

DOI: 10.13376/j.cbls/2021049

文章编号: 1004-0374(2021)04-0449-11

## NR4A1调控系统糖脂代谢的分子机制

张素素<sup>1,2</sup>, 印遇龙<sup>1,4</sup>, 孙嘉<sup>2</sup>, 陈宏<sup>2</sup>, 谢黎炜<sup>1,2,3\*</sup>

(1 广东省科学院微生物研究所, 广东省菌种保藏与应用重点实验室, 华南应用微生物国家重点实验室, 广州 510070; 2 南方医科大学, 珠江医院内分泌代谢科, 广州 510280; 3 新乡医学院公共卫生学院, 新乡453003; 4 中国科学院亚热带农业生态研究所, 长沙 410125)

**摘要:** 系统性糖脂代谢紊乱是2型糖尿病、肥胖、非酒精性脂肪性肝病等代谢综合征的主要病理生理学改变。孤儿核受体家族成员NR4A1广泛表达于糖和脂质代谢旺盛的组织, 例如: 肝、脂肪和肌肉等组织, 在不同组织或细胞中, NR4A1通过不同靶点, 例如: AMPK、PPAR $\gamma$ 、SREBP1c等参与机体糖脂代谢的调控。然而, NR4A1介导的系统糖脂代谢的调控机理目前仍存在很大争议, 大部分研究认为NR4A1的表达具有降糖、降脂的作用, 亦有研究认为NR4A1的表达促进脂肪生成。基于目前NR4A1参与机体糖脂代谢的研究, 现对NR4A1在肝脏、脂肪和肌肉中参与葡萄糖和脂质代谢调控的分子机制进行总结。

**关键词:** 代谢性疾病; NR4A1; 糖脂代谢; 2型糖尿病; 肥胖

**中图分类号:** Q516; R589 **文献标志码:** A

## NR4A1 regulates systemic glucose and lipid metabolism

ZHANG Su-Su<sup>1,2</sup>, YIN Yu-Long<sup>1,4</sup>, SUN Jia<sup>2</sup>, CHEN Hong<sup>2</sup>, XIE Li-Wei<sup>1,2,3\*</sup>

(1 State Key Laboratory of Applied Microbiology Southern China, Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Institute of Microbiology, Guangdong Academy of Sciences, Guangzhou 510070, China; 2 Department of Endocrinology and Metabolism, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510070, China; 3 School of Public Health, Xinxiang Medical College, Xinxiang 453003, China; 4 Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China)

**Abstract:** Glucose and lipid metabolic disorders are the main pathophysiological changes of metabolic syndrome such as type 2 diabetes mellitus (T2DM), obesity, and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). The orphan nucleus receptor NR4A1 is widely expressed in different organs or tissues such as liver, adipose tissue and muscle, where glucose and lipid are metabolized. In different tissues or cells, NR4A1 participates in the body's glucose and lipids metabolism via different targets or molecules, such as AMPK, PPAR $\gamma$ , SREBP1c, etc. The regulation of NR4A1 on glucose and lipid metabolism is complex, leading to diverse and controversial conclusions. Most studies concluded that the expression of NR4A1 has the beneficial effect of reducing blood glucose and lipid, and some researchers found that the expression of NR4A1 promotes lipogenesis. Based on the current researches on NR4A1's involvement in the metabolism of glucose and lipid in the body, this article retrospectively summarizes the involvement of NR4A1 in the regulation of glucose and lipid metabolism in liver, fat and muscle.

**Key words:** metabolic diseases; NR4A1; glycolipid metabolism; type 2 diabetes; obesity

随着社会发展、人民生活质量提高、生活方式转变以及人口老龄化的加剧, 2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)、肥胖、非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)等代谢性

收稿日期: 2020-10-29; 修回日期: 2020-11-19

基金项目: 广东省基础与应用基础研究基金项目(2020B1515020046); 国家自然科学基金项目(81900797, 82072436); 广东省科学院发展专项资金项目(2016GDASRC-0202, 2018GDASCX-0102)

\*通信作者: E-mail: xielw@gdim.cn

疾病的发病率呈高速增长趋势, 成为威胁人类健康的重要慢性疾病。葡萄糖代谢异常与胰岛素抵抗和T2DM密切相关, 脂质代谢异常是肥胖、NAFLD发生发展的重要进程。肝脏、脂肪、肌肉等外周组织是葡萄糖和脂质代谢的主要代谢器官, 在维持机体糖脂代谢稳态方面起到至关重要的作用。核受体(nuclear receptors, NRs)超家族具有感知机体内分泌代谢信号并将其转化为特定基因表达程序的能力, 成为治疗T2DM、肥胖等慢性疾病的潜在靶标。其中NR4A孤核受体亚家族是NRs超家族中在进化上最古老的成员, 哺乳动物中NR4A亚家族成员包括NR4A1、NR4A2和NR4A3<sup>[1]</sup>。NR4A受体的配体尚不明确, 其受调控的靶基因及生理功能取得了较大的进展, 目前认为其不需要依赖配体发挥作用。NR4A亚家族中NR4A1在各个器官组织中表达分布最为广泛, 特别是在能量代谢旺盛的组织器官中<sup>[2]</sup>, 研究发现, NR4A1在机体中同时具有调节脂质和葡萄糖代谢等作用<sup>[3]</sup>, 但在不同组织中通过不同靶标产生的作用可能不同甚至截然相反。本文回顾性总结了NR4A1调控机体糖脂代谢的分子机制和作用机理。

## 1 NR4A1

NR4A1也被称为NUR77、NGFI-B、N10、NAK-1、TIS1、3CH77和TR3<sup>[3]</sup>, 可被多种病理及生理刺激迅速而短暂地诱导表达, 包括脂肪酸、前列腺素、细胞因子、肽激素、神经递质、压力和寒冷刺激等<sup>[4-5]</sup>。1988年, Milbrandt<sup>[6]</sup>在大鼠嗜铬细胞瘤细胞系PC12中首次发现NGFI-B, 并确定了其核苷酸序列。NR4A核受体包含N末端激活功能结构域、中心DNA结合结构域(DNA-binding domain, DBD)和C末端配体结合结构域(ligand-binding domain, LBD)。NR4A1通过结合NGFI-B共有反应元

件(NBRE, AAAGGTCA)启动基因转录, 其以组织特异性方式调节不同的细胞过程。其在不同组织中表达具有一定的差异, 但在代谢活跃的组织器官中高表达, 如肌肉、脂肪和肝脏等<sup>[3-7]</sup>。研究表明, NR4A1表达水平与T2DM患者的慢性低度炎症状态、糖脂代谢紊乱相关, T2DM患者外周血单核细胞中NR4A1表达上调, 并与评估胰岛素抵抗的稳态模型(HOMA-IR)、空腹血糖、空腹胰岛素水平、游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)、TNF- $\alpha$ 、IL-6等呈正相关<sup>[8]</sup>。Tessem等<sup>[9]</sup>发现, 小鼠敲除NR4A1后胰岛细胞数量下降、 $\beta$ 细胞增殖减少, 其对同源框转录因子NK6同源框1(homeobox transcription factor NK6 homeobox 1, Nkx6.1)介导的 $\beta$ 细胞发育至关重要, Nkx6.1和NR4A受体的过表达导致细胞周期关键诱导因子E2F转录因子1和细胞周期蛋白(cyclin)E1的表达增加。此外, NR4A1敲除导致线粒体脱氢酶亚单位Idh3g和SDHB的表达减少, NR4A1缺失会阻碍ATP的产生, 进而抑制葡萄糖刺激的胰岛素分泌<sup>[7]</sup>, 这些数据证明NR4A1对 $\beta$ 细胞线粒体功能和胰岛素分泌至关重要。目前对NR4A1的研究中, 常用实验动物模型为NR4A1全身性敲除、过表达或组织特异性敲除小鼠, 基本表型概况见表1<sup>[2, 10-19]</sup>。

