

环状 RNA 在 2 型糖尿病和非酒精性脂肪性肝病中的作用研究进展

胡丹怡, 苏钊, 严海燕, 麦一峰

doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.03.037

【中图分类号】 R587.1 【文献标志码】 C 【文章编号】 1671-0800(2024)03-0405-04

研究表明,非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)在糖尿病(DM)患者人群中的患病率是非 DM 患者的 5 倍,2 型糖尿病(T2DM)作为最常见的 DM,显示出与 NAFLD 极强的相关性^[1]。环状 RNA(circRNA)作为一类具有共价闭环结构的新型 RNA,已被证实参与了多种代谢性疾病的发生发展,这意味着 circRNA 具有成为此类疾病新型生物标志物和治疗工具的潜在作用^[2]。本综述拟简要介绍 circRNA 特征和功能,并总结部分 circRNA 在 T2DM 以及 NAFLD 病程中的作用研究进展。

1 circRNA 概述

1.1 circRNA 的生源论 最早在 1976 年通过电子显微镜在真核细胞中观察到了 circRNA 的存在^[3]。起初被认为是一类转录废料,直到 30 年后在小鼠中发现了 Sry 基因的环状转录本^[4],证据表明 circRNA 是多种生物过程中重要的调节因子^[5]。根据原始序列, circRNA 可分为 3 种:外显子环状 RNA(ec-circRNA)、内含子环状 RNA(ciRNA)和外显子-内含子环状 RNA(EI-circRNA),并主要通过直接反向剪接机制和套索参与的反向剪接机制驱动成环^[2]。

1.2 circRNA 的生物学功能 (1)circRNA 的 miRNA 海绵样作用。该作用与它含有许多 miRNA 结合位点密切相关, circRNA 通过特异性地结合一个或多个 miRNA,发挥竞争性内源性 RNA 的功能,影响 miRNA 对下游 mRNA 的调控。首个被报道 miRNA 海绵是 CDR1as,它含有 70 多个 miR-7 保守结

合位点,并作为 miR-7 分子海绵阻断 miR-7 对下游基因的表达抑制,从而间接调节转录后水平的基因表达^[6]。(2)circRNA 和蛋白质的相互作用。①具有蛋白质海绵的作用。如 circANRIL 与鱼素同系物 1 结合,破坏前体核糖体 RNA 的加工及核糖体的生物发生,诱导细胞凋亡^[7]。②可以充当蛋白支架。如 circAmotl1 通过与 3-磷酸肌醇依赖蛋白激酶 1 (3-phosphoinositide dependent kinase-1, PDK1)和蛋白激酶 B (Protein kinase B, PKB/AKT)物理性结合,激活 PDK1 依赖的 AKT1 磷酸化,从而触发 pAKT 心脏保护性的核易位^[2]。③ circRNA 还具有招募蛋白质作用。如 FECR1 可以招募 TET1 以调节 CpG 位点的去甲基化和转录活性,进一步增强癌细胞的侵袭性^[8]。(3)circRNA 调节基因表达。研究证明,细胞核中的 EI-circRNA 和 ciRNA 可以通过与上游启动子、RNA 聚合酶 II (RNA polymerase II, Pol II)和其他转录相关蛋白相互作用来调节基因的表达。一项研究报道了 circEIF3J 和 circPAIP2 通过 U1 snRNA 的结合位点与 U1 snRNP 和 Pol II 相互作用,从而增强其亲本基因的表达^[2]。(4)circRNA 的翻译能力。研究发现, circRNA 可以通过其内部核糖体进入位点(internal ribosome entry site, IRES)或 N6-甲基腺苷修饰进行“无帽”翻译。目前尽管只有少数内源性 circRNA (如 circFAM188B、circMbl)被证明可以作为蛋白模板,数千种 circRNA 被预测包含一个假定存在的开放阅读框和上游 IRES^[9],但大部分 circRNA 翻译成多肽或蛋白质的功能相关性仍不十分清楚,也有可能因为“无帽”翻译的特殊性,在缺乏必要功能域的情况下,它们可能作为显性负蛋白变异、诱饵或替代蛋白复合物的调节剂存在^[10]。

基金项目: 宁波市科技项目(2019C50080)

作者单位: 315211 宁波,宁波大学医学部(胡丹怡、苏钊);宁波大学附属第一医院(胡丹怡、苏钊、严海燕、麦一峰)

