

高浓度游离脂肪酸对胰岛 β 细胞凋亡的影响及其机制的研究进展

刘 亮(综述), 刘礼斌(审校)

作者单位: 350000 福州, 福建医科大学附属协和医院内分泌科, 福建省内分泌研究所

作者简介: 刘 亮(1983-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 肥胖与胰岛素抵抗。E-mail: liuliang012211@163.com

通讯作者: 刘礼斌, 男, 教授, 主任医师, 研究方向: 糖尿病、肥胖与胰岛素抵抗

[摘要] 高浓度游离脂肪酸可导致胰岛 β 细胞凋亡, 与 2 型糖尿病发生发展密切相关。其机制可能与胰岛素受体底物、代谢中关键酶、氧化应激、内质网应激、Bcl-2 家族、神经酰胺途径、Caspase 家族、12-脂氧合酶、蛋白激酶 B、G 蛋白偶联受体等有关。研究游离脂肪酸对胰岛 β 细胞凋亡的影响有重要的临床意义。

[关键词] 游离脂肪酸; β 细胞; 细胞凋亡

[中图分类号] R 587.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2009)07-0774-03

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2009.07.50

The effect of high free fatty acid on apoptosis of pancreatic islet β -cells and its mechanism LIU Liang, LIU Li-bin. Fujian Institute of Endocrinology (LIU Liang); Department of Endocrinology (LIU Li-bin), Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, China

[Abstract] High free fatty acid can induce apoptosis of pancreatic islet β -cells, which is closely connected with the occurrence and the development of type 2 diabetes. The mechanism may be related to insulin receptor-substrate, key enzyme of the metabolism, oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, Bcl-2 family, ceramide pathway, caspase family, 12-lipoxygenase, PKB, G protein-coupled receptor, etc. The study on the effect of high free fatty acid on apoptosis of pancreatic islet β -cells has great clinical significance.

[Key words] Free fatty acid; Pancreatic islets β -cell; Apoptosis

随着人们生活水平的提高, 肥胖人群逐渐增多。肥胖常伴有的胰岛素抵抗、血脂异常和高凝状态是 2 型糖尿病的独立危险因素。肥胖者血中的游离脂肪酸(FFA)常常升高^[1], 长时间 FFA 升高不仅导致胰岛素抵抗(IR), 还可以引起胰岛细胞的功能改变。FFA 是 2 型糖尿病发展中极其活跃的因素, 目前仍然是人们关注的热点问题。我们已经知道, 短期 FFA 可促进基础胰岛素分泌(INS), 但长期 FFA 抑制 INS 释放。脂毒性是指血中 FFA 水平升高后, 超过脂肪组织的储存能力和各组织对 FFA 的氧化能力, 使过多的 FFA 以甘油三酯(TG)的形式在非脂肪组织中过度沉积而造成该组织的损伤。FFA 增加不仅参与了胰岛素抵抗的发生, 也有损害胰岛 β 细胞分泌胰岛素的功能和导致胰岛细胞凋亡的作用, 与 2 型糖尿病发病密切相关。本文主要从 FFA 对胰岛 β 细胞凋亡的影响这方面阐述高浓度游离脂肪酸对胰岛 β 细胞凋亡的影响及其机制。

1 对胰岛细胞凋亡的影响

人体内主要的 FFA 主要包括软脂酸、硬脂酸和油酸, 其它的游离脂肪酸含量很少。国内外很多研究显示, 高浓度软

脂酸、硬脂酸和油酸会引起胰岛细胞凋亡增加。Eitel 等^[2]发现, 软脂酸和硬脂酸能显著引起 RIN1046-38 细胞凋亡。Girard 等^[3]体外实验表明, 将人胰岛细胞在高血浆 FFA 环境下培养 48 h, 原位末端标记技术检测胰岛细胞凋亡, 结果发现胰岛细胞凋亡率比对照组增高 2 倍。Karaskov 等^[4]体外细胞实验显示, 将 INS-1 胰岛细胞在软脂酸环境下培养 16~24 h, 细胞凋亡明显增加。Lai 等^[5]将人胰岛细胞、INS-1 细胞、MIN-6 细胞三种细胞放在软脂酸环境下培养, 发现软脂酸可以引起这三种细胞产生凋亡。Martinez 等^[6]研究显示, MIN6 细胞在 100~400 mmol/L 的软脂酸和油酸中培养后, MIN6 细胞明显凋亡。

