

文章编号: 1004-0374(2010)06-0567-08

胰岛淀粉样多肽的研究进展

张鑫, 程彪, 黄昆*

(华中科技大学同济药学院生物药理学系, 武汉430030)

摘要: 由蛋白错误折叠后聚集所产生的淀粉样蛋白沉积是导致老年痴呆症、疯牛病、2型糖尿病等多种疾病的重要因素。由胰岛淀粉样多肽(islet amyloid polypeptide, IAPP)所形成的淀粉样蛋白沉积, 具有破坏胰岛 β 细胞膜结构、诱导 β 细胞凋亡和损伤 β 细胞功能的作用, 被认为是2型糖尿病的重要致病原因之一。对IAPP的聚集性、聚集体的结构, 以及其对 β 细胞的毒性作用研究, 不但有助于明确2型糖尿病的发病机制, 而且最新研究也表明抑制IAPP的聚集可有效减少 β 细胞的凋亡, 提高胰岛移植的成功率。因此, IAPP已成为2型糖尿病治疗中一个具有良好前景的靶点。该文对IAPP研究的最新进展进行了简要介绍。

关键词: IAPP; 淀粉样沉积; 2型糖尿病

中图分类号: Q593.9; R587.1 **文献标识码:** A

Recent progress of islet amyloid polypeptide

ZHANG Xin, CHENG Biao, HUANG Kun*

(Department of Biopharmacy, Tongji School of Pharmacy,

Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

Abstract: Amyloid protein and depositions formed by misfolded proteins have been identified in multiple diseases, including Alzheimer's disease mad cow disease, and were considered as an important causative factor of these diseases. In type 2 diabetes, the misfolded islet amyloid polypeptide (IAPP) was identified as the major component of amyloid deposition identified in the autopsy samples of patients' islets of Langerhans. Studies *in vivo* and *in vitro* suggested that IAPP can disturb the integrity of β cell membrane, induce β -cell apoptosis and damage β -cell function, and was thus considered as one of the important causative factors of type 2 diabetes. The molecular pathogenesis of type 2 diabetes can be elucidated via studying the mechanisms of IAPP aggregation, multiple IAPP aggregation forms and their respective structures, and its β cell toxicity. On the other hand, inhibition of IAPP aggregation has been proven effectively reducing the β -cell apoptosis and ensuring the success of pancreas transplantation, thus making IAPP a potential therapeutic target of type 2 diabetes. In the present review, the latest progresses on the aggregation of IAPP were summarized.

Key words IAPP; amyloid; type 2 diabete mellitus

糖尿病是由人体营养代谢障碍导致的内分泌疾病, 以持续性高血糖为基本生化特征, 目前已成为人类第五大死因, 被认为是危害仅次于心脑血管病和恶性肿瘤的非传染性疾病。糖尿病分为1型和2型, 其中2型糖尿病(T2DM)人数, 占糖尿病患者总数的90%以上。2型糖尿病基本特征为: 在胰岛素抵抗的基础上, β 细胞功能的受损。有关2型糖

尿病的发病机制目前尚未阐明。在对该型患者的尸检中发现, 约95%患者的胰岛组织出现了淀粉样蛋白包裹的沉积, 而这类淀粉样蛋白沉积已被发现存

收稿日期: 2009-12-16; 修回日期: 2010-02-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(30801445, 30970607); 教育部博士点基金(200804871111)

*通讯作者: E-mail:kunhuang2008@hotmail.com

在于多种病理状态中,如阿尔茨海默病(Alzheimer's disease)、疯牛病、亨廷顿综合征等,这些淀粉样蛋白沉积被认为是导致相关病灶组织细胞死亡的主要原因。导致这些淀粉样蛋白沉积形成的主要原因就是体内某些蛋白质分子的错误折叠及随后的聚集沉淀,如阿尔茨海默病中的淀粉样蛋白 β (β -amyloid, A β)、疯牛病中的朊蛋白(又称朊病毒, prion)等。1987年, Cooper等^[1]从糖尿病患者胰岛组织的淀粉样蛋白沉淀中鉴定了其成分——含37个氨基酸残基的胰岛淀粉样多肽(islet amyloid polypeptide, IAPP)。进一步的研究表明, IAPP与胰岛素共同由胰岛 β 细胞合成及分泌,生理状态下的IAPP可以协同胰岛素等血糖调节激素对人体血糖进行更精准的调节。人胰岛淀粉样多肽(human islet amyloid polypeptide, hIAPP)具有很强的错误折叠、形成淀粉样蛋白聚集的倾向,是目前已知的淀粉样聚集性最强的多肽之一。近年研究发现, hIAPP能够与脂质膜相互作用,破坏细胞膜的屏障,这可能是导致糖尿病的重要原因之一^[2]。此外, hIAPP的聚合物通过打断 β 细胞间的耦合、诱导 β 细胞的凋亡等机理,导致中晚期2型糖尿病患者的 β 细胞功能损伤,加重糖尿病的病情。多项研究表明, IAPP自身的序列、所处的环境等因素均能影响其聚集性,而抑制IAPP的聚集对2型糖尿病的治疗以及胰岛移植等临床应用都显示出了极高的价值。

