

脂毒性与胰岛  $\beta$  细胞凋亡研究进展张奕<sup>1</sup>, 柳林<sup>1</sup>, 郭建利<sup>2</sup> 综述, 刘长山<sup>1</sup> 审校

[摘要]  $\beta$  细胞的功能障碍和凋亡是 2 型糖尿病发生的重要因素。2 型糖尿病糖代谢紊乱与脂代谢紊乱并存, 脂代谢紊乱促进  $\beta$  细胞凋亡在糖尿病发生中的作用日益引起关注。本文作者综述了脂毒性对胰岛  $\beta$  细胞的损伤, 在游离脂肪酸作用下诱导凋亡的因素及其可能的机制。

[关键词] 2 型糖尿病; 脂代谢紊乱; 细胞凋亡;  $\beta$  细胞

**Advances in Lipotoxicity and Pancreatic  $\beta$  Cells Apoptosis (review)** ZHANG Yi, LIU Lin, GUO Jian-li, et al. The Department of Endocrinology, Weifang People's Hospital Affiliated to Weifang Medical College, Weifang 261041, Shandong, China

**Abstract:** Both dysfunction of pancreatic  $\beta$  cells and  $\beta$  cells apoptosis were important factors contributing to type 2 diabetes. Abnormal glucose and lipid metabolism all existed in type 2 diabetes. With the study further progressing, more and more attention were paid to pancreatic  $\beta$  cells apoptosis accelerated by abnormal lipid metabolism. The literature about  $\beta$  cells injury by lipotoxicity, apoptosis induced factors accompanied by free fatty acids, and relevant mechanism was reviewed in this article.

**Key words:** type 2 diabetes; abnormal lipid metabolism; apoptosis;  $\beta$  cell

[中图分类号] R335.6 [文献标识码] A [文章编号] 1006-9771(2006)08-0704-02

[本文著录格式] 张奕, 柳林, 郭建利, 等. 脂毒性与胰岛  $\beta$  细胞凋亡研究进展[J]. 中国康复理论与实践, 2006, 12(8): 704-705.

2 型糖尿病的发生是胰岛素抵抗和胰岛  $\beta$  细胞功能缺陷共同作用的结果。近年来, 脂毒性在 2 型糖尿病发生发展过程中的作用日益引起人们的重视。2 型糖尿病患者糖代谢紊乱与脂代谢紊乱并存, 脂代谢紊乱贯穿于 2 型糖尿病发生发展的始末。流行病学研究表明, 2 型糖尿病患者约 80%~90% 属于肥胖或超重<sup>[1]</sup>; 肥胖者脂肪组织分解产生的游离脂肪酸(free fatty acids, FFA) 显著增加, 参与胰岛素抵抗的发生; 同时, 大量 FFA 损害胰岛  $\beta$  细胞功能, 加速和促进  $\beta$  细胞凋亡<sup>[2]</sup>。因此, FFA 通过诱导  $\beta$  细胞凋亡影响  $\beta$  细胞的结构与功能, 进而促进 2 型糖尿病的发生与发展。

#### 1 糖尿病脂代谢紊乱对 $\beta$ 细胞的毒性作用

**1.1 脂毒性对  $\beta$  细胞的损伤** 近年来, 脂代谢紊乱促进  $\beta$  细胞凋亡在糖尿病发生中的作用日益受到关注。脂代谢紊乱导致血中 FFA 水平升高, 超过脂肪组织的储存能力和各组织对 FFA 的氧化能力, 使更多的 FFA 以甘油三酯的形式在非脂肪组织中过度沉积, 造成对组织的损伤称为脂毒性, 主要表现为脂肪分解增加, 血中增加的 FFA 在胰岛、肝脏和肌肉细胞等非脂肪组织内再脂化为甘油三酯并沉积, 使这些细胞的脂质含量增加。FFA 是脂质的主要运载体和机体供能的主要物质。生理情况下, FFA 具有刺激胰岛素分泌的作用, 特别是在空腹状态下, FFA 水平对于保证一定量的胰岛素分泌具有重要作用。空腹血浆 FFA 水平降低可影响葡萄糖对胰岛素分泌的刺激作用, 但 FFA 水平升高也会使胰岛素分泌失常。急性的 FFA 水平升高可以引起胰岛素的过度分泌, 但长期的高 FFA 水平将导致胰岛  $\beta$  细胞的分泌功能障碍与细胞凋亡增加<sup>[3]</sup>。Grill 等曾用 FFA 孵育胰岛细胞使基础胰岛素分泌增加, 但导致葡萄糖刺激胰岛素分泌的作用受到影响, 可能是由于  $\beta$  细胞凋亡增加和数量减少, 以及前胰岛素原 mRNA 半衰期缩短, 最终导致胰岛素合成减少。

