

可变剪接事件在脂肪细胞分化中的影响^①

肖 荣 郭 彦 李成萍 张海燕 辛友志 周国利

(聊城大学 生命科学学院, 山东 聊城 252059)

摘 要 随着高通量测序技术的出现,人们发现可变剪接是一个普遍存在的调控基因表达的机制.人类超过 90%的基因至少经历了一次可变剪接事件.可变剪接是控制基因表达以及扩大蛋白质多样性的有效机制,能够影响组织生长和细胞命运.此外,最近的研究表明可变剪接在脂肪细胞分化、心肌肥大、信号转导途径调控以及肿瘤发生中发挥作用,本综述重点阐述可变剪接及其在脂肪形成中的影响.

关键词 可变剪接;脂肪形成;剪接因子;转录组分析

中图分类号 Q786

文献标识码 A

0 引言

可变剪接(alternative splicing, AS)是导致真核细胞遗传多样性的机制之一,AS 是基因表达过程中的调控机制,其结果是一个基因产生多种蛋白质.在人类中约 90%的基因通过 AS 途径产生多种转录本^[1]. AS 转录本的时空表达谱有助于细胞分化、特化和器官形成^[2].通过剪接因子和相应转录组中顺式作用元件之间的相互作用能够精确操纵组织和阶段特异性剪接事件.然而有关 AS 的详细机制仍然未知,需要进一步的研究.

脂肪组织在调节能量平衡中起关键作用,除了储存油脂,脂肪组织还能通过释放一系列的脂肪因子调节许多生理代谢过程.在哺乳动物中存在两种脂肪组织:白色脂肪组织(white adipose tissues, WATs)和棕色脂肪组织(brown adipose tissues, BATs).WATs 储存的脂肪用于在饥饿时释放游离脂肪酸,其质量增加将导致肥胖.BATs 通过产热维持身体的温度^[3].因此可通过以 WATs 和 BATs 为研究对象,探讨治疗和减轻肥胖的途径.能量稳态失调已经导致全球肥胖发生率的大幅度增加,而肥胖能导致许多代谢疾病的发生. AS 转录本编码的变异体在脂肪细胞中发挥不同甚至相反的作用.在这篇综述中,我们将重点综述有关剪接因子如何通过调节 AS 来影响脂肪分化的研究进展.

1 可变剪接概述

在真核细胞中,mRNA 前体的剪接是基因表达转录后调控中的关键步骤,由剪接体完成.剪接体主要由五个小核 RNA 和 150 个以上的相关蛋白构成.在剪接过程中,剪接体识别 5' 或 3' 剪接位点的活性受反式作用因子和内含子及外显子区域的顺式作用元件之间相互作用的影响^[4].这些顺式作用元件根据其在 AS 事件中的作用可以进一步分为外显子拼接增强子、内含子拼接增强子、外显子拼接沉默子和内含子拼接沉默子.反式作用因子直接与顺式作用元件相互作用促进或抑制剪接体的组装.富含丝氨酸/精氨酸(serine/arginine-rich, SR)蛋白质和不均核一糖核蛋白(heterogeneous nuclear ribonucleoproteins,

① 收稿日期:2018-01-20

基金项目:国家自然科学基金项目(31571274);山东省自然科学基金项目(ZR2015CM025)资助

通讯作者:周国利,男,汉族,博士,教授,研究方向:动物遗传学,E-mail:glzhou1975@163.com.

hnRNPs)是两种主要的反式作用因子.研究表明 SR 蛋白主要促进 AS 外显子的使用,而 hnRNP 蛋白作为剪接抑制因子与外显子模体结合^[5].

