

· EASD 年会专栏 ·

以血糖为中心看糖尿病发病机制:从胰岛生物学到整合生理学和精准医学

——2017 年 EASD 年会 Claude Bernard 奖介绍

石珍珍 张立戈 高忠爱 张浩 常宝成 单春艳 杨菊红

Introduction of the Claude Bernard Prize of EASD 2017 "A glucose-centric view on diabetes pathogenesis: from islet biology to integrated physiology and precision medicine" Shi Zhenzhen, Zhang Liyi, Gao Zhongai, Zhang Hao, Chang Baocheng, Shan Chunyan, Yang Juhong. Key Laboratory of Hormones and Development (Ministry of Health), Tianjin Key Laboratory of Metabolic Diseases, The Metabolic Diseases Hospital & Tianjin Institute of Endocrinology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China
Corresponding author: Yang Juhong, Email: megii0315@126.com

2017 年第 53 届欧洲糖尿病研究学会 (EASD) 年会于 9 月 12 日—15 日在葡萄牙里斯本召开, 本次年会颁布了 5 项大奖, 授予在糖尿病领域做出杰出贡献的专家和学者。其中 Claude Bernard 奖授予了瑞士洛桑大学的 Bernard Thorens 教授, 他主要致力于研究机体的葡萄糖感受器, 包括肝脏门脉系统葡萄糖感受器在调节第一时相胰岛素分泌、大脑前自主神经元对胰岛 α 和 β 细胞功能的调节、大脑奖励系统对摄食行为的调节等。Thorens 等的研究为糖尿病研究及治疗领域开辟了全新的方向。

我们知道, 机体存在一整套精细调节糖代谢的系统。其中, 胰岛素及胰高血糖素通过调控葡萄糖的利用、储存和产生来维持血糖稳定。但除此之外, 葡萄糖本身在调节糖代谢中具有重要的作用, 该过程依赖于机体正常的葡萄糖感应调节网络。2 型糖尿病患者存在多重葡萄糖感应调节缺陷: (1) 葡萄糖对胰岛素的调节缺陷: 表现为早期的葡萄糖刺激的第一时相胰岛素分泌缺失, 葡萄糖刺激的胰岛素分泌总量不足, 以及葡萄糖刺激的肠促胰岛素分泌信号通路受损。(2) 葡萄糖对胰高血糖素的调节缺陷: 表现为葡萄糖刺激的胰高血糖素分泌抑制受损、低血糖诱导的促胰高血糖素分泌效益减弱。(3) 葡萄糖对体重控制的调节缺陷: 葡萄糖是控制进食和能量消耗的信号之一, 该信号受损参与了肥胖及糖尿病的发生。人类存在多种葡萄糖感受器, 如胰高血糖素样肽 (GLP)-1、葡萄糖依赖性促胰岛素分泌

多肽 (GIP) 和葡萄糖转运蛋白 (GLUT) 2。Thorens 等的研究即主要致力于研究机体的以上葡萄糖感受器的生理作用, 以及它们与 2 型糖尿病的关系。

1 GLP-1 及 GIP

GIP 由小肠 K 细胞分泌, 而 GLP-1 及 GLP-2 是由 L 细胞在 GIP 的刺激下分泌的。GLP-1 和 GIP 参与调节 β 细胞的功能: 短期效应表现为口服葡萄糖后促进 β 细胞分泌胰岛素; 而长期效应表现为对 β 细胞的营养效应^[1]。

当外周葡萄糖水平发生变化时, β 细胞会即刻反应而分泌胰岛素。其过程如下: 当葡萄糖进入 β 细胞后可通过糖酵解、三羧酸循环使胞内 ATP/ADP 比例升高, 从而关闭钾通道, 使细胞去极化, 后者导致钙通道开放及钙离子内流, 从而促发胰岛素分泌反应。因此, 胰岛 β 细胞是研究葡萄糖感受器的理想细胞。利用 β 细胞, Thorens 教授发现了葡萄糖感受器在调节糖代谢中的关键环节。早在 1988 年, Thorens 即与 Lodish 教授克隆并描述了 GLUT2 在 β 细胞转运葡萄糖中的作用^[2]。1992 年及 1995 年, Thorens 教授分别克隆并描述了 β 细胞表面另外两个膜蛋白: GLP-1 受体及 GIP 受体的结构及功能, 从而为糖尿病研究开辟了一个全新的方向^[3-4]。

他们建立了 GLP-1 和 GIP 双基因敲除小鼠, 并分离野生型小鼠及双基因敲除小鼠的胰岛, 应用不同浓度的葡萄糖体外培养。结果发现, 升高葡萄糖浓度时, GLP-1 和 GIP 双基因敲除小鼠的胰岛素分泌量较野生型小鼠下降 50%; 与此同时, 细胞因子如白细胞介素-1 β 、肿瘤坏死因子- α 和干扰素- γ 诱导的细胞凋亡在基因敲除小鼠明显增加, 而补充 GLP-1 又可抑制其凋亡。研究结果支持 GLP-1 和 GIP

