

Brown Adipose Tissue Differentiation and Control Mechanism[#]

Lin Zhang, Wanlong Zhu, Jinhong Cai, Xiao Lian, Zhengkun Wang*

School of Life Science, Yunnan Normal University, Kunming

Email: lzhangss@126.com; zhanglin_84@yeah.net; wz_k_930@yahoo.com.cn

Received: Sep. 10th, 2011; revised: Oct. 23rd, 2011; accepted: Nov. 16th, 2011.

Abstract: Humans and other mammals have two main adipose tissue depots: white adipose tissue (include visceral- and subcutaneous-white adipose tissue), and brown adipose tissue, each of which possesses unique cell-autonomous properties. In contrast to visceral adipose tissue, which can induce detrimental metabolic effects, subcutaneous white adipose tissue and brown adipose tissue have the potential to benefit metabolism by improving glucose homeostasis and increasing energy consumption. BMP7 (bone morphogenetic proteins 7) is one of members of the transforming growth factor- β (TGF- β) superfamily and control multiple key steps of embryonic development and differentiation. In recent studies, people found that BMP7-induced UCP1 expression was markedly diminished in brown preadipocytes deficient in both PRDM16 and PGC (PGC-1 α and PGC-1 β), it ultimately induces BAT mitochondrial cells in the biological production and cell differentiation. There are two ways in development of brown adipose tissue. These researches indicate the potential to treat obesity and related diseases through activating BMP7 and PRDM16 to produce brown adipose tissue. Recently, using 18F-fluorodeoxyglucose (18F-FDG) positron-emission tomographic and computed tomographic (PET-CT) scans showed that adults retain metabolically active BAT depots that can be induced in response to cold and sympathetic nervous system activation. These findings high light BAT as a potential relevant target for pharmacological and gene expression manipulation to combat human obesity. We reviewed the recent research progresses of BAT in human and its potential functional significance.

Keywords: Brown Adipose Tissue (BAT); Stem Cell Differentiation; Bone Morphogenetic Protein 7 (BMP7)

褐色脂肪组织分化及其调节机制研究进展[#]

张 麟, 朱万龙, 蔡金红, 练 硝, 王政昆*

云南师范大学生命科学学院, 昆明

Email: lzhangss@126.com; zhanglin_84@yeah.net; wz_k_930@yahoo.com.cn

收稿日期: 2011 年 9 月 10 日; 修回日期: 2011 年 10 月 23 日; 录用日期: 2011 年 11 月 16 日

摘 要: 人类和其他哺乳动物主要有两种脂肪组织: 白色脂肪组织(又分为内脏和皮下两大类)和褐色脂肪组织; 相对于内脏白色脂肪组织, 皮下白色脂肪组织和褐色脂肪组织有利于改善糖代谢和能量消耗。人体内出现两种褐色脂肪组织的分化途径。BMP7 (bone morphogenetic proteins 7)是转化生长因子- β 超家族成员(transforming growth, TGF- β)的多功能分泌型信号分子, 在胚胎发生、个体形成、非对称器官的形成、胚胎的发育和损伤组织的修复中起关键作用。最近发现 BMP7 能促进褐色脂肪细胞的分化, 可能是由于 BMP7 诱导 PRDM16 及 PGC-1 α 等的基因表达, 进一步增加了 UCP1 等基因的表达, 最终诱导褐色脂肪细胞中线粒体的生物生成和随后的细胞分化。这些研究显示通过激活 BMP7 和 PRDM16 来增加褐色脂肪组织在治疗肥胖及相关疾病方面具有很大潜力。最近采用监测癌症及癌症转移的氟化脱氧葡萄糖 - 正电子发射计算机断层显像技术与(或)X-射线断层显像技术(18F-FDG-PET/CT)扫描技术并结合定位组织取样进行分子鉴定发现在成年人体内的确存在有功能活性的褐色脂肪组织, 人们将其作为一个寻找治疗肥胖症新方法的重要靶标。

