

·综述·

前蛋白转化酶 1 (PC1) 与胰岛素原转化的研究进展

许丹, 任伟*

(重庆医科大学附属第一医院 内分泌科, 中国重庆 400016)

摘要: 前蛋白转化酶 1 (Proprotein convertase 1, PC1) 是胰岛素原转换为胰岛素的一个重要关键酶, PC1 缺陷导致胰岛素原转化障碍、高胰岛素原血症。2 型糖尿病 (T2DM) 患者存在高胰岛素原血症, 是原发的 β 细胞功能受损的表现, 是胰岛素原向胰岛素转化过程出现障碍所致。胰岛素原与胰岛素 (insulin, INS) 的比例失调是 T2DM (type 2 diabetes mellitus) 的一个重要特点, 甚至是 T2DM 发病的一个独立预测指标。因此, 研究 PC1 与胰岛素原转化、胰岛素原增高的确切机制和意义对 2 型糖尿病的防治是有肯定意义的。

关键词: 前蛋白转化酶 1; 胰岛素原; 2 型糖尿病

中图分类号: R587.1

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2011)04-0373-04

Research Progress of Proprotein Convertase 1 (PC1) and Proinsulin Conversion

XU Dan, REN Wei*

(Department of Endocrinology, First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Proprotein convertase 1 (PC1) is an important key enzyme for conversion of proinsulin into insulin. Its deficiency leads to proinsulin conversion disorder and hyperproinsulinemia. Hyperproinsulinemia in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) is the performance of primary β -cell dysfunction and is caused by the conversion disorder of proinsulin into insulin. The imbalance of the ratio of proinsulin and insulin is an important feature of T2DM and is even an independent predictor of pathogenesis of T2DM. Therefore, the study of the exact mechanism of PC1 and proinsulin conversion and proinsulin increase has positive significance for the prevention and treatment of T2DM.

Key words: proprotein convertase 1; proinsulin; type 2 diabetes mellitus

(*Life Science Research*, 2011, 15(4): 373~376)

2 型糖尿病是在遗传因素和环境因素的共同参与下引起的多因素疾病, 其发病机制是胰岛素分泌缺陷和/或胰岛素抵抗。近年的研究认为高胰岛素原血症是 T2DM 发病的一个重要因素, 是由 β 细胞功能障碍所致, 它反映在血中胰岛素原浓度增加, 也反映在 β 细胞转换机理方面存在着缺陷。胰岛素原由前胰岛素原转化而来, 在前蛋白转化酶的作用下转化为胰岛素 (INS) 和 C 肽, 胰岛素原的生物学作用同 INS 基本一样, 只是活性较弱。放射免疫法测得的 INS 实际是总免疫反应性

胰岛素, 包括 INS、胰岛素原及其中间代谢产物, 并非真正意义上的胰岛素, 造成胰岛素测定值不同程度的偏高。国外报道用放免法测定正常人空腹胰岛素原可占总免疫反应性胰岛素的 15%~30%, 在某些情况下如 T2DM、肥胖甚至超过了 50%。研究发现在 2 型糖尿病患者中约 2/3 存在高胰岛素原血症, 提示这些患者胰岛 β 细胞胰岛素原转化为 INS 有缺陷, 胰岛素原比值增高可作为胰岛 β 细胞功能减退或分泌受损的标志, 并与快速发展为 2 型糖尿病的危险相关。因此胰岛素

收稿日期: 2011-04-06; 修回日期: 2011-07-08

作者简介: 许丹(1986-), 女, 四川乐山人, 硕士研究生, 主要从事 2 型糖尿病发病机制研究; * 通讯作者: 任伟(1967-), 男, 重庆人, 重庆医科大学附属第一医院内分泌科教授, 博士, 主要从事 2 型糖尿病发病机制研究, E-mail: weiren67@yahoo.com.cn.

原向胰岛素转换的异常可能与糖尿病的发生有关,前蛋白转换酶 1 (PC1)是胰岛素原转换为胰岛素的一个重要关键酶,它与胰岛素原转化障碍和糖尿病的发生有怎样的关系? 本文就这个问题作一综述.

