

文章编号: 1004-0374(2010)04-0321-05

锌转运蛋白 8 与 1 型和 2 型糖尿病的研究进展

奚晓雪, 郭军*

(南京医科大学基础医学实验教学中心, 南京 210029)

摘要: ZnT8(zinc transporter, member 8)是锌离子转运蛋白, 主要定位于胰岛 β 细胞, 能将胞浆锌离子转运至胰岛素储存/分泌性囊泡内, 其转运功能降低会影响胰岛素合成、储存和分泌, 能增加 2 型糖尿病(T2DM)的发病风险。ZnT8 蛋白也可作为抗原引起 β 细胞自身免疫损伤, 诱发 1 型糖尿病(T1DM)。ZnT8 基因多态性是引起其锌离子转运功能和免疫原性变化的重要因素, 与糖尿病的发生、发展密切相关。该文综述了 ZnT8 与 T1DM 和 T2DM 的研究进展, 提示 ZnT8 可作为糖尿病防治的新药物靶点。

关键词: 锌转运蛋白 8; 基因多态性; 1 型糖尿病; 2 型糖尿病

中国分类号: Q51; R587.1 **文献表示码** A

Development of the association of ZnT8 with type 1 diabetes and type 2 diabetes

XI Xiao-xue, GUO Jun*

(Laboratory Center for Basic Medical Sciences, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China)

Abstract: ZnT8 (zinc transporter, member 8) has recently emerged as a major autoantigenic target of type 1 diabetes and the encoding gene also acts as a genetic marker for type 2 diabetes. This transporter, localized in secretion/storage vesicles membrane, facilitates the cellular efflux of zinc from the cytoplasm into intracellular insulin-containing vesicles and provision of zinc for insulin maturation and storage processes. Altered function of ZnT8 in pancreatic β cells of subjects carrying the risk allele might produce zinc imbalance between secretory/storage vesicles and cytoplasm, with subsequent cell death and loss of β cell mass. Therefore, it may serve as a mediator of insulin synthesis, storage and secretion. The common polymorphism at aa 325 of the protein has been implicated in type 1 diabetes by determining the autoantibody epitope specificity. The polymorphism of the gene has been suggested for a dual role, which is in modulating anti-ZnT8 self-antibody specificity and conferring genetic susceptibility to type 2 diabetes. In this review, recent progresses of the study in ZnT8 structure, function and the association with type 1 diabetes and type 2 diabetes will be summarized.

Key words: zinc transporter member 8; gene polymorphism type 1; diabetes mellitus; type 2; diabetes mellitus

目前发现两个转运蛋白家族参与了机体锌离子的吸收和转运, *SLC30*(solute-linked carrier 30)基因编码的阳离子扩散辅助(cation diffusion facilitator, CDF)家族和*SLC39*(solute-linked carrier 39)基因编码的ZRT/IRT类似蛋白(ZRT/IRT-like protein, ZIP)家族。CDF 家族分成三个亚家族: 亚家族 I、II 和 III, 其成员广泛存在于原核细胞及真核生物中。迄今为止, 在哺乳动物中已发现 10 个 CDF 家族成员(ZnT1~10)。ZnT8 又称 SLC30A8(solute carrier family 30, member 8), 主要定位于胰岛 β 细胞, 介导

锌离子从胞浆至囊泡的转运, 参与胰岛素合成、储存和分泌的调节。研究表明, ZnT8 与糖尿病的发生、发展密切相关, 其基因 rs13266634(R325W)的单核苷酸多态性(SNP)与 1 型糖尿病(T1DM)和 2 型糖尿病(T2DM)存在显著相关性。

收稿日期: 2009-09-15; 修回日期: 2009-12-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(30871200); 江苏省高等学校大学生实践创新训练计划项目(20090370)

