



葡萄糖转运蛋白 4 功能调节信号通路及其在药物研发中的应用

汤璇, 陈静*, 沈旭

中国科学院上海药物研究所, 上海 201203

*通讯作者, E-mail: jingchen@mail.shcnc.ac.cn

收稿日期: 2012-05-31; 接受日期: 2012-07-10; 网络版发表日期: 2012-10-30

doi: 10.1360/032012-333

摘要 葡萄糖转运蛋白 4(glucose transporter 4, GLUT4)是胰岛素响应组织骨骼肌和脂肪组织内负责葡萄糖吸收的转运蛋白, 它与生物体糖代谢过程密切相关. 在肥胖或以胰岛素抵抗为特征的 2 型糖尿病等代谢性疾病中, GLUT4 功能受损; 反之, GLUT4 功能的变化也能影响整体的糖代谢水平. 本文概述了 GLUT4 的功能、组织分布、功能调节方式以及调控 GLUT4 功能的小分子化合物的研究进展, 讨论了 GLUT4 在其他疾病中的应用, 并展望了其未来研究方向.

关键词

葡萄糖转运蛋白 4(GLUT4)

胰岛素

糖尿病

葡萄糖转运蛋白膜转位

1 引言

机体内葡萄糖水平的平衡被精细调控, 因能量摄入而升高的葡萄糖会被快速转运至细胞内从而恢复机体正常血糖水平(5~6 mmol/L). 葡萄糖转运蛋白 4(基因名: SLC2A4; 蛋白名: GLUT4)就是介导这个过程的一个重要转运蛋白^[1, 2]. GLUT4 是 12 次跨膜的糖转运蛋白家族的一员, 以不依赖于 ATP 的协助运输(facilitated transport)方式将葡萄糖顺浓度梯度转运至组织细胞膜内. GLUT4 在脂肪、骨骼肌和心脏(胰岛素响应组织)中高表达, 在平滑肌和肾脏中低表达, 这种组织分布表明 GLUT4 是一个响应胰岛素刺激的转运蛋白. 研究发现, 没有胰岛素刺激时, 大多数的 GLUT4 在胞内的膜结构即各种囊泡中, 只有少量(少于 GLUT4 总量的 5%)在细胞膜(plasma membrane, PM)上; 胰岛素刺激后, 近一半的 GLUT4 会发生膜转位(translocation), 从胞内的膜结构转移到细胞膜上^[3-5].

基因工程小鼠模型的研究进一步说明 GLUT4 在整体糖代谢调节过程中发挥着中心作用. GLUT4 敲

除的杂合子小鼠(GLUT4^{+/-})中骨骼肌和脂肪组织的 GLUT4 蛋白表达明显降低, 葡萄糖吸收减少并表现出胰岛素抵抗的状态^[6-8]. 此外, 报道还发现单个组织 GLUT4 的特异性敲除对整体代谢平衡也有影响. 骨骼肌特异性敲除 GLUT4 小鼠的脂肪组织和肝组织胰岛素的响应能力减弱^[9]; 脂肪组织特异敲除 GLUT4 也会使其肝组织和骨骼肌产生胰岛素抵抗并伴随高胰岛素血症^[10]. 而在骨骼肌特异性敲除 GLUT4 小鼠的脂肪组织中过表达 GLUT4 能改善其糖耐量降低等代谢紊乱症状^[11]. 本文将主要概述 GLUT4 的功能、组织分布、功能调节方式以及调控 GLUT4 功能的小分子化合物的研究进展, 讨论 GLUT4 在其他疾病中的应用, 并展望其未来研究方向.

2 调控 GLUT4 功能的信号通路

GLUT4 通过响应胰岛素刺激, 经膜转位至细胞膜上发挥其转运葡萄糖的功能, 因此该蛋白膜转位

的能力是调控其功能的主要因素之一. 除此之外, 它的蛋白表达的调节也与机体代谢水平相关. 例如, 运动能上调骨骼肌中 GLUT4 的表达, 从而降低机体血糖^[12]. 因此, 对 GLUT4 功能的调节目前主要体现在表达水平、膜转位和胞内区段活性这 3 个层面.

2.1 GLUT4 表达的调节

与 GLUT4 转录和表达相关的调节因素主要是核受体超家族中的成员和一些非核受体转录因子.

2.1.1 核受体对 GLUT4 表达的调节

核受体超家族是一类能与胞内游离配体结合然后入核调节基因转录的转录因子家族. 目前, GLUT4 启动子上已陆续鉴定出一系列经典的及非经典的核受体响应元件, 这提示核受体是 GLUT4 表达的重要调节因子. 在已报道的核受体中, 对 GLUT4 转录具有正调节作用的包括肝 X 受体 α (liver X receptor α , LXR α)、甲状腺素受体(thyroid hormone receptor, TR)和法尼酯 X 受体(farnesoid X receptor, FXR); 而对 GLUT4 转录具有负调节作用的是过氧化物酶增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ).

激动 LXR α /RXR α (retinoid X receptor α)异源二聚体能诱导脂肪细胞中 GLUT4 的表达, 促进胰岛素刺激的葡萄糖吸收并改善小鼠的葡萄糖耐量^[13].

甲状腺素(thyroid hormone)能促进骨骼肌中基础水平和胰岛素诱导的葡萄糖吸收^[14, 15]. GLUT4 启动子上-517/-237 区域可以响应甲状腺素刺激, 促进 GLUT4 表达, 在这 281bp 的序列中鉴定出经典的甲状腺素响应元件(thyroid hormone response element, TRE)^[16, 17]. TR 同源二聚体与 TRE 亲和力很弱, 而 TR/RXR(retinoid X receptor)异源二聚体对 TRE 的结合较强.

法尼酯 X 受体(FXR)激活能诱导脂肪和肝细胞中 GLUT4 的表达. GLUT4 启动子鉴定出 FXR 响应元件(FXRE), 但 RXR 敲除及凝胶迁移实验表明, FXR 是以单体形式结合在 GLUT4 启动子的 FXRE 区域, RXR 不参与 FXR 对 GLUT4 转录的调控^[18].

激活 PPAR γ /RXR α 能抑制 GLUT4 的转录, 这种转录抑制作用需要 PPAR γ 112位丝氨酸发生磷酸化^[19]. 文献报道, PPAR γ 的内源激动剂 15 Δ -PGJ2 是 GLUT4 的转录抑制剂, 但 PPAR γ 合成激动剂罗格列

酮(rosiglitazone)却表现出与内源激动剂相反的效果, 可以增加 GLUT4 的表达^[19]. GLUT4 蛋白除了受 PPAR γ 影响外, 骨骼肌中过表达 PPAR α 也能抑制 GLUT4 的表达水平, 而 PPAR β/δ 的过表达则通过与 AMPK 和肌细胞增强因子(MEF2)的共同作用促进 GLUT4 蛋白表达^[20, 21].

2.1.2 其他转录因子对 GLUT4 表达的调节

对 GLUT4 启动子的深入研究发现, 骨骼肌和脂肪组织中还有众多其他转录因子. 其中固醇调节元件结合蛋白-1c(SREBP-1c/ADD1)、CCAAT/增强子结合蛋白 α (C/EBP α)以及 KLF15 和肌细胞增强因子 2(MEF2)能促进 GLUT4 的表达, 而核因子 1(nuclear factor 1, NF-1)则参与抑制 GLUT4 转录.

SREBP-1c 是肝和脂肪中调节胆固醇及脂质合成的反式作用因子^[22]. Im 等^[23]发现 GLUT4 启动子区含有固醇响应元件(SRE)和转录因子 Sp1 结合位点, SREBP-1c 及 Sp1 共同促进 GLUT4 表达.

C/EBP α 是脂肪分化的关键因子之一, 是成熟脂肪组织发挥响应胰岛素刺激的葡萄糖吸收功能所必需的^[24]. GLUT4 启动子区域鉴定出 CCAAT 盒及 Sp1 结合序列, C/EBP α 能结合于启动子区-258 位附近的碱基, 启动基因转录. 突变实验证明, 这种转录激活作用需要 C/EBP α 21 位丝氨酸的磷酸化的参与^[24, 25]. 另外还有报道进一步说明了在褐色脂肪组织中, C/EBP α 可以响应胰岛素刺激, 这对 GLUT4 的表达具有调节作用^[26].

KLF15 是 Krüppel-like 转录因子家族一员, 在成熟脂肪组织及肌肉组织中高表达, 它能直接识别 GLUT4 启动子区-499/503 的 CACCC 序列促进 GLUT4 表达^[27].