2 促进胰岛细胞凋亡的机制

2.1 氧化应激 胰岛对氧化应激很敏感, 它的抗氧化屏障最弱, 胰岛中的抗氧化酶包括超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶的含量在所有组织中是最低的。线粒体内的氧化应激是胰岛细胞凋亡的直接原因^[7]。长时间暴露在高 FFA 环境中可使线粒体活性氧族(ROS)生成增加, 激活氧化应激, 使过多的 ROS 直接对脂质、蛋白、溶酶体、DNA

造成氧化损伤。大量氧自由基可使细胞膜脂质过氧化,导致线粒体功能障碍,ATP 生成减少,钙泵失活,导致细胞内游离钙离子增多,激活磷脂酶活性,使细胞膜磷脂分解,导致胰岛细胞凋亡。Ye 等^[8]发现用 500 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 培养 RIN-m β 细胞 6 h 后, β 细胞凋亡数量较正常对照组明显增加,细胞存活率明显降低。

2.2 内质网应激 内质网是 FFA 酯化的场所。电镜下观察到暴露在 FFA 的 β 细胞的内质网是膨胀的。高的 FFA 负荷超过了 β 细胞的酯化能力,造成内质网功能受损和内质网应激反应的触发,因而造成对 β 细胞的毒性作用。FFA 导致内质网应激的机制还不明确。内质网过多的 FFA 酯化刺激会导致新合成蛋白质的过程和转运延误,而饱和的甘油三酯会沉淀在内质网应激合成蛋白质的位点上。FFA 也可以使内质网钙泵受损,同时在胰岛素抵抗或高糖情况下,可以增加内质网应激和 β 细胞凋亡作用。内质网应激近期被认为是肥胖、胰岛素抵抗的细胞、分子机制^[9,10]。Wang 等^[11]发现内质网应激可导致类固醇调节因子结合蛋白-1 (SREBP-1) 活化,使脂质堆积,葡萄糖刺激胰岛素分泌 (GSIS) 受损, β 细胞凋亡,脂肪生成和致凋亡基因上调。这些脂毒性后果可被 SREBP-1 的显性负相的突变体来阻断。

2.3 Bcl-2 相关途径 B 细胞淋巴瘤蛋白家族是与细胞凋亡关系密切的一类蛋白家族,其中 Bcl-2、Mcl-1、Bcl-xl 等对胰岛 β 细胞起抗凋亡作用,而 Bax、Bid、Bak、Bad 等促进胰岛 β 细胞凋亡的发生。Bad 是促凋亡因子,Bad 通过去磷酸化而活化,进而活化 Bax,从而促进线粒体释放细胞色素 c;进入胞浆的细胞色素 c 与 Apaf-1、ATP/dATP 结合成复合物,进而募集 caspase-9 前体,富集的 caspase-9 前体自我激活,从而导致细胞凋亡。而 Bcl-2 通过抑制细胞色素 c 从线粒体释放到细胞质,从而抑制细胞凋亡。Santangelo 等^[12]发现同时给予肝细胞生长因子 (HGF) 和 FFA 明显抑制了 FFA 诱导的 RINm5F 细胞凋亡。HGF 的这种保护作用是通过抑制 FFA 导致的 bcl-2 mRNA 和蛋白表达的下调实现的。

2.4 神经酰胺途径 血浆中 FFA 持续升高会导致胞质中产生大量的长链脂酰辅酶 A (CoA),使更多的脂酰 CoA 进入非氧化代谢途径。非氧化代谢产物具有脂毒性,神经酰胺即是其中的代表,它在 Ca^{2+} 作用下,活化各种激酶,使细胞停止在 G0/G1 期,同时活化的各种 Ca^{2+} 依赖性酶可进一步激活核酸内切酶、蛋白酶、磷脂酶、蛋白磷酸酶、谷氨酰胺转移酶,导致细胞凋亡。神经酰胺还可通过核因子 (NF)- κB -iNOS-NO 途径引起细胞凋亡。Maedler 等^[13]报道在饱和脂肪酸软脂酸培养正常大鼠胰岛细胞其凋亡增加,加入神经酰胺的模拟剂 C2-神经酰胺可模拟软脂酸介导 β 细胞凋亡和增殖减少,同时用神经酰胺合酶的抑制剂 Fumonisin B1 可阻断软脂酸的这种效应,提示神经酰胺在 FFA 介导的凋亡中起重要作用。

