

「代謝記憶」在糖尿病相關併發症可能機制探討

蔡婉妮 林時逸 許惠恒

台中榮民總醫院 內科部內分泌暨新陳代謝科

摘要

糖尿病可造成許多併發症，其中大血管的併發症如冠狀動脈疾病、中風和周邊動脈疾病，小血管的併發症則有視網膜、腎臟及神經病變等。許多大型研究(如DCCT, EDIC, UKPDS)都發現，在糖尿病早期，如給予積極血糖控制，相較於一般控制組，糖尿病的部份併發症(尤其是小血管併發症)顯著的減少。值得注意的是，在研究結束後的追蹤觀察，雖然兩組的糖化血色素數值已無差異，但是一開始即接受積極血糖控制的病患，各式大血管與小血管併發症以及死亡率仍然較低。部份學者提出「代謝記憶」(metabolic memory)的概念來解釋此一現象。近年來，發現高血糖會影響表觀遺傳(epigenetic)機制，如導致DNA甲基化，改變組蛋白(histone)結構或微型RNA(microRNAs)的表現，使細胞訊息傳遞下游發炎基因的表現增加，而造成糖尿病的併發症。另外，此一高血糖所導致的細胞遺傳物質改變，還會傳遞給新生細胞。藉由對血糖的「代謝記憶」之分子機制的了解，將有助於發展新的治療方式並減少或預防糖尿病各種併發症。

關鍵詞：糖尿病 (Diabetes mellitus)
表觀遺傳 (Epigenetic)
組蛋白 (Histone)
代謝記憶 (Metabolic memory)

前言

糖尿病是一種長期慢性疾病，其病因包含先天遺傳和後天環境造成的。糖尿病可造成許多併發症，其中大血管的併發症如冠狀動脈疾病、腦中風和周邊動脈疾病，小血管的併發症則有視網膜、腎臟及神經病變等。近年來，許多大型研究都發現，在糖尿病早期，如給予積極血糖控制，相較於一般控制組，多年後追

蹤，對於糖尿病的併發症都有顯著的減少^{1,2}，甚至在研究結束後的追蹤觀察，亦發現當時接受一般血糖控制的病患，即使在研究結束後，接受了較積極之血糖控制，但其日後的併發症與死亡率，仍高於原先一開始接受較積極血糖控制之病人³⁻⁷。所以，有學者提出「代謝記憶」(metabolic memory)⁵或稱為「延續效應」(legacy effect)⁸的概念來解釋此一現象。本文將一些相關的研究結果介紹如下。

血糖控制之「代謝記憶」臨床研究

一、Diabetes Control and Complications Trial (簡稱 DCCT)¹

自西元1983年起，在美國及加拿大共29家醫院納入1,441位第一型糖尿病患者，分成一般血糖控制組（每天接受1-2次胰島素注射）與積極血糖控制組（每天3次以上胰島素或裝胰島素幫浦），平均追蹤6.5年。實驗結束時，兩組的平均糖化血色素分別為一般血糖控制組9.1%和積極血糖控制組7.2%。結果發現，積極血糖控制組比一般控制組的糖化血色素減少約2%，可降低76%的視網膜病變，54%的腎病變及60%的神經病變的發生。所以研究結束後，大多數患者均接受積極血糖控制。

二、Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Trial (簡稱 EDIC)^{3-5,7}

對在DCCT研究結束之後，又再針對同一群第一型糖尿病病患，做持續的追蹤觀察。追蹤期間，兩組均被建議接受積極的血糖控制，之後兩組間的糖化血色素的差距漸減，五年後，兩組患者之糖化血色素已無顯著差異（積極血糖控制組由7.2%變成8.2%，一般血糖控制組由9.1%變成8.1%， $P=0.09$ ）。雖然一般血糖控制組的糖化血色素有進步而積極控制組反而上升，然而卻發現在DCCT研究一開始即接受積極血糖控制的患者相較於一般血糖控制組，仍有較少的視網膜病變及腎病變⁴。重要的是，經由此實驗發現，早期的高血糖對於小血管併發症會有長期的影響。這群病人自DCCT研究結束後又持續追蹤約12年後發現，剛開始接受一般血糖控制的患者，其視網膜病變、腎病變和心血管疾病的累積發生率，分別為50%、25%和14%。相反地，積極血糖控制組的上述併發症發生率，分別為21%、9%和9%⁷。這樣的結果再次印證了「代謝記憶」的概念，一般血糖控制組雖然只有剛開始幾年血糖控制不佳，之後即使積極血糖控制，甚至糖化血色素與積極血糖控制組無顯著差異，但其仍有較高的糖尿病併發症發生率。

三、United Kingdom Prospective Diabetes Study (簡稱 UKPDS)²

於英國自西元1977年開始，針對4,209位新診斷第二型糖尿病患者，比較傳統飲食控制（目標維持空腹血糖 <270 mg/dL）與積極血糖控制（使用口服降血糖藥物磺基尿素類（sulfonylurea）或胰島素，體重過重者用雙胍類（metformin），目標維持空腹血糖 <108 mg/dL），平均追蹤十年後，兩組之糖化血色素分別為7.9%及7.0%。積極血糖控制組比傳統飲食控制組，在小血管併發症（視網膜、腎臟和神經病變）的發生率，都有顯著的降低（減少25%的危險），大血管併發症雖也減少16%的危險性，但無顯著差異。

研究結束後，其中有3,277位受試者接受後續追蹤，但他們沒有被要求持續之前的治療方式，再經過十年，兩組間的糖化血色素已無顯著差異，發現前十年積極血糖控制的患者，不論在小血管併發症（減少24%， $P=0.001$ ）、心肌梗塞的發生率（減少15%， $P=0.01$ ）及死亡率（減少13%， $P=0.007$ ）皆有顯著降低⁶。因此再次證實「代謝記憶」，顯示之前若暴露於高血糖，其造成的變化會持續很久的時間，即使之後已回復積極血糖控制，仍會產生糖尿病的併發症。

