

[文章编号] 1674-8115(2011)04-0497-04

· 综述 ·

# 翼螺旋转录因子 Foxa2 与糖脂代谢及糖尿病关系的研究进展

陆 明, 刘丽梅

(上海交通大学附属第六人民医院内分泌代谢科 上海市糖尿病研究所, 上海 200233)

[摘要] 翼螺旋转录因子 Foxa2 是调节胰腺发育及糖、脂代谢的重要转录因子。作为胰岛素信号的下游靶标, 大脑中 Foxa2 的结构性激活, 引起食物消耗、代谢及胰岛素敏感性增加。Foxa2 参与葡萄糖和脂质代谢通路的基因表达调节, 改善外周组织胰岛素抵抗, 是新的胰岛素敏感性转录调节因子; 该蛋白的磷酸化通过细胞定位改变而引起失活。该文就 Foxa2 与糖脂代谢及糖尿病关系的研究进展进行综述。

[关键词] Foxa2; 糖脂代谢; 糖尿病

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2011.04.027

[中图分类号] R587.1

[文献标志码] A

## Research progress of relationship between forkhead transcription factor Foxa2 and glucose and lipid metabolism and diabetes mellitus

LU Ming, LIU Li-mei

(Department of Endocrinology and Metabolism, Shanghai Diabetes Institute, The Sixth People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China)

[Abstract] Forkhead transcription factor Foxa2 is an important transcription factor regulating pancreatic development and glucose and lipid metabolism. As a downstream target of insulin signaling, constitutive activation of Foxa2 in the brain results in increased food consumption, metabolism and insulin sensitivity. Foxa2 regulates gene expression involved in glucose and lipid metabolism pathway, improves insulin resistance in peripheral tissues, and has been recognized as a novel transcription factor of insulin sensitivity. Phosphorylation of the protein results in Foxa2's inactivation by its localization changing from nuclei to cytosol. The research progress of relationship between Foxa2 and glucose and lipid metabolism and diabetes mellitus is reviewed in this paper.

[Key words] Foxa2; glucose and lipid metabolism; diabetes mellitus

翼螺旋转录因子叉头框(forkhead box, Fox), 主要在肝脏、胰腺、肺和脂肪组织中表达, 是调节胰腺发育及糖脂代谢的重要转录因子。Foxa1 与 Foxa2 共同占据 Pdx1 的多个调节区域。在小鼠胰腺原基中对 Foxa1 与 Foxa2 进行复合性条件敲除, 使 Pdx1 表达完全缺失, 可导致胰腺发育不全和高血糖, 小鼠出生后早期死亡<sup>[1]</sup>。胰腺 β 细胞 Foxa2 基因特异性敲除小鼠(*Foxa2<sup>loxP/loxP</sup> Ins. Cre*)可发生严重高胰岛素性低血糖, 并在出生后 9~12 d 死亡<sup>[2]</sup>。此外, 小鼠的离体胰岛反转录聚合酶链式反应(reverse transcriptase polymerase chain reaction, RT-PCR)分析表

明: Foxa2 基因敲除导致编码 ATP 敏感性钾 (ATP-sensitive potassium, KATP) 通道的 2 个亚单位 SUR1 和 Kir6.2 基因下调约 75%, 提示 Foxa2 与糖代谢和葡萄糖刺激的胰岛素分泌相关<sup>[2]</sup>。Foxa2 是胰岛素信号的下游靶标<sup>[3~5]</sup>, 大脑中 Foxa2 的结构性激活导致神经元黑色素聚集激素 (melanin concentrating hormone, MCH) 和促食素 (orexin) 表达增加, 食物消耗、代谢以及胰岛素敏感性均增加, 从而使血糖稳态改善和脂肪减少<sup>[6]</sup>。

Foxa2 已被确认为是一个新的胰岛素敏感性转录调节因子, 参与调节糖脂代谢通路的基因表达, 并

[基金项目] 国家自然科学基金(30771022)和上海市科委基金(10XD1403400)(National Natural Science Foundation of China, 30771022; Shanghai Science and Technology Committee Foundation, 10XD1403400)。

