

表观遗传学与糖尿病肾病

马静茹 牟新

【摘要】 表观遗传调控主要包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰和微小RNA (miRNA) 等。糖尿病肾病 (DN) 是糖尿病主要的慢性并发症之一。一些特定基因的启动子区甲基化水平异常, 组蛋白乙酰化与去乙酰化及 miRNA 等都参与了 DN 的发生、发展。对表观遗传学与 DN 关系的研究, 可为进一步认识和治疗 DN 提供一种新的途径。

【关键词】 表观遗传学; 糖尿病肾病; 基因

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30801467, 81273623); 浙江省科技厅项目 (2013C33212); 中国博士后科学基金 (2014M551775)

Epigenetics and diabetic nephropathy Ma Jingru*, Mou Xin. *Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310000, China

Corresponding author: Mou Xin, Email: mouxin888@126.com

【Abstract】 Epigenetic regulations include DNA methylation, histone modifications and microRNA (miRNA), etc. Diabetic nephropathy (DN) is one of the major chronic complications of diabetes. Abnormal levels of some specific gene promoter region methylation, and acetylation of histone acetylation and microRNAs are involved in the occurrence and development of DN. Further research of the relationship between epigenetics and DN could provide a new approach for the treatment of DN.

【Key words】 Epigenetics; Diabetic nephropathy; Genes

Fund program: National Natural Science Foundation of China (30801467, 81273623); Science and Technology Department of Zhejiang Province (2013C33212); China Postdoctoral Science Foundation (2014M551775)

与经典遗传学以研究基因序列影响生物学功能为核心相比, 表观遗传学主要研究这些“表观遗传现象”建立和维持的机制。尽管核苷酸序列没有变化, 表观遗传修饰仍然是可以遗传的, 并且可以通过替代染色质状态的细胞复制和分裂传递给后代^[1]。在组织和细胞的分化和发展过程中, 表观遗传信息更多的决定它们的功能状态^[2]。研究表明, 表观遗传机制在糖尿病肾病的发病中发挥潜在作用^[3]。现综述如下。

1 DNA 甲基化与糖尿病肾病

DNA 甲基化是指生物体在 DNA 甲基转移酶的催化下, 以 S-腺苷甲硫氨酸为甲基供体, 将甲基转移到特定的碱基上的过程。DNA 甲基化可以发生在腺嘌呤的 N-6 位、胞嘧啶的 N-4 位、鸟嘌呤的 N-7 位或胞嘧啶的 C-5 位等。但在哺乳动物, DNA 甲基化主要

发生在 5'-CpG-3' 的 C 上, 生成 5-甲基胞嘧啶。胰岛素 CpG 启动子甲基化在 β 细胞成熟和组织特异性的胰岛素基因表达中起至关重要的作用^[4]。

研究者比较了伴和不伴肾病的 1 型糖尿病患者, 通过与类淋巴母细胞系来源的 DNA 样品进行比较, 确定了 27 (8%) 个外周血白细胞基因显示不同的 DNA 甲基化谱^[5]。有报道称, DNA 甲基化与患者年龄、糖尿病肾病的患病时间和性别有关, 使用多变量 Cox 回归分析调整混杂因素, 错误发现率为 0.05, 且观察到 19 个 CpG 位点与糖尿病肾病发展的时间推移具有相关性。值得注意的是, 这包括一个 CpG 部位位于 18 碱基 UNC13B 上游的转录起始点, 其中第一内含子的单核苷酸多态性 rs13293564 与糖尿病肾病相关^[6]。有学者研究非洲裔和拉美裔裔伴终末期肾病和无肾病的糖尿病患者, 通过对受试者唾液样品采集和 DNA 提取, 比较了超过 14 000 个基因位点特异性的 DNA 甲基化水平, 确定了 187 个基因中至少 2 个 CPG 位点存在甲基化差异, 其中 39 个基因已报道参与糖尿病肾病的发生、发展, 为慢性肾脏疾病的进展确定了潜在的表观遗传标志

物,表明疾病进展可能通过遗传基因和(或)表观遗传学差异受到影响^[7]。

2 组蛋白修饰与糖尿病肾病

组蛋白是真核生物染色体的基本结构蛋白,是一类小分子碱性蛋白质,有 6 种类型:H1、H2A、H2B、H3、H4 及古细菌组蛋白,组蛋白有两个活性末端:即羧基端和氨基端。组蛋白修饰是表观遗传调控的重要组成部分,目前已知核小体组蛋白的共价翻译后修饰在基因调控中发挥重要作用,常见的组蛋白修饰方式包括组蛋白甲基化、乙酰化、磷酸化、泛素化和 SUMO 化。这样的修饰与衔接蛋白相互作用,招募其他蛋白复合体,以维持被修饰的状态,以及指定细胞谱系。组蛋白修饰可引起核小体解离,从而改变其结构,导致染色质发生致密与疏松的转换^[8]。组蛋白修饰及组蛋白甲基化转移酶和乙酰化转移酶参与调节糖尿病肾病和血管细胞相关的炎症反性和促纤维化基因的表达^[9]。

