

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.12.008

组蛋白 H3 甲基转移酶 Ezh2 与小鼠脂肪细胞分化关系研究 *

武晓慧¹ 孙 成² 徐玉乔³ 张 丰³ 魏婉丽^{1Δ}

(1 西安医学院肥胖与代谢病研究所 陕西 西安 710021; 2 空军军医大学学员队 陕西 西安 710032;

3 空军军医大学基础医学院病理学教研室暨第一附属医院病理科 陕西 西安 710032)

摘要 目的:探索组蛋白 H3K27me3 甲基转移酶 Ezh2 对小鼠白色、棕色和米色脂肪细胞分化的影响。**方法:**构建诱导型 Ezh2 全身敲除小鼠(Ezh2^{flax/flax}CAGcre)并于 6 周龄时腹腔注射他莫昔芬诱导敲除,以同窝、同性别、相同基因型假诱导(腹腔注射玉米油)小鼠作为对照。诱导完成后在光镜下观察脂肪细胞形态,采用 Western Blot 法检测脂肪组织中 H3K27me3、Ezh2 和 Ucp1 的蛋白表达量。采用 Realtime PCR 法检测不同部位脂肪组织的脂肪分化相关基因(Ppar γ 、Adipoq 和 Fabp4)、棕色脂肪标志基因(Ucp1、Cidea 和 Prdm16)和米色脂肪标志基因(CD137、Tmem26 和 Tbx1)的表达。检测敲除组小鼠的冷耐受能力,并予以高脂饮食诱导肥胖,观察小鼠体重增长情况、诱导结束后小鼠的糖耐量和胰岛素敏感性指标。**结果:**Ezh2 敲除小鼠 Ezh2 和 H3K27me3 的蛋白含量降低,背部棕色脂肪细胞脂滴明显小于对照组,Ucp1 的基因和蛋白表达明显高于对照组($P<0.05$);敲除组小鼠白色脂肪细胞分化较差,米色脂肪分化增加,米色脂肪的 Ucp1 和 Tbx1 基因表达增加($P<0.05$)。敲除小鼠可以更好地耐受冷刺激,并抵抗高脂饮食诱导的肥胖和胰岛素抵抗。**结论:**Ezh2 在体内促进白色脂肪细胞的分化,抑制棕色和米色脂肪细胞分化。

关键词:Ezh2; H3K27me3; 白色脂肪细胞; 棕色脂肪细胞; 米色脂肪细胞; 分化

中图分类号:R-33; Q75; R589.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)12-2237-06

Study on the Relationship between Histone H3 Methyltransferase Ezh2 and Adipocyte Differentiation in Mice*

WU Xiao-hui¹, SUN Cheng², XU Yu-qiao³, ZHANG Feng³, WEI Wan-li^{1Δ}

(1 Institute of Obesity and Metabolic Diseases, Xi'an Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710021, China;

2 Cadets of Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

3 Department of Pathology, Basic Medical College, and Department of Pathology, First Affiliated Hospital, Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effect of histone H3K27me3 methyltransferase Ezh2 on the differentiation of white, brown and beige adipocytes in mice. **Methods:** Ezh2 whole body knockout mice (Ezh2^{flax/flax}CAGcre) were constructed and induced by intraperitoneal injection of tamoxifen at the age of 6 weeks. The same litter, same sex and same genotype pseudoinduction mice (intraperitoneal injection of corn oil) were used as control. After induction completion, the morphology of adipocytes was observed under light microscope, and the expression of H3K27me3, Ezh2 and Ucp1 in adipose tissue was detected by Western Blot method. Realtime PCR was used to detect the expression of adipose differentiation-related genes (Ppar γ , Adipoq and Fabp4), brown adipocyte markers (Ucp1, Cidea and Prdm16) and beige adipocyte markers (CD137, Tmem26 and Tbx1) in different parts of adipose tissues. The cold tolerance of knockout mice was tested, and obesity was induced by high fat diet. The weight gain, glucose tolerance and insulin sensitivity of mice were observed after induction. **Results:** The protein content of Ezh2 and H3K27me3 in Ezh2 knockout mice decreased, the lipid droplets of brown adipocytes in interscapular region were significantly smaller than those in control group, and the gene and protein expression of Ucp1 were significantly higher than those in control group ($P<0.05$); the differentiation of white adipocytes in Ezh2 knockout mice was poor, the differentiation of beige adipocytes increased, and the expression of Ucp1 and Tbx1 genes in beige adipocytes increased($P<0.05$). Ezh2 knockout mice were better able to tolerate cold stimulation and resist obesity and insulin resistance induced by a high-fat diet. **Conclusion:** Ezh2 promotes the differentiation of white adipocytes and inhibits the differentiation of brown and beige adipocytes in vivo.

