

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000606

miR1934, 一种脂联素特异性调控的靶 microRNA, 在肥胖小鼠的脂肪组织中表达降低

葛 倩, 张文龙, 刘露路, 李启富

(重庆医科大学附属第一医院内分泌科, 重庆 400016)

【摘要】目的:脂联素(Adiponectin, ApN)是脂肪细胞分泌的最主要抗炎细胞因子。利用 ApN 过表达 (ApN-Over) 和 ApN 基因敲除 (ApN-KO) 小鼠模型筛选出 ApN 的靶 microRNAs(miRNAs), 以探寻脂肪组织新的具抗炎作用的功能性 miRNAs。**方法:**给予 4 周龄雄性 ApN-Over 小鼠和其野生型对照小鼠高脂饮食 6 周后, 分离提取腹股沟脂肪组织。采用 miRNA 微阵列芯片筛选出两组小鼠脂肪组织间表达有差异的 miRNAs; 在 ApN-Over, ApN-KO 和高脂(HFD)诱发的肥胖小鼠脂肪组织中用定量 PCR 验证上述筛选出的差异 miRNAs; 采用生物信息学数据库预测 miRNAs 的靶基因。**结果:**ApN-Over 小鼠脂肪组织中有 12 个 miRNAs 的表达与野生对照小鼠显著不同; 定量 PCR 验证结果显示有 3 个 miRNAs 确实受到 ApN 的调节: miR532-5p 的表达被 ApN 下调, 而 miR883b-5p 和 miR1934 的表达被上调; 其中仅有 miR1934 在 ApN-KO 小鼠的脂肪组织中明显下降, 与 ApN-Over 小鼠脂肪组织呈现相反的表达模式; miR1934 在 HFD 诱发的肥胖小鼠的内脏脂肪组织中的表达明显低于普通饮食喂养的小鼠 (1.00 ± 0.22 vs. 0.54 ± 0.13 , $P=0.04$)。生物信息数据库预测出 miR1934 有 53 个靶基因, 其中 2 个靶基因为丝氨酸/苏氨酸激酶 3 (serine/threonine kinase 3, STK3) 和趋化因子 (C-C motif) 配体 [chemokine (C-C motif) ligand, CCL19], 二者均为参与 JNK 信号通路的分子。**结论:**miR1934 是体内脂肪组织中受脂联素特异性调节的 miRNA。肥胖小鼠内脏脂肪组织中 miR1934 的表达显著降低; 生物信息学分析初步发现 miR1934 可能参与调节 JNK 信号通路。因此脂联素特异性的靶 miR1934 有可能为改善脂肪组织炎症及其相关的代谢异常提供新的治疗前景。

【关键词】肥胖; 炎症; 脂联素; 微小 RNA; 脂肪细胞因子**【中图分类号】**R58**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2014-10-13

miR1934, an adiponectin specially-regulated microRNA, is downregulated in adipose tissues of obese mice

Ge Qian, Zhang Wenlong, Liu Lulu, Li Qifu

(Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: Mice over-expressing ApN specifically in adipose tissues (AT, ApN-Over) and the mice knocking-out ApN (ApN-KO) were used to identify microRNAs(miRNAs) targeted by ApN in AT. **Methods:** Male ApN-Over mice, ApN-KO mice and C57/BL6J mice fed with high-fat diet(HFD) were used. miRNA expression profiling was performed by using microRNA arrays. The expressions of miRNAs and adipokines were quantified by real-time PCR. The gene targets of miR1934 were predicted by bioinformatic data base. **Results:** There were 12 miRNAs differently expressed between AT of ApN-Over mice and wild-type mice. By PCR validation, the expression of miR532-5p was down-regulated, while that of miR883b-5p and miR1934 was up-regulated in AT of ApN-Over mice. Moreover, the expression of miR1934 in AT of ApN-KO mice was down-regulated, exhibiting a reverse expression pattern compared to ApN-Over mice. The expression of miR1934 was significantly lower in epididymal AT of HFD-induced obese mice than that in chow diet-fed mice (1.00 ± 0.22 vs. 0.54 ± 0.13 , $P=0.04$). The predicted gene targets of miR-1934, serine/threonine kinase 3(STK3) and chemokine(C-C motif) ligand(CCL19), were annotated to be involved in Jun N-terminal kinases(JNK) signaling pathway. **Conclusion:** We identified a novel miRNA, miR-1934, which was up-regulated by ApN in AT *in vivo*. The expression of miR1934 was decreased in visceral AT of obese mice. The possible roles of miR-1934 may be involved in the JNK signaling pathway.

