

DOI: 10.13376/j.cbls/20180603

文章编号: 1004-0374(2018)07-0779-05

脂肪组织中自噬与肥胖关系的研究进展

王巍巍, 邓德剑, 李秋明, 张喜梅*

(哈尔滨医科大学组织学与胚胎学教研室, 哈尔滨 150081)

摘要: 肥胖已成为 21 世纪影响全球人类健康的主要危险因素之一, 其本质之一是脂肪组织发生的慢性炎症状态。而自噬是一种分解机制, 可主动降解细胞内一些物质, 如衰老或失能的细胞器和大分子物质, 因此自噬在改善肥胖者的脂肪组织炎症状态方面发挥着重要作用。现就自噬的基本过程及分子机制、脂肪组织中自噬与肥胖关系的研究进展作一概述。

关键词: 自噬; 肥胖; 脂肪组织; 炎症

中图分类号: R329.28 **文献标志码:** A

Research progress between autophagy and obesity in adipose tissue

WANG Wei-Wei, DENG De-Jian, LI Qiu-Ming, ZHANG Xi-Mei*

(Department of Histology and Embryology, Harbin Medical University, Harbin 150081, China)

Abstract: Obesity has become one of the major global threats of human health in the 21st century, which results from chronic inflammatory state presenting in adipose tissue. Autophagy promotes the orderly degradation of intracellular components, such as decrepit or disabled organelles and macromolecular substances, which is a conservative process playing a critical role in improving chronic inflammatory state in obese people. In this paper, we summarize the research advances on basic processes and molecular mechanisms of autophagy, and the correlation between autophagy and obesity in adipose tissue.

Key words: autophagy; obesity; adipose tissue; inflammation

自噬是发生在所有真核细胞内的一种溶酶体依赖性降解途径。在此过程中, 进行配合的蛋白质复合物被有序地引入到吞噬组装机点, 导致自噬体的双膜囊泡伸长和闭合, 最终使得细胞质成分被运送至溶酶体内进行降解^[1]。游离脂肪酸、核苷酸、氨基酸和一些在自噬溶酶体内降解所产生的小分子物质可被再利用, 从而维持真核细胞内环境的稳定性^[2-3]。肥胖是一种慢性代谢性疾病, 主要表现为体内脂肪过多而且分布不均。脂肪组织是机体能量代谢的核心, 当体内能量代谢处于正平衡时, 将导致脂肪组织过度积累, 造成脂肪组织的功能和分布异常, 引发许多与肥胖有关的代谢疾病。伴随着肥胖发生, 在趋化因子、炎性细胞因子和脂肪因子的驱动下, 免疫细胞渗入脂肪组织, 导致脂肪组织中慢性炎症的发生和发展^[4]。而细胞自噬也是一个高度被调节的过程, 受游离脂肪酸、营养、激素、炎

性因子等多种因素调节。因此, 细胞自噬功能失调将会在各种疾病的病理生理过程中扮演重要的角色。本文将概述细胞自噬的发生过程及其分子机制, 并详细介绍自噬与肥胖时脂肪组织炎症之间的调节关系。

1 细胞自噬的基本过程和分子机制

“自噬”的概念由比利时科学家 Christia de Duve 于 1963 年提出^[5], 是指将一些受损失能的细胞器、错误折叠的大分子胞质物质经双层囊泡包裹,

收稿日期: 2017-10-31; 修回日期: 2018-04-04

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(81302420); 黑龙江省留学归国人员科学基金项目(LC2015028); 黑龙江省博士后科研启动金(LBH-Q15084)

*通信作者: E-mail: ximei1119@126.com

运送至溶酶体进行降解、循环利用的过程。根据包裹物及运输方式的不同,可将细胞自噬大致分为巨自噬 (macroautophagy)、小自噬 (microautophagy) 和分子伴侣介导参与的自噬 (chaperone-mediated autophagy, CMA)^[6]。巨自噬是指通过形成双层膜自噬体来隔离需要降解的胞质物质,并将其转运至溶酶体中进行降解。巨自噬是研究最透彻、最经典的一种自噬方式,本文涉及的“自噬”均指巨自噬。自噬是一系列连续变化过程,包括自噬泡膜集结、自噬泡膜延伸、自噬体形成,以及自噬溶酶体形成和降解等阶段^[7]。

