

· 综述 ·

C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白 12 与糖代谢

杨曦 刘玉洁 马慧娟

【摘要】 C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白 (CTRP) 12 是一种新型脂肪因子,属于CTRP超家族成员。其主要在脂肪组织表达及分泌,通过增强脂肪组织和肝脏中胰岛素信号,改善胰岛素抵抗,增加胰岛素敏感性。同时CTRP12还能降低脂肪组织炎症反应。CTRP12通过胰岛素依赖和非依赖的方式发挥作用,有望成为治疗胰岛素抵抗和 2 型糖尿病的新靶点。

【关键词】 CTRP12;肥胖;脂肪组织

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81200638)

C1q/tumor necrosis factor-related protein 12 and glucose metabolism Yang Xi*, Liu Yujie, Ma Huijuan. * Graduate Institute of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China

Corresponding author: Ma Huijuan, Email: huijuanma76@163.com

【Abstract】 As a novel adipokine, C1q/tumor necrosis factor-related protein (CTRP) 12 belongs to the CTRP family, which is abundantly expressed in fat tissues. CTRP12 ameliorates insulin resistance and improves insulin sensitivity by enhancing insulin signaling in the liver and adipose tissue. CTRP12 also can attenuate inflammation in fat tissue. CTRP12 acts in insulin-dependent and independent manners, and represents a new target for the treatment of insulin resistance and type 2 diabetes.

【Key words】 CTRP12; Obesity; Fat tissue

Fund program: National Natural Science Foundation of China(81200638)

肥胖与胰岛素抵抗、2 型糖尿病的发生、发展密切相关。最近,研究人员通过重组蛋白干预和腺病毒介导表达的方式将重组 C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白 (complement-C1q/TNF-related protein, CTRP) 12 通过尾静脉注入瘦素缺乏、饮食诱导肥胖的小鼠及糖尿病小鼠体内发现,CTRP12 具有调节糖代谢的功能^[1]。人类 CTRP12 主要由白色脂肪组织产生。小鼠体内 CTRP12 的表达更广泛,如脂肪组织、肾脏、脾脏等,其中白色和棕色脂肪组织中表达的最多。因 CTRP12 主要在脂肪组织内表达,也命名为脂肪源性胰岛素增敏因子 (adipolin)。CTRP12 作为胰岛素敏感性脂肪细胞因子,有望成为治疗糖尿病的新靶点。

1 CTRP12 的分子生物学结构

作为 CTRPs 家族中的一员,CTRP12 拥有 C1q/肿瘤坏死因子 (TNF) 样球形结构域。其氨基酸序列与其他 CTRP12 家族成员具有同源性,其中与脂联素

同源性高达 20%^[1]。CTRP12 在进化上是高度保守的,由 4 个结构域组成:信号肽、N 端结构域(包含高度保守的糖基化位点 Asn39、Cys85 和多元切割基序 KKSR)、胶原结合域(含有 8 个糖化 X-Y 重复序列)和球形 C1q/TNF 结构域(含 3 个保守 Cys 残基即 Cys162、Cys241 和 Cys246 和两个 N 端糖基化位点即 Asn287 和 Asn297)^[2]。CTRP12 含一个蛋白酶酶切位点,即 90KKSR93,这一切割位点通过 N 端序列映射到 Lys-91 上^[2]。多肽内切酶在 Lys91 位点进行切割,形成了断裂的球形 CTRP12 (gCTRP12)^[3]。

CTRP12 是一种转录后修饰成的多聚糖蛋白。通过改变其低聚物状态及信号特异性切割形成一种亚型。不同蛋白酶解加工形成功能不同的 CTRP12 亚型^[3]。体内 CTRP12 主要存在两种亚型,即长链 CTRP12 (fCTRP12) 和 gCTRP12。血循环中主要以 gCTRP12 的形式存在。CTRP12 的这两种亚型在低聚物结构及功能上差别较大。fCTRP12 亚型组成三聚体及更大的复合体, gCTRP12 亚型主要组成二聚体^[3]。CTRP12 形成三聚体和更大的复合体受保守的 N 端 Cys 残基调节^[4]。在人和小鼠血循环中都含有 fCTRP12 和 gCTRP12,循环血中 CTRP12 的含量因小鼠遗传背景不同而发生变化。

