

## • 综述 •

## 长链非编码 RNA 与糖尿病

黄珊珊 鲁一兵

**【摘要】** 长链非编码 RNA 在生命活动中具有重要的调节功能,其表达紊乱与多种人类疾病密切相关。LncRNA 通过信号模式、诱饵模式、指引模式及支架模式等发挥调控基因表达的作用。近年来,研究证实一些 lncRNA,如 ANRIL、PVT1、HI-LNC25、H19 和 Airn、MIAT、MEG3、Hymai 等是参与糖尿病发生、发展的重要调控分子,这些 lncRNA 将成为新的诊断标志物及治疗靶点。

**【关键词】** 长链非编码 RNA; 糖尿病

**Long non-coding RNA and diabetes mellitus** Huang Shanshan\*, Lu Yibing. \*Department of Endocrinology, The Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210000, China  
Corresponding author: Lu Yibing, Email: luyibing2004@126.com

**【Abstract】** Long non-coding RNAs (lncRNAs) play important roles in biological processes and the dysregulation of lncRNAs is strongly related to a variety of human diseases. LncRNAs execute molecular functions through signals, decoys, guides, and scaffolds model to regulate gene expression. In recent years, some studies confirm that lncRNAs, such as ANRIL, PVT1, HI-LNC25, H19, Airn, MIAT, MEG3, Hymai are important regulatory molecules participate in the occurrence and development of diabetes. Furthermore, those lncRNAs may be new diagnostic markers and therapeutic targets.

**【Key words】** Long non-coding RNA; Diabetes mellitus

(Int J Endocrinol Metab, 2015, 35: 271-274)

随着人类基因组计划的完成,发现在基因转录的 RNA 中,只有 2% 的 RNA 能够编码蛋白质,如 mRNA, 剩余 98% 为非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA), 且按照转录本长度不同可分为短链非编码 RNA 和长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA)<sup>[1]</sup>。LncRNA 是一类转录本长度大于 200 nt 的没有编码蛋白质功能的 RNA, 既往被误认为是“基因转录的噪声”, 是 RNA 聚合酶 II 转录的副产物, 没有生物学功能<sup>[2]</sup>。然而, 近年来研究表明, lncRNA 通过遗传水平、转录水平以及转录后水平等多个层面调控基因表达, 与许多生物学过程, 如胚胎的发育, 细胞增殖、分化、凋亡, 以及多种疾病包括糖尿病的发生、发展密切相关<sup>[3]</sup>。因此, 对 lncRNA 与糖尿病关系的深入探究将有助于揭示 lncRNA 在糖尿病中的调控机制, 从而为糖尿病的治疗提供新思路。

## 1 LncRNA 的分类及特点

LncRNA 位于细胞核或细胞质中, 与 mRNA 相

同的是, 存在帽子及 polyA 尾巴等结构, 但没有开放阅读框, 因而无编码蛋白质的功能<sup>[4]</sup>。根据 lncRNA 与蛋白质编码基因的位置不同, 可分为同义 lncRNA、反义 lncRNA、双向 lncRNA、内含子 lncRNA、基因间 lncRNA<sup>[1]</sup>。

在特点上, lncRNA 的序列保守性较差, 但弱保守性并不意味着缺乏功能, 已经有研究表明, lncRNA 随着人类进化高速变异, 较蛋白质编码基因更易发生改变, 可以适应进化的压力产生快速而敏感的调节, 而在其他灵长类动物中则高度保守, 从而形成了物种间及物种内的差异<sup>[5-6]</sup>。另一方面, 其二级结构却具有强保守性, 提示其可能具有重要的生物学功能<sup>[7]</sup>。研究还发现, lncRNA 具有组织特异性, 即在不同组织中, lncRNA 的表达量不同。Perez 等<sup>[8]</sup>发现在肿瘤组织(如乳腺癌和卵巢癌)中某些 lncRNA 的表达与人体正常组织中存在差异, 并且有几个差异始终如一, 提示 lncRNA 的表达差异可能与多种疾病的发生、发展存在密切联系。此外, lncRNA 还具有时空特异性, 即在同一组织或者器官的不同生长阶段, 其中的 lncRNA 表达量也会变化。

## 2 LncRNA 的分子作用机制

传统生物学基因调控的观点集中在 DNA-mRNA-

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2015.04.016

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81270896)

作者单位: 210011 南京医科大学第二临床医学院(黄珊珊); 南京医科大学第二附属医院内分泌科(鲁一兵)

