

• 综 述 •

内质网应激介导的细胞凋亡对 2 型糖尿病的影响^{*}关晓文¹ 综述, 梁永林^{1,2△}, 朱向东³, 苏 菲¹, 张媛媛¹, 崔泽方¹ 审校

(1. 甘肃中医药大学基础医学院, 甘肃 兰州 730000; 2. 敦煌医学与转化教育部重点实验室, 甘肃 兰州 730000; 3. 宁夏医科大学中医学院, 宁夏 银川 750004)

[摘 要] 胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞功能障碍被认为是 2 型糖尿病(T2DM)发病的 2 个重要因素。近年来的研究表明, T2DM 的发病机制与内质网应激(ERS)介导的细胞凋亡有关。胰岛 β 细胞内有高度发达的内质网, 是对 ERS 最敏感的细胞之一。在 ERS 状态下, 内质网会通过未折叠蛋白反应(UPR)来调节应激, 但强烈刺激的应激使 UPR 反应失调, 诱导胰岛 β 细胞凋亡, 进而参与糖尿病的发生、发展。该文就 ERS 相关信号通路在 T2DM 发病机制中的作用进行了综述, 以期为 T2DM 的中医治疗提供一定的科学依据。

[关键词] 内质网; 细胞凋亡; 2 型糖尿病; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1009-5519. 2023. 13. 020 **中图法分类号:** R259

文章编号: 1009-5519(2023)13-2263-04 **文献标识码:** A

Effect of endoplasmic reticulum stress—mediated apoptosis on type 2 diabetes^{*}GUAN Xiaowen¹, LIANG Yonglin^{1,2△}, ZHU Xiangdong³, SU Fei¹, ZHANG Yuanyuan¹, CUI Zefang¹

(1. School of Basic Medicine, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou, Gansu 730000, China; 2. Key Laboratory of Dunhuang Medicine and Transformation of Education Ministry, Lanzhou, Gansu 730000, China; 3. College of Traditional Chinese Medicine, Ningxia Medical University Yinchuan, Ningxia 750004, China)

[Abstract] Insulin resistance and pancreatic islet β -cell dysfunction are considered to be two important factors in the pathogenesis of type 2 diabetes(T2DM). Recent studies have shown that the pathogenesis of T2DM is related to endoplasmic reticulum stress(ERS)—mediated apoptosis. Pancreatic islet β -cell has a highly developed endoplasmic reticulum, which is one of the most sensitive cells to ERS. In ERS state, endoplasmic reticulum will regulate stress through unfolded protein response(UPR), but strong stimulation stress will cause UPR reaction disorder and induce pancreatic islet β -cell apoptosis, and then participate in the occurrence and development of diabetes. The article reviews the role of ERS related signaling pathways in the pathogenesis of T2DM, in order to provide a certain scientific basis for the traditional Chinese medicine treatment of T2DM.

[Key words] Endoplasmic reticulum; Apoptosis; Type 2 diabetes; Review

糖尿病现已成为世界上继肿瘤、心脑血管疾病之后第三大严重危害人类健康的常见慢性病。随着糖尿病发病率的不断增高及对其病理生理的进一步研究, 学者认为胰岛素抵抗(IR)和胰岛 β 细胞功能障碍是 2 型糖尿病(T2DM)的主要发病机制。因此, 预防和治疗 T2DM 可通过调节机体 IR、增加胰岛素敏感性及保护胰岛 β 细胞功能等方式。目前, 国内外研究者们也在不断探索治疗 T2DM 的新靶点及高效低毒

的药物。

2004 年, MUOIO 等^[1] 和 OZCAN 等^[2] 首次提出糖尿病、IR 和肥胖发生的主要途径是内质网应激(ERS), 而且糖尿病、IR 和肥胖的发生机制与 IR 和胰岛 β 细胞功能受损有着密切关系。胰岛 β 细胞胰岛素分泌缺陷^[3] 和 IR 的关键性枢纽是 ERS。

