

文章编号 1006-8147(2014)01-0077-04

综述

核因子- κ B 信号途径与胰岛素抵抗关系的研究进展

周晓磊, 张 鹏 综述, 尤胜义 审校

(天津医科大学总医院普通外科, 天津 300052)

关键词 核因子- κ B; IKK 激酶; 核因子- κ B 抑制蛋白; 胰岛素抵抗

中图分类号 R58

文献标志码 A

胰岛素抵抗是指胰岛素敏感组织如肝、骨骼肌、脂肪等受胰岛素介导的葡萄糖摄取和利用效能减低的一种病理生理状态。胰岛素抵抗是肥胖、高血压、血脂障碍、糖尿病和动脉粥样硬化的共同病理生理改变。随着对胰岛素信号转导通路认识的深入, 胰岛素抵抗的发生机制正逐步得以阐明。参与胰岛素信号转导的有胰岛素受体 (insulin receptor, IR)、受体后的信号转导通路及作用的效应蛋白^[1-2], 任何一部分出现异常均可导致胰岛素抵抗的发生^[3-4]。最近有研究表明核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号途径, 包括 IKK 激酶复合物 (inhibit kappa B kinase complex, IKKs)、NF- κ B 抑制蛋白 (inhibitor kappa B, I κ B) 和 NF- κ B, 该途径在胰岛素抵抗发生的分子机制中发挥重要作用。因此本文对 NF- κ B 信号途径的结构、生物学功能以及与胰岛素抵抗关系的研究进行综述。

1 IKKs 的结构和功能

1.1 IKKs 的结构 IKKs 属于 Ser/Thr 蛋白激酶超家族成员, 主要由 IKK- α 、IKK- β 和 IKK- γ 3 个亚单位组成, 其中 IKK- α 和 IKK- β 为功能单位, IKK- γ 为调节单位, 对 IKK- α 和 IKK- β 的活性进行调节。IKK- α 由 745 个氨基酸残基组成, IKK- β 由 756 个氨基酸残基组成, 相对分子质量分别为 85 和 87 kD, 具有高度序列同源性和相似的结构域。两者均包含氨基末端 Ser/Thr 蛋白激酶催化结构域 (kinase domain, KD), 1 个锌指结构域 (leucine zipper, LZ) 和 C 端螺旋-环-螺旋 (helix-loop-helix, HLH) 结构域, KD 有 52% 同源, HLH 结构域有 64% 同源性。在体外, IKK- α 和 IKK- β 以异二聚体或同二聚体形式存在, 但在体内只表现为异二聚体, LZ 是维持同源和异源二聚体的结构基础; KD 是其功能结构域, 它包含的促分裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase kinase, MAPKK) 激活环 (T 环) 结构中

的 Ser 残基发生磷酸化后, IKK- α 和 IKK- β 从无活性状态转化为活性状态; 而 HLH 和 KD 的相互作用起调节活性功能。IKK- γ 又称 NF- κ B (essential modifier, NEMO), 由富含谷氨酸 (glutamic acid, Glu) 的 419 个氨基酸残基组成, 相对分子质量为 48 kD。虽然 IKK- γ 没有 KD 结构域, 但在 3 个亚基中有 3 个大的 α 螺旋, 是 IKK- α 和 IKK- β 具有活性功能所必须的成分, 也是连接 IKKs 与信号途径上游的结构复合物。

