

- [13] Haugen F, Jorgensen A, Drevon CA, et al. Inhibition by insulin of resistin gene expression in 3T3—L1 adipocytes [J]. FEBS Lett, 2001, 507:105—108.
- [14] Way JM, Gorgun CZ, Tong Q, et al. Adipose tissue resistin expression is severely suppressed in obesity and stimulated by peroxisome proliferator—activated receptor—gamma agonists [J]. J Biol Chem, 2001, 276:25651—25653.
- [15] Fukui Y, Motojima K. Expression of resistin in the adipose tissue is modulated by various factors including peroxisome proliferator—activated receptor alpha [J]. Diabetes Obes Metab, 2002, 4:342—345.
- [16] Sagawa N, Yura S, Itoh H, et al. Role of leptin in pregnancy—a review [J]. Placenta, 2002, 23(Suppl A):S80—86.
- [17] Fujinami A, Obayashi H, Ohta K, et al. Enzyme—linked immunosorbent assay for circulating human resistin: resistin concentrations in normal subjects and patients with type 2 diabetes [J]. Clin Chim Acta, 2004, 339:57—63.
- [18] 王学晶, 徐国宾, 朱立华, 健康人、单纯性肥胖、糖尿病和甲亢病人的血浆 resistin 水平研究 [J]. 中华检验医学杂志, 2001, 24:359—361.
- [19] Juan CC, Au LC, Fang VS, et al. Suppressed gene expression of adipocyte resistin in an insulin—resistance rat model probably by elevated free fatty acids [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 289(50):1328—1333.
- [20] Le Lay S, Boucher J, Rey A, et al. Decreased resistin expression in mice with different sensitivities to a high—fat diet [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 289:564—567.
- [21] Levy JR, Davenport B, Clore JN, et al. Lipid metabolism and resistin gene expression in insulin—resistant Fischer 344 rats [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2002, 282:E626—E633.
- [22] Janke J, Engeli S, Gorzelniak K, et al. Resistin gene expression in human adipocytes is not related to insulin resistance [J]. Obes Res, 2002, 10:1—5.
- [23] 杨静, 黎明, 吴从愿, 等. 2 型糖尿病患者血清抵抗素水平降低 [J]. 中华医学杂志, 2003, 83:1471—1474.
- [24] Osawa H, Onuma H, Murakami A, et al. Systematic search for single nucleotide polymorphisms in the resistin gene: the absence of evidence for the association of three identified single nucleotide polymorphisms with Japanese type 2 diabetes [J]. Diabetes, 2002, 51:863—866.
- [25] Sentinelli F, Romeo S, Arca M, et al. Human resistin gene, obesity and type 2 diabetes: mutation analysis and population study [J]. Diabetes, 2002, 51:860—862.
- [26] Ma X, Warram J, Trischitta V, et al. Genetic variants at the resistin locus and risk of type 2 diabetes in Caucasians [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2002, 87:4407—4410.
- [27] Wang H, Chu WS, Hemphill C, et al. Human resistin gene: molecular scanning and evaluation of association with insulin sensitivity and type 2 diabetes in caucasians [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2002, 87:2520—2524.
- [28] Ling C, Kindblom J, Wennbo H, et al. Increased resistin expression in the adipose tissue of male prolactin transgenic mice and in male mice with elevated androgen levels [J]. FEBS Lett, 2001, 507:147—150.
- [29] Fasshauer M, Klein J, Neumann S, et al. Tumor necrosis factor is a negative regulator of resistin gene expression and secretion in 3T3—L1 adipocytes [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 288:1027—1031.
- [30] Mikako D, Jason E, Beth E, et al. Serum resistin (FIZZ3) protein is increased in obese humans [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2003, 88:5452—5455.
- [31] 章建梁, 秦永文, 郑兴, 等. 人血清抵抗素水平与体脂含量和血糖及血压的相关性研究 [J]. 中华医学杂志, 2002, 82:1609—1612.
- [32] Yannakoulia M, Yiannakouris N, Bluher S, et al. Body fat mass and macronutrient intake in relation to circulating soluble leptin receptor, free leptin index, adiponectin, and resistin concentration in healthy humans [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2003, 88:1730—1736.
- [33] Rajala M, Lin Y, Ranalletta M, et al. Cell type—specific expression and coregulation of murine resistin and resistin—like molecule—in adipose tissue [J]. Mol Endocrinol, 2002, 16:1920—1930.
- [34] Pfutzner A, Langenfeld M, Kunt T, et al. Evaluation of human resistin assays with serum from patients with type 2 diabetes and different degrees of insulin resistance [J]. Clin Lab, 2003, 49:571—576.
- [35] Silha J, Krsek M, Skrha J, et al. Plasma resistin, adiponectin and leptin levels in lean and obese subjects: correlations with insulin resistance [J]. Eur J Endocrinol, 2003, 149:331—335.
- [36] Chen X, Lei T, Xia T, et al. Increased expression of resistin and tumour necrosis factor—alpha in pig adipose tissue as well as effect of feeding treatment on resistin and cAMP pathway [J]. Diabetes Obes Metab, 2004, 6: 271—279.
- [37] Koichiro A, Fuminori K, Shuji O, et al. Correlation between serum resistin level and adiposity in obese individuals [J]. Obesity Research, 2003, 11:997—1001.
- [38] Valsamakis G, McTernan PG, Chetty R, et al. Modest weight loss and reduction in waist circumference after medical treatment are associated with favorable changes in serum adipocytokines [J]. Metabolism, 2004, 53:430—434.
- [39] Monzillo L, Hamdy O, Horton E, et al. Effect of lifestyle modification on adipokine levels in obese subjects with insulin resistance [J]. Obes Res, 2003, 11: 1048—1054.
- [40] Lu SC, Shieh WY, Chen CY, et al. Lipopolysaccharide increases resistin gene expression in vivo and in vitro [J]. FEBS Lett, 2002, 530(1—3):158—163.

