

胰升血糖素样肽-1 及其受体与 2 型糖尿病的治疗

范益军 欧阳克清 王贵学* 胡应和

(重庆大学生物工程学院, 生物力学与组织工程教育部重点实验室, 重庆 400044)

摘要 胰岛素对治疗 2 型糖尿病有一定效果, 但长期使用会引起低血糖反应; 双胍类药物降糖疗效显著, 但会引起消化道不良反应. 因此, 寻找一种安全有效的药物是 2 型糖尿病治疗的当务之急. 胰升血糖素样肽-1 作为一种胰岛素分泌促进剂和胰岛素增敏剂越来越受人们的关注, 将它用于治疗糖尿病不会产生低血糖, 对 1 型和 2 型糖尿病都有疗效. 讨论胰升血糖素样肽-1 及其受体的最新研究状况.

关键词 2 型糖尿病, 胰升血糖素样肽-1, 胰升血糖素样肽-1 受体

学科分类号 R587.1

胰升血糖素样肽-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1) 是一种前胰升血糖素 (proglucagon) 衍生出来的多肽激素, 能使正常人口服或静脉注射葡萄糖后增加胰岛素的分泌, 因此也被称为肠促胰岛素 (incretin), 它是一种在消化时由肠胃系统释放出来的物质, 能促进葡萄糖依赖性的胰岛素从胰腺的 β 细胞中释放出来. 此外, GLP-1 还可以降低胰升血糖素浓度、减慢胃排空、刺激胰岛素原的生物合成、减少食物吸收以及提高胰岛素敏感性. 因此, GLP-1 作为一种安全、有效的促胰岛素分泌物越来越受到关注, 是 2 型糖尿病治疗的一种新途径.

1 胰升血糖素样肽-1

1.1 GLP-1 的生化特征

GLP-1 是一种主要由远端回肠、直肠和结肠的 L 细胞分泌的多肽激素. 肠腔内的营养物质如葡萄糖、脂肪等能直接刺激 GLP-1 的释放^[1]. 据报道, 在进食几分钟后, 人体内的 GLP-1 浓度可由 $(1 \sim 1.5) \times 10^{-2}$ mol/L 增加到 $(4 \sim 7.5) \times 10^{-2}$ mol/L, 在 15 ~ 30 min 达到峰值, 然后回到基础水平. GLP-1 在体内主要通过肾排泄和二肽酶 IV (DPP-IV) 的降解来代谢^[2,3], DPP-IV 能调节肽的 N 端水解两个氨基酸 Xaa-Pro 或者 Xaa-Ala, 从而使体内的某些调节肽失去其生物活性. GLP-1 的生物半衰期较短, 通常为 2 ~ 6 min, 其代谢清除率约为 $13 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$.

GLP-1 是胰升血糖素原基因翻译后加工的产物, 该基因可在胰岛 α 细胞、肠道内分泌细胞 L 和脑组织内表达. 在哺乳类动物中, GLP-1 和胰升血糖素基因编码共同的胰升血糖素原 (PG) 前体. GLP-1 存在多种分子形式, 包括 GLP-1 (1~37)、

GLP-1 (7~37) 和 GLP-1 (7~36). 肠分泌的 GLP-1 (1~37) 生物活性很低, 但体内存在 N 端截断型, 即酶解去 N 端 6 肽, 成为具有生物活性的 GLP-1 (7~37), 而 C 端酰胺化还会增加其稳定性. 序列的 C 端最后一个氨基酸为甘氨酸, GLP-1 (1~37) 在酰胺酶的作用下, 使甘氨酸成为第 36 位精氨酸酰胺化的供体, 从而产生 GLP-1 (7~36). GLP-1 (7~36) 是人体内 GLP-1 的自然存在形式, 且促胰岛素分泌作用在 GLP-1 肽中最强^[4-6].

1.2 GLP-1 的生理功能

1.2.1 延迟胃的排空、抑制小肠生理活动、减少食物吸收. GLP-1 能够刺激 D 细胞释放生长抑素调节胃酸的分泌、抑制胰蛋白酶和脂酶的分泌、延长营养物质在胃肠道的转运时间、影响肠胃的生理活动, 还可以通过作用于中枢神经系统来调节摄食和抑制幽门十二指肠的收缩、延迟胃的排空^[7].

1.2.2 促进胰岛素的分泌.

Meier 等^[8]随机选取 8 个 2 型糖尿病患者 (5 男、3 女), 通过静脉注射 GLP-1 后, 血浆中葡萄糖浓度明显下降, 在 150 min 内达到正常水平, 但在注射安慰剂期间血糖稍有上升趋势. 实验同时观察到 GLP-1 能明显增加胰岛素的分泌 ($P < 0.0011$), 抑制胰升血糖素的分泌 ($P = 0.041$), 且无低血糖反应出现.

