

肥胖与脂代谢专题

· 综述 ·

组蛋白甲基化/去甲基化与脂肪形成

姚俊鹏¹ 张林²¹成都中医药大学 610075; ²成都中医药大学第三附属医院内科, 四川省糖尿病防治中心 610041

通信作者: 张林, Email: zhanglhx@163.com

【摘要】 组蛋白甲基化/去甲基化是表观遗传修饰的形式之一, 由组蛋白甲基转移酶(HMT)/去甲基化酶催化。HMT 主要包括两个家族: 赖氨酸特异性和精氨酸特异性甲基转移酶。组蛋白去甲基化酶分为两个家族: 赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶 1 (LSD1) 和赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶 2 (LSD2) 及 Jumonji 型组蛋白去甲基化酶。HMT 和组蛋白去甲基化酶参与了肥胖个体的脂肪细胞分化、脂肪细胞形成。从组蛋白甲基化/去甲基化角度探讨脂肪生成, 可能为探讨肥胖发病机制提供不同的思路。

【关键词】 组蛋白甲基化; 组蛋白去甲基化; 脂肪形成

基金项目: 国家自然科学基金(81673803); 四川省教育厅项目(17ZB0153)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.01.009

Histone methylation/demethylation and adipogenesis Yao Junpeng¹, Zhang Lin². ¹Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China; ²Department of Internal Medicine, The Third Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Diabetes Mellitus Prevention and Control Center of Sichuan Province, Chengdu 610041, China

Corresponding author: Zhang Lin, Email: zhanglhx@163.com

【Abstract】 Histone methylation/demethylation is a kind of epigenetic, and catalyzed by histone methyltransferase (HMT) and demethyltransferase. HMT mainly includes two families: lysine and arginine specific methyltransferase. The histone demethylation enzyme is divided into two families: lysine-specific histone demethylase 1 (LSD1), lysine-specific histone demethylase 2 (LSD2), and Jumonji histone demethanase. HMT and demethyltransferase are associated with adipocyte differentiation and adipogenesis. The perspective of histone methylation/demethylation may provide different ideas for exploring the pathogenesis of obesity.

【Key words】 Histone methylation; Histone demethylation; Adipogenesis

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81673803); Foundation of the Education Department of Sichuan Province, China (17ZB0153)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.01.009

肥胖是能量摄入和消耗失衡的结果, 肥胖者体内白色脂肪含量增加, 脂肪细胞的体积和数目是决定其含量的主要因素。表观遗传修饰包括 DNA 修饰、组蛋白修饰等, 越来越多的证据表明组蛋白修饰参与了脂肪细胞的分化和形成^[1-2]。本文从组蛋白甲基化修饰角度对其与成脂的关系进行综述。

1 组蛋白甲基化概述

组蛋白八面体由 H2A、H2B、H3、H4 组成, 是形成核小体的亚基, 其末端存在赖氨酸和精氨酸等氨

基酸残基, 可以发生共价修饰, 包括甲基化、乙酰化、磷酸化、泛素化等形式, 其中甲基化是组蛋白修饰的主要形式之一, 这些修饰可通过改变组蛋白与 DNA 的亲和力, 从而改变染色质的结构状态, 也可以影响转录因子与 DNA 序列的结合, 对相应基因表达进行调控。

组蛋白甲基化主要发生在 H3 和 H4 组蛋白 N 端赖氨酸(K)和精氨酸(R)残基上。赖氨酸甲基化修饰常发生在组蛋白 H3 赖氨酸残基的 4 位、9 位、

27 位、36 位和组蛋白 H4 20 位赖氨酸残基上。H3K4、H3K36 的甲基化修饰主要与基因转录活化有关,而 H3K9、H3K27、H4K20 的甲基化修饰介导转录抑制。精氨酸甲基化修饰通常发生在组蛋白 H3 精氨酸 2 位、8 位、17 位、26 位残基,及组蛋白 H4 精氨酸 3 位残基上。根据残基上甲基化基团数量的不同,又可分为一甲基化、二甲基化、三甲基化修饰。