血糖控制「代謝記憶」之機轉研究

一、動物實驗

早在二十多年前，科學家就曾探討有關血糖控制與後續糖尿病併發症之相關性。研究者先將35隻正常的狗分為四組，一組是沒有糖尿病的控制組，其他三組則先用二氮陸園四酮（alloxan）誘發糖尿病。之後將已產生糖尿病的動物再分成三個小組，第一小組為實驗之前後五年皆維持高血糖狀態，第二小組動物則皆維持良好血糖控制五年，第三小組則為前二年半維持高血糖狀態，之後再良好血糖控制二年半。研究結果發現，第一小組五年的視網膜病變發生率遠高於第二組，而第三組在前二年半高血糖時的視網膜病變發生率並不高，但卻在之後二年半視網膜病變反而有增加現象，儘管血糖

已控制良好。依據上述研究結果顯示，高血糖啟動的疾病進展，早在併發症表現，甚至疾病初期就開始了，而且為阻止高血糖導致的不可逆病變，愈早達到並維持血糖正常化是很重要的。此一研究結果，也產生了最早的「代謝記憶」的概念⁹。

二、細胞實驗

在體外的細胞研究發現，曾暴露於高葡萄糖濃度的內皮細胞，即使之後回復正常濃度之葡萄糖培養液，仍會持續增加纖維連接蛋白(fibronectin)和膠原蛋白(type IV collagen)等細胞外間質(extracellular matrix, 簡稱ECM)的產生¹⁰。另一個實驗則發現，內皮細胞暴露於短期的高葡萄糖濃度，會導致nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (簡稱NF- κ B) p65 subunit, 發炎基因和氧化壓力的持續增加^{11,12}。綜合這些細胞實驗發現，不論是短期的高血糖或是長期處於高血糖，都會造成血管功能異常的「代謝記憶」。

綜合上述大型臨床研究、動物實驗和細胞模式，可發現「代謝記憶」包含兩層的含意：若個體一開始即暴露於高血糖，即使之後回復正常血糖，仍較容易產生並加重糖尿病的併發症；相反地，若個體的血糖一直都維持在較正常的狀態，將來似乎較不會產生糖尿病的併發症。此外，經由DCCT/EDIC和UKPDS發現，不管是第一型或第二型糖尿病，於疾病初期給予積極的血糖控制，可減少相關血管併發症的發生及進展，顯示高血糖是引起糖尿病併發症的重要危險因子之一¹⁻⁷。

三、表觀遺傳之分子機制

高血糖引起的大小血管病變，主要經過四種路徑：包括增加polyol和hexosamine的路徑流動，蛋白質激酶C的活化(protein kinase C, 簡稱PKC)以及過多的醣化終極產物(advanced glycation end products, 簡稱AGE)。經由這些路徑的變化，會使得細胞產生過多的過氧化物(superoxide)，而導致細胞的損傷。此外，高血糖會引發內皮細胞增生因子增加，如血管內皮成長因子(vascular endothelial growth factor, 簡稱VEGF)，轉化成長因子 β (transforming growth

factor- β , 簡稱TGF- β), 和類胰島素成長因子1(insulin-like growth factor 1, 簡稱IGF-1), 微小血管的擴張, 活化NF- κ B路徑及血管發炎反應¹³。但近來研究發現，高血糖引起的併發症發生機轉亦和表觀遺傳(epigenetic)有關。何謂epigenetic? 意指所有對基因的修飾機制，但並不會造成基因DNA序列本身的改變。基因外的修飾，像是增加甲基群到基因DNA的骨架上，將改變基因的結構與外觀，進而影響基因在細胞核中與重要轉錄因子之交互作用，可能使得基因被活化或是不活化，並達成蛋白質的製作或阻斷蛋白質的製作¹⁴⁻¹⁶。另外，更重要的是，這些被修飾的基因，並不會隨著原先受影響細胞之代謝死亡而消失，相反的，它們就好像已有的遺傳物質一般，會再傳遞至新生物細胞中¹⁷，意即為表觀遺傳體(epigenome)。

目前已知表觀遺傳機制(epigenetic mechanism)有下列三種類型：第一是CpG (cytosine-phosphate-guanine之簡寫)小島(CpG islands)的DNA甲基化(methylation)¹⁸；第二為轉譯後的多樣修飾功能，如藉由改變組蛋白(histone)尾端或染色體的結構，進而達成基因修飾¹⁹；第三則是微型RNA(micro RNAs)也有基因修飾的功能。下面就高血糖和上述三種表觀遺傳機制，討論如下。

(一)DNA甲基化

在CpG小島的DNA甲基化可抑制基因的表現，主要和腫瘤抑制因子或癌症有關²⁰。然而，較少研究探討DNA的甲基化和糖尿病的關係。研究發現，老鼠胚胎幹細胞中的胰島素啟動子(promoter) DNA是被甲基化的，只有當這些細胞分化成胰臟的 β 細胞時才會去甲基化，使胰島素基因得以表現，由此可知表觀遺傳(epigenetic)對於胰島素基因表現的影響²¹。另一個實驗發現，個體於子宮內的發育遲緩會導致其日後變成第二型糖尿病，其機制為透過抑制一個轉譯因子Pdx1，而影響胰島素基因的表現及 β 細胞的分化²²，且對於組蛋白之修飾和DNA的甲基化都有影響²³。此外，胰島實驗顯示，高血糖會增加peroxisome proliferator-activated receptor- γ (簡稱PPAR γ)共激活蛋白(co-activator)