1 PC1 的基因结构和性质

人的 PC1 基因位于 5 号染色体长臂一区二带至长臂二区一带,由 14 个外显子和 13 个内含子组成,长度约 35 kb. 由该基因编码的蛋白属于枯草杆菌样蛋白酶家族,主要存在于胰腺的 β 细胞中,尚存在于垂体细胞和脑细胞,故又称神经内分泌特异性蛋白酶,调节中枢和外周的能量代谢^[1]. PC1 由 3 个重要的结构域组成,前结构域、催化结构域和尾部结构域^[2]. PC1 自身的合成是由一种非活性的前体通过两项重要的自我催化事件的发生而形成,首先 N 端结构域 KR109-110 位点处在内质网里被切割形成 85 kDa 的 PC1 前体,这种稍大的 PC1 亚型进一步在 RR617-618 位点切割,形成完整而有活性的大小为 66 kDa 的 PC1. 由 85~66 kDa 的转化对胰岛素原的加工是必须的^[3]. PC1 是胰岛素原转变和代谢的限制性内切酶,在调节胰岛素的生物合成中起主要作用. PC1 也负责切割前脑啡肽-促黑细胞素、前血管紧张素原、脑啡肽原等. 有研究表明 PC1 基因的突变与肥胖密切相关. PC1 的活性条件需要 Ca^{2+} 的存在,且与 pH 值密切相关. PC1 常需较高的 Ca^{2+} 浓度 (> 500 $\mu\text{mol/L}$) 和较低的 pH,未成熟的 β 细胞内分泌颗粒内 pH 为 5.5, Ca^{2+} 浓度为 1~10 mmol/L,有利于 PC1 发挥最佳作用^[4].

2 PC1 与胰岛素原转化

胰岛素原是由 86 个氨基酸组成的相对分子质量为 9 136 的直链多肽,胰岛素原为 C 肽和 INS 的前身,其中 C 肽由 35 个氨基酸构成. INS 由 21 个氨基酸的 A 链和 30 个氨基酸的 B 链构成. 胰岛素原向胰岛素的转化是在 β 细胞的高尔基复合体中进行的,主要有 3 个酶的参与,即 PC1、前蛋白转化酶 2(PC2)和羧基肽酶 E(CPE),其中 PC1 起主要作用^[5,6]. RODES 等将胰岛素原转化为胰岛素和 C 肽分为两条途径: 1) 胰岛素原先经 PC1 在第 32/33(精氨酸/谷氨酸)切开,形成 32/33 裂环胰岛素原,此裂环中间代谢产物不稳定,紧接着在 CPE 的作用下切掉 32/33 裂环胰岛素原的 31、

32(精、精)氨基酸,生成比较稳定的脱 31、32 胰岛素原,进一步在另一种内肽酶 II、PC2 和 CPE 的作用下分离切掉胰岛素原的第 64、65(赖、精)氨基酸,最终形成胰岛素和 C 肽^[7]; 2) 先由 PC2 将胰岛素原裂解为分离的 65、66 胰岛素原,再经羧基肽酶的作用形成不饱和的 64、65 胰岛素原,最后经 PC1 和羧基肽酶的作用产生胰岛素和 C 肽. 其中 PC1 在转变过程中起关键作用,第一条途径是人 β 细胞内胰岛素原向胰岛素转换的主要途径,约占 95%以上. 正常情况下胰岛素原的转变在其分泌前已大部分完成,外周血中胰岛素原的浓度极低. 当胰岛 β 细胞功能有缺陷时,由胰岛素原向胰岛素的转化出现障碍,则外周血中会出现“不成比例”的胰岛素原升高. PC1、PC2 还在胰岛 a 细胞内胰高血糖素原的转化、肠内 L 细胞胰高血糖素样肽 1(GLP1)的处理及胰岛 β 细胞内前胰岛淀粉样多肽的转化过程起重要的作用.

