

m⁶A修饰在脂肪生成中的作用

王晓蓉 梁炜琪 恽朝晖 徐进*

(宁波大学医学院预防医学系, 宁波 315211)

摘要 肥胖症是脂肪过度堆积引起的一类代谢症群, 其患病率在全球范围内呈上升趋势。肥胖与代谢性疾病和癌症密切相关, 因此了解脂肪形成的过程以及影响脂肪生成的分子机制至关重要。m⁶A修饰是大多数真核生物最普遍和含量最丰富的mRNA修饰, 可以调节mRNA代谢的多个方面, 包括mRNA的稳定性、翻译、加工、剪接、转运和降解等。m⁶A修饰作为动态可逆的转录后修饰, 参与胚胎发育、精子发生、DNA损伤、组织稳态等生理过程, 对脂肪形成也有调控作用。该综述通过总结最近的研究, 概括了m⁶A修饰对脂肪生成的影响, 这有助于研究者从转录后水平了解脂肪生成的机制, 为后续的研究提供了参考。

关键词 m⁶A修饰; 脂肪生成; 肥胖

The Role of m⁶A Modification in Adipogenesis

WANG Xiaorong, LIANG Weiqi, YUN Zhaohui, XU Jin*

(Department of Preventive Medicine, Ningbo University School of Medicine, Ningbo 315211, China)

Abstract Obesity is a kind of metabolic disorder caused by excessive fat accumulation, and the prevalence of obesity has been increasing globally. Obesity is strongly associated with metabolic diseases and cancer. Therefore, it's important to understand the processes and molecular mechanisms of adipogenesis. m⁶A modification is the most prevalent and abundant internal modification in eukaryotes, which can regulate multiple aspects of RNA metabolism, such as mRNA stability, transcription, processing, splicing, transport and degradation. As a dynamic and reversible post-transcriptional modification, m⁶A modification participates in various biological processes, including embryonic development, spermatogenesis, DNA damage, tissue homeostasis, and adipogenesis. This review summarizes recent studies about the effect of m⁶A modification on adipogenesis, which may help the researcher better understand the mechanisms of adipogenesis at post-transcriptional level, and provide possible ways for future studies.

Keywords m⁶A modification; adipogenesis; obesity

肥胖症是由于脂肪过度堆积而引起的一种代谢性疾病, 已成为全世界的主要公共卫生问题之一且其发病率不断升高。目前全球有超过19亿成年人和3.4亿儿童或青少年超重或肥胖^[1]。一项调查显示, 2014年被诊断为癌症的美国人口中超重和肥

胖人口占40%, 肥胖与癌症的发病密切相关^[2], 因此阐明脂肪生成机制对人们健康至关重要。脂肪细胞生成与脂质沉积是脂肪形成的两个重要过程, 表观遗传修饰在其中发挥了重要的调控作用。表观遗传调控是一种在不改变DNA序列的情况下改变

收稿日期: 2021-06-15 接受日期: 2021-07-10

浙江省自然科学基金(批准号: LY21B070002)和宁波市自然科学基金(批准号: 202003N4113)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0574-87609603, E-mail: xujin1@nbu.edu.cn

Received: June 15, 2021 Accepted: July 10, 2021

This work was supported by the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (Grant No.LY21B070002) and the Natural Science Foundation of Ningbo (Grant No.202003N4113)

*Corresponding author. Tel: +86-574-87609603, E-mail: xujin1@nbu.edu.cn

基因表达和生物学功能的可遗传机制,包括DNA修饰、组蛋白修饰和RNA介导的修饰。真核生物信使RNA(messenger RNA, mRNA)存在多种化学修饰,包括N6-甲基腺苷(N6-methyladenosine, m⁶A)、N5-甲基胞苷(N5-methylcytosine, m⁵C)和N1-甲基腺苷(N1-methyladenosine, m¹A)等。m⁶A甲基化修饰是第一个被发现的mRNA内部修饰方式,能在mRNA、长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)等RNA的腺嘌呤上介导甲基化修饰的发生,并通过参与mRNA的转运、剪接、翻译和降解等代谢过程来影响机体的生物学功能^[1]。本文主要就m⁶A甲基化修饰在脂肪生成中的调控作用作一综述。

1 m⁶A修饰概述

m⁶A修饰是指在腺苷酸第六位N原子上添加1个甲基基团,是一种在特定的mRNA中富集的选择性修饰方式。mRNA中有0.1%~0.4%的腺苷酸受到m⁶A修饰,该修饰主要发生在RRACH序列(其中R=A或G, H=A、C或U)上,大多数mRNA只包含1个m⁶A修饰位点,但有些mRNA包含20个甚至更多m⁶A修饰位点^[3],m⁶A修饰位点主要聚集在终止密码子和3'非翻译区(3' untranslated region, 3'UTR),调节mRNA代谢。m⁶A修饰是由两种重要的催化蛋白——甲基转移酶(“编码器writer”)和去甲基转移酶(“消码器eraser”)

