

## 金属硫蛋白在代谢性疾病中的研究进展

杨燕\*

(兰州大学第二医院 内分泌科, 甘肃 兰州 730030)

**摘要:** 金属硫蛋白(MT)是一类富含半胱氨酸的低分子金属结合蛋白,主要通过抗氧化应激、抗感染、抑制细胞凋亡机制,对肥胖症、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)和糖尿病(DM)及并发症起到保护作用。

**关键词:** 金属硫蛋白;代谢性疾病;进展

中图分类号:R58 文献标志码:A

## Research progress of metallothionein in metabolic diseases

YANG Yan\*

(Department of Endocrinology, the Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, China)

**Abstract:** Metallothionein (MT) is a kind of low molecular metal binding proteins rich in cysteine. It plays a protective role in obesity, non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), diabetes mellitus (DM) and its complications. It has many functions such as anti-oxidative stress, anti-inflammatory, and inhibiting cell apoptosis.

**Key words:** metallothionein; metabolic disease; progress

各种代谢性疾病,特别是肥胖症(obesity)、非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)和糖尿病(diabetic mellitus, DM),与氧化应激、慢性炎症反应相关。金属硫蛋白(metallothionein, MT)具有抗感染、抗氧化应激损伤、抑制细胞凋亡等多重功效,现就MT在代谢性疾病中的作用及其机制进行综述。

### 1 金属硫蛋白(MT)的结构和功能

MT是一类富含半胱氨酸的低分子金属结合蛋白,在生理条件下,MT主要结合Zn,但在某些应激情况下,结合的Zn可以被Cu、Cd和Fe等其他金属所取代。很多外源刺激物包括Zn和Cu等金属、活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)、炎症细胞因子和糖皮质激素等

可以诱导MT的合成,对镉和汞引起的重金属毒性、氧化应激和内质网应激等相关损伤起到预防作用<sup>[1]</sup>。人类MT可分为4种亚型:MT-1、MT-2、MT-3和MT-4。其中,MT-1(MT-1A、1B、1E、1F、1G、1H、1M和1X)和MT-2A在许多组织细胞(如肝、肾、肠、胰腺和前列腺)均有表达,MT-3主要出现在神经元和神经胶质,但在心脏、肾脏和胃组织中也有微量表达,MT-4在某些鳞状上皮细胞中表达较高<sup>[2]</sup>。

### 2 金属硫蛋白(MT)在代谢性疾病发生发展中的作用

#### 2.1 肥胖人群MT的miRNAs

在人脂肪组织中可检测到MT,并且其表达量在肥胖人群中高于非肥胖人群<sup>[1]</sup>。与非肥胖男性相

收稿日期:2020-11-13 修回日期:2021-04-06

基金项目:国家自然科学基金(81960165);甘肃省卫生行业科研计划项目(GSWSKY2018-35);兰大二院“萃英科技创新”计划(CY2018-MS01)

\*通信作者(corresponding author):yanzi2004099@sina.com

比,MT-1G 和 MT-1X 基因在肥胖男性中显著下调,而且 MT 基因是一些与肥胖相关 miRNAs (包括 miR-27a-star、miR-23a-star、miR-296 和 miR-513a-3p)的靶基因,这些 miRNAs 在肥胖男性中表达上调,提示了 miRNAs-MT 功能的紊乱<sup>[2]</sup>。

与野生型(wild type, WT)小鼠相比,经 35 周标准饮食喂养后,MT-1/MT-2 敲除(MT-KO)小鼠白色脂肪组织(white adipose tissue, WAT)中的脂肪含量和脂肪细胞体积更大<sup>[3]</sup>,表明 MT 在两性正常生长期具有限制脂肪组织发育的作用。与野生型小鼠相比,高脂饮食(high-fat diet, HFD)喂养的 MT-KO 雌性小鼠的 WAT 质量和体质量均明显增加,而 HFD 喂养的 MT-KO 雄性小鼠 WAT 质量几乎没有增加。以上研究表明,MT 可以增强雌激素的作用,从而抑制过量脂肪堆积,因此 MT 可能通过性激素发挥作用,改变肥胖的易感性。