· 综述 ·

骨骼肌细胞葡萄糖运载体 4 的研究进展*

林 强¹ 吴 毅¹ 胡永善¹

骨骼肌是体内最主要摄取葡萄糖和代谢葡萄糖的组织之一。葡萄糖跨膜转运是骨骼肌利用葡萄糖的首要步骤。葡萄糖跨膜进入骨骼肌细胞需要细胞膜上的葡萄糖运载体 (glucose transporter, GLUT) 协助扩散。GLUT 有多种亚型, 其中葡萄糖运载体 4 (GLUT4) 是存在于骨骼肌、脂肪组织中帮助葡萄糖转运的蛋白。胰岛素和肌肉收缩可通过不同的机制调节 GLUT4 的基因表达和转位^[1], 从而促进葡萄糖的跨膜转运。因此, GLUT4 是糖尿病基础研究中的一个热点。

1 GLUT4 的结构、分布及功能

葡萄糖的跨膜转运需要 GLUT4 的协助。目前已发现的

GLUT 共有 12 种亚型, 这些蛋白根据序列相似性和同源性分成 3 类^[2]。第一类 (GLUT1—4) 主要转运葡萄糖, 第二类 (GLUT5, 7, 9, 11) 是果糖转运蛋白, 第三类 (GLUT6, 8, 10, 12) 目前功能尚不清楚。GLUT4 由 509 个氨基酸组成, 分子量约 45—55kD, 它含有 12 个跨膜结构域和一个位于 N 端的胞外环状结构域。

* 基金项目: 国家自然科学基金项目 (30370685), 美国中华医学会基金 (CMB) 资助项目 (No.98—676)

1 复旦大学附属华山医院康复医学科, 上海市乌鲁木齐中路 12 号, 200040

作者简介: 林强, 男, 在读硕士生

收稿日期: 2006—08—24

GLUT4 不仅存在于细胞的质膜(外膜)上,还存在于许多细胞器的膜(内膜)上,包括分选内体、再循环内体、反面高尔基网和小泡。在基础状态下,骨骼肌的 GLUT4 主要存在于各细胞器的膜上,只有少数存在于细胞膜。当骨骼肌受到胰岛素或运动的刺激时, GLUT4 由内膜转位到细胞膜上,从而增加葡萄糖的转运^[3]。

在基础状态下,葡萄糖利用仅占全身的 20%,而在胰岛素刺激状态下,葡萄糖利用占全身的 70%—85%。GLUT4 在促进葡萄糖的摄取中起了关键的作用。当进餐时,血葡萄糖浓度升高,血胰岛素释放增加,胰岛素分别作用于脂肪细胞和骨骼肌细胞胰岛素受体,通过一系列信号转导通路,最终使内膜上的 GLUT4 转位到细胞膜,从而促进细胞的葡萄糖摄取。

2 影响 GLUT4 功能的生理因素

胰岛素和肌肉收缩被认为是调节骨骼肌糖代谢的主要生理因素,且两者的作用有协同性^[4]。胰岛素和肌肉收缩可以从三方面来调节 GLUT4 的功能,并增加外周组织(如骨骼肌)对葡萄糖的摄取。首先,通过上调 GLUT4 蛋白的含量,可能的机制是促进 GLUT4 的基因表达和蛋白合成,或减少其降解,或是两者兼有。其次,通过增加 GLUT4 的转位,使细胞膜上的 GLUT4 增多,从而促进葡萄糖的摄取。最后,通过调节细胞膜上的 GLUT4 内在活性,这可能是通过直接调节 GLUT4 本身或通过与其他调节分子相互作用^[5]。

