

# 循环微小核糖核酸与2型糖尿病的关系\*

蔡加炉, 王 成, 汪俊军 (南京军区南京总医院临床检验科, 南京 210002)

**摘要:**微小核糖核酸(microRNA, miRNA)是一类非编码小分子 RNA, 广泛参与基因转录后水平调控, 在细胞增殖、分化、凋亡和代谢等过程中发挥重要作用。不同病理和生理状态, 机体多种组织和细胞能分泌或释放特定 miRNA 进入血循环, 并传递至受体细胞发挥生物学功能。最新研究表明, miRNA 广泛参与 2 型糖尿病的发生、发展过程。循环 miRNA 由于来源广泛, 稳定性高, 同时在不同生理或病理情况下会发生特征性改变, 有可能作为 2 型糖尿病新型标志物并参与 2 型糖尿病发生发展。

**关键词:**2 型糖尿病; 微小核糖核酸; 血清; 生物标志物

**中图分类号:**R587.1; R392.11 **文献标志码:**A **文章编号:**1671-7414(2015)03-005-04

**doi:**10.3969/j.issn.1671-7414.2015.03.002

## Relationship between Circulating miRNA and Type 2 Diabetes

CAI Jia-lu, WANG Cheng, WANG Jun-jun (Department of Clinical Laboratory, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Region, PLA, Nanjing 210002, China)

**Abstract:** MicroRNAs (miRNAs) are a class of small non-coding RNA that regulate gene expression at the posttranscriptional level and play important roles in cell proliferation, differentiation, apoptosis and metabolism. Moreover, specific miRNAs can be secreted or released from tissues and cells in different physiological or pathological status and entered into blood circulation, and secreted miRNAs can be delivered into recipient cells and emerged as powerful regulators of a wide range of biological processes. Many recent studies have shown that miRNAs were involved in the development and progression of type 2 diabetes (T2DM). Due to the widely source, highly stability, and specific expression pattern under different physiological or pathological conditions, circulating miRNAs may serve as a novel biomarker for T2DM and may also participate in the development of type 2 diabetes.

**Keywords:** type 2 diabetes; microRNA; serum; biomarkers

2 型糖尿病是一种由遗传和后天环境因素共同作用导致的糖代谢功能紊乱疾病。最新流行病学调查显示, 糖尿病已成为继癌症、心血管疾病之后威胁人类健康的第三大疾病。目前, 全球约有 2.2 亿人罹患糖尿病, 预计到 2030 年这一数字将达到 3.66 亿<sup>[1]</sup>, 防治形势极为严峻。

微小核糖核酸(microRNA, miRNA)是一类长度约为 22 个核苷酸的非编码小 RNA, 在进化上高度保守, 通过与靶信使 RNA 3' 端非翻译区互补配对结合, 在转录后水平调控基因表达<sup>[2]</sup>。miRNA 参与许多细胞生理病理过程如细胞增殖、分化、衰老和凋亡等<sup>[2]</sup>。此外, miRNA 对脂肪代谢, 能量平衡也具有重要调节作用。研究显示, miRNA 与糖尿病关系密切, 广泛参与糖代谢及血糖调节相关细胞生理过程。最新研究发现, 人血循环中也存在大量稳定、丰富表达的 miRNA, 2 型糖尿病患者血清 miRNA 表达谱与正常对照及其他疾病显著不同, 且由于血清 miRNA 稳定性高, 因此可作为 2 型糖尿病新型生物标志物, 并在 2 型糖尿病的发生发展

中发挥重要作用<sup>[3]</sup>。

1 miRNA 与 2 型糖尿病 研究证实, miRNA 在 2 型糖尿病发生发展中发挥重要作用。Poy 等<sup>[4]</sup>在 2004 年首次证实 miRNA 参与了 2 型糖尿病过程。在 2 型糖尿病的发生过程中, miRNA 对许多糖尿病相关组织和细胞, 包括肝脏、胰腺、脂肪组织、骨骼肌组织和血管内皮等都起到重要的生理调节功能<sup>[2]</sup>。

miRNA 对胰腺的形成及维持  $\beta$  细胞的正常功能和葡萄糖刺激的胰岛素分泌具有重要作用。Dicer 酶是 miRNA 成熟所必需的酶, 在胚胎发育时敲除小鼠 Dicer 基因将导致小鼠胰腺发育缺陷<sup>[5]</sup>, 提示 miRNA 对于胰腺的发育是不可或缺的。通过对胰腺瘤细胞 MIN6 细胞系在高糖和低糖环境下的培养可以发现, 高糖可以使得 miR-124a, miR-107 和 miR-30d 的表达上调, miR-690 的表达下调<sup>[6]</sup>, 其中 miR-30d 的表达上调可以增加葡萄糖调控的胰岛基因转录。

