

环状RNA与2型糖尿病关系及其临床应用

穆金铭, 刘悦, 张方方, 金亮*

(中国药科大学生命科学与技术学院, 南京 210009)

摘要 环状RNA(circular RNA)是一类新发现的具有共价闭环的非编码RNA,在2型糖尿病的发生发展中扮演着重要角色。本文从环状RNA调控胰岛 β 细胞功能及其调控心脏、肾脏等器官的代谢活动两方面,综述了环状RNA与2型糖尿病的关系,同时指出了环状RNA作为2型糖尿病及其并发症临床诊断标志物的可能性,以期对2型糖尿病的预防、诊断和治疗提供参考和研究方向。

关键词 环状RNA;胰岛 β 细胞;2型糖尿病;生物标志物

中图分类号 R587 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2020)03-0374-05

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.20200316

引用本文 穆金铭,刘悦,张方方,等.环状RNA与2型糖尿病关系及其临床应用[J].中国药科大学学报,2020,51(3):374-378.

Cite this article as: MU Jinming, LIU Yue, ZHANG Fangfang, et al. Relationship between circular RNA and type 2 diabetes and its clinical application[J]. J China Pharm Univ, 2020, 51(3): 374-378.

Relationship between circular RNA and type 2 diabetes and its clinical application

MU Jinming, LIU Yue, ZHANG Fangfang, JIN Liang*

School of Life Sciences and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract Circular RNA (circRNA) is a novel type of non-coding RNA with covalently closed loops which plays an important role in the occurrence and development of type 2 diabetes. In this paper, the relationship between circRNA and type 2 diabetes in terms of the regulation of pancreatic β -cell function by circRNA and the metabolic activity of heart, kidney and other organs is reviewed, and the possibility of circRNA as a clinical diagnostic marker for type 2 diabetes and its complications is emphasized, hoping to provide reference and clues for the prevention, diagnosis and treatment of type 2 diabetes.

Key words circular RNA; islet beta cells; type 2 diabetes; biomarkers

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81570696)

糖尿病是以高血糖和大分子代谢缺陷为特点的代谢紊乱综合征。根据国际糖尿病联合会(International Diabetes Federation, IDF)的报告,2019年全球有4.63亿人患有糖尿病,预计到2040年这一数字将上升到6.45亿。在全部糖尿病患者中,2型糖尿病(type 2 diabetes, T2D)患者约占90%^[1]。T2D的病因包括胰岛 β 细胞功能障碍导致的胰岛素分泌缺陷及外周组织器官(心脏、肝脏、

脂肪等)对胰岛素不敏感产生的胰岛素抵抗^[2]。T2D发病率及病死率的不断增加与环境、遗传、现代生活方式改变及其多种并发症(包括肾病、心血管病变、视网膜病变等)等因素相关^[3]。

环状RNA(circular RNA)是一类新发现的具有共价闭环的非编码RNA,与线性RNA不同,其免受RNA外切酶的攻击^[4]。环状RNA具有较强的保守性,且其表达具有组织特异性。环状RNA可

收稿日期 2019-12-30 * 通信作者 Tel: 025-83271152 E-mail: ljstemcell@cpu.edu.cn

基金项目 国家自然科学基金资助项目(No. 81570696)

以通过以下 6 种机制发挥作用:(1)作为 microRNA 的分子海绵或诱饵,保护 microRNA 的靶基因免受其降解;(2)充当某些 RNA 结合蛋白的海绵或诱饵,间接调节蛋白的功能;(3)与某些蛋白质相互作用并增强其功能;(4)作为蛋白支架,促进酶及其底物的共域化,从而影响反应动力学;(5)招募蛋白到特定的位点或亚细胞结构;(6)作为翻译的模板产生独特的环状 RNA 多肽^[5]。

目前已有报道表明环状 RNA 在糖尿病的发生发展中扮演着重要角色^[6]。本文综述了近年来环状 RNA 与 2 型糖尿病关系及其应用的研究进展。

1 环状 RNA 参与调控 2 型糖尿病的发生发展

环状 RNA 可以通过调控胰岛 β 细胞功能直接参与糖尿病的发生发展,同时也可以通过调控心脏、肾脏等器官的代谢活动参与糖尿病及其并发症的发生发展。

1.1 环状 RNA 调控胰岛 β 细胞功能直接参与糖尿病的发生发展

全基因组关联分析研究结果显示,2 型糖尿病的大部分危险基因与胰岛功能相关^[7]。环状 RNA 广泛表达于人类胰岛 β 细胞中并能够调控胰岛 β 细胞活性^[8]。Stoll 等^[9]采用微阵列分析法在人的胰岛样本中检测到 3 441 个环状 RNA 转录本,其中有 497 个转录本在小鼠胰岛中有精确的同源表达。目前报道能够直接调控胰岛 β 细胞功能的环状 RNA 主要有 circHIPK3 和 ciRS-7。