3 GLUT4 基因表达的调节

3.1 胰岛素对 GLUT4 基因表达的调节

正常的 GLUT4 表达依赖于正常的胰岛素水平和胰岛素反应。胰岛素缺乏的动物出现 GLUT4 转录水平的抑制,其原因可能在于启动子的活性下降。活体研究提示,在一些胰岛素缺陷的动物中, GLUT4 基因的表达明显减少。而离体实验表明,用胰岛素孵育骨骼肌后,其 GLUT4mRNA 增加 25%^[6]。这些研究结果提示胰岛素可以增加 GLUT4 的基因表达和蛋白合成。胰岛素促进 GLUT4 基因表达过程中涉及的相关转录因子包括:核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)、肌源性促进因子 2(myocyte enhance factor 2, MEF-2)和缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor 1- α , HIF1- α)。然而胰岛素如何促进 GLUT4 基因表达,有待于进一步研究。

3.2 运动对 GLUT4 基因表达的调节

肌肉收缩可以在转录水平上促进 GLUT4 的表达。其机制尚未完全阐明,目前所知主要涉及以下过程:①肌肉收缩引起三磷酸腺苷(ATP)和磷酸肌酸等高能磷酸物质含量降低,导致单磷酸腺苷(AMP)增多,使 AMP 激活的蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)激活;②肌肉收缩增加细胞内钙离子浓度,激活钙调磷酸酶和钙调蛋白激酶;③激活的 AMPK、钙调磷酸酶及钙调蛋白激酶可以激活 MEF-2、葡萄糖载体 4 增强因子(GLUT4 enhance factor, GEF), MEF-2 结合于基因的 MEF 结合域并与其辅助激活物 GEF,共同促进基因 GLUT4 基因的转录^[7]。

Kou 等^[8]发现多聚核糖体偶联的 GLUT4 mRNA 在运动

后表达量增加,而且保持 5h 左右的高含量状态。由于多聚核糖体偶联的 GLUT4 mRNA 将最终翻译成蛋白质,所以运动可能直接在翻译水平影响 GLUT4 的基因表达。

4 GLUT4 转位的调节

4.1 骨骼肌 GLUT4 的转位模型

Lund^[9]的实验证实了运动和胰岛素可以通过不同的机制,增加 GLUT4 的总含量,并促进 GLUT4 由细胞内膜向细胞外膜转位。Douen^[10]实验表明细胞内存在着分别对运动和胰岛素敏感的 GLUT4 池。运动和胰岛素通过不同的途径作用于这两种特定的 GLUT4 池。

Nia 等^[11]综合了以往几个相互矛盾的转位模型,提出了一个新的模型来解释 GLUT4 的转位。这个模型认为 GLUT4 在细胞内有两个循环:①在细胞膜和内体之间循环。运动和缺氧通过 AMPK 信号转导途径,作用于内体,使 GLUT4 由内体转位至细胞膜上。②在反面高尔基网(TGN)和内体之间循环。循环于 TGN 和内体之间的 GLUT4,有一部分在储存小泡中,而储存小泡在基础状态下和内体结合,但在胰岛素刺激下则不与内体结合,直接转移至细胞膜上。胰岛素正是通过磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3-K)途径,把下游信号转给储存小泡,使 GLUT4 转位至细胞膜上。这个模型解释了在基础状态下细胞膜 GLUT4 含量很少,而在胰岛素和运动的刺激下,通过转位不同循环中的 GLUT4,使细胞膜上的 GLUT4 增多。

4.2 胰岛素对 GLUT4 转位的调节

在骨骼肌中,至少有两条途径可通过调节 GLUT4 的转位来改变葡萄糖转运。第一条是胰岛素介导的途径,第二条是由运动通过不同于胰岛素的途径来促进 GLUT4 的转位。胰岛素信号转导途径中涉及的信号蛋白有胰岛素受体底物-1(insulin-receptor substrates-1, IRS-1)、PI3-K、蛋白激酶 C(PKC)。

胰岛素与细胞膜上的胰岛素受体结合,引起胰岛素受体自身磷酸化及其 β 亚基酪氨酸蛋白激酶活化,后者使细胞内胰岛素受体底物-1(IRS-1)酪氨酸残基磷酸化,从而激活 PI3-K 途径或 Ras-丝裂素原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)途径^[12]。在 PI3-K 途径中,顺次激活磷脂酰肌醇依赖性蛋白激酶(phosphoinositide-dependent kinase 1, PDK1)、蛋白激酶 B(protein kinase B, PKB)、不典型蛋白激酶 C(atypical protein kinase C, aPKC)等蛋白激酶,促进 GLUT4 由细胞内向细胞膜转移,发挥其生理作用。而 Ras-MAPK 途径的激活则是由 IRS-1 顺次活化生长因子结合蛋白-2(Grb-2)、Sos、Ras 等船坞蛋白(dock protein),而后活化 Raf-1、MEK(MAP 及 ERK 激酶)、MAPK 等蛋白激酶,主要对细胞的分化和表达起调节作用。

