

生物化学与生物物理进展  
*Progress in Biochemistry and Biophysics*  
ISSN 1000-3282, CN 11-2161/Q

## 《生物化学与生物物理进展》网络首发论文

- 题目：抑制剂胱氨酸结模式多肽的降糖作用及机制  
作者：陈林芳，张家璠，郭烨宁，黄慧中，胡康洪，尧晨光  
收稿日期：2024-05-15  
网络首发日期：2024-08-29  
引用格式：陈林芳，张家璠，郭烨宁，黄慧中，胡康洪，尧晨光. 抑制剂胱氨酸结模式多肽的降糖作用及机制[J/OL]. 生物化学与生物物理进展.  
<https://link.cnki.net/urlid/11.2161.Q.20240828.1357.003>



**网络首发：**在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字符、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认：**纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

[http://www.pibb.ac.cn/pibbcn/article/abstract/20240208?st=recent\\_adopted](http://www.pibb.ac.cn/pibbcn/article/abstract/20240208?st=recent_adopted)



生物化学与生物物理进展  
Progress in Biochemistry and Biophysics

# 抑制剂胱氨酸结模式多肽的降糖作用及机制\*

陈林芳<sup>1, 2, 3, 4</sup> 张家璠<sup>1, 2, 3, 4</sup> 郭烨宁<sup>1, 2, 3, 4</sup> 黄慧中<sup>1, 2, 3, 4</sup> 胡康洪<sup>1, 2, 3, 4</sup> 尧晨光<sup>1, 2, 3, 4\*\*</sup>

(<sup>1</sup>湖北工业大学中德生物医学中心, 武汉 430068;

<sup>2</sup>湖北工业大学工业微生物湖北省重点实验室, 武汉 430068; <sup>3</sup>湖北工业大学发酵工程教育部重点实验室, 武汉 430068;

<sup>4</sup>湖北工业大学/国家“111”细胞调控与分子药物学中心, 武汉 430068)

**摘要** 糖尿病及其并发症严重影响人类健康和生活质量, 其发病人数呈逐年上升趋势。目前市场糖尿病药物如二甲双胍等小分子化学药以及胰岛素、GLP-1 受体激动剂等多肽药物在一定程度上控制患者血糖水平, 但预防和治疗效果仍然不理想。新型理想的糖尿病治疗药物一直都是市场需求和研究热点。抑制剂胱氨酸结(inhibitor cystine knot, ICK) 多肽是一类多功能环肽, 具有三对保守的二硫键(C3-C20、C7-C22 和 C15-C32) 形成紧凑的“结”结构, 可以抵抗消化道蛋白酶的降解。近期研究显示, 豆科植物来源的 ICK 模式多肽包括 PA1b、Aglycin、Vglycin、Iglycin、Dglycin 和 Am<sub>1</sub> 等, 在细胞水平和动物水平展现出良好的调节糖脂代谢活性。机制上, ICK 模式多肽通过激活胰岛素受体(insulin receptor, IR)/AKT 信号通路促进肌肉和肝脏对葡萄糖利用, 同时改善胰岛素抵抗; 通过激活 PI3K/AKT/Erk 信号通路修复胰腺功能, 从而降低血糖。鉴于 ICK 模式多肽的生物稳定性和降糖功效满足口服药物商业化要求, 在理论上可以开发成天然口服糖尿病多肽药物。本文综述了 ICK 模式多肽的结构特性、调节糖脂代谢活性及机制的最新研究进展, 为糖尿病口服多肽类新药开发提供参考。

**关键词** 糖尿病; 抑制剂胱氨酸结模式多肽; 环肽; 口服药物; 豆类胰岛素

**中图分类号** Q71, R93

**DOI:** 10.10476/j.pibb.2024.0208

\*发酵工程教育部重点实验室竞争性开放基金(202209FE09)和湖北工业大学博士启动基金(XJ2022002201)资助项目。

\*\*通讯联系人。Tel: 027-59750462, E-mail: yaochenguang@hbut.edu.cn

收稿日期: 2024-05-15, 接受日期: 2024-08-23

# Hypoglycemic Effect and Mechanism of ICK Pattern Peptides\*

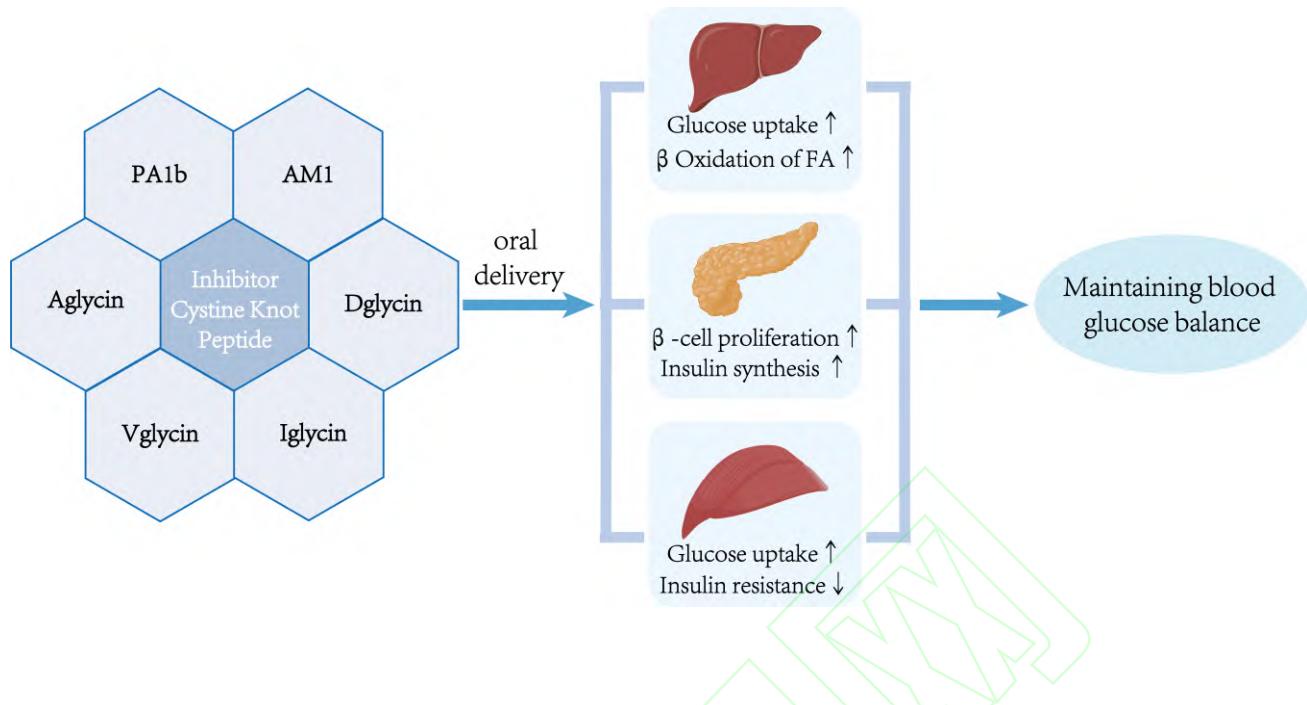
CHEN Lin-Fang<sup>1, 2, 3, 4</sup>, ZHANG Jia-Fan<sup>1, 2, 3, 4</sup>, GUO Ye-Ning<sup>1, 2, 3, 4</sup>,  
HUANG Hui-Zhong<sup>1, 2, 3, 4</sup>, HU Kang-Hong<sup>1, 2, 3, 4</sup>, YAO Chen-Guang<sup>1, 2, 3, 4\*\*</sup>

(<sup>1</sup>Sino-German Biomedical Center, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China; <sup>2</sup>Hubei Provincial Key Laboratory of Industrial Microbiology,

Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China; <sup>3</sup>Key Laboratory of Fermentation Engineering, Ministry of Education, Hubei University of Technology,

Wuhan 430068, China; <sup>4</sup>National “111” Center for Cellular Regulation and Molecular Pharmaceutics, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China)

## Graphical abstract



**Abstract:** Diabetes is a very complex endocrine disease whose common finding is the increase in blood glucose concentration. Persistent hyperglycemia can lead to blindness, kidney and heart disease, neurodegeneration, and many other serious complications that have a significant impact on human health and quality of life. The number of people with diabetes is increasing yearly. The global diabetes prevalence in 20–79 year olds in 2021 was estimated to be 10.5% (536.6 million), and it will rise to 12.2% (783.2 million) in 2045. The main modes of intervention for diabetes include medication, dietary management, and exercise conditioning. Medication is the mainstay of treatment. Marketed diabetes drugs such as metformin and insulin, as well as GLP-1 receptor agonists, are effective in controlling blood sugar levels to some extent, but the preventive and therapeutic effects are still unsatisfactory. Peptide drugs have many advantages such as low toxicity, high target specificity, and good biocompatibility, which opens up new avenues for the treatment of diabetes and other diseases. Currently, insulin and its analogs are by far the main life-saving drugs in clinical diabetes treatment, enabling effective control of blood glucose levels, but the risk of hypoglycemia is relatively high and treatment is limited by the route of delivery. New and oral anti-diabetic drugs have always been a market demand and research hotspot. Inhibitor Cystine Knot (ICK) peptides are a class of multifunctional cyclic peptides. In structure, they contain three conserved disulfide bonds (C3-C20, C7-C22, and C15-C32) form a compact “knot” structure, which can resist degradation of digestive protease. Recent studies have shown that ICK peptides derived from legume, such as PA1b, Aglycin, Vglycin, Iglycin, Dglycin, and Am<sub>1</sub>, exhibit excellent regulatory activities on glucose and lipid metabolism at the cellular and animal levels. Mechanistically,

\*This study was supported by grants from Open Project Funding of the Key Laboratory of Fermentation Engineering, Ministry of Education (202209FE09), and the initial funding of Hubei University of Technology (XJ2022002201).

\*\*Corresponding author. Tel: 86-27-59750462, E-mail: yaochenguang@hbut.edu.cn

Received: May 15, 2024 Accepted: August 23, 2024

ICK peptides promote glucose utilization by muscle and liver through activation of IR/AKT signaling pathway, which also improves insulin resistance. They can repair the damaged pancreas through activation of PI3K/AKT/Erk signaling pathway, thus lowering blood glucose. The biostability and hypoglycemic efficacy of the ICK peptides meet the requirements for commercialization of oral drugs, and in theory, they can be developed into natural oral anti-diabetes peptide drugs. In this review, the structural properties, activity and mechanism of ICK pattern peptides in regulating glucose and lipid metabolism were summarized, which provided a reference for the development of new oral peptides for diabetes.

**Key words:** diabetes, inhibitor cystine knot peptide, cyclic peptide, oral drugs, leginsulin

**DOI:** 10.10476/j.pibb.2024.0208

糖尿病是一个引发全球关注的公共卫生问题。国际糖尿病联盟公开发布报告显示，截止 2021 年全球范围内约有 5.37 亿糖尿病患者，全世界每年将近 150 万人直接死于糖尿病，中国的糖尿病患者人数约占据全世界糖尿病患者总人数的 1/3，专家推测相关数据在未来会呈稳步增长的趋势<sup>[1-4]</sup>。糖尿病主要形式有 I 型糖尿病（diabetes mellitus type 1, T1DM）和 II 型糖尿病（diabetes mellitus type 2, T2DM）。T1DM 是由于自身免疫导致的胰腺  $\beta$  细胞的破坏从而引起胰岛素缺乏，终生注射胰岛是其患者唯一的治疗选择<sup>[5]</sup>。T2DM 的病理学特征是胰岛素分泌不足和胰岛素抵抗，引起血糖持续升高，最终导致功能性胰腺  $\beta$  细胞衰竭和胰岛素补偿失调，占据总糖尿病患者人数的 90% 以上<sup>[6-7]</sup>。随着病情的发展，持续高血糖对人体组织和器官带来损伤，可导致失明、肾脏和心脏病、神经退化等多种严重的并发症<sup>[8-9]</sup>。糖尿病的持续增长不仅损害了患者的身体健康，其高昂的治疗费用也给全球公共卫生系统和社会带来沉重的经济负担。

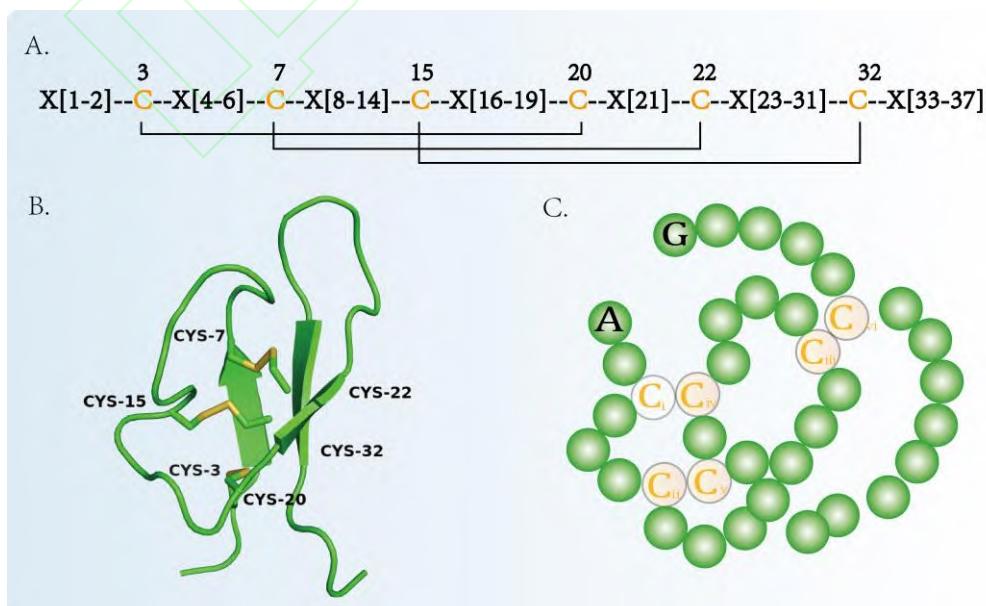
糖尿病的干预方式主要包括药物治疗、饮食管理、运动调理，其中以药物治疗为主体<sup>[10]</sup>。多肽药物，一种介于小分子药物和蛋白质药物之间的特殊药物类别，由多个氨基酸通过肽键连接而成，具备毒性低、靶向特异性高、生物相容性好等诸多优点，为糖尿病等疾病的治疗开辟了新的途径<sup>[11-13]</sup>。自 1921 年 Frederick Grant Banting 等发现胰岛素并于 1982 年批准临床使用以来，极大地促进肽类药物更广泛的临床应用<sup>[14]</sup>。近年来胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)类似物，包括艾塞那肽、利拉鲁肽、度拉糖肽和司美格鲁肽，通过促进胰岛素合成和分泌来治疗糖尿病<sup>[15-17]</sup>。然而，这两类多肽药物大多数以静脉注射和皮下注射的形式给药，长期和频繁的注射给药给患者带来疼痛，同时存在皮肤过敏和感染的风险，治疗依从性差<sup>[18]</sup>。

