

DOI: 10.13376/j.cbls/2020003

文章编号: 1004-0374(2020)01-0016-13

表观遗传修饰在胰腺 β 细胞分化和功能中的作用

戴永国^{1,2}, 寇皓^{2,3}, 桂淑霞^{1,2}, 汪晖^{1,2}, 郭喻^{1,2*}

(1 武汉大学基础医学院药理学系, 武汉 430071; 2 发育源性疾病湖北省
重点实验室, 武汉 430071; 3 武汉大学中南医院药学部, 武汉 430071)

摘要: 表观遗传是指在不改变 DNA 核苷酸序列的前提下, 通过 DNA 甲基化、组蛋白修饰和非编码 RNA 等形式引起基因表达的可遗传性改变, 并参与多种生命过程。最新研究发现, 多种表观遗传修饰形式可影响胰腺 β 细胞的发育和功能, 从而导致糖代谢紊乱, 在糖尿病的发生发展中起到了重要的作用。现将对 β 细胞分化与功能中的表观遗传调控机制进行综述。

关键词: 表观遗传学; 胰腺; β 细胞; DNA 甲基化; 组蛋白修饰; 非编码 RNA

中图分类号: R339.3+5; R394.1; R968 **文献标志码:** A

Roles of epigenetic modification in the differentiation and function of pancreatic β -cells

DAI Yong-Guo^{1,2}, KOU Hao^{2,3}, GUI Shu-Xia^{1,2}, WANG Hui^{1,2}, GUO Yu^{1,2*}

(1 Department of Pharmacology, Wuhan University School of Basic Medical Sciences, Wuhan 430071, China;

2 Hubei Provincial Key Laboratory of Developmentally Originated Disease, Wuhan 430071, China;

3 Department of Pharmacy, Zhongnan Hospital, Wuhan University, Wuhan 430071, China)

Abstract: Epigenetics refers to the heritable changes in gene expression that are not directly encoded by alterations in the nucleotide DNA sequence of the genome but through DNA methylation, histone modification and non-coding RNA etc.. Epigenetic modification can be found in a variety of biological processes. Recent studies showed that multiple epigenetic modifications are involved in the development and function of pancreatic β -cells and may perturb glucose homeostasis, which contributes to the onset of diabetes. This article reviews the epigenetic mechanism underlying the differentiation and function of pancreatic β cells.

Key words: epigenetics; pancreas; β cells; DNA methylation; histone modification; non-coding RNA

“表观遗传学”最初由 Waddington 于 1942 年提出, 其定义在 2008 年冷泉港会议上统一为: “由染色体变化引起的稳定的可遗传表型, 而 DNA 序列不发生改变”^[1-2]。截至目前, 研究发现产生这种变化的机制主要涉及 DNA 甲基化、组蛋白修饰以及非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 等^[3]。表观遗传发生改变(如 DNA 本身或相关染色质蛋白的微观结构被修饰)会引起某些基因的活化或者沉默, 但不会改变 DNA 的遗传密码序列。该机制使得机体细胞分化过程中能够仅表达自身活性所必需的特异性基因。表观遗传调控存在于生物体的一生之中, 参与了有机体的多项生命活动。任何一种调

节机制的异常都将影响染色质结构和基因表达, 进而导致机体多种疾病的发生, 表观遗传变化甚至可以通过代际、跨代遗传传递给后代而影响其健康^[4-6]。

葡萄糖的稳态对于机体的代谢平衡至关重要。 β 细胞产生的胰岛素是维持机体葡萄糖稳态的重要激素, 在葡萄糖动态平衡调节中发挥核心调控作用。

收稿日期: 2019-07-11; 修回日期: 2019-11-20

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81773812);
国家自然科学基金青年项目(81703631); 湖北省杰出
青年基金项目(2017CFA055)

*通信作者: E-mail: guoy@whu.edu.cn

β细胞数量的减少或功能失调将导致糖尿病的发生^[7]。流行病学表明, 荷兰饥荒时怀孕并且出生时为低出生体重婴儿的个体在五十多岁时更容易发生葡萄糖不耐受^[8]。这些观察结果确定了糖尿病发育编程的现象, 但没有解释所涉及的机制。为了进行具体的机制探究, 目前已经在啮齿动物、绵羊和非人灵长类动物中建立了几种发育源性疾病的动物模型^[9-10]。相关研究表明, 表观遗传修饰是调节胰腺发育和β细胞功能的一种重要机制^[11-12]。近年来, 本实验室也研究发现, 乙醇^[13-14]、咖啡因^[15-16]、地塞米松(待发表资料)等孕期不良环境因素可导致大鼠子代胰岛发育和功能异常, 并持续至成年, 造成成年子代糖代谢紊乱; 进一步研究显示, 表观遗传修饰参与了以上因素诱导的胰腺β功能失调, 进而诱发糖尿病(待发表资料)。因此, 更好地理解β细胞分化和功能的表观遗传机制, 可能有助于发现预防和治疗糖尿病的新靶点。

1 β细胞分化及胰腺发育

胰腺β细胞, 又称为B细胞, 是体内唯一可合成胰岛素的内分泌细胞, 并且与α、δ、ε和PP细胞组成胰岛, 构成胰腺内分泌部的功能单位, 约占胰腺体积的1.5%^[17]。在胰岛中, β细胞的数量最多, 占人胰岛细胞总数的50%~70%(小鼠为60%~80%)^[17]。β细胞的发育始于内胚层。在小鼠中, 胚胎9.5天时, 原始前肠内胚层的背侧形成胰芽, 随后发生两次转变; 胚胎9.5~12.5天为第一次转变, 对应胰腺祖细胞的活跃增殖期, 此时形成背侧与腹侧胰芽; 第二次转变发生于胚胎13.5~15.5天, 胰腺上皮的形态发生转化, 对应多能前体细胞向不同细胞谱系的特异分化。此时, 胰芽部分分化为未分化的导管上皮, 淀粉酶标记的腺泡细胞与胰岛素或胰高血糖素标记的内分泌腺细胞开始分离, 胰腺外分泌部分化, 内分泌细胞开始大量增生; 其后, 内分泌细胞开始以β细胞形成胰岛核心, 其他几种内分泌细胞(如α、δ和PP细胞等)排列在周边, 最终胰腺发育完成^[18]。在人体中, 背胰芽与腹胰芽约在胚胎第4周出现; 在第7周时, 背、腹胰芽融合; 在胚胎3个月时, 胰腺基本成形^[19-20]。其中, β细胞发育成熟大致经历的过程可总结为: 内胚层细胞→前肠内胚层细胞→胰腺祖细胞→内分泌祖细胞→β细胞(图1)。在这个过程中, 需要一系列转录因子参与, 并在这些转录因子的级联调控网络的精密调控下逐步发育^[18, 21-22]。

2 表观遗传修饰在β细胞分化和功能中的作用

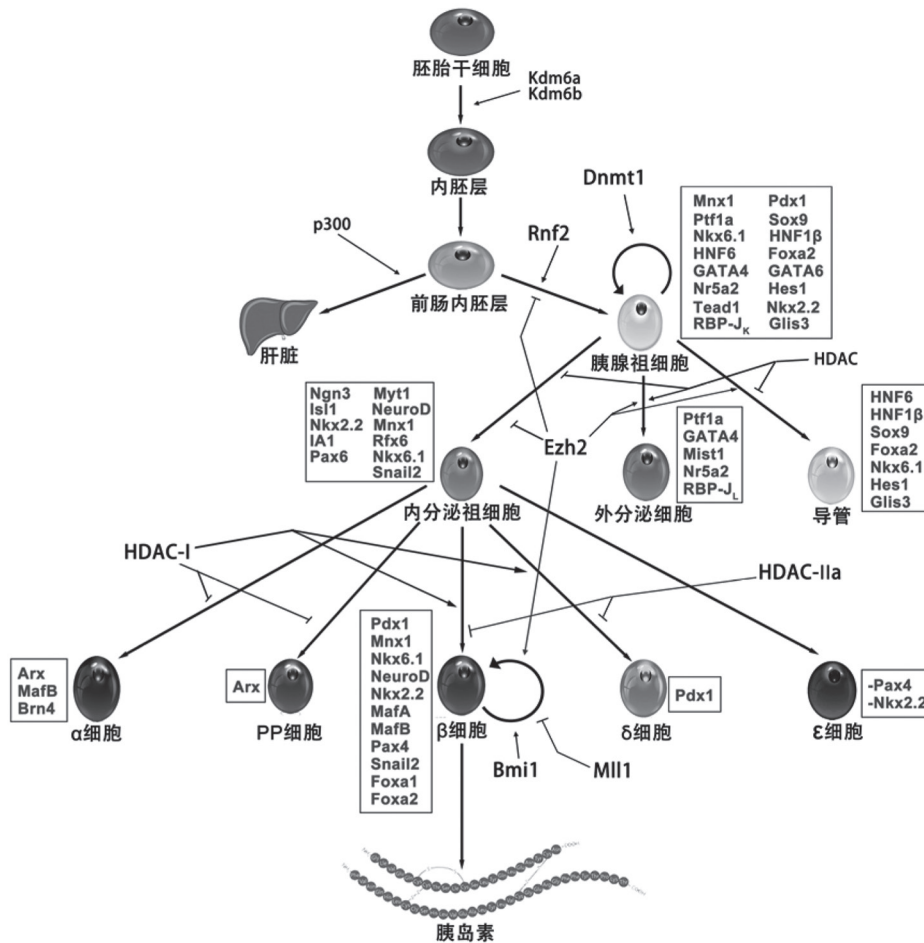
糖尿病是一种由多种病因所致的以高血糖为特征的代谢性疾病, 目前已成为威胁人类健康的公共卫生问题之一^[23]。高血糖的发生则是胰岛素分泌缺陷, 或是胰岛素生物作用受损, 或者两者兼有而引起的。β细胞分泌的胰岛素是体内降低血糖水平的唯一激素, 维持机体的葡萄糖稳态。因此, 研究β细胞分化和功能的分子机制对于阐明糖尿病的发病机制具有重要作用。虽然大量研究表明转录水平上的调控对β细胞的分化和功能至关重要, 但目前越来越多的证据显示表观遗传机制参与控制β细胞命运, 调节β细胞的分化和功能(图1)。

