

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.01413

自噬对维持胰岛 B 细胞正常功能的作用

吴 捷,邹大进*

第二军医大学长海医院内分泌科,上海 200433

[摘要] 胰岛 B 细胞数量减少及分泌胰岛素能力下降是 2 型糖尿病发病的主要机制之一。新近的研究显示,自噬在保护胰岛 B 细胞以及维持胰岛 B 细胞结构、数量、分泌能力、内环境的稳定等方面有重要的作用。自噬已是近年来的研究热点,在肿瘤、神经、衰老等领域研究广泛,但在胰岛 B 细胞方面的研究起步较晚,相关报道也较少。本文就自噬的概念及自噬在维持胰岛 B 细胞正常功能方面的作用等作一综述。

[关键词] 自噬;胰岛 B 细胞;2 型糖尿病

[中图分类号] R 587 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)12-1413-03

The role of autophagy in maintaining pancreatic beta-cell function

WU Jie, ZOU Da-jin*

Department of Endocrinology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[ABSTRACT] Disrupted pancreatic β -cell function and decreased β -cell number are two of the main causes of type 2 diabetes mellitus. Recent studies have indicated that autophagy plays an important role in protecting pancreatic β -cell and in maintaining the structure, number, and secretive function of pancreatic β -cell. Although autophagy has been a focus of study in recent years, including areas such as tumor, neural diseases and aging, but its relationship with pancreatic β -cell was not included. In this paper we review the concept of autophagy and its role in maintaining the normal function of pancreatic β -cells.

[KEY WORDS] autophagy; pancreatic beta-cell; type 2 diabetes

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(12):1413-1415]

2 型糖尿病的发病机制主要有两个环节,即胰岛 B 细胞功能下降和周围组织的胰岛素抵抗。胰岛 B 细胞功能下降在 2 型糖尿病的发生和发展中起着至关重要的作用。胰岛 B 细胞功能取决于 B 细胞的数量和 B 细胞分泌胰岛素的能力。研究^[1]表明,细胞凋亡、氧化应激、线粒体功能障碍以及内质网应激等都与 2 型糖尿病胰岛 B 细胞发生病理改变有关,但是具体机制目前不十分明确。自噬(autophagy)是以细胞质空泡化为特征的溶酶体依赖性的降解途径,是机体应对内外应激的主要反应机制之一,也是近年来的研究热点,但在胰岛 B 细胞方面的研究起步较晚,相关报道也相对较少,本文综述了自噬的概念及自噬在维持胰岛 B 细胞结构、数量,保护胰岛 B 细胞分泌能力以及内环境的稳定等方面的研究进展。

1 自噬的基本概念

自噬是以细胞质空泡化为特征的溶酶体依赖性降解途径。它是体内长寿蛋白的降解途径,也是唯一的一个降解退化细胞器的方式^[2]。根据底物进入溶酶体途径的不同可将自噬分为 3 种类型:微自噬(microautophagy)、巨自噬(macroautophagy)和分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy,

CMA)。巨自噬即通常所指的自噬^[3]。自噬广泛存在于正常的生理过程中,维护着细胞内环境的稳定。其作用主要体现在以下几个方面:(1)通过调控过氧化物体、线粒体和内质网的更新来保持细胞内环境的稳定;(2)在发育过程参与组织的结构重建;(3)是细胞对外源性应激的快速适应性反应,尤其当营养和能量缺乏时;(4)其降解产物氨基酸、核苷酸、游离脂肪酸等可供物质能量循环;(5)当细胞遭受氧化应激和病毒感染时,自噬作为细胞的一种防御机制可清除胞质内受损的细胞器、有害的蛋白质等,以保护细胞免受损害^[4]。