Stoll 等^[9]研究结果显示,与对照组相比,db/db 小鼠胰岛 β 细胞中 circHIPK3 表达显著下调, circHIPK3 的表达下调能够抑制胰岛 β 细胞在葡萄糖刺激下的胰岛素合成与分泌,同时能够促进胰岛 β 细胞凋亡。在 db/db 小鼠胰岛 β 细胞中下调的 circHIPK3 损害胰岛 β 细胞功能的作用机制主要是通过作为 miR-124-3p、miR-338-3p、miR-29b-3p、和 miR-30 的分子海绵从而抑制下游与胰岛功能直接相关的靶基因的表达,这些靶基因包括 AKT(编码蛋白激酶 B,protein kinase B,PKB)、MTPN(编码肌营养索,myotrophin)、SLC2A2(编码葡萄糖转运蛋白 2,glucose transporter 2, GLUT2)、MCL1(编码髓细胞白血病因子 1,myeloid cell leukemia-1)等。PKB 在磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphatidylinositol-3-kinase,PI3K)信号通路中扮演着重要角色,能够促

进胰岛 β 细胞增殖^[10];MTPN 能够促进胰岛素的分泌;GLUT2 作为葡萄糖转运蛋白在 β 细胞葡萄糖摄取中扮演着重要角色,与对照相比缺乏 GLUT2 的纯合子小鼠体内糖耐量异常;MCL1 是一种抗凋亡蛋白,属于 B 细胞淋巴瘤蛋白 2(B-cell lymphoma-2,Bcl2)家族,其能够抑制细胞凋亡且在胰岛 β 细胞存活中起着关键作用(图 1)。

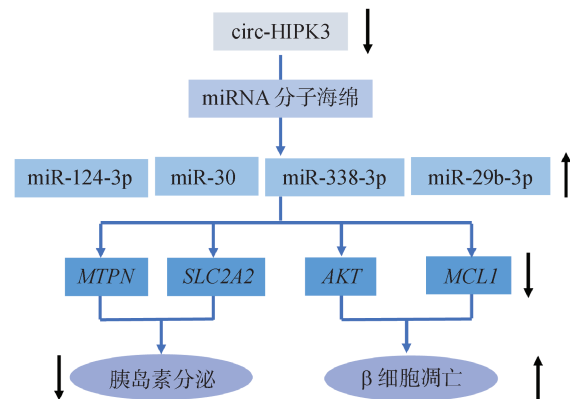


图 1 circ-HIPK3 调控胰岛 β 细胞功能作用机制示意图

下调的 circ-HIPK3 可作为 miR-124-3p、miR-30、miR-338-3p、miR-29b-3p 的分子海绵,使它们的表达水平上调并使它们靶基因 MTPN、SLC2A2、AKT、MCL1 的表达水平下调。MTPN 基因编码肌营养索,SLC2A2 基因编码葡萄糖转运蛋白 2,两蛋白均能促进胰岛素的分泌,因此两者表达下调导致胰岛素分泌能力下降;AKT 基因编码蛋白激酶 B,MCL1 基因编码髓细胞白血病因子 1,两蛋白均能抑制 β 细胞凋亡,因此两者表达下调导致 β 细胞凋亡增加(黑色 \uparrow 代表增加;黑色 \downarrow 代表减少)

