

DOI: 10.13376/j.cbls/2023103

文章编号: 1004-0374(2023)07-0925-10

DNA甲基化在2型糖尿病治疗中的研究进展

王灵叶¹, 杨 晗², 葛胜祥^{1*}, 叶辉铭^{1,2*}

(1 厦门大学公共卫生学院, 厦门 361102; 2 厦门大学附属妇女儿童医院(厦门市妇幼保健院)医学检验科, 厦门 361003)

摘要: 2型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 是由胰岛素抵抗及胰岛素相对分泌不足, 引起蛋白质、脂肪、电解质及代谢产物紊乱的一类慢性疾病。T2DM 的发生发展与遗传及环境因素密切相关, 而以 DNA 甲基化为代表的表观遗传调控容易受到环境因素的影响, 在 DNA 序列不改变的情况下实现了表型的变化。因此, DNA 甲基化成为联系 T2DM 发病机制与其环境因素、遗传因素的重要纽带。近年来, DNA 甲基化与二甲双胍、阿卡波糖等药物疗效及不良反应的相关研究不断深入, 使得 DNA 甲基化有望成为 T2DM 治疗的新型生物标志物。本文重点阐述 DNA 甲基化在 T2DM 治疗中的研究, 首次从 DNA 甲基化与生活方式改变、药物或手术治疗的相互关系对相关研究进行整理归纳, 以期为 T2DM 的治疗提供新的理论依据。

关键词: 2型糖尿病; DNA 甲基化; 疾病治疗; 综述

中图分类号: Q756; R587.1 文献标志码: A

Research progress of DNA methylation in the treatment of type 2 diabetes mellitus

WANG Ling-Ye¹, YANG Han², GE Sheng-Xiang^{1*}, YE Hui-Ming^{1,2*}

(1 School of Public Health, Xiamen University, Xiamen 361102, China; 2 Department of Medical Laboratory, Women and Children's Hospital Affiliated to Xiamen University (Xiamen Maternal and Child Health Hospital), Xiamen University, Xiamen 361003, China)

Abstract: Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a kind of chronic disease featured by disturbance of protein, fat, electrolyte and other metabolites caused by insulin resistance and relative insulin hyposecretion. The occurrence and development of T2DM is closely related to genetic and environmental factors, while the apparent regulation represented by DNA methylation is susceptible to environmental factors, realizing the phenotype changes without changing the DNA sequence. Therefore, DNA methylation has become an important link between the pathogenesis of T2DM and its environmental factors, genetic factors. In recent years, the research on DNA methylation and the efficacy and adverse reactions of drugs such as metformin and acarbose has deepened, making DNA methylation become a new biomarker for the treatment of T2DM. This review focuses on the research of DNA methylation in the treatment of T2DM, and summarizes recent researches based on the relationship between DNA methylation and lifestyle changes, drug or surgical treatment for the first time, providing the new theoretical basis for the treatment of T2DM.

Key words: type 2 diabetes mellitus; DNA methylation; therapy; review

收稿日期: 2023-01-31; 修回日期: 2023-03-06

基金项目: 福建省卫生健康重大科研专项 (2021ZD01006)

*通信作者: E-mail: sxge@xmu.edu.cn (葛胜祥); yehuiming@xmu.edu.cn (叶辉铭)

糖尿病是一类以血糖代谢紊乱为特征的慢性疾病，前期症状并不明显，常导致发病数年后才得以诊断治疗。如果未能尽早干预，可能会导致糖尿病酮症酸中毒、周围神经病变与微血管及大血管等急慢性并发症的发生，严重危害人们的身心健康。根据国际糖尿病联盟报告，2021年全球成人糖尿病患者约为5.366亿人，占全球总人口的10.5%，其患病率预计在2045年上升至12.2%^[1]，糖尿病所致伤残及死亡率也会随之攀升，这将给全球带来极大的疾病与经济负担。与1型糖尿病患者体内的胰岛β细胞受损导致胰岛素分泌绝对缺乏不同，T2DM是由胰岛素抵抗所致胰岛素分泌相对不足，使能量调节受损引发血糖升高，加之该类型占所有糖尿病患者的90%~95%^[2]，因此针对T2DM的发病机制及其治疗一直备受关注。

T2DM的发病不仅与糖尿病家族史等遗传因素相关，更重要的是其与不良饮食习惯和缺乏体育活动等环境因素密切相关，是二者共同作用的结果^[2]。表观遗传学将遗传学与环境因素联系起来，在许多生理和病理情况下发挥重要作用^[3]。作为目前研究较为深入的表观遗传修饰方向之一，DNA甲基化在哺乳动物细胞中主要是指在DNA甲基化转移酶(DNA methyltransferases, DNMTs)的作用下，以S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)为甲基供体，在基因组胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤双核苷酸(cytosine-phosphate-guanine dinucleotide, CpG)的胞嘧

嘧啶5号碳位进行化学修饰，形成5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5mC)的过程^[4]。DNA甲基化可以发生在基因的启动子区域、基因组或重复序列等不同位置上，能引起染色质结构、DNA构象、DNA稳定性及DNA与蛋白质相互作用方式的改变，从而调控基因的表达水平^[5]。与之相反的DNA去甲基化过程，通常被分为被动去甲基化和主动去甲基化两种。被动去甲基化是指DNA甲基化形成的减少所导致的DNA复制期间5mC的被动稀释，最终实现甲基化水平降低；主动去甲基化则主要通过TET蛋白(ten-eleven translocation, TET)使5mC向5-羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, 5hmC)、5-甲酰胞嘧啶(5-formylcytosine, 5fC)和5-羧基胞嘧啶(5-carboxylcytosine, 5caC)的迭代氧化，再通过胸腺嘧啶DNA糖基化酶(thymine DNA glycosylase, TDG)切除5fC和5caC，结合碱基切除修复(base-excision repair, BER)，从而将5mC恢复为未修饰的胞嘧啶，最终实现DNA去甲基化^[6-7]。在体内，DNA的甲基化与去甲基化过程保持动态平衡，二者共同调控基因的表达水平(图1)。

DNA甲基化水平受到环境因素的影响，能在不改变基因序列的前提下，改变遗传表现，具有一定的遗传稳定性，因而能在环境和遗传的共同作用下调节胰岛β细胞的功能和胰岛素抵抗相关的胰岛素分泌、氧化应激反应等，进而影响T2DM的发生和发展。一方面，与胰岛β细胞功能相关的基因——

