

· 综述 ·

自噬与胰岛 β 细胞功能及 2 型糖尿病

曹萌 韦晓 刘超

【摘要】 β 细胞衰竭是 2 型糖尿病发病的重要机制。自噬是一种细胞内的代谢降解过程,能够有效地降解胞内聚集的蛋白和损伤的细胞器。研究显示,抑制自噬会导致胰岛素分泌减少及高血糖。而刺激自噬则可以改善糖尿病、增加胰岛素分泌、防止 β 细胞凋亡。这些结果提示:自噬在维持内环境稳定,保护胰岛 β 细胞的结构和功能等方面发挥重要作用。除此之外,自噬在缓解胰岛素抵抗状态下的应激反应过程中也发挥重要作用。自噬功能的损伤会使个体更易于患 2 型糖尿病。

【关键词】 自噬;2 型糖尿病;胰岛 β 细胞

Relationship between autophagy and islet β cells function, type 2 diabetes mellitus Cao Meng, Wei Xiao, Liu Chao. Endocrine and Diabetes Center, Jiangsu Province Hospital on Integration of Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Jiangsu Branch of China Academy of Chinese Medical Science, Nanjing 210028, China

Corresponding author: Liu Chao, Email: liuchao@jsatcm.com

【Abstract】 β cell failure is crucial in the onset of type 2 diabetes mellitus. Autophagy is a cellular degradation-recycling process for aggregated proteins and damaged organelles. Inhibition of autophagy causes insulin deficiency and hyperglycemia. Autophagy deficient mice shows degenerated β -cell and impaired glucose tolerance with reduced insulin secretion. Stimulating autophagy can improve diabetes, increase pancreatic insulin content, and prevent β -cell apoptosis. These results suggest that autophagy plays an important role in maintaining internal environmental stabilization, protecting architecture and function of islet β cells. Autophagy also serves as a crucial element of stress response under insulin-resistant states. Impairment of autophagic function could thus predispose individuals to type 2 diabetes mellitus.

【Key words】 Autophagy; Type 2 diabetes mellitus; Islet beta cells

(Int J Endocrinol Metab, 2015, 35:53-55)

自噬是真核细胞在其生长、发育、老化过程中存在的一种细胞蛋白和细胞器的循环利用机制,其在细胞生长、发育和疾病发生中起重要作用^[1]。自噬机制的异常与糖尿病、阿尔兹海默症等多种衰老性疾病相关^[2-3]。研究表明,自噬在基础状态和应激情况下对胰岛 β 细胞数量、结构和功能均发挥重要的保护作用^[4]。对自噬进程的深入探讨将有助于了解自噬在糖尿病发生、发展过程中的作用,从而为糖尿病的治疗提供新的治疗方向。

1 自噬的概念、分类和调节方式

1.1 自噬的概念 自噬是一种真核细胞中普遍存在的生理现象。自噬过程中,待降解的胞质组分(错误折叠的蛋白、胞质内受损的细胞器、胞内聚集

的毒素以及胞内感染微生物等)被包裹在一种具有双层膜结构的自噬小体中,然后自噬小体与溶酶体融合形成自噬-溶酶体,以降解其所包裹的内容物,最后自噬体膜脱落再循环利用,以实现细胞代谢、能量循环、细胞器更新和胞内防御的需要^[5]。

1.2 自噬的分类 根据细胞内底物运送到溶酶体腔室方式的不同,哺乳动物细胞的自噬可分为 3 种主要方式:大自噬、小自噬和分子伴侣介导的自噬。其中,大自噬即通常所说的自噬。在大自噬过程中,待降解的蛋白和细胞器被非溶酶体来源的双层膜结构所包裹,形成自噬小体,并由自噬小体将其携带到溶酶体中降解加工^[6]。

1.3 自噬的调节和检测 参与自噬调节的基因统称为自噬相关基因(Atg),其编码的蛋白参与自噬的诱导、产生、成熟和再循环,同时,自噬还受一些信号途径如磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)等的调控。检测自噬的金指标为:电子显微镜下观察到内含胞质成分的空泡