2 组蛋白甲基化转移酶(HMT)/去甲基化酶与脂肪形成

组蛋白的甲基化由 HMT 催化,去甲基化则由组蛋白去甲基化酶催化。HMT 主要包括两个家族:赖氨酸特异性和精氨酸特异性甲基化转移酶,二者均以 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)作为底物。常染色质组蛋白赖氨酸 N-甲基转移酶 1(EHMT1)、G9a 和混合性白血病蛋白 3(MLL3)、混合性白血病蛋白 4(MLL4)属于赖氨酸特异性甲基化转移酶家族。

组蛋白去甲基化酶分为两个家族。第一个家族是组蛋白赖氨酸去甲基化酶(KDM)1,包括两个成员:赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶 1(LSD1)和赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶 2(LSD2),二者均是黄素腺嘌呤二核苷酸依赖性氨基酸氧化酶,主要作用于组蛋白 H3 的 4、9 位氨基酸。LSD1 作用于 H3K4 和 H3K9, LSD2 仅作用于 H3K4。第二个家族称作 Jumonji 型组蛋白去甲基化酶,包括 KDM2 到 KDM7,其特征是含有一个保守的 Jumonji C 催化结构域。

2.1 HMT 与脂肪形成

2.1.1 MLL3、MLL4 MLL3、MLL4 是 H3K4 甲基化转移酶,二者均含有具有天然组蛋白赖氨酸特异性甲基化转移酶活性的 SET 结构域^[3]。MLL3 和 MLL4 是 H3K4 一、二甲基化转移酶。

MLL3 纯合子(MLL3^{ΔΔ})小鼠的白色脂肪组织明显减少,但是棕色脂肪组织的量保持不变。WT MLL3 是指被一个 MLL3 基因突变所取代,其在 MLL3 SET 结构域内存在 61 位氨基酸核心催化区的框内缺失。与野生型小鼠相比,在高脂喂养前后 MLL3^{ΔΔ}小鼠白色脂肪组织的细胞均较小。在 MLL3^{ΔΔ}小鼠的白色脂肪组织中,过氧化物酶体增殖物活化受体 γ (PPAR γ)表达增加,其两个靶基因 aP2 和脂联素均明显下调。在脂肪的形成过程中,MLL3 和 MLL4 均被募集到 PPAR γ 激活的 aP2 基因^[4]。MLL4 条件性敲除(MLL4^{f/f})的胚胎棕色脂肪组织含量下降,提示 MLL4 在成脂过程中的重要作用。MLL4 基因敲除可导致脂肪细胞分化障碍,抑制

3T3-L1 前脂肪细胞形成脂肪细胞。在小鼠胚胎成纤维细胞中,PPAR γ 刺激的脂肪形成中 MLL3 和 MLL4 是必需的。以上研究表明,MLL3、MLL4 在 PPAR γ 依赖的脂肪形成中发挥重要作用^[5]。

2.1.2 G9a 组蛋白甲基化转移酶 G9a 可使 H3K9 发生二甲基化(H3K9me2),研究发现,G9a 介导的 H3K9me2 主要是使基因转录沉默^[6]。在与脂肪形成密切相关的 PPAR γ 基因位点上,H3K9me2 高水平表达。在编码其他成脂转录因子如转录因子 CCAAT/增强子结合蛋白(C/EBP) α 、C/EBP β 、C/EBP δ 的基因位点 H3K9me2 低表达。在成脂负调控基因位点,Wnt6-Wnt10a H3K9me2 呈低表达,提示 H3K9me2 在 PPAR γ 基因位点富集,参与了在前脂肪细胞中抑制 PPAR γ 的表达。3T3-L1 前脂肪细胞成脂分化后,H3K9me2 在整个 PPAR γ 位点的表达显著下降。PPAR γ 基因位点 H3K9me2 的低表达与成脂过程中 PPAR γ 的高表达呈负相关,G9a 在蛋白质水平的表达也明显下降,相应的,H3K9me2 在整个 3T3-L1 前脂肪细胞成脂过程中表达下调。在白色脂肪组织脂肪细胞中 G9a 蛋白水平显著低于前脂肪细胞。以上研究提示,G9a 和 H3K9me2 负调控 PPAR γ 和脂肪生成。使用 G9a 抑制剂 BIX01294 处理前脂肪细胞,可以使 PPAR γ 表达上调,提示 G9a 抑制 PPAR γ 的活性主要通过 H3K9me2。脂肪组织 G9a 基因特异性敲除小鼠表现为白色脂肪组织成脂明显增加,PPAR γ 表达增加。以上研究提示,组蛋白 H3K9 甲基化转移酶 G9a 可抑制 PPAR γ 表达和脂肪形成^[7]。另有关于 3T3-L1 前脂肪细胞分化的研究也得到相似的结论^[8]。