1 α 基因(簡稱PGC1A)的DNA甲基化,而PGC-1 α 作用為調控粒線體的基因及糖尿病調節²⁴。給予人類肌小管(myotubes)腫瘤壞死因子 α (tumor necrosis factor- α , 簡稱TNF- α)和游離脂肪酸的刺激,會導致PGC1A DNA過度甲基化(hypermethylation)。糖尿病病人的骨骼肌比起正常人,也發現有DNA過度甲基化的情形²⁵。

(二) 組蛋白修飾機制

愈來愈多的研究顯示,表觀遺傳的組蛋白改變和糖尿病的併發症有關。其中組蛋白乙醯基轉移酵素(histone acetyltransferases, 簡稱HATs)可乙醯化組蛋白的離胺基酸(lysine),一般會導致基因活化。而去乙醯基酵素(histone deacetylases, 簡稱HDACs)的作用則是移除乙醯基。研究發現HATs和HDACs可調節NF- κ B的轉錄活化情形^{26,27},導致下游發炎基因表現的改變^{28,29}。給予單核細胞高糖的環境,會增加HATs,使得環氧合酶-2(cyclooxygenase-2, 簡稱COX-2)和TNF- α 的基因表現增加³⁰。p300是一種HATs,被發現高血糖會使其增加,經由NF- κ B的訊號傳導路徑,而使得內皮細胞、視網膜、腎臟和心臟的細胞外基質增加,而造成糖尿病併發症^{31,32}。HDACs對於TGF- β 1引起的細胞外間質增加或腎臟纖維化佔有重要的角色。若用HDAC的抑制劑Trichostatin(TSA)可抑制TGF- β 1引發的纖維化基因³³。若將HDAC的基因剔除(knockout),也可得到類似用TSA的效果³³。目前研究發現HDAC inhibitor用於急性心肌梗塞,可減少壞死的心肌範圍³⁴,也可用來治療糖尿病的併發症³⁵⁻³⁷。

相較於組蛋白的乙醯化,則組蛋白甲基化是更穩定且更持久,可以使基因轉變成活化或不活化。組蛋白的甲基化酶分別屬於三類不同的蛋白質1.精氨酸甲基轉化酶(arginine methyltransferase)蛋白質2.含有SET(Su(var), Enhancer of zeste(E(z)), and Trithorax)蛋白質的賴氨酸甲基轉化酶(lysine methyltransferase)3.非SET但似DOT-1的蛋白質。其中以含有SET的最多且專一性較高。有兩個研究團隊發現,SET7對於高血糖造成的轉錄修飾有關^{38,39}。許多實驗顯示,活化位於組蛋白H3 Lys4的SET7甲

基轉化酶,會引發糖尿病個體的內皮細胞^{11,12}、單核細胞⁴⁰及胰臟細胞⁴¹的持續性基因活化的遺傳修飾變化。若將SET7或SET9的基因剔除,則會抑制在單核細胞由NF- κ B引起的促發炎基因表現,使得AGE引發的TNF α 和S100B無法引起發炎反應⁴⁰。另一個組蛋白甲基轉化酶SUV39H1,則被發現可藉由甲基化H3 Lys9,而阻止糖尿病的血管平滑肌細胞的促發炎基因活化⁴²。實驗也顯示,SET7不只可活化組蛋白,還可活化其他非組蛋白的蛋白質,如p53和p65,而導致發炎反應。因此SET7似乎是高血糖引起促發炎反應的重要因子。

(三) 微型RNA

近來發現,微型RNA是一群短的,約21-23個核苷酸組成的RNA,可造成mRNA之轉錄沉默(post-transcriptional silencing)、轉譯抑制(translational repression)或降解(degradation)^{43,44}。目前已知微型RNA可調節胰島素的分泌、膽固醇的形成、脂肪的代謝及脂肪生成作用(adipogenesis)之相關基因,且為糖尿病致病機轉的重要路徑之一⁴⁵⁻⁴⁷。另外,微型RNA亦和TGF- β 引起的糖尿病腎病變有關,若給予腎絲球的間質細胞TGF- β 或是處於高血糖(糖尿病)的情況,則會導致一些微型RNA,如miR-192、miR-216a、miR-217和miR-377增加,進而增加膠原蛋白和纖維連接蛋白⁴⁸⁻⁵¹。Dicer是一種會影響微型RNA生成的酶,若將小鼠的腎臟足細胞(podocyte)的Dicer基因剔除,小鼠會增加蛋白尿、腎絲球及腎小管的傷害,可知微型RNA對於腎臟疾病佔了重要的角色^{50,52-54}。

