

小鼠双链RNA结合蛋白STAUFEN1介导的mRNA降解机制及其在脂肪细胞分化过程中的作用

蒋硕 刘迪晖 孟轩羽 陈思远 梁小弟*

(新疆医科大学基础医学院, 乌鲁木齐 830011)

摘要 过多能量摄入导致的肥胖已经成为了一个世界范围的问题, 严重威胁着人们的健康。肥胖症以某些部位脂肪过度沉积为特点, 而脂肪细胞的过度增殖和异常分化是肥胖发生的基础。越来越多的研究表明转录后调控在脂肪细胞分化过程中发挥着重要功能。STAU1(STAUFEN1)是一种双链RNA结合蛋白, 能够靶向介导下游mRNA降解, 参与脂肪细胞分化。STAU1可以在转录后水平调控脂肪细胞分化相关基因的可变剪接、翻译及降解, 从而影响mRNA的代谢。该文就STAU1在脂肪细胞和组织中的功能和机制进行综述, 希望为肥胖及2型糖尿病的治疗提供新的启示。

关键词 双链RNA结合蛋白STAUFEN1; mRNA降解; 肥胖; 脂肪生成

Role and Mechanism of the Double-Stranded RNA-Binding Protein STAUFEN1 in the Differentiation of Adipocyte

JIANG Shuo, LIU Dihui, MENG Xuanyu, CHEN Siyuan, LIANG Xiaodi*

(School of Basic Medicine of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

Abstract Obesity caused by excessive energy intake has become a worldwide problem, posing a serious threat to people's health. Obesity is characterized by excessive deposition of fat in some parts, and the excessive proliferation and abnormal differentiation of fat cells are the basis of obesity. More and more studies have shown that posttranscriptional regulation plays an important role in adipocyte differentiation. STAU1 (STAUFEN1) is a double-stranded RNA binding protein that can specifically mediate the degradation of target mRNA and participate in adipocyte differentiation. STAU1 can regulate the alternative splicing, translation and degradation of adipocyte differentiation related genes at the post transcriptional level, thereby affecting mRNA metabolism. This paper reviews the function and mechanism of STAU1 in adipocytes and tissues, hoping to provide new enlightenment for the treatment of obesity and type 2 diabetes.

Keywords double-stranded RNA-binding protein STAUFEN1; mRNA decay; obesity; adipogenesis

脂肪细胞是由间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)分化而来的^[1], MSCs是一种多能干细胞, 已经被证实可以分化为软骨、骨、肌腱、韧

带、脂肪等组织的成熟细胞^[2]。目前认为, MSCs的成脂成骨分化是两个完全相反的方向^[3], 当转录因子RUNX相关转录因子2(runt-related transcription factor 2,

收稿日期: 2022-06-28 接受日期: 2022-07-29

国家自然科学基金地区项目(批准号: 81760162)、2017年度高校科研计划面上项目(批准号: XJEDU2017M016)、省部共建中亚高发病因与防治国家重点实验室开放课题(批准号: SKL-HIDCA-2020-14)和新疆维吾尔自治区研究生科研创新项目(批准号: XJ2022G184)资助的课题

*通讯作者。Tel: 15276658721, E-mail: xiaodiliang@xjmu.edu.cn

Received: June 28, 2022 Accepted: July 29, 2022

This work was supported by the Regional Projects of National Natural Science Foundation of China (Grant No.81760162), the General Items of 2017 University Scientific Research Plan (Grant No.XJEDU2017M016), the Open Project of the State Key Laboratory for the Causes and Prevention of the Middle Asian High School Jointly Constructed by the Province and the Ministry (Grant No.SKL-HIDCA-2020-14), and the Postgraduate Research Innovation Project of Xinjiang Uygur Autonomous Region (Grant No.XJ2022G184)

*Corresponding author. Tel: +86-15276658721, E-mail: xiaodiliang@xjmu.edu.cn

RUNX2)和Sp7转录因子(Sp7 transcription factor, Osterix)被激活时,成骨能力增强,成脂受到了抑制^[4]。而当转录因子过氧化物酶体增殖物受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor γ , PPAR γ)和CCAAT-增强子结合蛋白(CCAAT/enhancer binding proteins α , C/EBP α)被激活时,成脂能力增强,成骨受到了抑制。因此其表达水平升高可以作为前脂肪细胞向成熟脂肪细胞分化的标志^[5-6]。肥胖是一种慢性代谢性疾病,它有着多种发病因素,包括遗传因素、饮食因素以及心理因素等^[7-9],严重影响着人们的身心健康。脂肪细胞的异常分化是肥胖发生的细胞生物学基础,其过程是一个复杂的生物学进程,涉及众多的转录因子以及调控方式。在转录水平,转录因子PPAR γ 和C/EBP α ,能够激活众多脂质摄取以及甘油三酯合成等脂肪细胞分化相关基因的转录^[10-11]。研究表明,肥胖小鼠脂肪组织PPAR γ 的表达量要明显高于正常小鼠,并且在3T3-L1细胞中抑制PPAR γ 的表达阻碍了其向成熟脂肪细胞分化的进程^[12]。

