

## 非编码 RNA 与胰岛素信号通路关系及其临床应用

刘禹宏, 张方方, 刘建兴, 刘 悅, 杨 悅, 金 亮\*

(中国药科大学生命科学与技术学院, 南京 210009)

**摘要** 非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 是一类没有或只有有限编码蛋白能力的 RNA, 主要包括微小 RNA (microRNA, miRNA)、长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA)、环状 RNA (circular RNA, circRNA)、转运 RNA (transfer RNA, tRNA)、PIWI 相互作用 RNA (PIWI-interacting RNA, piRNA) 和核小 RNA (small nucleolar RNA, snoRNA)。目前, 研究已经发现 ncRNA 在调控胰岛  $\beta$  细胞功能及胰岛素信号通路传导过程中发挥着核心作用, 而胰岛素信号传导阻滞是糖尿病发生的重要原因。因此, 本文综述了近年来 ncRNA 与胰岛素信号通路之间的调控关系的研究进展, 同时探讨了 ncRNA 作为糖尿病潜在治疗靶点及临床诊断标志物的可能性, 以期为糖尿病的治疗与诊断提供参考。

**关键词** 非编码 RNA; 胰岛素信号通路; 糖尿病; 胰岛  $\beta$  细胞

中图分类号 Q74; R587.1 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2021)03-0279-08

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.20210303

引用本文 刘禹宏, 张方方, 刘建兴, 等. 非编码 RNA 与胰岛素信号通路关系及其临床应用 [J]. 中国药科大学学报, 2021, 52(3): 279–286.

Cite this article as: LIU Yuhong, ZHANG Fangfang, LIU Jianxing, et al. Interplay between non-coding RNA and insulin signaling pathway and its clinical application [J]. J China Pharm Univ, 2021, 52(3): 279–286.

## Interplay between non-coding RNA and insulin signaling pathway and its clinical application

LIU Yuhong, ZHANG Fangfang, LIU Jianxing, LIU Yue, YANG Yue, JIN Liang\*

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

**Abstract** Non-coding RNA (ncRNA) is a type of RNA that has no or limited protein-coding ability. It mainly includes microRNA (miRNA), long non-coding RNA (lncRNA), circular RNA (circRNA), transfer RNA (tRNA), PIWI-interacting RNA (piRNA), and small nucleolar RNA (snoRNA). At present, research has found that ncRNA plays a central role in regulating the function of pancreatic  $\beta$  cells, and that defects of insulin signaling is an important cause of diabetes. This article reviews the relationship between ncRNA and insulin signaling pathway in recent years, and discusses the possibility of ncRNA as a potential therapeutic target and clinical diagnostic marker for diabetes, hoping to provide some reference for the treatment and diagnosis of diabetes.

**Key words** non-coding RNA; insulin signaling pathway; diabetes; islet  $\beta$  cells

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 82070801)

糖尿病是一种由于胰岛素抵抗、胰岛素分泌不足或胰高血糖素分泌过多而引起的代谢性疾病<sup>[1]</sup>。根据国际糖尿病联盟 (International Diabetes Federation, IDF) 提供的数据, 截至 2019 年, 全球糖尿病患者约有 4.63 亿, 其中 90% 为 2 型糖尿病

(type 2 diabetes, T2D), 而 1 型糖尿病 (type 1 diabetes, T1D) 和妊娠糖尿病仅占 10% 左右。预计到 2045 年, 全球糖尿病患者将突破 7 亿人<sup>[2]</sup>。胰岛  $\beta$  细胞功能受损和某些外围组织 (肝、脂肪和肌肉) 的胰岛素抵抗是 T2D 发生的主要病理原因<sup>[3]</sup>。

随着测序技术的发展和相关研究的不断深入,大量非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)被证实与糖尿病的发病存在明显的相关性。与健康人群相比,大量的ncRNA在糖尿病患者中的表达水平发生显著变化,并通过调控胰岛素信号通路参与糖尿病的发生和发展。已有研究证实多种类别的ncRNA在调控肥胖和糖尿病的过程中发挥着重要作用<sup>[4]</sup>。因此,本文将主要论述ncRNA在胰岛素信号通路转导中的作用机制及其在糖尿病治疗诊断中的应用前景,以期丰富和完善糖尿病的发生、发展机制,并为其将来作为糖尿病治疗药物或诊断试剂提供理论依据。

## 1 ncRNA的概念及其作用机制

ncRNA是一类没有或只有有限编码能力的RNA,主要包括微小RNA(microRNA, miRNA)、长链非编码RNA(long non-codingRNA, lncRNA)、环状RNA(circular RNA, circRNA)、转运RNA(transfer RNA, tRNA)、PIWI相互作用RNA(PIWI-interacting RNA, piRNA)和核小RNA(small nucleolar RNA, snoRNA)<sup>[5]</sup>。研究发现,这些不同类型的ncRNA均不同程度的参与调节了糖尿病的发生发展,尤其是miRNA<sup>[6-8]</sup>、lncRNA<sup>[9]</sup>和circRNA<sup>[10]</sup>。目前关于miRNA的研究已经相对成熟,但是有关lncRNA、circRNA和其他类型的ncRNA的功能及作用机制的研究仍然有限。