关键词: 褐色脂肪组织(BAT); 干细胞分化; 骨形态发生蛋白 7(BMP7)

[#]资助信息: 国家自然科学基金(NO.31071925); 云南省教育厅科学研究基金专项重大项目(NO.ZD2009007); 云南省教育厅科学研究基金(NO.2011J065)。

1. 引言

肥胖已经成为流行病,同时成为全球性问题,并且由其引发如糖尿病、高血压、高血脂、癌症以及其他并发症,现在对脂肪细胞、组织的研究成为生命科学领域的研究热点^[1]。众所周知,脂肪组织含有两种形态、生物学功能截然不同的细胞:1) 褐色脂肪细胞,主要是化学能以热能散失的部位,在新生儿和啮齿类中是解耦联呼吸的主要部位^[2-4];2) 白色脂肪细胞,作为专门储存以三酰甘油为主的化学能的仓库,并且在成年动物中是脂肪组织的主要构成成分。那么,探讨这两种截然不同细胞的分化机制,可为上述疾病的预防与治疗提供重要的分子生物学基础。尽管褐色脂肪组织在啮齿动物中终生存在,而传统的观念认为在人类中褐色脂肪组织只存在于新生儿中,并在1岁时就基本消失,在成人体中不存在或数量甚微而没有明显的生理意义。然而最近采用监测癌症及癌症转移的氟化脱氧葡萄糖-正电子发射计算机断层显像技术与(或)X-射线断层显像技术(18F-FDG-PET/CT)扫描技术并结合定位组织取样进行分子鉴定发现在成年人体内的确存在有功能活性的褐色脂肪组织^[5,6],此发现颠覆了以往传统的观念。考虑到褐色脂肪组织对抗肥胖的潜在作用,人们希望将其作为一个寻找治疗肥胖症新方法的重要靶标。成年人体内的“褐色脂肪组织”被美国《时代周刊》评为2009年度十大医学突破之一。本文就褐色脂肪组织及其潜在的生理学意义进行概述。

2. 脂肪细胞的形态学、生物学功能差异

脂肪存在于动物全身,并且在皮下和部分器官周围富集。白色脂肪组织 white adipose tissue (WAT)广泛分布在体内皮下组织和内脏周围,它的含量显著增多是肥胖病人的主要特征;而褐色脂肪组织 brown adipose tissue (BAT)主要分布在人体的肩胛骨间、颈背部、腋窝、纵隔及肾脏周围;并且褐色脂肪组织和白色脂肪组织在鼠某些部位混合,不易分离^[7]。

褐色脂肪细胞,呈不规则的多边形,其直径在15到50 μm 范围之内,在细胞内的甘油三酯被分成为很多小油滴储存,其线粒体数量多,呈球形,嵴规则包裹,数量稳定^[7]。白色脂肪细胞,呈圆球状,通常中等大小,其大小由储存在细胞内的油滴决定,而且一

个三酰甘油占据了白色脂肪细胞90%的体积;白色脂肪组织的线粒体比较稀疏,并且呈长条形,并且嵴不规则,数量会发生改变。

褐色脂肪组织与白色脂肪组织具有截然不同的生物学功能,是非常特化的产热组织,主要通过冷暴露或食物诱导而大量产热消耗能量^[3]。褐色脂肪组织细胞中具有大量的线粒体,因此代谢活性强;线粒体含有解耦联蛋白1 (Uncoupling protein 1, UCP1)。UCP1能将储存于线粒体呼吸链产生的质子梯度中的能量释放出来,使氧化作用产生的能量以热的形式释放出来而不用合成ATP,在新生哺乳动物、冬眠动物和啮齿动物中,冷诱导BAT产热决定了动物的体温变化和维持状态,并且通过适应性产热来调节能量平衡或稳态^[8]。白色脂肪组织主要由储存脂类的细胞构成,所储存的脂类物质可以作为机体的燃料燃烧,释放能量。在正向能量平衡条件下,白色脂肪组织特化为储存能量的组织,当机体需要能量时输出化学能满足机体对能量的需要。白色脂肪组织具有非常强大的扩展能力,这种能力可以认为是对食物短缺适应。白色脂肪组织以甘油三酯的形式储存能量,甘油三酯分解时释放出甘油和脂肪酸参与代谢过程。另外,白色脂肪组织还能产生许多信号分子,如几种脂肪因子(adipokines)、肿瘤坏死因子 α 、瘦素(Leptin)、脂连素(adiponectin)、抵抗素(resistin)和血管紧张素原(angiotensinogen)等。