1 ERS 与未折叠蛋白反应(UPR)

内质网是存在于真核细胞中的一种膜性细胞器,

^{*} 基金项目: 甘肃省教育厅产业支撑计划项目(2021CYZC-03); 宁夏回族自治区重点研发计划项目(2022CMG02034)。

[△] 通信作者, E-mail: 875532437@qq.com。

主要负责蛋白质合成、折叠、修饰、分泌与转运,也是储存并调节 Ca^{2+} 的主要场所^[4]。研究发现,血脂水平升高、氧含量低、化学毒物和病毒感染等因素可破坏内质网的稳态,若稳态被改变后,蛋白质就会发生折叠障碍或错误折叠,最终引起 ERS。在正常生理情况下,免疫球蛋白结合蛋白 Bip 与双链 RNA 依赖的蛋白激酶样内质网激酶(PERK)、需肌醇酶 1(IRE1)和活化转录因子 6(ATF6)^[5]等跨膜蛋白结合,形成复合体,处于非应激状态^[6]。当内质网腔内未折叠或错误折叠蛋白发生堆积或 Ca^{2+} 稳态失衡时,Bip 就会与上述跨膜蛋白解离,从而引起 ERS^[7]。细胞为了缓解 ERS,在 3 种内质网跨膜应激传感器的协同作用下激活一系列后续反应的过程称为 UPR^[8]。UPR 作为 ERS 早期启动的一种保护机制,能使内质网体积扩张,提高蛋白质折叠能力,调节蛋白质转录和翻译^[9],抑制蛋白质合成,消除错误折叠或未折叠蛋白质,提高内质网生物合成能力,使内质网的动态平衡重新建立。这样就可以保护细胞、减轻 ERS 程度^[10]。

2 ERS 介导的细胞凋亡与 T2DM

当内质网发生长期而剧烈的应激时,内质网内会因为堆积过多的未折叠或错误折叠蛋白而打破动态平衡,从而使 UPR 诱导了大量错误折叠蛋白的细胞程序性死亡,即细胞凋亡^[9]。T2DM 的发生与细胞凋亡有着密切关系,IR 和胰岛 β 细胞功能受损虽然是其主要特征,但在正常人群中也有着程度不同的 IR。因此,T2DM 的发生不仅仅是由于 IR 不足造成的,与胰岛 β 细胞功能受损也有重要关系,二者伴随着糖尿病的发生、发展。不断有研究证实 ERS 介导的胰岛 β 细胞凋亡被认为是糖尿病发病的重要机制^[11]。越来越多的研究表明,导致胰岛 β 细胞发生 ERS 的原因是体内存在的大量游离脂肪酸受到了持续刺激,应激之后凋亡因子被 UPR 激活,最终胰岛 β 细胞凋亡,引起 T2DM^[12]。BUTLER 等^[13]通过对人胰岛淀粉样多肽转基因鼠及 ZUCKER 糖尿病肥胖鼠实验分析时发现,T2DM 发病的主要机制与胰岛 β 细胞凋亡增加有关。因此,后期寻找治疗 T2DM 的作用机制及作用靶点可通过研究胰岛 β 细胞凋亡相关的途径来实现。

3 ERS 信号通路在 T2DM 中介导的细胞凋亡及中医研究

3.1 PERK-真核细胞翻译起始因子 2 α (eIF2 α)-ATF4 信号通路

3.1.1 PERK 信号通路的调控 ERS 产生时^[14],为了减轻内质网上的蛋白质折叠负荷,PERK 解除与葡

萄糖调节蛋白 78(GRP78)的结合状态,通过自身磷酸化激活,进而磷酸化 eIF2 α ,随后 mRNA 的翻译停止^[15]。在蛋白质翻译减少的同时,ATF4 mRNA 的表达会被磷酸化的 eIF2 α 上调^[15],随后 ATF4 蛋白进入细胞核。另外,持续应激状态下,ATF4 会激活 C/EBP 同源蛋白(CHOP)的转录,既而上调 UPR 相关基因的表达^[16]。CHOP 是 ERS 诱导细胞凋亡的特异性转录因子。在发生 ERS 时,PERK 表达被激活,诱导 CHOP 转录,即通过调控 PERK-eIF2 α -ATF4 信号通路并促进细胞凋亡^[17]。

