

基础研究

MicroRNA 与肥胖

史俊奇 邹朝春

【摘要】近年来研究证明,脂肪组织和外周血中的 microRNA 参与了脂肪细胞分化、胰岛素抵抗、脂肪代谢等与肥胖发生密切相关的进程。MicroRNA 影响肥胖的分子学机制逐步被发现,如通过增强或抑制相关基因表达从而调控与脂肪细胞增殖、分化相关的转录因子及信号分子等。对机制的研究,为今后肥胖及肥胖相关代谢性疾病的预警及治疗提供了新的手段。

【关键词】 MicroRNA;肥胖;脂肪

MicroRNA and obesity Shi Junqi, Zou Chaochun. Department of Endocrinology, Children's Hospital of Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310003, China

Corresponding author: Zou Chaochun, Email: zcc14@zju.edu.cn

【Abstract】Recent researches have proved that microRNA in adipose tissue and peripheral blood participates in the progress of adipocyte differentiation, insulin resistance, lipid metabolism and so on, which are closely associated with obesity. The molecular mechanisms of microRNA on obesity have been discovered step by step. For example, transcription factors and signaling molecules related to the multiplication and differentiation of adipocytes are regulated and controlled by enhancing or restraining of relevant gene expression. The investigation of the mechanisms provides a new approach for precaution and treatment of obesity and obesity-related metabolic diseases.

【Key words】 MicroRNA; Obesity; Adipose

(Int J Endocrinol Metab, 2015, 35: 344-347)

肥胖是由遗传基础和环境因素共同作用的结果。表观遗传学在肥胖的发病中起重要作用, microRNA (miRNA) 作为表观遗传学的形式之一, 其与肥胖的关系倍受关注。研究显示, miRNA 参与了诸多与肥胖有关的生物学进程, 如脂肪细胞的分化、胰岛素抵抗、脂肪代谢等^[1]。现就 miRNA 在肥胖发生中的作用和机制进行综述。

1 MiRNA 的生物学特征

MiRNA 是一类核苷酸长度为 20 nt 左右的非编码单链 RNA, 它们是转录后的产物, 通过对靶 mRNA 的降解或阻遏起到调控基因表达的作用。MiRNA 是 1993 年由 Lee 在秀丽新线虫中首次发现的。目前

miRNA 数据库 (www.mirbase.org) 已发布的 miRNA 序列共涵盖 193 个物种, 成熟 miRNA 25 141 条。MiRNA 在人类基因中约占 1%, 却调控着至少 30% 的 mRNA 表达^[2]。

MiRNA 由 DNA 编码, 在细胞核内经 RNA 聚合酶 II 转录成长链 RNA 产物。后者被 Drosha 和 DGCR8 两种 RNA 内切酶组成的微处理复合体裂解成长度约为 70 ~ 80 nt 的短链 RNA, 即 miRNAs 前体。随后, miRNAs 前体通过 GTP 依赖型转运蛋白—exportin5 转运至细胞外, 并由被称之为“Dicer”的 RNA 内切酶裂解成长度为 20 nt 左右的双链 RNA。这种双链 RNA 很不稳定, 3' 端的随从链很快被降解, 而含有成熟 miRNA 序列的 5' 端主链则被装配进核苷酸沉默复合体。核苷酸沉默复合体通过对靶 mRNA 的腺苷酰化作用或者直接降解来影响 mRNA 翻译成蛋白质, 从而影响基因的表达^[3]。

2 MiRNA 与肥胖

一项关于儿童时期肥胖对炎症因子、固有免疫

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2015.05.014

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81170787); 浙江省卫生和计划生育委员会项目 (WKJ2011-2-008, 2009B098); 浙江省卫生高层次创新人才培养工程项目 (2015)

作者单位: 310003 杭州, 浙江大学医学院附属儿童医院内分泌科 (第一作者现在杭州市第三人民医院)

通信作者: 邹朝春, Email: zcc14@zju.edu.cn

细胞比例及代谢相关 miRNA 影响的研究发现, 29 名肥胖儿童外周血单核细胞中的 miRNA-33a 水平较 20 名非肥胖儿童升高 4 倍, miRNA-33b 则升高了 3 倍, 而 miRNA-33 被证实可以抑制高密度脂蛋白的生成和减少细胞脂肪酸的氧化作用^[4-5]。这提示儿童时期的肥胖者血液中代谢调控相关 miRNA 已发生了改变。

