

· 综 述 ·

Pax4 基因与糖尿病的研究进展*

袁文丽¹, 邓德耀^{1△}, 李亦平² 综述, 张瑛² 审校

(云南省第二人民医院:1. 检验科;2. 内分泌科, 昆明 650021)

关键词: 糖尿病; 胰岛 β 细胞; Pax4 基因; 综述**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.16.032**文献标识码:**A**文章编号:** 1673-4130(2012)16-1985-03

血糖的稳定依赖胰岛 β 细胞分泌的胰岛素和 α 细胞分泌的胰高血糖素的平衡。胰岛细胞数量的相对不足和功能紊乱是糖尿病发病的重要原因。1型糖尿病是由于胰岛 β 细胞的自身免疫破坏, 2型糖尿病则以胰岛素分泌受损伴随胰岛素抵抗为特点, 而其他特殊类型的糖尿病亦存在胰岛 β 细胞数量和/或质量的改变。因此, 深入了解 β 细胞可塑性的分子机制将为减少 β 细胞死亡、增加 β 细胞复制从而进行糖尿病的治疗提供一个新的方向^[1-2]。近年来, 对糖尿病发病机制的研究越来越深入到基因水平, 力图从基因角度进一步揭示该病的发病机制, 以期为糖尿病的治疗和预防提供新的方向^[3-5]。与胰岛 β 细胞功能密切相关的胰岛特异性转录因子-配对盒 4 (paired box4, Pax4)逐渐进入人们的视野。研究发现, Pax4 基因对生理条件下胰岛 β 细胞的生存和增殖具有至关重要的作用, 同时 Pax4 基因的多态性与糖尿病的发生相关。本文对 Pax4 基因与糖尿病近几年的研究进展作一综述。

1 Pax4 基因的结构和功能

Pax4 基因属于编码促进胚胎细胞增殖、分化及存活的转录因子家族。这类因子参与细胞内信号传导的高级调控, 在胚胎发育过程中对细胞分化、更新、凋亡等都起着十分重要的调控作用^[6-7]。脊椎动物中 Pax 家族共包含 9 个成员 (Pax1-Pax9), 通常包括配对域 (paired domain, PD)、八肽域 (octapeptide, OP) 和同源结构域 (homeodomain, HD) 3 个保守结构域^[8]。根据结构域组成的差异将 Pax 家族分为 4 个亚组。Pax4 属于缺乏 OP 结构域的 IV 亚组, 主要在胰岛细胞中表达, 并在胰岛祖细胞的产生、胰岛 β 细胞和胰岛 δ 细胞的分化中发挥重要的调控作用。

胚胎发育过程中, Pax4 转录最初在 9.5 天的胰腺胚芽中出现, 胚胎 13.5~15.5 d 时达到高峰, 然后下降至低表达水平。Greenwood 等^[9] 的谱系示踪技术证实, 含有 Pax4 重组基因启动子的小鼠可以产生更多的胰岛内分泌细胞。Wang 等^[10] 的基因打靶技术也提示, Pax4 的缺乏可以导致胰岛 β 细胞和 δ 细胞的成熟障碍和胰岛 α 细胞的大量增加。其中胰岛 α 细胞的增加一方面由于胚胎时期被 Pax4 抑制的 α 细胞特异性转录因子 Arx 的表达增加, 另一方面, Pax4 的缺乏可以促使成体 β 细胞向 α 细胞和 PP 细胞转化。Sui 等^[11] 在小鼠胚胎干细胞向胰腺前体分化的过程中, 观察到转录因子 Pax4 在诱导分化的第 15 天出现显著上调。Liang 等^[12] 在链脲霉素诱导糖尿病鼠的研究中观察到, 转录因子 Pax4 作为关键下游信号分子参与了胰十二指肠同源框 1-神经源素 3-Pax4 信号轴, 并在受损胰岛 β 细胞再生中发挥了至关重要的作用。以上研究均提示 Pax4 基因的表达对于维持胰岛 β 细胞的增殖和分化及胰岛

