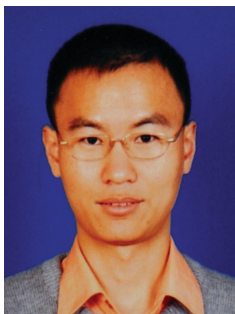


领域前沿·中国



王一国, 清华大学生命科学学院研究员, 博士生导师, 中组部“青年千人计划”、自然科学基金委“优秀青年基金”获得者。2001年毕业于曲阜师范大学, 获学士学位。2007年在中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所获博士学位, 导师陈正军研究员。2007年至2012年在美国Salk Institute著名科学家Marc Montminy实验室从事博士后研究。主要研究方向为激素、营养和应激信号在能量稳态平衡中的调控机制及其与相关代谢性疾病之间的联系。课题组近期在Nature上发表论文, 报道了CRTC2调控脂代谢的信号通路, 揭示了代谢性疾病中肝脏脂代谢紊乱的重要分子机制(Han *et al.* Nature 2015)。

CRTC2在肝脏脂内稳态中的作用

韩锦铂^{1#} 李二伟^{1#} 陈力群¹ 张元元¹ 魏方超¹ 刘洁媛² 邓海腾² 王一国^{1*}
(¹清华大学生命科学学院, 清华大学-北京大学生命科学联合中心, 教育部生物信息学重点实验室, 北京 100084;
²清华大学生命科学学院, 生物医学测试中心, 北京 100084)

摘要 脂合成代谢的增强会引起甘油三酯在肝脏内异常堆积, 导致胰岛素耐受或者非酒精性脂肪肝病。SREBP1(sterol regulatory element-binding protein 1)是调控脂合成代谢的重要转录调控因子, SREBP1合成后以非活性前体的形式存在于内质网。在胰岛素信号通路激活或在体内低固醇水平诱导下, SREBP1以依赖于COPII(coat protein complex II)的方式从内质网转运到高尔基体, 并在高尔基体受蛋白酶加工剪切, 成熟后的SREBP1进入细胞核诱导脂合成相关基因的表达。尽管研究人员对SREBP1调控脂代谢的功能有了相当多的认识和理解, 但对代谢性疾病中SREBP1活性增强的分子机制一直不清楚。我们的研究表明, CRTC2(CREB regulated transcription coactivator 2)介导了mTOR(mechanistic target of rapamycin)调控的且依赖于COPII复合物的SREBP1的成熟, 揭示了CRTC2介导的信号通路在调控肝脏脂代谢中的重要作用。

关键词 CRTC2; SREBP1; mTOR; 脂合成

The Role of CRTC2 in Hepatic Lipid Homeostasis

Han Jinbo^{1#}, Li Erwei^{1#}, Chen Liqun¹, Zhang Yuanyuan¹, Wei Fangchao¹, Liu Jieyuan², Deng Haiteng², Wang Yiguo^{1*}
(¹Ministry of Education Key Laboratory of Bioinformatics, Tsinghua-Peking Center for Life Sciences, School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China; ²Center of Biomedical Analysis, School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract Abnormal accumulation of triglycerides in the liver, caused in part by increased *de novo* lipogenesis, results in nonalcoholic fatty liver disease and insulin resistance. Sterol regulatory element-binding

[#]共同第一作者

*通讯作者。Tel: 010-62783209, E-mail: wangyiguo@biomed.tsinghua.edu.cn

[#]These authors contributed equally to this work

*Corresponding author. Tel: +86-10-62783209, E-mail: wangyiguo@biomed.tsinghua.edu.cn

网络出版时间: 2015-09-16 17:08:16

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150916.1708.006.html>

protein 1 (SREBP1), a master transcriptional regulator of lipogenesis, is synthesized as an inactive precursor bound to the endoplasmic reticulum. Upon sensing to insulin stimulation or sterol depletion, SREBP1 is transported to the Golgi through coat protein complex II (COPII)-mediated vesicle trafficking, released by a two-step proteolytic cleavage and then shuttled to the nucleus to induce the expression of genes involved in cholesterol and fatty acid synthesis. However, the mechanisms underlying enhanced SREBP1 activity in insulin-resistant obesity and diabetes remain unclear. Here we show that CREB regulated transcription coactivator 2 (CRTC2) functions as a mediator of mechanistic target of rapamycin (mTOR) signaling to modulate COPII-dependent SREBP1 processing and lipid homeostasis in the fed state and in obesity.

