

# 磷脂酰肌醇信号在GLUT4囊泡转运中的调控作用

肖玫<sup>1</sup> 赵旭琴<sup>1</sup> 许迎科<sup>2</sup> 李汉兵<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>浙江工业大学药学院药理研究所, 杭州 310014; <sup>2</sup>浙江大学生物医学工程与仪器科学学院生物医学工程系, 浙江省心脑血管检测技术与药效评价重点实验室, 杭州 310027)

**摘要** 葡萄糖转运蛋白4(glucose transporter 4, GLUT4)参与胰岛素敏感的脂肪细胞和肌肉细胞中的葡萄糖转运, 对机体葡萄糖代谢至关重要。磷脂酰肌醇作为各种蛋白质的定位信号, 参与调控细胞生长和新陈代谢, 在胰岛素信号转导过程中起着关键作用。在过去的几十年里, 关于磷脂酰肌醇信号调控GLUT4囊泡转运方面已有了很大的进展。该文总结了磷脂酰肌醇在GLUT4囊泡转运中的调控作用。

**关键词** 葡萄糖转运蛋白; 囊泡转运; 磷脂酰肌醇

## The Regulatory Role of Phosphatidylinositol Signaling in GLUT4 Vesicle Trafficking

Xiao Mei<sup>1</sup>, Zhao Xuqin<sup>1</sup>, Xu Yingke<sup>2</sup>, Li Hanbing<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Institute of Pharmacology, College of Pharmaceutical Science, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China; <sup>2</sup>Department of Biomedical Engineering, College of Biomedical Engineering & Instrument Science, Zhejiang University, Zhejiang Provincial Key Laboratory of Cardio-Cerebral Vascular Detection Technology and Medicinal Effectiveness Appraisal, Hangzhou 310027, China)

**Abstract** Glucose transporter 4 (GLUT4) is essential for the uptake of glucose into insulin-sensitive adipocytes and muscle cells and for its intracellular metabolism. Phosphatidylinositol, which works as localization signal of various proteins, plays an important role in regulation of cell growth, metabolism and insulin signaling transduction. Over the last few decades, much progress has been made on studying of the role of phosphatidylinositol signaling and GLUT4 translocation. This review summarizes the latest research on the regulatory role of phosphatidylinositol in intracellular GLUT4 vesicle trafficking.

**Keywords** glucose transporter; vesicle trafficking; phosphatidylinositol

葡萄糖转运蛋白4(glucose transporter 4, GLUT4)是主要表达于胰岛素敏感的心肌、骨骼肌和脂肪细胞中的葡萄糖转运蛋白。胰岛素刺激后, 激发一系列信号转导, 促进GLUT4储存囊泡(GLUT4 storage vesicles, GSVs)转运至细胞膜并嵌入脂质双分子层, 继而将葡萄糖摄入细胞, 负责胰岛素刺激下的葡萄糖处置及收缩和运动过程中葡萄糖进入肌肉<sup>[1]</sup>, 在

葡萄糖代谢中具有重要地位。胰岛素抵抗和2型糖尿病与GLUT4转运障碍密切相关, 胰岛素抵抗和2型糖尿病患者体细胞中的GLUT4含量相对较低, 对葡萄糖的摄取能力也较差, 其中胰岛素抵抗主要表现为GLUT4膜转位能力的受损<sup>[2]</sup>, 而胰岛素抵抗是2型糖尿病主要病因之一。因此, 了解GLUT4转运的调控机制具有重要意义。

收稿日期: 2017-08-17 接受日期: 2017-10-17

国家自然科学基金(批准号: 31571480、31611130037)和浙江省自然科学基金(批准号: LY18H070004、LR18H180001)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0571-88320535, E-mail: hanbing.li@163.com

Received: August 17, 2017 Accepted: October 17, 2017

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31571480, 31611130037) and the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (Grant No.LY18H070004, LR18H180001)

\*Corresponding authors. Tel: +86-571-88320535, Email: hanbing.li@163.com

网络出版时间: 2018-01-03 17:21:27 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180103.1721.014.html>