## 2 NR4A1调控机体葡萄糖代谢

### 2.1 NR4A1调控肝脏葡萄糖代谢

肝脏在糖代谢过程中具有重要的作用, 禁食状态引起肝糖原分解为葡萄糖, 但是随着禁食期间延长, 肝脏可通过从头合成途径合成葡萄糖以应对低血糖反应; 然而, 在动物模型中发现, 肝糖异生的发生率异常升高会引起葡萄糖耐受不良和糖尿病<sup>[20]</sup>。胰高血糖素、糖皮质激素、儿茶酚胺刺激肝脏糖异生, 而胰岛素可抑制肝脏糖异生作用, 这些激素对糖

表1 NR4A1相关实验小鼠表型

	表型	参考文献
NR4A1全身性敲除	肝脏脂肪变性加重	[2]
	血糖水平下降	[10]
	肝脏糖异生减少	[11]
	脂肪组织对于葡萄糖的摄取和利用减少	[12-13]
	肌肉TG、酰基肉碱类等物质增加	[14]
	易于肥胖、瘦素抵抗、胰岛素敏感性下降	[14-16]
NR4A1过表达	血糖水平升高	[10]
	肌纤维体积增大	[17]
	肝脏TG减少, 血清HDL下降、LDL升高	[18]
	胫骨前肌葡萄糖摄取增加	[19]
	肌肉重量下降, 肌纤维体积减小	[11]

异生关键基因, 如磷酸烯醇丙酮酸羧激酶(phosphoenolpyruvate carboxykinase, Pck-1)、果糖双磷酸酶1(fructose bisphosphatase 1, Fbp1)及葡萄糖6-磷酸酶(glucose-6-phosphatase, G6pc)等具有重要调节作用。

### 2.1.1 NR4A1通过cAMP促进肝脏糖异生

体外研究发现, NR4A1在肝脏的表达受cAMP诱导, cAMP轴诱导NR4A1表达需要cAMP反应元件结合蛋白(cAMP-responsive element-binding protein, CREB)或其相关家族成员, 但该作用独立于过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ 辅助激活因子1 $\alpha$ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 $\alpha$ , PGC-1 $\alpha$ )。NR4A1在体内受禁食及胰高血糖素诱导, 在小鼠肝脏中的表达刺激参与葡萄糖合成与转运的多个基因表达, 驱动肝脏糖异生并提高血糖水平<sup>[21-22]</sup>。Pei等<sup>[23]</sup>证实使用已知可激活糖原异生程序的cAMP类似物8-Br-cAMP处理小鼠肝原代细胞可迅速诱导NR4A1表达, 该效果出现在参与糖异生的PGC-1 $\alpha$ 、G6pc、Fbp1等基因被诱导之前。cAMP对NR4A1 mRNA的诱导作用快速但短暂(刺激后30 min升高, 2 h开始下降), 但其蛋白质水平在刺激后12 h仍保持升高。胰高血糖素及禁食诱导小鼠肝脏NR4A1表达, 离体实验及体内实验表明, 过表达NR4A1诱导G6pc、Fbp1、Fbp2、烯醇酶3(enolase 3, Eno3)和葡萄糖转运蛋白2(glucose transporter 2, Glut2)等与糖异生途径相关的多个基因表达。NR4A1活性不需要PGC-1 $\alpha$ 的共激活, 但NR4A1、HNF-4a和PGC-1 $\alpha$ 的结合对G6pc启动子活性有显著影响, 故NR4A1至少部分通过直接调节靶基因表达来发挥其对葡萄糖代谢的调节作用。

### 2.1.2 NR4A1通过LKB1-AMPK轴调节肝脏葡萄糖代谢

单磷酸腺苷活化蛋白激酶(adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK)是在进化上相对保守的代谢传感器, 由催化性 $\alpha$ 亚基和调节性 $\beta$ 、 $\gamma$ 亚基组成, 对细胞能量代谢具有重要调节作用。AMPK的磷酸化激活需要肝脏激酶B1(liver kinase B1, LKB1, 也称为STK11)的参与<sup>[24-25]</sup>。研究发现, NR4A1敲除的小鼠, 肝脏AMPK $\alpha$ 亚基磷酸化增加, 降低血糖水平; 相反, NR4A1过表达抑制肝脏AMPK $\alpha$ 磷酸化, 升高血糖水平<sup>[10]</sup>。NR4A1的配体结合域LBD在不同细胞系中可内源性和外源性结合LKB1, 进一步研究发现, NR4A1拮抗剂磷酰基乙酸三甲酯(ethyl 2-[2,3,4-trimethoxy-6-(1-octanoyl)phenyl]acetate, TMPA)以剂量依赖和时间依

赖的方式增强LO2细胞(人正常肝细胞)中AMPK $\alpha$ 的磷酸化。当NR4A1被shRNA敲低时, AMPK $\alpha$ 磷酸化增加, 但TMPA失去了增强AMPK $\alpha$ 磷酸化的能力。此外, 在敲除LKB1的HeLa细胞中, TMPA未能增加AMPK $\alpha$ 的磷酸化, 相反, LKB1的异位表达可诱导HeLa细胞对TMPA的反应, 激活AMPK $\alpha$ 磷酸化<sup>[10, 26]</sup>。

有研究报道, 降糖药物二甲双胍的效力主要来自于LKB1的Ser428磷酸化, 在牛的主动脉内皮细胞和胰高血糖素灌注的大鼠肝脏中, LKB1的Ser428磷酸化是AMPK活化所必需的, 其使得LKB1从细胞核转运到细胞质, 从而增加细胞质中AMPK磷酸化<sup>[26-27]</sup>。另一方面, TMPA与NR4A1的结合可有效影响Ser428的磷酸化, 与TMPA相关的LKB1从细胞核到细胞质移位的增加亦取决于Ser428磷酸化。此外, TMPA有效降低了db/db、高脂饮食(high fat diet, HFD)及链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠的血糖并减轻了其胰岛素抵抗, 但在敲除NR4A1基因的糖尿病同窝小鼠中对血糖无改善作用。另有研究发现, NR4A1与LKB1之间的相互作用激活了AMPK/SIRT1信号通路并抑制了NF- $\kappa$ B信号通路的活化, 从而维持了葡萄糖稳态, 减轻T2DM大鼠的症状<sup>[28]</sup>。因此, 尽管NR4A1不直接与AMPK $\alpha$ 相互作用, 但通过LKB1-AMPK轴, NR4A1与TMPA相互作用以释放螯合在细胞核中的LKB1, LKB1转运至细胞质中行使其激酶活性作用<sup>[10, 29]</sup>, 以改善血糖水平。

因此, NR4A1可能通过LKB1-AMPK轴参与肝脏葡萄糖代谢, 当NR4A1表达下降或与拮抗剂结合时, LKB1从细胞核释放到细胞质, AMPK磷酸化增加, 肝脏糖异生减少, 血糖水平下降。

### 2.1.3 NR4A1与其他因子相互作用参与肝脏葡萄糖代谢

Hwang等<sup>[30]</sup>发现B细胞易位基因2(B-cell translocation gene 2, BTG2)是CREB的共激活因子, 对肝脏糖异生具有重要调控作用, 胰高血糖素-CREB信号诱导BTG2增加使得肝细胞糖异生增加。BTG2是抗增殖基因BTG/TOB基因家族成员, 在各物种中高度保守<sup>[31]</sup>。Kim等<sup>[32]</sup>发现, 禁食或糖尿病状态下, BTG2-CREB轴刺激NR4A1基因表达, BTG2与NR4A1通过物理相互作用上调G6pc基因表达来增加肝脏糖异生。