3.1.2 PERK 信号通路与 T2DM 研究发现,持续刺激的 ERS 会诱导 T2DM 小鼠肠上皮细胞凋亡和肠道促炎反应,从而导致炎性肠病,使肠道屏障功能受损^[18]。经茯苓多糖(PCP)干预后,PERK、eIF2 α 、ATF4 蛋白水平明显下降,提示 PCP 可以通过调控 PERK 信号通路,下调 ERS 标志物水平,抑制 ERS,从而减轻 T2DM 小鼠肠黏膜损伤和炎症反应,改善肠道屏障功能。既往研究发现,抑制 ERS 的 PERK-CHOP 通路可改善 T2DM 和重症急性胰腺炎大鼠肠上皮细胞凋亡程度^[19]。有研究表明,在经高脂饮食联合低剂量链脲佐菌素诱导的 T2DM 大鼠胰腺组织中,GRP78、ATF4、CHOP 蛋白表达水平升高,且胰岛细胞凋亡数量显著升高;经加味半夏泻心汤干预后,GRP78、ATF4、CHOP 蛋白表达水平下降,胰岛细胞凋亡数量减少^[20]。提示加味半夏泻心汤通过抑制 PERK-ATF4-CHOP 信号通路,降低了相关蛋白的表达,减缓了胰岛细胞凋亡速度,保护了胰岛细胞功能,进而能维持血糖的稳定。

3.2 IRE1 信号通路

3.2.1 IRE1 信号通路的调控 ERS 能诱导 IRE1 寡聚和激酶结构域的自磷酸化^[14]。在哺乳动物细胞中,活化 IRE1 的 R Nase 结构域执行非常规剪接,并从 X 盒结合蛋白 1(XBP1)的 mRNA 中剪切 26 个内含子核苷酸,随后生成稳定、有活性的剪切型 XBP1^[21]。作为转录因子的剪切型 XBP1,为了维持稳态平衡,需要增强 ER 伴侣蛋白的表达,尤其是 GRP78 的表达^[22]。在持续高糖作用下,作为细胞感应机体营养变化的感应分子 IRE1 α 能激活 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)及半胱天冬氨酸蛋白 12 介导 ERS 诱导的凋亡^[23]。有研究表明,通过激活 IRE1 α 通路可调控胰岛 β 细胞增殖和凋亡相关因子表达,提示 IRE1 α 通路介导的胰岛 β 细胞凋亡在衰老方面起着重要的调控作用^[24]。

3.2.2 IRE1 信号通路与 T2DM “湿热困脾证”的

T2DM 患者在服用健脾消渴方后,可有效调节血糖、血脂,增加胰岛素敏感性,改善 IR。在此基础上的研究发现,利用衣霉素诱导 Min6 细胞产生 ERS 后,经健脾消渴方水溶液治疗,Min6 细胞存活率增加,细胞凋亡率减少,IRE1、JNK 蛋白水平表达下降^[25]。提示经健脾消渴方干预后,胰岛 β 细胞活力改善,胰岛 β 细胞凋亡速度减缓。因此,推测通过调节 ERS 相关凋亡通路可改善胰岛 β 细胞功能。

有研究表明,经解毒通络调肝方治疗的 T2DM 大鼠胰岛组织中 IRE1、磷酸化 IRE1、JNK、磷酸化 JNK 蛋白表达较治疗前明显减少,且 IRS-1、磷脂酰肌醇 3 激酶 mRNA 表达显著降低^[26]。该研究在动物实验的基础上体外培养 INS-1 细胞,结果显示,在解毒通路调肝方干预下,INS-1 细胞中 Bax mRNA 表达下降, Bcl-2 mRNA 表达增强,细胞存活率明显增加。提示解毒通络调肝方可降低胰岛组织相关蛋白表达,其通过调控 IRE1/JNK 信号通路,改善 ERS 程度,使抗凋亡蛋白和促凋亡蛋白处于平衡状态,从而改善胰岛细胞受损程度。

3.3 ATF6 信号通路

3.3.1 ATF6 信号通路的调控 ATF6 是含有 cAMP 反应原件结合蛋白的 II 型跨膜蛋白。当 ERS 持续激活时,ATF6 与 GRP78 分离并移位到高尔基体^[17],在蛋白酶 S1P 和 S2P 的作用下被切割成活性转录因子,产生 ATF6 的氨基末端结构域,随后移位至细胞核,上调编码内质网伴侣分子的靶基因^[22]。ERS 状态下,ATF6 也可激活 CHOP,引发细胞凋亡。