进行动态、可逆的调控,由m⁶A结合蛋白(“读码器reader”)识别并决定靶mRNA的命运(图1)。mRNA的m⁶A修饰过程由一个多蛋白甲基转移酶复合体催化,该复合体由甲基转移酶样蛋白3(methyltransferase-like protein 3, METTL3)、METTL14和其他辅助因子组成,辅助因子包括肾母细胞瘤1相关蛋白(Wilms tumour 1-associating protein, WTAP)、病毒样m⁶A甲基转移酶相关蛋白(vir like m⁶A methyltransferase associated protein, VIRMA)、含锌指CCCH型蛋白13(zinc finger CCCH-type containing 13, ZC3H13)和RNA结合基序蛋白15b(RNA binding motif protein 15b, RBM15B)等。其中, METTL3是促进m⁶A修饰形成的催化中心, METTL14负责将复合物与RNA结合稳定整个复合物的结构,辅助因子WTAP能够将复合物固定于mRNA, VIRMA可将m⁶A与3'UTR结合, ZC3H13诱导复合物向核内转移, RBM15B则可与尿嘧啶富集区域结合,促进某些RNA甲基化。METTL3-METTL14异二聚体复合物可以与mRNA中绝大多数的m⁶A位点结合,小鼠细胞中METTL3基因缺失或METTL14失活会导致poly(A)RNA中总m⁶A损失超过99%^[4]。

mRNA的去甲基化过程则由去甲基转移酶介导,当去甲基转移酶减少时,转录本的m⁶A修饰水平升高。早期人们对去甲基转移酶的了解很少,由于

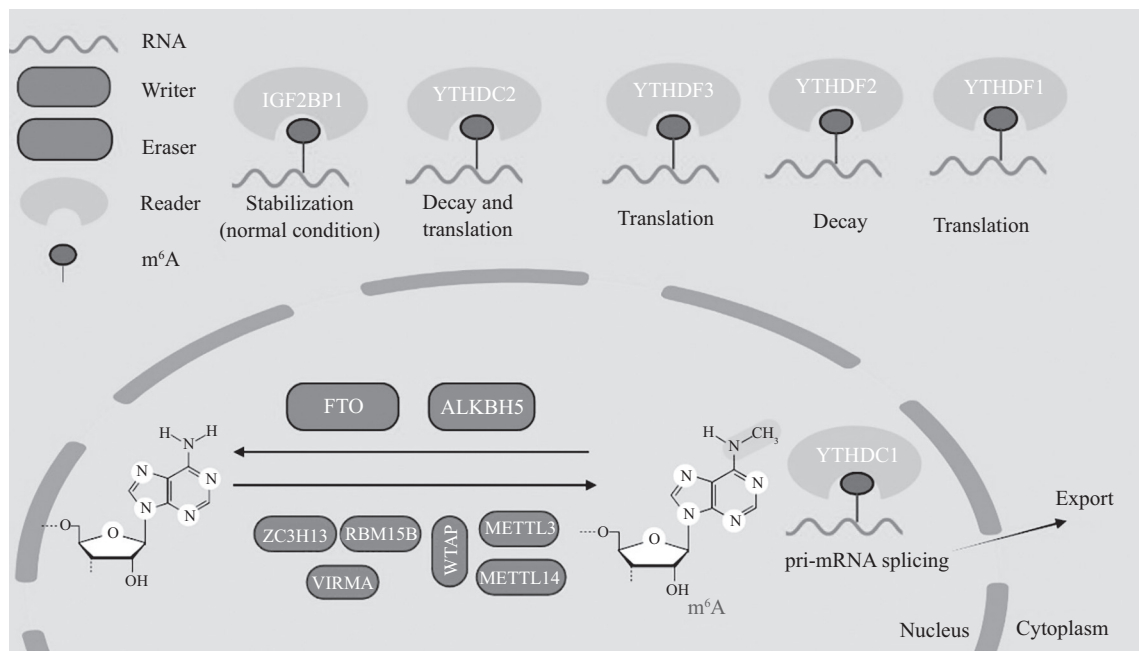


图1 m⁶A甲基化的机制和生物学功能

Fig.1 The machinery and biological functions of m⁶A methylation

大部分RNA半衰期很短,很长一段时间m⁶A修饰被认为是不可逆的。2011年JIA等^[5]发现第一个去甲基转移酶——肥胖相关蛋白(fat mass and obesity-associated protein, FTO),人们认识到m⁶A修饰是一个在不同发育阶段、不同组织中呈现动态可逆变化的过程,FTO的敲除或失活会导致转录本的m⁶A水平增加约20%^[6]。2013年ZHENG等^[7]发现,第二个去甲基转移酶ALKB同源蛋白5(α -ketoglutarate-dependent dioxygenase alkB homolog 5, ALKBH5), ALKBH5是FTO的同系物,都属于Fe(II)和 α -酮戊二酸依赖性ALKB加氧酶家族,它的敲除也会导致转录本的m⁶A水平增加。

除了在细胞核内发生的动态可逆的甲基化和去甲基化过程, m⁶A修饰过程还需要一类能够识别发生m⁶A修饰碱基的“读码器”蛋白,来激活下游的调控通路并执行不同的生物学功能。此类m⁶A结合蛋白包括YTH(YT521-B同源性)结构域家族、异质性胞核核糖核蛋白(heterogeneous ribonucleoproteins, HnRNPs)和胰岛素样生长因子2-mRNA结合蛋白(insulin like growth factor 2 mRNA-binding protein 2, IGF2BP)等。YTH结构域蛋白质是最早被发现的m⁶A结合蛋白,哺乳动物基因组中有5种含YTH结构域的蛋白,分别为YTHDC1、YTHDC2和YTHDF1、YTHDF2、YTHDF3。YTHDC1主要作用在细胞核内,可以招募某些剪接因子,以调控mRNA的剪接。YTHDC2在细胞核和细胞质中均可发挥作用,可促进mRNA的稳定及调控翻译过程。YTHDF家族蛋白则主要分布在胞质中,其中YTHDF2可识别胞质中发生m⁶A修饰的碱基来诱导靶转录本的部分降解, YTHDF1和YTHDF3则能促进细胞中靶转录本的翻译^[8]。IGF2BP的作用与YTHDF2相反,它可通过识别m⁶A修饰的碱基促进靶mRNA的稳定。HnRNPs则可选择性地结合mRNA上的m⁶A位点影响mRNA的定位和剪接过程。此外还有间接结合蛋白——脆性X智力低下蛋白(fragile X mental retardation protein, FMRP),它可识别具有弱结合亲和力的编码序列中的m⁶A,也可直接结合YTHDF2从而间接影响mRNA的稳定性^[9]。

