

GLP-1 的神经保护作用

韩丽萍 陈莉明

【摘要】 流行病学研究表明,2 型糖尿病和神经变性疾病,包括阿尔茨海默病和帕金森病及缺血性脑血管病存在紧密联系。这些疾病都存在共同的病理生理学特征,包括氧化应激、胰岛素抵抗、异常蛋白的处理、认知功能的减退,目前尚无有效的治疗方案干预上述疾病。近年来,以胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 为基础的降糖药物备受关注。体内和体外研究表明,激活 GLP-1 受体可以促进神经细胞的增殖、分化和突起的生长、提高突触的可塑性和记忆的生成、调节神经细胞钙稳态,对于改善记忆功能障碍、神经运动障碍、缺血性脑血管损伤、氧化应激及视网膜退化等神经病变发挥重要作用。

【关键词】 胰高血糖素样肽-1;胰高血糖素样肽-1 受体;阿尔茨海默病;帕金森病;2 型糖尿病

Neuroprotective actions of glucagon-like peptide-1 Han Liping, Chen Liming. Department of Neurology, The Metabolic Disease Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Corresponding author: Chen Liming, Email: xfx22081@vip.163.com

【Abstract】 Epidemiological data indicate an association between type 2 diabetes mellitus and most major neurodegenerative diseases, including Alzheimer's, Parkinson's diseases and ischemic cerebrovascular disease. Studies have revealed that these diseases have common pathophysiological features, including oxidative stress, insulin resistance, abnormal protein processing and cognitive decline. Nowadays there is no effective treatment of diseases mentioned above. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1)-based anti-diabetic drugs have drawn particular attention in recent years. *In vivo* and *in vitro* evidences supported that stimulation of GLP-1 receptor might promote neuronal cell proliferation, differentiation and neurite outgrowth, enhance synaptic plasticity and memory formation, regulate calcium homeostasis, and play an important role in improving memory dysfunction, neuromotor impairment, ischemic cerebrovascular damage, oxidative stress, retinal degeneration and other diseases of the nervous system.

【Key words】 Glucagon-like peptide-1; Glucagon-like peptide-1 receptor; Alzheimer's disease; Parkinson's disease; Type 2 diabetes mellitus

流行病学资料表明,2 型糖尿病与神经变性疾病包括阿尔茨海默病(AD)、帕金森病(PD)及缺血性脑血管病存在显著相关性。2 型糖尿病与 AD 互为发病的风险因子,在各自发病之初即有共同的病理变化,表现为大脑组织中 tau 蛋白的过度磷酸化,大脑与胰腺组织中 β 淀粉样蛋白($A\beta$)水平增加以及胰岛素信号的异常。2 型糖尿病和 AD 的相似之处引发一系列假说,甚至用新的术语描述 AD 为“3 型糖尿病”^[1]。因此,治疗 2 型糖尿病的药物可能对 AD 患者有益。

近年来,胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 及其特异

性受体 (GLP-1R) 成为糖尿病研究领域的新热点,有望为糖尿病及其并发症的治疗提供全新的选择。最新研究表明,激活 GLP-1R 可产生神经营养和神经保护作用。神经元-肠促胰素通路被激活,产生的细胞应答与胰岛 β 细胞存在惊人的相似之处,表现为神经细胞保护、增殖,前体细胞向神经元分化^[2]。本综述重点讨论 GLP-1 及 GLP-1R 与神经系统疾病的联系及潜在益处。

1 GLP-1 及 GLP-1R 概述

GLP-1 是由小肠 L 细胞分泌的一种多肽激素,可通过多环节机制发挥降糖作用^[3]。GLP-1 可以高效地通过血-脑屏障,进入相应脑区发挥作用,而且脑组织也产生少量 GLP-1,尤其是孤束核、后区和尾脑干^[4]。研究发现,GLP-1R 不仅存在于胰岛细胞中,在心脏、胃、肺和周围及中枢神经系统许多区域,

包括人和啮齿类动物的大脑皮层、脑干、海马、黑质纹状体、周围神经的轴突和施旺细胞等中也都有表达。GLP-1R在体内的广泛分布决定了GLP-1生理作用的多样性。研究发现, GLP-1R的激活显示出一定的神经保护作用^[5]。因此, 近年来对GLP-1的研究焦点已经从2型糖尿病转移到神经变性疾病。

