

· 综述 ·

宫内发育迟缓导致成年糖尿病的研究进展

戴程婷 李一卉 袁逸 袁庆新

南京医科大学第一附属医院内分泌科 210029

通信作者:袁庆新, Email: yqx@njmu.edu.cn

【摘要】 宫内发育异常在糖尿病发病中的作用受到越来越多的关注。宫内发育迟缓(IUGR)胎儿可能出现胰腺发育异常,出生后胰岛功能进一步下降,成年后易发生糖尿病。IUGR发展为糖尿病有众多因素参与,近来表观遗传学指出,胰腺细胞发育过程中的甲基化水平改变、组蛋白修饰减少以及RNA编辑异常等可影响胰腺分化和增殖,导致胰岛发育异常,可能诱发成年糖尿病。而孕期营养补充和运动等早期干预可以预防糖尿病的发生。

【关键词】 宫内发育迟缓;糖尿病;表观遗传;氧化应激;内质网应激

基金项目:国家自然科学基金(81570697)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.04.010

Research progress on the study of intrauterine growth restriction and adult diabetes Dai Chengting, Li Yihui, Yuan Yi, Yuan Qingxin. Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

Corresponding author: Yuan Qingxin, Email: yqx@njmu.edu.cn

【Abstract】 Intrauterine growth restriction (IUGR) may lead to abnormal development of pancreata in the IUGR fetus. The islet function is further reduced after birth, and diabetes is prone to occur in adulthood. Recently, epigenetics has pointed out that changes in methylation levels, histone modifications, and RNA editing could affect pancreatic differentiation and proliferation, leading to abnormal islet development and possibly induction of adult diabetes. Early interventions such as nutritional supplementation during pregnancy and exercise can prevent the onset of diabetes.

【Key words】 Intrauterine growth restriction; Diabetes mellitus; Epigenomics; Oxidative stress; Endoplasmic reticulum stress

Fund program: National Natural Science Foundation of China(81570697)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.04.010

宫内发育迟缓(IUGR)又称为胎儿发育迟缓(FGR),是指胎儿出生体重低于胎龄平均体重的第十百分位数。美国IUGR的发生率高达10%,我国IUGR的发生率约3%~10%。目前研究已经证实,IUGR的病因包括母体因素、胎儿因素和胎盘因素。研究发现,IUGR胎儿的胰岛体积减小, β 细胞数量减少,胰岛素分泌减少,出生后出现生长追赶,发生高胰岛素血症,成长过程中胰岛功能下降或者胰岛素抵抗(IR),成年后易发生糖尿病^[1]。本文重在阐述表观遗传和氧化应激等机制在IUGR导致成年糖尿病中的作用。

1 IUGR 胎儿胰岛变化的特点与成年糖尿病的发生

1.1 正常胚胎胰腺发育过程 胚胎胰腺的发育经

历早、中、晚3个时期。以大鼠为例,早期(E8.5d~E12.5d),原始胰腺开始出现;中期(E13d~E15.5d)是胰腺内分泌和外分泌细胞分化和增殖的关键阶段,此时典型胰岛结构开始形成;晚期(E16d~E21d)功能细胞进一步成熟和完善;出生后第1周,外分泌胰腺大量生长,形成新的腺泡^[2]。出生后3周内,新生鼠的胰岛 β 细胞出现凋亡,同时伴随新的胰岛细胞再生,至此,胰岛发育正式完成,这一过程被称为胰岛重塑。

人的内分泌细胞分化始于孕第7周;孕第12周时,人体胰腺基本成形,成为有腺泡、导管和胰岛结构的胰腺组织。孕第21~26周,胰岛形成。新生儿出生后第1个月内,胰岛细胞凋亡增加,同时新的细胞产生,经历这个胰岛重塑过程,胰岛细胞数量保持