miR-375 是胰岛组织中高表达的 miRNA, 对

\* 基金项目: 国家自然科学基金(81271904); 国家重大科学仪器设备开发专项基金(2012YQ03026109)。

作者简介: 蔡加炉(1988—), 男, 在读研究生, 主要研究血清 miRNA 和血清脂蛋白。

通讯作者: 汪俊军, E-mail: jjwang9202@163.com。

维持血糖平衡起着重要作用<sup>[7]</sup>。miR-375 可以通过调节肌球蛋白(myotrophin, Mtpn)表达抑制胰岛素的分泌<sup>[4]</sup>。在 miR-375 基因敲除的小鼠模型中,miR-375 表达缺失将导致高血糖和胰岛  $\beta$  细胞的损伤,并使得胰岛  $\alpha$  细胞数量增加<sup>[7]</sup>,最终导致糖异生和肝脏分泌的葡萄糖增加。另外在胰岛瘤 1E 细胞中,miR-375 可以调节 3'-磷酸肌醇依赖的蛋白激酶-1(3'-phosphoinositide dependent protein kinase-1, PDK1),高葡萄糖刺激可以诱导胰岛素基因的表达,而 miR-375 可以抑制这种作用<sup>[8]</sup>,且胰岛细胞过量表达 miR-375 会减少蛋白激酶 B(protein kinase B, PKB)和糖原合成激酶 3 $\beta$  的磷酸化,上述研究表明 miR-375 参与了 PI3-kinase/PDK1/PKB 信号途径,因此 miR-375 有可能作为胰岛素分泌受损和信号级联反应失调的治疗靶标,从而使血糖水平达到正常水平。

在糖尿病中,血糖失衡会损伤血管内皮细胞,由此导致的大血管和微血管并发症是糖尿病患者死亡的主要原因。研究表明在葡萄糖诱导的血管功能紊乱中,miRNA 起了重要作用<sup>[5]</sup>。将人脐静脉血管内皮细胞(umbilical vein endothelial cells, HUVECs)和微血管内皮细胞(microvascular endothelial cells, HMVECs)置于高糖和低生长因子环境下培养,发现 miR-503 的表达水平显著上调<sup>[9]</sup>,同时 miR-503 过表达会损伤细胞间信号网络,减弱细胞的迁移能力,抑制细胞增殖。进一步研究发现,两个细胞周期调节因子:细胞分裂周期蛋白 25A(Cdc25A)和细胞周期蛋白 E1(CCNE1)是 miR-503 作用的靶基因。体外实验也证实,糖尿病小鼠截肢缺血后的肌肉组织中注射 miR-503 过表达腺病毒,可以增加毛细血管和小动脉密度,并使 Cdc25A 和 CCNE1 恢复到正常水平<sup>[5]</sup>。miR-146a 可以通过靶向纤维连接蛋白(fibronectin, FN)影响胞外基质的产生。高浓度的葡萄糖处理 HUVECs 细胞会使得 miR-146a 表达下调和纤维连接蛋白的上调,过表达 miR-146a 则可以使 FN 回到正常水平。在糖尿病小鼠模型中,miR-146a 表达下调,与之相对应的是纤维连接蛋白表达的增加。

2 循环 miRNA 与 2 型糖尿病 最新研究证实,miRNA 也广泛存在血清、血浆和其他体液中而不会被内源性 RNA 酶所降解<sup>[2]</sup>。在不同的病理生理状况下,循环 miRNA 的表达谱并不相同,循环中 miRNA 有可能作为一些疾病包括癌症<sup>[2]</sup>、心力衰竭<sup>[10]</sup>、肝损伤<sup>[11]</sup>等潜在的新型标志物。血浆中 miRNA 可来源于循环中的血细胞和组织细胞分泌或释放<sup>[2]</sup>。循环中的 miRNA 可以存在于一些膜

