

葡萄糖转运子 4 转位信号转导通路的研究进展^{*}

李臣鸿¹ 邵义舜²

(1 华中科技大学生命科学与技术学院生物物理与生物化学所 湖北 武汉 430074 2 华中科技大学医院 湖北 武汉)

摘要:葡萄糖是大部分细胞主要能量来源,它进入细胞的过程在生命的维持中无疑成为一个重要的步骤。而葡萄糖进入细胞是依赖于这些细胞上的葡萄糖转运子和相应的对其进行调节的因子。葡萄糖转运子 4 (GLUT4) 在糖进入细胞维持血糖平衡中起了重要的作用。近年有关 GLUT4 的研究文献很多,但却总给人不系统的感觉。本文对 GLUT4 转位的胰岛素依赖和非胰岛素依赖的信号途径以及其远端过程及机制作一综述,同时分析了 GLUT4 转位的信号途径的研究中存在的问题和将来研究的方向。

关键词:葡萄糖转运子; 信号转导; 胰岛素; SNARE 蛋白

图书分类号: Q45 **文献标识码:** A

Progress in the signal transduction pathway of glucose transporter 4 translocation

LI Chen-hong, SHAO Yi-shun

(Institute of Biophysics and Biochemistry, College of Life Science,

Huazhong University of Science and Technology 430074, Wuhan, Hubei, China)

ABSTRACT: The entry of the glucose in the cells is a crucial step in life supporting processes. The passage of glucose into cells depends on glucose transporter proteins in the target tissues and the factor regulation of their function. In mammals, it is very important to maintain blood glucose homeostasis, and the glucose transporter 4 (GLUT4) plays a key role in facilitating glucose flux into tissue to provide maintenance of glucose homeostasis. In the past few years, the study about GLUT4 had made some progress, herein we reviewed the signal pathway of insulin dependent and independent in translocation of GLUT4 and the mechanism of terminal process of GLUT4 translocation. In addition, we also indicate the direction of study in future.

Key Words: GLUT; Signal transduction; Insulin; SNARE protein

GLUT4 广泛分布于胰岛素应答性组织如肌肉和脂肪组织中。已知在 GLUT4 基因敲除杂合子 GLUT4(+/-) 老鼠显示胰岛素的抵抗综合征的表现。而重新引入 GLUT4 可以恢复整体胰岛素的活性^[1]。可见 GLUT4 在胰岛素刺激的葡萄糖的摄取中起到了重要的作用。在静息时,由于 GLUT4 本身的结构特点^[2,3],导致 GLUT4 主要储藏在细胞内。当有刺激时, GLUT4 便从胞内转位到细胞膜上,发挥糖转运的作用。通过对 GLUT4 转运机制的研究,一方面可以为糖尿病的发病机制的揭示提供帮助,另一方面也可为细胞内囊泡的转运机制提供借鉴。

1 胰岛素诱导的 GLUT4 转位的信号途径

1.1 PI3K (phosphatidylinositol 3 kinase) 依赖性信号通路

PI3K (磷脂酰肌醇 3 激酶) 是一种可以将肌醇环上的第三位羟基磷酸化的激酶。它与胰岛素刺激的胰岛素受体酪氨酸激酶磷酸化的 IRS (Insulin receptor substrate) 结合并活化,从而将 PI(4)P 和 PI(4,5)P 第三位羟基磷酸化生成第二信使物质 PI(3,4)P 和 PI(3,4,5)P。第二信使物质一方面激活蛋白激酶 PDK (3' phosphoinositide-dependent kinase), 然后由 PDK 激活