恒定^[2]。

在胰腺发育和胰岛 β 细胞功能完善的过程中,有众多因子参与及调控。转录因子是最重要的组成部分,胰-十二指肠同源盒基因-1 (PDX-1) 和 Nkx2.2 是胰腺前体细胞的标志物; PDX-1、Ptf1a、Nkx2.2、Nkx6.1、Hb9、Hex、Hnf6、Foxa2 (Hnf3 β) 在内、外分泌分化前的前体细胞中共表达; Ngn3 是内分泌前体细胞的标志,来源于 Hnf1 β ⁺ 的导管上皮细胞; Nkx6.1 是 β 细胞的标志。SNARE 复合体是胰岛素释放过程中所必须的分子构件, Munc、Rab、Synaptotagmin 等蛋白家族的不同成员在其中起关键调节作用。

1.2 IUGR 后代胰岛变化的特点 既往研究发现,在 IUGR 后代中胰岛体积减小, β 细胞数量减少,胰岛素分泌降低。在 E18d ~ E19d 用子宫动脉结扎法建立 IUGR 大鼠模型,结果显示, IUGR 鼠在 7 周龄之前由于胰岛重塑及生长追赶的作用,其胰岛 β 细胞形态规则,胰岛细胞数量、胰岛体积和胰腺重量与正常对照组无明显差别,但到 15 周龄时, β 细胞质量是正常对照组的 50%,此后持续下降,到 26 周龄时,胎儿 β 细胞质量仅为正常对照组的三分之一。

1.3 IUGR 与成年糖尿病的发生 动物模型表明, IUGR 大鼠出生时体重明显低于对照组,但出生 7 ~ 10 周幼仔表现出赶超生长并超过对照组,在 26 周龄时比对照组明显肥胖; IUGR 大鼠出生 1 周时血糖及胰胰岛素水平与对照组无明显差别,出生后 7 ~ 10 周出现轻度的空腹血糖升高和高胰岛素血症,在 26 周时发生糖尿病。利用链脲佐菌素 (STZ) 造模的糖尿病小鼠后代也发生同样的改变。目前在多个国家和种族中的流行病学调查都证实,胎儿发育迟缓是糖耐量异常和成年 2 型糖尿病的独立危险因素^[1]。“节俭表型假说”认为,各种原因导致的 IUGR 胎儿在出生后食物摄入和脂肪沉积增加,能量输出减少。充足的热量使机体稳态调节机制发生改变,产生高胰岛素血症,胰岛功能逐渐下降,成年后发生外周性和中枢性胰岛素抵抗,最终导致个体发生代谢综合征,特别是糖尿病^[3]。也有研究显示, IUGR 的后代中由于影响胰岛素释放的因子异常,如 Munc13-1 等表达的改变,导致血糖异常^[4]。

2 IUGR 导致成年糖尿病发病的机制

2.1 IUGR 通过表观遗传影响胰腺发育 表观遗传学是研究基因的核苷酸序列不发生改变的情况下,基因发生可遗传性改变的一门遗传学分支学科。常见的表观遗传现象包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰和 RNA 编辑。

2.1.1 DNA 甲基化影响胰腺发育 DNA 甲基化是

通过 DNA 甲基转移酶 (DNMT) 在 CpG 二核苷酸的 5'-碳胞嘧啶碱基的位置发生共价加甲基的过程。研究表明,参与胰腺发育和胰岛素分泌的基因 DNA 甲基化改变可能导致表观遗传失调,从而使暴露于糖尿病患者宫内环境的个体将来患糖尿病的风险增加^[5]。

DNA 甲基化的建立和维持主要依赖于 DNMT 的参与^[6]。其中主要的是 DNMT1,其具有胞嘧啶甲基转移活性,可调节细胞内甲基化过程。在 DNMT1 催化活性缺失的突变斑马鱼中发现, DNA 甲基化程度明显下降,斑马鱼胚胎最初胰腺形态正常,受精 84 h 后胰腺开始退化,腺泡细胞大面积凋亡,虽然内分泌细胞、导管可以幸免,但是整体胰岛功能明显下降^[7]。