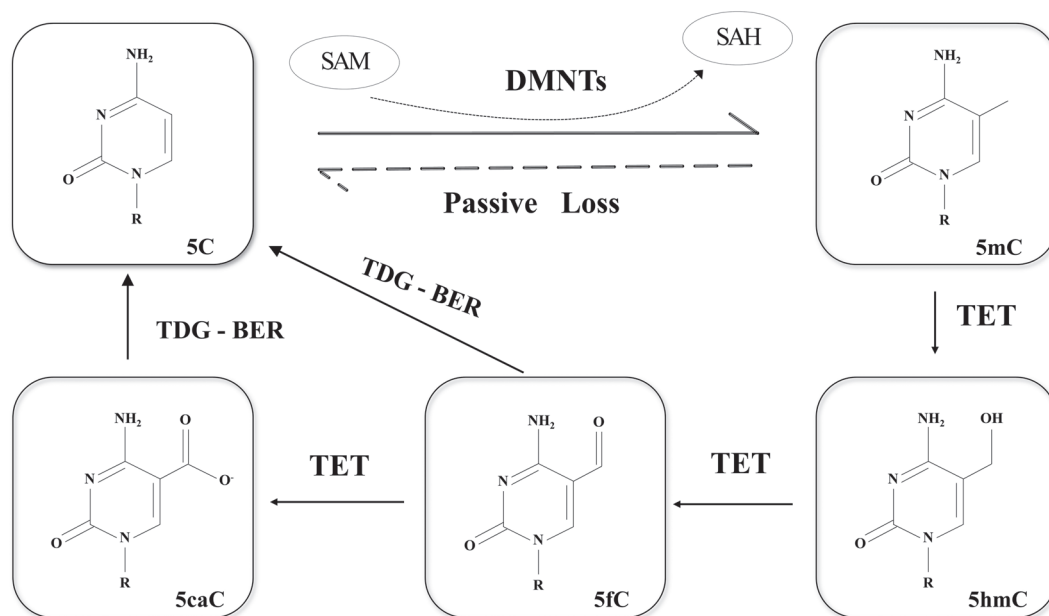


图1 哺乳动物体内的DNA甲基化与去甲基化

己糖激酶 1 (hexokinase1, *HK1*) 启动子的甲基化修饰会促进胰腺 β 细胞的成熟, 能使胰腺 β 细胞在葡萄糖的刺激下分泌胰岛素^[8]。*HK1* 甲基化水平在健康人群中随年龄增长而升高, 在成年时保持相对稳定。但是在糖尿病患者中, *HK1* 异常的高甲基化水平可能会导致 T2DM 人群中 *HK1* 与线粒体的解离, 使 *HK1* 在细胞质中的分布增多^[9]。*HK1* 在细胞内的异位表达可降低甘油醛-3-磷酸脱氢酶的活性和糖酵解的速率并促进磷酸戊糖途径代谢, 导致还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸等代谢产物增加; 继而在脂多糖的刺激下, 显著加剧白细胞介素 1 β 、白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子 α 的表达, 产生慢性炎症反应^[10], 这些炎症细胞因子会使胰岛素的分泌和作用受损^[11]。另一方面, DNA 甲基化在机体调节胰岛素敏感性的过程中也发挥着重要作用。比如, 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor gamma, *PPARG*) 作为胰岛素反应调节的核受体家族成员之一, 在脂肪生成、脂质代谢和葡萄糖代谢调节中发挥着重要作用^[12]。*PPARG* 是在脂肪细胞上用棕榈酸诱导形成胰岛素抵抗过程中发现的首个表观修饰基因, 其表达水平会随着启动子处的甲基化水平增加而减少^[13]。在 T2DM 发病过程中, DNA 甲基化在疾病进展的调节中发挥重要作用, 这意味着 DNA 甲基化将会成为治疗方案和药物研发的关键靶标。近些年, 基于 DNA 甲基化的 T2DM 治疗性研究成为行业热点, 因此下文将从生活方式干预、药物治疗和手术治疗三个方面, 对 DNA 甲基化在 T2DM 治疗中的研究进展进行整理、归纳, 以期提出 DNA 甲基化指导 T2DM 治疗的新思路, 为针对 T2DM 的精准医疗的发展提供新的理论依据。

1 DNA甲基化在T2DM生活方式干预治疗中的研究

正常机体能够通过胰岛素分泌和脂肪细胞扩张等途径来调节过剩的能量, 从而维持体内正常的血糖水平。然而在具有易感基因或表观遗传特征的人群中, 胰岛细胞更容易发生衰竭, 脂肪组织则更有可能出现异常表型, 从而无法有效调节血糖。过剩的血糖最终会导致肝脏、骨骼肌、心脏和卵巢等组织损伤, 形成胰岛素抵抗。长此以往, 胰岛素会出现代偿失调, 胰岛素分泌减少进而激活 β 细胞凋亡, 最终导致易感人群罹患 T2DM 及其并发症^[14-17]。因此, 健康饮食、适当运动等良好的生活方式通过减

少过剩的能量成为控制糖尿病进展和预防其并发症的重要手段, 而 DNA 甲基化在二者之间发挥着重要作用。

1.1 DNA甲基化与膳食营养

高脂高糖饮食不利于机体维持血糖稳态, 更重要的是这种长期不良的膳食习惯会影响到许多基因的甲基化水平, 其中最具代表性的便是基于 TET 蛋白表达水平变化的甲基化干扰调控模式。高血糖环境对细胞的刺激可使内皮细胞中的 TET 蛋白与 B 细胞中核因子 κ - 轻链多态基因增强子 (nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B cells, *NF- κ B*) 和超氧化物歧化酶 2 (superoxide dismutase 2, *SOD2*) 基因的启动子区域结合, 使这两个基因的启动子区域产生显著的去甲基化, 进而引发炎症反应^[18]。一方面, 高血糖所致的炎症反应会进一步引起 TET 抑制以及 DNMTs 活性增加^[19-20]; 另一方面, 高血糖也会阻碍单磷酸腺苷活化蛋白激酶 (adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, *AMPK*) 介导的 TET 蛋白的第 99 位丝氨酸磷酸化, 导致 TET 蛋白不稳定^[21]。以上两条途径最终都会导致机体的甲基化水平异常。

