

· 综述 ·

DNA 损伤修复和遗传缺陷导致的脂肪分化异常及胰岛素抵抗的研究进展

彭雅洁 朱文娇 施缘萍 乔洁

上海交通大学医学院附属第九人民医院内分泌科 200011

通信作者: 乔洁, Email: qiaoj2001@126.com

【摘要】 脂肪组织不仅是体内的储能器官, 而且是重要的内分泌器官, 各种原因引起的脂肪细胞分化异常, 会影响机体能量平衡, 导致代谢异常。脂肪分化异常与胰岛素抵抗相关, 是近年来内分泌代谢领域的研究热点。DNA 损伤修复异常会影响脂肪分化过程; 同时, DNA 损伤修复网络中相关基因突变可引起罕见遗传代谢综合征, 表现为脂肪萎缩、胰岛素抵抗及早衰等表型。本文探讨 DNA 损伤修复与脂肪分化异常的关系, 以及这些特殊临床表型潜在的分子机制。

【关键词】 DNA 损伤; 脂肪细胞分化异常; 胰岛素抵抗; 基因突变

基金项目: 上海市自然科学基金资助项目 (21ZR1438300)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121383-20210120-01056

Abnormal adipose differentiation and insulin resistance caused by DNA damage repair and genetic defects Peng Yajie, Zhu Wenjiao, Shi Yuanping, Qiao Jie. Department of Endocrinology, the 9th People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200011, China

Corresponding author: Qiao Jie, Email: qiaoj2001@126.com

【Abstract】 Adipose tissue is not only an energy storage organ in the body, but also a crucial endocrine organ. Abnormal differentiation of adipocytes caused by various reasons will affect the energy balance of the body, leading to disordered metabolism. Abnormal adipocyte differentiation is related to insulin resistance which is also a research focus in the field of metabolism recently. DNA damage will affect the process of adipogenic differentiation; meanwhile, the rare genetic metabolic syndrome caused by gene mutations in DNA damage repair network exhibit abnormal adipose differentiation, such as fat atrophy, insulin resistance and premature senility. In this paper, the relationship between DNA damage repair and abnormal adipose differentiation will be discussed, as well as the potential molecular mechanism of these special clinical phenotypes.

【Keywords】 DNA damage; Abnormal adipocyte differentiation; Insulin resistance; Gene mutation

Fund program: Sponsored by Natural Science Foundation of Shanghai (21ZR1438300)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121383-20210120-01056

脂肪组织是人体的储能器官和内分泌器官, 对机体能量代谢平衡至关重要。脂肪组织的功能障碍还与胰岛素抵抗、代谢综合征的发生等有密切的联系。脂肪分化不仅决定脂肪细胞的数量和大小, 更是维持机体正常代谢的重要环节。各种原因引起的脂肪细胞分化障碍, 可导致胰岛素抵抗, 诱发代谢综合征。DNA 是遗传的基本单位, 外界环境的致病因素可导致 DNA 损伤; 细胞具有针对 DNA 损伤的完整修复机制; 然而 DNA 损伤修复缺陷会给细胞增殖带来不利影响。更有意义的是, 与 DNA 修复机制相

关的基因突变会导致脂肪萎缩和胰岛素抵抗表型, 比如小头畸形-骨发育不良-原基性侏儒综合征 II 型 (MOPD II 综合征)、Werner 综合征 (WS) 和 Bloom 综合征 (BS) 等疾病。本文就 DNA 损伤修复缺陷与脂肪分化异常关系予以综述, 以通过这类疾病的代谢异常表型以及相关机制的探讨, 使人们深入了解脂肪分化的环节和重要调节因子, 为治疗脂肪营养不良、胰岛素抵抗和 2 型糖尿病等代谢性疾病提供线索。

1 DNA 损伤修复

DNA 是遗传的基本单位, 对内源性和外源性应

激高度敏感。在氧化应激和代谢应激等刺激下,真核细胞进化出较为完善的 DNA 损伤修复系统。然而,参与 DNA 复制和修复的酶的基因缺陷会导致损伤修复异常,给细胞带来不利的影响,且会对代谢稳态的调节产生负面影响。细胞对 DNA 损伤的修复是通过 DNA 损伤反应(DNA damage response,DDR)途径来实现的,主要包括碱基切除修复(Base Excision Repair, BER)、核苷酸切除修复(Nucleotide excision repair, NER)、错配修复(DNA mismatch repair, MMR)、同源重组(Homology directed repair, HR)和非同源末端连接(Non-homologous end joining, NHEJ)。其中, DNA 断裂分为单链断裂(single-strand break, SSB)和双链断裂(double-strand break, DSB),其两条主要修复途径为 HR 和 NHEJ。NHEJ 处理断裂的 DNA 末端,将其连接起来,修复中易于出现错误,而 HR 使用未受损的姐妹染色单体作为修复模板,是一种较为精确的修复途径^[1-2]。