胰岛素样生长因子 2 (IGF2) 是胎儿宫内生长发育的重要印迹基因,与 IUGR 的发生显著相关^[8]。IGF2/H19 印迹基因在人定位于染色体 11p15.5,通常由差异性甲基化区域 (DMR, 也称 DMD) 即印迹控制区调节表达^[9]。IGF2 的印迹作用受 H19 上游的 H19 DMR 调节,母系来源的 H19 基因 DMR 未甲基化区域可与 CCCTC 结合因子结合,阻断 IGF2 与 H19 下游增强子的结合,从而抑制 IGF2 的表达^[10]。由 STZ 诱导的母体高血糖症小鼠模型中,糖尿病鼠后代 H19-IGF2 印迹区的甲基化增加, IGF2 和 H19 的表达降低,提示 IGF2 表达降低和低出生体重有关^[7]。同样,对 1944—1945 年经历荷兰饥饿冬季的个体的研究发现,暴露于饥荒的成年人与未暴露的同性兄弟姐妹相比, IGF2 甲基化水平显著降低^[11]。随后相同的队列研究对生长和发育相关的 15 个基因座的差异甲基化进行分析,发现 ATP 结合盒转运蛋白-1 的甲基化存在显著差异。表明 H19-IGF2 甲基化影响了胰腺细胞的发育,最终导致成年糖尿病的发生^[12]。

过氧化物酶体增殖物活化受体 γ (PPAR γ) 协同刺激因子 (PGC)-1 α 是一个联系营养信号和能量代谢的重要节点,对能量平衡有重要的调控作用。最新研究表明,宫内发育受限而生后追赶生长 (CG-IUGR) 的环境可能共同介导了 PGC-1 α 启动子 DNA 甲基化水平及 PGC-1 α 转录活性的持续性改变,这可能是 CG-IUGR 导致大鼠成年期 IR 的重要机制之一^[13]。

2.1.2 组蛋白修饰影响胰腺发育 组蛋白修饰是指组蛋白在相关酶作用下发生甲基化、乙酰化、磷酸化、腺苷酸化、泛素化、ADP 核糖基化等修饰的过程。其中最主要的是组蛋白甲基化、乙酰化。

PDX-1 是一种含有同源结构域的转录因子,

PDX-1 的表达发生在胚胎 8.5 d, 参与胰腺的发育和分化, 促进胰岛 β 细胞增殖, 抑制其凋亡, 是调节胰腺生长、发育和 β 细胞特异性基因表达的特异性转录因子, 也是胰腺干细胞发育过程中表达的第一个分子标志^[14]。在 IUGR 小鼠胚胎发育过程中, PDX-1 和特异性组蛋白 3 赖氨酸 4 (H3K4) 甲基转移酶 set 蛋白家族成员 set7/9 协同作用并将其招募到胰岛素启动子, 介导其基因近端启动子 H3 甲基化, 二者能够以依赖 DNMT 的方式发挥协同作用而增强基因表达的活性。在小鼠孕期, 使 β 细胞中 PDX-1 特异性失活, 妊娠晚期可观察到胚胎的胰岛素分泌细胞增殖减少, 进而转化为 β 细胞的数量也减少, 并且在成熟胰岛 β 细胞中, 敲低 PDX-1 表达也会导致糖尿病。

2.1.3 RNA 编辑影响胰腺发育 RNA 编辑主要发生在微小 RNA (miRNA), 现有研究表明, miRNA-15a、miRNA-15b、miRNA-16、miRNA-195 参与胰岛 β 细胞发育和胰岛再生。

新生 IUGR 大鼠即存在肝组织胰岛素受体底物 (IRS)-2 信号和骨骼肌 IRS-1 信号转导障碍, 直接导致胰岛素信号不能正常下传或转导减弱, 进而直接影响了组织对细胞外糖的摄取和利用, 造成组织 IR, 并且这一变化在生后 3 周 (相当于青春期前) 时仍不能恢复, 与个体在 3 周龄时 IR 密切相关。胎鼠出现肝 IRS-1 mRNA (雌性大鼠妊娠第 19 天)、IRS-2 mRNA (雌性大鼠妊娠第 15 天) 的表达下降以维持机体低水平的代谢状态, 可能与其生长迟缓和成年期 IR 的发生有关^[3]。

