

综述与专论

胰岛素分泌及调节的分子机制*

吴政星¹⁾ 娄雪林¹⁾ 瞿安连¹⁾ 周 专^{1, 2)} 徐 涛¹⁾**¹⁾ 华中科技大学生命科学与技术学院, 武汉 430074;²⁾ 中国科学院神经科学研究所, 上海 200031)

摘要 胰岛素是机体最重要的激素之一, 它调节机体的血糖稳定、促进同化代谢、调节细胞的分裂分化和生长发育。胰岛 β 细胞的胰岛素分泌受到营养物质、神经递质和激素的精确调控。它们的作用部位可分为改变胞内第二信使物质水平的近端调节步骤(钙依赖性), 和直接作用于胞吐分子构件的末端调节步骤(钙非依赖性)。胰岛素的胞吐过程与神经递质的释放机制类似。葡萄糖等营养物质主要通过升高胞内的 ATP/ADP 比率, 导致 ATP 敏感钾通道关闭、细胞膜去极化、钙内流这一途径增加胰岛素的分泌。神经递质和部分激素通过其 G 蛋白偶联受体-G 蛋白系统的跨膜信号转换后, 影响胞内 IP_3 、DAG、 Ca^{2+} 等第二信使物质水平, 主要通过 PKA、PKC 等蛋白激酶途径, 调节胰岛素的分泌。胞内单体 G 蛋白参与了对囊泡运输和胞吐过程的调控, G 蛋白也可能直接作用于胞吐过程, 在分泌过程中发挥了重要的调节作用。

关键词 胰岛素, 分泌, G 蛋白, 钙离子, 调节, 机制

学科分类号 Q455

胰岛素是调节血糖浓度、促进合成代谢、调节细胞分裂分化和生长发育的重要激素。它是由 51 个氨基酸组成的小分子蛋白质。其释放过程受到严格而精确的调节。

胰岛 β 细胞有两种分泌囊泡: 致密大囊泡 (large dense core vesicle, LDCV) 和突触囊泡样微囊泡 (synaptic-like microvesicle, SLMV)。LDCV 起着运输和贮存胰岛素的作用。调节胰岛素分泌的因子有两大类: 第一类为葡萄糖、氨基酸和脂肪酸等营养物质; 第二类是神经递质和激素。 β 细胞能整合这两大类调节因子的信号作用, 使机体的胰岛素水平能适应机体各种不同状态的需要和稳定在一定的水平。在细胞及分子水平上研究胰岛素的分泌机制及其调节特性有十分重要的理论意义及应用前景。

1 胰岛素分泌过程的刺激-分泌偶联

营养物质、神经递质和激素共同调节胰岛 β 细胞的分泌。其作用部位有两个: 一是对胞内的第二信使物质水平的调节(近端步骤); 二是对胞吐机制本身的调节(末端步骤)。

1.1 近端调节步骤

营养物质促进胰岛素的分泌。营养物质特别是葡萄糖通过细胞的代谢活动, 使胞浆的 ATP/ADP 比率增加, 导致 ATP 敏感钾通道 (K_{ATP}) 关闭,

膜去极化, 电压依赖性钙通道 (voltage-dependent calcium channel, VDCC) 开放, 胞内游离钙离子浓度升高, 刺激胰岛素释放。营养物质也能使 cAMP、 IP_3 、甘油二酯 (diacylglycerol, DAG)、花生四烯酸 (arachidonic acid, AA)、磷脂酸等磷脂衍生物增加, 激活蛋白激酶 A (PKA)、蛋白激酶 C (PKC) 等蛋白激酶, 促进胰岛素的分泌。

