

文章编号: 1004-0374(2010)06-0575-04

DNA 断裂因子相似蛋白(CIDE)家族 在甘油三酯代谢中的作用

向梳瑕, 潘志雄, 李亮, 王继文*

(四川农业大学畜禽品种资源发掘与利用重点实验室, 雅安 625014)

摘要: DNA断裂因子相似蛋白(cell-death-inducing DNA-fragmentation-factor-like effector, CIDE)家族包括三个成员: CIDE-A、CIDE-B 和 CIDE-C。小鼠中 CIDE-C 被称为脂肪特异性蛋白 27(fat special protein 27, FSP27), 以前都作为细胞凋亡因子加以研究。近年来研究显示, 敲除了 CIDE-A、CIDE-B、FSP27 的动物都表现出了能量释放增多, 且能够抵抗食物导致的肥胖以及对胰岛素敏感性增强。CIDE 家族定位于内质网、脂滴和线粒体, 参与甘油三酯储存、降解以及分泌代谢, 与肥胖、高血脂、糖尿病、脂肪肝等脂类代谢相关疾病也有着密切关系, 在调控机体脂质代谢平衡方面扮演着重要的角色。该文对 CIDE 家族在甘油三酯代谢方面的作用及其调控的分子机制进行综述。

关键词: 甘油三酯 / 三酰甘油; DNA 断裂因子相似蛋白 A; DNA 断裂因子相似蛋白 B; DNA 断裂因子相似蛋白 C / 脂肪特异性蛋白 27

中图分类号: Q71 文献标识码: A

The role of cell-death-inducing DNA-fragmentation-factor-like effector (CIDE) family in TG metabolism

XIANG Shu-xia, PAN Zhi-xiong, LI Liang, WANG Ji-wen*

(Key Laboratory of Animal Genetic Resources Exploitation and Utilization, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

Abstract: The CIDE (cell-death-inducing DNA-fragmentation-factor-like effector) family proteins, comprising three members, CIDE-A, CIDE-B and CIDE-C, mouse CIDE-C is known as FSP27 (fat special protein 27). Recent studies have shown that animals with deficiency in CIDE-A, CIDE-B and FSP27 all display lean phenotypes with higher energy expenditure and are resistant to diet-induced obesity and insulin resistance. CIDE family has an effect on triglyceride metabolism including triglyceride storage, degradation and secretion through localization on the surface of ER (endoplasmic reticulum lipid), lipid droplets and mitochondria in adipocytes and hepatocytes. Though it was studied as a factor of apoptosis, it plays an important role on the balance of lipid metabolism and lipid metabolism-related diseases such as obesity, hyperlipemia, liver steatosis and insulin sensitivity. In this review, we introduced the study on CIDE family in triglyceride metabolism and the molecular mechanism of the regulation.

Key words: TG/TAG; CIDE-A; CIDE-B; CIDE-C/FSP27

1 CIDE 家族概述

DNA 断裂因子相似蛋白(cell-death-inducing DNA-fragmentation-factor-like effector, CIDE)家族包括 CIDE-A、CIDE-B 和 CIDE-C。小鼠中 CIDE-C 被

收稿日期: 2009-12-25; 修回日期: 2010-02-01
基金项目: 国家水禽产业技术体系项目(nycytx-45-05)
* 通讯作者: Tel: 0835-2885463; E-mail: wjw
2886166@163.com

称为脂肪特异性蛋白27 (fat special protein 27, FSP27), 该家族蛋白因和DNA断裂因子家族同源而得名(表1)。CIDE家族蛋白N端具同源结构域, 有弱的相互作用界面, 属调控结构域; 三个成员C端同源性也达50%以上, 为二聚体形成所必需, 属功能调控区^[1, 2]。CIDE家族三成员存在组织表达差异: 在哺乳动物中, CIDE-A在心脏和肝脏表达较高; 而CIDE-B在肝脏和小肠有高表达; CIDE-C则高表达于肝脏、小肠、心脏、结肠和胃中, 这些组织存在着丰富的脂肪滴。此外, CIDE家族成员在哺乳动物褐色脂肪组织(BAT)和白色脂肪组织(WAT)中高表达^[3-5]。在以前, CIDE家族的研究围绕着DNA降解以及细胞凋亡展开, 它们作为传递凋亡信号天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶级联反应的下游因子, 在诱导细胞凋亡中起着重要作用。该家族成员与甘油三酯代谢也有着非常重要的关系^[6, 7]。本文重点就CIDE家族在甘油三酯代谢中的作用进行综述, 为深入研究该基因家族奠定基础。

