表观遗传与糖尿病代谢记忆的研究进展

丁　慧　王颜刚

糖尿病是由于胰岛素相对或绝对缺乏以及不同程度的胰岛素抵抗,引起碳水化合物、脂肪及蛋白质代谢紊乱的综合征。随着人们生活水平的提高和生活方式的改变,糖尿病发病率呈逐年上升趋势。据世界卫生组织公布的数据显示,目前全球有近3亿糖尿病患者,预计到2030年将增至4亿[1]。长期高血糖所致的心血管并发症是糖尿病患者病死率高的主要原因之一[2]。大量临床试验发现,糖尿病患者由于早期血糖控制不佳,即使后期血糖降至理想水平,心血管并发症仍持续进展,这一现象称为高血糖的"代谢记忆效应"。因此,早期干预"代谢记忆"的形成无疑是改善糖尿病患者生活质量、降低糖尿病患者病死率的重要手段。

1983年进行的糖尿病控制和并发症研究实验(DCCT)表明,1型糖尿病患者中,使用强化降糖方案组较传统降糖方案组在微血管并发症中显著受益[3]。DCCT实验提前结束,所有病人均实行强化降糖方案,但是后续的糖尿病干预和并发症流行病学实验(EDIC)发现,在DCCT实验时一开始就采用强化降糖方案和先采用传统降糖方案,后改为强化降糖方案治疗的患者相比,前者血管并发症发病率明显降低,且进展较慢[4]。英国的前瞻性糖尿病组织(UNPDS)的研究亦表明2型糖尿病患者中,早期强化血糖治疗的收益在停止干预后仍然持续存在[5]。然而,最近发表的控制糖尿病患者心血管风险行动研究(ACCORD)[6]、糖尿病治疗与心血管保护行动:培哚普利/吲达帕胺复方制剂与格列齐特缓释片对照评估研究(ADVANCE)[7]和退伍军人糖尿病研究(VADT)[8]提示强化降糖不仅未能显著降低心血管事件发病率,甚至可增加高危的2型糖尿病患者的病死率。这一结果可能与受试人群年龄较大,糖尿病病程较长,不良代谢记忆效应业已存在,且伴有心血管高危因素有关。这也证实了早期改善高血糖代谢记忆的重要性。鉴于不良代谢记忆效应所造成危害的揭示,研究人员将目光投向了相关分子机制的研究。目前,随着对表观遗传学认识的不断加深,诸多学者采用表观遗传改变来揭示代谢记忆现象的可能成因。

表观遗传(epigenetics)是指在核苷酸序列不发生变化的情况下,基因的表达活性发生了可遗传的变化[9]。这种改变是可逆的,并受到环境、饮食、药物等因素的调节。目前,与代谢记忆相关的表观遗传机制研究主要涉及组蛋白转录后修饰、DNA甲基化、非编码miRNA调节。上述改变使细胞或生物体对外界环境刺激做出快速应答,并且产生记忆效应。因此,糖尿病患者由于高糖刺激促使细胞形成不良记忆,即使脱离刺激环境,由于表观遗传作用导致的基因表达调控改变将持续存在,且稳定遗传,最终导致并发症持续发展。

一、组蛋白修饰

在真核细胞内,基因组DNA与组蛋白一同被包裹,形成染色质。染色质的基本单位是核小体,由4种组蛋白构成的八聚体(H2A、H2B、H3和H4各2个)和其外缠绕的约147个碱基对组成。目前发现组蛋白有60个氨基酸残基位点可以被修饰。在近百种组蛋白转录后修饰方式中,尤以赖氨酸残基乙酰化和甲基化研究较为深入。