研究表明, 磷脂类(如磷脂、磷脂酸、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰甘油、磷脂酰肌醇)对调控葡萄糖转运蛋白结构和活性具有重要意义<sup>[3]</sup>。其中, 磷脂酰肌醇(phosphatidylinositols, PIs)是一类相对短暂存在的膜磷脂, 具有调控细胞和器官重要功能的作用, 包括信号转导、离子通道门控、运动、发育、调节细胞骨架、调节胞内膜运输等。胰岛素信号转导中, PIs信号是必不可少的第二信使, 可作为各种蛋白质的定位信号, 参与调控细胞生长和新陈代谢, 调控蛋白激酶B(protein kinase B, PKB, 也称Akt)信号和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物1(mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1)信号, 影响胰岛素活动、GLUT4转运、胰岛素分泌、糖原和脂质合成<sup>[4-5]</sup>。本文将重点总结磷脂酰肌醇信号在GLUT4囊泡转运各个步骤中的调控作用。

## 1 葡萄糖转运蛋白4(GLUT4)

在基础状态下, 4%~10%的GLUT4位于细胞膜上, 90%以上的GLUT4位于细胞内, 循环于内体、反式高尔基体网络(trans golgi network, TGN)、内质网和内吞循环体(endocytic recycling compartment, ERC)等细胞器中。在胰岛素刺激后, 细胞内的GLUT4囊泡通过胞吐作用大量转运到细胞膜上, 细胞膜上的GLUT4含量增加到基础状态下的10倍以上, 继而将细胞外的葡萄糖摄入细胞内, 维护机体葡萄糖稳态。

GLUT4的胞内转运步骤十分复杂, 具体可分为以下几个步骤<sup>[6]</sup>。(1)无胰岛素刺激时, GLUT4从TGN和ERC中出芽/分裂(budding/fission), 形成GSVs, 并停驻在高尔基体基质中。随后的一段时间内, GSVs处于相对静止的状态, 远离质膜。(2)当胰岛素刺激后, GSVs释放, 沿着细胞骨架易位至细胞膜附近(moving)。(3)栓系至质膜上(tethering)。(4)锚定到质膜上(docking)。(5)与质膜发生融合(fusion), 将细胞外的葡萄糖摄入细胞内。(6)当胰岛素持续刺激时, GLUT4小泡从循环体返运至质膜, 而绕开GSVs区域。(7)胰岛素撤离后, 囊泡直接向GSVs积聚。

## 2 磷脂酰肌醇

磷脂酰肌醇又称肌醇磷脂, 占膜磷脂10%~15%, 由磷酸二酯键连接肌醇环与1'位、2'位上分别附有硬脂酸和花生四烯酸的甘油骨架形成<sup>[7]</sup>。肌醇环上

存在五个游离羟基, 但由于空间位阻作用, 只有3'、4'、5'可由特定激酶磷酸化, 可形成7种磷酸化衍生物, 7种PIs在特定磷酸酶和激酶的作用下可以相互转换, 不同的PIs在特定亚细胞区域显示出特定的细胞功能, 并且在特异性亚细胞区域结合特异性配体(图1)。

PIs的局部水平由衔接蛋白调节的激酶、磷酸酶活性以及酶的亚细胞定位来调控。PIs包埋于脂质双层中, 只有脂质微环境发生改变, PIs才能自由在细胞内移动, 这就限定了PIs的亚细胞分布。近年来, PIs相互作用域成像已广泛用于PIs定位。已有研究证明, PI(4)P和PI(4,5)P<sub>2</sub>主要集中于胞吐通路和细胞膜上; PI(3,4)P<sub>2</sub>是网格蛋白介导的内吞活动的重要介质; PI(3)P在早期内体中大量存在, 是内体系统的重要标志, 在信号刺激下可出现于细胞表面, 在自噬中也起着关键作用; PI(3,5)P<sub>2</sub>存在于晚期内吞/多泡体、溶酶体和自噬体中<sup>[8-10]</sup>。

胰岛素刺激后GLUT4囊泡的形成、易位、栓系、锚定、融合、内吞等各个步骤中, 都发现了PIs信号的存在, 对细胞内信号转导和GLUT4囊泡转运具有重要作用(图2)<sup>[11]</sup>。本文将重点阐述磷脂酰肌醇信号在GLUT4囊泡转运中的调控作用。

