葡萄糖转运蛋白 4 易位机制的研究

韩世飞综述 曹雪滨审校

【摘要】 葡萄糖的转运是通过葡萄糖转运蛋白 4(GLUT4)的易位而实现。GLUT4 易位机制涉及到多种信号转导途径。胰岛素主要通过 IRS-PI3-K 和 Cbl-TC10 信号瀑布流促使 GLUT4 易位。运动诱导 GLUT4 易位主要是通过 AMPK 信号转导途径。GLUT4 易位的下游机制是 AS160。在 GLUT4 囊泡与膜融合的远端过程中,SNAREs(膜偶联蛋白)在易位中起到关键作用。

【关键词】 葡萄糖转运蛋白 4;葡萄糖代谢;信号转导途径;易位转运

近年研究发现由于能量储备下降、能量代谢障碍可以成为引发心力衰竭的原因;也可作为心力衰竭的继发后果;或者说这种储备下降至少促进了心力衰竭的进展[1]。心力衰竭时心肌细胞利用葡萄糖供能增多,缺血细胞摄取葡萄糖量的高低与葡萄糖通过细胞膜转运率相关,葡萄糖转运蛋白 4(GLUT4)在转运中具有重要作用。

GLUT4 主要分布于成熟动物的细胞内膜,在基础状态时,大约 5%～10%的 GLUT4 储存在细胞膜表面,90%储存在细胞内的囊泡[2]。转运时含 GLUT4 的囊泡易位至细胞外膜与葡萄糖结合并发生结构改变,将葡萄糖转运至细胞内,此后 GLUT4 恢复原来结构。

GLUT4 易位和葡萄糖的转运涉及多个信号转导途径。随着刺激物的不同,GLUT4 易位的分子机制也有所不同。胰岛素和运动是刺激骨骼肌 GLUT4 易位的两个最主要的因素,前者主要是通过磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)途径和原癌蛋白 C-Cbl/CAP 途径;运动或者肌肉收缩主要是通过 AMP 活化蛋白激酶(AMPK)途径来促使 GLUT4 易位[3-5]。

1 胰岛素促使 GLUT4 易位的机制

1.1 IRS-PI3K 途径

在细胞膜表面,胰岛素与其受体结合后使受体 β-亚基活化,磷酸化胰岛素受体基质酪氨酸蛋白,导致 PI3K 的活化,活化的 PI3K 可以催化磷脂酰肌醇(PI)、PI4P、PI(4,5)P2 使之相应成为 PI3P、PI(3,4)P2、PI(3,4,5)P3。PI3K 是由接触亚基 P110 和调节亚基 P85 构成。P85 亚基由 2 个识别磷酸化酪氨酸的 SH2 结构域组成[6]。PI(3,4,5)P3 形成后,通过几种苏氨酸或丝氨酸激酶,包括蛋白激酶 B(PKB,又称作 AKT)、非典型蛋白激酶 C(PKC-λ、PKC-ζ)开始在细胞膜的脂质筏上聚集。PKB 的激活至少包括 2 条途径:其一,PI(3,4)P2 直接与 PKB 上的 PH 域接触导致 PKB 激活;其二,通过 PDK1 和 PDK2 在 PH 域聚集激活 PKB。Welsh 等[7]发现 GLUT4 易位的初始步骤是酪氨酸自发光电作用,胰岛素受体与胰岛素结合后自身的活化作用,通过分子内的自发光电转移作用,一个酪氨酸激酶亚基的磷酸化使临近的酪氨酸激酶亚基也磷酸化,从而使胰岛素受体产生活性。酪氨酸的磷酸化可以使胰岛素受体基质家族(IRS)主要是 IRS1 和 IRS2 通过多种效应产生多种非脂性磷蛋白位点,其中最重要的是 PI3K。这种脂质激酶的初始产物是质膜的 PI(3,4,5)P3。PI(3,4,5)P3 可以聚集和活化非典型蛋白激酶 C PKCz/l 和 Akt 蛋白激酶(即 PKB)。Akt 是经由 PDK1 将苏氨酸 308 磷酸化和 PDK2 将丝氨酸 473 磷酸化这 2 条途径活化的。尽管 Akt 有 Akt1、Akt2 和 Akt3 3 种形式,但研究发现 Akt2 在 GLUT4 的转运中起重要作用[8]。

基金项目:全军十一五课题(06MA074)