通信作者: 麦一峰, Email: fyimaiyifeng@nbu.edu.cn

2 circRNA 与 T2DM

2.1 circRNA 在调节胰岛素抵抗 (IR) 和β细胞功能中的作用 传统认为T2DM以IR和β细胞缺陷作为病理生理基础,在与高血糖和IR的长期对抗中,胰岛素的代偿性增加也是有限的,最终将会出现β细胞功能障碍、衰竭和高血糖共存的局面。现有证据表明,circRNA积极参与调节β细胞功能和T2DM的发展。如 circLRP6 在高糖处理的系膜细胞中上调,并通过海绵 miR-205 介导细胞损伤,沉默 circLRP6 后,β细胞凋亡减少,胰岛素分泌改善^[11]。另外, circANKRD36 被发现在T2DM大鼠模型中大量表达,沉默 circANKRD36 可通过靶向 miR-145-XBP1 降低血糖并抑制IR和炎症^[12]。此外,研究表明 circGlis3 的表达上调可以降低β细胞活力和增殖,同时加重胰岛内皮细胞功能障碍。敲除 circGlis3 后,上述症状得到改善^[13]。

2.2 circRNA 在缓解内皮细胞受损中的作用 微血管内皮细胞是高血糖损害的主要靶点。Shi 等^[14]在研究DM小鼠伤口愈合情况时发现, circSnhg11 在内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)中的表达降低, circSnhg11 过表达可以通过 miR-144-3p/HIF-1α轴抑制高糖诱导的内皮细胞损伤,缓解血管分化异常和炎症因子分泌增加。同样还发现,含有高浓度 circ_0000250 的外泌体在高糖条件下通过促进自噬活化对恢复EPCs功能具有更大的治疗效果。过表达 circ_0000250 通过海绵化 miR-1-128p 来上调沉默信息调节因子 1(Silent Information Regulator 1, SIRT1) 的表达,影响伤口愈合^[15]。因此,可以将 circ_0000250/miR-128-3p/SIRT1 轴靶向内皮细胞功能障碍,作为糖尿病溃疡的候选治疗方案。T2DM病程中发挥作用的 circRNA 见表 1。

3 circRNA 与 NAFLD

3.1 circRNA 在脂质代谢中的作用 研究证明 cir-

cScd1 可以通过激活 JAK2/STAT5 途径,抑制脂滴形,降低三酰甘油(TG)水平,改善肝脂肪变性,抑制 NAFLD 进展^[16]。一项新的研究在 NAFLD 啮齿动物模型的 circRNA 表达谱中发现有 28 个 circRNA 显著下调,其中 circ_0001452、circ_0001453 和 circ_0001454 通过靶向 miR-466i-3p 和 miR-669c-3p 恢复 AMP 依赖的蛋白激酶(adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK) 信号通路活性,从而抑制脂肪生成基因的转录和翻译^[17]。类似的实验在游离脂肪酸(free fatty acids, FFA)处理的 HepG2 细胞中发现 circ_0048179 表达水平明显降低。过表达 circ_0048179 后,细胞中谷胱甘肽过氧化物酶 4(Glutathione Peroxidase 4, GPX4)的水平显著增加, miR-188-3p 受到抑制,细胞的氧化损伤得到改善^[18]。

3.2 circRNA 通过调节自噬通量在 NAFLD 中发挥作用 自噬是通过降解错误折叠的蛋白质、受损的细胞器和脂滴来保持细胞和组织稳态的重要过程,恢复自噬能力可以改善 NAFLD 症状^[19]。研究表明,哺乳动物的线粒体自噬亦是由 PTEN 诱导的假定蛋白激酶 1(PTEN-induced putative kinase 1, PINK1)组成的通路介导的,该通路是目前与线粒体自噬相关的最受关注的信号通路之一^[20]。相关性实验中,在受损肝细胞内过表达 circ_0000608 可以通过 miR222/PINK1 轴增加线粒体自噬通量,抑制肝星状细胞增殖来改善肝纤维化,从而达到防止肝纤维化进一步恶化或治疗的目的^[21]。同年, Yuan 等^[22]发现 NAFLD 模型的自噬信号通路在上调 circLDLR 表达时被激活,脂质沉积程度减轻。加入 miR-667-5p 模拟物可以逆转上述过程,并直接靶向 SIRT1 抑制自噬信号通路。在 NAFLD 病程中发挥作用的 circRNA 见表 2。