Yoshinori Ohsumi 教授发现了自噬的分子机制,并于 2016 年获得诺贝尔生理学或医学奖^[8]。自噬途径高度保守,受自噬相关基因 (autophagy-related gene, Atg) 的调控;自噬同时受到营养物和生长因子敏感信号转导通路的调节,包括雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 和 5'-磷酸腺苷激活的蛋白激酶 (5'-adenosine monophosphate (AMP) - activated protein kinase, AMPK) 信号转导通路^[9-10]。在细胞营养不足或饥饿的状态下, mTOR 的活性受到抑制,进而诱导自噬的发生。AMPK 是一种保守的、多功能的丝/苏氨酸蛋白激酶,可在能量发生变化、缺血缺氧、氧化应激以及营养物质匮乏等情况下被激活,进而抑制 mTOR,然后激活 UNC51 样激酶 1/2 (Unc51-like kinase1/2, ULK1/2) 复合物,启动自噬^[11]。哺乳动物中磷脂酰肌醇-3-激酶 (vacuolar protein sorting 34, VPS34)、III 类磷脂酰肌醇-3-激酶 (a class III phosphatidylinositol-3-kinase, PI3KC III) 可与 Beclin1 (Atg6) 相互作用,从而参与自噬囊泡形成,并通过 Beclin1 复合物生成磷脂酰肌醇-3-磷酸 (phosphatidylinositol-3-phosphate, PI3P) 来调节自噬体形成^[12]。最近的研究已经阐明了 ULK1/2 与 Beclin1 复合物之间的功能联系。饥饿或 mTOR 被抑制可激活 ULK1,从而磷酸化 Beclin1 的 Ser14 位点,增强 PI3KC III 的活性,最终引发自噬^[13]。自噬体的进一步延伸受到两种泛素样共轭系统的控制: Atg5-Atg12 共轭系统和 Atg8 共轭系统。在哺乳动物中,微管相关蛋白-1 轻链 3 (microtubule-associated protein-1 light chain 3, LC3) 是酵母自噬相关基因 Atg8 的同源体, LC3/Atg8 的 C 端被 Atg4 蛋白酶酶切后生成 LC3 I, LC3 I 与磷脂酰乙醇胺以泛素样反应的方式连接后转化为 LC3 II, LC3 II 可插入到延伸的自噬前体膜中^[14]。

自噬在调节细胞功能方面发挥着多种不同的作

用,包括炎症调节以及先天和适应性免疫调节,如淋巴细胞增生、抗原呈递、抗体产生和细菌清除等^[15]。越来越多的证据表明,自噬可以影响人类疾病包括癌症、神经变性疾病、肺病、肝病、肾病以及心血管系统疾病等的发病。目前的研究正集中于探索自噬在代谢性疾病(如糖尿病、胰岛素抵抗和肥胖)的发病机制中所起到的作用^[16]。

2 脂肪组织中的自噬与肥胖的关系

2.1 自噬与脂肪细胞的分化

脂肪组织已被认为是内分泌器官和能量储库,可调节代谢稳态^[17]。脂肪组织的发育和功能维持依赖于脂肪细胞的分化,其中自噬起着重要的作用。已有研究表明,自噬缺陷能够抑制脂肪细胞分化,损害脂肪组织的发育,使脂肪因子分泌失调,甚至在幼小动物中引起猝死^[17]。