2 CIDE家族在甘油三酯代谢中的作用

甘油三酯是储存能量的主要分子, 也是维持生物体正常生理功能的重要物质, 它在脂肪组织、肝脏、小肠和乳腺中占有重要地位。肥胖、高血脂、胰岛素抵抗、脂肪肝变性及高血压等疾病都与甘油三酯代谢机能失调密切相关。

2.1 CIDE-A在甘油三酯代谢中的作用

CIDE-A蛋白普遍存在于哺乳动物脂肪细胞和肝细胞中, 定位在内质网和脂滴表面, 在脂质代谢中发挥着重要的作用。敲除CIDE-A基因后, 小鼠体型变得瘦小, 瘦素及血浆中脂肪水平均降低。CIDE-A^{-/-}小鼠能抵抗食物导致的肥胖, 在饲喂高热量日粮后, 其脂肪含量减少, 体重指数也急剧下降, CIDE-A缺失以后, 脂肪的分解加强, 从而抑制了肥胖的产生。在冷刺激下, CIDE-A^{-/-}小鼠脂肪含量明显减少, CIDE-A在脂肪组织中对控制能量

的释放起着重要的作用。研究发现, CIDE-A还在细胞内脂滴形成过程中扮演重要角色, 初生的脂滴由内质网发展而来, 脂滴形成后, CIDE-A又像保护层一样保护脂滴内甘油三酯免受酯酶降解, 甘油三酯的大量聚集也导致细胞内的多泡小脂滴融合成为单泡大脂滴^[8-10]。CIDE-A蛋白还被认为是褐色脂肪组织的标志性蛋白, 贯穿于褐色脂肪组织线粒体外膜, 与线粒体内膜上解耦联蛋白1(uncoupling protein1, UCP1)结合, 抑制其蛋白活性, 调节能量的产生。CIDE-A的缺失使得UCP1被激活, UCP1作为离子通道, 驱散线粒体呼吸作用时形成的H⁺梯度, 从而加快了呼吸作用并抑制ATP的形成。这种情况下, 甘油三酯水解的同时更多的脂肪酸进入氧化途径, 能量以热能的形式释放出来^[11]。另外, CIDE-A还通过调节褐色脂肪组织中一个控制能量代谢的关键性酶——5'-AMP激活性蛋白激酶(5'-AMP-activated protein kinase, AMPK)的表达水平和活力来调控脂质代谢。CIDE-A可以与AMPK-β亚基相互作用, 增强泛素化介导的AMPK杂合蛋白体降解。CIDE-A^{-/-}小鼠BAT中AMPK蛋白水平以及酶活力都明显上升, 导致该组织中大量脂肪酸进入β氧化。CIDE-A所扮演的控制AMPK稳态以及活力的生理角色在其他组织中比褐色脂肪组织更明显。在肝脏中, 白藜芦醇通过激活肝脏AMPK增强了高热量饮食导致的脂肪肝, 这类药物会明显的下调小鼠肝脏CIDE-A的mRNA水平^[12, 13]。CIDE-A还可以通过O-连接糖基化作用转移到核内, 这表明它可能在核内有着直接的作用^[14]。目前对CIDE-A的功能研究还不够深入, 特别是其在甘油三酯代谢通路中的具体作用还有待于深入研究。

2.2 CIDE-B在甘油三酯代谢中的作用

CIDE-B蛋白是CIDE家族成员之一, 被认为是肝细胞内甘油三酯代谢的重要调控因子之一, 它定位于肝细胞线粒体膜、内质网膜以及脂滴的表面。在CIDE-B^{-/-}小鼠中, 白色脂肪组织数量减少并伴随

表1 人和小鼠CIDE基因基本情况

名称	基因全长	基因定位	内含子/外显子	编码氨基酸数
CIDE-A 人	43 164 bp	18P11. 21	4/5	219
CIDE-A 小鼠	43 164 bp	18E1	4/5	217
CIDE-B 人	6 184 bp	14q12	4/5	219
CIDE-B 小鼠	9 170 bp	14C1	4/5	219
CIDE-C 人	12 343 bp	3p25. 3	4/5	238
FSP27 小鼠	11 120 bp	6E3	4/5	239