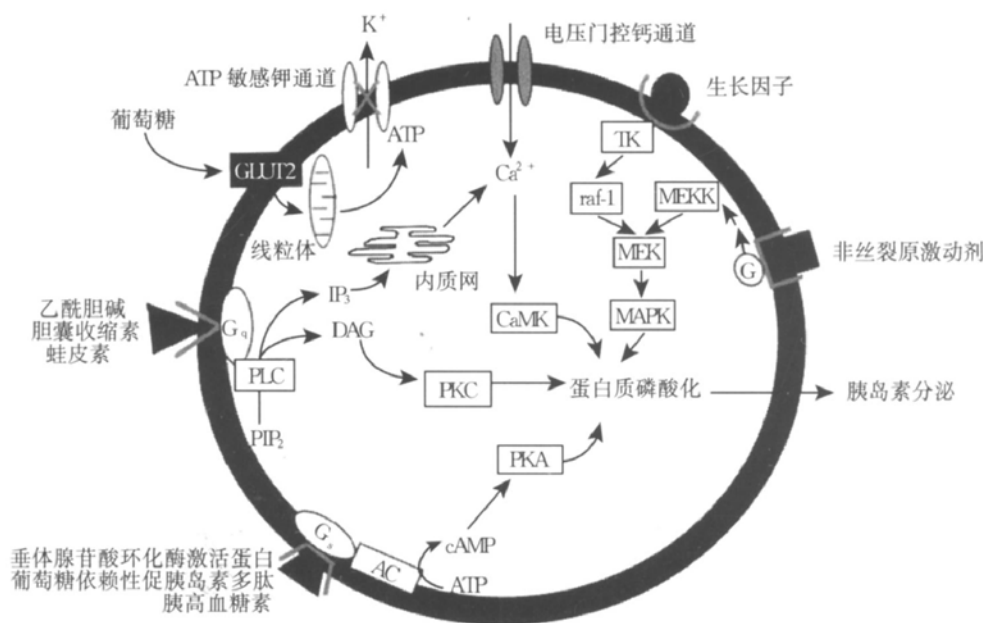
激素和神经递质通过其 G 蛋白偶联受体的中介作用, 改变胞内的第二信使物质水平, 从而调节胰岛素的分泌。如乙酰胆碱增加胞内钙浓度, 胆囊收缩素、血管升压素、蛙皮素等肽类激素激活磷脂酶 C, 使胞内的 IP_3 、DAG 增加; 胰高血糖素、葡萄糖依赖性促胰岛素分泌多肽 (glucose-dependent insulintropic polypeptide, GIP) 和垂体腺苷酸环化酶激活蛋白 (pituitary adenylate cyclase activating protein, PACAP) 激活腺苷酸环化酶, 升高胞浆中 cAMP 的水平; 去甲肾上腺素、甘丙肽 (galanin) 和生长抑素等抑制腺苷酸环化酶, 降低 cAMP 水平^[1, 2] (图 1)。

* 国家自然科学基金资助项目 (30000062 和 30025023)。

** 通讯联系人, 华中科技大学生命科学与技术学院生物物理与生物化学研究所。

Tel: 027-87543104, E-mail: txu@mail.hust.edu.cn

收稿日期: 2001-10-09, 接受日期: 2001-12-17

Fig. 1 Regulation of insulin secretion in β cell图1 β 细胞胰岛素分泌调控示意图

较详细地表述了蛋白激酶在胰岛素分泌过程中的作用。葡萄糖等营养物质主要通过升高胞内钙促进胰岛素的释放；神经递质和部分激素与其G蛋白偶联受体（GPCR）结合后，使胞内 IP_3 、DAG和cAMP等第二信使物质水平改变，主要经过PKA、PKC和CaMK途径调节胰岛素的分泌；生长激素或非丝裂原激动剂通过MEK-MAPK途径调节胰岛素分泌或 β 细胞的增生。AC：腺苷酸环化酶；ATP：三磷酸腺苷；cAMP：环腺苷一磷酸；CaMK：钙调蛋白激酶；DAG：甘油二酯；G、 G_s 、 G_q ：G蛋白及亚型；GLUT2：葡萄糖转运体2； IP_3 ：肌醇三磷酸；MAPK：丝裂原激活蛋白激酶（mitogen-activated protein kinase）；MEK：MAPK激酶（MAP kinase kinase）；MEKK：MEK激酶； PIP_2 ：磷脂酰肌醇二磷酸；PLC：磷脂酶C；PKA：蛋白激酶A；PKC：蛋白激酶C；TK：酪氨酸激酶；raf-1为一种蛋白激酶。