作者介绍: 葛 倩, Email: geqianqian@aliyun.com,

研究方向: 肥胖脂肪组织慢性炎症。

通信作者: 李启富, Email: liqifu@yeah.net。**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目 (编号: 81200629)。**优先出版:** <http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20150405.2044.005.html>

(2015-04-05)

This novel miRNA may open new therapeutic perspectives for controlling the pro-inflammatory state of obese AT.

【Key words】obesity; inflammation; adiponectin; microRNA; adipokine

脂肪组织是体内主要的内分泌组织之一,可分泌大量脂肪细胞因子,在维持全身代谢和免疫系统平衡中扮演了重要角色。肥胖时,脂肪细胞增殖肥大,大量单核巨噬细胞浸润促使炎症脂肪因子生成增多而抗炎脂肪因子分泌减少,从而导致了脂肪组织慢性炎症状态的发生发展。这种慢性炎症被认为是 2 型糖尿病、胰岛素抵抗、脂代谢紊乱以及心血管疾病等肥胖相关代谢性疾病的共同土壤。因此,改善肥胖时脂肪组织慢性炎症将成为今后治疗肥胖相关代谢综合征的关键^[1-2]。

微小 RNA (microRNA, miRNA) 是近来发现的内源性的长约 22 个核苷酸的非编码的双链 RNA。他们通过与靶基因 mRNA 的 3'-非转录区 (UTR) 的序列互补结合,裂解 mRNA 片段或者抑制 mRNA 翻译从而调节植物和动物体内基因组的表达^[3-4]。越来越多的研究显示 miRNA 的表达失调与肥胖相关的代谢性疾病如 2 型糖尿病和动脉粥样硬化密切相关^[5-6],并且一些 miRNAs 可参与调节脂肪细胞分化以及成熟脂肪细胞功能^[7]。然而 microRNAs 是否参与调节脂肪细胞炎症还知之甚少,仅有数例研究报道了与此相关的 miRNAs。在人脂肪细胞,miR132 可诱导 NF- κ B 活性以及 IL-8 和 MCP-1 的产生^[8]。miR223 被发现是小鼠脂肪组织巨噬细胞极化的关键调节因子,它的缺乏可以加重脂肪组织炎症的发展^[9]。因此,miRNAs 可能成为调控脂肪组织慢性炎症的新的机制。ApN 是主要由脂肪细胞分泌的脂肪细胞因子,其血浆浓度和脂肪组织表达在肥胖时明显降低。大量研究已证实 ApN 是一个重要的调节炎症/免疫反应的细胞因子,它不仅对许多器官组织如肝脏、结肠、心脏和骨骼肌等具有抗炎作用,还通过自分泌和旁分泌的形式对脂肪组织自身发挥抗炎作用^[10-11]。因此本研究利用了脂联素过表达转基因小鼠 (ApN-Over) 和脂联素基因敲除小鼠 (ApN-KO) 模型筛选出脂联素特异性的靶 miRNA,为探讨脂联素的相关作用机制提供新的线索,并探寻出新的具有抗脂肪组织炎症的功能性 miRNA。