PPAR γ 控制脂肪的储存和释放, 维持机体能量平衡, 调节 IR 及血糖的稳定, 促进脂肪细胞基因表达, 在脂肪细胞分化的全过程特别是在脂肪细胞分化的早期, 起正向调节作用。研究表明, 缺氧使 PPAR γ mRNA 表达下降, 导致胎盘功能不全^[15]。

随着研究的逐渐深入, 研究者发现长链非编码 RNA (lncRNA) 作为一类新兴的转录本在人类早期胚胎发育过程中也起着重要的作用^[16]。在小鼠胎盘组织中, lncRNA 诱导特异性基因沉默, 抑制蛋白质复合物的合成, 从而影响胎盘的正常发育^[17]。lncRNA NEAT1 (核旁突组装转录物 1) 过表达使胎盘绒毛滋养细胞中 paraspeckles 增加, 导致胎盘功能异常^[18]。

2.2 IUGR 通过氧化应激、内质网应激影响胰腺发育 氧化应激是指体内氧化与抗氧化作用失衡, 导致中性粒细胞炎性浸润, 蛋白酶分泌增加, 产生大量氧化中间产物。研究表明, 胎儿 IUGR 与氧化应激增加有关^[19]。在生长发育迟缓的胎儿中氧含量明

显降低, 导致电子传递链的复合物活性降低和活性氧簇的产生增加。 β 细胞易受活性氧簇的攻击。活性氧簇过量产生损害葡萄糖刺激的胰岛素分泌, 减少 β 细胞关键基因的表达, 并诱导细胞死亡。同时, 活性氧簇的过量产生引发多种氧化反应, 不仅导致细胞蛋白质、脂质和核酸中的氧化损伤, 而且导致线粒体中的氧化损伤。IUGR 胎儿以重编程线粒体功能作为适应性改变。 β 细胞是一类具有高能量需求的细胞, 其依赖 ATP 的生成来诱导胰岛细胞增殖和胰岛素分泌。线粒体功能的改变可能对 β 细胞产生有害影响。

内质网具有合成、翻译后修饰以及转运膜和分泌蛋白的功能。内质网稳态的破坏会导致蛋白质错误折叠及异常糖基化, 降低蛋白质的生物活性。研究表明, 内质网应激抑制胎盘蛋白合成是 IUGR 中胎盘病理生理学的一个特征^[20]。过量的蛋白质合成会加重胰腺中的内质网应激, 促进前胰岛素的积累和 β 细胞凋亡, 导致糖尿病的发生。在孕期, 胎盘内分泌细胞中的内质网应激影响 IGF2 和其他蛋白的翻译后加工, 导致其生物活性改变。

3 早期干预 IUGR 以预防糖尿病的发生

IUGR 导致子代发生糖尿病的风险明显增加。因此, 早期预防显得尤为重要。胎盘营养不良是发生 IUGR 的首要原因, 因此, 孕妇应保证充足的热量及蛋白质摄入, 避免 IUGR 的产生。对大鼠的研究显示, 孕期运动可能逆转或重编程 IUGR 的长期代谢作用^[21]。因此, 孕妇可以通过适当运动降低 IUGR 的发生。

IUGR 高蛋白喂养组小鼠从出生后至 8 周的生长曲线显示, IUGR 高蛋白喂养组仔鼠出生后早期能够尽快完成追赶性生长, 表明早期强化喂养对促进 IUGR 生长是有积极意义的。但是对追赶性生长后的小鼠研究发现, 其成年后发生糖尿病的风险极大^[3]。因此, IUGR 胎儿出生后是否给予高蛋白饮食喂养以促进其生长发育仍存在较大争议。

