

## 基础研究

## · 综述 ·

## 长链非编码 RNA 与胰岛素抵抗的关系

方迎昕 周一军

【摘要】长链非编码 RNA(lncRNA) 作为一类长度超过 200 个核苷酸的功能性 RNA, 从表观遗传学、转录、转录后等水平调控基因的表达。近年来研究证实, 一些 lncRNA 如 Risa、MEG3、SRA、MALAT1、H19、Lethe 等是参与胰岛素抵抗的重要调控分子。这些 lncRNA 将为胰岛素抵抗相关性疾病的诊治提供新靶点。

【关键词】长链非编码 RNA; 胰岛素抵抗; 糖尿病

基金项目: 辽宁省自然科学基金(20170541029)

**Relationship between long non-coding RNA and insulin resistance** Fang Yingxin, Zhou Yijun. Department of Endocrinology and Metabolism, The Fourth Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110032, China

Corresponding author: Zhou Yijun, Email: zhoudoctor@163.com

【Abstract】Long non-coding RNA(lncRNA) is a type of functional RNA with a length of more than 200 nucleotides and regulates gene expression from epigenetic, transcriptional, and posttranscriptional levels. Recent studies have confirmed that some lncRNAs such as Risa, MEG3, SRA, MALAT1, H19, Lethe are important regulatory molecules involved in insulin resistance. These lncRNAs will provide new targets for the diagnosis and treatment of insulin resistance-related diseases.

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

Fund program: Natural Science Foundation of Liaoning Province of China (20170541029)

糖尿病作为一种世界性流行性疾病, 近年来发病率成倍增长, 成为严重威胁人类健康的重大公共卫生问题, 其中 80%~90% 为 2 型糖尿病<sup>[1]</sup>。2 型糖尿病的发病机制尚未完全清楚, 人们广泛认为胰岛素抵抗是其主要的发病机制。近年来, 研究者发现大量 microRNA(miRNA) 参与包括肿瘤、糖尿病等疾病的发生、发展, 但对于长链非编码 RNA(lncRNA) 与胰岛素抵抗及 2 型糖尿病的关系研究相对较少。因此, 深入探究 lncRNA 对于胰岛素抵抗的调控机制, 可以为糖尿病的诊断和治疗注入新思路, 具有十分重要的临床意义。本文将从 lncRNA 的产生、功能及胰岛素抵抗相关的 lncRNA 等方面, 对 lncRNA 与胰岛素抵抗关系的研究进展进行综述。

## 1 lncRNA

1.1 lncRNA 简介 lncRNA 是一类转录本长度大于 200 个核苷酸的没有编码蛋白质功能的 RNA。根据 lncRNA 在基因组中相对于编码基因的位置和方向可分为 5 类: (1) 基因内的 lncRNA (intronic lncRNA): 来源于编码蛋白质基因的内含子区, 与外显子片段不重叠。(2) 反义的 lncRNA (antisense lncRNA): 位于编码蛋白基因的模板链, 与外显子或内含子重叠或者包含编码基因的反义链区。(3) 正义的 lncRNA (sense lncRNA): 来源于编码蛋白质基因的反义链, 包含编码基因的外显子, 与编码基因部分重叠或包含整个编码基因。(4) 基因间 lncRNA (long intergenic non-coding RNA): 位于两编码蛋白质基因之间。(5) 双向的 lncRNA (bidirectional lncRNA): 位于编码基因随从链上, 且转录起始点和编码蛋白基因的转录起始点靠近, 但是编码方向相反<sup>[2]</sup>。大多数 lncRNA 由 RNA 聚合酶 II 转录生成, 经过 RNA 剪接后, 得到具有 5' 帽子和 3' 多腺苷酸化特征的 lncRNA 分子。与 mRNA 相比, lncRNA 缺少可以

