

基础研究

· 综述 ·

SERCA2b 与胰岛 β 细胞功能

朱海娇 王幸 陈树春 刘阳 谢幸

【摘要】 肌浆(内质)网 Ca^{2+} ATP 酶(SERCAs)是分布于肌浆网或内质网表面重要的 Ca^{2+} 调节蛋白,作为其保守亚型,SERCA2b 凭借其独特的结构优势可以保护胰岛 β 细胞功能,从而在胰岛素正常分泌方面起至关重要的作用。大量研究表明,糖尿病患者体内胰岛 β 细胞数目明显减少,高糖、炎症因子等因素,通过激活内质网应激降低 SERCA2b 水平,介导胰岛 β 细胞损伤和凋亡,此过程可能涉及一氧化氮、AMP 活化蛋白激酶(AMPK)、肌醇需求激酶 1α (IRE1 α)-c-jun 氨基末端激酶(JNK)介导的多种信号通路,而提高 SERCA2b 活性能够逆转损伤,保护胰岛 β 细胞,改善糖代谢。因此,SERCA2b 激动剂也为治疗糖尿病提供了新的方向。

【关键词】 肌浆(内质)网 Ca^{2+} ATP 酶;胰岛 β 细胞;内质网应激;糖尿病

SERCA2b and the function of islet β cells Zhu Haijiao, Wang Xing, Chen Shuchun, Liu Yang, Xie Xing. Department of Internal Medicine, Hebei Medical University; Department of Endocrinology, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051, China

Corresponding author: Chen Shuchun, Email: guang6701@sina.com

【Abstract】 Sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase (SERCAs) is a series of important Ca^{2+} regulatory proteins distributed on the surface of the sarcoplasmic reticulum or endoplasmic reticulum. As conservative subtypes, SERCA2b plays a vital role in the function of islet β cell as well as its normally insulin secretion relying on its unique structure. A large number of studies have shown that the number of islet β cells is seriously reduced in patients with diabetes. Factors such as high glucose, inflammatory cytokines mediated β cell injury and apoptosis by decreasing SERCA2b level and activating endoplasmic reticulum stress. Nitric oxide(NO), AMP-activated protein kinase(AMPK), inositol requiring enzyme-1 α /c-jun N-terminal kinase (IRE1 α /JNK) pathway may be involved in this process. However, this process can be reversed by improving the activity of SERCA2b and islet β cells are protected at the same time. Therefore, SERCA2b agonist provides a new therapeutic target for treating diabetes.

【Key words】 Sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase; Islet β cell; Endoplasmic reticulum stress; Diabetes mellitus

糖尿病是一种由于胰岛素分泌缺陷或胰岛素作用障碍所致的以高血糖为特征的代谢性疾病。随着现代社会物质条件的不断丰富,生活压力逐渐加大,糖尿病患病率逐年上升,据统计,2010 年全球共有 2.85 亿人口患有糖尿病,且预计 2030 年将会增至 4.39 亿。胰岛素由胰岛 β 细胞分泌,其功能受损是糖尿病的主要致病机制。肌浆(内质)网 Ca^{2+} ATP 酶(SERCAs)亦被称为肌浆(内质)网钙泵,是镶嵌于膜上的 P 型 ATP 酶,其功能是 ATP 依赖性地逆浓

度梯度将钙离子由胞浆摄回至肌浆(内质)网内。SERCAs 家族由 SERCA 1~3 种亚型及其各自的剪接变异体组成,其中, SERCA2b 是分布最广泛且最保守的一类亚型,是胰岛 β 细胞内重要的 Ca^{2+} 调节蛋白。研究表明,多种因素通过调节 SERCA2b 活性的变化影响胰岛 β 细胞功能,具体的影响因素和机制尚未明确,本文就 SERCA2b 和胰岛 β 细胞功能的研究进展作一综述。