2 脂肪细胞分化的概述

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)主要通过两个步骤产生脂肪细胞系:早期定向阶段和最终分化阶段.早期定向期间,间充质干细胞分化为前脂肪细胞,经过增殖、生长抑制后,在终末分化阶段分化为高度分化的脂肪细胞.该脂肪细胞的功能为脂类合成、转运、能量消耗以及生产调节能量平衡的脂肪因子^[6].研究表明脂肪形成受许多调控因子的影响,其中 CCAAT/增强子结合蛋白家族(CCAAT/enhancer-binding protein family, C/EBPs)、骨形成蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)、过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferators-activated receptors, PPARs)及其互作蛋白在脂肪细胞的分化方向和终末分化阶段起关键作用^[7-9].然而,白色脂肪细胞和棕色脂肪细胞来源于不同的间充质干细胞系,并显示出独特的生长相关性转录因子表达谱.因此明确参与到脂肪细胞定向和成熟阶段中的分子机制,将对制定对抗肥胖、代谢综合征、胰岛素异常或缺乏所致糖尿病和相关疾病的策略提供理论指导.

2.1 白色脂肪

WATs 具有代谢和内分泌二种功能.能够作为储存库将过多的能量以甘油三酯的形式储存起来.此外,大脑、肝脏、胰腺的 WATs 通过分泌可溶性激素影响能量代谢. WATs 主要由包含单房性脂肪滴和少量线粒体的白色脂肪细胞组成.有关白色脂肪细胞分化的转录信号转导已经被广泛研究,C/EBP 家族成员、PPAR γ 和 CREB(cAMP-response element binding protein)是白色脂肪细胞特异性转录级联中的关键因子.在成熟期的早期阶段,C/EBP β 和 C/EBP δ 蛋白的上调能够增强 PPAR γ 和 C/EBP α 的表达,随后 PPAR γ 与 C/EBP α 、C/EBP β 构成反馈回路进一步促进白色脂肪细胞的终端分化.研究表明缺乏 C/EBP β 和 C/EBP δ 的小鼠胚胎成纤维细胞不能诱导 PPAR γ 和 C/EBP α 的表达,因此不能分化成脂肪细胞^[10].

2.2 棕色脂肪

在啮齿动物和婴儿中,棕色脂肪细胞主要功能是通过非震颤产热的方式产生热量.除了储存的油脂,棕色脂肪细胞由多房性脂肪滴和大量的线粒体构成.棕色脂肪细胞来源于生长发育期的 Myf5⁺ 祖细胞,随后转移到肩胛间的棕色脂肪组织中^[11].BMP 家族成员有助于不同脂肪细胞的生长,BMP2 和 BMP4 对于白色脂肪组织的定向和成熟阶段是至关重要的,而 BMP7 能够引发来自定向和非定向前体的棕色脂肪细胞的生长.此外 BMP7 激活棕色脂肪细胞形成的完整程序,包括诱导早期调节因子 PRDM16(PR domain-containing 16)表达,增强脂肪转录因子 PPAR γ 和 C/EBPs 的表达,并且促进 p38 促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)途径的活化,该途径对于棕色脂肪组织中线粒体生物合成是至关重要的^[12].

3 可变剪接事件在脂肪形成中的影响

3.1 脂肪生成相关剪接因子

3.1.1 Src 有丝分裂相关蛋白(Src-associated during mitosis, 68 kDa, Sam68). Sam68 属于 RNA 结合蛋白的核内不均一性核糖核蛋白 K 同源结构域家族.研究表明 Sam68 通过识别 AS 外显子邻近的 U(U/A)AA 序列来调节 AS^[13]. Sam68 在脂质消耗中发挥关键作用, Sam68^{-/-} 小鼠表现出能量消耗增加、早期脂肪祖细胞数量减少、脂肪细胞分化不完全以及对饮食诱导肥胖的抗性.利用从 Sam68^{-/-} 和野生型(WT)白色脂肪组织中提取出的 RNA 进行全基因组外显子表达谱分析,已确定雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)为 Sam68 在白色脂肪细胞中相关剪接事件的调控蛋白,缺乏 Sam68 使 mTOR 的内含子 5 保留,产生非编码 mRNA 异构体,从而降低了 mTOR 蛋白质含量,导致核糖体蛋白 S6 和 ARt 磷酸化作用降低,消除了 mTOR 介导的信号转导在白色脂肪组织生长中的作用^[14].此外,最近研究表明 Sam68 能调节核糖体 S6 激酶的剪接图谱,影响 mTOR 信号转导. Sam68^{-/-} 的脂肪细胞表达 S6Kb1-002 转录本,并编码 S6K1-p31 蛋白质. Sam68 和富含丝氨酸/精氨酸剪接因子 1(Serine/Arginine-