*通讯作者: E-mail: Guoj69@yahoo.com.cn

1 ZnT8 蛋白的结构和功能

ZnT8 蛋白以二聚体形式定位于β细胞胰岛素分泌/储存性囊泡膜上^[1] 调节胞浆和囊泡间的锌转运。该蛋白单体由 369 个氨基酸组成，含有 6 个跨膜α螺旋(I~VI)，其中第 IV 和第 V 结构域之间的环富含组氨酸^[2]。蛋白 C 和 N 端均位于胞浆中，C 端由两个α螺旋(aa 284~292、aa 327~341)，三个β折叠(aa 299~308、aa313~321、aa345~352)组成，其中前两个β折叠构成发卡结构^[3]。C 端 325 位多态性氨

基酸位于膜远侧，充分暴露在胞浆中(图 1)。人类 ZnT8 蛋白可能含有以下位点：三个 PKC 磷酸化位点、一个酪蛋白激酶 II 磷酸化位点、一个酪氨酸激酶磷酸化位点、一个 cAMP- 和 cGMP- 依赖蛋白激酶磷酸化位点、两个糖基化位点和 N-十四(烷)酰化位点。这些假定位点为 ZnT8 生物学功能的分子机制研究提供了线索。ZnT8 在物种进化中高度保守，人类和哺乳动物的 ZnT8 蛋白结构和功能非常相似，提示该蛋白在锌转运过程中发挥重要作用^[2]。

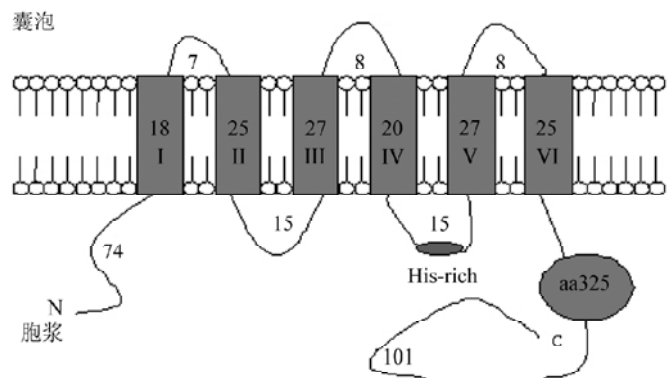


图1 锌转运蛋白8(ZnT8)的分子结构

多种因素参与调节胞内锌含量，维持其在适当的范围内。ZnT8 蛋白是一种重要的调节因素。ZnT8 借助囊泡膜上质子泵造成的 H⁺ 浓度差，每转出 2 个 H⁺ 的同时逆向转入 1 个 Zn²⁺，使 Zn²⁺ 积聚在囊泡内参与胰岛素成熟和储存^[3](图2)。大鼠胰岛素瘤 INS-1E 细胞实验表明，血糖水平正常情况下只采取补锌措施提高胞外锌离子水平，并不能使胞内锌总含量相应升高，而 ZnT8 蛋白过表达能促进细胞摄取和储存锌离子，增加胞内锌总含量^[4]。此外，ZnT8 蛋白可能在血糖升高刺激的胰岛素分泌过程中

发挥关键作用。血糖水平正常时，ZnT8 过表达虽可使胞内锌总含量升高，但胰岛素分泌量并不明显增加。血糖水平升高时，ZnT8 过表达可明显使胰岛素分泌量增加，几乎是非过表达 ZnT8 蛋白β细胞的两倍^[4]。

胰岛β细胞分泌/储存性囊泡膜上的质子泵消耗 ATP 将 H⁺ 由胞浆转运至囊泡腔内，造成囊泡膜内外 H⁺ 浓度差。ZnT8 借助此浓度差，转运出 2 个 H⁺ 同时转入 1 个 Zn²⁺^[3]，2 个锌离子与 6 个胰岛素分子单体构成六聚体储存在β细胞胰岛素分泌/储存囊泡腔