GLP-1 促胰岛素分泌作用具有严格的葡萄糖依赖性, 只有在血糖浓度高于 6 mmol/L 时, 外源

* 通讯联系人.

Tel: 023-65102508, E-mail: wanggx@cqu.edu.cn

收稿日期: 2004-11-19, 接受日期: 2004-12-31

GLP-1才能引起胰岛素分泌,其作用主要是通过胰腺内的 GLP-1 受体完成的. GLP-1 能激活 β 细胞的腺苷酸环化酶 (AC) 使胞浆内的 cAMP 增加, K^+ 通道关闭, 细胞去极化, 使 Ca^{2+} 浓度增加, 刺激 β 细胞的胰岛素基因转录使胰岛素在 β 细胞内蓄积, 胰岛素基因表达增强, 从而促进胰岛素的分泌^[9].

GLP-1 刺激胰岛素的分泌呈典型的双相曲线, 起始为尖峰, 继之为缓慢增加的平台期, GLP-1 不仅使单个 β 细胞分泌更多的胰岛素, 而且能动员更多的 β 细胞 (约 1.5 倍) 分泌胰岛素.

1.2.3 抑制胰升血糖素的分泌. GLP-1 可以阻止胰升血糖素的分泌^[10], 在动物和人体均可见, 但其作用机制还不十分清楚, 可能是通过附近的生长激素抑制细胞产生旁分泌作用, 或直接作用于胰腺 α 细胞来抑制胰升血糖素.

1.2.4 提高胰岛素的敏感性. GLP-1 可促进胰岛素的敏感性. Sandhu 通过完全切除狗的胰腺来建立 2 型糖尿病动物模型, 评估 GLP-1 对胰岛素敏感性的影响. 对狗注射胰岛素, 分高剂量 ($5.4 \text{ pmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) 和低剂量 ($0.75 \text{ pmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) 组, 然后再注射 GLP-1 (7~36) ($1.5 \text{ pmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) 做对比实验. 结果发现, 高剂量组葡萄糖利用率升高而游离脂肪酸水平下降, 低剂量组却无明显变化. 由此可见, GLP-1 促胰岛素敏感性还受胰岛素剂量的影响.

2 GLP-1 的受体

2.1 GLP-1 受体的结构

GLP-1 受体属于七跨膜区受体族, 是一种选择性和组织特异性蛋白质^[11,12]. 最先在大鼠胰岛细胞瘤的细胞株中发现, 其主要第二信使是 cAMP, 当细胞外葡萄糖浓度增加时, 葡萄糖进入 β 细胞被氧化使细胞内的 ATP 含量增加, ATP 与 ATP 敏感的 K^+ 通道结合, 导致 K^+ 通道关闭, 细胞膜去极化, 于是 Ca^{2+} 通道开放, Ca^{2+} 内流, 刺激胰岛素从 β 细胞排出^[13,14].

GLP-1 受体由 463 个氨基酸残基组成, 分子质量为 63 ku, 受体编码基因由多个外显子和内含子构成, 与其他多肽激素相似. 受体基因定位于 6 号染色体上, 有 8 个疏水片段, 其中 7 个可能是跨膜区, 第一个 N 端疏水片段是信号肽的一部分, 因此此受体属于异聚体 G 蛋白结合受体家族. GLP-1 受体与胰升血糖素受体、肠促胰液肽受体、血管活性肠肽 (vasoactive-intestinal peptide, VIP) 受体、甲状腺受体、降钙素受体以及 GHRH 受体有较高的

相似性. 这些受体构成了一个新的 G 蛋白结合受体亚家族, 与超家族的其他成员有 10% 的同源性. 通过 RNA 杂交实验和 RT-PCR 实验, 以及通过人体肺、脑、心和胰岛中 GLP-1 受体基因的克隆都可以揭示其氨基酸序列的相似性. 人类和大鼠的 GLP-1 受体也有 90% 的相似性, 受体与 GLP-1 的结合方式类似. 尽管 GLP-1 与其受体的结合位置不是十分清楚, 但估计与细胞膜外的 N 端有密切联系^[15].

2.2 GLP-1 受体的组织分布及其信号传递

GLP-1 受体基因通常在肺、胃、胰腺、心和脑中表达, 但是在胰腺中的表达远高于其他脏器, 杂交实验研究也通常限定于胃、十二指肠和胰岛中的受体基因. GLP-1 受体的 mRNA 还可在老鼠的空肠、回肠和结肠中检测到^[15-17]. 转染的 COS 细胞系中 GLP-1 受体与 GLP-1 的亲合力很高, 而相关结构的肽如肠抑胃肽 (glucose-dependent insulintropic peptide, GIP)、血管活性肠肽 (vasoactive-intestinal peptide, VIP) 或者肠促胰液肽, 即使浓度达到 1 mmol/L 也不与此受体结合, 胰升血糖素可与此受体结合, 但亲合力比 GLP-1 低.