**1.2 高糖与高脂对  $\beta$  细胞毒性的协同作用** 动物实验显示, 葡萄糖在细胞内的代谢产物可抑制 FFA 的  $\beta$  氧化。将大鼠  $\beta$  细胞在无糖条件下培养 1 h, 细胞内脂质含量明显下降; 在培养液中加入 5.6 mmol/L 葡萄糖时, 脂质含量可保持不变, 继续增加

葡萄糖浓度至 8.3 mmol/L 及 16.7 mmol/L 时, 细胞内脂质随着葡萄糖浓度的增加而增加<sup>[4]</sup>。Haber 等发现,  $\beta$  细胞也具有将葡萄糖转化为脂肪酸的能力。将胰岛在含有葡萄糖的液体中培养一定时间后, 可在培养液中检测到脂肪酸, 增加葡萄糖的浓度, 培养液中脂肪酸含量随之增加<sup>[5]</sup>。另有研究显示, 高血糖可增加  $\beta$  细胞对 FFA 所诱导的凋亡的敏感性<sup>[6]</sup>。至于高糖与高脂毒性的作用, 研究表明高血糖起关键与始发作用, 高脂对  $\beta$  细胞的毒性作用依赖于高糖的存在, 而高糖对  $\beta$  细胞的毒性作用并不依赖于高脂的存在<sup>[7]</sup>。

#### 2 $\beta$ 细胞生长与凋亡的调节

虽然高脂对  $\beta$  细胞具有毒性作用, 但只有 25%~30% 的肥胖者发展成糖尿病<sup>[1]</sup>, 因为胰岛  $\beta$  细胞具有适应营养状态而进行自身调节的能力, 以保持体内血糖水平的稳定。 $\beta$  细胞的这种调节作用主要是通过细胞数量的变化, 包括  $\beta$  细胞复制、新  $\beta$  细胞生成、 $\beta$  细胞体积增大、 $\beta$  细胞凋亡等。研究显示, 肥胖者  $\beta$  细胞的数量较非肥胖者增加约 50%; 糖耐量受损(impaired glucose tolerance, IGT) 者与 2 型糖尿病患者的  $\beta$  细胞数量显著减少, 分别是正常个体的 40% 与 63%<sup>[8]</sup>。正常情况下(如成年人),  $\beta$  细胞的数量维持相对稳定的状态, 即每天约有 0.5% 的  $\beta$  细胞凋亡, 随即有相当数量的细胞再生补充。当  $\beta$  细胞的凋亡明显增加超过细胞再生时,  $\beta$  细胞的数量减少, 整体功能随之下降, 分泌的胰岛素不能满足机体需要而发生糖尿病。老年人  $\beta$  细胞的凋亡明显大于再生, 因此, 老年人患 IGT 与糖尿病的几率增加<sup>[9]</sup>。

