

MiR-320在2型糖尿病及血管并发症中的作用和机制

田登月¹, 刘云涛^{1*}, 高学农²

(¹三峡大学附属仁和医院内分泌科, 宜昌 443001; ²三峡大学医学部, 宜昌 443002)

摘要: MiR-320作为重要的内源性单链非编码微小RNA(microRNA, miRNA), 可影响炎症、氧化应激, 并参与机体多种生物学过程。MiR-320与糖脂代谢异常密切相关, 通过调节磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K/AKT)信号通路、炎症因子表达及氧化应激等参与2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)及血管病变的发生、发展。本文主要围绕miR-320的生物学作用, 及其在T2DM及血管并发症中的研究进展进行综述, 旨在为防治T2DM及血管并发症提供新的线索。

关键词: miR-320; 2型糖尿病; 糖尿病血管并发症

Role and mechanism of miR-320 in type 2 diabetes mellitus and diabetic angiopathies

TIAN Dengyue¹, LIU Yuntao^{1*}, GAO Xuenong²

(¹Department of Endocrinology, Affiliated Ren He Hospital of China Three Gorges University, Yichang 443001, China;

²Faculty of Medicine, China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

Abstract: MiR-320, an important endogenous single-chain non-coding microRNA (miRNA), can affect inflammation, oxidative stress and participate in a variety of biological processes. MiR-320 is closely related to abnormal glucose and lipid metabolism. MiR-320 is involved in the occurrence and development of type 2 diabetes mellitus (T2DM) and vascular diseases by regulating PI3K/AKT signaling pathways, expression of inflammatory factors and oxidative stress. This paper mainly focuses on the biological function of miR-320 and its research progress in T2DM and diabetic angiopathies, aiming to provide new clues for the prevention and treatment of T2DM and diabetic angiopathies.

Key Words: miR-320; type 2 diabetes mellitus; diabetic angiopathies

糖尿病是一组由遗传和环境因素共同引起的、以慢性高血糖为特征的终身性、代谢性疾病, 由胰岛素缺乏和作用障碍引起。据国际糖尿病联盟统计, 2021年全球糖尿病成年人患病人数已达5.37亿, 中国是全球糖尿病患者人数最多的国家, 预计到2045年将超过1.74亿^[1]。2型糖尿病

(type 2 diabetes mellitus, T2DM)是糖尿病患者最常见的类型, 约占90%以上^[2]。T2DM可引起心脑血管在内的大血管病变, 视网膜、肾脏病变在内的微血管病变, 是糖尿病患者致死、致残的主要原因, 给家庭和社会带来沉重的负担^[3]。微小RNA (microRNA, miRNA)是一类短链、内源性非编码

收稿日期: 2022-06-06

基金项目: 湖北省卫健委联合基金项目(WJ2019H548, WJ2019H547)

第一作者: E-mail: tiandengyue0518@163.com

*通信作者: E-mail: lytreader@126.com

RNA, 其通过与靶mRNA的3'非翻译区互补配对后干扰蛋白质翻译, 或在转录后水平促进靶mRNA降解, 参与糖代谢异常的发生^[4,5]。MiR-320是miRNA家族中的重要一员。体外研究发现, 转染miR-320模拟物后, INS-1细胞增殖减少、凋亡增加, 活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平增加, miR-320可能是糖尿病的潜在治疗靶点^[6]。体外研究还发现, T2DM大鼠心肌微血管内皮细胞中miR-320表达增加; T2DM大鼠心肌微血管内皮细胞转染miR-320抑制物后, 可改善T2DM大鼠心肌微血管内皮细胞增殖, 从而延缓T2DM血管并发症的发生^[7]。本文系统总结了miR-320在T2DM及血管并发症发生、发展中的作用。期望为T2DM及血管并发症防治提供新的线索。

1 MiR-320的概述

MiRNA是真核生物中普遍存在的一类长约22个核苷酸的内源性非编码单链小RNA^[8,9], 通过识别同源序列和干扰转录、翻译或表观遗传过程来调控基因表达, 从而参与多种生物学过程^[5,10]。MiRNA的生物合成途径始于RNA聚合酶Ⅱ转录合成初始miRNA, 从初始miRNA到成熟的功能miRNA需要依次在细胞核内与胞质中进行两步切割反应, 分别由Ⅲ型RNA酶家族成员Drosha和Dicer催化完成^[11]。MiR-320合成途径不同于常规的miRNA, 在其合成过程中, 只需要细胞质内Dicer酶切就能形成成熟的miRNA^[12]。MiR-320本身由细胞周期基因RNA聚合酶Ⅲ亚基D的上游区域直接编码, 该亚基是RNA聚合酶Ⅲ的特异性保守亚基^[13,14]。MiR-320具有重要的生理作用, 现有的研究发现, miR-320参与了糖脂代谢异常、肿瘤、动脉粥样硬化、肥胖的发生^[15,16]。