2.1 DNA甲基化对β细胞分化和功能的影响

DNA甲基化是指在DNA甲基化转移酶(DNA methyltransferases, Dnmt)的作用下, 以S-腺苷甲硫氨酸作为甲基供体, 使DNA序列上特定的碱基通过共价键结合的方式获得一个甲基基团的化学修饰过程。在哺乳动物中, DNA甲基化主要发生在CpG二核苷酸中胞嘧啶上第5位碳原子的位置, 最终形成5-甲基胞嘧啶^[24]。到目前为止, 已报道的Dnmt成员有5种, 它们在DNA甲基化过程中扮演着不同的角色(表1)。正常情况下, 基因启动子区CpG岛大多为非甲基化状态, 但易发生甲基化而影响基因的转录。一般来说, 基因启动子区DNA高甲基化与基因沉默相关, 而低甲基化意味着基因的激活^[25]。DNA甲基化导致的基因转录沉默可以通过抑制转录因子与DNA结合直接实现, 也可以通过招募其他染色质修饰蛋白来改变染色质的状态间接实现, 如DNA甲基化结合蛋白和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)等^[26]。DNA甲基化作为一种表观遗传修饰, 在染色质结构和基因表达的调控中发挥重要作用, 可参与多种生物过程, 如转录抑制、X染色体失活、胚胎发育、染色质结构的改变和转座子的失活等。相关研究表明, DNA甲基化在维持β细胞分化与正常功能, 以及糖尿病的发生发展中也起着重要的作用(图1)。

2.1.1 DNA甲基化与β细胞分化

目前, 已有众多研究表明DNA甲基化对于β细胞发育过程至关重要。对斑马鱼中Dnmt的研究发现, Dnmt1的敲除可导致胰腺外分泌部分化缺陷, 而导管与内分泌部无缺陷^[31-32]。Georgia等^[33]特异性敲除小鼠胰腺祖细胞中的Dnmt1, 发现胰腺祖细胞发生凋亡, 胰腺发育不全。在成熟的β细胞中,



Kdm6a: lysine-specific demethylase 6a, 赖氨酸特异性去甲基化酶6a(又称Utx); **Kdm6b:** lysine-specific demethylase 6b, 赖氨酸特异性去甲基化酶6b(又称Jmjd3); **p300:** adenovirus E1A-associated 300-kDa protein, 腺病毒E1A相关的300 kDa蛋白; **Rnf2:** ring finger protein 2, 环指蛋白2(又称Ring1b); **Dnmt1:** DNA methyltransferases 1, DNA甲基化转移酶1; **Ezh2:** enhancer of zeste homolog 2, zeste基因增强子同源物2; **HDAC:** histone deacetylase, 组蛋白去乙酰化酶; **HDAC-I:** histone deacetylase class I, I类组蛋白去乙酰化酶; **HDAC-IIa:** histone deacetylase class IIa, IIa类组蛋白去乙酰化酶; **Bmi1:** B cell-specific Moloney murine leukemia virus integration site 1, B细胞特异莫洛尼鼠白血病病毒整合位点1; **Mll1:** mixed lineage leukemia 1, 混合谱系白血病1; **Mnx1:** motor neuron and pancreas homeobox 1, 运动神经元与胰腺同源盒1; **Ptf1a:** pancreas associated transcription factor 1a, 胰腺特异转录因子1a; **Nkx6.1:** NK6 homeobox 1, NK6同源盒1; **Nkx2.2:** NK2 homeobox 2, NK2同源盒2; **HNF6:** hepatocyte nuclear factors 6, 肝细胞核因子6; **HNF1β:** hepatocyte nuclear factors 1β, 肝细胞核因子1β; **Foxa1:** forkhead box A1, 叉头样转录因子A1(又称HNF3α); **Foxa2:** forkhead box A2, 叉头样转录因子A2(又称HNF3β); **GATA4:** GATA-binding protein 4, GATA结合蛋白4; **GATA6:** GATA-binding protein 6, GATA结合蛋白6; **Nr5a2:** nuclear receptor subfamily 5 group A member 2, 核受体NR5A亚家族成员2(又称LRH-1); **Tead1:** TEA domain transcription factor 1, TEA结构域转录因子1; **RBP-Jκ:** recombination signal binding protein RBP-J kappa, 重组信号结合蛋白-Jκ(又称CBF1); **Pdx1:** pancreatic and duodenal homeobox factor 1, 胰腺十二指肠同源框因子1; **Sox9:** SRY-box transcription factor 9, 性别决定区Y框蛋白9; **Hes1:** hes family bHLH transcription factor 1, Hes家族bHLH转录因子1; **Glis3:** GLIS family zinc finger 3, GLIS家族锌指3; **Ngn3:** neurogenin 3, 神经元素3; **Isl1:** islet1, 胰岛素增强子结合蛋白-1; **IA1:** insulinoma-associated protein 1, 胰岛素瘤相关蛋白1; **Pax4:** paired box 4, 配对盒因子4; **Pax6:** paired box 6, 配对盒因子6; **Myt1:** myelin transcription factor 1, 髓鞘转录因子1; **NeuroD:** neurogenic differentiation, 神经元分化因子; **Rfx6:** regulatory factor X6, 调节因子X6; **Snail2:** snail family transcriptional repressor 2, Snail家族转录因子2; **Mist1:** muscle intestine and stomach expression 1, 又称Bhlha15或Bhlhb8, 属于碱性螺旋-环-螺旋转录因子家族成员; **Arx:** Aristaless-related homeobox, Aristaless相关同源异型盒因子; **MafB:** v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog B, v-maf肌腱膜纤维肉瘤癌基因同源物B; **MafA:** v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog A, v-maf肌腱膜纤维肉瘤癌基因同源物A; **Brn-4:** brain-specific homeobox/POU domain protein 4, 脑转录因子4; **-Pax4和-Nkx2.2:** 表明在没有Pax4和Nkx2.2的情况下, ε细胞发育。

图1 β细胞的发育过程

表1 DNA甲基化转移酶的成员与功能

名称	基因位置	功能
Dnmt1	位于染色体19p13.2上	是主要的维持甲基化作用的酶, 确保每个细胞的DNA甲基化模式的正常复制; 也是非CpG位点从头甲基化所必需的, 并与甲基化状态的延伸有关 ^[27]
Dnmt2	位于染色体10p15.1上	实际上是天门冬氨酸tRNA的甲基转移酶, 可甲基化天门冬氨酸tRNA中的38位C(位于反密码环中) ^[28]
Dnmt3A	位于染色体2p23.3上	是主要的从头甲基化酶, 主要功能是在配子形成期和胚胎早期建立甲基化模式 ^[29-30]
Dnmt3B	位于染色体20q11.2上	是主要的从头甲基化酶, 主要功能是在配子形成期和胚胎早期建立甲基化模式 ^[29]
Dnmt3L	位于染色体21q22.3上	本身无甲基转移酶活性, 但可通过与Dnmt3A和Dnmt3B催化区域相互作用而提高这两个酶的活性, 从而有助于从头甲基化 ^[29]

Dnmt1: DNA methyltransferase 1, DNA甲基化转移酶1; **Dnmt2:** DNA methyltransferase 2, DNA甲基化转移酶2 (又称天门冬氨酸tRNA甲基化转移酶1); **Dnmt3A:** DNA methyltransferases 3A, DNA甲基化转移酶3A; **Dnmt3B:** DNA methyltransferases 3B, DNA甲基化转移酶3B; **Dnmt3L:** DNA methyltransferases 3L, DNA甲基化转移酶3L