长时间的胰岛素刺激下, 胰岛素通过结合 GLUT4 基因的-706/-676 区域的胰岛素响应元件(insulin response element, IRE)抑制 GLUT4 转录, 并且 NF-1 也可以结合在 IRE 区域参与对 GLUT4 的转录抑制^[28, 29].

MEF2 参与组织特异性和胰岛素诱导的 GLUT4 的表达^[30, 31]. 在 GLUT4 翻译起始位点前-473/-464 有一段保守的 MEF2 结合域(-CTAAAAATAG-), 是 GLUT4 组织特异性表达的必要非充分条件^[31]. 心脏和骨骼肌中表达 MEF2 亚型中的 A, C, D, 其中 MEF2A-MEF2D 异源二聚体结合在 GLUT4 启动子

上^[32]. 在胰岛素相对不足的糖尿病模型中, MEF2A 的表达减少, MEF2A-MEF2D 异源二聚体与 GLUT4 启动子的结合减弱^[32]. 同时, MEF2 能和过氧化物酶增殖物激活受体共激活因子(PGC-1 α)、肌细胞特异 GLUT4 增强因子(muscle-specific GLUT4 enhancer factor, GEF)、bHLH 家族因子 MyoD 及 KLF15 相互作用共同促进 GLUT4 的转录^[27, 33~36]. 运动或 AMPK 的激活通过促进 GEF 磷酸化, 共激活因子 PGC-1 α 表达及 MEF2 的入核上调肌肉中 GLUT4 的水平^[33~35]. 另一方面, 有报道说明运动能使抑制 GLUT4 转录的组蛋白去乙酰化酶(HDAC4 和 HDAC5)出核^[37], AMPK 进一步磷酸化 HDAC 使其失活并解除其对 GLUT4 的转录抑制^[38].

2.2 GLUT4 上膜的调节

2.2.1 胰岛素信号通路对 GLUT4 上膜的调节

GLUT4 上膜及其介导的葡萄糖吸收是一个响应胰岛素刺激的过程, 因此胰岛素信号通路中各组分都是 GLUT4 上膜的重要调节因子. 胰岛素促进 GLUT4 的胞吐作用, 同时还能抑制 GLUT4 的胞吞作用^[39~42].

胰岛素结合并激活胰岛素受体(IR), 使胰岛素受体底物蛋白(IRS)酪氨酸磷酸化, 然后招募活化磷酸肌醇 3 激酶(PI3K), 产生第二信使三磷酸肌醇(PIP3), PIP3 再通过磷酸肌醇依赖的激酶 PDK1 及 Rictor/mTOR 激活蛋白激酶 B(PKB/AKT)和非典型蛋白激酶 C(atypical PKC)^[43]. AKT 磷酸化在胰岛素诱导的 GLUT4 上膜过程中发挥重要作用. 持续激活型(constitutively active, CA)AKT 能促进 GLUT4 膜转位, 而激酶区灭活(kinase dead, KD)或显性负相(dominant-negative, DN)的 AKT 突变体则会抑制这一通路^[44, 45]. AKT 的底物中有一个 160 KDa 的蛋白 TBC1D4(又名 AS160), 它编码具有 GTP 酶激活蛋白(GAP)活性的 TBC 区域, 使一系列小分子 G 蛋白 Rab(4, 8a, 10, 11, 13, 14)处于与 GDP 结合的稳定失活状态^[46, 47]. ATK 能磷酸化 AS160 从而使其失活, Rab 蛋白会在鸟氨酸交换因子(GEF)的作用下形成与 GTP 结合的活性形式, 并参与胞内囊泡转运, 如 Rab8a 与肌球蛋白 V(Myov)的相互作用与包含 GLUT4 的囊泡在肌动蛋白微丝上转运密切相关, 破坏这种相互作用会阻碍胰岛素引起的 GLUT4 上膜^[48]. 在 PI3K 下游,

Rho-GTP 酶家族的一员 Rac1 被激活, 通过介导皮层肌动蛋白重组参与调节 GLUT4 膜转位^[49].

胰岛素还能激活一条独立于 PI3K 的通路, 它包括 c-Cbl 原癌基因酪氨酸磷酸化, c-Cbl 与衔接蛋白(adaptor protein, CAP)形成 Cbl-CAP 复合物并转移到膜上的脂筏区域, 接下来招募衔接蛋白 CrkII 和 C3G, 最后激活 G 蛋白 TC10 调节 GLUT4 上膜^[43, 50, 51]. 但是也有报道^[52]说明这些因子与 GLUT4 的调节无关, 其具体作用还需要深入研究.

2.2.2 胰岛素信号通路负调节因子对 GLUT4 上膜的调节

胰岛素通路被激活的同时还有一系列因子参与对它的负调控, 正调控和负调控在正常状况下保持平衡, 但负调控因子的过度活化与胰岛素抵抗相关.

在胰岛素通路中, IRS 的酪氨酸残基被 IR 磷酸化并将信号传递到下游, 而 IRS 的其他几个丝氨酸残基位点也能被磷酸化并参与对信号通路的调节. IRS 上 265, 302, 325 和 358 位丝氨酸的磷酸化能阻止磷酸酶对其酪氨酸残基的去磷酸化作用^[53]. 其余 302, 307, 312, 318, 408, 570, 612 等位丝氨酸的磷酸化负调控胰岛素通路^[54], 如内质网应激(ER stress)激活 IRE1 α -JNK, JNK 直接磷酸化 IRS-1 的 307 位丝氨酸残基导致 IRS-1 酪氨酸磷酸化减少及胰岛素通路活性减弱^[55, 56].

蛋白酪氨酸磷酸酶 1B(PTP1B)能去磷酸化 IR 和 IRS, 抑制胰岛素通路及胰岛素刺激的 GLUT4 上膜, 它的过度激活导致胰岛素抵抗, 已成为 2 型糖尿病的一个治疗靶点^[57~59].

第二信使 PIP3 在胰岛素刺激的 PI3K 通路发挥重要作用, 而 PIP3 磷酸酶是催化水解 PIP3 负调节 PI3K 通路的一类酶, 这类酶包括: 位于 10 号染色体上的同源性磷酸酶-张力蛋白(PTEN), 包含 SH2 结构域的 II 型肌醇磷酸酶(SHIP2)及骨骼肌和肾富含的肌醇磷酸酶(SKIP). PTEN 在脂肪组织中是 GLUT4 上膜的负调节因子, 其过表达会抑制 GLUT4 上膜和葡萄糖内吸收^[60], 功能的缺失会提高胰岛素敏感性及促进葡萄糖吸收^[59, 61]. 骨骼肌组织中 SKIP 活性的抑制会增加 GLUT4 囊泡的上膜, 说明 SKIP 在骨骼肌中是胰岛素通路的负调控者^[62]. 而 SHIP2 的作用需要进一步实验结果来阐释.

研究表明, 丝/苏氨酸磷酸酶 PP2A 也可以去磷

酸化 PI3K 通路中 AKT 和 PKC, 参与负调控胰岛素通路^[63].

2.2.3 运动相关的信号通路对 GLUT4 上膜的调节

运动或肌肉收缩刺激能通过增加骨骼肌的胰岛素敏感性及葡萄糖内吸收来改善正常及 2 型糖尿病个体的糖代谢状况^[64-66]. 同时有报道说明, 在糖尿病个体中虽然胰岛素刺激的糖吸收受损, 但骨骼肌收缩刺激的糖吸收却保持正常^[67]. 这些结果显示肌肉收缩不仅能通过改变胰岛素敏感性促进 GLUT4 上膜, 还可以不依赖胰岛素直接调节 GLUT4 膜转位.

肌肉收缩会引起胞内钙库释放, 钙离子瞬时升高; 同时消耗 ATP 供能使胞内 AMP/ATP 比例升高. 细胞内“能量感应器”AMP 激活的蛋白激酶(AMPK)会感应 AMP/ATP 比例增加并被变构激活^[68]. 骨骼肌特异性 AMPK 功能的缺失会导致肌肉收缩介导的 GLUT4 吸收减少, 且 AMPK 激动剂 AICAR 能促进骨骼肌 GLUT4 转运^[69]. 但是各种 AMPK 功能获得和缺失在小鼠的实验结果中存在矛盾, 并且 AMPK 与骨骼肌的收缩力相关, 使得 AMPK 在葡萄糖吸收中的作用变得模糊^[70]. 进一步的研究发现, AMPK 活性与 GLUT4 上膜在以葡萄糖供能为主的快肌纤维中是相关的, 而在以脂肪酸分解供能的慢肌纤维中相关性较小, 这提示 AMPK 可能在不同肌纤维中通过不同通路发挥作用^[71]. 还有文献报道^[72], AMPK 介导骨骼肌收缩引起 AS160 磷酸化并使其失活, 说明 AS160 可能参与 AMPK 对 GLUT4 上膜的调节. AMPK 信号通路中各因子的鉴定会更明确 AMPK 在 GLUT4 膜转位中的具体功能.