糖尿病危險因子或相關疾病對表觀遺傳機制的影響

一、老化

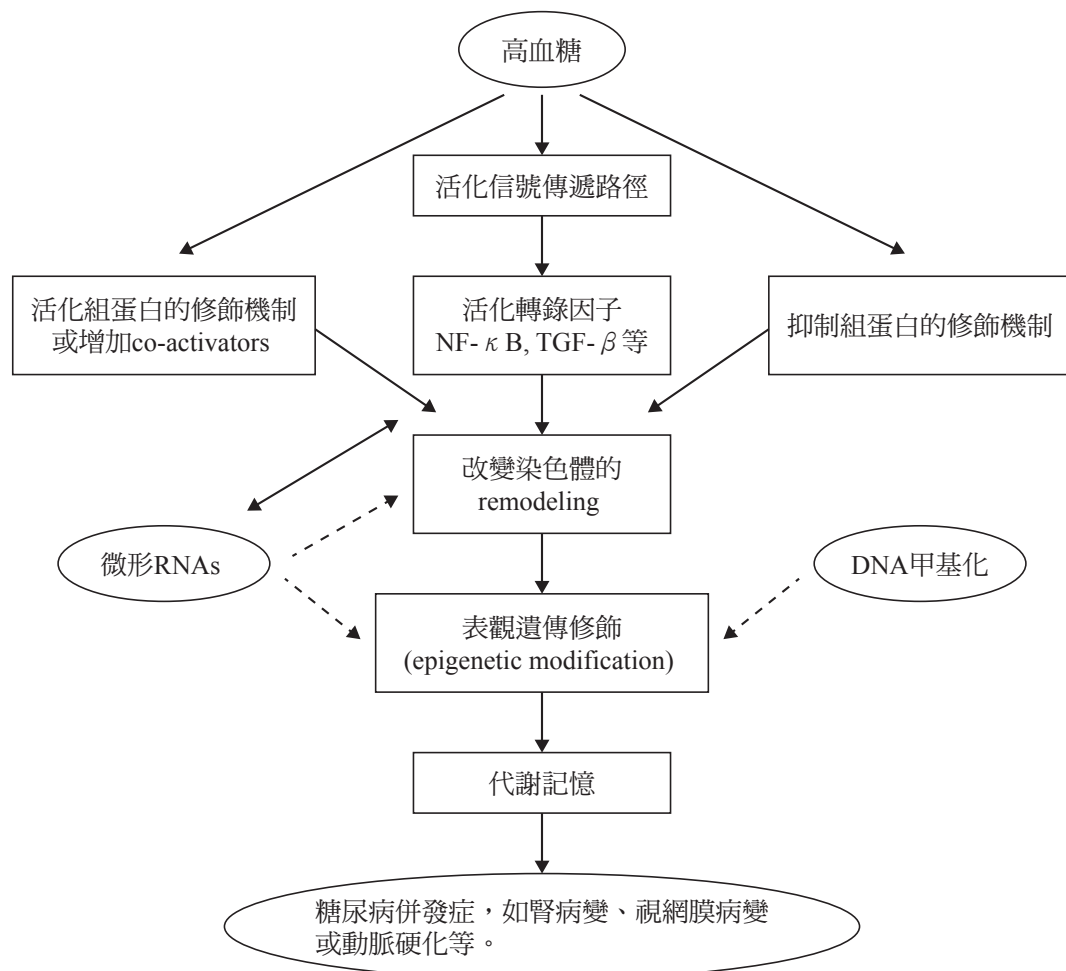
隨著年齡的增長,罹患第二型糖尿病的危險也隨之增加。目前已知老人和第二型糖尿病病人一樣,都會有氧化容積(oxidative capacity)減少和粒線體功能變差的情形⁵⁵⁻⁶⁰。近來的研究又顯示影響呼吸鏈(respiratory chain)的關鍵基因的表觀遺傳機制,可能隨著個體的年紀改變⁶¹⁻⁶³。如COX7A1是呼吸鏈的一部份,被發現

在糖尿病病人的肌肉上表現會減少^{56,63}；而另一個實驗顯示，老人比起年輕人的骨骼肌，會因COX7A1啟動子的DNA甲基化增加，而使基因表現減少⁶³。此外，COX7A1在骨骼肌的轉錄會增加其葡萄糖的攝取⁶³。肝臟胰島素阻抗性是另一個老化和第二型糖尿病的共同特徵。葡萄糖激酶(glucokinase)是肝臟利用葡萄糖的重要酵素，被發現在糖尿病病人的肝臟其活性較低⁶⁴。利用老鼠的肝臟做實驗發現，年紀較大的比起年輕的，其葡萄糖激酶啟動子的DNA甲基化增加，使葡萄糖激酶的表現或活性都減少⁶⁵。

二、肥胖與營養因素

肥胖也是第二型糖尿病的重要危險因子之一。肥胖可能導致一種名為Jhdm2a的組蛋白去甲基酶(demethylase)喪失功能，減少骨骼肌上一些代謝基因的表現，如peroxisome

proliferator-activated receptor- α (簡稱PPAR- α)和中鏈酰基輔酶A脫氫酶(medium-chain acyl-CoA dehydrogenase)⁶⁶。攝取的營養也可能經由表觀遺傳機制，而改變基因的表現和疾病的易感受性。Agouti基因是一種會使老鼠的毛變成黃色的基因。有agouti基因表現的老鼠，也較容易有肥胖、糖尿病或是腫瘤的問題^{22,67,68}。agouti基因被甲基化的程度，會影響其基因的表現，而決定老鼠的毛色和罹患疾病的風險。科學家發現，餵食懷孕的agouti母鼠一些會在DNA上添加甲基群的維他命，如葉酸、維他命B12、甜菜鹼(betaine)和膽鹼(choline)，可增加第一代小鼠的DNA甲基化，抑制agouti基因的表現，而擁有棕色的毛⁶⁹。實驗又發現，上述的結果還會經由生殖細胞的表觀遺傳變化，再傳給第二代的小鼠⁷⁰。此外，餵食懷孕母鼠高脂肪的食物，會