本文介绍了IAPP的分子结构及生理功能,并重点对近年来关于IAPP聚集性的分子机制、IAPP的聚集形式与2型糖尿病病理过程的相关性等研究领域进行了综述。

1 胰岛淀粉样多肽的生物合成及其单体结构

hIAPP基因位于12号染色体短臂,由于与降钙素及降钙素基因相关肽有较高的序列同源性(46%),以及与降钙素家族其他成员相同的信号通路^[3],因此IAPP也被列为降钙素家族成员(图1A)。在 β 细胞内,首先合成的是含89个残基的IAPP前体——PreproIAPP。然后,PreproIAPP在内质网内由信号肽酶水解形成含67个残基的ProIAPP,后者在高尔基体内经激素原转化酶PC1/3(prohormone convertase enzyme 1/3)和PC2的酶切作用后进入到分泌小泡,再经羧肽酶E(carboxypeptidase E, CPE)和肽氨酰胺单氧合酶(peptidylamidating monooxygenase, PAM)进一步作用后形成由37个氨基酸组成的成熟IAPP^[4](图2)。值得注意的是,胰岛素的生物合成与分泌途径与IAPP高度一致,也是由其前体Preproinsulin依次经过PC1/3、PC2、CPE的作用,形成成熟的胰岛素,而且在 β 细胞内,胰岛素与IAPP在经历相同的生物合成与处理步骤后,共同储存在分泌小泡中,并在受刺激后与IAPP一同分泌,惟一不同的是胰岛素的合成不需要

human_CGRP	ACDTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNNFVPTNVGSKAF
human_calcitonin	CGNLSTCMLGTYTQDFNKFHTVVKNNFPQTAIGVGAP
human_IAPP	KCNTATCATQRLANFLVHSSNFGA ILSSTNVGSNTY
(A)	
cat_IAPP	KCNTATCATQRLANFLIRSSNNLGAILSPNTVGSNTY
mouse/Rat_IAPP	KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY
human_IAPP	KCNTATCATQRLANFLVHSSNFGA ILSSTNVGSNTY
(B)	
Symlin	KCNTATCATQRLANFLVHSSNFGP [*] IL ^{**} PP ^{**} TNVGSNTY
human_IAPP	KCNTATCATQRLANFLVHSSNFGA ILSSTNVGSNTY
(C)	

图1 IAPP与相关多肽的序列比较

(A)降钙素家族多肽比较; (B)不同种属IAPP的序列比较; (C)hIAPP与symlin的序列比较,比较中不同的残基以星号示出。序列残基的标记为:绝对保守残基(黑体加粗),部分保守残基(黑),不保守残基(灰)

PAM 的作用。

大量研究表明, hIAPP 单体(monomer)在生理条件下主要以无序结构(random coil)形式存在,但利用序列软件分析发现 hIAPP 中的某些序列片段具有形成局部区域二级结构的倾向(图 3A), 实验研究也发现 hIAPP 单体在一些溶剂条件下, 结构会发生明显变化, 例如 Higham 等^[7]应用圆二色和荧光研