1.2 IKKs 的功能 在静息状态下 IKKs 处于无活性状态, 当细胞受到病原微生物、应激、细胞因子、氧自由基等刺激时, 引起细胞内一些上游激酶如 NIK (NF- κ B inducing kinase) 等的活化, 从而导致细胞内 IKKs 的 Ser 残基磷酸化而活化。活化的 IKKs 能使 I κ B 氨基末端两个保守的 Ser 位点磷酸化^[5]。I κ B 的 Ser 磷酸化导致其氨基端第 21 和 22 位赖氨酸残基通过泛素连接酶 (ubiquitin ligase, E3) 复合物 SCF β -TRCP 与泛素共价结合, 泛素化使 I κ B 空间构象发生变化, 从而被 ATP 依赖性 26S 蛋白酶体识别并降解^[6-8]。I κ B 的降解导致 NF- κ B 从 p50/p65/I κ B 异源三聚体中游离而活化, 通过核孔复合物转位入核, 与特定的 κ B 序列结合引起相应靶基因的转录激活^[9]。IKK- α 和 IKK- β 作为 IKKs 的两个功能单位, 尽管具有高度同源性, 都能磷酸化 I κ B, 但是二者的功能有所不同。国外有学者将 IKK- β 的 Ser177 和 Ser181 突变为丙氨酸 (alanine, Ala), IKKs 的活性几乎完全被阻断, 失去对 TNF- α 、IL-1 和脂多糖的反应, NF- κ B 不能活化; 而将 IKK- α Ser176 和 180 突变为 Ala 并共表达 NIK, 对 IKKs 的活性没有影响^[10]。此外 Li 等^[11]研究发现, 在 IKK- β 缺陷小鼠成纤维细胞中, TNF- α 几乎完全不能诱导 NF- κ B 的活化, 由于 NF- κ B 能促进许多抗凋亡基因的转录, 所以表现为胎肝细胞大面积凋亡; 在 IKK- α 缺陷小鼠和胸腺细胞中, TNF- α 诱导的 I κ B 降解及 NF- κ B 活化并没有受到影响^[12]。上述针对 IKK- α 和 IKK- β 的位点

作者简介 周晓磊 (1981-), 男, 主治医师, 博士, 研究方向: 中西医结合临床; 通信作者: 尤胜义, E-mail: reyes2000@163.com。

突变和基因敲除研究均表明激活 IKK- β 的环状 Ser 是调控 IKKs 活性的主要因素,活化 NF- κ B 的功能也是主要由 IKK- β 承担的。另外,IKK- β 活化的 NF- κ B 是 p50/p65 二聚体^[13],而 IKK- α 活化的是 RelB/p52 二聚体^[14]。IKK α 可使 I κ B α 上的 Ser32 和 Ser36 磷酸化;IKK- β 不仅可使 I κ B α 上的 Ser32 和 Ser36 磷酸化,还能使 I κ B β 上的 Ser19 和 Ser23 磷酸化。所以 IKK- β /I κ B/NF- κ B 被称为 NF- κ B 信号经典途径。

2 I κ B 的结构和功能

I κ B 蛋白家族至少包括 I κ B α 、I κ B β 、p105/I κ B γ 、p100/I κ B δ 、bcl-3 七个成员^[15],所有 I κ B 蛋白家族羧基端均含锚蛋白重复序列,该重复序列是 I κ B 蛋白与 NF- κ B 结合所必需的,可结合 NF- κ B 的 Rel 同源结构域,遮蔽其核易位信号;I κ B 的氨基末端含有 Ser 磷酸化位点及泛素化位点,在信号诱导的 I κ B 降解中具有重要功能。I κ B 蛋白家族的主要功能是与 NF- κ B 结合,使后者以无活性的形式存在于细胞质中。

3 NF- κ B 的结构和功能

3.1 NF- κ B 的结构 NF- κ B 是由 Sen 和 Baltimore 于 1986 年首先在 B 淋巴细胞核中检测到的一种能与免疫球蛋白 κ 轻链基因的增强子序列特异性结合,并激活 κ 轻链基因的转录因子。在哺乳动物细胞中,NF- κ B 不是一个单一蛋白体,而是由 NF- κ B/Rel 家族中的多肽链亚单位组成的一组有多种结合形式的同源或异源二聚体。Rel 蛋白家族现已确定有 5 种多肽链亚单位:NF- κ B1 (p50 和其前体 p105)、NF- κ B2 (p52 和其前体 p100)、原癌基因 c-Rel、RelA (p65) 和 RelB,各亚单位的氨基端均有高度保守的由 300 个氨基酸组成的 Rel 同源区 (Rel homology domain, RHD)^[16]。根据其 C 末端序列的不同在脊椎动物又可分为两大类:一类包括 RelA (p65)、RelB 和 c-Rel,它们的 C 末端都包含有一个或以上的跨域激活结构域,内含丰富的 Ser、酸性及疏水性氨基酸;另一类包括 NF- κ B1 (p50) 和 NF- κ B2 (p52),它们不含跨域激活结构域,是由共同翻译或更大的前体蛋白 (p105 和 p100) 裂解而成,这些前体蛋白的 C 末端区域包含有多拷贝的锚蛋白重复序列 (ankyrin repeat),p50 和 p52 与本家族其它成员结合成二聚体化存留于胞浆,具有诱导结合的二聚体化区和核定位信号作用。通常所说的 NF- κ B 是指 p50/p65 异源二聚体,是生理情况下最常见的功能形式^[17]。

