

# 表观遗传学在子代代谢性疾病发生中的作用

叶婷婷 董艳

**【摘要】** 相关动物实验及流行病学调查研究发现,子代发育早期特殊的营养状况如宫内发育迟缓和母体孕期低热量摄入、低蛋白饮食及高脂饮食,可通过表观遗传异常修饰改变子代代谢相关基因的表达水平,从而导致其日后代谢性疾病的发生。表观遗传修饰主要包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰和非编码 RNA 调控。这种发生在生命早期的变化属于健康和疾病的发育起源学说 (Developmental Origins of Health and Disease Hypothesis, DOHaD) 的范畴,其机制特别是表观遗传学研究方法的日益成熟,为指导孕期良好的饮食习惯,减少子代日后患代谢性疾病的风险提供参考。

**【关键词】** 母体营养;表观遗传学;代谢性疾病;DNA 甲基化;组蛋白修饰;非编码 RNA 调控

**Role of epigenetics in the development of metabolic diseases in offsprings** Ye Tingting, Dong Yan. Department of Endocrinology, Xinhua Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200092, China

Corresponding author: Dong Yan, Email: yandong00@hotmail.com

**【Abstract】** Relevant animal experiments and epidemiological research findings support that in the early development special nutritional status, such as intrauterine growth restricted, maternal low-calorie, low-protein and high-fat diet during gestation, can change their expression of metabolism-related genes by modifying epigenetic abnormally that lead to the development of metabolic diseases in offsprings. Epigenetic modifications mainly include DNA methylation, histone modifications and non-coding RNA regulation. These modifications occurred in early life belong to the category of Developmental Origins of Health and Disease Hypothesis, and its mechanisms, especially its maturing methods on epigenetic research, can provide a reference to guide a healthy diet habit during pregnancy in order to reduce the risk of developing metabolic diseases in their offsprings later.

**【Key words】** Maternal nutrition; Epigenetics; Metabolic diseases; DNA Methylation; Histone modifications; Non-coding RNA regulation

(Int J Endocrinol Metab, 2014, 34: 60-62)

20 世纪 80 年代提出的胎源性成人疾病 (Fetal Origins adult disease, FOAD) 及其现已发展成为的健康和疾病的发育起源学说 (Developmental Origins of Health and Disease Hypothesis, DOHaD) 都强调母亲孕期营养状态对子代生长发育至关重要,充足的宫内营养是子代健康生长发育的基础,而孕期不良营养状态则可增加子代成年后发生代谢性疾病的风险<sup>[1]</sup>。随着 DOHaD 日渐成熟,其机制之一表观遗传学得到广泛的关注和认可。表观遗传学是一门研究在 DNA 序列不变的情况下基因功能发生改变,并

最终导致表型变化,且这种改变可伴随发育或细胞增殖稳定遗传并有可逆潜能的遗传学分支学科。在此就母体孕期营养对子代产生的表观遗传修饰,最终导致其日后发生代谢性疾病之间的关系作如下综述。

## 1 表观遗传基本特征

表观遗传修饰主要包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰和非编码 RNA 调控。哺乳动物基因组 DNA 甲基化以 CpG 二核苷酸中胞嘧啶 5 位碳原子的甲基化最为常见,而且这种甲基化修饰可随 DNA 复制及细胞分裂传递至下一代细胞。DNA 中的 CpG 岛常位于基因表达的调控区 (启动子或者第一个外显子) 内, CpG 岛的高甲基化可诱导基因沉默,而去甲基化则与基因活化有关。DNA 的甲基化受 DNA 甲基

转移酶(DNMTs)的调控,DNMTs 分为 DNMT3(DNMT3a,DNMT3b)和 DNMT1 两类。前者主要参与从头甲基化及异常甲基化的合成,后者主要维持 DNA 甲基化状态<sup>[2]</sup>。

组蛋白修饰是组蛋白氨基酸末端接受乙酰化、甲基化、磷酸化、糖基化、生物素酰化、泛素化以及 ADP 核糖基化等修饰,其中最为常见的是组蛋白 H3 和 H4 氨基末端赖氨酸残基的乙酰化和甲基化。组蛋白的乙酰化或去乙酰化有赖于组蛋白乙酰化转移酶(HATs)和组蛋白去乙酰化酶(HDACs)的相互作用,通过增加或降低乙酰化水平可改变基因的表达活性<sup>[3]</sup>。组蛋白的甲基化修饰则主要发生在 H3 和 H4 组蛋白 N 端赖氨酸或精氨酸残基上,由组蛋白甲基转移酶催化,H3K4 位点的甲基化与基因表达水平增加有关,而 H3K9 位点甲基化则引起基因表达降低。

