

· 综述 ·

碳水化合物反应元件结合蛋白与胰岛 β 细胞增殖及分化的关系

冉慧 苏青

【摘要】 碳水化合物反应元件结合蛋白(ChREBP)是调控糖酵解和脂质合成相关酶类基因表达的转录因子,除了在肝脏中促进糖类向脂质转化外,其还在胰岛中表达并参与 β 细胞增殖、分化等过程。ChREBP可通过促进 β 细胞增殖、参与分化及糖、脂毒性,在 β 细胞病理生理过程中起作用,以此为ChREBP介导的糖尿病病理机制以及糖尿病的治疗提供了新思路。

【关键词】 碳水化合物反应元件结合蛋白; β 细胞;糖尿病;转录因子

Relationship between carbohydrate response element binding protein and proliferation, differentiation of islet β cell Ran Hui, Su Qing. Department of Endocrinology, Xinhua Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200092, China

Corresponding author: Su Qing, Email: suqing139@126.com

【Abstract】 Carbohydrate response element binding protein (ChREBP) is a responsive transcription factor, which regulates glycolytic, gluconeogenic and lipogenic gene expression. ChREBP has been recognized as a central regulator of conversion progress from sugar to lipid in liver, but new evidence shows that it expresses in islet and plays a crucial role in the proliferation and differentiation process of β cells. ChREBP is necessary for the proliferation, differentiation and even gluco-lipotoxicity of β cells, thus involves in the pathogenesis process of β cells. This may provide a new thought for the ChREBP mediated diabetes pathogenesis and the treatment of diabetes.

【Key words】 Carbohydrate response element binding protein; Beta cell; Diabetes mellitus; Transcription factor

碳水化合物反应元件结合蛋白(ChREBP)因与肝丙酮酸激酶基因启动子区的碳水化合物反应元件特异性结合而得名,也称为WBSCR14,其基因缺失与Williams-Beuren综合征的发病相关^[1]。大约75%的Williams-Beuren综合征患者有糖耐量减低和隐性糖尿病^[2]。ChREBP在体内广泛分布,尤其在代谢相关组织如肝脏、脂肪、小肠、胰岛中高表达,ChREBP主要调节糖酵解与脂肪生成的过程中酶类基因的转录^[3]。

糖尿病的病因主要是胰岛素抵抗和胰岛功能受损。其中慢性高血糖对胰岛 β 细胞产生渐进性的严重损害即所谓的糖毒性,因为表现为脂质生成增加、细胞内脂质堆积、氧化应激加重、胰岛素基因表达和分泌减少以及细胞凋亡增加,也称为糖、脂毒性^[4]。ChREBP作为近年发现的调节糖、脂代谢的转录因子,在胰岛 β 细胞中的生理作用尤其是在慢

性高糖环境下对 β 细胞产生的影响尚不完全清楚。本文将探讨ChREBP与胰岛 β 细胞功能及糖尿病的关系。

1 ChREBP 的结构

ChREBP 含有几个关键的结构域:N 末端含有一核定位信号、中间的脯氨酸结构域和 C 末端含有 b/HLH/Zip 结构域和亮氨酸锌指样结构域^[5]。ChREBP含有几个与其活性相关的磷酸化位点:被蛋白激酶 A 磷酸化的Ser196、Ser626、Thr666和被AMP活化蛋白激酶磷酸化的Ser568位点。Ser196位点主要调控ChREBP在核质间转移,另3个位点主要参与ChREBP结合DNA活性的调节^[6-7]。ChREBP还有一个葡萄糖敏感组件,该组件由低葡萄糖抑制结构域和葡萄糖敏感激活保守元件构成。在低糖条件下,低葡萄糖抑制结构域抑制葡萄糖敏感激活保守元件的转录活性,而在高糖条件下葡萄糖敏感激活保守元件则抑制低葡萄糖抑制结构域的活性^[8]。ChREBP有两种异构体:ChREBP α 和ChREBP β ,差别在于ChREBP α 转录起始位点在第1外显子而由864

个氨基酸残基组成,ChREBP β 从第 4 外显子转录而含有 687 个氨基酸,两者后面的分子特征相同。Herman 等^[9]发现,在高糖刺激下,先有 ChREBP α 的转录,然后再激活 ChREBP β 的转录。转录调节方面,Meng 等^[10]发现在高糖刺激下,肝细胞核因子(HNF)-4 α 可以促进 ChREBP 的转录,并且 HNF-4 α 可以与 ChREBP α 协同促进 ChREBP β 的转录。