4 DM 与 NAFLD 共享的部分 circRNA

Li 等^[24]通过差异分析得到 circ_0004535 和 CASP8 在 NAFLD 及 T2DM 患者中的表达水平低

表 1 在 T2DM 病程中发挥作用的部分 circRNA

circRNA	表达情况	miRNA/蛋白质	靶基因/信号通路	作用机制	参考文献
circLRP6	上调	miR-205	—	沉默后可增强β细胞活力,抑制β细胞凋亡、促进胰岛素分泌	Ma 等 ^[11]
circANKRD36	上调	miR-145	XBP1	沉默后可降低血糖水平、抑制 IR 和炎症	Lu 等 ^[12]
circGlis3	上调	—	—	抑制β细胞活力和增殖,增加β细胞凋亡;促进胰岛内皮细胞功能障碍	Xiong 等 ^[13]
circSnhg11	下调	miR-144-3p	HIF-1α	过表达可改善内皮细胞功能受损	Shi 等 ^[14]
circ_0000250	上调	miR-1-128p	SIRT1	改善内皮细胞功能受损	Shi 等 ^[15]

于对照组,在 T2DM 合并 NAFLD 的患者中甚至更低,而 miR-1827 在合并组中的表达却远高于其他患者。过表达 circ_0004535 和 CASP8 导致 miR-1827 表达降低,同时改善了葡萄糖处理的 LO2 细胞中脂肪变性的现象。另外,经生物功能富集分析,ceRNA 网络中的特异性 miRNA 主要富集在 Toll 样受体 (toll-like receptor, TLR) 信号通路和细胞凋亡中。TLR 作为炎症反应关键的参与者,除了驱动炎症细胞因子的产生,还会导致胰岛β细胞功能障碍,加速胰岛β细胞凋亡,增强 IR^[25]。结合上述研究表明, circ_0004535 可以靶向结合 miR-1827 调节 CASP8 以及 TLR 信号通路和细胞凋亡相关功能,参与 DM 合并 NAFLD 的发展。在另一研究中,相比于对照组, NAFLD 患者血清中的 circHIPK3 和 miR-34a 水平上调, circ_0046367、miR-29a 水平以及 Wnt/β-连环蛋白通路下调,并且检出 TG、TC、低密度脂蛋白以及空腹和餐后 2 h 血糖、糖尿病患病率均明显升高^[26]。其中,β-连环蛋白已被证实具有调节糖脂代谢基因表达的作用^[27]。经相关性分析,可以假设 circ_0046367/miR-34a 轴和 circHIPK3/miR-29a 通过靶向 Wnt/β-连环蛋白通路来调节 DM 和 NAFLD 发展过程中葡萄糖耐量、胰岛素敏感性以及脂质代谢过程。虽然该假设涉及的具体机制尚不十分明确,但给予的前期思路依旧有助于 DM 合并 NAFLD 患者的治疗。

此外,近年有研究团队确定了一种线粒体特异

性 circDNA,即脂肪性肝炎相关的 circRNA ATP5B 调节因子 (steatohepatitis-associated circRNA ATP5B regulator, SCAR),经实验发现在小鼠体内可以靶向 circSCAR 来缓解高脂饮食引起的肝硬化和 IR^[28],另有研究在糖尿病视网膜微血管病变的模型中发现 circSCAR 表达显著下调,其靶向的线粒体功能相关蛋白 (Drp1 和 Fis1) 上调和细胞通透性相关蛋白 (claudin-5、occludin 和 ZO-1) 下调,抑制了细胞增殖。因此, circSCAR 不仅可以改善高脂引起的肝纤维化和 IR,还可以缓解高糖诱导的氧化应激,缓解高浓度葡萄糖下人视网膜微血管内皮细胞的增殖抑制,改善线粒体功能和通透性损伤。在 DM 和 NAFLD 病程中均发挥作用的 circRNA 见表 3。

5 总结

证据表明, circRNA 与 DM、NAFLD 及其并发症的发展密切相关,主要表现为病理状态下 circRNA 的表达上调、下调或与正常生理状态下出现的差异表达。借此,可以将 circRNA 在疾病中的作用初步分为 3 种:参与疾病的发病机制,作为发现疾病的生物标记物,以及作为疾病的治疗靶点。通过纠正这些在疾病期间表达异常的 circRNA 来扭转代谢紊乱的局面或许可以为临床治疗应用提供启示。并且这种基于 circRNA 的基因疗法旨在通过影响 circRNA/miRNA/下游基因信号转导轴来恢复糖脂代谢稳态,