组蛋白乙酰基转移酶和组蛋白去乙酰化酶分别是组蛋白赖氨酸残基乙酰化和去乙酰化反应的催化酶[10]。组蛋白的乙酰化可以中和赖氨酸残基上的负电荷,利于打开染色质使其成为开放结构,激活转录。Zhong等[11]通过STZ诱导的糖尿病大鼠实验,证实了组蛋白修饰与代谢记忆现象形成密切相关。先保持2个月的高血糖,随后2个月控制血糖水平至正常水平的大鼠,其视网膜微血管内皮细胞中过氧化物歧化酶(sod2)启动子区H3K9乙酰化水平持续增加,NF-κB p65富集,H4组蛋白N末端的第20位氨基酸(H4K20me3)甲基转移酶Suv420h2表达增多,从而导致sod2表达减少,细胞抗氧化能力降低,不良记忆形成,促使糖尿病视网膜病变发展。

Zheng等[12]发现牛视网膜微血管内皮细胞

作者单位:266003　青岛大学医学院附属医院内分泌科
通讯作者:王颜刚,电子信箱:wangyg1966@126.com

(BRECs)在高糖培养 1 周后用正常浓度糖培养 2 周,其Ⅲ类组蛋白去乙酰基酶(SIRT1)表达及活性较正常浓度糖培养 3 周组均降低,而且严格控制血糖后也不能恢复。在 STZ 诱导的的代谢记忆模型大鼠(发病后 2 周未处理,随后 4 周严格控制血糖)的视网膜细胞中也有相同发现。给予小干扰 RNA(siRNA)抑制 SIRT1 可使 BRECs 对高糖刺激的敏感度增加。已有研究证实, SIRT1 可使组蛋白末端去乙酰化,激活依赖 AMP 蛋白激酶,进而激活锰超氧化物歧化酶(MnSOD)、解偶联蛋白 2 和过氧化氢酶,减少了活性氧产物(ROS)和 NF - κB p65 生成,并且下调促凋亡基因表达。可见,上调 SIRT1 水平在逆转代谢记忆方面有重要意义。

与组蛋白乙酰化不同,组蛋白甲基化是通过招募的特定转录因子而影响染色体结构和基因表达的,其作用取决于氨基酸的甲基化位点[13]。Villeneuve 等[14]采用 db/db 糖尿病小鼠血管平滑肌细胞在使用正常浓度糖培养数代后发现,较之于 db/ + 非糖尿病小鼠血管平滑肌细胞,其糖尿病并发症相关炎症基因持续高表达。芯片分析表明炎性基因启动子区转录抑制性标志 H3K9me3 及介导 H3K9me3 的甲基转移酶 Suv39h1 持续低水平表达,这使得 H3K9 保持甲基化从而促使糖尿病状态下血管平滑肌细胞中炎症基因过度表达,最终导致糖尿病血管病变。进一步研究发现,高表达 SUV39H1 可逆转炎性基因表达,这也为改善高糖代谢记忆,缓解糖尿病并发症带来了可能。

El - Osta 等[15]建立了主动脉内皮细胞高血糖代谢记忆模型,将原代主动脉内皮细胞暴露于高糖 16h,随后转至正糖培养 6 天,结果发现尽管糖浓度恢复至正常,NF - κB p65 基因仍持续表达。这可能与急性血糖暴露使 p65 基因启动子区域组蛋白甲基化转移酶 Set7 富集,进而使 H3K4 甲基化后导致基因激活,以及组蛋白去甲基化酶 LSD1 表达增加,导致 H3K9me2、H3K9me3 去甲基化后导致基因激活有关。

二、DNA 甲基化

DNA 甲基化是通过 DNA 甲基转移酶将 s - 腺苷甲硫氨酸中的甲基转移至 CpG 二核苷酸胞嘧啶 5′位点实现的。目前表观遗传修饰在 DNA 方面研究最多的就是 CpG 位点,基因组中 60% ~90% 的 CpG 都会被甲基化,未被甲基化的 CpG 会形成 CpG 岛,位于结构基因启动子的核心序列和转录起始点。

