

专家述评

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2013.01.001

Seipin 与先天性全身脂肪营养不良

刘国庆, 崔鑫, 谢元

(北京大学医学部心血管研究所、教育部分子心血管学重点实验室, 北京 100191)

【摘要】人类 Seipin 基因又称 BSCL2, 定位于染色体 11q13, 由 Magre 等在 2001 年通过定位克隆的方法从 9 个先天性全身脂肪营养不良 (congenital generalized lipodystrophy, CGL) 的家系中筛选出来。它编码的内质网固有蛋白 Seipin 在脂肪组织、神经系统中高表达。Seipin 基因的无效突变与 II 型 CGL 密切相关, 该患者缺失几乎全部的脂肪组织是最严重的一类脂肪营养不良。本文综述了 Seipin 基因的结构与分布以及该基因缺陷时引起的 II 型 CGL 的特点和临床表现。并从脂肪细胞分化和脂滴形态两方面探讨了 Seipin 在 II 型 CGL 发病机制中的作用。

【关键词】Seipin (BSCL2); 先天性全身性脂肪营养不良; 脂肪分化; 脂滴形成; 脂滴形态

【中国图书分类号】R363.2⁵

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-07-08

Seipin and congenital generalized lipodystrophy

LIU George, CUI Xin, XIE Yuan

(Peking University Institute of Cardiovascular Sciences, Key Laboratory of Molecular Cardiology Founded by Ministry of Education)

【Abstract】In 2001, a locus for congenital generalized lipodystrophy (CGL) was identified on chromosome 11q13 by positional cloning, and mutations in a novel gene were named Seipin. Human Seipin is an ER-resident protein. Expressions of seipin protein can be detected in adipose tissues and motor neurons. Seipin gene was originally identified as a loss-of-function gene for CGL type II, a condition characterized by severe lipodystrophy of both metabolically active and mechanical adipocytes. This paper reviewed the structure and distribution of Seipin gene as well as the features and clinical manifestations of CGL genetically defective Seipin gene. Meanwhile, it discussed the role of Seipin gene in the pathogenesis of CGL type II from the aspects of morphology and differentiation of lipid droplets.

【Key words】Seipin (BSCL2); congenital generalized lipodystrophy; adipocyte differentiation; adipogenesis; lipid droplet morphology

脂肪营养不良指脂肪代谢的障碍或失调, 引起脂肪组织缺乏的现象。先天性全身脂肪营养不良 (congenital generalized lipodystrophy, CGL or Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy, BSCL) 由 Berardinelli^[1] 和 Seip^[2] 分别发现, 为常染色体隐性遗传病, 有明显家族史。患者脂肪组织的缺失往往伴随着一系列的代谢紊乱, 包括甲状腺性高代谢、高蛋白血症、高脂血症、高胰岛素血症、胰岛素抵抗和非酮症高血糖症^[3]。在临床和生物化学特征的研究基础上, 分子遗传学家们通过基因组筛选定位, 确定了 4 种基因: AGPAT2^[4]、BSCL2^[5] (Seipin)、CAV1^[6-7] 和 PTRF^[8] 的一些突变导致 CGL。但是至今还没有证明这种脂肪缺失导致的代谢紊乱只是由于丧失了脂肪组织的调节功能还是和相关基因的功能有直接关系。无论怎样, CGL 相关基因打开了研究隐藏在脂肪细胞生物学功能中的调节代谢内分泌新的分子机制的窗口。

Seipin 基因发现于 2001 年, 由 Magre 等^[9] 通过定位克隆

的方法从 2 个地区的 9 个 CGL 家系中筛选出来。人类 Seipin 基因编码的蛋白是 2 次跨膜的内质网固有蛋白, 在脂肪组织、神经系统和睾丸高表达^[10]。Seipin 基因的无效突变与 II 型 CGL 相关, 该患者缺失几乎全部代谢活跃的脂肪组织和机械脂肪组织, 脂肪缺失的程度比 I 型 CGL 更加严重^[11]。此外, Seipin 基因的错义突变与多种运动神经元病变相关, 统称为 Seipin 病^[12]。Seipin 的功能主要集中在上述两类疾病病因学的研究。针对脂肪营养不良的发病机制一般认为 Seipin 通过影响转录因子 PPAR γ 活性, 影响脂肪细胞分化^[13-14]。而 Seipin 病的机制则与内质网应激密切相关^[15]。本文将着重阐述 Seipin 在 CGL 发病过程中的作用机制。

1 Seipin 的分布和结构

人类 Seipin 基因定位于染色体 11q13, 有 1.8、2.0、2.4 kb 3 种转录本。Ito 和 Fujisawa^[16] 认为, 1.8 kb 和 2.4 kb 的转录本在多种组织中普遍存在, 而 2.0 kb 转录本仅在大脑和睾丸中