#### 3 脂毒性对 $\beta$ 细胞损伤的机制

研究表明, FFA 介导的脂毒性引起的  $\beta$  细胞凋亡可能与以下因素有关。

**3.1 神经酰胺** 神经酰胺是引起细胞凋亡的信号传导通路中的关键组成部分。研究显示, 在 FFA 作用下, 神经酰胺合成增加。对 Zucker 糖尿病肥胖鼠的研究显示,  $\beta$  细胞内 FFA 增加, 致使非氧化代谢途径增强, 丝氨酸-软脂酰转移酶活性及神经酰胺合成增加, 进而使诱导型一氧化氮合酶(induced nitric oxide synthase enzyme, iNOS) 表达增加, NO 生成增加, 加速细胞凋亡<sup>[3]</sup>。用 iNOS 抑制剂如烟酰胺及氨基胍等可显著抑制 FFA 诱导的 NO 水平升高, 减少细胞凋亡。Shimabukuro 等发现, 在培养的正常大鼠胰岛中加入神经酰胺可引起 DNA 断裂<sup>[10]</sup>。Maedler 报道, 培养的正常大鼠胰岛中饱和脂肪酸水平升高增加  $\beta$  细胞凋亡, 用神经酰胺模拟物也会引起同样效果, 而应用神

作者单位: 1. 潍坊医学院附属潍坊市人民医院内分泌科, 山东潍坊市 261041; 2. 安丘市人民医院骨外科, 山东安丘市 262100。作者简介: 张奕(1961-), 女, 山东安丘市人, 副主任医师, 主要研究方向: 糖尿病及其慢性并发症。

经酰胺合成酶抑制剂则能阻止这种效应<sup>[11]</sup>。

**3.2 蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)** 近年来的研究显示,大量 FFA 在  $\beta$  细胞内堆积可激活 nPKC (new class of PKC),后者可通过增强 IRS-2 丝氨酸/苏氨酸磷酸化而诱导细胞凋亡<sup>[12]</sup>,提示 PKC 途径参与 FFA 诱导的  $\beta$  细胞凋亡过程。体外研究显示,FFA 诱导的  $\beta$  细胞凋亡中存在 PKC- $\delta$  向核内移位,而 PKC- $\delta$  变异的  $\beta$  细胞可以抵抗 FFA 诱导的凋亡<sup>[13]</sup>。

**3.3 胰岛素受体底物 2 (insulin receptor substrate-2, IRS-2) 信号通路异常** 研究显示,IRS-2 具有控制细胞增殖、分化和凋亡的作用,FFA 可造成 IRS-2 信号通路异常。动物实验显示,将分离的大鼠胰岛在浓度为 2 mmol/L 的 FFA 中培养 48 h 后,经免疫沉淀反应和 Western Blot 检测发现,IRS-2 蛋白水平下降 65%, $\beta$  细胞数量减少,胰岛素分泌显著下降<sup>[14]</sup>。IRS-2 高表达可使细胞增殖增加,存活期延长;IRS-2 丝氨酸/苏氨酸磷酸化是导致细胞凋亡的重要环节,可引起 IRS-2 泛素化,从而引发蛋白小体降解,使 IRS-2 水平下降<sup>[9]</sup>。

**3.4 caspase** caspase 即天门冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白水解酶超家族,是细胞凋亡的关键执行者。caspase 分为 3 个亚类:白细胞介素-1 $\beta$  转换酶亚类、凋亡起始亚类和凋亡效应亚类。caspase-3 属于与细胞凋亡关系密切的凋亡效应亚类。Lupi 等研究发现,FFA 引起的人胰岛  $\beta$  细胞凋亡可通过应用上游 caspase 抑制剂而被阻止<sup>[15]</sup>。长期高水平 FFA 作用下,人胰岛  $\beta$  细胞出现增殖抑制和促进凋亡的效应,其增殖抑制可能是通过 FFA 介导的胰岛内葡萄糖代谢降低,促进凋亡的效应主要由 caspase 介导。Piro 等发现,正常大鼠的胰岛在高水平 FFA 中培养 7 d 后,caspase 活性明显增加,caspase-3 表达升高<sup>[16]</sup>。而 caspase-3 的激活是在凋亡级联反应中的一个远端效应,其活化后再激活其他 caspase 和许多相关的细胞蛋白,包括 caspase 依赖的核酸内切酶等,加速细胞凋亡过程。