细胞表型具有至关重要的作用。

2 Pax4 基因的表达调控

活化蛋白 A 和 β 细胞素可以刺激 Pax4 基因的表达, 同时增加鼠胰岛 β 细胞的增殖。Wortmannin 抑制 β 细胞素诱导的 Pax4 的表达, 提示 PI3K 信号通路参与这种作用。还有研究发现活化蛋白 A 和 β 细胞素可以诱导胰脏细胞株 Pax4 基因的表达, 刺激人胚胎胰脏细胞的生长和分化。此外, 葡萄糖、活化蛋白 A 和 β 细胞素也可以诱导人内源性 Pax4 mRNA 水平的增加。Cheung 等^[13] 的研究发现, 鼠胰岛中过表达 Pax4 基因一方面可以激活 c-myc/Id2 细胞增殖信号通路, 另一方面还能诱导抗凋亡基因 bcl-xL 的上调。同时, c-myc 的表达需要 bcl-xL 诱导的存在, 从而促进 β 细胞的增殖而不是凋亡。人胰岛细胞中过度表达 Pax4 也可以诱导增殖并减少细胞因子介导的凋亡。还有研究发现, Pax4 蛋白可以通过定位在成对结构域上的一种新的蛋白转导区域渗透进胰岛细胞, 从而对抗 TNF- α 诱导的凋亡。同时, 还在动物和人类转导细胞中观察到了 c-myc 和 bcl-xL 的表达上调。近年来, Hu 等^[14] 研究也发现上调 Pax4 基因的表达能够抑制胰岛 β 细胞的凋亡, 这种保护作用可能是通过抑制 NF- κ B 并上调 Bcl-2 的表达来实现的。另一方面, Pax4 还可以通过抑制 MafA 同时上调 Cdk4 和 c-myc 的表达来实现其促进胰岛 β 细胞分化和增殖的作用。

对致炎细胞因子 IL-1 β 的研究为 Pax4 基因参与胰岛 β 细胞对生理性刺激的反应提供了证据。低浓度的 IL-1 β 可以刺激 Pax4 基因的表达, 增大人胰岛 β 细胞的增殖分化。相反, 高浓度的 IL-1 β 则是通过增加凋亡来抑制 Pax4 mRNA 水平。Fas 信号通路参与了这种双面效应, 当 FLICE 抑制蛋白 (FLIP) 失活时, Fas 信号通路可以从调节丝裂信号转换为凋亡信号。Fas 信号通路在维持胰岛 β 细胞的分泌功能方面也发挥着重要作用。Fas 缺陷鼠表现出葡萄糖诱导的胰岛素分泌受损。所以, Pax4 参与了 Fas/FLIP 信号转导通路, 对细胞因子 IL-1 β 起正向或负向的作用。这种作用在 1 型和 2 型糖尿病患者体内可以被观察到。近年来, 睫状神经营养因子也被发现可以显著上调 Pax4 mRNA 水平, 并促进新生鼠胰岛细胞的生存。综上所述, Pax4 是胰岛 β 细胞成熟和分化过程中重要的信号通路分子和可塑性的作用靶点。

3 Pax4 基因的多态性与糖尿病**3.1 Pax4 基因多态性与 1 型糖尿病和 2 型糖尿病**

3.1.1 1 型糖尿病 是自身免疫造成的胰腺 β 细胞破坏与再生间的平衡被破坏而导致的胰岛素绝对缺乏, β 细胞的发育和再生障碍是 1 型糖尿病发生的重要过程之一。Pax4 在瑞士和德国的独立研究中均发现 Pax4 基因突变在健康人群和 1 型糖尿

* 基金项目: 云南省教育厅重点科研课题基金项目(09c0306)。

△

通讯作者, E-mail: dengdeyao2007@sina.com。

患者群中有显著性差异。Biasson-Lauber 等^[15]研究发现,1 型糖尿病儿童中存在 73% 的 Pax4C 突变,而在健康人群中仅为 32%,相反,Pax4A/C 杂合子在健康对照中为 62%,而在胰岛细胞抗体阳性的人群中为 73.6%,这些人群仅有 17.5% 发展为糖尿病。Zhang 等^[16]研究也发现 Pax4 基因多态性和中国汉族 1 型糖尿病的发生密切相关。然而,在对 498 例芬兰和匈牙利 1 型糖尿病患者的研究中,却未发现 Pax4 基因 1168C/A 多态性与 1 型糖尿病有关。近年来 Howson 等^[17]和 Bergholdt 等^[18]的两个大样本独立性研究也都未发现 Pax4 基因单核苷酸多态性位点和/或单倍型和 1 型糖尿病的发生相关。