3.2 NF- κ B 的功能 在静息状态下 NF- κ B 的 p65

亚基与其抑制物 I κ B 结合,以无活性的复合物形式存在于胞浆。当细胞在炎症细胞因子、LPS、活性氧类、放射线、紫外线、病毒及其代谢产物等内、外源性因素的刺激下,通过一个或几个信号转导途径激活 IKKs,使 I κ B 氨基末端两个特异性 Ser 位点磷酸化。I κ B 的 Ser 磷酸化使其能与泛素分子共价结合,经蛋白酶体降解。I κ B 的降解使得 NF- κ B 上的核定位序列暴露,经核孔进入核内,与相应基因上的 κ B 序列发生特异性结合,发挥其对基因转录的调控作用。NF- κ B 调控基因编码的蛋白包括细胞因子如 TNF- α 、IL-1、IL-2、IL-4、IL-6 和 IL-8 等,单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1), 细胞间粘附分子-1 (intercellular adhesion molecules-1, ICAM-1), 血管细胞粘附分子-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1), E-选择素, 诱导型氮氧化物合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 和环氧化酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 等多种炎症介质^[18-22]。

3.3 NF- κ B 的功能调节 NF- κ B 功能的调节包括正、负反馈两个途径:(1) 经细胞外的正反馈途径。NF- κ B 活化后,可增强 TNF- α 和 IL-1 β 的基因转录,使其产生和释放增多,TNF- α 和 IL-1 β 进而再激活 NF- κ B,还使得 IL-6、IL-8 等其它炎症细胞因子产生增多,导致最初的炎症信号进一步放大^[23];(2) 经细胞内外的负反馈途径。在细胞内,NF- κ B 活化后,在启动炎症介质基因转录的同时,I κ B、p105 和 p100 等基因转录亦被上调,这些抑制蛋白的增加,有助于将 NF- κ B 限制在细胞质中,下调 NF- κ B 的活性,从而终止炎症介质的生成。此外,NF- κ B 的活化也使 p50 同源二聚体生成增多,它可与 NF- κ B 竞争性结合 κ B 序列,抑制 NF- κ B 的活性。在细胞外,LPS、TNF- α 和 IL-1 β 等还能刺激反向调节细胞因子 IL-10、IL-13 等产生,它们可阻断 NF- κ B 活化。

4 IKK/I κ B/NF- κ B 信号途径与胰岛素抵抗

现有的研究已经证实 IKK- β 的激活物与促进胰岛素抵抗的因素有重叠,许多机体内已知引起胰岛素抵抗的因素如 TNF- α 、游离脂肪酸 (free fatty acid, FFA)、糖皮质激素、血小板衍化生长因子 (platelet-derived growth factor, PDGF) 等都能活化 IKK- β ^[24-26],提示 IKK- β 与胰岛素抵抗的发生关系密切。Yuan 等^[27]构建了缺陷型 IKK- β 基因敲除小鼠以了解其对胰岛素抵抗的发生及逆转作用,结果发现纯合子 IKK- $\beta^{-/-}$ 小鼠因肝细胞凋亡而致宫内死亡,杂合子 IKK- $\beta^{+/+}$ 小鼠表型正常,其空腹血糖及胰岛素浓度较同窝 IKK- $\beta^{+/+}$ 小鼠显著降低,说明 IKK-

