

• 综述 •

糖脂毒性与胰岛 β 细胞功能衰竭

刘振平

【关键词】 高血糖; 高血脂; 胰岛 β 细胞

【中图分类号】 R587

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-5403(2010)03-04-04

2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)是涉及多基因的复杂临床综合征。数项基因组扫描技术已确定控制 β 细胞发育或功能的 T2DM 危险位点,强有力地证明 β 细胞基因易感性决定着 T2DM 的发病危险^[1]。一旦糖尿病(DM)的病理机制形成,高血糖、高血脂随之发生,对 β 细胞造成损害或毒性效应。脂毒性指血中游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)增多后,超过脂肪组织的贮存能力和各组织对 FFA 的氧化能力,使过多的 FFA 以甘油三酯(triglyceride, TG)的形式在非脂肪组织中过度沉积而造成损伤,包括诱导胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞凋亡等。高血糖是脂毒性的前提,所以用糖脂毒性来描述高血脂对 β 细胞功能的毒性作用更合适^[2]。T2DM 患者常常合并存在高糖毒性和糖脂毒性,是 β 细胞功能恶化的原因,是 T2DM 一直进展的重要机制。现就糖脂毒性致 β 细胞功能衰竭的新进展做一综述。

1 糖脂毒性的体外研究证据

1.1 胰岛素分泌受损 大量研究显示 β 细胞长时间暴露于 FFA 后基础胰岛素分泌增加,糖刺激胰岛素分泌(glucose-stimulated insulin secretion, GSIS)被抑制。FFA 抑制 β 细胞 GSIS 的机制尚不清楚,大量研究对此进行了探讨。

G 蛋白偶联受体 40(G protein-coupled receptor 40, GPR40)在胰岛 β 细胞特异地表达,由长链脂肪酸激活。Steneberg 研究组和 Brownlie 研究组^[3]一致发现,GPR40 基因剔除小鼠胰岛对 FFA 的抑制效应不敏感;高脂饲养的 GPR40 基因剔除小鼠未发生高胰岛素血症、糖耐量减退、或胰岛素抵抗。而且 Steneberg 等发现 GPR40 转基因小鼠表现为胰岛 β 细胞功能受损,低胰岛素血症和糖耐量减退;提示 GPR40 参与介导 FFA 对 β 细胞的毒性作用。但应用另一种系 GPR40 基因剔除小鼠的研究不能重复上述结果,GPR40 受体剔除不能保护胰岛的 GSIS 免受 FFA 的抑制^[3]。最新研究发现高

表达 GPR40 的正常小鼠和高表达 GPR40 的糖尿病 KK 小鼠的口服葡萄糖耐量试验(OGTT)分别较相应的非转基因对照小鼠的 OGTT 改善,其胰岛的 GSIS 较对照组胰岛的 GSIS 显著增加,提示 GPR40 调节 GSIS^[4]。所以 GPR40 在 FFA 对 β 细胞的毒性效应中的作用需要深入研究。

解偶联蛋白-2(uncoupling protein-2, UCP-2)是广泛存在的线粒体载体,其生物学功能尚不清楚,可能是解除呼吸链与 ATP 合成的偶联。数项研究提示 UCP-2 调节胰岛素分泌,在糖脂毒性中起作用^[2],依据如下:(1)增加 β 细胞 UCP-2 表达则胰岛素分泌受损;(2)UCP-2 基因剔除动物循环中胰岛素水平增加,可以免于发生营养性 DM;(3)高脂饲养啮齿动物的胰岛或暴露于 FFA 的胰岛,其 UCP-2 表达增加;(4)油酸直接激活 INS-1 细胞 UCP-2 启动子;(5)从 UCP-2 基因剔除动物分离胰岛可以免于脂毒性损害。这些研究提示 FFA 激活 UCP-2 表达,线粒体解偶联,胰岛素分泌受损。但转基因 UCP-2 高表达不改变线粒体功能或 GSIS,而与活性氧下降有关^[5]。因此 FFA 诱导 UCP-2 活性增加可能是针对营养过剩和氧化应激的细胞防御机制。