Rich Splicing Factor 1, SRSF1) 构成的调控机制影响 S6K1-p31 变异体的表达, RNAi 介导的 S6K1-p31 蛋白质沉默能部分恢复 *Sam68*^{-/-} 前脂肪细胞的分化; 与此一致, 在 NIH3T3-L1 细胞中, S6K1-p31 的过表达使脂肪分化不完全, 表明 S6K1-p31 在脂肪形成中起抑制作用, 脂肪的形成需要 Sam68 来阻止 S6K1-p31 的表达^[15]. Sam68 在 mTOR 信号转导中的作用和 *Sam68*^{-/-} 白色脂肪组织中的 AS 谱表明, Sam68 可能是白色脂肪组织相关剪接事件的一种关键调节因子, 这对于白色脂肪组织的生长是必不可少的.

3.1.2 富含丝氨酸/精氨酸剪接因子 10 (Serine/Arginine-Rich Splicing Factor 10, SRSF10). SRSF10 是一种非经典的 SR 蛋白质, 其功能是作为序列特异性剪接因子与外显子剪接增强子结合. *SRSF10*^{-/-} 导致心脏畸形, 并产生胚致死表型, 这表明 SRSF10 在心脏组织特异性剪接事件中具有潜在的作用^[16]. 除了心脏, 与野生型小鼠相比, *SRSF10*^{-/-} 小鼠表现出腋窝皮下白色脂肪组织发育受阻^[17]. 利用从 *SRSF10*^{-/-} 和野生型 MET 细胞中提取出的 RNA 进行转录组分析的结果进一步验证了 16 个 SRSF10 调控的剪接事件, 许多 SRSF10 调控的候选基因, 包括 *ACLY*^[18], *Axin1*^[19], *UPF1* 及 *Lipin1*^[20] 都与脂肪生成相关. 在这些候选基因中, *Lipin1* 的 AS 转录本编码的两种异构体在白色脂肪细胞的生成中发挥不同的作用, SRSF10 直接与 *Lipin1* 外显子 8 结合诱导形成的 *Lipin*^{-exon7} 转录本, 其对于前脂肪细胞的早期分化是必需的. 然而, *Lipin*^{+exon7} 转录本有助于成熟白色脂肪组织的脂质积累^[17]. 在体外, 缺乏 SRSF10 造成严重的脂肪生成缺陷和白色脂肪组织发育受阻, 表明 SRSF10 在白色脂肪生成的分化和成熟阶段发挥关键作用.

3.1.3 脂肪与肥胖相关蛋白 (Fat Mass and Obesity-Associated Protein, FTO). FTO 是第一个明确的人类非综合征性肥胖相关基因. 其在胚胎组织、成年人大脑、脂肪组织及肌肉组织中高度表达. FTO 过表达或敲除的小鼠表现出不正常的脂肪组织和体重, 表明其在脂肪生成和能量代谢中的潜在作用. 体外的研究表明 FTO 特异性调节 RNA N6-甲基腺苷 (m6A) 的去甲基化作用, 这对于转录后调控包括 RNA 剪接是必不可少的. 此外, FTO 通过调节剪接位点 m6A 的含量控制脂肪调节因子 *RUNX1T1* 的外显子剪接, 从而影响脂肪分化. *RUNX1T1* 表达包含外显子 6 (*RUNX1T1*^{+exon6}) 和缺失外显子 6 (*RUNX1T1*^{-exon6}) 的两种转录本. 在脂肪细胞分化的过程中, *RUNX1T1*^{-exon6} 的表达呈现逐渐下降的趋势. 同时, 油红 O 染色实验表明, *RUNX1T1*^{+exon6} 的过表达抑制脂肪形成, 其表达量在分化的脂肪细胞中上调. 此外, *RUNX1T1*^{-exon6} 可能有助于脂肪分化^[21]. 总之, 作为一种新的 RNA 剪接调控机制, FTO 调节 m6A 的去甲基化导致其在脂肪形成中发挥关键作用.