2 脂肪形成过程

脂肪组织是人和哺乳动物的主要储能器官,脂肪组织的扩增包括脂肪细胞生成和脂肪细胞增大,

其中脂肪细胞生成的过程包括两个阶段。第一阶段是胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)向间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)的转变, MSCs再“定型”分化为前脂肪细胞。第二阶段是前脂肪细胞经历数轮有丝分裂克隆扩增(mitotic clonal expansion, MCE)最终分化为成熟的脂肪细胞^[1]。表观遗传修饰参与了脂肪形成过程的调控,其中m⁶A甲基化修饰可以调节脂肪细胞分化和脂肪组织扩张。有小鼠研究模型显示,FTO过表达会增加小鼠的食物摄入量导致肥胖^[10],其基因敲除或功能丧失会导致脂肪生成量减少和体重减轻^[11]。此外m⁶A修饰相关蛋白可调控脂肪细胞的分化过程,如FTO可促进MSCs分化为前脂肪细胞,并通过推动细胞周期进程来促进脂肪形成, METTL3则与其功能相反,这些结果提示, m⁶A修饰参与了脂肪形成过程中的调控(图2)^[12-13]。

脂肪细胞分化是一个由分化转录因子调控的复杂过程, LONGO等^[14]发现在脂肪生成的第一阶段,与非成脂NIH-3T3细胞相比,锌指蛋白423(zinc finger protein 423, ZFP423)在3T3-L1细胞中的表达增加,3T3-L1细胞分化为成熟脂肪细胞的能力也增强,表明ZFP423是MSCs再“定型”分化为前脂肪细胞过程中的一个关键转录因子。此外, HU等^[15]的研究表明B细胞淋巴瘤因子6(B cell lymphoma 6, BCL6)是ZFP423的上游调控因子,敲除BCL6会导致ZFP423表达下降。除了ZFP423,其同系物ZFP521也可调控MSCs的“定型”分化, ZFP521通过与早期B细胞因子1(early B cell factor 1, Ebf1)结合来抑制ZFP423表达,进而抑制脂肪生成^[16]。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferators-activated receptors γ , PPAR γ)、C/EBP β 、C/EBP δ 及C/EBP α 被认为是MCE阶段重要的转录因子。在此过程的早期阶段, C/EBP β 及C/EBP δ 作为前脂肪细胞分化的早期激活剂,表达水平短暂升高,共同诱导PPAR γ 及下游效应因子C/EBP α 的表达, PPAR γ 与C/EBP α 协同作用激活脂肪细胞特异性基因如脂肪酸结合蛋白4(fatty acid binding protein 4, FABP4)、瘦素和脂联素等的启动子,促进脂肪细胞成熟^[17]。

3 脂肪形成过程中的m⁶A修饰

3.1 m⁶A“读码器”促进脂肪生成

FTO作为第一个被发现的m⁶A去甲基转移酶

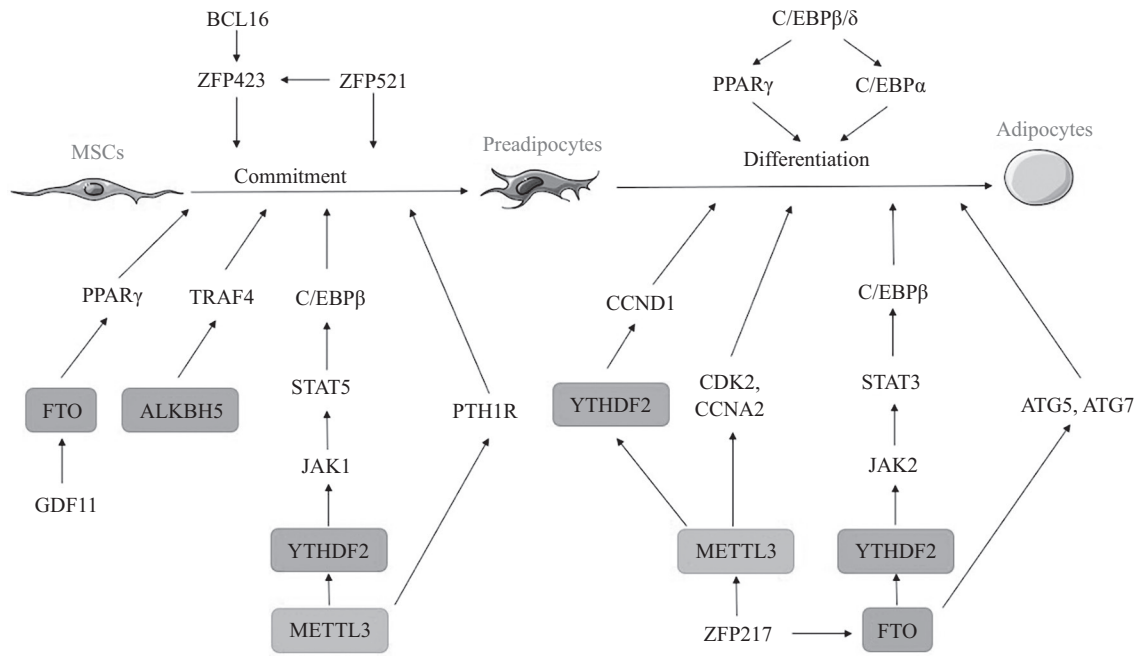


图2 m⁶A修饰对脂肪形成过程中基因表达的调控(根据参考文献[12]修改)