Keywords CRTC2; SREBP1; mTOR; lipogenesis

1 SREBP1与脂稳态

脂合成是脂肪酸合成以及甘油三酯形成的过程^[1], 脂合成的增强可以导致甘油三酯在肝脏中的异常积累, 进而引起非酒精性脂肪肝和胰岛素耐受^[2-3]。固醇调控元件结合蛋白1(sterol regulatory element-binding protein 1, SREBP1)是调控脂合成的重要转录调控因子, 它是一个以非活性前体形式存在于内质网的跨膜蛋白^[4-5]。在胰岛素信号通路被激活后或者在响应低固醇水平信号时, SREBP1以依赖于外壳蛋白复合物II(coat protein complex II, COPII)的方式从内质网被转运到高尔基体, 通过蛋白酶剪切, 成熟后的SREBP1进入细胞核促进脂生成有关基因的表达^[6-8]。在肥胖、二型糖尿病以及脂肪肝模型小鼠体内SREBP1的活性显著增强^[9], 然而这一现象的分子机制并不清楚。尽管最近的研究表明, SREBP1的活性依赖于mTOR^[10-13], 但具体的调控机制仍不清楚。

2 CRTC2与糖代谢

CREB转录激活因子2(coactivator 2, CRTC2)是一个可以在细胞质和细胞核之间穿梭的蛋白, 目前关于CRTC2的研究主要集中于它在细胞核内的功能^[14]。在基础状态下, CRTC2处于磷酸化状态并通过结合14-3-3蛋白定位于细胞质; 当受到胞内的钙离子和环腺苷酸信号调控时, CRTC2被钙调磷酸酶去磷酸化, 去磷酸化的CRTC2进入细胞核促进其靶基因的转录^[14-15]。在细胞核内, CRTC2作为一个转录激活子通过结合不同的转录因子在糖异生和内质网应激过程中发挥重要作用^[14-16], 但至今我们对CRTC2在细胞质内的功能知之甚少。尽管目前关于CRTC家族成员的研究主要集中在它们在糖代谢中

所发挥的作用^[14], 但也有一些研究显示, CRTC家族在脂代谢中可能起着重要作用^[17-19]。这些发现让我们对CRTC2是否在肝脏脂代谢中发挥重要作用产生了极大的兴趣。

3 CRTC2调控脂代谢

我们利用*Crtc2*敲除小鼠进行研究, 发现无论在正常食物喂养条件下还是在高脂食物喂养条件下, *Crtc2*敲除小鼠肝脏中甘油三酯含量与野生型小鼠相比均有显著增加^[20]。进一步的研究发现, 甘油三酯含量的增加与SREBP1活性的增强以及CRTC2细胞质的功能密切相关(图1)^[20]。我们之前的研究表明, CRTC2在细胞质中富集于内质网周围^[15-16]。这些结果提示, CRTC2可能参与了SREBP1转运过程的调控。通过对内质网组分的亚细胞分离及相互作用蛋白质的分析, 我们发现, CRTC2和COPII复合物中的一个亚基Sec31A存在相互作用^[20]。同时, 研究结果表明, CRTC2上Trp143这个位点对CRTC2与Sec31A之间的相互作用很重要^[20]。Sec31A的C-端不仅结合CRTC2, 而且也是其与Sec23A相互作用的区域, 于是我们推测, CRTC2可能阻碍了Sec31A与Sec23A的相互作用, 体内外的实验结果证实了这一推测^[20]。因此, 这些结果表明, CRTC2通过和Sec23A竞争性结合Sec31A来调控SREBP1的转运和加工成熟过程。

胰岛素信号和营养信号可以调控SREBP1的成熟过程及其转录因子活性^[7-8,21], 我们推测CRTC2和Sec31A的相互作用可能受到激素和营养物质的调控, 进而调控了SREBP1的激活。实验证明, 胰岛素和氨基酸均可以减弱CRTC2和Sec31A的相互作用并增强Sec23A和Sec31A的相互作用^[20]。同时, 我们