另一方面肌肉收缩使胞内钙离子升高会活化一些钙依赖的激酶和钙调蛋白(calmodulin), 说明这些蛋白在 GLUT4 上膜中发挥一定作用. 钙离子会增强 CaMKK 的活性, CaMKK 是 AMPK 的一个上游激酶, 它可能通过活化 AMPK 参与 GLUT4 膜转位^[73]. 肌肉收缩过程中 CaMKII 的活性也会升高, 而抑制剂处理使肌肉收缩引起的 GLUT4 上膜水平部分下降, 这说明 CaMKII 也参与钙离子对 GLUT4 的调节^[74]. 同时, 运动还能激活神经调节蛋白(neuregulins)受体, 神经调节蛋白属于上表皮生长因子, 可以通过促进骨骼肌胞内囊泡中的 GLUT4 上膜来诱导葡萄糖内吸收^[75], 钙依赖的金属蛋白酶活性增加引起神经调节蛋白的

释放, 然后神经调节蛋白受体(ErbB4)酪氨酸激酶区磷酸化激活参与 GLUT4 的转运^[76]. 运动或骨骼肌收缩过程中信号通路的研究进展进一步论证了钙离子及其下游因子在 GLUT4 膜转位中的作用.

2.3 GLUT4 胞内区段活性的调节

GLUT4 上膜量增加和糖吸收量增加的不匹配及糖吸收增加而膜转位没有明显变化的结果, 表明对 GLUT4 的调节除了表达和上膜外, GLUT4 胞内区活性的变化也与其发挥功能相关^[77, 78]. 与未被胰岛素刺激的细胞相比, 刺激后细胞中的 GLUT4 的中间环区(middle loop)和 C 末端更易于被抗体识别, 说明胰岛素可能刺激 GLUT4 胞内段结构改变或与其他蛋白的相互作用发生变化^[79]. 有文献报道, 胞内 3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)含量的减少会在不影响 GLUT4 膜分布的情况下减少胰岛素刺激的糖吸收, 这为 GLUT4 内源活性的调节提供了线索^[80]. 与表达和上膜的调节相比, 对 GLUT4 胞内活性的调节信号研究还在起始阶段, 需要更多的实验数据支持并进一步揭示其具体信号通路.

3 调节 GLUT4 功能的小分子研究进展

随着调控 GLUT4 功能的研究深入, 越来越多的小分子化合物被报道通过 GLUT4 促进葡萄糖内吸收改善胰岛素抵抗或 2 型糖尿病动物模型的糖代谢. 这些小分子可以分为以下 3 类: GLUT4 表达诱导剂、上膜促进剂和 GLUT4 表达和上膜双激动剂. 由于 GLUT4 胞内区段活性的研究尚在初始阶段, 调节 GLUT4 胞内活性的小分子尚未见报道, 这也是后续 GLUT4 调控通路和小分子研究的新方向.

3.1 GLUT4 表达诱导剂

GLUT4 表达诱导剂是通过调节核受体或非核受体类转录因子的活性来增加 GLUT4 的转录和表达总量从而促进糖吸收. 如前所述, LXR, PPAR, TR, FXR 等核受体调节 GLUT4 的转录活性, 它们的特异性配体能通过影响 GLUT4 的表达来影响糖吸收过程(图 1).

LXR α 激动剂-T0901317(*N*-(2,2,2-trifluoroethyl)-*N*-[4-[2,2,2-trifluoro-1-hydroxy-1-(trifluoromethyl)ethyl]phenyl]benzenesulfonamide), 22 顺式-羟基胆甾

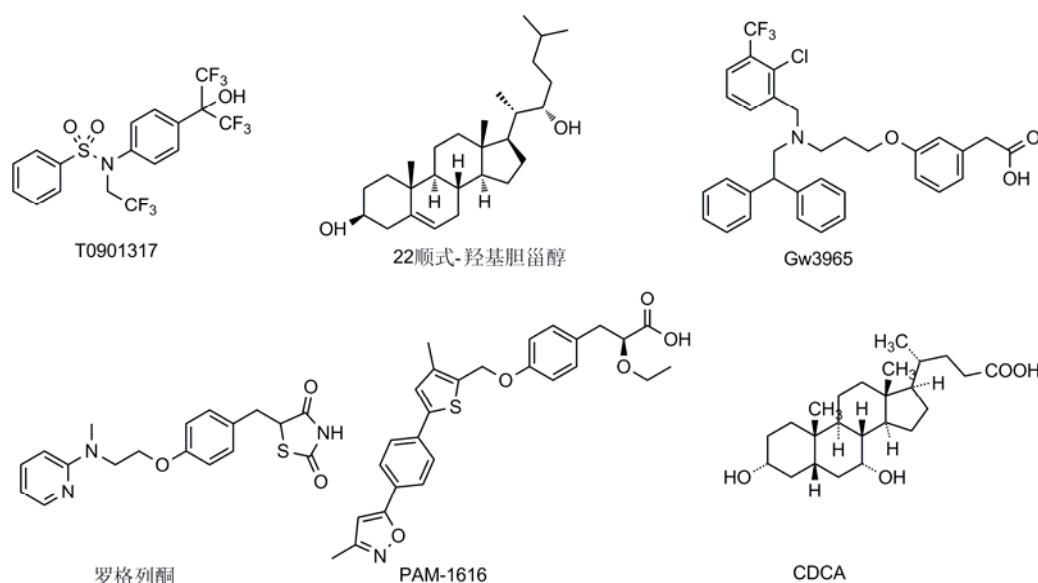


图 1 GLUT4 表达诱导剂

醇((22R)-hydroxycholesterol)可以恢复胰岛素抵抗状态下的细胞中的葡萄糖吸收^[81]。LXRα合成激动剂 GW3965 能促进 LXRα/RXRα 异源二聚体识别并结合 GLUT4 启动子上的 LXR 响应元件(LXRE)启动 GLUT4 的转录,增加 GLUT4 的表达水平及脂肪细胞的糖吸收,并改善饮食诱导的肥胖小鼠的代谢状况^[13, 82]。也有报道, GW3965 还能通过调节肝组织中糖脂代谢通路来改善糖代谢^[83]。

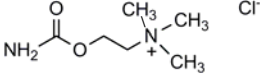
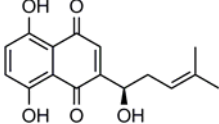
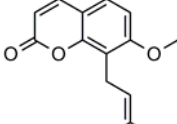
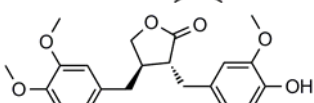
虽然 PPARγ/RXR 异源二聚体通过结合 GLUT4 启动子的-66/+163 区域抑制 GLUT4 的转录,但是 PPARγ的经典激动剂噻唑烷二酮类(如罗格列酮,匹格列酮等)能通过结合 PPAR γ配体结合域改变与共激活因子/共抑制因子的相互作用来减缓 PPAR γ对 GLUT4 启动子的抑制作用,增加 GLUT4 的表达,它还能通过增敏胰岛素通路促进胰岛素诱导的 GLUT4 上膜^[19, 84]。由于噻唑烷二酮类有明显的副作用,如有较强的肝脏毒性,因此具有非噻唑烷二酮类结构的特异性 PPAR γ激动剂更受关注。一种非噻唑烷二酮类化合物 PAM-1616 以靶基因选择性的方式部分激动 PPARγ,显著上调 GLUT4及控制肥胖小鼠血糖的同时,与罗格列酮相比副作用较小^[85]。因为 PPARγ功能的复杂性和多样性,完全激动 PPARγ的化合物会带来肝毒性和促脂肪组织分化等副作用,而筛选具有下游基因选择性的部分激动剂可能会避免这种副作用。