而在转录后水平,转录激活后产生的大量mRNA同样受到精密的调控,成熟mRNA的生成在细胞核内涉及5'帽子的形成^[13]、内含子的剪切^[14]、外显子连接^[15]、3'多聚腺苷酸尾^[16]等一系列的转录后加工,其中某一过程一旦发生错误会影响mRNA自身的稳定性以及其所编码蛋白的正确性,进而影响细胞的生物学功能。在转运至胞质后,一系列非编码RNA以及RNA结合蛋白参与调控其功能。在脂肪细胞分化过程中,PU.1能够作为转录因子抑制前脂肪细胞分化,PU.1-AS-lncRNA作为一种长链非编码RNA在前脂肪细胞中与*Pu.1*-mRNA结合形成mRNA-AS-lncRNA二聚体,抑制*Pu.1*-mRNA的翻译,从而促进脂肪细胞分化^[17]。人类抗原R(human antigen R, HUR)是HU类RNA结合蛋白家族的一员,在成熟的脂肪细胞中,HUR能够结合*Atgl*-mRNA维持其稳定性并促进其翻译,从而正向调节脂解的发生^[18]。还有一部分RNA结合蛋白能够特异性识别靶mRNA并介导其降解,在调控mRNA的稳定性以及翻译过程中亦发挥着重要作用^[19-21]。其中,STAUI作为一种双链RNA(double strands RNA, dsRNA)结合蛋白在mRNA的降解途径中扮演着重要角色。

STAUI是一种高度保守的dsRNA结合蛋白,在转录后调控中发挥重要功能^[22-24],如参与核不均一RNA(heterogeneous nuclear RNA, pre-mRNA)可变剪

接、介导RNA的定位、调控mRNA的翻译等^[21,25-26]。STAUI被发现于2005年,KIM等^[5]以一种具有解旋酶活性的蛋白UPF1(upframeshift1)作为诱饵蛋白,利用酵母双杂交系统发现UPF1蛋白能够与dsRNA结合蛋白STAUI结合,并由此发现一种新的mRNA降解机制——STAUFEN1介导的mRNA降解(STAUFEN1-mediated mRNA decay, SMD)^[27]。Krüppel样因子2(Krüppel like factor 2, KLF2)是脂肪形成过程中的一种重要的转录抑制因子,能够抑制PPAR γ 的转录激活^[28]。研究表明,STAUI可以靶向结合*Klf2* mRNA 3'UTR,并通过SMD途径介导其降解^[29]。此外,STAUI还能够促进mRNA的翻译,LIANG等^[26]发现STAUI与脂肪酸结合蛋白4(fatty acid-binding protein 4, *Fabp4*) mRNA编码序列(coding sequences, CDS)结合,随后解开其双链结构并促进*Fabp4* mRNA的翻译。这一系列证据都表明,STAUI在脂肪细胞分化过程中发挥着重要功能。因此本文将重点阐述SMD途径的作用方式以及STAUI在脂肪细胞分化过程中的作用及机制,期望为肥胖及2型糖尿病的研究提供新思路。

1 SMD途径作用机制

1.1 STAUI结合位点(STAUFEN binding site, SBS)

STAUI有4个能够与dsRNA结合的结构域(dsRNA binding domain, dsRBD),其中只有dsRBD3和dsRBD4能够介导STAUI与dsRNA结合,并且它们在STAUI识别靶mRNA中发挥着不同的功能。目前发现SBS有两种,一种是分子内SBS,比如ADP核糖化因子1(ADP ribosylation factor 1, *Arf1*) mRNA 3'UTR分子内通过碱基互补配对形成的双链结构。最初研究发现,STAUI能够结合在*Arf1* mRNA 3'UTR区上介导其降解,通过缺失定位将SBS定位在*Arf1* mRNA 3'UTR区前300个核苷酸中。随后,KIM等^[30]解析出此SBS结构,它是一个包含19个碱基对的双链RNA结构,并且含有一个由100 nt组成的核苷酸环。根据此结构,DEEPAK等^[31]利用其前15个碱基对在体外构建了一个类似物,含有UUCG四核苷酸环,发现与STAUI与其依然有着很强的结合,说明SBS中丰富的GC碱基对是STAUI与之结合的关键。

另一种是分子间SBS,依赖于短重复序列(short interspersed elements, SINEs),谱系特异性的SINE序列约占小鼠基因组序列的8%(B1序列),约占人类

基因组序列的13%(Alu序列),广泛分布在基因组DNA、mRNA、LncRNA中^[32]。Alu序列是灵长类动物特有的并且发挥重要功能的SINEs,典型的Alu序列长度约为280 bp,两端各有一段7~20 bp的正向重复序列,同时3'端存在一个poly(A)序列,它广泛参与DNA复制和转录后调控,并且与疾病的发生发展有着密切的联系。*Serpine1* mRNA是已发现的经典的SMD途径底物,GONG等^[33]研究发现,在378个含有Alu序列的LncRNA中,LncRNA_AF087999与*Serpine1* mRNA能够稳定结合并且定位在其3'UTR中的Alu序列上,通过RIP实验发现,一方面在HeLa细胞中敲低LncRNA_AF087999能够使STAU1与*Serpine1* mRNA结合减少并且能够提高*Serpine1* mRNA水平,另一方面敲低UPF1有相同的结果。随后该研究在荧光素酶报告基因载体中插入了缺失了Alu序列的*Serpine1* mRNA 3'UTR,发现相比于对照组,其荧光素酶mRNA的表达水平明显降低,证明了LncRNA_AF087999能够与*Serpine1* mRNA 3'UTR中的Alu序列结合形成局部双链结构,并与STAU1结合,从而招募UPF1引发SMD途径。