Fig.2 The regulation of gene expression by m⁶A modification in adipogenesis (modified from reference [12])

(“消码器”),属于ALKB蛋白家族中的一员并与肥胖相关。敲除*FTO*既会减少分化为脂肪细胞的3T3-L1细胞的数量,也会减少成熟脂肪细胞中的脂类含量^[18]。动物实验也表明,*FTO*对脂肪形成和体重增加起正向调节作用,*FTO*过表达小鼠的甘油三酯积累比野生型小鼠多,*FABP4*、*PPARγ*的表达量也较后者高^[19]。此外流行病学研究显示,*FTO*与肥胖和白血病、胶质母细胞瘤等发生风险的增加密切相关,*FTO*通过降低mRNA的m⁶A甲基化水平调节靶mRNA的稳定和剪接,促进脂肪生成和肿瘤发生^[20]。

3.1.1 m⁶A“消码器”调控MSCs的分化 MSCs是一种多能干细胞,具备自我更新和多向分化的能力,能够在特定的诱导条件下分化为脂肪、骨、肌肉、神经、肝、心肌、内皮等多种组织细胞。在脂肪生成的第一阶段,*FTO*通过调控m⁶A修饰过程促进MSCs向前脂肪细胞分化。生长分化因子11(growth differentiation factor 11, *GDF11*)是促进骨质疏松症发展的一个因素,在骨质疏松患者中*GDF11*浓度升高,*GDF11*可以剂量依赖性地增加骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cell, *BMSC*)中*FTO*的表达水平,导致*PPARγ* mRNA的m⁶A水平下降,增强*PPARγ* mRNA的稳定性,从而提高*BMSC*中*PPARγ*的蛋白水平,促进*BMSC*更多地向脂肪细胞转化^[21]。

除了*FTO*,有研究指出,*ALKBH5*也可在脂肪

形成过程中发挥调控作用,肿瘤坏死因子联合受体4(*TNF receptor-associated factor 4*, *TRAF4*)可抑制MSCs分化为脂肪细胞,脂肪形成过程中*TRAF4*的下调受*ALKBH5*调控。研究表明,*ALKBH5*基因敲除会导致*TRAF4* mRNA m⁶A甲基化水平升高,蛋白表达水平降低,促进脂肪细胞生成^[22]。而研究发现,敲除*ALKBH5*则对脂肪生成无明显影响,可能是由于*ALKBH5*对脂肪形成过程中成脂调节因子*Runx1t1*异构体的表达无影响^[23],目前*ALKBH5*对脂肪生成影响的研究较少,其具体机制仍需进一步阐明。

3.1.2 m⁶A“消码器”调控MCE过程 MCE是前脂肪细胞转化成脂肪细胞的重要过程,也是成熟脂肪细胞形成的前提条件。成脂诱导的脂肪细胞分化需要经历有丝分裂早期(第0~2天)、中后期(第2~4天)和末期(第4天之后)三个阶段,任一阶段的抑制都将导致脂肪细胞分化受阻^[24]。*WU*等^[24]在成脂诱导的3T3-L1前脂肪细胞中发现,敲除*FTO*的细胞中m⁶A甲基化水平显著上调,并且其脂肪细胞分化能力在早期被抑制,绝大多数细胞在S/G₂期发生阻滞,提示*FTO*可能在有丝分裂早期通过抑制m⁶A修饰推动了细胞周期进程,从而促进了成熟脂肪细胞的生成。细胞周期蛋白A2(*cyclin A2*, *CCNA2*)和细胞周期蛋白依赖性激酶2(*cyclin-dependent kinase 2*, *CDK2*)是

介导细胞由S期进入G₂期的重要调节因子,二者形成的复合物在细胞周期进程的正常推进过程中发挥了关键作用^[25]。有研究发现,敲除*FTO*后3T3-L1细胞中*CCNA2*和*CDK2* mRNA的m⁶A水平显著增加,二者的蛋白表达水平则明显下降,表明*FTO*的m⁶A去甲基化活性调控了脂肪形成过程中的细胞周期进程^[24]。研究结果显示,敲除*FTO*会上调Janus激酶2(Janus kinase 2, *JAK2*) mRNA的m⁶A水平并破坏该酶的稳定性,使*JAK2*的蛋白水平下降,继而导致下游信号转导和转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, *STAT3*)的磷酸化水平下降,抑制*C/EBPβ*的转录进而抑制早期成脂^[22]。这些结果提示,*FTO*可能通过*JAK2-STAT3-C/EBPβ*信号通路参与脂肪形成的调控。此外,在对*FTO*上游机制的研究中,研究发现,*ZFP217*是*FTO*的转录调节因子,*ZFP217*通过激活*FTO*的转录来降低mRNA的m⁶A甲基化水平,促进脂肪生成^[21]。*ZFP217*还可通过调节细胞周期进程影响脂肪生成,敲除*ZFP217*基因后,G₁期细胞数增加,S期和G₂/M期细胞数减少,细胞周期进程延长,脂肪生成被抑制^[25]。