1 材料与方法

1.1 动物

6 个 ApN 转基因小鼠 (ApN-Over) 与其同窝出生的 7 个

野生型 (WT) 小鼠由比利时鲁汶大学提供,6 个 ApN 基因敲除小鼠 (ApN-KO) 由日本大阪大学提供,16 个 C57/BL6J 小鼠由重庆第三军医大学附属大坪医院动物房提供。给予 4 周龄雄性 ApN-Overex 小鼠与 WT 小鼠高脂饮食 (TD08811; Harlan, Indiana, USA) 饲养,同样,给予 4 周龄雄性 ApN-KO 小鼠与 WT 小鼠 (非同窝出生但为同一基因背景) 相同的高脂饮食饲养,每周进行体质量测定。饲养至第 10 周时断颈处死,收集尾静脉血并迅速分离腹股沟脂肪组织 (该处脂肪组织中脂联素的过表达程度是最高的^[12])。分离的脂肪组织称重后立即投入液氮,随即转入 -80 °C 冰箱保存。另外,将 4 周龄雄性 C57/BL6J 小鼠随机分为对照组与高脂组后,分别给予普通饮食 (TD2018s; Harlan) 与高脂饮食饲养,4 周后以上述方法收集并保存血清及附睾脂肪组织样本。实验遵循重庆医科大学伦理委员会标准进行。

1.2 生化指标检测

小鼠葡萄糖耐量试验:将小鼠空腹过夜 (前日下午 4 时至次日 8 时,共 16 h),小鼠按每克体质量注射 2 mg 葡萄糖的量给予腹腔葡萄糖液体注射,分别于注射前 (即 0 min),注射后 15、30、60 以及 120 min 时取尾静脉血进行血糖测定 (血糖仪购自罗氏公司)。血清甘油三酯采用比色法测定,试剂盒购自 BD Biosciences 公司 (Erembodegem, Belgium)。

1.3 MicroRNA 芯片

ApN-Over 和 WT 小鼠腹股沟脂肪组织的总 RNA 采用 mirVana™ miRNA 分离试剂盒 (Life Technologies, Gent, Belgium) 提取。使用 Hy3™ 和 Hy5™ 荧光探针标记 1 μ g 样本 RNA 和标准参照 RNA (Exiqon, Vedbaek, Denmark)。标记的样品与参照品混合并与 miRCURY™ LNA Array 微阵列芯片 (Exiqon) 杂交 (该芯片包含 694 个小鼠特异性的 miRNAs 探针)。检测出的信号采用 global Lowess (LOcally WEighted Scatterplot Smoothing) 回归算法去除背景干扰并与内标信号进行矫正处理。

1.4 MicroRNA 和 mRNA 的 real-time PCR

小鼠脂肪组织的总 RNA 采用如上所述的 mirVana™ miRNA isolation kit 试剂盒提取。miRNA 的 real-time PCR 检测:1 μ g 总 RNA 用 NCode™ VILOT™ miRNA cDNA Synthesis Kit (Life Technologies) 试剂盒进行逆转录,然后使用荧光染料 (宝生物工程有限公司,大连,中国) 在 PCR 仪中进行扩增。miR1934 特异性的上游引物购买自 Qiagen 公司,下游引物为通用引物 (由 NCode™ VILOT™ miRNA cDNA Synthesis Kit 逆转录试剂盒提供),内参采用 18sRNA。mRNA 的 qRT-PCR 检测:1 μ g 总 RNA 采用逆转录试剂盒 (宝生物工程有限公司,大连,中国) 进行逆转录后使用同样 PCR 仪器进行扩增,检测 ApN、MCP-1、CD11c 的表达,内参采用 Cyclophilin。引物由上海生工生物工程有限公司合成,引物序列见表 1。最终数据用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 公式进行分析。