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2017.06.006

作者单位: 300070 天津医科大学代谢病医院内分泌研究所, 卫生部激素与发育重点实验室, 天津市代谢性疾病重点实验室

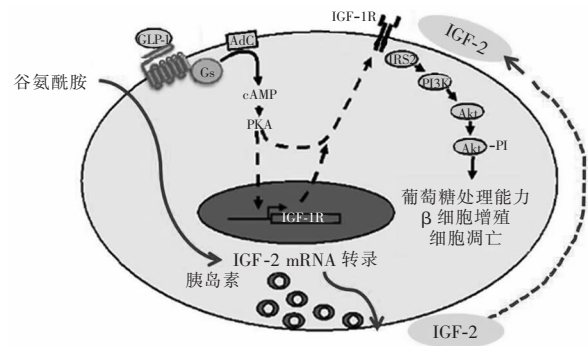
通信作者: 杨菊红, Email: megii0315@126.com

在维持 β 细胞胰岛素分泌能力及细胞数量中的作用^[5]。为进一步筛查与此有关的信号通路, Thorens 教授等筛查了野生型小鼠及 GLP-1 及 GIP 双基因敲除小鼠的差异表达基因, 发现胰岛素样生长因子 (IGF)-1 受体在双基因敲除小鼠中明显下调。IGF-1 也被称作“促生长因子”(即 somatomedin C), 是由 70 个氨基酸组成的具有内分泌、自分泌及旁分泌特性的单链多肽, 相对分子质量约为 75 000, 主要由人肝细胞合成和分泌, 对机体生长发育起重要调节作用。进一步研究发现, GLP-1 通过激活环磷酸腺苷诱导 IGF-1 受体表达, 而后者可通过胰岛素受体底物-2/磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B 途径, 进而影响 β 细胞对葡萄糖处置能力、细胞增殖和细胞凋亡^[1, 6-7]。在随后寻找 IGF-1 受体配体的过程中, 他们发现 GLP-1 可能通过诱导 β 细胞分泌 IGF-2 基因而激活 IGF-1 受体信号通路, 影响 β 细胞功能。与此同时他们发现, IGF-2 的生物合成与分泌还受营养物质如谷氨酰胺的控制^[7]。不管是在增龄还是妊娠的作用下, IGF-2 基因敲除小鼠均表现为葡萄糖不耐受及 β 细胞增殖能力下降。因此, 在 β 细胞中存在一个葡萄糖-肠促胰素适应性调节网络: 在谷氨酰胺/葡萄糖的刺激下, GLP-1/GIP 可通过自分泌途径激活 IGF-2/IGF-1 受体信号途径, 从而促进 β 细胞增殖、抑制凋亡、提升其葡萄糖处置能力。另一方面, 尽管体外研究中 GLP-1 具有明显的促 β 细胞增殖能力, 但体内研究显示该作用非常小, 这与体内环境下 GLP-1 途径的负反馈调节信号有关。研究发现, GLP-1 水平升高可迅速诱导 G 蛋白信号调节蛋白、cAMP 反应元件结合蛋白拮抗剂- α 和双特异性磷酸酶 (DUSP14) 表达, 以对抗 GLP-1 的促 β 细胞增殖作用。因此, 如能抑制以上蛋白的活性, 可最大效应的增强 GLP-1 的 β 细胞保护功能(图 1)^[8]。

2 GLUT2 相关葡萄糖感受系统与糖代谢的关系

GLUT2 是葡萄糖转运蛋白家族中的一员, 广泛存在于真核细胞膜上, 主要分布在肝、脾、小肠等内脏细胞以及 β 细胞, 是最主要的 GLUT^[9-10]。Thorens 等发现 β 细胞特异性 GLUT2 基因敲除小鼠表现为明显的糖代谢紊乱: (1) 葡萄糖刺激的胰岛素分泌缺陷。(2) 高血糖及低胰岛素血症。(3) 高胰高血糖素血症, 且小鼠在断奶期死亡^[9]。目前认为其原因与 GLUT2 基因敲除后使机体丧失葡萄糖感应功能, 从而不能对血糖的变化做出适应性调节反应有关。Thorens 教授等对此进行了深入的研究。

首先, 他们发现肝脏门脉系统存在葡萄糖感受器。肠道摄入的葡萄糖被肝门静脉的葡萄糖感受器 GLUT2 转运入细胞后, 激活下游信号通路, 最终通过迷走神经传递入中枢神经系统, 引发一系列反应, 包