Hansen 等^[11]研究结果表明 ciRS-7 可以作为 miR-7 的分子海绵。Latreille 等^[12]研究结果表明 miR-7 是人和小鼠胰岛中表达含量最丰富的 microRNA,其能够抑制胰岛素颗粒的胞吐作用。Xu 等^[13]研究结果表明与对照组相比在胰岛 β 细胞中过表达 ciRS-7 能够促进胰岛 β 细胞胰岛素合成和分泌,其机制是通过抑制 miR-7 的表达从而上调 miR-7 靶基因 MYRIP(编码肌球蛋白 VIIA 和 Rab 相互作用蛋白,myosin VIIA and Rab interacting protein)及 PAX6(编码同源盒蛋白 6,paired box 6)的蛋白表达。MYRIP 可以与肌凝蛋白(myosin)及 RAS 癌基因家族成员 RAB27A 形成三元复合物参与胰岛素颗粒的运输和分泌。PAX6 作为转录因子能够与胰岛素基因的启动子结合,增强 *Insulin1* 和 *Insulin2* 的转录从而促进胰岛素合成与分泌(图 2)。

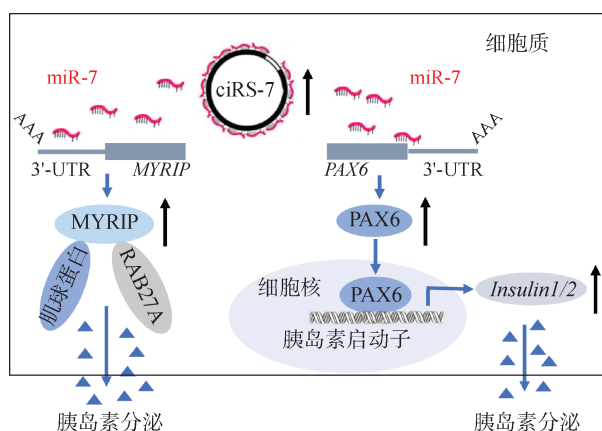


图2 ciRS-7调控胰岛 β 细胞功能作用机制示意图

ciRS-7作为miR-7的分子海绵;miR-7能与mRNA 3'-UTR结合并抑制MYRIP及PAX6的表达;MYRIP可与肌凝蛋白(myosin)及RAS癌基因家族成员RAB27A形成三元复合物促进胰岛素颗粒的运输和分泌;PAX6作为转录因子能够与胰岛素基因的启动子结合,增强*Insulin1*和*Insulin2*的转录从而促进胰岛素合成与分泌。因此,上调的ciRS-7可以减弱miR-7对MYRIP及PAX6表达的抑制并上调两者的表达,两者的表达上调会促进胰岛素的合成与分泌(黑色 \uparrow 代表基因或蛋白表达上调)

1.2 环状RNA调控外周组织器官胰岛素信号传导间接参与糖尿病的发生发展

T2D的特征之一是外周组织器官对胰岛素的敏感性降低并发生胰岛素抵抗,其潜在机制是胰岛素信号传导异常。目前有关环状RNA参与调控肝脏、肌肉、脂肪等外周组织器官胰岛素信号传导的报道比较少。

肌肉是机体内重要的胰岛素敏感组织,对全身代谢至关重要。骨骼肌胰岛素抵抗的特点是胰岛素刺激的葡萄糖摄取和利用受损。目前全基因组表达谱研究结果显示肌肉组织中有数千种环状RNA,但对它们的功能却知之甚少。在糖尿病小鼠心肌组织和血管紧张素II(angiotensin II, Ang II)处理的小鼠心肌成纤维细胞中, circRNA-010567表达显著升高,其可能作为miR-141的分子海绵,从而增强miR-141靶基因*TGF β 1*(编码转化生长因子 β 1, transforming growth factor β 1)的蛋白表达并促进心肌纤维化的发生。在冠心病患者血清中 circANRIL与 lncANRIL的表达呈负相关,且 circANRIL比 lncANRIL更稳定。CircANRIL可通过与 pescadillo 同源物1(pescadillo homolog 1, PES1)结合破坏核糖体RNA成熟,诱导p53蛋白活化,进而增加细胞凋亡,减少细胞增殖,预防动脉

粥样硬化的发生^[14],但是 circANRIL是否参与调控肌肉组织胰岛素信号传导仍有待进一步探究。

白色脂肪组织炎症是导致肥胖相关代谢紊乱(包括胰岛素抵抗)的重要原因。Zhang等^[15]研究结果表明与对照组相比高脂喂养组(high fat diet, HFD)小鼠脂肪组织中 circARF3表达显著下调; circARF3作为miR-103的分子海绵能够促进miR-103下游靶基因*TRAF3*(编码肿瘤坏死因子相关受体因子3, TNF receptor associated factor 3)的蛋白表达, TRAF3能够增强线粒体自噬从而减弱炎症反应,因此HFD小鼠脂肪组织中 circARF3的表达下调导致白色脂肪组织炎症增加进而引起胰岛素抵抗等肥胖相关代谢紊乱的发生。