分泌性 miRNA 是进行细胞间通讯的重要生物活性分子之一, 其来源于血液有核细胞或脂肪等其他组织, 既可存在于血液外泌小体 (exosome), 又可以游离形式存在于血浆中。一项基于 112 名肥胖者的临床研究发现, 肥胖者血清 miRNA-122 水平是正常人的 3.07 倍, 而且 miRNA-122 还与体重指数、谷丙转氨酶水平、甘油三酯水平和胰岛素抵抗呈正相关^[6]。类似的研究发现肥胖者血清 miRNA-143 和 miRNA-233 的水平较低, 与肥胖呈负相关^[7]。Wang 等^[8]发现肥胖小鼠和肥胖者血浆中的循环 miRNA-130b 表达水平升高, miRNA-130b 水平与体重指数呈正相关, 并发现 miRNA-130b 以过氧化物酶体增殖物活化受体 (PPAR) γ 协同刺激因子 1 α 为靶标, 可减少其表达, 而 PPAR γ 协同刺激因子 1 α 是肌肉中脂肪氧化作用的关键因素, 所以循环 miRNA-130b 可反映肥胖程度, 并且可作为预测代谢综合征的潜在生物标志物, 也可能参与了肥胖相关的代谢性疾病的发病机制。有研究者对 32 名成人血浆中循环 miRNA 进行研究, 发现严重病态肥胖者 (体重指数 $>40 \text{ kg/m}^2$) 血浆中 miRNA-140-5p、miRNA-142-3p 和 miRNA-222 的表达增加, miRNA-532-5p、miRNA-125b、miRNA-130b、miRNA-221、miRNA-15a、miRNA-423-5p 和 miRNA-520c-3p 的表达减少。其中 6 名严重病态肥胖者经过手术减重后, 血浆中 miRNA 表达发生改变。MiRNA-140-5p、miRNA-122、miRNA-193a-5p、miRNA-16-1 表达减少, miRNA-221 和 miRNA-199a-3p 表达增加。提示 miRNA-15a、miRNA-423-5p 和 miRNA-520c-3p 等可作为对病态肥胖评估和分级的重要生物学标记^[9]。

Prats-Puig 等^[10]研究发现, 青春前期肥胖儿童血浆中 miRNA-221 和 miRNA-28-3p 表达减少, miRNA-486-5p、miRNA-486-3p、miRNA-142-3p、miRNA-130b、miRNA-423-5p 表达增加。这些 miRNA 与体重指数、脂肪百分比、腰围、局部脂肪分布、胰岛素抵抗、高密度脂蛋白、C 反应蛋白等相关。在随后的 3 年纵向研究中发现, 体型变化明显的儿童血浆中 10 种 miRNA (miRNA-486-5p、miRNA-486-3p、miRNA-221、miRNA-

28-3p、miRNA-142-3p、miRNA-130b、miRNA-423-5p、miRNA-532-5p、miRNA-125b、miRNA-140-5p) 发生了改变。提示循环 miRNA 参与了青春前期儿童肥胖的发生。

3 MiRNA 参与肥胖发生的机制

3.1 MiRNA 与白色脂肪细胞分化 白色脂肪细胞的体积增大和数量增多是导致肥胖的重要环节。成熟的脂肪细胞由前体脂肪细胞分化而来, 其分化过程受多种生长因子、信号分子及转录因子的多重调控。研究发现, 在人间充质干细胞 (ASCs) 分化为脂肪细胞的过程中, miRNA-194 的过表达可以抑制脂肪细胞的生成, 并有鸡卵清蛋白上游启动子转录因子 (COUP-TFII) 的表达下降, 从而确定 miRNA-194 以转录因子 COUP-TFII 为靶标调控 ASCs 向脂肪细胞的分化^[11]。MiRNA-195a 也被发现有与 miRNA-194 类似的调控功能, 小鼠 3T3-L1 脂肪细胞中 miRNA-195a 被强制表达时, 脂肪细胞分化的调控因子如 PPAR α 及激活蛋白-2 (aP-2) 的表达下调, 其结果是脂质的积累受到抑制。锌指蛋白 423 被认为是 miRNA-195a 的靶标^[12]。Takanabe 等^[13]发现 miRNA-143 在高热量食物喂养的小鼠肠系膜脂肪组织中表达增加, 其表达水平与脂肪细胞的分化因子, 如 PPAR α 、aP-2、血浆瘦素相关, 提示 miRNA-143 可以通过影响一些脂肪分化因子而促进脂肪细胞分化。