2.2 肥胖时自噬基因在脂肪组织中表达的变化

肥胖的主要特点是脂肪组织的扩展,主要体现在脂肪细胞数量和(或)大小的增加。当机体能量的摄入量超过消耗量时,过剩的能量便以甘油三酯的形式储存于脂肪细胞中。在肥胖状态下,脂肪细胞的自噬活动将不可避免地发生改变。2011年, Kovsan 等^[18]发现, BMI 为 32 kg/m² 的肥胖成年人脂肪细胞中, LC3 II 的蛋白表达水平显著高于 BMI 为 22 kg/m² 的健康成人,且 LC3 II 的蛋白表达水平与 BMI 指数呈正相关;同时,肥胖者内脏脂肪细胞中 LC3 II、Atg5 和 P62 的蛋白表达水平均高于皮下脂肪细胞。提示肥胖者脂肪细胞中的自噬活动处于活跃状态,并且在自噬的活化程度上存在脂肪库差异性。由于 P62 可以被自噬专一性降解,因此可用来反映自噬流的情况。使用自噬抑制剂巴弗洛霉素 A1 和亮抑酶肽处理脂肪组织后, P62 蛋白在脂肪组织中的表达增加^[18]。肥胖者内脏脂肪组织中 Atg5、LC3 I 和 LC3 II mRNA 的表达水平高于偏瘦体重重组,而且 Atg5 mRNA 水平和 BMI 呈正相关^[4]。2015年, Kosacka 等^[19]的研究也得到了相似的结果:通过透射电子显微镜检测发现,在肥胖者皮下和内脏脂肪组织中的脂肪细胞内有大量的自噬体,而偏瘦体重个体中未检测到;同时,通过免疫荧光检测发现,肥胖者皮下和内脏脂肪库中自噬标记物 LC3 信号高于偏瘦体重重组,并且自噬相关蛋白 Atg5/12 复合体的表达水平分别高于偏瘦体重重组 2 倍和 4 倍。2018年, Kosacka 等^[20]通过蛋白质印迹分析发现,肥胖的 WOKW 大鼠的内脏和皮下脂

肪细胞中自噬标记物 Atg5/12 和 LC3 II 蛋白表达水平增加, 同时内脏脂肪细胞 mTOR 蛋白表达明显下降。以上结果表明: 肥胖者脂肪细胞中的自噬活动明显增强, 且在内脏脂肪细胞中显著高于皮下脂肪细胞。

然而, 2012 年, Yoshizaki 等^[21]报道, 在正常饮食小鼠的脂肪组织中检测到 GFP-LC3 为散点状分布, 而高脂饮食小鼠的脂肪组织中未检测到 GFP-LC3 信号。由于自噬抑制剂氯喹可抑制自噬体与溶酶体融合, 从而导致自噬体内外膜上的 LC3 降解被抑制, 因此, 当给小鼠注射氯喹后, 正常饮食小鼠的脂肪组织中 GFP-LC3 信号增加; 然而, 高脂饮食小鼠脂肪细胞的胞质中仅检测到 GFP-LC3 信号微弱表达, 表明肥胖时自噬被抑制。与此同时, Yoshizaki 等^[21]在离体培养肥大的 3T3-L1 脂肪细胞时发现, 溶酶体相关膜蛋白 (lysosomal-associated membrane proteins, LAMPs) 中 LAMP1、LAMP2 以及 Atg5 等自噬相关基因表达减少, 提示在肥胖状态下脂肪细胞自噬活动受到抑制。

形成以上不同实验结果的主要原因可能是与实验研究对象的种属来源不同有关; 其次, 有可能是评价肥胖的标准不一致, 肥胖程度的不同对胞内自噬的影响可能也不同。就目前已有的研究来看, 更多的结果倾向于在肥胖脂肪组织中自噬活动是增强的。