Gatford 等^[21]进行的 IUGR 大鼠运动实验表明, 早期 (7 ~ 15 周) 运动锻炼能有效促进 IUGR 后代的胰腺分泌, 预防 IR, 增加胰岛素敏感性。因此, 运动干预对改善青少年的胰岛功能至关重要。

胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 可提高糖尿病模型大鼠的糖耐量, 促进 β 细胞再生和修复, 增加 β 细胞增生和新生, 并抑制 β 细胞凋亡, 提高 β 细胞质量和数量, 增加 β 细胞葡萄糖敏感性, 促进胰岛素的合成与分泌。研究报道, 在新生儿期给予长效 GLP-1 激动剂 exendin-4 可阻止 IUGR 大鼠肝脏中氧化应激的发展, 逆转胰岛素信号转导缺陷, 防止发生成

年糖尿病,因此,exendin-4可逆转 IUGR 胎儿的不良后果,恢复胎儿的葡萄糖耐量,并防止肝 IR 的发展^[22]。但是临床上,关于GLP-1类似物是否能用于治疗新生儿糖尿病及青少年糖尿病尚存在争议。

综上所述,IUGR 不仅从营养状态、下丘脑-垂体-肾上腺轴方面影响胰腺发育,还从表观遗传、氧化应激和内质网应激的不同方面严重影响新生儿胰腺的生长发育,极大地增加了后代发生糖尿病的风险。这为预防和治疗 IUGR 导致的糖尿病提供了新的靶点。