[作者简介] 陆 明(1984—), 女, 硕士生; 电子信箱: lumingwyp@yahoo.com.cn。

[通信作者] 刘丽梅, 电子信箱: lmliu@sjtu.edu.cn。

改善外周组织胰岛素抵抗<sup>[4]</sup>。此外,Foxa2 还是脂肪细胞分化的关键抑制因子和脂肪细胞中胰岛素敏感基因的激活因子,能够阻碍脂质形成<sup>[7]</sup>。除在日本年轻人成年发病型糖尿病(maturity onset diabetes of the young, MODY)中发现了 A328V 突变外,针对北印度人群的研究<sup>[8]</sup>首次证实 Foxa2 的变异可能影响 2 型糖尿病的发病风险和代谢特征。由于 Foxa2 在胰腺发育、糖脂代谢及糖尿病发病中的重要作用,本文就 Foxa2 与糖脂代谢及糖尿病关系的研究进展进行综述。

## 1 Foxa2 基因定位及分子结构

人类 Foxa2, 又名肝细胞核因子(hepatocyte nuclear factor, HNF)3 $\beta$ , 基因定位于染色体 20p11, HNF3B 基因全长 4.5 kb, 包括 3 个外显子和 2 个内含子, 编码 457 个氨基酸。外显子 1 为大部分 5' 端非翻译区, 外显子 2 只包含 5' 端非翻译区的一个核苷酸, 其余编码 1~23 号氨基酸; 外显子 3 除编码 24~457 号氨基酸 DNA 序列外, 还包含 3' 端非翻译区。人类 Foxa2 序列高度保守, 分别与小鼠和大鼠同源基因具有 96.7% 和 97.8% 的相似性。HNF3B 的启动子区域具有一些转录因子的结合位点, 包括同源结构域因子心肌前体细胞特异性转录因子 Nkx-2、环磷酸腺苷反应元件结合蛋白(cAMP response element binding protein, CREB)、HNF6 和 HNF3。由 Fox 基因编码的 Foxa2 蛋白由 4 部分组成, 编码 159~252 号氨基酸, 构成 Foxa2 的 DNA 结合域, 而 14~93 号氨基酸和 361~457 号氨基酸则分别构成了 2 个反式转录激活区域, 而 106~113 号氨基酸构成该蛋白的核定位信号区。

## 2 Foxa2 在胰腺发育中的作用

### 2.1 Foxa2 与胰腺 $\beta$ 细胞的分化和功能

*Foxa2*<sup>loxP/loxP</sup> *Ins. Cre* 小鼠在胰岛素 2 启动子控制下, 大约 85% 的  $\beta$  细胞中特异性缺失 Foxa2 蛋白, 所有  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  和  $\delta$  细胞谱系以适当比例出现, 多数胰岛无固定形状, 并且  $\alpha$  细胞常以随机方式在  $\beta$  细胞内部团块中出现, 提示 Foxa2 与胰岛形成有关<sup>[2]</sup>。此外, 在成熟小鼠  $\beta$  细胞中诱导 Foxa1 和 Foxa2 转录因子缺失, 可使血糖稳态和胰岛素分泌受损, 提示在  $\beta$  细胞特异性分泌和代谢通路的发育和维持中, Foxa1 与 Foxa2 具有关键作用<sup>[9]</sup>。

### 2.2 Foxa2 与 $\alpha$ 细胞分化

在胰腺发育中, 胰腺前体细胞首先被特化变成内分泌祖细胞, 然后经过转录因子的组合效应调节分化成  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\delta$  或  $\epsilon$  细胞。这些细胞一旦开始分泌各自的激素即被认为已成熟。研究表明, Foxa2 对于  $\alpha$  细胞谱系初始分化并非是必要的, 而高血糖素产生的  $\alpha$  细胞的终末分化步骤和成熟均依赖 Foxa2<sup>[10]</sup>; 敲除 Foxa2 的 Foxa3Cre 转基因小鼠(*Foxa2*<sup>loxP/loxP</sup> *Foxa3Cre*) 血糖水平明显低于对照组同胞小鼠, 血浆高血糖素水平明显降低; 免疫荧光分析表明: 胰岛中高血糖素阳性  $\alpha$  细胞明显减少、高血糖素蛋白水平降低、胰腺前高糖素原转录物水平降低超过 90%, 表明高血糖素分泌缺陷, 产物减少导致严重低血糖及突变体早期死亡<sup>[10]</sup>。