Olsen 等[16]采用 1 型糖尿病斑马鱼模型用 STZ 诱导 3 周,随后停止诱导进行研究,结果发现高糖刺激导致的 DNA 去甲基化状态在其血糖恢复正常 2 周后仍持续存在。此外,启动子、基因间和基因内部基因组座位均存在 DNA 低甲基化表现。Tewari 等[17]选取 STZ 诱导的糖尿病大鼠在保持高血糖 3 个月后,维持正常血糖 3 个月,与血糖控制良好 6 个月的大鼠相比,其视网膜线粒体 DNA 复制酶的催化亚基 POLG1 的基因调节位点 CpG 岛持续甲基化。牛视网膜内皮细胞暴露于高糖 4 天后,改为正常浓度糖培养 4 天,也有同样发现。上述证据均表明 DNA 甲基化也参与了代谢记忆效应的形成。

三、miRNA 调节异常

miRNA 为非编码的小分子 RNA,成熟 miRNA 具有 19 ~28 个核苷酸,通过与相应 mRNA3′端非转录区特异位点结合,发挥调节基因转录和 mRNA 表达的作用。

Long 等[18]发现经高血糖处理的 db/db 小鼠肾毛细血管内皮细胞和足细胞中有 9 种 miRNA 出现不同程度上调。其中,miR - 29c 上调可抑制萌芽同源物 1(Spry1)的合成,从而促使足细胞凋亡和间质纤维化。而敲除 miR - 29c 可防止高糖介导的细胞凋亡。Putta 等发现糖尿病小鼠肾小球系膜细胞 miR - 192 的表达上调。而下调 miRNA - 192 表达可有效减轻肾脏纤维化并且改善蛋白尿。另外, Wang 等也发现转化生长因子 β_2(TGF - β_2)的 3′端有 miR - 141/200a 家族的作用靶点,下调 miR200a 表达可抑制 TGF - β 依赖性上皮细胞 - 间充质转化,阻止糖尿病肾间质纤维化的发生发展。

组蛋白修饰,DNA 甲基化和 miRNA 调节异常在高糖诱导的代谢记忆形成过程中发挥了关键作用。上述 3 种调节方式并非完全独立,而是相互联系的。db/db 糖尿病小鼠血管平滑肌细胞中 miR - 125b 水平升高,可直接抑制 Suv39h1 表达,减少 H3K9me3 在启动子区聚集。高糖介导的 miR - 146a 表达下调是通过组蛋白去乙酰化酶 p300 实现的。此外,甲基化的胞嘧啶与结合蛋白结合后可招募组蛋白去乙酰化酶,进而抑制基因表达。

随着表观遗传调节机制的揭示,乙酰基转移酶抑制剂等反转表观遗传修饰的药物应用有望逆转代谢记忆,并成为糖尿病治疗的新手段。但是,该获益可能存在一定的组织局限性。例如,有研究发现 SIRT 表达上调可以改善高糖环境下内皮细胞功能,但也有报道证实 SIRT1 高表达是造成 GK 糖尿病大鼠心肌细胞肥大、间质纤维化等梗死后心肌重塑的重要因素

之一。虽然可能存在组织特异性,但表观遗传调节的研究仍为疾病治疗提供了潜在的新靶点。

参考文献

1 Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2010, 87(1):4 – 14

2 Potenza MA, Gagliardi S, Nacci C, *et al*. Endothelial dysfunction in diabetes: from mechanisms to therapeutic targets[J]. Current Medicinal Chemistry, 2009, 16(1):94 – 112

3 The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long – term complications in insulin – dependent diabetes mellitus[J]. N Engl J Med, 1993, 329(14):977 – 986

4 Nathan DM, Cleary PA, Backlund JY, *et al*. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes[J]. N Engl J Med, 2005, 353(25):2643 – 2653

5 Holman RR, Paul SK, Bethel MA, *et al*. 10 – year follow – up of intensive glucose control in type 2 diabetes[J]. The New England Journal of Medicine, 2008, 359(15):1577 – 1589

6 Ismail – Beigi F, Craven T, Banerji MA, *et al*. Effect of intensive treatment of hyperglycaemia on microvascular outcomes in type 2 diabetes: an analysis of the ACCORD randomised trial[J]. Lancet, 2010, 376(9739):419 – 430

