

蛋白乙酰化与胰岛素分泌

唐勤 邵莉

【摘要】 蛋白乙酰化直接或间接参与胰岛素分泌的调节。多项研究证实组蛋白乙酰化通过对多种组蛋白乙酰基转移酶和组蛋白去乙酰化酶的动态调节,参与调节葡萄糖刺激的胰岛 β 细胞分泌功能,从而直接或间接地在糖尿病的发生、发展中起重要作用。胰岛 β 细胞骨架蛋白乙酰化可调节细胞骨架系统运送胰岛素颗粒的活力,进而参与调节葡萄糖刺激的胰岛素分泌。对蛋白乙酰化的深入研究将为糖尿病的防治提供新的思路。

【关键词】 蛋白乙酰化;糖尿病;胰岛素分泌

Protein acetylation and insulin secretion Tang Qin, Shao Li. Department of Gerontology, East Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200120, China

Corresponding author: Shao Li, Email: dongfangshaoli@126.com

【Abstract】 Protein acetylation is involved in the secretion of insulin directly or indirectly. A number of studies confirm that protein acetylation is involved in the regulation of glucose-stimulated insulin secretion from islet β cells through dynamic regulation of a variety of histone acetyltransferase (HAT) and histone deacetylase (HDAC), which directly or indirectly plays an important role in the development of diabetes. Acetylation of cytoskeletal protein in islet β cells can regulate the activity of cytoskeletal system delivering insulin granules, then involve in the regulation of glucose-stimulated insulin secretion. In-depth study of histone acetylation will provide new ideas for prevention and treatment of diabetes.

【Key words】 Protein acetylation; Diabetes mellitus; Insulin secretion

(Int J Endocrinol Metab, 2014, 34: 313-315)

表观遗传学是指 DNA 序列变化以外的可遗传基因的表达改变,表观转录调控是指仅影响基因转录活性而不涉及 DNA 序列改变的基因表达调控,包括组蛋白乙酰化修饰在内的蛋白翻译后修饰是基因表观转录调控的重要机制^[1]。研究发现,组蛋白乙酰化可直接或间接通过影响胰岛 β 细胞分泌胰岛素等,最终导致糖尿病的发生^[2]。另有研究发现,胰岛 β 细胞骨架活性调节蛋白乙酰化水平的改变可能调节细胞骨架系统运送胰岛素颗粒的活力,进而参与调节葡萄糖刺激的胰岛素分泌。因此,加强蛋白乙酰化对胰岛素分泌影响的研究,将有助于深入了解糖尿病的发病机制,本文就蛋白乙酰化与胰岛素分泌关系的研究进展作一综述。

1 组蛋白乙酰化与糖尿病

组蛋白乙酰化修饰在真核生物基因表达调控中

发挥重要的作用^[3]。组蛋白乙酰化存在于胰岛素基因的表达、胰岛发育及分泌过程中,在糖尿病发病中发挥一定作用^[4]。组蛋白乙酰化是一可逆的动态过程,组蛋白相同残基上乙酰化和去乙酰化之间的调节主要是通过对多种组蛋白乙酰化酶(HAT)和组蛋白去乙酰化酶(HDAC)的调节来实现^[5]。HAT 可激活特定基因的转录过程,HDAC 可抑制转录,而组蛋白乙酰基转移酶抑制剂(HDACi)可以通过抑制 HDAC 的活性,使染色质组蛋白乙酰化水平提高,引起染色质结构的变化,从而增加一些基因的转录^[6]。2 型糖尿病严重危害人类健康,主要与胰岛素抵抗和胰岛素分泌不足有关。近年的全基因组关联研究(GWAS)发现,约 80% 的 2 型糖尿病发病相关基因多态性与胰岛 β 细胞有关^[7]。2013 年 3 月,Cell 杂志发表综述文章,回顾了近 10 年来糖尿病研究领域的进展,并阐述了胰岛素分泌缺陷在糖尿病发病中的重要作用^[8]。1 型糖尿病主要与选择性胰岛 β 细胞损伤导致的胰岛素绝对缺乏有关。虽然目前有关组蛋白乙酰化在 1 型糖尿病中的作用研究较少,但现有的研究提示,与 1 型糖尿病发病