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2016.03.13

作者单位:050017 石家庄,河北医科大学研究生院(杨曦,刘玉洁);内科学教研室(马慧娟);050051 石家庄,河北省人民医院内分泌科,河北省老年医学重点实验室(马慧娟)

通信作者:马慧娟, Email: huijuanma76@163.com

2 CTRP12表达的调节

2.1 前蛋白转化酶对CTRP12的调节 Enomoto等^[5]研究发现,饮食诱导的肥胖(DIO)小鼠gCTRP12/fCTRP12的比例增加。肥胖状态能促进fCTRP12裂解为gCTRP12,这一过程受脂肪组织内Furin(一种前蛋白转化酶)的调节。Furin抑制剂引起脂肪细胞内fCTRP12的含量上调。肥胖时,Furin含量上调。尽管脂肪中CTRP12的生成减少,这一诱导作用促进gCTRP12从脂肪组织中释放,导致循环血中gCTRP12相对fCTRP12增多。

2.2 Krüppel样因子(KLFs)对CTRP12的调节 KLFs是锌指结构转录因子,能识别富含GC的区域和CACCC盒^[6]。KLFs与肥胖、炎症反应及代谢功能紊乱高度相关^[7]。小鼠的遗传学研究表明,KLF3的降低导致CTRP12上调^[8]。Bell-Anderson等^[8]研究显示,KLF3抑制Fam132a(CTRP12的编码序列)启动子的活性,KLF3缺陷组织(白色脂肪组织,不包括棕色脂肪组织)内Fam132a的表达不受抑制。正常及高脂饮食KLF3缺陷小鼠,血循环中CTRP12的含量增加。另一方面,KLF15的减少引起CTRP12含量降低^[9]。KLF15主要通过增强脂肪细胞-111和-66区域之间启动子活性发挥作用^[9]。研究表明,KLF15是脂肪细胞内CTRP12表达的活化剂。

研究发现,TNF α 通过激活c-Jun氨基末端激酶(JNK)信号通路,抑制KLF15减少脂肪细胞内CTRP12的表达^[9]。JNK抑制剂SP600125能消除TNF α 对CTRP12的抑制作用,防止TNF α 引起的KLF15的减少。另一项研究发现,KLF15过表达能部分保护TNF α 引起的CTRP12的减少^[11]。

2.3 血糖及胰岛素对CTRP12的调节 Tan等^[10]对患多囊卵巢综合征女性的研究发现,进行多元回归分析后,只有血糖可预测血浆CTRP12的改变,血糖升高者皮下脂肪组织内CTRP12的生成及分泌减少,两者呈负相关。重组CTRP12干预能快速降低WT、ob/ob和DIO小鼠的血糖^[2]。胰岛素能显著增加皮下脂肪组织CTRP12的表达及分泌,其作用受磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)信号通路调节^[11]。

2.4 二甲双胍及罗格列酮对CTRP12的调节 二甲双胍促进CTRP12的表达,对血浆CTRP12浓度的影响归因于其对肝糖原合成的抑制作用。二甲双胍通过增强AMP活化蛋白激酶(AMPK)信号通路抑制肝糖原合成,因此二甲双胍主要通过AMPK信号通路发挥作用^[12]。研究发现,罗格列酮以浓度依赖的方