作者单位:071000 河北省保定市,解放军二五二医院心内科
通讯作者:曹雪滨,E-mail:cxb252@yahoo.com.cn

万方数据

1.2 Cbl-TC10 信号瀑布流

胰岛素受体与胰岛素结合后，受体蛋白的酪氨酸激酶磷酸化，暴露与 SH2 和 APS 蛋白结合的位点，APS 蛋白与之结合磷酸化后能与 c-Cbl 蛋白的 SH2 结合，从而使连接 c-Cbl 与 SH2 之间的 CRK/C3G 复合体活化并移动到富含凹陷蛋白(acveolni)的脂筏(lipid raft)上，最终使 TC10 因子活化。TC10 因子活化后通过 PIP_3 途径促使 GLUT4 易位。这一过程涉及 2 个接头蛋白即 APS(adapter protein with Pleckstrin homology and Src homology 2 domains)和 CAP(c-Cbl-associated protein)。CAP 的 SH3 结构域能与 Cbl 相互作用，形成 CAP/Cbl 异源二聚体。APS 酪氨酸磷酸化后有助于胰岛素受体磷酸化 Cbl 蛋白。后者召集 C3G(鸟苷酸交换因子)存在于 TC10 活化的脂质筏上，激活 TC10。活化的 TC10 与 aPKCs/Par6/Par3 三元络合物作用，从而使 aPKCs 沉积在细胞质膜。aPKCs 可以促进胰岛素作用的 GLUT4 易位。

1.3 磷脂酶 C 途径

胰岛素与胰岛素受体结合后，还可激活磷脂酶 Cγ(PLCγ)。PLCγ 亚型有许多种，其中 SH2 结构决定了 PLCγ 成为酪氨酸蛋白激酶的靶物，也是它被激活的机制所在。PLCγ 活化后使 PIP2 脱除保护层并被水解产生双信使 DG 和 IP3。这两个信使通过 PKC 的活化及 PKC 下游的一系列过程促进 GLUT4 易位。体外基因突变试验和体内阻止 PLC 降解的方法及抑制 PLC 活化的方法都较一致地证实了胰岛素诱导 GLUT4 易位的磷脂酶 C 途径的存在。但有人认为磷脂酶 C 活化是依赖于 PI3K，所以实际上 PLC 途径就是 PI3K 途径。

2 运动诱导 GLUT4 易位的机制

运动诱导的 GLUT4 易位机制多数学者认为不同于胰岛素途径。以前提出的诸如 Ca^{2+}、PKC、腺苷等信号途径仍存在很大的争议，最近研究揭示了 AMPK、NO、MAPK 等新的信号途径，其中 AMPK 备受关注。AMPK 是代谢敏感蛋白激酶家族成员，它能监测细胞能量代谢的水平，细胞内的能量减少时 AMPK 发挥作用关闭 ATP 消耗的通道，同时开启 A11P 再生的通道。肌肉收缩可以刺激 AMPK 活性升高，引起运动反应型 GLUT4 储存囊泡的膜易位。AMPK 途径则不经过胰岛素信号转导途径，是运动、缺氧等因素使 GLUT4 易位到细胞膜上的主要机制。

3 信号转导途径的共同下游通路 AS160

Thong 等[9]发现 AS160 是 Akt、AMPK 和 c/n PKC 3 种不同信号途径的共同通路。(1)血小板衍生生长因子(PDGF)可以通过 Akt 表面富含 GLUT4 和 PDGF 受体细胞刺激活化 Akt 继而活化 GLUT4。实验表明 PDGF 可以增加 AS160 的磷酸化，这种效应可以被 PI3K 抑制剂 LY294002 阻断。并且，PDGF 刺激的 GLUT4 易位可以被无活性的 Akt 酶突变体终止。(2)PKC 活化导致 AS160 磷酸化，从而使 GLUT4 易位。肌肉收缩可以触发 PKC 转移到肌膜，K^+ 去极化，腓肌型肌萎缩(peroneal muscual atrophy，PMA)和高渗状态增加 WT-AS160(重组野生型的 AS160)的磷酸化，c/n PKC 抑制剂 BIM 可以阻止 WT-AS160 的磷酸化，从而表明 K^+ 去极化、PMA 和高渗状态这些因素部分是由 c/n PKC 介导的。(3)在 CHO-IR 细胞仅表达 α2-AMPK 时，甲酰胺咪唑核糖核苷(AICAR)和肌肉收缩同样增加 AS160 的磷酸化。而且，在 L6 细胞表达 α2-AMPK 时，4P-AS160 可以最大程度的阻止 AICAR 引发的 GLUT4 易位。

Miinea 等[10]研究发现 AS160 中的 GAP(GTPase 激活蛋白)是连接 Akt 和 GLUT4 转运的中介物质。GAP 类似于 Rab 蛋白，在 GLUT4 的囊泡中发现 Rabs 2A、8A、8B 和 14。进一步推测 Rabs8、10 和 14 可能是 AS160 中起作用的蛋白。Eguez 等[11]发现剔除脂肪细胞的 AS160 导致基础状态下部分 GLUT4 向细胞膜的易位，同时在没有胰岛素刺激的情况下细胞内 GLUT4 的减少伴随着膜上 GLUT4 的胞吐增加。胰岛素进一步刺激增强 GLUT4 的胞外分泌作用，证明 AS160 GAP 在保持 GLUT4 在基础状态分布起重要作用。