非编码 RNA 调控是指功能性非编码 RNA,特别是短链 RNA 中的 microRNA(miRNA)对基因表达的调控作用,主要是通过与靶基因的 mRNA 互补配对,使靶基因 mRNA 翻译抑制或降解,从而影响基因的表达。

## 2 子代代谢性疾病发生的表观遗传学机制

近年来研究发现营养影响基因表达的关键时期是个体早期生长发育阶段,特别是胎儿发育期和(或)新生儿期,故发生在这个特殊时期的营养变化易通过表观遗传作用诱导子代成年后罹患肥胖等代谢性疾病。

**2.1 宫内发育迟缓(IUGR)** 结扎小鼠双侧子宫动脉造成 IUGR 可引起 DNA 甲基化,一碳单位代谢和组蛋白乙酰化的改变。Park 等<sup>[4]</sup>发现 IUGR 子代胎儿期胰-十二指肠同源盒因子(Pdx)-1 基因组蛋白乙酰化修饰,表现为 Pdx-1 近端启动子丢失 USF-1(Pdx-1 转录的关键活性因子),同时招募共因子 HDAC1/Sin3A 复合物,可致 H3、H4 乙酰化水平下降,抑制 Pdx-1 转录,导致其表达下降。而在子代出生后,Pdx-1 基因以甲基化修饰为主,包括组蛋白甲基化修饰和 DNA 甲基化修饰,出现 H3K4me3 丢失,伴 H3K9me2 增加,从而导致 Pdx-1 基因的表达下降。新生儿早期的这些变化尚可通过抑制 HDAC 得到逆转,然而随着 H3K9 甲基化的积累,DNMT3a 作用于 Pdx-1 基因启动子,出现 DNA 甲基化修饰,将会导致 Pdx-1 基因表达的永久沉默,从而引起  $\beta$  细胞功能障碍,最终出现糖尿病<sup>[4]</sup>。也有研究发现 IUGR 动物胰岛  $\beta$  细胞内 Pdx-1 近端启动子组蛋白甲基

转移酶 SET 7/9 丢失,导致 H3K4 甲基化水平下降,从而使基因表达受限。另外甲基-CpG 结合域蛋白 2(MeCP2)也可通过组蛋白去乙酰化修饰,参与 Pdx-1 表达的调控。研究发现,IUGR 子代中 MeCP2 可通过招募共抑制因子 Sin3A、HDAC1 和 Suv39h(一种 H3K9 甲基转移酶)至其转录抑制结构域,形成抑制复合物后引起 H3 去乙酰化和 H3K9 甲基化,使得 Pdx-1 表达下降,同时 H3 去乙酰化亦可通过 H3K4 甲基化丢失进一步抑制 Pdx-1 的表达<sup>[5]</sup>。Pinney 等<sup>[6]</sup>研究发现,降糖药物胰高血糖素样肽-1 受体激动剂(exendin-4)可通过逆转 Pdx-1 基因的表观遗传修饰而达到改善  $\beta$  细胞功能的作用。IUGR 子代在其新生儿期接受 exendin-4 治疗可通过增加 Pdx-1 近端启动子上 USF-1 和 PCAF 的结合来增加 HATs 的活性,促进 H3 乙酰化和 H3K4 甲基化,修复 Pdx-1 启动子的基因结构,增加 Pdx-1 基因表达,最终阻止 IUGR 子代糖尿病的发生。