MT-KO 小鼠容易受到 HFD 诱导的影响,主要表现在体质量增加和胰岛素抵抗,其中与 MT-1/2-KO 小鼠相比,MT-3-KO 小鼠受到的影响更大,体质量增加更加明显,胰岛素抵抗更加严重,MT 的缺失可能导致大脑负责代谢控制关键部位的线粒体功能受损,这表明 MT 通过保护下丘脑的线粒体功能和能量代谢,对 HFD 诱导的肥胖、胰岛素抵抗及其代谢改变具有保护作用<sup>[4-5]</sup>。HFD 喂养的 MT-KO 小鼠存在高瘦素血症,WAT 的瘦素 mRNA 表达增高,而下丘脑中瘦素受体水平显著降低,呈现瘦素抵抗状态,锌可激活下丘脑细胞外信号调节激酶 1/2 (extracellular signal-regulated kinase 1/2, Erk-1/2)的水平,并以 Erk 依赖的方式诱导瘦素受体表达。另外,这些小鼠的中胚层特异转录体(mesoderm-specific transcript, MEST)的表达水平也显著增高,伴随着脂肪细胞的增大。这些数据表明,MT 可能通过抑制 MEST 和瘦素信号,对 HFD 诱导的肥胖起到预防作用<sup>[1,5]</sup>。除此以外,肥胖引起内质网应激,通过抑制胰岛素受体信号导致胰岛素抵抗,MT 激活了胰岛素信号通路,减少 3T3-L1 脂肪细胞中脂质的积聚,抑制前脂肪细胞的增生<sup>[6]</sup>。

近来与肥胖相关的激素异常越来越受到人们的关注。肥胖常导致肥胖相关的心肌肥厚(obesity-related cardiac hypertrophy, ORCH)。MT 缺失可以降低锌对棕榈酸诱导的小鼠心肌细胞 BCL10 和 phos-

pho-p38 MAPK 上调的保护作用,补锌通过激活 MT,抑制氧化应激介导的 BCL10/CARD9/p38 MAPK 信号激活来改善小鼠 ORCH<sup>[7]</sup>。

## 2.2 非酒精性脂肪肝病(NAFLD)

NAFLD 从单纯脂肪变性进展到非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)、肝硬化和肝细胞癌,是慢性肝病的主要病因。研究发现 NAFLD 患者肝脏 MT 的合成减少<sup>[8]</sup>。肝脏中过表达的趋化因子配体 1(C-X-C motif chemokine ligand 1, CXCL1)通过诱导中性粒细胞浸润、氧化应激和激活应激激酶,如凋亡信号调节激酶 1(apoptosis signal-regulating kinase 1, ASK1), p38MAPK 和 C-Jun 氨基端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK),促进 HFD 喂养小鼠由单纯脂肪变性向 NASH 的进展,而 IL-22 可通过诱导 MT-1 和 MT-2 来逆转这一进程,提示 MT 在防治 NAFLD 中发挥重要的抗氧化作用<sup>[9]</sup>。

NAFLD 患者体内铜水平较低,而且肝脏和血清铜水平与 NAFLD 的进展程度呈负相关。高果糖摄入能诱导肝脏脂质合成和脂肪积聚,高果糖和低铜利用率是 NAFLD 的两个重要危险因素。研究表明,饮食中的果糖通过抑制十二指肠和空肠近端的铜转运体,减少肠道对铜的吸收,由铜调控的肝脏 MT 表达减少,高果糖喂养的大鼠服用降脂药苯扎贝特其肝脏铜浓度增加,同时也检测到肝脏 MT 表达的增加<sup>[8-10]</sup>。Zn 是人体必需的微量元素,可作为许多酶和蛋白质的辅助因子参与抗氧化、抗感染和抗凋亡作用。肝脏是调节锌稳态的重要器官,锌也是正常肝功能所必需的。Zn 缺乏与急性和慢性肝病状态有关,补充锌对实验性酒精动物急性和慢性肝损伤具有保护作用。DM 小鼠的肝脏呈现肝索紊乱,中度炎性细胞浸润,肝细胞肿胀,嗜酸性染色降低,提示肝脂肪变性,Zn 治疗后肝脏的这些病理改变均有明显改善,且肝内胶原的积聚显著减少。有研究也表明 Zn 能够改善糖尿病小鼠肝脏的氧化应激、内质网应激、细胞死亡、脂质积累、炎症反应和纤维化,这些保护作用与锌诱导肝脏 MT 的表达上调有关<sup>[11]</sup>。

## 2.3 糖尿病(DM)

已报道人类 MT 基因启动子的多态性。MT-2A-5A/G(rs28366003)是位于 MT-2A 基因核心启动子区域的单核苷酸多态性(single nucleotide polymor-

phism, SNP), GA 基因型被确定为 DM 的危险因素。MT-2A 的 -209A/G 多态性 (rs1610216)、+838G/C (rs10636), MT-1A 的 +647 A/C、rs8052394 及 MT-1B 的 rs11076161、rs964372 多态性也与 DM 或其并发症相关,其原因与这些多态性使细胞内锌稳态失衡及氧化应激有关<sup>[12-13]</sup>。