参 考 文 献

- [1] Jaquet D, Gaboriau A, Czernichow P, et al. Insulin resistance early in adulthood in subjects born with intrauterine growth retardation [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85 (4): 1401-1406. DOI: 10.1210/jcem.85.4.6544.
- [2] Bonner-Weir S, Aguayo-Mazzucato C, Weir GC. Dynamic development of the pancreas from birth to adulthood [J]. *Ups J Med Sci*, 2016, 121 (2): 155-158. DOI: 10.3109/03009734.2016.1154906.
- [3] Berends LM, Dearden L, Tung YCL, et al. Programming of central and peripheral insulin resistance by low birthweight and postnatal catch-up growth in male mice [J]. *Diabetologia*, 2018, 61 (10): 2225-2234. DOI: 10.1007/s00125-018-4694-z.
- [4] Yuan QX, Teng LP, Zhou JY, et al. Characterization of Munc13-1 and insulin secretion during pancreatic development in rats [J]. *J Endocrinol Invest*, 2008, 31 (7): 630-635. DOI: 10.1007/BF03345615.
- [5] del Rosario MC, Ossowski V, Knowler WC, et al. Potential epigenetic dysregulation of genes associated with MODY and type 2 diabetes in humans exposed to a diabetic intrauterine environment: an analysis of genome-wide DNA methylation [J]. *Metabolism*, 2014, 63 (5): 654-660. DOI: 10.1016/j.metabol.2014.01.007.
- [6] Wilson SL, Liu Y, Robinson WP. Placental telomere length decline with gestational age differs by sex and TERT, DNMT1, and DNMT3A DNA methylation [J]. *Placenta*, 2016, 48: 26-33. DOI: 10.1016/j.placenta.2016.10.001.
- [7] Lin Y, Zhuo Y, Fang ZF, et al. Effect of maternal dietary energy types on placenta nutrient transporter gene expressions and intrauterine fetal growth in rats [J]. *Nutrition*, 2012, 28 (10): 1037-1043. DOI: 10.1016/j.nut.2012.01.002.
- [8] Hășmășanu MG, Baizat M, Procopciuc LM, et al. Serum levels and Apa I polymorphism of insulin-like growth factor 2 on intrauterine growth restriction infants [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2018, 31 (11): 1470-1476. DOI: 10.1080/14767058.2017.1319921.
- [9] Nye MD, Hoyo C, Murphy SK. *In vitro* lead exposure changes DNA methylation and expression of IGF2 and PEG1/MEST [J]. *Toxicol In Vitro*, 2015, 29 (3): 544-550. DOI: 10.1016/j.tiv.2015.01.002.
- [10] Qian YY, Huang XL, Liang H, et al. Effects of maternal folic acid supplementation on gene methylation and being small for gestational age [J]. *J Hum Nutr Diet*, 2016, 29 (5): 643-651. DOI: 10.1111/jhn.12369.
- [11] 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. DOI: 10.1073/pnas.0806560105.
- [12] Briffa JF, Hosseini SS, Tran M, et al. Maternal growth restriction and stress exposure in rats differentially alters expression of components of the placental glucocorticoid barrier and nutrient transporters [J]. *Placenta*, 2017, 59: 30-38. DOI: 10.1016/j.placenta.2017.09.006.
- [13] Su W, Xu W, Zhang H, et al. Effects of dietary leucine supplementation on the hepatic mitochondrial biogenesis and energy metabolism in normal birth weight and intrauterine growth-retarded weanling piglets [J]. *Nutr Res Pract*, 2017, 11 (2): 121-129. DOI: 10.4162/nrp.2017.11.2.121.
- [14] Chen X, Rozance PJ, Hay WW Jr, et al. Insulin-like growth factor and fibroblast growth factor expression profiles in growth-restricted fetal sheep pancreas [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2012, 237 (5): 524-529. DOI: 10.1258/ebm.2012.011375.
- [15] Tache V, Ciric A, Moretto-Zita M, et al. Hypoxia and trophoblast differentiation: a key role for PPAR γ [J]. *Stem Cells Dev*, 2013, 22 (21): 2815-2824. DOI: 10.1089/scd.2012.0596.
- [16] Ulitsky I, Bartel DP. lincRNAs: genomics, evolution, and mechanisms [J]. *Cell*, 2013, 154 (1): 26-46. DOI: 10.1016/j.cell.2013.06.020.
- [17] Saxena A, Carninci P. Long non-coding RNA modifies chromatin: epigenetic silencing by long non-coding RNAs [J]. *Bioessays*, 2011, 33 (11): 830-839. DOI: 10.1002/bies.201100084.
- [18] Gremlich S, Damron F, Reymondin D, et al. The long non-coding RNA NEAT1 is increased in IUGR placentas, leading to potential new hypotheses of IUGR origin/development [J]. *Placenta*, 2014, 35 (1): 44-49. DOI: 10.1016/j.placenta.2013.11.003.
- [19] Williamson RD, McCarthy C, McCarthy FP, et al. Oxidative stress in pre-eclampsia: have we been looking in the wrong place? [J]. *Pregnancy Hypertens*, 2017, 8: 1-5. DOI: 10.1016/j.preghyp.2017.01.004.
- [20] Burton GJ, Yung HW, Cindrova-Davies T, et al. Placental endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in the pathophysiology of unexplained intrauterine growth restriction and early onset preeclampsia [J]. *Placenta*, 2009, 30 (Suppl A): S43-S48. DOI: 10.1016/j.placenta.2008.11.003.
- [21] Gatford KL, Kaur G, Falcão-Tebas F, et al. Exercise as an intervention to improve metabolic outcomes after intrauterine growth restriction [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2014, 306 (9): E999-E1012. DOI: 10.1152/ajpendo.00456.2013.
- [22] Raab EL, Vuguin PM, Stoffers DA, et al. Neonatal exendin-4 treatment reduces oxidative stress and prevents hepatic insulin resistance in intrauterine growth-retarded rats [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2009, 297 (6): R1785-R1794. DOI: 10.1152/ajpregu.00519.2009.

(收稿日期: 2018-11-21)

(本文编辑: 刘欣)