翻译完整的开放阅读框,且表达丰度低,但具有较高的组织和细胞特异性<sup>[3]</sup>。lncRNA广泛表达于哺乳动物基因组中,在细胞质、细胞核、细胞器中均有分布,但多数存在于细胞核内。lncRNA在表观遗传水平、转录水平及转录后水平等多种层面上调控基因的表达,广泛参与机体几乎所有的生理和病理过程,与多种人类疾病(如肿瘤、心血管疾病、神经性疾病、糖尿病等)密切相关<sup>[4-6]</sup>。

## 1.2 lncRNA 的功能

**1.2.1 表观遗传调控** 大量研究表明,lncRNA在核染色质重塑中发挥作用,这意味着它们具有表观遗传的调节作用<sup>[7]</sup>。如lncRNAXist可作为诱饵分子和引导分子,与X染色体上的PRC2结合,使组蛋白发生甲基化,最终导致X染色体上的基因转录受阻<sup>[8]</sup>。lncRNA HOTAIR和Kcnq10t1可作为骨架分子,通过募集组蛋白修饰酶使组蛋白发生修饰,而影响目的基因的表达。

**1.2.2 转录及转录后调控** lncRNA通过介导与启动子结合的特异转录因子和聚合酶的活化过程来调节转录活性<sup>[9]</sup>。如lncRNA-DEANR1可通过激活叉头框蛋白A2(FOXA2)促进人类内胚层分化<sup>[10]</sup>。另外,lncRNA也通过剪接、编辑、翻译、降解等在转录后水平发挥作用。如MALAT1与SR(丝氨酸富集蛋白)结合,影响剪接因子的分布和活化。虽然研究lncRNA二级结构的技术手段有所发展,但关于lncRNA的分子结构特征与其作用机制联系的研究仍处于起步阶段。

## 2 lncRNA 与胰岛素抵抗

Pullen和Rutter<sup>[11]</sup>研究证实,55个2型糖尿病的易感基因位点中,有9个主要单核苷酸多态性(SNP)位点150 kb范围内含有胰岛lncRNA,提示lncRNA与糖尿病易感性相关。Wang等<sup>[12]</sup>对60例新诊断2型糖尿病患者的血液样本进行芯片测序,发现与健康对照组(60名)相比,有55个lncRNA和202个mRNA表达明显差异,表达上调最显著的3个lncRNA与糖代谢指标包括空腹血糖、餐后2h血糖、糖化血红蛋白及稳态模型评估-胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)相关( $P$ 均 $<0.05$ )。另有研究证实,lncRNA在胰岛 $\beta$ 细胞分泌胰岛素中发挥作用<sup>[13]</sup>。Morán等<sup>[14]</sup>对人类胰岛 $\beta$ 细胞lncRNA的表达进行检测,发现1128个胰岛特异性lncRNA,且多数lncRNA与胰岛分化有关。

## 3 与胰岛素抵抗相关的 lncRNA

**3.1 Risa 与胰岛素抵抗** 近来,Wang等<sup>[15]</sup>证实Risa

(具有多腺苷酸尾)——位于细胞质中的lncRNA,对于胰岛素敏感性和自噬具有调控作用。在原代鼠肝细胞或C2C12成肌细胞中过表达Risa,将减弱胰岛素刺激的胰岛素受体,蛋白激酶B和糖原合成酶激酶3 $\beta$ 的磷酸化,敲除Risa则胰岛素抵抗状态改善。他们进一步的研究发现,过表达肝细胞或成肌细胞的Risa会减少自噬,而敲除Risa对自噬有上调作用。另外,敲除自噬相关基因7(Atg7)或5将显著抑制敲除Risa对胰岛素抵抗的改善作用,提示敲除Risa对胰岛素抵抗的改善作用是通过增强自噬实现的。对C57BL/6和ob/ob鼠尾静脉注射腺病毒以敲除Risa,则胰岛素敏感性和肝细胞自噬均增强。因此,Wang等研究证明,Risa可以通过调节自噬进而调节胰岛素敏感性,进而提示Risa是治疗胰岛素抵抗相关疾病的潜在靶点。