PKB/Akt (serine/threonine kinase), 从而介导下游一些酶的活化如 PKC、GSK、CISK、S6K; 另一方面直接激活 PKB/Akt, 再介导下游分子的活化。此外第二信使物质还可以直接激活小 G 蛋白 Rac、非典型的 PKC ζ/λ 等。通过这些活化后再经过一系列未明的机制促进 GLUT4 转位上膜。在这个过程中 PI3K 的活化是 GLUT4 转位的一个关键的中心环节,故称其为 PI3K 依赖性的信号通路。PI3K 由两个亚单位组成,一个是起催化作用的 P110 亚单位,另一个是调节亚单位 P85, P85 的 SH2 结构域是酪氨酸磷酸化的结合位点^[4]。PI3K 活化的基本机制涉及 P85 的 SH2 结构域与酪氨酸磷酸化的受体或其它信号分子结合。现在的转基因动物模型实验表明 PI3K 信号过程最佳化依赖于 P85 和 P110 之间分子的平衡。在静息细胞中 P85 比之 P110 的量要多,而游离的 P85 则抑制通过 P85-P110 (PI3K) 二聚体的信号转导,因为 P85 竞争性地结合了磷酸化的受体和胰岛素受体底物^[5]。最能说明 P85 功能的实验就是敲除 P85 的小鼠对胰岛素敏感性增加,脂肪和肌细胞的糖转运增加,表现低血糖^[6]。在 PI3K 依赖的途径中还有两个起负调节作用的酶,5' - 磷酸酶 (SHIP2) 和 3' - 磷酸酶 (PTEN), 它们可以降解第二信使物质,从而抑制 GLUT4 的转位。已知将 SHIP2 敲除的小鼠表现对胰岛素敏感性增加和糖的耐受性,在培养的细胞

* 基金项目: 国家自然科学基金资助 (No: 30470646)

作者简介: 李臣鸿 (Li Chenhong) 男, 博士, 副教授, 硕士生导师。

E-mail: lichh@hust.edu.cn 或: lichhhust@yahoo.com Tel 86- 27- 62402578 Fax: 86- 27- 87792024

(收稿日期: 2006- 04- 26 接受日期: 2006- 05- 23)

中沉默 PTEN 表现出脂肪细胞对糖的摄取增加。

1.2 CAP/Cbl 信号通路

PI3K 途径是不是 GLUT4 转位的必要充分途径,还有许多疑问^[7,8]。首先能刺激 PI3K 活化的其它因子如血小板源性生长因子(PDGF), IL-4 并不引起 GLUT4 的转位。其次过表达 PI3K 虽然增加 GLUT4 转位和糖的摄取,但也只是胰岛素单独刺激效果的 50% - 100%。而胰岛素却可以在 P110(活化时,进一步增加糖的摄取。将 PI3K 途径中活化的中间产物用膜渗透技术引入细胞研究表明 PI3K 途径也并不能解释胰岛素刺激的 GLUT4 转位的全部作用。这表明有第二条途径被胰岛素活化。这条途径就是 CAP/Cbl 信号通路^[6,9]。CAP 是 Cbl (protooncogene)的相关蛋白,而 Cbl 以及后述的 APS 都是 IRS 家族蛋白。CAP 含有三个 SH3 结构域,能稳固的与 Cbl 的辅氨酸丰富区相互作用,形成 CAP/Cbl 异二聚体。形成的二聚体与 APS 作用再通过 CAP 的 SoHo (Sorbin homology) 结构域与小窝蛋白 Flotillin 作用募集到脂筏微区。在这个过程中,酪氨酸磷酸化的 APS 有利于 IR 磷酸化 Cbl^[10],一旦 Cbl 被磷酸化,二聚体 CAP/Cbl 就会从 IR 上解离下来,通过 CAP 与脂筏蛋白的作用而聚集到脂筏微区。此途径还涉及小 G 蛋白。磷酸化了的 Cbl 募集到脂筏微区后再与 SH2,SH3 调节蛋白 CskII 的 SH2 结合域结合,而 CskII 组成性的与 GTP- GDP 交换因子 C3G 在一起。于是 C3G 催化 Rho 家族的一种小 G 蛋白 TC10 活化,活化的 TC10 再与其下游的效应因子作用,这些效应子包括小 GTPase, Actin 聚合体以及 SNARE 复合物的调节蛋白,最后引起 GLUT4 转运。CAP 的突变防止 Cbl 在脂筏上的定位,阻断胰岛素刺激的 GLUT4 的转位和糖的摄取,而并不影响 PI3K 的信号途径。如果将 TC10 从脂筏区转到非脂筏区,那么胰岛素将最终无法活化 TC10,TC10 调节的胰岛素诱导的 GLUT4 转位的作用就消失了。如果用除去胆固醇的药物或者表达小窝蛋白的抑制性蛋白,那么胰岛素依赖的 TC10 的活化被阻断, GLUT4 的转位不能进行。这些都说明胰岛素诱导的 GLUT4 转位的 CAP/Cbl 信号通路中,TC10 可能是独立与 PI3K 途径之外的关键分子,而脂筏结构的完整也可能是必不可少的。当然 TC10 是如何与 GLUT4 的转位相关联的,还是不清。