相比之下，口服给药作为一种更安全、更有效和非侵入性的治疗策略，大大提高了患者的依从性<sup>[19]</sup>。司美格鲁肽作为唯一一种口服治疗糖尿病的多肽药物于 2019 年获批上市，但口服生物利用度低下，仅有 0.5%~1%<sup>[20]</sup>。主要原因是消化系统中的蛋白酶、胃液的酸性环境、小肠的上皮屏障以及各种外排系统等诸多因素显着限制了多肽药物的吸收<sup>[21-23]</sup>。最新研究显示，一类豆科植物来源的抑制剂胱氨酸结( inhibitor cystine knot, ICK) 模式多肽在动物水平上展现出令人印象深刻的口服降糖效果，凭借较强的稳定性、较好的靶向性、较小的毒性，有望用于糖尿病的治疗。本文重点阐述其口服降血糖的活性和分子机制，并讨论其被开发成糖尿病口服药物的潜力。

## 1 ICK 模式多肽结构特性

胱氨酸结多肽 (cystine knot peptide, CKP) 家族包含三大成员: ICK 多肽、环状胱氨酸结 (cyclic cystine knot, CCK) 多肽以及生长因子胱氨酸结 (growth factor cystine knot, GFCK) 多肽。其中, ICK 模式多肽是一类富含半胱氨酸 (cysteine, Cys), 空间结构非常稳定的多肽。ICK 基序也被命名为 Knottin 基序, 是 3 链反向平行的  $\beta$  折叠结构, 含有 6 个 Cys, 通过 Cys(I)-Cys(IV)、Cys(II)-Cys(V)、Cys(III)-Cys(VI) 三对二硫键 (图 1a) 连接, 其中, ICK 模式多肽分子的前两对二硫键 (CysI-CysIV 和 CysII-CysV) 连同这四个半胱氨酸所在的氨基酸序列主链首先组成环状结构, 而基序中第三对二硫键 (CysIII-CysVI) 直接穿越此环行成稳定的拓扑学连接在一起 (图 1b, c) [24-26]。胱氨酸结是一种关键的结构基序, 是结蛋白和环状肽等生物活性肽的基石, 这种排列方式赋予其稳定性, 在恶劣的条件下依然能保持其生物学活性 [27]。

近二十年, 植物来源的 ICK 模式多肽备受关注。通过比较发现, 这类肽有相似之处: a. 分子质量小: 大多数由 37 个氨基酸组成, 分子质量在 3~4 ku 之间; b. 同基序: 具有高度保守的一级结构, 仅在少量氨基酸残基存在差异, 其 6C 半胱氨酸基序可表示为 X[1-2]-C-X[5-6]-C-X[8-14]-C-X[16-19]-C-X[21]-C-X[23-31]-C-X[33-37] (C 代表半胱氨酸, X 代表其他任意一种氨基酸, 图 1a) [28]; c. 稳定性高: 在第 3、7、15、20、22 和 32 位的氨基酸均为半胱氨酸且其位置高度保守, 两两配对形成 C3-C20、C7-C22、C15-C32 二硫键 (图 1b, c)。由于 Cys 的侧链巯基中氢原子很容易地被自由基和其他基团取代, 因而易与其他分子形成共价键, 以及 Cys 残基能够形成分子内二硫键, 几个二硫键结合在一起, 形成半胱氨酸结。与同等大小的肽相比, ICK 模式多肽具有较高的稳定性 (图 1b, c) [29-31]; d. 生物活性多样: 不同类别的 ICK 模式多肽具有多种生物活性, 同一种 ICK 模式多肽也可能同时具备多种不同生物活性, 如豌豆种子中的豌豆蛋白 1b (Pea Albumin1 subunit b, PA1b) 在植物体内可以调节愈伤组织的生长和促进细胞分裂, 同时还是一种有效的生物杀虫剂和降糖剂 [32]。但它们也存在差异性, 如从豌豆中分离的所有 PA1b 样肽都带正电荷, 而从大豆中分离的肽 Aglycin、Iglycin、Dglycin 是中性的, 来自黄芪的 aM<sub>1</sub> 带负电荷, 这表明尽管它们是 ICK 模式多肽, 但它们可能具有不同的生物活性。



**Fig.1 Amino acid motifs and three-dimensional structures of ICK peptides****图 1 ICK 模式多肽氨基酸基序及三维结构**

注：（a）豆科植物来源 ICK 模式多肽的氨基酸通用序列；（b）ICK 模式多肽的三维空间结构；（c）PA1b 的序列保守性。橙色和 C 代表半胱氨酸，绿色和 X 代表其他任意一种氨基酸。

多肽的转运途径主要有受体（如 Pept-1）介导的跨膜转运、胞吞作用、细胞旁路扩散，豆科来源的 ICK 模式多肽主要通过胞吞作用被吸收<sup>[33-35]</sup>。研究表明，环化的 ICK 模式多肽比线性类似物具有更高亲和力的靶标结合能力，分子质量为 2~4 ku 的多肽通常比小分子具有更高的靶向药理学特异性和选择性<sup>[36-37]</sup>。一项研究证实了分子质量为 3.7 ku 的 ICK 模式多肽 Aglycin 口服之后，在小鼠血浆和猪的小肠中被检测到，并且保持其结构的完整性，这表明豆科来源的 ICK 模式多肽能够克服包括酶、黏液和上皮屏障等口服障碍，穿过完整肠壁，成功被吸收到动物体内<sup>[38]</sup>。安全性评价结果显示，Aglycin 长期给药对小鼠各脏器无明显损伤作用，表明其具有口服给药的可能，同时长期用药安全可靠<sup>[39]</sup>。这些都为 ICK 模式多肽的口服给药可行性提供了有力的实验证据，进一步证实了其具有广阔的应用前景。

## 2 ICK 模式多肽生物活性

ICK 模式多肽生物活性多样，具有广普抗真菌性、生物杀虫、调节糖脂代谢等活性。例如来源于黄芪 ICK 模式多肽 β 黄芪甲苷（β-Astragaloside, bM<sub>1</sub>）是一种含有 8 个半胱氨酸残基的 45 肽，具有典型的 β 折叠结构，序列为 CEKPSKFFSGPCIGSSGKTQCAYLCRRGEGLQDGNCGLKVCAC, bM<sub>1</sub> 导致真菌孢子形态发生改变，以剂量依赖的方式抑制尖孢霉、茄属菌、月牙菌和互生菌等一系列真菌的生长<sup>[40]</sup>。来源于豌豆的 PA1b 对昆虫细胞 Sf9 具有细胞毒性，对谷类象鼻虫象虫属 *Sitophilus* 的害虫具有致死毒性，PA1b 是 V 型 ATP 酶（V-ATPase）的抑制剂，能够靶向昆虫细胞内 V-ATP 酶的 c 和 e 亚基，阻断 V-ATP 酶活性，最终导致昆虫死亡<sup>[41-43]</sup>。豆类来源的 ICK 模式多肽，包括 PA1b、Aglycin、Vglycin、Iglycin、Dglycin、Am<sub>1</sub>（表 1），具有较强的抗胃蛋白酶、胰蛋白酶和 Glu-C 蛋白酶活性，在调节血糖和血脂方面表现出优异的活性<sup>[44]</sup>。这类多肽被证明能够通过增加胰岛素分泌、提高机体对胰岛素反应的敏感性以及通过激活 IR/AKT/Erk 信号通路等途径提高机体对葡萄糖的吸收利用，具有调节糖脂代谢与保护胰腺 β 细胞的能力<sup>[45]</sup>。是一类非常有前景的治疗糖尿病的口服多肽类药物。