**3.2 MEG3 与胰岛素抵抗** MEG3高表达于多种组织中,如脑组织、垂体、肾上腺、卵巢和胰腺等,提示它可能与神经内分泌功能有关。研究者已经报道了MEG3的功能失活与肿瘤发展的相关性<sup>[16]</sup>。近期一些研究表明,MEG3在糖尿病及胰岛素抵抗中发挥作用。在高脂喂养的鼠和ob/ob鼠以及用棕榈酸或油酸盐或亚油酸盐刺激的肝细胞中,MEG3的表达均上调。叉头转录因子-1(FoxO1)是调控葡萄糖异生和胰岛素应答的重要转录因子。在肝细胞中过表达MEG3将显著增加FoxO1、葡萄糖-6-磷酸酶、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(PEPCK)mRNA的表达和肝脏糖异生,并抑制胰岛素刺激的糖原合成,然而干扰了MEG3后,棕榈酸诱导的FoxO1、葡萄糖-6-磷酸酶和PEPCK蛋白表达的增加被逆转。另外,从高脂喂养的鼠分离的原代肝细胞中MEG3的高表达是通过组蛋白乙酰化实现的。MEG3敲除后,甘油三酯水平、受损的糖耐量得到改善<sup>[17]</sup>。在肝癌细胞中lncRNA MEG3的表达显著下调,研究者认为这是由miRNA-29a调控MEG3启动子产生超甲基化导致的<sup>[18]</sup>。在2型糖尿病大鼠模型,肌肉、脂肪、肝组织中miRNA-29a的表达均增加,高水平的miRNA-29a导致细胞对胰岛素的敏感性降低,证明了miRNA-29a在胰岛素信号转导通路中起调控作用<sup>[19]</sup>。由此推测,miRNA-29a可能通过某种调控通路参与lncRNA MEG3的甲基化,从而导致糖尿病的发生与发展。

**3.3 SRA 与胰岛素抵抗** lncRNA SRA是一种能调控细胞周期的基因,也可以调控胰岛素信号转导通路<sup>[14]</sup>。研究证实,lncRNA SRA过表达能抑制ST2

间叶前体细胞早期分化过程中 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 和 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 的磷酸化。反之, 敲除 lncRNA SRA 可增加 p38 MAPK 和 JNK 的磷酸化, 同时降低胰岛素受体 mRNA 和蛋白表达, 进而负性调控下游的信号转导<sup>[20]</sup>。动物实验表明, SRA 敲除小鼠 (SRA<sup>-/-</sup>) 对高脂饮食造成的肥胖有抵抗作用。14 周高脂喂养后, SRA<sup>-/-</sup> 小鼠白色脂肪组织减少, 同时脂联素和脂肪酸结合蛋白 4 的基因表达降低。偏瘦表型也与白色脂肪组织中更小的脂肪细胞、更小体积的肝脏和更少的脂质沉积以及脂质形成相关基因表达减少有关。另外, SRA 敲除小鼠还具有胰岛素敏感性比较高的特点<sup>[21]</sup>。

**3.4 MALAT1 与胰岛素抵抗** 在链脉佐菌素诱导的胰岛素抵抗鼠模型中发现有 303 个 lncRNA 差异表达, 其中与人 lncRNA MALAT1 同源的 lncRNA chr19:5795689-5802671, 表达上调了 10 倍<sup>[22]</sup>。进一步研究表明, 在 ob/ob 鼠的肝组织中 MALAT1 表达上调, 并通过增加固醇调节元件结合蛋白-1c 的稳定性促进了胰岛素抵抗的发生<sup>[23]</sup>。胰岛素抵抗参与非酒精性脂肪性肝炎的发生和进展, 后者又诱发和加剧胰岛素抵抗, 两者的关系密不可分<sup>[24]</sup>。最新一项研究发现, 敲除 HepG2 细胞中 MALAT1, 趋化因子配体 5 的 mRNA 和蛋白质水平分别降低 50% 和 30%, 证明 MALAT1 通过作用于炎症因子, 参与了非酒精性脂肪性肝炎的发生与发展<sup>[25]</sup>。

