

MicroRNAs 在糖尿病中的研究进展

刘祉嫣¹综述,陈立强^{2△}审校

(1. 肇庆医学高等专科学校护理系,广东肇庆 526020; 2. 肇庆市第一人民医院检验科,广东肇庆 526060)

关键词:微小 RNAs; 糖尿病; 胰岛素分泌; 胰岛素抵抗

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.17.035

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)17-2432-03

糖尿病的主要特征是血糖水平升高,如果是由于胰腺 beta 细胞功能障碍导致胰岛素缺乏称为 1 型糖尿病,或引起胰岛素抵抗从而降低胰岛素的敏感度和生成量,该机制可导致 2 型糖尿病的形成,而对 2 型糖尿病在发病初期的控制尤为重要^[1]。最近研究表明微小 RNAs (microRNAs) 对转录后的信使 RNAs 产生精细调节作用^[2],故 microRNAs 可能是糖尿病的发病机制中的一个重要靶点;现对 microRNAs 在糖尿病的发病机制作用影响以及治疗靶点进行综述。

1 microRNAs 概述

microRNAs 是 21~23 nt 组成的非编码 RNAs,其与 mRNA 3'-未翻译结构域序列互补结合并导致该 mRNA 的翻译受抑制^[3],已经超过 2 000 种 microRNAs 被报道存在于人类基因组中,许多 microRNAs 存在于不同的器官组织中^[4],然而部分 microRNAs 只存在于特定的组织中并发挥着重要的生理调节作用。一种类型的 microRNAs 可在不同细胞或不同 mRNA 发挥不同的生理功能,而 mRNA 的 3'-未翻译结构域序列亦存在多个 microRNAs 结合位点^[5],接受不同 microRNAs 的协同精细调节机制。与传统药物作用单一基因治疗靶点相比,microRNAs 可同时精细调节多基因多位点表达,发挥更大的药物靶点调控作用。最近研究表明,microRNAs 在胰岛素合成与释放、胰腺 β 细胞增殖、糖和脂肪代谢过程中发挥着重要作用^[6],而 microRNAs 在糖尿病患者和糖尿病动物模型中的功能失调,提示其在糖尿病发病过程中扮演着重要角色^[7]。

2 microRNAs 在胰岛素抵抗中的作用

胰腺 β 细胞数量减少和功能失常是 1 型和 2 型糖尿病发病的主要因素,而 β 细胞合成和分泌胰岛素是由血糖浓度的改变诱导 β 细胞激活不同的启动或抑制因子控制的^[8],microRNAs 的发现为研究 β 细胞的分化与增殖、胰岛素合成和分泌、细胞损伤和修复提供更多素材^[9]。胰岛素诱导血液中的葡萄糖转移到骨骼肌细胞和脂肪细胞中进行代谢,脂肪组织中 10% 的葡萄糖由胰岛素诱导摄入^[10],而骨骼肌细胞有 70%~75% 的葡萄糖需胰岛素诱导代谢。骨骼肌细胞与脂肪组织的功能失调可严重扰乱细胞内重要的信号通路从而降低细胞对胰岛素的敏感性,直接导致胰岛素抵抗和肥胖的发生^[11]。microRNAs 可刺激和抑制脂肪组织和肌肉组织的增殖和分化,而且 microRNAs 能调节脂肪生成多能干细胞,因此控制脂肪细胞的数量^[12]。因此,探讨 microRNAs 在骨骼肌细胞和脂肪细胞中的作用可发现更多糖尿病的药物靶点,对 microRNAs 的深入研究为肥胖和糖尿病的治疗提供新的药物靶点标志物^[13]。