3.1.3 m⁶A“消码器”调控自噬过程进而调节脂肪生成

JIN等^[26]发现*ULK1* mRNA在3'UTR发生m⁶A修饰,被修饰的*ULK1* mRNA可被YTHDF2降解,而*FTO*可降低*ULK1* mRNA的m⁶A修饰水平,减少YTHDF2对*ULK1* mRNA的降解作用,特异性地上调*ULK1*的蛋白水平,促进自噬启动。由于m⁶A修饰和自噬在脂肪生成过程中都起着关键的调控作用,WANG等^[23]推测,m⁶A修饰可能通过自噬调控脂肪生成,对该假设进行验证发现敲低3T3-L1前脂肪细胞的*FTO*基因后,*ATG5*和*ATG7* mRNA的m⁶A甲基化水平显著上调,二者的蛋白表达水平则下降,自噬体形成减少,脂肪细胞标志物PPAR γ 、*C/EBPβ*和*FABP4*的蛋白表达水平也下降,细胞自噬和脂肪形成被显著抑制;此外他们构建了对照组*FTO*^{lox/lox}小鼠与脂肪选择性*FTO*基因敲除小鼠(adipose-selective *FTO* knockout mouse, *FTO-AKO*)模型,结果表明与对照组小鼠相比,*FTO-AKO*小鼠在高脂饮食的情况下体重未增加,其腹股沟和性腺脂肪的质量均低于对照组,血清甘油三酯水平显著低于对照组;并对*FTO-AKO*小鼠白色脂肪组织中LC3-I:I的值进行了测定,发现*FTO*缺乏使LC3-II:I的值显著降低,*ATG5*和*ATG7*的蛋白表达水平也降低,表明白色脂肪组织

中的自噬被抑制。综上所述,这些结果表明,*FTO*通过靶向*ATG5*和*ATG7*调控脂肪细胞自噬和脂肪生成过程^[23]。

3.2 m⁶A“编码器”抑制脂肪生成

METTL3是参与m⁶A修饰过程的一种甲基化酶(“编码器”),能够促进mRNA的m⁶A甲基化形成,在脂肪形成中的作用与*FTO*相反。WU等^[27]发现在脂肪形成过程中甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)可发挥作用,PTH具有促进骨形成和抑制脂肪细胞分化的作用,PTH/甲状旁腺激素受体-1(parathyroid hormone receptor-1, *PTH1R*)信号轴是m⁶A调控MSCs分化过程中重要的下游通路,敲除*METTL3*基因后*PTH1R* mRNA的相对分布从多聚体部分向亚多聚体部分转移,导致*PTH1R* mRNA翻译效率降低,抑制PTH诱导的BMSC成骨分化,从而使BMSC成脂分化潜能增加。此外,有研究发现敲除*METTL3*会使*JAK1*(Janus kinase1, *JAK1*) mRNA的m⁶A水平下降,*JAK1*的蛋白表达水平升高,促进*STAT5*的磷酸化,继而促进下游*C/EBPβ*的转录,从而使*C/EBPβ*表达水平升高以及BMSC的成脂分化能力增强,表明METTL3介导的m⁶A修饰通过靶向*JAK1/STAT5/C/EBPβ*信号通路调控BMSC的成脂分化^[28]。此外,在对METTL3、METTL14和WTAP组成的复合体的研究中发现,WTAP可将METTL3和METTL14募集到RNA中激活脂肪细胞分化的转录后调控。在MCE过程中,敲除*METTL3*和*METTL14*使*CCNA2* mRNA的m⁶A甲基化水平降低,蛋白水平升高,促进细胞周期进程来诱导脂肪细胞分化。*METTL3*和*METTL14*双基因敲除对脂肪细胞分化具有相加效应,敲除*METTL14*的作用比敲除*METTL3*的作用更为明显,但目前尚不清楚*METTL14*、*METTL3*在脂肪细胞分化过程中的主导作用,因为单独敲除*METTL3*或*METTL14*会导致另一种蛋白水平降低,而METTL3和METTL14的共同过表达导致这两种蛋白的水平比单独过表达水平更高^[29]。

3.3 m⁶A“读码器”调控脂肪生成

3.3.1 YTHDF2调控细胞周期影响MCE过程

在m⁶A修饰过程中,甲基转移酶和去甲基转移酶对mRNA的m⁶A甲基化修饰的结果最终需要通过募集特定的“读码器”蛋白进行识别来实现^[35]。YTHDF2是YTH结构域蛋白质家族的成员,可优先结合胞质mRNA中的m⁶A,靶向P-小体(processing bodies, P-