**3.5 胰腺十二指肠同源异型盒-1 (pancreatic duodenal homeobox-1, PDX1)** PDX1 是胰岛细胞中特异表达的转录因子,是胰岛素基因最重要的转录调控因子。Johnson 发现,在基础葡萄糖浓度下,PDX1 + / - 小鼠 (PDX1 表达比正常减少 50%) 胰岛  $\beta$  细胞比 PDX1 + / + 小鼠明显地容易发生凋亡<sup>[17]</sup>。由 PDX1 缺陷引起的胰岛  $\beta$  细胞凋亡增加和胰岛  $\beta$  细胞调控异常造成器官水平的胰岛素分泌缺陷和糖尿病。新近的研究显示,FFA 可降低 PDX1 基因的表达<sup>[18]</sup>。Kushner 等报道,转基因 PDX1 表达在 IRS-2 基因敲除小鼠 (IRS-2 - / - , 表现  $\beta$  细胞凋亡增加) 中能够恢复  $\beta$  细胞质量,延迟  $\beta$  细胞衰竭,并阻止向糖尿病发展的进程。

**3.6 Bcl-2 基因** Bcl-2 基因为 B 淋巴细胞淋巴瘤白血病抗凋亡基因,与之同源的 Bax 基因具有促凋亡作用。Piro 等在 FFA 孵育 7 d 的正常大鼠胰岛中用逆转录多聚酶链反应 (RT-PCR) 检测发现 Bax $\alpha$  基因表达增加,Bcl-2 基因表达降低,Bcl-2/Bax $\alpha$  比值下降,该比值决定细胞对引起凋亡的刺激的反应<sup>[16]</sup>。在该实验中,Bcl-2/Bax $\alpha$  比值下降,使凋亡的细胞数目增多。而 Lupi 等却发现,长期暴露于高水平 FFA 下的胰岛中 Bax mRNA 无明显变化,Bcl-2 mRNA 显著降低,因此认为在引起胰岛  $\beta$  细胞凋亡的过程中,Bcl-2 的作用可能较 Bax $\alpha$  更为重要<sup>[15]</sup>。

**3.7 过氧化物酶体增殖子激活受体 (peroxisome proliferator activator receptors, PPARs) 途径** PPARs 是一类由配体激活的核转录因子,FFA 是其配体之一。当 FFA 与 PPARs 结合后被激活,可干扰核因子  $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 的抗凋亡作用,并使多种 caspase 相关蛋白表达增高引起细胞凋亡。而 glitazones 类药物可与 FFA 竞争性结合 PPARs,减弱 FFA 诱导的  $\beta$  细胞凋亡,具有保护  $\beta$  细胞的作用<sup>[15]</sup>。

**3.8 内质网应激** 作为一种重要的细胞器,内质网功能的正常发挥对细胞的存活非常重要。新近的研究显示,FFA 诱导的细胞凋亡与启动内质网应激有关<sup>[19]</sup>。内质网中含有促进凋亡的因子如增强子结合蛋白同源蛋白,诱导生长抑制和 DNA 损害

的基因 153、caspase,也含有抑制凋亡的因子如 ORP150、GRP78 等。当内质网应激过强时,内质网功能受损,促进凋亡的机制占主导地位,能独立地诱导细胞凋亡<sup>[20]</sup>。

综上所述,2 型糖尿病  $\beta$  细胞的凋亡是脂毒性和糖毒性两者共同作用的结果;在诱导凋亡的众多因素中,脂代谢紊乱处于突出的地位,针对其进行有效的干预可能遏制或延缓  $\beta$  细胞的凋亡,从而有助于延缓 2 型糖尿病的发生与发展。