甘油激酶(glycerol kinase, Gyk)是NR4A1调控肝脏糖代谢的另一靶点, 是肝脏糖异生的限速酶之一, 其利用ATP催化甘油磷酸化以生成3-磷酸甘油

(G3P)。Gyk在细胞核和细胞质中均表达,但仅在细胞核中与NR4A1相互作用。Gyk通过减弱NR4A1与靶基因启动子NBRE元件的结合进而抑制NR4A1转录活性,从而引起糖异生基因转录的负调控,Gyk通过与NR4A1之间的蛋白质-蛋白质相互作用抑制肝脏糖异生,且该作用不受Gyk在细胞质中发挥激酶活性作用的影响<sup>[11]</sup>。

## 2.2 NR4A1调控脂肪组织糖代谢

脂肪组织通常分为白色脂肪组织(white adipose tissue, WAT)、棕色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT)和米色脂肪组织(beige adipose tissue)。外周脂肪细胞分化对于维持机体胰岛素敏感性具有重要作用,脂肪细胞分化受损产生的甘油三酯(triglyceride, TG)在现有脂肪细胞中逐渐积累,可引起脂肪细胞肥大和脂肪组织功能障碍,其脂毒性可导致胰岛素抵抗和T2DM<sup>[33]</sup>。

### 2.2.1 NR4A1通过PPAR $\gamma$ 2调控脂肪组织葡萄糖稳态

过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ , PPAR $\gamma$ )通过促进脂肪细胞分化、提高脂肪细胞适应性、缓解内质网应激与炎症反应,在机体糖稳态的调节中扮演重要角色<sup>[34-35]</sup>。PPAR $\gamma$ 2亚型在胰岛素增敏和促进脂肪生成方面备受关注,其在脂肪组织中特异性表达,通过调节一系列靶基因,影响葡萄糖代谢、脂质转运、脂肪酸摄取和细胞内脂肪酸循环,促进脂质储存和脂质生成<sup>[36-37]</sup>。在健康脂肪组织中,NR4A1介导胰岛素刺激的葡萄糖摄取<sup>[12]</sup>,同时,PPAR $\gamma$ 2调节脂联素(adiponectin, Adipoq)和瘦素(leptin, Lep)等胰岛素反应主要促成因子的表达<sup>[13]</sup>。禁食状态下,小鼠WAT中NR4A1表达上调,PPAR $\gamma$ 2呈NR4A1依赖性表达下调。在NR4A1<sup>-/-</sup>小鼠WAT中,PPAR $\gamma$ 2表达增加,伴随其下游靶标Lep、Fabp4、Adipoq、Grp81和G0S2等表达增加。研究证实,NR4A1被募集到PPAR $\gamma$ 2启动子附近并抑制其启动子活性,表明NR4A1的代谢稳态功能在一定程度上是由修饰的PPAR $\gamma$ 2表达引起的<sup>[2]</sup>。

### 2.2.2 NR4A1通过MSH信号轴影响脂肪组织葡萄糖稳态代谢基因表达

黑皮质素信号转导是外周调节脂质、葡萄糖和能量稳态的通路之一。厌食神经肽 $\alpha$ -MSH源自腺垂体激素(proopiomelanocortin, POMC),在下丘脑、垂体、皮肤和毛囊中表达,可引起3T3-L1前脂肪细胞和离体培养的小鼠脂肪细胞中脂肪分解及FFA的释放<sup>[38]</sup>。研究表明,在分化的3T3-L1前脂肪细胞

中, $\alpha$ -MSH的合成类似物NDP-MSH选择性促进了NR4A1表达,NDP-MSH处理15 min内可观察到NR4A1 mRNA表达,2 h时达到最大诱导效果,8 h后迅速恢复到基础水平。NDP-MSH处理后NR4A1的表达增加与代谢相关基因差异表达同时发生,而NR4A1 siRNA可显著减弱了NDP-MSH介导的NR4A1表达,并抑制了NDP-MSH介导的IL-6、Pck-1、前列腺素合酶2/环氧化酶2 (prostaglandin synthase 2/cyclooxygenase2, Ptg2/Cox2)等多种代谢基因的表达,葡萄糖摄取减弱。其中IL-6可通过依赖于AMPK增强胰岛素介导的信号转导<sup>[39]</sup>;Cox2催化前列腺素合成,可增加血清Lep对肥胖的敏感性<sup>[40]</sup>;Pck-1影响脂肪酸的储存与释放,Pck-1活性增加可导致肥胖和胰岛素抵抗<sup>[41]</sup>。因此,NDP-MSH介导的上述重要代谢基因的表达取决于NR4A1的伴随诱导和表达,MSH信号转导、NR4A1诱导与其伴随的代谢基因表达调控之间具有相互影响,NR4A1 mRNA的表达对于涉及葡萄糖稳态代谢基因表达的MSH依赖效应是必需的<sup>[42]</sup>。

### 2.2.3 NR4A1通过调节脂肪祖细胞影响葡萄糖稳态

成年后脂肪祖细胞(adipocyte progenitors, AP)处于相对静止状态使得脂肪细胞更新率较低。脂肪组织的病理变化会损害全身性葡萄糖和脂质体内稳态,由AP的增殖和分化(脂肪生成)引起的脂肪细胞发育是代谢健康的一个重要影响因素,某些脂肪营养不良性疾病中发生的脂肪细胞发育失败甚至会导致严重的全身性胰岛素抵抗<sup>[43-44]</sup>。Zhang等<sup>[45]</sup>发现NR4A1过表达可抑制脂肪细胞的形成,NR4A1靶向依赖的AP静止促进肥胖的代谢适应。从NR4A1<sup>-/-</sup>小鼠分离出的AP在诱导分化过程中相对于野生型(wild type, WT)AP表现出较强的成脂分化能力,但将NR4A1<sup>-/-</sup>AP移植到WT肥胖小鼠的皮下脂肪组织中,小鼠葡萄糖稳态(葡萄糖耐受性和胰岛素敏感性)指标得以改善,同时,血清非酯化游离脂肪酸和肝TG呈下降趋势,表明NR4A1在体内可能通过抑制AP增殖进而抑制脂肪形成。敲除NR4A1后,虽然AP增殖分化能力增强,但脂毒性物质“溢出”减少可能是改善全身代谢功能的一种潜在机制。但是该研究未进一步探究功能性AP是否通过细胞自主机制促进全身代谢健康,亦未证实皮下脂肪库中未成熟的脂肪细胞是否在棕色/米色脂肪中代谢活跃或产生了有益的旁分泌因子,有待进一步考证。

## 2.3 NR4A1调控肌肉组织葡萄糖代谢

骨骼肌约占体重的40%,但占餐后胰岛素刺激

后葡萄糖摄取的70%~80%。胰岛素刺激后的葡萄糖摄取和肌肉糖原合成的缺陷已被认为是胰岛素抵抗发病机理中的重要早期事件<sup>[46]</sup>。NR4A1是骨骼肌中表达最丰富的Nr4a家族成员,是骨骼肌葡萄糖利用基因表达的调节剂。