最近的研究表明,胰岛素促进 GLUT4 转位除了可以通过 PI3-K 通路,还可以通过 TC10 通路。TC10 是一种小 GTP 结合蛋白。当胰岛素与胰岛素受体结合后,胰岛素受体底物 Cbl 与含有 SH3 区的 Cbl 结合蛋白(Cbl-associated protein, CAP)相互作用,使 Cbl 磷酸化, Cbl/CAP 复合体脱离胰岛素受体,并促使 CrkII-C3G 复合体结合到脂筏, C3G 激活脂筏

上的 TC10, TC10 有着与 PI3-K 类似的功能, 可以增加 GLUT4 从细胞内转位到细胞膜^[11]。

4.3 运动对 GLUT4 转位的调节

目前研究发现, 有以下几种中间信号因子可能参与运动介导的 GLUT4 转位^[12]: AMPK、胞内钙离子 (Ca^{2+})、一氧化氮 (nitric oxide, NO)、缓激肽、Akt 底物 (AS160) 等。其主要的环节如下:

4.3.1 AMPK: 有很多实验支持 AMPK 参与了运动或肌肉收缩介导的葡萄糖转运通路^[13], AMPK 被认为是骨骼肌收缩影响糖转运的主要信号因子之一, 而细胞内能量平衡的变化是 AMPK 激活的首要原因。肌肉收缩会导致骨骼肌中 ATP 减少, AMP 增加, 从而激活 AMPK。在安静状态下, 骨骼肌中 AMPK 还可以被 5-氨基-4-咪唑甲酰胺核苷酸 (5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside, AICAR) 激活, 并促使葡萄糖转运增加。因此, 有学者用 AICAR 作为 AMPK 的激活剂来模拟运动的刺激, 结果同样增加了骨骼肌 GLUT4 的转位和葡萄糖的转运。Emily 的实验证明了 AICAR 注入大鼠下肢骨骼肌导致 AMPK 激活, 进而导致 GLUT4 转位和葡萄糖摄取的增加。而注射胰岛素的骨骼肌, 虽然葡萄糖摄取增加了, 但 AMPK 没有激活^[14]。在去除骨骼肌 AMPK α 2 亚型之后, AICAR 诱导 GLUT4 转位途径中断, 葡萄糖摄取明显减少, 然而, 运动诱导的葡萄糖摄取没有发生显著的改变^[15]。这一现象提示在运动介导的骨骼肌葡萄糖摄取途径中, 除 AMPK 之外还存在着其他一些中间信号因子, 它们也参与运动介导的葡萄糖摄取。另外, AMPK 的活性可能也受到糖原的影响, 低糖原状态能够提高 AMPK 的活性^[16]。肌纤维的类型不同, AMPK 的作用也可能不同^[17]。

但是, 有关 AMPK 在运动引起的葡萄糖转运中的作用是有争议的。尽管活化的 AMPK 导致静息的骨骼肌 GLUT4 转位的证据已得到证实, 但运动直接活化 AMPK 并使之发挥作用的证据还不足。Viollet 等^[18]实验发现: AMPK 可能在葡萄糖转运过程中不发挥作用。也有实验表明: 被动的牵伸运动并没有增加 AMPK 的活性^[19]。

4.3.2 钙离子 (Ca^{2+}): Youn^[20]用药物增加胞质中 Ca^{2+} 并且不引起骨骼肌收缩, 但却引起了葡萄糖转运的增加, 提示 Ca^{2+} 可以直接引起葡萄糖转运的增加。 Ca^{2+} 作为中间因子, 其下游的信号分子也未完全阐明, 目前已知可能涉及的信号分子有 PKC 和钙调蛋白依赖的蛋白激酶 (CAMK)。

运动可以增加骨骼肌细胞内甘油二酯的浓度^[21], 从而激活 PKC 的多种亚型。用 PKC 抑制剂钙感光蛋白培养和灌注肌肉也可以在局部抑制某些类型肌纤维收缩介导的葡萄糖转运^[22]。所以可以推测: 钙感光蛋白通过抑制 PKC 减少葡萄糖转运, 也就是说 PKC 可能促进葡萄糖转运。最近有研究显示, 无论是剧烈运动^[23], 还是耐力运动^[24], 都能激活骨骼肌中钙依赖的 PKC 亚型 (PKC- ξ/λ), PKC 则通过促进 GLUT4 转位到细胞膜来增加骨骼肌的葡萄糖转运。

作为 Ca^{2+} 下游信号的另一个激酶是 CAMK。细胞内 Ca^{2+} 的增加可促进钙调蛋白和多种细胞内蛋白相互作用, 包括 CAMK^[25]。CAMK 也有多种亚型, 其中 CAMK-1 有和 AMPK 相似的底物识别结构^[26], 所以 CAMK-1 可能有和 AMPK 类似的

功能来促进葡萄糖转运。Ihleman 的实验显示, 钙调蛋白抑制剂对运动和胰岛素介导的葡萄糖转运都可以起抑制作用^[22], 因此目前还很难判断钙调蛋白在其中的作用。总之, CAMK 和钙调蛋白在运动介导葡萄糖转运中的作用还需进一步研究。