2 GLP-1R的激活与神经保护

2.1 神经细胞的增殖 原代成年小鼠下丘脑细胞培养显示, 应用GLP-1类似物exendin-4 (Ex-4) 处理可使细胞分裂增殖的标志物增加, 且该作用是依赖睫状神经营养因子 (CNTF) 实现的^[6]。体内给予CNTF可诱导成年野生型小鼠下丘脑GLP-1免疫反应性表达增加, 表明GLP-1R信号通路在CNTF调节的细胞增殖中发挥作用。这种反应在GLP-1R基因敲除小鼠中不会出现, 进一步表明GLP-1R信号通路在CNTF依赖的细胞增殖过程中的必要性。Hamilton等^[7]给予糖尿病小鼠GLP-1类似物治疗4~10周, 发现齿状回原始祖细胞和幼神经细胞数量明显增加。相反, 给予GLP-1R拮抗剂 exendin-(9-39) 可减少原始祖细胞增殖, 同样证实GLP-1R介导神经细胞的增殖。

2.2 神经细胞的分化和突起的生长 成年小鼠接受Ex-4治疗显示, 内侧纹状体和室下区 (已知的神经干细胞池) 神经细胞分化和增殖增加。Isacson等^[8]研究表明, 成年啮齿类动物应用Ex-4治疗2周后, 标志海马神经生长的基因转录明显增加。Li等^[9]同样显示, GLP-1促进小鼠齿状回神经母细胞分化和神经再生。

应用Ex-4处理人神经母细胞瘤细胞, 可使细胞突起数量明显增加^[10]。同样在PC12细胞中观察到刺激GLP-1R可诱发突起生长, 类似于神经生长因子的作用方式。但是从形态学来看, 与神经生长因子的作用相比, 无论是人神经母细胞瘤细胞还是PC12细胞, Ex-4诱导的突起长度更短, 数量和分支更少。

2.3 突触的可塑性和记忆的生成 长时程增强作用 (LTP) 是发生在两个神经元信号传输中的一种持久的增强现象, 能够同步的刺激两个神经元, 与突触可塑性-突触改变强度的能力相关。由于记忆被认为是由突触强度的改变来编码的, LTP被普遍视为构成学习与记忆基础的主要分子机制之一。正常生理条件下, 刺激GLP-1R会促进海马LTP, 利拉鲁肽及其他GLP-1R激动剂也会提高LTP^[11]。研究显示, GLP-1R基因敲除小鼠 (Glp-1r^{-/-}) 神经元LTP受损;

而应用Ex-4治疗可以提高野生型啮齿类动物记忆参数^[8]。Glp-1r^{-/-}小鼠水迷宫实验能力差, 且在认知评估中不能区分新的和熟悉的物品, 表明记忆生成受损, 与杂合子和野生型小鼠相比存在明显的海马功能缺失^[12]。Isacson等^[8]给予野生型 Sprague-Dawley 大鼠GLP-1和肠促胰素类似物, 可改善其被动回避和Morris水迷宫实验行为能力, 提示大鼠海马相关的认知功能和空间学习能力得到提高, 但这一现象可以被GLP-1拮抗剂逆转, 说明这种改善是依赖GLP-1R信号通路实现的。

2.4 钙稳态的调节 细胞内适量的Ca²⁺参与神经系统的信号传输及整合, 而Ca²⁺超载又是导致细胞变性坏死的主要原因, 因此Ca²⁺稳态的维持对于细胞功能正常的发挥至关重要。Ca²⁺介导神经细胞对生理性刺激产生多种反应。其通过谷氨酸受体通道或电压依赖性通道的内流, 在神经轴突的生长、突触形成、神经递质从突触前膜的释放、以及学习记忆相关的突触重塑过程中发挥重要作用^[13]。GLP-1与GLP-1R结合后, 可激活腺苷酸环化酶, 催化ATP生成cAMP, 提高细胞内cAMP水平, 触发Ca²⁺内流, 增加神经递质的释放, 加快神经兴奋性传导, 进而增强学习、认知和记忆。cAMP还可以激活蛋白激酶A, 使细胞核内转录因子cAMP应答元件结合蛋白的133位丝氨酸残基磷酸化, 从而调节Bcl-2、c-Fos的表达, 这条通路的激活能减轻细胞内钙超载导致的兴奋性毒性^[14]。