### 2.3.1 NR4A1调节运动引起的肌肉葡萄糖代谢稳态

研究表明,体育锻炼可以改善骨骼肌中的胰岛素抵抗<sup>[47]</sup>,有氧运动训练后,NR4A1对胰岛素的反应增加,胰岛素治疗人原代骨骼肌细胞可增加NR4A1的表达<sup>[48]</sup>。NR4A1肌肉特异性过表达增加了线粒体DNA含量,减少了线粒体裂变,并增加了肌肉中的氧化代谢<sup>[49]</sup>,表明在持续慢性应激条件下,NR4A1可能通过将代谢模式转换为氧化代谢而改变代谢程序,从而提高能量效率。但目前尚不明确肌肉如何感知“运动信号”以增加NR4A1的表达。刺激的两个类别通常是与收缩活动有关的“局部因素”和与血浆激素及交感神经系统有关的“系统性因素”。Kawasaki等<sup>[50]</sup>发现,运动期间肌肉糖原水平降低的肌肉中NR4A1 mRNA表达增加,而运动期间糖原水平不变的肌肉中NR4A1 mRNA表达未增加,因此,认为运动引起NR4A1 mRNA表达的增加是由参与运动的肌纤维介导的,即归因于肌肉的收缩活动。另一方面,分离培养的骨骼肌与AMPK激动剂AICAR共同孵育6 h后,NR4A1 mRNA表达增加。此外,锻炼可增强肌肉中AMPK激活水平指标之一乙酰CoA羧化酶(acetyl-CoA carboxylase, ACC)的磷酸化水平。因此,AMPK的激活可能介导了运动引起的肌肉中NR4A1 mRNA表达的增加<sup>[50]</sup>。

### 2.3.2 NR4A1调节骨骼肌糖酵解基因的表达

在骨骼肌生长发育过程中,NR4A1的表达具有快肌选择性,是潜在调节因子。NR4A1的表达增加了胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factor 1, IGF1)、成熟的成肌因子以及诸多发育中的肌球蛋白基因(Myh3、Myh8和My14等基因)的表达。同时,NR4A1下调了编码肌萎缩的两种E3连接酶Trim63(MuRF1)和Fbxo32(atrogin1或MAFbx)的表达<sup>[17]</sup>。在C2C12成肌细胞中,NR4A1诱导葡萄糖转运蛋白4(glucose transporter 4, Glut4)和糖酵解基因的表达,包括:磷酸甘油酸突变酶2(phosphoglycerate mutase 2, Pgam2)、磷酸化酶激酶g1(phosphorylase kinase g1, Phkg1)、肌肉糖原磷酸化酶(glycogen phosphorylase, Pygm)、肌肉磷酸果糖激酶(phosphofruc-tokinase, Pfk1)、甘油-3-磷酸脱氢酶1(glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1, Gpd1)、烯醇酶3(enolase-3, Eno3)

和醛缩酶1(aldolase-1, Aldol1)等,并伴有葡萄糖摄取的增加<sup>[51]</sup>。在L6肌管和大鼠骨骼肌中过表达NR4A1后,葡萄糖氧化和糖原合成显著增加。过表达NR4A1的胫骨前肌(tibialis anterior muscle, TA)中基础葡萄糖摄取增加约70%,葡萄糖合成糖原的比例增加约120%。HFD喂养的大鼠过表达NR4A1的TA中Glut4含量上调40%~80%。正常饮食喂养的大鼠,随NR4A1的表达增加,己糖激酶和磷酸果糖激酶活性升高,糖酵解功能增强,而HFD喂养的大鼠中未观察到此现象<sup>[19]</sup>。HFD喂养的小鼠TA中NR4A1表达增加,而HFD喂养的NR4A1敲除小鼠,TA中几种糖酵解基因(Eno3、2,3-双磷酸甘油酸突变酶、磷酸甘油酸激酶1)等表达下降,因此,HFD喂养的NR4A1敲除小鼠肌肉胰岛素敏感性受损可部分归因于糖酵解减弱<sup>[14]</sup>。与动物实验一致,肥胖男子肌肉中NR4A1及其靶标糖原蛋白表达下降,并与体脂含量和胰岛素敏感性密切相关,但Glut4的表达差异未达到统计学差异<sup>[19]</sup>。故NR4A1在肌肉中通过促进葡萄糖转运相关基因或糖酵解基因的表达,从而促进葡萄糖在肌肉的分解利用,减少葡萄糖蓄积(图1)。

## 3 NR4A1对机体脂质代谢的调控

### 3.1 NR4A1对肝脏脂质代谢的调控

NAFLD近年来成为全球慢性肝病的最常见病因,是一个严峻的公共卫生问题。肝脏中非酯化或游离脂肪酸的循环水平增加导致肝细胞内中性TG的过量积累,是NAFLD常见的发病机制,其中饱和脂肪酸棕榈酸酯占血浆FFA浓度的30%~40%<sup>[52]</sup>。目前除生活方式干预及饮食控制外,尚无有效的NAFLD治疗方法<sup>[53]</sup>,因此,深入了解肝脏的脂质代谢机制显得尤为重要。

#### 3.1.1 NR4A1通过SREBP1c调节肝脏脂质代谢

固醇调节元件结合蛋白-1c(sterol regulatory element-binding protein-1c, SREBP1c)是脂质代谢的重要调控因子,转录激活脂肪酸合酶(fatty acid synthase, Fas)、ACC和硬脂酰CoA去饱和酶1(stearoyl-CoA desaturase-1, Scd1)等脂肪生成限速酶。Pols等<sup>[18]</sup>在小鼠体内通过静脉注射重组腺病毒过表达NR4A1后,小鼠肝脏TG减少、总胆固醇无明显变化,但血清高密度脂蛋白(HDL)胆固醇下降、低密度脂蛋白(LDL)胆固醇升高,TG和总胆固醇无明显变化。进一步分析发现,NR4A1抑制了SREBP1c的表达,SREBP1c活性及其下游靶基因

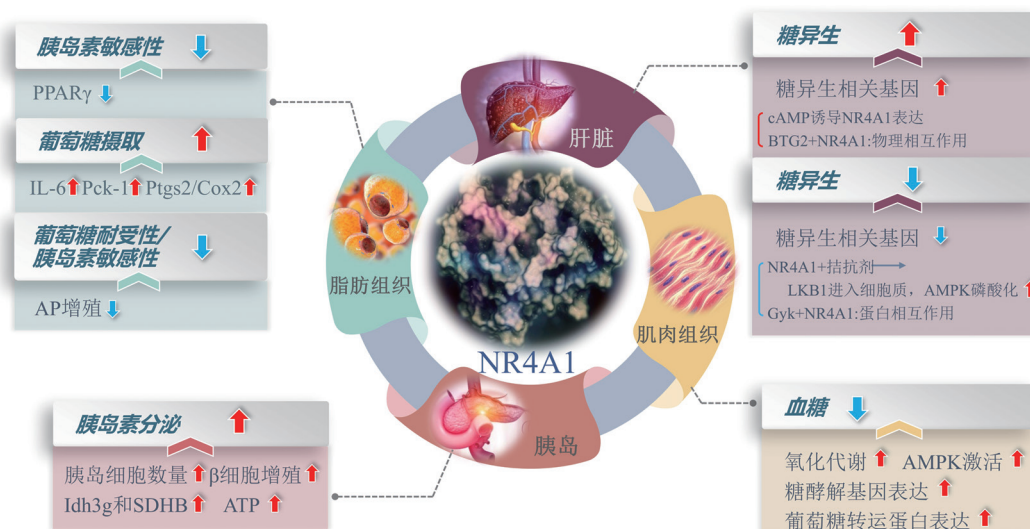


图1 NR4A1对机体葡萄糖代谢的调控

SCD1、线粒体甘油3-磷酸甘油酰基转移酶(glycerol-3-phosphate acyltransferase, GPAM)、FAS和LDL受体(LDLR)的表达降低引起肝脏TG水平下降。此外, SREBP1c还受Gyk调节, Gyk作为NR4A1的辅助调节因子, 不仅通过与NR4A1的蛋白质-蛋白质相互作用参与肝葡萄糖代谢的调节<sup>[11]</sup>, 还参与肝脏脂质代谢的调节。在HEK293T、L02细胞及小鼠体内研究中发现, NR4A1的表达在Gyk对肝脏脂质代谢中具有拮抗作用, 同时, Gyk的表达上调了NR4A1介导的脂代谢相关基因(SREBP1c、FAS、ACACA和GPAM)的表达, 增加了血清胆固醇、TG和HDL胆固醇水平, 但不增加LDL胆固醇水平。进一步分析发现, 细胞质Gyk主要通过其生化活性调节肝葡萄糖或脂质代谢, 而细胞核Gyk通过抑制转录因子NR4A1调节肝脏代谢, 细胞核Gyk可能充当细胞质Gyk的正反馈调节剂, 通过与NR4A1相互作用来调节肝脏代谢, 但仍需进一步深入研究<sup>[54]</sup>。此外, 在ApoE<sup>-/-</sup>动脉粥样硬化模型小鼠中, NR4A1的过表达可能通过抑制SREBP1c和SREBP2活性, 显著降低肝脏的脂质含量, 并通过降低单酰基甘油含量和(或)二酰基甘油含量, 进而降低肝脏TG含量<sup>[55]</sup>。