ATP 结合盒转运体亚家族 A 成员 1(ATP-binding cassette transporter subfamily A member 1, ABCA1)介导胆固醇流出,ABCA1 基因剔除的 β 细胞内胆固醇含量增加,胰岛素分泌受损,主要缺陷在胰岛素胞吐过程^[6]。而且曲格列酮对高脂饲养小鼠糖耐量的改善作用依赖于 β 细胞内 ABCA1 功能正常^[6]。胰岛素颗粒胞吐过程的囊泡转运由 Rab27a(一种单体 GTP 酶)调节,颗粒素(granophilin)是 Rab27a 在 β 细胞的特定效应器。颗粒素是正常 β 细胞胰岛素颗粒囊泡的一种成分蛋白,在胰岛素分泌颗粒停靠于胞浆膜及相互融合过程中起关键作用;但其高表达则抑制胰岛素分泌。据报道颗粒素是甾醇调节元件结合蛋白 1c(sterol regulatory element-binding protein-1c, SREBP1c)和肌

腱膜纤维肉瘤癌基因同系物 A (musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homologue A, MafA) 的直接靶点之一。颗粒素的活化造成 SREBP1c 转基因小鼠胰岛的氯化钾诱导的胰岛素分泌受损。Shimano 等^[7]研究发现某些 DM 动物模型高表达颗粒素,而颗粒素基因剔除后胰岛素分泌恢复正常。因此颗粒素是 SREBP1c 引致的糖脂毒性的介导因素之一。Olofsson 等^[8]研究证实长期暴露于高糖高脂环境的小鼠胰岛,其胰岛细胞吐晚期阶段的融合孔受损。以上研究表明 FFA 至少部分作用于胰岛细胞吐过程,不仅 GSIS 受抑制,也抑制其他促胰岛素分泌剂的作用,提示促胰岛素分泌剂在 T2DM 的高糖高脂环境下可能失效。

1.2 脂肪酸损害胰岛素基因表达 FFA 抑制胰岛素分泌和损害胰岛素基因表达的机制是不同的。棕榈酸和油酸均抑制胰岛素分泌,仅前者影响胰岛素基因表达。仅棕榈酸能作为神经酰胺合成的底物,后者可能介导棕榈酸对胰岛素基因的抑制。胰岛与棕榈酸培养 72h,神经酰胺含量增加,用神经酰胺合成抑制剂阻断后,胰岛素 mRNA 水平维持正常。棕榈酸下调胰十二指肠同源异形盒-1 (pancreas-duodenum homeobox-1, PDX-1) 和 MafA 的结合活性而抑制胰岛素基因转录。神经酰胺影响 PDX-1 的转录,干扰 MafA 的表达^[9]。而糖毒性作用于 MafA 的翻译后修饰。神经酰胺调节两个主要的信号传导通路 MAPK 和磷脂酰肌醇 3 激酶通路,通过影响转录因子活性而调节胰岛素基因转录。神经酰胺的直接靶点是 JNK。JNK 通过依赖于 c-JUN 的 E1 介导的抑制,也通过不依赖于 c-JUN 的 PDX-1 结合抑制实现对胰岛素基因转录的抑制。Solinas 等^[10]证实棕榈酸激活 β 细胞内 JNK,胰岛素受体底物 1 和 2 发生磷酸化,损害胰岛素的信号传导,胰岛素基因转录下降。在胰岛素敏感组织,由棕榈酸合成的神经酰胺可能通过激活蛋白激酶 C,而抑制蛋白激酶 B 活性,则转录因子 FoxO1 的抑制得以缓解,结果 FoxO1 转位于核并且抑制其目标基因。在 β 细胞,葡萄糖促进蛋白激酶 B 的表达和活化。一种 FoxO1 构成活性成分突变体的表达导致 PDX-1 表达完全缺失,表明 PDX-1 和 FoxO1 在核定位上相互排斥^[11]。肝脏和 β 细胞的 FoxO1 功能增加,肝糖生成增加、PDX-1 表达下降,可以诱导 DM。另一方面, FoxO1 上调 β 细胞 MafA 的表达,对糖毒性所致的氧化损伤有保护作用。FFA 对胰岛素基因表达抑制可能涉及蛋白激酶 B/FoxO1 通路的调节。在高糖高脂条件下,此通路对转录因子功能和胰岛素基因表达的综合效应有待进一步万方数据