### 1.1 miRNA

miRNA是一种长度为18~21 nt的ncRNA。其体内产生过程是由DNA聚合酶Ⅱ将miRNA基因从DNA转录为pri-miRNA,pri-miRNA经过两次加工后将变成miRNA。众所周知,miRNA通过与mRNA的3'UTR区进行完全或非完全互补配对结合来干扰靶基因的表达进而影响蛋白质的翻译<sup>[11]</sup>。另外,miRNA可以与多个mRNA结合,使得miRNA具有广泛调节基因表达的功能。目前有关miRNA调控糖尿病发生、发展的研究也较为成熟<sup>[6-7]</sup>,比如本课题组在最近的一项研究中发现,miR-802可以通过靶向神经源性分化1(neurogenic differentiation 1, NEUROD1)影响胰岛素的转录和分泌<sup>[12]</sup>。

### 1.2 lncRNA

lncRNA是长度超过200 nt的不具有或者只有

部分编码能力的RNA,同样具有调控基因表达的生物学功能。根据基因组上与蛋白编码基因的位置关系,lncRNA主要分为5类:①正义lncRNA(sense lncRNA);②反义lncRNA(antisense lncRNA);③双向lncRNA(bidirectional lncRNA);④内含子lncRNA(intronic lncRNA);⑤基因间lncRNA(long intergenic noncoding RNA, lncRNA)<sup>[13]</sup>。研究发现,lncRNA主要以下述方式调控基因的表达:①作为重要的调节因子影响编码基因的表达;②参与染色质结构的开放,从而激活不同基因的转录;③通过与转录因子结合来阻止基因转录;④作为miRNA的分子支架竞争抑制miRNA与靶基因的结合。据报道,lncRNA比miRNA具有更好的组织特异性,这表明lncRNA作为生物标志物具有更小的风险和更高的诊断价值<sup>[14]</sup>。目前已经发现lncRNA在糖尿病的发生、发展中起着重要作用。本课题组前期研究工作也发现lncRNA胰岛素转录调节因子(regulator of insulin transcription, ROIT)可以通过调节NK6同源框1(NK6 homeobox 1, NKX6.1)影响胰岛素的转录<sup>[15]</sup>。

### 1.3 circRNA

circRNA是一种通过非经典反向剪接形成的具有环状结构的非编码RNA,由于没有5'端帽子结构和3'端poly(A)结构,其比线性RNA具有更好的稳定性<sup>[16]</sup>。目前发现circRNA主要以以下3种形式参与基因的表达调控:①circRNA与核仁小RNA(small nuclear, snRNA)或RNA聚合酶Ⅱ相互作用来调节基因转录;②circRNA作为miRNA海绵抑制miRNA与其靶mRNA的结合;③circRNA与RNA结合蛋白(RNA binding protein, RBP)结合改变mRNA剪接模式及稳定性<sup>[17]</sup>。此外,由于circRNA是mRNA的前体进行非典型的剪切产生,因此,circRNA的剪切形成也能直接影响亲本基因mRNA的表达。已有研究表明某些circRNA能调控基因的表达和疾病的发生(例如糖尿病)<sup>[18-19]</sup>。

### 1.4 其他类型的ncRNA

众所周知,tRNA主要作用是携带氨基酸进入核糖体,在mRNA指导下参与蛋白质的合成过程。在大多数细胞中,tRNA占总RNA的4%~10%,是一类相当稳定的RNA。然而越来越多的证据表明,在各种病理条件(比如糖尿病)下,tRNA的转录后修饰会失调甚至可能会被降解产生tRNA衍生

片段(tRNA fragment, tRF)<sup>[20]</sup>。

除了 miRNA、lncRNA、circRNA、tRNA 之外, piRNA 和 snoRNA 也是最近被发现的非编码 RNA。piRNA 是一类近年在动物生殖系中发现的、长度约为 24~35 nt 的小分子 ncRNA。piRNA 含有 2'-O-甲基修饰的 3' 端,并通过与 PIWI 亚家族的 Argonautes 蛋白发生相互作用进而使目标基因转录本沉默<sup>[21]</sup>。snoRNA 是一类不具有 poly(A) 结构但具有 5' 端帽子结构、长度为 65~300 nt 的小分子 ncRNA。snoRNA 主要分为 C/D 盒 snoRNA 和 H/ACA snoRNA 两种类型,其发挥的主要生物学功能是指导核糖体 RNA (ribosomal RNA, rRNA) 和 snRNA 的转录后修饰<sup>[22]</sup>。

## 2 ncRNA 与胰岛素信号通路

胰岛素抵抗是糖尿病发生的一个重要因素。胰岛素抵抗主要发生在特定的外周靶组织中,如肝脏、肌肉和脂肪组织,但也发生在胰岛  $\beta$  细胞中<sup>[23]</sup>。胰岛素信号通路是一条被严格调控的通路,胰岛素信号传导阻滞会导致胰岛素抵抗进而促进糖尿病的发生、发展。越来越多的证据表明 ncRNA 能够调节胰岛素信号通路中各分子的表达和活性,从而控制信号传导过程。