有关基因的组蛋白修饰异常可能是 1 型糖尿病发病的重要原因。

1.1 HDAC 与胰岛素分泌 体外相关研究发现,葡萄糖参与胰岛素基因的转录并刺激胰岛 β 细胞分泌胰岛素,HDAC 调节组蛋白 H_4 乙酰化程度,从而影响 β 细胞分泌胰岛素^[9]。高浓度葡萄糖可能通过提高胰岛素基因启动子 H_4 组蛋白的乙酰化程度而促进胰岛素基因转录,这些对于葡萄糖诱导的前胰岛素转录非常重要;相反,低浓度葡萄糖可迅速募集 HDAC-1 和 HDAC-2 至胰岛素基因启动子的 H_4 ,降低其乙酰化程度而减少胰岛素基因转录。而转录至少需要 3 种特殊的转录因子参与:胰十二指肠同源盒因子-1(Pdx-1)、神经源分化因子 1、肌腱膜纤维肉瘤癌基因同系物 A(MafA),这 3 种转录因子与组蛋白乙酰化有关,可促进胰岛素基因的表达^[10]。Pdx-1 可调控胰岛 β 细胞胰岛素基因、葡萄糖激酶基因等的表达,在糖尿病的发生、发展中起重要作用:高浓度葡萄糖时,Pdx-1 与组蛋白乙酰化转移酶 P300 相互作用,使胰岛素基因启动子组蛋白 H_4 乙酰化程度升高,促使胰岛素基因转录。神经源分化因子 1、MafA 也与转录过程中乙酰化作用相关,从而影响胰岛素表达。可见 HDAC 通过调节胰岛素基因启动子组蛋白 H_4 乙酰化程度可影响胰岛素的基因转录和表达。

沉默信息调节因子 1(SIRT1)是一种 NAD^+ 依赖的 HDAC,以依赖 NAD^+ 的方式使多种蛋白发生去乙酰化作用,参与调节葡萄糖内环境稳态和胰岛素分泌^[11]。近年来研究发现,SIRT1 对葡萄糖刺激胰岛素分泌有正向调节作用,可改善胰岛素抵抗,并能抑制多种细胞的凋亡。Ramsey 等^[12]在其建立的转基因 BESTO 鼠中,胰岛 β 细胞选择性地过表达 SIRT1,葡萄糖刺激的胰岛素分泌增加,葡萄糖耐受得到改善。另有研究以白藜芦醇作为 SIRT1 的激活剂,发现其能增强 SIRT1 的活性,当分别以不同浓度白藜芦醇(5、10、20 $\mu\text{mol/L}$)处理 MIN6 细胞 72 h 后,胰岛素分泌增加,呈剂量依赖性,与对照组相比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$)^[13]。表明白藜芦醇能够明显促进 MIN6 细胞的胰岛素分泌,而 SIRT1 抑制剂 sirtinol 则对 MIN6 细胞的胰岛素分泌具有一定的抑制作用,且均呈时间-剂量依赖关系。表明将 SIRT1 作为分子靶标用于新药研发,可能为糖尿病的治疗提供新途径。

1.2 HAT/HDACi 与胰岛素分泌 早在胚胎发育过程中,各种环境因素刺激通过改变组蛋白乙酰化

及 DNA 甲基化等增加氧化应激、引起相关基因沉默等途径损伤 β 细胞功能,引起胰岛 β 细胞破坏及胰岛素抵抗,最终导致糖尿病的发生^[14-15]。宫内发育迟缓的大鼠出生 15 ~ 26 周时,可发生以胰岛 β 细胞分泌缺陷和胰岛素抵抗为特征的 2 型糖尿病;其血糖异常会永久地改变胰岛 β 细胞基因表达,并导致动物成年时糖尿病的发生^[15]。另外,宫内发育迟缓大鼠的胰岛中 Pdx-1 表达显著下降,导致组蛋白 H_3 乙酰化水平显著下降,从而证实 Pdx-1 与 HAT 相互作用,与组蛋白 H_3 乙酰化程度息息相关。

HDACi 通过抑制 HDAC 的活性,使染色质组蛋白乙酰化水平提高,引起染色质结构的变化,从而增加一些基因的转录,促进胰岛素表达^[17]。采用胰岛 β 细胞系验证葡萄糖浓度对胰岛素基因启动子乙酰化的影响,发现与 3 mmol/L 相比,葡萄糖浓度为 30 mmol/L 时,胰岛素启动子组蛋白乙酰化程度明显增强。分别加入广谱去乙酰化酶抑制剂曲古抑菌素 A(TSA)和丁酸钠(NaB)作为 HDACi 后,发现 3 mmol/L 葡萄糖组胰岛素基因启动子 H_3 、 H_4 乙酰化水平和胰岛素表达增加,而 30 mmol/L 葡萄糖组中,NaB 和 TSA 并未增加组蛋白 H_4 乙酰化。表明 HDACi TSA 和 NaB 可促进胰岛素启动子组蛋白乙酰化而加速胰岛素转录。