**3.5 H19 与胰岛素抵抗** 研究表明, 与正常组相比, lncRNA H19 在糖尿病患者及模型小鼠的肌肉组织中表达量均明显降低<sup>[26]</sup>。Petry 等<sup>[27]</sup> 研究证明, 破坏了胚胎期 H19 的鼠更易患妊娠糖尿病和出现胰岛素抵抗。Kallen 等<sup>[28]</sup> 研究则证实, H19 是 microRNA let-7 的天然“海绵”, 可以与 let-7 结合, 解除其对靶基因胰岛素受体和脂蛋白脂肪酶表达的抑制作用, 而胰岛素受体基因和脂蛋白脂肪酶基因分别是糖代谢和脂代谢中的重要基因。另外有实验表明, H19 的减少可导致肌细胞胰岛素敏感性降低, 急性的高胰岛素血症则明显降低 H19 的表达, 而这一过程也是通过 let-7 实现的。这一复杂的双负反馈调节机制揭示了 H19 在糖、脂代谢调控中的重要作用。

**3.6 Lethe 与胰岛素抵抗** 研究者以高糖处理 RAW264.7 巨噬细胞发现, 活性氧簇和 NADPH 氧化酶 2 (NOX2) 的表达显著增加, 而 Lethe 的表达显著降低。过表达 Lethe, 不仅使活性氧簇和 NOX2 的表达

降低, 而且核因子- $\kappa$ B 的 p65 亚基易位到核的过程被抑制。因此, 研究者认为, Lethe 可能通过调节核因子- $\kappa$ B 的 p65 亚基与 DNA 的结合, 影响 NOX2 的表达, 进而调控高糖环境中的巨噬细胞的氧化应激过程<sup>[29]</sup>。这是否能成为改善糖尿病患者创口愈合的新疗法还有待进一步研究。

综上所述, 已经有研究显示 lncRNA 与胰岛素抵抗相关, 但 lncRNA 在胰岛素抵抗中发挥的作用机制亟待深入研究。随着二代测序技术的广泛应用, 已经鉴定了大量的 lncRNA, 从 lncRNA 与基因表达调控这一新角度探究胰岛素抵抗的发病机制, 无疑有着极为重要的研究价值。可以预见, 随着 lncRNA 与胰岛素抵抗研究的不断深入, lncRNA 有望成为胰岛素抵抗相关性疾病诊断的新标志物和治疗的新靶点。