1.2 SMD途径中关键的蛋白

1.2.1 STAU1和STAU2

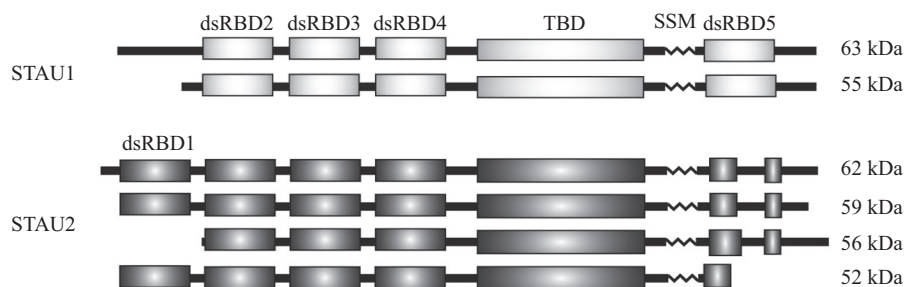
*STAU1*和*STAU2*基因定位在不同的染色体上,但是它们编码的蛋白都含有多个dsRBD,且存在多种亚型。*STAU1*蛋白有两种亚型(包括63 kDa、55 kDa两种分子)。*STAU2*蛋白有四种亚型(包括62 kDa、59 kDa、56 kDa和52 kDa四种分子)。*STAU1*含有4个dsRBD、1个微管蛋白结合结构域(tubulin-binding domain, TBD)和1个STAU1交换结构域(STAU1 swapping motif, SSM),其中dsRBD3和dsRBD4对于*STAU1*结合dsRNA至关重要^[34],SSM对于STAU1蛋白的互

作起着重要作用^[35]。*STAU2*与*STAU1*的氨基酸序列有51%的相似性,其中负责结合dsRNA的dsRBD3和dsRBD4,分别与*STAU1*有77%和81%的相似性,这提示*STAU1*和*STAU2*与靶mRNA的结合可能存在重叠。另外,*STAU2*的dsRBD2和TBD与*STAU1*中的相比仅有48%和18%的相似性,并且相比于*STAU1*,*STAU2*有额外的一个dsRBD1和部分dsRBD5(图1)。除了在蛋白结构上,它们在组织分布上也有差异,*STAU1*在各种组织中广泛表达,在大脑发育,肌肉的形成和脂肪分化中都有着重要作用^[36-38]。而*STAU2*表达在大脑和肺脏中,在免疫细胞中也有少量表达^[39-41],这可能与它们的功能上的差异相关联。

在SMD途径中,*STAU1*起主要作用,*STAU2*也参与其中(表1)。PARKE等^[43]通过免疫共沉淀发现,*STAU1*与其自身和*STAU2*都存在相互作用,这提示*STAU2*可以与*STAU1*形成异源二聚体,从而发挥一定的功能。另外,当在293T细胞中敲低*STAU2*时,UPF1的解螺旋功能会下降,提示*STAU2*可能通过帮助*STAU1*招募UPF1并调节其解螺旋酶活性来参与SMD途径。

1.2.2 UPF1 无义介导的mRNA降解(nonsense-mediated mRNA decay, NMD)途径

是针对细胞内mRNA的一种监控机制,能够识别并降解含有提前终止密码子(pre-mature termination codon, PTC)的mRNA,以防止产生截短蛋白,影响细胞正常的生命活动。UPF1是解旋酶超家族2(superfamily 2, SF2)的一员,是NMD途径中的核心蛋白,在翻译终止以及招募mRNA的降解因子过程中起着重要作用。UPF1有两个主要的结构域:一个是N-端富含半胱氨酸和组氨酸的锌指结构域(N-terminal cysteine/histidine-rich zinc-binding domain, CH/ZBD),另一个是C-端由



dsRBD: dsRNA结合结构域; TBD: 微管蛋白结合结构域; SSM: STAU1交换模序。

dsRBD: dsRNA-binding domain; TBD: tubulin-binding domain; SSM: STAU1-swapping motif.

图1 人STAU1和STAU2的亚型(根据参考文献[42]修改)

Fig.1 Diagrams of human STAU1 and STAU2 isoforms (modified from reference [42])

表1 SMD途径中的相关蛋白
Table 1 Related proteins of SMD

SMD因子	分子量/kDa	亚细胞定位	功能结构域	在SMD途径中的功能
SMD factors	Molecular weight /kDa	Subcellular localization	Functional domain	Functions in SMD pathway
STAU1	55,63	Cytoplasm and nucleus (mainly in cytoplasm)	dsRNA binding domain, tubulin-binding domain, STAUFEN-swapping motif	Identify SBS and recruit UPF 1
STAU2	52, 56, 59, 62	Cytoplasm and nucleus (mainly in cytoplasm)	dsRNA binding domain, tubulin-binding domain, STAUFEN-swapping motif	Identify and binding double stranded RNA; Help STAU1 recruit UPF1
UPF1	140	Cytoplasm and nucleus (mainly in cytoplasm)	5'→3' RNA helicase, ATPase	ATP dependent de helix double stranded RNA
SMG1	410	Cytoplasm and nucleus	Serine/threonine protein kinase	Phosphorylates the N- and C-terminus of UPF1
PNRC2	16	Cytoplasm and nucleus	Src homology domain	Binding to DCP1 and mediate the activation of DCP2
SMG6	160	Cytoplasm and Chromatin	14-3-3 like domain, PIN like domain	Component of the telomerase ribonucleoprotein (RNP) complex
DCP2	48	Cytoplasm and nucleus (mainly in cytoplasm)	N-terminal regulatory domain, catalytic domain Intrinsically disordered-C-terminal tail	Removes the 7-methyl guanine cap structure from mRNA molecules Yielding a 5'-phosphorylated mRNA fragment and 7m-GDP
DCP1a	59, 63	Cytoplasm and nucleus (mainly in cytoplasm)	EVH1 domains	Participate in the activation of dcp2 enzyme activity