**2.2 母体低热量摄入的影响** 对于低热量摄入的研究较为经典的是以 1944—1945 年荷兰冬天大饥荒中的孕妇为研究对象,经过 60 年后发现孕期经历过饥荒母亲的子代胰岛素样生长因子 2 基因甲基化水平低于未经历过饥荒母亲的子代,首次证实了孕期营养条件可引起子代表观遗传变化且这种变化将伴随终生的假说<sup>[7]</sup>。在动物模型研究中也得到了类似结果,孕鼠孕期第 11 天到第 21 天每日减少 50%热量摄入后,其子代骨骼肌中葡萄糖转运蛋白(Glut)4 基因表达量下降。进一步研究发现,子代 Glut4 基因启动子区 MeCP2 含量增加,新生儿期 DNMT1 及成年期 DNMT3a/3b 活性增加,促进 Glut4 基因甲基化修饰;同时 H3K14 去乙酰化和 H3K9 甲基化水平增加协同作用引起 Glut4 基因组蛋白修饰,这些改变共同作用最终抑制 Glut4 基因的转录,使 Glut4 表达下降,引起胰岛素刺激的外周组织葡萄糖摄入途径受损,从而出现胰岛素抵抗和 2 型糖尿病<sup>[8-9]</sup>。同样,在以小鼠为模型的研究中亦已证实,孕期饮食减少的母鼠会生产出“小样儿(small litter, SL)”,低出生体重新生儿如予以过度饮食则可加重脂质沉积引起肥胖、高瘦素血症、高胰岛素血症、糖耐量受损、高甘油三酯血症以及高血压,在青少年期及成年期易发生代谢综合征<sup>[10-12]</sup>。这种饮食过度的行为改变与新生儿下丘脑调控食欲、体重及代谢的基因启动子区 DNA 甲基化改变有关,如新生儿期过度喂养后子鼠的神经激素前阿片促黑激素皮质素原基因启动子区的活化性转录因子结合部位

甲基化水平增加,而抑制性转录因子结合部位甲基化水平降低<sup>[10]</sup>。小鼠新生儿期过度喂养还可出现下丘脑中胰岛素受体启动子区的甲基化水平增加,引起胰岛素受体基因表达减少,导致胰岛素抵抗及营养依赖的“饮食肥胖”的发生<sup>[11]</sup>。由此可见母体低热量摄入以及子代新生儿期饮食过度也是成年后发生代谢综合征的一个危险因素。

**2.3 母体低蛋白饮食的影响** 母体低蛋白饮食常被用来作为孕期营养不良的研究模型,可引起子代代谢相关基因的表达改变,而且这些改变可以稳定持续到成年期。Sandovici 等<sup>[13]</sup>发现低蛋白饮食母鼠的子代其成年期胰岛细胞中肝细胞核因子 4 $\alpha$  (Hnf4 $\alpha$ ) mRNA 量程序化减少,进一步研究发现子代 Hnf4 $\alpha$  基因增强子区出现组蛋白修饰,表现为 H3K4me1 减少,而 H3K9me2 相对过剩,引起增强子区沉默,削弱了 Hnf4 $\alpha$  基因 P2 启动子及其下游增强子间的相互作用,同时低蛋白饮食使得 P2 启动子甲基化程度轻度升高,两种方式的修饰共同作用导致 Hnf4 $\alpha$  基因的表达永久减少,从而增加子代患 2 型糖尿病的风险。有研究报道低蛋白饮食也可影响 Glut4 基因的表达,且有性别差异。母体低蛋白饮食可引起雌性子代骨骼肌中 Glut4 基因启动子区 H3、H4 乙酰化水平和 H3K4 甲基化水平上升,Glut4 基因的表达显著升高,因此骨骼肌中糖原合酶及糖原含量均增加;而雄性子代骨骼肌中却未出现上述变化,这种骨骼肌中 Glut4 表达的性别差异可能说明了低蛋白饮食母体的雄性子代更易发生高胰岛素抵抗及 2 型糖尿病<sup>[9]</sup>。

**2.4 母体高脂饮食的影响** 新近有研究报道母体高脂饮食可通过多种表观遗传修饰来改变代谢相关的特殊基因的表达,这种遗传修饰以基因甲基化改变为多见,如 Vucetic 等<sup>[14]</sup>发现孕期母鼠高脂饮食其子代脑中整体基因组水平和特殊基因,如多巴胺重摄取转运子基因、鸦片受体基因和前脑啡肽原基因的启动子呈现低甲基化水平,从而引起子代脑内多巴胺基因和鸦片相关基因的表达增加,可能会激发子代对美味可口食物的喜好,通过行为改变来增加子代肥胖等的发生风险。Dudley 等<sup>[15]</sup>发现母鼠高脂饮食的子代其 Cdkn1 $\alpha$  基因甲基化水平下降,基因表达增加,引起肝脏脂肪变性及出现非酒精性脂肪性肝病的特征表现,肝功能长期受损。母体高脂饮食也会出现特殊基因的组蛋白修饰从而影响基因转录活性。Strakovsky 等<sup>[16]</sup>发现高脂饮食母鼠的子代肝脏中磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(Pck1)基