2 MiR-320在2型糖尿病及血管并发症中的作用及机制

2.1 MiR-320与糖代谢、胰岛素抵抗

研究发现, miR-320/血管内皮生长因子A(ascular endothelial growth factor A, VEGFA)轴参与了高糖诱导代谢记忆所致的人脐静脉内皮细胞功能异常的发生, miR-320通过与VEGFA miRNA的3'非翻译区直接结合, 抑制VEGFA的表达, 从

而直接抑制高糖诱导的“代谢记忆”^[17]。这提示, miR-320参与了T2DM的发生。实验发现, 高糖诱导小鼠胰岛β细胞miR-320表达显著增加, 而抑制miR-320表达可增加高糖诱导小鼠胰岛β细胞磷酸化蛋白激酶B(phosphorylated protein kinase B, p-AKT)和磷酸化哺乳动物雷帕霉素复合物1(phosphorylated mammalian rapamycin complex 1, p-mTORC1)蛋白的表达, 激活磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K/AKT)信号通路, 从而改善高糖诱导的小鼠胰岛β细胞凋亡和损伤^[18]。相关临床研究发现, T2DM、代谢综合征患者血清miR-320表达增加, 并且和血糖水平显著正相关^[19]。上述研究证实, miR-320与胰岛β细胞的凋亡、损伤及糖代谢关系密切。早期研究发现, 高糖和高胰岛素诱导产生的胰岛素抵抗(insulin resistance, IR) 3T3-L1脂肪细胞中miR-320的表达明显增加, miR-320过表达参与了IR的发生, 其机制可能与miR-320抑制磷脂酰肌醇-3-激酶-p85(phosphatidylinositol-3-kinase-p85, PI3K-p85)有关。胰岛素抵抗的3T3-L1脂肪细胞转染miR-320反义寡核苷酸后, PI3K-p85、P-AKT、葡萄糖转运蛋白4(glucose transporter 4, GLUT4)的表达增加, 胰岛素抵抗的3T3-L1脂肪细胞的葡萄糖摄取能力得到部分恢复, 增加了胰岛素抵抗的3T3-L1脂肪细胞的胰岛素敏感性^[20]。该研究提示, 抑制miR-320可通过增加PI3K-p85、P-AKT、GLUT4的表达, 达到改善IR的目的。综上所述, miR-320可能通过抑制PI3K/AKT信号通路, 降低PI3K-p85、P-AKT、GLUT4的表达等多种途径参与IR、T2DM的发生。MiR-320在IR、糖代谢中发挥的作用值得深入研究, 且miR-320可能成为T2DM治疗的新靶点。

2.2 MiR-320与糖尿病肾病

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是T2DM常见微血管并发症之一, 也是导致慢性肾脏疾病的主要原因^[21]。临床研究发现, DN患者血清miR-320表达增加, 且与DN患者预后关系密切^[22]。还有临床研究发现, DN患者尿液miR-320表达明显增加, 并且miR-320的表达水平与尿蛋白排泄率呈正相关, 与肾小球滤过率呈负相关^[23,24]。给予DN小鼠尾静脉注射重组腺相关病毒-

miR-320, 可导致肾脏中的ROS及足细胞凋亡率增加, 尿白蛋白/肌酐比值、血清肌酐和血尿素氮水平增加; 并且miR-320过表达可损伤DN小鼠足细胞, 导致其结构完整性破坏、系膜扩张、蛋白渗透性增加, 而抑制miR-320表达, 上述病变得到改善^[25]。上述研究提示, miR-320表达增加可导致ROS及足细胞凋亡率增加、足细胞损伤, 从而促进了DN的发生, 而抑制miR-320的表达可改善DN。但是, miR-320在DN中的确切机制尚未完全阐明。V-maf肌腱膜纤维肉瘤癌基因同源物B(V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog B, MafB)可影响足细胞的分化及足突形成, MafB上调可改善DN^[26,27]。研究发现, MafB是miR-320的靶点之一, miR-320通过抑制MafB下调足细胞肾病蛋白和谷胱甘肽过氧化物酶3的表达, 从而在T2DM肾脏病变中发挥损伤作用^[25]。这些研究提示, miR-320抑制MafB可能是其促进DN发生的机制之一。驱动蛋白家族成员14(kinesin family member 14, KIF14)是miR-320的另一靶点, 其与DN的发生密切相关, 转染KIF14过表达载体的高糖诱导肾小球足细胞存活率显著升高, 凋亡率显著降低, 肾病蛋白mRNA和肾小球足细胞裂隙膜蛋白mRNA表达显著升高, 提示KIF14在DN的发生、发展中发挥了保护作用。而转染miR-320模拟物的高糖诱导肾小球足细胞的KIF14表达水平显著降低, 表明miR-320可通过抑制KIF14表达, 促进高糖诱导的肾小球足细胞损伤的发生^[28]。MiR-320参与了DN的发生, 其机制可能与miR-320损伤肾小球足细胞、抑制MafB及KIF14表达有关。深入研究miR-320在DN发生中的确切机制可能为DN的防治提供新的理论依据。