2.1.3 EHMT1 EHMT1 具有使 H3K9 一、二甲基化的酶活性。EHMT1 基因突变患者有 40%~50% 发展为肥胖。PR 结构域蛋白 16(PRDM16)在棕色脂肪组织的发育过程中起必需作用。EHMT1 和 PRDM16 可以直接相互作用,在棕色脂肪细胞中,EHMT1 的缺失可导致 PRDM16 复合体 HMT 活性降低,表明 EHMT1 是 PRDM16 复合体的主要甲基化转移酶。棕色脂肪细胞 EHMT1 基因缺失可通过 H3K9me2/3 去甲基化导致严重的棕色脂肪特征的丢失。相反,EHMT1 表达可通过 PRDM16 蛋白调控棕色脂肪组织的产热效应。脂肪组织特异性 EHMT1 基因缺失可引起棕色脂肪组织产热明显下降、肥胖和胰岛素抵抗。研究表明,EHMT1 是控制棕色脂肪细胞命运和能量平衡的必需酶^[9]。另有研究也提示,成人肾周棕色脂肪细胞的活化与

PRDM16-EHMT1 复合体密切相关^[10]。

2.1.4 Zeste 基因增强子同源物 2 (Ezh2) Ezh2 是 Polycomb 抑制复合体的核心亚单位, H3K27 甲基转移酶, 其富集在抑制脂肪形成的 Wnt 基因区。在脂肪形成过程中, Ezh2 直接抑制前脂肪细胞中的 Wnt-1、-6、-10a 及 -10b 基因表达。敲除 Ezh2 基因可消除 Wnt 启动子区的 H3K27 三甲基化 (H3K27me3), 解除对 Wnt 表达的抑制, 导致 Wnt/ β -catenin 信号通路的激活, 抑制脂肪形成。在 Ezh2 (-/-) 前脂肪细胞异位表达野生型 Ezh2, 可阻止 H3K27me3 的丢失和脂肪形成的减少。Ezh2 (-/-) 前脂肪细胞的成脂障碍可通过具有成脂活性的转录因子 PPAR γ 、C/EBP α 或抑制 Wnt/ β -catenin 信号来补救。研究表明, H3K27 甲基化转移酶 Ezh2 可直接抑制 Wnt 基因活性来促进脂肪形成^[11]。

2.1.5 蛋白质精氨酸甲基转移酶 (PRMT) 哺乳动物 PRMT 有 9 种, PRMT5 是脂肪细胞分化必需的。染色质免疫沉淀实验表明, PRMT5 结合并使组蛋白发生二甲基化的部位位于成脂启动子区。PRMT5 促进了 ATP 依赖的染色质重塑酶的结合, 并且是 PPAR γ 2 和 PPAR γ 2 调节启动子所必须^[12]。在脂肪形成、分化过程中, PRMT7 并不是必需的, 敲低或过表达该基因对脂质沉积和脂肪形成的基因表达均无影响^[13]。