2 ChREBP 在 β 细胞增殖中的作用

在葡萄糖刺激作用下, β 细胞可发生增殖,但是具体的细胞内信号通路仍需探讨。Metukuri 等^[11]发现,胰岛中 ChREBP 的表达与肝脏中的表达无明显差异。ChREBP $^{-/-}$ 小鼠的胰岛中葡萄糖刺激的 β 细胞增殖受抑制,抑制 ChREBP 表达的 INS-1 细胞、大鼠 β 细胞和人 β 细胞中都观察到类似现象。此外,抑制 ChREBP 的表达后,细胞周期调控因子(细胞周期蛋白 D2、A2、E1) 的表达也下降。相反,过表达 ChREBP 后, β 细胞在葡萄糖刺激后的增殖作用更显著,细胞周期调控因子的表达也增强。由此看来,ChREBP 可识别有丝分裂信号,调控葡萄糖刺激的胰岛 β 细胞增殖。ChREBP β 与 ChREBP α 相比少了限制转录效率的低葡萄糖抑制结构域,可能更容易激活或者活性更强,也参与 β 细胞增殖。Zhang 等^[12]发现,用 15 ~ 20 mmol/L 的高糖刺激 INS-1 细胞或分离的大鼠胰岛 β 细胞 4 d 后,ChREBP β 高表达。用 siRNA 特异性敲除 ChREBP β 基因,葡萄糖刺激的细胞增殖和靶基因表达明显下降。研究者认为可能是 ChREBP 结合的 ChoRE 具有 β 细胞特异性,这种 ChoRE 可能在 1b 外显子上游。该研究证明,ChREBP β 也参与了葡萄糖刺激的 β 细胞基因表达和细胞增殖。

3 ChREBP 在 β 细胞分化中的作用

胰腺发生于原始消化管十二指肠前端的内胚层背腹侧区域,内胚层(胚胎期 E8.5 d)开始表达转录因子胰-十二指肠同源盒因子-1(Pdx-1),接着内胚层细胞增殖并分化为上皮胰腺祖细胞,开始短暂地(E9.5 d ~ E11.5 d 达峰)分泌神经元素 3,神经元素 3 与其调控的转录因子神经源性分化蛋白 D 结合,启动胰腺前体细胞分化为胰腺内分泌细胞,然后进入 β 细胞分化过程(E9.5 d ~ E15 d),逐渐成熟并开始分泌胰岛素。这个过程依赖于多种转录因子和信号分子在时间和分布上的精确调控。整个分化阶段的转录因子,如 Pdx-1 及神经元素 3,可作为胰岛 β 细胞分化过程的标志^[13]。Soggia 等^[14]发现,大鼠胚胎胰腺发育(E14.5 d ~ E18.5 d)中 ChREBP 的表达逐渐增加,而神经元素 3 基因敲除的小鼠胰腺中 ChREBP 的表达明显下降。分离培养大鼠胚胎胰腺(E13.5 d),并加入木糖醇-5-磷酸盐的前体——葡萄糖或木糖醇后,ChREBP 的靶基因转录增加,同时

β 细胞分化也加强。当抑制胚胎胰腺中 ChREBP 的活性时, β 细胞分化减少。这些结果提示,ChREBP 在 β 细胞分化过程中也发挥作用,但其是参与前体细胞中的转录还是调节糖酵解提供分化所需能量,仍需进一步探讨。

4 ChREBP 与胰岛 β 细胞功能的关系

尽管生理条件下高糖可以刺激胰岛 β 细胞的增殖和胰岛素分泌,但持续的高糖过度刺激 β 细胞可导致 β 细胞功能耗竭、功能性细胞数量减少^[15]。糖尿病患者胰岛 β 细胞中 ChREBP 的表达上调。INS 细胞以及鼠的胰岛 β 细胞中过表达 ChREBP,在葡萄糖刺激下出现细胞内脂质堆积、胰岛素转录和分泌减少以及 β 细胞凋亡增加^[16]。过表达 ChREBP 后小鼠糖耐量受损和胰岛素分泌减少^[17]。因此,ChREBP 也参与胰岛 β 细胞病理过程。

