

· 综述 ·

m6A 甲基化在 2 型糖尿病及其并发症中的重要作用

孙崇凯¹ 杨炎林² 高林¹ 薛耀明²

¹南方医科大学第一临床医学院, 广州 510515; ²南方医科大学南方医院内分泌代谢病科, 广州 510515

通信作者: 薛耀明, Email: yaomingxue@126.com

【摘要】 目前 2 型糖尿病 (T2DM) 及其并发症的发病机制仍未研究清楚。近年来一些报道表明, 表观遗传学可能在 T2DM 及其并发症的发生、发展中起到重要作用, 而 N6-甲基腺苷 (m6A) 是真核生物中存在的 RNA 分子最普遍和最丰富的修饰之一。探讨 m6A 甲基化与 T2DM 及其并发症之间的关系可以为疾病的诊断和治疗提供更多的可能性, 通过一些针对甲基转移酶和脱甲基酶的特异性抑制剂来选择性地调节 m6A 修饰对于治疗可能有利。

【关键词】 2 型糖尿病; 并发症; RNA 甲基化; N6-甲基腺苷

DOI: 10.3760/cma.j.cn121383-20210304-03009

The critical role of m6A methylation in type 2 diabetes mellitus and its complications Sun Chongkai¹, Yang Yanlin², Gao Lin¹, Xue Yaoming². ¹The First Clinical Medical Institute, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; ²Department of Endocrinology and Metabolism, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Corresponding author: Xue Yaoming, Email: yaomingxue@126.com

【Abstract】 At present, pathogenesis of the type 2 diabetes mellitus (T2DM) and its complications remain unclear. In recent years, some reports indicate that epigenetics may play an essential role in the occurrence and development of T2DM and its complications, and mRNA N6-methyladenosine (m6A) is one of the most common and abundant modifications of RNA molecules in eukaryotes. Exploring the relationship between the methylation of m6A and T2DM and its complications can provide more possibilities for the diagnosis and treatment of the disease. It may be beneficial for the treatment to selectively regulate the modification of m6A by some specific inhibitors of methyltransferase and demethylase.

【Keywords】 Type 2 diabetes mellitus; Complications; RNA methylation; N6-methyladenosine

DOI: 10.3760/cma.j.cn121383-20210304-03009

糖尿病已成为全球重大健康问题, 并且糖尿病患者存在伴发微血管和大血管病变的风险, 50% 以上与心肌梗死、脑卒中、终末期肾病、视网膜病变、足溃疡等并发症有关^[1]。尽管已进行了多项研究, 但对于 2 型糖尿病 (T2DM) 及其并发症的发病机制仍未完全阐明。随着分子生物学的不断发展, 表观遗传学的研究为 T2DM 及其并发症的诊治打开了新的思路。N6-甲基腺苷 (m6A) 是真核生物中存在的 RNA 分子最普遍和最丰富的修饰之一, 其通过甲基化修饰基因片段上的碱基位点, 从而影响 RNA 的翻译、降解与剪切等过程, 且越来越多的研究表明, 其在 T2DM 及其并发症的病变过程起重要作用。本文

综述了 m6A 甲基化如何参与 T2DM 及其并发症的发生、发展, 以及使用 m6A 甲基化作为上述疾病中新的诊断标志物以及治疗靶标的应用前景。

1 m6A 甲基化

1.1 m6A 甲基转移酶 m6A 甲基化由多个亚基组成的甲基转移酶复合物所催化^[2]。甲基转移酶 (METTL)3 是复合物中重要的成分之一, 主要起到催化核心的作用^[2]。METTL14 是复合物的另一个活性成分, 其作为 RNA 结合平台, 是促进 RNA 结合的重要组成部分^[2]。Wilms 肿瘤 1 相关蛋白 (WTAP) 是 m6A 甲基转移酶复合体的第 3 个关键组成部分, WTAP 与 METTL3、METTL14 结合, 可起到