注: GLP-1: 胰高血糖素样肽-1; IGF: 胰岛素样生长因子; IGF-1R: 胰岛素样生长因子-1 受体; PKA: 蛋白激酶 A; IRS2: 胰岛素受体底物 2; PI3K: 磷脂酰肌醇 3 激酶; Akt: 蛋白激酶 B; 原图来自 <https://www.eascl.org/virtualmeeting/home.html#!resources/tba>

图 1 GLP-1 通过 IGF-1R 信号途径调节 β 细胞功能

括促进第一时相胰岛素分泌、促进肌肉对葡萄糖的利用、抑制进食、抑制升糖激素释放。Thorens 等发现, 肝门脉系统的 GLUT2 葡萄糖感应系统受 GLP-1 及生长激素抑制素的调节, 两者分别起激活及抑制作用。然后, 他们构建了中枢神经系统特异性 GLUT2 基因敲除 (NG2KO) 小鼠模型, 发现 GLUT2 基因失活导致葡萄糖不能激活交感神经和副交感神经, 小鼠出现第一时相胰岛素分泌丧失; 而提取小鼠的胰岛后进行体外研究, 发现葡萄糖刺激的胰岛素第一时相分泌并未消失, 证实体内实验中小鼠的第一时相胰岛素分泌消失与 GLUT2 基因敲除后神经系统不能传递高血糖信号至 β 细胞所致。与此同时, 研究还发现 NG2KO 小鼠的 β 细胞增殖下降, 导致成年后 β 细胞数量下降, 小鼠出现糖耐量受损; 同样他们证实这是神经系统不能传递促增殖信号所致, 而 β 细胞本身增殖能力并未受损^[11]。

那么中枢神经系统如何调节胰岛功能? 我们知道, 胰岛受自主神经包括交感及副交感神经支配。胰岛的自主神经支配主要是由脑干迷走神经背核复合体支配, 主要包括大脑最后区、孤束核及迷走神经背核。迷走神经背核复合体通过副交感神经传输信号给胰岛 β 细胞, 并通过交感神经传输信号给胰岛 α 细胞。其中孤束核中存在 GLUT2 神经元, 可感应细胞外血糖水平。将细胞外葡萄糖水平从 5 mmol/L 降低至 0.5 mmol/L 时, GLUT2 神经元的静息膜电位与输入电阻呈可逆性增加。由此可知, 大脑孤束核中的 GLUT2 神经元可被低血糖激活。Thorens 等利用 Rosa26ChR 小鼠, 构建了孤束核 GLUT2 神经元特异性表达光敏感通道小鼠, 从而可通过光照射特异性激活孤束核中的 GLUT2 神经元, 结果发现光照射在促进 GLUT2 神经元细胞去极化的同时, 副交感神经放电活性及胰高血糖素的分泌均

随之增加,从而直接揭示了中枢神经系统特定区域在感应低血糖信号,并通过迷走神经促进胰岛胰高血糖素分泌从而对抗低血糖中的作用^[12]。早在 1849 年 Bernard 等即发现穿刺兔的第四脑室底部,可升高血糖,并导致尿糖,该研究是人类首次揭示大脑对糖代谢的调节作用。Thorens 教授指出,由于孤束核正好位于第四脑室底部,因此他们的研究结果可能也解释了 Bernard 在 1849 年发现的这个现象。

最后是中脑多巴胺奖赏系统。含糖食物因为具有较高水平的葡萄糖,进食后会产生强烈的愉悦感。这与含糖食物诱导伏隔核分泌多巴胺有关,食物的能量越高,多巴胺的释放越多。伏隔核受腹侧背核区调节,两者同属于中脑边缘系统的多巴胺奖赏系统,可控制摄食行为。那么, GLUT2 是否介导了含糖食物诱导的多巴胺奖赏系统的激活及摄食行为? Thorens 等应用 NG2KO 小鼠和同窝出生对照小鼠,进行戳鼻孔行为和甜食喂养奖励(10% 蔗糖溶液)训练,结果发现, NG2KO 小鼠获得的蔗糖奖励与戳鼻孔行为较对照组更显著。同时他们发现,在低血糖环境下,下丘脑室旁核中的 GLUT2 神经元可激活伏隔核从而促进进食;利用下丘脑室旁核 GLUT2 神经元特异性表达光敏感通道小鼠,同样证实下丘脑室旁核中 GLUT2 神经元可通过激活伏隔核神经元而增加摄糖行为^[13]。值得注意的是, Thorens 等不建议人们在饥饿时进食水果或甜味剂饮料(不含蔗糖),因为这些物质并不会抑制下丘脑室旁核区域 GLUT2 的激活,从而不会抑制中枢神经系统的奖赏系统,因而可能会导致过度进食,诱导肥胖。