## 参 考 文 献

- [1] Beat diabetes; an urgent call for global action [J]. Lancet, 2016, 387 (10027): 1483. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)30185-4.
- [2] Bunch H. Gene regulation of mammalian long non-coding RNA [J]. Mol Genet Genomics, 2018, 293 (1): 1-15. DOI: 10.1007/s00438-017-1370-9.
- [3] Sallam T, Sandhu J, Tontonoz P. Long noncoding RNA discovery in cardiovascular disease: decoding form to function [J]. Circ Res, 2018, 122 (1): 155-166. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.117.311802.
- [4] Engreitz JM, Haines JE, Perez EM, et al. Local regulation of gene expression by lncRNA promoters, transcription and splicing [J]. Nature, 2016, 539 (7629): 452-455. DOI: 10.1038/nature20149.
- [5] Evans JR, Feng FY, Chinnaiyan AM. The bright side of dark matter: lncRNAs in cancer [J]. J Clin Invest, 2016, 126 (8): 2775-2782. DOI: 10.1172/JCI84421.
- [6] 黄珊珊, 鲁一兵. 长链非编码 RNA 与糖尿病 [J]. 国际内分泌代谢杂志, 2015, 35 (4): 271-274. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2015.04.016.
- [7] Akhade VS, Pal D, Kanduri C. Long noncoding RNA: genome organization and mechanism of action [J]. Adv Exp Med Biol, 2017, 1008: 47-74. DOI: 10.1007/978-981-10-5203-3\_2.
- [8] Zhang F, Zhang L, Zhang C. Long noncoding RNAs and tumorigenesis: genetic associations, molecular mechanisms, and therapeutic strategies [J]. Tumour Biol, 2016, 37 (1): 163-175. DOI: 10.1007/s13277-015-4445-4.
- [9] Isin M, Dalay N. LncRNAs and neoplasia [J]. Clin Chim Acta, 2015, 444: 280-288. DOI: 10.1016/j.cca.2015.02.046.
- [10] Jiang W, Liu Y, Liu R, et al. The lncRNA DEANR1 facilitates human endoderm differentiation by activating FOXA2 expression [J]. Cell Rep, 2015, 11 (1): 137-148. DOI: 10.1016/j.celrep.2015.03.008.

(下转第 428 页)

- [4] Mizokami T, Hishinuma A, Kogai T, et al. Graves' disease and Gitelman syndrome [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2016, 84 (1): 149-150. DOI:10.1111/cen.12829.
- [5] 祝洁, 袁晓岚, 张曼娜, 等. 三例 Gitelman 综合征患者临床特点及基因突变分析[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2016, 32 (7): 590-593. DOI:10.3760/cma.j.issn.1000-6699.2016.07.013.
- [6] 石然然, 李丛丛, 方丽, 等. Gitelman 综合征的临床及基因诊断[J]. *中华内科杂志*, 2017, 56 (2): 104-111. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2017.02.005.
- [7] Baldane S, Ipekci SH, Celik S, et al. Hypokalemic paralysis due to thyrotoxicosis accompanied by Gitelman's syndrome[J]. *Indian J Nephrol*, 2015, 25 (2): 103-105. DOI:10.4103/0971-4065.140719.
- [8] Zha B, Zheng P, Liu J, et al. Coexistence of Graves' disease in a 14-year-old young girl with Gitelman syndrome[J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2015, 83 (6): 995-997. DOI:10.1111/cen.12800.
- [9] Blanchard A, Vargas-Poussou R, Vallet M, et al. Indomethacin, amiloride, or eplerenone for treating hypokalemia in Gitelman syndrome[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2015, 26 (2): 468-475. DOI: 10.1681/ASN.2014030293.
- [10] Gitelman 综合征诊治专家共识协作组. Gitelman 综合征诊治专家共识[J]. *中华内科杂志*, 2017, 56 (9): 712-716. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2017.09.021.

(收稿日期:2018-05-24)

(上接第 414 页)

