



脂肪细胞分化: 一个故事、两个章节

吴家睿^{①②}^① 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, 上海 200031;^② 中国科学技术大学生命科学学院, 合肥微尺度物质科学国家实验室, 合肥 230027

E-mail: wujr@sibs.ac.cn

2011-04-06 收稿, 2011-05-04 接受

国家自然科学基金资助项目(30230110, 30821065)

摘要 细胞分化是多细胞个体发育和干细胞实现功能活动的基本过程。作为诱导白色脂肪细胞分化的体外模型, 小鼠 3T3-L1 前脂肪细胞系的定向分化过程由依赖于细胞周期特定时相(接触抑制期)的许可阶段和独立于细胞周期的执行阶段所组成。在接触抑制期, 通过细胞代谢方式、细胞周期调控因子和细胞信号转导通路之间的相互作用, 决定了各种染色质表观遗传修饰因子的活动, 从而导致具备脂肪细胞分化潜能的染色质表观遗传修饰模式的形成。在随后的执行阶段, 这种分化潜能被激素诱发, 通过复杂的基因调控网络的动态活动, 使各种控制脂肪细胞分化基因表达的转录因子按既定的分化时间表打开或者关闭, 并决定相关的靶基因的表达, 最终导致了脂肪细胞的形成。

关键词

脂肪细胞分化
细胞周期
3T3-L1
基因表达调控
表观遗传修饰

细胞是多细胞生物的基本结构单元和功能单元。从一个受精卵细胞生长成一个完整的个体, 一方面需要细胞增殖(cell proliferation)的机制, 即通过 DNA 复制和细胞分裂两个过程为核心的细胞周期(cell cycle)活动来增加细胞的数量; 另外一方面还需要细胞分化(cell differentiation)的参与, 即将单一的细胞群体逐渐分化成各种具有特定功能的不同种类的细胞, 这些分化的细胞再构成不同的组织和器官。研究者已经逐渐认识到, 细胞增殖和细胞分化之间有着高度的协调^[1]。一般说来, 细胞分化的先决条件是退出细胞周期。通常在细胞周期的 G₁ 期, 细胞将根据细胞内外环境决定是继续分裂还是停止分裂进入分化状态。此外, 细胞的增殖能力和其分化状态成反比。对于保持全能性尚未分化的细胞如胚胎干细胞来说, 细胞的增殖能力非常强。而开始进入分化状态的细胞如成体干细胞则逐渐降低其增殖能力。完全特化的细胞如神经元或脂肪细胞, 则基本丧失了进行细胞分裂的能力^[2]。由此可见, 细胞内一定存在一个协调细胞增殖与细胞分化之关系的分子调控网络。

在控制细胞增殖与分化关系的领域里, 采用脂肪干细胞或前体细胞为模型开展脂肪细胞分化(adipogenesis)调控的研究一直是人们关注的热点。利用这种细胞分化体系开展研究, 不但在基础研究方面可以用来理解细胞增殖和分化的相互协调关系; 同时也可以由此揭示脂肪细胞产生的调控机理, 为抗击肥胖以及相关的代谢性疾病提供理论指导。脂肪细胞主要有两类: 白色脂肪细胞和棕色脂肪细胞。小鼠 3T3-L1 前脂肪细胞系是最常用的诱导白色脂肪细胞分化的体外模型^[3,4]。现在常用的 3T3-L1 前脂肪细胞标准诱导分化程序是, 首先让具有正常细胞增殖能力的前脂肪细胞进入接触抑制阶段, 使细胞处于细胞分裂停滞的 G₀ 期; 然后对这些处于接触抑制阶段的前脂肪细胞用 3 种激素(methylisobutylxanthine, dexamethasone, insulin, 简称为 MDI)进行诱导处理; 在 MDI 的刺激下, 前脂肪细胞首先进入特定的细胞分裂期——克隆扩增(clonal expansion), 然后再进一步进行终端分化而成为脂肪细胞^[4,5](图 1)。

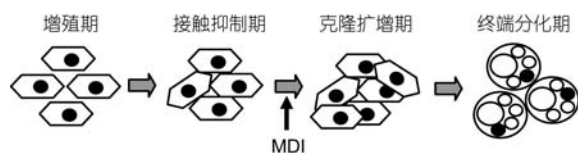


图1 3T3-L1 白色脂肪细胞定向诱导分化模型

3T3-L1 前脂肪细胞标准诱导分化程序是：首先让具有正常细胞增殖能力的前脂肪细胞进入接触抑制阶段，使细胞处于细胞分裂停滞的G₀期；接着就对这些处于接触抑制阶段的前脂肪细胞用MDI进行诱导处理；在MDI的刺激下，前脂肪细胞首先进入克隆扩增期，然后再进一步通过终端分化期而成为脂肪细胞