表 1 各基因 real-time PCR 引物序列

Tab.1 Gene sequences used as forward and reverse primers for real-time PCR

基因	引物序列
MCP-1	正义链:5'-AGAGCCAGACGGGAGGAAG-3'
	反义链:5'-GCATGGTGGTGGAGGAAGAG-3'
CD11c	正义链:5'-CGGCTGGATCAGTCAGACATT-3'
	反义链:5'-CGATAAGAGGGACGGGGTT-3'
ApN	正义链:5'-GCAGAGATGGCACTCCTGGA-3'
	反义链:5'-CCCTTCAGCTCCTGTCATTCC-3'
18srRNA	正义链:5'-TTGGAGGGCAAGTCTGGTG-3'
	反义链:5'-CCGCTCCCAAGATCCAACTA-3'
Cyclophilin	正义链:5'-AACCCACC GTGTTCTTC-3'
	反义链:5'-TGCCTTCTTTCACCTTCCC-3'

1.5 生物信息学数据库预测 miR1934 的靶基因

miR1934 的靶基因由 2 个数据库预测:miRDB (<http://mirdb.org/miRDB/>) 和 Targetscan (<http://www.targetscan.org/>), 预测所得的靶基因再由数据库 Genecodis (<http://genecodis2.dacya.ucm.es/>) 进行生物功能聚类^[13-14]。

1.6 统计学方法

统计分析使用 SAS 9.13(SAS Institute, Cary, NC) 统计软件。所有数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。2 组间比较采用独立样本 t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 脂肪组织中受脂联素调节的 miRNAs

利用 miRNA 芯片技术筛选出脂联素过表达小鼠(ApN-Over)与野生型小鼠(WT)脂肪组织中表达有差异的 miRNAs。在检测的 694 个 miRNAs 中,有 289 个 miRNAs 在脂肪组织中表达。与 WT 小鼠比较,ApN-Over 小鼠脂肪组织中有 51 个 miRNAs 的表达不同($P<0.05$),其中 9 个 miRNAs 的表达与 WT 小鼠相比具有非常明显的差异(表 2, $P\leq 0.01$ vs. WT),另外 3 个 miRNAs 的表达差异也具有统计学意义(表 1, $P<0.05$ vs. WT),且此 3 个 miRNAs 已经被研究证实参与调节脂肪组织分化过程^[6,15]。

2.2 miR1934 为受脂联素特异性调节的靶 miRNA

利用 ApN-Over 小鼠与 WT 小鼠对上述筛选出的 12 个 miRNAs 进行 RT-QPCR 验证,结果显示有 3 个 miRNAs 确实受到脂联素的调节:miR532-5p 的表达被 ApN 下调,miR883b-5p 和 miR1934 的表达被 ApN 明显上调(表 3)。进一步利用 RT-QPCR 法在 ApN-KO 小鼠及 WT 小鼠脂肪组织中对上述 3 个 miRNAs 的表达进行检测,结果发现与野生型小鼠相比较,miR1934 的表达在 ApN-KO 小鼠的脂肪组织中下降到几乎不可测的水平,显示了与在 ApN-Over 小鼠脂肪组织中相反的表达模式(表 4),而 miR532-5p 和 miR883b-5p 在 ApN-KO 小鼠中的表达与对照组相比没有统计学差异。

表 2 脂联素过表达转基因小鼠 (ApN-Overex) 和野生对照小鼠 (WT) 脂肪组织 miRNA 表达谱 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Tab.2 miRNA expression profiling in adipose tissue from ApN-Overex or wild-type (WT) mice ($\bar{x} \pm s, n=3$)