bodies)促进m⁶A修饰的mRNA的降解。WU等^[24]发现, YTHDF2可以识别CCNA2和CDK2 mRNA的m⁶A甲基化位点并使其降解, 延长细胞周期进程来抑制脂肪形成。敲除FTO可使3T3-L1细胞中CCNA2和CDK2 mRNA的m⁶A水平甲基化增加, 从而降低CCNA2和CDK2 mRNA的稳定性, 延长细胞周期进程, 而敲除YTHDF2可以部分逆转FTO基因敲除造成的3T3-L1前脂肪细胞分化能力的丧失, 并能使CCNA2和CDK2 mRNA的m⁶A甲基化水平降低, 提高CCNA2和CDK2 mRNA的稳定性, 推动细胞周期进程并促进脂肪形成。这些结果表明, FTO和YTHDF2通过m⁶A甲基化协同调节CCNA2和CDK2表达来调控细胞周期进程和脂肪形成。表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)是绿茶中含量最丰富的儿茶素, 在抗脂肪生成中发挥着重要作用。在脂肪细胞分化的早期阶段, EGCG通过阻断MCE过程来抑制脂肪生成, 3T3-L1细胞暴露于EGCG可使FTO水平降低、YTHDF2水平升高, 二者同时作用使CCNA2和CDK2 mRNA的m⁶A水平升高, YTHDF2识别m⁶A位点并降解mRNA, 导致CCNA2和CDK2的蛋白水平降低, 延长细胞周期进程最终阻断MCE过程^[30]。除了CCNA2和CDK2, 另一个关键的细胞周期调控因子——细胞周期蛋白D1(cyclin D1, CCND1)也参与了脂肪细胞分化, LIU等^[31]在研究锌指蛋白217(zinc finger protein 217, ZFP217)对脂肪生成的影响时发现ZFP217敲除会上调METTL3的表达, 从而上调CCND1 mRNA的m⁶A水平, YTHDF2识别并降解甲基化的CCND1 mRNA, 导致CCND1表达下调, 细胞周期进程受阻, 抑制MCE过程进而抑制脂肪生成。

3.3.2 YTHDF2调控JAK/STAT信号通路影响脂肪生成 JAK/STAT信号通路在发育、造血、炎症和脂质代谢等生理过程中起作用, 在调节细胞命运如凋亡、分化和增殖中也发挥作用^[32], 在已知的7种STAT亚基中只有STAT3和STAT5参与了脂肪细胞分化过程的调控^[33]。YAO等^[28]在研究METTL3的敲除对猪BMSC成脂分化能力的影响时发现, YTHDF2过表达可逆转METTL3敲除细胞中升高的JAK1蛋白水平, 表明YTHDF2可识别JAK1 mRNA的m⁶A位点并使其降解, 抑制STAT5磷酸化并阻断JAK1/STAT5/C/EBP β 信号通路, 抑制BMSC向脂肪细胞分化。此外, WU等^[19]在研究FTO敲除对猪前脂肪细胞的影响时

发现, YTHDF2过表达显著降低了JAK2的蛋白水平, 而YTHDF1过表达对JAK2的蛋白水平无明显影响, 表明JAK2是YTHDF2在猪前脂肪细胞中的靶基因, 可通过JAK2-STAT3-C/EBP β 信号通路影响脂肪生成, YTHDF2直接靶向m⁶A修饰的JAK2 mRNA加速其降解, 导致JAK2蛋白水平降低、JAK2-STAT3-C/EBP β 信号通路失活, 最终抑制脂肪形成。

3.3.3 YTHDF2调控脂质沉积 PPAR α 、PPAR γ 、C/EBP α 、C/EBP β 等成脂相关基因在脂肪生成过程中发挥重要作用, YTHDF2可通过m⁶A修饰过程参与这些基因的转录后调控。ZHONG等^[34]发现, 肝脏Bmal1基因可调控哺乳动物新陈代谢, Bmal1缺失会导致PPAR α mRNA的m⁶A水平升高, YTHDF2则可介导PPAR α mRNA降解, 使其稳定性降低, 脂质积聚减少。CAI等^[35]发现序列相似家族134成员B(family with sequence similarity 134, member B, FAM134B)是前脂肪细胞脂质沉积的正调控因子, 其过表达会上调成脂分化因子PPAR γ 、C/EBP α 的表达水平, 促进脂质沉积。而YTHDF2可识别并结合FAM134B mRNA的m⁶A位点并使其降解, 降低其蛋白丰度, 进而使PPAR γ 、C/EBP α 的表达水平下降, 脂质沉积减少。此外还有研究发现, FTO的转录激活剂——ZFP217也可正向调控PPAR γ 、脂联素(adiponectin, ADPN)等成脂相关基因, ZFP217可与YTHDF2相互作用, 阻断YTHDF2对FTO的抑制作用, 进而使YTHDF2介导的成脂相关基因降解减少, 促进脂质沉积^[36]。YTHDF2还可通过自噬调节脂肪生成, 在脂肪生成过程中YTHDF2靶向m⁶A修饰的ATG5和ATG7 mRNA, 导致其mRNA降解、蛋白表达减少, 从而减少自噬形成及甘油三酯的积累^[23]。

3.3.4 脂肪形成中的其他m⁶A“读码器” 除了YTHDF2, YTH家族成员YTHDF1、YTHDC1同样可通过m⁶A修饰在脂肪形成过程中发挥作用。YTHDF1优先结合胞质中mRNAs的m⁶A位点, 促进含有m⁶A的mRNA翻译。JIANG等^[37]在金华猪身上发现了一种独特的甲基化基因——线粒体载体2(chondrial carrier 2, MTCH2), MTCH2的蛋白表达水平与其mRNA的m⁶A水平呈正相关, YTHDF1靶向MTCH2 mRNA的m⁶A序列, 提高其翻译效率进一步促进脂肪形成。YTHDC1是一种可结合细胞核mRNA m⁶A位点的阅读蛋白, 可优先结合非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)中的m⁶A位点, 也可结合mRNA并影响其剪接过程。

YTHDC1是mRNA剪接因子的招募因子,可结合m⁶A位点并通过结合招募的mRNA剪接因子进入靶mRNA结合区调控mRNA剪接, YTHDC1与剪接因子相互作用协同促进脂肪生成^[38]。除了YTH家族,其他RNA结合蛋白中也有m⁶A修饰的“读码器”蛋白,在脂肪形成过程中也发挥作用。IGF2BPs是一种独特的m⁶A“读码器”蛋白,可促进mRNA的稳定性^[9], IGF2BP1通过诱导细胞周期相关基因的表达促进鸡脂肪细胞增殖,并且与对照组相比过表达IGF2BP1组鸡脂肪细胞分化标志基因*PPARα*、*PPARγ*、*C/EBPα*表达增加,脂滴积累也增加^[39]。由此可见, m⁶A修饰调控脂肪生成的功能依赖于m⁶A“读码器”对转录本中特定m⁶A位点的读取,影响其RNA代谢进而调节脂肪生成。