因发生组蛋白修饰,导致 Pck1 基因表达增加,而 PCK1 是调控糖异生的关键酶,因此子代肝糖异生能力增强,糖生成过度,血糖水平升高,导致其儿童期及成人期发生 2 型糖尿病的潜在风险增加。此外,母体高脂饮食也可引起子代出现 miRNA 的改变。有研究发现,高脂饮食母体其子代 5.7%(总共 579 种)的 miRNA 表达发生改变,其中 23 种表达下降,包括 miRNA -709,-122,-192,-194,-26a,-let7s,-494 及-483 等,这些关键的 miRNA 变化可干扰生长及脂代谢等相关基因的表达,从而引起代谢性疾病的发生<sup>[17]</sup>。

自 2003 年人类表观基因组计划提出后,越来越多的研究致力于揭示早期生长发育环境与表观遗传修饰的联系,通过这种基因可修饰影响整体或某些特殊基因的表达水平,最终诱导成人期肥胖、2 型糖尿病等代谢性疾病的发生,因此母体健康的孕期营养状况值得密切关注。指导孕期良好的饮食习惯可以减少表观遗传修饰的有害影响,大大减少子代患代谢性疾病的风险。

## 参 考 文 献

- [1] Uauy R, Kain J, Corvalan C. How can the Developmental Origins of Health and Disease(DOHaD)hypothesis contribute to improving health in developing countries?[J]. Am J Clin Nutr, 2011, 94(6 Suppl):1759S-1764S.
- [2] Clouaire T, Stancheva I. Methyl-CpG binding proteins: specialized transcriptional repressors or structural components of chromatin?[J]. Cell Mol Life Sci, 2008, 65(10):1509-1522.
- [3] Pham TX, Lee J. Dietary regulation of histone acetylases and deacetylases for the prevention of metabolic diseases [J]. Nutrients, 2012, 4(12):1868-1886.
- [4] Park JH, Stoffers DA, Nicholls RD, et al. Development of type 2 diabetes following intrauterine growth retardation in rats is associated with progressive epigenetic silencing of Pdx1[J]. J Clin Invest, 2008, 118(16): 2316-2324.
- [5] Simmons RA. Developmental origins of beta-cell failure in type 2 diabetes; the role of epigenetic mechanisms [J]. Pediatr Res, 2007, 61(5 Pt 2):64R-67R.
- [6] Pinney SE, Jaekle Santos LJ, Han Y, et al. Exendin-4 increases histone acetylase activity and reverses epigenetic modifications that silence Pdx1 in the intrauterine growth retarded rat[J]. Diabetologia, 2011, 54(10):2606-2614.
- [7] Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD, et al. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(44):17046-17049.
- [8] Raychaudhuri N, Raychaudhuri S, Thamotharan M, et al. Histone code modifications repress glucose transporter 4 expression in the intrauterine growth-restricted offspring [J]. J Biol Chem, 2008, 283(20): 13611-13626.
- [9] Zheng S, Rollet M, Pan YX. Protein restriction during gestation



