细胞去极化,胞吐作用明显增加。该效应是在胞吐作用的早期,提示 Epac 可能增加了待释放池的大小,从而可以更迅速的应答 Ca^{2+} 内流^[28]。Epac 和 PKA 的结合效应与 GLP-1R 活化过程时一、二相胰岛素分泌增加一致。除促进已经储存的胰岛素释放,GLP-1 也可诱导胰岛素基因的转录^[29]。

总之,GLP-1R 激动剂在血糖升高时促进胰岛素的分泌,当血糖降至正常水平以下时又能停止促泌作用。因此,其除了更好的降低糖化血红蛋白外,低血糖的发生率显著降低。然而 GLP-1R 激动剂呈葡萄糖依赖性的降糖机制还有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, et al. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach: position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD) [J]. *Diabetes Care*, 2012, 35(6):1577-1596.
- [2] Pettersson B, Rosenqvist U, Deleskog A, et al. Self-reported experience of hypoglycemia among adults with type 2 diabetes mellitus (Exhype) [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2011, 92(1):19-25.
- [3] Johnston SS, Conner C, Aagren M, et al. Evidence linking hypoglycemic events to an increased risk of acute cardiovascular events in patients with type 2 diabetes [J]. *Diabetes Care*, 2011, 34:1164-1170.
- [4] Yakubovich N, Gerstein HC. Serious cardiovascular outcomes in diabetes: the role of hypoglycemia [J]. *Circulation*, 2011, 123(3):342-348.
- [5] Montrose-Rafizadeh C, Egan JM, Roth J. Incretin hormones regulate glucose-dependent insulin secretion in RIN 1046-38 cells: mechanisms of action [J]. *Endocrinology*, 1994, 135(2):589-594.
- [6] Göke R, Wagner B, Fehmann HC, et al. Glucose-dependency of the insulin stimulatory effect of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide on the rat pancreas [J]. *Res Exp Med (Berl)*, 1993, 193(2):97-103.
- [7] Qualmann C, Nauck MA, Holst JJ, et al. Insulinotropic actions of intravenous glucagon-like peptide-1 (GLP-1) [7-36 amide] in the fasting state in healthy subjects [J]. *Acta Diabetol*, 1995, 32(1):13-16.
- [8] Degen KB, Brock B, Juhl CB, et al. Effect of intravenous infusion of exenatide (synthetic exendin-4) on glucose-dependent insulin secretion and counterregulation during hypoglycemia [J]. *Diabetes*, 2004, 53(9):2397-2403.
- [9] Bergenstal RM, Wysham C, MacConell L, et al. Efficacy and safety of exenatide once weekly versus sitagliptin or pioglitazone as an adjunct to metformin for treatment of type 2 diabetes (DURATION-2): a randomised trial [J]. *Lancet*, 2010, 376(9739):431-439.
- [10] Russell-Jones D, Cuddihy RM, Hanefeld M, et al. Efficacy and safety of exenatide once weekly versus metformin, pioglitazone, and sitagliptin used as monotherapy in drug-naïve patients with type 2 diabetes (DURATION-4): a 26-week double-blind study [J]. *Diabetes Care*, 2012, 35(2):252-258.
- [11] Apovian CM, Bergenstal RM, Cuddihy RM, et al. Effects of exenatide combined with lifestyle modification in patients with type 2 diabetes [J]. *Am J Med*, 2010, 123(5):468.e9-468.e17.
- [12] Liutkus J, Rosas Guzman J, Norwood P, et al. A placebo-controlled trial of exenatide twice-daily added to thiazolidinediones alone or in combination with metformin [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2010, 12(12):1058-1065.
- [13] Blevins T, Pullman J, Malloy J, et al. DURATION-5: exenatide once weekly resulted in greater improvements in glycemic control compared with exenatide twice daily in patients with type 2 diabetes [J]. *Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96(5):1301-1310.
- [14] Drucker DJ, Buse JB, Taylor K, et al. Exenatide once weekly versus twice daily for the treatment of type 2 diabetes: a randomised, open-label, non-inferiority study [J]. *Lancet*, 2008, 372(9645):1240-1250.
- [15] Pencek R, Brunell SC, Li Y, et al. Use of concomitant glucose-lowering therapies and associated treatment results observed in clinical trials of exenatide twice-daily [J]. *Endocr Pract*, 2012, 18(2):227-237.
- [16] Blevins T, Han J, Nicewarner D, et al. Exenatide is non-inferior to insulin in reducing HbA1c: an integrated analysis of 1423 patients with type 2 diabetes [J]. *Postgrad Med*, 2010, 122(3):118-128.
- [17] Rorsman P, Renström E. Insulin granule dynamics in pancreatic β cells [J]. *Diabetologia*, 2003, 46(8):1029-1045.
- [18] Rorsman P, Eliasson L, Renström E, et al. The cell physiology of biphasic insulin secretion [J]. *News Physiol Sci*, 2000, 15(2):72-77.
- [19] Barg S, Eliasson L, Renström E, et al. A subset of 50 secretory granules in close contact with L-type Ca^{2+} channels accounts for