Ling 团队研究发现, 健康人群在过度摄入饱和脂肪酸 7 周后, 脂肪组织中许多基因的甲基化水平增加, 并且这些基因的甲基化水平与 T2DM 患病风险呈正相关, 如脂联素 (adiponectin, *ADIPOQ*)^[22]。*ADIPOQ* 作为葡萄糖和脂质代谢的重要调节因子, 与胰岛素敏感性密切相关, 并且其可通过多种途径促进肾小管上皮细胞的线粒体生物发生及其功能发挥, 成为糖尿病相关肾病治疗的重要靶点^[23]。为了探究能否通过节食方式来降低 *ADIPOQ* 甲基化水平, Ling 团队开展了一项禁食相关研究, 结果显示出生体重在正常范围内 (第 50 百分位数 ~ 第 75 百分位数) 的年轻男性在禁食 36 h 后, 皮下脂肪组织中 *ADIPOQ* 的甲基化水平意外地升高了 3.9%, 提示这种甲基化水平的增加可能是与某种空腹诱导胰岛素抵抗的补偿机制有关^[24]。在另外一项地中海饮食的随机对照试验研究中, 研究人员通过差异甲基化分析发现在地中海饮食结构中添加坚果能够增加外周血白细胞中的肉毒碱棕榈酰转移酶 1B (carnitine palmitoyltransferase 1B, *CPT1B*) 基因的甲基化修饰程度, 5 年的坚果摄入引起 *CPT1B* 甲基化水平增加 29%^[25]; *CPT1B* 是参与线粒体脂肪酸氧化的重要限速酶, 通过基因敲除使 *CPT1B* 表达水平降低, 有助于减轻小鼠饮食诱导的胰岛素抵抗^[26-27]。研究人

员进一步分析坚果中不同脂肪酸类型对 *CPT1B* 甲基化修饰的影响, 结果发现多不饱和脂肪酸成分引起该基因甲基化水平中 13% 的变化。由此可见, T2DM 患者更应该注重膳食中优质脂肪的合理摄入。除减少摄取饱和脂肪酸可预防 T2DM 引发的糖尿病肾病外, 还有许多膳食营养成分可通过影响表观遗传修饰来改善 T2DM 症状。例如, 茶叶中的 L-茶氨酸可增强脂肪细胞及组织中 AMPK α 磷酸化, 从而增加 α 酮戊二酸在棕色脂肪细胞特异性基因 PR 结构域蛋白 16 (PR domain-containing 16, *PRDM16*) 启动子上的聚集, 促进启动子 DNA 去甲基化, 使得 *PRDM16* 的表达增加并促进白色脂肪细胞褐变为棕色脂肪, 进一步增强能量代谢, 从而改善小鼠的葡萄糖耐量和胰岛素敏感性及饮食引起的小鼠肥胖^[28]。

DNA 甲基化除了通过膳食营养的变化以影响 T2DM 的发生发展之外, 还有望成为维生素 D 治疗 T2DM 的靶标。维生素 D 可通过调节钙离子稳态参与胰腺 β 细胞分泌胰岛素, 从而影响脂质和葡萄糖代谢, 因此其水平与胰岛素抵抗的发病机制密切相关^[29]。但是, 目前维生素 D 在 T2DM 治疗中的效果尚有争议。例如在一项双盲随机临床试验中, 在糖尿病前期和维生素 D 缺乏症患者中, 补充高剂量维生素 D 可以提高胰岛素敏感性并降低发展为糖尿病的风险^[30]; 而另一项随机盲法试验得出了补充维生素 D 对维生素 D 缺乏、超重或肥胖成人的胰岛素敏感性或分泌性没有影响的结论^[31]。除了与试验设计有关外, 造成不同研究间结论差异还可能与个体异质性有关, 比如患者体内维生素 D 结合蛋白的编码基因组特异性成分 (group-specific component, GC) 以及维生素 D 受体基因 (vitamin D receptor, *VDR*) 的甲基化水平, 二者可分别影响体内维生素 D 代谢物的转运和其生物学效应的发挥, 从而影响胰岛素抵抗等 T2DM 的发病风险^[32-33]。因此, 同时对这两个基因的甲基化分析有望用于指导高受益人群通过补充维生素 D 来治疗 T2DM。

1.2 DNA 甲基化与身体活动及久坐行为

作为调节血糖水平的主要胰岛素靶组织之一, 骨骼肌可通过有氧运动、阻力训练等增加身体的活动强度来促进肌糖原的消耗, 因此, 增加身体活动成为预防 T2DM 或胰岛素抵抗的有效干预措施。与活跃的身体状态作用相反, 低水平能量消耗的久坐行为是造成 T2DM 全球流行的主要原因之一^[34]。一项探究久坐持续时间对 T2DM 影响的病例对照研

究发现, 连续久坐时间与细胞因子信号转导抑制因子 3 (suppressor of cytokine signaling 3, *SOCS3*) 单位点甲基化水平以及 T2DM 发病风险之间存在剂量关系。随着久坐时间增加, *SOCS3* 的单位点甲基化程度会降低, 并且该甲基化作为中间变量介导了约 10% 的久坐时间与 T2DM 的关联效应, 间接导致了 T2DM 的风险增加^[35]。*SOCS3* 可抑制胰岛素受体底物 (insulin receptor substrate, IRS) 蛋白的酪氨酸磷酸化、诱导 IRS 的蛋白酶降解、抑制胰岛素受体激酶或破坏胰岛 β 细胞等, 其表达减少可以改善葡萄糖耐量和胰岛素敏感性, 是胰岛素信号通路上的潜在调节剂^[36-37]。例如, Lule 等^[38] 利用小鼠动物模型研究发现了运动在降低脂肪变性程度、*SOCS3* 的表达水平和增加 *IRS1* 表达水平中的作用。