1 脂肪细胞分化是一种两阶段事件：获取和执行分化指令

体外培养的成纤维细胞一旦彼此间达到了紧密接触，它们就停止细胞分裂和增殖；这一现象被称为接触抑制(contact inhibition)。尽管很早就有研究报道，前脂肪细胞需要经历一个接触抑制引起的G₀期才能具备分化成脂肪细胞的潜能^[6]，但也有研究认为，这种接触抑制期并不是脂肪细胞分化所必需的^[5,7]。因此，这个领域的研究者的兴趣点主要是前脂肪细胞在激素刺激以后发生的分子事件。不久前，我们实验室发现，3T3-L1 前脂肪细胞必须经过为期2 d的接触抑制阶段，才具备被激素诱导分化成为脂肪细胞的潜能。如果用去除血清的方法让细胞进入G₀期，这些前脂肪细胞仍然不能被激素诱导分化。也就是说，仅仅让细胞进入G₀期并不能足以让细胞获得脂肪细胞分化潜能，只有接触抑制期才是3T3-L1 前脂肪细胞可诱导分化成为脂肪细胞的关键。进一步研究发现，在接触抑制期，3T3-L1 前脂肪细胞获得了分化潜能，其中表观遗传修饰参与了这个过程^[8]。这些工作提示，3T3-L1 细胞从细胞周期转变进入细胞分化的过程中发生了染色质表观遗传变化，而接触抑制期就是实现染色质表观遗传变化的关键时期。也就是说，3T3-L1 前脂肪细胞在接触抑制期获取脂肪细胞分化指令的过程中，其核心任务是要把染色质表观遗传模式由细胞增殖状态改变成为准备进行脂肪细胞分化的状态。我们的研究结果不仅支持当下的研究新观点——表观遗传调控在脂肪细胞分化过程中扮演了关键的角色^[9]，而且首次揭示出，决定脂肪细胞分化的表观遗传调控事件主要发生在激素诱导分化之前的接触抑制期。

我们进一步的研究表明，单独采用Insulin刺激处于完成了接触抑制过程的3T3-L1 前脂肪细胞也能导致克隆扩增，但是不会引起分化；如果对这些细胞单独用Insulin刺激12或者24 h后再用MDI诱导，这些细胞就完全可以分化成为脂肪细胞。因此，3T3-L1 前脂肪细胞在接触抑制期获取的染色质表观遗传修饰状态可以不受克隆扩增作用的影响^[8]。这一结果与我们早期研究成果是一致的，即克隆扩增不是3T3-L1 脂肪细胞分化所必需的过程^[10]。我们的研究工作还证明，如果让接触抑制期的细胞重新进入细胞周期，这些获得分化潜能的细胞可以进入细胞周期进行正常细胞分裂；并且这种获得的分化潜能可以在细胞传代过程中也能被保留，因为这些细胞不再需要经历接触抑制期，在细胞周期的不同时间点上都可以直接被MDI诱导分化成脂肪细胞^[8]。

这项工作首次揭示，前脂肪细胞的定向分化过程可以分成2个相对独立阶段：(1) 许可阶段(licensing stage)，细胞被赋予分化潜能，这个阶段依赖于细胞周期的特定时相(接触抑制期)。(2) 执行阶段(execution stage)，获得分化潜能的前脂肪细胞在激素等诱导因子的刺激下分化成为成熟的脂肪细胞；这个阶段独立于细胞周期，因为具备分化潜能的细胞无论处于细胞周期的哪个时相，均可以被激素诱导而进行分化(图2)。

2 获取细胞分化指令的分子调控网络及其工作原理

3T3-L1 前脂肪细胞在接触抑制期中获得“分化许可”的关键是，细胞通过特定的表观遗传修饰活动使细胞控制分化的基因表达调控进入可诱导状态。已有报道表明，前脂肪细胞的组蛋白3的甲基化修饰H3K4me2导致表达脂肪因子的基因启动子处于静默但可被诱导表达的状态^[11]；而抑制了组蛋白去乙酰化酶则可以刺激脂肪细胞分化^[12]。此外，接触抑制还可以改变DNA序列上的“CpG”岛的甲基化状态^[13]。我们的研究也表明，接触抑制期的DNA甲基转移酶活性是诱导脂肪细胞分化所必需的，如果用DNA甲基化抑制剂5-aza-2'-deoxycytidine或siRNA抑制DNA甲基转移酶Dnmt3a，其抑制分化的效果在处理接触抑制期的细胞时表现最强；此外，参与脂肪细胞分化的重要转录因子C/EBPα的启动子序列在接触抑制过程中形成了比增殖细胞要高的甲基化水平，而