1.3 磷脂酶 C 途径^[11]

胰岛素与胰岛素受体结合后即激活了其受体酪氨酸激酶,受体酪氨酸激酶除了激活多个 IRS 外,还激活磷脂酶 C γ (PLC γ)。PLC γ 亚型有许多种,其中含有与癌基因 src 产物高度同源的,分别称 SH2 和 SH3。SH2 结构决定了 PLC γ 成为酪氨酸蛋白激酶的靶物,也是它被激活的机制所在。SH3 则是与 PLC γ 与细胞骨架成分相互作用有关。PLC γ 活化后使 PIP2 脱离保护层,而被 PLC γ 水解产生双信使 DG 和 IP3。这两个信使通过 PKC 的活化及 PKC 下游的一系列未知的过程促进 GLUT4 的转位。通过体外基因突变的试验和体内阻止 PLC 降解的方法和抑制 PLC 活化的方法都较一致的证实了胰岛素诱导的 GLUT4 转位的磷脂酶 C 途径的成在。但有认为磷脂酶 C 活化是依赖于 PI3K,所以实际上 PLC 途径就是 PI3K 途径。

2 GLUT4 转位的非胰岛素信号途径

人们发现 II 型糖尿病患者经体育锻炼,能引起 GLUT4 转

位加快和细胞对葡萄糖的摄取增加。于是认为有 GLUT4 转位的非胰岛素信号途径。其最好的证据就是将胰岛素受体基因特异性失活的肌肉,其糖的利用并不受抑制。这就说明了有一个不依赖于胰岛素信号途径的 GLUT4 转位和糖的利用途径。现在研究已经显示激活 GLUT4 转位的非胰岛素信号至少包括:肌肉收缩,缺氧,NO 和其供体, α , β 肾上腺能激动剂,多种生长因子如 IGF, 佛波酯, G- 偶联的受体激动剂,高渗透压, GTPys 及内皮素-1。这些信号使用了不同于胰岛素使用的机制来促使 GLUT4 发生转位,但可能有些与胰岛素使用的信号途径又有重叠之处。这些刺激是通过何种信号途径使 GLUT4 发生转位的,我们知道的更少。总结现有的研究概括如下。①高渗和 GTPys 刺激 GLUT4 转位的机制都涉及钙敏感蛋白酪氨酸激酶(PYK2)。高渗活化 PYK2,再活化胞外信号调节激酶(ERK)通路,进而活化 PLD,产生磷酸(PA),PA 再激活 PKC,PKC 活化后再经过一系列未知的中间过程使 GLUT4 转位。在这个过程中,PKC 成了高渗和胰岛素激活的信号通路的共同通路,这较好的解释了二者的协同作用。②G 蛋白偶联的受体激动剂(GTPys, ET-1)通过 β -arrestin 募集 Src 家族激酶 Yes 到 G $_{q/11}$ 偶联的受体上,再通过某种机制使 PYK2 活化,而 Parvillin 和 ARF6 可能是它的下游底物。ARF6 促进 PIP2 的合成和 PLD 的活化,活化的 PLD,产生磷酸(PA),PA 再激活 PKC。合成的 PIP2 反过来调节多种涉及 actin 动力学的蛋白质。最终使 GLUT4 发生转位。③肌肉收缩诱导 GLUT4 转位可能受钙相关和肌肉代谢相关的机制的调节^[12]。在肌肉收缩过程中,钙水平的提升激活的信号途径可能包括 CaMKII (Ca²⁺ / calmodulin- dependent protein kinase II) 和 PKC。收缩时肌肉的能量代谢产生 AMP,可能激活 AMP 激活的蛋白激酶 K (AMPK)。这两种酶再通过未知的过程促进 GLUT4 转位。现在发现, p38 MAPK (p38 mitogen- activated protein kinase) 不仅参与了胰岛素诱导的 GLUT4 的转位,而且也可能参与了肌肉收缩诱导的 GLUT4 的转位。虽然普遍认为肌肉收缩诱导的 GLUT4 转位与 AMPK 有关,但是 AMPK 敲除的小鼠并不影响肌肉收缩诱导的糖的转运。当然对此应该作整体全面的分析才行,毕竟 AMPK 敲除后,可能有其它的代偿途径加强。4) 其它非胰岛素刺激因素引起的 GLUT4 的转位涉及的信号途径研究的更少。只是知道缺氧涉及 AMPK; NO 涉及 cGMP; α , β 肾上腺能激动剂涉及 G 蛋白。最近发现鞘磷脂也可以增加膜上的 GLUT4 的转位量,它是什么信号途径的更是使人迷惑。在临床上医生开始越来越重视 GLUT4 转位非胰岛素信号途径,例如告诫 II 型糖尿病患者加强体育锻炼以及尚试非胰岛素的治疗方法。这都告诉我们这条途径可能是我们将来药物开发的新方向。