3.1.4 锌指蛋白 638 (Zinc Finger Protein 638, ZNF638). 在真核生物中, 锌指蛋白构成了转录调控因子的最大家族. ZNF638 是一种包含富含精氨酸/丝氨酸结构域、RNA 识别结构域和两个锌指模体的多结构域蛋白质. 作为脂肪形成调控因子, ZNF638 产生于脂肪细胞分化早期, 有助于脂肪形成. 因此敲除 ZNF638 可抑制脂肪细胞分化, 并降低脂肪特异基因的表达. ZNF638 与 C/EBP 蛋白质相互作用构成的反馈途径有助于 *PPAR γ* 的表达^[22], 免疫染色实验证明, ZNF638 和剪接因子共定位于核体中. 结构功能分析表明富含精氨酸/丝氨酸结构域和 C 末端锌指模体对于 ZNF638 的核定位、脂肪细胞分化、调节 *Lipin1* 的含量是必须的^[23]. 因此, 核定位和功能结构域分析表明 ZNF638 蛋白是脂肪形成时期转录后调控中的关键因子.

3.1.5 RNA 结合模体蛋白 4a (RNA-Binding Motif Protein 4a, RBM4a). RBM4a 是一种参与剪接调节和翻译调控的多功能 RNA 结合蛋白. 据报道, RBM4a 重新编码调节肌肉和 β 胰岛生长发育的组织特异性剪接网络. *RBM4a*^{-/-} 小鼠表现出高血糖、底胰岛素血症、高血脂及肩胛间棕色脂肪组织量减少等代谢表型. 在分化的前脂肪细胞和 C3H10T1/2 细胞中能够观察到 RBM4a 蛋白在棕色脂肪组织生长发育期间逐渐增加, 并重新编码参与脂肪形成不同阶段基因的剪接谱, 例如 *IR*、*PPAR γ* 和 *pref-1*. 其中, *pref-1C* 和 *pref-1D* 转录本编码溶膜异构体, 而 *pref-1A* 和 *pref-1B* 转录本的功能是作为生脂抑制因子抑制脂肪形成, RBM4a 通过提高 *pref-1C* 和 *pref-1D* 转录本的相对含量来缓解 *pref-1* 对脂肪生成的抑制作用^[24]. RBM4a 促进胰岛素受体 B 转录本的表达, 该转录本主要在分化的棕色脂肪细胞中调节棕色脂肪细胞相关信号转导途径. 此外, RBM4a 上调与参与棕色脂肪细胞相关转录网的 *PPAR γ 2* 转录本、PRDM16 和 BMP7 的增加高度相关. 而 RBM4a 诱导 *PPAR γ 2* 转录本表达的潜在机制有待进一步研究. *FGFR2* 和

PKM 有助于棕色脂肪细胞的生长和发育. 最近的研究进一步证明了 RBM4a 在重新编码 *FGFR2* 和 *PKM* 基因剪接谱中的调控活性. 这些结果充分证明了 RBM4a 在棕色脂肪细胞生长和功能中的广泛影响.

3.2 与脂肪细胞相关的可变剪接事件

3.2.1 核受体共抑制因子 1(Nuclear Receptor Co-Repressor 1, NCoR). AS 参与调节许多转录因子或辅因子的转录可塑性, 从而产生高等真核生物功能多样性. NCoR 和 SMRT(silencing mediator for retinoid and thyroid hormone receptors)能与许多转录因子相互作用形成共抑制因子, 参与脂质和葡萄糖代谢的转录调节. 研究证明 NCoR 和 SMRT 通过 AS 产生许多不同功能的变异体, 其功能差异在于它们的受体相互作用结构域. 激素相关性核受体能够瞄准调控基因并通过结合到不同的受体相互作用结构域来招募 NCoR 或 SMRT 共抑制因子. 例如甲状腺激素受体、视黄酸受体、PPARs、肝脏 X 受体和雌激素受体^[25].