4.3.3 其他: NO 可以通过不依赖胰岛素的途径促进 T3-L1 脂肪细胞 GLUT4 转位, 增加葡萄糖转运^[27]。心肌的实验表明: NO 作为 AMPK 的下游信号分子参与 AMPK 途径促进葡萄糖摄取和 GLUT4 转位^[28]。剧烈运动可以使血浆中缓激肽的浓度升高, 从而促进骨骼肌的葡萄糖转运和 GLUT4 转位^[29]。

在 T3-L1 脂肪细胞的一系列实验中发现, 胰岛素可以使脂肪细胞中的 Akt 底物 AS160 磷酸化, 通过胰岛素介导的信号通路, 促进 GLUT4 的转位^[30]。胰岛素也可以使骨骼肌中 AS160 磷酸化^[31]。最近有研究表明, 收缩运动或用 AICAR 孵育也可以使骨骼肌 AS160 磷酸化增加。这种收缩介导的 AS160 磷酸化可以被渥曼青霉素 (wortmannin) 抑制, 提示收缩介导的 AS160 磷酸化很可能是通过 PI3-K 途径。至于胰岛素、运动和 AICAR 所激活的是否为同一种 AS160; AS160 的具体生物学效应还需要进一步研究。

5 GLUT4 内在活性的调节

关于 GLUT4 是否存在内在活性一直存在争议。多数研究认为, GLUT4 的转位数量和它介导的葡萄糖摄取是密切相关的, 转位数量决定了葡萄糖的摄取量。但是, 也有不少学者认为, GLUT4 的转位数量和它介导的葡萄糖摄取不是严格成比例的, GLUT4 可能存在着内在活性和激活的问题。有研究表明^[32-33], 葡萄糖摄取率的增加比 GLUT4 转位的增加更高, 这种现象提示 GLUT4 的内在活性增加了。衡量 GLUT 内在活性的指标为转换率 (turnover number, TN), 为了测量骨骼肌 GLUT 的转换率, 需要测定离体骨骼肌细胞膜的葡萄糖摄取的最大速率 ($V_{\max}$) 和质膜上 GLUT 蛋白的总数 (R_0)。葡萄糖运载体的 $TN = V_{\max}/R_0$ 。有研究发现, 运动导致葡萄糖运载体 $V_{\max}$ 增加 4 倍, R_0 增加 2 倍, 因此 TN 增加 2 倍, 提示运动促进骨骼肌葡萄糖摄取的机制不仅涉及葡萄糖运载体转位到质膜, 还有可能是因为质膜上的葡萄糖运载体内在活性增加了^[32-33]。

这种方法的缺陷是它没有区分葡萄糖运载体各种亚型。因此, GLUT 活性的改变有可能反映 GLUT 内在特性的改变, 也有可能是动员活性更高的葡萄糖运载体亚型转位引起。非洲爪蛙卵母细胞的研究提示: GLUT4 比 GLUT1 的活性更高, 而运动后只有 GLUT4 转位到质膜上^[32]。因此, 运动也有可能是通过将活性更高的 GLUT4 转位到质膜, 来增加质膜上所有葡萄糖运载体的平均转换率。

最近加拿大一家实验室通过转基因技术开发出了一种特殊表达 myc 标记的 GLUT4 的 L6 肌细胞, 通过数项研究显示, 该模型能稳定的表达超出正常细胞内源性 GLUT4 量的 100 多倍, 能在胰岛素的刺激下忠实的转位到细胞表面, 并且 GLUT4 转位后还拥有一个特别的细胞外的抗原位点, 便于检测; 而且这种肌细胞对糖的摄取只能通过 GLUT4-myc, 从而排除了 GLUT1 的干扰因素。利用这种实验模型发现胰岛素

刺激糖摄取增加 6.5 倍而 GLUT4 转位只增加 2 倍, 进一步证实 GLUT4 存在着内在活性的改变^[34]。

目前认为, GLUT4 内在活性的激活与 p38MAPK 有关。胰岛素和运动都可以激活 p38MAPK, 并伴随着葡萄糖摄取的增加。Sweeney 等^[35]使用 p38MAPK 的抑制剂 SB203580 作用于 L6 肌细胞和 3T3L1 脂肪细胞, 发现 SB203580 可抑制 60% 的葡萄糖摄取, 但对 GLUT4 的转位无影响。使用新型的 p38 抑制剂和 p38 的负显突变体 (dominant-negative p38 mutant) 也可以抑制 3T3L1 脂肪细胞的葡萄糖转运, 并且不影响 GLUT4 的转位^[36]。因此推测, p38MAPK 参与 GLUT4 内在活性的调节。最近也有报道 AICAR 可以增加克隆 9 型细胞 GLUT1 的内在活性^[37], 而这种效应是通过 p38MAPK 介导的^[38]。