Dnmt1 或 Dnmt3 的缺陷可导致β细胞失去其“身份”并被重编程为α细胞, 表明α细胞编程的抑制对于维持β细胞“身份”是必需的^[34-35]。目前, 研究发现这种重编程的发生与Aristaless相关同源异型盒因子(Aristaless-related homeobox, Arx)启动子的甲基化引起Arx在β细胞中异常表达有关。在β细胞中, 抑制这种甲基化介导的Arx表达是通过NK2同源盒2(NK2 homeobox 2, Nkx2.2)与包含Grg3(又称Tle3)、HDAC1和Dnmt3A的抑制性复合物的相互作用进行的^[35]。因此, 在当今细胞替代疗法研究中, 内源性α细胞被认为是β细胞重编程的重要来源。最新研究也显示, 抑制胰腺祖细胞中的DNA甲基化促进α细胞生成^[36]。此外, 在胰岛中, 肝细胞核因子4α(hepatocyte nuclear factor 4α, HNF4α)的CpG岛高甲基化, 可使HNF4α基因表达降低, 影响胰岛β细胞的分化^[37]。

2.1.2 DNA甲基化与β细胞功能

2014年, Dayeh等^[38]研究了人胰岛中的全基因组DNA甲基化模式。他们在2型糖尿病供体胰岛中鉴定出1649个CpG位点和853个具有差异DNA甲基化的基因。其中, 显示出差异甲基化的102个基因也出现了基因表达的改变, 功能分析表明这些基因可直接影响胰岛β细胞的胰岛素分泌。另一项对2型糖尿病与非糖尿病供体胰岛中的DNA甲基化研究显示, 在254个与β细胞功能和存活有关的基因启动子区的276个CpG位点中, 27%的CpG位点的甲基化存在显著差异^[39]。这进一步支持了DNA甲基化在β细胞功能调控、2型糖尿病发生中的重要作用。有研究表明, 人过氧化物酶体增殖物激活受体-γ辅激活因子1α(peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator 1α, PGC-1α)

的启动子区DNA甲基化水平上升, 可以直接导致其mRNA表达下降以及胰岛素的分泌减少^[40]。DNA甲基化还可能对胰岛素基因表达存在直接调控作用。在小鼠胚胎干细胞分化成胰岛素表达细胞的过程中, 胰岛素基因启动子区的DNA从甲基化状态变为去甲基化状态。Yang等^[41]对胰岛素基因启动子区的25个CpG位点的DNA甲基化水平进行分析, 发现2型糖尿病患者的4个CpG位点甲基化水平升高, 同时胰岛素mRNA表达减少。转录因子7类似物2(transcription factor 7 like 2, TCF7L2)是Wnt/β-连环蛋白信号转导的重要转录因子, 其对β细胞存活以及胰岛素的分泌至关重要^[42]。研究发现, 胰岛中的β细胞功能受损与TCF7L2启动子的异常甲基化有关^[43]。

此外, DNA甲基化被认为是一种重要的代际和跨代遗传机制。父源及母源基因组中的DNA甲基化标记会在哺乳动物受精及胚胎发育过程中经历重编程, 然而有部分基因(印记基因)在此过程中逃脱了去甲基化过程, 从而改变后代表型, 发生代际或跨代遗传。2015年, 一项评估围产期母鼠(F₀)双酚A暴露对F₂代效应的研究表明, 印记基因胰岛素样生长因子2(insulin-like growth factors 2, IGF2)启动子区甲基化改变可发生代际遗传而影响β细胞的功能, 引起胰岛素分泌受损和葡萄糖耐受不良^[44]。因此, DNA甲基化在β细胞功能障碍/糖尿病的年代际和跨代遗传中的作用值得进一步深入研究。

2.2 组蛋白修饰对β细胞分化和功能的影响

组蛋白修饰是表观遗传修饰的另外一种重要方式。组蛋白是存在于真核生物染色质中, 与DNA结合的蛋白质。在染色质中, 组蛋白八聚体(由组蛋白H2A、H2B、H3和H4各两分子组成)经长度

为 147 bp 的 DNA 围绕形成核小体。这些组蛋白的 N 末端尾部和球状结构域含有许多可被某些酶修饰的氨基酸,可发生一系列共价修饰(乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化和小分子泛素化等),进而改变染色质的紧密性或招募转录调节因子,以多种方式调节基因表达^[45]。组蛋白的这些修饰是动态变化的,可以通过酶进行添加或去除。例如:乙酰基通过组蛋白乙酰转移酶(如 HAT1 和 CBP/p300)添加,而通过组蛋白脱乙酰酶(如 HDAC 家族)去除;甲基可通过赖氨酸甲基转移酶(如 G9a 和 SUV39H1)加到组蛋白尾的赖氨酸上,并可通过赖氨酸去甲基化酶(如 LSD1 和 JHDM1a)除去。组蛋白修饰酶的详细汇总表可见 Kouzarides^[46] 的综述。目前研究较多的是组蛋白的甲基化和乙酰化,尤以赖氨酸残基(K)的乙酰化和甲基化最常见,它们可以作为转录活跃或抑制的标记。相关研究表明,在 β 细胞分化和发育过程中,组蛋白修饰发挥着重要调控作用,可以招募蛋白质复合体参与调控 β 细胞中相关基因的表达(图1)。

2.2.1 组蛋白修饰与 β 细胞分化

研究表明,组蛋白的修饰决定了多能胰腺祖细胞是否产生 β 细胞。Haumaitre等^[47-48]研究了 HDAC 的表达和活性在大鼠胚胎胰腺发育中的调节作用,发现组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)抑制剂可减少胰腺外分泌细胞的分化,增加导管细胞和神经元素 3(neurogenin 3, Ngn3)阳性内分泌祖细胞的数量。组蛋白乙酰化的动态变化对最终不同类型的内分泌细胞(即: α 、 β 、 δ 、 ϵ 、PP 细胞)的数量具有决定作用。在这种情况下,不同类型的 HDAC 对胰腺内分泌细胞类型的发育具有不同的影响。例如, I 类 HDAC 成员特异性地抑制 α 和 PP 细胞的产生,同时促进 β 和 δ 细胞分化^[48]。II a 类 HDAC 不同成员的遗传缺失可导致 β 细胞和(或) δ 细胞的增加,而其过表达可引起 β 和 δ 细胞数量减少^[49]。因此,组蛋白修饰酶在不同内分泌细胞类型的发育分化期间具有高度特异性的作用。另外,研究表明,HDAC 抑制剂 MC1568 可促进成对盒因子 4 (paired box 4, Pax4) 和胰岛素的表达^[50]。这些实验表明,HDAC 在介导 β 细胞分化以及内分泌胰腺发育中起关键作用。全基因组研究表明,通过组蛋白去甲基化酶 Kdm6a (Utx) 和 Kdm6b (Jmjd3) 去除 H3K27me3 (一种抑制性标记) 对于内胚层分化至关重要^[51]。Polycomb 抑制复合物 2 (polycomb repressive complex 2, PRC2) 是 Polycomb Group (PcG) 蛋白质

复合体的一种类型,其可催化 H3K27me3^[52]。从内胚层中去除 PRC2 的蛋白质组分——zeste 基因增强子同源物 2 (enhancer of zeste homolog 2, Ezh2),可促进胰腺十二指肠同源框因子 1 (pancreatic and duodenal homeobox factor 1, Pdx1) 表达,从而促进腹侧胰腺发育而阻碍肝脏发育^[53-54]。在胰腺祖细胞中, Ezh2 的缺失增加了 Ngn3⁺ 内分泌祖细胞以及胰岛素阳性 β 细胞的数量^[55]。这些研究结果表明, PcG 在 β 细胞特异性分化过程中扮演着重要的角色。

2.2.2 组蛋白修饰与 β 细胞功能

Pdx1 等一系列转录因子需要染色质修饰因子才能有效调节基因转录,这对维持 β 细胞功能正常至关重要。若组蛋白修饰发生改变,可引起 β 细胞中的一系列基因呈现高或低表达,并且可能进一步引起糖尿病的发生。H3K4 甲基化是基因激活的重要标志。Chakrabarti 等^[56]的研究发现, β 细胞的胰岛素基因近端启动子区的 H3K4 处高度甲基化和乙酰化,并且这种修饰与组蛋白甲基转移酶 Set7/9 和组蛋白乙酰转移酶 P300 的募集高度相关,这提示胰岛素基因的表达受到组蛋白修饰调控。 β 细胞的胰岛素基因启动子区的 H3K4 甲基化需要转录因子 Pdx1 的参与, Pdx1 可以招募组蛋白甲基转移酶 Set7/9,进而使胰岛素基因启动子区的 H3K4 甲基化,从而促进胰岛素基因的表达^[57]。另有研究表明, Set7/9 是 β 细胞功能正常所必需的,它可以同转录因子如 Pdx-1 和 RNA 聚合酶 II 一起调控胰岛素分泌相关基因(如 *Ins1/2*、*Glut2*、*MafA* 等)的表达^[58]。相关研究也表明,在高浓度葡萄糖刺激下, p300 与 Pdx1 相互配合促进 β 细胞的胰岛素转录;相反,在低葡萄糖水平下, HDAC1 和 HDAC2 与 Pdx1 结合以抑制胰岛素转录^[59-60]。此外, Swi/Snf 染色质重塑复合物可参与 Pdx1 对血糖的调节。Brg1-Swi/Snf 可作为 β 细胞中 Pdx1 介导的基因表达的共激活因子,而 Brm-Swi/Snf 以共抑制方式起作用。Brg1-Swi/Snf 和 Brm-Swi/Snf 的拮抗作用影响 β 细胞中的靶基因表达,这对于维持葡萄糖稳态具有重要意义。另外, Chang 等^[61]还发现, Pdx1 的启动子区 H3K4 的去乙酰化和去甲基化、H3K9 的甲基化等组蛋白修饰可导致 Pdx1 表达下调。 β 细胞可通过增殖和再生维持细胞数量恒定与功能正常发挥。研究表明, PcG 和 trithorax group (TrxG) 蛋白复合物在细胞周期蛋白依赖激酶抑制剂 2A (cyclin-dependent kinase inhibitor 2A, CDKN2A) 基因座上的表观遗传修饰可调节 β 细胞的增殖和再生。例如, PcG 蛋白——