3 自噬与肥胖时脂肪组织炎症的关系

3.1 肥胖引发脂肪组织炎症

肥胖的特征之一是低度的慢性炎症^[22]。正常情况下, 脂肪细胞中的甘油三酯能够被分解成脂肪酸和甘油。而在肥胖状态下, 脂肪分解活动增强, 过量的脂肪酸聚集在胰岛素敏感组织中, 并破坏胰岛素的功能, 导致胰岛素抵抗; 在改变脂肪组织分泌特征的同时, 脂肪细胞合成和分泌大量细胞因子和趋化因子, 如瘦素、脂联素和内脂素^[23]; 同时, 脂肪组织中浸润的炎性细胞释放肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1) 和 IL-1 等细胞因子。所有的这些分子作用于局部和全身性的免疫细胞, 促进了炎症的发生。白色脂肪组织是肥胖相关炎症发生的主要部位^[22]。另有文献报道, 前脂肪细胞在衰老过程中功能的变化将会破坏脂肪组织的正常生理活动, 包括成脂能力降低、脂毒性敏感性增

加、促炎细胞因子和趋化因子分泌增加等, 最终发展为脂肪组织慢性炎症^[24]。另外, 脂肪组织衰老时内质网应激反应增强能够加剧炎症反应^[25], 并且脂肪组织中自噬功能受损亦可导致内质网应激增强和炎症反应的发生^[26]。

3.2 自噬与肥胖时脂肪组织炎症的相互调节

最近的研究表明, 肥胖者脂肪组织中炎症因子的产生是由自噬介导和调节的^[4,19-20,27-28]。目前所报道的关于肥胖状态下脂肪细胞中自噬活性变化的研究结果并不一致。有文献报道, 自噬活动增强可以抑制炎症因子分泌^[4]。自噬活性在肥胖者的脂肪组织中上调, 肥胖个体皮下脂肪组织中自噬标记物 LC3 的蛋白表达水平高于偏瘦体重组, 并且与胰岛素抵抗程度和脂肪组织炎症水平呈正相关^[4]。用自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤 (3-methyladenine, 3-MA) 处理离体培养的人和小鼠脂肪组织, 可以观察到 IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 mRNA 表达水平和蛋白质分泌水平显著增高^[4]。在肥胖个体中, 抑制自噬可导致 IL-1 β 、IL-6 和角质细胞趋化因子 (keratinocyte-derived chemoattractant, KC) 的表达水平显著增高^[4]。在过度生长综合征患者的脂肪细胞中, 应用 siRNA 靶向干扰 Atg7 从而抑制自噬, 可以观察到以上相似的结果^[4]。在肥胖者的脂肪组织中, 可通过激活钙蛋白酶或 mTOR 抑制 AMPK 的活性, 从而抑制自噬通量, 引起 IL-1 β 和 IL-18 蛋白表达水平增高, 最终导致炎症^[27]。以上结果表明, 肥胖个体的脂肪组织中自噬活动增强, 而自噬可起到抑制炎症基因表达的作用, 从而控制脂肪组织炎症^[4]。目前对于自噬能抑制脂肪组织炎症基因表达的相关机制还不明确, 其中有一种可能的机制为: 脂肪细胞内自噬活动增强, IL-1 前体降解增多, 从而导致 IL-1 蛋白分泌水平下降^[28]。然而另有研究表明, 自噬活动增强可以促进炎症因子分泌^[19-20]。Kosacka 等^[19]研究发现, 在肥胖者的脂肪组织中, 自噬活动增强, 引起促炎细胞因子表达增多。与偏瘦体重组相比, 肥胖者的皮下脂肪组织和内脏脂肪组织中 TNF- α 和 IL-6 蛋白表达水平增加, IL-10 蛋白表达水平降低, 且内脏脂肪组织中的炎性蛋白表达变化更明显^[19]。该结果表明, 肥胖时自噬活性与脂肪组织中炎症因子的表达呈正相关。Kosacka 等^[20]还发现, 自噬活动在肥胖的 WOKW 大鼠内脏脂肪细胞中明显增强, 且 MCP-1 和 TNF- α 蛋白表达水平增加, 而脂联素蛋白表达水平降低。通过使用 LY294002 抑制 PI3K 信号转导通路来抑制自噬活性后, 肥胖的 WOKW