调节 m6A 甲基转移酶复合物向 mRNA 靶标募集的作用,并且 WATP 是体内 m6A 甲基转移酶催化活性所必需的^[3]。

1.2 m6A 去甲基化酶 脂肪和肥胖相关蛋白 (FTO) 在体内外都可以去除 mRNA 中 m6A 中的甲基^[4]。酮戊二酸依赖性双加氧酶 ALKB 同系物 5 (ALKBH5) 是迄今为止发现的以 m6A 为唯一底物的第 2 种 RNA 脱甲基酶^[5]。FTO 和 ALKBH5 的缺失或者过表达都可以改变体内细胞 m6A 甲基化的水平。

1.3 m6A 结合蛋白 m6A 修饰通过与含有 YTH 结构域的 m6A 识别蛋白结合来发挥其生物学功能,并且优先在 RRm6ACH 共有序列上结合 m6A 修饰的 RNA^[6]。其中, YTHDF1 促进 m6A 修饰的 mRNA 的翻译^[6], YTHDF2 促进 m6A 修饰的 mRNA 的降解^[7], YTHDF3 起到一个微调的作用,其通过与 YTHDF1 结合来协同促进甲基化 RNA 的翻译,而通过与 YTHDF2 相互作用来加速 mRNA 的降解^[8]。YTHDC1 实行多种功能,包括通过优选募集剪切因子来调控 mRNA 剪切,加快 mRNA 出核,加速某些转录本的衰变等^[9], YTHDC2 则调节精子成熟过程中的 RNA 降解和翻译^[10]。

2 T2DM 与 m6A 甲基化

2.1 T2DM 与 m6A 甲基转移酶 通过比较 T2DM 患者和健康人群胰岛样品中 m6A 相关蛋白的表达,发现 METTL3 和 METTL14 在患者的全胰岛转录组中较健康人群下调。m6A 测序显示, m6A 差异甲基化的基因富集在胰岛素调控和糖尿病相关代谢通路,其中,多个胰岛素/胰岛素样生长因子 1-蛋白激酶 B-胰腺十二指肠同源盒 (Insulin/IGF1-Akt-PDX1) 信号转导通路上的基因出现了甲基化的下调^[11]。Insulin/IGF1-Akt-PDX1 是与糖尿病高度相关的信号通路, Akt 除了可以促进细胞的存活及生长外,还能促进下游基因 PDX1 的稳定性,而 PDX1 基因则可调控 β 细胞的细胞属性、细胞周期以及胰岛素的分泌^[12]。敲除 METTL14 后可以观察到 β 细胞内多个早期发育标志基因上调而成熟标志基因例如 PDX1、肌腱膜纤维肉瘤癌基因同系物 A (MafA) 和尿皮质素 3 (Ucn3) 等出现下调, Akt 信号通路的多个基因在 β 细胞受到抑制^[11-12], 进而出现葡萄糖耐量下降, 葡萄糖刺激的胰岛素分泌水平降低, β 细胞死亡增加和 β 细胞质量下降的表现^[11, 13-14]。综上所述,

T2DM 患者胰岛中 METTL3、METTL14 下调致使关键基因 m6A 甲基化修饰的缺失以及其对胰岛素分泌通路的影响都对糖尿病的发生、发展有着重要的贡献。

2.2 T2DM 与 m6A 去甲基化酶 T2DM 外周血 RNA 中 m6A 含量减少, 但 m6A 的减少是与 FTO 表达相关的, 而不是 ALKBH5^[15]。与健康人群相比, T2DM 患者外周血 FTO 的 mRNA 表达水平显著增高, 而 ALKBH5 mRNA 表达水平无显著差异, 且通过数据分析发现, RNA 中 m6A 的含量与 FTO mRNA 水平负相关, 与 ALKBH5 mRNA 水平无关^[15]。此外, T2DM 患者外周血中 FTO mRNA 上调, 可能诱导叉头转录因子 1 (FOXO1)、脂肪酸合成酶 (FASN)、葡萄糖-6-磷酸酶催化亚基 (G6PC) 和 二脂酰甘油酰基转移酶 2 (DGAT2) 4 个基因的 mRNA 表达增加, 这与患者的高血糖和血脂异常有关^[16]。