Key words: Ezh2; H3K27me3; White adipocytes; Brown adipocytes; Beige adipocytes; Differentiation

Chinese Library Classification(CLC): R-33; Q75; R589.6 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)12-2237-06

* 基金项目:国家自然科学基金项目(31400722);陕西省教育厅项目(17JK0654);陕西省科技厅项目(2017JM8124);

西安医学院高层次人才科研基金项目(2018RCYJ01);西安医学院科研配套项目(2018PT37)

作者简介:武晓慧(1984-),博士研究生,讲师,研究方向:代谢性疾病与肿瘤,电话:18202957206, E-mail: wuxh5221170@126.com

Δ 通讯作者:魏婉丽(1969-),博士,博士生导师,教授,研究方向:肥胖与帕金森病,电话:17778960850, E-mail: wanli.smith@gmail.com

(收稿日期:2019-01-23 接受日期:2019-02-18)

前言

肥胖与胰岛素抵抗、心脑血管疾病和部分癌症的发生密切相关,给当今社会造成了巨大的医疗负担^[1-4]。除了通过控制饮食和增加运动减轻肥胖外,有必要对肥胖及其相关疾病的发病机制进行更深入的研究,并在此基础上研发新的治疗策略。

据报道,肥胖的形成与脂肪细胞分化密切相关^[5]。哺乳动物的脂肪细胞包括白色、棕色和米色脂肪细胞 3 类^[6,7]。白色脂肪细胞以甘油三酯的形式储存过剩的能量。相反,棕色和米色脂肪细胞通过线粒体内的解偶联蛋白 1(Ucp1)解偶联氧化磷酸化反应产热而消耗能量^[8,9]。因后两类脂肪细胞可以通过产热耗能来缓解啮齿动物模型和人类的肥胖及胰岛素抵抗,因而被称为“产热性脂肪细胞(Thermogenesis Adipocytes)”,它们的分化调控成为肥胖治疗领域的研究热点^[7,10,11]。

近年来有报道表观遗传学的组蛋白 H3 第 27 位赖氨酸位点的甲基化修饰在脂肪细胞分化过程中发挥着重要作用^[12,13]。目前已知的催化 H3K27 甲基化的主要是多梳蛋白抑制性复合物 2(Polycomb Repressive Complex 2,PRC2),果蝇 *zeste* 基因增强子的人类同源物 2(Enhancer of *zeste* homolog 2,EZH2)是 PRC2 的唯一催化活性亚单位^[14,15]。Ezh2 可以在体外促进棕色和白色脂肪细胞的分化^[12],但关于 Ezh2 在体内与脂肪细胞分化的关系尚不清楚。本实验拟在小鼠体内探索 Ezh2 基因缺失后,对 3 种类型脂肪细胞,尤其是产热性脂肪细胞分化的影响,这将为脂肪细胞分化、肥胖及其相关疾病的深入了解及治疗提供新的理论基础。

1 材料与方法

1.1 Ezh2 基因敲除小鼠的构建

实验采用 Cre-loxp 方法构建了 Ezh2 基因敲除小鼠。Ezh2^{fllox/+} 雌雄小鼠及 CAG 驱动 cre(诱导型全身条件敲除)工具小鼠由空军军医大学张丰副教授提供。通过 CAG Cre 工具小鼠与 Ezh2^{fllox/+} 小鼠杂交,获得 Ezh2^{fllox/+}CAGcre 小鼠,再回交获得 Ezh2^{fllox/fllox}CAGcre 小鼠。待小鼠 6 周龄基本发育完全后,使用他莫昔芬腹腔注射进行诱导敲除。将他莫昔芬粉剂(美国 Sigma)以 20 mg/mL 的浓度溶于玉米油,敲除组按照 75 mg/kg 体重的单次剂量进行腹腔注射,对照组注射等量的玉米油,每日 1 次,连续注射 5 日。再经 10 天的等待期后进行后续实验。

1.2 小鼠基因鉴定

提取鼠尾 DNA 进行 PCR,反应体系为 20 μ L,引物序列(5'-3')如下:Ezh2 Forward:CATGTGCAGCTTCTGTTC; Ezh2 Reverse:CACAGCCTTCTGCTCACTG;CAG-cre Forward:CTCTGCTAACCATGTTTCATGCC;CAG-cre Reverse:CAGTGCCTTCGAACGCTAGAGCCTG。PCR 结束后用 EB 预染的 1.6%琼脂糖凝胶 100V 电泳 30 min 分离 DNA,紫外光下根据条带位置判断小鼠基因型。

1.3 小鼠冷暴露实验

取 Ezh2^{fllox/fllox}CAG cre 雄性诱导敲除后小鼠及对照小鼠,冷暴露前使用甘油润滑电子体温计,测量核心体温(肛温)。接下来将小鼠置于 4 $^{\circ}$ C 环境中共计 5 h,每隔 1 h 测体温 1 次,期间保证正常进食饮水。

1.4 高脂饮食诱导小鼠肥胖

将诱导敲除结束后的雄性小鼠及对照小鼠用含 60%脂肪(美国 Research Diets,D12492)的高脂饲料饲喂 8 周,每周测量体重 1 次。

1.5 小鼠空腹血糖及葡萄糖耐量测定 (injection Glucose Tolerance Test,iGTT)

高脂饲料诱导肥胖结束后,去除小鼠饲料 8 h,使小鼠空腹。尾静脉采血测空腹血糖。然后按照 1 g/kg 体重的标准腹腔注射葡萄糖溶液,在注射后 30、60、90 和 120 min 分别尾静脉采血测血糖。