### 3 Foxa2 与糖代谢的关系

小鼠离体胰岛的 RT-PCR 分析<sup>[2]</sup>表明: 葡萄糖刺激的胰岛素分泌通路中的几个基因表达依赖转录因子 Foxa2; 尽管在对照组与突变组(*Ins. Cre* 小鼠)间, 编码 Glut2、葡萄糖激酶和谷氨酸脱氢酶的基因表达无明显差异, 但是编码 KATP 通道的 2 个亚单位 Surl 和 Kir6.2 的基因在 *Ins. Cre* 小鼠胰岛组织中下调约 75%; 原位杂交实验表明这两种基因的表达呈现 Foxa2 依赖性; 共转染 Foxa2 和报告质粒的实验证实, Foxa2 直接调节编码 Surl 和 Kir6.2 的基因。

*Ins. Cre* 小鼠表型比 *Surl*<sup>-/-</sup> 或 *Kir6.2*<sup>-/-</sup> 小鼠更严重, 提示存在 Foxa2 其他靶标。微阵表达图谱分析表明: 编码 Schad(短链 L3 羟基脂酰 CoA 脱氢酶)基因的 hadhsc, 在突变胰岛中下调超过 3 倍。与 Foxa2 基因缺失相似, 长链 3-羟酰-辅酶 A 脱氢酶(long-chain3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase, LCHAD)缺陷症患者存在低血糖症和高胰岛素血症, 表明  $\beta$  细胞中脂肪酸氧化不仅维持血糖稳态, 而且对此过程中的 Foxa2 具有潜在调节作用。

另外, 编码胰岛特异性葡萄糖 6 磷酸酶相关蛋白的 G6PC2 基因的 Foxa2 结合位点处有一常见启动子变异 rs573225 (-231G/A)。体外研究<sup>[11]</sup>发现, G 等位基因表现出与 Foxa2 转录因子结合的高亲和性并增加 G6PC2 启动子活性; 与 AG 或 AA 基因型的肥胖者相比, GG 型者胰岛素源性指数增加 30%, 并且该位点与空腹血糖相关, 提示 Foxa2 结合位点在胰岛素分泌和空腹血糖水平控制方面的作用。

此外,动脉硬化风险人群中单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)与空腹血糖的相关性研究<sup>[12]</sup>发现,Foxa2 附近的低频率变异 rs1209523(稀少等位基因频率=0.043)与欧美国人和非裔美国人的空腹血糖水平显著相关。

#### 4 Foxa2 与胰岛素敏感性及脂代谢

##### 4.1 Foxa2 与胰岛素敏感性

肝脏糖脂代谢主要受胰岛素和胰升糖素调节,进食或饥饿状态时,这两种激素在血循环中的浓度会发生变化,通过相互拮抗来维持正常的血糖水平。Foxa2 在胰岛素受体激活后被 Akt 直接磷酸化,导致 Foxa2 被细胞核排出,其转录活性受抑制。研究表明,在野生型小鼠,血浆胰岛素通过核排斥抑制 Foxa2;在空腹状态(低胰岛素水平时),Foxa2 定位于细胞核并激活参与脂肪酸氧化和酮体生成的相关基因;而在胰岛素抵抗或高胰岛素血症小鼠中,Foxa2 失活并持续定位于肝细胞细胞质中。突变的 Foxa2T156A 对 Akt 介导的磷酸化有抵抗作用,通过转染由腺病毒表达的突变 Foxa2 T156A 激活 Foxa2,活化 Foxa2 不受胰岛素抑制,阻断了胰岛素磷酸化反应对 Foxa2 的作用<sup>[3]</sup>。当突变的 Foxa2 T156A 导入糖尿病小鼠的肝细胞后,逆转肝脏脂肪变性、降低肝脏三酰甘油含量、提高肝脏胰岛素敏感性、减少葡萄糖产物、使血糖水平正常并明显降低血浆胰岛素水平,这些改变与编码脂肪酸氧化酶、生酮作用和糖酵解作用的基因表达增加有关<sup>[3]</sup>。因此,推测在胰岛素抵抗综合征中,慢性高胰岛素血症导致胞质定位和 Foxa2 失活,促进肝脏中脂质蓄积和胰岛素抵抗。Foxa2 作为一种新的胰岛素敏感性转录调节因子将受到关注<sup>[14]</sup>。