### 2.1 胰岛素信号通路

胰岛素与胰岛素受体(insulin receptor, IRS)结合后激活的 IRS 信号会募集胰岛素受体底物(insulin receptor substrate, IRS)家族的分子,尽管已知有 6 种 IRS 亚型,但在代谢过程中功能最强的是 IRS1 和 IRS2<sup>[24]</sup>。IRS 磷酸化后,IRS 蛋白会募集磷脂酰肌醇-3 激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)异二聚体,该异二聚体含有调节亚基 p85 和催化亚基 p110。PI3K 可进一步催化磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸(phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate, PIP2) 产生磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸(phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate, PIP3),从而激活 3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1(3-phosphoinositide dependent protein kinase 1, PDK1) 和蛋白激酶 B(rac-beta serine/threonine protein kinase, PKB, 也称作 AKT)。PDK1 与 mTOR 复合物 2(mammalian target of rapamycin complex, mTORC2) 可以使 AKT 磷酸化从而变成活化状态<sup>[25]</sup>。活化的 AKT 可以使 TBC1 域家族成员 4 (TBC1 domain

family, member 4, AS160, 也称为 TBC1D4)、糖原合成酶激酶-3 $\beta$  (glycogen synthase kinase 3 $\beta$ , GSK-3 $\beta$ )、叉头转录因子(forkhead box O, FOXO) 的磷酸化水平改变。AS160 可以促进葡萄糖转运蛋白 4 (solute carrier family 2 member 4, GLUT4) 的转运和葡萄糖的吸收<sup>[26]</sup>。而 GSK-3 $\beta$  和 FOXO 可调节糖异生与糖原的合成,与肿瘤、糖尿病等多种疾病有关<sup>[27-28]</sup>(图 1)。胰岛素信号通路中关键基因的活性缺陷已被确定是糖尿病的发病原因之一,ncRNA 被鉴定为调控胰岛素信号传导的有效调节剂。

### 2.2 miRNA 调控胰岛素信号通路

在过去的几年中,miRNA 被认为是控制包括胰岛素信号通路在内的许多信号通路的关键阻滞器。miRNA 通过调节胰岛素信号通路中关键基因的表达发挥作用,这在肝脏、肌肉和脂肪组织等多个胰岛素靶器官中都得到了印证。

肝脏是人体重要的代谢器官,在糖脂代谢中有核心作用,肝脏胰岛素抵抗是 T2D 的一个标志。在肝细胞中,可被胰岛素激活的 AKT 蛋白主要抑制葡萄糖的产生和促进糖原的合成。研究发现,在 HepG2 人肝细胞中 miR-424-5p 与 IRS 的 3'UTR 序列能直接结合,miR-424-5p 的过表达诱导了 IRS 基因转录水平和蛋白水平的降低<sup>[4]</sup>。此外,它提供的证据表明,经饱和脂肪酸(saturated fatty acid, SFA) 处理的 HepG2 细胞以及高脂饮食(high fat diet, HFD) 小鼠的肝脏中 IRS 蛋白表达减少,同时 miR-424-5p 的表达增加。这些数据表明,SFA 诱导的 miR-424-5p 是通过靶向 IRS 基因来削弱胰岛素信号传导。Ono 等<sup>[29]</sup>研究结果表明,在原代小鼠肝细胞中 miR-222 能直接靶向 IRS1 基因进而使 AKT 蛋白磷酸化减少,实现对胰岛素信号传导的负调节作用。活化的 IRS2 通过刺激 PI3K/AKT 途径和 GLUT4 蛋白来促进葡萄糖吸收以调节葡萄糖稳态。Huang 等<sup>[30]</sup>的研究发现,与对照组相比,过表达 miR-221 能降低 HepG2 细胞的葡萄糖摄取。与对照组相比,经 0.8 mmol/L 棕榈酸(palmitic acid, PA) 处理的 HepG2 细胞中的 PI3K、AKT 和 GLUT4 基因在转录水平表达下调,而 miR-221 表达上升。此外双荧光素酶报告基因实验证明 miR-221 能直接靶向 PI3K 基因,进而调节葡萄