2.3 T2DM 与 m6A 结合蛋白 肝脂肪变性通常与 T2DM 中的胰岛素抵抗和高血糖相关^[17], 并且引起全身的不良反应。值得注意的是, 有研究表明, 在肝脂肪变性的患者中, 高血糖以剂量和时间依赖性方式抑制 YTHDC2 的 mRNA 和蛋白质的表达水平, 且过表达 YTHDC2 可以升高肝脏中 Akt 和糖原合酶激酶-3 β (GSK-3 β) 磷酸化水平以及糖原异生酶的表达水平, 从而显著降低血糖水平, 并且胰岛素耐受性测试的性能也得到了一定的改善^[18]。以上结果提示糖尿病患者高血糖和胰岛素抵抗可以导致肝脂肪变性的发生, 而另一方面, 肝脂肪变性又可以通过抑制肝细胞中 YTHDC2 mRNA 和蛋白质的表达从而降低肝脏中 Akt、GSK-3 β 的磷酸化水平和糖原异生酶的表达水平, 使糖尿病患者的病情加重。提示上调 YTHDC2 的表达可能对 T2DM 和肝脂肪变性的治疗有益。

3 T2DM 并发症与 m6A 甲基化

3.1 糖尿病性白内障与 m6A 甲基化 糖尿病性白内障 (DC) 的特征是糖尿病性血液供应异常引起的人晶状体上皮细胞 (HLEC) 的紊乱和小核^[19]。研究发现, METTL3 在高糖诱导下的 HLEC 中被上调, 而 METTL3 上调使得更多的 m6A 被催化。METTL3 靶向细胞间黏附因子-1 (ICAM-1) 的 3'UTR 以稳定其蛋白表达^[19]。ICAM-1 促进视网膜血管白细胞黏附, 增加血管通透性。总而言之, 高糖可以诱导 METTL3 的上调, 总的 m6A 修饰水平增高, 进而靶向稳定 ICAM-1 的 mRNA, 一定程度上抑制 HLEC 增殖并促

进其凋亡。因此,异常高糖诱导的METTL3上调在DC的发展中起到重要作用,提示其可能是DC治疗的潜在靶点。

3.2 糖尿病视网膜病变与 m6A 甲基化 在糖尿病视网膜病变(DR)患者中,高糖抑制了视网膜色素上皮细胞(RPE)中METTL3的表达,且低表达的METTL3对RPE细胞的凋亡起到促进作用,而过表达METTL3则可以减轻高糖诱导的RPE细胞凋亡,并通过以DGCR8依赖性方式调节miR-25-3p/PTEN/Akt信号级联来促进细胞增殖^[20]。过表达的miR-25-3p可以逆转由高葡萄糖促进PTEN表达和抑制RPE细胞中的磷酸化Akt表达的活动,此外,过表达的METTL3可以降低RPE细胞中PTEN的表达水平,并促进磷酸化Akt的表达,所有这些都通过敲低miR-25-3p来逆转。该发现为临床上潜在的DR治疗药物的研发提供方向。

3.3 糖尿病肾脏病与 m6A 甲基化 糖尿病肾脏病(DKD)是T2DM最重要的微血管并发症之一,其特征是肾小球肥大、蛋白尿、肾小球滤过减少、肾小管上皮-间质转化(EMT)和肾纤维化,导致肾功能丧失,最终导致终末期肾病(ERSD)^[21]。通过定量测量DKD发展过程中的血清修饰核苷,发现从健康人到早期糖尿病肾损伤,m6A/胞苷(C)是持续下降的趋势,然而,DKD组m6A/C值显著升高,这可能与ERSD中肾排泄功能的减弱有关^[21]。在进一步的研究中,用5个修饰的核苷,包括m6A/C、肌苷(I)/C、5-脱氧甲基胞苷(5-mdC)/C、5-甲基胞苷(5-mC)/C、假尿嘧啶核苷/尿苷(pseU/U)作为绘制受试者工作特征(ROC)曲线的参数,绘制了糖尿病、早期糖尿病肾损伤和糖尿病性肾病3组中每两组之间的ROC曲线。这3个ROC中的所有曲线下面积(AUC)、敏感性、特异性、95%置信区间和临界值都证明这5个修饰核苷可以用作评估糖尿病、早期肾损伤性糖尿病和DKD诊断的参数^[21]。此外,有研究表明在高血糖状态下,DKD肾小管细胞中抑制组蛋白去乙酰化酶5(HDAC5)表达升高促进了EMT的发生,而METTL14过表达可以通过增强PTEN水平导致高葡萄糖刺激的肾小管上皮细胞中磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)/Akt通路失活,随后使得HDAC5和转化生长因子- β 1(TGF- β 1)表达下降^[22]。TGF- β 1是DKD发病机制中重要的促纤维化因子,其作为HDAC5的下游靶点,参与HDAC5调控的肾小管上皮细胞EMT^[22]。