细胞对自噬的形成有着精细的调节,有多种基因的参与,这些基因总称为自噬相关基因(autophagy related gene, ATG),它们编码的蛋白参与自噬的诱导、产生、成熟和再循环,同时自噬还受到一些信号途径如 PI3K/AKT/mTOR 及 p38-MAPK 等的调控^[2]。以巨自噬为例,自噬的发生过程大致分为 4 个阶段:(1)在饥饿等因素刺激下,杯状分隔膜开始在降解物的周围形成(分隔膜的形成);(2)随着分隔膜逐渐延伸,将被降解的胞质成分完全包绕隔离开形成自噬体(自噬体的形成);(3)自噬体形成后将其包裹物运输至溶酶体内与溶酶体融合形成自噬溶酶体(自噬溶酶体形成);(4)

[收稿日期] 2009-03-17 **[接受日期]** 2009-09-02

[作者简介] 吴 捷,博士生. E-mail:jielin1080@gmail.com

* 通讯作者(Corresponding author). Tel:021-81873277, E-mail:zwjd22@medmail.com.cn

自噬体融合后最终被溶酶体中的水解酶溶解,囊内容物降解,降解产物在细胞内再循环利用(自噬体的裂解)^[5]。自噬使细胞能够应对各种外来应激,无论是自噬过度还是自噬不足都可能导致疾病发生如衰老、肿瘤、神经退行性变等。

2 自噬在维持胰岛 B 细胞正常功能中的作用

自噬是机体应对体内外应激的主要反应机制之一,它在维持胰岛 B 细胞正常功能方面发挥着非常重要的作用。这不仅体现在自噬的激活是胰岛 B 细胞的一种自我保护机制,使其免受各种有害应激所诱导的细胞凋亡,保持着胰岛 B 细胞数量上的稳定;同时也表现在维持胰岛 B 细胞分泌能力及内环境的稳定方面。

2.1 自噬对维持胰岛 B 细胞数量的作用 自噬的激活是胰岛 B 细胞的一种自我保护机制,Grasso 等^[6]在用链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导的实验性糖尿病模型中,雄性 Wistar 大鼠的胰岛 B 细胞对 STZ 处理的最早反应是产生自噬,这种自噬可能是细胞的一种自我保护机制,使胰岛 B 细胞免受外来有害应激的作用。Choi 等^[7]的研究也表明,自噬作为保护机制能使 INS-1 细胞免受棕榈酸作用而凋亡。

Ebato 等^[8]研究发现,在标准饮食下,非糖尿病小鼠的胰岛 B 细胞自噬维持着很低水平,但在高脂饮食喂养下,糖尿病和非糖尿病小鼠的胰岛 B 细胞自噬都出现了显著的激活,电镜下可以观察到大量的自噬小体的出现。为了进一步研究自噬的生理功能,构建了特异性胰岛 B 细胞自噬基因 ATG7 敲除小鼠模型(*Atg7^{fl/fl}; RIP-Cre*),发现这种小鼠的胰岛 B 细胞发生肿胀,随后出现退化和胰岛素免疫反应性消失,同时还伴有泛素化蛋白积聚。而且随着研究的深入还发现,高脂饮食喂养下,*Atg7^{fl/fl}; RIP-Cre* 小鼠的 B 细胞出现凋亡,代偿增殖能力受损,同时退化细胞增多以及 P62 蛋白积聚。这些研究表明在应对外来应激的时候,自噬帮助胰岛 B 细胞清除不必要的、有害的蛋白,保护 B 细胞免受这些有害物质诱导的细胞死亡或凋亡。

另外 Liang 等^[9]的研究也证实了自噬缺损的胰岛 B 细胞,线粒体功能异常,ATP 和 NADPH₂ 产生减少导致可诱导细胞凋亡和细胞周期的阻滞。Jung 等^[10]的实验也证实了自噬在维持胰岛 B 细胞的数量方面有重要作用,他们在胰岛 B 细胞特异的自噬基因 ATG7 敲除小鼠(*Atg7^{Δp-cell}*)体内研究表明,ATG7 基因缺失的胰岛 B 细胞的细胞凋亡增加、细胞增殖下降,从而导致胰岛 B 细胞绝对数量的减少,小鼠体内胰岛素含量的降低。