2.3 MiR-320与糖尿病动脉粥样硬化

糖尿病动脉粥样硬化是T2DM常见慢性并发症之一, 也是T2DM患者死亡的主要原因。临床研究发现, miR-320在冠心病患者血清中表达增加, 并且与左前降支、右冠状动脉管腔狭窄密切相关^[15,29]。本课题组前期研究也发现, T2DM合并颈动脉粥样硬化的患者血清miR-320较单纯T2DM患者高, 并且miR-320是颈动脉粥样硬化的独立影响因素^[30]。研究发现, 给予载脂蛋白E基因敲除小鼠尾静脉注射pSilencer-miR-320质粒、腺相关病毒-

miR-320后可导致主动脉弓脂质沉积, 从而促进主动脉弓粥样硬化的形成^[15,31]。这些研究提示, miR-320参与了T2DM动脉粥样硬化的发生。MiR-320在T2DM动脉粥样硬化中的确切机制尚未完全阐明。氧化应激是动脉粥样硬化发生的关键因素。研究发现, 通过下调烟雾吸入性损伤大鼠血清miR-320的表达, 可升高超氧化物歧化酶的水平, 降低血清丙二醛水平^[32]。实验发现, 人成骨细胞中miR-320过表达可促进ROS表达显著增加^[33]。以上研究提示, miR-320可能通过促进氧化应激参与了动脉粥样硬化的发生。炎症是T2DM动脉粥样硬化的重要促进因素。研究发现, miR-320过表达可增加3T3L1脂肪细胞中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、核因子- κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)和白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)的表达; 相反, 抑制miR-320可降低3T3L1脂肪细胞中TNF- α 、NF- κ B和IL-6的表达; 实验还发现, 通过上调小鼠左心室组织miR-320的表达, 可增加IL-6等炎症因子的水平^[34]。路晓梅^[31]研究发现, 给予载脂蛋白E基因敲除小鼠尾静脉注射AAV2-miR-320后, 其腹腔巨噬细胞中miR-320过表达, 增加了NF- κ B p65的磷酸化水平, 进而激活NF- κ B信号通路, 促进M1型巨噬细胞分泌更多的促炎因子如单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)、趋化因子5, 加速动脉粥样硬化发生、发展。这些研究提示, miR-320可促进炎症的发生, 而抑制miR-320可改善炎症。MiR-320可通过对炎症的影响促进动脉粥样硬化的发生, 深入研究miR-320为防治T2DM动脉粥样硬化提供了新的研究线索。

2.4 MiR-320与糖尿病视网膜病变

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是T2DM患者重要的微血管病变, 发病率高, 也是糖尿病患者视力受损和失明的主要原因。实验发现, 链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠视网膜及高糖诱导的大鼠视网膜Müller细胞中miR-320的表达均显著降低^[35]。临床研究发现, DR患者血清miR-320表达降低, 且与DR病程呈负相关, miR-320是DR的独立影响因素, miR-320可能是预测DR发生的潜在生物学标志物^[36]。这些研究提示, 低水平的miR-320参与了DR的发生。研究证实, 血清血红素

氧合素酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)可以通过改善视网膜内皮细胞功能、抑制NF- κ B转录及视网膜新生血管形成,从而在DR中发挥保护作用^[37-39]。而实验发现,高糖诱导的大鼠视网膜Müller细胞转染miR-320模拟物后,其HO-1 mRNA表达水平显著增加^[35]。推测miR-320可能通过增加HO-1的表达来保护视网膜内皮细胞。炎症是DR重要的病理生理机制之一。实验发现,miR-320表达增加可显著减轻高糖诱导的大鼠视网膜Müller细胞的炎症反应,显著降低TNF- α 、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、MCP-1等炎症因子的表达,从而改善DR的发生、发展;而高糖诱导的大鼠视网膜Müller细胞miR-320表达降低时,可显著增加TNF- α 、IL-1 β 、MCP-1等炎症因子的表达,从而促进DR的发生^[35]。该研究提示,miR-320在高糖诱导的视网膜Müller细胞中通过抑制炎症在DR中发挥保护作用。可能由于miR-320表达下降,其对HO-1、炎症的影响作用发生改变,从而导致miR-320对DR的保护作用减弱,促进了DR的发生及发展。MiR-320在DR中的作用及机制值得深入研究,对防治DR具有重要临床意义。