作者介绍:刘国庆, 教授, 长江学者,
研究方向: 心血管研究。

高表达。他们利用特异性抗人 Seipin 蛋白 C 末端的抗体进行免疫组化染色发现 Seipin 在脊髓的运动神经元、大脑皮质神经元、睾丸的精子细胞和垂体前叶中特异表达,与 Seipin 病的病灶分布基本一致。而 Payne 等的研究^[13]显示 Seipin 在棕色脂肪中表达最多、附睾白色脂肪和皮下脂肪中其次,而大脑中的表达只占脂肪组织中的 20%~35%。Chen 和 Yechoor 的研究结果^[14]也支持 Seipin 在脂肪组织中高表达。Payne 等^[13]、Chen 和 Yechoor 的研究^[14]提示 Seipin 突变造成的脂肪营养不良很可能是直接作用于脂肪组织,而非通过影响神经系统间接调控。

早先 Seipin 被认为是由 398 个氨基酸组成的蛋白,Lundin 等^[10]通过体内和体外实验表达全长的 Seipin cDNA,发现最主要的 Seipin 蛋白有 462 个氨基酸。Markov 模型预测显示 Seipin 是 1 个 2 次跨膜蛋白,跨膜结构域分别在 31~53 号和 230~252 号氨基酸残基之间^[9]。细胞实验已经证实,Seipin-EGFP 融合蛋白与内质网特异蛋白 calreticulin 共定位 11~13,并且 Seipin 蛋白的氨基和羧基末端都朝向细胞质侧,是 1 个具有管腔环结构的内质网膜固有蛋白,在环内及 N 端有糖基化位点^[9]。Agarwal 和 Grag^[17]、Ito 和 Suzuki^[18]认为糖基化位点的突变导致 Silver 综合征和运动神经元病变,这是严重内质网应激的表现。

2 Seipin 与 CGL

2.1 遗传性脂肪营养不良的分型

遗传性脂肪营养不良主要分成 2 种亚型:CGL 和家族性部分性脂肪营养不良(familial partial lipodystrophy, FPL)。为了研究 CGL 的分子机制,2 个研究组通过定位克隆的方法发现了 2 个 CGL 相关基因位点,将其分为 2 种亚型。I 型定位于染色体 9q34,与编码 1-酰基甘油-3 磷酸-O 酰基转移酶的基因 AGPAT2,又称 BSCL1 突变有关^[4]。II 型突变基因定位于染色体 11q13,与 Seipin 基因,又称 BSCL2 突变相关^[9]。迄今为止,在 II 型 CGL 患者中已发现超过 20 种 Seipin 基因突变,多数属于无效突变或大片段基因缺失导致的功能缺失。唯一的 1 例已报道的错义突变 A212P,由丙氨酸替代了 212 位的脯氨酸,提示脯氨酸可能对 Seipin 的结构和功能有重要作用^[9]。Seipin 和 AGPAT2 蛋白没有同源性,但 Seipin 基因突变与 AGPAT2 相比,导致更严重的全身脂肪缺失,影响代谢活跃的脂肪组织和机械脂肪组织^[19]。

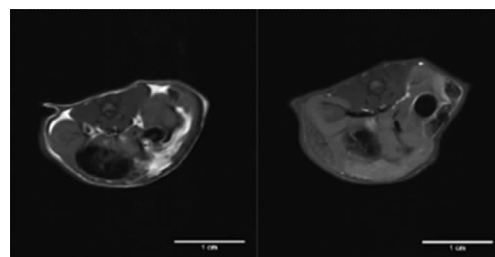
2.2 II 型 CGL 临床表现

CGL 通常在出生时或出生早期发现,表现为全身脂肪缺失和肌肉过多,患儿生长迅速,食欲亢进,稍后出现黑棘皮症。由于脂质在肝脏的沉积,早期出现肝脏增大,后期导致脂肪肝。女性患者可有多毛症、阴蒂增大、闭经和多囊卵巢。由 Seipin 缺陷导致的 II 型 CGL 患者除引起 II 型 CGL 的脂肪缺失外,还比 I 型患者更易发生智力障碍、肥大型心脏病和早产儿死亡^[10]。代谢方面,CGL 患者血液中的甘油三酯水平升

高,在肌肉和肝脏中出现脂质沉积,通常有胰岛素抵抗和糖尿病,与肥胖患者症状相似^[20]。Haque 和 Shimomura^[21]还发现,患者的典型表现还包括血浆瘦素和脂联素水平降低。Seipin 缺陷患者的不同症状表现也提示了其可在不同组织或条件下具有多种不同功能^[22]。