1.6 血清空腹胰岛素水平测定

小鼠空腹 5 h 后,用 5%水合氯醛麻醉小鼠,心脏采血,置于 1.5 mL EP 管,4 $^{\circ}$ C 冰箱静置 1 h,并 3000 rpm 离心 3 min 分离血清,采用 ELISA 试剂盒(上海西唐生物)测定胰岛素含量。

1.7 胰岛素耐受能力测定(Insulin Tolerance Test,ITT)

小鼠空腹 5 h 后以 1 U/kg 体重短效胰岛素(诺和灵 R)腹腔注射,在注射后 30、60、90 和 120 min 分别尾静脉采血测血糖。

1.8 小鼠脂肪组织 HE 染色

实验结束后,脱颈椎法处死小鼠,取背部肩胛间区棕色脂肪组织(Brown Adipose Tissues,BAT)、腹背部皮下脂肪、附睾脂肪和肠系膜脂肪组织,用 4%甲醛溶液固定 24-48 h。装入包埋盒后上机脱水、浸蜡、包埋、切片,切片厚度 3 μ m,进行 HE 染色。

1.9 Western blot 法检测蛋白表达量

取各部位脂肪组织约 100 mg,提取总蛋白。采用 BCA 法测蛋白浓度(上海碧云天),样品上样量为 20 μ g/孔,电泳结束后转至 PVDF 膜,将膜用 5%脱脂奶粉室温封闭 1 h,1 $\times$ PBST 洗膜 5 min $\times$ 3 次,置于 1 抗中 4 $^{\circ}$ C 摇床孵育过夜(兔 Ucp1 及 H3K27me3 抗体,美国 Abcam;兔 Ezh2 抗体,美国 CST;鼠 β -Tubulin 抗体,天津三箭)。1 $\times$ PBST 洗膜 5 min $\times$ 3 次,将膜置于二抗(中衫金桥羊抗兔或羊抗鼠 IgG,浓度均为 1:5000)中室温孵育 1 h,再用 PBST 洗膜 3 次,ECL 发光液发光。

1.10 荧光定量聚合酶链式反应(Realtime PCR)法检测 mRNA 的表达

使用 RNA 提取试剂盒(日本 TaKaRa)提取总 RNA。反转录为 cDNA,SYBR Green master mix(日本 TaKaRa)催化下,在 Real-Time PCR 仪(美国 Bio-Rad)上进行扩增。待测基因的引物由大连宝生公司设计并合成,序列信息见表 1。以小鼠 β -actin 为内参。

1.11 统计学分析

数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组之间的比较采用独立样本 t 检验,采用 Spss 20.0 统计软件进行数据分析,以 $P<0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 Ezh2 基因敲除小鼠棕色脂肪细胞分化改善

经观察,Ezh2 基因敲除小鼠的体型、体重与对照组无明显差别,精神状态、毛发光泽度、饮食以及活动情况也如常。经检测,诱导敲除小鼠的棕色脂肪 Ezh2 基因和蛋白表达量均明显减少(图 1A, $P<0.01$;图 1B),敲除组的 H3K27me3 蛋白含量

减少(图 1B)。敲除组小鼠的棕色脂肪脂滴明显减小(图 1C)。因 Ucp1, Prdm16 和 Cidea, 其中 Ucp1 的表达明显升高(图 1D, $P<0.05$)。检测脂肪细胞分化基因 Ppar γ 、Adipoq 和 Fabp4, 结果显示 Fabp4 的表达明显升高(图 1D, $P<0.05$)。检测棕色脂肪标志基

表 1 Realtime PCR 引物序列
Table 1 Primer sequences of Realtime PCR

Genes	Forward(5'-3')	Reverse(5'-3')
Ppar γ	TGCAGCAGGTTGTCTTGATG	GGAGCCTAAGTTTGAGTTTGCTGTG
Adipoq	TTCTGTCTGTACGATTGTCAGTGGA	GGCATGACTGGGCAGGATTA
Fabp4	TGGGAACCTGGAAGCTTGCTCTC	GAATTCCACGCCAGTTTGA
Ucp1	CACTCAGGATTGGCCTCTACGAC	GCTCTGGGCTTGCACTTCTGAC
Cidea	CTGGTTACGCTGGTGCTGGA	TGCTTGACAGACTGGGACATACTTAC
Prdm16	CCTCGCCATGTGTGATGATCAA	CTTTACATGCACCAACAGTTCC
CD137	CGTGCAGAACTCCTGTGATAAC	GTCCACCTATGCTGGAGAAGG
Tbx1	GGCAGGCAGACGAATGTTTC	TTGTCATCTACGGGCACAAAG
Tmem26	ACCCTGTCATCCACAGAG	TGTTTGGTGGAGTCCTAAGGTC
β -actin	CATCCGTAAAGACCTCTATGCCAAC	ATGGAGCCACCGATCCACA