3 PC1 缺陷与胰岛素原转化障碍机制

3.1 PC1 基因变异

研究表明,小鼠的 PC1 异常等位基因 N222D 集中在 PC1 催化结构域,导致不正常的胰岛素原加工、肥胖和各种内分泌代谢障碍. PC1^{N222D/N222D} 小鼠胰岛素原加工缺陷导致葡萄糖不耐受,胰岛中检测到胰岛素原和加工中间体, PC1^{N222D/N222D} 小鼠存在高胰岛素血症,严重的胰岛素分泌障碍和 β 细胞超负荷,且 PC1 蛋白合成减少,更为特殊的是 66 kDa 亚型减少,而 85 kDa 亚型却增加,这表明 PC1 自我催化加工严重损害. 令人惊讶的是,研究发现 PC1^{N222D/N222D} 小鼠并不导致胰岛素抵抗,血糖保持正常. 更为重要的是,小鼠体内有成熟胰岛素的生成,也不发展为糖尿病. 进一步的研究提示这可能是由于 β 细胞肥大增生和代偿的胰岛素产生和分泌. 这就解释了 PC1^{N222D/N222D} 小鼠不发展为糖尿病的原因^[3].

另外,在 PC1 Gly593Arg 杂合子错义突变的病人中发现,PC1 前肽切割故障,使其在内质网中滞留; PC1 Glu250stop 复合杂合子无义突变的病人 PC1 蛋白催化结构域截短和 Ala213del 阅读框的删除. 有体外实验研究表明这两类突变导致 PC1 蛋白功能受损,以激素原加工障碍、反应性低血糖和早发肥胖为特征. 一类新的 PC1 Ser307Leu 纯合子突变导致 PC1 自身催化活性受损、成熟和分泌受阻. 患者存在空腹血浆胰岛素原和分离的

65、66 胰岛素原显著增高,但胰岛素和脱 31、32 胰岛素水平显著降低^[8]。

最近,在通过化学突变建立的 PC1 Asn222Asp 催化结构域纯合子错义突变小鼠的研究中,发现高胰岛素原血症,与在人体中观察到的结果相同。Zhu 等人构建 PC1 基因敲除小鼠,发现与人类表型一致,PC1^{-/-}小鼠合成成熟胰岛素缺陷,在外周循环和胰腺中,均以胰岛素原和分离的 65、66 胰岛素原为主要形式^[8]。Zhou 等报道 PC1 Null 小鼠胰岛素原转化严重受损^[9]。

3.2 基因相互作用与 PC1 合成缺陷

PC1 在胰岛素的翻译后修饰过程中起着十分重要的作用。研究表明,与 2 型糖尿病密切相关的基因变异可通过与 PC1 基因相互作用,介导 PC1 合成障碍和酶活性缺陷,影响胰岛素翻译后修饰和分泌,导致糖代谢异常。有实验在揭示 Pax6 基因突变小鼠血糖平衡异常发生的分子机制的研究中,发现 Pax6 基因突变小鼠胰岛和下丘脑中 PC1/3、PC2 的表达不论在 mRNA 水平还是在蛋白水平均有不同程度的下调^[10]。近年的研究表明,TCF7L2 基因变异通过损害胰岛素原转化增加 2 型糖尿病的易感性,进一步的研究表明 PC1、PC2、CPE 基因序列上有 TCF 结合位点,TCF7L2 基因变异可能通过影响 PC1、PC2 和 CPE 基因的转录而导致胰岛素原转化障碍^[11]。神经内分泌细胞中程序性细胞死亡因子 4 (Pcd4)基因敲除诱导 PC1 合成增加^[12]。研究表明 MafA (一种 β 细胞转录因子)通过调节 PC1、GLUT2、GLP-1 受体基因的表达来调节 β 细胞中的胰岛素合成, MafA 基因靶向敲除小鼠逐渐发展为糖尿病小鼠^[13]。

3.3 机体内外环境的变化

在 2 型糖尿病中,内外环境发生了变化,PC1、PC2 等酶失活,胰岛素原向胰岛素转化受阻,从而引起高胰岛素原血症。体内由胰岛素原转化为胰岛素,必须有 PC1、PC2 等酶的参与,这些酶又必须在严格的 Ca²⁺、pH 等内环境条件下,才能发挥其正常作用。Csorba 等发现 PC1 在很高且很窄的 Ca²⁺ 浓度下起作用,其浓度为 0.5 mmol/L。PC2 的最适 Ca²⁺ 浓度为 50~100 mmol/L。两者的最佳 pH 值范围在 5.5 左右^[14]。PC1、PC2 也受血糖调节,PC1、PC2 在血糖为 4 mmol/L 时可特异性的被激活,在 8~10 mmol/L 时达最大速率。由前胰岛素原向胰岛素原转换主要受血糖调节。短时间内 (>2 h) 血糖诱导的胰岛素原生物合成主要在翻译