β 基因表达量的减少对胰岛素抵抗具有改善作用,随后他们在用该基因敲除小鼠与 Lep ob/ob 小鼠杂交实验中进一步证实这一结论。此外,有学者通过研究发现 IKK- β 的过度表达或被激活剂活化均能引起大鼠胰岛素抵抗,而降低 IKK- β 的表达或抑制其活性能提高大鼠胰岛素的敏感性,表明 IKK- β 在胰岛素抵抗的发生中起着重要作用^[28]。Cai 等^[29]利用转基因技术进一步研究了 IKK- β 对肝脏胰岛素抵抗的作用,他们选择性地在小鼠肝细胞表达人类 IKK- β 的组成性激活突变基因(constitutively active)制备转基因 LIKK 小鼠,结果这些转基因小鼠表现出明显的 2 型糖尿病表型,即高血糖和严重的肝脏胰岛素抵抗,同时应用水杨酸盐抑制 IKK- β 活性或使其肝脏过度表达抑制蛋白 I κ B α 能显著改善上述异常,表明 IKK- β 活化是促进肝脏胰岛素抵抗发生的重要因素。IKK- β 作为一种 Ser/Thr 蛋白激酶,活化后可以直接作用于胰岛素转导中的信号分子 IRS-1,催化其特定位点的 Ser 残基磷酸化,同时抑制其 Tyr 残基磷酸化,进而导致胰岛素抵抗的发生^[30]。

另一方面,IKK- β 作为 NF- κ B 的上游因子,能够催化 I κ B 经泛素-蛋白酶体途径降解,使 NF- κ B 活化。国外有学者研究了 NF- κ Bp50 基因敲除小鼠的代谢特点,ITT 和正常血糖-高胰岛素钳夹实验结果显示小鼠在胰岛素作用下的血糖水平和 HGP 均显著降低,说明敲除 NF- κ Bp50 基因使小鼠的胰岛素敏感性增加^[31]。而国内有学者用软脂酸作用于 3T3-L1 脂肪细胞使其产生胰岛素抵抗,然后用 Western blot 分别检测细胞及胞核 NF- κ B p65 蛋白的表达,并用激光扫描共聚焦显微镜对 NF- κ B p65 进行定位显示,结果发现细胞核内 NF- κ B p65 蛋白表达和核转位均明显增加^[32]。这些研究结果说明下调 NF- κ B 的活性能使肝脏和脂肪等组织的胰岛素敏感性增加,而上调 NF- κ B 的活性能诱导这些组织发生胰岛素抵抗。目前普遍认为胰岛素抵抗是一种慢性非特异性炎症过程,NF- κ B 调控的许多炎性介质如 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等均能导致胰岛素抵抗的发生。Cai 等^[29]制备了表达活性 IKK- β 的转基因 LIKK 小鼠,发现这些小鼠肝脏中 IL-6 的表达上升了 8.8 倍;而用抗体中和 IL-6 后,LIKK 小鼠的胰岛素抵抗得到了明显改善,由此提出 LIKK 小鼠发生胰岛素抵抗,可能是由于其 NF- κ B 活性增加导致一些炎症介质的表达增强。另外有研究证实,脂肪酸能通过激活 NF- κ B 活性使 TNF- α 和 IL-6 在骨骼肌细胞和 3T3-L1 细胞的表达增加,提示脂肪酸可能也是通过激活 NF- κ B 途径后引起炎症介质的表

达增加导致胰岛素抵抗的发生^[33-34]。这些结果阐明了 NF- κ B 活性增加导致胰岛素抵抗的发生是通过增加炎症介质转录介导的。

综上所述,NF- κ B 信号途径可能参与多种因素导致的胰岛素抵抗的发生,阻断该途径信号传递成为治疗胰岛素抵抗的新靶点。近年来,肝脏胰岛素抵抗在慢性胰腺炎引起糖代谢障碍中的致病作用越来越受到人们的重视,但是其作用的具体机制仍然不清,慢性胰腺炎是否通过影响 NF- κ B 信号途径导致肝脏胰岛素抵抗的发生,阻断该途径是否能治疗慢性胰腺炎引起的糖代谢障碍,目前国内少有报道。因此,笔者将对慢性胰腺炎 NF- κ B 信号途径的表达和活性变化进行探讨,旨在为阐明慢性胰腺炎肝脏胰岛素抵抗的分子机制提供实验依据,为临床寻找新型治疗药物开拓新思路。