2 环状RNA参与调控糖尿病并发症的发生发展

糖尿病患者病死率增加的主要原因之一是其多种并发症(包括糖尿病肾病、糖尿病视网膜病变和心血管疾病等)的出现。已有研究表明环状RNA在血管内皮细胞功能障碍和糖尿病神经痛中扮演着重要角色。因此,环状RNA的异常表达可能与糖尿病并发症的发生发展有关^[6]。

2.1 糖尿病肾病

糖尿病肾病是糖尿病患者慢性肾功能衰竭最常见的原因之一^[16]。已有研究表明,在急性肾损伤患者血液和肾组织中可以检测到大量的循环环状RNA,其中 circRNA-15698在 db/db 小鼠和高糖暴露小鼠的系膜细胞(SV40-MES13)中表达均上调,其可以作为miR-185的分子海绵从而促进miR-185靶基因*TGF β 1*的蛋白表达^[17]。TGF β 1与转化生长因子 β 受体II(T β RII)结合并激活转化生长因子 β 受体I(T β RI)进而使Smad2蛋白和Smad3蛋白磷酸化后形成复合物,该复合物能够促进细胞外基质的沉积并导致肾小球硬化和间质纤维化。

2.2 糖尿病心血管并发症

血管平滑肌细胞(VSMCs)增殖受损在糖尿病动脉粥样硬化进程中扮演着重要角色。Chen等^[18]研究结果表明与正常组相比, circ-WDR77在高糖处理VSMCs中的表达水平显著上调,且其可靶向miR-124/*FGF2*(编码成纤维细胞生长因子2, fibroblast growth factor 2)轴从而促进VSMCs的增殖和迁移。目前已有多项研究结果表明,血糖升高会损害糖尿病患者的血管内皮细胞并可能导致心血

管并发症的发生^[19]。Shang 等^[20]通过体外实验证明高糖能够诱导内皮细胞中 95 个环状 RNA 的表达发生显著变化,这表明环状 RNA 在高血糖诱导的内皮细胞损伤和糖尿病心血管疾病的发病机制中具有重要作用。

Liu 等^[21]通过实验证明在小鼠体内敲降环状 RNA *cZNF609* 可以促进内皮细胞迁移和成管,保护内皮细胞不受氧化应激的影响;该环状 RNA 可作为内源性 miR-615-5p 的分子海绵从而上调其靶基因 *MEF2A* (编码肌细胞增强因子 2A, myocyte enhancer factor 2A) 的蛋白表达;*MEF2A* 的激活与血管内皮细胞功能密切相关。

2.3 T2D 相关慢性炎症

T2D 是一种以慢性、低度炎症为特征的代谢紊乱综合征。已有研究报道,环状 RNA 在 T2D 患者外周血白细胞中的表达谱与炎性细胞因子存在相关性且研究结果显示与非糖尿病对照组相比,糖尿病患者中共有 220 个环状 RNA 的表达发生显著变化,其中 107 个表达上调,113 个表达下调,在这些环状 RNA 中,*circ-ANKRD36* 的表达水平上调最为显著且与白介素 6 (interleukin 6, IL-6)、葡萄糖和糖化血红蛋白表达水平呈正相关^[22]。此外, Fang 等^[23]研究结果表明 *circ-ANKRD36* 可能通过与 miR-3614-3p、miR-498、miR-501-5p 相互作用参与炎症反应相关信号通路的调控及 T2D 的发生发展。

2.4 糖尿病与视网膜病变及神经性疼痛

神经性疼痛是糖尿病最常见的并发症之一,其在 T2D 患者中的发病率约为 30%,并随着糖尿病病程的延长而增加。有研究表明 *circHIPK3* 的下调可减轻 STZ 诱导的糖尿病大鼠的神经痛。Zhang 等^[24]通过体外实验证明 *circ-0005015* 可作为 miR-519d-3p 的分子海绵并上调其靶基因 *MMP-2* (编码基质金属蛋白酶 2, matrix metalloproteinase 2)、*STAT3* (编码信号转导及激活蛋白 3, signal transducer and activator of transcription 3)、*XIAP* (编码 X 连锁凋亡抑制蛋白, X-linked inhibitor of apoptosis protein) 的蛋白表达,进而参与血管化、糖尿病视网膜病变和神经保护等生物过程。