究, 发现 hIAPP 单体下在三氟乙醇(TFE)中会形成大量 α -螺旋结构。

2 胰岛淀粉样多肽的生理功能

IAPP 在新陈代谢, 尤其是血糖控制方面起重要作用。

IAPP 能够抑制食物的吸收和胃排空。在相同环境下, IAPP 基因敲除小鼠的胃排空加速, 体重

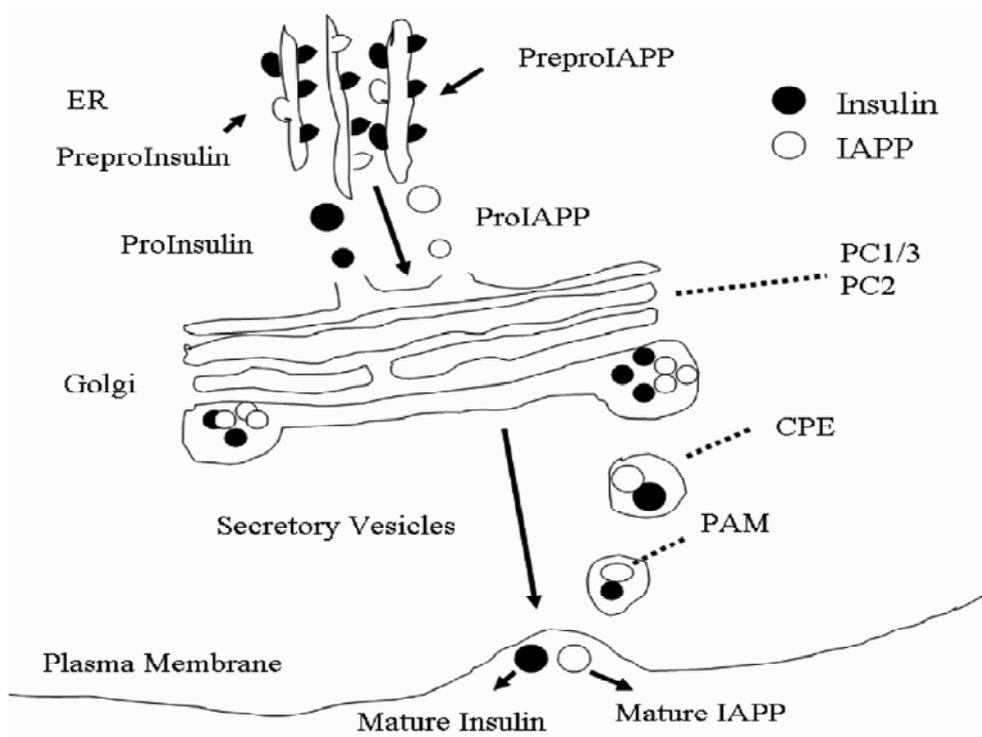


图2 IAPP和Insulin在β细胞内的生物合成过程

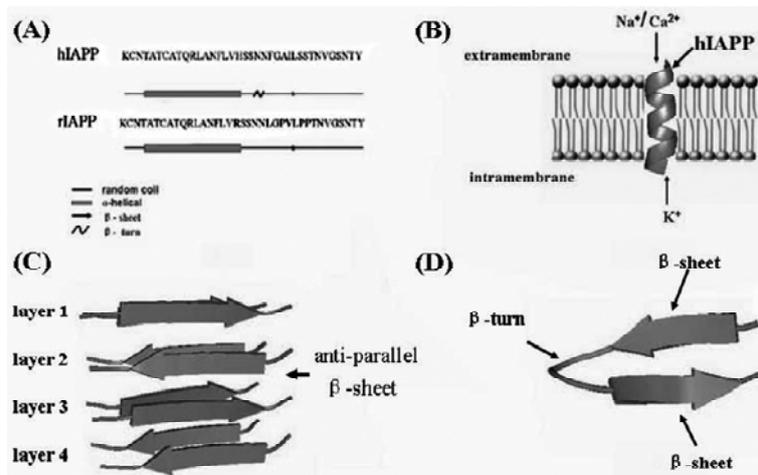


图3 不同形态hIAPP的结构

(A) 基于氨基酸序列的hIAPP及rIAPP的二级结构预测(Sspro8^[5]软件); (B) hIAPP寡聚体 α -螺旋穿膜结构的示意图; (C) X-ray晶体衍射获得的淀粉样沉积的分子结构示意图; (D) 根据分子模拟所获得的一个hIAPP的 β -hairpin结构示意图^[6](图像B-D主要由软件Pymol生成)

比正常小鼠高出30%^[8]。在1型和2型糖尿病患者中存在胃排空加速,但注射IAPP后,胃排空速率显著下降^[9]。

IAPP还能够抑制胰岛素分泌。研究发现,胆碱能神经系统参与了 β 细胞调节胰岛素的分泌过程,而IAPP能够通过阻断胆碱能机制来抑制胰岛素的分泌。IAPP还能够抑制由葡萄糖刺激引起的胰岛素的分泌,但仅当IAPP浓度大于10 mmol/L时才具有此功能。鉴于在正常生理条件下循环中的IAPP浓度较低(pmol/L级),因此该机制在正常情况下可能并不发挥作用^[10]。

IAPP对胰高血糖素的分泌也有一定抑制作用。研究发现,IAPP能够通过改变血液中葡萄糖的浓度(plasma glucose concentration)^[11]和抑制胰岛素的分泌^[12]来抑制胰高血糖素的分泌。但IAPP并不影响胰高血糖素的正常功能,在低血糖时胰高血糖素仍可正常发挥作用^[13]。

在1型糖尿病患者中,由于胰岛 β 细胞被破坏,IAPP和胰岛素的分泌总量不足,导致糖尿病症状的产生。临床研究显示:提高1型糖尿病患者体内的IAPP水平,对于患者的体重控制、餐后血糖控制以及长期血糖控制均有良好效果^[14]。在这些研究基础上,美国Amylin公司开发了世界首个基于IAPP的类似物药物-Symlin(pramlintide acetate)(图1C),该药物目前主要辅助胰岛素用于1型糖尿病患者^[15]。

除调节血糖外,IAPP还具有其他一些生理功能,如扩张血管,降血钙;激活肾素——血管紧张素系统;抑制胃酸分泌,保持胃黏膜完整;抑制心房钠尿肽的分泌;协助氨基酸越过血脑屏障,升高体温等^[16]。

3 hIAPP的聚集性、聚集体结构与2型糖尿病

出现在多种病理状态下的蛋白淀粉样聚集是造成人类多种疾病的重大原因。如造成阿尔茨海默病的 β 淀粉样蛋白,就可以错误折叠并聚集后造成大脑相关组织细胞的死亡。而hIAPP蛋白也具有很强的聚集成淀粉样蛋白沉积能力,是目前已知的最强的具有成淀粉样蛋白沉积性质的蛋白之一,而且hIAPP的聚集也被认为是造成2型糖尿病的重要原因之一,因此对hIAPP聚集性的研究也具有重要的医学临床意义^[17]。