FXR 内源激动剂 CDCA 增加肝和脂肪细胞系中 GLUT4 转录,还能性别依赖的诱导正常小鼠中 GLUT4 的表达^[18]。

3.2 GLUT4 上膜促进剂

3.2.1 胰岛素增敏剂

胰岛素增敏剂是通过促进胰岛素响应通路关键蛋白或抑制胰岛素通路中负调控因子增加胰岛素诱导的 GLUT4 上膜(表 1)。一种异噻唑酮类化合物(4-{4-[2-(5-methyl-2-phenyl-4-oxazolyl)ethoxy]benzyl}-3,5-isoxazolidinedione, JTT-501)通过保持胰岛素抵抗大鼠中 IRS-1 及 PI3K 的蛋白水平和磷酸化水平改善其糖吸收状况^[86]。肉桂成分 3,4-二羟基苯基丙酸的衍生物(naphthalenemethyl ester of 3,4-dihydroxyhydrocinnamic acid, DHH105,)通过增加经典 IR-IRS-PI3K-AKT 通路的活性降低糖尿病和肥胖小鼠的血糖^[87]。化合物 S15511 促进大鼠快肌纤维中胰岛素诱导的 GLUT4 上膜及糖吸收,而对慢肌纤维没有影响,进一步说明 GLUT4 在两种肌纤维中可能有不同的调节方式;另一方面, S15511 对经典胰岛素通路中 PI3K, AKT 和 AS160 的激酶活性没有影响,表明该化合物可能是通过经典通路外的其他途径促进胰岛素诱导的 GLUT4 上膜^[88]。芒果叶乙酸乙酯抽提出的活性小分子 3β-蒲公英赛醇能增加 IR 酪氨酸激酶区磷酸化、PI3K 活性及细胞膜上的 GLUT4 水平^[89]。侧柏

续(表 1)				
类别	化合物名称	结构	作用靶点或通路	文献
	碳酰胆碱		AMPK Ca ²⁺	[100]
其他 信号通路	紫草醌		Ca ²⁺	[101]
	欧芹酚甲醚		AMPK	[102]
	牛蒡子苷元		AMPK	[104]

酮(thujone)和姜黄成分姜黄素(curcumin)通过促进 AMPK 磷酸化增加胰岛素敏感性来影响 GLUT4 的膜分布水平^[90, 91]。而小分子钒和过氧化钒,天然产物 dysidine 可以通过抑制酪氨酸磷酸酶活性增敏胰岛素通路,促进胰岛素刺激的 GLUT4 膜转位^[92~94]。

3.2.2 胰岛素模拟剂

胰岛素模拟剂是通过直接激活胰岛素信号通路中的关键因子诱导本底状态下的 GLUT4 重新分布(表 1)。硫辛酸(thioctic acid)可以激活 PI3K 并使未被胰岛素刺激的细胞 GLUT4 上膜增加^[95]。蒺藜衍生物番泻甙元(sennidin A)通过磷酸化 PI3K-AKT 而非 IR-IRS 直接诱导 GLUT4 膜转位^[96]。茯苓成分茯苓酸(pachymic acid)通过激活 AMPK 和 PI3K 也表现出类似胰岛素对 GLUT4 膜转位的调节作用^[97]。二氧化钒衍生物能通过激活 IR-IRS-AKT 通路改善糖尿病模型的血糖水平^[98]。脱氢皮脂酮(degydroepiandrosterone)激活 IRS-1/IRS-2 和 PI3K, 增加胞内钙离子浓度和 PKC-β活性,直接诱导 GLUT4 上膜,从而改善动物及人的糖代谢^[99]。

3.2.3 作用于其他信号通路的 GLUT4 上膜促进剂

还有一类小分子也能不依赖于胰岛素直接刺激 GLUT4 的膜转位,但这种作用是通过激活其他的非胰岛素信号通路(表 1)。乙酰胆碱受体激动剂碳酰胆碱(carbachol)能诱导 GLUT4 膜转位,运动激活的两个经典信号 AMPK 和钙离子参与了这个过程^[100]。紫

草醌(shikonin)通过钙离子相关的通路调节 GLUT4 上膜和糖吸收,降低糖尿病大鼠的血糖水平^[101]。能激活 AMPK 的蛇床成分欧芹酚甲醚(osthole)和运动模拟剂牛蒡子苷元(arctigenin)诱导骨骼肌细胞 GLUT4 上膜,改善代谢紊乱小鼠的代谢异常状况^[102~104]。AMPK、PGC-1α及 PPARδ等运动过程关键活化信号的发现,使得运动模拟剂的研究越来越多,激活肌肉收缩刺激信号的运动模拟剂不仅可以调节 GLUT4 及糖吸收,还可以改善线粒体功能和脂质代谢,能更有效地治疗代谢性疾病。

3.3 GLUT4 表达和上膜双激动剂

GLUT4 表达和上膜双激动剂是能同时诱导 GLUT4 表达并促进 GLUT4 上膜的小分子(图 2)。除 PPARγ激动剂能同时调节 GLUT4 表达和膜分布外,还有一些小分子通过不同机制表现出 GLUT4 表达和上膜双激动剂的特征。钨酸钠依赖于 ERK1/2 磷酸化从而增强 MEF2 与 GLUT4 启动子的结合,还可以增加 GLUT4 的膜转位^[105]。齐墩果酸(oleanolic acid)衍生物 NPLC441 是 PTP1B 的选择性抑制剂同时还是 LXR:RXR 异源二聚体的激动剂,可以共同调节 GLUT4 的表达和上膜^[106]。天然产物芸香苦素(rutamarin)是 RXRα的配体,通过激活 RXRα同源二聚体和 PPARγ/RXRα异源二聚体上调 GLUT4 蛋白的表达水平,同时通过抑制 PTP1B 活性增敏胰岛素通路来促进 GLUT4 上膜,改善饮食诱导的肥胖小鼠的糖耐受性并控制其血糖水平^[107]。

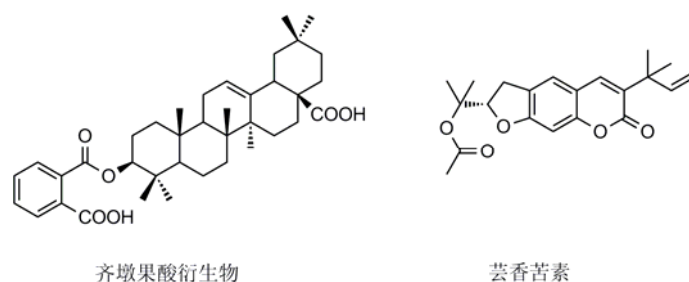


图 2 GLUT4 表达上膜双激动剂

由于生物系统中存在的替代机制和药物缓解机制能使单一靶点的小分子化合物药效减弱, 对于发病机制复杂的代谢性疾病来说, 单靶点药物具有局限性^[108]. 与单一调节 GLUT4 表达或膜分布的小分子来说, GLUT4 表达和上膜的双激动剂通过多个靶点多条通路作用于糖吸收和胰岛素响应过程, 可以更有效地控制血糖. 在已报道的双激动剂中, 既有钨酸钠类的无机小分子也有齐墩果酸衍生物和芸香苦素类含有复杂多环结构的有机大分子, 提示潜在的 GLUT4 表达和上膜双激动剂具有结构多样性. 因此寻找结构新颖且高效低毒的 GLUT4 表达和上膜双重激动剂是应对 II 型糖尿病糖代谢失常的有效手段.

GLUT4 作为一个靶点, 上述表达诱导剂、上膜促进剂及表达和上膜双激动剂都是通过作用于增加表达和/或刺激上膜这两条通路中的关键蛋白间接影响 GLUT4 内吸收葡萄糖的功能. 现在还没有与 GLUT4 直接结合的小分子促进 GLUT4 转运葡萄糖的报道. 在今后的研究中, 随着对 GLUT4 胞内区段三维结构及活性调节的深入探索和揭示, 可能会发现新的小分子直接与 GLUT4 结合调节 GLUT4 的功能.