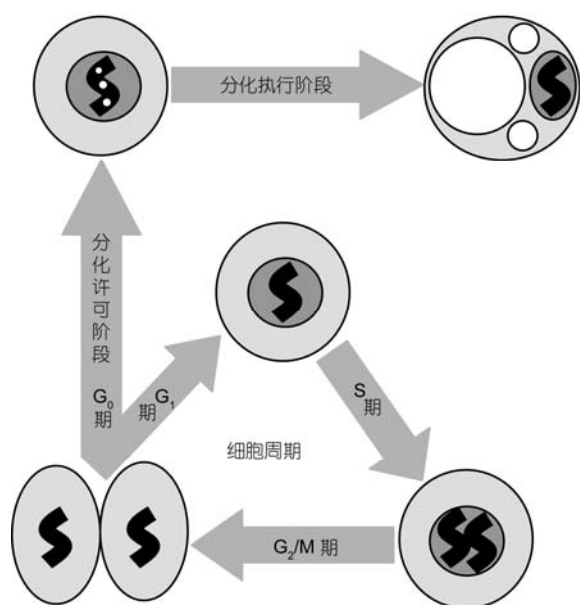


图2 3T3-L1 白色脂肪细胞的两阶段定向诱导分化模型

3T3-L1 前脂肪细胞的定向分化过程可以分成 2 个相对独立阶段: (1) 分化许可阶段, 细胞被赋予分化潜能, 这个阶段需要退出 G_1 期, 进入特定的 G_0 期(接触抑制期)。 (2) 分化执行阶段, 获得分化潜能的前脂肪细胞在激素(MDI)诱导下分化为成熟的脂肪细胞。

在 MDI 诱导处理后该启动子的甲基化水平则有明显下降, 进入激活状态^[8]。由此可以看到, 通过接触抑制方式退出细胞周期而进入到细胞分化过程的主要任务就是, 在 3T3-L1 前脂肪细胞的染色质上进行各种能够响应激素诱导分化的表观遗传修饰。

我们知道, 所有的表观遗传修饰都必须由组蛋白去乙酰化酶、DNA 甲基转移酶等各种蛋白酶来执行。因此, 在接触抑制期如何调控这些负责表观遗传修饰的蛋白质的活性和它们的工作方式, 就应该是研究前脂肪细胞获得“分化许可”的分子调控网络的关键科学问题。目前针对这个具体问题的研究还不是很多, 但我们可以从 3 个角度来进行思考。

首先要考虑细胞周期的调控因子。当细胞因接触抑制而处于细胞分裂停滞的 G_0 期时, 那些控制细胞周期运行的蛋白质如 CDK, pRB, E2F 等显然要发生相应的变化, 而这些变化就有可能影响到各种表观遗传修饰因子。已有报道表明, pRB 和 HDAC3 可以在前脂肪细胞中形成一个转录抑制复合物, 结合在脂肪细胞分化必需的关键转录因子 $PPAR\gamma$ 的启动子上; 在诱导因子的刺激下, pRB 被磷酸化而失去活性, 导致这个复合物从 $PPAR\gamma$ 上解离, 从而使

$PPAR\gamma$ 能够被表达^[14]。在接触抑制期高表达的 Cyclin D1 同样能够像 pRB 一样与 HDAC1 以及 SUV39H1 形成复合物, 从而抑制转录因子 $PPAR\gamma$ 的表达^[15]。显然, 我们需要更加系统的和全面的认识这个过程中细胞周期控制因子与表观遗传修饰的关系。

其次需要考虑的是细胞信号转导。接触抑制期的细胞密度通常要高于增殖期的细胞。因此, 接触抑制过程可以引起细胞之间和细胞内部的信号通路的变化^[16]。人们研究发现, 细胞生长的密度能够影响 Src, paxillin 和 FAK 等信号蛋白的 Tyrosine 的磷酸化状态^[17]。此外, 生长因子 PDGF 和 EGF 的磷酸化状态在高密度细胞里明显下调, 而磷酸脂酶的活性则明显增加^[18]。不久前新发现的 Hippo 信号通路也能够接触抑制期的哺乳动物细胞里被特定地激活, 从而抑制了癌蛋白 YAP 的活性^[19]。目前已经发现, 至少有 Insulin, Wnt, TGF β , FGF, BMP 和 sonic hedgehog 等 6 种细胞信号通路参与脂肪细胞分化基因的表达调控^[20]。这些信号通路在接触抑制期的变化情况以及如何影响表观遗传修饰的调控应该是今后的一个研究重点。

近年来, 越来越多的研究者认识到, 细胞的代谢变化不仅仅是基因转录调控的终端结果, 而且也能够影响基因的转录活动^[21]。转录因子 $PPAR$ 就是一个典型的例子, 这个因子的主要功能是通过激活一系列参与脂代谢的基因表达而调控脂肪酸代谢, 可 $PPAR$ 自身的活性又受到脂肪酸和胆固醇等代谢小分子的调控^[22]。增殖细胞内的代谢活动与细胞分裂停滞的 G_0 期细胞有很大的不同: 增殖期的细胞具有很高的糖酵解速率, 而 G_0 期的细胞则主要是将葡萄糖通过线粒体的三羧酸循环进行能量代谢反应^[23]。显然, 这些不同的能量代谢反应将产生不同的 ATP 浓度。有研究表明, 细胞内的 ATP 水平调控组蛋白甲基转移酶 HMT 的辅酶因子 S-Adenosyl-methionine 的合成, 从而使细胞的能量状态影响到组蛋白的甲基化修饰^[24]。还有研究报道, 动物细胞内的组蛋白乙酰化依赖于 ATP-citrate lyase 的活性, 而这个酶的功能是把由葡萄糖转变成的柠檬酸作为底物合成 acetyl-CoA; 进一步的研究发现, 抑制这个酶将抑制脂肪细胞分化过程中的组蛋白乙酰化, 从而抑制了脂肪细胞分化^[25]。