3 激活 GLP-1R 在神经疾病中的作用

3.1 改善记忆功能障碍 体外和AD转基因大鼠模型研究证实, A β 的生成和沉积促进中枢神经系统细胞代谢异常、功能紊乱, 而激活GLP-1R可以改变细胞产物和A β 沉积物蓄积, 减轻毒性作用^[15]。给予Ex-4和GLP-1预处理, 可减少体外培养的海马神经细胞A β 及Fe²⁺诱导的细胞死亡。在正常血糖和高血糖条件下, 激活GLP-1R也会减少SH-SY5Y细胞A β 分泌水平^[16]。Ex-4还可以保护啮齿类动物原代皮质神经元免于A β 和氧化应激诱导的毒性损伤。链脲佐菌素诱导啮齿类动物不但产生糖尿病病理改变, 同时增加脑组织 β 淀粉样蛋白前体蛋白和可溶性A β 、tau蛋白水平, 类似于AD转基因小鼠及人AD病理改变。侧脑室缓慢注入Ex-4可完全改善脑组织上述蛋白水平改变, 减少海马A β 斑块的数量。长效GLP-1激动剂Val(8) GLP-1同样可减少AD转基因小鼠淀粉样蛋白斑块并激活小神经胶质细胞, 也

能有效降低链脲佐菌素诱导大鼠脑tau蛋白水平,改善与之相关的学习功能损伤^[17-18]。

3.2 改善神经运动障碍 PD是中老年最常见的中枢神经系统变性疾病,其特征是纹状体多巴胺能神经元的损失和细胞变性,与运动功能的缺陷相关联。甲基苯基四氢吡啶(MPTP)是一种神经毒素,可代谢为有毒性的阳离子1-甲基-4-苯基吡啶,并选择性转运至多巴胺能神经元轴突,通过抑制线粒体复合物1导致细胞死亡及活性氧簇生成,产生类似于PD的症状,因而广泛应用于人类和各种动物PD模型的研究中。给予大鼠或小鼠MPTP,均可见多巴胺能神经元减少,伴随炎症应答增强,导致运动功能严重损伤。Ex-4可完全逆转MPTP的毒性作用,增加多巴胺能神经元数量,调节炎症反应水平,恢复运动功能缺失^[19-20]。酪氨酸羟化酶(TH)是人体合成多巴胺的关键酶之一,体外研究显示,MPTP减少TH阳性神经元,以及多巴胺及其代谢产物浓度,但这些效应可被Ex-4完全抑制。Ex-4可以提高初级多巴胺能神经元内源性TH水平,诱导TH基因表达。这些研究表明,激活GLP-1R可使神经毒素衍生的PD模型受益,多巴胺能神经元幸存,异常行为得到改善,进一步证实,激活GLP-1R对于人类PD具有重要的治疗价值。

对糖尿病周围神经病变的研究表明,Ex-4治疗可改善链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠运动神经传导速度减慢和掌爪表皮内的神经纤维密度^[21]。还有研究证实,Ex-4治疗明显改善糖尿病多发性神经病变及维生素B6缺乏导致的神经功能及行为的异常,使坐骨神经及脊髓背根神经节形态恢复正常^[22]。

亨廷顿舞蹈病(Huntington's Disease, HD)是一种遗传性疾病,归因于huntingtin蛋白质基因内CAG三核苷酸重复序列的扩展。这一突变导致胰腺和中枢神经系统细胞内蛋白异常聚集,后者导致运动协调的丧失。Huntingtin蛋白突变的HD小鼠模型,不但出现运动功能障碍,还显示血糖控制失调。伴随着突变huntingtin蛋白聚集增加,运动功能不断减退,动物出现年龄依赖性平衡功能减退。Ex-4治疗不但改善HD小鼠异常的血糖水平,还可抑制胰腺和脑组织细胞的病理改变,减少突变huntingtin蛋白聚集。Ex-4治疗使HD小鼠运动功能明显提高,并延长存活时间,与对照组相比,动物存活率提高18%^[23]。

3.3 改善缺血性脑血管疾病 应用GLP-1R激动剂

Ex-4治疗,可保护啮齿类动物卒中模型缺氧诱发的大脑皮层神经元的细胞死亡,使梗死面积显著减小,这一益处处GLP-1R^{-/-}小鼠中并不存在。如果共同给予GLP-1R拮抗剂exendin-(9-39),则Ex-4治疗所产生的对缺氧损伤的保护作用也随之消失^[24]。

3.4 改善氧化应激 与2型糖尿病类似,氧化应激是神经变性疾病共同特性,在疾病的进展中发挥重要作用。研究显示,GLP-1和Ex-4呈剂量依赖性保护SH-SY5Y细胞、PC12细胞过氧化氢介导的细胞凋亡^[25]。缺血-再灌注损伤也会引起氧化应激,导致细胞损伤和凋亡。在卒中小鼠模型中观察到,Ex-4治疗可明显减少氧化应激标志物8-羟基脱氧鸟苷和4-羟基-2-己烯醛的产生。