1.2 末端调节步骤

许多因子在细胞胞吐的分子机制水平直接调节胰岛素的释放。葡萄糖可以不经过 Ca^{2+} 、PKA、PKC（钙依赖性）信号途径，而更直接作用于胞吐的分子构件，诱发胰岛素的释放。向胞内施加GTP、GppNHp和GTP γ S这类鸟嘌呤核苷酸时，能诱发非钙依赖性的胰岛素释放^[3]；PKA和PKC至少部分地在胞吐调控过程中发挥其作用；几种抑制激素和神经递质只能暂时或部分地改变第二信使浓度，但却能完全抑制分泌过程^[2]。上述实验证据表明，在分泌过程中存在着在胞吐本身这一层次上的更直接的调节机制。对胞吐分子机制的直接调节使得调节因子的效应更为精确和迅速。

2 细胞胞吐过程及分子机制

肽类和蛋白质激素由大分泌囊泡贮存和释放。大分泌囊泡由高尔基反面膜结构网络出芽形成。分泌囊泡必须经过肽类激素的加工和脱去衣被蛋白才

能成熟。其后，通过一连串的步骤产生胞吐，这些步骤包括分泌囊泡向细胞膜的募集（recruitment）、锚定、囊泡的成熟（priming）、最后囊泡膜与细胞膜融合及其内含物通过融合孔释放至细胞外液的过程。

2.1 囊泡的募集和锚定

囊泡的募集需要肌球蛋白-肌动蛋白系统和ATP的参与，ATP是肌球蛋白和蛋白激酶（包括肌球蛋白轻链激酶）等动力分子的能量供体^[4]。在原代 β 细胞中，细胞边周部位肌动蛋白网络的解聚为囊泡募集所必要^[5]。肌动蛋白网络可能既参与囊泡的运输，又能阻碍囊泡向细胞膜靠近，因而在细胞分泌过程中，存在着活跃的肌动蛋白网络的解聚和重新聚合作用。持续的囊泡募集防止可释放囊泡库的耗竭，乙酰胆碱和多种激酶可能通过影响囊泡募集过程而调节胰岛素的分泌。

2.2 囊泡成熟和融合

囊泡的“成熟（priming）”是低浓度钙和磷脂

酰肌醇代谢产物依赖性的耗能过程, 必须有 ATP 的存在^[3]. 有人提出在 β 细胞中, 葡萄糖代谢改变了胞内 ATP 浓度, 从而能够影响囊泡成熟过程. 但在 ρ 突变 β 细胞中 (缺乏有代谢能力的线粒体), 仍然保留 Ca^{2+} 诱导的胰岛素分泌能力^[6], 所以, 葡萄糖代谢引起的 ATP 浓度的变化对囊泡的成熟可能不具有重要作用. 囊泡融合过程有多种蛋白质和脂质的参与. 囊泡融合机制的研究进展很快, 但在融合孔的形成、融合孔大小的调节等方面仍有许多细节不清楚.

3 SNARE 蛋白在分泌过程中的功能

SNARE 蛋白参与了胞吐活动的多个过程, 是细胞胞吐活动的分子基础. β 细胞表达多种 SNARE 蛋白, 表明其分泌机制与神经元类似.