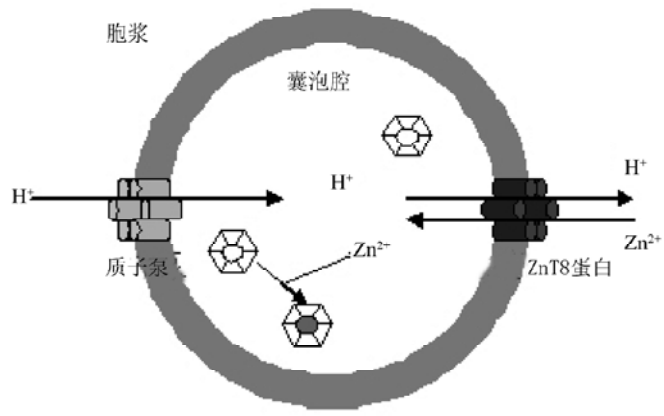


图2 ZnT8蛋白与胰岛素储存

内。

2 ZnT8 蛋白与 β 细胞功能异常的可能机制

ZnT8 蛋白变异时,其锌离子转运功能降低,囊泡和胞浆中的锌稳态被破坏, β 细胞功能损伤,胰岛素分泌不足^[5]。囊泡内锌浓度下降,其参与形成的胰岛素六聚体明显减少,囊泡胰岛素储存水平降低,外界高糖刺激下分泌至胞外的胰岛素相应不足。囊泡内的锌浓度降低也可导致囊泡内胰岛素原与胰岛素的比值升高。胞吐作用时胰岛素原不能完全转变为胰岛素, β 细胞分泌胰岛素的功能损伤。此作用机制尚不明确,可能与囊泡内锌离子减少后 β 细胞激素原转化酶1和2及羧肽酶E表达活性降低,囊泡内 pH 和钙离子浓度变化等方面有关^[6]。ZnT8 蛋白锌离子转运能力下降,导致锌离子不能及时转运至囊泡,也可破坏胞浆内锌稳态。过量锌离子积聚在胞浆中,当其达到或超过毒性阈值可诱发大量 β 细胞死亡^[7],其机制可能与胞内的 ATP 水平快速下降^[8]有关。

ZnT8 蛋白也可作为抗原引起 T 细胞介导的以 β 细胞受损为特征的自身免疫反应,甚至诱发 T1DM。ZnT8 引起 β 细胞自身免疫损伤的可能机制为: ZnT8 抗原表位被 MHC I 类分子提呈,表达在 β 细胞表面,CD8⁺Tc 细胞识别后经穿孔素依赖性途径和/或 Fas/FasL 途径杀伤 β 细胞。 β 细胞经细胞因子 IFN- γ 和 TNF- α 联合诱导后可能表达 MHC II 类分子,从而将 ZnT8 抗原表位递呈给 CD4⁺T 细胞,后者分泌多种细胞因子,并能激活巨噬细胞发挥细胞毒性作用,最终损伤 β 细胞。此外,ZnT8 也能激活 B 细胞参与诱导 β 细胞死亡。研究发现,在胰岛受损区有相当大比例的 B 细胞。非肥胖型糖尿病(NOD)小鼠实验表明,静脉输入的 B 细胞可经 B 淋巴细胞化学诱导物(BLC)作用后在胰岛中形成异位滤泡区^[9]。B 细胞能产生特异性的 ZnT8 抗体(ZnT8A),该抗体可在 T1DM 前驱期持续存在,抗体浓度随着年龄增大而升高,其致 β 细胞损伤的机制有待进一步研究^[10]。

3 ZnT8 基因多态性与 T1DM 抗原抗体特异性

ZnT8 基因位于人类 8 号染色体的 q24.11,有八个外显子和七个内含子,跨度为 37 kb, DNA 编码序列位于毗邻(序列)群 AC027419,转录起始位点在表达序列标签(EST)的 BM565086^[11]。研究发现,ZnT8 基因 rs13266634(R325W)单核苷酸多态性与白