NCoR 通过 AS 产生多种变异体, 不同的剪接变异体在脂肪形成中发挥不同甚至相反的影响. NCoR^{+exon 37b} 转录本编码包含三个受体相互作用结构域的 NCoR ω 变异体, 以抑制脂肪形成. 其主要分布在大脑、睾丸和白色脂肪细胞的祖细胞中; 相反, 去除 NCoR 外显子 37b 产生的 NCoR δ 异构体促进白色脂肪形成. 例如脂质积累. 其主要在心脏、脾脏、肺、骨骼肌以及白色脂肪组织中表达. 并且在分化的脂肪细胞中能够观察到 NCoR ω 与 NCoR δ 之间的转换^[25].

3.2.2 蛋白激酶 C δ (Protein Kinase C δ , PKC δ). PKC δ 是一种丝氨酸-苏氨酸激酶, 属于重要的细胞凋亡调控因子. 许多凋亡相关基因, 包括 *MCL-1* 和 *PKC δ* 编码的 AS 变异体发挥相反的作用. PKC δ 的剪接变异体(PKC δ I 和 PKC δ II)决定细胞的生存与命运. PKC δ I 促进细胞凋亡, 而 PKC δ II 能够增强细胞活性. 因此 PKC δ 具有双向作用: 作为细胞凋亡中介体和作为抗细胞凋亡因子. 转化因子 2 β 的过表达促进 PKC δ 对外显子 9 的 5'端剪接位点的利用, 增加了 PKC δ I 转录本的相对含量^[26]. 而 PKC δ 针对外显子 9 可变下游 5'剪接位点的作用能够产生 PKC δ II 转录本. 由于在半胱天冬酶-3 识别位点中插入了 78 个碱基对(26 个氨基酸), 该转录本能抵抗半胱天冬酶-3 的剪切. 与成熟脂肪细胞相比, 前脂肪细胞更易受细胞凋亡的影响. 在 NIH3T3-L1 分化期间, PKC δ I 主要在脂肪形成的早期阶段表达, 随后逐渐降低. 而 PKC δ II 表达量逐渐上升, 并形成促使成熟脂肪细胞抵抗凋亡的机制^[27]. PKC δ 异构体的不同功能表明 AS 事件在脂肪生成的分化和终止方面发挥广泛影响.

3.2.3 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ , PPAR γ). PPAR γ 属于激素配体依赖性核受体家族, 其直接调节许多与葡萄糖、脂质、胆固醇代谢、细胞增殖以及组织生长有关基因的表达, 控制在脂肪细胞功能中发挥关键作用的效应蛋白的表达, 例如脂肪酸结合蛋白 4 (fatty acid binding protein4, FABP4/ap4)、脂蛋白脂肪酶以及脂肪细胞因子^[10]. 因此 PPAR γ 缺陷将导致许多代谢综合征的病理症状, 包括胰岛素抗性、肥胖、血脂异常高血压、心血管疾病和癌症. PPAR γ 在调节脂肪生成早期阶段的转录事件中起关键作用, 对于实现成熟脂肪细胞的功能也是必不可少的, 包含脂类代谢、脂肪因子分泌以及胰岛素敏感性^[28]. 人类 PPAR γ 基因包含九个外显子, 利用不同的启动子和 AS 机制产生四种转录本(PPAR γ 1, PPAR γ 2, PPAR γ 3 和 PPAR γ 4), 这些转录本由不同的 5'非翻译区(5'UTR)和六个编码外显子组成, 编码两种变异体, 其中 PPAR γ 1, PPAR γ 3 和 PPAR γ 4 编码的 PPAR γ 1 异构体在肝脏、心脏、骨骼肌和白色脂肪组织中广泛表达. 而 PPAR γ 2 转录本编码 PPAR γ 2 异构体在 N 末端包含 28 个额外的氨基酸, 主要存在于脂肪组织中^[29]. 在体外的功能试验表明不管是 PPAR γ 1 还是 PPAR γ 2 对于脂肪生成都是必须的, PPAR γ 2 在棕色脂肪生成中是一种更有效的转录激活因子.

