

microRNA 在糖尿病及其并发症中的调节作用

李霞莲 综述, 苗晋华 审校

(中国人民解放军 264 医院检验科, 山西太原 030001)

关键词: 微 RNAs; 糖尿病; 并发症**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.14.032**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2013)14-1848-02

糖尿病患病率的增长迫切要求进一步阐明其发病机制, 以利于治疗方式的改进。miRNA 转录后的调节功能与多种疾病的病理生理过程有关, 包括 2 型糖尿病。最近有报道 microRNA 在胰岛素释放、胰岛 β 细胞分化发育中的发挥了一定的调节作用, 与血糖平衡调节有关的 miRNA 陆续被报道。本文就 microRNA 在糖尿病及其并发症中的调节作用作一综述。

1 小 RNA 生源论

miRNA 是基因组中内源发夹结构转录过程中产生的单链 RNA, 由 19~25 个核苷酸组成^[1]。最新的研究表明, miRNA 在许多基因调节通路中发挥关键作用, 如发育过程中周期的控制、造血细胞分化、细胞凋亡、细胞增殖及器官发育^[2]。MiRNA 也是最大的基因家族之一, 占全基因组的约 2%^[1]。在寻找 miRNA 靶标的过程中发现 miRNA 可能参与调节人类 90% 以上的基因印迹^[3]。miRNA 转录后的调节功能与多种疾病的病理生理过程有关^[4], 包括 2 型糖尿病等。miRNAs 起源于细胞核内, miRNA 的前体由基因组 3, 多(聚)腺苷酸(miRNA3, 末端)以及 5, 帽子结构(miRNA5, 末端)转录而来。miRNA 前体(Pri-miRNA)被核糖核酸酶 III Drosha 及辅因子 Pasha 加工成为 miRNA 前体 Pre-miRNA^[5]。然后在转运蛋白 exportin-5 的作用下将 miRNA 前体由细胞核运输到细胞质^[6]。接着, 细胞质中的 RNase III 在邻近发夹环的区域对 miRNA 前体进行第二次剪切, 释放一段长约 22 个碱基对、开放的双螺旋 RNA, 该 RNA 的特点是末端均带有 3, 突出部分, 可与其他蛋白质一起组成沉默复合体 miRISC, 从而引起靶 mRNA 的降解或翻译受抑^[7]。RISC 含有一种名为 Argonaute 的蛋白质, 它是 RISC 以及其他蛋白因子的催化元件^[8]。一旦被 miRNA 激活, miRISC 即可作为 miRNA 与 mRNA 相互作用的效应器复合体。有研究表明 miRNAs 与靶 mRNA 完全互补时, 通过与小干扰 RNA(siRNAs) 结合使 mRNA 降解; 不完全互补时, miRISC 可通过其他机制阻碍蛋白质的翻译, 包括抑制启动及延长、降解 mRNA、成熟蛋白产物, 或使 mRNA 失去稳定性的 mRNA 脱腺苷化^[9-11]。这些机制无论是单一还是联合发挥作用都会有效调节 mRNA 引起的蛋白质表达过程。

2 与糖尿病及其并发症的关系

与血糖平衡调节有关的 miRNA 见表 1, 然而大多数 miRNA 的功能尚未完全阐明。胰岛特异的 miR-375 通过抑制重组胰岛素样生长因子的表达来抑制小鼠胰岛 β 细胞分泌胰岛素^[12]。另外有研究表明, miR-9 升高会使转录因子 OC2 减少从而引起葡萄糖刺激的胰岛素释放减少^[13]。OC2 抑制了 Rab27 的活力及表达, Rab27 是调节胰岛素释放的重要组成部分^[14]。与非糖尿病小鼠比较 STZ 诱导的糖尿病小鼠及 db/db 小鼠肾小球中 miR-192 水平明显增高^[15]。推测 miR-192 在肾脏疾病中发挥着重要的作用。Lai 等的研究发现了一些 miRNA 特异性的负向调控靶序列如位于 Notch 靶基因 3, 非编码区的 GYbox, Brd box 及 K box^[16]。有研究表明这些调控序列