3 GLUT4 转位的远端过程

GLUT4 囊泡与膜融合的过程,称之为远端过程。它与神经递质释放的 SNARE 模型有些许相同之处。其过程大致如下: ARF (ADP ribosylation factor) 与 GTP 结合后被激活,再与囊泡形成的供体膜上的受体结合,膜连接的 ARF 在载满衣壳蛋白后形成一个衣壳包裹的芽胞,芽胞体在乙酰辅酶 A、ATP 的帮助下出芽形成游离的带衣壳蛋白的囊泡,随后 ARF 和衣壳蛋

白脱离囊泡,囊泡上的 v-SNARE(VAMP2/3)和细胞膜上的 t-SNARE(syntaxin4, SNAP-23)结合形成复合物。SNAP和NSF与复合物结合,NSF起到ATP酶的作用,促进囊泡膜与细胞膜的融合^[6]。现概述一下部分调节蛋白的在这一过程中可能的作用:VAMP2 钝抑后,对 GLUT4 的转运无明显影响,而导入毒素破坏 VAMP2 大部分实验又表现为减少 GLUT4 的转位,这似有矛盾之处,这可能是 VAMP2 钝抑有其它蛋白代偿的原因。Syntaxin4 无论是敲除还是将抗体导入细胞,都表现为使 GLUT4 转位减少,而过表达则增加 GLUT4 转位,这在转基因鼠中也得到了证实。SNAP23 是 SNAP25 的异构体,促进 Syntaxin4 和 VAMP2 的相互作用,SNAP23 的特定序列突变后丧失了这种促进能力,而且过表达这种突变体会抑制 GLUT4 的转位。NSF 和 SNAP 使 SNARE 复合物解离和再循环。VAP-33 和 Pantophysin 调节 VAMP2 功能。Synip 通过从复合物上解离下来来促进 syntaxin4 与 VAMP2 的结合。Munc18c 本身结构改变后调节 syntaxin4 与 SNARE 复合物间的作用。总之, GLUT4 转位的远端过程是 t-SNARE 和 v-SNARE 相互作用,多种蛋白次序参与的一个可调节的复杂的过程。

总之, GLUT4 转位的信号途径是个复杂的过程,关于它的研究也不是一日能就的。但毫无疑问,信号系统和 GLUT4 的膜转运系统的结合已越来越成为研究的兴奋点,也将是未来理解 GLUT4 调控的关键点。

参考文献

- [1] Zisman A, Peroni OD, Abel ED, et al. Targeted disruption of the glucose transporter 4 selectively in muscle causes insulin resistance and glucose intolerance. *Nat. Med.* 2000, 6(8): 924- 928
- [2] Watson RT, Khan AH, Furukawa M, et. al. Entry of newly synthesized GLUT4 into the insulin- responsive storage compartment is GGA dependent. *EMBO J.* 2004 May 19; 23(10): 2059- 70. Epub 2004 Apr 29
- [3] Khan AH, Capilla E, Hou JC, et. al. Entry of Newly Synthesized

GLUT4 into the Insulin- responsive Storage Compartment is Dependent upon Both the Amino Termin and the Large Cytoplasmic Loop. *J Biol Chem.* 2004 Sep 3; 279(36): 37505- 11