1 SERCA2b 的结构

SERCAs 蛋白家族的编码基因包括 ATP2A 1~3, 每种基因在组织特异性剪切的作用下编码各自亚型的异构体,如 SERCA1a, -1b, -2a, -2b, -2c, -3a, -3b, -3c。SERCA1a 和 SERCA1b 分别表达于成人和新生

儿的骨骼肌快肌纤维组织;SERCA2a主要存在于心肌、骨骼肌慢肌纤维和脑组织;SERCA2b几乎分布于所有类型的细胞,主要包括成年人的表皮及胰腺;SERCA2c表达于上皮细胞系、间充质细胞系、定向造血干细胞系和单核细胞;SERCA3的各亚型主要表达于定向造血干细胞系(骨髓、淋巴结、胸腺、脾)、唾液腺、气管、结肠和胰等^[1]。胰岛 β 细胞富含SERCA2b和SERCA3。SERCA2蛋白由ATP2A2基因编码,其序列与SERCA1a具有84%的一致性,由约含998个氨基酸残基组成的单肽链折叠而成,其结构为四聚体似球型结构,分为胞质部和跨膜区,共4个结构域。胞质部分的帽状结构形成3个结构域A、P和N,分别为启动域、磷酸化域、核酸结合域,同时也包含着整个肽链的N端和C端,跨膜区亦称跨膜结构域,由M1~M10共10个 α 螺旋构成^[2]。SERCA2a和SERCA2b两种异构体的主要区别在于与信使结合部位(主要在3'端)的不同。

早期的研究表明,SERCA2b与其他亚型相比,具有更高的 Ca^{2+} 亲和力,且可能与其胞内延伸段的羧基端有关^[3]。2012年,Clausen等^[4]通过研究发现,SERCA2b这一特性可能与其3'端作为顺式作用元件的蛋白羧基末端延长的49个氨基酸(2b-tail)有关,这一结构包含了整个蛋白构象的第11个跨膜双螺旋TM域和一个含11个氨基酸的胞质延伸段LE,LE与其附近的L7/8结构相互作用,对 Ca^{2+} 由E1P到E2P的构象转换具有至关重要的作用,而E2P去磷酸化及E2到E1构象转换速率的降低很大程度上依赖于TM11。以上结构使得SERCA2b与 Ca^{2+} 的亲和力是SERCA1a和SERCA2a的2倍,同时其催化周转率更低。

2 胰岛 β 细胞中SERCA2b的功能及表达

2.1 胰岛 β 细胞中SERCA2b的钙调节功能 在胰岛 β 细胞内,血糖的变化或外源性胰岛素和(或)促胰岛素分泌剂对胰岛 β 细胞的刺激导致胞质内ATP/ADP比值升高, K^+ 通道随之关闭并引起 β 细胞去极化。当膜势能降至 -50 mV 时,L型 Ca^{2+} 通道开放使 Ca^{2+} 内流,同时鱼尼丁受体(RyR)及胰岛素受体底物-1/磷脂酰肌醇3激酶(IRS-1/PI3K)途径激活,使 Ca^{2+} 从内质网钙库释放,胞质中的 Ca^{2+} 浓度明显升高。升高的 Ca^{2+} 对胰岛 β 细胞胰岛素自分泌有重要作用,可直接激活胰岛素的胞吐。为了维持胞浆钙离子水平,胰岛 β 细胞有着完备的钙