两个重组酶A(recombinase A, RecA)模序组成的解旋酶核心^[44]。体外纯化的UPF1可以结合ATP和RNA,表现出RNA依赖的ATP酶活性和5'端至3'端的RNA解旋酶活性。UPF1的ATP酶活性和解旋酶活性受到分子内和分子间的激活,UPF1自身的CH/ZBD结构域和RecA结构域相互作用抑制了UPF1的活性,而上游移码因子2(upframeshift 2, UPF2)与UPF1的CH/ZBD结构域结合能够使UPF1蛋白构象发生变化,从自抑制状态转变成激活状态,两结构域的相互抑制与UPF2的激活作用共同调控UPF1的活性,并保持动态平衡。在SMD途径中,STAU1能够识别SBS并招募UPF1,而UPF2不仅能够激活UPF1,还能够协同STAU1对UPF1的招募^[45]。

1.2.3 PNRC2 富含脯氨酸的核受体共激活因子2(proline-rich nuclear receptor coactivator 2, PNRC2)是一种核受体共激活因子,它包含一个富含脯氨酸的同源结构域3(src homology domain 3, SH3)和一个短的疏水基序。与其同源的核受体共激活因子1(proline-rich nuclear receptor coactivator 1, PNRC1)一样,PNRC2可以通过其SH3以配体非依赖方式与

众多核受体相互作用并增强其转录激活作用。研究表明,PNRC2在NMD途径中起着关键作用,不管是NMD途径还是SMD途径,mRNA的脱帽都是其中的关键步骤,PNRC2能够与脱帽酶1a(decapping enzyme 1a, DCP1a)结合并介导脱帽酶2(decapping enzyme 2, DCP2)的激活,从而促进mRNA的脱帽过程^[46]。在NMD途径和SMD途径中,PNRC2都能够与高度磷酸化的UPF1结合并诱导脱帽过程,随后进行5'→3'的mRNA降解。因此,PNRC2是一种双功能蛋白,既能调节转录^[47],也能参与mRNA降解。

1.3 SMD途径的作用过程

1.3.1 识别靶mRNA并激活UPF1 在翻译过程中,STAU1可以识别mRNA 3'UTR上多种形式的SBS并与其特异性结合,随后招募磷酸化的UPF1介导mRNA的降解。在SMD途径中,STAU1对SBS的特异性识别最为重要,先前的研究证明dsRBD3和dsRBD4是STAU1识别dsRNA的关键结构域,YADAV等^[48]在此基础上对STAU1如何结合Arf1 mRNA进行了解析,发现STAU1首先通过dsRBD3非特异性结合SBS,随后易化dsRBD4特异性结合SBS。

在众多 mRNA 降解途径中, UPF1 的招募都是核心过程, SMD 途径也不例外, 通常认为, STAU1 通过 SSM 和 dsRBD5 结构域参与招募 UPF1, 并且 STAU1 二聚体的形成对 UPF1 的招募至关重要。MANJEERA 等^[45]的研究表明, 在 STAU1 存在的情况下, UPF2 可以增强 UPF1 的活性, 并且下调细胞中 UPF2 的水平能够抑制 SMD 途径, 提示 UPF2 可能介导了 STAU1 对 UPF1 的招募与激活, 并且此过程有 SMG1 的参与。

1.3.2 磷酸化的 UPF1 结合 PNRC2 并介导 mRNA 的脱帽与降解 真核生物转录后所形成的 pre-mRNA 不能直接进入胞质指导合成蛋白质, 而是在细胞核中经过剪接、修饰等一系列步骤形成成熟的 mRNA 才能转运出核, 参与翻译过程。mRNA 成熟过程中首先会在 mRNA 的 5' 端添加 m⁷GpppN 结构, 该结构俗称为帽子结构, 帽子结构除了能够介导 mRNA 出核, 与翻译起始因子结合介导翻译起始之外, 还能够保护 mRNA 不会被 5' 端至 3' 端核酸外切酶 (5'→3' exoribonuclease1, XRN1) 降解。因此在 mRNA 的降解过程中, 脱帽是必须的。当 UPF1 被磷酸化后, PNRC2 会与之结合, 随后 PNRC2 会结合 DCP1a 共同激活 DCP2 的脱帽活性。DCP2 共有三个结构域, 包括氨基末端调节结构域 (N-terminal regulatory domain, ND)、催化结构域 (catalytic domain, CD) 和无序的羧基末端尾部 (intrinsically disordered C-terminal tail, IDR), 其中催化水解 m⁷G 三磷酸中的磷酸键的是 CD 中的核苷二磷酸连接部分 X (nucleoside diphosphate linked moiety

X, NUDIX) 模序, NUDIX 模序是一种环-螺旋-环的结构, 其三个保守的谷氨酸在镁离子的存在下催化了此反应。脱去了帽子结构的单链 mRNA 随后会被 XRN1 降解^[46]。

综上所述, 在 SMD 途径中, STAU1 首先识别并结合 SBS, 可直接或通过 UPF2 间接招募 UPF1, 并参与 SMG1 对 UPF1 的磷酸化, 磷酸化的 UPF1 能够介导 PNRC2 促进脱帽从而引发 mRNA 的降解。值得一提的是, 有研究表明, STAU1 当与自身或 STAU2 形成二聚体时, SMD 途径的活性会明显增强^[49]。

2 STAU1 在脂肪细胞分化过程中的作用及机制

脂肪组织起源于中胚层, 是在多种转录因子的激活下由 MSCs 增殖分化形成的。脂肪组织能够合成、包装和运输脂质, 并具有分泌脂肪细胞因子的能力, 此外脂肪组织还能够通过组织间的信号交换调节其他组织的代谢^[50-52](图 2)。脂肪细胞的正常分化是基因表达调控网络不同层次共调控的结果, 大量转录因子在此过程中发挥着重要调控作用。而在转录后水平, pre-mRNA 会经历一系列的转录后加工过程进而形成成熟的 mRNA 并转运至胞质中^[53], 这些加工过程出现了任何错误都可能会导致 mRNA 在胞质中被质量监控机制降解, 比如 NMD 会降解含有 PTC 的 mRNA^[54], non-stop 降解 (non-stop mRNA decay, NSD) 会降解无终止密码子的 mRNA^[55], 而