表 2 在 NAFLD 病程中发挥作用的部分 circRNA

circRNA	表达情况	miRNA/蛋白质	靶基因/信号通路	作用机制	参考文献
circ_0001452	下调	miR-466i-3p、miR-669c-3p	AMPK 信号通路	抑制脂肪生成基因的转录和翻译	Xie 等 ^[17]
circ_0001453	下调	miR-466i-3p、miR-669c-3p	AMPK 信号通路	抑制脂肪生成基因的转录和翻译	Xie 等 ^[17]
circ_0001454	下调	miR-466i-3p、miR-669c-3p	AMPK 信号通路	抑制脂肪生成基因的转录和翻译	Xie 等 ^[17]
circ_0048179	下调	miR-188-3p	GPX4	过表达可抑制肝细胞凋亡、活性氧过剩,缓解线粒体损伤	Yang 等 ^[18]
circScd1	上调	—	JAK2/STAT 信号通路	缓解脂质累积	Li 等 ^[16]
circ_0000608	下调	miR-222	PINK1	过表达可增加自噬通量,改善肝纤维化	Jin 等 ^[23]
circLDLR	下调	miR-667-5p	SIRT1	激活自噬信号通路;缓解脂质累积	Yuan 等 ^[22]

表 3 在 DM 和 NAFLD 病程中均发挥作用的部分 circRNA

circRNA	表达情况	miRNA/蛋白质	靶基因/信号通路	作用机制	参考文献
circSCAR	下调	Drp1、Fis1、Claudin-5、Occludin、ZO-1	—	过表达可缓解肝纤维化、IR、以及人视网膜微血管内皮细胞的增殖抑制;过表达可抑制 mROS 输出和成纤维细胞活化,缓解线粒体功能和通透性损伤、氧化应激和炎症反应	Zhao 等 ^[28] Wu 等 ^[29]
circ_0004535	下调	miR-1827	CASP8; TLR 信号通路	过表达可缓解脂代谢紊乱和氧化应激	Li 等 ^[24]
circ_0046367	下调	miR-34a	Wnt/β-连环蛋白信号通路	缓解糖脂代谢紊乱	Abdelgwad 等 ^[26]
circHIPK3	上调	miR-29a	Wnt/β-连环蛋白信号通路	缓解糖脂代谢紊乱	Abdelgwad 等 ^[26]

进一步说明了特定的 circRNA 有望成为预防或挽救疾病进展以及恶化的治疗靶点。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