水平上进行调节,且依赖血糖水平,在 8~10 mmol/L 血糖范围内,胰岛素的生物合成达最大速率。此外,长期暴露于增高的游离脂肪酸可能通过影响胰岛素原,PC1、PC2 的合成和转录后加工导致 2 型糖尿病的高胰岛素原血症。其机制可能为改变 Ca²⁺浓度和 pH 值^[15]。Boriesson A 等研究发现,大鼠胰岛长期暴露于含 IL-1 β 细胞因子的环境中,PC1 和 PC2 的 mRNA 水平下降,胰岛素原转化减少,这可能与在 1 型和 2 型糖尿病中胰岛素原水平增高密切相关^[16]。已有研究认为 TNF- α 、IFN- γ 等细胞因子也通过影响 PC1、PC2 的水平使胰岛素原的加工受阻^[17]。

4 胰岛素原增高与 β 细胞功能的关系

已有大量的研究发现,胰岛素原增高可以发生在肥胖和非肥胖的 2 型糖尿病患者、糖耐量异常(IGT)者、2 型糖尿病的一级亲属。关于胰岛素原的增高与 β 细胞功能的关系尚未完全明确。Roder ME 等发现胰岛素原的增高与肥胖引起的胰岛素抵抗无明显关系,故考虑与 β 细胞功能缺陷有关^[18]。Coifman R 等研究表明胰岛素原的增高是先于 β 细胞功能出现障碍而发生的^[19]。马博清等研究发现从糖耐量正常到 IGT 再到 2 型糖尿病,真胰岛素(TI)/免疫反应性胰岛素(IRI)比值是逐渐减低的,说明 TI/IRI 能够反映出不同糖耐量人群的胰岛 β 细胞功能,尤其是对 2 型糖尿病患者,计算 TI/IRI 比值,可以了解胰岛 β 细胞功能受损的程度,并指导临床治疗^[20]。

总之,PC1 缺陷导致胰岛素原转化障碍、高胰岛素原血症和多种内分泌代谢障碍。2 型糖尿病患者存在“不成比例”的空腹胰岛素原水平升高,反映了胰岛 β 细胞功能缺陷的存在,现在普遍认为应将胰岛素原与 INS 的比值改变作为反映 β 细胞功能缺陷的一个有价值的指标。尽管目前的研究表明人类 PC1 基因变异与 2 型糖尿病发病无明显关系,但是其与胰岛素原转化密切相关,可能间接增加 2 型糖尿病的危险。尽管胰岛素原增高与 β 细胞功能的关系尚未完全明确,但胰岛素原的增高及胰岛素原/胰岛素比例失调是 2 型糖尿病的一个重要特点是肯定的,甚至是 2 型糖尿病发病的一个独立的预测指标,故了解和研究 PC1 与胰岛素原转化、胰岛素原增高的确切机制和意义对 2 型糖尿病的防治是有肯定意义的。

参考文献 (References):