3 microRNAs 在糖尿病中的作用

肝脏组织分泌胰高血糖素对糖异生、糖酵解和糖氧化的途径进行调控,如果机体代谢失衡,例如脂肪生成增多、脂肪酸氧化下降和三酰甘油分泌功能受损等都可导致血糖水平失控^[14]。肝细胞中 microRNAs 失调可改变葡萄糖和脂肪代谢和使糖尿病的发病概率增加。microRNAs 在血液、唾液和尿液中均存在,循环系统中 microRNAs 数量稳定并随血液循环到达不同的器官组织,故其可作为疾病的标志物进行研究^[15]。虽然 microRNAs 的分泌机制还了解甚少,然而研究表明 microRNAs 在许多细胞的运输囊泡、脂质微粒和凋亡小体中均被发现,microRNAs 的功能改变会导致细胞功能失常,可导致多种慢性疾病的发生^[16]。研究表明,循环系统的 microRNAs 功能改变出现在多种疾病中,包括肿瘤、心脏疾病和肝脏疾病等,并为这些疾病提供早期诊断依据。糖尿病外周血中一系列的 microRNAs 已经被研究鉴定,虽然对于 microRNAs 的研究还处于初期阶段,但结果显示血浆内 microRNAs 表达信号的改变会引起糖尿病的发生,故 microRNAs 可作为临床标志物进行深入探讨。该类 microRNAs 亦可成为重要的药物作用靶点,对糖尿病患者进行治疗^[17]。

4 microRNAs 在糖尿病药物靶点中的作用

microRNAs 的发现为治疗一些疑难杂症提供更多的药物作用靶点,例如肿瘤、心血管疾病和糖尿病等。因为通常 microRNAs 在糖尿病患者体内处于失调状态,恢复 microRNAs 的数量和功能到正常水平可作为治疗手段加以开展^[18]。近期有两项 microRNAs 治疗技术应用发展迅速,一项是利用 microRNAs 的类似物作用于细胞,发挥模拟 microRNAs 生物学机制,从而恢复 microRNAs 的功能;另一项是利用 microRNAs 抑制剂抑制原已过度表达的 microRNAs,从而让 microRNAs 表达处于正常水平^[19]。microRNAs 模拟物是一种 RNA 合成物,其能发挥内生的 microRNAs 的相应功能;胰岛素生成细胞由多能干细胞转化生成,而特定的 microRNAs 能调节人体多能干细胞的重组;microRNAs 类似物亦可增强多能干细胞的重组功能。关于 microRNAs 类似物的实验研究仅限于体外细胞,因为 microRNAs 类似物注入活体后,其更容易到达固定的组织结构,例如眼睛、肝脏和肺部等,可产生不可预料的不良反应^[20]。然而,microRNAs 类似物的活体应用还在不断深入研究,因为 microRNAs 类似物的不同类型正在测试,例如脂质体包裹型 microRNAs 类似物、microRNAs 海绵体包裹和 microRNAs 病毒包裹转运系统等。利用 microRNAs 作为药物作用靶点仍然是个难题,因为(1)microRNAs 类似物的不稳定性

△ 通信作者,E-mail:lqchen81@163.com。

使其化学结构发生改变而引起其生物学性质发生变化;(2) microRNAs 类似物能否到达正确的作用靶点仍然存在争议;(3) 多种药物和生物制剂均能影响 microRNAs 在细胞中的表达,而且 microRNAs 类似物或 microRNAs 抑制物的活体内转运手段还不成熟;(4) 要改变失衡活体内 microRNAs 水平并维持稳定状态仍然是个难题,而利用 microRNAs 类似物和抑制物进行治疗,会产生一定的不良反应^[21]。

5 结 论

机体内葡萄糖平衡需多组织器官间的相互作用完成, microRNAs 在各组织器官的协同作用中起重要作用;研究表明在不同的糖尿病个体的胰腺 β 细胞和胰岛素作用细胞的 microRNAs 处于失调状态,恢复 microRNAs 功能到正常水平能增加胰岛素的敏感性和促进胰岛素的合成与分泌^[22]。另外,循环系统的 microRNAs 与糖尿病的病理周期息息相关,尽管现在对循环系统的 microRNAs 的认识知之甚少,但 microRNAs 能随血液流动对不同的器官组织进行生物学调控。同时, microRNAs 不但可作为糖尿病治疗的潜在药物作用靶点^[23],而且还可成为糖尿病早期诊断的临床标记物,为糖尿病的预防与治疗提供更好的科学依据。