Ezh2 和 Bmi1 通过 H3K27me3 抑制 CDKN2A 表达促进 β 细胞复制, 而 TrxG 蛋白——MLL1 则发挥相反的作用^[62-64]。研究也表明, MLL3 和 MLL4 与转录因子 MafA 和 MafB 结合以调节胰岛 β 细胞功能^[65]。总之, 这些研究暗示了这些复合物对于维持 β 细胞正常增殖与功能至关重要, 可能是促进 β 细胞增殖和再生的重要工具。

2.3 ncRNA对β细胞分化和功能的影响

ncRNA 是指不编码蛋白质的功能性 RNA, 可分为管家 ncRNA (如 rRNA、snRNA 和 snoRNA 等) 和调控 ncRNA (如 siRNA、miRNA、piRNA、circRNA 和 lncRNA 等)。作为第三种表观遗传调节因子, ncRNA 在表观遗传学的调控中扮演了越来越重要的角色, 广泛参与胚胎发育、细胞命运决定、物质代谢等方面的调控^[66-67]。近年来, 越来越多的证据显示, β 细胞的发育不仅受到转录因子调控网络的精密调节, 还需要 ncRNA 的参与, 主要为 miRNA。miRNA 在转录后水平调控转录因子基因参与 β 细胞的分化, 影响胰岛素的合成和分泌 (表 2)。

2.3.1 miRNA与β细胞分化

目前, 关于 miRNA 在 β 细胞分化过程中作用的研究众多。Dicer 酶是 miRNA 剪切成熟的关键酶。通过 miRNA 加工酶 Dicer1 的细胞和阶段特异性缺失实验已证实 miRNA 在胰腺和 β 细胞分化的多个阶段的重要性^[97-98]。使用 Pdx1 定向 Cre 重组酶介导 Dicer1 缺失小鼠, 发现其胰腺发育受损以及 β 细胞量减少, 表型在出生前即可观察到, 且小鼠在生命早期死亡^[99]。在胰腺祖细胞中, Dicer 缺失使 Ngn3⁺ 细胞数量减少, 导致内分泌细胞发育受损; 在内分泌祖细胞中, Dicer 缺失导致新生儿期胰岛形态缺陷、胰岛素表达障碍和糖尿病^[99-100]。Dicer 功能的破坏表明 miRNA 是胰腺发育和胰岛细胞分化所必需的, 而进一步的研究发现, 单一 miRNA 的表达直接与 β 细胞分化相关^[101]。在胰岛发育过程中, 胰岛特异性 miRNA (miR-375、miR-7、miR-9 和 miR-376) 呈现高表达, 且 miR-375、miR-7 的高表达与胰岛素转录水平增高相一致。miR-375 是 β 细胞分化过程中的一个重要 miRNA。Kloosterman 等^[93]发现, 抑制 miR-375 可导致斑马鱼胚胎胰腺发育异常, 胰岛结构散乱分布。miR-375 敲除可导致小鼠胰岛形态异常, α 和 β 细胞总量降低, 胰岛素分泌减少和血糖升高。miR-7 是大鼠和人胰岛中最丰富的高度保守的 miRNA。miR-7 在发育中的胰腺中表达并持续存在于成年胰腺中。研究表明,

miR-7 在胎儿和成人的胰腺中高表达, 在胰岛细胞中的表达水平比腺泡细胞高 200 多倍^[102]。Dominguez-Bendala 等^[69]研究发现, miR-7 在 β 细胞中表达并靶向配对盒因子 6 (paired box 6, Pax6)。当 miR-7 的表达受到抑制时, 可导致 β 细胞数量降低、胰岛素分泌减少, 并引起出生后的小鼠发生糖耐量异常^[103]。以上研究结果表明, miR-7 在胰岛细胞分化和生理学中具有潜在作用。除了胰岛特异性 miRNA 外, 其他 miRNA 也参与调控 β 细胞的分化。目前, 已知 miR-15a、miR-15b、miR-16、miR-195 和 miR-106b 可通过转录后修饰调节 Ngn3 的表达, 进而影响内分泌祖细胞的形成^[74,104]。miR-19b 和 miR-124a 能够与神经元分化因子 1 (neurogenic differentiation 1, NeuroD1) 的 3' 端非翻译区 (3'-untranslated region, 3'-UTR) 序列结合而抑制其表达, 进而下调胰岛素基因表达^[77,105]。另外, miR-124a 也能靶向叉头样转录因子 A2 (forkhead box A2, Foxa2) 并导致 Pdx1 变化^[106]。miR-18a、miR-145 及 miR-495 这 3 种 miRNA 也能够靶向作用于胰腺特异转录因子 1a (pancreas associated transcription factor 1a, Ptf1a) 的 3'-UTR 而抑制 Ptf1a 的表达, 进而影响胰腺祖细胞的分化^[75-76]。

2.3.2 miRNA与β细胞功能

2009 年, Tang 等^[107]确定了 61 种 miRNA 可随葡萄糖浓度变化发生改变。高葡萄糖浓度时, miR-375、miR-124a、miR-107、miR-30d、miR-690 和 miR-let7 等表达明显上调, 而 miR-296、miR-484 和 miR-690 等表达下调。过表达 miR-30d 时, 胰岛素基因的表达增加; 抑制 miR-30d 时, 葡萄糖激活的胰岛素转录也被抑制^[107]。miR-30d 过表达可诱导胰岛素基因转录因子 MafA 表达^[84]。另外, miR-204 也能直接靶向调控 MafA^[108]。在培养的 β 细胞或分离的小鼠胰岛中敲除一组 miRNA (miR-24、miR-26、miR-182 或 miR-148) 会降低胰岛素基因启动子活性, 最终导致胰岛素含量降低^[80]。另一种 miRNA, 即 miR-15a, 可通过靶向解偶联蛋白 2 (uncoupling protein 2, UCP2) 参与胰岛素生物合成^[73]。miR-375 作为胰岛特异性的 miRNA, 其过表达会抑制胰岛素分泌, 其对葡萄糖刺激的胰岛素表达起负调节作用。研究显示, miR-375 对胰岛素分泌的调节作用可能是通过 NF-κB 发挥作用^[109]。亦有研究指出, miR-375 作用于 PI3K 通路, 影响 β 细胞增殖及胰岛素合成^[94-95]。另外, 有研究表明, miR-124a、miR-9 和 miR-96 也参与胰岛素的分泌调节^[88]。