圖一：高血糖藉由改變遺傳修飾機制造成糖尿病併發症 (修飾自 ref 83)。

表 1：重要分生名詞定義及解釋

名詞	定義
表觀遺傳 (epigenetic)	所有對基因的修飾機制，但並不會造成DNA基因序列本身的改變。基因外的修飾，像是增加甲基群到DNA基因的骨架上。增加的這些分子將改變基因的結構與外觀，因而影響基因在細胞核中與重要轉錄因子之交互作用，可能使得基因被活化或是不活化，進而促成蛋白質的製作或阻斷蛋白質的製作。
表觀基因體 (epigenome)	遺傳DNA基因序列經由表觀遺傳改變後，導致不同細胞有不同的基因表現方式，且可傳遞給下一代的細胞，稱為表觀基因體。
表觀遺傳機制 (epigenetic mechanism)	經由DNA的甲基化或去甲基化及DNA組蛋白的乙酰化或去乙酰化，而影響基因的表現或不表現。另外，有些經過表觀遺傳改變的對偶基因 (alleles) 的表現與否，取決於其基因來自父親或母親。如有些基因，若是由母親傳下來就不會表現，稱為表觀遺傳印記 (Epigenetic imprinting)。
組蛋白修飾 (histone modification)	組蛋白是構成染色質 (chromatin) 的蛋白質部份。H2A, H2B, H3 和 H4 形成組蛋白的核心，也組成了核小體 (nucleosome)。每個核小體約有 146 個鹼基對 (base pairs) 的DNA。組蛋白的尾端常有轉譯後的修飾，如甲基化、乙酰化或磷酸化等。藉由這些蛋白質的修飾，可調控染色質變成活化或不活化。
DNA 甲基化 (methylation)	增加甲基群到DNA，可減少基因的表現。DNA 甲基化的過度增加，不需要基因的突變，即可使基因去活化。相反地，若是DNA 甲基化減少，會造成基因表現增加。目前發現多數的DNA 甲基化，位於CpG小島 (CpG islands)。這個區域的基因組合富含CpG (300-3000 鹼基對) 的序列，通常和哺乳動物的基因啟動子 (promoter) 區域有關。
微型RNA (microRNAs)	源自於單股的RNA，約21-23個核苷酸組成，可造成mRNA之轉錄沉默 (post-transcriptional silencing)、轉譯抑制 (translational repression) 或降解 (degradation)。

導致生出來的老鼠長大後容易有血糖、粒線體和心血管的問題。這樣的結果或許也和表觀遺傳機制有關⁷¹⁻⁷³。

三、運動因素

粒線體功能不佳、肌肉纖維組成改變和胰島素的阻抗性，都可能和少運動會增加糖尿病的風險有關。運動會增加骨骼肌的葡萄糖運送蛋白質4 (glucose transporter 4, 簡稱GLUT4) 基因表現⁷⁴，而GLUT4的表現又受到轉錄因子肌肉細胞促進因子2 (myocyte enhancer factor 2, 簡稱MEF2) 的調控。在細胞核中，MEF2和組蛋白去乙酰基酶5 (簡稱HDAC5) 會互相影響⁷⁵。運動後，HDAC5會和MEF2分離，然後離開細胞核跑到細胞質⁷⁵⁻⁷⁷。接著，MEF2會和核中的PPAR γ 共激活蛋白 (co-activator) 1 α (PPARGC1A) 及組蛋白乙酰基轉移酶 (HATs) 一起作用，造成GLUT4基因的組蛋白乙酰化，而增加GLUT4的表現^{75,78,79}。

綜合上述的實驗結果知道，有許多的因素，包括老化、肥胖、營養和運動都可能改變表觀遺傳機制，而這樣的改變，是否進而影響臨床疾病發生，則需更多後續研究。

血壓控制與「代謝記憶」

除了血糖控制之外，血壓治療也有類似「代謝記憶」的研究結果。

在西元1990年，有學者用自發性高血壓的年輕大鼠做實驗，治療組分成三組，分別於大鼠2-6週、6-10週和2-10週大的時候，給予4或8周的angiotensin converting enzyme 抑制劑 (簡稱ACEI) perindopril 的治療，對照組則於同一段時間給予蒸餾水。於所有大鼠25週大的時候再量血壓，發現治療組雖然停藥後血壓有上升，但是仍明顯低於對照組。進一步實驗發現，治療組比起對照組的周邊阻力減小，且心臟肥大的情形較少。另外，他們發現同樣4週的perindopril 治療，用在20-24週大的大鼠身上，卻沒有得到長期的降壓效果^{80,81}。

此外，在西元1999年至2005年期間，TROPHY 研究 (Feasibility of Treating Prehypertension with an Angiotensin-Receptor Blocker) 團隊在美國納入809位高血壓前期 (收縮壓130-139mmHg 加上舒張壓低於89mmHg 或是舒張壓85-89mmHg 且收縮壓低於139mmHg) 的

病人，一組給予candesartan (ARB)治療，另一組給予安慰劑。治療兩年後，兩組都不再給予任何藥物，再追蹤兩年發現，前兩年有接受candesartan治療的病人，於四年後實驗結束時，其高血壓發生率還是低於安慰劑組⁸²。上述的兩個實驗，似乎驗證高血壓的治療也有類似「代謝記憶」的作用，但其機轉則仍需更多的研究證實。

結語和展望

經由染色體的表觀遺傳機制可能使後天環境因素影響基因調控與訊息傳遞的改變，甚至可能是由原本之細胞再傳遞至下一代細胞¹⁷，例如高血糖可能引起組蛋白賴氨酸甲基轉化酶(histone lysine methyltransferases, HMTs)、賴氨酸去甲基酶(lysine demethylases)及DNA甲基化等遺傳修飾¹⁴⁻¹⁶，進而造成糖尿病的各種併發症的產生。所以在糖尿病患病初期，如無法好好控制血糖，甚至在導致細胞遺傳物質改變後，即使再加強血糖控制，也僅有事倍功半之效。然而糖尿病患者常不只有高血糖的問題，可能伴隨有其他的危險因子，如胰島素抵抗、肥胖、血脂異常、環境因素、營養狀況、生活型態及基因遺傳等，而這些危險因子本身可引起表觀遺傳變化，再加上高血糖更易導致各種器官的傷害⁸³。藉由對血糖的「代謝記憶」之分子機制與其重要性的了解，未來或許可就其機轉發展新的治療以減少或預防糖尿病併發症之產生，也提醒臨床醫師儘早控制血糖的重要性。