通信作者: 鲁一兵, Email: luyibing2004@126.com

蛋白质中心法则,然而,在过去的 10 余年中,研究者发现在发展进化过程中,生物体的复杂性主要是依靠基因的非编码部分调控<sup>[9]</sup>。在非编码部分中,小 ncRNAs 如 siRNAs、micro RNAs 和 piRNAs 序列具有高度保守性,通过特定的碱基配对参与转录和转录后的基因沉默。但 lncRNAs 保守性差,且其调节基因的表达和多样化的机制尚未完全了解<sup>[10-12]</sup>。目前为止,只了解透彻一小部分功能 lncRNAs,其已经被证明能够控制基因表达程序的各个层面<sup>[13]</sup>。虽然,这些 RNA 序列几乎没有保守性,但在分子机制上却具有相似性,故将其作用模式分为:信号模式、诱饵模式、指引模式、支架模式,个别 lncRNA 可能满足多个模式,从而可以利用这 4 种作用模式构建出框架来探究 lncRNAs 如何作为生物信号传感器的这种属性<sup>[14]</sup>。

**2.1 信号模式** lncRNAs 在组织中能够特异性表达以及应对不同刺激,表明其表达是在非常强大的转录调控之下。因为 lncRNAs 的转录发生在一个非常具体的时间和地点,以此,lncRNAs 可以作为信号,来整合发展线索,解读细胞环境,或不同刺激作出反应。在这个模型中,一些 lncRNAs 具有监管功能,而另一些则仅仅是转录的副产品。这样可以通过它们相关 lncRNAs 的表达方便地推断调控元件的染色质状态。

**2.2 诱饵模式** 转录增强子和启动子无处不在,暗示了 lncRNAs 在调节转录中的核心作用<sup>[15]</sup>。这些 lncRNAs 调节转录的手段包括机制的多样性,其中一个主要的是作为诱饵分子多样性。这种模式的 lncRNAs 被转录,然后结合和调节目标蛋白质,但不产生任何额外的功能。

**2.3 指引模式** 主要分子机制是通过 guide-RNA 结合蛋白,然后直接定位到特定目标的核糖核蛋白复合物。

**2.4 支架模式** 传统观念认为,各种支架复合物的形成主要是依靠蛋白质的参与<sup>[16]</sup>。然而,最近的证据表明,lncRNA 也可能发挥类似的作用,这是功能最复杂的一类 lncRNA,它们能够同时结合多种效应因子,在时间和空间上影响转录激活或转录抑制。一旦清楚这种 lncRNA 是如何组装和调控的,便能有选择的去利用特定的信号组件,从而更改和重塑细胞行为。

### 3 lncRNA 与糖尿病

**3.1 ANRIL** 全基因组关联研究(GWAS)发现,与 2 型糖尿病发病风险增加相关的若干个单核苷酸多

态性(SNP)定位在细胞周期激酶抑制因子 4(INK4)基因表达的 lncRNA,即 ANRIL<sup>[17]</sup>。ANRIL 是 INK4 位点的反义长链非编码 RNA(antisense non-coding RNA in the INK4b Locus),该 INK4 位点编码 3 种基因:P15INK4B(p15)、p14ARF 和 p16INK4a(p16),通过和决定 G<sub>1</sub> 期细胞向 S 期转化进程中的细胞周期蛋白依赖性激酶 4/6(CDK4/6)特异性结合从而发挥负性调节作用,与 cyclin D1 共同完成对胰岛细胞增殖周期的调控。动物研究发现 P15INK4B(p15)基因的过表达可引起小鼠胰岛发育不全,出现糖尿病症状<sup>[18]</sup>。ANRIL 表达的下调可引起糖尿病在内的多种疾病的发生<sup>[19]</sup>。因 ANRIL 是其反义 lncRNA,由此推测 ANRIL 通过负调控 P15INK4B 表达而导致糖尿病。ANRIL 能够连接核心蛋白复合体 PRC2(polycomb repressive complex 2)与 P15INK4B 基因,介导基因沉默,下调其表达<sup>[20]</sup>。上述机制仅基于表观遗传水平,而 ANRIL 与糖尿病的关系可能更为复杂,推测与其 SNP 有关,SNP 可能会改变 ANRIL 的表达或功能,对  $\beta$  细胞的增殖能力产生影响,通过限制  $\beta$  细胞数量代偿性增加,增加糖尿病的易感性。