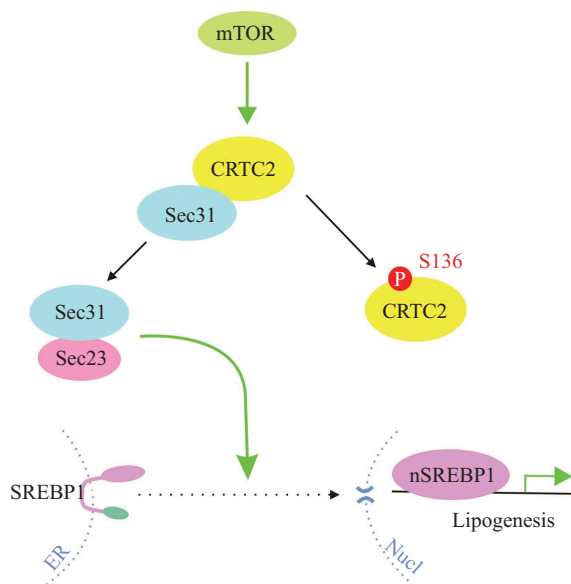


图1 CRTC2调控SREBP1活性和脂合成的分子机制
(根据参考文献[20]修改)

Fig.1 CRTC2 regulates SREBP1 processing and lipogenesis
(modified from reference [20])

通过体内和体外实验发现, mTOR可以在Ser136这个位点直接磷酸化CRTC2, CRTC2的磷酸化缺陷突变体CRTC2(S136A)减弱了胰岛素对Sec23A:Sec31A之间相互作用的调节^[20]。

那么, mTOR-CRTC2-SREBP1调控机制在代谢性疾病中发生了什么变化呢? 我们利用肥胖和糖尿病模型小鼠分析了CRTC2的磷酸化及其调控作用。研究表明, 在肥胖和糖尿病模型小鼠中, mTOR对CRTC2 Ser136的磷酸化显著增强, CRTC2和Sec31A的相互作用减弱; 同时, Sec31A和Sec23A的相互作用增强^[20]。另外, 通过表达磷酸化缺陷的CRTC2突变体CRTC2(Δ TAD/S136A)可以降低高脂食物喂养的小鼠肝脏中SREBP1的活性和甘油三酯的含量、增强小鼠的胰岛素敏感性^[20]。这些结果显示, 在肥胖和糖尿病患者体内, CRTC2 Ser136磷酸化的增强是导致SREBP1活性升高和肝脏脂生成增加的重要原因之一。

综上所述, 我们发现, CRTC2介导了mTOR信号通路对SREBP1活性和脂合成代谢的调节, 揭示了代谢性疾病中肝脏脂代谢紊乱的重要分子机制。这项工作的重要意义在于: (1)发现CRTC2除了入核调控糖代谢之外, 定位于细胞质的CRTC2发挥着调控脂代谢的重要功能; (2)阐明了mTOR信号通路对SREBP1活性调控的一种分子机制; (3)解释了在肥

胖、糖尿病和脂肪肝患者体内SREBP1活性增强的分子机理, 为这类疾病的治疗提供了新的思路。

4 未来研究方向

我们的工作揭示了定位于细胞质中的CRTC2介导了mTOR对SREBP1的加工成熟和对脂合成过程的调控作用, 阐明了在肥胖、糖尿病和脂肪肝患者体内SREBP1活性增强的分子机理。但仍有很多问题有待解决, 例如: 在禁食饥饿时, CRTC2穿梭到细胞核^[14], 从而失去了对SREBP1的抑制作用, SREBP1活性应该增强, 但实际上SREBP1的活性在禁食饥饿时是减弱的^[22-24], 具体的机制还不清楚。另外, 我们的结果显示, CRTC2对SREBP1的成熟过程有抑制作用, 但对SREBP2的成熟没有影响, 因此, CRTC2对COPII膜泡运输调控的选择性和特异性问题还有待进一步研究。对这些问题的深入研究, 将有助于我们更好地理解膜泡运输过程中膜泡对运载蛋白的选择机制以及相关代谢性疾病的发病机理。

参考文献 (References)

- Lodhi IJ, Wei X, Semenkovich CF. Lipoexpediency: *de novo* lipogenesis as a metabolic signal transmitter. *Trends Endocrinol Metab* 2011; 22(1): 1-8.
- Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, Jessurun J, Boldt MD, Parks EJ. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest* 2005; 115(5): 1343-51.
- Perry RJ, Samuel VT, Petersen KF, Shulman GI. The role of hepatic lipids in hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* 2014; 510(7503): 84-91.
- Brown MS, Goldstein JL. The SREBP pathway: Regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell* 1997; 89(3): 331-40.
- Wang X, Sato R, Brown MS, Hua X, Goldstein JL. SREBP-1, a membrane-bound transcription factor released by sterol-regulated proteolysis. *Cell* 1994; 77(1): 53-62.
- Goldstein JL, DeBose-Boyd RA, Brown MS. Protein sensors for membrane sterols. *Cell* 2006; 124(1): 35-46.
- Horton JD, Goldstein JL, Brown MS. SREBPs: Activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest* 2002; 109(9): 1125-31.
- Yellaturu CR, Deng X, Cagen LM, Wilcox HG, Mansbach CM, Siddiqi SA, *et al.* Insulin enhances post-translational processing of nascent SREBP-1c by promoting its phosphorylation and association with COPII vesicles. *J Biol Chem* 2009; 284(12): 7518-32.
- Shimomura I, Matsuda M, Hammer RE, Bashmakov Y, Brown MS, Goldstein JL. Decreased IRS-2 and increased SREBP-1c lead to mixed insulin resistance and sensitivity in livers of lipodystrophic and ob/ob mice. *Mol Cell* 2000; 6(1): 77-86.