- [4] Asheshiva A. Regulating Glut4 vesicle dynamics by phosphoinositide kinases and phosphoinositide phosphatases. *Front Biosci.* , 2003, 8: s945- 6
- [5] Ueki K, Fuman DA, Brachmann SM, et. al. Molecular balance between the regulatory and catalytic subunits of phosphoinositide 3- kinase regulates cell signaling and survival. *Mol Cell Biol.* , 2002, 22: 965- 977
- [6] Watson RT, Karzaki M, Pessin JE. At. al. Regulated membrane trafficking of the insulin- responsive glucose transporter 4 in adipocytes. *Endocr Rev.* 2004, 25(2): 177- 204
- [7] Mitra P, Zheng X, Czech MP. et al. RNAi- based analysis of CAP, Cbl, and CrkII function in the regulation of GLUT4 by insulin. *J Biol Chem.* 2004, 279(36): 37431- 5
- [8] Summers SA, Whiteman EL, Cho H et al. Differentiation- dependent suppression of platelet- derived growth factor signaling in cultured adipocytes. *J Biol Chem.* , 1999, 274(34): 23858- 67
- [9] Watson RT, Shigematsu S, Chiang SH. et al. Lipid raft microdomain compartmentalization of TC10 is required for insulin signaling and GLUT4 translocation. *J Cell Biol.* 2001, 154(4): 829- 40
- [10] Ahmed Z, Pillay TS. Adapter protein with a pleckstrin homology (PH) and an Src homology 2 (SH2) domain (APS) and SH2- B enhance insulin- receptor autophosphorylation, extracellular- signal- regulated kinase and phosphoinositide 3- kinase- dependent signalling. *Biochem J.* 2003, 371: 405- 12
- [11] Lorenzo M, Teruel T, Hernandez R. et al. PLCgamma participates in insulin stimulation of glucose uptake through activation of PKCzeta in brown adipocytes. *Exp Cell Res.* 2002, 278(2): 146- 57
- [12] Richter EA, Nielsen JN, Jorgensen SB. et al. Exercise signalling to glucose transport in skeletal muscle. *Proc Nutr Soc.* 2004, 63(2): 211- 6
- [36] Köhn P C, Stoltze L, Flechsig E, et al. A quantitative, highly sensitive cell- based infectivity assay for mouse scrapie prions [J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2003, 100: 11666- 11671
- [37] Tibl G G. Sequential MRI in a case of Creutzfeldt- Jakob disease [J]. *Neuroradiology*, 2002, 44: 223- 226
- [38] Hsieh G, Kinney K, Gibbs C J, et al. The 14- 3- 3 brain protein in cerebrospinal fluid as a marker for transmissible spongiform encephalopathies [J]. *N Engl J Med*, 1996, 335: 924- 930
- [39] Beaudry P. 14- 3- 3 protein, neuron- specific enolase, and S- 100 protein in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt- Jakob disease [J]. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 1999, 10: 40- 46
- [40] Zou W Q, Zheng J, Gray D M, Gambetti P, et al. Antibody to DNA detects scrapie but not normal prion protein [J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2004, 101: 1380- 1385
- [41] Gurin Serbec V, Bresjanac M, Popovic M, et al. Monoclonal antibody against peptide of human prion protein discriminates between Creutzfeldt- Jakob's disease affected and normal brain tissue [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(5): 3694

(上接第 59 页)

- [31] Schmeier M J, Jenny A L, Bulgin M S, et al. The use of capillary electrophoresis and fluorescent labelled peptides to detect the abnormal prion protein in the blood of animals that are infected with a transmissible spongiform encephalopathy [J]. *J Chromatography A*, 1999, 853: 207- 214
- [32] Jackman R, Schmeier M J. Analysis of the performance of antibody capture methods using fluorescent peptides with capillary zone electrophoresis with laser- induced fluorescence [J]. *Electrophoresis*, 2003, 24: 892- 896
- [33] Zerr I. Detection of 14- 3- 3 protein in the cerebrospinal fluid supports the diagnosis of Creutzfeldt- Jakob disease [J]. *Ann Neurol*, 1998, 43: 32- 40
- [34] Shaked G M, Shaked Y, Kariv I Z, et al. A protease- resistant prion protein isoform is present in urine of animals and humans affected with prion diseases [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 31479
- [35] Shiga Y, Miyazawa K, Takada A, et al. Laboratory and imaging studies for the diagnosis of prion disease [J]. *Rinsho Shinkeigaku*, 2003, 43(11): 810