高糖在糖尿病肾病的发展中起关键作用,有研究认为,高糖会导致细胞损伤,诱导系膜细胞组蛋白 H2A 的泛素化,并减少系膜细胞组蛋白 H2B 泛素化^[10]。在细胞核内,组蛋白乙酰化与去乙酰化过程处于动态平衡,并由组蛋白乙酰化转移酶和组蛋白去乙酰化酶(HDAC)共同调控。组蛋白乙酰化转移酶催化组蛋白乙酰化,导致染色质结构松散,促进基因转录;而 HDACs 使组蛋白去乙酰化,导致染色质凝聚,抑制基因转录^[11]。应用 HDAC 抑制剂伏立诺他治疗糖尿病大鼠 4 周后发现,肾脏体积增大和肾小球肥大情况有所缓解^[12]。Noh 等^[13]研究表明,糖尿病时转化生长因子- β_1 激活肾脏的 HDAC-2,而活性氧簇可直接增加 HDAC-2 的活性并且调节转化生长因子- β_1 诱导的 HDAC-2 激活,这可能参与了细胞外基质积聚和上皮间充质转分化的发生。

3 miRNA 与糖尿病肾病

miRNA 是一种广泛存在的对基因表达进行微调的分子。其长约 21~25 nt,约 50% 定位于易发生结构改变的染色体区域^[14]。miRNA 介导靶基因沉默,通过结合相应靶基因 mRNA 的 3'UTR,下调基因的表达^[15]。

Smad 信号通路在肾脏疾病中起重要作用,研究者使用 miRNA 微阵列来鉴定 db/db 小鼠中糖尿病肾病差异表达的 miRNA,并应用反转录定量 PCR 和免疫印迹分析来检测 Smad3/4 的表达,结果发现,miRNA-346 为差异表达的 miRNA,且为 Smad3/4 的负性调节物,可减弱肾组织中 Smad3/4 的表达,改

善糖尿病肾病小鼠的肾功能^[16]。肾脏炎症反应和纤维化是糖尿病肾病的两个重要特征,miRNA-29b 能够抑制 2 型糖尿病 db/db 小鼠的肾脏炎症反应和肾纤维化^[17]。miRNA-377 抑制 p21-丝裂原活化蛋白激酶和超氧化物歧化酶的表达,间接增加积聚在肾脏基质的纤连蛋白,参与糖尿病肾病的发生、发展^[18]。使用 miRNA 微阵列分析糖尿病肾病和糖尿病患者的基因表达谱差异,发现 Let-7a 在糖尿病肾病患者中水平下调,且 Let-7a-2 的调节区域存在一个潜在突变体 rs1143770,其与糖尿病肾病患病风险增加显著相关^[19]。

综上,糖尿病肾病具有遗传易感性,而基因表达的表观遗传调控是糖尿病肾病遗传易感性的一个重要原因。目前认为,糖尿病肾病的起始和进展是遗传和环境因素相互作用的结果,环境因素可通过影响表观遗传修饰的改变,诱发疾病,饮食、生活方式和环境暴露能够通过表观遗传学改变,影响疾病的发生和发展。近年来,表观遗传方面的研究已日益受到中外学者的重视,表观遗传与人类健康密切相关,通过对表观遗传学的研究,不仅可以了解糖尿病肾病的发病机制,而且可以进一步探索和发现新的生物学标志物,通过有目的的调节关键酶的活性,有助于糖尿病肾病的诊断和防治,从而降低糖尿病肾病的发生率和死亡率。

参 考 文 献

- [1] Capell BC, Berger SL. Genome-wide epigenetics [J]. J Invest Dermatol, 2013, 133(6):e9. DOI: 10.1038/jid.2013.173.
- [2] Loidl P. A plant dialect of the histone language [J]. Trends Plant Sci, 2004, 9(2):84-90.
- [3] Reddy MA, Natarajan R. Epigenetics in diabetic kidney disease [J]. J Am Soc Nephrol, 2011, 22(12):2182-2185. DOI: 10.1681/ASN.2011060629.
- [4] Kuroda A, Rauch TA, Todorov I, et al. Insulin gene expression is regulated by DNA methylation [J]. PLoS One, 2009, 4(9):e6953. DOI:10.1371/journal.pone.0006953.
- [5] Brennan EP, Ehrlich M, Brazil DP, et al. Comparative analysis of DNA methylation profiles in peripheral blood leukocytes versus lymphoblastoid cell lines [J]. Epigenetics, 2009, 4(3):159-164.
- [6] Bell CG, Teschendorff AE, Rakyan VK, et al. Genome-wide DNA methylation analysis for diabetic nephropathy in type 1 diabetes mellitus [J]. BMC Med Genomics, 2010, 3:33. DOI: 10.1186/1755-8794-3-33.
- [7] Sapienza C, Lee J, Powell J, et al. DNA methylation profiling identifies epigenetic differences between diabetes patients with ESRD and diabetes patients without nephropathy [J]. Epigenetics, 2011, 6(1):20-28.
- [8] Linghu C, Zheng H, Zhang L, et al. Discovering common combinatorial histone modification patterns in the human genome [J].