2.5 Caspase 家族 Caspase 即胱天蛋白酶,该酶的活性中心有催化作用的半胱氨酸残基,能水解底物蛋白中特异部位的天冬氨酸残基羧基侧肽链,在细胞凋亡信号传导过程中处核

心地位。Caspase 家族可分为两种类型:起始者 Caspase、效应者 Caspase。起始者 Caspase 包括 Caspase 8、9、10,效应者 Caspase 包括 Caspase 3、6、7 等。效应者 Caspase 在凋亡途径中处于下游,其前体能被起始者 Caspase 切割而活化,从而切割底物使细胞凋亡。Hirota 等^[14]发现将离体的小鼠胰岛 β 细胞放入棕榈酸中培养 3 h Caspase-6 的表达增加,培养 6 h 后 Caspase-3 表达增加,小鼠胰岛 β 细胞凋亡数量较对照组明显增加,培养液加入肉毒碱棕榈酰转移酶-1 抑制剂羟苯甘氨酸后可降低 Caspase-3、6 活性,减少小鼠胰岛 β 细胞凋亡数量。

2.6 胰岛素受体底物-2 胰岛素受体底物-2 (insulin receptor substrate, IRS) 蛋白家族成员是细胞内酪氨酸激酶底物,在细胞表面受体下游起信号传递作用。IRS-2 表达减少能促进胰岛细胞复制、新生和存活,IRS-2 表达减少导致 β 细胞凋亡^[15]。Lingohr 等^[16]发现 FFA 引起 β 细胞凋亡时伴有 IRS-2 蛋白表达减少,而用腺病毒介导的 β 细胞 IRS-2 蛋白表达水平升高,同时保护了 FFA 诱导的 β 细胞凋亡。IRS-2 通过激活 Akt、降低 caspase-9 的活性来抑制细胞凋亡。

2.7 12-脂氧合酶 12-脂氧合酶 (12-lipoxygenase, 12-LO) 是一类以非血红素铁蛋白为辅基的多功能酶之一,可特异性地表达在胰岛 β 细胞上,与葡萄糖刺激的胰岛素分泌 (GSIS) 的调节有关,可氧化脂肪酸如花生四烯酸、亚油酸等,使之转变为它们的过氧化氢物。过高浓度的脂质过氧化氢物导致氧化应激,可使 β 细胞功能紊乱、凋亡增加。Prasad 等^[17]观察到受损的 β 细胞中 12-LO 表达增加,12-LO 表达缺陷的大鼠糖尿病发病率降低,12-LO 过量表达能够抑制 GSIS,并与 β 细胞的凋亡有关。

2.8 蛋白激酶 B (PKB) - 磷脂酰肌醇-3 (PI3K) 激酶途径 PKB 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,其激酶活性区序列与 PKA 和 PKC 高度同源。由于 PKB 分子又与 T 细胞淋巴瘤中的逆转录病毒癌基因 V-akt 编码的蛋白 Akt 同源,又被称为 Akt。胰岛中的 PKB 主要表达在 β 细胞,可促进 β 细胞的增殖,阻断细胞凋亡通路。PKB 磷酸化 Bad,使 Bad 从 Bcl-2/Bcl-X 复合物中游离出来并锚定在 14-3-3 蛋白上,从而抑制 Bad 引起的细胞凋亡,进而起到抑制细胞凋亡、促进细胞存活的作用。PKB 还磷酸化蛋白酶 caspase-9 和 Foxo 蛋白,从而抑制它们引起的细胞凋亡。另外,活化的 PKB 还磷酸化 MDM2, p-MDM2 转入细胞核中,与 p53 接触并抑制其活性和促进其降解,从而起到抑制细胞凋亡的作用。Higa 等^[18]发现,用 0.5~1.0 mM 软脂酸培养 24h,胰岛 INS-1 细胞数量减少。而 PKB 的抑制剂抵消了高剂量软脂酸诱导的细胞死亡。

2.9 G 蛋白偶联受体 (GPR40) GPR40 是脂肪酸的特异性受体,这个受体能识别 C_{12-16} 饱和脂肪酸和 C_{18-20} 不饱和脂肪。脂肪酸能活化 GPR40,激活胰岛 β 细胞内信号转导途径,调节胰岛素分泌,促进胰岛 β 细胞过度增殖,引起胰岛 β 细胞功能缺陷,凋亡增加^[19]。而 Zhang 等^[20]利用 RNA 干扰

技术研究则显示,软脂酸引起的胰岛细胞凋亡可能不是由 GPR40 介导的,而油酸保护了软脂酸诱导的 β 细胞凋亡这一作用至少部分是由 GPR40 介导的。

综上所述,高浓度游离脂肪酸通过多种作用途径导致胰岛 β 细胞凋亡,是 2 型糖尿病发生发展的重要原因。对高脂状态下胰岛 β 细胞凋亡的深入研究,必将为今后 2 型糖尿病的预防及临床治疗研究提供重要的帮助。