研究确立。

1.3 脂肪酸诱导 β 细胞死亡 数项研究显示 FFA 在高糖环境下诱导 β 细胞死亡。饱和脂肪酸诱导 β 细胞凋亡,不饱和脂肪酸起保护作用^[12]。研究证实硬脂酰基辅酶 A 去饱和酶表达水平与 β 细胞对抗棕榈酸促凋亡作用相关,表明 β 细胞的去饱和脂肪酸能力对抗糖脂毒性^[12]。

神经酰胺、脂类代谢通路的改变、氧化应激可能介导 FFA 所致的 β 细胞凋亡。新近发现内质网 (ER) 应激和非折叠蛋白质反应也参与其中^[13]。棕榈酸而非油酸诱导 β 细胞 ER 应激并且引起 ER 显著形态学改变。T2DM 患者胰腺部分的 ER 应激标志物增加^[13]。

FFA 诱导 β 细胞凋亡的体外研究的意义有限。第一,克隆的 β 细胞与原代 β 细胞对 FFA 细胞毒性作用的敏感性有显著差异;第二, FFA 引致细胞死亡存在种系差异,如人类胰岛在高糖和棕榈酸环境下培养 24 h 已观察到细胞凋亡,而大鼠胰岛培养 72 h 未发现任何细胞死亡;第三,各研究之间所用 FFA 的浓度不一致。未与牛血清白蛋白结合的部分是 FFA 起作用的部分,并决定 FFA 和白蛋白的摩尔比例及准备方式;第四,尚不能测定 β 细胞附近 FFA 的浓度。因此,应特别谨慎地解读体外研究结果。

2 糖脂毒性的动物体内证据

Zucker 糖尿糖肥胖大鼠 (Zucker diabetic fatty rat, ZDF) 是瘦素受体突变,随增龄而发生肥胖和 DM,是一种 T2DM 大鼠模型。ZDF 大鼠模型研究无法区别糖毒性和糖脂毒性。事实上,降低血糖水平而非血脂水平足以使 ZDF 大鼠的胰岛素基因表达正常化。非肥胖杂合型 ZDF 大鼠和 Wistar 大鼠输入脂肪乳剂后,前者的胰岛素分泌受损更严重,表明基因易感性在 FFA 毒性中起作用^[14]。Hagman 等^[15]最新研究发现 Wistar 大鼠每 4 h 轮流输入葡萄糖或盐水共 72 h 后分离胰岛,其胰岛素 mRNA 水平、PDX-1 核定位、PDX-1 与内源性胰岛素基因启动子的结合均增加;而 Wistar 大鼠每 4 h 轮流输入葡萄糖或脂肪乳剂共 72 h 后,其胰岛内胰岛素含量、胰岛素 mRNA 表达下降。进一步研究发现,因为 PDX-1 转移到胞浆明显增多,与内源性胰岛素启动子结合的 PDX-1 明显减少。对照组仅造成 72 h 高血糖,而实验组造成 72 h 高血糖、高血脂,因此强有力地证实 FFA 在动物体内也抑制胰岛素基因表达。