miRNAs	WT	ApN-Overex	t 值	P 值
miR532-5p	0.19 $\pm$ 0.04	-0.18 $\pm$ 0.02	7.98	0.001
miR23b	0.12 $\pm$ 0.03	-0.06 $\pm$ 0.01	5.84	0.004
miR127	0.14 $\pm$ 0.03	-0.10 $\pm$ 0.03	5.62	0.005
miR331-3p	0.10 $\pm$ 0.07	-0.32 $\pm$ 0.07	4.70	0.010
miR1983	0.27 $\pm$ 0.06	-0.07 $\pm$ 0.05	4.48	0.011
miR652	0.08 $\pm$ 0.05	-0.30 $\pm$ 0.07	4.24	0.013
miR883b-5p	-0.28 $\pm$ 0.04	-0.02 $\pm$ 0.05	4.36	0.012
miR342	0.22 $\pm$ 0.09	-0.31 $\pm$ 0.08	4.19	0.014
miR1934	-1.10 $\pm$ 0.21	0.23 $\pm$ 0.28	3.84	0.019
miR222	0.32 $\pm$ 0.09	-0.10 $\pm$ 0.07	3.65	0.022
miR221	0.18 $\pm$ 0.08	-0.13 $\pm$ 0.05	3.28	0.031
miR103	0.17 $\pm$ 0.04	-0.15 $\pm$ 0.10	2.96	0.041

注:miRNA 表达谱使用 miRNA 微阵列芯片 (miRNA array) 检测。与 WT 小鼠比较,ApN-Over 小鼠脂肪组织中有 9 个 microRNAs 的表达非常显著地不同 ($P\leq 0.01$);另外有 3 个已被证实参与调节脂肪组织分化的 microRNAs 的表达也显著不同 ($P<0.05$)。结果表示为 Log2 (Hy3/Hy5) 比值

表 3 miRNAs 在脂联素过表达转基因小鼠 (ApN-Overex) 和野生对照小鼠 (WT) 脂肪组织中的定量表达 ($\bar{x} \pm s$)Tab.3 The expression of miRNAs in adipose tissue of ApN over-expressing mice (ApN-Overex) and wild type mice (WT) ($\bar{x} \pm s$)

miRNAs	WT ($n=7$)	ApN-Over ($n=6$)	t 值	P 值
miR532-5p	1.00 $\pm$ 0.09	0.68 $\pm$ 0.07	3.20	0.010
miR883b-5p	1.00 $\pm$ 0.13	1.51 $\pm$ 0.13	2.78	0.017
miR1934	1.00 $\pm$ 0.13	1.56 $\pm$ 0.26	2.30	0.044

注:miRNA 的表达由 real-time PCR 检测。结果表示为 ApN-Overex 组相对于 WT 组小鼠的表达倍数

表 4 miRNAs 在脂联素基因敲除小鼠 (ApN-KO) 和野生对照小鼠 (WT) 脂肪组织中的定量表达 ($\bar{x} \pm s$)Tab.4 The expression of miRNAs in adipose tissue of ApN knockout mice (ApN-KO) and wild type mice (WT) ($\bar{x} \pm s$)

miRNAs	WT ($n=7$)	ApN-Over ($n=6$)	t 值	P 值
miR532-5p	1.00 $\pm$ 0.14	0.95 $\pm$ 0.11	0.29	0.777
miR883b-5p	1.00 $\pm$ 0.28	1.19 $\pm$ 0.33	0.49	0.635
miR1934	1.00 $\pm$ 0.49	0.004 $\pm$ 0.001	6.82	0.000

注:miRNA 的表达由 real-time PCR 检测。结果表示为 ApN-KO 组相对于 WT 组小鼠的表达倍数

2.3 miR1934 在肥胖小鼠的内脏脂肪组织中表达降低

小鼠喂养 4 周后,与正常小鼠相比,高脂组(HFD)小鼠体重、内脏脂肪组织质量明显增加,其血糖、血甘油三酯和胰岛素水平也明显升高(表 5)。另外,HFD 组小鼠附睾脂肪组织的炎症因子 CD11c 和单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte

chemotactic protein 1, MCP-1) 的表达明显高于普通饮食对照组 (CD), 而抗炎细胞因子 ApN 的表达是降低的 (表 6), 同时 miR1934 的表达同 ApN 一样也明显降低 (表 6)。

表 5 八周龄普通饮食喂养小鼠 (CD) 和高脂喂养小鼠 (HFD) 的一般资料 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab.2 The characteristics of 8-week mice with chow diet (CD) or high-fat diet (HFD) ($\bar{x} \pm s, n=8$)