锌在胰岛素合成、储存、分泌及胰岛素受体信号传导的生理作用中尤为重要,因此 Zn 缺乏可能通过促进氧化应激和炎症反应,导致胰岛素敏感性丧失,易发生 DM 及其并发症,T2DM 患者的血浆 Zn 浓度降低,由于调节摄取、储存和分布 Zn 的 MT 的失调导致机体 Zn 稳态失衡<sup>[14]</sup>,低剂量的 Zn 可上调胰腺、心肌、肝脏、肾脏组织及血管内皮 MT 的表达,通过抑制氧化应激和 DNA 损伤最终降低细胞毒性,而高剂量的 Zn 则通过 Erk 导致细胞毒性<sup>[15]</sup>。

氧化应激是 DM 的重要启动因子,抗氧化剂可以预防它的发生。与肝脏和心脏等组织相比,胰腺含有较高水平的 MT,胰腺中 MT 的高表达可能提示胰腺正常生理功能对 MT 的需求。MT-KO 小鼠易形成肥胖和高胰岛素血症,此外,尽管胰岛素含量相似,MT-KO 小鼠的基础胰岛素和最大胰岛素释放水平比野生型小鼠低得多,MT 水平降低的 2 型糖尿病 (T2DM) 患者可能更容易受到氧化损伤而呈现高血糖,反之,腹腔注射 Tat-MT 融合蛋白可以减轻  $\beta$  细胞 DNA 损伤,降低血糖<sup>[16]</sup>。这些数据表明 MT 可作为抗氧化剂,清除 ROS 和活性氮 (reactive nitrogen species, RNS),防止蛋白巯基或核酸的氧化损伤,维持  $\beta$  细胞膜的完整性和分泌反应。MT 可通过调节 MAPKs、Wnt、NF- $\kappa$ B、PI3K, Sirt-1/AMPK 等信号通路减轻机体氧化应激和炎症反应;下调线粒体凋亡分子 (Bax、caspase-3 和 caspase-9) 和 caspase-12,减少细胞凋亡;抑制线粒体超氧化物的产生而影响氧化磷酸化能力;抑制 C/EBP 同源蛋白 (C/EBP homologous protein, CHOP) 的表达减轻内质网应激等多种机制,从而改善 DM 及其并发症包括糖尿病肾病、神经病变和糖尿病心肌病的发生发展<sup>[13]</sup>。

## 参考文献:

[1] Sato M, Kawakami T, Kadota Y, *et al.* Obesity and metallothionein [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2013, 14:

有趣的是,最近的研究结果显示在年幼的 C57BL/6J 小鼠(8 周龄)中,胰腺  $\beta$  细胞特异性 MT 过表达可防止链球菌素诱导的早期氧化损伤,但在成年 C57BL/6J 小鼠(18 周龄)中则观察到 MT 过表达损害了葡萄糖刺激的胰岛素分泌 (glucose stimulates insulin secretion, GSIS) 水平,促进 DM 的发展,且雄性小鼠损伤更严重,表明 MT 在 C57BL/6J 小鼠胰腺  $\beta$  细胞中呈现了与年龄相关的双重对立作用<sup>[17]</sup>。另一项研究显示,肥胖小鼠的胰岛  $\beta$  细胞功能尚处于代偿阶段,MT-1 和 MT-2 mRNA 水平降低,而糖尿病 db/db 小鼠  $\beta$  细胞的功能衰竭,MT-1 和 MT-2 mRNA 水平升高,与非糖尿病者相比,T2DM 患者胰岛中的 MT-1X mRNA 水平显著上调。MT-1 敲除小鼠的 GSIS 水平增加,葡萄糖耐量得到改善,而 MT-1 过表达则衰减了小鼠的胰岛素分泌反应,进一步机制研究显示,MT-1 并不是通过改变细胞内葡萄糖代谢、游离 Ca 离子、Zn 离子水平或者胰岛素含量等经典途径调节胰岛细胞功能的。这些数据表明 MT-1 是胰岛素分泌的负调节因子,抑制 MT-1 可能是 T2DM 维持和恢复胰岛素分泌的一个强有力的治疗靶点<sup>[18]</sup>。

## 3 问题与展望

代谢性疾病是当前一个公共健康问题,可能涉及多种机制,其中氧化应激和慢性炎症反应可能是这类疾病发生的共同病因。MT 具有抗氧化应激、抗感染、抑制细胞凋亡等多方面的功能,动物实验及临床试验的许多数据证明了 MT 对肥胖症、NAFLD 和 DM 及并发症的保护作用,这将为人类代谢性疾病的治疗提供新的临床方法。但是,由于受到实验动物的年龄、病程及糖尿病患者病情、锌的补充形式和 MT 的不同亚型的表达等因素的影响,研究中出现了一些矛盾的结果。因此,有必要改进研究方法,对 MT 在代谢性疾病中的作用进行深入研究,同时在临床实践中,还需要更多的流行病学及多中心的数据才能为疾病的治疗提供新的方向。

432-440.