4 展望

关于调节 GLUT4 功能的信号通路及作用于该通路并应用于改善糖代谢的小分子研究已有一定进展, 但是现今对于 GLUT4 功能精细调控的报道, 特别是在不同刺激下胞内囊泡间 GLUT4 转运过程的调控方式或通路还存在很多空白. 以骨骼肌为例, 骨骼肌可以响应胰岛素和收缩刺激, 对整个机体内吸收葡萄糖的过程发挥举足轻重的作用^[109]. 但是成体骨骼肌结构复杂, 体外培养的分化肌管不能完全反应骨骼肌生理状况下的细微结构. 机体骨骼肌中不仅存在

神经肌肉连接, 肌纤维上肌膜内陷还会形成横小管或 T 管(transverse tubules)的结构, 极大的增加了表面积^[110]. 然而体外研究中通常用的两种骨骼肌细胞系对于研究成体骨骼肌对 GLUT4 的精细调控机制存在一定的缺陷: 体外培养的细胞系 C2C12 会分化出一定的 T 管但内源表达的 GLUT4 量较低; 细胞系 L6 虽然 GLUT4 含量较高却没有 T 管结构^[111, 112]. 因此需要发展对成熟骨骼肌中的 GLUT4 流向的实时观测方式以便于进一步探究. 目前已报道的检测方式有以下几种: 在动物体内瞬时转染荧光标记的 GLUT4, 活体检测固定肌纤维中 GLUT4 流向; 带有标记 GLUT4 的转基因小鼠在运动或其他刺激处理后分离肌纤维检测; 用亲和光标签标记内源 GLUT4 等^[113]. 通过这些方法目前已有报道发现胰岛素抵抗状态下肌组织对葡萄糖吸收的减少主要是 T 管上 GLUT4 的上膜量减少所致, 相关的具体机制还需要后续研究. 因此, 随着研究的不断深入, GLUT4 调节过程中精细机制的揭开可能会提供新的或更可靠的靶点, 以此为理论基础将能开发出通过精细调控 GLUT4 功能而更有效改善代谢异常并具有较小副作用的小分子.

GLUT4 作为葡萄糖转运子在糖代谢中发挥重要作用, 其调控的失常主要与肥胖或胰岛素抵抗等有关. 除此之外, 也有一些报道提出了 GLUT4 与其他疾病的关系. 多囊卵巢综合征(PCOS)是育龄妇女的常见疾病, 还可能伴有胰岛素抵抗等并发症, 有临床证据表明与正常个体相比, PCOS 个体子宫内膜细胞 GLUT4 的表达量减少, 且肥胖或胰岛素抵抗并发症个体子宫内膜细胞的 GLUT4 量会更少^[114]. 另外, 肿瘤也被报道与 GLUT4 存在着一定的关联. 肿瘤细胞中葡萄糖吸收和代谢的速率升高, 临床数据显示胃癌细胞中 GLUT1 和 GLUT4 的表达量增加^[115]. 不过,

GLUT4 与这些疾病的相关性还需更多实验或临床数据的支持, 并且这种关系是否与其病理进程有关, 恢复 GLUT4 的表达或功能是否能达到减轻疾病症状的效果还不明确, 有待于进一步的研究。

致谢 本工作得到国家自然科学基金项目(91213306, 21021063, 81173105)资助, 特此致谢。

参考文献

- 1 Charron MJ, Brosius FC 3rd, Alper SL, Lodish HF. A glucose transport protein expressed predominately in insulin-responsive tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1989, 86(8): 2535–2539
- 2 Birnbaum MJ. Identification of a novel gene encoding an insulin-responsive glucose transporter protein. *Cell*, 1989, 57(2): 305–315
- 3 Dawson K, Aviles-Hernandez A, Cushman SW, Malide D. Insulin-regulated trafficking of dual-labeled glucose transporter 4 in primary rat adipose cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 287(2): 445–454
- 4 Marette A, Burdett E, Douen A, Vranic M, Klip A. Insulin induces the translocation of GLUT4 from a unique intracellular organelle to transverse tubules in rat skeletal muscle. *Diabetes*, 1992, 41(12): 1562–1569
- 5 Calderhead DM, Kitagawa K, Tanner LI, Holman GD, Lienhard GE. Insulin regulation of the two glucose transporters in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem*, 1990, 265(23): 13801–13808
- 6 Stenbit AE, Tsao TS, Li J, Burcelin R, Geenen DL, Factor SM, Houseknecht K, Katz EB, Charron MJ. GLUT4 heterozygous knockout mice develop muscle insulin resistance and diabetes. *Nat Med*, 1997, 3(10): 1096–1101
- 7 Li J, Houseknecht KL, Stenbit AE, Katz EB, Charron MJ. Reduced glucose uptake precedes insulin signaling defects in adipocytes from heterozygous GLUT4 knockout mice. *FASEB J*, 2000, 14(9): 1117–1125
- 8 Rossetti L, Stenbit AE, Chen W, Hu M, Barzilai N, Katz EB, Charron MJ. Peripheral but not hepatic insulin resistance in mice with one disrupted allele of the glucose transporter type 4 (GLUT4) gene. *J Clin Invest*, 1997, 100(7): 1831–1839
- 9 Zisman A, Peroni OD, Abel ED, Michael MD, Mauvais-Jarvis F, Lowell BB, Wojtaszewski JF, Hirshman MF, Virkamaki A, Goodyear LJ, Kahn CR, Kahn BB. Targeted disruption of the glucose transporter 4 selectively in muscle causes insulin resistance and glucose intolerance. *Nat Med*, 2000, 6(8): 924–928
- 10 Abel ED, Peroni O, Kim JK, Kim YB, Boss O, Hadro E, Minnemann T, Shulman GI, Kahn BB. Adipose-selective targeting of the GLUT4 gene impairs insulin action in muscle and liver. *Nature*, 2001, 409(6821): 729–733
- 11 Carvalho E, Kotani K, Peroni OD, Kahn BB. Adipose-specific overexpression of GLUT4 reverses insulin resistance and diabetes in mice lacking GLUT4 selectively in muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2005, 289(4): E551–E561
- 12 Holmes B, Dohm GL. Regulation of GLUT4 gene expression during exercise. *Med Sci Sports Exerc*, 2004, 36(7): 1202–1206
- 13 Laffitte BA, Chao LC, Li J, Walczak R, Hummasti S, Joseph SB, Castrillo A, Wilpitz DC, Mangelsdorf DJ, Collins JL, Saez E, Tontonoz P. Activation of liver X receptor improves glucose tolerance through coordinate regulation of glucose metabolism in liver and adipose tissue. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(9): 5419–5424
- 14 Casla A, Rovira A, Wells JA, Dohm GL. Increased glucose transporter (GLUT4) protein expression in hyperthyroidism. *Biochem Biophys Res Commun*, 1990, 171(1): 182–188
- 15 Weinstein SP, O'Boyle E, Haber RS. Thyroid hormone increases basal and insulin-stimulated glucose transport in skeletal muscle. The role of GLUT4 glucose transporter expression. *Diabetes*, 1994, 43(10): 1185–1189
- 16 Richardson JM, Pessin JE. Identification of a skeletal muscle-specific regulatory domain in the rat GLUT4/muscle-fat gene. *J Biol Chem*, 1993, 268(28): 21021–21027
- 17 Torrance CJ, Usala SJ, Pessin JE, Dohm GL. Characterization of a low affinity thyroid hormone receptor binding site within the rat GLUT4 gene promoter. *Endocrinology*, 1997, 138(3): 1215–1223
- 18 Shen H, Zhang Y, Ding H, Wang X, Chen L, Jiang H, Shen X. Farnesoid X receptor induces GLUT4 expression through FXR response element in the GLUT4 promoter. *Cell Physiol Biochem*, 2008, 22(1-4): 1–14
- 19 Armoni M, Kritiz N, Harel C, Bar-Yoseph F, Chen H, Quon MJ, Karnieli E. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma represses GLUT4 promoter activity in primary adipocytes, and rosiglitazone alleviates this effect. *J Biol Chem*, 2003, 278(33): 30614–30623
- 20 Finck BN, Bernal-Mizrachi C, Han DH, Coleman T, Sambandam N, LaRiviere LL, holloszy JO, Semenkovich CF, Kelly DP. A potential link between muscle peroxisome proliferator-activated receptor-alpha signaling and obesity-related diabetes. *Cell Metab*, 2005, 1(2): 133–144