3 糖脂毒性的人体内证据

FFA 对人体内胰岛素分泌的作用研究结果很

不一致。早期研究发现 48 h 脂类输入, 正常人有适当的胰岛素分泌反应, 而 T2DM 患者的反应有缺陷^[16]。而另一项研究显示正常人急性输入脂类 90 min 后胰岛素分泌增加, 当输入持续 48 h 后, 针对葡萄糖刺激的胰岛素分泌反应丧失, 而针对精氨酸的胰岛素分泌反应正常^[16]。同一组研究进一步显示肥胖非 DM 患者对脂类抑制 GSIS 的反应比较敏感。更重要的是, 非 DM 患者 24 h 葡萄糖输入后胰岛素分泌增加现象在糖和脂类同时输入时消失。DeFronzo 研究组^[16]对伴和不伴 T2DM 家族史的非 DM 患者进行了一系列研究, 发现脂肪乳剂输入 4 d 后, 正常个体胰岛素分泌增加(用胰岛素敏感性校正), 而有 DM 家族史个体的 GSIS 受抑制, 提示 T2DM 基因易感性与 FFA 诱导的 β 细胞增加胰岛素分泌能力有关。更重要的是降低血浆 FFA 水平后, 有 DM 家族史个体的 GSIS 较前增加^[17]。以上研究表明糖脂毒性不仅限于 T2DM 的晚期阶段, 而且是 DM 的致病机制之一。

4 葡萄糖对脂类代谢及其糖脂毒性机制的影响

大量试验强有力地证明 FFA 对 β 细胞的毒性作用依赖于高糖的存在。葡萄糖是 β 细胞内 FFA 代谢方向的主要决定因素。葡萄糖水平正常, FFA 经卡尼汀(肉碱)棕榈酰基转移酶 1(carnitine-palmitoyl transferase-1, CPT1)转运入线粒体进行 β 氧化。而在高糖高脂条件下, 葡萄糖经三羧酸循环产生替补途径信号如柠檬酸, 胞浆内形成丙二酸单酰辅酶 A。在 β 细胞内丙二酸单酰辅酶 A 抑制 CPT1 活性, 阻止 FFA 氧化, 长链酰基辅酶 A 酯在胞浆内堆积, 直接或经其他脂类信号影响 β 细胞功能。研究发现促进线粒体 FFA 的 β 氧化可以对抗棕榈酸的糖脂毒性, 而抑制线粒体 FFA 的 β 氧化则增加糖脂毒性^[18]。越来越多证据表明 AMP 活化蛋白激酶(AMPK)是代谢感受器, 能发现细胞内能量状态的变化, 并且指导 β 细胞在营养过度的情况下进入贮存模式, 犹如其在肝和肌肉中的作用。AMPK 活性与葡萄糖浓度呈负相关, 在 β 细胞内由棕榈酸激活^[19]。AMPK 的下游通路, 转录因子 SREBP1c, 反式激活脂肪酸合成的基因, 似乎是把代谢信号转化成基因表达变化的效应器, 导致脂类合成增加, TG 堆积。葡萄糖也增加肝 X 受体的表达^[20], 依次增加 SREBP1c 表达和脂类合成。

TG 堆积是糖脂毒性的标志物, 提示酯化通路活跃, 而非糖脂毒性的致病机制。曾提出酯化通路中间代谢产物(溶血磷脂酸、磷脂酸、二酰基甘油)损害 β 细胞功能, 现在尚未证实。已证实神经酰胺

在 FFA 诱导的 β 细胞死亡和抑制胰岛素基因表达中起作用, 而且也参与胰岛素抵抗的致病机制。

近来发现 β 细胞暴露于氧化型低密度脂蛋白发生细胞凋亡, 胰岛素基因表达下降, 天然的低密度脂蛋白无此作用, 高密度脂蛋白对此有保护作用。 β 细胞 ABCA1 基因剔除小鼠胰岛细胞内胆固醇含量增加, 并且损害胰岛素分泌^[6]。因为葡萄糖直接激活肝 X 受体, 进而调节 ABCA1 表达, 提示葡萄糖协同增加 FFA 的酯化和细胞内胆固醇合成^[20]。