重要的是, 细胞的代谢方式与细胞周期调控因子、细胞信号转导通路形成了一个相互影响和相互依

赖的复杂作用网络^[26]。有研究发现,如果将小鼠脂肪组织中的 pRB 敲除,就能够增加脂肪组织中线粒体的数量和提高若干个参与线粒体活动的基因表达,表明 pRB 能够抑制线粒体的数量和活性,从而减少细胞的能量消耗^[27];另一方面, pRB 能够抑制 PPAR γ 的表达而调控脂肪细胞分化^[13]。有研究指出,处于接触抑制期的细胞内活性氧化合物(reactive oxygen species, ROS)的浓度低于正常生长的细胞,从而影响了生长因子信号的响应^[28];而这种低浓度 ROS 则有助于 3T3-L1 前脂肪细胞向脂肪细胞分化^[29]。此外,细胞在生长和停滞阶段的不同代谢活动产生的不同氧化还原态还可以直接调节低分子量磷酸脂酶(LMW-PTP)的活性,进而影响到细胞对各种细胞信号通路的反应^[30]。我们认为,在接触抑制期由细胞代谢方式、细胞周期调控因子和细胞信号转导通路所形成的分子相互作用网络是 3T3-L1 前脂肪细胞获取脂肪细胞分化潜能的初级原因,其主要任务是调控各种染色质表观遗传修饰因子的活动;次级原因显然是就是各种染色质表观遗传修饰因子的特定行为方式;而这些因子导致的结果就是,在这个时期形成了具备脂肪细胞分化潜能的染色质表观遗传修饰模式(图 3)。对接触抑制期前脂肪细胞的初级原因和次级原因以及二者之间关系的研究,应该是今后人们认识细胞命运决定的分子调控机制的重要任务。

3 执行细胞分化指令的分子调控网络及其工作原理

在接触抑制期完成了染色质表观遗传修饰后, 3T3-L1 前脂肪细胞就进入了“执行阶段”,即具备了可被激素诱导分化成脂肪细胞的状态。通用的诱导过程是,首先在细胞培养基中同时加入 Methylisobutylxanthine, Dexamethasone 和 Insulin 3 种激素处理细胞 2 d, 然后换成不含 MDI 的培养基继续培养细胞 4~6 d, 就形成了含有许多油滴的脂肪细胞^[4,10]。在这个诱导分化的激素“鸡尾酒”中,高浓度的 Insulin 主要作用在 3T3-L1 前脂肪细胞的 IGF-1 受体上,然后激活下游的 MAPK 和 Akt 两个激酶^[31]; Dexamethasone 是作用在 Glucocorticoid 受体上,该核受体可以直接入核并激活转录因子 C/EBP β ^[32],而 Methylisobutylxanthine 则通过抑制 Phosphodiesterase 的活性提高细胞内 cAMP 的浓度,从而激活蛋白激酶 PKA,进而激活转录因子 CREB^[33]。

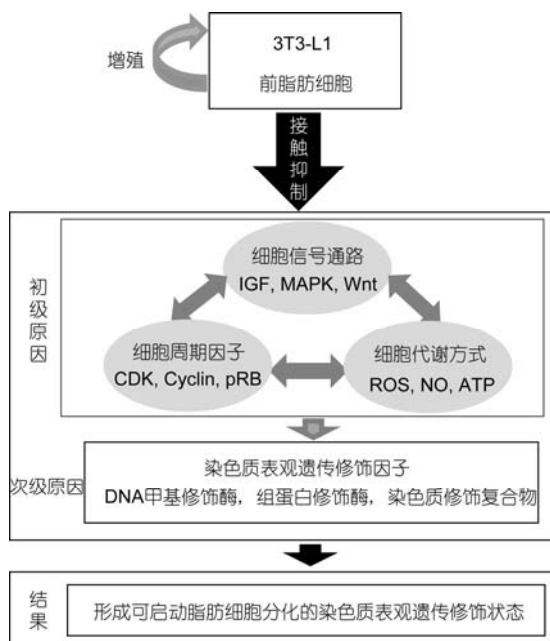


图3 3T3-L1 前脂肪细胞在接触抑制期获取分化潜能的因果链示意图

3T3-L1 前脂肪细胞获取脂肪细胞分化潜能的初级原因是,由细胞代谢方式、细胞周期调控因子和细胞信号转导通路等在接触抑制期形成的分子相互作用网络;次级原因是,各种染色质表观遗传修饰因子的特定修饰活动;而这些表观遗传修饰因子活动的结果则是形成了脂肪细胞分化潜能的染色质表观遗传修饰模式