性小囊泡(membranous vesicles, MV)中,包括胞外体(exosomes)、微粒体(microparticles, MP)和凋亡小体(apoptotic bodies),还可以与高密度脂蛋白或 RNA 结合蛋白相结合存在,细胞在生理或病理情况可以胞外体等形式向外释放 miRNA<sup>[2]</sup>。细胞分泌的 miRNA 可以传递到靶细胞并调节相关基因的表达,影响靶细胞的功能。而在不同病理作用下,高密度脂蛋白所携带的 miRNA 会有所不同,高密度脂蛋白也可以携带和转运 miRNA,参与细胞间的信息交流<sup>[4,7,8]</sup>。细胞在不同生理和病理状况可选择性的将不同 miRNA 包裹进不同类型囊泡,使得不同生理和病理状况下,血浆 miRNA 的种类和含量可能会发生改变,血浆中 miRNA 可能作为疾病的生物标志物。胰岛素敏感组织发生胰岛素抵抗是糖尿病发生的重要原因,胰岛素敏感组织能以囊泡的形式释放 miRNA 进入血液循环<sup>[2]</sup>,因此,血浆 miRNA 有可能反映 2 型糖尿病的发生发展情况。Chen 等<sup>[12]</sup>在 2008 年首次证实 2 型糖尿病患者血清 miRNA 表达谱发生了改变。随后 Karolina 等<sup>[13~15]</sup>课题组分别报道了糖尿病血清中表达发生改变的一些 miRNA,而且其中一些 miRNA 的水平在糖尿病发生数年前就已经显著改变,因此这些 miRNA 有可能成为糖尿病发生的很好的生物标志物。Kong 等<sup>[15]</sup>对 7 个涉及 2 型糖尿病病理和胰岛素释放的 miRNA 包括 miR-9, miR-29a, miR-30d, miR-34a, miR-124a, miR-146a 和 miR-375 在血清中的含量进行检测,发现它们均显著上调,其中 miR-34a 的变化最大。Zampatakis 等<sup>[14]</sup>的结果表明在 2 型糖尿病患者血清中 miR-24, miR-21, miR-20b, miR-15a, miR-126, miR-191, miR-197, miR-223, miR-320, miR-486, miR-150 和 miR-29b 的含量是下降的,但 miR-28-3p 却是升高的,而且这些 miRNA 的表达水平与空腹血糖的水平呈反相关。Pescador 等<sup>[16]</sup>比较了肥胖、非肥胖型糖尿病、肥胖型糖尿病和健康人血清 miRNA 得出:miR-138 和 miR-376a 在肥胖病人与健康对照、非肥胖型糖尿病、肥胖型糖尿病人中有显著差异,而同时运用 miR-503 和 miR-138 的表达水平可以区分肥胖型糖尿病和非肥胖型糖尿病。此外,在冠心病患者中,伴有糖尿病的患者比没有糖尿病的患者血清 miR-145 要更低<sup>[18]</sup>。Erener 等<sup>[17]</sup>通过小鼠的实验证实,循环 miR-375 可用来预测胰岛  $\beta$  细胞的死亡,具有预测糖尿病发生的潜力。综上所述,血浆 miRNA 具有作为 2 型糖尿病生物标志物的可能性。

3 循环 miRNA 参与糖尿病的潜在作用机制 血浆 miRNA 有可能作为糖尿病生物标志物并参与

糖尿病的发生和发展的机制可能包括两个方面:①血浆中某些 miRNA 来源于特定器官或组织,其含量反映了该器官或组织的病理生理状况。组织或器官在生理或病理状态发生改变时,释放入血液的 miRNA 种类和数量会有所不同,使得血浆 miRNA 的变化可以反映机体组织或器官的状态,对糖尿病的发生和发展起到生物标志物的作用。如 miR-375 为胰腺特异的 miRNA,对正常胰岛的形成,维持胰岛  $\beta$  细胞的功能和葡萄糖刺激的胰岛素分泌具有重要作用,在动物模型中血浆 miR-375 含量升高则预示着胰岛  $\beta$  细胞的损伤和糖尿病的发生<sup>[17]</sup>;miR-126 是内皮细胞特有的 miRNA,可以通过抑制 Dlk1 和 Spred-1 促进内皮细胞的增殖和修复,对与保持内皮细胞的完整性和功能的正常具有重要作用<sup>[19]</sup>。血清中 miR-126 含量的减少则可能意味着 2 型糖尿病的发生<sup>[20]</sup>。值得注意的是,有些脏器所占机体的比例比较小,在发生疾病时其中含量比较少的一些 miRNA 的变化可能不是很明显,难以观察或测定。因此不是每种 miRNA 都适合于作为疾病的生物标志物的。②血浆中某些 miRNA 对于糖尿病形成相关的一些器官或组织具有调节作用,这些 miRNA 含量的多少会影响组织或器官的功能,继而有可能导致糖尿病的发生。