美国国立卫生研究院开展的一项人群队列研究发现, 无论久坐行为维持多久, 之后任何类型或强度的身体活动持续时间越长, T2DM 的风险随之会降低至更低^[39]。可见任意类型和强度的身体活动带来的健康收益都能对抗久坐行为的有害影响。长期规律活动除了能够对血糖水平进行直接调节以外, 还能通过改变患者骨骼肌中 DNA 甲基化水平来干预 T2DM 的进展。在终身体育活动影响健康老年男性骨骼肌全基因组 DNA 甲基化模式的研究中, Sailani 等^[40] 发现与糖酵解相关的 6-磷酸果糖激酶-2 (6-phosphofructokinase-2, *PFKFB*)、三羧酸循环有关的丙酮酸脱氢酶 E1 亚基 $\alpha 1$ (pyruvate dehydrogenase E1 subunit alpha 1, *PDHAI*) 以及 *SOD2* 等编码基因的启动子甲基化水平在经常运动的人群中较低, 这些改变可能会增加胰岛素敏感性、骨骼肌能量代谢与抗氧化应激能力。另有研究者对骨骼肌中运动相关的 DNA 甲基化与印记基因进行 Meta 分析, 发现长链非编码 RNA 母系表达基因 3 (maternally expressed gene 3, *MEG3*) 和多形性腺瘤基因样 1 (pleomorphic adenoma gene-like 1, *PLAGL1*) 等印记基因的甲基化水平在运动后均显著减少^[41]。上述印记基因均有抑癌作用, 其甲基化水平降低引起的基因表达上调可能有助于降低 T2DM 继发肿瘤的风险^[42-43]。此外, 该项 Meta 分析显示运动类型是改变 DNA 甲基化程度的潜在调节因素。因此, 运动作为 T2DM 患者的一项有效干预措施, 未来的研究需要更多关注不同类型、强度等的运动干预对 T2DM 患者的收益情况。总而言之, 对膳食与身体活动等的良好管理, 可实现适度 and 持续的体重减轻并通过 DNA 甲基化修饰的改变来改善血糖的控制及组织内胰岛素的敏感

性, 从而降低 T2DM 及其并发症的发病风险。

2 DNA甲基化在T2DM药物治疗中的研究

当通过生活方式的干预难以管控血糖水平时, 为预防或控制相关并发症需考虑尽早给予患者适宜的药物干预^[44-45]。T2DM 的治疗药物主要包括双胍类降糖药、噻唑烷二酮类等胰岛素增敏剂, 磺脲类药物、肠促胰岛素模拟物、二肽基肽酶 4 抑制剂等胰岛素促分泌的药物, 以及 α -葡萄糖苷酶抑制剂等^[46]。有研究表明这些药物的作用机制、对不同人群的疗效和不良反应可能与 DNA 甲基化修饰有关, 下文将根据 T2DM 药物的作用特点进行分类介绍。

2.1 提高胰岛素敏感性的药物

T2DM 发病的主要特征是胰岛素抵抗伴随胰岛素相对分泌不足引发的能量调节失衡, 因此临床上多采用提高患者胰岛素敏感性的药物来改善 T2DM 症状。作为 T2DM 的首要推荐药物, 二甲双胍与 DNA 甲基化修饰关系的相关研究较为丰富。二甲双胍通过 AMPK 依赖或非依赖途径抑制 NF- κ B 通路产生的炎症反应, 影响胰岛素信号的转导, 从而增加胰岛素敏感性, 改善葡萄糖代谢^[47]。Elbere 等^[48]在健康个体服用二甲双胍的自身对照试验中发现, 外周血细胞中与二甲双胍治疗靶点相关的能量稳态、炎症反应及肿瘤发生等细胞信号通路中相关因子的 DNA 甲基化水平发生显著改变。例如, 在二甲双胍的作用下, Ca^{2+} 钙调蛋白依赖性蛋白激酶酶的编码基因 (Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase kinase, *CAMKK*) 甲基化水平升高, 转录水平下降, 削弱了 *CAMKK* 对骨骼肌葡萄糖摄取的促进作用。这可能是机体通过调节 *CAMKK1* 表观修饰水平来适应二甲双胍的降糖作用, 以维持体内正常的血糖水平。另外, 在人胎盘组织及动物实验中发现, 母亲患有糖尿病或者孕鼠的高脂饮食会增加雌性后代胎盘中 *PPARG* 共激活因子 1 α (peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 α , *PGC-1 α*) 启动子甲基化水平, 使 *PGC-1 α* 的表达减少。而二甲双胍治疗可以通过激活 AMPK 来抑制 *PGC-1 α* 的启动子甲基化并增加 *PGC-1 α* 的表达, 继而刺激胎盘线粒体生物发生, 从而改善后代的葡萄糖耐量^[47, 49]。除此之外, 二甲双胍治疗还能激活 AMPK 以促进 TET 蛋白的第 99 位丝氨酸磷酸化, 提高 TET2 稳定性和 5hmC 水平, 从而减少由高血糖引起的不良事件的发生^[21, 47]。

值得注意的是, 二甲双胍能通过直接降低人体肝脏中二甲双胍转运蛋白基因溶质载体家族 22 成员 1 (solute carrier family 22 member 1, *SLC22A1*) 等的 DNA 甲基化, 进一步促进机体对二甲双胍的吸收利用^[50]。但是目前存在许多患者对二甲双胍治疗的不应答或耐受性差的现象, 如胃肠道不良反应等, 这些可能也与 DNA 甲基化有关。Ling 团队发现随着血液中纤毛和鞭毛相关蛋白 58 (cilia and flagella associated protein 58, *CFAP58*)、嗅觉受体家族 4 亚家族 S 成员 1 (olfactory receptor family 4 subfamily S member 1, *OR4S1*) 等 11 个 CpG 位点的甲基化水平升高, 二甲双胍疗效差的可能性越大; 另外, 叉头框蛋白 A2 (forkhead box A2, *FOXA2*) 和磷酸葡萄糖变位酶 1 (phosphoglucosmutase 1, *PGMI*) 等 4 个 CpG 位点甲基化水平与二甲双胍耐受性差的风险程度也呈正相关。随后, 研究人员对血糖反应相关的 11 个位点进行组合加权甲基化风险评分 (methylation risk scores, MRSs), 结果发现 MRSs 区分对二甲双胍药效反应敏感人群的受试者工作特征曲线下方的面积大小 (area under curve, AUC) 在 0.80~0.98 间; 运用相同方法获得与二甲双胍耐受性相关的 4 个差异甲基化位点的 MRSs, 其 AUC 在 0.85~0.94 之间, 因此这些 MRSs 可以区分对二甲双胍治疗有效或易产生副作用的人群^[51]。随后的细胞实验证实这些差异甲基化的 CpG 位点相关基因是影响二甲双胍转运蛋白和糖异生的关键调节因子。通过沉默其中与胆汁酸代谢相关的 *FOXA2* 基因, 可能会改善机体对二甲双胍的耐受性^[51]。