一般资料	CD	HFD	t 值	P 值
总体质量 (g)	25.40 ± 0.42	32.48 ± 1.10	6.02	0.000
附睾脂肪组织质量 (g)	0.43 ± 0.03	1.23 ± 0.18	4.25	0.001
矫正的附睾脂肪组织质量 (%)	1.71 ± 0.11	3.67 ± 0.46	4.19	0.001
葡萄糖耐量实验				
空腹血糖 (mmol/L)	4.65 ± 0.14	5.62 ± 0.32	2.80	0.019
2h 血糖 (mmol/L)	6.90 ± 0.43	8.82 ± 0.60	2.61	0.026
甘油三酯 (mmol/L)	0.73 ± 0.01	1.27 ± 0.26	2.59	0.027
胰岛素 (μU/ml)	145.56 ± 9.47	166.24 ± 14.26	2.48	0.042

表 6 脂肪组织炎症因子和 miR-1934 在高脂喂养组小鼠 (HFD) 和普通饮食对照组 (CD) 小鼠脂肪组织中的定量表达 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab.6 The expression of adipokines and miR1934 in adipose tissue of mice with chow diet (CD) or high-fat diet (HFD) ($\bar{x} \pm s, n=8$)

炎症因子	CD	HFD	t 值	P 值
CD11c	1.00 ± 0.26	2.25 ± 0.81	2.25	0.041
MCP-1	1.00 ± 0.26	2.9 ± 0.86	2.55	0.023
ApN	1.00 ± 0.09	0.71 ± 0.11	2.23	0.042
miR1934	1.00 ± 0.22	0.54 ± 0.13	2.24	0.043

注: 脂肪组织炎症因子和 miR1934 的表达由 real-time PCR 检测。结果表示为 HFD 组相对 CD 组的表达倍数

2.4 预测的 miR1934 的靶基因

利用 miRDB 数据库预测得到了 210 个 miR1934 的靶基因, 同时使用 Targetscan 数据库预测得到了 235 个靶基因, 其中 53 个基因为 2 个数据库共有。进一步将预测到的 53 个 miR1934 的靶基因输入 Genecodis 数据库进行生物功能聚类, 结果显示靶基因 STK3 和 CCL19 聚类为调节 JNK 信号通路的分子 (GO) ($P=0.036$)。此外在其他预测到的靶基因中, 有 2 个靶基因 [Rho/Rac guanine nucleotide exchange factor (GEF) 2 (ARHGEF2), RING1 and YY1 binding protein (RYBP)] 聚类为调节凋亡的分子 (GO) ($P=0.020$), 还有 1 个靶基因 [acyl-CoA synthetase long-chain family member 1 (ACSL1)] 为脂联素介导的信号通路分子 (GO) ($P=0.025$)。