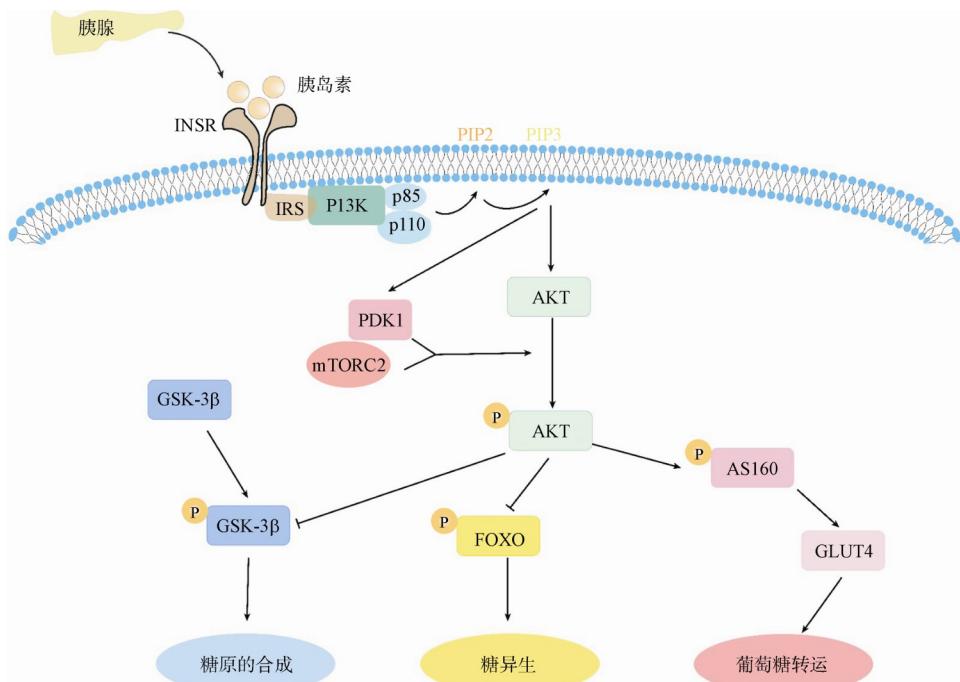


图1 胰岛素信号通路示意图

INSR:胰岛素受体;IRS:胰岛素受体底物;PI3K:磷脂酰肌醇-3激酶;PIP2:磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸;PIP3:磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸;PDK1:3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶1;PKB/AKT:蛋白激酶B;mTORC2:mTOR复合物2;AS160/TBC1D4:TBC1域家族成员4;GSK-3β:糖原合成酶激酶-3β;FOXO:叉头转录因子;GLUT4:葡萄糖转运蛋白4

糖的稳态。因此在肝细胞中过表达miR-221会引起胰岛素抵抗等肥胖相关代谢紊乱的发生。据报道,miR-499-5p能直接靶向磷酸酶-张力蛋白基因(phosphatase and tensin homolog, PTEN)。在T2D小鼠模型(例如Lepr<sup>db/db</sup>小鼠)的肝脏中miR-499-5p被下调,PTEN基因表达上调且有肝胰岛素抵抗的迹象。在敲降miR-499-5p之后,PTEN蛋白的高表达导致AKT蛋白活性显著降低,进而导致下游效应基因表达降低,从而导致胰岛素信号转导受损<sup>[6]</sup>。

肌肉是人体内最大的胰岛素敏感组织,对全身新陈代谢非常重要。肌肉胰岛素抵抗的特征是胰岛素刺激下的葡萄糖摄取和利用受损。Zhu等<sup>[31]</sup>等发现Lin28/let-7轴能够调节葡萄糖代谢,肌肉特异性Lin28a敲除小鼠或let-7过表达小鼠的葡萄糖耐量下降并发生胰岛素抵抗。事实上,let-7可以直接靶向胰岛素信号通路中多个基因,包括INSR和IRS2。

脂肪细胞是胰岛素的靶器官之一。Teleman等<sup>[32]</sup>在2006年首次报告miRNA可通过调节外周靶组织的胰岛素信号传导来调节葡萄糖稳态。作者首先在果蝇脂肪细胞中发现了miR-278。与正

常果蝇相比,miR-278-KO突变体果蝇具有更高的胰岛素和更高的血糖,出现胰岛素抵抗的症状。此外,作者还观察到脂肪细胞中FOXO基因出现过度活化,这是胰岛素信号转导受损的典型结果。这些结果表明,miR-278具有调节脂肪细胞中胰岛素信号转导的功能,这促使更多科学家对miRNA调节外周组织胰岛素敏感性的机制进行研究。

### 2.3 lncRNA调控胰岛素信号通路

虽然仅有少数lncRNA被证实参与了胰岛素信号通路的级联过程(表1),但鉴于lncRNA具有较强的组织分布特异性,使得lncRNA对胰岛素信号通路的调控机制受到越来越多研究者的关注。

Goyal等<sup>[33]</sup>发现通过高通量测序发现与正常小鼠相比,Lepr<sup>db/db</sup>小鼠肝脏中的lncRNA H19显著下调。而在HepG2细胞和原代小鼠肝细胞中使用特异性siRNA抑制lncRNA H19的表达水平后会显著增加糖异生相关基因[比如葡萄糖6-磷酸酶(glucose-6-phosphatase, G6PC),磷酸烯醇丙酮酸羧化激酶1(phosphoenolpyruvate carboxykinase 1, PCK1)和丙酮酸羧化酶(pyruvate carboxylase, PC)]的水平、损害胰岛素信号传导并增加FOXO1蛋白