在 β 淀粉样蛋白的研究基础上,研究者提出

hIAPP在最终形成高聚淀粉样蛋白沉积之前,无规则卷曲的hIAPP首先通过单体分子间疏水片段的相互交联,形成具有一个 α 螺旋结构的hIAPP寡聚体(oligomers);而后大量寡聚体之间通过耦合后,最终形成多聚体沉淀(amyloid deposit),即具有大量 β 折叠片层结构的蛋白淀粉样聚集,也就是电镜下在糖尿病患者胰岛 β 细胞周围观察到的淀粉样沉积状态。深入研究表明,hIAPP的这两个聚集阶段很可能是分别通过以下途径影响了 β 细胞的正常功能:

3.1 hIAPP寡聚体的结构及其对 β 细胞的影响

hIAPP寡聚体可在 β 细胞膜表面形成非选择性离子通道,增加细胞膜的通透性,从而破坏细胞膜屏障,导致 β 细胞死亡。研究认为,hIAPP寡聚体造成细胞死亡可能与其形成的 α 螺旋结构有关。Jayasinghe和Langen^[18]用圆二色(CD)和荧光法研究后认为,当hIAPP与脂质体相互作用并寡聚时,hIAPP由单体的无规则卷曲结构变成8~18位氨基酸具有 α -螺旋结构的hIAPP寡聚体。Nanga等^[19]通过磁共振(NMR)和十二烷基磷酸微胞(DPC micell)研究发现,hIAPP寡聚体在该模型体系中7~17位形成了跨膜 α -螺旋结构。

目前,对hIAPP寡聚体的结构研究大多表明, α -螺旋结构是hIAPP寡聚体的主要存在形式,而这些跨膜 α -螺旋结构可能是hIAPP寡聚体具有细胞毒性的主要原因之一。Anguiano等^[20]认为由于hIAPP能与细胞膜相互作用形成具有管状通道的中空 α -螺旋结构的寡聚体,通过该中空管状结构,hIAPP寡聚体可以以跨膜的方式穿透细胞膜并锚定在膜上,从而导致细胞膜穿孔(pore-like)(图3B),形成非选择性离子通道,导致膜内外 Ca^{2+} 、 Na^{+} 等电解质流通、渗透压失衡;同时该 α -螺旋结构还会引起 β 细胞膜形成囊泡、小管或者造成膜的缺失。

破坏 β 细胞间的耦合是hIAPP寡聚体导致 β 细胞死亡的另一途径。Ritzel等^[21]对离体胰岛的研究发现,经hIAPP寡聚体处理后,胰岛在显微镜下体积明显变大,同时伴有形状不规则及胰岛素分泌下调等现象,表明 β 细胞间的耦合断裂和 β 细胞的死亡。通过以上因素,hIAPP寡聚体最终导致 β 细胞死亡,引发糖尿病。

3.2 hIAPP淀粉样聚集的结构及其对 β 细胞的影响

目前,hIAPP所形成的淀粉样聚集的空间结构解析工作仍在进行中,研究者已经研究了一些hIAPP片段的聚集结构,并试图在此基础上推测

hIAPP的淀粉样聚集结构。Wiltzius等^[22]研究发现, hIAPP的2个片段小肽NNFGAIL(21~27)和SSTNVG(28~33)能够形成与hIAPP类似的淀粉样聚集。通过X-Ray衍射对这2个片段肽的晶体结构研究发现, 2个片段肽都具有类似拉链样(steric zipper)的 β -sheet结构, 片层间通过氢键结合, 形成密集的片层堆积结构(图3C)。近期Dupuis等^[6]基于离子淌度质谱(IM-MS)和分子动态模拟结果, 提出hIAPP淀粉样聚集可能在非水溶液(dehydrated solution)中存在2个结构: 一种是含 β -转角(18~23区域)的 β -发卡结构(图3D), 而另一种则是螺旋卷曲(helix-coil)结构, 两种结构在溶液中处于动态平衡, 而当溶液pH升高时, 溶液中 β -发卡结构比例显著增加, 该 β -发卡结构与Serpell等^[23]所发现的A β 中存在 β -发卡结构也具有一定相似性。

功能研究发现, 相比起高度细胞毒性的hIAPP寡聚体, 具有片层结构的hIAPP淀粉样聚集体对 β 细胞正常的生理功能影响较小, 但hIAPP淀粉样聚集仍可能从加强氧化应激反应和抑制蛋白酶体功能等方面对 β 细胞产生毒性作用。hIAPP所形成的淀粉样聚集可以改变氧化应激路径、增强氧化应激反应, 从而导致 β 细胞凋亡。将hIAPP淀粉样沉积物与转hIAPP基因小鼠的胰岛细胞共同孵育后发现, 伴随孵育时间的延长, β 细胞内活性氧浓度与 β 细胞的凋亡均有显著增加^[24]。在 β 细胞中, hIAPP的淀粉样聚集可以诱导产生氧化应激反应, 后者又可反馈促进淀粉样沉淀的产生, 从而形成恶性循环, 最终引起 β 细胞凋亡^[25]。此外, Andrews等^[26]发现hIAPP所形成的淀粉样聚集还可以抑制蛋白酶体功能, 这也是IAPP细胞毒性的另一原因。另外, 聚集后的hIAPP也可通过激活酸性磷酸酶产生神经酰胺这一途径抑制细胞膜离子通道活性, 进而介导 β 细胞凋亡^[27]。