##### 4.2 Foxa2 与脂代谢

Foxa2 在分化的脂肪细胞表达,诱导参与葡萄糖和脂肪代谢的基因表达,包括葡萄糖转运体 4、己糖激酶 2、肌肉丙酮酸盐激酶、激素敏感性脂肪酶及解偶联蛋白 2、3。与野生型同胞相比,饮食诱导的单倍剂量不足 Foxa2 (Foxa2<sup>+/−</sup> 201T1 chloride) 肥胖小鼠由于能量消耗降低进展为增强的肥胖症<sup>[7]</sup>。氧化物酶体增生激活受体 γ 协同刺激因子 (peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator, PGC) 1β 可以激活 Foxa2。Foxa2 通过 PGC-1β 促进肝脏脂肪酸氧化三酰甘油和极低密度脂蛋白分泌,维持肝脏

脂质稳态<sup>[15]</sup>。此外,Foxa2 通过调节载脂蛋白 M (apolipoprotein M, ApoM) 增加血浆高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 水平<sup>[16]</sup>。胰岛素通过 Foxa2 介导机制,抑制 ApoM 表达;而 ApoM 是血浆前 β-HDL 和 α-HDL 聚集的重要因素<sup>[17]</sup>。由于高胰岛素血症状态下 Foxa2 失活,肥胖小鼠 ApoM 表达和血浆前 β-HDL 水平均降低。发生磷酸化缺陷的突变——Foxa2T156A (Ad-T156A),使 Foxa2 在细胞核中再表达,激活了 ApoM 表达并增加血浆前 β-HDL 和 α-HDL 水平;相反,单倍剂量不足的 Foxa2<sup>+/−</sup> 小鼠表现出肝脏 ApoM 表达和血浆前 β-HDL 以及 HDL 水平的下降<sup>[16]</sup>。Foxa2 是胰岛素信号的下游靶标,在饱食和高胰岛素肥胖小鼠,胰岛素信号导致 Foxa2 核排斥,从而减少了促食素和 MCH 的表达<sup>[6]</sup>。最近研究<sup>[18]</sup>发现:人血浆 ApoM 与血浆总胆固醇水平以及低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol LDL-C) 或高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 呈正相关;然而,该项研究中与瘦素相关的体质质量指数,并未显示出与 ApoM 的相关性。

#### 5 Foxa2 与人类 2 型糖尿病及 MODY 的关系

由于 Foxa2 在胰腺发育中的重要性以及在调节胰腺基因转录中的功能,使其成为 2 型糖尿病的候选基因。针对北印度人群的研究<sup>[8]</sup>发现,Foxa2 的第 1 个内含子的一个三核苷酸串联重复多态标记即 (TCC)n,其常见等位基因 A5 与 2 型糖尿病具有强相关性;此外,A5 与正常对照组空腹血糖增高、胰岛素水平下降及 C 肽水平相关。另外,在正常体质质量受试者中 rs1055080 位点的野生型 GG 基因型具有防止 2 型糖尿病发生的保护作用<sup>[8]</sup>。提示 Foxa2 可能影响北印度人 2 型糖尿病的发病风险与代谢特征。

迄今为止,发现的 6 个 MODY 基因中有 5 个为转录因子,HNF3B 即 Foxa2 作为 β 细胞转录调控网络的上游因子,调控 Pdx-1/MODY4 的转录。因此,Foxa2 也可能成为新的 MODY 候选基因。68 例日本 MODY 患者的 Foxa2 基因筛查中发现一个错义突变 A328V。由于 6 个 MODY 基因仅可解释中国人 MODY 患者不足 5%,在中国人 MODY 和早发 2 型糖尿病中进一步确认和筛查 MODY 候选基因(包括 Foxa2)可能找到中国人特有的 MODY 基因<sup>[19]</sup>。

## 6 结语

2型糖尿病或代谢综合征主要特征之一是胰岛素抵抗。无论轻度还是重度胰岛素抵抗,胰岛素都会通过活化磷脂酰肌醇诱导 Foxa2 磷酸化,而产生 Foxa2 的细胞核排斥,即 Foxa2 不能定位于细胞核而进入细胞质,因而抑制了 Foxa2 的活性。因此,开发抑制 Foxa2 磷酸化的药物,通过发挥机体 Foxa2 活性,促进机体能量消耗,减少脂肪以及改善血糖稳态,从而达到治疗 2 型糖尿病或代谢综合征的效果。