### 2.1 PA1b

PA1b 是在豌豆种子中鉴定出的一种分子质量为 3.7 ku 的生物活性多肽，其前体分为五个结构域，包括信号肽、成熟的 PA1b 样多肽结构域、铰链结构域、PA1a 样肽结构域和 C 端尾部<sup>[46]</sup>。该肽的三维结构表明它属于 ICK 家族，具备抵抗胰酶及胃液的水解消化的能力，且在高温煮沸后仍能够保持其生物学活性<sup>[47]</sup>。在植物中，PA1b 肽可以作为一种肽类植物激素增强细胞增殖，在信号转导系统中发挥作用<sup>[46]</sup>。在哺乳动物中，PA1b 能够调节葡萄糖代谢和胰岛素分泌，尾静脉注射低剂量的 PA1b 可使 II 型糖尿病小鼠的血糖降低<sup>[48]</sup>。而在胰岛 β 细胞，PA1b 可以打开细胞 Ca<sup>2+</sup>通道，提高细胞内 Ca<sup>2+</sup>水平，引起原代鼠胰腺 β 细胞膜电容增加，从而促进大鼠胰腺细胞分泌胰岛素<sup>[49-50]</sup>。在最近的研究中，PA1b 通过抑制核因子 κB（nuclear factor-κappa B, NF-κB）信号激活来抑制促炎细胞因子的释放，以此缓解脂多糖（lipopolysaccharide, LPS）

诱导的牛乳腺上皮细胞炎症，并通过阻止线粒体通透性过渡孔的打开，上调线粒体膜电位和 ATP 的产生来改善线粒体功能，以此保护牛乳腺上皮细胞，同时，PA1b 还抑制细胞凋亡和减轻氧化应激<sup>[32]</sup>。在猪和小鼠胰腺的膜蛋白提取物中检测到一个分子质量为 34 ku 的蛋白质，该蛋白质被鉴定为电压依赖性阴离子通道 1 (voltage-dependent anion channel-1, VDAC-1)，猜测 VDAC-1 与 PA1b 两者之间存在相互作用，但 PA1b 是否通过与 VDAC-1 相互作用调节葡萄糖代谢机制还有待进一步阐明<sup>[38]</sup>。

## 2. 2 Aglycin

Aglycin 与豌豆种子中 PA1b 的 27~63 残基相同，具有极高的序列相似性，属 ICK 家族的成员，氨基酸序列：ASCNGVCSPFEMPPCGSSACRCIPVGLVVGYCRHPSG<sup>[38, 51]</sup>。Aglycin 最初被认为是一种参与植物信号转导以控制生长和分化的蛋白质，后来发现 Aglycin 与 43 ku 碱性 7S 球蛋白具有高亲和力，这种蛋白质结合模式类似于胰岛素和胰岛素受体的相互作用，因此，Aglycin 也被称为豆类胰岛素<sup>[51-52]</sup>。在链脲佐菌素 (*Streptozotocin*, STZ)/高脂饮食 (high fat diet, HFD) 诱导的糖尿病小鼠模型，Aglycin 灌胃可以通过增强骨骼肌中的胰岛素受体 (insulin receptor, IR) /胰岛素受体底物 (insulin receptor substrate1, IRS1) 信号通路中 IR、IRS1 基因的表达，以及提高 IR、IRS1 和 AKT 的磷酸化水平，恢复胰岛素信号转导<sup>[51]</sup>。此外，在小鼠成肌细胞 (C2C12) 中，Aglycin 通过将葡萄糖转运蛋白 4 (glucose transporter 4, GLUT4) 荧光标记到细胞表面来增加葡萄糖摄取<sup>[51]</sup>。尽管 Aglycin 参与胰岛素作用的确切机制仍有待阐明，但长期口服摄入 Aglycin 可促进损伤胰腺的修复和胰岛素的分泌，从而潜在地减轻或预防高血糖。

## 2. 3 Vglycin

Vglycin 与 Aglycin 互为“姐妹肽”，也是从豆科植物中分离纯化的 ICK 模式多肽，分子质量 3 786.4 u，氨基酸序列为 VSCNGVCSPFEMPPCGSSACRCIPYGLVVGNCRHPHG，其 N 端为缬氨酸 (Valine)，C 端为甘氨酸 (Glycine)<sup>[53-54]</sup>。长期口服 Vglycin 可以显著改善高脂饲料喂养的 T2DM 大鼠受损的空腹血糖水平、葡萄糖耐量以及机体的胰岛素敏感性。Vglycin 通过上调转录因子 (pancreatic and duodenal homeobox 1, Pdx-1)、p-AKT 表达以及促进胰腺 β 细胞系 INS-1 的增殖和分化，保护胰腺细胞免于凋亡<sup>[53]</sup>。并通过激活骨骼肌中的 IR/IRS1 信号通路来改善胰岛素敏感性，而胰岛素信号通路恢复显著提高了糖原合酶激酶 GSK3α/β 和 GLUT4 的磷酸化水平<sup>[53]</sup>。另一项研究中，Vglycin 可能通过腺苷酸活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 途径增加脂肪酸 (fatty acids, FA) β 氧化，并通过下调 HFD 喂养的 C57BL/6J 小鼠中脂肪酸合成酶基因的表达抑制脂肪酸合成<sup>[55]</sup>。Vglycin 可抑制肝细胞中活性氧类 (reactive oxygen species, ROS) 产生介导的肝细胞凋亡，这种保护作用可能归因于 Vglycin 的抗氧化能力和线粒体保护能力，从而具备节糖脂代谢的作用。

## 2. 4 Iglycin

Iglycin，一种 37 个氨基酸残基组成的 ICK 模式多肽，分子质量大小为 3.9 ku，其氨基酸序列：ISCNGVCSPFDIPPCGTPLCRCIPAGLFVGKCRHPYG<sup>[56]</sup>。在 C57BL/6J 小鼠口服 Iglycin 测试胰岛素敏感性实验中，Iglycin 能够降低 HFD 中 C57BL/6J 小鼠的空腹血糖并恢复胰岛素敏感性。在胰岛素抵抗条件下，Iglycin 增强了 IRS1 和 AKT 的磷酸化，改善葡萄糖摄取，并诱导细胞内 GLUT4 易位到质膜，激活脂肪细胞中的胰岛素信号传导<sup>[56]</sup>。另外，Iglycin 能够通过改善胰岛素信号转导、改善氧化应激、抑制脂肪细胞凋亡和改善线粒体功能障碍来逆转 3T3L1 脂肪细胞中的胰岛素抵抗<sup>[56]</sup>。同样地，VDAC-1 与线粒体细胞完整性、

线粒体膜电位和 ATP 储存与 VDAC-1 离子通道有直接关系。前期有文章报道 VDAC-1 可能是 Aglycin 相互作用蛋白，推测 Iglycin 抑制细胞凋亡并改善线粒体功能可能也与 VDAC-1 有关。总的来说，Iglycin 可以通过改善胰岛素信号传导、氧化应激、脂肪细胞凋亡以及线粒体功能障碍来逆转脂肪细胞的胰岛素抵抗。

## 2.5 Dglycin

Dglycin 大小为 3.9 ku，氨基酸序列 VSCNGVCSPFDIPPCGTPLCRCIPYGLFVGNCRHPYG，与 Vglycin 存在 7 个差异氨基酸：D11E、I12M、T17A、P18C、L19R、F28V、Y36S<sup>[53, 57]</sup>。糖尿病患者通常伴有内源性高胰岛素血症，异常增高的内源性胰岛素会刺激血管平滑肌细胞异常增生，导致血管动脉粥样硬化<sup>[58]</sup>。数据表明，用 Dglycin 喂养 HFD 的 ApoE-/- 小鼠不仅可减少主动脉病变面积、根动脉粥样硬化斑块中的脂质沉积，还可以降低血浆低密度脂蛋白（low density lipoprotein, LDL）、甘油三酯、胆固醇、丙二醛和肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 的水平。分子机制研究发现，一方面 Dglycin 通过抑制 NF- $\kappa$ B 信号转导主动脉内皮细胞的促炎细胞因子 TNF- $\alpha$  和白介素 6 (interleukin 6, IL-6) 分泌，抑制 ROS 的产生，增强细胞活力，并通过阻止线粒体通透性转换孔 (mitochondrial permeability transition pore, mPTP) 的打开来直接影响线粒体膜的完整性和 ATP 储存的维持<sup>[57]</sup>。另一方面，Dglycin 通过抑制 A1 类清道夫受体 (scavenger receptor-A1, SR-A1) 的表达来阻止巨噬细胞对 LDL 的摄取，从而阻止了泡沫细胞的形成<sup>[57]</sup>。总之，Dglycin 可以通过抑制炎症、脂质沉积、保护主动脉内皮细胞以及防止泡沫细胞形成来缓解动脉粥样硬化。