种人 T1DM 易感性无关,但与 T1DM 抗原抗体特异性密切相关^[9]。

人类 ZnT8 基因 rs13266634(R325W)单核苷酸多态性决定了 325 位氨基酸残基多态性,C 和 T 等位基因分别编码精氨酸与色氨酸。此外,rs16889462 单核苷酸多态性可发生非同义替代,即当编码精氨酸或色氨酸的密码子中第二个核苷酸碱基由 C 变为 A 时,325 位的氨基酸变为谷氨酰胺^[12]。ZnT8 有三种构象表位,两种与 C 端 325 位的精氨酸和色氨酸有关,另外一种与 325 位氨基酸无关。据调查,约有 30% 的糖尿病患者对 325 位精氨酸能进行自身免疫反应,15%~20% 对色氨酸反应,30% 对非 325 位氨基酸抗原表位发生反应^[10]。ZnT8 诱发 T1DM 的机制与细胞和体液免疫反应均有关,但 ZnT8 蛋白三级结构难以在膜外环境中维持,因此对其诱发的免疫反应不易开展体外研究。目前认为 ZnT8 可能主要通过 T 细胞介导的细胞免疫损伤 β 细胞进而导致 T1DM,ZnT8 特异性抗体的致病作用尚不清楚^[10]。

ZnT8 基因多态性决定了 ZnT8 抗体(ZnT8A)的特异性,ZnT8A 对人类其它锌转运蛋白不表现出交叉反应性,同时对与人类基因序列相似度达 82% 的小鼠 ZnT8 也不表现。新发 T1DM 患者中可对 ZnT8 产生抗体的比例为 60%~80%,T2DM 患者小于 3%,与 T1DM 相关的自身免疫病患者约为 30%。ZnT8A 的敏感性也较高,T1DM 标志性抗体(谷氨酸脱羧酶(GADA),蛋白酪氨酸磷酸酶 IA2(IA2A),胰岛素抗体(IAA)和胰岛胞质自身抗体(ICA))阴性的患者中 ZnT8A 阳性的比例约为 26%。ZnT8A、GADA、IA2A 和 IAA 联合测定可使自身免疫反应检出率增至 98%^[12]。因此,ZnT8A 可单独作为 T1DM 病情进展的标志,也可与 IAA、GADA 或 IA2A 联合应用,预测个体 T1DM 的发生。

4 ZnT8 基因多态性与 T2DM 易感性

Sladek 等^[13]首次报道 ZnT8 基因 rs13266634 单核苷酸多态性可能与欧美人群 T2DM 发病风险增加有关。Steinthorsdottir 等^[14]证实 ZnT8 基因是新的 T2DM 易感基因。五个独立的人类基因组关联研究^[15-19]也认为 ZnT8 基因多态性与 T2DM 相关。此外,ZnT8 基因可能是中国汉族人 T2DM 的易感基因之一^[20]。C 等位基因(R325)与 T2DM 的发病危险性增高有关。静注葡萄糖耐量测试中,携带 CC 纯合子的糖尿病患者与携带 TT 纯合子或杂合子的患者相比,胰岛素敏感性下降。ZnT8 基因变异最终导致 T2DM

发生的机制可能与ZnT8蛋白锌离子转运功能减弱^[21]有关。ZnT8蛋白变异使囊泡和胞浆内的锌离子浓度失衡导致 β 细胞胰岛素分泌功能损伤,病情加重可进展为T2DM。此外,C等位基因可能是节俭基因的一种,与T2DM的发生关系密切。节俭基因表型表达可刺激胰岛素分泌,促进能量转化和储存。当食物丰富时,节俭基因高表达,基础及餐后胰岛素水平持续升高,长时间的高胰岛素血症及胰岛素抵抗最终将损害胰岛 β 细胞,导致 β 细胞分泌功能失代偿,出现高血糖症,如不及时治疗,高血糖毒性和高脂毒性可加重 β 细胞功能损害^[22],最终发生T2DM。ZnT8基因多态性与T2DM发病危险性增高有关,但并不是ZnT8危险基因携带者都会患T2DM,其他的疾病相关基因及饮食和生活方式也是重要的致病因素。