3.3.2 ATF6 信号通路对 T2DM 研究表明,在糖尿病发生、发展过程中,持续的 ERS 会使胰岛 β 细胞发生细胞凋亡,进而降低胰岛素摄糖及耗糖能力^[18]。金领微等^[27]研究发现,二甲双胍可提高糖尿病大鼠胰岛摄糖及耗糖能力,减轻大鼠肾缺血再灌注损伤,其主要作用机制是调控 ATF6,减轻大鼠 ERS 程度,提示 ATF6 信号通路对糖尿病发生、发展有重要影响。研究发现,T2DM 大鼠经葛根治疗后,IR 得到改善,内质网应激相关蛋白 GRP78、ATF6 表达减少^[28]。

4 小结与展望

糖尿病已然成为一个严重威胁健康的全球性公共卫生问题。研究发现,ERS 介导的胰岛 β 细胞凋亡和糖尿病的发生、发展息息相关。因此,探讨 ERS 的作用机制及其与疾病的关系可为防治糖尿病提供新的靶点。中医药治疗 T2DM 的过程涉及 ERS 状态下的 PERK-eIF2 α -ATF4、IRE1、ATF6 信号通路,且各

通路间有一定联系。按照中医药物药性及药理特点,将各中医药物组合成治疗 T2DM 的复方,通过调控相关信号通路可达到治疗效果,并可体现出多靶点、多环节、多方面综合平衡调节的特点^[29]。与西医药物相比,传统中医药物防治 T2DM 的疗效较明显,且复发率低、不良反应小。研究指出,西医治疗 T2DM 合并肥胖患者多采用药物和代谢性手术治疗,但是药物会引起肠胃道反应,部分患者不耐受,且代谢性手术治疗有一定风险性。中医通过整体审查,辨证论治,具有无创、不良反应少等特点。因此,通过研究信号通路、寻找关键作用靶点来研究中药治疗 T2DM 的作用机制,可为 T2DM 的预防治疗提供新思路。

参考文献

- [1] MUOIO D M, NEWGARD C B. Biomedicine. Insulin resistance takes a trip through the ER [J]. Science, 2004, 306(5695): 425-426.
- [2] 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.
- [3] TYRBERG B, LEVINE F. Current and future treatment strategies for Type 2 diabetes: The beta-cell as a therapeutic target [J]. Curr Opin Investig Drugs, 2001, 2(11): 1568-1574.
- [4] 赵千增, 赵振群, 刘万林. 激素性股骨头缺血坏死过程中内质网应激调控自噬与凋亡的作用 [J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(29): 4685-4690.
- [5] 王蕊, 孙大壮, 宋春青, 等. 内质网应激途径在百草枯诱导人肺 II 型上皮样细胞 A549 凋亡过程中作用 [J]. 解剖科学进展, 2017, 23(5): 451-455.
- [6] 余剑, 陈曦, 方洁, 等. 4-PBA 治疗单侧肾输尿管结扎小鼠肾脏纤维化的机制探讨 [J]. 皖南医学院学报, 2022, 41(2): 113-116.
- [7] 刘向荣, 朴春丽, 米佳, 等. 内质网应激在 2 型糖尿病发病机制中的研究进展 [J]. 中国实验诊断学, 2016, 20(7): 1193-1197.
- [8] ZHU Q. The ER stress-autophagy axis: Implications for cognitive dysfunction in diabetes mellitus [J]. Clin Sci (Lond), 2020, 134(11): 1255-1258.
- [9] 张锦航, 马丽霞, 吕欣. 内质网应激与胰岛 β 细胞凋亡的研究进展 [J]. 生命的化学, 2015, 35(4):