**3.2 PVT1** 糖尿病肾病是慢性肾功能衰竭和终末期肾病的最常见原因。其主要特点是细胞外基质过度积聚,肾小球和肾小管基底膜增厚,系膜基质增多,最终发展为肾小球硬化症和肾小管间质纤维化。虽然遗传和环境两大因素被公认导致了糖尿病肾病的发生、发展,但近年来发现,一些表观遗传因素如 DNA 甲基化、lncRNA、micro RNA 也能够调控生物机制导致细胞外基质积聚,从而促进糖尿病肾病的发生。PVT1(plasmacytoma variant translocation 1)也是一种 lncRNA,其位于人染色体 8q24,由 58 个腺嘌呤、116 个胞嘧啶、131 个鸟嘌呤和 55 个胸腺嘧啶组成,能够增加肾脏系膜细胞中纤溶酶原激活物抑制因子-1 和转化生长因子  $\beta_1$  的表达,从而导致在高糖状态下肾小球中细胞外基质的积聚,纤连蛋白 1 也随之增多<sup>[21]</sup>。同时,PVT1 能产生至少 6 个 miRNAs,如 miR-1204、-1205、-1206、-1207-5p、1207-3p 和 -1208<sup>[22]</sup>。与 PVT1 相似,高糖状态下在肾脏细胞中大量表达的 miR-1207-5p 亦能够增加转化生长因子  $\beta_1$ 、纤溶酶原激活物抑制因子-1 的表达量,且其作用方式独立于其宿主基因。PVT1 是第一个发现的与肾脏疾病有关的 lncRNA,但 PVT1 在细胞外基质聚积的作用机制是因其本身还是受其衍生的 miRNA 的影响仍有待进一步研究。

**3.3 HI-LNC25** Wang 和 Chang<sup>[14]</sup>已发现 lncRNA 能

够直接或间接地调控蛋白编码基因的表达。HI-LNC25 是一个长约 1.6 mb 的多功能外显子转录物,其不具有蛋白质编码的功能但包含胰岛特异的活性染色质簇,即一种胰岛特异性 lncRNA。为确定该 lncRNA 与糖尿病发病机制的关系,对糖尿病患者进行研究,结果发现 HI-LNC25 在糖尿病患者中的表达明显下调<sup>[23]</sup>。进一步研究该 lncRNA 的功能,研究者构建了一个通过葡萄糖刺激人  $\beta$  细胞系 (EndoC- $\beta$ -H1) 释放胰岛素的模型,通过抑制人  $\beta$  细胞中 HI-LNC25 RNA 的表达,检测了胰岛中 24 种 mRNA 的表达量。该实验观察到 Glis3 (Gli-similar3) mRNA 表达量明显减少<sup>[24]</sup>。因此 HI-LNC25 能够调控 Glis3 mRNA 的表达,但具体的作用机制不明。Glis3 是 GLI 样锌指蛋白家族的成员之一,其异常表达与新生儿糖尿病、1 型糖尿病、2 型糖尿病等密切相关。HI-LNC25 能够调控与糖尿病发生相关的蛋白编码基因的表达,且其本身具有高度胰岛特异性,可能为药物靶点的研究提供更加新颖的思路。

**3.4 H19 和 Airn** 胰岛素样生长因子 (IGFs) 是人体中最重要的生长因子之一,其家族由 IGF-1、IGF-2、IGF 受体以及 IGF 结合蛋白 (IGFBPs) 组成,通过 IGF-1 受体和 IGF-2 受体特异性介导从而促进细胞的生长、发育,参与机体多种病理生理过程,与糖尿病的发生密切相关。近年来研究发现,胰岛细胞中有两种能间接或直接调节 IGF 受体表达的 lncRNAs。一种是 H19,其在哺乳动物中呈现进化保守性,是最早被鉴定的印记基因之一,通过调控 miR-675 的表达,间接下调 IGF-1 受体,抑制妊娠期胎盘的生长<sup>[25]</sup>。另一种是 Airn (antisense to IGF-2R RNA non-coding),即 IGF-2 受体 mRNA 的反义非编码 RNA,它是一个从父缘染色体转录的印记基因,其发生转录重叠进而直接转录诱导沉默印记基因 IGF-2 受体<sup>[26]</sup>。这些发现表明 lncRNAs 可能在胰岛  $\beta$  细胞增殖、分化和糖尿病病理生理中扮演重要的角色。

**3.5 MIAT** Yan 等<sup>[27]</sup>发现在糖尿病大鼠及糖尿病患者中 MIAT 的表达量显著上调,同样在体外,高糖也能诱发 MIAT 的上调。而且,干扰 MIAT 的表达能够改善糖尿病状态下的视功能以及修复视网膜血管。在体内敲除 MIAT 基因能够减少血管漏以及减少糖尿病诱导的促炎因子的释放,从而缓解视网膜血管的损伤。由于内皮细胞是糖尿病微血管病变的首个细胞靶点,所以又进一步研究了在体外培养的内皮细胞中 MIAT 的作用,发现通过 siRNAs 干扰 MIAT 的表达能够减少内皮细胞的炎症反应应答。