4 总结与未来展望

m6A甲基化修饰认识的迅速发展揭示了糖尿病及其并发症相关的潜在机制。值得注意的是,m6A甲基化修饰在T2DM中常常处于低表达的状态,并且m6A甲基化的低表达可以归咎于甲基转移酶METTL3、METTL14的下调以及脱甲基酶FTO的上调,m6A甲基化的低表达可以通过各种不同机制诱导胰岛细胞细胞周期停滞、基础胰岛素分泌上升、葡萄糖刺激胰岛素分泌受损,胰岛素抵抗等表型的发生。但目前关于m6A结合蛋白与T2DM的研究知之甚少,仍需要进一步的研究。但以上结果都表明了m6A甲基化在T2DM发生、发展中的关键作用以及它为T2DM的早期诊断和治疗提供了新的可能性。m6A甲基转移酶、脱甲基酶的调节剂或者抑制剂可能在T2DM中具有治疗潜力。

关于T2DM并发症,m6A甲基化对于由糖尿病引起的眼病是一把双刃剑:在DR病变中,METTL3低表达促进RPE细胞的凋亡,而在DC中,METTL3高表达抑制HLEC增殖并促进其凋亡。在DKD不同时期m6A甲基化水平差异,提示了m6A甲基化具有诊断与治疗DKD的潜力。

m6A甲基化研究仍然面临着挑战:首先,m6A甲基化的作用机制尚未研究透彻,其是如何特异性地定位到某一基因位点之上,再特异性地调节某一作用途径来改变生物学模型仍然未知。需要进一步了解m6A甲基化对生理活动的精确调控和功能机制。其次,目前多个研究已表明m6A甲基化存在可以作为一个崭新的诊断和治疗靶点的潜力,但如上所述,m6A甲基化存在有“双刃剑”的情况,如何使得m6A甲基化调节剂或者抑制剂靶向作用于特定的区域,避免诱导其他疾病的形成,则需要进一步的研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Pinhas-Haniel O, Zeitler P. Acute and chronic complications of type 2 diabetes mellitus in children and adolescents [J]. Lancet, 2007, 369(9575): 1823-1831. DOI: 10.1016/S0140-6736(07)60821-6.
- [2] Wang X, Feng J, Xue Y, et al. Structural basis of N(6)-adenosine methylation by the METTL3-METTL14 complex [J]. Nature, 2016, 534(7608): 575-578. DOI: 10.1038/nature18298.
- [3] Ping XL, Sun BF, Wang L, et al. Mammalian WTAP is a regulatory subunit of the RNA N6-methyladenosine methyltransferase [J]. Cell Res, 2014, 24(2): 177-189. DOI: 10.1038/cr.2014.3.
- [4] Fu Y, Jia G, Pang X, et al. FTO-mediated formation of N6-hydroxymethyladenosine and N6-formyladenosine in mammalian RNA [J].