5 ChREBP 介导胰岛 β 细胞糖、脂毒性的机制

硫氧还蛋白相互作用蛋白(TxNIP)与氧化应激、炎症反应、细胞凋亡有关^[18]。糖尿病患者胰岛细胞中 TxNIP 的表达增加;高糖或者糖尿病条件下可诱导 TxNIP 的表达,而抑制 TxNIP 的表达或敲除 TxNIP 基因可减少 β 细胞凋亡和糖尿病发生^[19-20]。在人胰岛细胞和 INS 细胞中进行的染色质免疫沉淀测定结果显示,在葡萄糖的刺激下,ChREBP 与 TxNIP 的启动子结合,上调 TxNIP 的表达^[20-21]。而且 TxNIP 可通过抑制 AMP 活化蛋白激酶的磷酸酶活性而促进 ChREBP 入核,从而刺激 TxNIP 自身和 ChREBP 靶基因肝丙酮酸激酶等的表达,从而形成了一个正反馈环^[22]。ChREBP 介导的 TxNIP 高表达导致氧化应激、炎症反应、 β 细胞凋亡,以及高糖刺激下 ChREBP 转录活性增强和细胞内脂质堆积(脂质合成增加、 β 氧化受抑制),共同构成了慢性高血糖情况下 ChREBP 介导的糖、脂毒性的病理机制^[23]。

芳香烃受体核转位蛋白(ARNT),也称为低氧诱导因子(HIF)-1 β ,属于碱性螺旋-环-螺旋下游钟基因——芳香烃受体核转位子-专一性蛋白结构域亚家族。ARNT 作为一个反式作用因子,需通过与 HIF-1 α 或 HIF-2 α 共同组成的二聚体结合到基因启动子中的顺式作用元件上,激活或抑制特定基因的转录和翻译。对糖尿病和糖耐量正常人群的胰岛进行的寡核苷酸基因芯片测定,发现了糖尿病人群 ARNT 基因表达下降;在 MIN6 细胞中抑制 ARNT 的表达后胰岛素分泌减少,特异性敲除 β 细胞 ARNT 基因的小鼠表现为糖耐量受损和胰岛素分泌减少,此外,这些胰岛细胞和小鼠胰岛中,其他基因表达水平的变化也类似于糖尿病患者。所以,ARNT/HIF-1 表达水平下降与 2 型糖尿病和胰岛 β 细胞功能障碍的病理机制中有关^[17]。在胰岛 β 细胞 MIN6 细胞进行的基因芯片分析发现,INS-1 细胞和鼠胰岛细胞

中,抑制ChREBP表达后ARNT/HIF-1 β 表达增加,而过表达ChREBP或者给予高浓度葡萄糖刺激后ARNT/HIF-1 β 表达及胰岛素分泌量显著减少。由此,慢性高血糖条件下表达增加的ChREBP可负调控ARNT/HIF-1 β ,也可能是ChREBP参与胰岛 β 细胞病理损伤的又一种机制^[4,17]。

综上所述,近年对ChREBP的认识逐步加深,ChREBP除了在肝脏、脂肪组织中发挥调节糖、脂代谢的作用外,还在胰腺中表达并参与调节胰岛 β 细胞增殖和分化,与胰岛功能损害、糖尿病发病相关。进一步认识 β 细胞内ChREBP的信号通路,将为明确糖尿病的发病机制和调整治疗方案提供新的思路。