表 1 胰岛素信号通路、糖尿病相关 ncRNA 的研究概况

| ncRNA        | 作用靶点                  | 功能  | 参考文献 |
|--------------|-----------------------|---|------|
| miR-424-5p   | <i>INSR</i>           | 促进胰岛素抵抗                                     | [6]  |
| miR-222      | <i>IRS1</i>           | 促进胰岛素抵抗                                     | [29] |
| miR-221      | <i>PI3K</i>           | 减少葡萄糖摄取、引起胰岛素抵抗                             | [30] |
| miR-499-5p   | <i>PTEN</i>           | 促进肝胰岛素抵抗                                    | [7]  |
| miR-802      | <i>NEUROD1</i>        | 影响胰岛素转录、引起胰岛素抵抗                             | [12] |
| let-7        | <i>INSR, IRS2</i>     | 葡萄糖耐量下降、发生胰岛素抵抗                             | [31] |
| miR-30d      | <i>IRS2, MafA</i>     | 激活胰岛素转录、保护胰岛细胞功能                            | [8]  |
| miR-278      | <i>FOXO</i>           | 调节脂肪细胞中胰岛素信号通路                              | [32] |
| lncRNA PLUTO | <i>PLUTO, PDX1</i>    | 调节胰岛素转录                                     | [9]  |
| lncROIT      | <i>NKX6.1</i>         | 调节胰岛素转录                                     | [15] |
| lncRNA H19   | <i>G6PC, PCK1, PC</i> | 糖异生受损、胰岛素信号通路受损                             | [33] |
| lncRNA H19   | let-7                 | 肌肉胰岛素敏感性受损                                  | [34] |
| lncASIR      | 暂无                    | 脂肪细胞胰岛素信号通路受损                               | [35] |
| lncRNA-p3134 | PI3K, AKT             | 葡萄糖耐量上升                                     | [36] |
| Cdr1as       | miR-7                 | 改善胰岛素分泌、胰岛 $\beta$ 细胞功能                     | [10] |
| circHIPK3    | miR-192-5p            | 促进血糖升高、发生胰岛素抵抗                              | [37] |
| circHIPK3    | AKT, GLUT2            | 损害胰岛 $\beta$ 细胞对葡萄糖的耐受能力、促进胰岛 $\beta$ 细胞凋亡。 | [38] |
| circ-016910  | miR-574-5p            | 调控细胞凋亡与增殖                                   | [39] |
| circRNA-TFRC | 暂无                    | 与胰岛素抵抗有关                                    | [41] |
| tRNA         | <i>Cdkal1</i>         | 葡萄糖耐量降低、促进糖尿病发生                             | [42] |
| DQ732700     | 暂无                    | 葡萄糖耐量降低                                     | [43] |
| DQ746748     | 暂无                    | 葡萄糖耐量降低                                     | [43] |
| snoRNA-U32a  | 暂无                    | 葡萄糖耐量上升                                     | [44] |
| snoRNA-U33   | 暂无                    | 葡萄糖耐量上升                                     | [44] |
| snoRNA-U34   | 暂无                    | 葡萄糖耐量上升                                     | [44] |
| snoRNA-U35a  | 暂无                    | 葡萄糖耐量上升                                     | [44] |

的核定位。

lncRNA H19 除了能调控肝脏胰岛素信号传导,也能影响肌肉中的胰岛素信号传导。Gao 等<sup>[34]</sup>发现 lncRNA H19 和 let-7 能在骨骼肌中调节胰岛素信号通路。lncRNA H19 的表达量在 T2D 患者的肌肉中显著降低。由于 lncRNA H19 可以充当 let-7 的分子海绵,所以导致 let-7 在 T2D 患者的肌肉中生物利用度提高,从而使 let-7 靶标(例如 *INSR* 和 *IRS2*)的表达降低,最终导致肌肉组织的胰岛素敏感性受损。除此之外,肌肉中非糖尿病性的急性高胰岛素血症通过 PI3K/AKT 信号通路促进 let-7 生物合成,从而导致了 lncRNA H19 快速降解。该研究揭示了 lncRNA H19 和 let-7 之间的双重负反馈回路,有助于精确调节骨骼肌中的葡萄糖稳态。

Degirmenci 等<sup>[35]</sup>的研究证明 lnc-ASIR (adipose specific insulin responsive) 沉默后会导致脂肪细胞

胰岛素反应受损,这表明 lnc-ASIR 是脂肪细胞胰岛素信号通路中的新型组成部分。此外,Ruan 等<sup>[36]</sup>通过研究发现当用特异性抑制剂阻断 PI3K/AKT 信号通路后,过表达 lncRNA-p3134 对胰岛素分泌的促进作用明显减弱,这证实了 lncRNA-p3134 是通过 PI3K/AKT/mTOR 信号通路促进胰岛素分泌。

#### 2.4 circRNA 调控胰岛素信号通路

circRNA 是缺乏 5' 帽子结构和 3' poly(A) 结构的共价闭合连续环状 RNA。该特点使 circRNA 非常稳定,并且对核酸外切酶和 RNase R 酶具有抵抗力。因此,近年来人们对 circRNA 给予了更多的关注,circRNA 已被建议作为新一代的生物标志物和许多疾病的潜在治疗靶标。

Cai 等<sup>[37]</sup>研究发现过表达 circHIPK3 可促进 HepG2 细胞中脂肪沉积并使血糖上升。miR-192-

5p是circHIPK3的潜在靶标,进一步的研究表明, circHIPK3通过调节miR-192-5p的表达来上调`FOXO1`从而损害胰岛素信号通路、促进血糖升高和发生胰岛素抵抗。值得一提的是,circHIPK3能作为miR-30a的分子海绵,阻断miR-30a的作用,这表明circHIPK3在糖尿病视网膜病变中也发挥着一些作用<sup>[18]</sup>。除在肝脏中发挥作用外,也有研究报道了circHIPK3在胰腺中的作用:Stoll等<sup>[38]</sup>等发现,circHIPK3是胰腺里表达最丰富的circRNA之一,同时在Lepr<sup>db/db</sup>小鼠的胰岛β细胞中其表达显著下调,进而损害胰岛β细胞对葡萄糖的耐受能力,并促进胰岛β细胞凋亡。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miRNA的分子海绵从而抑制AKT、肌侵蛋白(myotrophin, MTPN)、葡萄糖转运蛋白2(solute carrier family 2 member 2, GLUT2,也称为SLC2A2)等蛋白的表达。MTPN是控制胰岛素分泌机制的重要组成部分;GLUT2是胰岛β细胞摄取葡萄糖的重要转运蛋白。