上述研究表明,不管是在基础水平还是激活状态下,自噬对于防止胰岛 B 细胞凋亡并维持其数量起着重要作用。

2.2 自噬对维持胰岛 B 细胞分泌能力的作用 自噬在维持胰岛 B 细胞分泌能力方面起着重要的作用。Ebato 等^[8]发现在 *Atg7^{fl/fl}; RIP-Cre* 小鼠的胰岛 B 细胞内形成大量功能异常的线粒体,最终导致胰岛素分泌功能的降低;而且糖耐量试验显示,糖刺激的胰岛素分泌的降低导致体内糖调节平衡受到了损害。

在 Jung 等^[10]构建的基因敲除小鼠模型中,发现无论是基础水平还是高糖刺激后的胰岛素分泌都缺失,高糖诱导的胰岛钙离子的上调也受到损害,最终 *Atg7^{Δp-cell}* 小鼠出现高糖

血症和显著的低胰岛素血症。

2.3 自噬对维持胰岛 B 细胞内环境稳定方面的作用 自噬在维持胰岛 B 细胞内环境稳定方面也发挥着重要的作用。*Rab3A^{-/-}* 小鼠的胰岛 B 细胞存在分泌缺陷,但是胰岛素的生成正常,因此会造成胰岛素在 B 细胞内的积蓄。Marsh 等^[11]的研究显示 *Rab3A^{-/-}* 小鼠的胰岛 B 细胞可通过上调细胞的自噬水平,加速细胞内胰岛素的降解来维持细胞内胰岛素的平衡。这项研究充分表明了自噬在维持胰岛 B 细胞内环境稳定的重要性。

3 自噬维持胰岛 B 细胞功能的机制

3.1 胰岛 B 细胞发生功能障碍的机制 目前研究认为,氧化应激、线粒体功能障碍以及内质网应激等都与 2 型糖尿病胰岛 B 细胞发生功能障碍有密切关系。

内质网是细胞内行使多种重要功能的细胞器之一,是哺乳动物细胞 Ca^{2+} 贮存器,也是蛋白质翻译后修饰、多肽链正确折叠与装配的主要场所,对应激极为敏感。胰岛 B 细胞中含有丰富的内质网,这对于胰岛素的分泌是非常重要的。内质网是加工胰岛素的重要场所,它将前胰岛素原加工(折叠)成胰岛素原,然后转运到高尔基体并被包裹成分泌颗粒,并在其中转化成胰岛素。如果机体对胰岛素的需要量加大,如在胰岛素抵抗、糖尿病、肥胖等情况下,内质网就需要不断地工作来加工胰岛素,一旦超出其工作负荷,内质网会产生应激(ER stress)或者是非折叠蛋白反应(UPR)^[12]。慢性而持续的内质网应激会导致胰岛 B 细胞的凋亡^[13-15],并影响胰岛 B 细胞分泌胰岛素的能力^[16],因此认为在肥胖或者糖尿病状态下胰岛 B 细胞容易发生功能障碍。

胰岛 B 细胞除了对内质网应激敏感以外,对氧化应激也同样敏感。因为胰岛 B 细胞内含有相对较少的抗氧化酶,如超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶等,因此在高糖、高脂的条件下,胰岛 B 细胞内线粒体容易产生活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)^[17],这些 ROS 可以使线粒体产生氧化应激毒性,损伤线粒体,最终导致胰岛 B 细胞凋亡^[18]和胰岛素分泌能力下降^[19];ROS 还可和细胞内的各种成分如脂质、蛋白质、DNA 相互作用,引起一些膜和酶的功能改变,导致细胞直接损伤^[20];此外,ROS 还会通过激活 NF- κ B 和丝裂原活化的蛋白激酶(MAPK)信号通路诱导细胞凋亡。

3.2 自噬维持胰岛 B 细胞功能的机制 正如上文所述,胰岛 B 细胞功能的损害和内质网应激、线粒体功能的损害以及氧化应激等密切相关,而自噬维持胰岛 B 细胞功能机制可能和清除未折叠蛋白、防止内质网应激、清除受损的线粒体等细胞器以及泛素化蛋白等有害物质密切相关。