- 21 Gan Z, Burkart-Hartman EM, Han DH, Finck B, Leone TC, Smith EY, Ayala JE, Holloszy J, Kelly DP. The nuclear receptor PPARbeta/delta programs muscle glucose metabolism in cooperation with AMPK and MEF2. *Genes Dev*, 2011, 25(24): 2619–2630
- 22 Horton JD, Shimomura I. Sterol regulatory element-binding proteins: Activators of cholesterol and fatty acid biosynthesis. *Curr Opin Lipidol*, 1999, 10(2): 143–150
- 23 Im SS, Kwon SK, Kang SY, Kim TH, Kim HI, Hur MW, Kim KS, Ahn YH. Regulation of GLUT4 gene expression by SREBP-1c in adipocytes. *Biochem J*, 2006, 399(1): 131–139
- 24 Kaestner KH, Christy RJ, Lane MD. Mouse insulin-responsive glucose transporter gene: Characterization of the gene and trans-activation by the CCAAT/enhancer binding protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1990, 87(1): 251–255
- 25 Cha HC, Oak NR, Kang S, Tran TA, Kobayashi S, Chiang SH, Tenen DG, MacDougald OA. Phosphorylation of CCAAT/enhancer-binding protein alpha regulates GLUT4 expression and glucose transport in adipocytes. *J Biol Chem*, 2008, 283(26): 18002–18011
- 26 Hernandez R, Teruel T, Lorenzo M. Insulin and dexamethasone induce GLUT4 gene expression in foetal brown adipocytes: Synergistic effect through CCAAT/enhancer-binding protein alpha. *Biochem J*, 2003, 372(Pt 2): 617–624
- 27 Gray S, Feinberg MW, Hull S, Kuo CT, Watanabe M, Sen-Banerjee S, DePina A, Haspel R, Jain MK. The Kruppel-like factor KLF15 regulates the insulin-sensitive glucose transporter GLUT4. *J Biol Chem*, 2002, 277(37): 34322–34328
- 28 Cooke DW, Lane MD. The transcription factor nuclear factor I mediates repression of the GLUT4 promoter by insulin. *J Biol Chem*, 1999, 274(18): 12917–12924
- 29 Miura S, Tsunoda N, Ikeda S, Kai Y, Cooke DW, Lane MD, Ezaki O. Nuclear factor 1 regulates adipose tissue-specific expression in the mouse GLUT4 gene. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 325(3): 812–818
- 30 Liu ML, Olson AL, Edgington NP, Moye-Rowley WS, Pessin JE. Myocyte enhancer factor 2 (MEF2) binding site is essential for C2C12 myotube-specific expression of the rat GLUT4/muscle-adipose facilitative glucose transporter gene. *J Biol Chem*, 1994, 269(45): 28514–28521
- 31 Thai MV, Guruswamy S, Cao KT, Pessin JE, Olson AL. Myocyte enhancer factor 2 (MEF2)-binding site is required for GLUT4 gene expression in transgenic mice. Regulation of MEF2 DNA binding activity in insulin-deficient diabetes. *J Biol Chem*, 1998, 273(23): 14285–14292
- 32 Mora S, Pessin JE. The MEF2A isoform is required for striated muscle-specific expression of the insulin-responsive GLUT4 glucose transporter. *J Biol Chem*, 2000, 275(21): 16323–16328
- 33 Ojuka EO. Role of calcium and AMP kinase in the regulation of mitochondrial biogenesis and GLUT4 levels in muscle. *Proc Nutr Soc*, 2004, 63(2): 275–278
- 34 Holmes BF, Sparling DP, Olson AL, Winder WW, Dohm GL. Regulation of muscle GLUT4 enhancer factor and myocyte enhancer factor 2 by AMP-activated protein kinase. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2005, 289(6): E1071–E1076
- 35 Oshel KM, Knight JB, Cao KT, Thai MV, Olson AL. Identification of a 30-base pair regulatory element and novel DNA binding protein that regulates the human GLUT4 promoter in transgenic mice. *J Biol Chem*, 2000, 275(31): 23666–23673
- 36 Santalucia T, Moreno H, Palacin M, Yacoub MH, Brand NJ, Zorzano A. A novel functional co-operation between MyoD, MEF2 and TRAlphal is sufficient for the induction of GLUT4 gene transcription. *J Mol Biol*, 2001, 314(2): 195–204
- 37 McGee SL, Hargreaves M. Histone modifications and exercise adaptations. *J Appl Physiol*, 2011, 110(1): 258–263
- 38 McGee SL, van Denderen BJ, Howlett KF, Mollica J, Schertzer JD, Kemp BE, Hargreaves M. AMP-activated protein kinase regulates GLUT4 transcription by phosphorylating histone deacetylase 5. *Diabetes*, 2008, 57(4): 860–867
- 39 Huang S, Lifshitz LM, Jones C, Bellve KD, Standley C, Fonseca S, Corvera S, Fogarty KE, Czech MP. Insulin stimulates membrane fusion and GLUT4 accumulation in clathrin coats on adipocyte plasma membranes. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(9): 3456–3469
- 40 Bai L, Wang Y, Fan J, Chen Y, Ji W, Qu A, Xu P, James DE, Xu T. Dissecting multiple steps of GLUT4 trafficking and identifying the sites of insulin action. *Cell Metab*, 2007, 5(1): 47–57
- 41 Jiang L, Fan J, Bai L, Wang Y, Chen Y, Yang L, Chen L, Xu T. Direct quantification of fusion rate reveals a distal role for AS160 in insulin-stimulated fusion of GLUT4 storage vesicles. *J Biol Chem*, 2008, 283(13): 8508–8516
- 42 Stenkula KG, Lizunov VA, Cushman SW, Zimmerberg J. Insulin controls the spatial distribution of GLUT4 on the cell surface through regulation of its postfusion dispersal. *Cell Metab*, 2010, 12(3): 250–259
- 43 Huang S, Czech MP. The GLUT4 glucose transporter. *Cell Metab*, 2007, 5(4): 237–252
- 44 Kohn AD, Barthel A, Kovacina KS, Boge A, Wallach B, Summers SA, Birnbaum MJ, Scott PH, Lawrence JC, Roth RA. Construction and characterization of a conditionally active version of the serine/threonine kinase Akt. *J Biol Chem*, 1998, 273(19): 11937–11943
- 45 Wang Q, Somwar R, Bilan PJ, Liu Z, Jin J, Woodgett JR, Klip A. Protein kinase B/Akt participates in GLUT4 translocation by insulin in L6