3 展望

以上有关肝脏门脉系统、大脑前自主神经系统、中脑多巴胺奖赏系统葡萄糖感受器的研究均来自于小鼠,那么是否适用于人类? Thorens 提到了几个研究。首先,有研究报道编码 GLUT2 蛋白的 SLC2A2 基因可导致新生儿糖尿病,由于人类 β 细胞还表达 GLUT1 及 GLUT3, GLUT2 基因突变直接影响 β 细胞胰岛素分泌功能的可能性不大,相反中枢神经系统对胰岛功能的调控紊乱才可能是导致该例患者糖尿病的真正原因^[14]。此外,研究人员发现 GLUT2 的基因多态性影响不同人群的摄糖量、增加糖尿病前期向糖尿病进展的风险,同时影响患者对二甲双胍治疗的反应性。因此,这些人类的研究支持神经系统 GLUT2 参与了人类糖尿病的发病。另外,研究发现这些葡萄糖感应系统中的大量分子如 GIP 受体、IGF2、GLUT2、DUSP14 的编码基因等均是 2 型糖尿病的易感基因^[12]。Thorens 指出,未来我们应识别这些高危人群,从而根据其致病基因及发病特点,实现精准治疗。

参 考 文 献

- [1] Cornu M, Yang JY, Jaccard E, et al. Glucagon-like peptide-1 protects beta-cells against apoptosis by increasing the activity of an IGF-2/IGF-1 receptor autocrine loop[J]. *Diabetes*, 2009, 58(8):1816-1825. DOI:10.2337/db09-0063.
- [2] Thorens B, Sarkar HK, Kaback HR, et al. Cloning and functional expression in bacteria of a novel glucose transporter present in liver, intestine, kidney, and beta-pancreatic islet cells[J]. *Cell*, 1988, 55(2):281-290.
- [3] Thorens B. Expression cloning of the pancreatic beta cell receptor for the gluco-incretin hormone glucagon-like peptide 1[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1992, 89(18):8641-8645.
- [4] Gremlich S, Porret A, Hani EH, et al. Cloning, functional expression, and chromosomal localization of the human pancreatic islet glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor[J]. *Diabetes*, 1995, 44(10):1202-1208.
- [5] Preitner F, Ibberson M, Franklin I, et al. Gluco-incretins control insulin secretion at multiple levels as revealed in mice lacking GLP-1 and GIP receptors[J]. *J Clin Invest*, 2004, 113(4):635-645. DOI:10.1172/JCI20518.
- [6] Modi H, Cornu M, Thorens B. Glutamine stimulates biosynthesis and secretion of insulin-like growth factor 2 (IGF2), an autocrine regulator of beta cell mass and function[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(46):31972-31982. DOI:10.1074/jbc.M114.587733.
- [7] Cornu M, Modi H, Kawamori D, et al. Glucagon-like peptide-1 increases beta-cell glucose competence and proliferation by translational induction of insulin-like growth factor-1 receptor expression[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(14):10538-10545. DOI:10.1074/jbc.M109.091116.
- [8] Klinger S, Poussin C, Debril MB, et al. Increasing GLP-1-induced beta-cell proliferation by silencing the negative regulators of signaling cAMP response element modulator-alpha and DUSP14[J]. *Diabetes*, 2008, 57(3):584-593. DOI:10.2337/db07-1414.
- [9] Thorens B. GLUT2, glucose sensing and glucose homeostasis[J]. *Diabetologia*, 2015, 58(2):221-232. DOI:10.1007/s00125-014-3451-1.
- [10] Mueckler M, Thorens B. The SLC2 (GLUT) family of membrane transporters[J]. *Mol Aspects Med*, 2013, 34(2-3):121-138. DOI:10.1016/j.mam.2012.07.001.
- [11] Tarussio D, Metref S, Seyer P, et al. Nervous glucose sensing regulates postnatal beta cell proliferation and glucose homeostasis[J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(1):413-424. DOI:10.1172/JCI69154.
- [12] Bonnefond A, Froguel P. Rare and common genetic events in type 2 diabetes: what should biologists know? [J]. *Cell Metab*, 2015, 21(3):357-368. DOI:10.1016/j.cmet.2014.12.020.
- [13] Labouèbe G, Boutrel B, Tarussio D, et al. Glucose-responsive neurons of the paraventricular thalamus control sucrose-seeking behavior[J]. *Nat Neurosci*, 2016, 19(8):999-1002. DOI:10.1038/nn.4331.
- [14] Sansbury FH, Flanagan SE, Houghton JA, et al. SLC2A2 mutations can cause neonatal diabetes, suggesting GLUT2 may have a role in human insulin secretion[J]. *Diabetologia*, 2012, 55(9):2381-2385. DOI:10.1007/s00125-012-2595-0.

(收稿日期:2017-10-28)