3.1.2 2 型糖尿病方面,2001 年已有文献报道 Pax4 基因 R121W 多态性和日本人群 2 型糖尿病的发生密切相关。其后,Tokuyama 等^[19]在日本 793 例 2 型糖尿病患者 Pax4 基因的研究中发现,等位基因 Trp121 的频率是 3.59%,并且 Trp121 携带者胰岛素使用率和第一相 C-肽分泌水平显著高于对照人群。最近,Gong 等^[20]研究发现 Pax4 基因 R121W 多态性与 2 型糖尿病的发生密切相关,其中 R 等位基因携带者餐后胰岛素水平显著高于 w 等位基因携带者,使用瑞格列奈单一治疗后,R/R 基因型患者餐后血糖下降显著高于 W/W 基因型。然而,近年来 Chavali 等^[21]在对印度北部 1 019 例 2 型糖尿病患者 Pax4 基因 R121W 多态性的研究中却未发现其与 2 型糖尿病密切相关。这些不同国家和地区的研究差异很可能源于遗传异质性、群体差异或者是基因和环境的相互作用。在 1 型糖尿病和 2 型糖尿病中均存在胰岛 β 细胞功能的逐渐衰退,所以,越来越多的学者推测,在胰岛发育和(或)成熟过程中的 Pax4 基因异常表达将会增加胰岛细胞的凋亡易感性,同时引起细胞增殖数量的减少,进而产生胰岛 β 细胞功能衰退,并最终导致糖尿病的发生。

3.2 Pax4 基因多态性与特殊类型糖尿病

3.2.1 青少年期起病的成人型糖尿病(maturity onset diabetes of the young, MODY):MODY 是一种单基因突变所致的常染色体显性遗传病,近年来证实某些调节胰腺发育和功能的转录因子突变是 MODY 发病的遗传学基础。泰国的一项研究发现 Pax4 基因 R164W 及 IVS7-1G>A 的多态性可以加重 MODY 的表型,并且 Pax4 基因 R192H 的多态性与 MODY 的初发年龄相关^[22]。日本最近的研究也发现^[23],Pax4 基因 3 号外显子的 36 bp 杂合子缺失和 MODY 表型有关,并推测 Pax4 基因可能作为糖尿病相关转录因子的下游靶器官,通过抑制细胞复制和抗凋亡的能力来参与并且加重 MODY 的表型。然而,Dusatkova 等^[24]在 53 个捷克 MODY 家庭的研究中却未发现 Pax4 基因存在突变。

3.2.2 酮症倾向糖尿病(ketosis prone diabetes, KPD):KPD 是一组具有较大异质性的糖尿病,其临床表型既可类似 1 型糖尿病,也可能类似 2 型糖尿病。由于它以酮症为首发症状,故推测其胰岛功能在起病时已遭受较大损害,可能存在遗传性胰岛 β 细胞分泌缺陷而不能耐受高糖下的糖脂毒性,导致 β 细胞分泌功能急剧下降而发生酮症酸中毒。Haaland 等^[25]在美国 37 例具有明显 2 型糖尿病家族遗传史,并以完全胰岛素依赖和胰岛 β 细胞储备缺乏为特点的胰岛自身抗体阴性的酮症倾向糖尿病患者 7 个基因进行扫描后发现,PDX-1 基因 5' 非翻译区的 P33T 多态性和 Pax4 基因 R121W 多态性与酮症倾向糖尿病的发生相关。周敏等^[26]在中国南方汉族人群研究中发现,Pax4 基因 P321H 多态性与胰岛自身抗体阴性的酮症倾向 2 型糖尿病未见关联,但与男性和小于 20 岁的酮症倾向糖

尿病的发生有关。

Pax4 被视为胰岛 β 细胞生长、分化的重要因子。在生理条件下,β 细胞用来满足增加的胰岛素需求,比如说在怀孕和肥胖的条件下胰岛素的需求增加。然而,Pax4 基因的突变则会削弱其转录活性,从而影响胰岛 β 细胞寿命或增殖。在胰岛 β 细胞丧失功能的情况下,也存在着未减弱的细胞凋亡,其共同的作用使胰岛 β 细胞逐渐丧失,于是,就出现了胰岛素的相对缺乏、高血糖,以至发展为糖尿病。然而以不同国家和/或不同人群糖尿病患者为研究对象的不同文献报道了许多并不相同的 Pax4 基因多态性位点。另一方面,在不同国家、甚至同一国家的不同区域,同一多态性位点等位基因的分布频率也不尽相同,这种多态性分布的差异性对糖尿病的表型也存在着不同的影响。这种差异很可能源于遗传异质性、群体差异或者是基因和环境的相互作用。因此,Pax4 基因在糖尿病中的复杂作用尚待更多的研究,尤其是通过在不同的种族、不同地区中的研究来进一步验证。