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2015.01.013

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81270861)

作者单位:210028 南京,中国中医科学院江苏分院,南京中医药大学附属江苏省中西医结合医院内分泌代谢病院区

通信作者:刘超,Email:liuchao@jsatcm.com

状双层膜样结构,也可检测自噬体膜标志性蛋白质 LC3。此外, beclin-1 蛋白也是检测自噬的常用指标^[7]。

2 自噬与 β 细胞功能及 2 型糖尿病

2.1 自噬与胰岛 β 细胞功能

2.1.1 自噬调节胰岛素的分泌和降解 β 细胞内胰岛素的合成、降解与分泌是一个动态平衡过程,其中胰岛素的降解在维持胰岛素稳态及 β 细胞功能中发挥重要作用。当体内血糖升高时,胰岛素降解速度下降从而分泌更多的胰岛素,而当血糖降低时,胰岛素的降解速度又会提高。当这种平衡被打破时,就会造成血糖的异常。自噬-溶酶体降解途径在胰岛素颗粒的分泌与降解过程中发挥重要作用。胰岛素颗粒能够被自噬小体包裹,进而与溶酶体结合后被降解,从而调节胰岛素的分泌。在胰岛素抵抗的情况下,溶酶体降解胰岛素的速率会明显减慢。通过药物干扰胰岛素的分泌能够刺激 β 细胞的自噬,加强胞内胰岛素的降解。同时,如果抑制 β 细胞自噬功能将会导致胰岛素更新的障碍^[8]。这些结果均提示胰岛素的合成与分泌和自噬密切相关。

2.1.2 自噬稳定胰岛 β 细胞的内环境 在外界刺激导致胞内出现较多代谢废物时,作为一种应激保护机制,自噬水平会随之上调。在多个糖尿病的体内模型及糖、脂毒性的体外模型中,均发现胰岛 β 细胞自噬水平显著提高。在链脲佐菌素诱导的实验性糖尿病大鼠模型中,自噬是 β 细胞胞内较早出现的反应之一,以防止细胞遭受外来应激损害^[9]。而高脂喂养的非糖尿病 C57BL/6 小鼠其胰岛 β 细胞内自噬水平也明显高于对照组^[10]。相关研究显示, β 细胞内非游离脂肪酸水平升高可影响其溶酶体活性及自噬水平。用游离脂肪酸处理人胰岛 β 细胞后发现,胞内溶酶体相关膜蛋白 2 的表达下调,从而阻碍了自噬流的形成。由于自噬流的阻断,使得胰岛淀粉样多肽、错误折叠的胰岛素原等更易于在胞内沉积,进而造成细胞功能的破坏并诱导细胞凋亡^[11]。而自噬参与清除 Zucker 糖尿病大鼠 β 细胞内以及高糖刺激后的胰岛素瘤细胞内的泛素化蛋白,提示自噬在清除胰岛细胞内聚集的有害蛋白过程中极为重要^[12]。

自噬还能够通过降解受损的细胞器(线粒体、内质网等)保护应激状态下的 β 细胞。2 型糖尿病患者体内的胰岛素抵抗往往会造成 β 细胞的内质网应激和氧化应激,产生内质网及线粒体的损伤。Jung 等^[13]发现,Atg7 缺陷小鼠的胰岛 β 细胞经 HE

染色后可观察到多囊结构。超薄切片部分经甲苯胺蓝染色显示,突变的胰岛包含胀大的空泡细胞位于胰岛周边胞质淡染部分相当于 HE 染色的囊肿结构。观察显示,空泡细胞很可能是退化的胰岛 β 细胞。在 Atg7 缺陷鼠的胰岛 β 细胞中能观察到更多异常的超微结构,如肿胀的线粒体、粗面内质网及高尔基复合体,由于线粒体和内质网是胰岛细胞生存和功能保证的重要细胞器,自噬缺失而导致的重要细胞器结构破坏,进一步导致胰岛 β 细胞凋亡的增加、增殖的降低以及胰岛素分泌量的下降^[14]。