4 展望

迄今为止,有关m⁶A修饰在脂肪形成中调控作用的研究已取得较大进展,其中m⁶A修饰相关蛋白对脂肪形成两个阶段影响的研究已被大量开展,但仍有诸多问题亟待解决。首先,脂肪形成长期以来一直被认为是不可逆的过程,但有新证据表明,成熟的脂肪细胞可以经历去分化回复到成纤维细胞样的前脂肪细胞, m⁶A修饰在调节脂肪细胞可塑性和脂肪细胞分化可逆性中是否起作用尚不清楚仍需进一步探索。其次,作为动态表观遗传修饰, m⁶A可以快速响应并适应环境变化,影响基因表达和生理过程,饮食和营养的变化对m⁶A修饰和机体新陈代谢也有一定影响,但其潜在机制仍不清楚。目前已有调控肥胖相关代谢紊乱的药物,如经典的甲基化抑制剂环亮氨酸,它以剂量依赖性的方式降低猪脂肪细胞中的mRNA m⁶A水平并增加细胞内甘油三酸酯含量^[40]。EGCG会降低FTO的表达,导致mRNA m⁶A甲基化水平的总体增加,通过在早期阻断MCE过程最终抑制脂肪形成,从而能有效预防肥胖和2型糖尿病的流行^[30]。虽然相关动物实验证明这些物质通过mRNA m⁶A甲基化影响脂肪生成,但此类物质在人体中的效果尚待临床验证。此外,目前针对甲基转移酶METTL3和去甲基转移酶ALKBH5调控脂肪生成和对抗肥胖的研究还比较少。这两种物质对脂肪生成影响的作用机制仍需进一步研究,从而使我们可以更全面地了解m⁶A修饰在脂肪形成中的调控作用,并开发特定的治疗肥胖、癌症和其他代谢性疾病的新方法。

参考文献 (References)

- [1] GHABEN A L, SCHERER P E. Adipogenesis and metabolic health [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(4): 242-58.
- [2] STEELE C B, THOMAS C C, HENLEY S J, et al. Vital signs: trends in incidence of cancers associated with overweight and obesity-United States, 2005-2014 [J]. *Morb Mortal Wkly Rep*, 2017, 66(39): 1052-8.
- [3] ZACCARA S, RIES R J, JAFFREY S R. Reading, writing and erasing mRNA methylation [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(10): 608-24.
- [4] GEULA S, MOSHITCH-MOSHKOVITZ S, DOMINISSINI D, et al. Stem cells. m⁶A mRNA methylation facilitates resolution of naïve pluripotency toward differentiation [J]. *Science*, 2015, 347(6225): 1002-6.
- [5] JIA G, FU Y, ZHAO X, et al. N⁶-methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO [J]. *Nat Chem Biol*, 2011, 7(12): 885-7.
- [6] LI Z, WENG H, SU R, et al. FTO plays an oncogenic role in acute myeloid leukemia as a N⁶-methyladenosine rna demethylase [J]. *Cancer Cell*, 2017, 31(1): 127-41.
- [7] ZHENG G, DAHL J A, NIU Y, et al. ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility [J]. *Mol Cell*, 2013, 49(1): 18-29.
- [8] ROUNDTREE I A, EVANS M E, PAN T, et al. Dynamic RNA modifications in gene expression regulation [J]. *Cell*, 2017, 169(7): 1187-200.
- [9] HUANG H, WENG H, SUN W, et al. Recognition of RNA N⁶-methyladenosine by IGF2BP proteins enhances mRNA stability and translation [J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(3): 285-95.
- [10] CHURCH C, MOIR L, MCMURRAY F, et al. Overexpression of FTO leads to increased food intake and results in obesity [J]. *Nat Genet*, 2010, 42(12): 1086-92.
- [11] FISCHER J, KOCH L, EMMERLING C, et al. Inactivation of the FTO gene protects from obesity [J]. *Nature*, 2009, 458(7240): 894-8.
- [12] WU R, WANG X. Epigenetic regulation of adipose tissue expansion and adipogenesis by N⁶-methyladenosine [J]. *Obes Rev*, 2021, 22(2): e13124.
- [13] SONG T, YANG Y, JIANG S, et al. Novel insights into adipogenesis from the perspective of transcriptional and RNA N⁶-methyladenosine-mediated post-transcriptional regulation [J]. *Adv Sci*, 2020, 7(21): 2001563.
- [14] LONGO M, RACITI G A, ZATTERALE F, et al. Epigenetic modifications of the Zfp/ZNF423 gene control murine adipogenic commitment and are dysregulated in human hypertrophic obesity [J]. *Diabetologia*, 2018, 61(2): 369-80.
- [15] HU X, ZHOU Y, YANG Y, et al. Identification of zinc finger protein Bcl6 as a novel regulator of early adipose commitment [J]. *Open Biol*, 2016, 6(6): 160065.
- [16] KANG S, AKERBLAD P, KIVIRANTA R, et al. Regulation of early adipose commitment by Zfp521 [J]. *PLoS Biol*, 2012, 10(11): e1001433.
- [17] LEFTEROVA M I, ZHANG Y, STEGER D J, et al. PPARgamma and C/EBP factors orchestrate adipocyte biology via adjacent binding on a genome-wide scale [J]. *Genes Dev*, 2008, 22(21): 2941-52.
- [18] MARTIN CARLI J F, LEDUC C A, ZHANG Y, et al. FTO