3.5 改善视网膜退化 视网膜被认为是中枢神经系统的一部分,存在GLP-1R的表达。Zhang等^[26]研究显示,糖尿病大鼠视网膜GLP-1R表达明显减少,皮下或玻璃体内注射Ex-4能保护糖尿病视网膜病变大鼠的视网膜细胞。该研究应用视网膜电流图评价视网膜功能,可见糖尿病大鼠B波波幅和振荡电位减少,Ex-4可使之明显改善,并减少视网膜神经元的凋亡。其他研究也显示,通过眼内植入人工细胞给予GLP-1,可提高视神经损伤模型大鼠视网膜神经节细胞的存活率^[27]。

综上所述,激活GLP-1R介导的肠促胰素通路,不仅对2型糖尿病患者有益,而且还具有神经营养和神经保护作用。尽管GLP-1的中枢作用机制尚未完全明确,但在大量的生理和病理模型中均表现出功能上和行为上显著获益,对于AD、PD等神经退行性疾病及缺血性脑血管疾病,这一新的、潜在的治疗策略有望发挥更加重要的作用。

参 考 文 献

- [1] Salcedo I, Tweedie D, Li Y, et al. Neuroprotective and neurotrophic actions of glucagon-like peptide-1: an emerging opportunity to treat neurodegenerative and cerebrovascular disorders[J]. Br J Pharmacol, 2012, 166(5): 1586-1599. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2012.01971.x.
- [2] Akter K, Lanza EA, Martin SA, et al. Diabetes mellitus and Alzheimer's disease: shared pathology and treatment [J]. Br J Clin Pharmacol, 2011, 71(3): 365-376. DOI: 10.1111/j.1365-2125.2010.03830.x.
- [3] Kappe C, Zhang Q, Nyström T, et al. Effects of high-fat diet and the anti-diabetic drug metformin on circulating GLP-1 and the relative number of intestinal L-cells [J]. Diabetol Metab Syndr, 2014, 6:70. DOI: 10.1186/1758-5996-6-70.