- istics in different trimesters [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96(5):E810-E815.
- [10] Ryckman KK, Feenstra B, Shaffer JR, et al. Replication of a genome-wide association study of birth weight in preterm neonates [J]. *J Pediatr*, 2012, 160(1):19-24.e4.
- [11] 陈莉明. 糖尿病遗传学研究进展——2010 年美国糖尿病协会年会侧记 [J]. *国际内分泌代谢杂志*, 2010, 30(5):299-301.
- [12] Zhao J, Deliard S, Aziz A, et al. Expression analyses of the genes harbored by the type 2 diabetes and pediatric BMI associated locus on 10q23 [J]. *BMC Med Genet*, 2012, 13:89.
- [13] Guo Q, Manolopoulou M, Bian Y, et al. Molecular basis for the recognition and cleavages of IGF- II, TGF- $\alpha$ , and amylin by human insulin-degrading enzyme [J]. *J Mol Biol*, 2010, 395(2):430-443.
- [14] Okada Y, Kubo M, Ohmiya H, et al. Common variants at CDKAL1 and KLF9 are associated with body mass index in east Asian populations [J]. *Nat Genet*, 2012, 44(3):302-306.
- [15] Freathy RM, Bennett AJ, Ring SM, et al. Type 2 diabetes risk alleles are associated with reduced size at birth [J]. *Diabetes*, 2009, 58(6):1428-1433.
- [16] Pulizzi N, Lyssenko V, Jonsson A, et al. Interaction between prenatal growth and high-risk genotypes in the development of type 2 diabetes [J]. *Diabetologia*, 2009, 52(5):825-829.
- [17] Zhao J, Li M, Bradfield JP, et al. Examination of type 2 diabetes loci implicates CDKAL1 as a birth weight gene [J]. *Diabetes*, 2009, 58:2414-2418.
- [18] Wu Y, Li H, Loos RJ, et al. Common variants in CDKAL1, CDKN2A/B, IGF2BP2, SLC30A8, and HHEX/IDE genes are associated with type 2 diabetes and impaired fasting glucose in a Chinese Han population [J]. *Diabetes*, 2008, 57(10):2834-2842.
- [19] Winkler C, Illig T, Koczwara K, et al. HHEX-IDE polymorphism is associated with low birth weight in offspring with a family history of type 1 diabetes [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009, 94(10):4113-4115.
- [20] Bergvall N, Lindam A, Pawitan Y, et al. Importance of familial factors in associations between offspring birth weight and parental risk of type-2 diabetes [J]. *Int J Epidemiol*, 2008, 37(1):185-192.
- [21] Ng SF, Lin RC, Laybutt DR, et al. Chronic high-fat diet in fathers programs  $\beta$ -cell dysfunction in female rat offspring [J]. *Nature*, 2010, 467(7318):963-966.
- [22] Ali Khan A, Rodriguez A, Sebert S, et al. The interplay of variants near LEKR and CCNL1 and social stress in relation to birth size [J]. *PLoS One*, 2012, 7(6):e38216.
- [23] Freathy RM, Weedon MN, Bennett A, et al. Type 2 diabetes TCF7L2 risk genotypes alter birth weight: a study of 24,053 individuals [J]. *Am J Hum Genet*, 2007, 80(6):1150-1161.
- [24] Winkler C, Bonifacio E, Grallert H, et al. BMI at age 8 years is influenced by the type 2 diabetes susceptibility genes HHEX-IDE and CDKAL1 [J]. *Diabetes*, 2010, 59(8):2063-2067.

(收稿日期:2013-08-10)

(上接第 62 页)

- alters histone modifications at the glucose transporter 4 (GLUT4) promoter region and induces GLUT4 expression in skeletal muscle of female rat offspring [J]. *J Nutr Biochem*, 2012, 23(9):1064-1071.
- [10] Plagemann A, Harder T, Schellong K, et al. Early postnatal life as a critical time window for determination of long-term metabolic health [J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2012, 26(5):641-653.
- [11] Plagemann A, Roepke K, Harder T, et al. Epigenetic malprogramming of the insulin receptor promoter due to developmental overfeeding [J]. *J Perinat Med*, 2010, 38(4):393-400.
- [12] Tosh DN, Fu Q, Callaway CW, et al. Epigenetics of programmed obesity: alteration in IUGR rat hepatic IGF1 mRNA expression and histone structure in rapid vs. delayed postnatal catch-up growth [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2010, 299(5):G1023-G1029.
- [13] Sandovici I, Smith NH, Nitert MD, et al. Maternal diet and aging alter the epigenetic control of a promoter-enhancer interaction at the Hnf4 $\alpha$  gene in rat pancreatic islets [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(13):5449-5454.
- [14] Vucetic Z, Kimmel J, Totoki K, et al. Maternal high-fat diet alters methylation and gene expression of dopamine and opioid-related genes [J]. *Endocrinology*, 2010, 151(10):4756-4764.
- [15] Dudley KJ, Sloboda DM, Connor KL, et al. Offspring of mothers fed a high fat diet display hepatic cell cycle inhibition and associated changes in gene expression and DNA methylation [J]. *PLoS One*, 2011, 6(7):e21662.
- [16] Strakovsky RS, Zhang X, Zhou D, et al. Gestational high fat diet programs hepatic phosphoenolpyruvate carboxykinase gene expression and histone modification in neonatal offspring rats [J]. *J Physiol*, 2011, 589(Pt 11):2707-2717.
- [17] Zhang J, Zhang F, Didelot X, et al. Maternal high fat diet during pregnancy and lactation alters hepatic expression of insulin like growth factor-2 and key microRNAs in the adult offspring [J]. *BMC Genomics*, 2009, 10:478.

(收稿日期:2013-08-20)