研究者进一步探究了在内皮细胞中调控 MIAT 表达以及介导其功能的分子机制,发现在体外培养的内皮细胞中 miR-150-5p 靶向 MIAT,抑制 miR-150-5p 可增加 MIAT 的表达水平,反之亦然。LncRNA 在血管中的调控作用可能会为糖尿病视网膜病变的治疗提供新的方向。

**3.6 MEG3** 最近,在糖尿病患者胰岛中发现了一种只在母源等位基因上表达的 lncRNA:MEG3。该基因位于染色体 14q32,包含 3 种父源性表达的蛋白编码基因:DLK1、RTL1 和 DIO3。与 1 型糖尿病有关的 SNP(rs941576)位于 MEG3 的基因内。Wallace 等<sup>[28]</sup>在差异性甲基化位点的下游插入了一个基因导致父源相应染色体片段甲基化后发现 MEG3、DLK1 表达量的下降,他们认为 MEG3 这个母系表达 SNP 可以调节父源性表达的 DLK1 和 RTL1,从而导致 1 型糖尿病的发生、发展。此外,在 2 型糖尿病患者胰岛中,MEG3 和相关的 miRNA 表达水平的下降与 MEG3-DMR 的甲基化显著相关<sup>[29]</sup>。这些均揭示了 MEG3 及调节这个印记区域的重要性。另外,尽管该 lncRNA 与糖尿病密切相关,但在正常情况下,该印记区域中的基因亦在胰岛  $\beta$  细胞中广泛表达,但目前仍没有明确的机制来阐明其在正常胰岛  $\beta$  细胞及糖尿病中的作用机制。

**3.7 Hymai** 新生儿糖尿病指出生后 6 个月内发生的一种糖尿病,有两种临床亚型,即新生儿暂时性糖尿病和新生儿永久性糖尿病。其中,发现人染色体 6q24 上的一种 lncRNA, Hymai 的母源性甲基化缺陷与新生儿暂时性糖尿病有关,但具体机制仍不明<sup>[30]</sup>。虽然新生儿糖尿病非常罕见,但其分子机制具有深远意义,不久的将来,也许能够通过调控干细胞,来治疗 1 型和 2 型糖尿病。

## 4 展望

LncRNA 是目前生物医学领域的研究热点之一,其在细胞中的重要功能已被广泛接受,成为继 miRNA 之后的又一研究热潮。研究发现,基因组范围内搜索发现人胰岛细胞表达的 lncRNA 已超过 1 100 种<sup>[24]</sup>。目前, lncRNA 在糖尿病中的研究尚属于起步阶段,已知的数据只是冰山一角,还有超过 1 000 种的胰岛 lncRNA 的功能有待去挖掘。LncRNA 研究技术的不断更新和发展,将有助于揭示 lncRNA 在糖尿病中的调控机制,在未来,具有高度组织特异性的 lncRNA 有望成为新药作用的靶点,为糖尿病的治疗提供新思路。