Jung 等^[10]研究发现在 *Atg7^{Δp-cell}* 小鼠胰岛 B 细胞内可以观察到大量的泛素包裹的蛋白的积聚,这些蛋白由于自噬机制的缺失不能得到有效的清除,过度积聚的泛素化蛋白会对细胞产生损害;另外 *Atg7^{Δp-cell}* 小鼠胰岛 B 细胞常出现异常形成和功能缺失的线粒体以及肿胀的内质网。而自噬已被证实是在维持线粒体和内质网的功能和结构方面有着非常重要的作用,激活自噬、清除受损的线粒体以防止线粒体内促凋亡因子的释放,是细胞应对外来刺激避免凋亡的重要机制之一^[21],因

此 Atg7^{Δq-cell} 小鼠体内的代谢紊乱也和自噬的缺失有关。

自噬保护胰岛 B 细胞免受凋亡的机制可能还和抵抗氧化应激密切相关。氧化应激是形成泛素化蛋白积聚的诱发因素,同时氧化应激时产生的活性氧分子是自噬很强的诱导因子。Kanuiuk 等^[22]的研究显示自噬能保护因抵抗糖尿病产生的氧化应激对胰岛 B 细胞的损害,主要的作用机制是自噬能清除胰岛 B 细胞内质网内因氧化应激产生的泛素化蛋白的积聚以及因氧化应激受损的线粒体。

4 自噬对 2 型糖尿病的临床意义

上述的研究充分表明自噬在保护和维持胰岛 B 细胞功能方面有重要作用。自噬是细胞对外源性不同应激的反应,很多因素都可以诱导自噬,包括食物成分、调节糖原的激素以及多种化疗药物等^[23]。这从一个侧面反映器官自噬功能损害可能和代谢紊乱疾病发生有关,其中可能包含糖尿病。另外,自噬和细胞衰老有关也提示自噬可能和糖尿病的发生有密切的联系^[24]。研究^[25]表明,机体的老化总伴随着糖耐受能力的降低,而 2 型糖尿病在老年人群中是一种常见病。

虽然自噬在保护及维持胰岛 B 细胞功能方面有重要的作用,同时自噬可能和 2 型糖尿病的发病有关,但是自噬是否真正参与 2 型糖尿病的发病还不清楚,这要求有一种稳定而可靠的方法来检测糖尿病患者前期细胞内的自噬水平和发生情况。此外,一些治疗糖尿病的药物被证明是 AMPK 激动剂,它们治疗糖尿病的机制部分可能是通过激活 AMPK,从而诱导自噬,起到保护胰岛 B 细胞的作用^[26]。但能否以胰岛 B 细胞发生的自噬为靶点来作为 2 型糖尿病可能的治疗策略仍有待深入研究。

[参考文献]

[1] Ozcan U, Cao Q, Yilmaz E, Lee A H, Iwakoshi N N, Ozdelen E, et al. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes[J]. *Science*, 2004, 306: 457-461.

[2] Levine B, Klionsky D J. Development by self-digestion: molecular mechanisms and biological functions of autophagy[J]. *Dev Cell*, 2004, 6: 463-477.

[3] Majeski A E, Dice J F. Mechanisms of chaperone-mediated autophagy[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004, 36: 2435-2444.

[4] Levine B, Yuan J. Autophagy in cell death: an innocent convict [J]? *J Clin Invest*, 2005, 115: 2679-2688.

[5] Reggiori F, Klionsky D J. Autophagy in the eukaryotic cell[J]. *Eukaryot Cell*, 2002, 1: 11-21.

[6] Grasso D, Sacchetti M L, Bruno L, Lo Ré A, Iovanna J L, Gonzalez C D, et al. Autophagy and VMP1 expression are early cellular events in experimental diabetes [J]. *Pancreatol*, 2009, 9(1-2): 81-88.

[7] Choi S E, Lee S M, Lee Y J, Li L J, Lee S J, Lee J H, et al. Protective role of autophagy in palmitate-induced INS-1 beta-cell death[J]. *Endocrinology*, 2009, 150: 126-134.

[8] Ebato C, Uchida T, Arakawa M, Komatsu M, Ueno T, Komiyama K, 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: 325-332.