3.2.4 PPAR γ 共激活因子 1 α (PPAR γ Coactivator 1 α , PGC-1 α). PGC-1 α 是一种棕色脂肪产热中 PPAR γ 的转录共激活因子, 调控细胞能量代谢和面对冷刺激和饥饿时的适应性产热, 因此 PGC-1 α 的表达和生理活性受环境和营养状况调节. PGC-1 α 通过外显子 6 与外显子 7 之间的 AS 产生编码 PGC-1 α N 末端异构体的转录本(NT-PGC-1 α), 保留了 PGC-1 α 转录活性和核受体相互作用结构域. 因此 NT-PGC-1 α 是一种有功能的转录共激活因子^[30]. 最近在鼠科表达序列标签数据库中发现了两种新的 PGC-1 α 转录本(PGC-1 α -b 和 PGC-1 α -c), 其在棕色脂肪细胞和骨骼肌细胞中的表达同样受冷刺激诱导. PGC-1 α -b 和

PGC-1 α -c 通过在不同的 5' 剪接位点剪接外显子 1b 到外显子 2 产生不同的 mRNA. 与来源于保守的外显子 1a 的 PGC-1 α -a 相比, N 末端分别减少了 4 和 13 个氨基酸. 这些变异体均保留了与全长 PGC-1 α 相似的转录活性和细胞定位, 然而在棕色脂肪细胞中, 低温诱导 PGC-1 α -b 和 PGC-1-c 的增加程度要高于 PGC-1 α -a^[31].

3.2.5 线粒体氧桥二羧酸载体 (Mitochondrial Oxodicarboxylate Carrier, ODC). 研究发现 ODC 通过逆流交换机制在细胞内转运氧代己二酸和氧化戊二酸. 小鼠 ODC 通过使用不同的 5' UTR 和第一个外显子产生两种转录本 (ODC 和 ODC-AS), ODC-AS 与 ODC 不同之处在于 ODC-AS 在 N 末端用 29 个氨基酸替代了 ODC 的 22 个氨基酸. ODC 在大多数组织中均表达, 而 ODC-AS 只存在于脂肪组织、虹膜及巩膜脉-络膜复合体中. 通过 RNA 干扰下调 ODC-AS 表达导致脂质积累显著下降, 同时生脂标志 CEBP α 、PPAR γ 、aP2 也降低. 虽然 ODC-AS 和 ODC 都在白色脂肪组织和棕色脂肪组织中表达, 但在棕色脂肪组织中, 低温只降低了 ODC-AS 的表达. 这进一步表明 ODC-AS 在脂质代谢平衡中发挥潜在作用^[32].

4 结语

能量代谢失调导致脂质在白色脂肪组织中积累, 从而造成肥胖; 相反, 棕色脂肪组织较高的代谢活性表明它在对抗肥胖和代谢疾病中的潜在作用. 因此深入阐明脂肪形成的机制是控制肥胖的关键. 本综述总结了 AS 事件及其在白色或棕色脂肪细胞生长中的潜在作用. 这些发现表明 AS 事件贯穿转录和转录后调控的网络. 然而, 大部分与脂肪形成相关的 AS 事件的潜在机制还未阐明. 随着高通量测序技术的发展, 比如 RNA 测序, 我们将获得新的有关 AS 事件及其对白色或棕色脂肪细胞的调控机制. 此外, 通过高通量测序技术确定调节脂肪特异性剪接事件的剪接因子将有助于理解脂肪形成的详细机制, 并开发对抗肥胖和治疗代谢疾病的新技术.