### 3.1.2 NR4A1通过PPAR $\gamma$ 调节肝脏脂质代谢

G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>转换基因2 (G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> switch gene 2, G0S2)是肝脏脂肪变性的另一个重要影响因素, 是PPAR $\gamma$ 的直接靶基因。PPAR $\gamma$ 通过调节诸多靶基因的表达, 影响细胞内脂肪酸的循环利用, 促进脂质储存和脂肪生成。PPAR $\gamma$ 的激活可上调G0S2的表达, G0S2的蛋白质产物是脂肪TG水解酶(adipose triglyceride

lipase, ATGL)的特异性抑制剂<sup>[56]</sup>。既往研究表明, NR4A1的表达与PPAR $\gamma$ 呈负相关, NR4A1直接结合并抑制PPAR $\gamma$ 启动子, 降低PPAR $\gamma$ 下游靶基因的表达, NR4A1<sup>-/-</sup>小鼠WAT的PPAR $\gamma$ 表达显著上调, 其下游靶基因G0S2表达亦增加, 小鼠肝脏脂肪变性加重<sup>[2]</sup>。类似地, Zhao等<sup>[57]</sup>发现棕榈酸酯诱导HepG2细胞脂质积累后, NR4A1 mRNA和蛋白质表达呈剂量依赖性下降, PPAR $\gamma$ 及其靶基因(G0S2、GPR81、GPR109A和Adipoq)的mRNA及蛋白质表达呈剂量依赖性增加。若过表达NR4A1, 则可减轻棕榈酸酯处理后HepG2细胞中脂质的积累并增强脂解作用, NR4A1对PPAR $\gamma$ 及其脂解相关靶基因的下调可能是减轻肝细胞脂质过度积累的重要机制。

### 3.1.3 NR4A1通过AMPK调节肝脏脂质代谢

AMPK被称为“能量感受器”, 不仅影响葡萄糖代谢, 同时广泛参与了肝脏脂质代谢。AMPK介导ACC和长链脂肪酸 $\beta$ -氧化限速酶肉碱棕榈酰转移酶1 (carnitine palmitotransferase 1, Cpt1)通路调控脂质代谢, ACC催化丙二酰辅酶a的生成, 丙二酰辅酶a既是脂肪从头合成的重要调节酶, 也是肝脏组织细胞中CPT1的变构抑制剂<sup>[58]</sup>。AMPK磷酸化对ACC的抑制有利于CPT1活性恢复, 促进游离脂肪酸氧化<sup>[59]</sup>。另一方面, AMPK对SREBP-1c具有负调控作用, 可磷酸化SREBP-1c并抑制其裂解和核易位, 降低FAS表达, 抑制脂质合成<sup>[60]</sup>。研究发现, 不论是HFD喂养的肥胖小鼠, 还是棕榈酸盐诱导脂质积累后的HepG2细胞, AMPK介导的PPAR $\alpha$ 、PGC-1 $\alpha$ 及与 $\beta$ -氧化相关靶基因的激活可减少脂肪积累

[53]。Abdou等<sup>[61]</sup>发现, AMPK通过抑制编码参与胆固醇转运与合成等相关基因的表达, 进而抑制类固醇生成, 其中NR4A1是AMPK的主要靶标之一<sup>[62]</sup>, 但NR4A1结合位点的突变减少时并未完全消除AMPK的抑制作用, 可能类固醇急性调节蛋白(steroidogenic acute regulatory, StAR)转录激活因子CREB参与其中, CREB是NR4A1启动子上的AMPK靶点, 同时也是类固醇分泌细胞中AMPK相关激酶SIK1启动子的靶点。AMPK通过调节类固醇的生物合成, 保持细胞能量的稳态, 防止产生过量类固醇。此外, 前文已述当NR4A1表达下降或与拮抗剂结合时, LKB1从细胞核释放到细胞质, AMPK磷酸化增加, 因此, NR4A1通过AMPK经不同途径调节肝脏脂质代谢。

### 3.1.4 NR4A1通过LDLR和HMGCR调节肝胆固醇代谢

NR4A1也参与肝胆固醇代谢, 降低高胆固醇血症状态下机体的炎症反应<sup>[63]</sup>。在HepG2细胞中, 过表达NR4A1, LDLR和肝脏胆固醇合成的限速酶 $\beta$ -羟- $\beta$ -甲基戊二酸单酰辅酶a还原酶(HMGCoA reductase, HMGCR)表达下调, 肝脏总胆固醇(total cholesterol, TCHO)下降; 而敲除NR4A1后, LDLR和HMGCR增加, 同时肝脏TCHO的水平也随之增加<sup>[64]</sup>。因此, NR4A1在肝脏胆固醇代谢中可能通过对肝脏LDLR和HMGCR的调节进而调节TCHO的代谢。

## 3.2 NR4A1对脂肪组织脂质代谢的调控

Fumoto等<sup>[65]</sup>曾报道, 在3T3-L1前脂肪细胞分化过程中, NR4A1被迅速且短暂地诱导, 并调节细胞周期蛋白D1介导有丝分裂克隆扩增(mitotic clonal expansion, MCE)加速脂肪形成的初始阶段, 通过表达针对NR4A1-siRNA的慢病毒证明该作用至关重要, 因此, NR4A1的表达促进3T3-L1前脂肪细胞成脂分化, 而敲低NR4A1可抑制3T3-L1前脂肪细胞的成脂分化。但NR4A1在脂肪组织脂质代谢的作用存在争议, 不同的学者得出了不同的甚至是截然相反的结论。

### 3.2.1 NR4A1通过PPAR $\gamma$ 调节脂肪组织脂质代谢

前脂肪细胞分化为脂肪细胞的过程中, PPAR $\gamma$ 在WAT和BAT中高表达。PPAR $\gamma$ 可诱导参与脂肪形成的诸多靶基因及CAAT/增强子结合蛋白 $\alpha$  (CAAT/enhancer binding protein  $\alpha$ , C/EBP $\alpha$ )的表达, C/EBP $\alpha$ 与PPAR $\gamma$ 启动子中的C/EBP位点结合, 从而提供稳定的自我增强调节环<sup>[36]</sup>。在3T3-L1前脂肪细胞中,

NR4A1的表达增强了DNA识别序列GATA2启动子的反式激活, GATA2与PPAR $\gamma$ 启动子结合可抑制PPAR $\gamma$ 的表达<sup>[66]</sup>。PPAR $\gamma$ 在BAT中大量表达刺激解耦蛋白1 (uncoupling protein 1, UCP-1)和其他脂肪细胞特异性基因表达, 用PPAR $\gamma$ 激动剂处理啮齿动物可大幅度增加BAT质量, 证实PPAR $\gamma$ 在体内可驱动BAT形成<sup>[67]</sup>。另一方面, PPAR $\gamma$ 对UCP-1的调控需要PGC-1 $\alpha$ 参与。PGC-1 $\alpha$ 表达后, 以不依赖配体的方式在启动子的特定位置结合并激活PPAR $\gamma$ , 促进了棕色脂肪特异基因UCP-1表达<sup>[68]</sup>。Chao等<sup>[69]</sup>发现, PPAR $\gamma$ 的过表达或激活无法弥补NR4A1对脂肪形成的抑制作用, 细胞及动物实验表明, 缝隙连接蛋白 $\alpha$ -1 (gap-junction protein  $\alpha$ -1, Gja1)和Tll1 (tolloid-like 1)是NR4A1的反应基因, 参与对脂肪细胞分化的抑制, 此外, NR4A1抑制脂肪形成的一种机制是抑制MCE, 但该实验未进一步研究NR4A1是否通过改变早期成脂转录因子的表达和/或活性、缝隙连接蛋白的表达或通过其他未知机制来影响克隆扩增。