4 GLUT4 易位的远端机制

GLUT4 囊泡与膜融合的过程，称之为远端

万方数据

过程，其中膜偶联蛋白 SNAREs(soluble N-ethylmaleimide sensitive factor attachment protein receptor)是关键物质。这一过程大致如下：包含 GLUT4 和囊泡结合膜蛋白(VAMP)2 的囊泡在胰岛素刺激后，VAMP2 与膜上的靶体 t-SNAREs(target-localized SNAREs)结合，形成固定的芽胞[12]。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，囊泡上的 vSNARE 和细胞膜上的 t-SNARE 结合形成复合物。NSF(N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein)具有 ATP 酶的作用，促进囊泡膜与细胞膜的融合[13]。Koumanov 等[14]发现 GLUT4 囊泡在细胞膜的融合依靠细胞质和 SNARE，并不需要细胞骨架的改变。而且，胰岛素激活 PM 片断是囊泡融合的关键一步。在细胞质中 Akt 必须聚集在 PM 上后来调节融合过程。研究发现在大鼠骨骼肌细胞中，存在 2 种包含不同物质的 GLUT4 囊泡，其中一种对胰岛素的刺激敏感，另一种则不敏感。胰岛素敏感的囊泡中含有 VAMP2 蛋白，不敏感的囊泡中则包含 SCAMPs 蛋白，表明 VAMP2 参与于 GLUT4 的易位，而 SCAMPs 则否。

总之，GLUT4 易位的信号途径包括 GLUT4 的胞外分泌、细胞内转运、远端膜融合、内吞分解等诸多环节。许多研究只是集中在影响 GLUT4 易位的某一环节点上，关于它的整体易位机制迄今也不完全清楚。但毫无疑问，GLUT4 易位的信号转导机制已越来越成为研究的热点，因为对它的研究将为人类代谢性疾病及其相关的心血管病的治疗带来希望。

参 考 文 献

[1] 陈灏珠. 心脏病学[M]. 第七版. 北京：人民卫生出版社，2007，483-496.

[2] Bryant NJ, Govers R, James DE. Regulated transport of the glucose transporter GLUT4[J]. Cell Biol, 2002, 3(4):267-277.

[3] Mora S, Pessin JE. An adipocentric view of signaling and intracellular trafficking[J]. Diabetes Metab, 2002, 18(5): 345-356.

[4] Hayashi T, Hirshman MF, Kurth EJ, et al. Evidence for 5-AMP-activated protein kinase mediation of the effect of muscle contraction on glucose transport[J]. Diabetes, 1998, 47(8):1369-1373.

[5] Fryer LG, Foufelle F, Barnes K, et al. Characterization of the role of the AMP-activated protein kinase in the stimulation of glucose transport in skeletal muscle cells [J]. Biochem J, 2002, 363(Pt 1):167-174.

[6] McCarthy AM, Elmendorf JS. GLUT4's itinerary in health and disease[J]. Indian J Med Res, 2007, 125(3): 373-388.

[7] Welsh GI, Hers I, Berwick DC, et al. Role of protein kinase B in insulinregulated glucose uptake[J]. Biochem Soc Trans, 2005, 33(Pt 2):346-349.

[8] Bae SS, Cho H, Mu J, et al. Isoform-specific regulation of insulin-dependent glucose uptake by Akt/protein kinase B[J]. Biol Chem, 2003, 278(42):49530-49536.

[9] Thong FS, Bilan PJ, Klip A. The Rab GTPase-activ- ating protein AS160 integrates Akt, protein kinase C, and AMP-activated protein kinase signals regulating GLUT-4 traffic[J]. Diabetes, 2007, 56(2):414-423.

[10] Miinea CP, Sano H, Kane S, et al. AS160, the Akt substrate regulating GLUT4 translocation, has a functional Rab GTPase-activating protein domain[J]. Biochem, 2005, 391(Pt 1):87-93.

[11] Eguez L, Lee A, Chavez JA, et al. Full intracellular retention of GLUT4 requires AS160 Rab GTPase activating protein[J]. Cell Metabolism, 2005, 2(4):263-272.

[12] Cheatharn B. GLUT4 and company: SNAREing roles in insulin-regulated glucose uptake[J]. Trends Endocrinol Metab, 2000, 11(9):356-361.

[13] Watson RT, Kanzaki M, Pessin JE. Regulated membrane trafficking of the insulin-responsive glucose transporter 4 in adipocytse[J]. Endocr Rev, 2004, 25(2):177-204.

[14] Koumanov F, Jin B, Yang J, et al. Insulin signaling meets vesicle traffic of GLUT4 at a plasma-membrane-activated fusion step[J]. Cell Metabolism, 2005, 2(3): 179-189.

(收稿：2008-04-14 修回：2008-10-17)
(本文编辑：金谷英)

万方数据