## 2.6 aM<sub>1</sub>

黄芪是一种传统的调节血糖的豆科植物，在黄芪根鉴定出的  $\alpha$  黄芪肽 (aM<sub>1</sub>) 和  $\beta$  黄芪肽 (bM<sub>1</sub>) 属于两个不同家族的 ICK 模式多肽。其中 aM<sub>1</sub> 是一种含有 37 个氨基酸的 PA1b 样肽，氨基酸序列 VDCSGACSPFEVPCGSRDCRCXXPGXVVGFCXYPTG，其中包含 6 个 Cys、5 个 Gly、5 个 Pro 以及 7 个 Val 和 Ile<sup>[40]</sup>。分子质量 3.8 ku 的 aM<sub>1</sub> 具有疏水性，可通过内吞作用进入 C2C12 细胞内，靶向激活 PI3K/AKT 信号通路，导致 GLUT4 易位到细胞表面从而促进葡萄糖摄取<sup>[35]</sup>。在胰岛素抵抗细胞模型中，aM<sub>1</sub> 激活胆固醇、长链脂肪酸合成以及摄取的相关基因表达，通过降低脂质合成和摄取来抑制细胞内脂质 (intracellular lipid, ICL) 积累，从而恢复胰岛素抵抗肌管中的脂质稳态。此外，抑制脂质积累还能进一步阻止蛋白激酶 C (protein kinase C- $\theta$ , PKC $\theta$ ) 介导的 IRS1/2 降解，并维持 PI3K/AKTs 信号的活化状态，从而缓解胰岛素抵抗<sup>[35]</sup>。总体而言，aM<sub>1</sub> 降低了小鼠胰腺  $\beta$  细胞中的胰岛素分泌，调节葡萄糖稳态，具有胰岛素调节作用，是一种潜在穿透细胞的糖尿病肽类药物<sup>[40]</sup>。

## 2.7 ICK 模式多肽调节糖脂代谢的分子机制

PI3K/AKT 是胰岛素信号转导网络的主要枢纽，通过磷酸化途径协调 GLUT4 易位到细胞质膜，并促进葡萄糖摄取<sup>[59]</sup>。ICK 模式多肽通过内吞作用进入到肝脏细胞内（图 2a），进而激活 IRS1/2、PI3K、AKT 以及 AMPK 等信号通路，活化的 AKT 进一步触发 GLUT4 易位到达质膜并促进葡萄糖摄取。ICK 模式多肽在肝脏细胞还通过磷酸化激活 AMPK，促进脂肪酸的  $\beta$  氧化从而抑制肝脏脂肪堆积来预防肝损伤、炎症和胰岛素抵抗<sup>[60]</sup>。对于胰腺细胞而言（图 2b），ICK 模式多肽能够打开细胞 Ca<sup>2+</sup>通道，引起 Ca<sup>2+</sup>内流，提高细胞内 Ca<sup>2+</sup>水平，引起原代鼠胰腺  $\beta$  细胞膜电容增加，从而促进胰岛素的合成并分泌到细胞外；还能够通过激活 IR/AKT/Erk 途径直接促进  $\beta$  细胞的增殖和分化，保护胰腺细胞免于糖脂毒性诱导的凋亡。在肌肉细胞

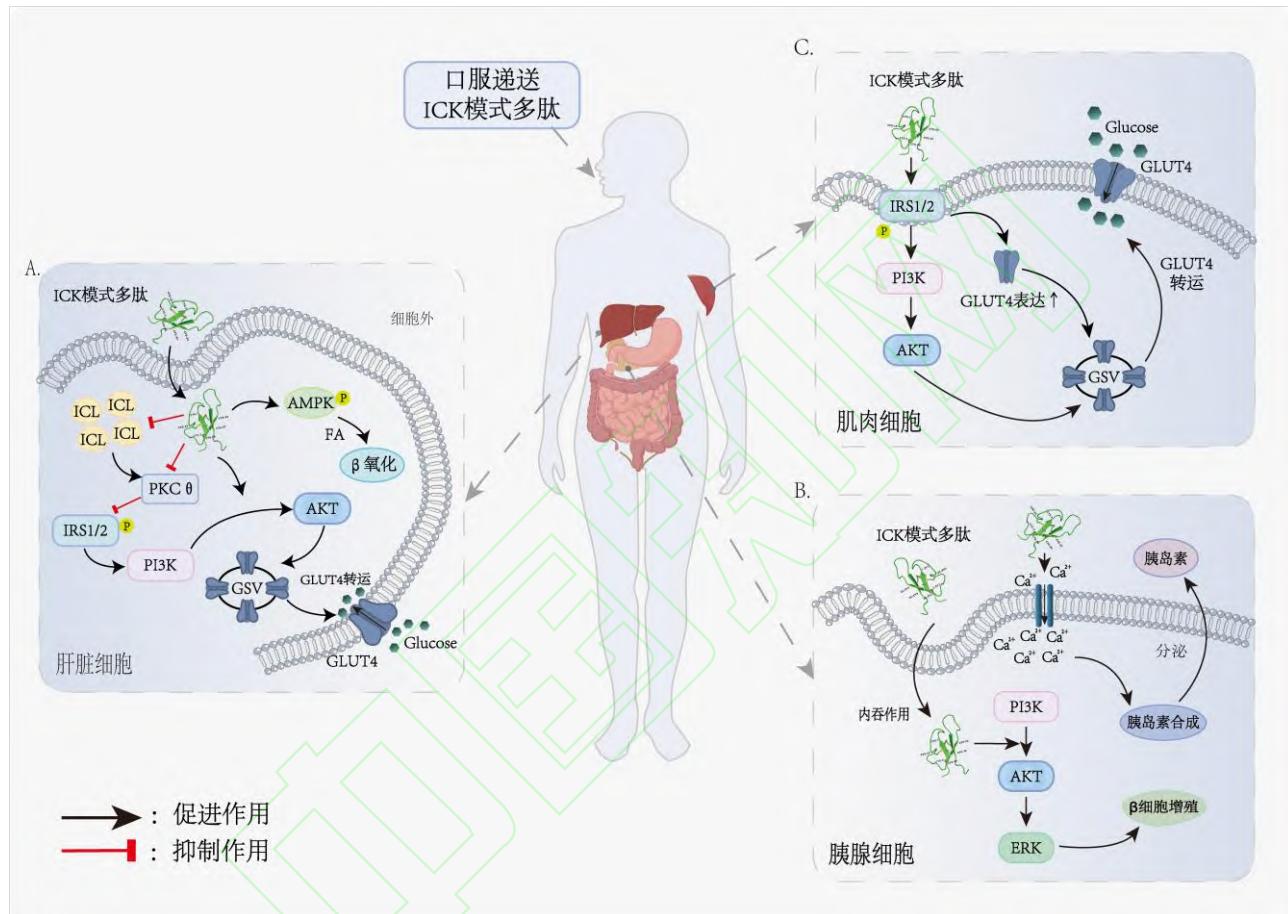
中（图 2c），ICK 模式多肽可以模拟胰岛素直接靶向作用于胰岛素受体底物 IRS1/2，促进 IRS1/2 磷酸化，增加 GLUT4 的表达，从而加速肌肉细胞对葡萄糖的代谢。综上所述，ICK 模式多肽能够经内吞作用进入到肝脏、胰腺、肌肉等细胞中，并通过 IR/AKT、AMPK 等信号通路调节糖脂代谢，从而达到治疗糖尿病和非酒精性脂肪肝等疾病的作用。