## 3 磷脂酰肌醇信号调控GLUT4转运

### 3.1 磷脂酰肌醇信号调控GLUT4囊泡的形成

细胞循环蛋白参与分选/早期内体、TGN之间的囊泡生物合成, 但尚不清楚PIs是否参与该过程。有研究显示, 磷脂酰肌醇4-激酶II型 $\alpha$ 亚型(phosphatidylinositol 4-kinase II $\alpha$ , PI4KII $\alpha$ )对细胞循环蛋白有促进作用<sup>[12]</sup>。Kristiansen等<sup>[13]</sup>从大鼠脂肪细胞和肌肉细胞分离出GSVs, 发现PI(4)P具有高合成活性, 3T3-L1脂肪细胞GSVs中发现了几乎所有的磷脂酰肌醇4-激酶(phosphatidylinositol 4-kinase, PI4K)活动, 但PI4K并不储存于GSVs中, 甚至PI4KII $\alpha$ 与GSVs几乎完全分离, 且不受胰岛素调控改变位置。

### 3.2 磷脂酰肌醇信号调控GLUT4囊泡的易位

20世纪90年代初, Clarke等<sup>[14]</sup>和Okada等<sup>[15]</sup>在多种细胞中发现, 运用磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)抑制剂渥曼青霉素可阻断胰岛素刺激的葡萄糖摄取和GLUT4易位。随后, Tan等<sup>[16]</sup>和Gonzalez等<sup>[17]</sup>使用Akt抑制剂或敲





除Akt, 进一步表明, 渥曼青霉素可能通过调控PI3K-Akt信号通路, 影响GLUT4转运。近年来, Xu等<sup>[18]</sup>和Ji等<sup>[19]</sup>利用光遗传学手段, 揭露了PIs和Akt信号对GLUT4转运具有重要意义。

PI(3)P信号是调控GLUT4易位及与质膜锚定所必需的<sup>[20]</sup>。L6细胞和3T3-L1脂肪细胞中用高效液相色谱法分析<sup>[3H]</sup>标记的PI(3)P代谢, 发现急性胰岛素刺激后, PI(3)P会有短暂的增多<sup>[21]</sup>, 并且GLUT4转运至质膜增多<sup>[20-23]</sup>。然而, 尽管细胞表面GLUT4和PI(3)P积累增多, 但都不会刺激葡萄糖转运<sup>[21-22,24]</sup>, 暗示PI(3)P无法调控GLUT4与质膜的融合, 仅仅调控GLUT转运至细胞膜的易位或锚定过程<sup>[21-22]</sup>, 融合过程需要PI3K IA亚型催化PI(3,4,5)P<sub>3</sub>的生成<sup>[25-27]</sup>。但值得注意的是, 抑制细胞中磷脂酰肌醇5-激酶[phosphatidylinositol 5-kinase, PI5K, 别称PIKfyve, 主要负责催化PI和PI(3)P分别磷酸化为PI(5)P和PI(3,5)P<sub>2</sub>]后, 会引起PI(3)P水平大幅度增加, PI(3)P不能磷酸化为PI(3,5)P<sub>2</sub><sup>[28]</sup>。3T3-L1脂肪细胞中表达PIKfyve显性负性突变体K1831E或激酶失活突变体PIKfyveDeltaK后, 发现胰岛素刺激的GLUT4易位明显抑制<sup>[29]</sup>, 暗示胰岛素刺激下的GLUT4易位过程需要PI(3,5)P<sub>2</sub>的参与。

3T3-L1脂肪细胞中表达磷脂酰肌醇4-激酶III型β亚型(phosphatidylinositol 4-kinase IIIβ, PI4KIIIβ)及其催化剂神经元钙感应蛋白-1(neuronal calcium sensor-1, NCS-1), 会严重抑制胰岛素刺激后的GLUT4转运, 但葡萄糖转运蛋白1和甘露糖6-磷酸受体的表面转运完好, 暗示PI4K可通过与NCS-1的相互作用特异性阻遏GLUT4易位<sup>[30]</sup>。外源性给予PI(4)P后, 内源性GLUT4表面积累和基础葡萄糖转运不受影响, 提示PI(4)P不影响GLUT4的细胞表面表达<sup>[31]</sup>。

3T3-L1脂肪细胞在胰岛素刺激下, 短时间内PI(5)P迅速增多, 该过程与PI3K IA激活信号无关, 不能用渥曼青霉素抵抗<sup>[31]</sup>。另外, 胰岛素刺激后, PIKfyve亚组分会转运至细胞内膜<sup>[32]</sup>。3T3-L1脂肪细胞在胰岛素缺乏的情况下, 外源性给予PI(5)P后, 细胞表面会有大量的GLUT4表达; 相反地, 使用PI(5)P隔离剂后会阻断胰岛素触发的细胞表面GLUT4表达<sup>[31]</sup>, 提示PI(5)P信号会影响GLUT4表达。Dugani等<sup>[33]</sup>在CHO-T细胞中发现, PI(5)P能够诱导渥曼青霉素耐性的肌动蛋白纤维分解。在胰岛素刺激下, PI(5)P的增多对独立于PI3K IA的肌动蛋白纤维重塑过程具有关键作用, 对最优效的GLUT4运动至