參考文獻

- Nathan DM, Cleary PA, Backlund JY, et al. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N Engl J Med* 1993; 329: 977-86.
- Holman RR, Paul SK, Bethel MA, Matthews DR, Neil HAW. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet* 1998; 352: 837-53.
- Nathan DM, Cleary PA, Backlund JY, et al. Effect of intensive therapy on the microvascular complications of type 1 diabetes mellitus. *JAMA* 2002; 287: 2563-9.
- Nathan DM, Cleary PA, Backlund JY, et al. Sustained effect of intensive treatment of type 1 diabetes mellitus on development and progression of diabetic nephropathy: the Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) study. *JAMA* 2003; 290: 2159-67.
- Nathan DM, Cleary PA, Backlund JY, et al. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2005; 353: 2643-53.
- Holman RR, Paul SK, Bethel MA, Matthews DR, Neil HAW. 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008; 359: 1577-89.
- Nathan DM, Zinman B, Cleary PA, et al. Modern-day clinical course of type 1 diabetes mellitus after 30 years' duration: the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications and Pittsburgh epidemiology of diabetes complications experience (1983-2005). *Arch Intern Med* 2009; 169: 1307-16.
- Chalmers J, Cooper ME. UKPDS and the legacy effect. *N Engl J Med* 2008; 359: 1618-20.
- Engerman RL, Kern TS. Progression of incipient diabetic retinopathy during good glycemic control. *Diabetes* 1987; 36: 808-12.
- Roy S, Sala R, Cagliero E, Lorenzi M. Overexpression of fibronectin induced by diabetes or high glucose: phenomenon with a memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87: 404-8.
- El-Osta A, Brasacchio D, Yao DC, et al. Transient high glucose causes persistent epigenetic changes and altered gene expression during subsequent normoglycemia. *J Exp Med* 2008; 205: 2409-17.
- Brasacchio D, Okabe J, Tikellis C, et al. Hyperglycemia induces a dynamic cooperativity of histone methylase and demethylase enzymes associated with gene-activating epigenetic marks that coexist on the lysine tail. *Diabetes* 2009; 58: 1229-36.
- Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001; 414: 813-20.
- Talbert PB, Henikoff S. Spreading of silent chromatin: inactivation at a distance. *Nat Rev Genet* 2006; 7: 793-803.
- Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell* 2007; 128: 693-705.
- Ozanne SE, Constancia M. Mechanisms of disease: the developmental origins of disease and the role of the epigenotype. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2007; 3: 539-46.
- Bird A. Perceptions of epigenetics. *Nature* 2007; 447: 396-8.
- El-Osta A. DNMT cooperativity—the developing links between methylation, chromatin structure and cancer. *Bioessays* 2003; 25: 1071-84.
- Ruthenburg AJ, Allis CD, Wysocka J. Methylation of lysine 4 on histone H3: intricacy of writing and reading a single epigenetic mark. *Mol Cell* 2007; 25: 15-30.
- Sharma S, Kelly TK, Jones PA. Epigenetics in cancer. *Carcinogenesis* 2010; 31: 27-36.
- Kuroda A, Rauch TA, Todorov I, et al. Insulin gene expression is regulated by DNA methylation. *Plos One* 2009; 4.
- Morgan HD, Sutherland HG, Martin DI, Whitelaw E.