3 环状 RNA 作为 T2D 潜在诊断生物标志物

大多数经典的 T2D 诊断生物标志物只有在疾

病建立后才发挥作用,不能在疾病早期起到预测作用^[25]。因此,迫切需要开发新的、更敏感的生物标志物。由于环状 RNA 的环状结构和缺乏游离的 5' 和 3' 端,其对外切酶 RNase R 具有很强的抗性^[26]。环状 RNA 在体液中十分稳定,在血浆中的半衰期平均为 48 h,比 mRNA 的平均值长 10 h。环状 RNA 在组织和细胞中的表达具有特异性并且其在血液、脑脊液、唾液、尿液等体液中含量较高^[27]。因此,将环状 RNA 作为潜在的生物标志物用于包括糖尿病在内的一系列人类疾病的早期诊断和预后检测趋势明显^[24]。

Zhao 等^[28]对 T2D 患者组、糖尿病前期组和健康对照组人群外周血中部分环状 RNA 的表达水平进行评估,结果发现 3 组间 *circ-0124636* 及 *circ-0139110* 的表达水平无明显差异,而 *circ-0018508* 和 *circ-0054633* 在糖尿病前期组和 T2D 患者组外周血中的表达水平均高于健康对照组并且 *circ-0054633* 的表达水平从健康对照组至 T2D 患者组逐渐升高。接收者操作特征曲线分析 (receiver operating characteristic curve, ROC) 结果表明, *circ-0054633* 有望成为临床应用中诊断糖尿病前期和 T2D 的生物标志物。

Li 等^[29]检测了冠心病患者组、T2D 患者组及健康对照组人群外周血中环状 RNA 的表达谱,结果显示各组间 *circ-0009036* 和 *circ-0054129* 的表达水平无明显差异,但与对照组相比, T2D 患者组和冠心病组外周血中 *circRNA11783-2* 的表达水平均显著下调。因此 *circ-RNA11783-2* 作为诊断或预测 T2D 与心血管系统疾病的生物标志物具有十分重要的潜在价值。

4 总结与展望

环状 RNA 的动态表达模式及复杂的调控网络都表明它们不仅仅是异常剪接的副产品,而是新出现的具有调控功能的 RNA 分子。越来越多的研究表明,环状 RNA 的异常表达可能与 T2D 等多种人类疾病相关,然而目前环状 RNA 与 T2D 的临床相关性还不清楚,有待进一步的体内体外实验阐明环状 RNA 在 T2D 及其并发症发生发展中的具体作用,以及这些环状 RNA 作为 T2D 潜在治疗靶点和生物标志物的可能性。