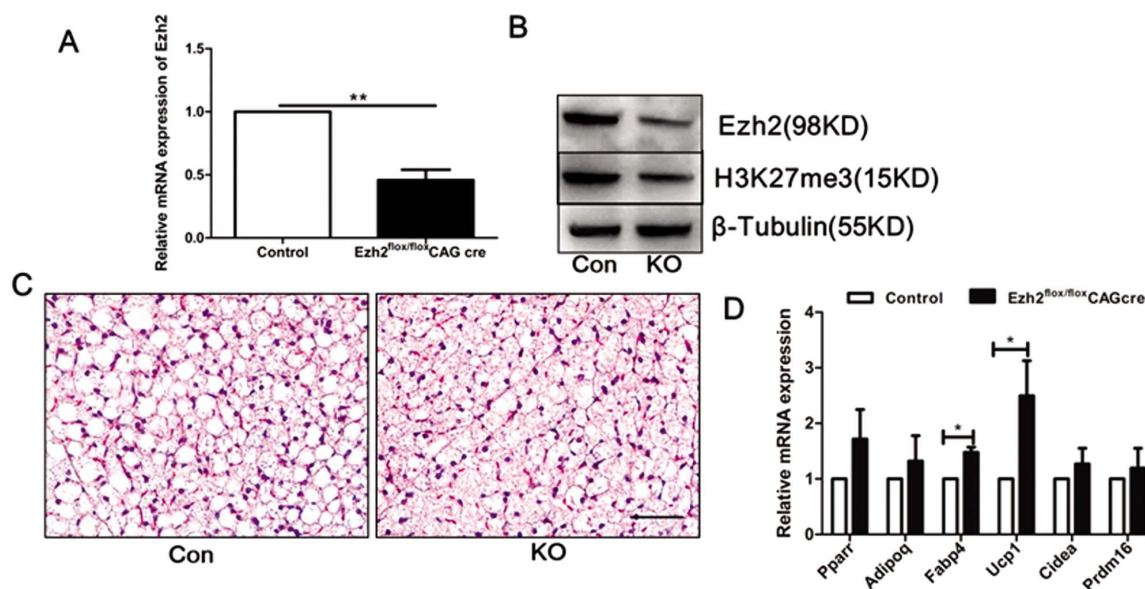


图 1 Ezh2 敲除小鼠棕色脂肪表型

Fig.1 Brown fat phenotype in Ezh2 knockout mice

Note: (A) Relative expression of Ezh2 mRNA in the BAT of interscapular region of mice (n=3). (B) Ezh2 and H3K27me3 protein expression in BAT. (C) HE staining photograph of BAT in interscapular region of mice, bar=50 μ m; (D) Relative expression of adipocyte differentiation gene and brown fat markers in BAT of mice (n=3); * $P<0.05$; ** $P<0.01$.

2.2 Ezh2 敲除小鼠白色脂肪细胞较小,米色脂肪细胞分化增加

诱导敲除组小鼠的附睾、皮下和肠系膜部位脂肪 Ezh2 基因和蛋白表达量均明显减少(图 2A, 均 $P<0.01$; 图 2B), 敲除组的 H3K27me3 蛋白含量减少(图 2B)。敲除组小鼠的白色脂肪细胞脂滴明显减小(图 2C)。在皮下和肠系膜两个部位, 尤其是皮下脂肪区域, 观察到片状分布的含多个脂滴的米色脂肪细胞(图 2C)。

2.3 Ezh2 敲除小鼠白色脂肪细胞分化较差,米色脂肪细胞分化较好

检测了各部位脂肪细胞分化基因(Ppar γ , Adipoq, Fabp4), 棕色和米色脂肪共有基因(Ucp1, Prdm16, Cidea)以及米色脂肪

特有的标志基因^[6](CD137, Tmem26, Tbx1)。结果显示, 附睾白色脂肪的 Adipoq 基因表达明显降低, Fabp4 基因表达明显升高(图 3A, 均 $P<0.05$)。皮下脂肪的 Ucp1、Tbx1 的表达明显升高(图 3B, 均 $P<0.05$)。肠系膜脂肪的 Ucp1 明显升高(图 3C, $P<0.05$)。其他基因也都表现升高趋势, 但无统计学差异。

2.4 敲除组小鼠可以更好地耐受冷刺激和高脂饮食诱导的肥胖和胰岛素抵抗

Ezh2 基因敲除小鼠在暴露于寒冷环境时, 在第 3 和第 4 h 的体温均明显高于对照组, 表明有更强的产热能力(图 4A, 均 $P<0.05$)。经 8 周时间高脂饮食诱导, 敲除组小鼠的体重增长率明显低于对照组(图 4B, $P<0.05$)。敲除组小鼠的空腹血糖水

平明显低于对照组(图 4C, $P<0.01$)。腹腔注射葡萄糖, 敲除组小鼠的血糖水平在注射后 30 min 和 120 min 明显低于对照组(图 4D, 均 $P<0.05$)。两组小鼠的空腹血清胰岛素水平无明显