2 脂肪分化的分子机制

2.1 早期脂肪细胞分化的重要决定因子 脂肪细胞的分化是指多能间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)定向于脂肪细胞分化,而不能形成其他类型的间充质细胞,如成肌细胞、软骨母细胞或成骨细胞。早期研究证实,骨形态发生蛋白(Bone morphogenetic protein, BMPs)促进脂肪细胞的分化。BMP 与其受体结合,进而刺激过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferators-activated receptor γ , PPAR γ)的转录来促进 MSCs 向脂肪细胞分化^[3]。PPAR γ 与其下游的转录因子 CCAAT 增强子结合蛋白 α (CCAAT/enhancer binding protein, C/EBP α)协同激活脂肪细胞的分化。

2.2 脂肪细胞分化 虽然脂肪分化是目前代谢领域研究的热点,但我们对于这一过程的认识主要来源于各种体外不同细胞类型的群体。研究显示, MSCs 分化成脂肪细胞的过程可分为以下两个阶段:首先, MSCs 表达血小板衍生生长因子受体 α 和 β ,形成前脂肪细胞。BMPs 信号途径的激活将前体细胞限制到脂肪细胞谱系,并表达转录因子 ZFP423。当前体细胞停止生长时, ZFP423 激活调控因子 PPAR γ 和 C/EBP α 、C/EBP β 。两种主要的脂肪生成转录因子的表达——PPAR γ 和 C/EBP α ,促进脂肪分化和脂滴形成。脂肪形成过程中重要的早期事件是生长受阻的脂肪细胞前体同步地进入细胞周期,并经历 1~2 轮细胞分裂,即有丝分裂克隆扩增(mitotic clonal expansion, MCE);这一过程为脂肪分化所

必需, C/EBP β 是其中一种重要的早期转录因子。成熟脂肪细胞表达早期脂肪细胞分化的标志物以及脂联素(adiponectin, ADIPOQ)和瘦素,脂肪甘油三酯脂肪酶和脂蛋白脂肪酶以及周脂素(Perilipin)^[4]。

3 DNA 损伤与脂肪细胞分化异常

近年来研究发现 DNA 损伤相关分子的表达升高会影响脂肪细胞分化。2002 年,研究者首次发现了高度保守的应激反应基因,发育和 DNA 损伤反应调节 1(*REDD1*),也被称为 *RTP801/Dig2/DDIT4*;可被缺氧、DNA 损伤等诱导。在人间充质干细胞(hMSCs)中 *REDD1* 过表达后, PPAR γ 和 C/EBP α 降低,削弱了向脂肪细胞分化的能力^[5]。进而, *REDD1* 敲除小鼠的真皮白色脂肪中 Perilipin 阳性的成熟脂肪细胞数量和大小增加,且前体细胞分化潜能提高。在 3T3-L1 细胞中过表达 *REDD1*,足以抑制晚期脂肪细胞分化标志物(PPAR γ 、C/EBP α 和 Perilipin)的表达,显著降低细胞在体外形成脂滴的能力^[6]。

p53 是一种肿瘤抑制因子,氧化应激、DNA 损伤等情况下被激活,在诱导细胞周期停滞、衰老和凋亡过程中发挥重要作用。在 3T3-L1 细胞中过表达 p53 抑制脂肪细胞分化, Akt 磷酸化下降;而在 p53 敲除的小鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryonic fibroblast, MEF),脂肪细胞的分化较野生型细胞增加^[7]。Tyner 等^[8]发现具有 p53 活性增强的截短型突变小鼠出现了抵抗肿瘤的早衰表型,体型变小,皮下脂肪萎缩明显。提示 DNA 损伤与脂肪细胞分化障碍存在着广泛且深入的联系。

4 DNA 损伤修复相关基因突变导致的罕见遗传病

已发现多种与 DNA 损伤修复相关的基因突变导致的罕见综合征会导致胰岛素抵抗和不同程度的脂肪萎缩,患者往往还伴有其他组织器官的先天性异常,如原基性侏儒症、早衰、面部骨骼异常等。