- myoblasts. *Mol Cell Biol*, 1999, 19(6): 4008–4018
- 46 Kaddai V, Le Marchand-Brustel Y, Cormont M. Rab proteins in endocytosis and Glut4 trafficking. *Acta Physiol (Oxf)*, 2008, 192(1): 75–88
- 47 Kane S, Sano H, Liu SC, Asara JM, Lane WS, Garner CC, Lienhard GE. A method to identify serine kinase substrates. Akt phosphorylates a novel adipocyte protein with a Rab GTPase-activating protein (GAP) domain. *J Biol Chem*, 2002, 277(25): 22115–22118
- 48 Ishikura S, Klip A. Muscle cells engage Rab8A and myosin Vb in insulin-dependent GLUT4 translocation. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2008, 295(4): C1016–1025
- 49 Chiu TT, Jensen TE, Sylow L, Richter EA, Klip A. Rac1 signalling towards GLUT4/glucose uptake in skeletal muscle. *Cell Signal*, 2011, 23(10): 1546–1554
- 50 Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, 2001, 414(6865): 799–806
- 51 Saltiel AR, Pessin JE. Insulin signaling in microdomains of the plasma membrane. *Traffic*, 2003, 4(11): 711–716
- 52 Mitra P, Zheng X, Czech MP. RNAi-based analysis of CAP, Cbl, and CrkII function in the regulation of GLUT4 by insulin. *J Biol Chem*, 2004, 279(36): 37431–37435
- 53 Paz K, Liu YF, Shorer H, Hemi R, LeRoith D, Quan M, Kanety H, Seger R, Zick Y. Phosphorylation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1) by protein kinase B positively regulates IRS-1 function. *J Biol Chem*, 1999, 274(40): 28816–28822
- 54 Thong FS, Dugani CB, Klip A. Turning signals on and off: GLUT4 traffic in the insulin-signaling highway. *Physiology (Bethesda)*, 2005, 20: 271–284
- 55 Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, Gorgun CZ, Uysal KT, Maeda K, Karin M, Hotamisligil GS. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature*, 2002, 420(6913): 333–336
- 56 Aguirre V, Uchida T, Yenush L, Davis R, White MF. The c-Jun NH(2)-terminal kinase promotes insulin resistance during association with insulin receptor substrate-1 and phosphorylation of Ser(307). *J Biol Chem*, 2000, 275(12): 9047–9054
- 57 Chen H, Cong LN, Li Y, Yao ZJ, Wu L, Zhang ZY, Burke TR, Quon MJ. A phosphotyrosyl mimetic peptide reverses impairment of insulin-stimulated translocation of GLUT4 caused by overexpression of PTP1B in rat adipose cells. *Biochemistry*, 1999, 38(1): 384–389
- 58 Chen H, Wertheimer SJ, Lin CH, Katz SL, Amrein KE, Burn P, Quon MJ. Protein-tyrosine phosphatases PTP1B and syp are modulators of insulin-stimulated translocation of GLUT4 in transfected rat adipose cells. *J Biol Chem*, 1997, 272(12): 8026–8031
- 59 Liu F, Dallas-Yang Q, Castriota G, Fischer P, Santini F, Ferrer M, Li J, Akiyama TE, Berger JP, Zhang BB, Jiang G. Development of a novel GLUT4 translocation assay for identifying potential novel therapeutic targets for insulin sensitization. *Biochem J*, 2009, 418(2): 413–420
- 60 Nakashima N, Sharma PM, Imamura T, Bookstein R, Olefsky JM. The tumor suppressor PTEN negatively regulates insulin signaling in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem*, 2000, 275(17): 12889–12895
- 61 Zhou QL, Park JG, Jiang ZY, Holik JJ, Mitra P, Semiz S, Guilherme A, Powelka AM, Tang X, Virbasius J, Czech MP. Analysis of insulin signalling by RNAi-based gene silencing. *Biochem Soc Trans*, 2004, 32(Pt 5): 817–821
- 62 Ijuin T, Takenawa T. Regulation of insulin signaling and glucose transporter 4 (GLUT4) exocytosis by phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate (PIP3) phosphatase, skeletal muscle, and kidney enriched inositol polyphosphate phosphatase (SKIP). *J Biol Chem*, 2012, 287(10): 6991–6999
- 63 Ugi S, Imamura T, Maegawa H, Egawa K, Yoshizaki T, Shi K, Obeta T, Ebina Y, Kashiwagi A, Olefsky JM. Protein phosphatase 2A negatively regulates insulin's metabolic signaling pathway by inhibiting Akt (protein kinase B) activity in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(19): 8778–8789
- 64 Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson JG, Valle TT, Hamalainen H, Ilanne-Parikka P, Keinanen-Kiukkaammie S, Laakso M, Louheranta A, Rastas M, Salminen V, Uusitupa M. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med*, 2001, 344(18): 1343–1350
- 65 James DE, Burleigh KM, Kraegen EW, Chisholm DJ. Effect of acute exercise and prolonged training on insulin response to intravenous glucose *in vivo* in rat. *J Appl Physiol*, 1983, 55(6): 1660–1664
- 66 Becker-Zimmermann K, Berger M, Berchtold P, Gries FA, Herberg L, Schwenen M. Treadmill training improves intravenous glucose tolerance and insulin sensitivity in fatty Zucker rats. *Diabetologia*, 1982, 22(6): 468–474
- 67 Kennedy JW, Hirshman MF, Gervino EV, Ocel JV, Forse RA, Hoenig SJ, Aronson D, Goodyear LJ, Horton ES. Acute exercise induces GLUT4 translocation in skeletal muscle of normal human subjects and subjects with type 2 diabetes. *Diabetes*, 1999, 48(5): 1192–1197
- 68 Fujii N, Jessen N, Goodyear LJ. AMP-activated protein kinase and the regulation of glucose transport. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2006, 291(5): E867–877
- 69 Mu J, Brozinick JT Jr, Valladares O, Bucan M, Birnbaum MJ. A role for AMP-activated protein kinase in contraction- and

- hypoxia-regulated glucose transport in skeletal muscle. *Mol Cell*, 2001, 7(5): 1085–1094
- 70 Mu J, Barton ER, Birnbaum MJ. Selective suppression of AMP-activated protein kinase in skeletal muscle: update on 'lazy mice'. *Biochem Soc Trans*, 2003, 31(Pt 1): 236–241
 - 71 Derave W, Ai H, Ihlemann J, Witters LA, Kristiansen S, Richter EA, Ploug T. Dissociation of AMP-activated protein kinase activation and glucose transport in contracting slow-twitch muscle. *Diabetes*, 2000, 49(8): 1281–1287
 - 72 Kramer HF, Witczak CA, Fujii N, Jessen N, Taylor EB, Arnolds DE, Sakamoto K, Hirshman MF, Goodyear LJ. Distinct signals regulate AS160 phosphorylation in response to insulin, AICAR, and contraction in mouse skeletal muscle. *Diabetes*, 2006, 55(7): 2067–2076
 - 73 Hurley RL, Anderson KA, Franzone JM, Kemp BE, Means AR, Witters LA. The Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase kinases are AMP-activated protein kinase kinases. *J Biol Chem*, 2005, 280(32): 29060–29066
 - 74 Wright DC, Hucker KA, Holloszy JO, Han DH. Ca^{2+} and AMPK both mediate stimulation of glucose transport by muscle contractions. *Diabetes*, 2004, 53(2): 330–335
 - 75 Suarez E, Bach D, Cadefau J, Palacin M, Zorzano A, Guma A. A novel role of neuregulin in skeletal muscle. Neuregulin stimulates glucose uptake, glucose transporter translocation, and transporter expression in muscle cells. *J Biol Chem*, 2001, 276(21): 18257–18264
 - 76 Canto C, Chibalin AV, Barnes BR, Glund S, Suarez E, Ryder JW, Palacin M, Zierath JR, Zorzano A, Guma A. Neuregulins mediate calcium-induced glucose transport during muscle contraction. *J Biol Chem*, 2006, 281(31): 21690–21697
 - 77 Antonescu CN, Huang C, Niu W, Liu Z, Evers PA, Heidenreich KA, Bilan PJ, Klip A. Reduction of insulin-stimulated glucose uptake in L6 myotubes by the protein kinase inhibitor SB203580 is independent of p38MAPK activity. *Endocrinology*, 2005, 146(9): 3773–3781
 - 78 Sasaki-Suzuki N, Arai K, Ogata T, Kasahara K, Sakoda H, Chida K, Asano T, Pessin JE, Hakuno F, Takahashi S. Growth hormone inhibition of glucose uptake in adipocytes occurs without affecting GLUT4 translocation through an insulin receptor substrate-2-phosphatidylinositol 3-kinase-dependent pathway. *J Biol Chem*, 2009, 284(10): 6061–6070
 - 79 Ishiki M, Klip A. Minireview: Recent developments in the regulation of glucose transporter-4 traffic: new signals, locations, and partners. *Endocrinology*, 2005, 146(12): 5071–5078
 - 80 Zaid H, Talior-Volodarsky I, Antonescu C, Liu Z, Klip A. GAPDH binds GLUT4 reciprocally to hexokinase-II and regulates glucose transport activity. *Biochem J*, 2009, 419(2): 475–484
 - 81 Fernandez-Veledo S, Nieto-Vazquez I, Rondinone CM, Lorenzo M. Liver X receptor agonists ameliorate TNF α -induced insulin resistance in murine brown adipocytes by downregulating protein tyrosine phosphatase-1B gene expression. *Diabetologia*, 2006, 49(12): 3038–3048
 - 82 Dalen KT, Ulven SM, Bamberg K, Gustafsson JA, Nebb HI. Expression of the insulin-responsive glucose transporter GLUT4 in adipocytes is dependent on liver X receptor α . *J Biol Chem*, 2003, 278(48): 48283–48291
 - 83 Commerford SR, Vargas L, Dorfman SE, Mitro N, Rocheford EC, Mak PA, Li X, Kennedy P, Mullarkey TL, Saez E. Dissection of the insulin-sensitizing effect of liver X receptor ligands. *Mol Endocrinol*, 2007, 21(12): 3002–3012
 - 84 Martinez L, Berenguer M, Bruce MC, Le Marchand-Brustel Y, Govers R. Rosiglitazone increases cell surface GLUT4 levels in 3T3-L1 adipocytes through an enhancement of endosomal recycling. *Biochem Pharmacol*, 2010, 79(9): 1300–1309
 - 85 Kim MK, Chae YN, Choi SH, Moon HS, Son MH, Bae MH, Choi HH, Hur Y, Kim E, Park YH, Park CS, Kim JG, Lim JI, Shin CY. PAM-1616, a selective peroxisome proliferator-activated receptor γ modulator with preserved anti-diabetic efficacy and reduced adverse effects. *Eur J Pharmacol*, 2011, 650(2-3): 673–681
 - 86 Terasaki J, Anai M, Funaki M, Shibata T, Inukai K, Ogihara T, Ishihara H, Katagiri H, Onishi Y, Sakoda H, Fukushima Y, Yazaki Y, Kikuchi M, Oka Y, Asano T. Role of JTT-501, a new insulin sensitiser, in restoring impaired GLUT4 translocation in adipocytes of rats fed a high fat diet. *Diabetologia*, 1998, 41(4): 400–409
 - 87 Kim W, Khil LY, Clark R, Bok SH, Kim EE, Lee S, Jun HS, Yoon JW. Naphthalenemethyl ester derivative of dihydroxyhydrocinnamic acid, a component of cinnamon, increases glucose disposal by enhancing translocation of glucose transporter 4. *Diabetologia*, 2006, 49(10): 2437–2448
 - 88 Jessen N, Selmer Buhl E, Pold R, Schmitz O, Lund S. A novel insulin sensitizer (S15511) enhances insulin-stimulated glucose uptake in rat skeletal muscles. *Horm Metab Res*, 2008, 40(4): 269–275
 - 89 Sangeetha KN, Sujatha S, Muthusamy VS, Anand S, Nithya N, Velmurugan D, Balakrishnan A, Lakshmi BS. 3beta-taraxerol of *Mangifera indica*, a PI3K dependent dual activator of glucose transport and glycogen synthesis in 3T3-L1 adipocytes. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1800(3): 359–366
 - 90 Alkhateeb H, Bonen A. Thujone, a component of medicinal herbs, rescues palmitate-induced insulin resistance in skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2010, 299(3): R804–812