式增加皮下脂肪组织CTRP12的表达及分泌,其作用受过氧化物酶体增殖物活化受体 γ (PPAR γ)拮抗剂的抑制^[11]。

3 CTRP12调节糖代谢的作用机制

3.1 抗炎 脂肪组织巨噬细胞浸润等炎症反应与胰岛素抵抗和糖耐量减低有关^[13]。肥胖和胰岛素抵抗时脂肪细胞的炎症反应以抗炎细胞因子(如脂联素)减少和促炎因子(如TNF α)增加为特点^[14]。胰岛素抵抗肥胖患者脂肪组织内巨噬细胞浸润增加可解释这一现象^[15]。Enomoto等^[1]用编码CTRP12的腺病毒载体转染小鼠进行体内干预实验发现,肥胖小鼠脂肪组织内巨噬细胞浸润和促炎基因的表达均下降,这表明CTRP12有抗炎作用。过表达CTRP12减少DIO小鼠附睾脂肪组织中巨噬细胞浸润,降低炎症反应因子TNF- α 和白细胞介素(IL)-1 β 表达。由于CTRP12本身由脂肪细胞产生,这些研究表明,CTRP12以旁分泌的方式减少脂肪组织中巨噬细胞的活化,改善胰岛素抵抗,增加葡萄糖清除率,改善脂肪组织炎症反应。

3.2 减少抵抗素的表达 抵抗素是由脂肪细胞分泌的多肽类激素,功能为促进肝脏的胰岛素抵抗,降低糖耐量^[16]。过表达CTRP12的ob/ob和DIO小鼠,抵抗素水平显著降低,而野生型小鼠抵抗素水平变化不大。CTRP12也可直接降低体外3T3-L1脂肪细胞抵抗素的分泌。CTRP12的这一作用具有特异性,因为CTRP12对其他脂肪因子如瘦素、脂联素等的分泌无影响^[2]。

3.3 抑制肝糖异生、促进脂肪细胞糖摄取 研究表明,CTRP12激活PI3K-蛋白激酶B信号通路,降低ob/ob小鼠及大鼠肝脏糖异生酶——葡萄糖-6-磷酸酶和磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶的表达,抑制肝糖异生,促进脂肪细胞对葡萄糖摄取^[2]。gCTRP12主要激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路。只有fCTRP12增加胰岛素刺激的脂肪细胞糖摄取^[3]。PI3K特异性抑制剂LY29004部分抑制肝脏和脂肪细胞内CTRP12对糖生成的促进作用。FoxO1(蛋白激酶B下游靶点)是重要的糖异生调节因子,经CTRP12干预后,肝细胞内FoxO1磷酸化增加。这一磷酸化与胰岛素诱导蛋白激酶B和FoxO1磷酸化过程类似。这些结果表明,CTRP12通过胰岛素受体底物-1下游的PI3K激活蛋白激酶B。

用胰岛素孵化H4-II E大鼠肝细胞后发现IC₅₀(被测量抑制剂的半抑制浓度)在100 pmol/L时,肝

糖异生抑制了 50%^[17]。Wei 等^[2]研究发现,重组 CTRP12 进一步抑制了糖异生,但胰岛素的 IC₅₀ 保持不变。在抑制糖异生过程中,CTRP12 是胰岛素的增强剂,二者不是协同作用。CTRP12 干预后,3T3-L1 脂肪细胞的葡萄糖摄入量适度增加,这一作用不受 10 nmol/L 胰岛素作用的影响,这表明 CTRP12 与胰岛素在脂肪细胞内可能有相同的作用靶点^[2]。