内皮细胞功能障碍及其导致的血管病是糖尿病的重要病理基础<sup>[21]</sup>。而胰腺具有分泌胰岛素的作用,在糖尿病的发生发展过程中胰岛  $\beta$  细胞的功能改变起了重要作用。事实上,内皮细胞与胰岛  $\beta$  细胞间存在信息交流,这对于胰岛  $\beta$  细胞病理和生理的功能具有重要影响<sup>[22]</sup>,胰岛内皮细胞释放的肝细胞生长因子可以影响  $\beta$  细胞的增殖和分化<sup>[23]</sup>。另一方面,胰岛  $\beta$  细胞也可以释放促血管生成因子,促进胰岛血管的生成<sup>[24,25]</sup>。血浆 miRNA 可以通过胞外体或与高密度脂蛋白结合的形式稳定地存在于血浆中,并传递到靶细胞,对靶细胞受体起到调节作用,从而影响到细胞的功能<sup>[26]</sup>。胰腺释放的胞外体包含一些被称为血管生成的 miRNA (angiomirs),包括 miR-126, miR-296, miR-130 和 miR-27b,可以通过增强内皮细胞生长因子 VEGF, EGF, FGF, PDGF 的信号来促进血管的生成<sup>[27]</sup>。由于内皮细胞可以影响胰岛  $\beta$  细胞的增殖和分化,而胞外体是间隔细胞间信息交流的重要途径,因此我们可以推测内皮细胞释放的胞外体中包含的某些 miRNA 可能对胰腺具有重要的调节作用。血浆中 miRNA 种类和含量的改变可能影响内皮细胞和胰腺之间的信息交流。而内皮细胞和胰腺在糖尿病发生和发展过程中具有重要作

用。因此,可以认为血浆中某些 miRNA 的改变可能会导致糖尿病的发生。

4 问题与展望 miRNA 对代谢平衡、细胞信息交流等都起到了重要的调节作用,血浆中的 miRNA 可以存在于胞外体、微粒体、凋亡小体中,也可以和高密度脂蛋白相结合。miRNA 供体细胞可通过这些形式将 miRNA 释放入血液,传递到受体细胞并对受体细胞的靶基因产生影响。而这些 miRNA 并不是随机地进入胞外体、微粒体、凋亡小体或与高密度脂蛋白相结合的。在不同生理或病理情况下,胞外体、微粒体、凋亡小体及高密度脂蛋白结合的 miRNA 会有所不同。目前对于这些 miRNA 是如何被分拣到胞外体、微粒体、凋亡小体或与高密度脂蛋白相结合的目前还不是很清楚。在糖尿病中,血浆 miRNA 在胰岛素敏感组织间的信号交流中所起的作用依然有待研究。血浆 miRNA 可能通过转运到其它细胞,对肥胖、胰岛素抵抗、胰腺对胰岛素的释放、炎症、内皮细胞损伤等起到调节作用。而由于它们存在于胞外体、微粒体、凋亡小体或与高密度脂蛋白相结合,使得它们可以在血浆中稳定的存在,并且在不同生理和病理状态下 miRNA 的释放会有所不同,因此我们有理由推测血浆 miRNA 有可能作为糖尿病的生物标志物。

#### 参考文献:

- [1] Fernandez-Valverde SL, Taft RJ, Mattick JS. MicroRNAs in  $\beta$ -cell biology/Insulin resistance, diabetes and its complications [J]. Diabetes, 2011, 60 (7): 1825-1831.
- [2] Rome S. Are extracellular microRNAs involved in type 2 diabetes and related pathologies? [J]. Clin Biochem, 2013, 46(10/11): 937-945.
- [3] Dehwal MA, Xu A, Huang Q. MicroRNAs and type 2 diabetes/obesity [J]. J Genet Genomics, 2012, 39 (1): 11-18.
- [4] Poy MN, Eliasson L, Krutzfeldt J, et al. A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion [J]. Nature, 2004, 432(7014): 226-230.
- [5] Lorenzen J, Kumarswamy R, Dangwal S, et al. MicroRNAs in diabetes and diabetes-associated complications [J]. RNA Biol, 2012, 9(6): 820-827.
- [6] Tang X, Muniappan L, Tang G, et al. 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.
- [7] Poy MN, Hausser J, Trajkovski M, et al. miR-375 maintains normal pancreatic alpha and beta-cell mass [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106 (14): 5813-5818.
- [8] El Ouamari A, Baroukh N, Martens GA, et al. miR-375 targets 3'-phosphoinositide-dependent protein kinase-1 and regulates glucose-induced biological responses in pancreatic beta-cells [J]. Diabetes, 2008, 57 (10): 2708-1717.
- [9] Caporali A, Meloni M, Völlenkle C, et al. Dereglulation of microRNA-503 contributes to diabetes mellitus-induced impairment of endothelial (下转 12 页)