#### [参考文献]

- [1] Lingohr MK, Buettner R, Rhodes CJ. Pancreatic  $\beta$  cell growth and survival—a role in obesity-linked type 2 diabetes? [J]. Trends Mol Med, 2002, 8: 375—384.
- [2] Lipi R, Dotta F, Marsell L, et al. Prolonged exposure to free fatty acid has cytostatic and proapoptotic effects on human pancreatic islets [J]. Diabetes, 2002, 51: 1437—1443.
- [3] Unger RH, Zhou YT. Lipotoxicity of beta cells in obesity and other causes of fatty acid spillover [J]. Diabetes, 2001, 50 (suppl 1): s118—s121.
- [4] EF Assaad W, Buteau J, Peyot M, et al. Saturated fatty acids synergize with elevated glucose to cause pancreatic  $\beta$  cell death [J]. Endocrinology, 2003, 144: 4154—4163.
- [5] Haber EP, Ximenes HM, Procopio J, et al. Pleiotropic effects of fatty acids on pancreatic  $\beta$  cells [J]. J Cell Physiol, 2002, 194: 1—12.
- [6] Okuyama R, Fujiwara T, Ohsumi J. High glucose potentiates palmitate induced NO-mediated cytotoxicity through generation of superoxide in clonal  $\beta$  cell HIT-T15 [J]. FEBS Lett, 2003, 545: 219—223.
- [7] Jacqueminet S, Briaud I, Rouault G, et al. Inhibition of insulin gene expression by long-term exposure of pancreatic  $\beta$  cells to palmitate is dependent upon the presence of a stimulatory glucose concentration [J]. Metabolism, 2000, 49: 532—536.
- [8] Bonner Weir S. Life and death of the pancreatic  $\beta$  cells [J]. Trends Endocrinol Metab, 2000, 11: 375—378.
- [9] Rhodes CJ. Type 2 diabetes—a matter of  $\beta$  cell life and death? [J]. Science, 2005, 307: 380—384.
- [10] Shimabukuro M, Zhou YT, Lee Y, et al. Insulin secretion, DNA damage, and apoptosis in human and rat islets of Langerhans following exposure to nitric oxide, peroxynitrite, and cytokines [J]. Nitric Oxide, 1998, 2(6): 429—441.
- [11] Maedler K, Spinas GA, Dytar D, et al. Distinct effects of saturated and monounsaturated fatty acids on  $\beta$  cells turnover and function [J]. Diabetes, 2001, 50(1): 69—76.
- [12] Wrede CE, Dickson LM, Lingohr MK, et al. Fatty acid and phorbol ester mediated interference of mitogenic signaling via novel protein kinase C isoforms in pancreatic beta-cells (INS-1) [J]. J Mol Endocrinol, 2003, 30: 271—286.
- [13] 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: 991—997.
- [14] Burks DJ, White MF. IRS proteins and beta cell function [J]. Diabetes, 2001, 50 (suppl 1): s140—s145.
- [15] Lupi R, Dotta F, Marselli L, et al. Prolonged exposure to free fatty acids has cytostatic and proapoptotic effects on human pancreatic islets: evidence that beta cell death is caspase mediated partially dependent on ceramide pathway, and Bcl-2 regulated [J]. Diabetes, 2002, 51(5): 1437—1452.
- [16] Piro S, Anello M, Dipietro C, 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(10): 1340—1347.
- [17] Johnson JD, Ahmed NT, Luciani DS, et al. Increased islet apoptosis in Pdx1<sup>+/-</sup> mice [J]. Clin Invest, 2003, 111(2): 1147—1160.
- [18] Yoshikawa H, Tajiri Y, Sako Y, et al. Effects of free fatty acids on beta cell functions: a possible involvement of peroxisome proliferator-activated receptors alpha or pancreatic/duodenal homeobox [J]. Metabolism, 2001, 50(5): 613—618.
- [19] Kharroubi I, Ladrerie L, Cardozo AK, et al. Free fatty acids and cytokines induce pancreatic beta cell apoptosis by different mechanisms: role of nuclear factor-kappa B and endoplasmic reticulum stress [J]. Endocrinology, 2004, 145: 5087—5096.
- [20] Nozaki K, Kubota H, Yoshida M, et al. The endoplasmic reticulum stress response is stimulated through the continuous activation of transcription factors ATF6 and XBP1 in Ins2<sup>+/+</sup> Akita pancreatic beta cells [J]. Genes Cells, 2004, 9: 261—270.

(收稿日期: 2005-10-08)