### 3.2.2 NR4A1通过Lep调节脂肪组织脂质代谢

肥胖者体内循环Lep水平升高, 易出现Lep抵抗<sup>[70]</sup>。NR4A1是Lep控制体重和脂质代谢的重要影响因素, 在能量平衡的调节中, Lep抑制WT小鼠WAT中的脂质合成, 并增强脂质氧化和脂解作用。长期HFD喂养的小鼠易出现Lep抵抗, 敲除NR4A1后, 小鼠在HFD喂养条件下更易于发生肥胖和Lep抵抗。NR4A1通过增加Lep信号转导通路的下游靶点STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3)乙酰化, 增强Lep对能量平衡的调控能力。此外, 衰老引起的肥胖症常伴有Lep抵抗, 与年龄匹配的WT小鼠相比, 敲除NR4A1的衰老小鼠肥胖程度增加, 体内Lep水平升高, Lep抵抗更为严重, 表明NR4A1敲除小鼠对Lep的抵抗加速了年龄依赖性肥胖的发生, 反映了NR4A1在Lep调控的能量代谢与肥胖中的重要调节作用<sup>[15-16]</sup>。

### 3.2.3 NR4A1通过SREBP1c调节脂肪组织脂质代谢

在3T3-L1前脂肪细胞中, NR4A1下调SREBP1c及其下游基因表达, 过表达NR4A1可减少脂肪的生成。但NR4A1未明显改变脂解相关基因的表达, 似乎对脂解无明显作用<sup>[18, 71]</sup>。此外, NR4A1过表达增强了DNA依赖性蛋白激酶以增加p53转录活性<sup>[72]</sup>, p53对SREBP1c表达具有抑制作用<sup>[73]</sup>, 即NR4A1通过上调p53表达降低SREBP1c的表达, 进而间接降低SREBP1c下游基因FAS的表达。因此, NR4A1可

能通过增强p53的表达来抑制脂肪细胞的分化和脂质蓄积<sup>[71]</sup>。

### 3.3 NR4A1对肌肉组织脂质代谢的调控

NR4A1在增殖的成肌细胞中表达较弱,但当细胞退出细胞周期融合形成分化后的多核肌管时,其转录水平是*GAPDH* mRNA的4倍。在C2C12成肌细胞中,抑制NR4A1表达后,脂联素受体2、UCP3和AMPK $\gamma$ 3等基因表达被抑制,在这些基因中,UCP3的肌肉特异性过表达可增加胰岛素敏感性、加速脂质的优先利用;脂联素受体2激活可以激活AMPK促进 $\beta$ -氧化;而敲除AMPK $\gamma$ 3的小鼠出现TG蓄积。与细胞模型一致,抑制NR4A1后,小鼠骨骼肌中UCP3表达下调,抑制NR4A1表达会导致脂肪分解减少<sup>[21]</sup>。Lessard等<sup>[74]</sup>对小鼠进行耐力训练发现,与低耐力运动训练相比,在高耐力运动训练条件下,大鼠骨骼肌NR4A1及其3个靶基因(UCP3、FAT/CD36和AMPK $\gamma$ 3)表达均上调,并与 $\beta$ -肾上腺素能反应增加相关,同时伴有全身胰岛素敏感性的增强。

Chao等<sup>[14]</sup>在敲除NR4A1的小鼠实验中发现,小鼠TA中肌肉TG和甘油二酯含量增加,腓肠肌中多偶链酰基肉碱类物质积累明显增加,反映了肌肉线粒体中同源酰基CoA类物质的积累。同时,腓肠肌中脂蛋白脂肪酶的表达上调,提示NR4A1敲除后,肌肉中脂肪酸的摄取增加。此外,过氧化物酶体酰基辅酶a氧化酶、过氧化物酶 $\beta$ -氧化酶、丙酮酸脱氢酶激酶同工酶4 (pyruvate dehydrogenase kinase isozyme 4, Pdk4)表达均减少,提示NR4A1缺失小鼠的长链脂肪酸氧化受到损害、脂质分解代谢减少。目前关于NR4A1调节肌肉脂质代谢的研究较

少,就目前的研究而言,NR4A1在肌肉组织中通过不同靶标可促进脂解作用,减少肌肉中脂质的蓄积(图2)。

## 4 展望

孤核受体NR4A1在肝脏、脂肪、肌肉等器官或组织中广泛参与糖脂代谢的调控,对于维持机体的糖脂稳态、能量平衡具有重要作用。目前,对于NR4A1介导机体糖脂代谢机制的研究取得了一定的进展,但在不同的组织器官其调节方式有所不同,甚至其调控功能出现矛盾的结果,还有一些问题有待深入研究。在今后的研究中,利用NR4A1组织特异性基因敲除或过表达动物模型、多组学技术等重要手段与方法,深入探索NR4A1的作用机制或靶点,根据NR4A1对糖脂代谢的调控机制,设计靶向药物用于调节机体糖脂稳态,是将来T2DM、肥胖、NAFLD等慢性代谢性疾病诊疗的新思路。

### [参 考 文 献]

- [1] Zhao Y, Bruemmer D. NR4A orphan nuclear receptors: transcriptional regulators of gene expression in metabolism and vascular biology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30: 1535-41
- [2] Duszka K, Bogner-Strauss JG, Hackl H, et al. Nr4a1 is required for fasting-induced down-regulation of *Ppar $\gamma$ 2* in white adipose tissue. *Mol Endocrinol*, 2013, 27: 135-49
- [3] Pearen MA, Muscat GEO. Minireview: nuclear hormone receptor 4a signaling: implications for metabolic disease. *Mol Endocrinol*, 2010, 24: 1891-903
- [4] Pei D, Zhang C, Quan Y, et al. Identification of potential type II diabetes in a Chinese population with a sensitive decision tree approach. *J Diabetes Res*, 2019, 2019: 4248218