差别(图 4E, $P>0.05$), 给小鼠腹腔注射胰岛素, 除了第 90 min, 敲除组小鼠血糖水平明显低于对照组(图 4F, 均 $P<0.05$)。

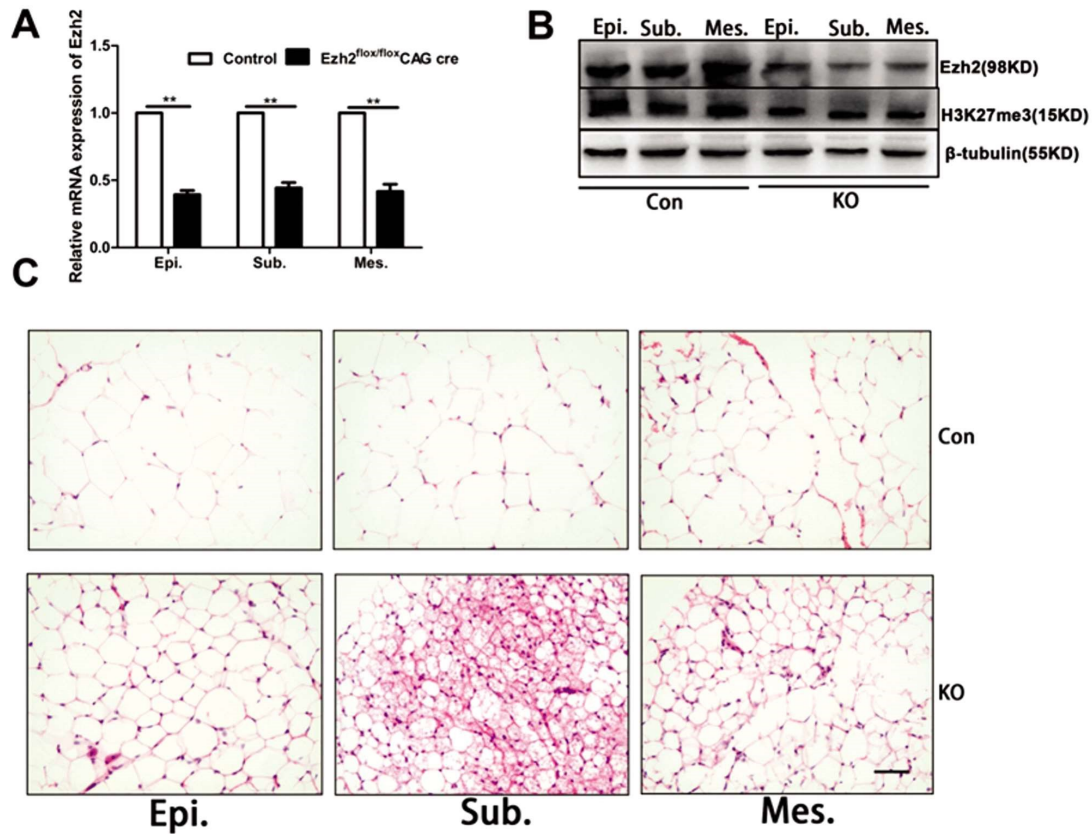


图 2 Ezh2 敲除小鼠的附睾、皮下和肠系膜部位脂肪表型

Fig.2 Epididymis, subcutaneous and mesenteric adipose phenotypes in Ezh2 knockout mice

Note: (A) The relative expression of Ezh2 in epididymal adipose tissue (Epi.), subcutaneous adipose tissue (Sub.) and mesenteric adipose tissue (Mes.) was detected by Realtime PCR (n=3). (B) The protein content of Ezh2 and H3K27me3 in the adipose tissue of control (con) and Knock out (KO) groups was detected by Western blot (n=3). (C) HE staining photographs of adipose tissue sections of all parts of adipose tissue, bar=75 μm. ** $P<0.01$.

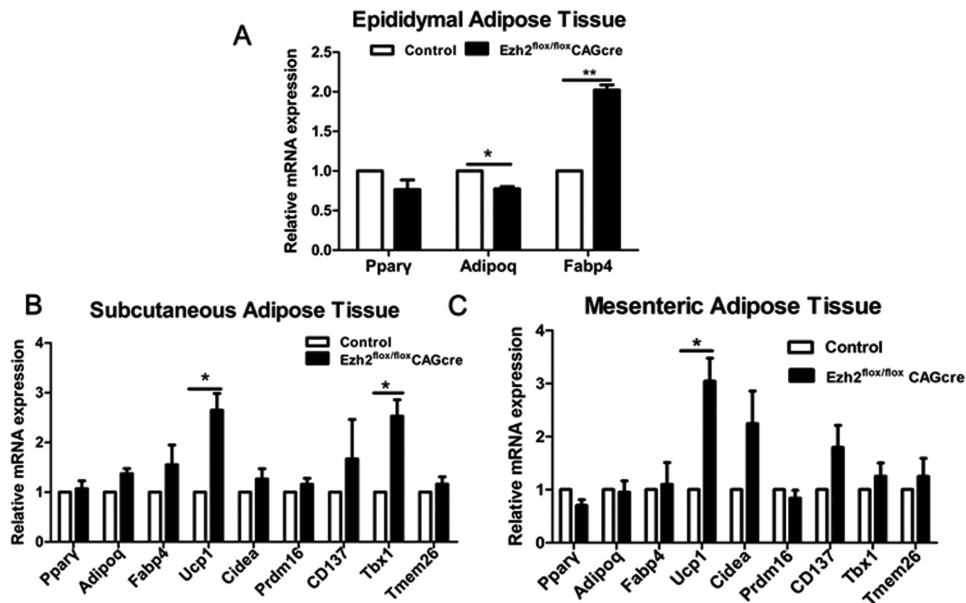


图 3 小鼠各部位脂肪相关因子的基因表达量

Fig.3 Gene expression of adipocyte-related factors in different parts of mice

Note: (A) Relative expression of adipocyte differentiation genes in epididymal adipose tissues (n=3). (B-C) Relative expression of white adipocyte differentiation genes, brown and beige adipose common genes and beige adipose specific markers in subcutaneous and mesenteric epididymal adipose tissues (n=3). * $P<0.05$; ** $P<0.01$.