2.1.3 自噬维持胰岛 β 细胞的数量 研究显示,敲除自噬基因后,大鼠胰岛细胞凋亡增加,同时胰岛细胞增殖障碍从而导致有功能胰岛细胞数量的降低。而由于胰岛细胞的数量降低和胰岛素囊泡的减少,自噬基因敲除鼠的胰腺中胰岛素的含量明显低于正常对照组,胰岛细胞中糖诱导的钙离子增加也被抑制。Choi 等^[15]将 INS-1 细胞用 0.4 mmol/L 软脂酸和 25 mmol/L 葡萄糖干预 12 h 后发现,自噬体和自噬溶酶体的数目增加。绿色荧光标记 LC3 蛋白的形成和 LC3- I 到 LC3- II 的转变也增加。自噬的负相关因子 mTOR 磷酸化水平降低,从而促进自噬的通路。雷帕霉素可以阻止 mTOR 通路,因此,用雷帕霉素干预后可以增加自噬体的数目,同时降低了软脂酸诱导的 INS-1 细胞死亡。相反,通过敲除 Atg5 或使用络霉素 A1 干预来阻止自噬体和溶酶体的融合,或通过 E64d 和抑肽素干预来抑制自噬的产生后则可以加速软脂酸诱导的胰岛 β 细胞的死亡。

2.2 自噬与 2 型糖尿病 2 型糖尿病患者体内存在着长期的胰岛素抵抗,显著提高了机体对胰岛素的需求量,因此胰岛 β 细胞的内质网往往处于长期超负荷状态,从而导致内质网应激。长期的内质网应激会影响 β 细胞的蛋白质合成、分泌,损害细胞正常功能,更进一步诱导细胞凋亡。当细胞凋亡过多导致残存胰岛 β 细胞无法代偿胰岛素抵抗状态下机体对胰岛素的高需求时,就会发生高血糖。而高血糖所伴随的糖毒性、脂毒性、氧化应激、炎症反应等病理过程又能进一步加重胰岛 β 细胞的功能衰退和凋亡,从而形成恶性循环,导致糖尿病的发生、发展。

在包括 ob/ob、db/db 等多种糖尿病动物模型中均观察到自噬水平的上调^[16]。Kaniuk 等^[17]发现,自噬能够降解 Zucker 大鼠由于高血糖和氧化应激造成的泛素化蛋白堆积。在 Akita 小鼠模型上也观察到,自噬流的升高有助于胰岛功能的恢复。然而,

一些研究却得到了相反的结果,如 Masini 等^[18]发现一些 2 型糖尿病患者的自噬过度激活与 β 细胞凋亡有密切关系。

近来也有学者尝试以人为诱导自噬的方式对内质网应激状态下的胰岛 β 细胞进行保护。Bachar-Wikstrom 等^[19]用雷帕霉素干预糖尿病 Akita 小鼠模型,结果显示,Akita 小鼠胰岛 β 细胞的自噬溶酶体水平显著升高,同时糖耐量、胰岛素水平、 β 细胞的凋亡率以及内质网应激都明显改善。Nair 等^[20]证实高尔基 SNAR 受体在自噬调节与胰岛素分泌的过程中发挥重要作用。通过禁食等方式升高 SNAR 受体水平,能够清除受损的线粒体,进而改善由氧化应激造成的细胞损伤。

3 展望

自噬是针对多重因素影响细胞稳态时细胞的一种适应性反应。无论是基础自噬还是刺激诱导产生的自噬均与胰岛 β 细胞功能密切相关。虽然自噬的紊乱与 2 型糖尿病存在一定的联系,但胰岛细胞自噬水平的下降是否会在 2 型糖尿病个体中起关键的致病作用还值得进一步探讨。但可以肯定的是,通过限制能量摄入,可使肥胖者自噬活性升高,从而提高胰岛素敏感性和存活力。因此,阐明自噬在胰岛 β 细胞损伤及胰岛素抵抗中的作用机制将有可能完善对 2 型糖尿病发病机制的认识,为 2 型糖尿病的治疗提供新的方向。调控胰岛细胞中的自噬活性,可能会成为糖尿病治疗的潜在靶点。