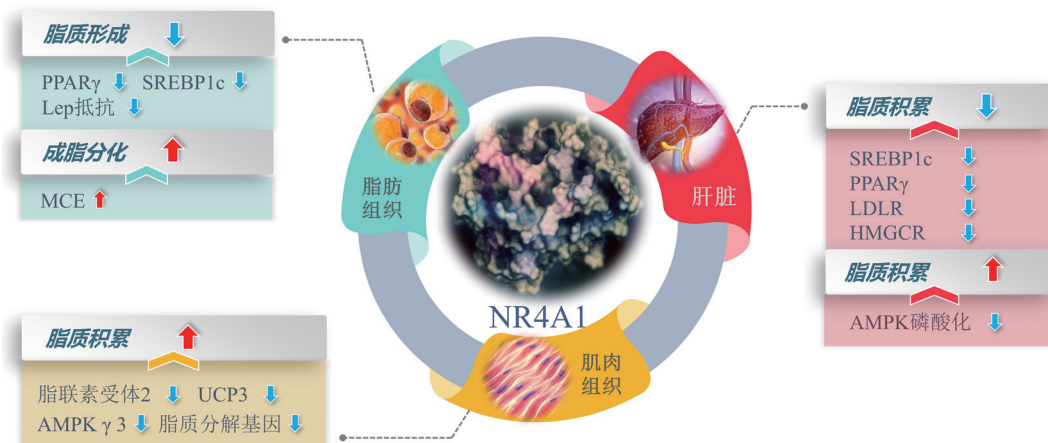


图2 NR4A1对机体脂质代谢的调控



- [5] Jung YS, Lee HS, Cho HR, et al. Dual targeting of Nur77 and AMPK $\alpha$  by isolaantolactone inhibits adipogenesis *in vitro* and decreases body fat mass *in vivo*. *Int J Obes (Lond)*, 2019, 43: 952-62
- [6] Milbrandt J. Nerve growth factor induces a gene homologous to the glucocorticoid receptor gene. *Neuron*, 1988, 1: 183-8
- [7] Reynolds MS, Hancock CR, Ray JD, et al.  $\beta$ -cell deletion of Nr4a1 and Nr4a3 nuclear receptors impedes mitochondrial respiration and insulin secretion. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2016, 311: E186-201
- [8] Huang Q, Xue J, Zou R, et al. NR4A1 is associated with chronic low-grade inflammation in patients with type 2 diabetes. *Exp Ther Med*, 2014, 8: 1648-54
- [9] Tessem JS, Moss LG, Chao LC, et al. Nkx6.1 regulates islet  $\beta$ -cell proliferation via Nr4a1 and Nr4a3 nuclear receptors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 5242-7
- [10] Zhan Y, Chen Y, Zhang Q, et al. The orphan nuclear receptor Nur77 regulates LKB1 localization and activates AMPK. *Nat Chem Biol*, 2012, 8: 897-904
- [11] Miao L, Yang Y, Liu Y, et al. Glycerol kinase interacts with nuclear receptor Nr4a1 and regulates glucose metabolism in the liver. *FASEB J*, 2019, 33: 6736-47
- [12] Fu Y, Luo L, Luo N, et al. NR4A orphan nuclear receptors modulate insulin action and the glucose transport system: potential role in insulin resistance. *J Biol Chem*, 2007, 282: 31525-33
- [13] Gray SL, Dalla Nora E, Grosse J, et al. Leptin deficiency unmasks the deleterious effects of impaired peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  function (P4651 PPAR $\gamma$ ) in mice. *Diabetes*, 2006, 55: 2669-77
- [14] Chao LC, Wroblewski K, Zhang Z, et al. Insulin resistance and altered systemic glucose metabolism in mice lacking Nur77. *Diabetes*, 2009, 58: 2788-96
- [15] Ardid-Ruiz A, Ibars M, Mena P, et al. Potential involvement of peripheral leptin/STAT3 signaling in the effects of resveratrol and its metabolites on reducing body fat accumulation. *Nutrients*, 2018, 10: 1-16
- [16] Chen Y, Wu R, Chen HZ, et al. Enhancement of hypothalamic STAT3 acetylation by nuclear receptor Nur77 dictates leptin sensitivity. *Diabetes*, 2015, 64: 2069-81
- [17] Tontonoz P, Cortez-Toledo O, Wroblewski K, et al. The orphan nuclear receptor Nur77 is a determinant of myofiber size and muscle mass in mice. *Mol Cell Biol*, 2015, 35: 1125-38
- [18] Pols TWH, Ottenhoff R, Vos M, et al. Nur77 modulates hepatic lipid metabolism through suppression of SREBP1c activity. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 366: 910-6
- [19] Mohankumar K, Lee J, Wu CS, et al. Bis-indole-derived Nr4a1 ligands and metformin exhibit Nr4a1-dependent glucose metabolism and uptake in C2C12 cells. *Endocrinology*, 2018, 159: 1950-63
- [20] Valera A, Pujol A, Pelegrin M, et al. Transgenic mice overexpressing phosphoenolpyruvate carboxykinase develop non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91: 9151-4
- [21] Maxwell MA, Cleasby ME, Harding A, et al. Nur77 regulates lipolysis in skeletal muscle cells: evidence for cross-talk between the  $\beta$ -adrenergic and an orphan nuclear hormone receptor pathway. *J Biol Chem*, 2005, 280: 12573-84
- [22] Kovalovsky D, Refojo D, Liberman AC, et al. Activation and induction of NUR77/NURR1 in corticotrophs by CRH/cAMP: involvement of calcium, protein kinase a, and MAPK pathways. *Mol Endocrinol*, 2002, 16: 1638-51
- [23] Pei L, Waki H, Vaitheesvaran B, et al. NR4A orphan nuclear receptors are transcriptional regulators of hepatic glucose metabolism. *Nat Med*, 2006, 12: 1048-55
- [24] Hardie DG, Hawley SA. AMP-activated protein kinase: the energy charge hypothesis revisited. *BioEssays*, 2001, 23: 1112-9
- [25] Shaw RJ, Lamia KA, Vasquez D, et al. The kinase LKB1 mediates glucose homeostasis in liver and therapeutic effects of metformin. *Science*, 2005, 310: 1642-6
- [26] Xie Z, Dong Y, Scholz R, et al. Phosphorylation of LKB1 at serine 428 by protein kinase C- $\zeta$  is required for metformin-enhanced activation of the AMP-activated protein kinase in endothelial cells. *Circulation*, 2008, 117: 952-62
- [27] Kimball SR, Siegfried BA, Jefferson LS. Glucagon represses signaling through the mammalian target of rapamycin in rat liver by activating AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem*, 2004, 279: 54103-9
- [28] Ming Y, Yin Y, Sun Z. Interaction of nuclear receptor subfamily 4 group a member 1 (Nr4a1) and liver kinase b1 (LKB1) mitigates type 2 diabetes mellitus by activating monophosphate-activated protein kinase (AMPK)/sirtuin 1 (SIRT1) axis and inhibiting nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B) activation. *Med Sci Monit*, 2020, 26: e920278
- [29] Kurakula K, Koenis DS, Tiel CM van, et al. NR4A nuclear receptors are orphans but not lonesome. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1843: 2543-55
- [30] Hwang SL, Kwon O, Lee SJ, et al. B-cell translocation gene-2 increases hepatic gluconeogenesis via induction of CREB. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 427: 801-5
- [31] Matsuda S, Rouault JP, Magaud JP, et al. In search of a function for the TIS21/PC3/BTG1/TOB family. *FEBS Lett*, 2001, 497: 67-72
- [32] Kim YD, Kim SG, Hwang SL, et al. B-cell translocation gene 2 regulates hepatic glucose homeostasis via induction of orphan nuclear receptor Nur77 in diabetic mouse model. *Diabetes*, 2014, 63: 1870-80
- [33] Smith U, Kahn BB. Adipose tissue regulates insulin sensitivity: role of adipogenesis, *de novo* lipogenesis and novel lipids. *J Intern Med*, 2016, 280: 465-75
- [34] Takada I, Kouzmenko AP, Kato S. Wnt and PPAR $\gamma$  signaling in osteoblastogenesis and adipogenesis. *Nat Rev Rheumatol*, 2009, 5: 442-7
- [35] Hong SW, Lee J, Cho JH, et al. Pioglitazone attenuates palmitate-induced inflammation and endoplasmic reticulum stress in pancreatic  $\beta$ -cells. *Endocrinol Metab (Seoul)*, 2018, 33: 105-13
- [36] Tontonoz P, Spiegelman BM. Fat and beyond: the diverse biology of PPAR $\gamma$ . *Annu Rev Biochem*, 2008, 77: 289-312
- [37] Mishra BK, Banerjee BD, Agrawal V, et al. Association of