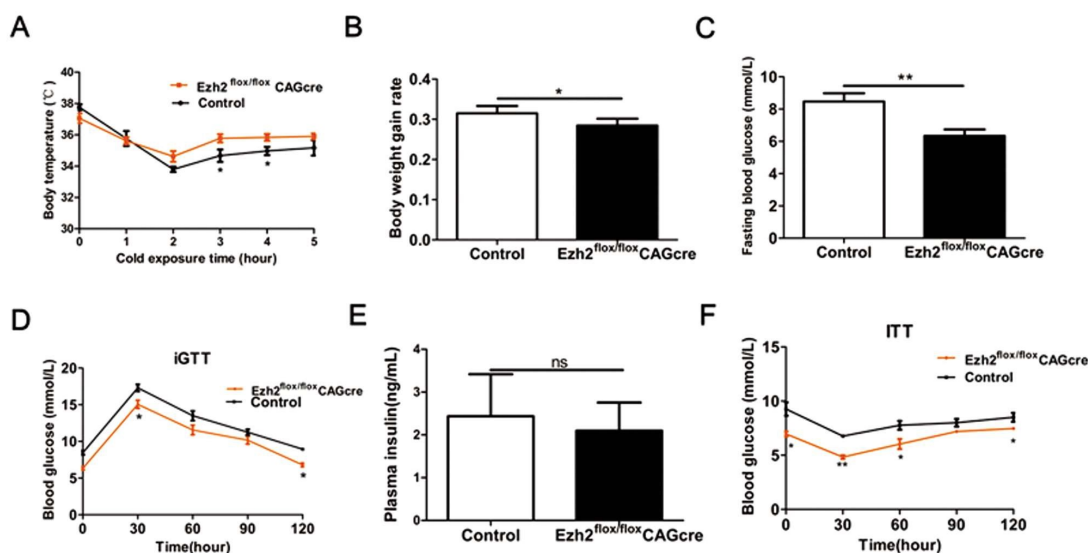


图4 两组小鼠的寒冷耐受能力及高脂饮食诱导后的体重、血糖和胰岛素抵抗情况

Fig. 4 Cold tolerance and body weight, blood glucose and insulin resistance of mice induced by high-fat diet in two groups

Note: (A) Temperature curve of mice exposed in cold environment (n=3). (B) Body weight growth rate after induction of high-fat diet (n=9). (C-D) Fasting blood glucose and glucose tolerance curve in mice (n=3). (E) Fasting insulin level in mice (n=3). (F) Blood glucose curve of mice after intraperitoneal insulin injection (1 U/kg) (n=3). * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

3 讨论

脂肪组织在全身能量平衡中具有中心地位。白色脂肪细胞以甘油三酯的形式储存过剩的能量,而棕色和米色脂肪细胞以产热的形式耗散能量。由此看来,机体具有一定的调控能量稳态的能力,而肥胖的产生可能与机体耗能能力相对处于弱势有关^[8,9]。以往的观点认为,棕色或米色脂肪随着人体的生长发育而逐渐减少消失,但现今的研究表明,成年人体内米色脂肪细胞和棕色脂肪细胞是共同存在的,米色脂肪在应对寒冷刺激时可以发生高效率的产热,几乎与棕色脂肪相等^[17,18]。大规模的临床调查发现,棕色或米色脂肪的增加与受试者体重和葡萄糖耐量、高脂血症的改善密切相关^[19,20]。如果能诱导人体内的棕色和米色脂肪分化增加,则能利用其耗能作用治疗肥胖和2型糖尿病,特别是在那些体内BAT含量较少的老年肥胖人群^[21]。搞清楚棕色和米色脂肪的分化调控机制,对于肥胖及其并发症的治疗具有重要意义。

表观遗传调控包括DNA甲基化、组蛋白修饰及非编码RNA的调控等多种形式。最近的研究发现大约50个转录和表观遗传调节物正向或负向调节棕色和米色脂肪细胞的分化^[22]。本实验主要研究组蛋白H3的甲基化修饰与脂肪细胞分化之间的关系。前人的研究发现,在前脂肪细胞中,Ezh2和H3K27me3在多个Wnt基因(如Wnt1、Wnt6、Wnt10a)位点处聚集,Ezh2对于小鼠白色和棕色前脂肪细胞的分化均是必须的,通过抑制Wnt信号通路促进脂肪细胞生成^[12]。我课题组用Ezh2特异性酶活性抑制剂GSK126处理高脂饮食诱导的肥胖小鼠,可以通过增加米色脂肪细胞的分化并促进棕色脂肪细胞的功能减轻小鼠体重,这些证据都表明Ezh2和H3K27me3对棕色和米色脂肪细胞的分化具有潜在的重要作用^[23]。