某些 miRNA 在脂肪细胞的生成中有双重调节功能。Kim 等^[14]观察到在高脂饮食诱导的肥胖小鼠白色脂肪组织中, miRNA-21 的表达在第 1 周明显下降, 随后 7 至 10 周内逐步增加, 而在非高脂饮食喂养的小鼠白色脂肪组织中, 7 周内 miRNA-21 的表达逐渐下降。实验还发现转化生长因子 β 通路激活可抑制人脂肪组织来源的 ASCs 分化, 这之前研究报道关于 miRNA-21 可通过激活转化生长因子 β 信号通路使 ASCs 向脂肪细胞的分化增加相左^[15]。提示 miRNA-21 可能还有另外的靶标参与了 ASCs 的分化, 转导与转录激活因子 3 (STAT3) 基因被认为是其中之一。这些发现提示 miRNA-21 参与肥胖发展有着两种机制: 调控早期阶段的脂肪前体细胞增殖和增加后期阶段前体脂肪细胞向脂肪细胞的分化。

Qin 等^[16]在研究中揭示了 miRNA-210 促进小鼠 3T3-L1 脂肪细胞生成的机制, 通常情况下, 激活 Wnt/ β -catenin 信号通路可导致脂肪生成过程受到抑制。转录因子 7 类似物 2 作为 miRNA-210 的预

靶基因,是一种可以触发 Wnt 信号通路的应答基因。MiRNA-210 可以通过阻断转录因子 7 类似物 2,抑制 Wnt 信号通路,从而促进脂肪形成。除 miRNA-210 外,还有研究者发现过表达的 miRNA-375 可增强 3T3-L1 的脂肪细胞分化,随后抑制 3T3-L1 细胞 miRNA-375 的表达,发现细胞外信号调节激酶 (ERK) 的磷酸化水平升高、CCAAT/增强子结合蛋白 (C/EBP) α 、PPAR γ 2 和 aP-2 的 mRNA 表达受抑制、脂肪细胞分化减少,证明 miRNA-375 可能通过调节 ERK-PPAR γ 2-aP-2 通路,促进 3T3-L1 脂肪细胞分化^[17]。同样以 C/EBP α 为靶标调节脂肪细胞生成还有 miRNA-25。在 3T3-L1 脂肪细胞分化过程中,miRNA-25 是显著下调的,在实验中恢复其表达之后,3T3-L1 脂肪细胞生成明显受损,并且一些脂肪细胞生成相关基因的表达产物也明显下调^[18]。还有研究发现 miRNA-27 过度表达导致 PPAR α 和 C/EBP α 受抑制,使脂肪细胞形成减少。该实验还发现缺氧可以导致肥胖小鼠的脂肪组织 miRNA-27 表达明显增加,提示组织缺氧是与肥胖有关的一个重要的细胞外压力调节因素^[19]。还有研究发现 miRNA-29c、miRNA-369-5p、miRNA-371、miRNA-499 和 miRNA-let7f 对人 ASCs 的增殖和分化潜能有影响,其中 miRNA-369-5p 抑制成脂分化,miRNA-371 则相反,这些过程伴随着一些脂肪细胞形成中的关键分子脂肪酸结合蛋白 4 的变化,证实了脂联素和脂肪酸结合蛋白 4 是 miRNA-369-5p 的靶标^[20]。

3.2 MiRNA 与棕色脂肪细胞分化 近年来关于棕色脂肪组织对抗肥胖的研究受到较多关注。棕色脂肪可促进引发肥胖的白色脂肪分解,将之转化成水和热量,加快人体新陈代谢。Sun 等^[21]通过增强 Runx1tl 基因的表达,阻断 miRNA-193b 及 miRNA-365 在小鼠棕色脂肪前体细胞中的表达,使得棕色脂肪组织生成明显受损,结果发现 miRNA-193b 和 miRNA-365 是部分通过 PPAR α 信号通路而受到 PRDM16 (控制棕色脂肪组织和骨骼肌组织相互转换的开关) 的调节,证明 miRNA-193b 和 miRNA-365 可以促进前体细胞向棕色脂肪分化,与肥胖呈负相关。

由于棕色脂肪有受到寒冷刺激后分解白色脂肪、产生热量的特性,一些研究者探究了冷暴露下棕色脂肪中 miRNA 表达的差别。Trajkovski 等^[22]发现通过冷暴露 (8℃, 24 h), 小鼠棕色脂肪组织中 miRNA-133、miRNA-1 和 miRNA-206 水平下调,其中 miRNA-133 下调到近 1/5。研究还发现 miRNA-133