- mediates cell-autonomous effects on adipogenesis and adipocyte lipid content by regulating gene expression via 6mA DNA modifications [J]. *J Lipid Res*, 2018, 59(8): 1446-60.
- [19] MERKESTEIN M, LABER S, MCMURRAY F, et al. FTO influences adipogenesis by regulating mitotic clonal expansion [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6792.
- [20] DENG X, SU R, STANFORD S, et al. Critical enzymatic functions of FTO in obesity and cancer [J]. *Front Endocrinol*, 2018, 9: 396.
- [21] SHEN G S, ZHOU H B, ZHANG H, et al. The GDF11-FTO-PPAR γ axis controls the shift of osteoporotic MSC fate to adipocyte and inhibits bone formation during osteoporosis [J]. *BBA Mol Basis Dis*, 2018, 1864(12): 3644-54.
- [22] WU R, GUO G, BI Z, et al. m⁶A methylation modulates adipogenesis through JAK2-STAT3-C/EBP β signaling [J]. *BBA Gene Regul Mech*, 2019, 1862(8): 796-806.
- [23] WANG X, WU R, LIU Y, et al. m⁶A mRNA methylation controls autophagy and adipogenesis by targeting Atg5 and Atg7 [J]. *Autophagy*, 2020, 16(7): 1221-35.
- [24] WU R, LIU Y, YAO Y, et al. FTO regulates adipogenesis by controlling cell cycle progression via m⁶A-YTHDF2 dependent mechanism [J]. *BBA Mol Cell Biol*, 2018, 1863(10): 1323-30.
- [25] AGUILAR V, FAJAS L. Cycling through metabolism [J]. *EMBO Mol Med*, 2010, 2(9): 338-48.
- [26] JIN S, ZHANG X, MIAO Y, et al. m⁶A RNA modification controls autophagy through upregulating ULK1 protein abundance [J]. *Cell Res*, 2018, 28(9): 955-7.
- [27] WU Y, XIE L, WANG M, et al. Mettl3-mediated m⁶A RNA methylation regulates the fate of bone marrow mesenchymal stem cells and osteoporosis [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 4772.
- [28] YAO Y, BI Z, WU R, et al. METTL3 inhibits BMSC adipogenic differentiation by targeting the JAK1/STAT5/C/EBP β pathway via an m⁶A-YTHDF2-dependent manner [J]. *FASEB J*, 2019, 33(6): 7529-44.
- [29] KOBAYASHI M, OHSUGI M, SASAKO T, et al. The RNA methyltransferase complex of WTAP, METTL3, and METTL14 regulates mitotic clonal expansion in adipogenesis [J]. *Mol Cell Biol*, 2018, 38(16): e00116-18.
- [30] WU R, YAO Y, JIANG Q, et al. Epigallocatechin gallate targets FTO and inhibits adipogenesis in an mRNA m⁶A-YTHDF2-dependent manner [J]. *Int J Obes*, 2018, 42(7): 1378-88.
- [31] LIU Q, ZHAO Y, WU R, et al. ZFP217 regulates adipogenesis by controlling mitotic clonal expansion in a METTL3-m⁶A dependent manner [J]. *RNA Biol*, 2019, 16(12): 1785-93.
- [32] JIA Y, LIU T, ZHOU L, et al. Effects of di-(2-ethylhexyl) phthalate on lipid metabolism by the JAK/STAT pathway in rats [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2016, 13(11): 1085.
- [33] YANG Y, HSU P J, CHEN Y S, et al. Dynamic transcriptomic m⁶A decoration: writers, erasers, readers and functions in RNA metabolism [J]. *Cell Res*, 2018, 28(6): 616-24.
- [34] ZHONG X, YU J, FRAZIER K, et al. Circadian clock regulation of hepatic lipid metabolism by modulation of m⁶A mRNA methylation [J]. *Cell Rep*, 2018, 25(7): 1816-28, e4.
- [35] CAI M, LIU Q, JIANG Q, et al. Loss of m⁶A on FAM134B promotes adipogenesis in porcine adipocytes through m⁶A-YTHDF2-dependent way [J]. *IUBMB Life*, 2019, 71(5): 580-6.
- [36] SONG T, YANG Y, WEI H, et al. Zfp217 mediates m6A mRNA methylation to orchestrate transcriptional and post-transcriptional regulation to promote adipogenic differentiation [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(12): 6130-44.
- [37] JIANG Q, SUN B, LIU Q, et al. MTCH2 promotes adipogenesis in intramuscular preadipocytes via an m⁶A-YTHDF1-dependent mechanism [J]. *FASEB J*, 2019, 33(2): 2971-81.
- [38] XIAO W, ADHIKARI S, DAHAL U, et al. Nuclear m⁶A reader YTHDC1 regulates mRNA splicing [J]. *Mol Cell*, 2016, 61(4): 507-19.
- [39] CHEN J, REN X, LI L, et al. Integrative analyses of mRNA expression profile reveal the involvement of IGF2BP1 in chicken adipogenesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(12): 2923.
- [40] WANG X, ZHU L, CHEN J, et al. mRNA m⁶A methylation downregulates adipogenesis in porcine adipocytes [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 459(2): 201-7.