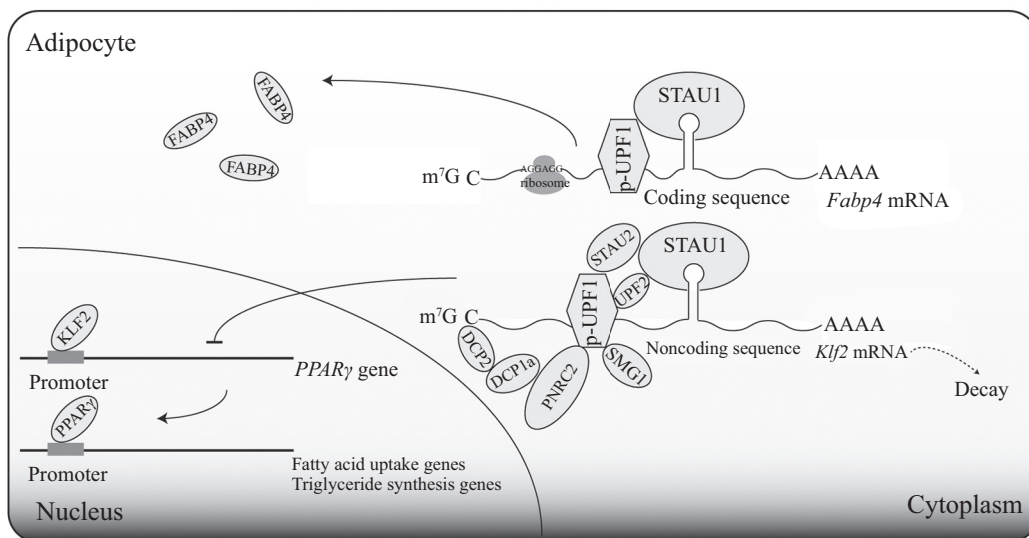


图2 STAU1在脂肪细胞分化过程中的作用

Fig.2 The role of STAU1 in adipocyte differentiation

SMD途径则在脂肪细胞分化过程中调控含有SBS的mRNA在胞质中的水平,从而使分化水平维持在一个相对稳定的状态。

2.1 SMG1通过磷酸化UPF1促进脂肪细胞分化

在NMD途径中,UPF1的磷酸化是mRNA降解的关键步骤,而UPF1的磷酸化受到多个磷脂酰肌醇3-激酶相关激酶家族蛋白(phosphatidylinositol 3-kinase-related kinase, SMG)的调节,其中SMG1对于UPF1的磷酸化至关重要。在SMD途径中,UPF1也需要被磷酸化后才能行使功能,STAU1在与SBS结合后,会招募SMG1磷酸化UPF1并参与靶mRNA的降解。CHO等^[38]发现,在3T3-L1向成熟脂肪细胞分化过程中,STAU1、SMG1以及p-UPF1的蛋白水平随着分化时间的增加逐渐升高,并且在此过程中敲低SMG1后,STAU1与UPF1的结合显著减少,PPAR γ 和UPF1蛋白磷酸化水平均显著下调,SMD途径活性受到抑制。这提示SMG1通过调节SMD途径相关蛋白的活性参与脂肪细胞分化。

2.2 PNRC2通过介导mRNA的脱帽促进脂肪细胞分化和脂肪生成

在SMD途径中,PNRC2是连接SBS的识别和脱帽过程关键蛋白,是调控SMD途径活性的关键因子。CHO等^[29]在3T3-L1细胞向成熟脂肪细胞分化过程中敲低PNRC2后发现PPAR γ 、C/EBP α 等脂肪细胞分化标志性蛋白在脂肪细胞分化过程中表达量明显减少。在动物水平,ZHOU等^[56]构建了全身敲除PNRC2基因小鼠模型,发现与野生型小鼠相比,全身敲除PNRC2小鼠体质重及脂肪量明显减少,其中减少部分主要来自腹腔沟白色脂肪。此外全身敲除PNRC2基因小鼠的血清甘油三酯水平明显下调,但是血清游离脂肪酸水平明显上调,这提示PNRC2基因的缺失可能在抑制脂肪组织脂肪生成的同时促进了甘油三酯的分解。

2.3 SMD途径降解Klf2 mRNA促进前脂肪细胞分化

Krüppel样因子家族是一类保守的具有锌指结构转录调控因子,广泛参与包括增殖、分化、凋亡在内的多种细胞过程^[57-59]。其中KLF2是一种负调控转录因子^[60-61],BANERJEE等^[28]最早发现在3T3-L1细胞中,过表达KLF2能够抑制脂肪形成;在细胞核中KLF2能够结合在PPAR γ 的启动子上抑制其转录,PPAR γ 是配体依赖转录因子核受体超家族成员之

一,是脂肪细胞分化和代谢的主要调控因子。CHO等^[29]的研究发现,在前脂肪细胞未分化状态下,Klf2 mRNA保持相对稳定状态,因此一定量的KLF2蛋白得以表达。而在分化过程中,随着STAU1、PNRC2、SMG1等SMD途径因子的表达升高,STAU1与Klf2 mRNA 3'UTR区的SBS结合增多,进而招募UPF1介导其降解。因此SMD途径能够通过降低细胞中Klf2 mRNA水平上调PPAR γ 的表达,进而调控脂肪细胞分化。