3. 脂肪细胞的分化产生途径

一直以来,学者认为白色脂肪细胞和褐色脂肪细胞拥有一个共同的前体细胞,通过不同的调控机制转化而来:多能干细胞(multipotential stem cell, MSC)或胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)→脂肪母细胞(Adipoblast)→前脂肪细胞(Preadipocyte)→不成熟脂肪细胞(Immature Adipose Cell)→成熟脂肪细胞(Mature Adipose Cell)。但是,脂肪组织的研究最近取得了突破性进展,其中最重要的突破是发现决定褐色脂肪细胞形成的肌源性起源机制,从而改变了过去许多关于褐色脂肪细胞形成及其功能的认识^[8,9]。

褐色脂肪组织,一方面与白色脂肪组织相似,如都可储存和代谢脂类,都表达许多脂肪细胞特异性蛋白质(这是将其命名为脂肪组织的重要原因);另一方面还拥有骨骼肌相似的特征,如拥有大量线粒体,可

利用氧化磷酸化产生能量和释放热量等^[10]。使用芯片技术发现褐色脂肪前体细胞表现出成肌细胞的特征,它与白色脂肪前体细胞区别巨大,并且对大量发育基因的研究也证明褐色脂肪与白色脂肪二者可能来源不同^[11],这可能更容易解释褐色脂肪细胞进行脂类氧化代谢,而不是脂肪储存作用,这些研究也说明褐色脂肪细胞来源于骨骼肌前体细胞。最近在人的骨骼肌中鉴定出一个褐色脂肪前体细胞库^[12],这进一步说明褐色脂肪细胞与骨骼肌细胞的紧密联系,Frühbeck 等^[9]的研究指出了褐色脂肪细胞的两种形成途径,如图 1。

4. BMP7 与褐色脂肪组织分化

过氧化物酶体增殖激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor- γ , PPAR γ)、以及 PPAR γ 共激活因子(PPAR γ co-activator-1 α , PGC-1 α)和 1 β (PGC-1 β)及相关因子构成了褐色脂肪细胞分化的基础,多种促进褐色脂肪细胞生成的物质都需要通过激活上述因子来实现^[13],PGC-1 α 和 PGC-1 β 缺乏可造成 UCP1 等生热基因表达明显减少,褐色脂肪细胞内线粒体生物生成受阻^[14]。

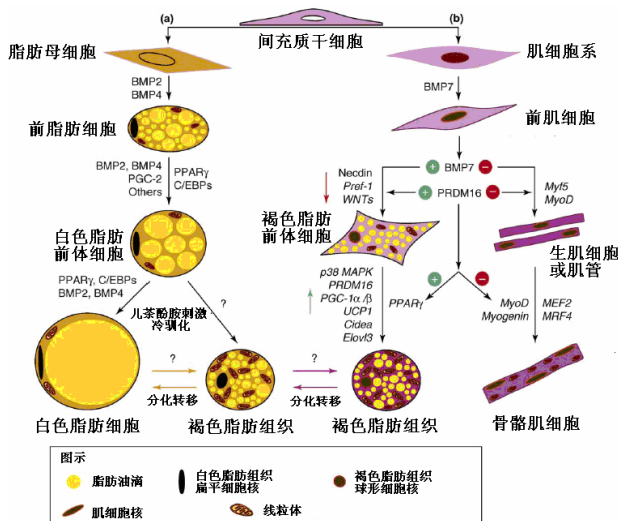
骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)是从骨基质分离提纯的一类能高效诱导骨、软骨组织发生的酸性糖蛋白,是一类转化生长因子- β 超家族成员(transforming growth, TGF- β)的多功能分泌