此外,ZnT8基因多态性与青春晚期糖尿病(MODY)无关,但与同种异体肾移植受者移植后糖尿病^[23]和妊娠糖尿病^[24]发病危险性增高有关。

5 总结与展望

ZnT8蛋白将胞浆中的锌离子转运至囊泡内,参与胰岛素的合成、储存和分泌调节。ZnT8基因多态性与T1DM抗原抗体特异性和T2DM易感性均相关,但其导致 β 细胞功能异常并最终诱发T1DM和T2DM的分子机制目前尚不清楚。对ZnT8蛋白深入研究,可为防治或延缓糖尿病发生提供理论依据。ZnT8蛋白过表达可增加囊泡锌储备和胞浆锌总含量并能在血糖升高时促进胰岛素分泌,因此,刺激ZnT8蛋白使其合成增加或功能增强有望降低糖尿病患者低锌血症带来的损害,防止胞内锌耗竭引起的 β 细胞凋亡和(或)其诱发的氧化应激损伤。此外,ZnT8蛋白具有免疫原性,可作为抗原引起 β 细胞自身免疫损伤,针对ZnT8蛋白研制的相关疫苗或抗体也许可以预防或治疗T1DM^[25]。

[参 考 文 献]

- [1] Overbeck S, Uciechowski P, Ackland ML, et al. Intracellular zinc homeostasis in leukocyte subsets is regulated by different expression of zinc exporters ZnT-1 to ZnT-9. *J Leukoc Biol*, 2008, 83(2): 368-80
- [2] Chimienti F, Favier A, Seve M. ZnT8, a pancreatic β -cell-specific zinc transporter. *BioMetals*, 2005, 18(4): 313-7
- [3] Wenzlau JM, Hutton JC, Davidson HW. New antigenic targets in type 1 diabetes. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2008, 15(4): 315-20
- [4] Chimienti F, Devergnas S, Pattou F, et al. *In vivo* expression and functional characterization of the zinc transporter ZnT8 in glucose-induced insulin secretion. *J Cell Sci*, 2006, 119(20): 4199-206
- [5] Mocchegiani E, Giacconi R, Malavolta M. Zinc signalling and subcellular distribution: emerging targets in type 2 diabetes. *Trends Mol Med*, 2008, 14(10): 419-28
- [6] Chistiakov DA, Voronova NV. Zn-transporter-8: a dual role in diabetes. *Biofactors*, 2009, 35(4): 356-63
- [7] Kim BJ, Kim YH, Kim S, et al. Zinc as a paracrine effector in pancreatic islet cell death. *Diabetes*, 2000, 49(3): 367-72
- [8] Chang I, Cho N, Koh JY, et al. Pyruvate inhibits zinc-mediated pancreatic islet cell death and diabetes. *Diabetologia*, 2003, 46(9): 1220-7
- [9] Luther SA, Lopez T, Bai W, et al. BLC expression in pancreatic islets causes B cell recruitment and lymphotoxin-dependent lymphoid neogenesis. *Immunity*, 2000, 12(5): 471-81
- [10] Wenzlau JM, Juhl K, Yu L, et al. The cation efflux transporter ZnT8 (Slc30A8) is a major autoantigen in human type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(43): 17040-5
- [11] Chimienti F, Devergnas S, Favier A, et al. Identification and cloning of a β -cell-specific zinc transporter, ZnT8, localized into insulin secretory granules. *Diabetes*, 2004, 53(9): 2330-7
- [12] Wenzlau JM, Frisch LM, Gardner TJ, et al. Novel antigens in type 1 diabetes: the importance of ZnT8. *Curr Diab Rep*, 2009, 9(2): 105-12
- [13] Sladek R, Rocheleau G, Rung J, et al. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature*, 2007, 445(7130): 828-30
- [14] Steinthorsdottir V, Thorleifsson G, Reynisdottir I, et al. A variant in CDKAL1 influences insulin response and risk of type 2 diabetes. *Nat Genet*, 2007, 39(6): 770-5
- [15] Sladek R, Rocheleau G, Rung J, et al. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature*, 2007, 445(7130): 881-5
- [16] Saxena R, Voight BF, Lyssenko V, et al. Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. *Science*, 2007, 316(5829): 1331-6
- [17] Scott LJ, Mohlke KL, Bonnycastle LL, et al. A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. *Science*, 2007, 316(5829): 1341-5
- [18] Zeggini E, Weedon MN, Lindgren CM, et al. Replication of genome-wide association signals in U.K. samples reveals risk loci for type 2 diabetes. *Science*, 2007, 316(5829): 1336-41
- [19] Steinthorsdottir V, Thorleifsson G, Reynisdottir I, et al. A variant in CDKAL1 influences insulin response and risk of type 2 diabetes. *Nat Genet*, 2007, 39(6): 770-5
- [20] 汪志红, 张素华, 王增产, 等. 中国汉族人群SLC30A8基因rs13266634多态性与2型糖尿病的关联. *上海医学*, 2008, 31(5): 323-7
- [21] Boesgaard TW, Zilinskaite J, Vanttinen M, et al. The common SLC30A8 Arg325Trp variant is associated with reduced first-phase insulin release in 846 non-diabetic offspring of type 2 diabetes patients—the EUGENE2 study. *Diabetologia*,