- Epigenetic inheritance at the agouti locus in the mouse. *Nat Genet* 1999; 23: 314-8.
23. Park JH, Stoffers DA, Nicholls RD, Simmons RA. Development of type 2 diabetes following intrauterine growth retardation in rats is associated with progressive epigenetic silencing of Pdx1. *J Clin Invest* 2008; 118: 2316-24.
 24. 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.
 25. Barres R, Osler ME, Yan J, et al. Non-CpG methylation of the PGC-1 alpha promoter through DNMT3B controls mitochondrial density. *Cell Metabolism* 2009; 10: 189-98.
 26. Ashburner BP, Westerheide SD, Baldwin ASJ. The p65(RelA) subunit of NF-kappaB interacts with the histone deacetylase (HDAC) corepressors HDAC1 and HDAC2 to negatively regulate gene expression. *Mol Cell Biol* 2001; 21: 7065-77.
 27. Gerritsen ME, Williams AJ, Neish AS, Moore S, Shi Y, Collins T. CREB-binding protein/p300 are transcriptional coactivators of p65. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 2927-32.
 28. Vanden Berghe W, De Bosscher K, Boone E, Plaisance S, Haegeman G. The nuclear factor-kappaB engages CBP/p300 and histone acetyltransferase activity for transcriptional activation of the interleukin-6 gene promoter. *J Biol Chem* 1999; 274: 32091-8.
 29. Ito K, Hanazawa T, Tomita K, Barnes PJ, Adcock IM. Oxidative stress reduces histone deacetylase 2 activity and enhances IL-8 gene expression: role of tyrosine nitration. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 315: 240-5.
 30. Miao F, Gonzalo IG, Lanting L, Natarajan R. In vivo chromatin remodeling events leading to inflammatory gene transcription under diabetic conditions. *J Biol Chem* 2004; 279: 18091-7.
 31. Kaur H, Chen SL, Xin XP, Chiu J, Khan ZA, Chakrabarti S. Diabetes-induced extracellular matrix protein expression is mediated by transcription coactivator p300. *Diabetes* 2006; 55: 3104-11.
 32. Xu BY, Chiu J, Feng BA, Chen S, Chakrabarti S. PARP activation and the alteration of vasoactive factors and extracellular matrix protein in retina and kidney in diabetes. *Diabetes-Metab Res Rev* 2008; 24: 404-12.
 33. Noh H, Oh EY, Seo JY, et al. Histone deacetylase-2 is a key regulator of diabetes- and transforming growth factor-beta 1-induced renal injury. *Am J Physiol-Renal Physiol* 2009; 297: F729-F39.
 34. Granger A, Abdullah I, Huebner F, et al. Histone deacetylase inhibition reduces myocardial ischemia-reperfusion injury in mice. *FASEB J* 2008; 22: 3549-60.
 35. Bieliauskas AV, Pflum MKH. Isoform-selective histone deacetylase inhibitors. *Chem Soc Rev* 2008; 37: 1402-13.
 36. Haberland M, Montgomery RL, Olson EN. The many roles of histone deacetylases in development and physiology: implications for disease and therapy. *Nat Rev Genet* 2009; 10: 32-42.
 37. Szyf M. Epigenetics, DNA Methylation and Chromatin Modifying Drugs. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2009; 49: 243-63.
 38. Wang H, Cao R, Xia L, et al. Purification and functional characterization of a histone H3-lysine 4-specific methyltransferase. *Mol Cell* 2001; 8: 1207-17.
 39. Nishioka K, Chuikov S, Sarma K, et al. Set9, a novel histone H3 methyltransferase that facilitates transcription by precluding histone tail modifications required for heterochromatin formation. *Genes Dev* 2002; 16: 479-89.
 40. Li Y, Reddy MA, Miao F, et al. Role of the histone H3 lysine 4 methyltransferase, SET7/9, in the regulation of NF-kappa B-dependent inflammatory genes-Relevance to diabetes and inflammation. *J Biol Chem* 2008; 283: 26771-81.
 41. Deering TG, Ogibara T, Trace AP, Maier B, Mirmira RG. Methyltransferase Set7/9 maintains transcription and euchromatin structure at islet-enriched genes. *Diabetes* 2009; 58: 185-93.
 42. Villeneuve LM, Reddy MA, Lanting LL, Wang M, Meng L, Natarajan R. Epigenetic histone H3 lysine 9 methylation in metabolic memory and inflammatory phenotype of vascular smooth muscle cells in diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 9047-52.
 43. Bartel DP. MicroRNAs: Target recognition and regulatory functions. *Cell* 2009; 136: 215-33.
 44. Kim VN, Han J, Siomi MC. Biogenesis of small RNAs in animals. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10: 126-39.
 45. Poy MN, Eliasson L, Krutzfeldt J, et al. A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion. *Nature* 2004; 432: 226-30.
 46. Poy MN, Spranger M, Stoffel M. MicroRNAs and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Diabetes Obes Metab* 2007; 9: 67-73.
 47. Heneghan HM, Miller N, Kerin MJ. Role of microRNAs in obesity and the metabolic syndrome. *Obes Rev* 2009; 11: 354-61.
 48. Kato M, Zhang J, Wang M, et al. MicroRNA-192 in diabetic kidney glomeruli and its function in TGF-beta-induced collagen expression via inhibition of E-box repressors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 3432-7.
 49. Wang Q, Wang YL, Minto AW, et al. MicroRNA-377 is up-regulated and can lead to increased fibronectin production in diabetic nephropathy. *FASEB J* 2008; 22: 4126-35.
 50. Kato M, Arce L, Natarajan R. MicroRNAs and their role in progressive kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 1255-66.
 51. Kato M, Putta S, Wang M, et al. TGF-beta activates Akt kinase through a microRNA-dependent amplifying circuit targeting PTEN. *Nat Cell Biol* 2009; 11: 881-9.
 52. Harvey SJ, Jarad G, Cunningham J, et al. Podocyte-specific deletion of dicer alters cytoskeletal dynamics and causes glomerular disease. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 2150-8.
 53. Ho J, Ng KH, Rosen S, Dostal A, Gregory RI, Kreidberg JA. Podocyte-specific loss of functional microRNAs leads to rapid glomerular and tubular injury. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 2069-75.
 54. Shi SL, Yu LP, Chiu C, et al. Podocyte-selective deletion of dicer induces proteinuria and glomerulosclerosis. *J Am Soc*