由巨噬细胞分泌的炎症因子在 1 型糖尿病的发生和发展中发挥重要作用^[18]。其中,白细胞介素-1 β (IL-1 β)可刺激诱导型一氧化氮合酶表达,而引起一氧化氮产量增加,这不仅减少了葡萄糖刺激的胰岛素分泌,还可导致胰岛 β 细胞坏死,甚至增加的 IL-1 β 可减弱 T 细胞功能。在体外或 1 型糖尿病动物模型中,HDACi 可阻止 IL-1 β 信号通路^[19]。HDACi 的使用可减少 IL-1 β 诱导的一氧化氮释放并减弱对 β 细胞的毒性,阻止细胞因子介导的凋亡,同时 HDACi 具有抗炎和抗细胞因子的作用,因此 HDACi 通过作用于 IL-1 β ,未来有望成为新药开发设计的作用靶点。

研究发现,几种 HDACi 如 THS-78-5、ITF2357、TSA 和 SAHA 通过抑制 HDAC 活性,增加组蛋白乙酰化,可抑制细胞因子介导的胰岛素释放^[20]。值得注意的是,ITF2357 不仅可抑制细胞因子介导的胰岛素释放,还可增加胰岛素分泌^[21]。1.25 ~ 2.5 nmol/kg 的 ITF2357 用于治疗由链脲佐菌素(STZ)诱导成高血糖的小鼠,发现亚硝酸盐水平恢复到非糖尿病状态,胰岛功能也恢复,葡萄糖清除率由 14% (STZ) 提高到 50% (STZ + ITF2357)。在体外试验发现,25 和 250

nmol/L ITF2357 可提高胰岛细胞功能,增加胰岛素分泌,抑制巨噬细胞炎性蛋白 MIP-1 α 和 MIP-2 的释放,降低诱导型一氧化氮合酶的产生,且使细胞凋亡率从 14.3% (对照组) 降到 2.6% (ITF2357 干预组),从而在炎症反应状态下保护胰岛 β 细胞。初步的临床研究表明,可通过抑制 HDAC 的活性来增加组蛋白乙酰化,这种基于 HDACi 的综合治疗有望为 1 型糖尿病的治疗带来新思路。

2 细胞骨架蛋白乙酰化与胰岛素分泌

α -微管蛋白属于细胞骨架蛋白,由 α -微管蛋白和 β -微管蛋白组成的二聚体聚集形成的微管,广泛参与细胞内颗粒运输等功能,并对 β 细胞中胰岛素颗粒的运输也起重要的调节作用。Akihisa 等^[22] 首次报道在 NIH3T3 细胞中 α -微管蛋白是 HDAC6 的底物,HDAC6 属于 II 类去乙酰化酶家族成员,HDAC6 能将位于 α -微管蛋白氨基酸序列第 40 位的赖氨酸去乙酰化,调节微管的聚合稳定性,用 TSA 抑制 HDAC6 后 α -微管蛋白的乙酰化水平升高。研究显示,分别在 5.6 mmol/L 和 25 mmol/L 葡萄糖的培养条件下,用 10 μ mol/L Tubacin 处理 MIN6 细胞 24 h,发现 Tubacin 均能显著抑制胰岛素分泌,同时伴有 α -微管蛋白乙酰化水平增加。因此认为,Tubacin 通过抑制 HDAC6 活性增加 α -微管蛋白的乙酰化水平,调节微管稳定性,进而影响细胞骨架稳定性,抑制胰岛素的分泌,提示 HDAC6 可能在生理性胰岛素分泌中有重要的调控作用。

SIRT2 是 III 型去乙酰化酶家族成员,与微管共定位,并能使细胞骨架蛋白 α -微管蛋白的 40 位赖氨酸去乙酰化,因此 SIRT2 是 α -微管蛋白的去乙酰化酶。研究发现,葡萄糖促进胰岛素分泌的同时伴有细胞骨架蛋白 α -微管蛋白乙酰化水平降低,SIRT2 在胰岛 β 细胞表达较高,其特异性抑制 AGK2 (AGK2 为特异性 SIRT2 抑制剂,可显著增加细胞蛋白乙酰化水平),可能通过影响胰岛 β 细胞 α -微管蛋白乙酰化水平,显著降低葡萄糖刺激的胰岛素分泌^[23]。由此推测 SIRT2 可能通过影响胰岛 β 细胞 α -微管蛋白乙酰化水平,调节细胞骨架系统运送胰岛素颗粒的能力,进而参与调节葡萄糖刺激的胰岛素分泌。