3.4 增加胰岛素敏感性 对肥胖和 ob/ob 小鼠(瘦素缺陷)的研究发现,CTRP12 能在胰岛素含量不变的前提下增加糖耐量,表明 CTRP12 能改善胰岛素敏感性^[1]。经 CTRP12 干预的肥胖小鼠,其体重和脂肪细胞的体积减小。Wei 等^[18]研究也发现,CTRP12 主要通过增加胰岛素敏感性,改善肥胖和糖尿病小鼠的糖代谢。fCTRP12 能增加脂肪细胞内胰岛素诱导的糖摄取,表明 fCTRP12 和 gCTRP12 发挥着不同的胰岛素敏感作用,其具体机制尚不明确^[5]。Wei 等^[2]对表达 CTRP12 的 DIO 小鼠进行饮食耐量实验发现,与对照组相比,再喂食后血糖水平无明显差异,但表达 CTRP12 的 DIO 小鼠胰岛素水平更低,表明表达 CTRP12 的 DIO 小鼠餐后胰岛素抵抗减低。并且其葡萄糖依赖性胰岛素释放肽(GIP)分泌降低 50%。由于 GIP 促进餐后胰岛素分泌,所以 GIP 的降低可能是表达 CTRP12 的 DIO 小鼠胰岛素分泌减少的原因。

3.5 增强脂肪和肝脏的胰岛素信号通路 表达 CTRP12 的野生型、过表达 CTRP12 的 ob/ob 小鼠脂肪组织和肝脏中胰岛素受体底物-1 的酪氨酸磷酸化及蛋白激酶 B 的磷酸化均增加。另一个胰岛素激活信号分子, p44/42 MAPK 的磷酸化状态未发生改变, ob/ob 小鼠肝脏糖异生酶 G6Pase 和 PEPCK mRNA 的表达由于受到胰岛素的抑制而减少。体外实验也发现,重组 CTRP12 降低大鼠 H4-II E 肝细胞 G6Pase 和 PEPCK mRNA 的表达^[2]。

综上所述,CTRP12 是一种作用于脂肪组织、肝脏和胰腺,调节全身血糖稳态的新型脂肪因子。其能降低肥胖及糖尿病患者炎症反应因子和抵抗素的水平,改善胰岛素敏感性,降低血糖。并通过抑制蛋白激酶 B 信号通路、抑制肝糖异生基因的表达,促进脂肪细胞的葡萄糖摄取。CTRP12 有望成为治疗 2 型糖尿病的新靶点。

参 考 文 献

- [1] Enomoto T, Ohashi K, Shibata R, et al. Adipolin/C1qdc2/CTRP12 protein functions as an adipokine that improves glucose metabolism[J]. J Biol Chem, 2011, 286(40):34552-34558. DOI: 10.1074/jbc.M111.277319.
- [2] Wei Z, Peterson JM, Lei X, et al. C1q/TNF-related protein-12 (CTRP12), a novel adipokine that improves insulin sensitivity and glycemic control in mouse models of obesity and diabetes [J]. J Biol Chem, 2012, 287(13):10301-10315. DOI: 10.1074/jbc.M111.303651.
- [3] Wei Z, Lei X, Seldin MM, et al. Endopeptidase cleavage generates a functionally distinct isoform of C1q/tumor necrosis factor-related protein-12 (CTRP12) with an altered oligomeric state and signaling specificity [J]. J Biol Chem, 2012, 287(43):35804-35814. DOI: 10.1074/jbc.M112.365965.
- [4] Wong GW, Krawczyk SA, Kitidis-Mitrokostas C, et al. Molecular, biochemical and functional characterizations of C1q/TNF family members: adipose-tissue-selective expression patterns, regulation by PPAR-gamma agonist, cysteine-mediated oligomerizations, combinatorial associations and metabolic functions [J]. Biochem J, 2008, 416(2):161-177. DOI: 10.1042/BJ20081240.
- [5] Enomoto T, Shibata R, Ohashi K, et al. Regulation of adipolin/CTRP12 cleavage by obesity [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 428(1):155-159. DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.10.031.
- [6] Pearson R, Fleetwood J, Eaton S, et al. Krüppel-like transcription factors: a functional family [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2008, 40(10):1996-2001.
- [7] McConnell BB, Yang VW. Mammalian Krüppel-like factors in health and diseases [J]. Physiol Rev, 2010, 90(4):1337-1381. DOI: 10.1152/physrev.00058.2009.
- [8] Bell-Anderson KS, Funnell AP, Williams H, et al. Loss of Krüppel-like factor 3 (KLF3/BKLF) leads to upregulation of the insulin-sensitizing factor adipolin (FAM132A/CTRP12/C1qdc2) [J]. Diabetes, 2013, 62(8):2728-2737. DOI: 10.2337/db12-1745.
- [9] Enomoto T, Ohashi K, Shibata R, et al. Transcriptional regulation of an insulin-sensitizing adipokine adipolin/CTRP12 in adipocytes by Krüppel-like factor 15 [J]. PLoS One, 2013, 8(12):e83183. DOI: 10.1371/journal.pone.0083183. eCollection 2013.
- [10] Tan BK, Chen J, Hu J, et al. Circulatory changes of the novel adipokine adipolin/CTRP12 in response to metformin treatment and an oral glucose challenge in humans [J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2014, 81(6):841-846. DOI: 10.1111/cen.12438.
- [11] Tan BK, Lewandowski KC, O'Hare JP, et al. Insulin regulates the novel adipokine adipolin/CTRP12: *in vivo* and *ex vivo* effects [J]. J Endocrinol, 2014, 221(1):111-119. DOI: 10.1530/JOE-13-0537.
- [12] Tan BK, Chen J, Adya R, et al. Metformin increases the novel adipokine adipolin/CTRP12: role of the AMPK pathway [J]. J Endocrinol, 2013, 219(2):101-108. DOI: 10.1530/JOE-13-0277.