MiR-320在DN、T2DM动脉粥样硬化中表达增加,而在DR中表达降低;miR-320的作用可能具有双向性,在不同的组织中发挥的具体作用不同。MiR-320在肾脏、大血管等组织中发挥了损害作用,而在视网膜中发挥了保护作用。目前的研究有限,尚不能完全解释清楚miR-320是如何发挥双向作用的,因此进一步探讨miR-320在T2DM及血管并发症中发挥双向性的具体作用机制,仍是未来研究努力的方向。

3 总结

作为miRNA家族重要的一员,miR-320在T2DM及血管并发症的发生、发展中起着重要作用。现有的研究发现,miR-320可能通过影响PI3K-p85、GLUT4、HO-1、MafB、KIF14、PI3K/Akt信号通路,炎症,氧化应激等参与了IR、T2DM及血管并发症的发生。MiR-320过表达可促进DN、T2DM动脉粥样硬化的发生、发展,但又可能对DR发挥保护作用。目前,miR-320在T2DM及血管并发症中的研究有限,其机制尚未完全阐

明,值得深入研究探讨。同时,miR-320在不同组织中发挥的不同作用也值得进一步研究。随着研究的不断深入和完善,将来miR-320可能是T2DM及其血管并发症的治疗新靶点。

参考文献

- [1] Sun H, Saeedi P, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract*, 2022, 183: 109119
- [2] 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2020年版). 国际内分泌代谢杂志, 2021, 41(5): 482-548
- [3] Williams R, Karuranga S, Malanda B, et al. Global and regional estimates and projections of diabetes-related health expenditure: results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Res Clin Pract*, 2020, 162: 108072
- [4] Lin N, Niu Y, Zhang W, et al. MicroRNA-802 is involved in palmitate-induced damage to pancreatic beta cells through repression of sirtuin 6. *Int J Clin Exp Pathol*, 2017, 10(11): 11300-11307
- [5] Chen L, Heikkinen L, Wang C, et al. Trends in the development of miRNA bioinformatics tools. *Brief Bioinform*, 2019, 20(5): 1836-1852
- [6] Du H, Yin Z, Zhao Y, et al. miR-320a induces pancreatic β cells dysfunction in diabetes by inhibiting MafF. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2021, 26: 444-457
- [7] Wang XH, Qian RZ, Zhang W, et al. MicroRNA-320 expression in myocardial microvascular endothelial cells and its relationship with insulin-like growth factor-1 in type 2 diabetic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2009, 36(2): 181-188
- [8] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, 116(2): 281-297
- [9] Ameres SL, Zamore PD. Diversifying microRNA sequence and function. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, 14(8): 475-488
- [10] Saliminejad K, Khorram Khorshid HR, Soleymani Fard S, et al. An overview of microRNAs: biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5): 5451-5465
- [11] Denli AM, Tops BBJ, Plasterk RHA, et al. Processing of primary microRNAs by the microprocessor complex. *Nature*, 2004, 432(7014): 231-235
- [12] Kim BM, Choi MY. Non-canonical microRNAs miR-320 and miR-702 promote proliferation in Dgcr8-deficient embryonic stem cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 426(2): 183-189