常见的胰岛素增敏药物还有噻唑烷二酮类降糖药, 如罗格列酮和吡格列酮, 二者不仅是 *PPARG* 激动剂, 也能够调控与胰岛素效应有关的多种基因的转录, 改善骨骼肌对葡萄糖的吸收, 并通过延缓糖异生来进一步减少葡萄糖的产生^[52]。研究人员发现, 在 40~60 岁胰岛素抵抗的肥胖人群中, *PPARG* 的启动子呈现高甲基化^[53]。TET2 是脂肪细胞中罗格列酮介导的胰岛素敏感性和转录调节的表观遗传调节因子, 罗格列酮可通过 TET2 去甲基化机制促进 *PPARG* 的表达以增强胰岛素敏感性, 并且 TET2 通过维持 *PPARG* 转录因子与 *ADIPOQ* 等下游靶基因的结合, 在罗格列酮介导的转录过程中起重要作用^[54]。另有研究发现, 吡格列酮可降低糖尿病小鼠的血糖和游离脂肪酸水平, 有效减轻肾脏负担并改善机体对胰岛素的敏感性。这可能与其增加糖尿病小鼠肾脏近端小管细胞中的乙酰辅酶 A 羧化酶的表

达有关。但吡格列酮治疗对糖尿病肾病引起的异常甲基化及伴随的 mRNA 表达水平变化无效,例如与糖尿病肾病进展相关的血管紧张素原(angiotensinogen, *AGT*)启动子区域的去甲基化所引起的 mRNA 表达变化^[55]。

2.2 刺激胰岛素分泌的药物

除了改善机体的胰岛素敏感性,还可选择通过药物治疗以改善胰岛 β 细胞的功能,刺激胰岛素分泌从而调节血糖水平。肠促胰岛素通过激活抑胃肽和胰高血糖素样肽-1的受体,从而控制胰岛 β 细胞的增殖和凋亡,最终增加胰岛素分泌和抑制胰高血糖素释放^[56]。SOD2的表达与体内的血管形成有关,缺乏SOD2会导致不可逆性的线粒体损伤,使线粒体活性氧产生增加,进而引起血管弹性受损,导致动脉粥样硬化等^[57]。研究发现,肠促胰岛素可抵抗高血糖引起的SOD2基因启动子的去甲基化,并阻止了其mRNA表达水平的降低,为预防糖尿病血管性并发症提供了新机制^[18]。T2DM易感基因细胞周期蛋白依赖性激酶5调节亚基相关蛋白1-样1(cyclin-dependent kinase 5 regulatory subunit associated protein 1-like 1, *CDKAL1*)的变体与可抑制胰高血糖素样肽-1灭活的二肽基肽酶4抑制剂的药物反应有关。该基因中CpG的单核苷酸多态性与甲基化有关,这可能是单核苷酸多态性通过改变DNA甲基化水平来共同调控基因的表达^[58-60]。另外,磺脲类药物通过与胰岛 β 细胞上ATP敏感钾通道的磺酰脲受体结合促进胰岛分泌基础胰岛素。ATP敏感性钾通道的磺酰脲受体1的编码基因ATP结合盒亚家族C成员8(ATP binding cassette subfamily C member 8, *ABCC8*)的甲基化水平与磺脲类药物治疗产生的低血糖不良事件有关。在引发低血糖的患者中均未发现*ABCC8*启动子的甲基化,这与未发生低血糖患者的甲基化水平差异具有统计学意义^[61-62]。综上所述,DNA的甲基化修饰不仅能影响药物的疗效,还能用于评估发生药物不良反应的风险。

2.3 其他作用类型的药物

与增加胰岛素的敏感性或者促进胰岛素分泌的药物不同, α -葡萄糖苷酶抑制剂能够竞争性抑制小肠的 α -葡萄糖苷酶活性,从而减缓淀粉等碳水化合物的消化和吸收,最终降低血糖水平。阿卡波糖是该类药物的典型代表,其可降低糖耐量异常人群的T2DM发病率,因此,糖耐量异常患者被推荐尽早使用阿卡波糖^[63]。Zhou等^[64]研究发现,相比正

常小鼠,T2DM模型小鼠胰十二指肠同源框因子-1(pancreatic and duodenal homeobox-1, *PDX-1*)的甲基化水平显著增加,而阿卡波糖可通过抑制其甲基化修饰,增加*PDX-1*在细胞核的表达水平以促进胰岛素的生成;此外,阿卡波糖治疗还能改善高脂饮食引起的胰岛细胞减少及胰腺组织损伤。

3 DNA甲基化在T2DM手术治疗中的研究

在美国糖尿病协会公布的《2022年糖尿病的医疗诊疗标准》中,建议那些不能通过药物治疗与生活方式管理来实现持久的体重减轻和合并症改善的肥胖T2DM患者,可通过外科手术如胃旁路手术来减少食物的消化和吸收,达到减肥效果^[65]。Hsu等^[66]针对身体质量指数(body mass index, BMI)低于35的T2DM患者开展了减肥手术与药物治疗5年结局比较的回顾性队列研究。结果表明手术干预对轻度肥胖T2DM患者的血糖控制要优于药物治疗,并且这种血糖控制效果能超过5年;此外,接受手术干预的T2DM患者的完全缓解率高达36%。另有研究发现,在肥胖人群的胃旁路切除手术前后存在许多差异性甲基化区域,其中有134个区域甲基化水平在术后得到有效改善,其甲基化水平更接近偏瘦人群的水平,如巨核细胞白血病因子1(megakaryoblastic leukemia 1, *MKLI*)和包含O1的PH结构域(pleckstrin homology domain containing family O 1, *PLEKHO1*)的甲基化水平在术后可升高至接近正常人水平,进而导致两者表达水平降低,改善脂肪细胞的胰岛素敏感性^[67]。除此之外,Gancheva等^[68]对代谢手术后脂肪与肌肉组织的胰岛素敏感性变化进行监测,发现手术治疗产生的体重减轻不会立即改善肌肉的胰岛素抵抗,但可通过改变肌肉能量代谢相关基因的DNA甲基化与其基因表达的水平,从而使肌肉代谢在一年内恢复。例如,骨骼肌中的3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A合酶2(3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase 2, *HMGCS2*)表达水平在术后2周时短暂上升,并在52周时恢复至术前基线水平,这种基因表达改变的逆转与术后52周后的DNA甲基化水平降低有关。此外,在术后52周时,E型蛋白酪氨酸磷酸酶受体(protein tyrosine phosphatase receptor type E, *PTPRE*)的启动子区域高甲基化且蛋白质表达量减少,这与胰岛素敏感性的改善有关^[68]。可见DNA甲基化修饰可能参与术后基因表达的长期代谢重编程,从而持续改善胰岛素敏感性。