关重要。

Shisheva等<sup>[34]</sup>发现, 参与微丝骨架运动和细胞信号传递的中介蛋白WASP家族成员具有招募PI(4,5)P<sub>2</sub>和激活肌动蛋白丝分支网络形成的作用, 会影响3T3-L1脂肪细胞中胰岛素作用下的PI3K非依赖型F-肌动蛋白重塑和GLUT4转运。

### 3.3 磷脂酰肌醇信号调控GLUT4囊泡与质膜的栓系及锚定

GLUT4与细胞膜栓系及锚定的过程需要肌动蛋白作用, 肌动蛋白既可作为GSVs运动的路径, 又可影响细胞表面的栓系和锚定作用<sup>[35]</sup>。

质膜上的PI(4,5)P<sub>2</sub>除了可作为PI(3,4,5)P<sub>3</sub>的前体<sup>[36]</sup>, 还招募内吞组件以及有关调控纤维状肌动蛋白(F-肌动蛋白)重塑的多种蛋白质, 暗示PI(4,5)P<sub>2</sub>可能参与GLUT4囊泡转运的多个步骤, 包括内吞、栓系、锚定等<sup>[37]</sup>。Chen等<sup>[19]</sup>运用光遗传学手段瞬时调控INS-1细胞膜上囊泡释放位点内源性PI(4,5)P<sub>2</sub>水平下降, 发现囊泡与质膜显著分离, Ca<sup>2+</sup>浓度未发生明显变化。这一结果强调了PI(4,5)P<sub>2</sub>在囊泡栓系、锚定中的关键地位。

### 3.4 磷脂酰肌醇信号调控GLUT4囊泡与质膜的融合

目前已知的生物膜融合的主要分子机制是: 囊泡膜上表达的囊泡相关性SNARE(v-SNARE)和目标膜上与之对应的目标膜SNARE(t-SNARE)相互作用, 从而介导生物膜的融合过程。GSV与细胞膜融合的过程需要囊泡相关性膜蛋白2(vesicle associated membrane protein 2, VAMP2)、突触融合蛋白4(syntaxin 4)以及突触小体相关蛋白23(synaptosomal associated protein 23, SNAP23)的参与, SNARE结合蛋白Munc18c、Syntaxin4相关蛋白Synip、b-Tomoyin等起调节作用。基础状态下, Synip与Syntaxin4绑定, 并在胰岛素刺激后离解, 随之GLUT4囊泡的VAMP2与Syntaxin4绑定, 并与质膜发生融合。Tsugumichi等<sup>[38]</sup>研究发现, 胰岛素存在时, 解离的Synip通过WW结构域与PI(3,4,5)P<sub>3</sub>绑定, 并定位于细胞膜上。

众所周知, PI3K的激活是胰岛素刺激GLUT4转运所必需的。利用特异性抑制剂如渥曼青霉素或LY294002抑制PI3K活性, 或者表达PI3K显性负性突变体等, 都能完全阻断胰岛素刺激下的GLUT4转运; 相反地, 过表达激活型PI3K或外源性添加PI(3,4,5)P<sub>3</sub>,

会引起胰岛素非依赖型GLUT4转运<sup>[39]</sup>。

含SH2结构域的II型5'肌醇磷酸酶2(SH2 domain containing 5'-inositol phosphatase 2, SHIP2)主要在胰岛素靶组织中表达, 可将PI(3,4,5)P<sub>3</sub>水解为PI(3,4)P<sub>2</sub>。Wada等<sup>[40]</sup>利用腺病毒介导基因转移手段, 在3T3-L1脂肪细胞中过表达野生型SHIP2(wild-type SHIP2, WT-SHIP2)和5'磷酸酶缺陷型SHIP2(Delta IP-SHIP2)以研究SHIP2和PI(3,4,5)P<sub>3</sub>在胰岛素信号中的作用。结果显示, 表达WT-SHIP2或Delta IP-SHIP2的细胞中, 包括胰岛素诱导的胰岛素受体β亚基和胰岛素受体底物-1(insulin receptor substrate-1, IRS-1)酪氨酸磷酸化的早期胰岛素信号事件和PI3K活性都没有变化。表达WT-SHIP2后会抑制胰岛素诱导的PI(3,4,5)P<sub>3</sub>产生、Akt和蛋白激酶C-λ亚型(protein kinase C λ, PKCλ)活性、2脱氧葡萄糖摄取、GLUT4转运、糖原合成酶激酶-3β亚型(glycogen synthase kinase-3β, GSK-3β)磷酸化反应、PP1激活、糖原合成酶激活及糖原合成, 而Delta IP-SHIP2相反。这些结果暗示, SHIP2通过5'磷酸酶活性水解PI(3,4,5)P<sub>3</sub>, 对胰岛素信号产生负调控作用, PI(3,4,5)P<sub>3</sub>对体内胰岛素诱导的PI3K下游分子激活、GLUT4转运、葡萄糖摄取、糖原合成至关重要<sup>[40]</sup>。