circRNA在肌肉胰岛素抵抗和脂肪组织胰岛素抵抗中的研究还鲜有报道。但Liu等<sup>[39]</sup>等发现,circ-016910能充当miR-574-5p的海绵,而miR-574-5p可以通过靶向有丝分裂原活化蛋白激酶激酶激酶9(mitogen-activated protein kinase kinase kinase 9, MAP3K9)和AKT3发挥其生物作用。MAP3K9是MAPK信号通路中上游的激酶分子,可以接受细胞膜受体的多种信号刺激,激活后使下游基因磷酸化,调控细胞增殖分化。AKT3蛋白是哺乳动物细胞中AKT蛋白家族的成员,其他两个功能紧密相关的同工酶是AKT1和AKT2<sup>[40]</sup>。AKT蛋白家族调控了许多重要的生物学过程,例如细胞凋亡和细胞增殖。另外,circRNA-TFRC也被发现与胰岛素抵抗有关,circRNA-TFRC过表达会增加糖尿病等代谢疾病的风险<sup>[41]</sup>。

## 2.5 其他类型ncRNA

尽管tRNA、piRNA、snoRNA直接作用于胰岛素信号通路的研究还鲜有报道,但是已经有一些关于这些类型ncRNA在代谢性疾病中的生物学功能和发病机制的研究(表1)。

tRNA突变、tRNA修饰异常、tRNA氨酰化异常均会加速糖尿病的发生与发展。tRNA修饰可能影响tRNA的稳定性、功能以及翻译准确性和效率,

因此tRNA修饰缺陷可能对蛋白质合成产生深远的影响<sup>[20]</sup>。Cdkal1能对tRNA进行特异性修饰。Wei等<sup>[42]</sup>等研究发现胰岛β细胞特异性Cdkal1基因敲除小鼠的胰岛素原合成异常,同时葡萄糖耐量明显降低、胰岛素分泌明显受损,这表明Cdkal1在蛋白质翻译的质量控制中具有关键作用,并且与糖尿病的发生与发展有关。

Henaoui等<sup>[43]</sup>通过微阵列技术发现大鼠胰岛中有大量piRNA的表达,随后作者选择了两条在Goto-Kakizaki大鼠中高表达的piRNA(DQ732700和DQ746748),分别将这两条piRNA在对照大鼠的胰岛中高表达后导致葡萄糖耐量缺陷,这提示piRNA可能参与了糖尿病的发生与发展。

除了piRNA,也有少量文献报道了snoRNA在糖尿病中的作用。Lee等<sup>[44]</sup>发现蛋白质编码基因Rpl13a的内含子会产生的4个影响葡萄糖和胰岛素稳态的snoRNA(U32a、U33、U34和U35a)。在小鼠中有选择地删除该4个snoRNA后,与对照小鼠相比,Rpl13a snoRNA的丢失改变了线粒体的代谢,降低了活性氧的张力,导致胰岛β细胞在葡萄糖刺激下的胰岛素分泌增加,葡萄糖耐量上升。

## 3 ncRNA作为治疗糖尿病的潜在靶点及诊断标志物

### 3.1 ncRNA作为治疗糖尿病的潜在靶点

越来越多的证据表明,不同类别的ncRNA直接参与了胰岛素信号通路、胰岛功能的控制和糖尿病的发生。事实上,在动物模型中改变选定的ncRNA在体内的含量可以成功地预防或治疗糖尿病<sup>[45]</sup>。因此,ncRNA具有很强的治疗潜力,是设计治疗糖尿病有吸引力的潜在靶点。然而,将调节ncRNA的体内水平这一策略应用在人类身上仍有很大缺陷。调节ncRNA体内水平的常见方法是将模拟或阻断所选ncRNA的寡核苷酸衍生物以各种方式送入体内。虽然这些分子可以通过被修饰以增加它们的稳定性并促进它们在组织内的转移,但这些分子仍不能特异性地针对选定的细胞或组织。因此,这种方法可能会导致十分严重的不良反应,但ncRNA在糖尿病的治疗方面仍具有一定的潜力。据报道,miR-802在肥胖小鼠中表达升高并与糖尿病的发生与发展有关,当将小鼠的miR-802基因敲除后能抵抗高脂饮食诱导的胰岛素抵

抗从而改善小鼠葡萄糖耐受性<sup>[11]</sup>。因此,需要找到更高效、更安全的方法能够将选定的 ncRNA 衍生物输送进入目标细胞或组织,这将有望为 ncRNA 治疗糖尿病开辟新道路。