以 PRDM16 为靶基因,可以通过抑制 PRDM16,阻止棕色脂肪组织和腹壁白色脂肪组织中的前体脂肪细胞分化为成熟的棕色脂肪细胞。其他研究者也做过类似的研究,发现小鼠白色脂肪组织中 miRNA-196a 的表达可通过冷暴露或 β 肾上腺素的刺激来诱发^[23]。MiRNA-196a 抑制白色脂肪基因 Hoxc8 的表达,Hoxc8 可抑制 C/EBP β ,而 C/EBP β 则被认为是棕色脂肪基因的程序开关。研究者们推测 miRNA-196a-Hoxc8-C/EBP β 信号通路可能是通过诱发棕色脂肪生成程序,从而对抗肥胖及 2 型糖尿病。

3.3 MiRNA 与代谢功能 一项对 28 名成人皮下脂肪中 miRNA 表达差异的研究发现,肥胖者 miRNA-519d 过度表达使 PPAR α 蛋白水平下降,后者在脂肪酸稳定和脂肪酸的氧化分解中发挥重要作用,其下降导致代谢不平衡,并且在前体脂肪细胞分化中增加了脂质的积聚,从而导致了肥胖^[24]。

Meerson 等^[25]利用基因芯片对 80 名成人腹壁下脂肪进行分析,发现 miRNA-221 与体重指数和空腹胰岛素水平呈正相关,而 miRNA-193a-3p 和 miRNA-193b-5p 与体重指数呈负相关。进一步干预研究显示,miRNA-221 可通过影响 PPAR 信号途径,并通过直接下调脂联素受体 1 基因和 ETS1 基因而促进胰岛素抵抗。

最近有研究提示肥胖者脂肪组织中 miRNA 的表达呈现出性别差异。研究者对 21 名接受胃部分切除手术的肥胖者进行分析,发现其腹部网膜脂肪组织 miRNA-125a-3p 的表达增加,而且男性显著高于女性。在 miRNA-125a-3p 表达升高的男性中,c-Jun 氨基端激酶 (JNK) 的表达也较高。JNK 是肥胖及胰岛素抵抗的重要介质,研究者因此推测 miRNA-125a-3p 可能通过增强 JNK 的表达,影响胰岛素信号转导途径,导致胰岛素抵抗,该研究提示网膜脂肪组织 miRNA-125a-3p 的表达增加可能是男性胰岛素抵抗的特征^[26]。

综上所述,生物体内 miRNA 可以通过调控脂肪分化和能量代谢相关基因表达参与肥胖的发生,部分 miRNA 可能可以作为肥胖及相关性代谢性疾病的重要生物学标记物。然而,目前多数研究来源于动物模型和成年肥胖者,关于儿童期肥胖早期 miRNA 预警指标的筛选及验证的研究非常少。随着儿童肥胖发病率不断攀升和成年期慢性病发病的年轻化,深入探讨儿童期肥胖早期 miRNA 预警指标和机制研究,将有助于提供针对儿童肥胖及肥胖相关代谢性疾病的新兴预警手段和治疗方法。