参考文献

- [1] Mohammed A, Peter E, Hartmann T, et al. MicroRNAs in breastmilk and the lactating breast: potential immunoprotectors and developmental regulators for the infant and the mother[J]. *Int J Environ Res*, 2015, 12(11): 13981-14020.
- [2] Bodo M. The pathogenic role of persistent milk signaling in mTORC1-and Milk-microRNA-driven type 2 diabetes mellitus[J]. *Curr Diabetes Rev*, 2015, 11(1): 46-62.
- [3] Elin H, Petr V, Tasnim D, et al. Sex differences in the genome-wide DNA methylation pattern and impact on gene expression, microRNA levels and insulin secretion in human pancreatic islets[J]. *Genome Biol*, 2014, 15(12): 522-534.
- [4] Emilyn U, Alejandro B, Taylor W, et al. Maternal diet-induced microRNAs and mTOR underlie β cell dysfunction in offspring[J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(10): 4395-4410.
- [5] Santanu R. MicroRNAs overexpressed in growth-restricted rat skeletal muscles regulate the glucose transport in cell culture targeting central TGF- β factor SMAD4[J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): 34596-34610.
- [6] Cécile J, Scot J, Matkovich A, et al. Postnatal β -cell maturation is associated with islet-specific microRNA changes induced by nutrient shifts at weaning[J]. *Nat Commun*, 2015, 18(6): 8084-8096.
- [7] Stewart T, Chang A, Matthew J, et al. Next-generation sequencing of small RNAs from HIV-Infected cells identifies phased microRNA expression patterns and candidate novel microRNAs differentially expressed upon infection[J]. *Biol*, 2013, 4(1): 549-562.
- [8] Xiao Z, Ramkumar M, Sabire O, et al. MicroRNA-30d induces insulin transcription factor MafA and insulin production by targeting mitogen-activated protein 4 Kinase 4 (MAP4K4) in pancreatic β -Cells[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(37): 31155-31164.
- [9] Giuliana V, Laura N, Guido S, et al. MicroRNAs: Novel players in the dialogue between pancreatic islets and immune system in autoimmune diabetes[J]. *Biomed Res Int*, 2015, 18(5): 734-749.
- [10] Tee J, Amir A, Jafri M, et al. MicroRNA expression profile of neural progenitor-like cells derived from rat bone marrow mesenchymal stem cells under the influence of IGF-1, bFGF and EGF[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(5): 9693-9718.
- [11] Dwi S, Arunm A, Subra T, et al. MicroRNA 144 impairs insulin signaling by inhibiting the expression of insulin receptor substrate 1 in type 2 diabetes mellitus[J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): 22839-22851.
- [12] Vaibhav J, Matthias H, Aliaksandr D, et al. CHO microRNA engineering is growing up: Recent successes and future challenges[J]. *Biotechnol Adv*, 2013, 31(8): 1501-1513.
- [13] Yiping M, Ramkumar M, Shungang Z, et al. MicroRNAs as pharmacological targets in diabetes [J]. *Pharmacol Res*, 2013, 7(5): 37-47.
- [14] Huan X, Sen G, Wei L, 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(3): 12453-12465.
- [15] Valérie P, Gérard W, Romano R, et al. Role of MicroRNAs in islet beta-cell compensation and failure during diabetes[J]. *J Diabetes Res*, 2014, 12(8): 618-652.
- [16] Mathieu L, Jean H, Inait S, et al. MicroRNA-7a regulates pancreatic β cell function[J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(6): 2722-2735.
- [17] Locke J, Xavier G, Dawe H, et al. Increased expression of miR-187 in human islets from individuals with type 2 diabetes is associated with reduced glucose-stimulated insulin secretion[J]. *Diabetologia*, 2014, 57(1): 122-128.
- [18] Upasana S, Nithin T, Theresa G, et al. Insights into insulin-mediated regulation of CYP2E1: miR-132/-212 targeting of CYP2E1 and role of phosphatidylinositol 3-Kinase, Akt(Protein Kinase B), mammalian target of rapamycin signaling in regulating miR-132/-212 and miR-122/-181a expression in primary cultured rat hepatocytes[J]. *Drug Metab Dispos*, 2013, 41(10): 1769-1777.
- [19] Guan X, Jun C, Gu J, et al. Thioredoxin-interacting protein regulates insulin transcription through microRNA-204[J]. *Nat Med*, 2013, 19(9): 1141-1146.
- [20] Jakub G, Anna M, Krichevsky D, et al. Belonging to a network-microRNAs, extracellular vesicles, and the glioblastoma microenvironment[J]. *Neuro Oncol*, 2015, 17(5): 652-662.
- [21] Baldeón L, Weigelt K, Harm W, et al. Type 2 Diabetes