### 3.2 ncRNA 作为治疗糖尿病的潜在诊断标志物

虽然目前用 ncRNA 治疗糖尿病仍有巨大挑战,但是由于 ncRNA 具有稳定、易于在不同的体液中检测到的特点,ncRNA 已经被认为是一类新的临床诊断标志物。Zhao 等<sup>[46]</sup>等通过对正常人与糖尿病患者外周血中 circRNA 进行微阵列分析,发现 hsa\_circ\_0054633 表达水平变化较大,可能具有诊断能力。随后在糖尿病前期组、糖尿病患者组、健康对照组中测试 hsa\_circ\_0054633 的诊断能力,结果表明 hsa\_circ\_0054633 有望成为诊断糖尿病的生物标志物。

## 4 总结与展望

前期研究人员所做的工作为 ncRNA 能够调控胰岛素信号通路及糖尿病的发生与发展提供了有力的证据。值得注意的是,ncRNA 除了能独立地在多个代谢器官中发挥作用外,不同类别的 ncRNA 之间也存在着相互作用。随着糖尿病分子机制研究的不断深入,纠正失调 ncRNA 水平的治疗策略研究也逐步在动物实验中展开。目前,已有研究人员使用 miRNA 模拟物或 miRNA 抑制剂来调节疾病条件下 miRNA 的表达<sup>[47]</sup>。但由于 ncRNA 输送系统的高度限制性,相应策略还未能应用于临床。因此,研发出安全高效的 ncRNA 输送系统是研发 ncRNA 相关药物的重要任务之一。

## References

- [1] Shlomai G, Neel B, LeRoith D, et al. Type 2 diabetes mellitus and cancer: the role of pharmacotherapy [J]. *J Clin Oncol*, 2016, **34**(35):4261-4269.
- [2] Roden M, Shulman GI. The integrative biology of type 2 diabetes [J]. *Nature*, 2019, **576**(7785):51-60.
- [3] Rines AK, Sharabi K, Tavares CD, et al. Targeting hepatic glucose metabolism in the treatment of type 2 diabetes [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, **15**(11):786-804.
- [4] Tang NN, Jiang SY, Yang YY, et al. Noncoding RNAs as therapeutic targets in atherosclerosis with diabetes mellitus [J]. *Cardiovasc Ther*, 2018, **36**(4):e12436.
- [5] Beltrami C, Angelini TG, Emanueli C. Noncoding RNAs in diabetes vascular complications [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, **89**(Pt A):42-50.
- [6] Min KH, Yang WM, Lee W. Saturated fatty acids-induced miR-424-5p aggravates insulin resistance via targeting insulin receptor in hepatocytes [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, **503**(3):1587-1593.
- [7] Wang L, Zhang N, Pan HP, et al. MiR-499-5p contributes to hepatic insulin resistance by suppressing PTEN [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, **36**(6):2357-2365.
- [8] Zhao XM, Mohan R, Özcan S, et al. MicroRNA-30d induces insulin transcription factor *MafA* and insulin production by targeting mitogen-activated protein 4 kinase 4 (MAP4K4) in pancreatic  $\beta$ -cells [J]. *J Biol Chem*, 2012, **287**(37):31155-31164.
- [9] Akerman I, Tu ZD, Beucher A, et al. Human pancreatic  $\beta$  cell lncRNAs control cell-specific regulatory networks [J]. *Cell Metab*, 2017, **25**(2):400-411.
- [10] 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.
- [11] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. *Cell*, 2004, **116**(2):281-297.
- [12] Zhang FF, Ma DS, Zhao WL, et al. Obesity-induced overexpression of miR-802 impairs insulin transcription and secretion [J]. *Nat Commun*, 2020, **11**(1):1822.
- [13] Feng SD, Yang JH, Yao CH, et al. Potential regulatory mechanisms of lncRNA in diabetes and its complications [J]. *Biochem Cell Biol*, 2017, **95**(3):361-367.
- [14] Deveson IW, Hardwick SA, Mercer TR, et al. The dimensions, dynamics, and relevance of the mammalian noncoding transcriptome [J]. *Trends Genet*, 2017, **33**(7):464-478.
- [15] Zhang FF, Liu YH, Wang DW, et al. Obesity-induced reduced expression of the lncRNA ROIT impairs insulin transcription by downregulation of Nkx6.1 methylation [J]. *Diabetologia*, 2020, **63**(4):811-824.
- [16] Chen LL, Yang L. Regulation of circRNA biogenesis [J]. *RNA Biol*, 2015, **12**(4):381-388.
- [17] Meng SJ, Zhou HC, Feng ZY, et al. CircRNA: functions and properties of a novel potential biomarker for cancer [J]. *Mol Cancer*, 2017, **16**(1):94.
- [18] Liu YJ, Liu HT, Li Y, et al. Circular RNA SAMD4A controls adipogenesis in obesity through the miR-138-5p/EZH2 axis [J]. *Theranostics*, 2020, **10**(10):4705-4719.
- [19] Shan K, Liu C, Liu BH, et al. Circular noncoding RNA HIPK<sub>3</sub> mediates retinal vascular dysfunction in diabetes mellitus [J]. *Circulation*, 2017, **136**(17):1629-1642.
- [20] Pan T. Modifications and functional genomics of human transfer RNA [J]. *Cell Res*, 2018, **28**(4):395-404.
- [21] Ozata DM, Gainetdinov I, Zoch A, et al. PIWI-interacting RNAs: small RNAs with big functions [J]. *Nat Rev Genet*,

2019, **20**(2):89-108.