表2 参与胰腺β细胞发育和功能的重要的miRNA

miRNA	靶基因	参与的功能
miR-7	GATA6、Pax6 Pfn2、Wipf2、 Cplx1、Basp1、 Snca eIF4E、S6k1、 Mknk2、Mknk1、 Mapkap1	内分泌胰腺发育、功能 ^[68-69] 胰岛素分泌 ^[68] 成年β细胞增殖和复制 ^[70]
miR-9	Sirt1、Onecut-2	胰岛素分泌 ^[71-72]
miR-15a	UCP2 Ngn3	胰岛素的生物合成 ^[73] 内分泌胰腺发育、再生 ^[74]
miR-15b、miR-16、miR-195、miR-106b	Ngn3	内分泌胰腺发育、再生 ^[74]
miR-18a、miR-145、miR-495	Ptf1a	胰腺祖细胞分化 ^[75-76]
miR-19b	NeuroD1	胰腺祖细胞分化为胰腺内分泌谱系的调节、胰岛素生物合成 ^[77]
miR-21	Pdcd4、Piccolo	β细胞凋亡、胰岛素分泌 ^[78]
miR-24	Men1 Sox6	β细胞增殖 ^[79] 胰岛素生物合成 ^[80]
miR-26、miR-148、miR-182	Bhlhe22、Sox6	胰岛素生物合成 ^[80]
miR-29	Mct1、Onecut2 Mcl1	胰岛素分泌 ^[79] β细胞凋亡 ^[81]
miR-30	Vimentin、Snail1、 Rfx6 Map4k4 NeuroD	β细胞增殖、分化 ^[82-83] 胰岛素生物合成 ^[84] 胰岛素分泌 ^[85]
miR-33a	Abca1	胰岛素分泌 ^[86]
miR-34a、miR-146a	—	β细胞凋亡、胰岛素分泌 ^[87]
miR-96	Granuphilin	胰岛素分泌 ^[88]
miR-124a	Foxa2、Ngn3、 NeuroD1、Rab27、 Snap25、Rab3A、 synapsin1A	内分泌胰腺发育、胰岛素分泌 ^[78-88]
miR-130b	Sox9、Pax6	维持胰腺祖细胞数量 ^[89]
miR-184	Argonaute2	代偿性β细胞扩增 ^[90]
miR-200	c-Maf、Fog2、 Zeb1、Zeb2、 Sox17	β细胞特化 ^[83]
miR-218、miR-495	HNF6、Onecut2	早期胰腺发育 ^[91]
miR-342	Foxa2、MafB、 GATA4	内胚层/原始前肠发育、β细胞分化、成熟 ^[69, 89, 92]
miR-375	Cadm1、Caveolin-1 Pdk1 Myotrophin、HuD、 Gephyrin、Ywhaz、 Aifm1	胰腺发育、代偿性β细胞扩增 ^[93] 胰岛素生物合成 ^[94-95] 胰岛素分泌 ^[78, 96]
miR-382	Isl1	内分泌细胞分化和功能 ^[89]

Pfn2: profilin 2, 前纤维蛋2; **Wipf2**: WAS/WASL interacting protein family member 2, WAS/WASL相互作用家族蛋白成员2; **Cplx1**: complexin 1, 复合素1; **Basp1**: brain abundant membrane attached signal protein 1, 脑富含膜附着信号蛋白1; **Snca**: synuclein alpha, α-突触核蛋白; **eIF4E**: eukaryotic translation initiation factor 4E, 真核细胞翻译起始因子4E; **S6k1**: Ribosomal protein S6 kinase 1, 核糖体蛋白S6激酶1; **Mapkap1**: MAPK associated protein 1, 丝裂原活化蛋白激酶相关蛋白1; **Mknk1**: MAP kinase interacting serine/threonine kinase 1, MAP激酶相互作用丝氨酸/苏氨酸激酶1; **Mknk2**: MAP kinase

interacting serine/threonine kinase 2, MAP激酶相互作用丝氨酸/苏氨酸激酶2; **Sirt1**: silent information regulation 2 homolog-1, 沉默信息调节因子2相关酶1; **Onecut-2**: one cut homeobox 2; **UCP2**: uncoupling protein 2, 解偶联蛋白2; **Ngn3**: neurogenin 3; 神经元素3, **Ptf1a**: pancreas associated transcription factor 1a, 胰腺特异转录因子1a; **NeuroD1**: neurogenic differentiation 1, 神经元分化因子1; **Pdcd4**: programmed cell death 4, 程序性细胞死亡因子4; **Sox6**: SRY-box transcription factor 6, 性别决定区Y框蛋白6; **Sox17**: SRY-box transcription factor 17, 性别决定区Y框蛋白17; **Bhlhe22**: basic helix-loop-helix family member e22, 属于碱性螺旋-环-螺旋转录因子家族成员; **Mct1**: monocarboxylate transporter 1, 单羧酸转运蛋白1; **Mcl-1**: myeloid cell leukemia-1, 髓细胞白血病因子-1; **Snail1**: snail family transcriptional repressor 1, Snail家族转录因子1; **Map4k4**: mitogen-activated protein kinase kinase kinase 4, 丝裂原激活蛋白激酶激酶激酶4; **Abca1**: ATP binding cassette subfamily A member 1, ATP结合盒亚家族A成员1; **Snap25**: synaptosome associated protein 25, 突触小体相关蛋白25; **Zeb1**: zinc finger E-box binding homeobox 1, 锌指结构转录因子1; **Zeb2**: zinc finger E-box binding homeobox 2, 锌指结构转录因子2; **HNF6**: hepatocyte nuclear factors 6, 肝细胞核因子6; **MafB**: v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog B, v-maf肌腱膜纤维肉瘤癌基因同源物B; **Cadm1**: cell adhesion molecule 1, 细胞黏附因子1; **Pdk1**: pyruvate dehydrogenase kinase 1, 丙酮酸脱氢酶激酶1; **HuD**: ELAV-like RNA-binding protein 4, Elavl4; **Ywhaz**: tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein zeta, 酪氨酸3-单加氧酶色氨酸5-单加氧酶激活蛋白; **Aifm1**: apoptosis inducing factor mitochondria associated 1, 线粒体凋亡诱导因子1; **Isl1**: islet1, 胰岛素增强子结合蛋白-1

miR-124a 通过促进 Snap25、Rab3A、synapsin1A 的表达, 抑制 Rab27A 和 Noc2 的表达, 从而在 MIN6 细胞中增加基础胰岛素分泌, 但降低高浓度葡萄糖刺激的胰岛素分泌^[88]。另有研究证实, miR-124a 通过靶向 Foxa2, 下调 Foxa2 的表达, 引起下游 β 细胞特异转录因子 Pdx1 和钾离子 (K⁺) 通道的两个亚单元 Kir6.2 及 Sur1 表达的降低, 进而影响胰岛素分泌及葡萄糖代谢的调控^[106,110]。此外, miR-9 和 miR-96 调节胰岛素的分泌具有相似之处。miR-9 通过降低转录因子 Onecut2 和提高 Granuphilin/Slp4 的表达水平来抑制葡萄糖或钾离子诱导引起的胰岛素分泌^[71]。miR-96 也被证实参与调控 Granuphilin 水平, 其通过上调 Granuphilin 的表达, 同时下调 Noc2 的表达, 进而减少胰岛素的分泌^[88]。因此, 维持 miR-9 和 miR-96 的相对低水平, 能够避免 Granuphilin 的异常增多, 使 β 细胞胰岛素分泌正常进行。总之, 最近的研究清楚地确定了 miRNA 在调节胰腺 β 细胞功能中的作用。尽管人类基因组编码了超过 2 500 种成熟 miRNA, 但目前只报道了少数 miRNA 与 β 细胞功能有关。大多数 miRNA 在 β 细胞中的作用尚不清楚, 需要进一步研究。

总之, 以上研究表明了 miRNA 对 β 细胞分化和胰岛素分泌重要途径的影响; 同时也提示, 多个 miRNA 可通过不同的组合方式来协同调控靶基因, 例如 miR-15a、miR-15b、miR-16、miR-195 和 miR-106b 均可靶向 Ngn3, 调控内分泌胰腺发育、再生等(表 2)。因此, 当 β 细胞应对各种复杂的环境变化时, miRNA 在转录后调控过程中必然存在大量的调控网络, 并且通过其靶基因与各种生物网络相

互交织组成复杂的生物调控网络, 从而做出精确反应。因而, 在接下来的研究工作中, 为了更好地了解 miRNA 在 β 细胞发育和功能中的作用, miRNA 共调控网络是一个值得关注的焦点。

2.3.3 其他ncRNA

lncRNA 似乎也在 β 细胞发育与功能中起作用。2012 年, 在小鼠和人胰岛中发现 1 000 多个保守的 lncRNA; 值得注意的是, 55% 已鉴定的 lncRNA 是胰岛特异性的, 并具有发育调节作用^[111-112]。2017 年, Akerman 等^[113]已将 β 细胞 lncRNA 扩展至约 2 400 个。有趣的是, 胰岛特异性 lncRNA 中的很大一部分与已知在胰腺 β 细胞中具有重要功能的基因密切相关: HI-LNC-5 (*ISL1*)、-26 (*PCSK1*)、-45 (*TUBB3*)、-57 (*ISL1*)、-65 (*SIX9*)、-66 (*NEUROD1*)、-75 (*SOX9*)、-94 (*RFX6*)、-100 (miR-210)、-101 (*PAX6*)、-103 (*ABCC8*)^[101]。对人 β 细胞的细胞特异性的表观遗传研究鉴定出了 12 种 β 细胞特异性 lncRNA (包括: HI-LNC-12、-15、-25、-30、-70、-71、-75、-76、-78、-79、-80、-85), 还发现这些 lncRNA 可调控 β 细胞的功能^[111,114]。虽然目前已对 lncRNA 对胰岛功能和发育以及印迹基因组位点的影响进行了研究, 但这只是一个开始, 后面还需要做更多的工作来阐明 lncRNA 在 β 细胞生物学和糖尿病病理生理学中的作用。

2017 年, Henaoui 等^[115]发现了 PIWI 蛋白及其相关 piRNA 在 β 细胞功能控制中的作用, 并提示其可能参与 2 型糖尿病的发展。他们在大鼠胰岛中检测到约 18 000 个 piRNA, 其中许多在出生后的胰岛中差异表达。与对照组胰岛相比, 在 Goto-