- Gene, 2013, 518(1):171-178. DOI: 10.1016/j.gene.2012.11.038.
- [9] Reddy MA, Tak Park J, Natarajan R. Epigenetic modifications in the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. Semin Nephrol, 2013, 33(4):341-353. DOI:10.1016/j.semnephrol.2013.05.006.
- [10] Gao C, Chen G, Liu L, et al. Impact of high glucose and proteasome inhibitor MG132 on histone H2A and H2B ubiquitination in rat glomerular mesangial cells [J]. J Diabetes Res, 2013, 2013:589474. DOI: 10.1155/2013/589474.
- [11] Wang Z, Yang D, Zhang X, et al. Hypoxia-induced down-regulation of neprilysin by histone modification in mouse primary cortical and hippocampal neurons [J]. PLoS One, 2011, 6(4):e19229. DOI:10.1371/journal.pone.0019229.
- [12] Gilbert RE, Huang Q, Thai K, et al. Histone deacetylase inhibition attenuates diabetes-associated kidney growth: potential role for epigenetic modification of the epidermal growth factor receptor [J]. Kidney Int, 2011, 79(12):1312-1321. DOI:10.1038/ki.2011.39.
- [13] Noh H, Oh EY, Seo JY, et al. Histone deacetylase-2 is a key regulator of diabetes- and transforming growth factor-beta1-induced renal injury [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2009, 297(3):F729-F739. DOI: 10.1152/ajprenal.00086.2009.
- [14] Ruvkun G. Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world [J]. Science, 2001, 294(5543):797-799.
- [15] Padmashree DG, Swamy NR. Molecular signaling cascade of miRNAs in causing diabetes nephropathy [J]. Bioinformation, 2013, 9(8):401-408. DOI: 10.6026/97320630009401.
- [16] Zhang Y, Xiao HQ, Wang Y, et al. Differential expression and therapeutic efficacy of microRNA-346 in diabetic nephropathy mice [J]. Exp Ther Med, 2015, 10(1):106-112.
- [17] Chen HY, Zhong X, Huang XR, et al. MicroRNA-29b inhibits diabetic nephropathy in db/db mice [J]. Mol Ther, 2014, 22(4):842-853. DOI: 10.1038/mt.2013.235.
- [18] Wang Q, Wang Y, Minto AW, et al. MicroRNA-377 is up-regulated and can lead to increased fibronectin production in diabetic nephropathy [J]. FASEB J, 2008, 22(12):4126-4135. DOI:10.1096/fj.08-112326.
- [19] Zhou J, Peng R, Li T, et al. A potentially functional polymorphism in the regulatory region of let-7a-2 is associated with an increased risk for diabetic nephropathy [J]. Gene, 2013, 527(2):456-461. DOI: 10.1016/j.gene.2013.06.088.

(收稿日期:2015-04-10)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《国际内分泌代谢杂志》对运用统计学方法的有关要求

1. 统计学符号:按 GB/T 3558.1-2009《统计学词汇及符号》的有关规定,统计学符号一律采用斜体。

2. 研究设计:应告知研究设计的名称和主要方法。如调查设计(分为前瞻性、回顾性还是横断面调查研究),实验设计(应告知具体的设计类型,如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等),临床试验设计(应告知属于第几期临床试验,采用了何种盲法措施等);主要做法应围绕 4 个基本原则(重复、随机、对照、均衡)概要说明,尤其要告知如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

3. 资料的表达与描述:用 $\bar{x} \pm s$ 表达近似服从正态分布的定量资料,用 $M(Q_R)$ 表达呈偏态分布的定量资料;用统计表时,要合理安排纵横标目,并将数据的含义表达清楚;用统计图时,所用统计图的类型应与资料性质相匹配,并使数轴上刻度值的标法符合数学原则;用相对数时,分母不宜小于 20,要注意区分百分率与百分比。

4. 统计学分析方法的选择:对于定量资料,应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的,选择合适的统计学分析方法,不应盲目套用 t 检验和单因素方差分析;对于定性资料,应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件及分析目的,选用合适的统计学分析方法,不应盲目套用 χ^2 检验。对于回归分析,应结合专业知识和散点图,选用合适的回归类型,不应盲目套用简单直线回归分析;对具有重复实验数据检验回归分析资料,不应简单化处理;对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多元统计方法,以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系做出全面、合理的解释和评价。

5. 统计结果的解释和表达:应写明所用统计学方法的具体名称(如:成组设计资料的 t 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的 q 检验等),统计量的具体值(如 $t=3.45$, $\chi^2=4.68$, $F=6.79$ 等);在用不等式表示 P 值的情况下,一般情况下选用 $P>0.05$, $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 三种表达方式,无须再细分为 $P<0.001$ 或 $P<0.0001$ 。当涉及总体参数(如总体均数、总体率等)时,在给出显著性检验结果的同时,应再给出 95% 可信区间。

本刊编辑部