6 小结

GLUT4 在骨骼肌细胞的葡萄糖摄取过程中起着关键作用。胰岛素和运动分别通过不同的途径调节 GLUT4 的表达、转位及其内在活性, 从而增加骨骼肌葡萄糖的摄取。但是胰岛素和运动涉及的转录因子和信号蛋白有所不同, 提示胰岛素和运动促进 GLUT4 表达和转位的机制各不相同。对 GLUT4 表达、转位及其内在活性的深入研究, 有助于阐明糖尿病的发病机制和制定糖尿病的治疗方案。

参考文献

- [1] Douen AG, Ramlal T, Rastogi S, et al. Exercise induces recruitment of the "insulin-responsive glucose transporter". Evidence for distinct intracellular insulin- and exercise-recruitable transporter pools in skeletal muscle [J]. J Biol Chem, 1990, 265 (23):13427—13430.
- [2] Bryant NJ, Govers R, James DE. Regulated transport of the glucose transporter GLUT4 [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2002, 3 (4):267—277.
- [3] 杨晓冰, 吴毅. 葡萄糖载体 4 [J]. 中国康复医学杂志, 2000, 15 (1):60—63.
- [4] Kempainen J, Stolen K, Kalliokoski KK, et al. Exercise training improves insulin stimulated skeletal muscle glucose uptake independent of changes in perfusion in patients with dilated cardiomyopathy[J]. J Card Fail, 2003, 9(4):286—295.
- [5] 李显, 李斌, 艾华. 骨骼肌葡萄糖转运蛋白 4 及运动/训练对它的影响[J]. 中国运动医学杂志, 2004, 23(3):329—335.
- [6] Silva JL, Giannocco G, Furuya DT, et al. NF- κ B, MEF2A, MEF2D and HIF1- α involvement on insulin- and contraction-induced regulation of GLUT4 gene expression in soleus muscle [J]. Mol Cell Endocrinol, 2005, 240(1-2):82—93.
- [7] Dohm GL. Invited review: Regulation of skeletal muscle GLUT-4 expression by exercise [J]. J Appl Physiol, 2002, 93(2): 782—787.
- [8] Rudich A, Klip A. Push/pull mechanisms of GLUT4 traffic in muscle cells[J]. Acta Physiol Scand, 2003, 178(4):297—308.
- [9] Lund S, Holman GD, Schmitz O, et al. Contraction stimulates translocation of glucose transporter GLUT4 in skeletal muscle through a mechanism distinct from that of insulin [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92(13):5817—5821.
- [10] Krook A, Bjornholm M, Galuska D, et al. Characterization of signal transduction and glucose transport in skeletal muscle from type 2 diabetic patients [J]. Diabetes, 2000, 49(2):284—292.
- [11] Koistinen HA, Zierath JR. Regulation of glucose transport in human skeletal muscle[J]. Ann Med, 2002, 34(6):410—418.
- [12] Jessen N, Goodyear LJ. Contraction signaling to glucose transport in skeletal muscle [J]. J Appl Physiol, 2005, 99(1):330—337.
- [13] Wojtaszewski JF, Nielsen P, Hansen BF, et al. Isoform-specific and exercise intensity-dependent activation of 5'-AMP-activated protein kinase in human skeletal muscle [J]. J Physiol, 2000, 528 Pt 1:221—226.
- [14] Kurth-Kraczek EJ, Hirshman MF, Goodyear LJ, et al. 5' AMP-activated protein kinase activation causes GLUT4 translocation in skeletal muscle [J]. Diabetes, 1999, 48:1667—1671.
- [15] Jorgensen SB, Viollet B, Andreelli F, et al. Knockout of the α 2 but not α 1 5'-AMP-activated protein kinase isoform abolishes 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -D-ribofuranosidebut not contraction-induced glucose uptake in skeletal muscle[J]. J Biol Chem, 2004, 279:1070—1079.
- [16] Wojtaszewski JF, MacDonald C, Nielsen JN, et al. Regulation of 5'AMP-activated protein kinase activity and substrate utilization in exercising human skeletal muscle [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2003, 284:E813—822.
- [17] Richter EA, Nielsen JN, Jorgensen SB, et al. Exercise signalling to glucose transport in skeletal muscle[J]. Proc Nutr Soc, 2004, 63:211—216.
- [18] Viollet B, Andreelli F, Jorgensen SB, et al. The AMP-activated protein kinase α 2 catalytic subunit controls whole-body insulin sensitivity[J]. J Clin Invest, 2003, 111:91—98.
- [19] Ito Y, Obara K, Ikeda R, et al. Passive stretching produces Akt- and MAPK-dependent augmentations of GLUT4 translocation and glucose uptake in skeletal muscles of mice [J]. Pflugers Arch, 2006, 451(6):803—813.
- [20] Youn JH, Gulve EA, Holloszy JO, et al. Calcium stimulates glucose transport in skeletal muscle by a pathway independent of contraction[J]. Am J Physiol, 1991, 260(3 Pt 1):C555—561.
- [21] Cleland PJ, Appleby GJ, Rattigan S, et al. Exercise-induced translocation of protein kinase C and production of diacylglycerol and phosphatidic acid in rat skeletal muscle in vivo. Relationship to changes in glucose transport [J]. J Biol Chem, 1989, 264(30):17704—17711.
- [22] Ihlemann J, Galbo H, Ploug T, et al. Calphostin C is an inhibitor of contraction, but not insulin-stimulated glucose transport, in skeletal muscle[J]. Acta Physiol Scand, 1999, 167: 69—75.
- [23] Perrini S, Henriksson J, Zierath JR, et al. Exercise-induced protein kinase C isoform-specific activation in human skeletal muscle[J]. Diabetes, 2004, 53(1):21—24.
- [24] Nielsen JN, Frosig C, Sajan MP, et al. Increased atypical PKC activity in endurance-trained human skeletal muscle[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 312(4):1147—1153.
- [25] Yokokura H, Terada O, Naito Y, et al. Cascade activation of the calmodulin kinase family [J]. Adv Second Messenger Phosphoprotein Res, 1997, 31:151—157.
- [26] Dale S, Wilson WA, Edelman AM, et al. Similar substrate recognition motifs for mammalian AMP-activated protein kinase, higher plant HMG-CoA reductase kinase-A, yeast SNF1, and mammalian calmodulin-dependent protein kinase I [J]. FEBS Lett, 1995, 361(2-3):191—195.
- [27] Tanaka T, Nakatani K, Morioka K, et al. Nitric oxide stimulates glucose transport through insulin-independent GLUT4 translocation in 3T3-L1 adipocytes [J]. Eur J Endocrinol, 2003, 149(1):61—67.
- [28] Li J, Hu X, Selvakumar P, et al. Role of the nitric oxide pathway in AMPK-mediated glucose uptake and GLUT4 translocation in heart muscle [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2004, 287(5):E834—841.
- [29] Taguchi T, Kishikawa H, Motoshima H, et al. Involvement of bradykinin in acute exercise-induced increase of glucose uptake and GLUT-4 translocation in skeletal muscle: studies in normal and diabetic humans and rats [J]. Metabolism, 2000, 49(7):920—930.
- [30] Zeigerer A, McBrayer MK, McGraw TE, et al. Insulin stimulation of GLUT4 exocytosis, but not its inhibition of endocytosis, is dependent on RabGAP AS160 [J]. Mol Biol Cell, 2004, 15(10):4406—4415.
- [31] Sakamoto K, Hirshman MF, Aschenbach WG, et al. Contraction regulation of Akt in rat skeletal muscle [J]. J Biol Chem, 2002, 277(14):11910—11917.
- [32] Goodyear LJ, Hirshman MF, Smith RJ, et al. Glucose transporter number, activity, and isoform content in plasma