是 miRNA 的结合部位如 miR-7 可抑制 GY-box, miR-4 和 miR-79 可抑制 Brd-box 而 miR-2 and miR-11 可抑制 K-box。然而, 这些 miRNA 是否参与糖尿病肾病中的 Notch 信号调节尚不明确。另外有研究发现在肥胖小鼠的肝脏中生成了过量的 miRNA-143, 这种 RNA 分子使激活 AKT 酶的基因沉默, 从而抑制了胰岛素对 AKT 的激活。AKT 在细胞内葡萄糖运输和抑制肝脏葡萄糖合成中起重要的作用。当 AKT 酶受到抑制时, 胰岛素无法发挥效应, 从而导致血糖持续增高。经实验证明 MiR-143 在调节脂肪细胞的分化中起着关键作用(包括 GLUT4, HSL, 脂肪酸结合蛋白及 PPAR- γ), 充分表明 miRNA 在脂肪代谢中发挥重要的作用^[17]。

另外, miR-124a、miR-9 和 miR-96 也可调节胰岛素的分泌。正常糖浓度条件下, 胰岛 β 细胞中的 miR-124a 过量表达会使胰岛素分泌增加^[18], 而在高糖条件下, 则使胰岛素分泌减少。miR-9 可以抑制转录因子 Onecut2 的表达, 使 Granuphilin 增加, 最后导致糖刺激下的胰岛素分泌减少^[19]。miR-96 通过上调 Granuphilin 的 mRNA 和蛋白水平, 同时下调 Noc2 的表达, 从而减少胰岛素的分泌^[20]。

Roggli 等^[21]发现, 在 2 型糖尿病 GK 大鼠的肌肉、脂肪和肝脏组织中, miR-29a/b/c 的表达水平相对于正常大鼠上调。在脂肪细胞 3T3-L1 中, 过表达 miR-29a/b/c 则可抑制胰岛素刺激下的葡萄糖摄取, 导致胰岛素抵抗。在高糖高胰岛素条件下, 3T3-L1 细胞中的 miR-29a/b 水平上调。

糖尿病并发症包括高血压、大血管病变、糖尿病眼病、糖尿病肾病(DN)、糖尿病足、糖尿病骨关节病、神经病变等。研究表明, microRNA 与糖尿病并发症的发生、发展密切相关。在糖尿病兔的心脏中发现, miR-133 表达显著增加, miR-133 的反式作用因子 SRF 的表达量也明显增加^[22]。miR-192 是一个在肾脏中高表达的 microRNA, DN 的相关基因 SIP-1 是它的一个靶点^[23]。而最近由英国、意大利等国科学家发表在美国心脏协会期刊《循环》杂志上的论文称, 他们研究发现, 糖尿病患者缺血性肌肉组织中, 小核糖核酸 miR-503 表达非常高, 血浆中 miR-503 水平也高于正常水平^[24]。miR-503 过度表达会损害血管内壁内皮细胞功能, 从而影响缺血后血管生成。而通过抑制细胞周期蛋白 E1 和 Cdc25 信使核糖核酸(mRNA), 则可降低 miR-503 表达, 从而改善血管内皮细胞功能, 帮助微血管网络形成。

3 研究转录后过程的工具

由于 miRNA 在转录后水平进行干扰, 要确定 miRNA 的靶序列也是比较困难的, 因为不同的 miRNA 会联合作用于同一种 mRNA, 相反的, 一种 miRNA 也可能同时调控多种 mRNA^[25]。因此, 高通量技术弥补了这方面的不足, 通过比较 miRNA 介导的蛋白表达(如质谱法、蛋白印迹法)与 miRNA 表达之间的关系来探究 miRNA 的调节作用。微阵列杂交技术检测 miRNA 是基于 miRBase 数据库(<http://microrna.san->