monocyte MicroRNA and mRNA expression; dyslipidemia associates with increased differentiation-related genes but not inflammatory activation[J]. PLoS One, 2015,10(6):421-435.

[22] Theresa A, Simon J, Gian C, et al. Effect of(S)-3,5-DH-PG on MicroRNA expression in mouse brain[J]. Exp

Neurol,2012,235(2):497-507.

[23] Li B, Xu F, Ming S, et al. MicroRNA-185 Targets SOCS3 to inhibit beta-cell dysfunction in diabetes[J]. PLoS One, 2015,10(2):67-81.

(收稿日期:2017-03-12 修回日期:2017-05-01)

• 综 述 •

血栓与止血分子标志物检测在血栓性疾病中的研究进展

季洪良, 闫本纯, 杨正亮, 金 红, 陈宏娟 综述, 闫海润[△]审校

(牡丹江医学院红旗医院检验科, 黑龙江牡丹江 157011)

关键词: 血栓性疾病; 分子标志物; 血栓形成

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.17.036

文献标识码: A

文章编号:1673-4130(2017)17-2434-03

血栓性疾病是指血液中的异常物质沉积在血管壁导致血管闭塞或狭窄而引起的一类疾病^[1]。血栓形成指的是在血液循环过程中,在某些因素作用下,有形成分附着在血管壁上,激活体内凝血以及抗凝系统,最终造成凝血、抗凝两大系统的平衡被破坏,越来越多有形成分附着在暴露的内皮细胞下胶原处,造成血管壁狭窄或完全堵塞,引发血液循环障碍而导致血栓形成^[2]。在血栓形成过程中,血管内皮细胞会释放或合成许多物质,其中血栓调节蛋白、凝血酶-抗凝血酶复合物、纤溶酶-α2 纤溶酶抑制物复合物、组织纤溶酶原激活物/纤溶酶原激活物抑制剂-1 是在血栓形成过程中产生的主要分子标志物,血栓与止血分子标志物的检测有助于血栓性疾病患者的早期诊断。随着科学技术的发展,血栓与止血分子标志物的研究及方法学进展,在血栓性疾病诊断中发挥越来越重要的作用。目前,国内外对血栓性疾病已经开展了许多检测,尤其是新化学发光法的出现,将有更为广阔的临床应用前景。现就对这 4 种分子标志物的生理功能、检测方法以及在血栓性疾病诊治中的研究进展做一综述。