3T3-L1脂肪细胞中外源性给予PI(3,4,5)P<sub>3</sub>会增加Akt和PKCζ/λ磷酸化, 而上调GLUT4总蛋白表达及其表面表达, 从而促进葡萄糖摄取, 并上调高糖处理细胞的葡萄糖利用率; 而外源性给予PI(4,5)P<sub>2</sub>则没有影响<sup>[41]</sup>。高糖处理的脂肪细胞中, 相比于联合给予PI(4,5)P<sub>2</sub>和胰岛素或单独给予胰岛素, 联合给予PI(3,4,5)P<sub>3</sub>和胰岛素更能增强葡萄糖摄取和葡萄糖利用率。这表明, 细胞内PI(3,4,5)P<sub>3</sub>水平下降可能会导致糖尿病胰岛素敏感性受损。

PI(4,5)P<sub>2</sub>在细胞膜上丰富存在, 并且参与调控肌动蛋白细胞骨架、膜转运和细胞膜离子通道活性等。Funaki等<sup>[42]</sup>在3T3-L1脂肪细胞中利用细胞渗透性磷酸肌醇结合肽10(phosphoinositide-binding peptide 10, PBP10)诱导GLUT4转位到细胞膜, 并插入细胞膜, 但未见胰岛素刺激下的葡萄糖摄取增加。PBP10可以取代与PI(4,5)P<sub>2</sub>结合的PLCδ的PH结构域, 从而隔离PI(4,5)P<sub>2</sub>, 当恢复细胞膜上PI(4,5)P<sub>2</sub>后, 没有额外的葡萄糖转运蛋白招募至细胞膜, 但葡萄糖摄取增加。这表明PI(4,5)P<sub>2</sub>会激活细胞膜上的GLUT4, 促进葡萄糖摄取, 而PBP10会抑制F-肌

动蛋白重塑、损害PI(4,5)P<sub>2</sub>或胰岛素诱导的GLUT4激活。Bose等<sup>[43]</sup>发现, 肌球蛋白Ic亚型(myosin Ic)会诱导质膜在PI(4,5)P<sub>2</sub>富集区皱缩, 在胰岛素刺激下GLUT4囊泡转运到皱缩区, 如果Myosin Ic表达水平足够高, 甚至会发生质膜融合, 这两个过程都独立于PI3K的激活和PI(3,4,5)P<sub>3</sub>产生, 提示PI(4,5)P<sub>2</sub>可能协同Myosin Ic影响GLUT4囊泡与质膜的融合。此外, Myosin Ic与3T3-L1脂肪细胞中的胞外分泌复合物有关<sup>[44]</sup>。上述结果表明, PI(4,5)P<sub>2</sub>可能在细胞膜上作为第二信使通过F-肌动蛋白重建, 激活GLUT4<sup>[45]</sup>。

### 3.5 磷脂酰肌醇信号调控GLUT4囊泡的内吞

PI(4,5)P<sub>2</sub>可招募内吞组件, 暗示PI(4,5)P<sub>2</sub>可能参与GLUT4囊泡内吞<sup>[37]</sup>。Huang等<sup>[46]</sup>利用反卷积显微镜分析3T3-L1脂肪细胞发现, PI(4,5)P<sub>2</sub>在细胞表面并不是均匀分布的, 且PI(4,5)P<sub>2</sub>富集的区域与F-肌动蛋白区域特异性相关, 但并不完全相互对应。在3T3-L1脂肪细胞中阻断PI(4,5)P<sub>2</sub>, 但不阻断F-肌动蛋白, 发现网格蛋白辅助的内吞作用完全阻断, 暗示PI(4,5)P<sub>2</sub>对GLUT4内吞活动具有关键的调控作用, 且不依赖F-肌动蛋白<sup>[46]</sup>。