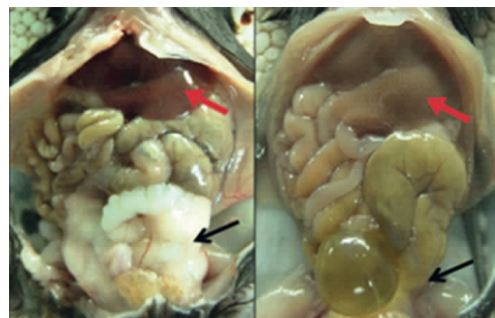
I、II 型 CGL 在脂肪缺失模式上不尽相同。全身 MRI 显示 I 型患者失去所有代谢活跃的脂肪组织,包括腹部(大网膜、肠系膜、腹膜后)和胸部(胸骨后、心外膜和纵膈上),骨髓和肌间脂肪也显著减少。但该患者机械脂肪组织尚未缺失,保存有手掌、足底、头皮下、眼眶后部的脂肪组织。而 II 型表现为比 I 型更加严重的脂肪缺失,上述两类脂肪组织在 II 型患者中全部缺失。此外,II 型患者在膝、髌、肩、肘、腕关节和踝关节周围也比 I 型的脂肪缺失更为严重^[18]。

由于缺乏 II 型 CGL 的动物模型,本实验组成功制备了 Seipin 敲除小鼠,其表现型与病人类似,全身脂肪严重缺失,肝脏脂质沉积,胰岛素抵抗^[23](图 1)。



WT (野生型) SKO (Seipin 基因敲除)

A. 两种动物的左肾门处横断面磁共振成像



WT (野生型) SKO (Seipin 基因敲除)

黑色箭头所指为附睾脂肪垫,显示 SKO 动物的脂肪缺失;红色箭头所指位置为肝脏,显示 SKO 动物的肝脏增大、颜色发白,提示脂质沉积

B. 两种动物的腹腔大体观察

图 1 WT 和 SKO 动物的 MRI 及大体观察

Fig.1 General observation and MRI of WT and SKO animals

3 Seipin 在脂肪营养不良发病中的作用

3.1 Seipin 在脂滴形态维持中的作用

脂滴的生物合成和形态维持我们知之甚少,目前的研究认为,真核生物的新生脂滴被认为沿内质网中出芽产生,进

而开始积聚脂质,当达到适当大小时,向细胞质释放。参与脂滴生物合成的蛋白包括 caveolin 和 PAT 家族蛋白(perilipin, adipophilin 和 TIP47),它们也决定了脂肪储存的组织特异性。

Szymanski 和 Binns^[24]、Fei 和 Shui^[25]分别发现,Seipin 同源基因缺失的酵母脂滴形态异常。野生型酵母的 Seipin 定位于内质网和脂滴的连接处,脂滴小而圆,并呈均匀分布。Seipin 同源基因缺失的酵母中规则而分散的小脂滴被不规则的聚集大脂滴代替。表达人或小鼠的 Seipin 后,酵母脂滴形态恢复正常;但表达错义突变的 Seipin(A212P)则无法使脂滴恢复常态^[22-23]。因此,Seipin 的一个功能可能为调节脂滴的大小和形态,在脂滴的组装和形态维持中必不可少。Fei 和 Shui^[25]认为 Seipin 同源基因缺失的酵母脂滴形态异常是通过改变脂滴表面的物理性状(如磷脂的长度)来增加脂滴的聚集和融合。他们发现该酵母中磷脂酸的长度由长链变成中链和短链,从而使脂滴更易融合和聚集,形成异常增大的脂滴。

而用 Seipin 基因突变患者的成纤维细胞系和淋巴母细胞细胞系进行体外培养,则发现患者脂滴数量增加而体积减小^[22]。此外,较之 I 型 CGL, II 型患者脂滴成分也发现异常,在甘油三酯和磷脂酰乙醇胺中,单饱和脂肪酸比例减少的同时饱和脂肪酸增加^[26]。Boutet 和 Mourabit^[26]认为,Seipin 与 AGPAT2 在脂代谢过程中功能不同,Seipin 参与甘油三酯和磷脂合成阶段的脂肪酸 $\Delta 9$ 去饱和作用。含有 12~18 个碳的不饱和脂肪酸可以诱导新生脂滴的形成和(或)增加已有脂滴的大小,而饱和脂肪酸则不具有这一作用,而 Seipin 基因突变时,不饱和脂肪酸生成减少,从而使脂滴体积减小^[27]。