3 讨论

本课题之前的研究已证实 ApN 可调节下游脂肪细胞因子的分泌, 降低促炎症因子的分泌而增加

抗炎症因子的分泌, 从而改善脂肪组织的炎症状态^[11]。然而, ApN 通过调节细胞因子改善脂肪组织炎症的机制尚不十分清楚。ApN 是否能够通过作用于靶 miRNAs 发挥其抗炎作用, 以及其靶 miRNAs 是否也同 ApN 一样具有改善脂肪组织炎症的功能仍是有待阐明的问题。因此本研究的目的是筛选出 ApN 的靶 miRNAs, 以进一步探讨 ApN 的作用机制, 同时发现新的参与调节脂肪炎症的功能性 miRNAs, 为肥胖和代谢综合征的预防和治疗提供新的靶点。在以往的研究中, 已有部分作者报道了某些脂肪组织中与 ApN 具有相关性的 miRNAs, 例如, 人脂肪组织中 miR95 的表达与血清 ApN 浓度呈正相关, 而 miR181a 与 ApN 呈负相关^[16]。小鼠腹膜后脂肪组织中 miR143 的表达与 ApN 基因呈正相关, 而 miR221 和 miR222 与 ApN 呈负相关关系^[17]。但是这些 miRNAs 是否受 ApN 的调节未得到阐明。我们的研究通过体内试验, 首次发现了脂肪组织中直接受 ApN 调节的 miRNAs。利用 miRNAs 芯片和 real-time PCR 技术, 发现了脂肪组织中 4 个新的受 ApN 调节的 miRNAs。其中 miR1934 的表达在 ApN 敲除时显示了与在 ApN 过表达时相反的模式, 并且其在 ApN 敲除时降低到几乎不可测的水平。这高度提示 miR934 是 ApN 的特异性靶 miRNA, 并且其表达是依赖于 ApN 的。虽然另外 2 个 miRNAs (miR532-5p 和 miR883b-5p) 的表达在 ApN 敲除时不受影响, 但我们认为这并不能排除 ApN 是他们的调节者的角色, 原因可能与这两种转基因模型并不是完全相对立有关。在本研究中的 ApN 过表达小鼠, 导入的 ApN 外源基因受脂肪组织特异性的启动子 (aP2) 调控, 因此仅特异性地在脂肪组织中中等程度地过表达; 而在 ApN 敲除小鼠, ApN 基因被完全敲除 (所有组织均没有 ApN 表达), 因此体内很可能有一些代偿机制产生, 替代了 ApN 的部分作用。正如以前的研究观察到的, ApN 过表达小鼠在高脂饮食饲养后体重低于野生型小鼠, 而 ApN 敲除小鼠却没有像本研究所预期的变得更加肥胖^[18]。而且本课题之前的研究也发现一些在 ApN 过表达小鼠中受 ApN 调节的脂肪细胞因子在 ApN 敲除小鼠中并没有被反向地调节^[11]。

由于肥胖时动物和人的血清 ApN 水平均明显降低, 因此进一步检测 ApN 特异性的靶 miR1934 在肥胖时是否也是降低的。本研究给予小鼠 4 周高脂饮

食喂养后,小鼠的脂肪组织中的促炎症因子明显升高,而抗炎因子脂联素的表达是降低的,提示肥胖小鼠模型的脂肪组织已呈现慢性炎症状态。而正如所预料的,这些肥胖小鼠的脂肪组织中 miR1934 的表达和 ApN 一样是明显降低的,因此 miR1934 很可能和 ApN 一样具有抗炎的功能。目前国内外尚无有关 miR1934 生物功能的文献报道。不过利用互联网上现有的几个 miRNA 靶基因预测数据库,得到了一些初步线索,即 miR1934 的两个预测的靶基因 STK3 和 CCL19 是调节 JNK 信号通路的分子。Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- κ B), JNK 和 Janus kinases/signal transduction and activator of transcription (JAK/STAT) 是普遍已知的脂肪细胞因子激活的介导脂肪组织炎症的信号通路,同时 NF- κ B 和 JNK 的激活也是介导胰岛素抵抗的重要分子机制^[19]。但 miR1934 是否通过调节 STK3 和 CCL19 降低脂肪组织炎症还需要进一步的体外和体内实验进行验证。此外,数据库还显示 miR1934 的其他的预测的几个靶基因是调节凋亡和脂联素介导的脂肪酸代谢信号通路的分子,因此 miR1934 有可能还参与细胞凋亡和脂质代谢过程。

综上所述,本研究成功筛选出脂肪组织中 ApN 调节的 miRNAs,其中 miR1934 是受 ApN 特异性调节的靶 miRNAs,其表达是 ApN 依赖性的。同时与 ApN 一样,肥胖时脂肪组织中 miR1934 的表达是显著降低的。利用计算机数据库分析初步发现 miR1934 可能参与调节 JNK 信号通路。因此,本研究首次发现的 ApN 特异性靶 miR1934 可能在 ApN 的抗炎功能中发挥重要作用,其为阐明 ApN 相关作用机制提供了新的线索,同时可能为改善脂肪组织炎症及其相关代谢异常提供新的治疗前景。