综上所述, 在高糖条件下, 饱和脂肪酸增加胰岛 β 细胞的基础分泌, 抑制胰岛 β 细胞的 GSIS, 诱导 β 细胞凋亡, 棕榈酸抑制胰岛素基因表达。慢性高血糖指导 FFA 背离氧化而进行过多脂类合成。引致 β 细胞功能不全的脂类信号尚未确定。酯化通路、神经酰胺及脂蛋白转运、胆固醇代谢可能参与糖脂毒性的致病机制。

【参考文献】

- [1] Saxena R, Voight BF, Lyssenko V, *et al.* Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels[J]. *Science*, 2007, 316(5829):1331-1336.
- [2] Poitout V, Robertson RP. Glucolipotoxicity: fuel excess and cell dysfunction[J]. *Endocr Rev*, 2008, 29(3): 351-366.
- [3] Brownlie R, Mayers RM, Pierce JA, *et al.* The long-chain fatty acid receptor, GPR40, and glucolipotoxicity: investigations using GPR40-knockout mice [J]. *Biochem Soc Trans*, 2008, 36(Pt 5): 950-954.
- [4] Nagasumi K, Esaki R, Iwachidow K, *et al.* Overexpression of GPR40 in pancreatic cells augments glucose stimulated insulin secretion and improves glucose tolerance in normal and diabetic mice [J]. *Diabetes*, 2009, 58(5):1067-1076.
- [5] Produit-Zengaffinen N, Davis-Lameloise N, Perreten H, *et al.* Increasing uncoupling protein-2 in pancreatic cells does not alter glucose-induced insulin secretion but decreases production of reactive oxygen species [J]. *Diabetologia*, 2007, 50(1): 84-93.
- [6] Brunham LR, Kruit JK, Pape TD, *et al.* Cell ABCA1 influences insulin secretion, glucose homeostasis and response to thiazolidinedione treatment[J]. *Nat Med*, 2007, 13(3): 340-347.
- [7] Shimano H, Amemiya-Kudo M, Takahashi A, *et al.* Sterol regulatory element-binding protein-1c and pancreatic cell dysfunction [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2007, 9(Suppl 2): 133-139.
- [8] Olofsson CS, Collins S, Bengtsson M, *et al.* Long-term exposure to glucose and lipids inhibits glucose-in-

- duced insulin secretion downstream of granule fusion with plasma membrane[J]. *Diabetes*, 2007, 53(10): 2610-2616.
- [9] Hagman DK, Hays LB, Parazzoli SD, *et al.* Palmitate inhibits insulin gene expression by altering PDX-1 nuclear localization and reducing MafA expression in isolated rat islets of Langerhans[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(37): 32413-32418.
- [10] Solinas G, Naugler W, Galimi F, *et al.* Saturated fatty acids inhibit induction of insulin gene transcription by JNK-mediated phosphorylation of insulin-receptor substrates [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(44): 16454-16459.
- [11] Kitamura T, Nakae J, Kitamura Y, *et al.* The forkhead transcription factor Foxo1 links insulin signaling to PDX-1 regulation of pancreatic cell growth[J]. *J Clin Invest*, 2002, 110(12): 1839-1847.
- [12] Morgan NG. Fatty acids and cell toxicity[J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2009, 12(2): 117-122.
- [13] Laybutt DR, Preston AM, Akerfeldt MC, *et al.* Endoplasmic reticulum stress contributes to cell apoptosis in type 2 diabetes [J]. *Diabetologia*, 2007, 50(4): 752-763.
- [14] Goh TT, Mason TM, Gupta N, *et al.* Lipid-induced cell dysfunction *in vivo* in models of progressive cell failure[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2007, 292(2): E549-E560.
- [15] Hagman D, Latour MG, Chakrabarti SK, *et al.* Cyclical and alternating infusions of glucose and Intralipid in rats inhibit insulin gene expression and Pdx-1 binding in islets[J]. *Diabetes*, 2008, 57(2): 424-431.
- [16] Poirout V. Glucolipotoxicity of the pancreatic cell: myth or reality[J]? *Biochem Soc Trans*, 2008, 36(Pt 5): 901-904.
- [17] Cusi K, Kashyap S, Gastaldelli A, *et al.* Effects on insulin secretion and insulin action of a 48-h reduction of plasma free fatty acids with acipimox in nondiabetic subjects genetically predisposed to type 2 diabetes [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2007, 292(6): E1775-E1781.
- [18] Green CD, Jump DB, Olson LK. Elevated insulin secretion from liver X receptor-activated pancreatic beta-cells involves increased *de novo* lipid synthesis and triacylglycerol turnover [J]. *Endocrinology*, 2009, 150(6): 2637-2645.
- [19] Wang X, Zhou L, Li G, *et al.* Palmitate activates AMP-activated protein kinase and regulates insulin secretion from cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 352(2): 463-468.
- [20] Mitro N, Mak PA, Vargas L, *et al.* The nuclear receptor LXR is a glucose sensor[J]. *Nature*, 2007, 445(7124): 219-223.