3.1 SNARE 复合体

SNARE (soluble N-ethylmaleimide sensitive attachment protein receptor) 蛋白是一类具有一个或两个 SNARE 模体 (SNARE motif) 的膜结合蛋白, 根据其分布位置分为 t-SNARE 和 v-SNARE. t-SNARE 分布于靶膜上, 包括 syntaxin 和 SNAP-25 家族; v-SNARE 分布于囊泡膜上, 有 synaptobrevin/VAMPs (vesicle associated membrane protein) 及相关蛋白. Synaptobrevin、syntaxin 及 SNAP-25 按 1:1:1 的比例形成稳定的三聚体, 三类 SNARE 蛋白中的 SNARE 模体的 α 螺旋区平行排列形成核心复合物. 胞浆中的 N-乙基马来酰亚胺敏感因子 (N-ethylmaleimide sensitive factor, NSF) 在 α/β -SNAPs (soluble N-ethylmaleimide sensitive attachment protein, SNAP, 与 SNAP-25 无关) 的协助下, 水解 ATP, 使 SNARE 聚合体解离. SNARE 蛋白复合物为膜融合所必需, 最近的研究表明 complexin 与 syntaxin 结合, 引起 SNARE 蛋白复合物寡聚化, 形成更高级的结构, 这种高级结构可能是高效率的调节性分泌的结构基础; SNARE 蛋白也可能参与囊泡的运输、锚定等过程^[7~9]. SNARE 蛋白存在着紧密结合和松散结合两种物理状态, 两者的分泌动力学特性不同, 分别对应于低钙信号触发的快簇放和慢簇放两种分泌形式^[10,11]. munc18/secl 和 munc13 等许多因子能调节 SNARE 蛋白的相互作用, 从而调节分泌过程. SNARE 蛋白的空间构造, 其在囊泡成熟和融合过程中的反应时间顺序和确切功能仍需研究.

3.2 β 细胞中的 SNARE 蛋白

原代和克隆 β 细胞表达 VAMP-2、cellubrevin、

SNAP-25 (亚型 1-3)、SNAP-23、syntaxin (亚型 1-4)、synaptotagmin III、VII 等, 表明 β 细胞的分泌机制与神经元类似^[12]. SNARE 蛋白表达减少是胰岛素分泌不足的一个原因. 在原代和克隆 β 细胞中也存在某些破伤风毒素不敏感的胞吐形式.

4 胞吐过程中 Ca^{2+} 的作用

4.1 Ca^{2+} 浓度和胞吐

微碳纤电化学检测和膜电容测量与钙测量技术的结合能实时检测胰岛素的分泌及胞内钙对分泌的调控作用^[13]. Ca^{2+} 是胞吐过程的主要刺激物, 在不同的功能状态下和不同的细胞中, 分泌囊泡发生胞吐作用所需的钙浓度不同. 钙调节胞吐活动的不同过程, 如可释放囊泡库大小、膜融合过程和融合孔的大小等.

单个 β 细胞的钙成像研究表明, 葡萄糖诱发的钙升高首先发生在细胞膜附近的边周部位, 然后扩散至整个胞浆, 平均胞内钙浓度为 $300 \sim 600 \text{ nmol/L}$ ^[14]. 在 β 细胞中, 至少存在两种以上的钙库^[15], 胞浆有很强的钙缓冲能力, 胞浆面 Ca^{2+} 通道口的钙浓度还没有可靠的测定方法. 胰岛素分泌所需的真实钙浓度尚不清楚. 荧光测钙方法和膜电容检验或电化学方法的联合研究揭示, 在通透 β 细胞中, 最大分泌速率在 $7 \sim 10 \mu\text{mol/L}$ 自由钙浓度, EC_{50} 在 $1.6 \mu\text{mol/L}$ 自由钙浓度^[3], 也有报道说 β 细胞胰岛素分泌的 EC_{50} 值更高, 与神经内分泌细胞 ($K_d = 20 \mu\text{mol/L}$) 接近.

4.2 Ca^{2+} 通道和胞吐过程

在 β 细胞中, N、P/Q 和 L 型 Ca^{2+} 通道都有表达, 但引发胰岛素胞吐过程的钙内流主要是通过 L- Ca^{2+} 通道. 去极化引起的钙内流所诱发的胞吐效应较胞内钙动员引发的胞吐效应强, 这一研究结果提示 L- Ca^{2+} 通道与胞吐部位存在空间上的联系^[16]. 钙通道集中于细胞内分泌囊泡密集部分, 这些微观上的结构排列方式有助于将最大钙水平限制于细胞发生胞吐的局部区域, 减少过高浓度 Ca^{2+} 对细胞的毒性.