## 参 考 文 献

- [1] Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs[J]. *Cell*, 2009, 136(4): 629-641.
- [2] Kung JT, Colognori D, Lee JT. Long noncoding RNAs: past, present, and future[J]. *Genetics*, 2013, 193(3): 651-669.
- [3] Lee JT. Epigenetic regulation by long noncoding RNAs[J]. *Science*, 2012, 338(6113): 1435-1439.
- [4] Kim ED, Sung S. Long noncoding RNA: unveiling hidden layer of gene regulatory networks[J]. *Trends Plant Sci*, 2012, 17(1): 16-21.
- [5] Pang KC, Frith MC, Mattick JS. Rapid evolution of noncoding RNAs: lack of conservation does not mean lack of function[J]. *Trends Genet*, 2006, 22(1): 1-5.
- [6] Pollard KS, Salama SR, King B, et al. Forces shaping the fastest evolving regions in the human genome[J]. *PLoS Genet*, 2006, 2(10): e168.
- [7] Siepel A, Bejerano G, Pedersen JS, et al. Evolutionarily conserved elements in vertebrate, insect, worm, and yeast genomes[J]. *Genome Res*, 2005, 15(8): 1034-1050.
- [8] Perez DS, Hoage TR, Pritchett JR, et al. Long, abundantly expressed non-coding transcripts are altered in cancer[J]. *Hum Mol Genet*, 2008, 17(5): 642-655.
- [9] Mattick JS. RNA regulation: a new genetics? [J]. *Nat Rev Genet*, 2004, 5(4): 316-323.
- [10] Bracken AP, Helin K. Polycomb group proteins: navigators of lineage pathways led astray in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(11): 773-784.
- [11] Faghihi MA, Wahlestedt C. Regulatory roles of natural antisense transcripts[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(9): 637-643.
- [12] Whitehead J, Pandey GK, Kanduri C. Regulation of the mammalian epigenome by long noncoding RNAs[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1790(9): 936-947.
- [13] Wapinski O, Chang HY. Long noncoding RNAs and human disease[J]. *Trends Cell Biol*, 2011, 21(6): 354-361.
- [14] Wang KC, Chang HY. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs[J]. *Mol Cell*, 2011, 43(6): 904-914.
- [15] Guenther MG, Levine SS, Boyer LA, et al. A chromatin landmark and transcription initiation at most promoters in human cells[J]. *Cell*, 2007, 130(1): 77-88.
- [16] Good MC, Zalatan JG, Lim WA. Scaffold proteins: hubs for controlling the flow of cellular information[J]. *Science*, 2011, 332(6030): 680-686.
- [17] Aguilo F, Zhou MM, Walsh MJ. Long noncoding RNA, polycomb, and the ghosts haunting INK4b-ARF-INK4a expression[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(16): 5365-5369.
- [18] Moritani M, Yamasaki S, Kagami M, et al. Hypoplasia of endocrine and exocrine pancreas in homozygous transgenic TGF- $\beta$ 1 [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2005, 229(1-2): 175-184.
- [19] Cunnington MS, Santibanez Koref M, Mayosi BM, et al. Chromosome 9p21 SNPs associated with multiple disease phenotypes correlate with ANRIL expression [J]. *PLoS Genet*, 2010, 6(4): e1000899.
- [20] Kotake Y, Nakagawa T, Kitagawa K, et al. Long non-coding RNA ANRIL is required for the PRC2 recruitment to and silencing of p15 (INK4B) tumor suppressor gene [J]. *Oncogene*, 2010, 30(16): 1956-1962.
- [21] Alvarez ML, Khosroheidari M, Eddy E, et al. Role of microRNA 1207-5P and its host gene, the long non-coding RNA Pvt1, as mediators of extracellular matrix accumulation in the kidney: implications for diabetic nephropathy[J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e77468.
- [22] Huppi K, Volfovsky N, Runfola T, et al. The identification of microRNAs in a genomically unstable region of human chromosome 8q24[J]. *Mol Cancer Res*, 2008, 6(2): 212-221.
- [23] Ravassard P, Hazhouz Y, Pechberty S, et al. A genetically engineered human pancreatic  $\beta$  cell line exhibiting glucose-inducible insulin secretion[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(9): 3589-3597.
- [24] Morón I, Akerman I, van de Bunt M, et al. Human  $\beta$  cell transcriptome analysis uncovers lncRNAs that are tissue-specific, dynamically regulated, and abnormally expressed in type 2 diabetes[J]. *Cell Metab*, 2012, 16(4): 435-448.
- [25] Keniry A, Oxley D, Monnier P, et al. The H19 lincRNA is a developmental reservoir of miR-675 that suppresses growth and Igf1r[J]. *Nat Cell Biol*, 2012, 14(7): 659-665.
- [26] Latos PA, Pauler FM, Koerner MV, et al. Airn transcriptional overlap, but not its lncRNA products, induces imprinted Igf2r silencing[J]. *Science*, 2012, 338(6113): 1469-1472.
- [27] Yan B, Yao J, Liu JY, et al. lncRNA-MIAT regulates microvascular dysfunction by functioning as a competing endogenous RNA[J]. *Circ Res*, 2015, 116(7): 1143-1156.
- [28] Wallace C, Smyth DJ, Maisuria-Armer M, et al. The imprinted DLK1-MEG3 gene region on chromosome 14q32.2 alters susceptibility to type 1 diabetes[J]. *Nat Genet*, 2010, 42(1): 68-71.
- [29] Kameswaran V, Bramswig NC, McKenna LB, et al. Epigenetic regulation of the DLK1-MEG3 microRNA cluster in human type 2 diabetic islets[J]. *Cell Metab*, 2014, 19(1): 135-145.
- [30] Iglesias-Platas I, Martin-Trujillo A, Cirillo D, et al. Characterization of novel paternal ncRNAs at the Plagl1 locus, including Hymai, predicted to interact with regulators of active chromatin[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e38907.

(收稿日期: 2015-02-10)