参考文献

- [1] Roden M, Shulman GI. The integrative biology of type 2 diabetes[J]. *Nature*, 2019, **576**(7785): 51–60.
- [2] Czech MP. Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes[J]. *Nat Med*, 2017, **23**(7): 804–814.
- [3] Prentki M, Nolan CJ. Islet beta cell failure in type 2 diabetes[J]. *J Clin Invest*, 2006, **116**(7): 1802–1812.
- [4] Li X, Yang L, Chen LL. The biogenesis, functions, and challenges of circular RNAs[J]. *Mol Cell*, 2018, **71**(3): 428–442.
- [5] Bolha L, Ravnik-Glavač M, Glavač D. Circular RNAs: biogenesis, function, and a role as possible cancer biomarkers[J]. *Int J Genomics*, 2017, **2017**: 6218353.
- [6] Ghasemi H, Sabati Z, Ghaedi H, et al. Circular RNAs in β -cell function and type 2 diabetes-related complications: a potential diagnostic and therapeutic approach[J]. *Mol Biol Rep*, 2019, **46**(5): 5631–5643.
- [7] Thurner M, van de Bunt M, Torres JM, et al. Integration of human pancreatic islet genomic data refines regulatory mechanisms at type 2 diabetes susceptibility loci[J]. *Elife*, 2018, **7**: e31977.
- [8] Kaur S, Mirza AH, Pociot F. Cell type-selective expression of circular RNAs in human pancreatic islets[J]. *Noncoding RNA*, 2018, **4**(4): E38.
- [9] Stoll L, Sobel J, Rodriguez-Trejo A, et al. Circular RNAs as novel regulators of β -cell functions in normal and disease conditions[J]. *Mol Metab*, 2018, **9**: 69–83.
- [10] Elghazi L, Balcazar N, Bernal-Mizrachi E. Emerging role of protein kinase B/Akt signaling in pancreatic beta-cell mass and function[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2006, **38**(2): 157–163.
- [11] Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges[J]. *Nature*, 2013, **495**(7441): 384–388.
- [12] Latreille M, Hausser J, Stützer I, et al. MicroRNA-7a regulates pancreatic β cell function[J]. *J Clin Invest*, 2014, **124**(6): 2722–2735.
- [13] Xu HY, Guo S, Li W, et al. The circular RNA Cdr1as, via miR-7 and its targets, regulates insulin transcription and secretion in islet cells[J]. *Sci Rep*, 2015, **5**: 12453.
- [14] Holdt LM, Stahringer A, Sass K, et al. Circular non-coding RNA ANRIL modulates ribosomal RNA maturation and atherosclerosis in humans[J]. *Nat Commun*, 2016, **7**: 12429.
- [15] Zhang ZZ, Zhang TT, Feng RN, et al. CircARF3 alleviates mitophagy-mediated inflammation by targeting miR-103/ TRAF3 in mouse adipose tissue[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, **14**: 192–203.
- [16] Kölling M, Seeger H, Haddad G, et al. The circular RNA ciRs-126 predicts survival in critically ill patients with acute kidney injury[J]. *Kidney Int Rep*, 2018, **3**(5): 1144–1152.
- [17] Parveen A, Jin M, Kim SY. Bioactive phytochemicals that regulate the cellular processes involved in diabetic nephropathy[J]. *Phytomedicine*, 2018, **39**: 146–159.
- [18] Chen JJ, Cui LQ, Yuan JL, et al. Circular RNA WDR77 target FGF-2 to regulate vascular smooth muscle cells proliferation and migration by sponging miR-124[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, **494**(1/2): 126–132.
- [19] Balijepalli C, Druyts E, Siliman G, et al. Hypoglycemia: a review of definitions used in clinical trials evaluating antihyperglycemic drugs for diabetes[J]. *Clin Epidemiol*, 2017, **9**: 291–296.
- [20] Shang FF, Luo SX, Liang XX, et al. Alterations of circular RNAs in hyperglycemic human endothelial cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, **499**(3): 551–555.
- [21] Liu C, Yao MD, Li CP, et al. Silencing of circular RNA-ZNF609 ameliorates vascular endothelial dysfunction[J]. *Thrombosis*, 2017, **7**(11): 2863–2877.
- [22] Khodabandehloo H, Gorgani-Firuzjaee S, Panahi G, et al. Molecular and cellular mechanisms linking inflammation to insulin resistance and β -cell dysfunction[J]. *Transl Res*, 2016, **167**(1): 228–256.
- [23] Fang Y, Wang XX, Li WQ, et al. Screening of circular RNAs and validation of circANKRD36 associated with inflammation in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Int J Mol Med*, 2018, **42**(4): 1865–1874.
- [24] Zhang SJ, Chen X, Li CP, et al. Identification and characterization of circular RNAs as a new class of putative biomarkers in diabetes retinopathy[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017, **58**(14): 6500–6509.
- [25] Vaishya S, Sarwade RD, Seshadri V. MicroRNA, proteins, and metabolites as novel biomarkers for prediabetes, diabetes, and related complications[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2018, **9**: 180.
- [26] Jeck WR, Sharpless NE. Detecting and characterizing circular RNAs[J]. *Nat Biotechnol*, 2014, **32**(5): 453–461.
- [27] Zhang ZR, Yang TT, Xiao JJ. Circular RNAs: promising biomarkers for human diseases[J]. *EBioMedicine*, 2018, **34**: 267–274.
- [28] Zhao ZZ, Li XJ, Jian DD, et al. Hsa_circ_0054633 in peripheral blood can be used as a diagnostic biomarker of pre-diabetes and type 2 diabetes mellitus[J]. *Acta Diabetol*, 2017, **54**(3): 237–245.
- [29] Li XJ, Zhao ZZ, Jian DD, et al. Hsa-circRNA11783-2 in peripheral blood is correlated with coronary artery disease and type 2 diabetes mellitus[J]. *Diab Vasc Dis Res*, 2017, **14**(6): 510–515.