- 10 Duvel K, Yecies JL, Menon S, Raman P, Lipovsky AI, Souza AL, *et al.* Activation of a metabolic gene regulatory network downstream of mTOR complex 1. *Mol Cell* 2010; 39(2): 171-83.
- 11 Li S, Brown MS, Goldstein JL. Bifurcation of insulin signaling pathway in rat liver: mTORC1 required for stimulation of lipogenesis, but not inhibition of gluconeogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(8): 3441-6.
- 12 Porstmann T, Santos CR, Griffiths B, Cully M, Wu M, Leevers S, *et al.* SREBP activity is regulated by mTORC1 and contributes to Akt-dependent cell growth. *Cell Metab* 2008; 8(3):224-36.
- 13 Yecies JL, Zhang HH, Menon S, Liu S, Yecies D, Lipovsky AI, *et al.* Akt stimulates hepatic SREBP1c and lipogenesis through parallel mTORC1-dependent and independent pathways. *Cell Metab* 2011; 14(1): 21-32.
- 14 Altarejos JY, Montminy M. CREB and the CRTC co-activators: Sensors for hormonal and metabolic signals. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011; 12(3): 141-51.
- 15 Wang Y, Li G, Goode J, Paz JC, Ouyang K, Sreaton R, *et al.* Inositol-1,4,5-trisphosphate receptor regulates hepatic gluconeogenesis in fasting and diabetes. *Nature* 2012; 485(7396): 128-32.
- 16 Wang Y, Vera L, Fischer WH, Montminy M. The CREB coactivator CRTC2 links hepatic ER stress and fasting gluconeogenesis. *Nature* 2009; 460(7254): 534-7.
- 17 Altarejos JY, Goebel N, Konkright MD, Inoue H, Xie J, Arias CM, *et al.* The Creb1 coactivator Crtc1 is required for energy balance and fertility. *Nat Med* 2008; 14(10): 1112-7.
- 18 Song Y, Altarejos J, Goodarzi MO, Inoue H, Berdeaux R, Kim JH, *et al.* CRTC3 links catecholamine signalling to energy balance. *Nature* 2010; 468(7326): 933-9.
- 19 Wang Y, Inoue H, Ravnskjaer K, Viste K, Miller N, Liu Y, *et al.* Targeted disruption of the CREB coactivator Crtc2 increases insulin sensitivity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(7): 3087-92.
- 20 Han J, Li E, Chen L, Zhang Y, Wei F, Liu J, *et al.* The CREB coactivator CRTC2 controls hepatic lipid metabolism by regulating SREBP1. *Nature* 2015; 524(7564): 243-6.
- 21 Peterson TR, Sengupta SS, Harris TE, Carmack AE, Kang SA, Balderas E, *et al.* mTOR complex 1 regulates lipin 1 localization to control the SREBP pathway. *Cell* 2011; 146(3): 408-20.
- 22 Gosmain Y, Dif N, Berbe V, Loizon E, Rieusset J, Vidal H, *et al.* Regulation of SREBP-1 expression and transcriptional action on HKII and FAS genes during fasting and refeeding in rat tissues. *Journal of lipid research* 2005; 46(4): 697-705.
- 23 Horton JD, Bashmakov Y, Shimomura I, Shimano H. Regulation of sterol regulatory element binding proteins in livers of fasted and refed mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(11): 5987-92.
- 24 Kim JB, Sarraf P, Wright M, Yao KM, Mueller E, Solanes G, *et al.* Nutritional and insulin regulation of fatty acid synthetase and leptin gene expression through ADD1/SREBP1. *J Clin Invest* 1998; 101(1): 1-9.