参 考 文 献

- [1] Ouimet M. Autophagy in obesity and atherosclerosis: interrelationships between cholesterol homeostasis, lipoprotein metabolism and autophagy in macrophages and other systems [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1831(6):1124-1133.
- [2] Kim KH, Lee MS. Autophagy as a crosstalk mediator of metabolic organs in regulation of energy metabolism [J]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2014, 15(1):11-20.
- [3] Gonzalez CD, Lee MS, Marchetti P, et al. The emerging role of autophagy in the pathophysiology of diabetes mellitus [J]. *Autophagy*, 2011, 7(1):2-11.
- [4] Ezaki J, Matsumoto N, Takeda-Ezaki M, et al. Liver autophagy contributes to the maintenance of blood glucose and amino acid levels [J]. *Autophagy*, 2011, 7(7):727-736.
- [5] 丁磊,曹萌,王立新. 细胞自噬参与蛋白降解及抗原递呈的研究进展 [J]. *国际免疫学杂志*, 2009, 32(3):180-183.
- [6] Choi AM, Ryter SW, Levine B. Autophagy in human health and disease [J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(7):651-662.
- [7] Klionsky DJ, Abdalla FC, Abeliovich H, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy [J]. *Autophagy*, 2012, 8(4):445-544.
- [8] Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: renovation of cells and tissues [J]. *Cell*, 2011, 147(4):728-741.
- [9] Kroemer G, Marino G, Levine B. Autophagy and the integrated stress response [J]. *Mol Cell*, 2010, 40(2):280-293.
- [10] Liu Y, Palanivel R, Rai E, et al. Adiponectin stimulates autophagy and reduces oxidative stress to enhance insulin sensitivity during high fat diet feeding in mice [J]. *Diabetes*, 2014, [Epub ahead of print].
- [11] Martino L, Masini M, Novelli M, et al. Palmitate activates autophagy in INS-1E beta-cells and in isolated rat and human pancreatic islets [J]. *PLoS One*, 2012, 7(5):e36188.
- [12] Pearson GL, Mellett N, Chu KY, et al. Lysosomal acid lipase and lipophagy are constitutive negative regulators of glucocorticoid-stimulated insulin secretion from pancreatic beta cells [J]. *Diabetologia*, 2014, 57(1):129-139.
- [13] Jung HS, Chung KW, Won-Kim J, et al. Loss of autophagy diminishes pancreatic β cell mass and function with resultant hyperglycemia [J]. *Cell Metab*, 2008, 8(4):318-324.
- [14] Ebato C, Uchida T, Arakawa M, et al. Autophagy is important in islet homeostasis and compensatory increase of beta cell mass in response to high-fat diet [J]. *Cell Metab*, 2008, 8(4):325-332.
- [15] Choi SE, Lee SM, Lee YJ, et al. Protective role of autophagy in palmitate-induced INS-1 beta-cell death [J]. *Endocrinology*, 2009, 150(1):126-134.
- [16] Quan W, Hur KY, Lim Y, et al. Autophagy deficiency in beta cells leads to compromised unfolded protein response and progression from obesity to diabetes in mice [J]. *Diabetologia*, 2012, 55(2):392-403.
- [17] Kaniuk NA, Kiraly M, Bates H, et al. Ubiquitinated-protein aggregates form in pancreatic beta-cells during diabetes-induced oxidative stress and are regulated by autophagy [J]. *Diabetes*, 2007, 56(4):930-939.
- [18] Masini M, Lupi R, Bugliani M, et al. A role for autophagy in β -cell life and death [J]. *Islets*, 2009, 1(2):157-159.
- [19] Bachar-Wikstrom E, Wikstrom JD, Ariav Y, et al. Stimulation of autophagy improves endoplasmic reticulum stress-induced diabetes [J]. *Diabetes*, 2011, 62(4):1227-1237.
- [20] Nair U, Jotwani A, Geng J, et al. SNARE proteins are required for macroautophagy [J]. *Cell*, 2011, 146(2):290-302.

(收稿日期:2014-09-09)