清除机制,如质膜 Ca^{2+} -ATP酶(PMCA) $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换体(NCX),SERCA泵以及钙缓冲蛋白等,共同维持平稳的钙振荡运行^[5]。当胞质中 Ca^{2+} 浓度在 $0.5\sim0.9\text{ }\mu\text{mol/L}$ 时,SERCA泵对钙清除的贡献均达到60%以上,胰岛 β 细胞内主要含SERCA2b和SERCA3,共同负责逆浓度梯度将胞质 Ca^{2+} 运至内质网以降低胞质 Ca^{2+} 浓度^[6]。然而SERCA2b的 Ca^{2+} 亲和力($K\text{Ca}^{2+}=0.2\text{ }\mu\text{mol/L}$)明显高于SERCA3的 Ca^{2+} 亲和力($K\text{Ca}^{2+}=1.2\text{ }\mu\text{mol/L}$)^[7]。2011年,Ravier等^[8]分别用不同浓度高糖刺激SERCA3基因敲除小鼠和正常小鼠的胰岛 β 细胞,观察胞质 Ca^{2+} 池浓度变化及内质网应激相关基因表达水平,发现SERCA3缺陷小鼠的胰岛 β 细胞内质网对 Ca^{2+} 的摄取能力未受影响,未发生内质网应激,进一步说明SERCA2b对于胰岛 β 细胞功能的重要性。

2.2 多种因素影响SERCA2b基因或蛋白表达 现已发现,多种物质通过影响SERCA2b的基因或蛋白表达而降低细胞功能并进一步诱导细胞凋亡,如抗凋亡因子Bcl-2、毒胡萝卜素、十字孢碱等,研究的细胞多为心肌细胞、血管内皮细胞和平滑肌细胞等。

2.2.1 糖脂毒性的影响 2014年Liang等^[9]发现,糖尿病db/db小鼠胰岛 β 细胞中SERCA2b和SERCA3下调65%,同时,内质网 Ca^{2+} 聚集减少,其血糖刺激的钙振荡模式与正常小鼠明显不同。Tong等^[10]通过对SERCA2杂合基因小鼠和野生纯合型小鼠进行为期16周的高脂饲养后发现,SERCA2杂合基因小鼠胰岛 β 细胞的分泌功能、葡萄糖诱导的 Ca^{2+} 动员和平稳钙振荡波形的产生均受一定程度的抑制,该过程伴随内质网应激的增加。同时,与野生纯合型小鼠相比,高脂喂养的SERCA2杂合基因小鼠,其胰岛 β 细胞的量和增殖能力均有所下降,但脂肪量和胰岛素敏感性无明显差异。

2.2.2 炎症因子的影响 研究表明,白细胞介素(IL)-1 β 、干扰素- γ 等可诱导SERCA2b表达下降,促进 Ca^{2+} 消耗及内质网应激相关通路的激活,是导致 β 细胞死亡的潜在机制。

Brozzi等^[11]通过将大鼠、小鼠胰岛素分泌细胞和人胰岛细胞暴露于含或不含有一氧化氮的可溶性IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α 、干扰素- γ 的培养液中,比较这3种类型细胞内炎症因子调控的基因表达,发现多种细胞因子刺激诱导型一氧化氮合酶(iNOS),增加一氧化氮产生,抑制SERCA2b使胞内 Ca^{2+} 平衡失

调,通过介导内质网应激最终导致胰岛 β 细胞死亡。

2015 年, Tong 等^[12] 应用 IL-1 β 联合放线菌酮或放线菌素 D 干预大鼠胰岛瘤细胞,发现 IL-1 β 可促进 iNOS 基因及蛋白表达以及 AMPK 的激活,同时降低 SERCA2b mRNA 和蛋白表达。研究还发现,一氧化氮合酶抑制剂 L-NMMA (NG 甲基 L-精氨酸) 可增加 SERCA2b 的蛋白水平,但对其 mRNA 的影响大。而一氧化氮供体 SNAP (S-亚硝基-N-乙酰-D, L-青霉胺) 以及 AMPK 激活剂 AICAR (5-氨基咪唑-4-酰胺核糖核苷酸) 重现了 IL-1 β 对 SERCA2b 蛋白稳定性的影响。同时研究者还发现,大鼠胰岛瘤细胞中的 IL-1 β 、SNAP 和 AICAR 可升高胞质 Ca^{2+} 水平而降低内质网 Ca^{2+} 水平,导致胰岛 β 细胞钙稳态失调,促进胰岛 β 细胞死亡。以上实验证实了一氧化氮、AMPK 信号通路可能是炎性因子与 SERCA2b 相互作用的重要途径。