4.1 *PCNT* 基因突变与脂肪分化异常 MOPD II 综合征,是由编码中心粒周蛋白(pericentrin, PCNT)的基因突变引起的,呈常染色体隐性遗传方式^[9]。*PCNT* 基因定位于 21q22.3,编码中心粒外周物质的重要分子 PCNT 蛋白,其在中心体复制和成熟、有丝分裂过程中纺锤体组装以及微管形成中发挥重要作用。临床上, MOPD II 综合征患者除了典型特征(生长发育迟缓伴小头畸形),还具有骨骼发育不良、皮下脂肪减少和胰岛素抵抗等。Huang-Doran 等^[10]对 21 例 MOPD II 患者进行了研究,其中 81% (18/21)

的患者存在胰岛素抵抗,48% (10/21) 的患者有糖尿病[平均诊断年龄 15 岁(5~28 岁)],这些患者的代谢综合征与原发脂肪营养不良患者的代谢紊乱非常相似。利用 *PCNT* 敲减的 3T3-L1 细胞进行研究,观察到其诱导分化受限,脂滴减少,成熟脂肪细胞基因,如 *PPAR γ 2*, *ADIPOQ* 等表达降低。葡萄糖的转运受阻,且与脂肪细胞分化受损程度一致,但并不影响胰岛素受体下游激酶 AKT 的磷酸化以及 GLUT4 向胞膜转位^[10]。这些结果提示 *PCNT* 缺失与脂肪分化异常、胰岛素抵抗的发生存在着机制上的相关性。

4.2 *WRN* 基因突变与脂肪分化异常 WS 是一种以早衰为主要特征的常染色体隐性罕见遗传病,由 *WRN* (*RECQL2*) 基因突变引起。该基因位于人类染色体 8p12 上,由 35 个外显子组成,全长 150 kb,编码 RecQ 解旋酶^[11-12]。*WRN* 蛋白可促进复制叉进程,帮助重新启动停滞的 DNA 复制,其磷酸化对于维持基因组稳定性非常重要;而且 *WRN* 在 DNA 修复的 NHEJ 和 HR 中均发挥潜在作用^[13]。WS 患者的早衰表现包括脱发、脂肪萎缩、糖尿病、身材矮小和动脉粥样硬化等。四肢软组织(脂肪等)的显著萎缩是 WS 的一个特征,也是胰岛素抵抗的重要原因之一。Goh 等^[14]建立 *WRN* 和 *BLM* 基因敲除的人胚胎干细胞(human embryonic stem cell, hESC)系,发现这些细胞在分化为前脂肪细胞后出现早衰,表现为增殖减少,衰老相关的分子(p16 和 p21)、白细胞介素-6 以及激活素 A 等表达升高。该细胞系向脂肪细胞分化显著障碍,成脂基因的表达如 *ADIPOQ* 下降。此外, DNA 损伤修复的单基因疾病的共同特征是引发细胞衰老,提示 DNA 损伤修复相关的基因突变导致的脂肪分化异常表现可能与脂肪谱系的衰老有关。

4.3 *BLM* 基因突变与脂肪分化异常 BS 是一种常染色体隐性遗传病,属于染色体断裂综合征,由编码 DNA 修复酶 RecQL3 解旋酶的 *BLM* 基因突变引起。*BLM* 基因位于染色体 15q26.1,其编码的 BLM 蛋白参与维持基因组完整性所需的修复过程,是已知的唯一可以解开连续 45 个鸟嘌呤单链 DNA 序列的 RecQL 解旋酶。*BLM* 突变会干扰 HR 途径,破坏 DNA 复制过程中复制叉的稳定性以及姐妹染色单体交换的数量增加^[15-16]。患者表现为身材矮小,毛细血管扩张性红斑,面部蝴蝶皮疹,免疫缺陷,皮下脂肪组织萎缩,胰岛素抵抗等。Diaz 等^[17]对 11 例 BS 患者[8 例儿童(0.8~13.7 岁)、3 例成人(23~

28.6 岁)]做了临床评估,其中 6 例儿童葡萄糖耐量受损,10 岁以上的 3 例患者葡萄糖耐量受损,1 例患有糖尿病,8 例儿童的皮下脂肪明显减少。利用基因敲除建立的 *BLM*⁺ hESCs⁺ 与 *WRN*⁺ hESCs 结果一致,考虑前脂肪细胞衰老可能是 BS 患者胰岛素抵抗的重要原因^[14]。