4.3 胞吐过程中 Ca^{2+} 作用的靶蛋白

钙作用于胞吐作用的不同过程, 其效应通过多种靶蛋白来实现. Ca^{2+} 结合蛋白包括钙调蛋白 (calmodulin)、钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II (Ca^{2+} /calmodulin dependent protein kinase II, CaM kinase II)、annexin 和 CAPS (Ca^{2+} -dependent activator protein for secretion). 此外, synaptotagmins、unc13、

munc 18、doc2 和 rabphilin 等多种蛋白质均含有 C_2 域, C_2 域在 Ca^{2+} 诱发的这些蛋白质与膜蛋白的附着过程中起中介作用。

β 细胞表达 synaptotagmin III、IV、V 和 VII, synaptotagmin III 和 VII 与胰岛素分泌囊泡共存, 而 synaptotagmin I、II、III、IV、V、VII 和 VIII 存在于胰岛素分泌细胞 β TC3 细胞。Synaptotagmin 为 Ca^{2+} 诱发的胰岛素胞吐作用所必需, synaptotagmin 必需有与磷脂结合的 C_2 域才能发挥其对胞吐的调节作用。Synaptotagmin III 具有高钙亲和力, synaptotagmin III 和 VII 可能是 β 细胞的主要钙感受器^[17]。

5 鸟嘌呤核苷酸在胞吐过程中的作用

向细胞内施加 GTP 或其缓慢水解类似物 GTP γ S, 能够在包括嗜铬细胞、嗜中性粒细胞、克隆和原代 β 细胞等细胞中, 引起非钙依赖性的胞吐过程。GTP 及它的类似物会影响许多不同的 GTP 酶, 包括异源三聚体 G 蛋白、单体 G 蛋白和动力蛋白。

GTP γ S 诱发的胰岛素胞吐具有多种特性, 它诱发的激素释放缓慢而持久, 且不需要 PKA、PKC 或磷脂酶 C 的激活和第二信使物质的参与。 Ca^{2+} 和 GTP γ S 诱发的胞吐都需要有 ATP 的存在, 它的作用位点可能位于囊泡成熟之后的步骤^[18]。葡萄糖代谢不仅能改变胞浆 ATP 水平, 也能改变 GTP 水平, 因而有人认为葡萄糖也可能通过 GTP 来调节胰岛素的分泌。G 蛋白的活性受 GTP 酶和核苷酸交换因子的精确调制, 因而单靠改变内源性 GTP 的水平来调节胞吐过程似乎不大可能。

6 单聚体 G 蛋白调节胞吐过程

Rac、Rho 和 ARF 亚家族的许多成员参与了囊泡的运输和胞吐过程。Rac、Cdc42、Ras 和 Rap 为葡萄糖和高钾刺激引起的胰岛素分泌所必需^[19, 20]。ADP-核糖基化因子 (ADP-ribosylation factors, ARF) 在囊泡运输的多个环节发挥作用, 有证据显示 ARF1 亚型通过控制磷脂酶 D 而调节高尔基体反面网络分泌囊泡的出芽过程。ARF 与异源三聚体 G 蛋白相互作用, 从而将异源三聚体和单体 G 蛋白相互联系起来。在克隆 β 细胞中, 用 GTP γ S 孵育细胞可引起 ARF 的重新分布, 因而 ARF 可能参与鸟嘌呤核苷酸诱发的胰岛素胞吐过程。

Rab 亚家族蛋白有 40 多种, 分布于不同的膜

成分上, 它们作用于囊泡运输过程的不同阶段及细胞胞吐和胞吞过程。在胰岛素分泌细胞中存在有 Rab 蛋白及相关调节蛋白。Rab3A 与胰岛 β 细胞的分泌囊泡结合, 并调节胰岛素的分泌^[21]。钙调蛋白在体外也能以钙依赖性方式与 Rab3A 相互作用, 并将 G 蛋白从突触膜上解离下来, 它们可能为 Ca^{2+} 和 GTP 依赖性胞吐调节提供了联系纽带, 尽管这些作用的生理意义仍有待确定^[22]。