[1] Enomoto T, Ohashi K, Shibata R, et al. Adipolin/C1qdc2/CTRP12 protein functions as an adipokine that improves glucose metabo-

- vel therapeutic approaches to treat metabolic disorders[J]. *Transl Res*, 2015, 165 (4) :464-479. DOI: 10.1016/j.trsl.2014.11.002.
- [6] Bordicchia M, Liu D, Amri EZ, et al. Cardiac natriuretic peptides act via p38 MAPK to induce the brown fat thermogenic program in mouse and human adipocytes[J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(3) :1022-1036. DOI: 10.1172/JCI59701.
- [7] Bonet ML, Oliver P, Palou A. Pharmacological and nutritional agents promoting browning of white adipose tissue[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1831 (5) :969-985. DOI: 10.1016/j.bba-lip.2012.12.002.
- [8] Lee JY, Takahashi N, Yasubuchi M, et al. Triiodothyronine induces UCP-1 expression and mitochondrial biogenesis in human adipocytes[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2012, 302 (2) :C463-C472. DOI: 10.1152/ajpcell.00010.2011.
- [9] Chondronikola M, Volpi E, Brsheim E, et al. Brown adipose tissue improves whole-body glucose homeostasis and insulin sensitivity in humans[J]. *Diabetes*, 2014, 63 (12) :4089-4099. DOI: 10.2337/db14-0746.
- [10] Stanford KI, Middelbeek RJ, Townsend KL, et al. Brown adipose tissue regulates glucose homeostasis and insulin sensitivity[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(1) :215-223. DOI: 10.1172/JCI62308.
- [11] Matsushita M, Yoneshiro T, Aita S, et al. Impact of brown adipose tissue on body fatness and glucose metabolism in healthy humans[J]. *Int J Obes (Lond)*, 2014, 38(6) :812-817. DOI: 10.1038/ijo.2013.206.
- [12] Vosselman MJ, Brans B, van der Lans AA, et al. Brown adipose tissue activity after a high-calorie meal in humans[J]. *Am J Clin Nutr*, 2013, 98(1) :57-64. DOI: 10.3945/ajcn.113.059022.
- [13] Schlogl M, Piaggi P, Thiyyagura P, et al. Overfeeding over 24 hours does not activate brown adipose tissue in humans[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98(12) :E1956-E1960. DOI: 10.1210/jc.2013-2387.
- [14] Vrieze A, Schopman JE, Admiraal WM, et al. Fasting and postprandial activity of brown adipose tissue in healthy men[J]. *J Nucl Med*, 2012, 53 (9) :1407-1410. DOI: 10.2967/jnumed.111.100701.
- [15] Orava J, Nuutila P, Lidell ME, et al. Different metabolic responses of human brown adipose tissue to activation by cold and insulin[J]. *Cell Metab*, 2011, 14 (2) :272-279. DOI: 10.1016/j.cmet.2011.06.012.
- [16] Calvani R, Leeuwenburgh C, Marzetti E, et al. Brown adipose tissue and the cold war against obesity[J]. *Diabetes*, 2014, 63 (12) :3998-4000. DOI: 10.2337/db14-1373.