型信号分子,在胚胎发生、个体形成、非对称器官的形成、胚胎的发育和损伤组织的修复中起关键作用。BMPs 有 BMP1、BMP2……BMP15 等 20 余种成员,其中以 BMP2、BMP4、BMP6 及 BMP7 的功能最具代表性,能引起多种细胞增殖、分化、凋亡,参与组织再生和再建(remodeling),在细胞游走和分裂等多种生命活动中发挥调节作用^[15-17]。

最近研究发现 BMP7 也可促进褐色脂肪细胞的分化,这是因为 BMP7 可诱导 PRDM16 及 PGC-1 α 等的基因表达,进一步增加了 UCP1 等基因的表达,最终诱导褐色脂肪细胞中线粒体的生物生成和随后的细胞分化^[17],如图 2。

BMP7 可能是通过激活 Smad 最终活化某些因子来实现诱导褐色脂肪细胞分化作用的,当然具体机制尚不是研究的很透彻。Smad 蛋白最早是通过基因筛查在无脊椎动物中鉴定出来的。Sekelsy 等分离出 Mad 蛋白,而 Savage 等^[18]鉴定出 Sma 基因,它与 Mad 蛋白密切相关。在对果蝇和 *Caenorhabditis elegans* 的研究中发现 Mad 蛋白和 Sma 蛋白作用于丝氨酸/苏氨酸激酶受体下游。因此,将 Mad 和 Sma 蛋白及其类似物统称为 Smad (Sma-Mad)族蛋白,共有 8 个成员。

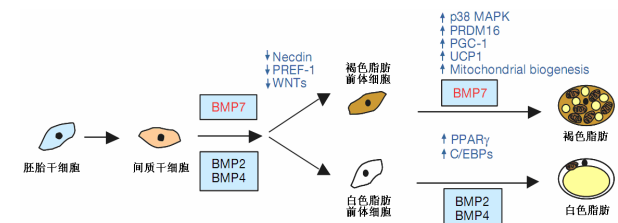
Smad5 参与 BMP7 的胞内信号传导,BMP7 能促进间充质细胞转化为软骨细胞,对处于不同分化阶段的软骨细胞分泌胶原也有促进作用。BMP 的胞内信号由 Smad5 激活。在大鼠骨祖样细胞 ROB-C26, BMP7 与 BMP-IB 型受体(BMPR-IB)结合。Smad1, Smad5, Smad8 与缺乏激酶的 BMPR-IB 稳定地相互作用,以后通过 BMP-II 型受体(BMP-II 型)激酶发生磷酸化。在 ROB-26 细胞,表 Smad2, Smad3, Smad4 和 Smad5,并且 BMP7 能使 Smad5 发生磷酸化。Smad6 在结构上与其它 Smad 蛋白质不同,能与 I 型受体结合,



(数据引自 Frühbeck 等, 2009)

Figure 1. Adipocyte and myocyte differentiation from mesenchymal stem cells

图 1. 间质干细胞分化成脂肪细胞和肌细胞



(数据引自 Tseng 等, 2008)

Figure 2. Proposed model for the role of BMPs in determination of brown versus white adipocyte development

图 2. 骨形成蛋白在褐色脂肪细胞与白色脂肪细胞分化中作用模型

阻碍 Smad1、Smad2 的磷酸化和其与 Smad4 的结合。转染实验证明, 在由 ^{125}I -OP-1/BMP7 组成的调控体系中, Smad 6 仅由 BMPRII 激活, 而阻止 BM PRIB 受体的活化, 继而抑制 Smad 1 的磷酸化和活化^[19]。