从采用这 3 种激素以及它们各自的作用方式来看,要启动获得分化潜能的 3T3-L1 前脂肪细胞进行分化是一个复杂的分子调控活动。我们实验室和别的实验室的研究表明,加 3 种激素的诱导分化效果要好于加 2 种激素;而如果只加 1 种激素,则分化程度很低,甚至没有分化^[8,10,34]。也就是说,脂肪细胞分化过程的起始需要多个信号通路之间的协同作用,从而导致一种复杂的基因调控网络的形成。经典的研究主要关注参与脂肪细胞分化调控的转录因子以及它们之间的相互关系,已经建立了一个以 PPAR 和 C/EBP 两种转录因子家族为核心的基因调控网络^[4,5,35,36]。但是,随着研究工作的深入,有关这一网络的新成员正在被逐渐地揭示出来。有研究指出,涉及脂肪细胞分化的组蛋白修饰和 DNA 修饰等各种染色质表观遗传修饰因子之间,以及它们与转录因子之间都存在复杂的相互作用,都是构成复杂的基因调控网络的重要组成部分^[9,37]。作为新类型基因调控分子,微小的非编码 RNA 分子——microRNAs 也参与了脂肪细胞分化的基因调控网络的活动,例如,

miR-17-92 基因簇能够通过抑制 *Rb2/p130* 来促进 3T3-L1 前脂肪细胞进行分化^[38]；而如果在人前脂肪细胞内表达 *miR-130*，则可以使 *PPAR γ* 的表达降低，进而抑制细胞的分化^[39]。此外，人们还发现了多种能够调控不同转录因子表达或活性的辅助调节因子 (coregulators)，包括辅助激活因子 (coactivators) 和辅助抑制因子 (corepressors)，它们都参与了脂肪细胞分化的基因调控网络^[40]。显然，今后的研究将会构造出一个更为复杂和更为完整的脂肪细胞分化的基因调控网络。

3T3-L1 前脂肪细胞在 MDI 激素诱导的初期，通常会进入一个被称为克隆扩增 (clonal expansion) 的细胞增殖状态，即在 2 d 左右的时间内进行 2 轮细胞有丝分裂^[4,5]。对这个克隆扩增过程是否为脂肪细胞分化所必需的问题，一直有不同的观点。我们实验室一个早期的工作证明，没有克隆扩增过程，3T3-L1 前脂肪细胞也能够进行很好的分化^[10]；但也有实验室持不同看法，认为克隆扩增过程是 3T3-L1 前脂肪细胞分化所需要的^[41]。我们实验室最近的研究结果进一步肯定了我们的前期结果：如果让这些获得的分化潜能的细胞再次进入细胞周期，它们能够进行正常的细胞有丝分裂和传代；这些子代细胞在细胞周期的任一时间点上，都可以直接被 MDI 诱导而分化成脂肪细胞^[8]。我们的研究表明，单独采用 Insulin 就可以刺激处于接触抑制期的 3T3-L1 前脂肪细胞进行克隆扩增^[8,10]。也就是说，MDI 激素诱导引起的前脂肪细胞的克隆扩增活动可能只是这 3 种激素中的 Insulin 所造成的一个伴随现象。

由此引出了一个重要的问题，在研究脂肪细胞分化的基因调控网络时，如何将控制分化的调控基因与负责克隆扩增活动的细胞周期调控基因分开。我们发展了一种新方法来解决这个问题：对处于接触抑制期的 3T3-L1 前脂肪细胞首先用 Insulin 刺激一段时间，让其进行克隆扩增活动，然后才用 MDI 诱导它们以启动分化活动。该方法正是基于我们的判断：克隆扩增不是脂肪细胞分化所必需的。实验结果表明，细胞用 Insulin 进行 12, 24, 36 或者 48 h 等不同时间段的单独刺激后再加入 MDI 进行诱导，其分化效果与传统的仅仅用 MDI 诱导的没有差别^[8]。用基因芯片技术分析的结果表明，直接用 MDI 处理细胞 24 h 得到的基因表达谱模式与用 Insulin 单独细胞处理 12 或 24 h 的很不一样，而与用 Insulin 单独处理细胞 12 或 24 h 后再用 MDI 处理 24 h 的则非常相似^[8]，