- PPAR $\gamma$  gene expression with postprandial hypertriglyceridaemia and risk of type 2 diabetes mellitus. *Endocrine*, 2020, 68: 549-56
- [38] Cho KJ, Shim JH, Cho MC, et al. Signaling pathways implicated in  $\alpha$ -melanocyte stimulating hormone-induced lipolysis in 3T3-L1 adipocytes. *J Cell Biochem*, 2005, 96: 869-78
- [39] Zhou JY, Poudel A, Welchko R, et al. Liraglutide improves insulin sensitivity in high fat diet induced diabetic mice through multiple pathways. *Eur J Pharmacol*, 2019, 861: 172594
- [40] Smith WL, Langenbach R. Why there are two cyclooxygenase isozymes. *J Clin Invest*, 2001, 107: 1491-5
- [41] Sharma R, Kumari M, Prakash P, et al. Phosphoenolpyruvate carboxykinase in urine exosomes reflect impairment in renal gluconeogenesis in early insulin resistance and diabetes. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2020, 318: F720-31
- [42] Wang SCM, Myers SA, Eriksson NA, et al. Nr4a1 siRNA expression attenuates  $\alpha$ -MSH regulated gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Endocrinol*, 2011, 25: 291-306
- [43] Garg A. Acquired and inherited lipodystrophies. *N Engl J Med*, 2004, 350: 1220-34
- [44] Bielczyk-Maczynska E. White adipocyte plasticity in physiology and disease. *Cells*, 2019, 8: 1507
- [45] Zhang Y, Federation AJ, Kim S, et al. Targeting nuclear receptor NR4A1-dependent adipocyte progenitor quiescence promotes metabolic adaptation to obesity. *J Clin Invest*, 2018, 128: 4898-911
- [46] Peterson KF, Shulman GI. Etiology of insulin resistance. *Am J Med*, 2006, 119: S10-6
- [47] Shojaee-Moradie F, Baynes KC, Pentecost C, et al. Exercise training reduces fatty acid availability and improves the insulin sensitivity of glucose metabolism. *Diabetologia*, 2007, 50: 404-13
- [48] Mey JT, Solomon TPJ, Kirwan JP, et al. Skeletal muscle Nur77 and NOR1 insulin responsiveness is blunted in obesity and type 2 diabetes but improved after exercise training. *Physiol Rep*, 2019, 7: e14042
- [49] Chao LC, Wroblewski K, Ilkayeva OR, et al. Skeletal muscle Nur77 expression enhances oxidative metabolism and substrate utilization. *J Lipid Res*, 2012, 53: 2610-9
- [50] Kawasaki E, Hokari F, Sasaki M, et al. Role of local muscle contractile activity in the exercise-induced increase in NR4A receptor mRNA expression. *J Appl Physiol (1985)*, 2009, 106: 1826-31
- [51] Chao LC, Zhang Z, Pei L, et al. Nur77 coordinately regulates expression of genes linked to glucose metabolism in skeletal muscle. *Mol Endocrinol*, 2007, 21: 2152-63
- [52] Smith GI, Shankaran M, Yoshino M, et al. Insulin resistance drives hepatic *de novo* lipogenesis in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest*, 2020, 130: 1453-60
- [53] Zhang B, Zhang C, Zhang X, et al. Atorvastatin promotes AMPK signaling to protect against high fat diet-induced non-alcoholic fatty liver in golden hamsters. *Exp Ther Med*, 2020, 19: 2133-42
- [54] Miao L, Su F, Yang Y, et al. Glycerol kinase enhances hepatic lipid metabolism by repressing nuclear receptor subfamily 4 group A1 in the nucleus. *Biochem Cell Biol*, 2020, 98: 370-7
- [55] Hu YW, Zhang P, Yang JY, et al. Nur77 decreases atherosclerosis progression in apoE<sup>-/-</sup> mice fed a high-fat/high-cholesterol diet. *PLoS One*, 2014, 9: e87313
- [56] Yang X, Lu X, Lombès M, et al. The G $\alpha$ /G $\beta$  switch gene 2 regulates adipose lipolysis through association with adipose triglyceride lipase. *Cell Metab*, 2010, 11: 194-205
- [57] Zhao N, Li X, Feng Y, et al. The nuclear orphan receptor Nur77 alleviates palmitate-induced fat accumulation by down-regulating G $\alpha$ S $_2$  in HepG2 cells. *Sci Rep*, 2018, 8: 4809
- [58] Ke R, Xu Q, Li C, et al. Mechanisms of AMPK in the maintenance of ATP balance during energy metabolism. *Cell Biol Int*, 2018, 42: 384-92
- [59] Schindler M, Pendzialek M, Grybel KJ, et al. Adiponectin stimulates lipid metabolism via AMPK in rabbit blastocysts. *Hum Reprod*, 2017, 32: 1382-92
- [60] Li Y, Xu S, Mihaylova MM, et al. AMPK phosphorylates and inhibits SREBP activity to attenuate hepatic steatosis and atherosclerosis in diet-induced insulin-resistant mice. *Cell Metab*, 2011, 13: 376-88
- [61] Abdou HS, Bergeron F, Tremblay JJ. A cell-autonomous molecular cascade initiated by AMP-activated protein kinase represses steroidogenesis. *Mol Cell Biol*, 2014, 34: 4257-71
- [62] Zhou F, Bai M, Zhang Y, et al. Berberine-induced activation of AMPK increases hepatic FGF21 expression via NUR77. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495: 1936-41
- [63] Xie X, Song X, Yuan S, et al. Histone acetylation regulates orphan nuclear receptor NR4A1 expression in hypercholesterolaemia. *Clin Sci (Lond)*, 2015, 129: 1151-61
- [64] Zhang P, Hu Y, Yang J, et al. The orphan nuclear receptor Nur77 regulates hepatic cholesterol metabolism through the suppression of LDLR and HMGCR expression. *Mol Med Rep*, 2012, 5: 1541-7
- [65] Fumoto T, Yamaguchi T, Hirose F, et al. Orphan nuclear receptor Nur77 accelerates the initial phase of adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells by promoting mitotic clonal expansion. *J Biochem*, 2007, 141: 181-92
- [66] Tong Q, Dalgin G, Xu H, et al. Function of GATA transcription factors in preadipocyte-adipocyte transition. *Science*, 2000, 290: 134-8
- [67] Tai TAC, Jennermann C, Brown KK, et al. Activation of the nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  promotes brown adipocyte differentiation. *J Med Chem*, 1996, 271: 29909-14
- [68] Puigserver P, Wu Z, Park CW, et al. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell*, 1998, 92: 829-39
- [69] Chao LC, Bensinger SJ, Villanueva CJ, et al. Inhibition of adipocyte differentiation by Nur77, Nurr1, and Nor1. *Mol Endocrinol*, 2008, 22: 2596-608
- [70] Zhao S, Kusminski CM, Elmquist JK, et al. Leptin: less is more. *Diabetes*, 2020, 69: 823-9

- [71] Qin DD, Yang YF, Pu ZQ, et al. NR4A1 retards adipocyte differentiation or maturation via enhancing GATA2 and p53 expression. *J Cell Mol Med*, 2018, 22: 4709-20
- [72] Zhao BX, Chen HZ, Du XD, et al. Orphan receptor TR3 enhances p53 transactivation and represses DNA double-strand break repair in hepatoma cells under ionizing radiation. *Mol Endocrinol*, 2011, 25: 1337-50
- [73] Lee SJ, Kim SH, Park KM, et al. Increased obesity resistance and insulin sensitivity in mice lacking the isocitrate dehydrogenase 2 gene. *Free Radic Biol Med*, 2016, 99: 179-88
- [74] Lessard SJ, Rivas DA, Chen ZP, et al. Impaired skeletal muscle  $\beta$ -adrenergic activation and lipolysis are associated with whole-body insulin resistance in rats bred for low intrinsic exercise capacity. *Endocrinology*, 2009, 150: 4883-91