5. PRDM16 与褐色脂肪组织分化

PRDM16 基因是最早研究骨髓异常增生综合征 (myelodysplastic syndrome, MDS) 和急性髓性白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 过程中发现, 故又被称为 MEL1 (MDS1/EVI1-LIKE GENE 1)^[20], 分子量为 140 kDa 的锌指蛋白, 分子中包含了 PR-(PRD1-BF-1-RIZ1 同源片段) 区域, 还拥有两个锌指 DNA 结合结构域、富含脯氨酸结构域和阻遏物结构域以及 C-端的酸性结构域, 如图 3。上述结构特征初步说明 PRDM16 是一种重要的转录调节因子。

PRDM16 与 PGC-1 α 及 PGC-1 β 结合之后, PGC-1 α 及 PGC-1 β 的转录活性明显将增强, 促进褐色脂肪细胞分化相关基因的表达^[21] (图 4)。PRDM16 C-末端结合蛋白 (C-terminal-binding protein, CtBP) 是细胞内一类重要的转录共抑制因子, 有两个成员 CtBP-1 和 CtBP-2。当 PRDM16 的第一个锌指 DNA 结合结构域与两分子 PPAR γ 结合的同时, CtBP-1/2 二聚体与 PRDM16 的 PLDLS motif 部位结合, 促进 PPARs 和

PGC-1 α /1 β 蛋白转录, 同时抑制白色脂肪细胞和肌选择性基因转录^[22]; PRDM16 在与 PGC-1 α 及 PGC-1 β 促进褐色脂肪细胞分化的同时, 还可有效与 CtBP-1 及 CtBP-2 结合, 这种结合可明显抑制白色脂肪细胞分化相关基因表达, 阻止了白色脂肪细胞分化^[23]。因此 PRDM16 发挥生理功能时具有双重效应, 一方面促褐色脂肪细胞分化, 另一方面抑制白色脂肪细胞分化, 两种作用协同最终达到增加褐色脂肪组织的目的^[24]。在表达成肌调节因子基因 Myf5 (迄今只在肌肉细胞中发现该基因表达) 的前体细胞中 PRDM16 过表达可诱导褐色脂肪细胞分化, 而 PRDM16 缺乏则使该前体细胞最终分化为骨骼肌细胞^[1]。这是因为 PRDM16 缺陷后生热相关基因表达减少, 而肌肉发育相关基因表达增加, 最终分化为肌肉细胞。这个结果说明 PRDM16 是决定骨骼肌前体细胞命运的关键性转录因子, 存在 PRDM16 分化出褐色脂肪细胞, PRDM16 活性减低或缺乏则生成骨骼肌细胞^[25], PRDM16 的这种正向调节褐色脂肪细胞分化的功能进一步得到验证。

6. 展望

Smad 蛋白家族在 BMP 信号转导途径中具有重要作用, 多种实验已经充分证明 Smad 是 TGF- β 和 BMP 信号转导的关键因子, 在这方面的研究正在大量开展, 相信会在更多的领域取得进展。各种信号途径通过通路间的串话 (crosstalk) 将信号整合为一种对靶基因转录调节总的效应成骨细胞 BMP/Smad 信号转导通路对力学刺激响应的机制还不甚清楚, 单一的 BMP/Smad 信号转导通路能否响应力学刺激, BMP/Smad 信号转导通路在各种应答途径形成的复杂的网络中响应力学刺激的作用和意义有多大等问题, 还需要进一步的研究, 以便为外源性 BMP 的应用及其基因治疗提供理论基础。

现在研究发现, PRDM16 可正向促进褐色脂肪细胞分化, 并且对其作用机制有了初步认识。这些研究, 一方面有利于对褐色脂肪细胞分化过程的深入理解, 另一方面也有利于解决肥胖及其带来的一系列病症。通过设计特定药物, 来激活褐色脂肪前体细胞内 PRDM16 以及 BMP7 的基因表达或移植, 利用 BMP7 和 PRDM16 处理的骨骼肌前体细胞植入到病人体内, 以增加褐色脂肪细胞的数量, 从而达到增加体内脂肪