Kakizaki 大鼠 (一种成熟的 2 型糖尿病大鼠模型) 胰岛中, DQ751874 piRNA 减少, 而 DQ746748 和 DQ732700 piRNA 增加。在成年大鼠胰岛中沉默 *Piwil2* 或 *Piwil4* 基因可导致几种 piRNA 的水平降低, 并导致胰岛素分泌缺陷, 以及细胞对细胞因子诱导的细胞死亡的抗性增加。此外, DQ746748 和 DQ732700 piRNA 的过表达可导致葡萄糖诱导的胰岛素释放的选择性缺陷。

尽管在过去几年中, 具有已知生物学功能的 circRNA 的数量已经快速增长, 但对于大多数 circRNA 而言, 它们的功能仍然是未知的。Stoll 等^[116] 鉴定了 3 441 个在人胰岛中表达的 circRNA, 其中 497 个在小鼠胰岛中是保守的; 他们还发现, 在糖尿病 db/db 小鼠的胰岛中, circHIPK3 和 ciRS-7 (CDR1as) 的表达水平降低。circHIPK3 的消耗可导致细胞凋亡增加, 抑制增殖和葡萄糖诱导的胰岛素分泌, 以及参与胰岛素分泌的 β 细胞基因表达。另有研究发现, ciRS-7 (CDR1as) 在胰腺 β 细胞中表达, 其过表达上调胰岛细胞的胰岛素分泌和胰岛素含量^[117]。其他 circRNA, 如 MAN1A2、RHOBTB3 和 RMST 也在胰岛中高表达; 然而, 来自 TGFBR3 的 circRNA 具有高度 β 细胞选择性, 而来自 FAP、SYTL5、PTPRT、STK32B 和 BVES 的 circRNA 具有高度的 α 细胞选择性^[118]。

3 研究展望

目前, 有关表观遗传学修饰和调控的研究已成为生命科学的热点和前沿, 其在胰腺发育过程中 β 细胞分化、增殖以及 β 细胞成熟后的特性和功能维持中发挥重要作用, 人们对糖尿病的发生发展也有了新认识。了解这些过程中的表观遗传调控机制对于糖尿病的治疗具有重要的意义, 这为解释和思考哪些因素与疾病的发生发展相关提供了一个新的途径, 并且有望为糖尿病的预防和治疗提供新方向、新方案。然而, 表观遗传调控的很多相关机制还未完全阐明。在今后的研究中, 还应进一步深入研究表观遗传学机制与 β 细胞数量、分泌功能等的关系, 鉴定新的糖尿病治疗靶标; 通过表观遗传修饰手段干预干细胞的定向分化, 刺激 β 细胞增殖, 或对其他来源的细胞进行重编程来寻找受损或被破坏的 β 细胞的替代品, 加速发展胰岛替代或再生疗法用于预防和治疗糖尿病。近年来, 本实验室对发育源性糖尿病的发病机制进行了大量研究, 发现孕期不良环境除直接造成胰岛发育和功能异常外, 还可造成

胎盘损伤, 对子代脏器发育产生间接影响; 同时, 已证实其涉及表观遗传学的调控^[119-120]。但表观遗传学如何通过直接和间接作用参与 (或如何进行) 调控不良妊娠环境下 β 细胞的发育尚未阐明, 这也将是下一步的研究重心。

[参 考 文 献]

- [1] Waddington CH. The epigenotype. 1942. *Int J Epidemiol*, 2012, 41: 10-3
- [2] Berger SL, Kouzarides T, Shiekhata R, et al. An operational definition of epigenetics. *Genes Dev*, 2009, 23: 781-3
- [3] Ling C, Ronn T. Epigenetics in human obesity and type 2 diabetes. *Cell Metab*, 2019, 29: 1028-44
- [4] Nilsson EE, Sadler-Riggelman I, Skinner MK. Environmentally induced epigenetic transgenerational inheritance of disease. *Environ Epigenet*, 2018, 4: dvy016
- [5] Li S, Chen M, Li Y, et al. Prenatal epigenetics diets play protective roles against environmental pollution. *Clin Epigenetics*, 2019, 11: 82
- [6] Perez MF, Lehner B. Intergenerational and transgenerational epigenetic inheritance in animals. *Nat Cell Biol*, 2019, 21: 143-51
- [7] Courty E, Besseiche A, Do TT, et al. Adaptive β -cell neogenesis in the adult mouse in response to glucocorticoid-induced insulin resistance. *Diabetes*, 2019, 68: 95-108
- [8] Ravelli AC, van der Meulen JH, Michels RP, et al. Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet*, 1998, 351: 173-7
- [9] Boehmer BH, Limesand SW, Rozance PJ. The impact of IUGR on pancreatic islet development and β -cell function. *J Endocrinol*, 2017, 235: R63-r76
- [10] Remacle C, Dumortier O, Bol V, et al. Intrauterine programming of the endocrine pancreas. *Diabetes Obes Metab*, 2007, 9 Suppl 2: 196-209
- [11] Astro V, Adamo A. Epigenetic control of endocrine pancreas differentiation *in vitro*: current knowledge and future perspectives. *Front Cell Dev Biol*, 2018, 6: 141
- [12] Cao MJ, Dong HS, Pan QJ, et al. Progress in early pancreas development and reprogramming of terminally differentiated cells into β cells. *Hereditas (Beijing)*, 2014, 36: 511-8
- [13] Xiao D, Kou H, Gui S, et al. Age-characteristic changes of glucose metabolism, pancreatic morphology and function in male offspring rats induced by prenatal ethanol exposure. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2019, 10: 34
- [14] 李霞, 肖笛, 寇皓, 等. 孕期乙醇暴露所致高脂饮食子代大鼠糖代谢功能改变. *中国临床药理学与治疗学*, 2017, 22: 20-6
- [15] Kou H, Wang GH, Pei LG, et al. Effects of prenatal caffeine exposure on glucose homeostasis of adult offspring rats. *Naturwissenschaften*, 2017, 104: 89
- [16] 桂淑霞, 寇皓, 郭喻, 等. 孕期咖啡因暴露致子代大鼠高脂饮食下胰腺形态和糖代谢功能改变. *中国医院药学杂志*, 2019, 39: 37-42