**Table1 Activity and molecular mechanisms of ICK peptides in regulating glucose and lipid metabolism**  
**表 1 ICK 模式多肽调控糖脂代谢的活性及分子机制**

名称	氨基酸序列	来源	分子质量 (ku)	降糖效应和指标	模型	参考文献
PA1b	ASCNGVC	豌豆	37.42	NF-κB ↓、 IL-6 ↓、 Ros ↓、 TNFα ↓、 mPTP 开放 ↓	健康 C57BL/6 和 II 型糖尿病小鼠 LPS 诱导的牛乳腺上皮细胞	[32]
	SPFEMPPC					
	GTSACRCI					
	PVGLVIGY					
	CRNPSG					
Aglycin	ASCNGVC	大豆	37.42	体重 ↓、 空腹血糖 ↓、 食物摄入 ↓	C2C12 细胞 STZ/HFD 诱导的糖尿病 BALB/c 小鼠	[38, 51]
	SPFEMPPC					
	GSSACRCI					
	PVGLVVG					
Vglycin	YCRHPSG	豌豆	37.86	PI3K ↓、 p-AKT-p85 ↓、 阳性细胞 / β 细胞总数 ↓、 体重 ↓、 食物摄入 ↓、 空腹血糖 ↓、 Lee's 指数 ↓	HepG2 细胞 L02 细胞 STZ/HFD 诱导的糖尿病大鼠	[53, 55, 61]
	VSCNGVC					
	SPFEMPPC					
	GSSACRCI					
Iglycin	PVGLVVG	豌豆	38.80	ROS ↓	HepG2 细胞 L02 细胞 STZ/HFD 诱导的糖尿病大鼠 C57BL/6J 小鼠 3T3L1 脂肪细胞	[56]
	YCRHPSG					
	ISCNGVCS					
	PFIDIPPCGT					
Dglycin	PLCRCIPA	大豆	39.40	SR-A1 ↓、 TNFα ↓、 p-IκBα ↓、 NF-κB ↓、 ROS ↓、 IL-6 ↓、 Caspase-3 ↓	高脂饮食喂食 C57BL/6J 小鼠 高脂肪饮食喂养的 ApoE-/- 小鼠	[57]
	GLFVGKC					
	RHPYG					
	VSCNGVC					
	SPFDIPPCG					
Am <sub>1</sub>	TPLCRCIP	黄芪	38.12	ICL ↓、 PKCθ ↓	C2C12 细胞 3T3-L1 脂肪细胞 HEPG2 细胞	[35, 40]
	YGLFVGN					
	CRHPYG					
	VDCSGAC					
	SPFEVPPC			PI3K ↑、 p-AKT ↑、 GLUT4 ↑、 葡萄糖摄取 ↑	C2C12 细胞 3T3-L1 脂肪细胞 HEPG2 细胞	[35, 40]
	GSRDCRCI					
	PIGLVVGF					

CIYPTG

OGTT: oral glucose tolerance test (口服葡萄糖耐量试验)； $\Delta\Psi_m$ : 线粒体膜电位; mPTP: 线粒体通透性转换孔; ROS: 活性氧类; GLUT4: 葡萄糖转运蛋白; IR: 胰岛素抵抗; IRS1/2: 胰岛素受体底物 1/2; PI3K: 磷脂酰肌醇 3-激酶; AKT: 又称 PKB, 蛋白激酶 B; AKT-p85: 磷酸化的 AKT; Erk: 细胞外信号调节激酶; LDH: 乳酸脱氢酶; SDH: 琥珀酸脱氢酶; 2-DOG: 2-脱氧葡萄糖; PKC0: 蛋白激酶 C0; Caspase-3: 半胱天冬酶 3; GSK3 $\alpha/\beta$ : 糖原合酶激酶 3; PARP: DNA 修复酶; ATP: 三磷酸腺苷; ICL: 细胞内脂质脂质; SR-A1: A1 类清道夫受体; IL-6: 白介素-6; NF- $\kappa$ B: 核因子  $\kappa$ B; TNF- $\alpha$ : 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; I $\kappa$ B $\alpha$ : NFKB 抑制剂  $\alpha$ ; Pdx-1: 调转录因子; STZ: 链脲佐菌素; HFD: 高脂饮食; ApoE-/-: 载脂蛋白 E 基因敲除; LPS: 脂多糖; ↑促进作用; ↓抑制作用。



**Fig.2 Schematic diagram of the molecular mechanism of ICK peptides in regulating blood glucose homeostasis**

**图 2 ICK 模式多肽调节血糖平衡分子机制示意图**

A) ICK 模肽在肝细胞中通过 PI3K/AKT 和 AMPK 通路调节糖脂代谢的分子机制; B) ICK 模肽在胰腺细胞中通过 PI3K/AKT/ERK 通路调节胰岛  $\beta$  细胞活性和胰岛素分泌的分子机制; C) ICK 模肽在肌肉细胞中通过 IRS1/2/PI3K/AKT/GLUT4 通路促进葡萄糖代谢的分子机制。AMPK: AMP 活化蛋白激酶; IRS1/2: 胰岛素受体底物 1/2; PI3K: 磷脂酰肌醇 3-激酶; AKT: 又称 PKB, 蛋白激酶 B; PKC0: 蛋白激酶 C0; ERK: 细胞外信号调节激酶; GLUT4: 糖转运蛋白; FA: 脂肪酸。

### 3 总结与展望

天然多肽的特定基团，例如 N 端氨基和 C 端羧基、侧链羧基、氨基和羟基，可以被生物体内的多种蛋白酶识别，往往口服后在抵达系统循环之前便被降解，生物利用率仍然不理想。尽管当前涌现了许多新型技术如化学修饰、吸收增强剂或酶抑制剂的配方、黏膜黏附聚合物和颗粒传递系统、结肠特异

性传递、细胞穿透肽传递、纳米颗粒载体化等，尝试用于实现肽类药物的高效口服递送，极大地改善了肽治疗剂的口服递送及其治疗的功效，但距离口服肽类药物的临床应用仍有较大距离<sup>[62-64]</sup>。ICK 模式多肽具有非常稳定的三维结构，除了可作为药物先导化合物外，这种多肽模式结构可供口服多肽药物的设计和开发参考<sup>[65]</sup>。ICK 模式结构作为一种非常稳定的理想支架，通过改变其表面氨基酸残基或部分肽段，可以在新药设计或蛋白质工程中形成新的活性或功能分子，其分子内部的胱氨酸结构也可以大大提高多肽的稳定性，从而抵抗消化道蛋白酶的降解<sup>[66]</sup>。目前工程化的 ICK 肽已广泛应用到医疗诊断、疾病治疗、药物分子设计等各个领域<sup>[66]</sup>。