4 展望

近年来,无论是人群观察或试验研究、动物模型研究,还是在细胞水平的研究,均充分表明了DNA甲基化在糖尿病前期到并发症的进展以及预后中发挥着重要作用。DNA甲基化将环境因素、遗传因素和T2DM的发展紧密联系,能够响应生活方式改变、药物或代谢手术干预等改变来调节基因的表达水平从而影响T2DM的发生发展,进一步为生活方式与药物及手术治疗T2DM提供了理论依据(表1)。同时,体液中的差异甲基化还被纳入糖尿病发病及预后预测模型的变量,能够有效地提高模型预测的准确性,为T2DM患者的诊疗提供了更为精准的方案。例如,将基因组DNA甲基化水平纳入糖尿病周围神经病变的预测模型中,可将AUC增加到0.883,提高了该疾病模型预测的灵敏度与特异性^[69]。药物使用前体内甲基化水平改变方面的研究为现有T2DM药物的使用提供了指导性依据。例如,研究发现DNA甲基化可以用于识别二甲双胍的适用人群、监测阿卡波糖的疗效以及评估磺脲类药物治疗的风险等,这可成为指导糖尿病患者个体化治疗新的生物标志物。未来也有望在此类研究基础上,通过改变DNA甲基化修饰以达到更好的治疗效果,如通过增加*FOXO1*的甲基化水平以降低该基因的表达,使得机体耐受二甲双胍从而获得更优的药物治疗效果。

然而,DNA甲基化的组织特异性和时空特异性也阻碍了相关研究的进展,加之目前许多研究的设计及研究对象不同,导致许多研究结论具有较大的差异。例如,健康人的血液中*IRS2*甲基化水平随年龄而增加,但是这无法代表胰岛组织中的情况。这种甲基化的组织特异性使部分有意义、有潜力指标的应用受到限制,这同时也提醒研究者更应注意研究设计的严谨性、科学性以及可行性。总之,随着DNA甲基化在T2DM等疾病中的研究逐渐深入,该领域迫切需要一份规范性指南来指导研究开展,以获得更为可靠的结果。相信随着研究程度的不断深入及研究技术的持续发展,未来完全可能阐明DNA甲基化在T2DM等疾病中的作用机制,实现DNA甲基化对疾病个体化治疗的指导作用,更有望逆转T2DM事件发生或减缓其疾病进展。

[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] American Diabetes Association Professional Practice Committee. 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes-2022. *Diabetes Care*, 2022, 45: S17-38
- [3] Cavalli G, Heard E. Advances in epigenetics link genetics to the environment and disease. *Nature*, 2019, 571: 489-99
- [4] Moore LD, Le T, Fan G. DNA methylation and its basic function. *Neuropsychopharmacology*, 2013, 38: 23-38
- [5] Portela A, Esteller M. Epigenetic modifications and human disease. *Nat Biotechnol*, 2010, 28: 1057-68
- [6] Smiley JA, Kundracik M, Landfried DA, et al. Genes of the thymidine salvage pathway: thymine-7-hydroxylase from a rhodotorula glutinis cDNA library and iso-ortate decarboxylase from neurospora crassa. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1723: 256-64
- [7] Wu X, Zhang Y. TET-mediated active DNA demethylation: mechanism, function and beyond. *Nat Rev Genet*, 2017, 18: 517-34
- [8] Dhawan S, Tschen SI, Zeng C, et al. DNA methylation directs functional maturation of pancreatic β cells. *J Clin Invest*, 2015, 125: 2851-60
- [9] Hai L, Liu Z, Chen W, et al. Whole-genome methylome analysis reveals age-related diabetes risk factors. *Clin Transl Med*, 2020, 10: e93
- [10] De Jesus A, Keyhani-Nejad F, Pusec CM, et al. Hexokinase 1 cellular localization regulates the metabolic fate of glucose. *Mol Cell*, 2022, 82: 1261-77.e9
- [11] Donath MY, Dalmas É, Sauter NS, et al. Inflammation in obesity and diabetes: islet dysfunction and therapeutic opportunity. *Cell Metab*, 2013, 17: 860-72
- [12] Gross B, Pawlak M, Lefebvre P, et al. PPARs in obesity-induced T2DM, dyslipidaemia and NAFLD. *Nat Rev Endocrinol*, 2017, 13: 36-49
- [13] Małodobra-Mazur M, Cierznia A, Kaliszewski K, et al. PPAR γ hypermethylation as the first epigenetic modification in newly onset insulin resistance in human adipocytes. *Genes (Basel)*, 2021, 12: 889
- [14] Prentki M, Nolan CJ. Islet beta cell failure in type 2 diabetes. *J Clin Invest*, 2006, 116: 1802-12
- [15] DeFronzo RA. Banting Lecture. From the triumvirate to the ominous octet: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes*, 2009, 58: 773-95
- [16] Poirout V, Amyot J, Semache M, et al. Glucolipototoxicity of the pancreatic beta cell. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1801: 289-98
- [17] Nolan CJ, Damm P, Prentki M. Type 2 diabetes across generations: from pathophysiology to prevention and management. *Lancet*, 2011, 378: 169-81
- [18] Scisciola L, Rizzo MR, Cataldo V, et al. Incretin drugs effect on epigenetic machinery: new potential therapeutic implications in preventing vascular diabetic complications. *FASEB J*, 2020, 34: 16489-503
- [19] Xi G, Shen X, Wai C, et al. Hyperglycemia stimulates p62/PKC ζ interaction, which mediates NF- κ B activation, increased Nox4 expression, and inflammatory cytokine