参 考 文 献

- [1] de Rooij SR, Nijpels G, Nilsson PM, et al. Low-grade chronic inflammation in the relationship between insulin sensitivity and cardiovascular disease (RISC) population; associations with insulin resistance and cardiometabolic risk profile[J]. Diabetes Care, 2009, 32(7): 1295-1301.
- [2] Maury E, Brichard SM. Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome[J]. Mol Cell Endocrinol, 2010, 314(1): 1-16.
- [3] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297.
- [4] Guo H, Ingolia NT, Weissman JS, et al. Mammalian microRNAs predominantly act to decrease target mRNA levels[J]. Nature, 2010, 466(7308): 835-840.
- [5] Heneghan HM, Miller N, Kerin MJ. Role of microRNAs in obesity and the metabolic syndrome[J]. Obes Rev, 2010, 11(5): 354-361.
- [6] Hulsmans M, De KD, Holvoet P. MicroRNAs regulating oxidative stress and inflammation in relation to obesity and atherosclerosis[J]. FASEB J, 2011, 25(8): 2515-2527.
- [7] Alexander R, Lodish H, Sun L. MicroRNAs in adipogenesis and as therapeutic targets for obesity[J]. Expert Opin Ther Targets, 2011, 15(5): 623-636.
- [8] Strum JC, Johnson JH, Ward J, et al. MicroRNA 132 regulates nutritional stress-induced chemokine production through repression of SirT1[J]. Mol Endocrinol, 2009, 23(11): 1876-1884.
- [9] Zhuang G, Meng C, Guo X, et al. A Novel regulator of macrophage activation: miR-223 in obesity associated adipose tissue inflammation[J]. Circulation, 2012, 125(23): 2892-2903.
- [10] Ouchi N, Walsh K. Adiponectin as an anti-inflammatory factor[J]. Clin Chim Acta, 2008, 380(1-2): 24-30.
- [11] Ge Q, Ryken L, Noel L, et al. 2011 Adipokines identified as new downstream targets for adiponectin: lessons from adiponectin-overexpressing or -deficient mice[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2007, 301(2): E326-E335.
- [12] Bauche IB, El Mkadem SA, Pottier AM, et al. 2007 Overexpression of adiponectin targeted to adipose tissue in transgenic mice: impaired adipocyte differentiation[J]. Endocrinology, 148(4): 1539-1549.
- [13] Nogales-Cadenas R, Carmona-Saez P, Vazquez M, et al. GeneCodis: interpreting gene lists through enrichment analysis and integration of diverse biological information[J]. Nucleic Acids Res, 2009, 37(Web Server issue): W317-W322.
- [14] Carmona-Saez P, Chagoyen M, Tirado F, et al. GENECODIS: a web-based tool for finding significant concurrent annotations in gene lists[J]. Genome Biol, 2007, 8(1): R3.
- [15] McGregor RA, Choi MS. microRNAs in the regulation of adipogenesis and obesity[J]. Curr Mol Med, 2011, 11(4): 304-316.
- [16] Aron-Wisniewsky J, Tordjman J, Poitou C, et al. Human adipose tissue macrophages: m1 and m2 cell surface markers in subcutaneous and omental depots and after weight loss[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2009, 94(11): 4619-4623.
- [17] Kloting N, Berthold S, Kovacs P, et al. MicroRNA expression in human omental and subcutaneous adipose tissue[J]. PLoS One, 2009, 4(3): e4699.
- [18] Maeda N, Shimomura I, Kishida K, et al. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30[J]. Nat Med, 2002, 8(7): 731-737.
- [19] Karastergiou K, Mohamed-Ali V. The autocrine and paracrine roles of adipokines[J]. Mol Cell Endocrinol, 2010, 318(1-2): 69-78.

(责任编辑:冉明会)