7 Patel A, Macmahon S, Chalmers J, *et al*. Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes[J]. N Engl J Med, 2008, 358(24):2560 – 2572

8 Duckworth WC, McCarren M, Abraira C. Glucose control and cardiovascular complications: the VA diabetes trial[J]. Diabetes Care, 2001, 24(5):942 – 945

9 Bird A. Perceptions of epigenetics[J]. Nature, 2007, 447(7143): 396 – 398

10 Roth SY, Denu JM, Allis CD. Histone acetyltransferases[J]. Annual Review of Biochemistry, 2001, 70:81 – 120

11 Zhong Q, Kowluru RA. Epigenetic changes in mitochondrial superoxide dismutase in the retina and the development of diabetic retinopathy[J]. Diabetes, 2011, 60(4):1304 – 1311

12 Zheng Z, Chen HB, Li J, *et al*. Sirtuin 1 – mediated cellular metabolic memory of high glucose via theLKB1/AMPK/ROS pathway and therapeutic effects of metformin[J]. Diabetes, 2012, 61(1): 217 – 228

13 Martin C, Zhang Y. The diverse functions of histone lysine methylation. Nature reviews[J]. Molecular Cell Biology, 2005, 6(11):838 – 849

14 Villeneuve LM, Reddy MA, Lanting LL, *et al*. Epigenetic histone H3 lysine 9 methylation in metabolic memory and inflammatory phenotype of vascular smooth muscle cells in diabetes[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(26): 9047 – 9052

15 El – Osta A, Brasacchio D, Yao D, *et al*. Transient high glucose causes persistent epigenetic changes and altered gene expression during subsequent normoglycemia[J]. J Exp Med, 2008, 205(10): 2409 – 2417

16 Olsen AS, Sarras MP Jr, Leontovich A, *et al*. Heritable transmission of diabetic metabolic memory in zebrafish correlates with DNA hypomethylation and aberrant gene expression[J]. Diabetes, 2012, 61(2):485 – 491

17 Tewari S, Zhong Q, Santos JM, *et al*. Mitochondria DNA replication and DNA methylation in the metabolic memory associated with continued progression of diabetic retinopathy[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53(8): 4881 – 4888

18 Long J, Wang Y, Wang W, *et al*. MicroRNA – 29c is a signature microRNA under high glucose conditions that targets Sprouty homolog 1, and its in vivo knockdown prevents progression of diabetic nephropathy[J]. J Biol Chem, 2011, 286(13): 11837 – 11848

(收稿日期:2013 – 07 – 19)
(修回日期:2013 – 07 – 29)

汉坦病毒糖蛋白及其在细胞融合中作用的研究进展

盛　欣　兰英华　李用国

汉坦病毒(Hantavirus, HV)属于布尼亚病毒科分节段负链 RNA 病毒,基因组根据大小将其分为 L、M、S。分别编码病毒 RNA 依赖的 RNA 多聚酶、两种包膜糖蛋白 Gn、Gc 和一个非结构蛋白以及病毒的核衣壳蛋白。目前国内外至少有 30 个血清型/基因型,代表型别有汉滩病毒(Hantann virus, HTNV)、汉城病毒(Seoul virus, SEOV)、辛诺柏病毒(Sin Nombre virus, SNV)、普马拉病毒(Puumala virus, PUUV)、希望山病毒(Prospect Hill virus, PHV)、多布拉伐 – 贝尔格莱德病毒(Dobrava – Belgrade virus, DOBV)、泰山病毒(Thailand virus, THAIV)等[1,2]。其中引起汉坦病毒肺综合征(Hantavirus pulmonary syndrome, HPS)的病原体主要为(SNV),因为常常并发心力衰竭,故北美等国家现又将此病称为汉坦病毒心肺综合征(Hantavirus cardiopulmonary syndrome, HCPS)[3]。在我国引起肾综合征出血热(hemorrhagic fever with renal syn-

作者单位:150001　哈尔滨医科大学附属第一医院