2.4 STAU1促进Fabp4 mRNA翻译调控脂肪细胞分化

在mRNA的翻译过程中,茎、环、发夹等二级结构会影响翻译过程^[42],并且典型的SBS均含有茎环结构。LIANG等^[26]发现,在3T3-L1细胞中敲低STAU1蛋白水平后,Fabp4 mRNA水平不变,而FABP4的蛋白水平会随之下调。随后经软件预测发现,Fabp4 mRNA上存在四个潜在的SBS,通过光激活核糖核苷增强交联和免疫沉淀(PAR-CLIP)实验发现,STAU1能够与其中一个位于CDS区并且含有茎环结构的SBS结合,当用冈田酸(okadaic acid, OA)增强UPF1的磷酸化水平时,Fabp4 mRNA水平依旧不变,而FABP4的蛋白水平会显著上调。这提示STAU1通过结合在Fabp4 mRNA CDS区并招募磷酸化的UPF1从而解开其二级结构促进其翻译,进而调控脂肪细胞分化。

3 结语与展望

自我国实施改革开放以来,人民生活质量日渐提高,肥胖率不断攀升。据《中国居民营养与慢性病状况报告(2020)》^[62]的数据显示,我国成年居民超重肥胖率超过50%,且仍在呈上升趋势,肥胖已成为危害我国公共健康的主要问题,因此了解肥胖的发生机制对其防治具有重要的现实意义。脂肪组织主要通过两种方式增殖,一是增加现存脂肪细胞的大小,二是通过促进前脂肪细胞分化形成新的脂肪细胞。分化中的脂肪细胞具有强大的合成甘油三酯的能力,合成的甘油三酯被包装成大体积的脂滴,细胞直径能够增加到数十甚至数百微米。

而脂肪细胞的分化涉及非常复杂的调节机制,在转录水平脂肪细胞的分化主要由转录因子C/EBP α 和PPAR γ 启动。C/EBP α 作为早期分化因子,主要表达在3T3-L1细胞诱导分化后的第二天^[28],PPAR γ 表达在分化第四天^[29],直至分化为成熟的脂肪细胞。转

录后水平的调控也影响着脂肪细胞的分化,在3T3-L1向成熟脂肪细胞分化过程中,STAU1和SMG1的表达水平及UPF1的磷酸化水平随着分化时间增加逐渐升高,并且敲低STAU1能够抑制脂肪细胞分化和脂肪生成,这说明SMD途径能够促进脂肪细胞分化。还有研究表明,STAU1与mRNA的结合不完全是介导其降解的,LIANG等^[26]的研究表明,STAU1能够结合在*Fabp4* mRNA的CDS,促进其翻译,进而促进脂肪细胞分化。因此STAU1不是通过单一因素影响脂肪细胞的分化,而是通过多种途径和机制调控的。

目前在脂肪细胞分化过程中SMD途径的功能研究主要集中在关键分子上,如STAU1及UPF1是如何调控脂质代谢相关基因的表达等。而对SMD途径的靶分子的研究还比较局限,例如:SMD途径在脂肪组织中调控的mRNA与其他组织有何不同?STAU1如何选择下游mRNA并执行不同功能?在今后研究中不仅要致力于发现更多SMD途径调控的靶mRNA,探索STAU1在脂肪细胞分化过程中的新功能,还要寻找在脂肪细胞分化过程中,调控STAU1表达的分子机制,这对于清楚地认识脂肪细胞的分化过程有着重要的意义,同时也有助于阐明肥胖发生的分子机制,为寻找治疗肥胖及2型糖尿病的药物靶点提供理论基础。

参考文献 (References)