本实验以诱导型Ezh2基因敲除小鼠,在体内研究了Ezh2对小鼠脂肪细胞分化的影响,发现Ezh2基因敲除小鼠的棕色和米色脂肪细胞分化改善,并填补了Ezh2在白色和棕色脂肪细胞的分化作用中体内研究这一空白。在实验设计中,考虑到

该敲除方式的敲除范围比较广泛,因此待小鼠成年之后才进行诱导敲除,以避免Ezh2缺失对小鼠骨骼、软骨或骨骼肌发育造成影响^[24],避免这些可能的影响对脂肪细胞的结果判断带来的偏倚。

关于白色脂肪细胞的分化,实验结果表明,敲除Ezh2后,小鼠体内的白色脂肪含量减少,附睾、皮下和肠系膜部位的白色脂肪细胞的直径和脂滴直径均明显小于对照组,而脂肪细胞分化相关基因Adipoq的表达也下调,这表明白色脂肪细胞分化不良。这与之前的两篇体外实验的文献报道结论一致^[12,25]。

关于棕色脂肪细胞的分化,实验观察了小鼠肩胛间区棕色脂肪细胞的形态和分子生物学标志物的表达变化,这个部位具有最经典的棕色脂肪。在6w大Ezh2基因缺失小鼠,棕色脂肪细胞的脂滴小而更加均匀,产热关键蛋白Ucp1的表达量更高。这些结果基本说明Ezh2抑制棕色脂肪细胞分化。通过研究和回顾文献我们发现,棕色脂肪细胞的脂滴过大,或呈单个脂滴是功能比较差的表现^[26,27],含有丰富而大小均匀的小脂滴的棕色脂肪细胞功能较好。在本实验中,Ezh2敲除小鼠棕色脂肪Ucp1的表达增加,同时存在较小而均匀的脂滴,因而其棕色脂肪细胞的分化和功能是改善的。Ucp1位于线粒体内膜,它的表达增加与线粒体的产热功能密切相关。经检测,基因敲除组小鼠能更好地耐受寒冷刺激,保持核心体温。在实验过程中,未观察到小鼠有任何寒战表现,因而产热可能主要由非颤抖产热来完成^[28]。分化改善的棕色脂肪细胞应在其中发挥了部分作用。关于米色脂肪细胞的分化,我们在皮下和肠系膜两个部位观察到含有多泡状脂滴的米色脂肪细胞,且敲除组呈片状分布,而对照组则有较少的米色脂肪细胞。后续的基因检测表明,这两个部位的Ucp1表达均明显升高,皮下部位的Tbx1也明显升高。因Ucp1也可以作为米色脂肪细胞的标志物^[29,30],因此,结合形态学和分子生物学的改变,这两个部位的米色脂肪细胞的分化是增加的。其与棕色脂肪共同产热,在小鼠冷暴露实验中共同参与维持小鼠的体温。

根据前人提出的肥胖治疗理论,棕色和米色脂肪可以通过

增加能量消耗而减轻肥胖和胰岛素抵抗^[31-33]。为了验证敲除组小鼠是否能够耐受高脂饮食诱导的肥胖,实验随机选取了一部分小鼠用含 60%脂肪的高脂饲料饲喂 8 周。8 周后敲除组体重增长率明显低于对照组,且敲除组有更低的空腹血糖和更好的糖耐量,胰岛素敏感性也更好,长期高脂饮食所致的胰岛素抵抗较轻,这与小鼠改善的棕色脂肪细胞分化和增加的米色脂肪细胞均有关。

H3K27me3 是 Ezh2 的催化底物,在 Ezh2 缺失小鼠各脂肪部位均观察到了减少的 H3K27me3 的甲基化修饰,影响了脂肪细胞分化相关基因的表达,因而敲除组小鼠分化出更多的米色脂肪细胞。Ezh2 可能通过其酶活性发挥作用。

综上所述,在体内,Ezh2 促进白色脂肪细胞分化,抑制棕色和米色脂肪细胞分化,是肥胖的正向调控因子。这为人类利用棕色和米色脂肪减轻肥胖提供了新的理论基础。

参考文献(References)