3 结语

蛋白乙酰化参与调节葡萄糖刺激的胰岛素分泌。SIRT1 对葡萄糖刺激的胰岛素分泌有正向调节作用,可改善胰岛素抵抗,并能抑制多种细胞凋亡。SIRT1 的活性发生改变,参与 2 型糖尿病等胰岛素

抵抗相关疾病的发生。通过抑制 HDAC 的活性增加组蛋白乙酰化水平,如 ITF2357 不仅可抑制细胞因子介导的胰岛素释放,还可增加胰岛素分泌。HDAC6、SIRT2 可能通过影响胰岛 β 细胞 α -微管蛋白乙酰化水平调节细胞骨架系统运送胰岛素颗粒的活力,进而参与调节葡萄糖刺激的胰岛素分泌。

目前,蛋白乙酰化修饰位点的功能尚不明确。随着对蛋白乙酰化及其在糖尿病发病中的深入研究,有助于全面了解糖尿病的发病机制,并可能从表观遗传学水平找到干预糖尿病发生和改善其转归的新方法,为糖尿病的防治带来新的思路和机遇,特别是在细胞和分子水平上筛选具有针对性的药物具有实际意义。

参 考 文 献

- [1] Guarente L. The Logic Linking Protein Acetylation and Metabolism [J]. Cell Metabolism, 2011, 14(2): 151-153.
- [2] Gray SG. Role of histone and transcription factor acetylation in diabetes pathogenesis [J]. Diabetes Metab Res Rev, 2005, 21(5): 416-433.
- [3] 蒋智文, 刘新光, 周中军. 组蛋白修饰调节机制的研究进展 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2009, 36(10): 1252-1259.
- [4] Lundh M, Christensen DP, Rasmussen DN, et al. Lysine deacetylases are produced in pancreatic beta cells and are differentially regulated by proinflammatory cytokines [J]. Diabetologia, 2010, 53(12): 2569-2578.
- [5] Bramswig NC, Kaestner KH. Transcriptional and epigenetic regulation in human islets [J]. Diabetologia, 2014, 57(3): 451-454.
- [6] Haberland M, Montgomery RL, Olson EN. The many roles of histone deacetylases in development and physiology: implications for disease and therapy [J]. Nat Rev Genet, 2009, 10(1): 32-42.
- [7] Bonnefond A, Froguel P, Vaxillaire M. The emerging genetics of type 2 diabetes [J]. Trends Mol Med, 2010, 16(9): 407-416.
- [8] Ashcroft FM, Rorsman P. Diabetes and the β cell: the last ten years [J]. Cell, 2012, 148(6): 1160-1171.
- [9] Wang XJ, Wei XB, Pang Q, et al. Histone deacetylases and their inhibitors: molecular mechanisms and therapeutic implications in diabetes mellitus [J]. Acta Pharmaceutica Sinica B, 2012, 2(4): 387-395.
- [10] Guo S, Burnette R, Zhao L, et al. The stability and transactivation potential of the mammalian MafA transcription factor are regulated by serine 65 phosphorylation [J]. J Biol Chem, 2009, 284(2): 759-765.
- [11] 李丽萍, 曾为民, 郭明日. SIRT1 的生物学功能及其在胰岛素抵抗中的作用 [J]. Science Research, 2010, 14(4): 372-376.
- [12] Ramsey KM, Mills KF, South A, et al. Age-associated loss of SIRT1-mediated enhancement of glucose-stimulated insulin secretion in beta cell-specific SIRT1-overexpressing (BESTO) mice [J]. Aging Cell, 2008, 7(1): 77-88.

(下转第 333 页)