- [17] Blondin DP, Labbé SM, Tingelstad HC, et al. Increased brown adipose tissue oxidative capacity in cold-acclimated humans[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99 (3) :E438-E446. DOI: 10.1210/jc.2013-3901.
- [18] Hanssen MJ, Wiers R, Hoeks J, et al. Glucose uptake in human brown adipose tissue is impaired upon fasting-induced insulin resistance[J]. *Diabetologia*, 2015, 58 (3) :586-595. DOI: 10.1007/s00125-014-3465-8.
- [19] Lahesmaa M, Orava J, Schalin-Jäntti C, et al. Hyperthyroidism increases brown fat metabolism in humans[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(1) :E28-E35. DOI: 10.1210/jc.2013-2312.
- [20] Inokuma K, Ogura-Okamatsu Y, Toda C, et al. Uncoupling protein 1 is necessary for norepinephrine-induced glucose utilization in brown adipose tissue[J]. *Diabetes*, 2005, 54(5) :1385-1391.
- [21] Cypess AM, Weiner LS, Roberts-Toler C, et al. Activation of human brown adipose tissue by a β 3-adrenergic receptor agonist[J]. *Cell Metab*, 2015, 21 (1) :33-38. DOI: 10.1016/j.cmet.2014.12.009.
- [22] Wang ZH, Li YF, Guo YQ. β 3-Adrenoceptor activation attenuates atherosclerotic plaque formation in ApoE (-/-) mice through lowering blood lipids and glucose[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2013, 34(9) :1156-1163. DOI: 10.1038/aps.2013.70.

(收稿日期:2015-06-29)

(上接第 197 页)

- [13] Wensveen FM, Jelenčić V, Valentić S, et al. NK cells link obesity-induced adipose stress to inflammation and insulin resistance[J]. *Nat Immunol*, 2015, 16 (4) :376-385. DOI: 10.1038/ni.3120.
- [14] Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, et al. Adipokines in inflammation and metabolic disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11 (2) :85-97. DOI: 10.1038/nri2921.
- [15] Lumeng CN, Deyoung SM, Bodzin JL, et al. Increased inflammatory properties of adipose tissue macrophages recruited during diet-induced obesity[J]. *Diabetes*, 2007, 56(1) :16-23.
- [16] Makino-Wakagi Y, Yoshimura Y, Uzawa Y, et al. Ellagic acid in pomegranate suppresses resistin secretion by a novel regulatory mechanism involving the degradation of intracellular resistin protein in adipocytes[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 417 (2) :880-885. DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.12.067.
- [17] de Raemy-Schenk AM, Troublé S, Gaillard P, et al. A cellular assay for measuring the modulation of glucose production in H4IIE cells[J]. *Assay Drug Dev Technol*, 2006, 4(5) :525-533.
- [18] Wei Z, Peterson JM, Wong GW. Metabolic regulation by C1q/TNF-related protein-13 (CTRP13): activation OF AMP-activated protein kinase and suppression of fatty acid-induced JNK signaling[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286 (18) :15652-15665. DOI: 10.1074/jbc.M110.201087.

(收稿日期:2015-06-25)