参考文献

- [1] Jeker LT, Bour-Jordan H, Bluestone JA. Breakdown in peripheral tolerance in type 1 diabetes in mice and humans[J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2012, 2(3): a007807.
- [2] Chen G, Li M, Xu Y, et al. Impact of family history of diabetes on β-cell function and insulin resistance among Chinese with normal glucose tolerance[J]. Diabetes Technol Ther, 2012, impress.
- [3] 渠利利, 徐勇飞, 朱婵. 2 型糖尿病相关基因多态性及其研究进展 [J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(8): 836-838.
- [4] 刘环宇, 刘博洋, 宁乐平. HSL 基因启动子-60C>G 多态性与 2 型糖尿病高脂血症的相关性研究 [J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(14): 1558-1560.
- [5] Sanda S, Wei S, Rue T, et al. A SNP in G6PC2 predicts insulin secretion in type 1 diabetes[J]. Acta Diabetol, 2012, impress.
- [6] Li CG, Eccles MR. PAX Genes in Cancer, Friends or Foes? [J]. Front Genet, 2012, 3(1): 6.
- [7] Thompson JA, Ziman M. Pax genes during neural development and their potential role in neuroregeneration[J]. Prog Neurobiol, 2011, 95(3): 334-351.
- [8] Holland LZ, Short S. Alternative splicing in development and function of chordate endocrine systems: a focus on Pax genes[J]. Integr Comp Biol, 2010, 50(1): 22-34.
- [9] Greenwood AL, Li S, Jones K, et al. Notch signaling reveals developmental plasticity of Pax4 pancreatic endocrine progenitors and shunts them to a duct fate[J]. Mech Dev, 2006, 124(1): 97-107.
- [10] Wang J, Elghazi L, Parker SE, et al. The concerted activities of Pax4 and Nkx2.2 are essential to initiate pancreatic β-cell differentiation[J]. Dev Bio, 2004, 266(1): 178-189.
- [11] Sui J, Mehta M, Shi B, et al. Directed differentiation of embryonic stem cells allows exploration of novel transcription factor genes for pancreas development[J]. Stem Cell Rev, 2012, impress.
- [12] Xiao-Di Liang, Yuan-Yuan Guo, Ming Sun, et al. Streptozotocin-induced expression of Ngn3 and Pax4 in neonatal rat pancreatic α-cells[J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(23): 2812-2820.
- [13] Cheung WC, Kim JS, Linden M, et al. Novel targeted deregulation of c-Myc cooperates with Bcl-X(L) to cause plasma cell neoplasms in mice[J]. J Clin Invest, 2004, 113(12): 1763-1773.
- [14] Hu He KH, Lorenzo PI, Brun T, et al. In vivo conditional Pax4 overexpression in mature islet β-cells prevents stress-induced hyperglycemia in mice[J]. Diabetes, 2011, 60(6): 1705-1715.

- [15] Biason-Lauber A, Boehm B, Lang-Muritano M, et al. Association of childhood diabetes mellitus with a genomic variant of Pax4: possible link to β cell regenerative capacity [J]. Diabetologia, 2005, 48(5): 900-905.
- [16] Zhang Y, Xiao X, Liu Y, et al. The association of the PAX4 gene with type 1 diabetes in Han Chinese [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2008, 81(3): 365-369.
- [17] Howson JM, Walker NM, Smyth DJ, et al. Analysis of 19 genes for association with type I diabetes in the Type I Diabetes Genetics Consortium families [J]. Genes Immun, 2009, Suppl 1: S74-84.
- [18] Bergholdt R, Brorsson C, Boehm B, et al. No association of the IRS1 and PAX4 genes with type I diabetes [J]. Genes Immun, 2009, Suppl 1: S49-53.
- [19] Tokuyama Y, Matsui K, Ishizuka T, et al. The Arg121Trp variant in PAX4 gene is associated with β -cell dysfunction in Japanese subjects with type 2 diabetes mellitus [J]. Metabolism, 2006, 55(2): 213-216.
- [20] Gong ZC, Huang Q, Dai XP, et al. NeuroD1 A45T and PAX4 R121W polymorphisms are associated with plasma glucose level of repaglinide monotherapy in Chinese patient with type 2 diabetes [J]. Br J Clin Pharmacol, 2012, impress.
- [21] Chavali S, Mahajan A, Tabassum R, et al. Association of variants in genes involved in pancreatic β -cell development and function with type 2 diabetes in North Indians [J]. J Hum Genet, 2011, 56(10): 695-700.
- [22] Nattachet P, Suwattanee K, Napat S, et al. PAX4 mutations in thais with maturity onset diabetes of the young [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2007, 92(7): 2821-2826.
- [23] Jo W, Endo M, Ishizu K, et al. A novel PAX4 mutation in a Japanese patient with maturity-onset diabetes of the young [J]. Tohoku J Exp Med, 2011, 223(2): 113-118.
- [24] Dusatkova P, Vesela K, Pruhova S, et al. Lack of PAX4 mutations in 53 Czech MODYX families [J]. Diabet Med, 2010, 27(12): 1459-1460.
- [25] Haaland WC, Scaduto DI, Maldonado MR, et al. A-beta-subtype of ketosis-prone diabetes is not predominantly a monogenic diabetic syndrome [J]. Diabetes Care, 2009, 32(5): 873-877.
- [26] 周敏, 张英, 张冬梅, 等. PAX4 基因多态性与胰岛自身抗体阴性酮症倾向糖尿病的关系 [J]. 中南大学学报, 2010, 35(3): 215-221.