- CASADO-DIAZ A, ANTER J, MULLER S, et al. Transcriptional analyses of adipocyte differentiation from human mesenchymal stromal-cells (msc) [J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(4): 771-84.
- KRAMPERA M, GALIPEAU J, SHI Y, et al. Immunological characterization of multipotent mesenchymal stromal cells: the International Society for Cellular Therapy (ISCT) working proposal [J]. *Cytotherapy*, 2013, 15(9): 1054-61.
- CHEN Q, SHOU P, ZHENG C, et al. Fate decision of mesenchymal stem cells: adipocytes or osteoblasts [J]? *Cell Death Differ*, 2016, 23(7): 1128-39.
- FU X, LI Y, HUANG T, et al. Runx2/osterix and zinc uptake synergize to orchestrate osteogenic differentiation and citrate containing bone apatite formation [J]. *Adv Sci*, 2018, 5(4): 1700755.
- HALL J A, RAMACHANDRAN D, ROH H C, et al. Obesity-linked ppar gamma s273 phosphorylation promotes insulin resistance through growth differentiation factor 3 [J]. *Cell Metab*, 2020, doi: 10.1016/j.cmet.2020.08.016.
- SOHN E J, JUNG D B, LEE J, et al. Ccr4-not2 promotes the differentiation and lipogenesis of 3t3-l1 adipocytes via upregulation of pparx03b3, cebpalph and inhibition of p-gsk3alpha/beta and beta-catenin [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 37(5): 1881-9.
- KING S E, SKINNER M K. Epigenetic transgenerational inheritance of obesity susceptibility [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2020, 31(7): 478-94.
- RUBIN R. Coordinating diet-related efforts to reduce obesity [J]. *JAMA*, 2021, 326(16): 1571.
- ROBINSON E, ROBERTS C, VAINIK U, et al. The psychology of obesity: an umbrella review and evidence-based map of the psychological correlates of heavier body weight [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2020, 119: 468-80.
- LI Y, JIN D, XIE W, et al. PPAR-gamma and wnt regulate the differentiation of mscs into adipocytes and osteoblasts respectively [J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2018, 13(3): 185-92.
- SUN Q, CHOU G. Isoflavonoids from *crotalaria albida* inhibit adipocyte differentiation and lipid accumulation in 3t3-l1 cells via suppression of ppar-gamma pathway [J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0135893.
- PARK H S, JU U I, PARK J W, et al. Ppar gamma neddylation essential for adipogenesis is a potential target for treating obesity [J]. *Cell Death Dif*, 2016, 23(8): 1296-311.
- ZDANOWICZ A, THERMANN R, KOWALSKA J, et al. Drosophila miR2 primarily targets the m7GPPPN cap structure for translational repression [J]. *Mol Cell*, 2009, 35(6): 881-8.
- AHRAZEM O, RUBIO-MORAGA A, ARGANDONA-PICAZO J, et al. Intron retention and rhythmic diel pattern regulation of carotenoid cleavage dioxygenase 2 during crocetin biosynthesis in saffron [J]. *Plant Mol Biol*, 2016, 91(3): 355-74.
- XIAO F, LU Y, WU B, et al. High-frequency exon deletion of DNA cross-link repair 1c accounting for severe combined immunodeficiency may be missed by whole-exome sequencing [J]. *Front Genet*, 2021, 12: 677748.
- CHEN L, YANG R, KWAN T, et al. Paired rRNA-depleted and poly-a-selected RNA sequencing data and supporting multi-omics data from human t cells [J]. *Sci Data*, 2020, 7(1): 376.
- PANG W J, LIN L G, XIONG Y, et al. Knockdown of Pu.1 as lncRNA inhibits adipogenesis through enhancing Pu.1 mRNA translation [J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114(11): 2500-12.
- LI J Y, GONG L, LIU S Z, et al. Adipose Hur protects against diet-induced obesity and insulin resistance [J]. *Nat Commun*, 2019, doi: 10.1038/s41467-019-10348-0.
- MAY J P, SIMON A E. Targeting of viral RNAs by upf1-mediated RNA decay pathways [J]. *Curr Opin Virol*, 2021, 47: 1-8.
- CAIRRAO F, SANTOS C C, LE THOMAS A, et al. Pumilio protects xbp1 mRNA from regulated ire1-dependent decay [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 1587.
- NING H, ZHANG T, ZHOU X, et al. Part1 destabilized by nova2 regulates blood-brain barrier permeability in endothelial cells via stau1-mediated mRNA degradation [J]. *Gene*, 2022, doi: 10.1016/j.gene.2021.146164.
- CHEN C, SHEN N, CHEN Y, et al. Lncclm inhibits lymphatic metastasis of cervical cancer by promoting stau1-mediated igf-1 mRNA degradation [J]. *Cancer Lett*, 2021, 518: 169-79.
- BONNET-MAGNAVAL F, DIALLO L H, BRUNCHAULT V, et al. High level of stau1 expression confers longer recurrence free survival to non-small cell lung cancer patients by promoting thbs1 mRNA degradation [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, doi: 10.3390/