GLP-1 受体基因的表达多数限定于胰岛的 β 细胞中, 但通过 RT-PCR 实验人们也发现, 老鼠 20% 的胰岛 α 细胞和 76% 的胰岛 δ 细胞也有 GLP-1 受体基因的表达. 而且当老鼠的胰岛处于高浓度葡萄糖的条件下, 可明显观测到 GLP-1 受体的 mRNA 水平增加.

GLP-1 与 β 细胞上的特异受体结合后, 引起剂量依赖的胞内 cAMP 增加, 这种增加可能是葡萄糖依赖的, 所以 GLP-1 刺激胰岛素分泌是通过腺苷酸环化酶 /cAMP 途径, 但 cAMP 并不能增加胰岛素原 mRNA 稳定性, 所以 GLP-1 不仅刺激胰岛素释放, 而且刺激胰岛素基因转录和翻译过程.

3 GLP-1 及其受体与 2 型糖尿病的治疗

2 型糖尿病 (2 diabetes mellitus, 2DM) 是一种胰岛素抵抗伴胰岛素不足, 或胰岛素分泌缺陷伴有或不伴有胰岛素抵抗而导致的慢性高血糖疾病, 占糖尿病总数的 90%~95%. 目前已经成为危害大众健康的主要疾病之一. 在 2 型糖尿病患者中虽然肠促胰岛素分泌作用减弱, 但并不存在 GLP-1 受体基因缺陷; 虽然胰岛素分泌不足, 但 GLP-1 仍能使胰升血糖素浓度下降而致使血糖水平一定程度下降, 故 GLP-1 对 2 型糖尿病的治疗具有巨大潜力.

GLP-1通过激发其受体产生生理功能,能明显刺激胰岛素分泌、增加胰岛素敏感性、抑制胰升血糖素水平和减慢胃的排空,对2型糖尿病和1型糖尿病均有效,而且将其用于治疗不会产生低血糖.

DPP-IV能在体内代谢过程中降解GLP-1,但是要发挥催化活性必须要GLP-1的N端组氨酸残基保留完整的 α -氨基,这一特性为以后对GLP-1进行结构改造提供了理论依据.对GLP-1进行结构改造,寻找能抵抗DPP-IV降解的特异性突变体,可为2型糖尿病的治疗带来希望.

目前,人们在希拉毒蜥的唾液中提取出一种伸展蛋白Exendin-4,其结构与人体内的胰升血糖素相似,它可以与人体的GLP-1受体结合,并刺激胰岛细胞大量分泌胰岛素,达到降糖效果.而且伸展蛋白Exendin-4的半衰期较长,降糖作用通常能达4~5 h,同时还有减肥的功效,因此有望成为新一代降糖药^[18,19].

4 展 望

GLP-1通过与其受体结合,能明显改善2型糖尿病的高血糖症状,但由于其半衰期较短,在体内很快被二肽酶降解,作用短暂.因此,进行GLP-1药物缓释设计、高通量筛选其受体的小分子化合物激动剂以及使其降解的阻断剂,将成为2型糖尿病治疗的新方向.