大鼠内脏脂肪细胞中 MCP-1 和 TNF- α 蛋白表达水平显著降低, 而脂联素蛋白表达水平增加。由此可见, 自噬既可以介导抗炎信号激活, 又可以介导促炎信号激活^[29]。

自噬对炎症发挥调节作用的同时, 炎症反过来也会调节自噬的活性。肥胖时 NLRP3 (NOD-, LRR- and pyrin domain-containing 3) 炎性体的表达水平升高, 构成了肥胖相关炎症的主要决定因素之一^[30]。虽然自噬可以调控 NLRP3 的表达水平, 但有证据表明, NLRP3 可作为 mTOR 的结合伴侣, 两者相互作用可以抑制自噬活动^[31], 且有文献报道称 NLR 家族成员可能与 Beclin1 联合负性调节自噬^[32]。NLRP4 与 VPS 复合物之间的相互作用可阻断自噬体与溶酶体融合形成自噬溶酶体, 从而抑制自噬^[33]。由此可见, 自噬与炎症是双向调节的。

4 总结

细胞自噬作为保守的亚细胞过程, 可促进能源物质循环利用, 保护细胞免受损害, 在组织稳态调节过程中起着复杂而重要的作用。自噬通过调节脂肪细胞的数量和(或)大小来调节肥胖以及脂肪组织的炎症。而对脂肪组织而言, 肥胖的过程也是脂肪细胞自噬发生改变的过程。目前肥胖状态下有关脂肪细胞自噬的研究结论不一致, 而本课题组的研究正集中于脂肪细胞中氧化应激产物对自噬活性的影响, 以及其与炎性因子表达之间的关系。研究发现, 自噬、肥胖与炎症三者之间相互影响, 通过特定信号通路相互调控, 在一定范围内保持平衡状态; 一旦平衡被打乱, 就可能导致各种各样疾病的发生, 如代谢紊乱综合征、高脂血症、糖尿病和心血管疾病等。因此, 自噬调控可能会成为肥胖相关疾病中新的治疗策略, 但相关作用机制仍需进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] Lippai M, Szatmari Z. Autophagy-from molecular mechanisms to clinical relevance. *Cell Biol Toxicol*, 2017, 33: 145-68
- [2] Yang Z, Klionsky DJ. An overview of the molecular mechanism of autophagy. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2009, 335: 1-32
- [3] Abounit K, Scarabelli TM, McCauley RB. Autophagy in mammalian cells. *World J Biol Chem*, 2012, 3: 1-6
- [4] Jansen HJ, Van Essen P, Koenen T, et al. Autophagy activity is up-regulated in adipose tissue of obese individuals and modulates proinflammatory cytokine expression. *Endocrinology*, 2012, 153: 5866-74
- [5] Ericsson JL. Studies on induced cellular autophagy: II. Characterization of the membranes bordering autophagosomes in parenchymal liver cells. *Exp Cell Res*, 1969, 56: 393-405
- [6] Rogov V, Dotsch V, Johansen T, et al. Interactions between autophagy receptors and ubiquitin-like proteins form the molecular basis for selective autophagy. *Mol Cell*, 2014, 53: 167-78
- [7] He C, Klionsky DJ. Regulation mechanisms and signaling pathways of autophagy. *Annu Rev Genet*, 2009, 43: 67-93
- [8] Walton EL. Food for thought: autophagy researcher wins 2016 Nobel Prize in Physiology or Medicine. *Biomed J*, 2017, 40: 1-4
- [9] Noda NN, Inagaki F. Mechanisms of autophagy. *Annu Rev Biophys*, 2015, 44: 101-22
- [10] Alers S, Loffler AS, Wesselborg S, et al. Role of AMPK-mTOR-Ulk1/2 in the regulation of autophagy: cross talk, shortcuts, and feedbacks. *Mol Cell Biol*, 2012, 32: 2-11
- [11] Egan DF, Shackelford DB, Mihaylova MM, et al. Phosphorylation of ULK1 (hATG1) by AMP-activated protein kinase connects energy sensing to mitophagy. *Science*, 2011, 331: 456-61
- [12] He C, Levine B. The beclin 1 interactome. *Curr Opin Cell Biol*, 2010, 22: 140-9
- [13] Russell RC, Tian Y, Yuan H, et al. ULK1 induces autophagy by phosphorylating Beclin-1 and activating VPS34 lipid kinase. *Nat Cell Biol*, 2013, 15: 741-50
- [14] Feng Y, He D, Yao Z, et al. The machinery of macroautophagy. *Cell Res*, 2014, 24: 24-41
- [15] Boya P, Reggiori F, Codogno P. Emerging regulation and functions of autophagy. *Nat Cell Biol*, 2013, 15: 713-20
- [16] Wang F, Jia J, Rodrigues B. Autophagy, metabolic disease, and pathogenesis of heart dysfunction. *Can J Cardiol*, 2017, 33: 850-9
- [17] Tao Z, Liu L, Zheng LD, et al. Autophagy in adipocyte differentiation. *Methods Mol Biol*, 2017 [Epub ahead of print]
- [18] Kovsan J, Bluher M, Tarnowski T, et al. Altered autophagy in human adipose tissues in obesity. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96: E268-77
- [19] Kosacka J, Kern M, Klötting N, et al. Autophagy in adipose tissue of patients with obesity and type 2 diabetes. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 409: 21-32
- [20] Kosacka J, Nowicki M, Paeschke S, et al. Up-regulated autophagy: as a protective factor in adipose tissue of WOKW rats with metabolic syndrome. *Diabetol Metab Syndr*, 2018, 10: 13
- [21] Yoshizaki T, Kusunoki C, Kondo M, et al. Autophagy regulates inflammation in adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 417: 352-7
- [22] Engin A. The pathogenesis of obesity-associated adipose tissue inflammation. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 960: 221-45
- [23] Morigny P, Houssier M, Mouisel E, et al. Adipocyte lipolysis and insulin resistance. *Biochimie*, 2016, 125: 259-66
- [24] Cartwright MJ, Schlauch K, Lenburg ME, et al. Aging,