- ijms23010215.
- [24] ZHONG Y, HU Z, WU J, et al. Stau1 selectively regulates the expression of inflammatory and immune response genes and alternative splicing of the nerve growth factor receptor signaling pathway [J]. *Oncol Rep*, 2020, 44(5): 1863-74.
- [25] BONDY-CHORNEY E, CRAWFORD PARKS T E, RAVEL-CHAPUIS A, et al. Stau1 regulates multiple alternative splicing events either positively or negatively in dm1 indicating its role as a disease modifier [J]. *PLoS Genet*, 2016, 12(1): e1005827.
- [26] LIANG X, JIAO Y, GONG X, et al. Stau1 unwinds the secondary structure and facilitates the translation of fatty acid binding protein 4 mRNA during adipogenesis [J]. *Adipocyte*, 2021, 10(1): 350-60.
- [27] KIM Y K, FURIC L, DESGROSEILLERS L, et al. Mammalian stau1 recruits UPF1 to specific mRNA 3'UTRS so as to elicit mRNA decay [J]. *Cell*, 2005, 120(2): 195-208.
- [28] BANERJEE S S, FEINBERG M W, WATANABE M, et al. The Kruppel-like factor (KLF2) inhibits peroxisome proliferator-activated receptor-gamma expression and adipogenesis [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(4): 2581-4.
- [29] CHO H, KIM K M, HAN S, et al. Stau1-mediated mRNA decay functions in adipogenesis [J]. *Mol Cell*, 2012, 46(4): 495-506.
- [30] KIM Y K, FURIC L, PARIEN M, et al. Stau1 regulates diverse classes of mammalian transcripts [J]. *EMBO J*, 2007, 26(11): 2670-81.
- [31] YADAV D K, ZIGACKOVA D, ZLOBINA M, et al. Stau1 reads out structure and sequence features in Arf1 dsRNA for target recognition [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(4): 2091-106.
- [32] LUCAS B A, LAVI E, SHIUE L, et al. Evidence for convergent evolution of sine-directed stau1-mediated mRNA decay [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(5): 968-73.
- [33] GONG C, MAQUAT L E. LncRNAs transactivate stau1-mediated mRNA decay by duplexing with 3'UTRs via alu elements [J]. *Nature*, 2011, 470(7333): 284-8.
- [34] MARTEL C, DUGRE-BRISSON S, BOULAY K, et al. Multimerization of stau1 in live cells [J]. *RNA*, 2010, 16(3): 585-97.
- [35] GLEGHORN M L, GONG C, KIELKOPF C L, et al. Stau1 dimerizes through a conserved motif and a degenerate dsRNA-binding domain to promote mRNA decay [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2013, 20(4): 515-24.
- [36] PAUL S, DANSITHONG W, FIGUEROA K P, et al. Stau1 in human neurodegeneration [J]. *Ann Neurol*, 2021, 89(6): 1114-28.
- [37] ALMASI S, CRAWFORD PARKS T E, RAVEL-CHAPUIS A, et al. Differential regulation of autophagy by stau1 in alveolar rhabdomyosarcoma and non-transformed skeletal muscle cells [J]. *Cell Oncol*, 2021, 44(4): 851-70.
- [38] CHO H, HAN S, PARK O H, et al. Smg1 regulates adipogenesis via targeting of stau1-mediated mRNA decay [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1829(12): 1276-87.
- [39] ORTIZ R, GEORGIEVA M V, GUTIERREZ S, et al. Recruitment of stau2 enhances dendritic localization of an intron-containing camkii α mRNA [J]. *Cell Rep*, 2017, 20(1): 13-20.
- [40] PERNICE H F, SCHIEWECK R, JAFARI M, et al. Altered glutamate receptor ionotropic delta subunit 2 expression in stau2-deficient cerebellar purkinje cells in the adult brain [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, doi: 10.3390/ijms20071797.
- [41] CHOWDHURY R, WANG Y, CAMPBELL M, et al. Stau2 binds a complex RNA cargo that changes temporally with production of diverse intermediate progenitor cells during mouse corticogenesis [J]. *Development*, 2021, doi: 10.1242/dev.199376.
- [42] PARK E, MAQUAT L E. Stau1-mediated mRNA decay [J]. *Wires RNA*, 2013, 4(4): 423-35.
- [43] PARK E, GLEGHORN M L, MAQUAT L E. Stau2 functions in stau1-mediated mRNA decay by binding to itself and its paralog and promoting upf1 helicase but not atpase activity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(2): 405-12.
- [44] HWANG H J, PARK Y, KIM Y K. Upf1: from mRNA surveillance to protein quality control [J]. *Biomedicines*, 2021, doi: 10.3390/biomedicines9080995.
- [45] GOWRAVARAM M, SCHWARZ J, KHILJI S K, et al. Insights into the assembly and architecture of a stau1-mediated mRNA decay (SMD)-competent mrnp [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 5054.
- [46] WURM J P, SPRANGERS R. Dep2: an mRNA decapping enzyme that adopts many different shapes and forms [J]. *Curr Opin Struct Biol*, 2019, 59: 115-23.
- [47] HENTSCHE M, BORGMEYER U. Identification of pNRC2 and tle1 as activation function-1 cofactors of the orphan nuclear receptor ERR gamma [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 312(4): 975-82.
- [48] YADAV D K, ZIGACKOVA D, ZLOBINA M, et al. Stau1 reads out structure and sequence features in arf1 dsRNA for target recognition [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(4): 2091-106.
- [49] GOWRAVARAM M, SCHWARZ J, KHILJI S K, et al. Insights into the assembly and architecture of a stau1-mediated mRNA decay (SMD)-competent mrnp [J]. *Nat Commun*, 2019, doi: 10.1038/s441467-019-13080-x.
- [50] YANG LOUREIRO Z, SOLIVAN-RIVERA J, CORVERA S. Adipocyte heterogeneity underlying adipose tissue functions [J]. *Endocrinology*, 2022, doi: 10.1210/endo/bqab138.
- [51] SONG T, KUANG S. Adipocyte dedifferentiation in health and diseases [J]. *Clin Sci*, 2019, 133(20): 2107-19.
- [52] SABARATNAM R, SVENNINGSEN P. Adipocyte-endothelium crosstalk in obesity [J]. *Front Endocrinol*, 2021, doi: 10.3389/fendo.2021.681290.
- [53] DE KLERK E, T HOEN P A. Alternative mRNA transcription, processing, and translation: insights from RNA sequencing [J]. *Trends Genet*, 2015, 31(3): 128-39.
- [54] KAROUSIS E D, GYPAS F, ZAVOLAN M, et al. Nanopore sequencing reveals endogenous nmd-targeted isoforms in human cells [J]. *Genome Biol*, 2021, 22(1): 223.
- [55] POWERS K T, SZETO J A, SCHAFFITZEL C. New insights into no-go, non-stop and nonsense-mediated mRNA decay complexes [J]. *Curr Opin Struct Biol*, 2020, 65: 110-8.
- [56] ZHOU D, SHEN R, YE J J, et al. Nuclear receptor coactivator pNRC2 regulates energy expenditure and adiposity [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(1): 541-53.
- [57] PALIOURA D, LAZOU A, DROSATOS K. Kruppel-like factor (klf5): an emerging foe of cardiovascular health [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2022, 163: 56-66.

- [58] YANG L, SHI Y L, MA Y, et al. Silencing klf16 inhibits oral squamous cell carcinoma cell proliferation by arresting the cell cycle and inducing apoptosis [J]. *APMIS*, 2022, 130(1): 43-52.
- [59] HSIEH P N, FAN L, SWEET D R, et al. The Kruppel-like factors and control of energy homeostasis [J]. *Endocr Rev*, 2019, 40(1): 137-52.
- [60] HUANG J, PU Y, ZHANG H, et al. Klf2 mediates the suppressive effect of laminar flow on vascular calcification by inhibiting endothelial BMP/Smad1/5 signaling [J]. *Circ Res*, 2021, 129(4): e87-e100.
- [61] PI J, TAO T, ZHUANG T, et al. A microRNA302-367-erk1/2-klf2-s1pr1 pathway prevents tumor growth via restricting angiogenesis and improving vascular stability [J]. *Circ Res*, 2017, 120(1): 85-98.
- [62] 《中国居民营养与慢性病状况报告(2020年)》: 我国超过一半成年居民超重或肥胖[J]. *中华医学信息导报(《Report on Nutrition and Chronic Diseases in China (2020)》: more than half of Chinese adults are overweight or obese [J]. Chinese Journal of Medical Information)*, 2020, 35(24): 15.