[2] Butler MG, Wang K, Marshall JD, *et al.* Coding and

- noncoding expression patterns associated with rare obesity-related disorders: Prader-Willi and Alström syndromes [J]. *Adv Genomics Genet*, 2015,2015:53-75.
- [3] Kawakami T, Takasaki S, Kadota Y, *et al.* Regulatory role of metallothionein-1/2 on development of sex differences in a high-fat diet-induced obesity [J]. *Life Sci*, 2019,226:12-21.
- [4] Lindeque JZ, Jansen van Rensburg PJ, Louw R, *et al.* Obesity and metabolomics: metallothioneins protect against high-fat diet-induced consequences in metallothionein knockout mice [J]. *OMICS*, 2015,19:92-103.
- [5] Byun HR, Kim DK, Koh JY. Obesity and downregulated hypothalamic leptin receptors in male metallothionein-3-null mice [J]. *Neurobiol Dis*, 2011,44:125-132.
- [6] Kadota Y, Toriuchi Y, Aki Y, *et al.* Metallothioneins regulate the adipogenic differentiation of 3T3-L1 cells via the insulin signaling pathway [J]. *PLoS One*, 2017,12:e0176070. doi: 10.1371/journal.pone.0176070.
- [7] Wang S, Gu J, Xu Z, *et al.* Zinc rescues obesity-induced cardiac hypertrophy via stimulating metallothionein to suppress oxidative stress-activated BCL10/CARD9/p38 MAPK pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21: 1182-1192.
- [8] Song M, Vos MB, McClain CJ. Copper-fructose interactions: a novel mechanism in the pathogenesis of NAFLD [J]. *Nutrients*, 2018,10:1815.
- [9] Hwang S, He Y, Xiang X, *et al.* Interleukin-22 ameliorates neutrophil-driven nonalcoholic steatohepatitis through multiple targets [J]. *Hepatology*, 2020,72:412-429.
- [10] Ackerman Z, Skarzynski G, Grozovski M, *et al.* Effects of antihypertensive and triglyceride-lowering agents on hepatic copper concentrations in rats with fatty liver disease [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2014,115:545-551.
- [11] Liang T, Zhang Q, Sun W, *et al.* Zinc treatment prevents type 1 diabetes-induced hepatic oxidative damage, endoplasmic reticulum stress, and cell death, and even prevents possible steatohepatitis in the OVE26 mouse model: Important role of metallothionein [J]. *Toxicol Lett*, 2015,233:114-124.
- [12] Sekovanić A, Jurasović J, Piasek M. Metallothionein 2A gene polymorphisms in relation to diseases and trace element levels in humans [J]. *Arh Hig Rada Toksikol*, 2020,71:27-47.
- [13] Park Y, Zhang J, Cai L. Reappraisal of metallothionein: Clinical implications for patients with diabetes mellitus [J]. *J Diabetes*, 2018,10:213-231.
- [14] Giacconi R, Cai L, Costarelli L, *et al.* Implications of impaired zinc homeostasis in diabetic cardiomyopathy and nephropathy [J]. *Biofactors*, 2017,43:770-784.
- [15] Raudenska M, Dvorakova V, Pacal L, *et al.* Levels of heavy metals and their binding protein metallothionein in type 2 diabetics with kidney disease [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2017,31. doi: 10.1002/jbt.21891.
- [16] Park L, Min D, Kim H, *et al.* The combination of metallothionein and superoxide dismutase protects pancreatic  $\beta$  cells from oxidative damage [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2011,27:802-808.
- [17] Chen S, Han J, Liu Y. Dual opposing roles of metallothionein overexpression in C57BL/6J mouse pancreatic  $\beta$ -cells [J]. *PLoS One*, 2015,10:e0137583. doi: 10.1371/journal.pone.0137583.
- [18] Bensellam M, Shi YC, Chan JY, *et al.* Metallothionein 1 negatively regulates glucose-stimulated insulin secretion and is differentially expressed in conditions of beta cell compensation and failure in mice and humans [J]. *Diabetologia*, 2019,62:2273-2286.