参 考 文 献

- [1] Nilsen T W, Graveley B R. Expansion of the eukaryotic proteome by alternative splicing[J]. Nature, 2010, 463(7 280): 457-463.
- [2] Quesnel-Vallières M, Irimia M, Cordes S P, et al. Essential roles for the splicing regulator nSR100/SRRM4 during nervous system development[J]. Genes Dev, 2015, 29(7): 746-759.
- [3] Giordano A, Smorlesi A, Frontini A, et al. White, brown and pink adipocytes; The extraordinary plasticity of the adipose organ[J]. Eur J Endocrinol, 2014, 170(5): R159-R171.
- [4] Papsaikas P, Tejedor J R, Vigevani L, et al. Functional splicing network reveals extensive regulatory potential of the core spliceosomal machinery[J]. Mol Cell, 2015, 57(1): 7-22.
- [5] Erkelens S, Mueller W F, Evans M S, et al. Position-dependent splicing activation and repression by SR and hnRNP proteins rely on common mechanisms[J]. RNA, 2013, 19(1): 96-102.
- [6] Bowers R R, Lane M D. A role for bone morphogenetic protein-4 in adipocyte development[J]. Cell Cycle, 2007, 6(4): 385-389.
- [7] Guo L, Li X, Tang Q Q. Transcriptional regulation of adipocyte differentiation: A central role for CCAAT/enhancer-binding protein (C/EBP) β [J]. J Biol Chem, 2015, 290(2): 755-761.
- [8] Nam D, Guo B, Chatterjee S, et al. The adipocyte clock controls brown adipogenesis through the TGF- β and BMP signaling pathways[J]. J Cell Sci, 2015, 128(9): 1835-1847.
- [9] Luo H, Zhou Y, Hu X, et al. Activation of PPAR γ 2 by PPAR γ 1 through a functional PPRE in transdifferentiation of myoblasts to adipocytes induced by EPA[J]. Cell Cycle, 2015, 14(12): 1830-1841.
- [10] Takahashi A, Morita M, Yokoyama K, et al. Tob2 inhibits peroxisome proliferator-activated receptor γ 2 expression by sequestering Smads and C/EBP α during adipocyte differentiation[J]. Mol Cell Biol, 2012, 32(24): 5067-5077.
- [11] Hung C M, Calejman C M, Sanchez-Gurmaches J, et al. Rictor/mTORC2 loss in the Myf5 lineage reprograms brown fat metabolism and protects mice against obesity and metabolic disease[J]. Cell Rep, 2014, 8(1): 256-271.
- [12] Tseng Y H, Kokkotou E, Schulz T J, et al. New role of bone morphogenetic protein 7 in brown adipogenesis and energy expenditure[J]. Nature, 2008, 454(7207): 1000-1004.
- [13] Itoh M, Haga I, Li Q H, et al. Identification of cellular mRNA targets for RNA-binding protein Sam68[J]. Nucleic Acids Res, 2002, 30(24): 5452-5464.
- [14] Huot M É, Vogel G, Zabaraukas A, et al. The Sam68 STAR RNA-binding protein regulates mTOR alternative splicing during adipogenesis[J]. J Biol Chem, 2014, 289(12): 8150-8160.