ICK 模式多肽是一种对宿主没有过敏性或毒性的生物活性肽，作为一类潜在的“口服胰岛素”，距离临床应用还有以下问题待解决：a. ICK 模式多肽虽然可通过提取的方法来制备，但操作步骤复杂，且效率低，100 g 干种子仅提取到 1~5 mg 多肽，难以实现大规模的生产。鉴于 ICK 模式多肽复杂的高级结构，原核生物（如大肠杆菌）表达难以保证其活性<sup>[67]</sup>。真核生物外源表达系统具有糖基化、蛋白磷酸化等翻译后修饰的功能，理论上能够促进其形成正确的二硫键配对和空间构象折叠。有研究发现，利用毕赤酵母表达系统可成功表达并纯化出 PA1b 并且证实了其杀虫活性，但未见研究其调节糖脂代谢活性<sup>[68]</sup>。b. 在毒理学研究方面，ICK 模式多肽家族的 Aglycin 在小鼠水平上经过 38 d 的给药测试，发现该多肽并未对小鼠脾、肝、肾和心脏各个器官带来显著损害，表明 Aglycin 不会引起急性毒性<sup>[39]</sup>。关于其慢性毒性的研究如致畸性、致突变、致癌性还需不断地完善。c. 尽管 ICK 模式多肽可以通过口服的方式起到调节糖脂代谢的作用，但其生物利用度、半衰期、血药浓度等仍不明确。d. ICK 模式多肽通过多种途径调节血糖平衡。Aglycin 和 Vglycin 均可以激活肝细胞和肌肉细胞 IR/AKT 信号通路促进葡萄糖吸收利用，但它们是直接与 IR 相互作用还是通过其他途径间接激活 IR，有待进一步研究。在猪和小鼠胰腺的胰腺中检测到 Aglycin 的相互作用分子是 VDAC-1，二者的结合与血糖平衡调节的关系也有待进一步阐明。总之，ICK 模式多肽凭借其稳定的结构，成为一类新型预防和治疗糖尿病的候选药物，在人类医药卫生方面具有重要的意义。

## 参 考 文 献

- [1] Sacks D B, Arnold M, Bakris G L, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 2023, 46(10): e151-e199
- [2] Wang L, Peng W, Zhao Z, et al. Prevalence and treatment of diabetes in China, 2013-2018. *JAMA*, 2021, 326(24): 2498-2506
- [3] Antar S A, Ashour N A, Sharaky M, et al. Diabetes mellitus: classification, mediators, and complications; A gate to identify potential targets for the development of new effective treatments. *Biomedecine Pharmacother*, 2023, 168: 115734
- [4] Sun H, Saeedi P, Karuranga S, et al. Erratum to “IDF Diabetes Atlas: global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045” [Diabetes Res. Clin. Pract. 183 (2022) 109119]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2023, 204: 110945
- [5] Redondo M J, Morgan N G. Heterogeneity and endotypes in type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*, 2023, 19(9): 542-554

- [6] Li Z, Ren Y, Lv Z, et al. Decrypting the circular RNAs does a favor for us: understanding, diagnosing and treating diabetes mellitus and its complications. *Biomedecine Pharmacother*, 2023, 168: 115744
- [7] American Diabetes Association Professional Practice Committee. 2. diagnosis and classification of diabetes: standards of care in diabetes-2024. *Diabetes Care*, 2024, 47(Suppl 1): S20-S40
- [8] Cloete L. Diabetes mellitus: an overview of the types, symptoms, complications and management. *Nurs Stand*, 2022, 37(1): 61-66
- [9] Gupta S, Sharma N, Arora S, et al. Diabetes: a review of its pathophysiology, and advanced methods of mitigation. *Curr Med Res Opin*, 2024, 40(5): 773-780
- [10] Borse S P, Chhipa A S, Sharma V, et al. Management of type 2 diabetes: current strategies, unfocussed aspects, challenges, and alternatives. *Med Princ Pract*, 2021, 30(2): 109-121
- [11] Wang J, Chen L, Qin S, et al. Advances in biosynthesis of peptide drugs: technology and industrialization. *Biotechnol J*, 2024, 19(1): e2300256
- [12] Ji Y, Liu D, Zhu H, et al. Unstructured polypeptides as a versatile drug delivery technology. *Acta Biomater*, 2023, 164: 74-93
- [13] Otvos L. The latest trends in peptide drug discovery and future challenges. *Expert Opin Drug Discov*, 2024, 19(8): 869-872
- [14] de Herder W W, Klöppel G. One hundred years after the discovery of insulin and glucagon: the history of tumors and hyperplasias that hypersecrete these hormones. *Endocr Relat Cancer*, 2023, 30(9): e230046
- [15] Ding B, Zhu Z, Guo C, et al. Oral peptide therapeutics for diabetes treatment: state-of-the-art and future perspectives. *Acta Pharm Sin B*, 2024, 14(5): 2006-2025
- [16] Newsome P N, Ambery P. Incretins (GLP-1 receptor agonists and dual/triple agonists) and the liver. *J Hepatol*, 2023, 79(6): 1557-1565
- [17] Long B, Pelletier J, Koyfman A, et al. GLP-1 agonists: a review for emergency clinicians. *Am J Emerg Med*, 2024, 78: 89-94
- [18] Hashim L E, Sabri A H, Mohamad M A, et al. Circumventing the gastrointestinal barrier for oral delivery of therapeutic proteins and peptides (PPTS): current trends and future trajectories. *Curr Drug Deliv*, 2024, 21(2): 211-235
- [19] Chu J N, Traverso G. Foundations of gastrointestinal-based drug delivery and future developments. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2022, 19(4): 219-238
- [20] Meier J J. Efficacy of semaglutide in a subcutaneous and an oral formulation. *Front Endocrinol*, 2021, 12: 645617
- [21] Tyagi P, Patel C, Gibson K, et al. Systems biology and peptide engineering to overcome absorption barriers for oral peptide delivery: dosage form optimization case study preceding clinical translation. *Pharmaceutics*, 2023, 15(10): 2436
- [22] Haddadzadegan S, Dorkoosh F, Bernkop-Schnürch A. Oral delivery of therapeutic peptides and proteins:

- Technology landscape of lipid-based nanocarriers. *Adv Drug Deliv Rev*, 2022, 182: 114097
- [23] Spoorthi Shetty S, Halagali P, Johnson A P, et al. Oral insulin delivery: Barriers, strategies, and formulation approaches: a comprehensive review. *Int J Biol Macromol*, 2023, 242(Pt 3): 125114
- [24] McCarthy S, Robinson J, Thalassinos K, et al. A chemical biology approach to probing the folding pathways of the inhibitory cystine knot (ICK) peptide ProTx-II. *Front Chem*, 2020, 8: 228
- [25] Shekh S, Moi S, Ch V Govindu P, et al. Conformations of disulfides are conserved in inhibitory cystine knot (ICK) motif polypeptides. *Toxicon*, 2022, 219: 106926
- [26] Guido-Patiño J C, Plisson F. Profiling hymenopteran venom toxins: Protein families, structural landscape, biological activities, and pharmacological benefits. *Toxicon X*, 2022, 14: 100119
- [27] Li C Y, Rehm F B H, Yap K, et al. Cystine knot peptides with tuneable activity and mechanism. *Angew Chem Int Ed*, 2022, 61(19): e202200951
- [28] Hirano H. Basic 7S globulin in plants. *J Proteomics*, 2021, 240: 104209
- [29] Ma H, Feng Y, Cao Q, et al. Evolution of antimicrobial cysteine-rich peptides in plants. *Plant Cell Rep*, 2023, 42(9): 1517-1527
- [30] González-Castro R, Gómez-Lim M A, Plisson F. Cysteine-rich peptides: hyperstable scaffolds for protein engineering. *Chembiochem*, 2021, 22(6): 961-973
- [31] Zhang Y, Tian H, Chen D, et al. Cysteine-rich receptor-like protein kinases: emerging regulators of plant stress responses. *Trends Plant Sci*, 2023, 28(7): 776-794
- [32] Dan P, Zhao H, Xi J, et al. Bioinsecticide PA1b alleviates lipopolysaccharide-induced inflammation and impairment of bovine mammary epithelial cells. *Pestic Biochem Physiol*, 2024, 201: 105866
- [33] von Linde T, Bajraktari-Sylejmani G, Haefeli W E, et al. Rapid and sensitive quantification of intracellular glycyl-sarcosine for semi-high-throughput screening for inhibitors of PEPT-1. *Pharmaceutics*, 2021, 13(7): 1019
- [34] Lu J, Xu X, Sun X, et al. Protein and peptide-based renal targeted drug delivery systems. *J Control Release*, 2024, 366: 65-84
- [35] Dutta B, Loo S, Kam A, et al. Plant-derived cell-penetrating microprotein  $\alpha$ -astratide AM1 targets Akt signaling and alleviates insulin resistance. *Cell Mol Life Sci*, 2023, 80(10): 293
- [36] Tam J P, Nguyen G K T, Loo S, et al. Ginsentides: cysteine and glycine-rich peptides from the ginseng family with unusual disulfide connectivity. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 16201
- [37] Ji X, Nielsen A L, Heinis C. Cyclic peptides for drug development. *Angew Chem Int Ed*, 2024, 63(3): e202308251
- [38] Dun X P, Wang J H, Chen L, et al. Activity of the plant peptide aglycin in mammalian systems. *FEBS J*, 2007, 274(3): 751-759
- [39] 熊炜, 鲁惺莉, 金桂兰, 等. 胰岛素体外生物稳定性研究及安全性评价. *中国药房*, 2012, 23(17): 1562-1564
- Xi W, Lu J L, Jin G L, et al. *China Pharm*, 2012, 23(17): 1562-1564