Kanzaki等<sup>[47]</sup>研究发现, PI(4,5)P<sub>2</sub>在不同条件下会有独特的形态和功能特性, 改变脂肪细胞中PI(4,5)P<sub>2</sub>代谢, 会影响肌动蛋白动力学, 对GLUT4的内吞和胞内囊泡转运产生显著影响。Levin等<sup>[48]</sup>分析吞噬小体形成和成熟过程中PIs信号的分布和功能发现, 在吞噬靶目标初级PI(4)P瞬时富集于细胞膜上“吞噬杯”附近, 随后在Sac2和磷脂酶C的水解作用下, PI(4)P水平又急剧下降至消失, PI(4)P消失期间PI(3)P逐渐出现, 吞噬末期PI(3)P逐渐消失, 同时在PI4K 2A的作用下PI(4)P逐渐恢复, 暗示PIs信号在吞噬作用中的重要地位。

## 4 总结与展望

胰岛素刺激后GLUT4囊泡的形成、易位、栓系、锚定、融合、内吞等各个步骤中, 磷脂酰肌醇信号都发挥了不可或缺的重要作用。然而, 还有许多问题有待解决。例如各个磷脂酰肌醇的下游效应蛋白之间如何相互协调, 共同调控GLUT4囊泡转运的各个步骤; 同种磷脂酰肌醇在不同的细胞器中, 为什么发挥着不同的调控作用; 如何利用光遗传学和显微成像等手段瞬时调控记录各个细胞器中囊泡转运情况。

综上所述, 磷脂酰肌醇可能是一个了解GLUT4转运过程、分析胰岛素信号转导的一个有趣的研究方向。磷脂酰肌醇可能是阻止糖尿病及其并发症进程的有效靶点, 阐释磷脂酰肌醇调控GLUT4囊泡转运及其机制将为药物筛选和发现提供理论支持。