4.4 *NIPBL* 基因突变与脂肪分化异常 Cornelia de Lange 综合征(Cornelia de Lange syndrome, CdLS)是一种罕见遗传疾病,目前为止已鉴定出 7 个致病基因:*NIPBL*, *SMC1A*, *SMC3*, *RAD21*, *BRD4*, *HDAC8* 和 *ANKRD11*^[18]。这些基因编码的蛋白质均为黏连蛋白复合体(Cohesin)的组分。Cohesin 不仅参与维持基因组稳定性,还促进距离较远的增强子和启动子的相互作用,从而调节重要基因的转录。患者出现典型的面部畸形,生长和智力低下,上肢缺陷,多毛症,多器官异常等症状^[19]。Kawauchi 等^[20]发现 *NIPBL* 杂合突变小鼠在出生后的几周表现出发育缺陷,与 CdLS 患者有显著的相似之处,包括体型变小、头面部异常、体脂减少和行为障碍等;参与脂肪分化的基因表达减少可能是在小鼠和患者中观察到的低体脂量的基础。目前认为 *NIPBL* 的缺失对某些脂肪细胞的重要因子的转录有影响,导致脂肪分化异常,其具体的机制还需要进一步深入研究探讨。以下为 DNA 损伤修复相关基因突变导致的遗传综合征特点及其致病基因,见表 1。

虽然这类疾病的分子病因已知,但类似早衰的治疗,这些综合征治疗方法非常有限。二甲双胍或胰岛素增敏剂(吡格列酮)以及胰岛素的治疗在个别研究中可以观察到一定控制血糖的效果,但缺乏长期对于患者寿命或生活质量改善的数据。

5 结语及展望

新近的基因组研究显示,有限的外周脂肪储存容量是胰岛素抵抗的主要决定因素,且代谢并发症的严重程度与脂肪营养不良的程度相关^[21]。维持全身胰岛素敏感性不仅需要完整的胰岛素信号通路,也需要胰岛素敏感的靶组织(尤其是脂肪组织)正常的大小、数目和功能。虽然目前针对 DNA 损伤和脂肪分化异常的研究甚少,但通过对这一类罕见疾病的研究,将深入阐明这些 DNA 损伤相关基因对细胞分化和代谢的影响,从而对胰岛素抵抗的分子机制有更深入的理解,并为这类脂肪营养不良样胰岛素抵抗的临床治疗提供线索。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

表 1 DNA 损伤修复相关基因突变的罕见遗传综合征特点

临床综合征	病因	编码蛋白	蛋白功能	遗传方式	主要临床症状	参考文献
小头畸形-骨发育不良-原基性侏儒综合征 II 型	PCNT 突变	PCNT	参与 DNA 复制	常染色体隐性遗传	生长发育迟缓伴小头畸形、皮下脂肪减少、胰岛素抵抗	[9]
Werner 综合征	WRN(<i>RECQL2</i>) 突变	RecQ 解旋酶	参与 DNA 修复	常染色体隐性遗传	早衰、脂肪萎缩、糖尿病、身材矮小	[11-12]
Bloom 综合征	BLM(<i>RECQL3</i>) 突变	RecQ 解旋酶	参与 DNA 修复	常染色体隐性遗传	毛细血管扩张性红斑、面部对阳光敏感的蝴蝶皮疹、脂肪萎缩、糖尿病	[15-16]
Cornelia de Lange 综合征	<i>NIPBL</i> , <i>SMC1A</i> , <i>SMC3</i> 等突变	黏连蛋白复合体	参与 DNA 修复、调节重要基因转录	常染色体显性遗传、X 染色体遗传	面部畸形、生长和智力低下、体脂减少	[19]