人类蛋白淀粉样聚集疾病具有众多共同点及联系, 这表明它们可能具有相似的分子作用机制。除了可对胰岛 β 细胞造成伤害外, hIAPP的聚集体对其他细胞也可产生毒性, 例如将hIAPP的淀粉样沉积物与海马细胞及大脑皮层细胞一同培养, 发现可产生与A β 相似的细胞毒性作用^[28]。因此, 作为淀粉样蛋白的典型代表之一, 对hIAPP的聚集机理以及影响IAPP聚集性的因素的研究不仅有利于阐明2型糖尿病的发生和治疗机制, 而且对其他淀粉样沉积疾病的机理和治疗也将有参考作用。

4 影响聚集性的因素及抑制聚集性的意义

4.1 影响IAPP的聚集性的因素

研究表明, IAPP的聚集性与多种因素相关。在hIAPP聚集的早期阶段, hIAPP的前体蛋白ProIAPP可能起重要作用。在hIAPP的生物合成过程中, 一方面, ProIAPP的错误酶处理可能产生多种不成熟的hIAPP形式, 而这些不成熟的形式在hIAPP的聚集初期可以起到成核作用, 它们可以加快hIAPP形成淀粉样沉淀的速度^[29]; 另一方面, ProIAPP自身也同样具有淀粉样沉积作用。在一个缺乏ProIAPP处理所需的关键酶(PC2和PC1/3)的细胞(GH4细胞)中, 转染ProIAPP的cDNA后所表达的ProIAPP由于缺乏相关酶而不能被处理形成成熟的IAPP, 而产生了主要由ProIAPP构成的淀粉样蛋白沉积^[30]。

IAPP的聚集成淀粉样蛋白能力与其结构序列及片段密切相关。来源于人和猫的IAPP有较强的体外聚集倾向, 而源自啮齿类动物(大鼠、小鼠等)的rIAPP则无此倾向。各种属IAPP序列的主要差异在于序列20~29位(图1B)。Cooper^[31]的实验显示: 25~29位的AILSS对成纤维的影响尤为突出, 其中用脯氨酸替换28位的丝氨酸所得到的hIAPP类似物, 可完全消除其成纤维化能力。除此以外, 近期研究者发现hIAPP的其他片段对其聚集也非常重要。Wiltzius等^[22]发现, 片段SSTNVG(对应于hIAPP 28~33)也具有与全长hIAPP相同的聚集性。而Abedini和Raleigh^[32]研究显示, 不形成聚集的rIAPP(1~19)与高聚集性的hIAPP(1~19)仅有第18位的残基不同(rIAPP为Arg, 而hIAPP为His), 但hIAPP(1~19)却具有与hIAPP相同的聚集性质。rIAPP序列如何影响其聚集性目前仍是一个研究热点, 通过二级结构预测发现, rIAPP序列19~21位区域没有形成 β -转角的倾向, 而hIAPP序列在该区域却具有形成 β -转角的倾向, 并且在基于分子模拟所提出的 β -发卡结构中, 该区域也是 β -转角所在位置^[26](图3A, 3D), 因此, 该区域可能与rIAPP的抗聚集性有一定的联系。最新体外实验显示, rIAPP不但可以与hIAPP结合, 还会破坏所形成的寡聚体的 α -螺旋结构, 显著延缓hIAPP的聚集^[33]。

IAPP的聚集性也取决于其所处的环境。研究表明, 脂筏所富含的神经节苷脂及胆固醇对hIAPP在质膜上形成淀粉样沉积起重要作用, 移除脂筏中全部的神经节苷脂及胆固醇可显著地降低淀粉样蛋

白的形成^[34]。用两性脂质 DOPC 和阴性脂质 DOPG 混合后形成脂质并与 hIAPP 共同孵育后发现, 其中的阴性脂质部分可与 IAPP 结合, 而结合后的复合体能快速形成大量淀粉样沉积^[35]。由此推断, 在人体 β 细胞膜上, 细胞膜所含的大量阴性脂质可能首先参与与 hIAPP 的结合, 并起成核的作用, 促进聚集的产生。而当载脂蛋白 E4 (apolipoprotein E4, ApoE4) 与 hIAPP 结合后, 可阻止其自聚, 抑制淀粉样沉淀的形成^[36]。

hIAPP 与胰岛素除了特殊的共合成共分泌及生理功能相互作用外, 两者也通过分子的相互物理作用而影响各自的聚集。长期以来, 学术界关于胰岛素与 IAPP 相互作用的争论一直存在。大多数学者认为, 胰岛素与 IAPP 相互作用后形成的异聚体可以阻止 IAPP 的 α 螺旋寡聚体的形成, 从而抑制 hIAPP 的进一步聚集^[37]。但是 Cui 等^[38]的研究显示胰岛素只在短期内抑制 hIAPP 的聚集, 而长期过程中胰岛素与 hIAPP 形成的共聚体反而对 hIAPP 的聚集具有促进作用^[39]。而 Wei 等^[40]甚至认为, 溶解状态的胰岛素与 IAPP 之间并无相互作用, 同时通过 SPR (surface plasmon resonance) 生物传感器技术, 分析发现, 比起 hIAPP, rIAPP 与胰岛素的亲和力降低, 可溶性 IAPP 形式以及胰岛素都可以阻止 hIAPP 毒性寡聚体的形成。与此同时, IAPP 对胰岛素的聚集也有影响, Velkova 等^[41]通过对 hIAPP 24 位 (Gly)、26 位 (Ilu) 甲基化处理得到 hIAPP 类似物——IAPP-GI。IAPP-GI 自身无聚集性, 但可以抑制胰岛素的聚集, 同时并不影响胰岛素的功能。有关 hIAPP 与胰岛素分子间的相互作用仍然有待深入研究。