参 考 文 献

- [1] Yamashita H, Takenoshita M, Sakurai M, et al. A glucose-responsive transcription factor that regulates carbohydrate metabolism in the liver[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(16): 9116-9121. DOI: 10.1073/pnas.161284298.
- [2] Cairo S, Merla G, Urbinati F, et al. WBSCR14, a gene mapping to the Williams-Beuren syndrome deleted region, is a new member of the Mlx transcription factor network[J]. *Hum Mol Genet*, 2001, 10(6): 617-627.
- [3] Postic C, Dentin R, Denechaud PD, et al. ChREBP, a transcriptional regulator of glucose and lipid metabolism[J]. *Annu Rev Nutr*, 2007, 27: 179-192. DOI: 10.1146/annurev.nutr.27.061406.093618.
- [4] Pongvarin N, Lee JK, Yechoor VK, et al. Carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) plays a pivotal role in beta cell glucotoxicity[J]. *Diabetologia*, 2012, 55(6): 1783-1796. DOI: 10.1007/s00125-012-2506-4.
- [5] Uyeda K, Yamashita H, Kawaguchi T. Carbohydrate responsive element-binding protein (ChREBP): a key regulator of glucose metabolism and fat storage[J]. *Biochem Pharmacol*, 2002, 63(12): 2075-2080.
- [6] Iizuka K, Bruick RK, Liang G, et al. Deficiency of carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) reduces lipogenesis as well as glycolysis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(19): 7281-7286. DOI: 10.1073/pnas.0401516101.
- [7] Kabashima T, Kawaguchi T, Wadzinski BE, et al. Xylulose 5-phosphate mediates glucose-induced lipogenesis by xylulose 5-phosphate-activated protein phosphatase in rat liver[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(9): 5107-5112. DOI: 10.1073/pnas.0730817100.
- [8] Li MV, Chang B, Imamura M, et al. Glucose-dependent transcriptional regulation by an evolutionarily conserved glucose-sensing module[J]. *Diabetes*, 2006, 55(5): 1179-1189.
- [9] Herman MA, Peroni OD, Villoria J, et al. A novel ChREBP isoform in adipose tissue regulates systemic glucose metabolism[J]. *Nature*, 2012, 484(7394): 333-338. DOI: 10.1038/nature10986.
- [10] Meng J, Feng M, Dong W, et al. Identification of HNF4 α as a key transcription factor to promote ChREBP expression in response to glucose[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 23944. DOI: 10.1038/srep23944.
- [11] Metukuri MR, Zhang P, Basantani MK, et al. ChREBP mediates glucose-stimulated pancreatic β -cell proliferation[J]. *Diabetes*, 2012, 61(8): 2004-2015. DOI: 10.2337/db11-0802.
- [12] Zhang P, Kumar A, Katz LS, et al. Induction of the ChREBP β isoform is essential for glucose-stimulated β -cell proliferation[J]. *Diabetes*, 2015, 64(12): 4158-4170. DOI: 10.2337/db15-0239.
- [13] Guillemain G, Filhoulard G, Da Silva-Xavier G, et al. Glucose is necessary for embryonic pancreatic endocrine cell differentiation[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(20): 15228-15237. DOI: 10.1074/jbc.M610986200.
- [14] Soggia A, Flosseau K, Ravassard P, et al. Activation of the transcription factor carbohydrate-responsive element-binding protein by glucose leads to increased pancreatic beta cell differentiation in rats[J]. *Diabetologia*, 2012, 55(10): 2713-2722. DOI: 10.1007/s00125-012-2623-0.
- [15] Henquin JC, Rahier J. Pancreatic alpha cell mass in European subjects with type 2 diabetes[J]. *Diabetologia*, 2011, 54(7): 1720-1725. DOI: 10.1007/s00125-011-2118-4.
- [16] da Silva Xavier G, Rutter GA, Diraison F, et al. ChREBP binding to fatty acid synthase and L-type pyruvate kinase genes is stimulated by glucose in pancreatic beta-cells[J]. *J Lipid Res*, 2006, 47(11): 2482-2491. DOI: 10.1194/jlr.M600289-JLR200.
- [17] Noordeen NA, Khera TK, Sun G, et al. Carbohydrate-responsive element-binding protein (ChREBP) is a negative regulator of ARNT/HIF-1 β gene expression in pancreatic islet beta-cells[J]. *Diabetes*, 2010, 59(1): 153-160. DOI: 10.2337/db08-0868.
- [18] Zhou R, Tardivel A, Thorens B, et al. Thioredoxin-interacting protein links oxidative stress to inflammasome activation[J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(2): 136-140. DOI: 10.1038/ni.1831.
- [19] Cha-Molstad H, Saxena G, Chen J, et al. Glucose-stimulated expression of Txnip is mediated by carbohydrate response element-binding protein, p300, and histone H4 acetylation in pancreatic beta cells[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(25): 16898-16905. DOI: 10.1074/jbc.M109.010504.
- [20] Chen J, Saxena G, Mungrue IN, et al. Thioredoxin-interacting protein: a critical link between glucose toxicity and beta-cell apoptosis[J]. *Diabetes*, 2008, 57(4): 938-944. DOI: 10.2337/db07-0715.
- [21] Filhoulard G, Guilmeau S, Dentin R, et al. Novel insights into ChREBP regulation and function[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2013, 24(5): 257-268. DOI: 10.1016/j.tem.2013.01.003.
- [22] Chen J, Jing G, Xu G, et al. Thioredoxin-interacting protein stimulates its own expression via a positive feedback loop[J]. *Mol Endocrinol*, 2014, 28(5): 674-680. DOI: 10.1210/me.2014-1041.
- [23] Hellemans K, Kerckhofs K, Hannaert JC, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha-retinoid X receptor agonists induce beta-cell protection against palmitate toxicity[J]. *FEBS J*, 2007, 274(23): 6094-6105. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2007.06131.x.

(收稿日期:2016-06-24)