参考文献

- Li HL, Yu YR, Yu HL, et al. Relationship between peripheral insulin resistance and beta - cell function in obese subjects [J]. Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban, 2005,36(3):378 - 381.
- Eitel K, Staiger H, Rieger J, et al. Protein kinase C delta activation and translocation to the nucleus are required for fatty acid - induced apoptosis of insulin - secreting cells [J]. Diabetes, 2003,52(4):991 - 997.
- Girard J. Contribution of free fatty acids to impairment of insulin secretion and action. mechanism of beta - cell lipotoxicity [J]. Med Sci (Paris), 2005,21:19 - 25.
- Karaskov E, Scott C, Zhang L, et al. Chronic palmitate but not oleate exposure induces endoplasmic reticulum stress, which may contribute to INS - 1 pancreatic beta - cell apoptosis[J]. Endocrinology, 2006,147(7):3398 - 3407.
- Lai E, Bikopoulos G, Wheeler MB, et al. Differential activation of ER stress and apoptosis in response to chronically elevated free fatty acids in pancreatic beta - cells[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2008,294(3):540 - 550.
- Martinez SC, Tanabe K, Cras - Méneur C, et al. Inhibition of Foxo1 protects pancreatic islet beta - cells against fatty acid and endoplasmic reticulum stress - induced apoptosis[J]. Diabetes, 2008,57(4):846 - 859.
- FarissMW, Chan CB, Patel M, et al. Role of mitochondria in toxic oxidative stress [J]. Mol Interv, 2005,5(2):94 - 111.
- Ye CL, Jin YL, Ye KH, et al. Effects of EGb 761 on the cell apoptosis induced by H_2O_2 in RIN - m beta cells[J]. Zhong Yao Cai, 2007,30(4):424 - 428.
- Ozcan U, Cao Q, Yilmaz E, et al. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes [J]. Science, 2004,306(5695):457 - 461.
- Nakatani Y, Kaneto H, Kawamori D, et al. Involvement of endoplasmic reticulum stress in insulin resistance and diabetes [J]. J Biol Chem, 2005,280(1):847 - 851.
- Wang H, Kouri G, Wollheim CB. ER stress and SREBP - 1 activation are implicated in beta - cell glucolipotoxicity [J]. J Cell Sci, 2005,118(Pt17):3905 - 3915.
- Santangelo C, Matarrese P, Masella R, et al. Hepatocyte growth factor protects rat RINm5F cell line against free fatty acid - induced apoptosis by counteracting oxidative stress [J]. J Mol Endocrinol, 2007,38(1-2):147 - 158.
- Maedler K, Oberholzer J, Bucher P, et al. Monounsaturated fatty acids prevent the deleterious effects of palmitate and high glucose on human pancreatic beta - cell turnover and function [J]. Diabetes, 2003,52(3):726 - 733.
- Hirota N, Otabe S, Nakayama H, et al. Sequential activation of caspases and synergistic beta - cell cytotoxicity by palmitate and anti - Fas antibodies [J]. Life Sci, 2006,79(13):1312 - 1316.
- Jhala US, Canettieri G, Sreteron RA, et al. cAMP promotes pancreatic beta - cell survival via CREB - mediated induction of IRS - 2 [J]. Genes Dev, 2003,17(13):1575 - 1580.
- Lingohr MK, Dickson LM, Wrede CE, et al. Decreasing IRS - 2 expression in pancreatic beta - cells (INS - 1) promotes apoptosis, which can be compensated for by introduction of IRS - 4 expression [J]. Mol Cell Endocrinol, 2003,209(1-2):17 - 31.
- Prasad KM, Thimmalapura PR, Woode EA, et al. Evidence that increased 12 - lipoxygenase expression impairs pancreatic beta cell function and viability [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003,308(3):427 - 432.
- Higa M, Shimabukuro M, Shimajiri Y, et al. Protein kinase B/Akt signalling is required for palmitate - induced beta - cell lipotoxicity [J]. Diabetes Obes Metab, 2006,8(2):228 - 233.
- Brown AJ, Jupe S, Briscoe CP. A family of fatty acid binding receptors [J]. DNA Cell Biol, 2005,24(1):54 - 61.
- Zhang Y, Xu M, Zhang S, et al. The role of G protein - coupled receptor 40 in lipapoptosis in mouse beta - cell line NIT - 1 [J]. J Mol Endocrinol, 2007,38(6):651 - 661.

[收稿日期 2009 - 03 - 25][本文编辑 韦挥德 黄晓红]

欢迎订阅

欢迎投稿

欢迎刊登广告

本刊地址:广西南宁市桃源路6号,邮编:530021,电话:(0771)2186013

E - mail:zglcxyxzz@163.com

《中国临床新医学》杂志编辑部