意味着我们这种方法能够将控制分化的调控基因与负责克隆扩增活动的细胞周期调控基因分开。因此，有必要在该方法的基础上开展脂肪细胞分化的基因调控网络的研究。

脂肪细胞分化的“执行阶段”从 MDI 诱导到形成脂肪细胞至少需要 4 d，基因调控网络的构成元件及其相互关系在这个阶段处于不断的变化中。我们实验室最近的研究结果表明，STAT3 只是在 MDI 诱导的早期被 JAK2 磷酸化激活，进入细胞核并结合在 *C/EBP β* 基因的操纵子上，促进 *C/EBP β* 基因的表达^[42]；而另外一个转录因子 *KLF9* 的表达则是在中期 (MDI 诱导 2 d 以后) 才会上调，然后与另一个转录因子 *C/EBP α* 相互作用，结合到 *PPAR γ* 基因的启动子上，上调 *PPAR γ* 的表达^[43]。其他实验室的研究工作揭示，*KLF9* 所属的 Krüppel-like factors (KLFs) 家族的多个成员均参与了脂肪细胞分化的基因调控网络的工作，其中 *KLF4* 和 *KLF5* 在激素诱导的早期表达，并能够激活 *C/EBP β* 基因的操纵子和促进 *PPAR γ* 的表达^[44,45]，而 *KLF2* 和 *KLF3* 作为脂肪细胞分化的抑制性转录因子则在激素诱导早期就被迅速下调^[46,47]；在激素诱导的中期，*KLF15* 等脂肪细胞分化的促进因子被上调并参与了 *PPAR γ* 的表达调控^[48]。此外，其他转录因子家族如 AP-1, STAT 等在脂肪细胞分化过程中也都表现出复杂的时空动态调控关系^[36]。

这些复杂的现象提示人们，必须要从动态的角度来研究脂肪细胞分化的基因调控网络。更重要的是，需要考虑这个基因调控网络的动力学性质。在细胞定向分化的过程中，一旦决定分化的信号被启动了，细胞通常将“坚定”地向既定的分化目标前进。我们注意到，在诱导 3T3-L1 前脂肪细胞分化的“执行阶段”之初，需要 3 种激素同时参与，从而激活多条信号通路^[31-33]；而在该过程的中后期，这些调控信号则被逐渐“收敛”到对转录因子 *PPAR γ* 的表达调控上来^[33,36]。已有的实验研究表明，如果把 *PPAR γ* 剔除，将导致前脂肪细胞不能分化，而把该转录因子在非分化的成纤维细胞系 NIH-3T3 过表达，则能够把该类细胞变成脂肪细胞^[49]。人们认为，在目前发现的涉及脂肪细胞分化的各种转录因子中，只有 *PPAR γ* 是唯一能够满足让细胞分化的充分和必要条件^[36,50]。在酵母细胞周期的研究中，研究者通过数学的离散模型揭示出，细胞周期分子调控网络具有状态和演化路径的双重动力学稳定性，形成一个超稳定的动

力系统^[51]. 我们推测, 前脂肪细胞分化过程中的基因调控网络也应该具有很强的动力学稳定性, 而 PPAR γ 的稳定态可能就是唯一的全局吸引子. 与此相对的是, 具备多种细胞分化潜能的胚胎干细胞或者造血干细胞等多能干细胞的基因分化调控网络则可能处于比较不稳定的动力学状态, 不具备全局吸引子, 从而能够分化成为多种类型的细胞. 因此, 通过分析基因调控网络的动力学性质将是认识细胞分化调控机制的一个新途径.

4 结论与展望

3T3-L1 前脂肪细胞可以认为是一种离终端分化只有一步之遥的“祖细胞”(progenitor), 不足以通过研究这一细胞模型来揭示胚胎干细胞或者成体干细胞复杂的分化调控机制. 但是, 通过该细胞模型的研究仍然可以发现许多重要的分化调控规律. 我们实验室揭示出的前脂肪细胞“两阶段”分化过程, 给细胞

分化领域研究者提出了 2 个带有普遍意义的重要科学问题: 细胞内控制分化的基因“程序”是如何编写的? 编好分化“程序”的基因调控网络又是如何运行的? 第 1 个问题的关键是要回答, 在细胞进入增殖活动停滞的接触抑制期时, 决定启动脂肪细胞分化的信息是如何形成的, 这些信息又是如何去调控各种染色质表观遗传修饰因子的活动, 从而在 3T3-L1 前脂肪细胞内编制好接受激素诱导的基因调控网络. 第 2 个问题的重点则是要揭示脂肪细胞分化的基因调控网络的结构与性质, 尤其是在整个诱导分化过程中基因调控网络的演变和动力学性质; 争取刻画出细胞在漫长的分化过程中是如何逐步调整其多种多样的基因活动而最终变成功能专一的特定基因活动. 要想完整而系统地回答这 2 个问题, 研究者应该采用系统生物学的方法, 把对个别生物分子的研究与全局生物分子网络活动的研究相整合, 把实验研究和理论研究相整合.