- first-phase insulin secretion in mouse β cells [J]. Diabetes, 2002, 51 (Suppl 1): S74-S82.
- [20] Chepurny OG, Leech CA, Kelley GG, et al. Enhanced Rap1 activation and insulin secretagogue properties of an acetoxymethyl ester of an Epac-selective cyclic AMP analog in rat INS-1 cells: studies with 8-pCPT-2'-O-Me-cAMP-AM [J]. Biol Chem, 2009, 284 (16): 10728-10736.
- [21] Kelley GG, Chepurny OG, Schwede F, et al. Glucose-dependent potentiation of mouse islet insulin secretion by Epac activator 8-pCPT-2'-O-Me-cAMP-AM [J]. Islets, 2009, 1 (3): 260-265.
- [22] Seino S, Takahashi H, Fujimoto W, et al. Roles of cAMP signalling in insulin granule exocytosis [J]. Diabetes Obes Metab, 2009, 11 (Suppl 14): 180-188.
- [23] Kang G, Leech CA, Chepurny OG, et al. Role of the cAMP sensor Epac as a determinant of K_{ATP} channel ATP sensitivity in human pancreatic β -cells and rat INS-1 cells [J]. J Physiol, 2008, 586 (5): 1307-1319.
- [24] MacDonald PE, Wheeler MB. Voltage-dependent K^+ channels in pancreatic β cells: role, regulation and potential as therapeutic targets [J]. Diabetologia, 2003, 46 (8): 1046-1062.
- [25] Suga S, Kanno T, Nakano K, et al. GLP-1 (7-36) amide augments Ca^{2+} current through L-type Ca^{2+} channel of rat pancreatic beta-cell in a cAMP-dependent manner [J]. Diabetes, 1997, 46 (11): 1755-1760.
- [26] Kang G, Chepurny OG, Rindler MJ, et al. A cAMP and Ca^{2+} coincidence detector in support of Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release in mouse pancreatic β cells [J]. J Physiol, 2005, 566: 173-188.
- [27] Kang G, Holz GG. Amplification of exocytosis by Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release in INS-1 pancreatic β cells [J]. J Physiol, 2003, 546 (Pt 1): 175-189.
- [28] Eliasson L, Ma X, Renström E, et al. SUR1 regulates PKA-independent cAMP-induced granule priming in mouse pancreatic β -cells [J]. J Gen Physiol, 2003, 121 (3): 181-197.
- [29] Kemp DM, Habener JF. Synergistic effect of dimethyl sulfoxide on glucagon-like peptide 1 (GLP-1)-stimulated insulin secretion and gene transcription in INS-1 cells: characterization and implications [J]. Biochem Pharmacol, 2002, 64 (4): 689-697.
- (收稿日期: 2014-10-10)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《国际内分泌代谢杂志》对运用统计学方法的有关要求

1. 统计学符号: 按 GB/T 3558. 1-2009《统计学词汇及符号》的有关规定, 统计学符号一律采用斜体。

2. 研究设计: 应告知研究设计的名称和主要方法。如调查设计(分为前瞻性、回顾性还是横断面调查研究), 实验设计(应告知具体的设计类型, 如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等), 临床试验设计(应告知属于第几期临床试验, 采用了何种盲法措施等); 主要做法应围绕 4 个基本原则(重复、随机、对照、均衡)概要说明, 尤其要告知如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

3. 资料的表达与描述: 用 $\bar{x} \pm s$ 表达近似服从正态分布的定量资料, 用 $M(Q_R)$ 表达呈偏态分布的定量资料; 用统计表时, 要合理安排纵横标目, 并将数据的含义表达清楚; 用统计图时, 所用统计图的类型应与资料性质相匹配, 并使数轴上刻度值的标法符合数学原则; 用相对数时, 分母不宜小于 20, 要注意区分百分率与百分比。

4. 统计学分析方法的选择: 对于定量资料, 应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的, 选择合适的统计学分析方法, 不应盲目套用 t 检验和单因素方差分析; 对于定性资料, 应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件及分析目的, 选用合适的统计学分析方法, 不应盲目套用 χ^2 检验。对于回归分析, 应结合专业知识和散布图, 选用合适的回归类型, 不应盲目套用简单直线回归分析; 对具有重复实验数据检验回归分析资料, 不应简单化处理; 对于多因素、多指标资料, 要在一元分析的基础上, 尽可能运用多元统计分析方法, 以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系做出全面、合理的解释和评价。

5. 统计结果的解释和表达: 应写明所用统计学方法的具体名称(如: 成组设计资料的 t 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的 q 检验等), 统计量的具体值(如 $t = 3.45$, $\chi^2 = 4.68$, $F = 6.79$ 等); 在用不等式表示 P 值的情况下, 一般情况下选用 $P > 0.05$ 、 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 三种表达方式, 无须再细分为 $P < 0.001$ 或 $P < 0.0001$ 。当涉及总体参数(如总体均数、总体率等)时, 在给出显著性检验结果的同时, 应再给出 95% 可信区间。

本刊编辑部