着机体代谢增强,可以抵抗食物导致的肥胖以及脂肪肝变性^[15]。CIDE-B^{-/-}小鼠肝细胞脂肪酸的氧化增强,脂肪合成的能力减弱。在肝细胞中,CIDE-B基因敲除后,固醇调节元件结合蛋白(sterol regulatory element-binding proteins1c, SREBP1c)的表达明显下降,同时该蛋白下游蛋白乙酰辅酶A羧化酶2(acetyl-CoA carboxylase2, ACC2)、脂肪酸合成酶(fatty acid synthetase, FAS)和乙酰辅酶A去饱和酶1(stearoyl-coenzyme A desaturase 1, SCD1)的表达也降低。ACC2能够促进乙酰辅酶A转化为丙二酰辅酶A,丙二酰辅酶A抑制肉毒碱棕榈酰基转移酶(carnitine palmityl transferase, CPT)的表达,所以CIDE-B的敲除可以促进CPT基因的表达,进一步使得线粒体的 β 氧化增强。FAS和SCD1的表达降低直接降低了脂肪的合成。然而,对于CIDE-B调控细胞内脂肪酸氧化的具体分子机制需要进一步验证。此外,CIDE-B的敲除使得肝脏胰岛素的敏感性因胰岛素受体底物1(insulin receptor substrate, IRS-1)和蛋白激酶B2(v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 2, AKT2)磷酸化的增强而增强,因此可作为治疗2型糖尿病的一个研究方向^[16]。

除发现CIDE-B在脂肪酸合成和氧化过程中的作用外,还有研究表明,CIDE-B参与肝细胞内甘油三酯的分泌,CIDE-B敲除的小鼠,血液呈清凉透明状,脂类含量少,肝细胞极低密度脂蛋白甘油三酯(very low density lipoprotein-TG, VLDL-TG)的分泌能力减弱,但载脂蛋白B(apoprotein B, apoB)的分泌量没有明显变化^[17]。CIDE-B可能在VLDL合成的第二个阶段起着重要作用,基因敲除后胞内合成的甘油三酯大量储存在肝细胞内,不能很好的用于VLDL的成熟,肝细胞只能分泌匮乏甘油三酯的VLDL。

2.3 FSP27/CIDE-C在甘油三酯代谢中的作用

FSP27/CIDE-C在研究脂肪分化时被发现,只在成熟脂肪细胞和脂肪组织中表达,不在前脂肪细胞及非脂肪细胞中表达。FSP27敲除的MEFs小鼠胚胎成纤维细胞脂滴较小,线粒体活力增加,UCP1、CIDE-A、PPAR α 、Dio2等一些BAT标志性蛋白高表达,更具有分化为BAT细胞的特性^[18,19]。值得一提的是,小鼠FSP27敲除后WAT细胞的线粒体氧化能力增加,耗氧能力是原来的2倍,但BAT细胞的耗氧能力以及线粒体活性有所减少^[20],该差异可能与WAT和BAT本来的生理作用有关,至于具体的机制还需要进一步研究。

此外,FSP27结合在脂滴表面,与单泡大脂

滴的形成有关。通过腺病毒的转染发现,转染入FSP27的小鼠3T3-L1脂肪细胞、COS细胞以及肝细胞甘油三酯含量增加,脂滴数目增多而且形态变大。而敲除FSP27后的小鼠脂肪细胞中单泡大脂滴转化为多泡小脂滴。Perilipin也同被视为脂滴蛋白,与脂滴形成密切相关,但Perilipin的敲除只能使脂滴的形态变小不能形成多泡脂滴^[21-23]。小鼠敲除FSP27后,代谢调控因子FoxC2、PPAR以及PGC-1 α 高表达,体代谢增强,皮下脂肪以及体重指数下降,对过度饮食导致的肥胖有着一定的抵抗作用^[24]。FSP27^{-/-}的小鼠血液中甘油三酯含量减少,游离脂肪酸的含量增多,大量的甘油三酯脂解为脂肪酸(fatty acid, FA)。FSP27的缺失促进 β -肾上腺素能药引起的甘油三酯脂解,增加脂肪酸的释放^[25]。由此看来,研究FSP27在脂代谢中的作用对肥胖的治疗相当有意义。FSP27^{-/-}小鼠血液中胰岛素和葡萄糖的含量都增加,肝细胞和脂肪细胞中与胰岛素信号通路相关的因子如葡萄糖转运子4(glucose transporter4, GLUT4)表达增加,IRS-1和AKT2磷酸化增强^[24,26],调节FSP27表达对2型糖尿病的治疗有一定作用。在人肿瘤研究中发现,CIDE-C在高分化脂肪肉瘤中弥漫高表达,在去分化的细胞中不表达,与脂肪细胞分化和肿瘤的形成有关。