- [13] Kim DH, Sætrom P, Snøve Jr. O, et al. MicroRNA-directed transcriptional gene silencing in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(42): 16230-16235
- [14] Ittmann MM. Cell cycle control of the BN51 cell cycle gene which encodes a subunit of RNA polymerase III. *Cell Growth Differ*, 1994, 5(7): 783-788
- [15] Chen C, Wang Y, Yang S, et al. MiR-320a contributes to atherogenesis by augmenting multiple risk factors and down-regulating SRF. *J Cell Mol Med*, 2015, 19(5): 970-985
- [16] Wang Y, Zeng J, Pan J, et al. MiR-320a inhibits gastric carcinoma by targeting activity in the FoxM1-P27KIP1 axis. *Oncotarget*, 2016, 7(20): 29275-29286
- [17] Gao J, Ailifeire M, Wang C, et al. MiR-320/VEGFA axis affects high glucose-induced metabolic memory during human umbilical vein endothelial cell dysfunction in diabetes pathology. *Microvascular Res*, 2020, 127: 103913
- [18] 刘朱美卉, 陈晓宇, 杨元芳. 干扰微小RNA-320表达通过蛋白激酶B/哺乳动物雷帕霉素通路保护高糖诱导的胰岛β细胞损伤. *安徽医药*, 2021, 25(10): 2039-2043
- [19] Karolina DS, Tavintharan S, Armugam A, et al. Circulating miRNA profiles in patients with metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97(12): E2271-E2276
- [20] Ling HY, Ou HS, Feng SD, et al. Changes in microRNA (miR) profile and effects of miR-320 in insulin-resistant 3T3-L1 adipocytes. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2009, 36(9): e32-e39
- [21] Samsu N. Diabetic nephropathy: challenges in pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 1-17
- [22] 王蓁, 吴素萍, 徐品颖. 血浆miRNA-320C和miRNA-6088对型糖尿病肾病的诊断价值. *首都医科大学学报*, 2019, 40(3): 466-472
- [23] Deli D, Eisele C, Schmid R, et al. Urinary exosomal miRNA signature in type II diabetic nephropathy patients. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0150154
- [24] 罗艳, 胡桂英. 2型糖尿病肾病患者尿液外泌体中miRNA的表达谱分析研究. *检验医学与临床*, 2017, 14(9): 1271-1274
- [25] He M, Wang J, Yin Z, et al. MiR-320a induces diabetic nephropathy via inhibiting MafB. *Aging*, 2019, 11(10): 3055-3079
- [26] Moriguchi T, Hamada M, Morito N, et al. MafB is essential for renal development and F4/80 expression in macrophages. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(15): 5715-5727
- [27] Morito N, Yoh K, Ojima M, et al. Overexpression of MafB in podocytes protects against diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 25(11): 2546-2557
- [28] 郭红, 赵芳芳. miR-320c调控KIF14对高糖诱导的足细胞损伤及nephrin、podocin表达的影响. *中国中西医结合肾病杂志*, 2020, 21(9): 805-809
- [29] Su M, Niu Y, Dang Q, et al. Circulating microRNA profiles based on direct S-Poly(T)Plus assay for detection of coronary heart disease. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(11): 5984-5997
- [30] 刘云涛, 何婷, 胡妍琦, 等. 2型糖尿病患者血清miR-320与颈动脉粥样硬化相关性的研究. *中国糖尿病杂志*, 2022, 30(4): 256-260
- [31] 路晓梅. 血脂易感基因EEPD1及其相关miR-320b对脂质代谢和动脉粥样硬化的影响及机制研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2021
- [32] Xiao C, Yu Y, Liu Y, et al. Aerosol inhalation of edaravone can improve inflammation, oxidative stress and pulmonary function of rats with smoke inhalation injury by down-regulating miR-320. *Am J Transl Res*, 2021, 13(4): 2563-2570
- [33] De-Ugarte L, Balcells S, Nogues X, et al. Pro-osteoporotic miR-320a impairs osteoblast function and induces oxidative stress. *PLoS One*, 2018, 13(11): e0208131
- [34] Liu L, Li X. Downregulation of miR-320 alleviates endoplasmic reticulum stress and inflammatory response in 3T3-L1 adipocytes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2021, 129(2): 131-137
- [35] Fu S, Zheng Y, Sun Y, et al. Suppressing long noncoding RNA OGRU ameliorates diabetic retinopathy by inhibition of oxidative stress and inflammation via miR-320/USP14 axis. *Free Radic Biol Med*, 2021, 169: 361-381
- [36] 孙志兵, 杨娟. 2型糖尿病患者血清miR-320表达与糖尿病视网膜病变的相关性研究. *中国糖尿病杂志*, 2021, 29(5): 344-348
- [37] Abu El-Asrar AM, Mohammad G, Allegaert E, et al. Matrix metalloproteinase-14 is a biomarker of angiogenic activity in proliferative diabetic retinopathy. *Mol Vis*, 2018, 24: 394-406
- [38] 张玉敏. 血清HO-1、VEGF水平与2型糖尿病患者视网膜病变的相关性. *数理医药学杂志*, 2021, 34(10): 1438-1440
- [39] 林静娜, 辜智强. 血清VEGF、apelin、HO-1水平与不同分型糖尿病视网膜病变患者的相关性研究. *国际检验医学杂志*, 2021, 42(8): 999-1002