- [1] BENZINO M, WALLEY A J, MEYRE D, *et al.* Common nonsynonymous variants in PCSK1 confer risk of obesity[J]. *Nature Genetics*, 2008, 40(8): 943-945.
- [2] STEINER D F. The proprotein convertases[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 1998, 2(1): 31-39.
- [3] LLOYD D J, BOHAN S, GEKAKIS N. Obesity, hyperphagia and increased metabolic efficiency in PC1 mutant mice[J]. *Human Molecular Genetics*, 2006, 15(11): 1884-1893.
- [4] 王秀明, 姜雪梅, 王玲玲. 胰岛素原转换酶 1、2 和羧基肽酶 H 与 2 型糖尿病的关系 [J]. *中华医学杂志* (WANG Xiu-ming, JIANG Xue-mei, WANG Ling-ling. The relationship between proinsulin convertase 1, 2 and Carboxypeptidase H and type 2 diabetes mellitus[J]. *National Medical Journal of China*), 2005, 29(5): 396-397.
- [5] LU H F, YANG Y, ALLISTER E M, *et al.* The identification of potential factors associated with the development of Type 2 Diabetes[J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2008, 7(8): 1434-1451.
- [6] WANG J, XU J, FINNERTY J, *et al.* The prohormone convertase enzyme 2 (PC2) is essential for processing pro-islet amyloid polypeptide at the NH2-terminal cleavage site[J]. *Diabetes*, 2001, 50(3): 534-539.
- [7] MARZBAN L, TRIGO-GONZALEZ G, VERCHERE C B. Role of β -cell prohormone convertase (PC)1/3 in processing of pro-islet amyloid polypeptide[J]. *Diabetes*, 2004, 53(1): 141-148.
- [8] FAROOQI I S, VOLDERS K, STANHOPE R, *et al.* Hyperphagia and early-onset obesity due to a novel homozygous missense mutation in prohormone convertase 1/3 [J]. *Endocrine Society*, 2007, 92(9): 3369-3373.
- [9] ZHU X, ZHOU A, DEY A, *et al.* Disruption of PC1/3 expression in mice causes dwarfism and multiple neuroendocrine peptide processing defects[J]. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 2002, 99(16): 10293-10298.
- [10] WEN J H, CHEN Y Y, SONG S J, *et al.* Paired box 6 (PAX6) regulates glucose metabolism via proinsulin processing mediated by prohormone convertase 1/3 (PC1/3)[J]. *Diabetologia*, 2009, 52(3): 504-513.
- [11] LOOS R J, FRANKS P W, FRANCIS R W, *et al.* TCF7L2 polymorphisms modulate proinsulin levels and beta-cell function in a British European population[J]. *Diabetes*, 2007, 56(7): 1943-1947.
- [12] LANKAT-BUTTGEREIT B, MULLER S, SCHMIDT H, *et al.* Knockdown of Pcd4 results in induction of proprotein convertase 1/3 and potent secretion of chromogranin A and secretogranin II in a neuroendocrine cell line[J]. *Biology of the Cell*, 2008, 100(12): 703-715.
- [13] ARAMATA S, HAN S I, KATAOKA K. Roles and regulation of transcription factor MafA in islet beta-cells[J]. *Endocrine Journal*, 2007, 54(5): 659-666.
- [14] 李新荣. 胰岛素原与 2 型糖尿病关系的研究进展[J]. *陕西医学杂志* (LI Xin-rong. Progress in the relationship between proinsulin and type 2 diabetes [J]. *Shaanxi Medical Journal*), 2002, 31(2): 145-146.
- [15] FURUKAWA H. Long-term elevation of free fatty acids leads to delayed processing of proinsulin and prohormone convertase 2 and 3 in the pancreatic beta-cell line MIN6[J]. *Diabetes*, 1999, 48(7): 1395-1401.
- [16] BORJESSON A, CARLSSON C. Altered proinsulin conversion in rat pancreatic islets exposed long-term to various glucose concentrations or interleukin-1 β [J]. *Endocrinology*, 2007, 192(2): 381-387.
- [17] HOSTENS K, PAVLOVIC D, ZAMBRE Y, *et al.* Exposure of human islets to cytokines can result in disproportionately elevated proinsulin release[J]. *Clinical Investigation*, 1999, 104(1): 67-72.
- [18] RODER M E, DINESEN B, GARTLIN S G, *et al.* Intact proinsulin and beta-cell function in lean and obese subjects with and without type 2 diabetes[J]. *Diabetes Care*, 1999, 22(4): 609-614.
- [19] COIFMAN R, DALBOSCO I S, RUSSO E M, *et al.* Specific insulin and proinsulin in normal glucose tolerant first-degree relatives of NIDDM patients[J]. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 1999, 32(1): 67-72.
- [20] 马博清, 宋光耀, 叶蔚, 等. 真胰岛素测定对胰岛 β 细胞功能和胰岛素抵抗的评价[J]. *中国老年学杂志* (MA Bo-qing, SONG Guang-yao, YE Wei. Study of true insulin determinations in evaluating β cell function and insulin resistance[J]. *Chinese Journal of Gerontology*), 2004, 10(10): 883-885.