此外, Kono 等^[13] 发现,过氧化物酶体增殖物活化受体 (PPAR) - γ 激动剂吡格列酮能逆转大鼠 INS-1 细胞内高糖和前炎性细胞因子 IL-1 诱导的 SERCA2b 减少。PPAR- γ 激动剂可以直接与 SERCA2 基因的第 259 碱基区段的 PPAR- γ 反应元件结合。将大鼠胰岛瘤细胞株 INS-1 于高糖和 IL-1 β 中暴露 2 周,发现细胞周期蛋白依赖性激酶 5 (CDK5) 水平升高,同时 PPAR- γ 的 273 位丝氨酸磷酸化增加,可被吡格列酮和 CDK-5 抑制剂 roscovitine 所逆转,并伴随着 IRS-1、IRS-2、葡萄糖转运蛋白 2 和 ATP2A2、ATP2A3 等基因表达升高,说明吡格列酮通过调节相关基因的转录或通过防止 CDK-5 诱导的 PPAR- γ 磷酸化来调节 SERCA2b 的表达。

2.2.3 胰岛素受体底物作用缺陷 已有研究表明,心肌细胞的 IRS-1 和 2 与 SERCA2a 相互作用,可诱导胰岛素引发的磷酸化瀑布式反应和 Ca^{2+} 稳态的调节,类似的, IRS-1 缺乏的 KO 小鼠表现出广泛的胰岛素抵抗和葡萄糖依赖的胰岛素分泌缺陷以及 SERCA2b 和 SERCA3 表达的减少^[14]。因此,研究者推测, IRS-1 与 SERCA2b 作用异常从而阻断胰岛素受体信号通路也可能是其降低 β 细胞功能的一项重要机制^[15]。

2.2.4 相关激素的影响 与上述有害因素截然不同,某些激素可通过调节 SERCA2b 的表达对胰岛功能产生保护作用。例如,雌激素能通过增加 SERCA2b 的表达减少内质网应激,保护胰岛 β 细胞

免于高糖毒性的损伤^[16]。褪黑素能通过提高胰腺腺泡细胞 SERCA 和 NCX 功能,缓解钙超载,进而降低胰腺损伤^[17]。

2.2.5 调节 SERCA2b 基因表达的相关转录因子 最近的研究发现,胰腺特异表达的转录因子胰-十二指肠同源盒因子 (PDX) -1 在胰岛 β 细胞的分化成熟和分泌、维持内质网稳态方面有重要作用。Johnson 等^[18] 发现,大鼠胰岛瘤细胞 (INS-1) PDX-1 基因敲除小鼠的 SERCA2b 表达下降,同时内质网 Ca^{2+} 水平也有所降低。PDX-1 可直接与其邻近的 SERCA2b 启动子结合。由此证实,编码 SERCA2b 的基因为 PDX-1 作用的重要靶点,对调节内质网 Ca^{2+} 水平具有重要意义。

3 SERCA2b 激活剂治疗糖尿病的潜力

肥胖和糖尿病患者体内胰岛 β 细胞 SERCA2b 功能降低,通过诱导内质网应激促使胰岛素分泌减少、糖调节受损,同时其肝脏内质网的 SERCA2b mRNA 及蛋白水平也同时减低,加剧了胰岛素抵抗^[19]。

研究发现,胰高血糖素样肽-1 受体激动剂醋酸艾塞那肽 (exendin-4) 能提高肝细胞 SERCA2b 的表达水平,通过降低内质网应激而改善胰岛素抵抗^[20]。