- [4] Lovshin JA, Drucker DJ. Incretin-based therapies for type 2 diabetes mellitus [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2009, 5 (5): 262-269. DOI: 10.1038/nrendo.2009.48.
- [5] Hamilton A, Hölscher C. Receptors for the incretin glucagon-like peptide-1 are expressed on neurons in the central nervous system [J]. *Neuroreport*, 2009, 20 (13): 1161-1166. DOI: 10.1097/WNR.0b013e32832fb1f4.
- [6] Belsham DD, Fick LJ, Dalvi PS, et al. Ciliary neurotrophic factor recruitment of glucagon-like peptide-1 mediates neurogenesis, allowing immortalization of adult murine hypothalamic neurons [J]. *FASEB J*, 2009, 23 (12): 4256-4265. DOI: 10.1096/fj.09-133454.
- [7] Hamilton A, Patterson S, Porter D, et al. Novel GLP-1 mimetics developed to treat type 2 diabetes promote progenitor cell proliferation in the brain [J]. *J Neurosci Res*, 2011, 89 (4): 481-489. DOI: 10.1002/jnr.22565.
- [8] Isacson R, Nielsen E, Dannaeus K, et al. The glucagon-like peptide 1 receptor agonist exendin-4 improves reference memory performance and decreases immobility in the forced swim test [J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 650 (1): 249-255. DOI: 10.1016/j.ejphar.2010.10.008.
- [9] Li H, Lee CH, Yoo KY, et al. Chronic treatment of exendin-4 affects cell proliferation and neuroblast differentiation in the adult mouse hippocampal dentate gyrus [J]. *Neurosci Lett*, 2010, 486 (1): 38-42. DOI: 10.1016/j.neulet.2010.09.040.
- [10] Luciani P, Deledda C, Benvenuti S, et al. Exendin-4 induces cell adhesion and differentiation and counteracts the invasive potential of human neuroblastoma cells [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (8): e71716. DOI: 10.1371/journal.pone.0071716.
- [11] McClean PL, Parthasarathy V, Faivre E, et al. The diabetes drug liraglutide prevents degenerative processes in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. *J Neurosci*, 2011, 31 (17): 6587-6594. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0529-11.2011.
- [12] Abbas T, Faivre E, Hölscher C. Impairment of synaptic plasticity and memory formation in GLP-1 receptor KO mice: interaction between type 2 diabetes and Alzheimer's disease [J]. *Behav Brain Res*, 2009, 205 (1): 265-271. DOI: 10.1016/j.bbr.2009.06.035.
- [13] Li LH, Tian XR, Hu ZP. The key target of neuroprotection after the onset of ischemic stroke: secretory pathway Ca^{2+} -ATPase 1 [J]. *Neural Regen Res*, 2015, 10 (8): 1271-1278. DOI: 10.4103/1673-5374.162760.
- [14] Bao Y, Jiang L, Chen H, et al. The neuroprotective effect of liraglutide is mediated by glucagon-like peptide 1 receptor-mediated activation of cAMP/PKA/CREB pathway [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 36 (6): 2366-2378. DOI: 10.1159/000430199.
- [15] O'Brien RJ, Wong PC. Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease [J]. *Annu Rev Neurosci*, 2011, 34: 185-204. DOI: 10.1146/annurev-neuro-061010-113613.
- [16] Marchetti C, Marie H. Hippocampal synaptic plasticity in Alzheimer's disease: what have we learned so far from transgenic models [J]. *Rev Neurosci*, 2011, 22 (4): 373-402. DOI: 10.1515/RNS.2011.035.
- [17] Gengler S, McClean PL, McCurtin R, et al. Val(8) GLP-1 rescues synaptic plasticity and reduces dense core plaques in APP/PS1 mice [J]. *Neurobiol Aging*, 2012, 33 (2): 265-276. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2010.02.014.
- [18] Li L, Zhang ZF, Holscher C, et al. (Val) glucagon-like peptide-1 prevents tau hyperphosphorylation, impairment of spatial learning and ultra-structural cellular damage induced by streptozotocin in rat brains [J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 674 (2-3): 280-286. DOI: 10.1016/j.ejphar.2011.11.005.
- [19] Kim S, Moon M, Park S. Exendin-4 protects dopaminergic neurons by inhibition of microglial activation and matrix metalloproteinase-3 expression in an animal model of Parkinson's disease [J]. *J Endocrinol*, 2009, 202 (3): 431-439. DOI: 10.1677/JOE-09-0132.
- [20] Li Y, Perry T, Kindy MS, et al. GLP-1 receptor stimulation preserves primary cortical and dopaminergic neurons in cellular and rodent models of stroke and parkinsonism [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106 (4): 1285-1290. DOI: 10.1073/pnas.0806720106.
- [21] Jolivald CG, Fineman M, Deacon CF, et al. GLP-1 signals via ERK in peripheral nerve and prevents nerve dysfunction in diabetic mice [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2011, 13 (11): 990-1000. DOI: 10.1111/j.1463-1326.2011.01431.x.
- [22] Kan M, Guo G, Singh B, et al. Glucagon-like peptide 1, insulin, sensory neurons, and diabetic neuropathy [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2012, 71 (6): 494-510. DOI: 10.1097/NEN.0b013e3182580673.
- [23] Martin B, Golden E, Carlson OD, et al. Exendin-4 improves glycemic control, ameliorates brain and pancreatic pathologies, and extends survival in a mouse model of Huntington's disease [J]. *Diabetes*, 2009, 58 (2): 318-328. DOI: 10.2337/db08-0799.
- [24] Teramoto S, Miyamoto N, Yatomi K, et al. Exendin-4, a glucagon-like peptide-1 receptor agonist, provides neuroprotection in mice transient focal cerebral ischemia [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2011, 31 (8): 1696-1705. DOI: 10.1038/jcbfm.2011.51.
- [25] Liu JH, Yin F, Guo LX, et al. Neuroprotection of geniposide against hydrogen peroxide induced PC12 cells injury: involvement of PI3 kinase signal pathway [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2009, 30 (2): 159-165. DOI: 10.1038/aps.2008.25.
- [26] Zhang Y, Zhang J, Wang Q, et al. Intravitreal injection of exendin-4 analogue protects retinal cells in early diabetic rats [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52 (1): 278-285. DOI: 10.1167/iovs.09-4727.
- [27] Zhang R, Zhang H, Xu L, et al. Neuroprotective effect of intravitreal cell-based glucagon-like peptide-1 production in the optic nerve crush model [J]. *Acta Ophthalmol*, 2011, 89 (4): e320-e326. DOI: 10.1111/j.1755-3768.2010.02044.x.