表1 代表性T2DM干预方法与DNA甲基化水平的关系

膳食管理	研究变量	群体/组织	研究设计	基因	甲基化水平	蛋白质表达	对机体的影响	参考文献
膳食管理	饱和脂肪酸	人类的脂肪组织	随机对照试验	<i>ADIPOQ</i>	↑	-	增强T2DM的发病风险	22, 24
	不饱和脂肪酸	人类的血液组织	随机对照试验	<i>CPT1B</i>	↑	↓	促进葡萄糖代谢, 并提高胰岛素敏感性	25
身体活动强度	L-茶氨酸	高脂小鼠模型	对照试验	<i>PRDM16</i>	↓	↑	改善葡萄糖耐量与胰岛素敏感性	28
	久坐行为	人类的血液组织	病例对照研究	<i>SOCS3</i>	↓	↑	易发生胰岛素抵抗	35
	长期规律运动	人类的肌肉组织	病例对照研究	<i>PFKFB</i>	↓	↑	增强胰岛素的敏感性	40
				<i>PDHAI</i>	↓	↑	促进能量代谢	40
药物治疗	运动	人群的不同组织	Meta分析	<i>MEG3</i> 、 <i>PLAGL1</i>	↓	↑	增强抗氧化应激的能力	40
	二甲双胍	人类的胎盘组织、小鼠模型	病例对照、动物实验研究	<i>PGC-1α</i>	↓	↑	降低T2DM继发性肿瘤的风险	41
		T2DM患者的肝脏组织	病例对照研究	<i>SLC22A1</i>	↓	↑	改善葡萄糖耐量	49
							促进二甲双胍的吸收与利用	50
手术治疗	阿卡波糖	糖尿病小鼠模型	动物实验研究	<i>PDX-1</i>	↓	↑	促进胰岛素的生成	64
	肠促胰岛素	人类的血液组织	病例对照研究	<i>SOD2</i>	↑	-	减轻炎症反应	18
	胃旁路手术	人类脂肪组织、小鼠模型	病例对照、动物实验研究	<i>MKLI</i> 、 <i>PLEKHO1</i>	↑	↓	改善胰岛素敏感	67
	袖状胃切除术或胃旁路手术	人类的肌肉组织	队列研究	<i>HMGCS2</i>	↓	↓	可恢复肌肉能量代谢	68
			<i>PTPRE</i>	↑	↓	改善胰岛素的敏感性	68	

- activation in vascular smooth muscle. *FASEB J*, 2015, 29: 4772-82
- [20] Takeshima H, Niwa T, Yamashita S, et al. TET repression and increased DNMT activity synergistically induce aberrant DNA methylation. *J Clin Invest*, 2020, 130: 5370-9
- [21] Wu D, Hu D, Chen H, et al. Glucose-regulated phosphorylation of TET2 by AMPK reveals a pathway linking diabetes to cancer. *Nature*, 2018, 559: 637-41
- [22] Perfilyev A, Dahlman I, Gillberg L, et al. Impact of polyunsaturated and saturated fat overfeeding on the DNA-methylation pattern in human adipose tissue: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*, 2017, 105: 991-1000
- [23] Chen Y, Yang Y, Liu Z, et al. Adiponectin promotes repair of renal tubular epithelial cells by regulating mitochondrial biogenesis and function. *Metabolism*, 2022, 128: 154959
- [24] Hjort L, Jørgensen SW, Gillberg L, et al. 36 h fasting of young men influences adipose tissue DNA methylation of LEP and ADIPOQ in a birth weight-dependent manner. *Clin Epigenetics*, 2017, 9: 40
- [25] Arpón A, Milagro FI, Razquin C, et al. Impact of consuming extra-virgin olive oil or nuts within a mediterranean diet on DNA methylation in peripheral white blood cells within the PREDIMED-navarra aandomized controlled trial: a role for dietary lipids. *Nutrients*, 2017, 10: 15
- [26] Kim T, He L, Johnson MS, et al. Carnitine palmitoyltransferase 1b deficiency protects mice from diet-induced insulin resistance. *J Diabetes Metab*, 2014, 5: 361
- [27] Maples JM, Brault JJ, Witczak CA, et al. Differential epigenetic and transcriptional response of the skeletal muscle carnitine palmitoyltransferase 1B (CPT1B) gene to lipid exposure with obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2015, 309: E345-56
- [28] Peng WQ, Xiao G, Li BY, et al. L-theanine activates the browning of white adipose tissue through the AMPK/ α -ketoglutarate/prdm16 axis and ameliorates diet-induced obesity in mice. *Diabetes*, 2021, 70: 1458-72
- [29] Szymczak-Pajor I, Drzewoski J, Śliwińska A. The molecular mechanisms by which vitamin D prevents insulin resistance and associated disorders. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 6644
- [30] Mousa A, Naderpoor N, de Courten MP, et al. Vitamin D supplementation has no effect on insulin sensitivity or secretion in vitamin D-deficient, overweight or obese adults: a randomized placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr*, 2017, 105: 1372-81
- [31] Niroomand M, Fotouhi A, Irannejad N, et al. Does high-dose vitamin D supplementation impact insulin resistance and risk of development of diabetes in patients with pre-diabetes? A double-blind randomized clinical trial. *Diabetes Res Clin Pract*, 2019, 148: 1-9
- [32] Yu S, Wang Y, Li X, et al. Methylation in 3' near region of GC gene and its association with the level of vitamin D binding protein and type 2 diabetes mellitus. *Nutr Res*, 2018, 54: 52-9
- [33] Liang F, Quan Y, Wu A, et al. Insulin-resistance and depression cohort data mining to identify nutraceutical related DNA methylation biomarker for type 2 diabetes. *Genes Dis*, 2021, 8: 669-76
- [34] Zheng Y, Ley SH, Hu FB. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 14: 88-98
- [35] Liu X, Qian X, Tu R, et al. SOCS3 methylation mediated the effect of sedentary time on type 2 diabetes mellitus: the henan rural cohort study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2020, 30: 634-43
- [36] Emanuelli B, Glondou M, Filloux C, et al. The potential role of SOCS-3 in the interleukin-1 β -induced desensitization of insulin signaling in pancreatic β -cells. *Diabetes*, 2004, 53: s97-103
- [37] Palanivel R, Fullerton MD, Galic S, et al. Reduced SOCS3 expression in adipose tissue protects female mice against obesity-induced insulin resistance. *Diabetologia*, 2012, 55: 3083-93
- [38] Lule KO, Akarsu E, Sayiner ZA, et al. The effects of metformin, pioglitazone, exenatide and exercise on fatty liver in obese diabetic rats: the role of IRS-1 and SOCS-3 molecules. *Inflammopharmacology*, 2022, 30: 243-50
- [39] Perry AS, Annis JS, Master H, et al. Association of longitudinal activity measures and diabetes risk: an analysis from the NIH all of us research program. *J Clin Endocrinol Metab*, 2022, 2: dgac695
- [40] Sailani MR, Halling JF, Møller HD, et al. Lifelong physical activity is associated with promoter hypomethylation of genes involved in metabolism, myogenesis, contractile properties and oxidative stress resistance in aged human skeletal muscle. *Sci Rep*, 2019, 9: 3272
- [41] Brown WM. Exercise-associated DNA methylation change in skeletal muscle and the importance of imprinted genes: a bioinformatics meta-analysis. *Br J Sports Med*, 2015, 49: 1567-78
- [42] Barreau O, Assié G, Wilmot-Roussel H, et al. Identification of a CpG island methylator phenotype in adrenocortical carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98: E174-84
- [43] Pearson-Stuttard J, Papadimitriou N, Markozannes G, et al. Type 2 diabetes and cancer: an umbrella review of observational and mendelian randomization studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2021, 30: 1218-28
- [44] American Diabetes Association Professional Practice Committee. 3. Prevention or delay of type 2 diabetes and associated comorbidities: standards of medical care in diabetes-2022. *Diabetes Care*, 2022, 45: S39-45
- [45] American Diabetes Association Professional Practice Committee. 9. Pharmacologic approaches to glycemic treatment: standards of medical care in diabetes-2022. *Diabetes Care*, 2022, 45: S125-43
- [46] Padhi S, Nayak AK, Behera A. Type II diabetes mellitus: a review on recent drug based therapeutics. *Biomed Pharmacother*, 2020, 131: 110708
- [47] An H, He L. Current understanding of metformin effect on the control of hyperglycemia in diabetes. *J Endocrinol*, 2016, 228: R97-106