- [40] Huang J, Wong K H, Tay S V, et al. Astratides: insulin-modulating, insecticidal, and antifungal cysteine-rich peptides from astragalus membranaceus. *J Nat Prod*, 2019, 82(2): 194-204
- [41] Eyraud V, Balmand S, Karaki L, et al. The interaction of the bioinsecticide PA1b (Pea Albumin 1 subunit b) with the insect V-ATPase triggers apoptosis. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 4902
- [42] Diya F, Rahiou I, Vallier A, et al. *Vicia sativa* subsp. *sativa* native to the Middle East comprises Pea Albumin1 b-like homologs: a promising natural biopesticide. *Heliyon*, 2024, 10(5): e26903
- [43] Sun Y, Wang X E, Yang X, et al. V-ATPase recruitment to ER exit sites switches COPII-mediated transport to lysosomal degradation. *Dev Cell*, 2023, 58(23): 2761-2775.e5
- [44] Hu K, Huang H, Li H, et al. Legume-derived bioactive peptides in type 2 diabetes: opportunities and challenges. *Nutrients*, 2023, 15(5): 1096
- [45] Lee S H, Park S Y, Choi C S. Insulin resistance: from mechanisms to therapeutic strategies. *Diabetes Metab J*, 2022, 46(1): 15-37
- [46] Higgins T J, Chandler P M, Randall P J, et al. Gene structure, protein structure, and regulation of the synthesis of a sulfur-rich protein in pea seeds. *J Biol Chem*, 1986, 261:11124-11130
- [47] Da Silva P, Strzepa A, Jouvensal L, et al. A folded and functional synthetic PA1b: an interlocked entomotoxic miniprotein. *Biopolymers*, 2009, 92(5): 436-444
- [48] Dun X P, Li F F, Wang J H, et al. The effect of pea albumin 1F on glucose metabolism in mice. *Peptides*, 2008, 29(6): 891-897
- [49] Hu Z, Dun X, Zhang M, et al. PA1b, a plant peptide, induces intracellular[Ca<sup>2+</sup>]increase via Ca<sup>2+</sup> influx through the L-type Ca<sup>2+</sup> channel and triggers secretion in pancreatic beta cells. *Sci China C Life Sci*, 2007, 50(3): 285-291
- [50] Gressent F, Duport G, Rahiou I, et al. Biological activity and binding site characteristics of the PA1b Entomotoxin on insects from different orders. *J Insect Sci*, 2007, 7: 1-10
- [51] Lu J, Zeng Y, Hou W, et al. The soybean peptide aglycin regulates glucose homeostasis in type 2 diabetic mice via IR/IRS1 pathway. *J Nutr Biochem*, 2012, 23(11): 1449-1457
- [52] Hanada K, Hirano H. Interaction of a 43-kDa receptor-like protein with a 4-kDa hormone-like peptide in soybean. *Biochemistry*, 2004, 43(38): 12105-12112
- [53] Jiang H, Feng J, Du Z, et al. Oral administration of soybean peptide Vglycin normalizes fasting glucose and restores impaired pancreatic function in Type 2 diabetic Wistar rats. *J Nutr Biochem*, 2014, 25(9): 954-963
- [54] Gao C, Sun R, Xie Y R, et al. The soy-derived peptide Vglycin inhibits the growth of colon cancer cells in vitro and in vivo. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2017, 242(10): 1034-1043
- [55] Yao C C, Tong Y X, Jiang H, et al. Native polypeptide vglycin prevents nonalcoholic fatty liver disease in mice by activating the AMPK pathway. *J Funct Foods*, 2020, 73: 104110
- [56] Wu Y, Zhao R, Li M, et al. Novel soybean peptide iglycin ameliorates insulin resistance of high-fat diet fed C57BL/6J mice and differentiated 3T3L1 adipocytes with improvement of insulin signaling and mitochondrial

- function. *Food Sci Hum Wellness*, 2022, 11(6): 1565-1572
- [57] Zhao H, Dan P, Xi J, et al. Novel soybean polypeptide dglycin alleviates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Int J Biol Macromol*, 2023, 251: 126347
- [58] Yanai H, Adachi H, Hakoshima M, et al. Metabolic-dysfunction-associated steatotic liver disease-its pathophysiology, association with atherosclerosis and cardiovascular disease, and treatments. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(20): 15473
- [59] Saito T, Jones C C, Huang S, et al. The interaction of Akt with APPL1 is required for insulin-stimulated Glut4 translocation. *J Biol Chem*, 2007, 282(44): 32280-32287
- [60] Entezari M, Hashemi D, Taheriazam A, et al. AMPK signaling in diabetes mellitus, insulin resistance and diabetic complications: a pre-clinical and clinical investigation. *Biomedecine Pharmacother*, 2022, 146: 112563
- [61] Jiang H, Tong Y, Yan D, et al. The soybean peptide vglycin preserves the diabetic  $\beta$ -cells through improvement of proliferation and inhibition of apoptosis. *Sci Rep*, 2015, 5: 15599
- [62] Iyer G, Dyawanapelly S, Jain R, et al. An overview of oral insulin delivery strategies (OIDS). *Int J Biol Macromol*, 2022, 208: 565-585
- [63] Yao C, Ye G, Yang Q, et al. The disulfide bond-mediated cyclization of oral peptides. *Curr Protein Pept Sci*, 2024, 25(6): 438-442
- [64] Dubey S K, Parab S, Dabholkar N, et al. Oral peptide delivery: challenges and the way ahead. *Drug Discov Today*, 2021, 26(4): 931-950
- [65] Hellinger R, Muratspahić E, Devi S, et al. Importance of the cyclic cystine knot structural motif for immunosuppressive effects of cyclotides. *ACS Chem Biol*, 2021, 16(11): 2373-2386
- [66] 邓宇晨, 顾嘉伟, 聂菲, 等. 脯氨酸结模体多肽的特征及其在药物设计和分子工程中的应用. *药学实践杂志*, 2016, 34(6): 481-484, 496  
Deng Y C, Gu J W, Nie F, et al. *J Pharm Pract*, 2016, 34(6): 481-484, 496
- [67] 黄敏华, 林静莲, 王蒙, 等. 降糖肽 Aglycin 的高效表达及活性鉴定. *现代食品科技*, 2020, 36(4): 143-149, 219  
Huang M H, Lin J L, Wang M, et al. *Mod Food Sci Technol*, 2020, 36(4): 143-149, 219
- [68] De-Thier J S, Pyati P, Bell J, et al. Heterologous production of the insecticidal pea seed albumin PA1 protein by *Pichia pastoris* and protein engineering to potentiate aphicidal activity via fusion to snowdrop lectin *Galanthus nivalis* agglutinin; GNA). *Microb Cell Fact*, 2023, 22(1): 157