FSP27蛋白可能通过调节一些特殊甘油三酯代谢产物的生成来调节转录因子,如PPAR、LXR以及RAR/RXR的表达,从而影响这些转录因子下游基因的表达。此外,FSP27^{-/-}脂肪细胞的脂解增强可能带来了活性脂肪酸的释放,活性脂肪酸作为重要中间调节物能加快AMPK的合成以及磷酸化,从而促进了脂肪酸在线粒体内氧化为CO₂和H₂O,游离的脂肪酸作为调节因子进入细胞核,促进核内因子PPAR γ 的表达,PPAR γ 诱导FSP27的合成又反馈性的抑制了甘油三酯的降解^[27-29]。进一步说,许多与脂质代谢相关酶类都定位在内质网上和脂滴表面,FSP27以及其他CIDE家族蛋白都可能会通过调控代谢产物的产生来调控这样一些酶类的表达。

3 展望

CIDE-A和FSP27/CIDE-C蛋白在功能上更具有相似性,两者主要在肝细胞以及脂肪细胞中与脂滴结合,同单泡大脂滴的形成、甘油三酯降解密不可分,与降解产物脂肪酸在线粒体中氧化也有着重要关系。CIDE-B作为肝细胞中重要的脂肪代谢调节

因子, 控制肝脂肪积累以及肝细胞的分泌。虽然 CIDE 蛋白在脂质形成过程中的作用已在大量的研究中得到证实, 但它们在控制脂肪组织以及肝细胞中甘油三酯代谢的分子机制尚不明确。在动物育种中, 脂肪沉积是一个重要选育性状, CIDE 家族蛋白新功能的发现可以使 CIDE 基因作为遗传育种以及生产的候选基因, 为优良品种选育做出重要贡献。本实验室利用 SSH 技术筛选出了鹅 CIDE-A 和 FSP27 基因, 该重要成果为鹅肝脏脂肪沉积机理研究开辟了一条新的途径, 对以后的鹅肥肝生产研究也有着重要的意义。近年来, 肥胖及与之相关的代谢疾病, 如 2 型糖尿病、动脉硬化、脂肪肝正威胁着人类的健康, 并在全球表现出急剧增长的态势, CIDE 家族的研究可以让这样一些功能性蛋白作为治疗这些疾病的新的靶点。

[参 考 文 献]