Kang 等^[21] 将 SERCA2b 的小分子别构激活剂 CDN1163 运用于胰岛素抵抗和 2 型糖尿病小鼠,发现其能够显著降低空腹血糖、改善糖耐量、减少脂肪肝的发生,但未降低瘦鼠的血糖水平和体重。与瘦鼠相比, ob/ob 小鼠在停止注射 CDN1163 后能维持正常血糖达 6 周以上。此外,通过磁共振显示,注射 CDN1163 后肥胖小鼠的脂肪细胞量明显减少,而在瘦鼠中未发现明显变化。运用间接测热法发现, ob/ob 小鼠的能量消耗也明显增加,这一过程伴随着棕色脂肪组织解耦联蛋白 1 和解耦联蛋白 3 表达的增加。注射 CDN1163 还能显著降低肝脏糖异生和脂肪生成基因的表达,降低内质网应激及其诱导的细胞凋亡,这一过程可能是通过 SERCA2 介导的 AMP 活化蛋白激酶通路的激活实现。

总之, SERCA2b 通过调节胞质和内质网 Ca^{2+} 水平对胰岛 β 细胞正常功能的维持和胰岛素的分泌有着重要意义,内质网应激是 SERCA2b 引起胰岛 β 细胞损伤的核心机制,对糖尿病的发生、发展起着关键作用。而 SERCA2b 激动剂能逆转损伤,保护胰岛细胞功能,改善血糖调节,从而为糖尿病治疗提供更广阔的前景。