7 三聚体 G 蛋白对胞吐的调节

愈来愈多的实验证据表明, 异源三聚体 G 蛋白参与了对分泌过程中囊泡运输各环节的调节。G 蛋白活化后解离出的 α_{GTP} 和 $\beta\gamma$ 亚基复合物均影响许多细胞内效应物, 如离子通道、腺苷酸环化酶、磷脂酶和激酶, 此外, G 蛋白的 $\beta\gamma$ 亚基可能是蛋白质相互作用的构架^[23]。三聚体 G 蛋白的活性为 α 亚基内在的 GTP 酶所中止。RGS (regulator of G-protein signaling) 蛋白增强 α 亚基的 GTP 酶活性从而缩短经由 $G\alpha$ 亚基的信号传递过程。磷酸蛋白 phosducin 与 $G\beta\gamma$ 亚基的相互作用, 阻断 $G\beta\gamma$ 所传递的细胞信号途径, 从而调节 G 蛋白功能。Phosducin 功能受到 PKA 的调节, 这可能为两条信号途径提供了整合位点^[24]。

三聚体 G 蛋白存在于包括突触囊泡、内吞囊泡和分泌囊泡等多种细胞内膜结构上。胰岛 β 细胞将来自作用于 G 蛋白偶联受体 (G-protein coupled receptors, GPCRs) 的神经递质和激素的信号, 与葡萄糖所产生的胞内信号整合起来, 以确保胰岛素的精确释放。 β 细胞表达多种特性差异较大的异源三聚体 G 蛋白。G 蛋白通过对胞内第二信使物质水平的改变和直接调控胞吐机制这两条途径, 从而调节细胞的分泌活动^[25]。

在通透性胰岛 β 细胞和神经内分泌克隆细胞系 AtT-20 和 PC12 细胞中, G 蛋白偶联受体的激活仍能抑制胞吐过程, 提示在这些细胞中, 异源三聚体 G 蛋白于胞吐活动的晚期过程对分泌有直接控制作用, 且可以排除扩散性分子, 包括小分子胞浆蛋白的参与^[26]。 $G\beta\gamma$ 二聚体在胞吐过程也扮演重要的角色^[27]。在克隆 β 细胞中, 细胞膜附近的游离 $\beta\gamma$ 二聚体的失活可完全消除 Ca^{2+} 和 GTP γ S 引起的胰岛素释放。

一些 GPCR 对胞吐有直接的刺激作用。如黑寡妇蜘蛛毒素 α -latrotoxin 克隆受体 Latrophilin/CIRL (α -latrophilin/ Ca^{2+} independent receptor of

latrotoxin) 能促进胰岛素分泌细胞和嗜铬细胞的分泌活动. α -latrotoxin 通过在细胞膜上形成阳离子孔道和钙非依赖性机制两条途径诱发胞吐. 在 β 细胞中, 胞吐过程对 α -LTX 的敏感性与 Latrophilin/CIRL 的表达密切相关, 与 neurexin I α 或 synaptotagmin I 的表达无关^[28]. Latrophilin/CIRL 可能与 t-SNARE 结合, 参与胞吐的调节^[26]. G 蛋白和 syntaxin 的相互作用调节突触前钙通道的活动, 已知钙通道是异源三聚体 G 蛋白的靶, 也可能是神经元中突触囊泡的锚定位点. 异源三聚体 G 蛋白在胰岛素胞吐过程的直接调控作用中的效应物还不甚清楚. 有报告指出, 在神经内分泌细胞中三聚体 G 蛋白与 SNARE 蛋白之间存在相互作用, 因而 SNARE 蛋白可能是 G 蛋白的靶之一.

G 蛋白是一个设计精巧的分子开关. G 蛋白的活性期长短与其内在 GTP 酶活性密切相关, GTP 酶活性又依次受多种蛋白质 [包括 GDP/GTP 交换因子 (GEF) 和 GTP 酶活化蛋白 (GTPase-activating proteins, GAP)] 的调节. G 蛋白与其调节蛋白共同组成一个具有不同空间分布的多种亚型的大家族, 因而序列特异性相互作用可以得以保证. 这种分子设计可确保其精确的空间和时间上的构建, 实现其在正确的空间和时间对囊泡的转运和融合的调控.