ger. ac. uk/), 该数据库收集了已有的 miRNA 序列及出处。MiRBase 数据库涵盖了 58 个物种的超过 5 000 种 miRNA 序列, 由脊椎动物、无脊椎动物到病毒、原核生物^[26]。近来, 新一代测序技术能对数百万条 DNA 进行测序, 一次能读取 35-250 个碱基对 (Roche(454) GS FLXsequencer; Illumina/Solexa Genome analyser; and the Applied Biosystems SOLiDsystem)。这种新技术与基因表达微阵列平台相比更有优势, 它不仅能发现非编码的 RNA 序列而且能发现一些新的 miRNA^[27]。Tian^[27]认为, 最终在体外确认 miRNA 的靶标应与 miRNA 前体结构或 miRNA 抑制剂相结合。近来有研究表明, 人工合成的成熟单链 miRNA 或发夹结构的 miRNA 前体不能取代内源的 miRNA 形成 RISC^[28]。这将影响通过外源模拟来寻找 miRNA 的靶标。利用 DNA 反义寡核苷酸 (ASOs)、RNA 反义寡核苷酸 (AMOs) 来抑制 miRNA 的功能成为一种实用的药理方法。通常可使用两种方法在体外或体内来研究 miRNA 的功能。首先, 针对核糖核酸酶降解细胞核内的 miRNA 前体来设计 DNA 反义寡核苷酸^[29]。成熟的 miRNA 与 mRNA 之间碱基对的相互作用是抑制剂的另一个靶点。在细胞质中 RNA 反义寡核苷酸作用于成熟的 miRNA 并阻碍 miRISC 发挥作用^[29]。通过转染与 miRNA 互补的 AMOs 导致 miRNA-RISC 复合体无法形成, 进而成功阻断了 miRNA 与 mRNA 之间的相互作用^[30]。

越来越多的研究表明, microRNA 在糖尿病的发生发展中扮演重要角色。microRNA 参与了糖脂代谢等多个过程, 对于维持胰岛素靶组织的正常功能起到了重要作用。这些研究提示, microRNA 可以作为糖尿病的治疗靶点。然而, microRNA 的作用是很复杂的, 一个 microRNA 通常可以调节多个不同的靶 mRNA, 因此 microRNA 在各种组织中的靶点及功能仍有待深入研究。