参 考 文 献

- [1] 颜红柱, 钟南哲, 李维卿, 等. ATP2A2 通过钙离子浓度变化参与肿瘤发生机制的研究进展[J]. 第二军医大学学报, 2013, 34(11): 1248-1252. DOI: 10. 3724/SP. J. 1008. 2013. 01248.
- [2] 王国丽, 高博文, 宿文辉. 钙离子 ATP 酶 SERCA1a 的结构与功能研究进展[J]. 生命的化学, 2015(6): 703-708. DOI: 10. 13488/j. smhx. 20150601.
- [3] Vandecaetsbeek I, Trekels M, De Maeyer M, et al. Structural basis for the high Ca^{2+} affinity of the ubiquitous SERCA2b Ca^{2+} pump[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(44): 18533-18538. DOI: 10. 1073/pnas. 0906797106.
- [4] Clausen JD, Vandecaetsbeek I, Wuytack F, et al. Distinct roles of the C-terminal 11th transmembrane helix and luminal extension in the partial reactions determining the high Ca^{2+} affinity of sarco(endo)plasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase isoform 2b (SERCA2b) [J]. J Biol Chem, 2012, 287(47): 39460-34969. DOI: 10. 1074/jbc. M112. 397331.
- [5] 刘向明, 王虹, 陈素. 2 型糖尿病鼠胰腺 β 细胞中 SERCA 泵的变化对钙振荡波形影响的建模研究[J]. 中南民族大学学报(自然科学版), 2010, 29(04): 41-48. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-4321. 2010. 04. 011.
- [6] Chen L, Koh DS, Hille B. Dynamics of calcium clearance in mouse pancreatic beta-cells [J]. Diabetes, 2003, 52(7): 1723-1731.
- [7] Bertram R, Arceo RC 2nd. A mathematical study of the differential effects of two SERCA isoforms on Ca^{2+} oscillations in pancreatic islets[J]. Bull Math Biol, 2008, 70(5): 1251-171. DOI: 10. 1007/s11538-008-9298-1.
- [8] Ravier MA, Daro D, Roma LP, et al. Mechanisms of control of the free Ca^{2+} concentration in the endoplasmic reticulum of mouse pancreatic β -cells: interplay with cell metabolism and $[\text{Ca}^{2+}]_c$ and role of SERCA2b and SERCA3 [J]. Diabetes, 2011, 60(10): 2533-2545. DOI: 10. 2337/db10-1543.
- [9] Liang K, Du W, Lu J, et al. Alterations of the Ca^{2+} signaling pathway in pancreatic beta-cells isolated from db/db mice [J]. Protein Cell, 2014, 5(10): 783-794. DOI: 10. 1007/s13238-014-0075-7.
- [10] Tong X, Kono T, Anderson-Baucum EK, et al. SERCA2 deficiency impairs pancreatic β -cell function in response to diet-induced obesity [J]. Diabetes, 2016, 65(10): 3039-3052. DOI: 10. 2337/db16-0084.
- [11] Brozzi F, Nardelli TR, Lopes M, et al. Cytokines induce endoplasmic reticulum stress in human, rat and mouse beta cells via different mechanisms [J]. Diabetologia, 2015, 58(10): 2307-2316. DOI: 10. 1007/s00125-015-3669-6.
- [12] Tong X, Kono T, Evans-Molina C. Nitric oxide stress and activation of AMP-activated protein kinase impair β -cellsarcoendoplasmic reticulum calcium ATPase 2b activity and protein stability [J]. Cell Death Dis, 2015, 6: e1790. DOI: 10. 1038/cddis. 2015. 154.
- [13] Kono T, Ahn G, Moss DR, et al. PPAR- γ activation restores pancreatic islet SERCA2 levels and prevents β -cell dysfunction under conditions of hyperglycemic and cytokine stress [J]. Mol Endocrinol, 2012, 26(2): 257-271. DOI: 10. 1210/me. 2011-1181.
- [14] Kulkarni RN, Roper MG, Dahlgren G, et al. Islet secretory defect in insulin receptor substrate 1 null mice is linked with reduced calcium signaling and expression of sarco(endo)plasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase (SERCA)-2b and -3 [J]. Diabetes, 2004, 53(6): 1517-1525.
- [15] Zarain-Herzberg A, García-Rivas G, Estrada-Avilés R. Regulation of SERCA pumps expression in diabetes [J]. Cell Calcium, 2014, 56(5): 302-310. DOI: 10. 1016/j. ceca. 2014. 09. 005.
- [16] Kooptiwut S, Mahawong P, Hanchang W, et al. Estrogen reduces endoplasmic reticulum stress to protect against glucotoxicity induced-pancreatic β -cell death [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2014, 139: 25-32. DOI: 10. 1016/j. jsmb. 2013. 09. 018.
- [17] Huai J, Shao Y, Sun X, et al. Melatonin ameliorates acute necrotizing pancreatitis by the regulation of cytosolic Ca^{2+} homeostasis [J]. Pancreatology, 2012, 12(3): 257-263. DOI: 10. 1016/j. pan. 2012. 02. 004.
- [18] Johnson JS, Kono T, Tong X, et al. Pancreatic and duodenal homeobox protein 1 (Pdx-1) maintains endoplasmic reticulum calcium levels through transcriptional regulation of sarco-endoplasmic reticulum calcium ATPase 2b (SERCA2b) in the islet β cell [J]. J Biol Chem, 2014, 289(47): 32798-32810. DOI: 10. 1074/jbc. M114. 575191.
- [19] Park SW, Zhou Y, Lee J, et al. Sarco(endo)plasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase 2b is a major regulator of endoplasmic reticulum stress and glucose homeostasis in obesity [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(45): 19320-5. DOI: 10. 1073/pnas. 1012044107.
- [20] Lee J, Hong SW, Park SE, et al. Exendin-4 attenuates endoplasmic reticulum stress through a SIRT1-dependent mechanism [J]. Cell Stress Chaperones, 2014, 19(5): 649-656. DOI: 10. 1007/s12192-013-0490-3.
- [21] Kang S, Dahl R, Hsieh W, et al. Small molecular allosteric activator of the sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase (SERCA) attenuates diabetes and metabolic disorders [J]. J Biol Chem, 2016, 291(10): 5185-5198. DOI: 10. 1074/jbc. M115. 705012.

(收稿日期: 2016-12-17)