- genesis[J]. *Mol Cell*, 2012, 46(2): 187-199.
- [15] Song J, Richard S. Sam68 Regulates S6K1 Alternative Splicing during Adipogenesis[J]. *Mol Cell Biol*, 2015, 35(11): 1926-1939.
- [16] Feng Y, Valley M T, Lazar J, et al. SRp38 regulates alternative splicing and is required for Ca^{2+} handling in the embryonic heart[J]. *Dev Cell*, 2009, 16(4): 528-538.
- [17] Li H, Cheng Y, Wu W, et al. SRSF10 regulates alternative splicing and is required for adipocyte differentiation[J]. *Mol Cell Biol*, 2014, 34(12): 2198-2207.
- [18] Gauger K J, Bassa L M, Henchey E M, et al. Mice deficient in Sfrp1 exhibit increased adiposity, dysregulated glucose metabolism, and enhanced macrophage infiltration[J]. *PLoS one*, 2013, 8(12): e78320.
- [19] Ross S E, Hemati N, Longo K A, et al. Inhibition of adipogenesis by Wnt signaling[J]. *Science*, 2000, 289(26): 950-953.
- [20] Koh Y K, Lee M Y, Kim J W, et al. Lipin1 is a key factor for the maturation and maintenance of adipocytes in the regulatory network with CCAAT/enhancer-binding protein α and peroxisome proliferator-activated receptor $\gamma 2$ [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(50): 34896-34906.
- [21] Zhao X, Yang Y, Sun B F, et al. FTO-dependent demethylation of N6-methyladenosine regulates mRNA splicing and is required for adipogenesis[J]. *Cell Res*, 2014, 24(12): 1403-1419.
- [22] Meruvu S, Hugendubler L, Mueller E. Regulation of adipocyte differentiation by the zinc finger protein ZNF638[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(3): 26516-26523.
- [23] Du C, Ma X, Meruvu S, et al. The adipogenic transcriptional cofactor ZNF638 interacts with splicing regulators and influences alternative splicing[J]. *J Lipid Res*, 2014, 55(9): 1886-1896.
- [24] Lin J C, Tarn W Y, Hsieh W K. Emerging role for RNA binding motif protein 4 in the development of brown adipocytes[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1843(4): 769-779.
- [25] Snyder C A, Goodson M L, Schroeder A C, et al. Regulation of corepressor alternative mRNA splicing by hormonal and metabolic signaling[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 413: 228-235.
- [26] Patel R S, Carter G, Cooper D R, et al. Transformer 2 β homolog (Drosophila) (TRA2B) regulates protein kinase C δ I (PKC δ I) splice variant expression during 3T3L1 preadipocyte cell cycle[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(46): 31662-31672.
- [27] Patel R, Apostolatos A, Carter G, et al. Protein kinase C δ (PKC δ) splice variants modulate apoptosis pathway in 3T3L1 cells during adipogenesis: Identification of PKC δ II inhibitor[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(37): 26834-26846.
- [28] Lefterova M I, Zhang Y, Steger D J, et al. PPAR γ and C/EBP factors orchestrate adipocyte biology via adjacent binding on a genome-wide scale[J]. *Genes Dev*, 2008, 22(21): 2941-2952.
- [29] Norazmi M N, Mohamed R, Nurul A A, et al. The modulation of PPAR γ 1 and PPAR γ 2 mRNA expression by ciglitazone in CD3/CD28-activated naive and memory CD4+ T cells[J]. *Clin Dev Immunol*, 2012, 2012: 849195.
- [30] Chang J S, Fernand V, Zhang Y, et al. NT-PGC-1 α protein is sufficient to link β 3-adrenergic receptor activation to transcriptional and physiological components of adaptive thermogenesis[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(12): 9100-9111.
- [31] Wen X, Wu J, Chang J S, et al. Effect of exercise intensity on isoform-specific expressions of NT-PGC-1 α mRNA in mouse skeletal muscle[J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 402175.
- [32] Niimi M, Tao L, Lin S H, et al. Involvement of an alternatively spliced mitochondrial oxodicarboxylate carrier in adipogenesis in 3T3-L1 cells[J]. *J Biomed Sci*, 2009, 16: 92.

Impacts of Alternative Splicing Events on the Differentiation of Adipocytes

XIAO Rong GUO Yan LI Cheng-ping ZHANG Hai-yan XIN You-zhi ZHOU Guo-li

(School of Life Science, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China)

Abstract Alternative splicing was discovered to be a universal phenomenon with the advent of high throughput sequencing. More than 90% of human genes have experienced at least one alternative splicing event. Alternative splicing is an effective mechanism to regulate gene expression and expand protein diversity, which affects the tissue growth and cell fate. Moreover, recent studies have shown that alternative splicing play a significant role in differentiation of adipocytes, cardiac hypertrophy, regulation of signal transduction pathways and tumorigenesis, and this review will focus on the alternative splicing and its impact on adipogenesis.

Key words alternative splicing; adipogenesis; splicing factor; transcriptome analysis