[9] Liang J, Shao S H, Xu Z X, Hennessy B, Ding Z, Larrea M, et al. The energy sensing LKB1-AMPK pathway regulates p27

(kip1) phosphorylation mediating the decision to enter autophagy or apoptosis[J]. *Nat Cell Biol*, 2007, 9: 218-224.

[10] Jung H S, Chung K W, Won Kim J, Kim J, Komatsu M, Tanaka K, et al. Loss of autophagy diminishes pancreatic beta cell mass and function with resultant hyperglycemia [J]. *Cell Metab*, 2008, 8: 318-324.

[11] Marsh B J, Soden C, Alarcón C, Wicksteed B L, Yaekura K, Costin A J, et al. Regulated autophagy controls hormone content in secretory-deficient pancreatic endocrine beta-cells[J]. *Mol Endocrinol*, 2007, 21: 2255-2269.

[12] Eizirik D L, Cardozo A K, Cnop M. The role of endoplasmic reticulum stress in diabetes mellitus[J]. *Endocr Rev*, 2008, 29: 42-61.

[13] Laybutt D R, Preston A M, Akerfeldt M C, Kench J G, Busch A K, Biankin A V, et al. Endoplasmic reticulum stress contributes to beta cell apoptosis in type 2 diabetes[J]. *Diabetologia*, 2007, 50: 752-763.

[14] Srinivasan S, Ohsugi M, Liu Z, Fatrai S, Bernal-Mizrachi E, Permutt M A. Endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis is partly mediated by reduced insulin signaling through phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and increased glycogen synthase kinase-3beta in mouse insulinoma cells[J]. *Diabetes*, 2005, 54: 968-975.

[15] Wang H, Kouri G, Wollheim C B. ER stress and SREBP-1 activation are implicated in beta-cell glucolipotoxicity[J]. *J Cell Sci*, 2005, 118(Pt 17): 3905-3915.

[16] Scheuner D, Vander Mierde D, Song B, Flamez D, Creemers J W, Tsukamoto K, et al. Control of mRNA translation preserves endoplasmic reticulum function in beta cells and maintains glucose homeostasis[J]. *Nat Med*, 2005, 11: 757-764.

[17] Robertson R P. Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet beta cells in diabetes[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279: 42351-42354.

[18] Fariss M W, Chan C B, Patel M, Van Houten B, Orrenius S. Role of mitochondria in toxic oxidative stress[J]. *Mol Interv*, 2005, 5: 94-111.

[19] Maechler P, Carobbio S, Rubi B. In beta-cells, mitochondria integrate and generate metabolic signals controlling insulin secretion[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2006, 38(5-6): 696-709.

[20] Piro S, Anello M, Di Pietro C, Lizzio M N, Patanè G, Rabuazzo A M, et al. Chronic exposure to free fatty acids or high glucose induces apoptosis in rat pancreatic islets: possible role of oxidative stress[J]. *Metabolism*, 2002, 51: 1340-1347.

[21] Ravikumar B, Berger Z, Vacher C, O' Kane C J, Rubinsztein D C. Rapamycin pre-treatment protects against apoptosis[J]. *Hum Mol Genet*, 2006, 15: 1209-1216.

[22] Kaniuk N A, Kiraly M, Bates H, Vranic M, Volchuk A, Brumell J H. Ubiquitinated-protein aggregates form in pancreatic beta-cells during diabetes-induced oxidative stress and are regulated by autophagy[J]. *Diabetes*, 2007, 56: 930-939.

[23] Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease [J]. *Cell*, 2008, 132: 27-42.

[24] Vellai T. Autophagy genes and ageing[J]. *Cell Death Differ*, 2009, 16: 94-102.

[25] Robertson R P, Harmon J, Tran P O, Poirout V. Beta-cell glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stress in type 2 diabetes[J]. *Diabetes*, 2004, 53(Suppl 1): S119-S124.

[26] Schimack G, DeFronzo R A, Musi N. AMP-activated protein kinase: Role in metabolism and therapeutic implications[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2006, 8: 591-602.