大量无机离子及小分子物质对 hIAPP 的聚集也有影响。Ward 等^[42]用电镜和荧光, 在 IAPP 的生理浓度下, 研究了 Al (III)、Fe (III)、Zn (II) 以及 Cu (II) 对 IAPP 形成淀粉样沉积的影响, 结果显示 Cu (II) 对 IAPP 形成淀粉样沉积具有抑制作用, 而 Al (III) 和 Zn (II) 则具有促进作用。Mishra 等^[43]发现以饶丹酸 (2-硫代-2, 4-噻唑烷二酮) 为母核的小分子化合物具有良好的抑制 IAPP 纤维化的作用; 此外酚红也具有抑制 IAPP 以及胰岛素聚集的作用, 但结构相似的酚酞则无此作用^[44]。

4.2 抑制 hIAPP 聚集性的临床意义

研究人员发现, 抑制淀粉样蛋白沉积生成具有减少 β 细胞的凋亡、延长 β 细胞的成活时间等作用,

因此在治疗糖尿病, 尤其是在胰岛移植中可作为重要治疗手段。研究发现: 各类具有抑制淀粉样蛋白沉积生成作用的物质, 均可在淀粉样蛋白沉积已然存在的情况下, 给予胰岛细胞更长的成活时间。如将具有抑制淀粉样沉积形成作用的短肽 hIAPP (13~18) 与 hIAPP 的淀粉样聚集物一同与细胞培养后, 可发现该短肽可以显著地延长试验中 2 型糖尿病患者及正常人胰岛 β 细胞的成活时间, 减少 β 细胞的凋亡; 同样的, 具有抑制 hIAPP 淀粉样聚集的短肽 GAILSS 与 hIAPP 淀粉样聚集物一同与胰岛细胞培养, 三周内加抑制剂组比对照组胰岛细胞凋亡率下降 50%^[45]。实验显示, 前文所提及的 IAPP-GI 不但可以阻止 hIAPP 的聚集, 甚至可以解聚已聚集的 hIAPP 寡聚体和淀粉样沉积, 因此 IAPP-GI 的加入可显著减少细胞凋亡^[41]。此外, GAILSS 及 IAPP-GI 还具有抑制 β -淀粉样蛋白 (β -amyloid) 聚集、延长大脑皮层细胞及海马细胞成活时间的作用^[46], 这也表明相关 hIAPP 的抑制剂在其他淀粉样沉积疾病中也具有潜在的治疗价值。

对于胰岛移植, 研究发现抑制 IAPP 的合成及阻止淀粉样形成可以提高移植的成功率。在糖尿病末期, 单纯的给予胰岛素的补充已无法满足患者的实际需要, 因此胰岛移植给这些患者带来希望, 但是多种因素导致所移植的胰岛坏死率很高。研究表明, 胰岛移植后, 迅速发生的细胞内外淀粉样沉积可能是糖尿病患者移植胰岛失败的重要原因。胰岛移植实验发现, 向裸鼠移植人胰岛细胞后, 胰岛中出现淀粉样蛋白沉淀, 直接导致移植进去的胰岛细胞其细胞周期抑制剂 p16 (INK4)、p21 (WAF1)、和 p27 (Kip1) 过量表达, β 细胞自我复制受限, 以上因素造成了移植细胞的非免疫性死亡, 使移植细胞的存活率下降^[47]。多项研究显示, 采用 hIAPP 聚集的抑制剂的处理则可使移植后胰岛周围的淀粉样沉积明显减少, 而胰岛的存活时间也可明显延长^[45, 48, 49]。

综上所述, 鉴于抑制 hIAPP 的多种有益作用, 目前研究集中在筛选各种能与 hIAPP 结合的小分子、短肽, 或通过对 hIAPP 进行修饰改造以产生具有抑制效应的 hIAPP 类似物, 它们通过与 hIAPP 分子结合, 从而抑制后者自身聚集形成寡聚体, 进而抑制淀粉样沉积的形成。

5 结语

作为构成胰岛组织淀粉样沉积的主要物质,

IAPP在2型糖尿病发病机制方面有着重要作用,对IAPP的细胞毒性机理机制的研究将有助于深入阐明2型糖尿病的发病机制,而对影响IAPP聚集性变化的各种因素的解析将有助于开发出具有良好效能的淀粉样沉积抑制剂,从而对糖尿病治疗及胰岛移植提供新方向。同时,作为典型的淀粉样沉积蛋白的代表,IAPP研究也将为其他淀粉样蛋白沉积病的发生机制的探索提供参考借鉴。

[参 考 文 献]