- depot origin, and preadipocyte gene expression. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2010, 65: 242-51
- [25] Ghosh AK, Garg SK, Mau T, et al. Elevated endoplasmic reticulum stress response contributes to adipose tissue inflammation in aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2015, 70: 1320-9
- [26] Ghosh AK, Mau T, O'Brien M, et al. Impaired autophagy activity is linked to elevated ER-stress and inflammation in aging adipose tissue. *Aging*, 2016, 8: 2525-37
- [27] Zhong Z, Sanchez-Lopez E, Karin M. Autophagy, inflammation, and immunity: a troika governing cancer and its treatment. *Cell*, 2016, 166: 288-98
- [28] Harris J, Hartman M, Roche C, et al. Autophagy controls IL-1 β secretion by targeting pro-IL-1 β for degradation. *J Biol Chem*, 2011, 286: 9587-97
- [29] Wang Y, Li Y, Yin J, et al. Autophagy regulates inflammation following oxidative injury in diabetes. *Autophagy*, 2013, 9: 272-7
- [30] Cordero MD, Williams MR, Ryffel B. AMP-activated protein kinase regulation of the NLRP3 inflammasome during aging. *Trends Endocrinol Metab*, 2018, 29: 8-17
- [31] Cosin-Roger J, Simmen S, Melhem H, et al. Hypoxia ameliorates intestinal inflammation through NLRP3/mTOR downregulation and autophagy activation. *Nat Commun*, 2017, 8: 98
- [32] Jounai N, Kobiyama K, Shiina M, et al. NLRP4 negatively regulates autophagic processes through an association with beclin1. *J Immunol*, 2011, 186: 1646-55
- [33] Lapaquette P, Guzzo J, Bretillon L, et al. Cellular and molecular connections between autophagy and inflammation. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015: 1-13