2.2 组蛋白去甲基化酶与脂肪形成

2.2.1 LSD1 LSD1 是一种胺氧化酶, 通过 FAD 依赖的氧化反应调节组蛋白去甲基化。LSD1 可使 H3K4 发生一、二去甲基化, 并且通过作用于目标启动子维持 H3K4 的去甲基化状态以抑制基因的表达。3T3-L1 前脂肪细胞 LSD1 基因敲除可导致其成脂分化显著下降, 该结果与 H3K4 二甲基化水平的下调和 H3K9 二甲基化上调有关。敲除 H3K9 甲基化转移酶 SETDB1 基因可使与 C/EBP α 启动子区结合的 H3K9 二甲基化增加、H3K4 二甲基化下降, 利于成脂^[14]。人间充质干细胞 (hESCs) 可被定向诱导分化为脂肪细胞, 然而在培养液中加入 LSD1 抑制剂 CBB1007 后可促进 hESCs 成脂分化, PPAR γ 2 和 C/EBP α 的表达随着抑制剂浓度而增加, 在该过程中 H3K4 二甲基化水平上调, 提示 LSD1 参与了 hESCs 的成脂分化^[15]。

2.2.2 X 染色体上转录结构域重复序列 (UTX)

UTX 是 H3K27 特异性去甲基化酶, 主要作用是抑制基因表达的 H3K27me3, 在棕色脂肪细胞分化过程中 UTX 表达增加。棕色脂肪细胞 UTX 基因敲除可

下调棕色脂肪基因如解耦联蛋白 1 (UCP1)、PPAR γ 协同刺激因子-1 α (PGC-1 α) 的表达, 相反, 棕色脂肪细胞过表达 UTX 后可促进 UCP1、PGC-1 α 基因的表达。使用 β 肾上腺素干预棕色脂肪细胞可促使 UTX 与 UCP1、PGC-1 α 启动子转录起始位点结合, 抑制 H3K27me3 的水平, 使用过表达 UTX 的棕色脂肪细胞也得到了相似的结果^[16]。UTX 基因缺失的小鼠间充质干细胞分化为脂肪细胞的能力受到抑制, UTX 基因缺失的 3T3-L1 前脂肪细胞成脂增加, 提示 UTX 可负调控前脂肪细胞分化为脂肪细胞^[17]。

2.2.3 包含 Jumonji 结构域的蛋白 2B (JMJD2B)

JMJD2 家族包括 JMJD2A (KDM4A)、JMJD2B (KDM4B) 和 JMJD2C (KDM4C), 可使 H3K9、H3K36 二甲基、三甲基脱甲基^[18-19]。JMJD2B 是 H3K9me3/me2 的去甲基化酶, JMJD2B 基因沉默的 3T3-L1 前脂肪细胞成脂分化受抑制, 与成脂密切相关的 PPAR γ 和 C/EBP α 的 mRNA 和蛋白水平表达下降, 该基因过表达可促进脂肪细胞的形成, PPAR γ 和 C/EBP α 表达增加, 提示 JMJD2B 通过上调 PPAR γ 和 C/EBP α 促进 3T3-L1 细胞形成脂肪细胞, 该过程是通过降低 H3K9me3、H3K9me2 与 PPAR γ 、C/EBP α 启动子的富集结合而实现的^[20]。

2.2.4 Jumonji 结构域 1c (Jmjd1c) Jmjd1c 通过 H3K9me2 去甲基化调控目标基因的转录活性。3T3-L1 细胞成脂分化的早期过程中 Jmjd1c mRNA 的表达增加, 沉默该基因可使 3T3-L1 细胞的成脂能力下降, 并且在 C/EBP α 、C/EBP β 、C/EBP δ 和 PPAR γ 启动子区 H3K9me2 高表达^[21]。

2.2.5 含组蛋白去甲基化酶 2a 的 JMJC 结构域 (Jhdm2a) Jhdm2a 是 H3K9 特异性去甲基化酶, 在调控代谢基因表达方面发挥重要作用, 敲除 Jhdm2a 基因的小鼠会产生肥胖和高脂血症, 在棕色脂肪细胞中可导致 β 肾上腺素刺激的葡萄糖释放和棕色脂肪组织中氧消耗的紊乱^[22]。