### 参考文献 (References)

- Sylow L, Kleinert M, Richter EA, Jensen TE. Exercise-stimulated glucose uptake- regulation and implications for glycaemic control. *Nat Rev Endocrinol* 2017; 13(3): 133-48.
- McBrayer SK, Cheng JC, Singhal S, Krett NL, Rosen ST, Shanmugam M. Multiple myeloma exhibits novel dependence on GLUT4, GLUT8, and GLUT11: implications for glucose transporter-directed therapy. *Blood* 2012; 119(20): 4686-97.
- Hresko RC, Kraft TE, Quigley A, Carpenter EP, Hruz PW. Mammalian glucose transporter activity is dependent upon anionic and conical phospholipids. *J Biol Chem* 2016; 291(33): 17271-82.
- Bridges D, Saltiel AR. Phosphoinositides in insulin action and diabetes. *Curr Top Microbiol Immunol* 2012; 362(10): 61-85.
- Bridges D, Saltiel AR. Phosphoinositides: key modulators of energy metabolism. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1851(6): 857-66.
- Bogan JS. Regulation of glucose transporter translocation in health and diabetes. *Annu Rev Biochem* 2012; 81(1): 507-32.
- Viaud J, Mansour R, Antkowiak A, Mujalli A, Valet C, Chicanne G, *et al.* Phosphoinositides: important lipids in the coordination of cell dynamics. *Biochimie* 2016; 125(6): 250-8.
- Balla T. Phosphoinositides: tiny lipids with giant impact on cell regulation. *Physiol Rev* 2013; 93(3): 1019-137.
- Posor Y, Eichhorngruenig M, Puchkov D, Schöneberg J, Ullrich A, Lampe A, *et al.* Spatiotemporal control of endocytosis by phosphatidylinositol-3,4-bisphosphate. *Nature* 2013; 499(7): 233-9.
- Mayinger P. Phosphoinositides and vesicular membrane traffic. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1821(8): 1104-13.
- Shisheva A. Phosphoinositides in insulin action on GLUT4 dynamics: not just PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub>. *Am J Physiol* 2008; 295(1): 536-44.
- Xu Z, Huang G, Kandror KV. Phosphatidylinositol 4-kinase type IIalpha is targeted specifically to cellugyrin-positive glucose transporter 4 vesicles. *Mol Endocrinol* 2006; 20(11): 2890-7.
- Kristiansen S, Ramlal T, Klip A. Phosphatidylinositol 4-kinase, but not phosphatidylinositol 3-kinase, is present in GLUT4-containing vesicles isolated from rat skeletal muscle. *Biochem J* 1998; 335(Pt 2): 351-6.
- Clarke JF, Young PW, Yonezawa K, Kasuga M, Holman GD. Inhibition of the translocation of GLUT1 and GLUT4 in 3T3-L1 cells by the phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor, wortmannin. *Biochem J* 1994; 300(3): 631-5.
- Okada T, Kawano Y, Sakakibara T, Hazeki O, Ui M. Essential role of phosphatidylinositol 3-kinase in insulin-induced glucose transport and antilipolysis in rat adipocytes. Studies with a selective inhibitor wortmannin. *J Biol Chem* 1994; 269(5): 3568-73.
- Tan S, Ng Y, James DE. Next-generation Akt inhibitors provide greater specificity: effects on glucose metabolism in adipocytes. *Biochem J* 2011; 435(2): 539-44.
- Gonzalez E, Mcgraw TE. Insulin-modulated Akt subcellular localization determines Akt isoform-specific signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(17): 7004-9.
- Xu Y, Nan D, Fan J, Bogan JS, Toomre D. Optogenetic activation reveals distinct roles of PI(3,4,5)P<sub>3</sub> and Akt in adipocyte insulin action. *J Cell Sci* 2016; 129(10): 2085-95.
- Ji C, Fan F, Lou X. Vesicle docking is a key target of local PI(4,5)P<sub>2</sub> metabolism in the secretory pathway of INS-1 cells. *Cell Rep* 2017; 20(6): 1409-21.
- Ishiki M, Randhawa VK, Poon V, Jebailey L, Klip A. Insulin regulates the membrane arrival, fusion, and C-terminal unmasking of glucose transporter-4 via distinct phosphoinositides. *J Biol Chem* 2005; 280(31): 28792-802.
- Maffucci T, Brancaccio A, Piccolo E, Stein RC, Falasca M. Insulin induces phosphatidylinositol-3-phosphate formation through TC10 activation. *EMBO J* 2003; 22(16): 4178-89.
- Sweeney G, Garg RR, Ceddia RB, Li D, Ishiki M, Somwar R, *et al.* Intracellular delivery of phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate causes incorporation of glucose transporter 4 into the plasma membrane of muscle and fat cells without increasing glucose uptake. *J Biol Chem* 2004; 279(31): 32233-42.
- Kanda H, Tamori Y, Shinoda H, Yoshikawa M, Sakaue M, Udagawa J, *et al.* Adipocytes from Munc18c-null mice show increased sensitivity to insulin-stimulated GLUT4 externalization. *J Clin Invest* 2005; 115(2): 291-301.
- Kong AM, Horan KA, Sriratana A, Bailey CG, Collyer LJ, Nandurkar HH, *et al.* Phosphatidylinositol 3-phosphate [PtdIns3P] is generated at the plasma membrane by an inositol polyphosphate 5-phosphatase: endogenous PtdIns3P can promote GLUT4 translocation to the plasma membrane. *Mol Cell Biol* 2006; 26(16): 6065-81.
- Huang S, Czech MP. The GLUT4 glucose transporter. *Cell Metab* 2007; 5(4): 237-52.
- Larance M, Ramm G, James DE. The GLUT4 code. *Mol Endocrinol* 2008; 22(2): 226-33.
- Watson RT, Pessin JE. GLUT4 translocation: the last 200 nanometers. *Cell Signal* 2007; 19(11): 2209-17.
- Ikonomov OC, Sbrissa D, Delvecchio K, Xie Y, Jin JP, Rappolee D, *et al.* The phosphoinositide kinase PIKfyve is vital in early embryonic development: preimplantation lethality of PIKfyve<sup>-/-</sup> embryos but normality of PIKfyve<sup>+/-</sup> mice. *J Biol Chem* 2011; 286(15): 13404-13.
- Ikonomov OC, Sbrissa D, Mlak K, Shisheva A. Requirement for PIKfyve enzymatic activity in acute and long-term insulin cellular effects. *Endocrinology* 2002; 143(12): 4742-54.
- Mora S, Durham PL, Smith JR, Russo AF, Jeromin A, Pessin JE. NCS-1 inhibits insulin-stimulated GLUT4 translocation in 3T3L1 adipocytes through a phosphatidylinositol 4-kinase-dependent pathway. *J Biol Chem* 2002; 277(30): 27494-500.
- Sbrissa D, Ikonomov OC, Strakova J, Shisheva A. Role for a novel signaling intermediate, phosphatidylinositol 5-phosphate, in insulin-regulated F-actin stress fiber breakdown and GLUT4 translocation. *Endocrinology* 2004; 145(11): 4853-65.