参 考 文 献

- Komatsu M, Noda M, Sharp G W. Nutrient augmentation of Ca^{2+} -dependent and Ca^{2+} -independent pathways in stimulus-coupling to insulin secretion can be distinguished by their guanosine triphosphate requirements: studies on rat pancreatic islets. *Endocrinology*, 1998, **139** (3): 1172~1183
- Sharp G W. Mechanisms of inhibition of insulin release. *Am J Physiol*, 1996, **271** (6 Pt 1): C1781~C1799
- Vallar L, Biden T J, Wollheim C B. Guanine nucleotides induce Ca^{2+} -independent insulin secretion from permeabilized RINm5F cells. *J Biol Chem*, 1987, **262** (11): 5049~5056
- Iida Y, Senda T, Matsukawa Y, *et al.* Myosin light-chain phosphorylation controls insulin secretion at a proximal step in the secretory cascade. *Am J Physiol*, 1997, **273** (4 Pt 1): E782~E789
- Wilson J R, Ludowyke R I, Biden T J. A redistribution of actin and myosin II A accompanies Ca^{2+} -dependent insulin secretion. *FEBS Lett*, 2001, **492** (1~2): 101~106
- Kennedy E, Maechler P, Wollheim C B. Effects of depletion of mitochondrial DNA in metabolism secretion coupling in INS-1 cells. *Diabetes*, 1998, **47** (3): 374~380
- Tokumaru H, Umayahara K, Pellegrini L L, *et al.* SNARE complex oligomerization by synaphin/complexin is essential for synaptic vesicle exocytosis. *Cell*, 2001, **104** (3): 421~432
- Richard C L, Richard H S. Mechanisms of synaptic vesicle exocytosis. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2000, **16**: 19~49
- Xu T, Ashery U, Burgoyne R D, *et al.* Early requirement for α -SNAP and NSF in the secretory cascade in chromaffin cells. *EMBO J*, 1999, **18** (12): 3293~3304
- Xu T, Binz T, Niemann H, *et al.* Multiple kinetic components of exocytosis distinguished by neurotoxin sensitivity [see comments]. *Nat Neurosci*, 1998, **1** (3): 192~200
- Xu T, Rammner B, Margittai M, *et al.* Inhibition of SNARE complex assembly differentially affects kinetic components of exocytosis. *Cell*, 1999, **99** (7): 713~722
- Wheeler M B, Sheu L, Ghai M, *et al.* Characterization of SNARE protein expression in beta cell lines and pancreatic islets. *Endocrinology*, 1996, **137** (4): 1340~1348
- Zhou Z, Misler S. Amperometric detection of quantal secretion from patch-clamped rat pancreatic beta-cells. *J Biol Chem*, 1996, **271** (1): 270~277
- Theiler J M, Mollard P, Guerinéau N, *et al.* Video imaging of cytosolic Ca^{2+} in pancreatic beta-cells stimulated by glucose, carbachol, and ATP. *J Biol Chem*, 1992, **267** (25): 18110~18117
- Zeng X H, Qu A L, Lou X L, *et al.* Ca^{2+} signals induced from calcium stores in pancreatic islet β cells. *Chin Sci Bull*, 2000, **45** (1): 51~56
- Bokvist K, Eliasson L, Ammala C, *et al.* Co-localization of L-type Ca^{2+} channels and insulin-containing secretory granules and its significance for the initiation of exocytosis in mouse pancreatic β -cells. *EMBO J*, 1995, **14** (1): 50~57
- Gao Z, Reavey-Cantwell J, Young R A, *et al.* Synaptotagmin III/VII isoforms mediate Ca^{2+} -induced insulin secretion in pancreatic islet beta-cells. *J Biol Chem*, 2000, **275** (46): 36079~36085
- Vallar L, Biden T J, Wollheim C B. Guanine nucleotides induce Ca^{2+} -independent insulin secretion from permeabilized RINm5F cells. *J Biol Chem*, 1987, **262** (11): 5049~5056
- Kowluru A, Li G, Rabaglia M E, *et al.* Evidence for differential roles of the Rho subfamily of GTP-binding proteins in glucose- and calcium-induced insulin secretion from pancreatic beta cells. *Biochem Pharmacol*, 1997, **54** (10): 1097~1108
- Iezzi M, Escher G, Meda P, *et al.* Subcellular distribution and function of Rab3A, B, C, and D isoforms in insulin-secreting cells. *Mol Endocrinol*, 1999, **13** (2): 202~212
- Regazzi R, Ravazzola M, Iezzi M, *et al.* Expression, localization and functional role of small GTPases of the Rab3 family in insulin-secreting cells. *J Cell Sci*, 1996, **109** (Pt 9): 2265~2273
- Park J B, Farnsworth C C, Glomset J A. Ca^{2+} /calmodulin causes Rab3A to dissociate from synaptic membranes. *J Biol Chem*, 1997, **272** (33): 20857~20865
- Clapham D E, Neer E J. G protein $\beta\gamma$ subunits. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1997, **37**: 167~203
- De Vries L, Zheng B, Fischer T, *et al.* The regulator of G protein signaling family. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2000, **40**: 235~271
- Astesano A, Regnaud K, Ferrand N, *et al.* Cellular and subcellular expression of Golf/Gs and Gq/G11 alpha-subunits in rat pancreatic endocrine cells. *J Histochem Cytochem*, 1999, **47** (3): 289~302
- Lang J, Nishimoto I, Okamoto T, *et al.* Direct control of exocytosis by receptor-mediated activation of the heterotrimeric GTPases Gi and Go or by the expression of their active Ga subunits. *EMBO J*, 1995, **14** (15): 3635~3644
- Zhang H, Yasrebi Nejad H, Lang J. G-protein $\beta\gamma$ -binding domains regulate insulin exocytosis in clonal pancreatic β -cells. *FEBS Letters*, 1998, **424** (3): 202~206
- Lang J, Ushkaryov Y, Grasso A, *et al.* Ca^{2+} -independent insulin exocytosis induced by α -latrotoxin requires latrophilin, a G protein-coupled receptor. *EMBO J*, 1998, **17** (3): 648~657