- [48] Elbere I, Silamikelis I, Ustinova M, et al. Significantly altered peripheral blood cell DNA methylation profile as a result of immediate effect of metformin use in healthy individuals. *Clin Epigenetics*, 2018, 10: 156
- [49] Wu J, Gulati S, Teague AM, et al. AMPK regulates DNA methylation of PGC-1 α and myogenic differentiation in human mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev*, 2023, 32: 131-9
- [50] García-Calzón S, Perfilyev A, Männistö V, et al. Diabetes medication associates with DNA methylation of metformin transporter genes in the human liver. *Clin Epigenetics*, 2017, 9: 102
- [51] García-Calzón S, Perfilyev A, Martinell M, et al. Epigenetic markers associated with metformin response and intolerance in drug-naïve patients with type 2 diabetes. *Sci Transl Med*, 2020, 12: eaaz1803
- [52] Lee JE, Schmidt H, Lai B, et al. Transcriptional and epigenomic regulation of adipogenesis. *Mol Cell Biol*, 2019, 39: e00601-18
- [53] Cierznia A, Pawelka D, Kaliszewski K, et al. DNA methylation in adipocytes from visceral and subcutaneous adipose tissue influences insulin-signaling gene expression in obese individuals. *Int J Obes (Lond)*, 2021, 45: 650-8
- [54] Bian F, Ma X, Villivalam SD, et al. TET2 facilitates PPAR γ agonist-mediated gene regulation and insulin sensitization in adipocytes. *Metabolism*, 2018, 89: 39-47
- [55] Marumo T, Yagi S, Kawarazaki W, et al. Diabetes induces aberrant DNA methylation in the proximal tubules of the kidney. *J Am Soc Nephrol*, 2015, 26: 2388-97
- [56] Lee S, Lee DY. Glucagon-like peptide-1 and glucagon-like peptide-1 receptor agonists in the treatment of type 2 diabetes. *Ann Pediatr Endocrinol Metab*, 2017, 22: 15-26
- [57] Fukai T, Ushio-Fukai M. Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 15: 1583-606
- [58] Dayeh TA, Olsson AH, Volkov P, et al. Identification of CpG-SNPs associated with type 2 diabetes and differential DNA methylation in human pancreatic islets. *Diabetologia*, 2013, 56: 1036-46
- [59] Osada UN, Sunagawa H, Terauchi Y, et al. A common susceptibility gene for type 2 diabetes is associated with drug response to a DPP-4 inhibitor: pharmacogenomic cohort in okinawa Japan. *PLoS One*, 2016, 11: e0154821
- [60] Hawe JS, Wilson R, Schmid KT, et al. Genetic variation influencing DNA methylation provides insights into molecular mechanisms regulating genomic function. *Nat Genet*, 2022, 54: 18-29
- [61] Seino S, Sugawara K, Yokoi N, et al. β -Cell signalling and insulin secretagogues: a path for improved diabetes therapy. *Diabetes Obes Metab*, 2017, 19 Suppl 1: 22-9
- [62] Karaglani M, Ragia G, Panagopoulou M, et al. Search for pharmacoepigenetic correlations in type 2 diabetes under sulfonylurea treatment. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2019, 127: 226-33
- [63] 童于真, 童南伟. 中国成人2型糖尿病预防的专家共识精要. *中国实用内科杂志*, 2014, 34: 671-7
- [64] Zhou D, Chen L, Mou X. Acarbose ameliorates spontaneous type-2 diabetes in db/db mice by inhibiting PDX-1 methylation. *Mol Med Rep*, 2021, 23: 72
- [65] American Diabetes Association Professional Practice Committee. 8. Obesity and weight management for the prevention and treatment of type 2 diabetes: standards of medical care in diabetes-2022. *Diabetes Care*, 2022, 45: S113-24
- [66] Hsu CC, Almulaifi A, Chen JC, et al. Effect of bariatric surgery vs medical treatment on type 2 diabetes in patients with body mass index lower than 35: five-year outcomes. *JAMA Surg*, 2015, 150: 1117-24
- [67] Multhaup ML, Seldin MM, Jaffe AE, et al. Mouse-human experimental epigenetic analysis unmasks dietary targets and genetic liability for diabetic phenotypes. *Cell Metab*, 2015, 21: 138-49
- [68] Gancheva S, Ouni M, Jelenik T, et al. Dynamic changes of muscle insulin sensitivity after metabolic surgery. *Nat Commun*, 2019, 10: 4179
- [69] Wang X, Yang W, Zhu Y, et al. Genomic DNA Methylation in diabetic chronic complications in patients with type 2 diabetes mellitus. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 896511