参 考 文 献

- [1] McGregor RA, Choi MS. microRNAs in the regulation of adipogenesis and obesity [J]. *Curr Mol Med*, 2011, 11(4): 304-316.
- [2] Keller J, Ringseis R, Eder K. Supplemental carnitine affects the microRNA expression profile in skeletal muscle of obese Zucker rats [J]. *BMC Genomics*, 2014, 15: 512.
- [3] Kim VN, Han J, Siomi MC. Biogenesis of small RNAs in animals [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(2): 126-139.
- [4] Carolan E, Hogan AE, Corrigan M, et al. The impact of childhood obesity on inflammation, innate immune cell frequency, and metabolic microRNA expression [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(3): E474-E478.
- [5] Chen WJ, Zhang M, Zhao GJ, et al. MicroRNA-33 in atherosclerosis etiology and pathophysiology [J]. *Atherosclerosis*, 2013, 227(2): 201-208.
- [6] Wang R, Hong J, Cao Y, et al. Elevated circulating microRNA-122 is associated with obesity and insulin resistance in young adults [J]. *Eur J Endocrinol*, 2015, 172(3): 291-300.
- [7] Kilic ID, Dodurga Y, Uludag B, et al. MicroRNA -143 and -223 in obesity [J]. *Gene*, 2015, 560(2): 140-142.
- [8] Wang YC, Li Y, Wang XY, et al. Circulating miR-130b mediates metabolic crosstalk between fat and muscle in overweight/obesity [J]. *Diabetologia*, 2013, 56(10): 2275-2285.
- [9] Ortega FJ, Mercader JM, Catalán V, et al. Targeting the circulating microRNA signature of obesity [J]. *Clin Chem*, 2013, 59(5): 781-792.
- [10] Prats-Puig A, Ortega FJ, Mercader JM, et al. Changes in circulating microRNAs are associated with childhood obesity [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98(10): E1655-E1660.
- [11] Jeong BC, Kang IH, Hwang YC, et al. MicroRNA-194 reciprocally stimulates osteogenesis and inhibits adipogenesis via regulating COUP-TFII expression [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1532.
- [12] Yun UJ, Song NJ, Yang DK, et al. MiR-195a inhibits adipocyte differentiation by targeting the preadipogenic determinant Zfp423 [J]. *J Cell Biochem*, 2015, [Epub ahead of print].
- [13] Takanabe R, Ono K, Abe Y, et al. Up-regulated expression of microRNA-143 in association with obesity in adipose tissue of mice fed high-fat diet [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 376(4): 728-732.
- [14] Kim YJ, Hwang SH, Cho HH, et al. MicroRNA 21 regulates the proliferation of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells and high-fat diet-induced obesity alters microRNA 21 expression in white adipose tissues [J]. *J Cell Physiol*, 2012, 227(1): 183-193.
- [15] Kim YJ, Hwang SJ, Bae YC, et al. MiR-21 regulates adipogenic differentiation through the modulation of TGF-beta signaling in mesenchymal stem cells derived from human adipose tissue [J]. *Stem Cells*, 2009, 27(12): 3093-3102.
- [16] Qin L, Chen Y, Niu Y, et al. A deep investigation into the adipogenesis mechanism: profile of microRNAs regulating adipogenesis by modulating the canonical Wnt/beta-catenin signaling pathway [J]. *BMC Genomics*, 2010, 11:320.
- [17] Ling HY, Wen GB, Feng SD, et al. MicroRNA-375 promotes 3T3-L1 adipocyte differentiation through modulation of extracellular signal-regulated kinase signalling [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2011, 38(4): 239-246.
- [18] Liang WC, Wang Y, Liang PP, et al. MiR-25 suppresses 3T3-L1 adipogenesis by directly targeting KLF4 and C/EBPalpha [J]. *J Cell Biochem*, 2015, [Epub ahead of print].
- [19] Lin Q, Gao Z, Alarcon RM, et al. A role of miR-27 in the regulation of adipogenesis [J]. *FEBS J*, 2009, 276(8): 2348-2358.
- [20] Bork S, Horn P, Castoldi M, et al. Adipogenic differentiation of human mesenchymal stromal cells is down-regulated by microRNA-369-5p and up-regulated by microRNA-371 [J]. *J Cell Physiol*, 2011, 226(9): 2226-2234.
- [21] Sun L, Xie H, Mori MA, et al. Mir193b-365 is essential for brown fat differentiation [J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(8): 958-965.
- [22] Trajkovski M, Ahmed K, Esau CC, et al. MyomiR-133 regulates brown fat differentiation through Prdm16 [J]. *Nat Cell Biol*, 2012, 14(12): 1330-1335.
- [23] Mori M, Nakagami H, Rodriguez-Araujo G, et al. Essential role for miR-196a in brown adipogenesis of white fat progenitor cells [J]. *PLoS Biol*, 2012, 10(4): e1001314.
- [24] Martinelli R, Nardelli C, Pilone V, et al. miR-519d overexpression is associated with human obesity [J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2010, 18(11): 2170-2176.
- [25] Meerson A, Traurig M, Ossowski V, et al. Human adipose microRNA-221 is upregulated in obesity and affects fat metabolism downstream of leptin and TNF- α [J]. *Diabetologia*, 2013, 56(9): 1971-1979.
- [26] Yeh CL, Cheng IC, Hou YC, et al. MicroRNA-125a-3p expression in abdominal adipose tissues is associated with insulin signaling gene expressions in morbid obesity: observations in Taiwanese [J]. *Asia Pac J Clin Nutr*, 2014, 23(2): 331-337.

(收稿日期:2015-03-26)