- [1] Cooper GJ, Willis AC, Clark A, et al. Purification and characterization of a peptide from amyloid-rich pancreases of type 2 diabetic patients. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84(23): 8628-32
- [2] Kurganov B, Doh M, Arispe N. Aggregation of liposomes induced by the toxic peptides Alzheimer's A β tas, human amylin and prion (106-126): facilitation by membrane-bound GM1 ganglioside. *Peptides*, 2004, 25(2): 217-32
- [3] Roberts AN, Leighton B, Todd JA, et al. Molecular and functional characterization of amylin, a peptide associated with type 2 diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86(24): 9662-6
- [4] Marzban L, Rhodes CJ, Steiner DF, et al. Impaired NH₂-terminal processing of human proislet amyloid polypeptide by the prohormone convertase PC2 leads to amyloid formation and cell death. *Diabetes*, 2006, 55(8): 2192-201
- [5] Pollastri G, Przybylski D, Rost B, et al. Improving the prediction of protein secondary structure in three and eight classes using recurrent neural networks and profiles. *Proteins*, 2002, 47(2): 228-35
- [6] Dupuis NF, Wu C, Shea JE, et al. Human islet amyloid polypeptide monomers form ordered β -hairpins: a possible direct amyloidogenic precursor. *J Am Chem Soc*, 2009, 131(51): 18283-92
- [7] Higham CE, Hull RL, Lawrie L, et al. Processing of synthetic pro-islet amyloid polypeptide (proIAPP) 'amylin' by recombinant prohormone convertase enzymes, PC2 and PC3, *in vitro*. *Eur J Biochem*, 2000, 267(16): 4998-5004
- [8] Young A. Inhibition of food intake. *Adv Pharmacol*, 2005, 52: 79-98
- [9] McQueen J. Pramlintide acetate. *Am J Health Syst Pharm*, 2005, 62(22): 2363-72
- [10] Gebre-Medhin S, Olofsson C, Mulder H. Islet amyloid polypeptide in the islets of Langerhans: friend or foe? *Diabetologia*, 2000, 43(6): 687-95
- [11] Young AA, Wang MW, Cooper GJ. Amylin injection causes elevated plasma lactate and glucose in the rat. *FEBS Lett*, 1991, 291(1): 101-4
- [12] Degano P, Silvestre RA, Salas M, et al. Amylin inhibits glucose-induced insulin secretion in a dose-dependent manner. Study in the perfused rat pancreas. *Regul Pept*, 1993, 43(1-2): 91-6
- [13] Young A. Inhibition of glucagon secretion. *Adv Pharmacol*, 2005, 52: 151-71
- [14] Whitehouse F, Kruger DF, Fineman M, et al. A randomized study and open-label extension evaluating the long-term efficacy of pramlintide as an adjunct to insulin therapy in type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 2002, 25(4): 724-30
- [15] Colburn WA, Gottlieb AB, Koda J, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of AC137 (25, 28, 29 tripro-amylin, human) after intravenous bolus and infusion doses in patients with insulin-dependent diabetes. *J Clin Pharmacol*, 1996, 36(1): 13-24
- [16] Young A. Historical background. *Adv Pharmacol*, 2005, 52: 1-18
- [17] Lin CY, Gurlo T, Haataja L, et al. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ by rosiglitazone protects human islet cells against human islet amyloid polypeptide toxicity by a phosphatidylinositol 3'-kinase-dependent pathway. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90(12): 6678-86
- [18] Jayasinghe SA, Langen R. Lipid membranes modulate the structure of islet amyloid polypeptide. *Biochemistry*, 2005, 44(36): 12113-9
- [19] Nanga RP, Brender JR, Xu J, et al. Structures of rat and human islet amyloid polypeptide IAPP(1-19) in micelles by NMR spectroscopy. *Biochemistry*, 2008, 47(48): 12689-97
- [20] Anguiano M, Nowak RJ, Lansbury PT, Jr. Protofibrillar islet amyloid polypeptide permeabilizes synthetic vesicles by a pore-like mechanism that may be relevant to type II diabetes. *Biochemistry*, 2002, 41(38): 11338-43
- [21] Ritzel RA, Meier JJ, Lin CY, et al. Human islet amyloid polypeptide oligomers disrupt cell coupling, induce apoptosis, and impair insulin secretion in isolated human islets. *Diabetes*, 2007, 56(1): 65-71
- [22] Wiltzius JJ, Sievers SA, Sawaya MR, et al. Atomic structure of the cross- β spine of islet amyloid polypeptide (amylin). *Protein Sci*, 2008, 17(9): 1467-74
- [23] Serpell LC, Blake CC, Fraser PE. Molecular structure of a fibrillar Alzheimer's A β fragment. *Biochemistry*, 2000, 39(43): 13269-75
- [24] Janciauskiene S, Eriksson S, Carlén M, et al. B cell granule peptides affect human islet amyloid polypeptide (IAPP) fibril formation *in vitro*. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 236(3): 580-5
- [25] Zraika S, Hull RL, Udayasankar J, et al. Oxidative stress is induced by islet amyloid formation and time-dependently mediates amyloid-induced b cell apoptosis. *Diabetologia*, 2009, 52(4): 626-35
- [26] Andrews ME, Inayathullah NM, Jayakumar R, et al. Conformational polymorphism and cellular toxicity of IAPP and beta AP domains. *J Struct Biol*, 2009, 166(2): 116-25
- [27] Zhang Y, Ranta F, Tang C, et al. Sphingomyelinase dependent apoptosis following treatment of pancreatic β -cells with amyloid peptides A β (1-42) or IAPP. *Apoptosis*, 2009, 14(7): 878-89
- [28] Lim YA, Ittner LM, Lim YL, et al. Human but not rat amylin shares neurotoxic properties with A β 42 in long-term hippocampal and cortical cultures. *FEBS Lett*, 2008, 582(15): 2188-94
- [29] Marzban L, Soukhatcheva G, Verchere CB. Role of carboxypeptidase E in processing of pro-islet amyloid polypeptide