- [1] Inohara N, Kosek T, Chen S, et al. CIDE, a novel family of cell death activators with homology to the 45 kDa subunit of the DNA fragmentation factor. *EMBO J*, 1998, 17 (9): 2526-33
- [2] Inohara N, Nunez G. Genes with homology to DFF/CIDEs found in *Drosophila melanogaster*. *Cell Death Differ*, 1999, 6(12): 823-4.
- [3] Saddik M, Lopaschuk GD. Myocardial triglyceride turnover and contribution to energy substrate utilization in isolated working rat hearts. *J Biol Chem*, 1991, 266(13): 8162-70
- [4] Danesch U, Hoeck W, Ringold GM. Cloning and transcriptional regulation of a novel adipocyte-specific gene, FSP27. *J Biol Chem*, 1992, 267(10): 7185-93
- [5] Jensen PK, Kofod B. Isolation from beef-heart homogenate of a particulate lipoprotein containing β -carotene. *Biochim Biophys Acta*, 1966, 116(3): 579-82
- [6] Wu CY, Zhang YX, Sun Z, et al. Molecular evolution of cide family proteins: novel domain formation in early vertebrates and the subsequent divergence. *BMC Evol Biol*, 2008, 8(159): 1186-93
- [7] Williams PM, Chang DJ, Danesch U, et al. CCAAT/enhancer binding protein expression is rapidly extinguished in 3T3 adipocyte cells treated with tumor necrosis factor. *Mol Endocrinol*, 1992, 6(7): 1135-41
- [8] Puri V, Ranjit S, Konda S, et al. Cidea is associated with lipid droplets and insulin sensitivity in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(22): 7833-8
- [9] Kelder B, Berryman DE, Clark R, et al. CIDE-A gene expression is decreased in white adipose tissue of growth hormone receptor/binding protein gene disrupted mice and with high-fat feeding of normal mice. *Growth Horm IGF Res*, 2007, 17(4): 346-51
- [10] Li P. Cidea, brown fat and obesity. *Mech Ageing Dev*, 2004, 125(4): 337-8
- [11] Lin SC, Li P. CIDE-A, a novel link between brown adipose tissue and obesity. *Trends Mol Med*, 2004, 10(9): 434-9
- [12] Baur JA, Pearson KJ, Price NL, et al. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature*, 2006, 444(16): 337-42
- [13] Zhou Z, Toh SY, Chen Z, et al. Cidea-deficient mice have lean phenotype and are resistant to obesity. *Nat Genet*, 2003, 35(1): 49-56
- [14] Iwahana H, Yakymovych I, Dubrovskaya A, et al. Glycoproteome profiling of transforming growth factor- β (TGF β) signaling: nonglycosylated cell death-inducing DFF-like effector A inhibits TGF β 1-dependent apoptosis. *Proteom. 2006*, 6(23): 6168-80
- [15] Li JZ, Li P. Cide proteins and the development of obesity. *Novartis Found Symp*, 2007, 286: 155-61
- [16] John ZL, Ye J, Xue B, et al. Cideb regulates diet-induced obesity, liver steatosis, and insulin sensitivity by controlling lipogenesis and fatty acid oxidation. *Diabetes*, 2007, 56(10): 2523-32
- [17] Li JZ, Ye J, Xue B et al. cideb, an ER- and lipid droplet-associated protein, mediates VLDL lipidation and maturation by interacting with apolipoprotein B. *Cell Metab*, 2009, 9(2): 177-90
- [18] Carmen GY, Victor SM. Signalling mechanisms regulating lipolysis. *Cell Signal*, 2006, 18(4): 401-8
- [19] Toh SY, Gong J, Du G, et al. Up-Regulation of mitochondrial activity and acquisition of brown adipose tissue-like property in the white adipose tissue of Fsp27 deficient mice. *PLoS ONE*, 2008, 3(8): 2890-7
- [20] Nishino N, Tamori Y, Tateya S, et al. FSP27 contributes to efficient energy storage in murine white adipocytes by promoting the formation of unilocular lipid droplets. *J Clin Invest*, 2008, 118(8): 2808-21
- [21] Puri V, Konda S, Konda S, et al. Fat-specific protein 27, a novel lipid droplet protein that enhances triglyceride storage. *Biol Chem*, 2007, 282(47): 34213-8
- [22] Puri V, Czech MP. Lipid droplets: FSP27 knockout enhances their sizzle. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 118(8): 2693-6
- [23] Tansey JT, Sztalryd C, Gruia-Gray J, et al. Perilipin ablation results in a lean mouse with aberrant adipocyte lipolysis, enhanced leptin production, and resistance to diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(11): 6494-9
- [24] Hansen JB, Kristiansen K. Regulatory circuits controlling white versus brown adipocyte differentiation. *Biochem J*, 2006, 398(2): 153-68
- [25] Matsusue K, Kusakabe T, Noguchi T, et al. Hepatic steatosis in leptin-deficient mice is promoted by the PPAR target gene Fsp27. *Cell Metab*, 2008, 7(4): 302-11
- [26] Björn M, Anders G, Camilla AM, et al. Cell death-inducing DFF45-like effector C is reduced by caloric restriction and regulates adipocyte lipid metabolism. *Metab Clin Exp*, 2008, 57(9): 1307-13
- [27] Liang L, Liu K, Zhou S, et al. Molecular cloning and characterization of CIDE-3, a novel member of the cell-death-inducing DNA-fragmentation-factor (DFF45)-like effector family. *Biochem J*. 2003, 370(1): 195-203
- [28] Kim JY, Liu K, Zhou S, et al. Assessment of fat specific protein 27 (FSP27) in the Adipocyte lineage suggests a dual role for fsp27 in adipocyte metabolism and cell death. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2008, 294(4): 654-67
- [29] Puri V, Virbasius JV, Guilherme A, et al. RNAi screens reveal novel metabolic regulators: RIP 140, MAP4k4 and the lipid droplet associated fat specific protein (FSP) 27. *Acta Physiol*, 2008, 192(1) 103-15