- [1] Mathews SE, Kumar RB, Shukla AP. Nonalcoholic steatohepatitis, obesity, and cardiac dysfunction [J]. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2018, 25(5): 315-320
- [2] Bultman SJ. A reversible epigenetic link between obesity and cancer risk[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2018, 29(8): 529-531
- [3] Lehnert T, Sonntag D, Konnopka A, et al. Economic costs of overweight and obesity [J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2013, 27(2): 105-115
- [4] Akinyemiju T, Moore JX, Pisu M, et al. A prospective study of obesity, metabolic health, and cancer mortality [J]. *Obesity*, 2018, 26(1): 193-201
- [5] Liu P, Hsieh P, Lin H, et al. Grail is involved in adipocyte differentiation and diet-induced obesity[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(5): 525-537
- [6] Lidell ME, Betz MJ, Leinhard OD, et al. Evidence for two types of brown adipose tissue in humans[J]. *Nat Med*, 2013, 19(5): 631-634
- [7] Ouellet V, Routhier-Labadie A, Bellemare W, et al. Outdoor temperature, age, sex, body mass index, and diabetic status determine the prevalence, mass, and glucose-uptake activity of 18f-fdg-detected bat in humans[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96(1): 192-199
- [8] Chondronikola M, Volpi E, Børshiem E, et al. Brown adipose tissue activation is linked to distinct systemic effects on lipid metabolism in humans[J]. *Cell Metab*, 2016, 23(6): 1200-1206
- [9] Abdullahi A, Jeschke MG. White adipose tissue browning: A double edge sword[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2016, 27(8): 542-552
- [10] Wd VML, Vanhommel JW, Smulders NM, et al. Cold-activated brown adipose tissue in healthy men[J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(15): 1500-1508
- [11] Lans AAJJvd, Hoeks J, Brans B, et al. Cold acclimation recruits human brown fat and increases nonshivering thermogenesis [J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(8): 3395-3403
- [12] 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
- [13] Yi SA, Um SH, Lee J, et al. S6k1 phosphorylation of h2b mediates ezh2 trimethylation of h3: A determinant of early adipogenesis [J]. *Mol Cell*, 2016, 62(3): 443-452
- [14] Cao R, Zhang Y. Suz12 is required for both the histone methyltransferase activity and the silencing function of the eed-ezh2 complex[J]. *Mol Cell*, 2004, 15(1): 57-67
- [15] Qi W, Chan H, Teng L, et al. Selective inhibition of ezh2 by a small molecule inhibitor blocks tumor cells proliferation[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(52): 21360-21365
- [16] Garcia RA, Roemmich JN, Claycombe KJ. Evaluation of markers of beige adipocytes in white adipose tissue of the mouse[J]. *Nutr Metab*, 2016, 13(1): 24-37
- [17] Chondronikola M, Volpi E, Børshiem E, et al. Brown adipose tissue improves whole-body glucose homeostasis and insulin sensitivity in humans[J]. *Diabetes*, 2015, 64(6): 12-13
- [18] Ahfeldt T, Schinzel RT, Lee YK, et al. Programming human pluripotent stem cells into white and brown adipocytes [J]. *Nat Cell Biol*, 2012, 14(2): 209-219
- [19] Chondronikola M, Volpi E, Børshiem E, et al. Brown adipose tissue activation is linked to distinct systemic effects on lipid metabolism in humans[J]. *Cell Metab*, 2016, 23(6): 1200-1206
- [20] Wu J, Boström P, Sparks LM, et al. Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human [J]. *Cell*, 2012, 150(2): 366-376
- [21] Nishio M, Yoneshiro T, Nakahara M, et al. Production of functional classical brown adipocytes from human pluripotent stem cells using specific hemopoietin cocktail without gene transfer [J]. *Cell Metab*, 2012, 16(3): 394-406
- [22] Inagaki T, Sakai J, Kajimura S. Transcriptional and epigenetic control of brown and beige adipose cell fate and function[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17(8): 480-495
- [23] Wu X, Wang Y, Wang Y, et al. Gsk126 alleviates the obesity phenotype by promoting the differentiation of thermogenic beige adipocytes in diet-induced obese mice[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 501(1): 9-15
- [24] Schulz TJ, Huang TL, Tran TT, et al. Identification of inducible brown adipocyte progenitors residing in skeletal muscle and white fat [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 12(3): 143-148
- [25] Yi SA, Um SH, Lee J, et al. S6k1 phosphorylation of h2b mediates ezh2 trimethylation of h3: A determinant of early adipogenesis [J]. *Mol Cell*, 2016, 62(3): 443-452
- [26] 武晓慧,杨慧宇,王轲,等. 老年小鼠糖耐量减退与脂肪细胞分化关系的实验研究[J]. *西部医学*, 2018, 30(12): 1721-1727
- [27] Rogers NH, Landa A, Park S, et al. Aging leads to a programmed loss of brown adipocytes in murine subcutaneous white adipose tissue[J]. *Aging Cell*, 2012, 11(6): 1074-1083
- [28] Gonzalez-Hurtado E, Lee J, Choi J, et al. Fatty acid oxidation is required for active and quiescent brown adipose tissue maintenance and thermogenic programming[J]. *Molecular Metabolism*, 2018, 7(C): 45-56
- [29] Rosen ED, Spiegelman BM. What we talk about when we talk about fat[J]. *Cell*, 2014, 156(1-2): 20-44
- [30] Melissa B, Reddy ST, Laurent V, et al. Follistatin promotes adipocyte differentiation, browning, and energy metabolism [J]. *J Lipid Res*, 2014, 55(3): 375-384
- [31] Cereijo R, Giralto M, Villarroya F. Thermogenic brown and beige/brite adipogenesis in humans [J]. *Ann Med*, 2015, 47(2): 169-177
- [32] Hanssen MJ, Hoeks J, Brans B, et al. Short-term cold acclimation improves insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Nat Med*, 2015, 21(8): 863-865
- [33] Chondronikola M, Volpi E, Børshiem E, et al. Brown adipose tissue improves whole-body glucose homeostasis and insulin sensitivity in humans[J]. *Diabetes*, 2015, 64(6): 12-13