- function and reparative angiogenesis after limb ischemia[J]. *Circulation*, 2011, 123(3):282-291.
- [10] Fan KL, Zhang HF, Shen J, et al. Circulating microRNAs levels in Chinese heart failure patients caused by dilated cardiomyopathy[J]. *Indian Heart J*, 2013, 65(1):12-16.
- [11] Yang X, Weng Z, Mendrick DL, et al. Circulating extracellular vesicles as a potential source of new biomarkers of drug-induced liver injury[J]. *Toxicol Lett*, 2014, 225(3):401-406.
- [12] Chen X, Ba Y, Ma L, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases[J]. *Cell Res*, 2008, 18(10):997-1006.
- [13] Karolina DS, Armugam A, Tavintharan S, et al. MicroRNA 144 impairs insulin signaling by inhibiting the expression of insulin receptor substrate 1 in type 2 diabetes mellitus[J]. *PLoS One*, 2011, 6(8):e22839.
- [14] Zampetaki A, Kiechl S, Drozdov I, et al. Plasma microRNA profiling reveals loss of endothelial miR-126 and other microRNAs in type 2 diabetes[J]. *Circ Res*, 2010, 107(6):810-817.
- [15] Kong L, Zhu J, Han W, et al. Significance of serum microRNAs in pre-diabetes and newly diagnosed type 2 diabetes: a clinical study[J]. *Acta Diabetol*, 2011, 48(1):61-69.
- [16] Pescador N, Pérez-Barba M, Ibarra JM, et al. Serum circulating microRNA profiling for identification of potential type 2 diabetes and obesity biomarkers[J]. *PLoS One*, 2013, 8(10):e77251.
- [17] Erener S, Mojibian M, Fox JK, et al. Circulating miR-375 as a biomarker of  $\beta$ -cell death and diabetes in mice[J]. *Endocrinology*, 2013, 154(2):603-608.
- [18] Fichtlscherer S, De Rosa S, Fox H, et al. Circulating microRNAs in patients with coronary artery disease[J]. *Circ Res*, 2010, 107(5):677-684.
- [19] Schober A, Nazari-Jahantigh M, Wei Y, et al. MicroRNA-126-5p promotes endothelial proliferation and limits atherosclerosis by suppressing Dlk1[J]. *Nat Med*, 2014, 20(4):368-376.
- [20] Zhang T, Lv C, Li L, et al. Plasma miR-126 is a potential biomarker for early prediction of type 2 diabetes mellitus in susceptible individuals[J]. *Bio Med Res Int*, 2013(2013):Article ID761617, pages.
- [21] Steppan J, Nyhan D, Berkowitz DE. Development of novel arginase inhibitors for the rapy of endothelial dysfunction[J]. *Front Immunol*, 2013(4):278.
- [22] Johansson A, Lau J, Sandberg M, et al. Endothelial cell signalling supports pancreatic beta cell function in the rat[J]. *Diabetologia*, 2009, 52(11):2385-2394.
- [23] Golocheikine A, Tiriveedhi V, Angaswamy N, et al. Cooperative signaling for angiogenesis and neovascularization by VEGF and HGF following islet transplantation[J]. *Transplantation*, 2010, 90(7):725-731.
- [24] Vasir B, Jonas JC, Steil GM, et al. Gene expression of VEGF and its receptors Flk-1/KDR and Flt-1 in cultured and transplanted rat islets[J]. *Transplantation*, 2001, 71(7):924-935.
- [25] Lai Y, Schneider D, Kiszun A, et al. Vascular endothelial growth factor increases functional beta-cell mass by improvement of angiogenesis of isolated human and murine pancreatic islets[J]. *Transplantation*, 2005, 79(11):1530-1536.
- [26] Zhang Y, Liu D, Chen X, et al. Secreted monocytic-miR-150 enhances targeted endothelial cell migration[J]. *Mol Cell*, 2010, 39(1):133-144.
- [27] Figliolini F, Cantaluppi V, De Lena M, et al. Isolation, Characterization and Potential Role in Beta cell-endothelium cross-talk of extracellular vesicles released from human pancreatic islets[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7):e102521.