参考文献:

- [1] Caricilli A M, Saad M J. The role of gut microbiota on insulin resistance [J]. *Nutrients*, 2013, 5(3): 829
- [2] Jiang Y, Pagadala J, Miller D, et al. Reduced insulin receptor signaling in retinal Müller cells cultured in high glucose[J]. *Mol Vis*, 2013, 19: 804
- [3] Shibata T, Takaguri A, Ichihara K, et al. Inhibition of the TNF- α -induced serine phosphorylation of IRS-1 at 636/639 by AICAR [J]. *J Pharmacol Sci*, 2013, 122(2): 93
- [4] De Souza C T, Frederico M J, da Luz G, et al. Acute exercise reduces hepatic glucose production through inhibition of the Foxo1/HNF-4 α pathway in insulin resistant mice [J]. *J Physiol*, 2010, 588(Pt 12): 2239
- [5] Qu F, Gao H, Zhu S, et al. TRAF6-dependent Act1 phosphorylation by the I κ B kinase-related kinases suppresses interleukin-17-induced NF- κ B activation [J]. *Mol Cell Biol*, 2012, 32(19): 3925
- [6] Kanarek N, Ben-Neriah Y. Regulation of NF- κ B by ubiquitination and degradation of the I κ Bs [J]. *Immunol Rev*, 2012, 246(1): 77
- [7] Xia Y, Padre R C, De Mendoza T H, et al. Phosphorylation of p53 by I κ B kinase 2 promotes its degradation by beta-TrCP [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(8): 2629
- [8] Qiu M, Chen Y, Chu Y, et al. Zinc ionophores pyrithione inhibits herpes simplex virus replication through interfering with proteasome function and NF- κ B activation [J]. *Antiviral Res*, 2013, 100(1): 44
- [9] Benard C, Cultrone A, Michel C, et al. Degraded carrageenan causing colitis in rats induces TNF Secretion and ICAM-1 upregulation in monocytes through NF- κ B activation [J]. *PLoS One*, 2010, 5(1): e8666
- [10] Delhase M, Hayakawa M, Chen Y, et al. Positive and negative regulation of I κ B kinase activity through IKK β subunit phosphorylation[J]. *Science*, 1999, 284(5412): 309
- [11] Li Q, Van Antwerp D, Mercurio F, et al. Severe liver degeneration in mice lacking the I κ B kinase 2 gene [J]. *Science*, 1999, 284(5412): 321
- [12] Gareus R, Huth M, Breiden B, et al. Normal epidermal differentia-