- Nephrol 2008; 19: 2159-69.
55. Kelley DE, He J, Menshikova EV, Ritov VB. Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 2944-50.
 56. Mootha VK, Lindgren CM, Eriksson K-F, et al. PGC-1 α -responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes. *Nat Genet* 2003; 34: 267-73.
 57. Patti ME, Butte AJ, Crunkhorn S, et al. Coordinated reduction of genes of oxidative metabolism in humans with insulin resistance and diabetes: Potential role of PGC1 and NRF1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 8466-71.
 58. Petersen KF, Befroy D, Dufour S, et al. Mitochondrial dysfunction in the elderly: possible role in insulin resistance. *Science* 2003; 300: 1140-2.
 59. Petersen KF, Dufour S, Befroy D, Garcia R, Shulman GI. Impaired mitochondrial activity in the insulin-resistant offspring of patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2004; 350: 664-71.
 60. Ritov VB, Menshikova EV, He J, Ferrell RE, Goodpaster BH, Kelley DE. Deficiency of subsarcolemmal mitochondria in obesity and type 2 diabetes. *Diabetes* 2005; 54: 8-14.
 61. Fraga MF, Ballestar E, Paz MF, et al. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 10604-9.
 62. Ling C, Poulsen P, Simonsson S, et al. Genetic and epigenetic factors are associated with expression of respiratory chain component NDUFB6 in human skeletal muscle. *J Clin Invest* 2007; 117: 3427-35.
 63. Ronn T, Poulsen P, Hansson O, et al. Age influences DNA methylation and gene expression of COX7A1 in human skeletal muscle. *Diabetologia* 2008; 51: 1159-68.
 64. Caro JF, Triester S, Patel VK, Tapscott EB, Frazier NL, Dohm GL. Liver glucokinase: decreased activity in patients with type II diabetes. *Horm Metab Res* 1995; 27: 19-22.
 65. Jiang MH, Fei J, Lan MS, et al. Hypermethylation of hepatic Gck promoter in ageing rats contributes to diabetogenic potential. *Diabetologia* 2008; 51: 1525-33.
 66. Tateishi K, Okada Y, Kallin EM, Zhang Y. Role of Jhdm2a in regulating metabolic gene expression and obesity resistance. *Nature* 2009; 458: 757-61.
 67. Duhl DM, Vrieling H, Miller KA, Wolff GL, Barsh GS. Neomorphic agouti mutations in obese yellow mice. *Nat Genet* 1994; 8: 59-65.
 68. Wolff GL, Kodell RL, Moore SR, Cooney CA. Maternal epigenetics and methyl supplements affect agouti gene expression in Avy/a mice. *FASEB J* 1998; 12: 949-57.
 69. Jirtle RL, Skinner MK. Environmental epigenomics and disease susceptibility. *Nat Rev Genet* 2007; 8: 253-62.
 70. Cropley JE, Suter CM, Beckman KB, Martin DIK. Germ-line epigenetic modification of the murine A(vy) allele by nutritional supplementation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 17308-12.
 71. Armitage JA, Pearce AD, Sinclair AJ, Vingrys AJ, Weisinger RS, Weisinger HS. Increased blood pressure later in life may be associated with perinatal n-3 fatty acid deficiency. *Lipids* 2003; 38: 459-64.
 72. Khan IY, Dekou V, Douglas G, et al. A high-fat diet during rat pregnancy or suckling induces cardiovascular dysfunction in adult offspring. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol* 2005; 288: R127-R33.
 73. Taylor PD, McConnell J, Khan IY, et al. Impaired glucose homeostasis and mitochondrial abnormalities in offspring of rats fed a fat-rich diet in pregnancy. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol* 2005; 288: R134-R9.
 74. Neuffer PD, Dohm GL. Exercise induces a transient increase in transcription of the GLU-4 gene in skeletal muscle. *Am J Physiol* 1993; 265: C1597-C603.
 75. McGee SL, Hargreaves M. Exercise and skeletal muscle glucose transporter 4 expression: Molecular mechanisms. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006; 33: 395-9.
 76. McGee SL, Hargreaves M. Exercise and myocyte enhancer factor 2 regulation in human skeletal muscle. *Diabetes* 2004; 53: 1208-14.
 77. McGee SL, van Denderen BJW, Howlett KF, et al. AMP-activated protein kinase regulates GLUT4 transcription by phosphorylating histone deacetylase 5. *Diabetes* 2008; 57: 860-7.
 78. McGee SL, Sparling D, Olson AL, Hargreaves M. Exercise increases MEF2-and GEF DNA-binding activity in human skeletal muscle. *FASEB J* 2006; 20: 348-9.
 79. Vissing K, McGee SL, Roepstorff C, Schjerling P, Hargreaves M, Kiens B. Effect of sex differences on human MEF2 regulation during endurance exercise. *Am J Physiol-Endocrinol Metab* 2008; 294: E408-E15.
 80. Harrap SB, Van der Merwe WM, Griffin SA, Macpherson F, Lever AF. Brief angiotensin converting enzyme inhibitor treatment in young spontaneously hypertensive rats reduces blood pressure long-term. *Hypertension* 1990; 16: 603-14.
 81. Wu JN, Berecek KH. Prevention of genetic hypertension by early treatment of spontaneously hypertensive rats with the angiotensin converting enzyme inhibitor captopril. *Hypertension* 1993; 22: 139-46.
 82. Julius S, Nesbitt SD, Egan BM, et al. Feasibility of treating prehypertension with an angiotensin-receptor blocker. *N Engl J Med* 2006; 354: 1685-97.
 83. Villeneuve LM, Natarajan R. The role of epigenetics in the pathology of diabetic complications. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; 299: F14-25.

The Possible Mechanisms of “Metabolic Memory” in Diabetic Complications

Wan-Ni Tsai, Shih-Yi Lin, and Wayne Huey-Herng Sheu

*Division of Endocrinology & Metabolism, Department of Internal Medicine,
Taichung Veterans General Hospital, Taichung, Taiwan*

It is well established that patients with diabetes mellitus suffered from a variety of diabetes associated complications, including macrovascular diseases such as coronary artery disease, stroke, and peripheral arterial disease, as well as microvascular complications such as diabetic retinopathy, nephropathy, and neuropathy. Findings from multiple major clinical interventional trials (i.e. DCCT, EDIC, and UKPDS) have consistently demonstrated that early glycemic control could lead to reduction of long-term complications, in particularly microvascular complications. Subsequent following up studies in the EDIC and UKPDS expanded and further concreted these observations that subjects originally assigned in the intensive treatment group continued to have significant lower diabetic macro- and micro-vascular complications as well as all-cause mortality as compared to patients who were in the conventional treatment group. These findings have led to the proposed hypothesis of “metabolic memory”. In recent years, it is suggested that hyperglycemia might cause alteration of epigenetic, such as DNA methylation, histone structure or microRNAs expression, and then cause increase proinflammatory genes expression and associate with various diabetic complications. In addition, the epigenome that has been modified by hyperglycemia can be transmitted through replication. Based on the further understanding of the molecular mechanisms of “metabolic memory”, it is hope to discover new therapeutic targets to reduce or prevent the development of diabetic complications. (J Intern Med Taiwan 2011; 22: 314-323)