参考文献

- 1 Zhu L, Skoultsch A I. Coordinating cell proliferation and differentiation. *Cur Opin Genet Dev*, 2001, 10: 91–97
- 2 Buttitta L A, Edgar B A. Mechanisms controlling cell cycle exit upon terminal differentiation. *Cur Opin Cell Biol*, 2007, 19: 697–704
- 3 Green H, Kehinde O. Sublines of mouse 3T3 cells that accumulate lipid. *Cell*, 1974, 1: 113–116
- 4 MacDougald O A, Lane M D. Transcriptional regulation of gene expression during adipocyte differentiation. *Annu Rev Biochem*, 1995, 64: 345–373
- 5 Gregoire F M, Smas C M, Sul H S. Understanding adipocyte differentiation. *Physiol Rev*, 1998, 78: 783–809
- 6 Scott R E, Hoerl B J, Wille J J Jr, et al. Coupling of proadipocyte growth arrest and differentiation II. A cell cycle model for the physiological control of cell proliferation. *J Cell Biol*, 1982, 94: 400–405
- 7 Pairault J, Green H. A study of the adipose conversion of suspended 3T3 cells by using glycerophosphate dehydrogenase as differentiation marker. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979, 76: 5138–5142
- 8 Guo W, Zhang J M, Tu K, et al. Adipogenesis licensing and execution are disparately linked to cell proliferation. *Cell Res*, 2009, 19: 216–223
- 9 Musri M M, Gomis R, Párrizas M A. chromatin perspective of adipogenesis. *Organogenesis*, 2010, 6: 15–23
- 10 Qiu Z, Wei Y, Chen N, et al. DNA synthesis and mitotic clonal expansion is not a required step for 3T3-L1 preadipocytes differentiation into adipocytes. *J Biol Chem*, 2001, 276: 11988–11995
- 11 Musri M M, Corominola H, Casamitjana R, et al. Histone H3 lysine 4 dimethylation signals the transcriptional competence of the adiponectin promoter in preadipocytes. *J Biol Chem*, 2006, 281: 17180–17188
- 12 Yoo E J, Chung J J, Choe S S, et al. Down-regulation of histone deacetylases stimulates adipocyte differentiation. *J Biol Chem*, 2006, 281: 6608–6615
- 13 Pieper R O, Lester K A, Fanton C P. Confluence-induced alterations in CpG island methylation in cultured normal human fibroblasts. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27: 3229–3235
- 14 Fajas L, Egler V, Reiter R, et al. The retinoblastoma-histone deacetylase 3 complex inhibits PPAR γ and adipocyte differentiation. *Dev Cell*, 2002, 3: 903–910
- 15 Fu M, Rao M, Bouras T, et al. Cyclin D1 inhibits PPAR γ -mediated adipogenesis through histone deacetylase recruitment. *J Biol Chem*, 2005, 280: 16934–16941
- 16 Fagotto F, Gumbiner B M. Cell contact-dependent signaling. *Dev Biol*, 1996, 180: 445–454