- 574-578.
- [10] 向志宇. 牛磺酸对内质网应激介导的胰岛 β 细胞凋亡的影响[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2016.
- [11] ARAKI E, OYADOMARI S, MORI M. Impact of endoplasmic reticulum stress pathway on pancreatic beta-cells and diabetes mellitus[J]. *Exp Biol Med*, 2003, 228(10): 1213-1217.
- [12] CUI W, MA J, WANG XQ, et al. Free fatty acid induces endoplasmic reticulum stress and apoptosis of beta-cells by Ca^{2+} /calpain-2 pathway[J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): 1-9.
- [13] BULTER A E, JANG J, GURLO T, et al. Diabetes due to a progressive defect in beta-cell mass in rats transgenic for human islet amyloid poly peptide(HIP Rat): A new model for type 2 diabetes[J]. *Diabetes*, 2004, 53(6): 1509-1516.
- [14] 周严燕, 吴斐华. 内质网应激与糖尿病及其血管并发症的研究进展[J]. *海峡药学*, 2022, 34(5): 1-5.
- [15] ROZPEDEKR W, PYTEL D, MUCHA B, et al. The role of the PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP signaling pathway in tumor progression during endoplasmic reticulum stress[J]. *Curr Mol Med*, 2016, 16(6): 533-544.
- [16] WANG M, KAUFMAN R J. Protein misfolding in the endoplasmic reticulum as a conduit to human disease[J]. *Nature*, 2016, 529(7586): 326-335.
- [17] 徐利娟, 马丽. 内质网应激介导的细胞凋亡在糖尿病周围神经病变中的机制研究进展[J]. *医学综述*, 2022, 28(6): 1193-1197.
- [18] 敖文, 徐在革, 白杨, 等. 基于内质网应激-自噬通路研究茯苓多糖对 2 型糖尿病小鼠肠道屏障功能损伤和炎症反应的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2022, 38(5): 829-838.
- [19] YOU Y D, DENG W H, GUO W Y, et al. 4-Phenylbutyric acid attenuates endoplasmic reticulum stress-mediated intestinal epithelial cell apoptosis in rats with severe acute pancreatitis[J]. *Dig Dis Sci*, 2019, 64(6): 1535-1547.
- [20] 周珊珊. 加味半夏泻心汤对 2 型糖尿病大鼠胰腺 PERK-CHOP 凋亡通路的影响[D]. 广州: 广州中医药大学, 2017.
- [21] 李林江, 万生芳, 李荣科, 等. 基于 ATF6/CHOP 通路的红芪多糖对糖尿病胃轻瘫大鼠胃窦组织平滑肌的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2022, 29(11): 67-72.
- [22] LI J, ZHAO Y, ZHOU N, et al. Dexmedetomidine attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury in diabetes mellitus by inhibiting endoplasmic reticulum stress[J]. *J Diabetes Res*, 2019, 2019: 7869318.
- [23] ABDULLAH A, RAVANAN P. The unknown face of IRE1 α -Beyond ER stress[J]. *Eur J Cell Biol*, 2018, 97(5): 359-68.
- [24] 张晓亮, 汪雷, 柏新乐. 肌醇依赖酶 1 α 调控下胰岛 β 细胞凋亡和衰老的关系[J]. *临床内科杂志*, 2021, 38(5): 343-346.
- [25] 吕平阳. 健脾消渴方治疗 T2DM 的临床观察及调节胰岛 β 细胞凋亡的实验研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2020.
- [26] 金美英. 基于 IRE1/JNK 通路探讨解毒通络调肝方对 2 型糖尿病大鼠改善 IR 及胰岛细胞凋亡的机制研究[D]. 长春: 长春中医药大学, 2019.
- [27] 金领微, 潘敏, 叶菡洋, 等. 二甲双胍通过调节氧化应激、内质网应激和自噬减轻大鼠肾缺血再灌注损伤的作用研究[J]. *医学研究杂志*, 2020, 49(1): 111-117.
- [28] 张路煜, 刘玉晖, 游宇, 等. 葛根对 2 型糖尿病大鼠胰腺内质网应激相关蛋白 GRP78, ATF6 表达的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(20): 82-87.
- [29] 唐苗, 卢倩, 刘衡, 等. 溃疡性结肠炎相关信号通路的研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2018, 34(12): 1642-1647.

(收稿日期: 2022-12-12 修回日期: 2023-04-05)