## [参考文献]

- [1] Gao N, LeLey J, Vatamaniuk MZ, et al. Dynamic regulation of Pdx1 enhancers by Foxa1 and Foxa2 is essential for pancreas development[J]. *Genes Dev*, 2008, 22(24): 3435–48.
- [2] Sund NJ, Vatamaniuk MZ, Casey M, et al. Tissue-specific deletion of Foxa2 in pancreatic  $\beta$  cells results in hyperinsulinemic hypoglycemia[J]. *Genes Dev*, 2001, 15(13): 1706–1715.
- [3] Wolfrum C, Besser D, Luca E, et al. & Stoffel, M. Insulin regulates the activity of forkhead transcription factor Hnf-3 $\beta$ /Foxa-2 by Akt-mediated phosphorylation and nuclear/cytosolic localization [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(20): 11624–11629.
- [4] Wolfrum C, Asilmaz E, Luca E, et al. Foxa2 regulates lipid metabolism and ketogenesis in the liver during fasting and in diabetes[J]. *Nature*, 2004, 432(7020): 1027–1032.
- [5] Matsuzaka T, Shimano H, Yahagi N, et al. Crucial role of a long-chain fatty acid elongase, Elovl6, in obesity-induced insulin resistance[J]. *Nat Med*, 2007, 13(10): 1193–1202.
- [6] Silva JP, von Meyenn F, Howell J, et al. Regulation of adaptive behaviour during fasting by hypothalamic Foxa2[J]. *Nature*, 2009, 462(7273): 646–50.
- [7] Wolfrum C, Shih DQ, Kuwajima S, et al. Role of Foxa-2 in adipocyte metabolism and differentiation[J]. *J Clin Invest*, 2003, 112(3): 345–356.
- [8] Tabassum R, Chavali S, Dwivedi OP, et al. Genetic variants of Foxa2: risk of type 2 diabetes and effect on metabolic traits in North Indians[J]. *J Hum Genet*, 2008, 53(11–12): 957–965.
- [9] Gao N, Le Lay J, Qin W, et al. Foxa1 and Foxa2 maintain the metabolic and secretory features of the mature beta-cell[J]. *Mol Endocrinol*, 2010, 24(8): 1594–1604.
- [10] Lee CS, Sund NJ, Behr R, et al. Foxa2 is required for the differentiation of pancreatic  $\alpha$  cells[J]. *Dev Biol*, 2005, 278(2): 484–495.
- [11] Dos Santos C, Bougnères P, Fradin D. A single-nucleotide polymorphism in a methylatable Foxa2 binding site of the G6PC2 promoter is associated with insulin secretion *in vivo* and increased promoter activity *in vitro*[J]. *Diabetes*, 2009, 58(2): 489–92.
- [12] Xing C, Cohen JC, Boerwinkle E. A weighted false discovery rate control procedure reveals alleles at Foxa2 that influence fasting glucose levels[J]. *Am J Hum Genet*, 2010, 86(3): 440–446.
- [13] Howell JJ, Stoffel M. Nuclear export-independent inhibition of Foxa2 by insulin[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(37): 24816–24824.
- [14] Puigserver P, Rodgers JT. Foxa2, a novel transcriptional regulator of insulin sensitivity[J]. *Nat Med*, 2006, 12(1): 38–39.
- [15] Wolfrum C, Stoffel M. Coactivation of Foxa2 through Pgc-1beta promotes liver fatty acid oxidation and triglyceride/VLDL secretion [J]. *Cell Metab*, 2006, 3(2): 99–110.
- [16] Wolfrum C, Howell JJ, Ndungo E, et al. Foxa2 activity increases plasma high density lipoprotein levels by regulating apolipoprotein M [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(24): 16940–16949.
- [17] Wolfrum C, Poy MN, Stoffel M. Apolipoprotein M is required for prebeta-HDL formation and cholesterol efflux to HDL and protects against atherosclerosis[J]. *Nat Med*, 2005, 11(4): 418–422.
- [18] Axler O, Ahnström J, Dahlbäck B. An ELISA for apolipoprotein M reveals a strong correlation to total cholesterol in human plasma[J]. *J Lipid Res*, 2007, 48(8): 1772–1780.
- [19] 刘丽梅. 单基因突变型 2 型糖尿病与中国人的研究现状和任务[J]. 上海交通大学学报:医学版, 2007, 27(7): 765–769.

[收稿日期] 2010-08-21

[本文编辑] 王淑平