- [17] Dolensek J, Rupnik MS, Stozer A. Structural similarities and differences between the human and the mouse pancreas. *Islets*, 2015, 7: e1024405
- [18] Pan FC, Wright C. Pancreas organogenesis: from bud to plexus to gland. *Dev Dyn*, 2011, 240: 530-65
- [19] Sznurkowska MK, Hannezo E, Azzarelli R, et al. Defining lineage potential and fate behavior of precursors during pancreas development. *Dev Cell*, 2018, 46: 360-75.e5
- [20] Pan FC, Brissova M. Pancreas development in humans. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2014, 21: 77-82
- [21] Jennings RE, Berry AA, Strutt JP, et al. Human pancreas development. *Development*, 2015, 142: 3126-37
- [22] Fujitani Y. Transcriptional regulation of pancreas development and β-cell function. *Endocr J*, 2017, 64: 477-86
- [23] American Diabetes Association. 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes-2019. *Diabetes Care*, 2019, 42: S13-28
- [24] Zeng Y, Chen T. DNA methylation reprogramming during mammalian development. *Genes (Basel)*, 2019, 10: 257
- [25] Golson ML, Kaestner KH. Epigenetics in formation, function, and failure of the endocrine pancreas. *Mol Metab*, 2017, 6: 1066-76
- [26] Bogdanovic O, Lister R. DNA methylation and the preservation of cell identity. *Curr Opin Genet Dev*, 2017, 46: 9-14
- [27] Tajima S, Suetake I, Takeshita K, et al. Domain Structure of the Dnmt1, Dnmt3a, and Dnmt3b DNA methyltransferases[M]//Jeltsch A, Jurkowska RZ. DNA methyltransferases - role and function. Cham: Springer International Publishing, 2016: 63-86
- [28] Goll MG, Kirpekar F, Maggert KA, et al. Methylation of tRNA^{Asp} by the DNA methyltransferase homolog Dnmt2. *Science*, 2006, 311: 395-8
- [29] Chédin F. Chapter 7 - The DNMT3 family of mammalian *de novo* DNA methyltransferases[M]//Cheng X, Blumenthal RM. Progress in molecular biology and translational science. Oxford: Elsevier Inc., 2011, 101: 255-85
- [30] Goll MG, Bestor TH. Eukaryotic cytosine methyltransferases. *Annu Rev Biochem*, 2005, 74: 481-514
- [31] Anderson RM, Bosch JA, Goll MG, et al. Loss of Dnmt1 catalytic activity reveals multiple roles for DNA methylation during pancreas development and regeneration. *Dev Biol*, 2009, 334: 213-23
- [32] Rai K, Nadauld LD, Chidester S, et al. Zebra fish Dnmt1 and Suv39h1 regulate organ-specific terminal differentiation during development. *Mol Cell Biol*, 2006, 26: 7077-85
- [33] Georgia S, Kanji M, Bhushan A. DNMT1 represses p53 to maintain progenitor cell survival during pancreatic organogenesis. *Genes Dev*, 2013, 27: 372-7
- [34] Dhawan S, Georgia S, Tschen SI, et al. Pancreatic β cell identity is maintained by DNA methylation-mediated repression of Arx. *Dev Cell*, 2011, 20: 419-29
- [35] Papizan JB, Singer RA, Tschen SI, et al. Nkx2.2 repressor complex regulates islet β-cell specification and prevents β-to-α-cell reprogramming. *Genes Dev*, 2011, 25: 2291-305
- [36] Liu J, Banerjee A, Herring CA, et al. Neurog3-independent methylation is the earliest detectable mark distinguishing pancreatic progenitor identity. *Dev Cell*, 2019, 48: 49-63.e7
- [37] Gilbert ER, Liu D. Epigenetics: the missing link to understanding β-cell dysfunction in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Epigenetics*, 2012, 7: 841-52
- [38] Dayeh T, Volkov P, Salo S, et al. Genome-wide DNA methylation analysis of human pancreatic islets from type 2 diabetic and non-diabetic donors identifies candidate genes that influence insulin secretion. *PLoS Genet*, 2014, 10: e1004160
- [39] Volkmar M, Dedeurwaerder S, Cunha DA, et al. DNA methylation profiling identifies epigenetic dysregulation in pancreatic islets from type 2 diabetic patients. *EMBO J*, 2012, 31: 1405-26
- [40] Ling C, Del Guerra S, Lupi R, et al. Epigenetic regulation of PPARGC1A in human type 2 diabetic islets and effect on insulin secretion. *Diabetologia*, 2008, 51: 615-22
- [41] Yang BT, Dayeh TA, Kirkpatrick CL, et al. Insulin promoter DNA methylation correlates negatively with insulin gene expression and positively with HbA(1c) levels in human pancreatic islets. *Diabetologia*, 2011, 54: 360-7
- [42] Zhou KC, Liu HW, Wang C, et al. Association of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene polymorphism with type 2 diabetes mellitus in Chinese Korean ethnicity population. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98: e14288
- [43] Hu Y, Shi P, He K, et al. Methylation of Tcf712 promoter by high-fat diet impairs β-cell function in mouse pancreatic islets. *Diabetes Metab Res Rev*, 2018, 34: e2980
- [44] Mao Z, Xia W, Chang H, et al. Paternal BPA exposure in early life alters Igf2 epigenetic status in sperm and induces pancreatic impairment in rat offspring. *Toxicol Lett*, 2015, 238: 30-8
- [45] Molina-Serrano D, Kyriakou D, Kirmizis A. Histone modifications as an intersection between diet and longevity. *Front Genet*, 2019, 10: 192
- [46] Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell*, 2007, 128: 693-705
- [47] Haumaitre C, Lenoir O, Scharfmann R. Directing cell differentiation with small-molecule histone deacetylase inhibitors: the example of promoting pancreatic endocrine cells. *Cell Cycle*, 2009, 8: 536-44
- [48] Haumaitre C, Lenoir O, Scharfmann R. Histone deacetylase inhibitors modify pancreatic cell fate determination and amplify endocrine progenitors. *Mol Cell Biol*, 2008, 28: 6373-83
- [49] Lenoir O, Flosseau K, Ma FX, et al. Specific control of pancreatic endocrine β- and δ-cell mass by class IIa histone deacetylases HDAC4, HDAC5, and HDAC9. *Diabetes*, 2011, 60: 2861-71
- [50] Dayeh T, Ling C. Does epigenetic dysregulation of pancreatic islets contribute to impaired insulin secretion and type 2 diabetes? *Biochem Cell Biol*, 2015, 93: 511-21
- [51] Mikkelsen TS, Ku M, Jaffe DB, et al. Genome-wide maps

- of chromatin state in pluripotent and lineage-committed cells. *Nature*, 2007, 448: 553-60
- [52] van Mierlo G, Veenstra GJ, Vermeulen M, et al. The complexity of PRC2 subcomplexes. *Trends Cell Biol*, 2019, 29: 660-71
- [53] Xu CR, Cole PA, Meyers DJ, et al. Chromatin “prepattern” and histone modifiers in a fate choice for liver and pancreas. *Science*, 2011, 332: 963-6
- [54] Salguero-Aranda C, Tapia-Limonchi R, Cahuana GM, et al. Differentiation of mouse embryonic stem cells toward functional pancreatic β -cell surrogates through epigenetic regulation of Pdx1 by nitric oxide. *Cell Transplant*, 2016, 25: 1879-92
- [55] van Arensbergen J, Garcia-Hurtado J, Moran I, et al. Derepression of Polycomb targets during pancreatic organogenesis allows insulin-producing β -cells to adopt a neural gene activity program. *Genome Res*, 2010, 20: 722-32
- [56] Chakrabarti SK, Francis J, Ziesmann SM, et al. Covalent histone modifications underlie the developmental regulation of insulin gene transcription in pancreatic β cells. *J Biol Chem*, 2003, 278: 23617-23
- [57] Maganti AV, Maier B, Tersey SA, et al. Transcriptional activity of the islet β cell factor Pdx1 is augmented by lysine methylation catalyzed by the methyltransferase Set7/9. *J Biol Chem*, 2015, 290: 9812-22
- [58] Deering TG, Ogiwara T, Trace AP, et al. Methyltransferase Set7/9 maintains transcription and euchromatin structure at islet-enriched genes. *Diabetes*, 2009, 58: 185-93
- [59] Wang HW, Breslin MB, Lan MS. Pdx-1 modulates histone H4 acetylation and insulin gene expression in terminally differentiated α -TC-1 cells. *Pancreas*, 2007, 34: 248-53
- [60] Mosley AL, Ozcan S. The pancreatic duodenal homeobox-1 protein (Pdx-1) interacts with histone deacetylases Hdac-1 and Hdac-2 on low levels of glucose. *J Biol Chem*, 2004, 279: 54241-7
- [61] Chang H, Wang D, Xia W, et al. Epigenetic disruption and glucose homeostasis changes following low-dose maternal bisphenol A exposure. *Toxicol Res (Camb)*, 2016, 5: 1400-9
- [62] Chen H, Gu X, Su IH, et al. Polycomb protein Ezh2 regulates pancreatic β -cell Ink4a/Arf expression and regeneration in diabetes mellitus. *Genes Dev*, 2009, 23: 975-85
- [63] Dhawan S, Tschen SI, Bhushan A. Bmi-1 regulates the Ink4a/Arf locus to control pancreatic β -cell proliferation. *Genes Dev*, 2009, 23: 906-11
- [64] Zhou JX, Dhawan S, Fu H, et al. Combined modulation of polycomb and trithorax genes rejuvenates β cell replication. *J Clin Invest*, 2013, 123: 4849-58
- [65] Scoville DW, Cyphert HA, Liao L, et al. MLL3 and MLL4 methyltransferases bind to the MAFA and MAFB transcription factors to regulate islet β -cell function. *Diabetes*, 2015, 64: 3772-83
- [66] Kanwal F, Lu C. A review on native and denaturing purification methods for non-coding RNA (ncRNA). *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2019, 1120: 71-9
- [67] Fu Q, Liu CJ, Zhai ZS, et al. Single-cell non-coding RNA in embryonic development. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1068: 19-32
- [68] Latreille M, Hausser J, Stutzer I, et al. MicroRNA-7a regulates pancreatic β cell function. *J Clin Invest*, 2014, 124: 2722-35
- [69] Domínguez-Bendala J, Klein D, Pastori RL. Chapter 16 - microRNAs in pancreas and islet development[M]//Sen CK. *MicroRNA in regenerative medicine*. Oxford: Elsevier Inc., 2015: 401-18
- [70] Wang Y, Liu J, Liu C, et al. MicroRNA-7 regulates the mTOR pathway and proliferation in adult pancreatic β -cells. *Diabetes*, 2013, 62: 887-95
- [71] Plaisance V, Abderrahmani A, Perret-Menoud V, et al. MicroRNA-9 controls the expression of Granuphilin/Slp4 and the secretory response of insulin-producing cells. *J Biol Chem*, 2006, 281: 26932-42
- [72] Ramachandran D, Roy U, Garg S, et al. Sirt1 and mir-9 expression is regulated during glucose-stimulated insulin secretion in pancreatic β -islets. *FEBS J*, 2011, 278: 1167-74
- [73] Sun LL, Jiang BG, Li WT, et al. MicroRNA-15a positively regulates insulin synthesis by inhibiting uncoupling protein-2 expression. *Diabetes Res Clin Pract*, 2011, 91: 94-100
- [74] Joglekar MV, Parekh VS, Mehta S, et al. MicroRNA profiling of developing and regenerating pancreas reveal post-transcriptional regulation of neurogenin3. *Dev Biol*, 2007, 311: 603-12
- [75] Jin YY, Wang JF, Wang XJ, et al. Roles of non-coding RNA in pancreatic islet development and functioning. *Chin Med Sci J*, 2014, 36: 691-6
- [76] Yang Y, Ding L, An Y, et al. MiR-18a regulates expression of the pancreatic transcription factor Ptf1a in pancreatic progenitor and acinar cells. *FEBS Lett*, 2012, 586: 422-7
- [77] Zhang ZW, Zhang LQ, Ding L, et al. MicroRNA-19b downregulates insulin 1 through targeting transcription factor NeuroD1. *FEBS Lett*, 2011, 585: 2592-8
- [78] Ozcan S. Minireview: microRNA function in pancreatic β cells. *Mol Endocrinol*, 2014, 28: 1922-33
- [79] Vijayaraghavan J, Maggi EC, Crabtree JS. miR-24 regulates menin in the endocrine pancreas. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2014, 307: E84-92
- [80] Melkman-Zehavi T, Oren R, Kredon-Russo S, et al. miRNAs control insulin content in pancreatic β -cells via downregulation of transcriptional repressors. *EMBO J*, 2011, 30: 835-45
- [81] Roggli E, Gattesco S, Caille D, et al. Changes in microRNA expression contribute to pancreatic β -cell dysfunction in prediabetic NOD mice. *Diabetes*, 2012, 61: 1742-51
- [82] Joglekar MV, Patil D, Joglekar VM, et al. The miR-30 family microRNAs confer epithelial phenotype to human pancreatic cells. *Islets*, 2009, 1: 137-47
- [83] Liao X, Xue H, Wang YC, et al. Matched miRNA and mRNA signatures from an hESC-based *in vitro* model of pancreatic differentiation reveal novel regulatory