- 32 Shisheva A, Rusin B, Ikononov OC, DeMarco C, Sbrissa D. Localization and insulin-regulated relocation of phosphoinositide 5-kinase PIKfyve in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem* 2001; 276(15): 11859-69.
- 33 Dugani C B, Klip A. Glucose transporter 4: cycling, compartments and controversies. *EMBO Rep* 2005; 6(12): 1137-42.
- 34 Shisheva A. Regulating Glut4 vesicle dynamics by phosphoinositide kinases and phosphoinositide phosphatases. *Front Biosci* 2003; 8(11): s945-6.
- 35 Watson RT, Kanzaki M, Pessin JE. Regulated membrane trafficking of the insulin-responsive glucose transporter 4 in adipocytes. *Endocr Rev* 2004; 25(2): 177-204.
- 36 Czech MP. Dynamics of phosphoinositides in membrane retrieval and insertion. *Annu Rev Physiol* 2003; 65(3): 791-815.
- 37 Di Paolo G, De Camilli P. Phosphoinositides in cell regulation and membrane dynamics. *Nature* 2006; 443(7112): 651-7.
- 38 Tsugumichi S, Shuichi O, Atsushi N, Yuko T, Aya O, Shinsuke OI, *et al.* Syntaxin4 interacting protein (Synip) binds phosphatidylinositol (3,4,5) triphosphate. *PLoS One* 2012; 7(8): e42782.
- 39 Zhou X, Shentu P, Xu Y. Spatiotemporal regulators for insulin-stimulated GLUT4 vesicle exocytosis. *J Diabetes Res* 2017; 2017(Part 3): 1683678.
- 40 Wada T, Sasaoka T, Funaki M, Hori H, Murakami S, Ishiki M, *et al.* Overexpression of SH2-containing inositol phosphatase 2 results in negative regulation of insulin-induced metabolic actions in 3T3-L1 adipocytes via its 5'-phosphatase catalytic activity. *Mol Cell Biol* 2001; 21(5): 1633-46.
- 41 Manna P, Jain SK. PIP3 but not PIP2 increases GLUT4 surface expression and glucose metabolism mediated by AKT/PKC $\zeta$ / $\lambda$  phosphorylation in 3T3L1 adipocytes. *Mol Cell Biochem* 2013; 381(1/2): 291-9.
- 42 Funaki M, Randhawa P, Janmey PA. Separation of insulin signaling into distinct GLUT4 translocation and activation steps. *Mol Cell Biol* 2004; 24(17): 7567-77.
- 43 Bose A, Robida S, Furciniti PS, Chawla A, Fogarty K, Corvera S, *et al.* Unconventional myosin Myo1c promotes membrane fusion in a regulated exocytic pathway. *Mol Cell Biol* 2004; 24(12): 5447-58.
- 44 Chen XW, Leto D, Chiang SH, Wang Q, Saltiel AR. Activation of RalA is required for insulin-stimulated Glut4 trafficking to the plasma membrane via the exocyst and the motor protein Myo1c. *Dev Cell* 2007; 13(3): 391-404.
- 45 Funaki M, Difransico L, Janmey PA. PI 4,5-P2 stimulates glucose transport activity of GLUT4 in the plasma membrane of 3T3-L1 adipocytes. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1763(8): 889-99.
- 46 Huang S, Lifshitz L, Patki-Kamath V, Tuft R, Fogarty K, Czech MP. Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate-rich plasma membrane patches organize active zones of endocytosis and ruffling in cultured adipocytes. *Mol Cell Biol* 2004; 24(20): 9102-23.
- 47 Kanzaki M, Furukawa M, Raab W, Pessin JE. Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate regulates adipocyte actin dynamics and GLUT4 vesicle recycling. *J Biol Chem* 2004; 279(29): 30622-33.
- 48 Levin R, Hammond GRV, Balla T, Camilli PD, Fairn GD, Grinstein S. Multiphasic dynamics of phosphatidylinositol 4-phosphate during phagocytosis. *Mol Biol Cell* 2017; 28(1): 128-40.