The Molecular Mechanisms of Insulin Secretion and Its Regulation^{*}

WU Zheng-Xing¹⁾, LOU Xue-Lin¹⁾, QU An-Lian¹⁾, ZHOU Zhuan^{1,2)}, XU Tao¹⁾^{**}

¹⁾ *Institute of Biophysics and Biochemistry, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China;*

²⁾ *Institute of Neuroscience, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)*

Abstract Insulin is one of the most important versatile hormone, and its functions include regulation of glycemia homeostasis, enhancement of anabolism, control of cell division and differentiation, modulation of cell growth and development. The molecular mechanisms of insulin release and its regulation can be considered as a paradigm of endocrine secretion. Insulin is stored in large dense core vesicles and released by exocytosis, a multistage process involving transport of vesicles to the membrane, their docking, priming and final fusion with the plasma membrane. SNARE proteins are molecular machinery of exocytosis. Pancreatic islet β cells integrate signals of nutrients and hormone/neurotransmitter to release proper quantity of insulin needed for various state. It is well established that glucose and other metabolizable nutrients depolarize the β cells membrane and ensure Ca^{2+} influx through the voltage calcium channel by change of ATP/ADP ratio and other metabolic coupling factors. Hormones and neurotransmitters exert their regulation effects on insulin secretion through the signal transduction of heterotrimeric and monomeric G-protein. There are two regulatory steps on exocytosis, proximal regulatory step via the change of second messengers and distal one at the level of exocytosis machinery itself.

Key words insulin, secretion, G-protein, Ca^{2+} , regulation, mechanism

^{*} This work was supported by grants from the National Natural Sciences Foundation of China (30000062 and 30025023).

^{**} Corresponding author. Tel: 86-27-87543104, E-mail: txu@mail.hust.edu.cn

Received: October 9, 2001 Accepted: December 17, 2001