- membranes of red and white skeletal muscle[J]. Am J Physiol, 1991,261(5 Pt 1):E556—561.
- [33] King PA, Hirshman MF, Horton ED, et al. Glucose transport in skeletal muscle membrane vesicles from control and exercised rats [J]. Am J Physiol, 1989,257 (6 Pt 1):C1128—1134.
- [34] Konrad D, Bilan PJ, Nawaz Z, et al. Need for GLUT4 activation to reach maximum effect of Insulin -Mediated glucose uptake in brown adipocytes isolated from GLUT4 myc-Expressing Mice[J]. Diabetes, 2002,51(9):2719—2726.
- [35] Sweeney G, Somwar R, Ramlal T, et al. An inhibitor of p38 mitogen-activated protein kinase prevents insulin-stimulated glucose transport but not glucose transporter translocation in 3T3 -L1 adipocytes and L6 myotubes [J]. J Biol Chem, 1999,274(15):10071—10078.
- [36] Somwar R, Koterski S, Sweeney G, et al. A dominant-negative p38 MAPK mutant and novel selective inhibitors of p38 MAPK reduce insulin-stimulated glucose uptake in 3T3 -L1 adipocytes without affecting GLUT4 translocation [J]. J Biol Chem, 2002,277(52):50386—50395.
- [37] Abbud W, Habinowski S, Zhang JZ, et al. Stimulation of AMP-activated protein kinase (AMPK) is associated with enhancement of Glut1-mediated glucose transport [J]. Arch Biochem Biophys, 2000,380(2):347—352.
- [38] Xi X, Han J, Zhang JZ. Stimulation of glucose transport by AMP-activated protein kinase via activation of p38 mitogen-activated protein kinase[J]. J Biol Chem, 2001,276(44):41029—41034.