1 血栓与止血分子标志物

1.1 血栓调节蛋白(TM) TM 是血管内皮细胞表达的一种糖蛋白。当内皮细胞受损时, TM 被降解并释放到血液中,血浆 TM 水平可反映内皮细胞损伤的程度。1981 年有研究者发现 TM 作为活化蛋白 C 的辅助因子与凝血酶结合并使蛋白 C 活化速度增加,是具有强大抗凝作用的物质^[3]。TM 主要通过以下几方面发挥抗凝作用:(1)TM 是凝血酶的受体,其与凝血酶结合形成血栓调节蛋白-凝血酶复合物从而抑制凝血酶介导的纤维蛋白原凝固以及血小板的聚集和凝血因子 V, VIII, IX, X 的激活,此外它催化抗凝血酶对凝血酶的抑制;(2)血栓调节蛋白与凝血酶结合促进凝血酶活化蛋白 C(PC),活化的蛋白 C(APC)在蛋白 S(PS)的作用下,可以使凝血因子 Va 和因子 VIIIa 失活而发挥抗凝作用并促进血小板因子 4 与 PC 的结合以加速其活化;(3)TM 能直接抑制凝血酶的凝活能力,此外 TM 能促进抗凝血酶灭活凝血酶;(4)TM 可以激活纤维蛋白溶解抑制剂,还可以加速凝血酶介导的单链尿激酶型纤溶酶原激活物转化为凝血酶裂解的 2-链尿激酶型纤溶酶原激活物,而干扰

纤溶酶的产生^[4]。TM 作为内皮细胞分泌的一种重要抗凝标志物,当内皮细胞受损时其分泌释放增加,由此可见, TM 在抗凝、纤溶等方面对机体起着保护作用。

血栓性疾病发生发展过程中常常伴随着血管内皮细胞的破坏, TM 作为血管内皮细胞上的一个分子标志物与此类疾病的发生发展密切相关^[5]。血栓性疾病在其发展过程中内皮细胞逐渐破坏,血栓调节蛋白分泌释放入血液中,血浆中 TM 水平高低可以反映血管内皮细胞损伤程度,因此,检测血浆 TM 水平有助于血栓性疾病患者的预防、诊疗以及预后评估。

1.2 凝血酶-抗凝血酶复合物(TAT) 凝血酶是由凝血酶原激活物在钙离子参与下激活凝血酶原而生成的,生理情况下体内仅有少量凝血酶生成,之后很快又与抗凝血酶结合生成 TAT 而灭活, TAT 生成过程:首先肝素先结合于抗凝血酶的赖氨酸基从而使抗凝血酶的分子构象发生改变,然后抗凝血酶-肝素复合物与凝血酶结合形成凝血酶-肝素-抗凝血酶三联复合物,之后肝素解离形成凝血酶-抗凝血酶复合物^[6]。TAT 是衡量凝血酶生成和活性增高的分子标志物。

在血栓性疾病中均有血栓形成病理过程,凝血酶参与的凝血级联反应过度激活是血栓形成因素之一,检测凝血酶即可以反映体内凝血系统的情况,但是由于体内凝血酶产生后迅速与血液中其他物质作用而消失,因此,很难检测血液中凝血酶水平^[7]。TAT 是凝血酶与抗凝血酶结合形成的复合物, TAT 是能够反映凝血酶生成量和凝血酶活性的分子标志物,因此,临床上通过检测血液中 TAT 可间接测得凝血酶水平。

1.3 纤溶酶-α2 纤溶酶抑制物复合物(PAP) 当机体发生血栓时,纤溶系统被激活发挥血栓溶解作用。纤维蛋白在纤溶酶的作用下被降解为纤维蛋白降解产物和 D-二聚体。纤溶酶是纤溶酶原在纤溶酶原激活物作用下产生,纤溶酶可与纤维蛋白结合使纤维蛋白降解,若纤溶酶不与纤维蛋白或其他细胞外物质结合,它就会在数秒内与特异性的 α2-纤溶酶抑制物以共价键结合形成 PAP^[8]。

血液内纤溶酶水平可反映体内纤溶系统激活情况,由于纤溶酶在体内的半衰期只有大约 10 min,在血栓形成过程中不易检测纤溶酶水平。PAP 是体内纤维蛋白溶解实际状态的敏感

[△] 通信作者, E-mail: yanhairun581022@sina.com。