- entiation efficiency of mouse embryonic stem cells into insulin-producing cells[J]. *Cell Transplant*, 2013,22(1):147-158.
- [17] Koya V, Lu S, Sun YP, et al. Reversal of streptozotocin-induced diabetes in mice by cellular transduction with recombinant pancreatic transcription factor pancreatic duodenal homeobox-1: a novel protein transduction domain-based therapy[J]. *Diabetes*, 2008,57(3):757-769.
- [18] Wang S, Jensen JN, Seymour PA, et al. Sustained neurog3 expression in hormone-expressing islet cells is required for endocrine maturation and function[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009,106(24):9715-9720.
- [19] Schaffer AE, Taylor BL, Benthuyzen JR, et al. Nkx6.1 controls a gene regulatory network required for establishing and maintaining pancreatic Beta cell identity[J]. *PLoS Genet*, 2013,9(1):e1003274.
- [20] Liu SH, Rao DD, Nemunaitis J, et al. PDX-1 is a therapeutic target for pancreatic Cancer, insulinoma and islet neoplasia using a novel RNA interference platform[J]. *PLoS One*, 2012,7(8):e40452.
- [21] Poy MN, Hausser J, Trajkovski M, et al. miR-375 maintains normal pancreatic alphanand beta-cell mass[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009,106(14):5813-5818.
- [22] Kinoshita T, Nohata N, Yoshino H, et al. Tumor suppressive microRNA-375 regulates lactate dehydrogenase B in maxillary sinus squamous cell carcinoma[J]. *Int J Oncol*, 2012,40(1):185-193.
- [23] Vickers K C, Palmisano B T, Shoucri B M, et al. MicroRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins[J]. *Nat Cell Biol*, 2011,13(4):423-433.
- [24] El Ouaamari A, Baroukh N, Martens GA, et al. miR-375 targets 3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1 and regulates glucose-induced biological responses in pancreatic beta-cells[J]. *Diabetes*, 2008,57(10):2708-2717.
- [25] Arikoglu H, Ozdemir H, Kaya DE, et al. The adiponectin variants contribute to the genetic background of type 2 diabetes in Turkish population[J]. *Gene*, 2014,534(1):10-16.
- [26] Zampetaki A, Mayr M. MicroRNAs in vascular and metabolic disease[J]. *Circ Res*, 2012,110(3):508-522.
- [27] Li Y, Xu X, Liang Y, et al. miR-375 enhances palmitate-induced lipoapoptosis in insulin-secreting NIT-1 cells by repressing myotrophin (V1) protein expression[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2010,3(3):254-264.
- [28] Wang Y, Huang C, Reddy Chintagari N, et al. miR-375 regulates rat alveolar epithelial cell trans-differentiation by inhibiting Wnt/ β -catenin pathway[J]. *Nucleic Acids Res*, 2013,41(6):3833-3844.
- [29] Qin L, Chen Y, Niu Y, et al. A deep investigation into the adipogenesis mechanism: profile of microRNAs regulating adipogenesis by modulating the canonical Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *BMC Genomics*, 2010,11:320.

(收稿日期:2014-04-06)

(上接第 315 页)

- [13] 郑伟,邓林,吴思思,等. 去乙酰化酶 SIRT1 对胰岛 B 细胞株 MIN6 分泌功能的影响及其机制研究[J]. *中南药学*, 2010,8(5):332-335.
- [14] Bruce KD, Hanson MA. The developmental origins, mechanisms, and implications of metabolic syndrome[J]. *J Nutr*, 2010,140(3):648-652.
- [15] Jim Chillaron JC, Isganaitis E, Charalambous M, et al. Intergenerational transmission of glucose in tolerance and obesity by in utero undernutrition in mice[J]. *Diabetes*, 2009,58(2):460-468.
- [16] Pinney SE, Jaecle Santos LJ, Han Y, et al. Exendin-4 increases histone acetylase activity and reverses epigenetic modifications that silence Pdx1 in the intrauterine growth retarded rat[J]. *Diabetologia*, 2011,54(10):2606-2614.
- [17] Christensen DP, Dahllof M, Lundh M, et al. Histone deacetylase (HDAC) inhibition as a novel treatment for diabetes mellitus[J]. *Molmed*, 2011,17(5-6):378-390.
- [18] Jiang GX, Cui YF, Zhong XY, et al. Use of a cocktail regimen consisting of soluble galectin-1, rapamycin and histone deacetylase inhibitor may effectively prevent type 1 diabetes[J]. *Arch Med Res*, 2009,40(5):424-426.
- [19] Patel T, Patel V, Singh R, et al. Chromatin remodeling resets the immune system to protect against autoimmune diabetes in mice[J]. *Immunol Cell Biol*, 2011,89(5):640-649.
- [20] Susick L, Senanayake T, Veluthakal R, et al. A novel histone deacetylase inhibitor prevents IL-1 beta induced metabolic dysfunction in pancreatic beta-cells[J]. *J Cell Mol Med*, 2009,13(8B):1877-1885.
- [21] Lewis EC, Blaabjerg L, Storling J, et al. The oral histone deacetylase inhibitor ITF2357 reduces cytokines and protects islet beta-cells *in vivo* and *in vitro*[J]. *Mol Med*, 2010,17(5-6):369-377.
- [22] Matsuyama A, Shimazu T, Sumida Y, et al. *In vivo* destabilization of dynamic microtubules by HDAC6-mediated deacetylation[J]. *EMBO J*, 2002,21(24):6820-6831.
- [23] Outeito TF, Kontopoulou E, Altmann SM, et al. Sirtuin 2 inhibitors rescue α -synuclein-mediated toxicity in models of Parkinson's disease[J]. *Science*, 2007,317(5837):516-519.

(收稿日期:2014-06-04)