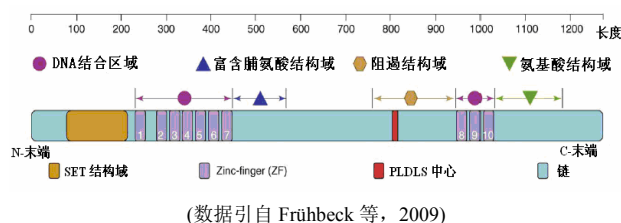


Figure 3. PRDM16 domain structure and binding sites
图 3. PRDM16 结构域和结合位点

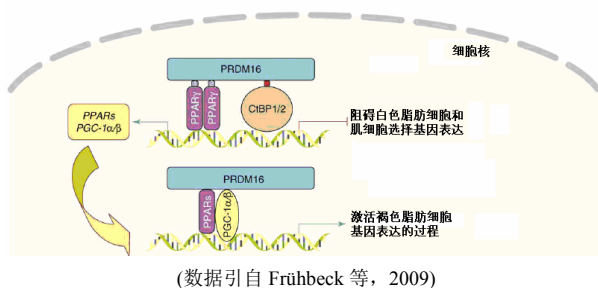


Figure 4. Schematic representation of brown adipocyte determination by PRDM16
图 4. 由 PRDM16 刺激褐色脂肪细胞基因表达

燃烧,并减少脂肪堆积的目的,来实现战胜肥胖的目的。

当前,增加褐色脂肪组织含量被作为治疗肥胖及其带来的一系列病症的一个重要策略^[26],而 PRDM16 和 BMP7 在褐色脂肪细胞分化过程中的重要作用^[27],已经引起医学界以及生物学的极大兴趣,因此 PRDM16 和 BMP7 蛋白有望成为战胜肥胖的一个重要药物。由于肥胖是多因素影响的结果,并且人体内先天褐色脂肪组织含量不足,单纯靠激活 PRDM16 和 BMP7,以增加褐色脂肪细胞分化来实现减肥,效果有限,但随着对人 PRDM16 和 BMP7 蛋白生理作用及分子机制深入的认识理解,并结合其他治疗策略的应用,PRDM16 和 BMP7 诱导褐色脂肪细胞分化的策略,将在治疗肥胖方面具有重要的潜在医学价值。期待,在不久的将来 PRDM16、BMP7 以及其他相关因子能为解决人类肥胖症以及由于肥胖引起的其他疾病起到作用。

7. 致谢

感谢云南省生物能源与环境生物技术创新团队对本研究提供的帮助。

参考文献 (References)