参 考 文 献

- Wasada T. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1). *Nippon Rinsho*, 2004, **62** (6): 1175~1180
- Rolin B, Deacon C F, Carr R D, *et al.* The major glucagon-like peptide-1 metabolite, GLP-1-(9-36)-amide, does not affect glucose or insulin levels in mice. *Eur J Pharmacol*, 2004, **494**(2~3): 283~288
- Holst J J. Treatment of Type 2 diabetes mellitus with agonists of the GLP-1 receptor or DPP-IV inhibitors. *Expert Opin Emerg Drugs*, 2004, **9** (1): 155~166
- Chavanieu A, Grassy G, Dalle S, *et al.* Structural requirements of the N-terminal region of GLP-1-(7-37)-NH₂ for receptor interaction and cAMP production. *Eur J Med Chem*, 2004, **39** (6): 473~480
- Vahl T P, Paty B W, Fuller B D, *et al.* Effects of GLP-1-(7-36)-NH₂, GLP-1-(7-37), and GLP-1-(9-36)-NH₂ on intravenous glucose tolerance and glucose-induced insulin secretion in healthy humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, **88** (4): 1772~1779
- Green B D, Gault V A, Mooney M H, *et al.* Novel dipeptidyl peptidase IV resistant analogues of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide have preserved biological activities *in vitro* conferring improved glucose-lowering action *in vivo*. *J Mol Endocrinol*, 2003, **31** (3): 529~540
- Meier J J, Weyhe D, Michaely M, *et al.* Intravenous glucagon-like peptide 1 normalizes blood glucose after major surgery in patients with type 2 diabetes. *Crit Care Med*, 2004, **32** (3): 848~851
- Meier J J, Gallwitz B, Salmen S, *et al.* Normalization of glucose concentrations and deceleration of gastric emptying after solid meals during intravenous glucagon-like peptide 1 in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, **88** (6): 2719~2725
- Miura Y, Matsui H. Glucagon-like peptide-1 induces a cAMP-dependent increase of [Na⁺]_i associated with insulin secretion in pancreatic beta-cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2003, **285** (5): 1001~1009
- D'Alessio D A, Vahl T P. Glucagon-like peptide 1: evolution of an incretin into a treatment for diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2004, **286** (6): 882~890
- Bavec A, Hallbrink M, Langel U, *et al.* Different role of intracellular loops of glucagon-like peptide-1 receptor in G-protein coupling. *Regul Pept*, 2003, **111**(1~3): 137~144
- Runge S, Wulff B S, Madsen K, *et al.* Different domains of the glucagon and glucagon-like peptide-1 receptors provide the critical determinants of ligand selectivity. *Br J Pharmacol*, 2003, **138** (5): 787~794
- MacDonald P E, Salapatek A M, Wheeler M B. Glucagon-like peptide-1 receptor activation antagonizes voltage-dependent repolarizing K⁺ currents in beta-cells: a possible glucose-dependent insulinotropic mechanism. *Diabetes*, 2002, **51** (3): 443~447
- Holz G G. Epac: A new cAMP-binding protein in support of glucagon-like peptide-1 receptor-mediated signal transduction in the pancreatic beta-cell. *Diabetes*, 2004, **53** (1): 5~13
- Drucker D J. Development of glucagon-like peptide-1-based pharmaceuticals as therapeutic agents for the treatment of diabetes. *Curr Pharm Des*, 2001, **7** (14): 1399~1412
- Brubaker P L, Drucker D J. Structure-function of glucagon receptor family of G protein-coupled receptors: the glucagon, GIP, GLP-1, and GLP-2 receptors. *Receptors Channels*, 2002, **8** (3~4): 179~188
- Runge S, Wulff B S, Madsen K, *et al.* Different domains of the glucagon and glucagon-like peptide-1 receptors provide the critical determinants of ligand selectivity. *Br J Pharmacol*, 2003, **138** (5): 787~794
- Aziz A, Anderson G H. Exendin-4, a GLP-1 receptor agonist, interacts with proteins and their products of digestion to suppress food intake in rats. *J Nutr*, 2003, **133** (7): 2326~2330
- Al-Sabah S, Donnelly D. A model for receptor-peptide binding at the glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor through the analysis of truncated ligands and receptors. *Br J Pharmacol*, 2003, **140** (2): 339~346

Glucagon-like Peptide-1 and Its Receptors and Their Functions in The Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus

FAN Yi-Jun, OUYANG Ke-Qing, WANG Gui-Xue*, HU Ying-He

(College of Bioengineering, Key Laboratory for Biomechanics Tissue Engineering, Ministry of Education,
Chongqing University, Chongqing 400044, China)

Abstract Insulin is widely used as an effective therapeutic drug for the treatments of type 1 and type 2 diabetes mellitus. The side effect of insulin in type 2 diabetes is that it may cause hypoglycemia. Another common used prescription drug for type 2 diabetes is gliclazide. This drug is as effective as insulin, but it may cause the side effect in enteron. It is extremely important to develop a novel safe and effective therapeutic drug for type 2 diabetes. Recently, research from pharmaceutical companies and many institutions demonstrated that glucagon-like peptide-1 (GLP-1) is an excellent therapeutic target for type 2 diabetes. GLP-1 can promote the secretion of insulin and enhance its sensitivity. Furthermore, treatment of type 2 diabetes patients with GLP-1 does not lead to hypoglycemia. More recent studies showed that GLP-1 is effective for both type 1 and type 2 diabetes mellitus. The latest research status of glucagon-like peptide-1 and its receptors is reviewed.

Key words diabetes mellitus, glucagon-like peptide-1, glucagon-like peptide-1 receptor

*Corresponding author . Tel: 86-23-65102508, E-mail: wanggx@cqu.edu.cn

Received: November 19, 2004 Accepted: December 31, 2004