- [1] MANTOVANI A, PETRACCA G, BEATRICE G, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and risk of incident diabetes mellitus: an updated meta-analysis of 501 022 adult individuals[J]. Gut, 2021, 70(5): 962-969.
- [2] HUANG A, ZHENG H, WU Z, et al. Circular RNA-protein interactions: functions, mechanisms, and identification[J]. Theranostics, 2020,10(8):3503-3517.
- [3] SANGER H L, KLOTZ G, RIESNER D, et al. Viroids are single-stranded covalently closed circular RNA molecules existing as highly base-paired rod-like structures[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1976, 73(11):3852-3856.
- [4] CAPEL B, SWAIN A, NICOLIS S, et al. Circular transcripts of the testis-determining gene Sry in adult mouse testis[J]. Cell, 1993, 73(5):1019-1030.
- [5] SALZMAN J, GAWAD C, WANG P L, et al. Circular RNAs are the predominant transcript isoform from hundreds of human genes in diverse cell types[J]. PLoS One, 2012, 7(2):e30733.
- [6] PANDA A C. Circular RNAs act as miRNA sponges [J]. Adv Exp Med Biol, 2018, 1087:67-79.
- [7] HOLDT L M, 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.
- [8] CHEN N, ZHAO G, YAN X, et al. A novel FLI1 exonic circular RNA promotes metastasis in breast cancer by coordinately regulating TET1 and DNMT1[J]. Genome Biol, 2018, 19(1):218.
- [9] KRISTENSEN L S, ANDERSEN M S, STAGSTED L V, et al. The biogenesis, biology and characterization of circular RNAs [J]. Nat Rev Genet, 2019, 20(11):675-691.
- [10] LEGNINI I, DI TIMOTEO G, ROSSI F, et al. Circ-ZNF609 is a circular RNA that can be translated and functions in myogenesis [J]. Mol Cell, 2017, 66(1): 22-37.
- [11] MA J, WU Y, HE Y. Silencing circRNA LRP6 down-regulates PRMT1 to improve the streptozocin-induced pancreatic β -cell injury and insulin secretion by sponging miR-9-5p [J]. J Bioenerg Biomembr, 2021, 53(3):333-342.
- [12] LU J, PANG L, ZHANG B, et al. Silencing circANKRD36 inhibits streptozotocin-induced insulin resistance and inflammation in diabetic rats by targeting miR-145 via XBP1[J]. Inflamm Res, 2021, 70(6):695-704.
- [13] XIONG L, CHEN L, WU L, et al. Lipotoxicity-induced circGlis3 impairs beta cell function and is transmitted by exosomes to promote islet endothelial cell dysfunction[J]. Diabetologia, 2022, 65(1):188-205.
- [14] SHI R, JIN Y, ZHAO S, et al. Hypoxic ADSC-derived exosomes enhance wound healing in diabetic mice via delivery of circ-Snhg11 and induction of M2-like macrophage polarization[J]. Biomed Pharmacother, 2022, 153:113463.
- [15] SHI R, JIN Y, HU W, et al. Exosomes derived from mmu_circ_0000250-modified adipose-derived mesenchymal stem cells promote wound healing in diabetic mice by inducing miR-128-3p/SIRT1-mediated autophagy[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2020, 318(5): 848-856.
- [16] LI P, SHAN K, LIU Y, et al. CircScd1 Promotes Fatty Liver Disease via the Janus Kinase 2/Signal Transducer and Activator of Transcription 5 Pathway[J]. Dig Dis Sci, 2019, 64(1): 113-122.
- [17] XIE Y, CAO Y, GUO C J, et al. Profile analysis and functional modeling identify circular RNAs in nonalcoholic fatty liver disease as regulators of hepatic lipid metabolism[J]. Front Genet, 2022, 13:884037.
- [18] YANG W, ZHAO J, ZHAO Y, et al. Hsa_circ_0048179 attenuates free fatty acid-induced steatosis via hsa_circ_0048179/miR-188-3p/GPX4 signaling[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(23):23996-24008.
- [19] UDOH U S, RAJAN P K, NAKAFUKU Y, et al. Cell autophagy in NASH and NASH-related hepatocellular carcinoma[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(14):7734.
- [20] NGUYEN T N, PADMAN B S, LAZAROU M. Deciphering the molecular signals of PINK1/parkin mitophagy[J]. Trends Cell Biol, 2016, 26(10):733-744.
- [21] XU Z X, LI J Z, LI Q, et al. CircRNA608-microRNA222-PINK1 axis regulates the mitophagy of hepatic stellate cells in NASH related fibrosis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2022, 610: 35-42.
- [22] YUAN X, LI Y, WEN S, et al. CircLDLR acts as a sponge for miR-667-5p to regulate SIRT1 expression in non-alcoholic fatty liver disease[J]. Lipids Health Dis, 2022, 21(1):127.
- [23] JIN X, GAO J, ZHENG R, et al. Antagonizing circRNA_002581-miR-122-CPEB1 axis alleviates NASH through restoring PTEN-AMPK-mTOR pathway regulated autophagy[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(2):123.
- [24] LI M, ZENG A, TANG X, et al. Circ_0004535/miR-1827/CASP8 network involved in type 2 diabetes mellitus with nonalcoholic fatty liver disease[J]. Sci Rep, 2023, 13(1): 19807.
- [25] DEGIRMENCI I, OZBAYER C, KEBAPCI M N, et al. Common variants of genes encoding TLR4 and TLR4 pathway members TIRAP and IRAK1 are effective on MCP1, IL6, IL1 β , and TNF α levels in type 2 diabetes and insulin resistance[J]. Inflamm Res, 2019, 68(9): 801-814.
- [26] ABDELGWAD M, ZAKARIA R, MARZOUK S, et al. The emerging role of circular rna homeodomain interacting protein kinase 3 and circular rna 0046367 through wnt/beta-catenin pathway on the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis in egyptian patients[J]. Rep Biochem Mol Biol, 2023, 11(4): 614-625.
- [27] HE S, TANG S. WNT/ β -catenin signaling in the development of liver cancers[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 132: 110851.
- [28] ZHAO Q, LIU J, DENG H, et al. Targeting mitochondria-located circRNA SCAR alleviates NASH via reducing mROS output[J]. Cell, 2020, 183(1): 76-93.
- [29] WU R, HUANG S, XIE J F, et al. CircRNA SCAR improves high-glucose-induced mitochondrial dysfunction and permeability damage in retinal microvascular endothelial cells[J]. Horm Metab Res, 2023, 55(8): 555-562.

收稿日期:2024-01-06

(本文编辑:钟美春)