- 17 Batt D B, Roberts T M. Cell density modulates protein-tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem*, 1998, 273: 3408–3414
- 18 Sorby M, Ostman A. Protein-tyrosine phosphatase-mediated decrease of epidermal growth factor and platelet-derived growth factor receptor tyrosine phosphorylation in high cell density cultures. *J Biol Chem*, 1996, 271: 10963–10966
- 19 Zhao B, Wei X, Li W. Inactivation of YAP oncoprotein by the Hippo pathway is involved in cell contact inhibition and tissue growth control. *Genes Dev*, 2007, 21: 2747–2761
- 20 Rosen E D, MacDougald O A. Adipocyte differentiation from the inside out. *Nature Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7: 885–896
- 21 McKnight S L. On getting there from here. *Science*, 2010, 330: 1338–1339
- 22 Hong C, Tontonoz P. Coordination of inflammation and metabolism by PPAR and LXR nuclear receptors. *Cur Opin Genet Dev*, 2008, 18: 461–467
- 23 DeBerardinis R J, Lum J J, Hatzivassiliou G, et al. The biology of cancer: Metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation. *Cell Metab*, 2008, 7: 11–20
- 24 Teperino R, Schoonjans K, Auwerx J. Histone methyl transferases and demethylases: Can they link metabolism and transcription? *Cell Metab*, 2010, 12: 321–327
- 25 Wellen K E, Hatzivassiliou G, Sachdeva U M. ATP-citrate lyase links cellular metabolism to histone acetylation. *Science*, 2009, 324: 1076–1080
- 26 Müller G. Take-over: Multiple mechanisms of inter-adipocyte communication. *J Mol Cell Biol*, 2011, 3: 81–90
- 27 Dali-Youcef N, Matakis C, Coste A, et al. Adipose tissue-specific inactivation of the retinoblastoma protein protects against diabetes because of increased energy expenditure. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 10703–10708
- 28 Pani G, Colavitti R, Bedogni B, et al. A redox signaling mechanism for density-dependent inhibition of cell growth. *J Biol Chem*, 2000, 275: 38891–38899
- 29 Pessler-Cohen D, Pekala P H, Kovan J, et al. GLUT4 repression in response to oxidative stress is associated with reciprocal alterations in C/EBP alpha and delta isoforms in 3T3-L1 adipocytes. *Arch Physiol Biochem*, 2006, 112: 3–12
- 30 Chiarugi P. The redox regulation of LMW-PTP during cell proliferation or growth inhibition. *IUBMB Life*, 2001, 52: 55–59
- 31 Xu J, Liao K. Protein kinase B/AKT 1 plays a pivotal role in insulin-like growth factor-1 receptor signaling induced 3T3-L1 adipocyte differentiation. *J Biol Chem*, 2004, 279: 35914–35922
- 32 Tomlinson J J, Boudreau A, Wu D, et al. Modulation of early human preadipocyte differentiation by glucocorticoids. *Endocrinology*, 2006, 147: 5284–5293
- 33 Gummersbach C, Hemmrich K, Kroncke K D, et al. New aspects of adipogenesis: Radicals and oxidative stress. *Differentiation*, 2009, 77: 115–120
- 34 Deng J, Hua K, Lesser S S, et al. Activation of signal transducer and activator of transcription-3 during proliferative phases of 3T3-L1. *Adipogenesis Endocri*, 2000, 141: 2370–2376
- 35 Hwang C S, Loftus T M, Mandrup S, et al. Adipocyte differentiation and leptin expression. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 1997, 13: 231–259
- 36 White U A, Stephens J M. Transcriptional factors that promote formation of white adipose tissue. *Mol Cell Endocri*, 2010, 318: 10–14
- 37 Musri M M, Gomis R, Párrizas M. Chromatin and chromatin-modifying proteins in adipogenesis. *Biochem Cell Biol*, 2007, 85: 397–410
- 38 Wang Q, Li Y C, Wang J, et al. miR-17-92 cluster accelerates adipocyte differentiation by negatively regulating tumor-suppressor Rb2/p130. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 2889–2894
- 39 Lee E K, Lee M J, Abdelmohsen K, et al. miR-130 suppresses adipogenesis by inhibiting peroxisome proliferator-activated receptor {gamma} expression. *Mol Cell Biol*, 2011, 31: 626–638
- 40 Louet J F, O'Malley B W. Coregulators in adipogenesis: What could we learn from the SRC (p160) coactivator family? *Cell Cycle*, 2007, 6: 2448–2452
- 41 Tang Q Q, Otto T C, Lane M D. Mitotic clonal expansion: A synchronous process required for adipogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 44–49
- 42 Zhang K M, Guo W, Yang Y, et al. JAK2/STAT3 pathway is involved in the early stage of adipogenesis through regulating C/EBPβ transcription. *J Cell Biochem*, 2011, 112: 488–497
- 43 Pei H J, Yao Y, Yang Y, et al. Krüppel-like factor KLF9 regulates PPARγ transactivation at the middle stage of adipogenesis. *Cell Death Differ*, 2011, 18: 315–327
- 44 Birsoy K, Chen Z, Friedman J. Transcriptional regulation of adipogenesis by KLF4. *Cell Metab*, 2008, 7: 339–347
- 45 Oishi Y, Manabe I, Tobe K, et al. Kruppel-like transcription factor KLF5 is a key regulator of adipocyte differentiation. *Cell Metab*, 2005, 1: 27–39
- 46 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 Biol Chem*, 2003, 278: 2581–2584

- 47 Sue N, Jack B H, Eaton S A, et al. Targeted disruption of the basic Kruppel-like factor gene (Klf3) reveals a role in adipogenesis. *Mol Cell Biol*, 2008, 28: 3967–3978
- 48 Mori T, Sakaue H, Iguchi H, et al. Role of Kruppel-like factor 15 (KLF15) in transcriptional regulation of adipogenesis. *J Biol Chem*, 2005, 280: 12867–12875
- 49 Tontonoz P, Hu E, Spiegelman B M. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell*, 1994, 79: 1147–1156
- 50 Rosen E D, Spiegelman B M. Molecular regulation of adipogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2000, 16: 145–171
- 51 Li F T, Long T, Lu Y, et al. The yeast cell-cycle network is robustly designed. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 4781–4786
-

Adipogenesis: One process with two stages

WU JiaRui^{1,2}

¹*Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China;*

²*Hefei National Laboratory for Physical Sciences at Microscale and School of Life Sciences, University of Science & Technology of China, Hefei 230027, China*

Cell differentiation is a basic process for development of multi-cellular organisms or functions of stem cells. By analyzing 3T3-L1 cell line, which is widely used as an *in vitro* model of adipocyte differentiation, it has been shown that the establishment of adipocyte differentiation of 3T3-L1 cells requires two stages: a licensing stage that depends on a particular cell-cycle stage, i.e. contact-inhibition stage, and then an execution stage that is independent on cell cycle stages. In the licensing stage, the activities of epigenetic factors are regulated by cellular metabolic states, cell-cycle regulators and cell signaling, and then result in particular epigenetic modifications to make an adipogenesis gene-expression program. During the execution stage, which is initiated by the induction of hormone cocktail, various transcription factors are dynamically expressed under the control of gene regulating network, and then result in adipocyte differentiation.

adipogenesis, cell cycle, 3T3-L1, gene regulation, epigenetic modification

doi: 10.1360/972011-630