- Nat Commun, 2013, 4: 1798. DOI: 10. 1038/ncomms2822.
- [5] Zheng G, Dahl JA, Niu Y, et al. ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility [J]. Mol Cell, 2013, 49 (1): 18-29. DOI: 10. 1016/j. molcel. 2012. 10. 015.
- [6] Wang X, Zhao BS, Roundtree IA, et al. N6-methyladenosine modulates messenger RNA translation efficiency [J]. Cell, 2015, 161 (6): 1388-1399. DOI: 10. 1016/j. cell. 2015. 05. 014.
- [7] Wang X, Lu Z, Gomez A, et al. N6-methyladenosine-dependent regulation of messenger RNA stability [J]. Nature, 2014, 505 (7481): 117-120. DOI: 10. 1038/nature12730.
- [8] Shi H, Wang X, Lu Z, et al. YTHDF3 facilitates translation and decay of N6-methyladenosine-modified RNA [J]. Cell Res, 2017, 27 (3): 315-328. DOI: 10. 1038/cr. 2017. 15.
- [9] Xiao W, Adhikari S, Dahal U, et al. Nuclear m(6)A reader YTH-DC1 regulates mRNA splicing [J]. Mol Cell, 2016, 61 (4): 507-519. DOI: 10. 1016/j. molcel. 2016. 01. 012.
- [10] Hsu PJ, Zhu Y, Ma H, et al. Ythdc2 is an N6-methyladenosine binding protein that regulates mammalian spermatogenesis [J]. Cell Res, 2017, 27 (9): 1115-1127. DOI: 10. 1038/cr. 2017. 99.
- [11] De Jesus DF, Zhang Z, Kahraman S, et al. m6A mRNA methylation regulates human β -cell biology in physiological states and in type 2 diabetes [J]. Nat Metab, 2019, 1 (8): 765-774. DOI: 10. 1038/s42255-019-0089-9.
- [12] Guo S, Dai C, Guo M, et al. Inactivation of specific β cell transcription factors in type 2 diabetes [J]. J Clin Invest, 2013, 123 (8): 3305-3316. DOI: 10. 1172/JCI65390.
- [13] Liu J, Luo G, Sun J, et al. METTL14 is essential for β -cell survival and insulin secretion [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2019, 1865 (9): 2138-2148. DOI: 10. 1016/j. bbadis. 2019. 04. 011.
- [14] Li X, Jiang Y, Sun X, et al. METTL3 is required for maintaining β -cell function [J]. Metabolism, 2021, 116: 154702. DOI: 10. 1016/j. metabol. 2021. 154702.
- [15] Shen F, Huang W, Huang JT, et al. Decreased N(6)-methyladenosine in peripheral blood RNA from diabetic patients is associated with FTO expression rather than ALKBH5 [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2015, 100 (1): E148-E154. DOI: 10. 1210/jc. 2014-1893.
- [16] Farah BL, Landau DJ, Sinha RA, et al. Induction of autophagy improves hepatic lipid metabolism in glucose-6-phosphatase deficiency [J]. J Hepatol, 2016, 64 (2): 370-379. DOI: 10. 1016/j. jhep. 2015. 10. 008.
- [17] Samuel VT, Shulman GI. The pathogenesis of insulin resistance: integrating signaling pathways and substrate flux [J]. J Clin Invest, 2016, 126 (1): 12-22. DOI: 10. 1172/JCI77812.
- [18] Zhou B, Liu C, Xu L, et al. N6-methyladenosine reader protein YTS21-B homology domain-containing 2 suppresses liver steatosis by regulation of mRNA stability of lipogenic genes [J]. Hepatology, 2021, 73 (1): 91-103. DOI: 10. 1002/hep. 31220.
- [19] Yang J, Liu J, Zhao S, et al. N6-methyladenosine METTL3 modulates the proliferation and apoptosis of lens epithelial cells in diabetic cataract [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2020, 20: 111-116. DOI: 10. 1016/j. omt. 2020. 02. 002.
- [20] Zha X, Xi X, Fan X, et al. Overexpression of METTL3 attenuates high-glucose induced RPE cell pyroptosis by regulating miR-25-3p/PTEN/Akt signaling cascade through DGCR8 [J]. Aging (Albany NY), 2020, 12 (9): 8137-8150. DOI: 10. 18632/aging. 103130.
- [21] Guo M, Liu D, Sha Q, et al. Succinic acid enhanced quantitative determination of blood modified nucleosides in the development of diabetic nephropathy based on hydrophilic interaction liquid chromatography mass spectrometry [J]. J Pharm Biomed Anal, 2019, 164: 309-316. DOI: 10. 1016/j. jpba. 2018. 10. 042.
- [22] Xu Z, Jia K, Wang H, et al. METTL14-regulated PI3K/Akt signaling pathway via PTEN affects HDAC5-mediated epithelial-mesenchymal transition of renal tubular cells in diabetic kidney disease [J]. Cell Death Dis, 2021, 12 (1): 32. DOI: 10. 1038/s41419-020-03312-0.