(收稿日期:2009-02-27;修回日期:2009-06-22)

(上接第 373 页)

缩,肾间质多数上皮样肉芽肿性结节伴严重纤维化,多灶状淋巴及单核细胞浸润,小动脉管壁增厚,符合结节病肾病(图 2)。与第一次相比,结节纤维化。

方静主治医师:结节病肉芽肿性间质肾炎对糖皮质激素[1 mg/(kg·d)]治疗敏感,有时即使肾脏已经缩小或肾活检显示严重慢性化病变,应用激素仍然有效。但是激素治疗虽然有效,却往往遗留肾功能损害,重复肾活检经常呈现进展性纤维化。该患者激素治疗 2 周内血肌酐由 905 $\mu\text{mol/L}$ 迅速下降至 238 $\mu\text{mol/L}$,此后继续激素治疗,血肌酐 211 $\mu\text{mol/L}$,变化不显著,血 ACE 目前已经降至正常范围,估计结节病已无活动,肾间质的肉芽肿消失,取而代之的是肾间质纤维化。

李文歌主任:该患者继续激素治疗,缓慢减量,以防复发。本次住院期间患者出现室性心律失常,但既往无心脏病史,高度怀疑是否有心脏结节病。结节病心肌受累主要表现为心律失常,包括房室传导阻滞和室性心律失常,确诊需要心脏组织活检发现非干酪样坏死性上皮细胞肉芽肿。该患者第一

次住院期间结节病明显活动时无心律失常,经激素治疗后结节病稳定时却发现室性心律失常,似乎不能用心脏结节病来解释。但是文献报道结节病心肌受累时,大多数病变只累及小部分心肌组织,缺乏明显的临床表现,这就是为什么第一次住院期间无心律失常发作。而心脏结节病用免疫抑制剂治疗后,活动性肉芽肿被纤维组织所替代,提供了形成折返的通路,可能致难以控制的室性心律失常,这就是为何患者经激素治疗后,病情稳定时却出现室性心律失常。目前室性心律失常的治疗手段主要有免疫抑制剂、除颤起搏器和心脏移植,但效果均不明确,我们可以先用抗心律失常的药物胺碘酮(乙胺碘呋酮)治疗,观察疗效,再决定进一步治疗方案。

2.3 病情追踪 追踪 2 个月,患者血肌酐波动于 200~250 $\mu\text{mol/L}$,室性早搏明显减少。

(参加讨论医师:方 静,李文歌,邹万忠,杨彦芳)

(方 静,李文歌 整理)