2.2.6 KDM5 KDM5 含有去甲基化酶的 Jumonji C 结构域, 可促进 H3K4 发生去二甲基化、三甲基化^[23]。该家族共有 KDM5A、KDM5B、KDM5C 和 KDM5D 4 个成员。在白色和棕色前脂肪细胞中敲除 KDM5 家族基因可下调成脂基因表达, 抑制脂肪细胞分化成熟, 并且引起 H3K4me3 在启动子区大量聚集, 但是 H3K4me3 的变化对基因表达的影响有限。全基因组分析显示, KDM5A 在 KDM5 激活的启动子区大量富集, 该区域存在高水平的 H3K4me3。KDM5 对于 3T3-L1 前脂肪细胞的有丝分裂扩增是必

须的^[24]。

以上研究显示,组蛋白甲基化酶/去甲基化酶通过调节组蛋白的甲基化修饰,从而调控脂肪细胞的分化和形成,组蛋白甲基化修饰是甲基转移酶和去甲基化酶的动态协调催化过程。然而,在脂肪细胞的分化、形成过程中,不同组蛋白甲基化形式之间、组蛋白其他修饰形式之间及与表观遗传修饰的其他形式的相互调控有待深入探讨研究。

参 考 文 献

- [1] Pigeyre M, Yazdi FT, Kaur Y, et al. Recent progress in genetics, epigenetics and metagenomics unveils the pathophysiology of human obesity [J]. Clin Sci (Lond), 2016, 130 (12): 943-986. DOI: 10.1042/CS20160136.
- [2] van Dijk SJ, Molloy PL, Varinli H, et al. Epigenetics and human obesity [J]. Int J Obes (Lond), 2015, 39 (1): 85-97. DOI: 10.1038/ijo.2014.34.
- [3] Shilatifard A. Chromatin modifications by methylation and ubiquitination: implications in the regulation of gene expression [J]. Annu Rev Biochem, 2006, 75: 243-269. DOI: 10.1146/annurev.biochem.75.103004.142422.
- [4] Lee J, Saha PK, Yang QH, et al. Targeted inactivation of MLL3 histone H3-Lys-4 methyltransferase activity in the mouse reveals vital roles for MLL3 in adipogenesis [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105 (49): 19229-19234. DOI: 10.1073/pnas.0810100105.
- [5] Lee JE, Wang C, Xu S, et al. H3K4 mono- and di-methyltransferase MLL4 is required for enhancer activation during cell differentiation [J]. Elife, 2013, 2: e01503. DOI: 10.7554/eLife.01503.
- [6] Shinkai Y, Tachibana M. H3K9 methyltransferase G9a and the related molecule GLP [J]. Genes Dev, 2011, 25 (8): 781-788. DOI: 10.1101/gad.2027411.
- [7] Wang L, Xu S, Lee JE, et al. Histone H3K9 methyltransferase G9a represses PPAR γ expression and adipogenesis [J]. EMBO J, 2013, 32 (1): 45-59. DOI: 10.1038/emboj.2012.306.
- [8] Li SF, Guo L, Qian SW, et al. G9a is transactivated by C/EBP β to facilitate mitotic clonal expansion during 3T3-L1 preadipocyte differentiation [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2013, 304 (9): E990-E998. DOI: 10.1152/ajpendo.00608.2012.
- [9] Ohno H, Shinoda K, Ohya K, et al. EHMT1 controls brown adipose cell fate and thermogenesis through the PRDM16 complex [J]. Nature, 2013, 504 (7478): 163-167. DOI: 10.1038/nature12652.
- [10] Nagano G, Ohno H, Oki K, et al. Activation of classical brown adipocytes in the adult human perirenal depot is highly correlated with PRDM16-EHMT1 complex expression [J]. PLoS One, 2015, 10 (3): e0122584. DOI: 10.1371/journal.pone.0122584.
- [11] Wang L, Jin Q, Lee JE, et al. Histone H3K27 methyltransferase Ezh2 represses Wnt genes to facilitate adipogenesis [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107 (16): 7317-7322. DOI: 10.1073/pnas.1000031107.