- 91 Kang C, Kim E. Synergistic effect of curcumin and insulin on muscle cell glucose metabolism. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48(8-9): 2366–2373
- 92 Mohammad A, Sharma V, McNeill JH. Vanadium increases GLUT4 in diabetic rat skeletal muscle. *Mol Cell Biochem*, 2002, 233(1-2): 139–143
- 93 Nolte LA, Han DH, Hansen PA, Hucker KA, Holloszy JO. A peroxovanadium compound stimulates muscle glucose transport as powerfully as insulin and contractions combined. *Diabetes*, 2003, 52(8): 1918–1925
- 94 Zhang Y, Li Y, Guo YW, Jiang HL, Shen X. A sesquiterpene quinone, dysidine, from the sponge *Dysidea villosa*, activates the insulin pathway through inhibition of PTPases. *Acta Pharmacol Sin*, 2009, 30(3): 333–345
- 95 Estrada DE, Ewart HS, Tsakiridis T, Volchuk A, Ramlal T, Tritschler H, Klip A. Stimulation of glucose uptake by the natural coenzyme alpha-lipoic acid/thioctic acid: Participation of elements of the insulin signaling pathway. *Diabetes*, 1996, 45(12): 1798–1804
- 96 Abe D, Saito T, Sekiya K. Sennidin stimulates glucose incorporation in rat adipocytes. *Life Sci*, 2006, 79(11): 1027–1033
- 97 Huang YC, Chang WL, Huang SF, Lin CY, Lin HC, Chang TC. Pachymic acid stimulates glucose uptake through enhanced GLUT4 expression and translocation. *Eur J Pharmacol*, 2010, 648(1-3): 39–49
- 98 Hiromura M, Nakayama A, Adachi Y, Doi M, Sakurai H. Action mechanism of bis(allixinato)oxovanadium(IV) as a novel potent insulin-mimetic complex: regulation of GLUT4 translocation and FoxO1 transcription factor. *J Biol Inorg Chem*, 2007, 12(8): 1275–1287
- 99 Perrini S, Natalicchio A, Laviola L, Belsanti G, Montrone C, Cignarelli A, Minielli V, Grano M, De Pergola G, Giorgino R, Giorgino F. Dehydroepiandrosterone stimulates glucose uptake in human and murine adipocytes by inducing GLUT1 and GLUT4 translocation to the plasma membrane. *Diabetes*, 2004, 53(1): 41–52
- 100 Niu W, Bilan PJ, Ishikura S, Schertzer JD, Contreras-Ferrat A, Fu Z, Liu J, Boguslavsky S, Foley KP, Liu Z, Chu G, Panakkezhum T, LoPaschuk GD, Lavandero S, Yao Z, Klip A. Contraction-related stimuli regulate GLUT4 traffic in C2C12-GLUT4myc skeletal muscle cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2010, 298(5): E1058–1071
- 101 Oberg AI, Yassin K, Csikasz RI, Dehvari N, Shabalina IG, Hutchinson DS, Wilcke M, Ostenson CG, Bengtsson T. Shikonin increases glucose uptake in skeletal muscle cells and improves plasma glucose levels in diabetic Goto-Kakizaki rats. *PLoS One*, 2011, 6(7): e22510
- 102 Lee WH, Lin RJ, Lin SY, Chen YC, Lin HM, Liang YC. Osthole enhances glucose uptake through activation of AMP-activated protein kinase in skeletal muscle cells. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(24): 12874–12881
- 103 Tang X, Zhuang J, Chen J, Yu L, Hu L, Jiang H, Shen X. Arctigenin efficiently enhanced sedentary mice treadmill endurance. *PLoS One*, 2011, 6(8): e24224
- 104 Huang SL, Yu RT, Gong J, Feng Y, Dai YL, Hu F, Hu YH, Tao YD, Leng Y. Arctigenin, a natural compound, activates AMP-activated protein kinase via inhibition of mitochondria complex I and ameliorates metabolic disorders in ob/ob mice. *Diabetologia*, 2012, 55(5): 1469–1481
- 105 Giron MD, Sevillano N, Vargas AM, Dominguez J, Guinovart JJ, Salto R. The glucose-lowering agent sodium tungstate increases the levels and translocation of GLUT4 in L6 myotubes through a mechanism associated with ERK1/2 and MEF2D. *Diabetologia*, 2008, 51(7): 1285–1295
- 106 Lin Z, Zhang Y, Shen H, Hu L, Jiang H, Shen X. Oleanolic acid derivative NPLC441 potently stimulates glucose transport in 3T3-L1 adipocytes via a multi-target mechanism. *Biochem Pharmacol*, 2008, 76(10): 1251–1262
- 107 Zhang Y, Zhang H, Yao XG, Shen H, Chen J, Li C, Chen L, Zhang M, Ye J, Hu L, Shen X, Jiang H. (+)-Rutamarin as a dual inducer of Both GLUT4 translocation and expression efficiently ameliorates glucose homeostasis in insulin-resistant mice. *PLoS One*, 2012, 7(2): e31811
- 108 Sams-Dodd F. Target-based drug discovery: is something wrong? *Drug Discov Today*, 2005, 10(2): 139–147
- 109 Bell GI, Burant CF, Takeda J, Gould GW. Structure and function of mammalian facilitative sugar transporters. *J Biol Chem*, 1993, 268(26): 19161–19164
- 110 Cullen MJ, Hollingworth S, Marshall MW. A comparative study of the transverse tubular system of the rat extensor digitorum longus and soleus muscles. *J Anat*, 1984, 138(Pt 2): 297–308
- 111 Rudich A, Klip A. Push/pull mechanisms of GLUT4 traffic in muscle cells. *Acta Physiol Scand*, 2003, 178(4): 297–308
- 112 Nedachi T, Fujita H, Kanzaki M. Contractile C2C12 myotube model for studying exercise-inducible responses in skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2008, 295(5): E1191–1204
- 113 Lauritzen HP, Schertzer JD. Measuring GLUT4 translocation in mature muscle fibers. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2010, 299(2): E169–179
- 114 Mioni R, Chiarelli S, Xamin N, Zuliani L, Granzotto M, Mozzanega B, Maffei P, Martini C, Blandamura S, Sicolo N, Vettor R. Evidence

for the presence of glucose transporter 4 in the endometrium and its regulation in polycystic ovary syndrome patients. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89(8): 4089–4096

- 115 Noguchi Y, Marat D, Saito A, Yoshikawa T, Doi C, Fukuzawa K, Tsuburaya A, Satoh S, Ito T. Expression of facilitative glucose transporters in gastric tumors. *Hepatogastroenterology*, 1999, 46(28): 2683–2689

The signaling pathway for regulation of glucose transporter 4 and its application in drug development

TANG Xuan, CHEN Jing^{*}, SHEN Xu

Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China

^{*}Corresponding author (email: jingchen@mail.shcnc.ac.cn)

Abstract: Glucose transporter 4 (GLUT4) as a mediator for glucose up-take in skeletal muscle and adipose tissue plays important roles in whole-body glucose metabolism. Impaired glucose disposal is always observed in metabolic disease (such as obesity and type 2 diabetes), and glucose homeostasis can be impacted by alteration of GLUT4 function. Here, we summarize the function, tissue distribution and regulation pathway of GLUT4, and highlight the chemicals in restoring glucose homeostasis via modulating GLUT4 function. Finally, we also discuss the possible research focus of GLUT4 in the future and the association of GLUT4 with other diseases.

Keywords: glucose transporter 4 (GLUT4), insulin, diabetes, GLUT4 translocation