注:PCNT:中心粒周蛋白

参 考 文 献

- [1] Kakarougkas A, Jeggo PA. DNA DSB repair pathway choice: an orchestrated handover mechanism [J]. Br J Radiol, 2014, 87 (1035): 20130685. DOI: 10.1259/bjr.20130685.
- [2] Keijzers G, Maynard S, Shamanna RA, et al. The role of RecQ helicases in non-homologous end-joining [J]. Crit Rev Biochem Mol Biol, 2014, 49 (6): 463-472. DOI: 10.3109/10409238.2014.942450.
- [3] Huang H, Song TJ, Li X, et al. BMP signaling pathway is required for commitment of C3H10T1/2 pluripotent stem cells to the adipocyte lineage [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106 (31): 12670-12675. DOI: 10.1073/pnas.0906266106.
- [4] Ghaben AL, Scherer PE. Adipogenesis and metabolic health [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2019, 20 (4): 242-258. DOI: 10.1038/s41580-018-0093-z.
- [5] Gharibi B, Ghuman M, Hughes FJ. DDIT4 regulates mesenchymal stem cell fate by mediating between HIF1 α and mTOR signalling [J]. Sci Rep, 2016, 6: 36889. DOI: 10.1038/srep36889.
- [6] Rivera-Gonzalez GC, Klopot A, Sabin K, et al. Regulated in Development and DNA Damage Responses 1 Prevents Dermal Adipocyte Differentiation and Is Required for Hair Cycle-Dependent Dermal Adipose Expansion [J]. J Invest Dermatol, 2020, 140 (9): 1698-1705. e1. DOI: 10.1016/j.jid.2019.12.033.
- [7] Huang Q, Liu M, Du X, et al. Role of p53 in preadipocyte differentiation [J]. Cell Biol Int, 2014, 38 (12): 1384-1393. DOI: 10.1002/cbin.10334.
- [8] Tyner SD, Venkatachalam S, Choi J, et al. p53 mutant mice that display early ageing-associated phenotypes [J]. Nature, 2002, 415 (6867): 45-53. DOI: 10.1038/415045a.
- [9] Rauch A, Thiel CT, Schindler D, et al. Mutations in the pericentrin (PCNT) gene cause primordial dwarfism [J]. Science, 2008, 319 (5864): 816-819. DOI: 10.1126/science.1151174.
- [10] Huang-Doran I, Bicknell LS, Finucane FM, et al. Genetic defects in human pericentrin are associated with severe insulin resistance and diabetes [J]. Diabetes, 2011, 60 (3): 925-935. DOI: 10.2337/db10-1334.
- [11] Oshima J, Sidorova JM, Monnat RJ Jr. Werner syndrome: clinical features, pathogenesis and potential therapeutic interventions [J]. Ageing Res Rev, 2017, 33: 105-114. DOI: 10.1016/j.arr.2016.03.002.
- [12] Yokote K, Chanprasert S, Lee L, et al. WRN mutation update: mutation spectrum, patient registries, and translational prospects [J]. Hum Mutat, 2017, 38 (1): 7-15. DOI: 10.1002/humu.23128.
- [13] Mukherjee S, Sinha D, Bhattacharya S, et al. Werner Syndrome Protein and DNA Replication [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19 (11): 3442. DOI: 10.3390/ijms19113442.
- [14] Goh KJ, Chen JH, Rocha N, et al. Human pluripotent stem cell-based models suggest preadipocyte senescence as a possible cause of metabolic complications of Werner and Bloom Syndromes [J]. Sci Rep, 2020, 10 (1): 7490. DOI: 10.1038/s41598-020-64136-8.
- [15] Taylor AMR, Rothblum-Oviatt C, Ellis NA, et al. Chromosome instability syndromes [J]. Nat Rev Dis Primers, 2019, 5 (1): 64. DOI: 10.1038/s41572-019-0113-0.
- [16] Trizuljak J, Petruchova T, Blaháková I, et al. Diagnosis of Bloom Syndrome in a Patient with Short Stature, Recurrence of Malignant Lymphoma, and Consanguineous Origin [J]. Mol Syndromol, 2020, 11 (2): 73-82. DOI: 10.1159/000507006.
- [17] Diaz A, Vogiatzi MG, Sanz MM, et al. Evaluation of short stature, carbohydrate metabolism and other endocrinopathies in Bloom's syndrome [J]. Horm Res, 2006, 66 (3): 111-117. DOI: 10.1159/000093826.
- [18] Kline AD, Moss JF, Selicorni A, et al. Diagnosis and management of Cornelia de Lange syndrome: first international consensus statement [J]. Nat Rev Genet, 2018, 19 (10): 649-666. DOI: 10.1038/s41576-018-0031-0.
- [19] Avagliano L, Parenti I, Grazioli P, et al. Chromatinopathies: a focus on cornelia de lange syndrome [J]. Clin Genet, 2020, 97 (1): 3-11. DOI: 10.1111/cge.13674.
- [20] Kawauchi S, Calof AL, Santos R, et al. Multiple organ system defects and transcriptional dysregulation in the Nipbl (+/-) mouse, a model of Cornelia de Lange Syndrome [J]. PLoS Genet, 2009, 5 (9): e1000650. DOI: 10.1371/journal.pgen.1000650.
- [21] Lotta LA, Gulati P, Day FR, et al. Integrative genomic analysis implicates limited peripheral adipose storage capacity in the pathogenesis of human insulin resistance [J]. Nat Genet, 2017, 49 (1): 17-26. DOI: 10.1038/ng.3714.

(收稿日期: 2021-01-20)