参考文献

- [1] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297.
- [2] Zhao Y, Srivastava D. A developmental view of microRNA function[J]. Trends Biochem Sci, 2007, 32(1): 189-197.
- [3] Miranda KC, Huynh T, Tay Y, et al. A pattern-based method for the identification of MicroRNA binding sites and their corresponding heteroduplexes[J]. Cell, 2006, 126(11): 1203-1217.
- [4] Perera RJ, Ray A. MicroRNAs in the search for understanding human diseases[J]. BioDrugs, 2007, 21(1): 97-104.
- [5] Cullen BR. Transcription and processing of human microRNA precursors[J]. Mol Cell, 2004, 16(7): 861-865.
- [6] Bohnsack MT, Czapinski K, Gorlich D. Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs[J]. Rna, 2004, 10(1): 185-191.
- [7] Macrae IJ, Zhou K, Li F, et al. Structural basis for double-stranded RNA processing by Dicer[J]. Science, 2006, 311(1): 195-198.
- [8] Tomari Y, Matranga C, Haley B, et al. A protein sensor for siRNA asymmetry[J]. Science, 2004, 306(12): 1377-1380.
- [9] Nottrott S, Simard MJ, Richter JD. Human let-7a miRNA blocks protein production on actively translating polyribosomes[J]. Nat Struct Mol Biol, 2006, 13(10): 1108-1114.
- [10] Humphreys DT, Westman BJ, Martin DI, et al. MicroRNAs control translation initiation by inhibiting eukaryotic initiation factor 4E/cap and poly(A) tail function[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(15): 16961-16966.
- [11] Liu J, Valencia-Sanchez MA, Hannon GJ, et al. MicroRNA-dependent localization of targeted mRNAs to mammalian P-bodies[J]. Nat Cell Biol, 2005, 7(6): 719-723.
- [12] Poy MN, Eliasson L, Krutzfeldt J, et al. A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion[J]. Nature, 2004, 432(2): 226-230.
- [13] Plaisance V, Abderrahmani A, Perret-Menoud V, et al. MicroRNA-9 controls the expression of Granuphilin/Slp4 and the secretory response of insulin-producing cells[J]. J Biol Chem, 2006, 281(25): 26932-26942.
- [14] Gomi H, Mizutani S, Kasai K, et al. Granuphilin molecularly docks insulin granules to the fusion machinery[J]. J Cell Biol, 2005, 171(1): 99-109.
- [15] Kato M, Zhang J, Wang M, et al. MicroRNA-192 in diabetic kidney glomeruli and its function in TGF-beta-induced collagen expression via inhibition of E-box repressors[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(20): 3432-3437.
- [16] Lai EC, Tam B, Rubin GM. Pervasive regulation of Drosophila Notch target genes by GY-box-, Brd-box-, and K-box-class microRNAs[J]. Genes Dev, 2005, 19(10): 1067-1080.
- [17] Esau C, Kang X, Peralta E, et al. MicroRNA-143 regulates adipocyte differentiation[J]. J Biol Chem, 2004, 279(50): 52361-52365.
- [18] Tang X, Muniappan L, Tang G, Ozcan S. Identification of glucose-regulated miRNAs from pancreatic {beta} cells reveals a role for miR-30d in insulin transcription[J]. RNA, 2009, 15(2): 287-293.
- [19] Ramachandran D, Roy U, Garg S, et al. Sirt1 and mir-9 expression is regulated during glucose-stimulated insulin secretion in pancreatic {beta}-islets[J]. FEBS J, 2011, 278(7): 1167-1174.
- [20] Wu JH, Gao Y, Ren AJ, et al. Altered microRNA expression profiles in retinas with diabetic retinopathy[J]. Ophthalmic Res, 2012, 47(4): 195-201.
- [21] Roggli E, Gattesco S, Caille D, et al. Changes in microRNA expression contribute to pancreatic {beta}-cell dysfunction in prediabetic NOD mice[J]. Diabetes, 2012, 61(7): 1742-1751.
- [22] Cai B, Pan Z, Lu Y. The roles of microRNAs in heart diseases: a novel important regulator[J]. Curr Med Chem, 2010, 17(5): 407-411.
- [23] Putta S, Lanting L, Sun G, et al. Inhibiting microRNA-192 ameliorates renal fibrosis in diabetic nephropathy[J]. J Am Soc Nephrol, 2012, 23(3): 458-469.
- [24] Caporali A, Meloni M, Ilenkle C, et al. Deregulation of microRNA-503 contributes to diabetes mellitus-induced impairment of endothelial function and reparative angiogenesis after limb ischemia[J]. Circulation, 2011, 123(3): 282-291.
- [25] Lewis BP, Shih IH, Jones-Rhoades MW, et al. Prediction of mammalian microRNA targets[J]. Cell, 2003, 115(6): 787-798.
- [26] Griffiths-Jones S, Saini HK, van Dongen S, et al. miRBase: tools for microRNA genomics[J]. Nucleic Acids Res, 2008, 36(1): D154-D158.
- [27] Mardis ER. The impact of next-generation sequencing technology on genetics[J]. Trends Genet, 2008, 24(1): 133-141.
- [28] Tang F, Hajkova P, O'Carroll D, et al. MicroRNAs are tightly associated with RNA-induced gene silencing complexes in vivo[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 372(1): 24-29.
- [29] Davis S, Lollo B, Freier S, et al. Improved targeting of miRNA with antisense oligonucleotides[J]. Nucleic Acids Res, 2006, 34(20): 2294-2304.
- [30] Krutzfeldt J, Rajewsky N, Braich R, et al. Silencing of microRNAs in vivo with antagomirs[J]. Nature, 2005, 438(5): 685-689.