- interactions. *J Cell Sci*, 2013, 126: 3848-61
- [84] Zhao X, Mohan R, Ozcan S, 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 Biol Chem*, 2012, 287: 31155-64
- [85] Kim JW, You YH, Jung S, et al. miRNA-30a-5p-mediated silencing of B2/NeuroD expression is an important initial event of glucotoxicity-induced β cell dysfunction in rodent models. *Diabetologia*, 2013, 56: 847-55
- [86] Wijesekara N, Zhang LH, Kang MH, et al. miR-33a modulates ABCA1 expression, cholesterol accumulation, and insulin secretion in pancreatic islets. *Diabetes*, 2012, 61: 653-8
- [87] Roggli E, Britan A, Gattesco S, et al. Involvement of microRNAs in the cytotoxic effects exerted by proinflammatory cytokines on pancreatic β -cells. *Diabetes*, 2010, 59: 978-86
- [88] Lovis P, Gattesco S, Regazzi R. Regulation of the expression of components of the exocytotic machinery of insulin-secreting cells by microRNAs. *Biol Chem*, 2008, 389: 305-12
- [89] Rosero S, Bravo-Egana V, Jiang Z, et al. MicroRNA signature of the human developing pancreas. *BMC Genomics*, 2010, 11: 509
- [90] Tattikota SG, Rathjen T, McAnulty SJ, et al. Argonaute2 mediates compensatory expansion of the pancreatic β cell. *Cell Metab*, 2014, 19: 122-34
- [91] Simion A, Laudadio I, Prevot PP, et al. MiR-495 and miR-218 regulate the expression of the Onecut transcription factors HNF-6 and OC-2. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 391: 293-8
- [92] Kaviani M, Azarpira N, Karimi MH, et al. The role of microRNAs in islet β -cell development. *Cell Biol Int*, 2016, 40: 1248-55
- [93] Kloosterman WP, Lagendijk AK, Ketting RF, et al. Targeted inhibition of miRNA maturation with morpholinos reveals a role for miR-375 in pancreatic islet development. *PLoS Biol*, 2007, 5: e203
- [94] Tang X, Gal J, Zhuang X, et al. A simple array platform for microRNA analysis and its application in mouse tissues. *RNA*, 2007, 13: 1803-22
- [95] El Ouaamari A, Baroukh N, Martens GA, et al. miR-375 targets 3'-phosphoinositide-dependent protein kinase-1 and regulates glucose-induced biological responses in pancreatic β -cells. *Diabetes*, 2008, 57: 2708-17
- [96] Poy MN, Eliasson L, Krutzfeldt J, et al. A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion. *Nature*, 2004, 432: 226-30
- [97] Dalgaard LT, Eliasson L. An ' α - β ' of pancreatic islet microribonucleotides. *Int J Biochem Cell Biol*, 2017, 88: 208-19
- [98] Eliasson L, Esguerra JL. Role of non-coding RNAs in pancreatic β -cell development and physiology. *Acta Physiol (Oxf)*, 2014, 211: 273-84
- [99] Lynn FC, Skewes-Cox P, Kosaka Y, et al. MicroRNA expression is required for pancreatic islet cell genesis in the mouse. *Diabetes*, 2007, 56: 2938-45
- [100] Kanji MS, Martin MG, Bhushan A. Dicer1 is required to repress neuronal fate during endocrine cell maturation. *Diabetes*, 2013, 62: 1602-11
- [101] Wong WKM, Sorensen AE, Joglekar MV, et al. Non-coding RNA in pancreas and β -cell development. *Noncoding RNA*, 2018, 4: 41
- [102] Correa-Medina M, Bravo-Egana V, Rosero S, et al. MicroRNA miR-7 is preferentially expressed in endocrine cells of the developing and adult human pancreas. *Gene Expr Patterns*, 2009, 9: 193-9
- [103] Nieto M, Hevia P, Garcia E, et al. Antisense miR-7 impairs insulin expression in developing pancreas and in cultured pancreatic buds. *Cell Transplant*, 2012, 21: 1761-74
- [104] 陈修思, 王涛, 穆长征, 等. miR-106b靶向调控胰岛分泌细胞诱导分化过程中Ngn3基因的表达. *解放军医学院学报*, 2014, 35: 365-8
- [105] Sebastiani G, Po A, Miele E, et al. MicroRNA-124a is hyperexpressed in type 2 diabetic human pancreatic islets and negatively regulates insulin secretion. *Acta Diabetol*, 2015, 52: 523-30
- [106] Baroukh N, Ravier MA, Loder MK, et al. MicroRNA-124a regulates Foxa2 expression and intracellular signaling in pancreatic β -cell lines. *J Biol Chem*, 2007, 282: 19575-88
- [107] Tang X, Muniappan L, Tang G, et al. Identification of glucose-regulated miRNAs from pancreatic β cells reveals a role for miR-30d in insulin transcription. *RNA*, 2009, 15: 287-93
- [108] Xu G, Chen J, Jing G, et al. Thioredoxin-interacting protein regulates insulin transcription through microRNA-204. *Nat Med*, 2013, 19: 1141-6
- [109] Norlin S, Ahlgren U, Edlund H. Nuclear factor- κ B activity in β -cells is required for glucose-stimulated insulin secretion. *Diabetes*, 2005, 54: 125-32
- [110] Baroukh NN, Van Obberghen E. Function of microRNA-375 and microRNA-124a in pancreas and brain. *FEBS J*, 2009, 276: 6509-21
- [111] Moran I, Akerman I, van de Bunt M, et al. Human β cell transcriptome analysis uncovers lncRNAs that are tissue-specific, dynamically regulated, and abnormally expressed in type 2 diabetes. *Cell Metab*, 2012, 16: 435-48
- [112] Ku GM, Kim H, Vaughn IW, et al. Research resource: RNA-Seq reveals unique features of the pancreatic β -cell transcriptome. *Mol Endocrinol*, 2012, 26: 1783-92
- [113] Akerman I, Tu Z, Beucher A, et al. Human pancreatic β cell lncRNAs control cell-specific regulatory networks. *Cell Metab*, 2017, 25: 400-11
- [114] Bramswig NC, Everett LJ, Schug J, et al. Epigenomic plasticity enables human pancreatic α to β cell reprogramming. *J Clin Invest*, 2013, 123: 1275-84
- [115] Henaoui IS, Jacovetti C, Guerra Mollet I, et al. PIWI-interacting RNAs as novel regulators of pancreatic β cell function. *Diabetologia*, 2017, 60: 1977-86
- [116] Stoll L, Sobel J, Rodriguez-Trejo A, et al. Circular RNAs as novel regulators of β -cell functions in normal and disease conditions. *Mol Metab*, 2018, 9: 69-83

- [117] Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges. *Nature*, 2013, 495: 384-8
- [118] Kaur S, Mirza AH, Pociot F. Cell type-selective expression of circular RNAs in human pancreatic islets. *Noncoding RNA*, 2018, 4: 38
- [119] Yu L, Zhou J, Zhang G, et al. cAMP/PKA/EGR1 signaling mediates the molecular mechanism of ethanol-induced inhibition of placental 11 β -HSD2 expression. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2018, 352: 77-86
- [120] Zhou J, Liu F, Yu L, et al. nAChRs-ERK1/2-Egr-1 signaling participates in the developmental toxicity of nicotine by epigenetically down-regulating placental 11 β -HSD2. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2018, 344: 1-12