(收稿日期: 2021-03-04)

(本文编辑: 刘欣)

(上接第 351 页)

- [13] Bergenstal RM, Klonoff DC, Garg SK, et al. Threshold-based insulin-pump interruption for reduction of hypoglycemia [J]. N Engl J Med, 2013, 369 (3): 224-232. DOI: 10. 1056/NEJMoA1303576.
- [14] Danne T, Nimri R, Battelino T, et al. International consensus on use of continuous glucose monitoring [J]. Diabetes Care, 2017, 40 (12): 1631-1640. DOI: 10. 2337/dc17-1600.
- [15] American Diabetes Association. 6. Glycemic targets; standards of medical care in diabetes-2020 [J]. Diabetes Care, 2020, 43 (Suppl 1): S66-S76. DOI: 10. 2337/dc20-S006.
- [16] 刘斌. 2019CDS 中华医学会血糖监测年会赵晓龙教授提出控糖三角理论, 提倡糖尿病患者建立个性化控糖方案 [EB/OL]. [2019-12-11]. http://nb. ifeng. com/a/20191211/7852233_0.shtml.
- [17] 赵晓龙, 孙全娅. 扫描式葡萄糖监测在胰岛素泵疗法中的应用 [J]. 中华糖尿病杂志, 2019, 11 (6): 437-440. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1674-5809. 2019. 06. 013.
- [18] Kohnert KD, Augstein P, Heinke P, et al. Chronic hyperglycemia but not glucose variability determines HbA1c levels in well-controlled patients with type 2 diabetes [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2007, 77 (3): 420-426. DOI: 10. 1016/j. diabres. 2007. 01. 021.
- [19] Ajjan RA, Cummings MH, Jennings P, et al. Optimising use of rate-of-change trend arrows for insulin dosing decisions using the FreeStyle Libre flash glucose monitoring system [J]. Diab Vasc Dis Res, 2019, 16 (1): 3-12. DOI: 10. 1177/1479164118795252.
- [20] 时健英, 张秋梅, 赵盈, 等. 手机医疗软件改善 2 型糖尿病患者血糖控制的研究 [J]. 国际内分泌代谢杂志, 2019, 39 (1): 17-20. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1673-4157. 2019. 01. 004.
- [21] Bratcher CR, Bello E. Traditional or centralized models of diabetes care: the multidisciplinary diabetes team approach [J]. J Fam Pract, 2011, 60 (11 Suppl): S6-11.
- [22] Nettles A, Belton A. An overview of training curricula for diabetes peer educators [J]. Fam Pract, 2010, 27 (Suppl): i33-39. DOI: 10. 1093/fampra/cmn102.
- [23] Egger G, Stevens J, Ganora C, et al. Programmed shared medical appointments: A novel procedure for chronic disease management [J]. Aust J Gen Pract, 2018, 47 (1-2): 70-75. DOI: 10. 31128/afp-07-17-4283.
- [24] Dankwa-Mullan I, Rivo M, Sepulveda M, et al. Transforming diabetes care through artificial intelligence; the future is here [J]. Popul Health Manag, 2019, 22 (3): 229-242. DOI: 10. 1089/pop. 2018. 0129.
- [25] 刘蔚, 纪立农. 从循证证据看扫描式葡萄糖监测技术的应用 [J]. 中华糖尿病杂志, 2018, 10 (10): 637-639. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1674-5809. 2018. 10. 002.

(收稿日期: 2020-07-17)

(本文编辑: 刘欣)