· 综述 ·

骨性关节炎软骨生物学标志物的国外研究进展*

李蕊¹ 肖迪² 周军¹

骨性关节炎(osteoarthritis, OA)是最常见的关节疾患之一,主要表现为关节缓慢发展的疼痛、僵硬、肿大,伴关节功能障碍,甚至发生残疾。OA 对人类的健康和生存质量影响很大,随着老龄化社会的到来,本病的发病率日趋升高,对其的研究已成为医学领域中的重要课题。目前,OA 的早期诊断、病变监测和有效防治仍是骨科领域亟待解决的疑难问题,是当今学者研究的焦点。本文将就国外近年来 OA 研究过程中使用的主要软骨生物学标志物进行综述,为深入研究 OA 提供可资借鉴的资料。

1 OA 诊断及评估现状

OA 的病理特点主要为关节软骨的退行性改变,进而导致关节软骨损伤、破坏,关节边缘和软骨下骨反应性增生,骨赘形成。目前,对 OA 的诊断主要依靠临床参数(疼痛、肿大、活动受限等)、影像学资料和关节镜检查等,其中,后两者对于明确关节部位组织病理变化情况有很大价值。影像学中 X 线的改变是评价 OA 进展的常用方法,但它仍具有一定的局限性,其特异性和敏感性较差。通过病理标本研究发现,即使在 X 线表现正常时,关节软骨也可能已严重受累;一旦患者出现 X 线改变,疾病往往已经处于进展期^[1-2],关节的正常功能和患者的生活质量已经受到严重的、不可逆的影响。磁共振成像(MRI)对软组织分辨率高,可从任意面成像及多参数、多序列成像,能直接显示软骨的改变情况,有助于 OA 的早期诊断^[3],但由于价格昂贵,难以用于大范围的疾病评估和普查。此外,关节镜是评价关节软骨受损的最佳手段,被认为是诊断关节软骨受损的金标准,可以直接观察透明软骨的肿胀及破溃情况。但是由于检查的有创性,且不能显示软骨深层和软骨下骨质的改变,其临床应用也受到限制。因此,探究有效、廉价且微创的检查手段来检测亚临床的 OA 和监测病变的进展,对早期诊断和有效防治 OA 有着重要的意义。

随着分子生物学的发展和研究手段的提高,目前许多研究者都在试图寻找用于临床评价 OA 的生物学标志物。OA 的生物学标志物,为关节组织基质的分子物质或片断,它们在组织合成和分解的代谢过程中被释放进入血液或尿液,可

以通过酶联免疫吸附法(ELISA)或放射免疫法进行测定^[4]。近年来,对软骨(Ⅱ型胶原 N 和 C 前肽、Ⅱ型胶原 C-端肽、软骨寡聚基质蛋白、软骨糖蛋白 YKL-40、Ⅱ型胶原 α 链片断等)、滑膜(Ⅲ型胶原 N 前肽、透明质酸等)及骨(Ⅰ型胶原 N 和 C 前肽、吡啶啉、脱氧吡啶啉等)的生物学标志物进行了大量的实验研究和临床分析^[5-8],并取得了一定进展,证明了 OA 的生物学标志物能够定量地、动态地监测骨关节组织的改变。由于 OA 的主要特征为关节软骨降解增加而引起软骨丢失^[9],因而反映软骨代谢的生物学标志物对于监测 OA 的病变进展具有很大的价值。

2 OA 软骨生物学标志物的研究进展

在关节病变过程中,软骨细胞外基质的合成与分解失去平衡,基本结构遭到破坏。其中Ⅱ型胶原和蛋白多糖的破坏最为显著,从而影响了关节软骨的正常生理功能。因此,这些能够反映软骨基质合成(PⅡNP、PⅡCP、CS846、YKL-40 等)和降解(CTX-Ⅱ、Ⅱ型胶原 α 链片断、COMP 等)的物质,被不少学者作为生物学标志物而用于 OA 病变的诊断和评估。

2.1 Ⅱ型胶原 C-端肽(CTX-Ⅱ)

Ⅱ型胶原是关节软骨的主要结构成分,占胶原总量的 80%—90%。OA 发生时,Ⅱ型胶原降解代谢加快,在蛋白酶的作用下,Ⅱ型胶原首先裂解产生 C-端肽,即为 CTX-Ⅱ。由于 CTX-Ⅱ 是Ⅱ型胶原的裂解产物,完全来自成熟的结构性胶原,以小肽形式全部进入尿液,可通过 ELISA 方法进行检测,因此具有作为 OA 候选生物学标志物基因的优势^[10]。有研究显示,OA 患者体内的 CTX-Ⅱ 水平较健康人显著升高,甚至可高达 3 倍^[11]。在反映骨、软骨和滑膜代谢水平的不同生物学标志物中,尿 CTX-Ⅱ 是预测关节软骨破坏进展的最好指标^[12-14]。不仅如此,还有研究发现 CTX-Ⅱ 水平高低还与关

* 基金项目:清华-裕元医学研究基金资料项目(2002400005-11)

1 首都体育学院,北京,100088

2 清华大学生命科学与医学研究院

作者简介:李蕊,女,硕士研究生

收稿日期:2006-09-26