- [11] Pullen TJ, Rutter GA. Could lncRNAs contribute to  $\beta$ -cell identity and its loss in type 2 diabetes[J]. *Biochem Soc Trans*, 2013, 41 (3): 797-801. DOI:10.1042/BST20120355.
- [12] Wang X, Chang X, Zhang P, et al. Aberrant expression of long non-coding RNAs in newly diagnosed type 2 diabetes indicates potential roles in chronic inflammation and insulin resistance[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43 (6): 2367-2378. DOI: 10.1159/000484388.
- [13] Yin DD, Zhang EB, You LH, et al. Downregulation of lncRNA TUG1 affects apoptosis and insulin secretion in mouse pancreatic  $\beta$  cells[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 35 (5): 1892-1904. DOI:10.1159/000373999.
- [14] Morán 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. DOI:10.1016/j.cmet.2012.08.010.
- [15] Wang Y, Hu Y, Sun C, et al. Down-regulation of Risa improves insulin sensitivity by enhancing autophagy[J]. *FASEB J*, 2016, 30 (9): 3133-3145. DOI:10.1096/fj.201500058R.
- [16] Zhou Y, Zhang X, Klibanski A. MEG3 noncoding RNA: a tumor suppressor[J]. *J Mol Endocrinol*, 2012, 48 (3): R45-R53. DOI: 10.1530/JME-12-0008.
- [17] Zhu X, Wu YB, Zhou J, et al. Upregulation of lncRNA MEG3 promotes hepatic insulin resistance via increasing FoxO1 expression[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 469 (2): 319-325. DOI:10.1016/j.bbrc.2015.11.048.
- [18] Braconi C, Kogure T, Valeri N, et al. microRNA-29 can regulate expression of the long non-coding RNA gene MEG3 in hepatocellular cancer[J]. *Oncogene*, 2011, 30 (47): 4750-4756. DOI: 10.1038/onc.2011.193.
- [19] Bagge A, Clausen TR, Larsen S, et al. MicroRNA-29a is up-regulated in beta-cells by glucose and decreases glucose-stimulated insulin secretion[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 426 (2): 266-272. DOI:10.1016/j.bbrc.2012.08.082.
- [20] Xu B, Gerin I, Miao H, et al. Multiple roles for the non-coding RNA SRA in regulation of adipogenesis and insulin sensitivity[J]. *PLoS One*, 2010, 5 (12): e14199. DOI: 10.1371/journal.pone.0014199.
- [21] Liu S, Xu R, Gerin I, et al. SRA regulates adipogenesis by modulating p38/JNK phosphorylation and stimulating insulin receptor gene expression and downstream signaling[J]. *PLoS One*, 2014, 9 (4): e95416. DOI:10.1371/journal.pone.0095416.
- [22] Yan B, Tao ZF, Li XM, et al. Aberrant expression of long noncoding RNAs in early diabetic retinopathy[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55 (2): 941-951. DOI:10.1167/iovs.13-13221.
- [23] Yan C, Chen J, Chen N. Long noncoding RNA MALAT1 promotes hepatic steatosis and insulin resistance by increasing nuclear SREBP-1c protein stability[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 22640. DOI: 10.1038/srep22640.
- [24] Filozof C, Goldstein BJ, Williams RN, et al. Non-alcoholic steatohepatitis: limited available treatment options but promising drugs in development and recent progress towards a regulatory approval pathway[J]. *Drugs*, 2015, 75 (12): 1373-1392. DOI: 10.1007/s40265-015-0437-3.
- [25] Leti F, Legendre C, Still CD, et al. Altered expression of MALAT1 lncRNA in nonalcoholic steatohepatitis fibrosis regulates CXCL5 in hepatic stellate cells[J]. *Transl Res*, 2017, 190: 25-39. e21. DOI:10.1016/j.trsl.2017.09.001.
- [26] Gao Y, Wu F, Zhou J, et al. The H19/let-7 double-negative feedback loop contributes to glucose metabolism in muscle cells[J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42 (22): 13799-13811. DOI:10.1093/nar/gku1160.
- [27] Petry CJ, Evans ML, Wingate DL, et al. Raised late pregnancy glucose concentrations in mice carrying pups with targeted disruption of H19delta13[J]. *Diabetes*, 2010, 59 (1): 282-286. DOI: 10.2337/db09-0757.
- [28] Kallen AN, Zhou XB, Xu J, et al. The imprinted H19 lncRNA antagonizes let-7 microRNAs[J]. *Mol Cell*, 2013, 52 (1): 101-112. DOI:10.1016/j.molcel.2013.08.027.
- [29] Zgheib C, Hodges MM, Hu J, et al. Long non-coding RNA lethe regulates hyperglycemia-induced reactive oxygen species production in macrophages[J]. *PLoS One*, 2017, 12 (5): e0177453. DOI:10.1371/journal.pone.0177453.

(收稿日期:2018-01-26)