- 2008, 51(5): 816-20
- [22] 向若兰, 左瑾, 孟雁. β 细胞与2型糖尿病. 生命科学, 2004, 16(3): 165-9
- [23] Kang ES, Kim MS, Kim YS, et al. A polymorphism in the zinc transporter gene *SLC30A8* confers resistance against posttransplantation diabetes mellitus in renal allo-graft recipients. Diabetes, 2008, 57(4): 1043-7
- [24] Lauenborg J, Grarup N, Damm P, et al. Common type 2 diabetes risk gene variants associate with gestational diabetes. J. Clin. Endocrinol. Metab, 2009, 94(1): 145-50
- [25] Wenzlau JM, Liu Y, Yu L, et al. A common nonsynonymous single nucleotide polymorphism in the *SLC30A8* gene determines ZnT8 autoantibody specificity in type 1 diabetes. Diabetes, 2008, 57(10): 2693-7

· 简讯 ·

AB SCIEX 亚太应用支持中心在上海揭幕

2010年4月12日AB SCIEX公司宣布其亚太应用支持中心在上海正式揭幕。拥有当代最先进的、备受赞誉的设施,新应用支持中心将会成为一个提供卓越的综合服务、应用支持和方法开发的区域中心,使中国和亚太地区的科学界保持使用最新的质谱技术,更广泛、全方位地提供各项应用支持和保障。

这一先进配备将成为科学界了解以质谱分析为基础的实验室仪器的最新创新区域枢纽。该中心拥有的为制药、蛋白质组学和生物标志物的研究平台,为法庭科学、环境保护和食品安全检测市场而设的质谱检测仪器,其工作流程和应用手段一应俱全。主要功能包括:样品分析;仪器操作和工作流程演示;全面的应用培训;区域性的新应用方法的开发;现场和远程客户支持;以及生命科学等其他不同学科的研究领导者的科学合作。

AB SCIEX应用支持中心拥有当代最先进的设施,其中包括培训设备、7个演示实验室、样品前处理化学实验室、3个实验室储存室和一个服务区。作为可持续发展的榜样,该设施已经通过了美国绿色建筑协会LEED黄金级的认证,这是对于一栋建筑物的设计具有增强节约能源和减小环境影响战略的最高认可。LEED是一个第三方认证项目,并且成为全球公认的设计、建造和实施高性能绿色建筑的标准。LEED通过认可人类和环境健康在五个关键领域的表现来促进整体建筑计划的可持续性:可持续环境发展、节约用水、能源效率、材料选择和室内环境质量。

AB SCIEX与中国在整个生命科学产业的伙伴关系历史悠久,为中国政府机构、学术研究、临床研究和制药行业的客户,如中国科学院上海生命科学研究院、中国疾病预防控制中心、中国国家食品药品监督管理局(SFDA)、中国国家质量监督检验检疫管理局等提供服务。

关于AB SCIEX

AB SCIEX是在先进技术开发领域的全球领先企业,帮助应对复杂的科学挑战并改善我们的世界。该公司为生命科学提供科学仪器、软件和服务,提供临床研究及工业市场,授权客户用于药物开发和制造、食品和环境安全以及临床研究的技术。AB SCIEX拥有近30年的创新历史,在市场中一直处于领先地位,其前身为美国应用生物系统公司和美迪希实验仪器公司的合资企业。2010年1月30日,AB SCIEX作为丹纳赫集团的子公司开始运营。

更多资料请访问官网: www.absciex.com