- [1] P. Seale, B. Bjork, W. Yang, et al. PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature*, 2008, 454(7207): 961-967.
- [2] S. Cinti. The adipose organ. *Prostaglandins leukot. Essential Fat Acids*, 2005, 73: 9-15.
- [3] B. Cannon, J. Nedergaard. Brown adipose tissue: Function and physiological significance. *Physiological Reviews*, 2004, 84(1): 277-359.
- [4] S. R. Farmer. Molecular determinants of brown adipocyte formation and function. *Genes & Development*, 2008, 22: 1269-1275.
- [5] T. T. Tran, C. R. Kahn. Transplantation of adipose tissue and stem cells: role in metabolism and disease. *Nature Reviews Endocrinology*, 2010, 6: 195-213.
- [6] K. A. Virtanen, M. E. Lidell, J. Orava, et al. Functional brown adipose tissue in healthy adults. *The New England Journal of Medicine*, 2009, 360: 1518-1525.
- [7] S. Cinti. Transdifferentiation properties of adipocytes in the adipose organ. *American Journal of Physiology*, 2009, 297(5): E977-E986.
- [8] V. Azzu, M. D. Brand. Degradation of an intramitochondrial protein by the cytosolic proteasome. *Journal of Cell Science*, 2010, 123: 578-585.
- [9] G. Frühbeck, P. Sesma and M. A. Burrell. PRDM16: The interconvertible adipo-myocyte switch. *Cell Biology*, 2009, 19(4): 141-146.
- [10] B. Cannon, J. Nedergaard. Developmental biology: Neither fat nor flesh. *Nature*, 2008, 454(7207): 947-948.
- [11] J. A. Timmons, K. Wennmalm, O. Larsson, et al. Myogenic gene expression signature establishes that brown and white adipocytes originate from distinct cell lineages. *The Proceedings of National Academic Science USA*, 2007, 104(11): 4401-4406.
- [12] M. Crisan, L. Casteilla, L. Lehr, et al. A reservoir of brown adipocyte progenitors in human. *Skeletal Muscle*, 2008, 26(9): 2425-2433.
- [13] N. Ijichi, K. Ikeda, K. Horie-Inoue, et al. Estrogen-related receptor alpha modulates the expression of adipogenesis-related genes during adipocyte differentiation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2007, 358(3): 813-818.
- [14] M. Uldry, W. Yang, J. St-Pierre, et al. Complementary action of the PGC-1 coactivators in mitochondrial biogenesis and brown fat differentiation. *Cell Metabolism*, 2006, 3(5): 333-341.
- [15] E. Canalis, A. N. Economides and E. Gazzerro. Bone morphogenetic proteins, their antagonists, and the skeleton. *Endocrine Reviews*, 2003, 24(2): 218-235.
- [16] C. Song, Z. Guo, Q. Ma, et al. Simvastatin induces osteoblastic differentiation and inhibits adipocytic differentiation in mouse bone marrow stromal cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2003, 308(3): 458-462.
- [17] E. Balint, D. Lapointe, H. Drissi, et al. Phenotype discovery by gene expression profiling: Mapping of biological processes linked to BMP-2-mediated osteoblast differentiation. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2003, 89(2): 401-426.
- [18] Y. H. Tseng, E. Kokkottou, T. J. Schulz, et al. New role of bone morphogenetic protein 7 in brown adipogenesis and energy expenditure. *Nature*, 2008, 454: 1000-1004.
- [19] J. J. Sekelsky, S. J. Newfeld, L. A. Reftery, et al. Genetic characterization and cloning of mothers against dpp, a gene required for decapentaplegic function in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 1995, 139(3): 1347-1358.
- [20] T. Imamura, M. Takase, A. Nishihara, et al. Smad 6 inhibits signaling by the TGF- β superfamily. *Nature*, 1997, 389(6651): 622-626.
- [21] N. Mochizuki, S. Shimizu, T. Nagasawa, et al. A novel gene, MEL1, mapped to 1p36.3 is highly homologous to the MDS1/EVI1 gene and is transcriptionally activated in t(1;3) (p36;q21)-positive leukemia cells. *Blood*, 2000, 96(9): 3209-3214.
- [22] P. Seale, S. Kajimura, W. Yang, et al. Transcriptional control of brown fat determination by PRDM16. *Cell Biology*, 2007, 6(1): 38-54.
- [23] G. Chinnadurai. Transcriptional regulation by C-terminal binding proteins. *International Journal of Biochemical Cell Biology*, 2007, 39(9): 1593-1607.
- [24] S. Kajimura, P. Seale, T. Tomaru, et al. Regulation of the brown and white fat gene programs through a PRDM16/CtBP transcriptional complex. *Genes & Development*, 2008, 22(10): 1397-1409.
- [25] S. R. Farmer. Molecular determinants of brown adipocyte formation and function. *Genes & Development*, 2008, 22(10): 1269-1275.
- [26] S. R. Farmer. Brown fat and skeletal muscle: Unlikely cousins? *Cell*, 2008, 134(5): 726-727.
- [27] S. Gesta, Y. H. Tseng and C. R. Kahn. Developmental origin of fat: Tracking obesity to its source. *Cell*, 2007, 131(2): 242-256.