- in β -cells. *Endocrinology*, 2005, 146(4): 1808-17
- [30] Paulsson JF, Westermark GT. Aberrant processing of human proislet amyloid polypeptide results in increased amyloid formation. *Diabetes*, 2005, 54(7): 2117-25
- [31] Cooper GJ. Role of amylin in the physiologic and physiopathologic regulation of energy metabolism. *J Annu Diabetol Hotel Dieu*, 1991: 125-39
- [32] Abedini A, Raleigh DP. The role of His-18 in amyloid formation by human islet amyloid polypeptide. *Biochemistry*, 2005, 44(49): 16284-91
- [33] Cao P, Meng F, Abedini A, et al. The ability of rodent islet amyloid polypeptide to inhibit amyloid formation by human islet amyloid polypeptide has important implications for the mechanism of amyloid formation and the design of inhibitors. *Biochemistry*, 2010, 49(5): 872-81
- [34] Wakabayashi M, Matsuzaki K. Ganglioside-induced amyloid formation by human islet amyloid polypeptide in lipid rafts. *FEBS Lett*, 2009, 583(17): 2854-8
- [35] Jeworrek C, Hollmann O, Steitz R, et al. Interaction of IAPP and insulin with model interfaces studied using neutron reflectometry. *Biophys J*, 2009, 96(3): 1115-23
- [36] Lei P, Wu WH, Li RW, et al. Prevention and promotion effects of apolipoprotein E4 on amylin aggregation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 368(2): 414-8
- [37] Wiltzius JJ, Sievers SA, Sawaya MR, et al. Atomic structures of IAPP (amylin) fusions suggest a mechanism for fibrillation and the role of insulin in the process. *Protein Sci*, 2009, 18(7): 1521-30
- [38] Cui W, Ma JW, Lei P, et al. Insulin is a kinetic but not a thermodynamic inhibitor of amylin aggregation. *FEBS J*, 2009, 276(12): 3365-71
- [39] Knight JD, Williamson JA, Miranker AD. Interaction of membrane-bound islet amyloid polypeptide with soluble and crystalline insulin. *Protein Sci*, 2008, 17(10): 1850-6
- [40] Wei L, Pervushin K, Mu Y. Residual structure in islet amyloid polypeptide mediates its interactions with soluble insulin. *Biochemistry*, 2009, 48(11): 2368-76
- [41] Velkova A, Taterek-Nossol M, Andreetto E, et al. Exploiting cross-amyloid interactions to inhibit protein aggregation but not function: nanomolar affinity inhibition of insulin aggregation by an IAPP mimic. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2008, 47(37): 7114-8
- [42] Ward B, Walker K, Exley C. Copper(II) inhibits the formation of amylin amyloid *in vitro*. *J Inorg Biochem*, 2008, 102(2): 371-5
- [43] Mishra R, Bulic B, Sellin D, et al. Small-molecule inhibitors of islet amyloid polypeptide fibril formation. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2008, 47(25): 4679-82
- [44] Levy M, Porat Y, Bacharach E, et al. Phenol sulfonphthalein, but not phenolphthalein, inhibits amyloid fibril formation: implications for the modulation of amyloid self-assembly. *Biochemistry*, 2008, 47(22): 5896-904
- [45] Potter KJ, Scrocchi LA, Warnock GL, et al. Amyloid inhibitors enhance survival of cultured human islets. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1790(6): 566-74
- [46] Yan LM, Velkova A, Taterek-Nossol M, et al. IAPP mimic blocks $A\beta$ cytotoxic self-assembly: cross-suppression of amyloid toxicity of $A\beta$ and IAPP suggests a molecular link between Alzheimer's disease and type II diabetes. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2007, 46(8): 1246-52
- [47] Davalli AM, Perego L, Bertuzzi F, et al. Disproportionate hyperproinsulinemia, β -cell restricted prohormone convertase 2 deficiency, and cell cycle inhibitors expression by human islets transplanted into athymic nude mice: insights into nonimmune-mediated mechanisms of delayed islet graft failure. *Cell Transplant*, 2008, 17(12): 1323-36
- [48] Westermark GT, Westermark P. Importance of aggregated islet amyloid polypeptide for the progressive β -cell failure in type 2 diabetes and in transplanted human islets. *Exp Diabetes Res*, 2008, 2008: 528354
- [49] Udayasankar J, Kodama K, Hull RL, et al. Amyloid formation results in recurrence of hyperglycaemia following transplantation of human IAPP transgenic mouse islets. *Diabetologia*, 2009, 52(1): 145-53