[22] Zimta AA, Tigu AB, Braicu C, et al. An emerging class of long non-coding RNA with oncogenic role arises from the snoRNA host genes[J]. *Front Oncol*, 2020, **10**:389.

[23] Kulkarni RN, Brüning JC, Winnay JN, et al. Tissue-specific knockout of the insulin receptor in pancreatic beta cells creates an insulin secretory defect similar to that in type 2 diabetes[J]. *Cell*, 1999, **96**(3):329-339.

[24] Hubbard SR. The insulin receptor; both a prototypical and atypical receptor tyrosine kinase [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, **5**(3):a008946.

[25] Leto D, Saltiel AR. Regulation of glucose transport by insulin: traffic control of GLUT4[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, **13**(6):383-396.

[26] Cartee GD. Roles of TBC1D1 and TBC1D4 in insulin- and exercise-stimulated glucose transport of skeletal muscle[J]. *Diabetologia*, 2015, **58**(1):19-30.

[27] Cervello M, Augello G, Cusimano A, et al. Pivotal roles of glycogen synthase-3 in hepatocellular carcinoma [J]. *Adv Biol Regul*, 2017, **65**:59-76.

[28] Hermida MA, Dinesh Kumar J, Leslie NR. GSK<sub>3</sub> and its interactions with the PI3K/AKT/mTOR signalling network [J]. *Adv Biol Regul*, 2017, **65**:5-15.

[29] Ono K, Igata M, Kondo T, et al. Identification of microRNA that represses IRS-1 expression in liver [J]. *PLoS One*, 2018, **13**(1):e0191553.

[30] Huang F, Chen J, Wang J, et al. Palmitic acid induces MicroRNA-221 expression to decrease glucose uptake in HepG2 cells via the PI3K/AKT/GLUT4 pathway [J]. *Biomed Res Int*, 2019, **2019**:8171989.

[31] Zhu H, Shyh-Chang N, Segrè AV, et al. The Lin28/let-7 axis regulates glucose metabolism[J]. *Cell*, 2011, **147**(1):81-94.

[32] Teleman AA, Maitra S, Cohen SM. *Drosophila* lacking microRNA miR-278 are defective in energy homeostasis [J]. *Genes Dev*, 2006, **20**(4):417-422.

[33] Goyal N, Sivadas A, Shamsudheen KV, et al. RNA sequencing of db/db mice liver identifies lncRNA H19 as a key regulator of gluconeogenesis and hepatic glucose output[J]. *Sci Rep*, 2017, **7**(1):8312.

[34] Gao Y, Wu FJ, Zhou JC, 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.

[35] Degirmenci U, Li J, Lim YC, et al. Silencing an insulin-induced lncRNA, LncASIR, impairs the transcriptional response to insulin signalling in adipocytes[J]. *Sci Rep*, 2019, **9**(1):5608.

[36] Ruan YT, Lin N, Ma Q, et al. Circulating lncRNAs analysis in patients with type 2 diabetes reveals novel genes influencing glucose metabolism and islet β-cell function [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, **46**(1):335-350.

[37] Cai HY, Jiang ZR, Yang XN, et al. Circular RNA HIPK<sub>3</sub> contributes to hyperglycemia and insulin homeostasis by sponging miR-192-5p and upregulating transcription factor forkhead box O1[J]. *Endocr J*, 2020, **67**(4):397-408.

[38] 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.

[39] Liu YH, Hou JX, Zhang M, et al. Circ-016910 sponges miR-574-5p to regulate cell physiology and milk synthesis via MAPK and PI3K/AKT-mTOR pathways in GMECs [J]. *J Cell Physiol*, 2020, **235**(5):4198-4216.

[40] LoPiccolo J, Blumenthal GM, Bernstein WB, et al. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway: effective combinations and clinical considerations[J]. *Drug Resist Updat*, 2008, **11**(1/2):32-50.

[41] Jäger S, Wahl S, Kröger J, et al. Genetic variants including markers from the exome chip and metabolite traits of type 2 diabetes[J]. *Sci Rep*, 2017, **7**(1):6037.

[42] Wei FY, Suzuki T, Watanabe S, et al. Deficit of tRNA (Lys) modification by Cdkal1 causes the development of type 2 diabetes in mice[J]. *J Clin Invest*, 2011, **121**(9):3598-3608.

[43] Henaoui IS, Jacovetti C, Guerra Mollet I, et al. PIWI-interacting RNAs as novel regulators of pancreatic beta cell function [J]. *Diabetologia*, 2017, **60**(10):1977-1986.

[44] Lee J, Harris AN, Holley CL, et al. Rpl13a small nucleolar RNAs regulate systemic glucose metabolism[J]. *J Clin Invest*, 2016, **126**(12):4616-4625.

[45] LaPierre MP, Stoffel M. MicroRNAs as stress regulators in pancreatic beta cells and diabetes [J]. *Mol Metab*, 2017, **6**(9) : 1010-1023.

[46] Zhao Z, Li X, Jian D, 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.

[47] Sharma S, Mathew AB, Chugh J. miRNAs: nanomachines that micromanage the pathophysiology of diabetes mellitus [J]. *Adv Clin Chem*, 2017, **82**:199-264.