- [12] LeBlanc SE, Konda S, Wu Q, et al. Protein arginine methyltransferase 5 (Prmt5) promotes gene expression of peroxisome proliferator-activated receptor γ 2 (PPAR γ 2) and its target genes during adipogenesis [J]. Mol Endocrinol, 2012, 26 (4): 583-597. DOI: 10.1210/me.2011-1162.
- [13] Hu YJ, Sif S, Imbalzano AN. Prmt7 is dispensable in tissue culture models for adipogenic differentiation [J]. F1000Res, 2013, 2: 279. DOI: 10.12688/f1000research.2-279.v1.
- [14] Musri MM, Carmona MC, Hanzu FA, et al. Histone demethylase LSD1 regulates adipogenesis [J]. J Biol Chem, 2010, 285 (39): 30034-30041. DOI: 10.1074/jbc.M110.151209.
- [15] Xiong Y, Wang E, Huang Y, et al. Inhibition of lysine-specific demethylase-1 (LSD1/KDM1A) promotes the adipogenic differentiation of hESCs through H3K4 methylation [J]. Stem Cell Rev, 2016, 12 (3): 298-304. DOI: 10.1007/s12015-016-9650-z.
- [16] Zha L, Li F, Wu R, et al. The histone demethylase UTX promotes brown adipocyte thermogenic program via coordinated regulation of H3K27 demethylation and acetylation [J]. J Biol Chem, 2015, 290 (41): 25151-25163. DOI: 10.1074/jbc.M115.662650.
- [17] Ota K, Tong KI, Goto K, et al. The H3K27 demethylase, Utx, regulates adipogenesis in a differentiation stage-dependent manner [J]. PLoS One, 2017, 12 (3): e0173713. DOI: 10.1371/journal.pone.0173713.
- [18] Labbé RM, Holowatyj A, Yang ZQ. Histone lysine demethylase (KDM) subfamily 4: structures, functions and therapeutic potential [J]. Am J Transl Res, 2013, 6 (1): 1-15.
- [19] Whetstone JR, Nottke A, Lan F, et al. Reversal of histone lysine trimethylation by the JMJD2 family of histone demethylases [J]. Cell, 2006, 125 (3): 467-481. DOI: 10.1016/j.cell.2006.03.028.
- [20] Jang MK, Kim JH, Jung MH. Histone H3K9 demethylase JMJD2B activates adipogenesis by regulating H3K9 methylation on PPAR γ and C/EBP α during adipogenesis [J]. PLoS One, 2017, 12 (1): e0168185. DOI: 10.1371/journal.pone.0168185.
- [21] Buerger F, Müller S, Ney N, et al. Depletion of Jmjd1c impairs adipogenesis in murine 3T3-L1 cells [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2017, 1863 (7): 1709-1717. DOI: 10.1016/j.bbadis.2017.05.011.
- [22] Tateishi K, Okada Y, Kallin EM, et al. Role of Jhdm2a in regulating metabolic gene expression and obesity resistance [J]. Nature, 2009, 458 (7239): 757-761. DOI: 10.1038/nature07777.
- [23] Christensen J, Agger K, Cloos PA, et al. RBP2 belongs to a family of demethylases, specific for tri- and dimethylated lysine 4 on histone 3 [J]. Cell, 2007, 128 (6): 1063-1076. DOI: 10.1016/j.cell.2007.02.003.
- [24] Brier AB, Loft A, Madsen JGS, et al. The KDM5 family is required for activation of pro-proliferative cell cycle genes during adipocyte differentiation [J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45 (4): 1743-1759. DOI: 10.1093/nar/gkw1156.

(收稿日期: 2018-05-23)

(本文编辑: 刘欣)