(收稿日期: 2012-01-08)

· 综述 ·

唐氏综合征发病风险与相关基因多态性研究进展

刘薇¹综述, 尹志农²审校

(1. 河北医科大学, 河北石家庄 050017; 2. 北京市垂杨柳医院 100022)

关键词: 唐氏综合征; 基因多态性; 叶酸; 载脂蛋白 E**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.16.033**文献标识码:**A**文章编号:** 1673-4130(2012)16-1987-03

唐氏综合征(down syndrome, DS),又称先天愚型,是活产胎儿中最常见的染色体异常综合征之一,其发病率约为1/650~1/800。患儿通常具有严重的智力发育迟缓和特别明显的组织器官畸形。患儿21号染色体呈三体,21号染色体基因过表达,形成DS表型。减数分裂时染色体不分离造成配子内有2条21号染色体,与正常配子结合形成3条21号染色体是目前比较认可的发病机制,其中额外的一条染色体95%为母源性的。一般认为高龄孕妇卵子老化可能会引起染色体不分离^[1]。基因多态性检测对多种疾病发病风险的评估具有重要意义^[2-3],最近一些研究表明,母体的某些基因变异可能是唐氏综合征的危险因素^[4],从母体基因水平对唐氏综合征风险进行评估,对从新的视角探讨唐氏综合征的发病风险具有重要意义,本文就基因多态性与唐氏综合征发病风险的相关性作一综述。

1 叶酸代谢相关基因多态性与唐氏综合征

叶酸是水溶性B族维生素,其主要的生理功能包括:(1)为嘌呤核苷酸和胸腺嘧啶核苷酸提供一碳单位,在DNA和RNA的合成中起重要作用;(2)为同型半胱氨酸提供甲基使之转化为S-腺苷蛋氨酸(S-adenosylmethionine, SAM);甲基化是维持DNA稳定性的决定因素,SAM是DNA甲基化作用最重要的甲基提供者,因此,叶酸缺乏可导致DNA不稳定。叶酸代谢过程中有亚甲基四氢叶酸还原酶、蛋氨酸合成酶还原酶、

维生素B₁₂转移因子、还原叶酸载体等多种物质参与。其代谢过程中相关基因突变会引起编码的酶的催化活性异常,影响叶酸代谢过程,致使同型半胱氨酸水平升高^[5],SAM生成减少,导致DNA低甲基化,影响染色体分离及其稳定性。

1.1 MTHFR 基因多态性 5'10-亚甲基四氢叶酸还原酶(5,10-lethylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)是叶酸代谢的关键酶,催化5,10-亚甲基四氢叶酸还原为5-甲基四氢叶酸,5-甲基四氢叶酸作为甲基供体促进同型半胱氨酸向蛋氨酸转化,维持血浆同型半胱氨酸正常水平,并继续生成人体内重要的甲基供体-SAM。

677C→T为MTHFR基因最常见的突变位点,该突变可使缬氨酸取代MTHFR 223位点上的丙氨酸,导致MTHFR活性降低^[6]。有学者等发现北美地区生育唐氏综合征患儿的母亲叶酸代谢异常,同型半胱氨酸水平升高,677位T等位基因频率明显增高,因此提出MTHFR677位基因突变引起叶酸代谢异常,进而引起DNA低甲基化,推之是唐氏综合征的危险因素。此后,引发了一系列的关于MTHFR基因多态性与唐氏综合征发病风险的相关性研究。Sadiq等^[7]在对约旦生育唐氏胎儿母亲的研究中也认为MTHFR677T等位基因是唐氏综合征的危险因素,然而,在来自丹麦的研究中却发现MTHFR677位基因多态与DS风险无关^[8]。

1298A→C是MTHFR基因另一突变位点,其与唐氏综合