- tion but impaired skin-barrier formation upon keratinocyte-restricted IKK1 ablation [J]. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(4): 461
- [13] Riis J L, Johansen C, Vestergaard C, et al. CCL27 expression is regulated by both p38 MAPK and IKK β signalling pathways[J]. *Cytokine*, 2011, 56(3): 699
- [14] Tully J E, Nolin J D, Guala A S, et al. Cooperation between classical and alternative NF- κ B pathways regulates proinflammatory responses in epithelial cells [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2012, 47(4): 497
- [15] Yuan S, Zhang J, Zhang L, et al. The archaic roles of the amphioxus NF- κ B/I κ B complex in innate immune responses[J]. *J Immunol*, 2013, 191(3): 1220
- [16] Khan M K, Ansari I A, Khan M S, et al. Dietary phytochemicals as potent chemotherapeutic agents against breast cancer: Inhibition of NF- κ B pathway via molecular interactions in rel homology domain of its precursor protein p105 [J]. *Pharmacogn Mag*, 2013, 9(33): 51
- [17] Pavlová S, Kluska K, Vašíček D, et al. The involvement of SIRT1 and transcription factor NF- κ B (p50/p65) in regulation of porcine ovarian cell function [J]. *Anim Reprod Sci*, 2013, 140(3/4): 180
- [18] Schauer I G, Zhang J, Xing Z, et al. Interleukin-1 β promotes ovarian tumorigenesis through a p53/NF- κ B-mediated inflammatory response in stromal fibroblasts [J]. *Neoplasia*, 2013, 15(4): 409
- [19] Wang J, Jiang Y, Yang A, et al. Hyperhomocysteinemia-induced monocyte chemoattractant protein-1 promoter DNA methylation by nuclear factor- κ B/DNA methyltransferase 1 in apolipoprotein E-deficient mice [J]. *Biores Open Access*, 2013, 2(2): 118
- [20] Kim K H, Park J K, Choi Y W, et al. Hexane extract of aged black garlic reduces cell proliferation and attenuates the expression of ICAM-1 and VCAM-1 in TNF- α -activated human endometrial stromal cells [J]. *Int J Mol Med*, 2013, 32(1): 67
- [21] Li Q, Syrovets T, Simmet T, et al. Plasmin induces intercellular adhesion molecule 1 expression in human endothelial cells via nuclear factor- κ B/mitogen-activated protein kinases-dependent pathways [J]. *Exp Biol Med* (Maywood), 2013, 238(2): 176
- [22] Xu X, Chen X, Li Y, et al. Cyclooxygenase-2 regulated by the nuclear factor- κ B pathway plays an important role in endometrial breakdown in a female mouse menstrual-like model[J]. *Endocrinology*, 2013, 154(8): 2900
- [23] Ryu S, Shin J S, Jung J Y, et al. Echinocystic acid isolated from *clipta prostrata* suppresses lipopolysaccharide-induced iNOS, TNF- α , and IL-6 expressions via NF- κ B inactivation in RAW 264.7 macrophages [J]. *Planta Med*, 2013, 79(12): 1031
- [24] He B, Zhao S, Zhang W, et al. Effect of sodium salicylate on oxidative stress and insulin resistance induced by free fatty acids [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2010, 9(1): 49
- [25] Pereira S, Yu W Q, Frigolet M E, et al. Duration of rise in free fatty acids determines salicylate's effect on hepatic insulin sensitivity [J]. *J Endocrinol*, 2013, 217(1): 31
- [26] Tanti J F, Ceppo F, Jager J, et al. Implication of inflammatory signaling pathways in obesity-induced insulin resistance[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2013, 3: 181
- [27] Yuan M, Konstantopoulos N, Lee J, et al. Reversal of obesity- and diet-induced insulin resistance with salicylates or targeted disruption of I κ k β [J]. *Science*, 2001, 293(5535): 1673
- [28] Jiang S, Messina J L. Role of inhibitory κ B kinase and c-Jun NH2-terminal kinase in the development of hepatic insulin resistance in critical illness diabetes [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2011, 301(3): G454
- [29] Cai D, Yuan M, Frantz D F, et al. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB [J]. *Nat Med*, 2005, 11(2): 183
- [30] Huang F, Liu K, Du H, et al. Puerarin attenuates endothelial insulin resistance through inhibition of inflammatory response in an IKK β /IRS-1-dependent manner [J]. *Biochimie*, 2012, 94(5): 1143
- [31] Gao Z, Yin J, Zhang J, et al. Inactivation of NF-kappaB p50 leads to insulin sensitization in liver through post-translational inhibition of p70S6K [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(27): 18368
- [32] 易屏, 陆付耳, 陈广, 等. 游离脂肪酸刺激核因子 NF- κ Bp65 核转位诱导 3T3-L1 脂肪细胞胰岛素抵抗的分子机制[J]. *世界华人消化杂志*, 2007, 15(15): 1706
- [33] Salvadó L, Coll T, Gómez-Foix A M, et al. Oleate prevents saturated-fatty-acid-induced ER stress, inflammation and insulin resistance in skeletal muscle cells through an AMPK-dependent mechanism [J]. *Diabetologia*, 2013, 56(6): 1372
- [34] Ichioka M, Suganami T, Tsuda N, et al. Increased expression of macrophage-inducible C-type lectin in adipose tissue of obese mice and humans [J]. *Diabetes*, 2011, 60(3): 819

(2013-09-10 收稿)