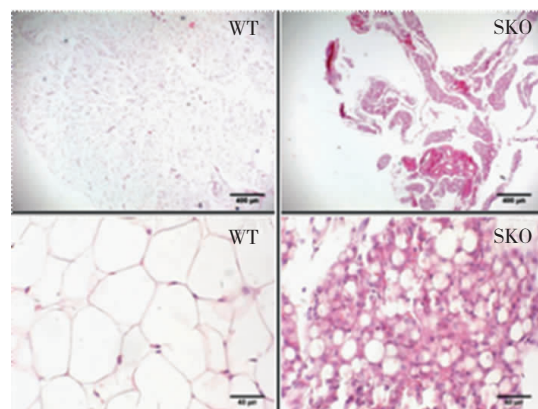
由于 Seipin 基因缺失在酵母和人细胞中导致不同的脂滴形态,Seipin 的确切功能尚未阐明。Seipin 突变的酵母中发现少数大的脂滴,提示 Seipin 可能在脂滴的融合中发挥作用^[23]。在 Seipin 突变的患者细胞中发现的小而不规则的脂滴,提示 Seipin 在脂滴形态的维持中发挥作用。这种差异可能由于单细胞的酵母与人之间的种属差异造成。但无论 Seipin 在酵母中的功能如何,都是在进化保守的脂滴形成和形态维持中发挥作用。在 Seipin 突变的 CGL 患者纤维母细胞中发现脂滴数量增加而体积减小^[22],从而影响了脂滴的储存,这为严重脂肪营养不良发病机制提供了的有力解释。

3.2 Seipin 在脂肪细胞分化中的作用

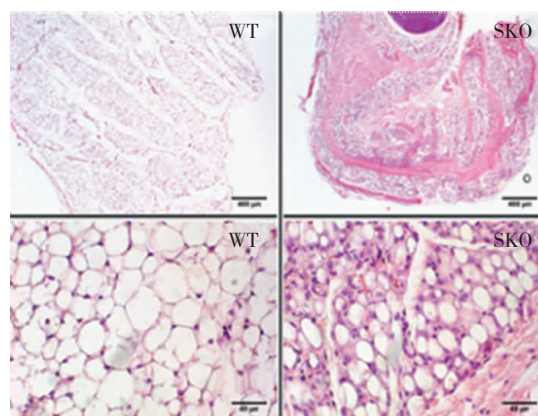
Seipin mRNA 在前脂肪细胞经激素诱导转化为成熟脂肪细胞的过程中高表达。2009 年 Chen 和 Yechoor 的研究^[14]发现,在前脂肪细胞中用 shRNA 敲低 Seipin 的 mRNA 表达,可以阻碍标准的多激素诱导的成熟脂肪细胞形成;而在分化早期加入 PPAR γ 激动剂匹格列酮则可以抵抗这种影响。Payne 等的研究^[13]也支持这一观点,他们发现敲低 Seipin 表达,不仅使 PPAR γ 和 C/EBP α 等转录因子不能持续表达,而且干扰了脂质合成酶类 AGPAT2 和 DGAT2 基因的表达。这些实验表明,Seipin 可能在正常的脂肪分化过程中起重要作用,它在 PPAR γ 上游或者在同水平,使 PPAR γ 在脂肪形成中可以发挥其全部活性。失去 Seipin 功能可以阻碍脂肪细胞

分化过程中的转录级联调控反应,从而造成几乎全部的脂肪缺失和脂肪营养不良。

本研究组对于 Seipin 敲除动物的研究发现,其脂肪细胞呈现大小不一排列紊乱的状态,提示 Seipin 的缺失导致了脂肪组织分化发育的异常^[23](图 2)。



WT(野生型) SKO(Seipin 基因敲除)
A. 两种动物不同放大倍数下附睾脂肪形态



WT(野生型) SKO(Seipin 基因敲除)
B. 两种动物不同放大倍数下皮下脂肪形态

与 WT 动物相比,SKO 动物脂肪细胞大小、形态不一,提示 SKO 动物脂肪组织发育不良

图 2 WT 和 SKO 动物的白色脂肪组织形态

Fig.2 White adipose morphology of WT and SKO animals

4 展 望

脂肪组织是哺乳动物体内最重要的能量储存库和赋形组织,它对于维持机体的能量代谢平衡发挥着重要作用。脂肪细胞增殖、分化的失常,一方面可以引起脂肪组织的过多蓄积,继而导致肥胖和胰岛素抵抗的发生,并且是冠心病、高血压、2 型糖尿病、高脂血症等多种严重疾病的共同危险因素;另一方面,脂肪组织的缺失即脂肪营养不良,也往往伴随着一系列的代谢紊乱,包括高脂血症、肌肉和肝脏中出现脂质沉积,胰岛素抵抗和糖尿病等。由于脂肪组织在内分泌和

代谢中的重要作用,脂肪细胞在机体代谢稳态中所起的作用成为相当活跃的研究领域。2010 年 Beller 等提出脂滴细胞生物学的概念,指出脂滴与其他细胞器的交互作用,脂滴的运输和包装以及脂滴包被蛋白等研究的重要性。Seipin 作为一个刚发现不久的蛋白,它在脂滴形态的维持以及脂肪细胞分化过程中的作用还未阐明,可能是甘油三酯代谢途径中尚未了解的一个重要环节,而由 Seipin 导致的 II 型 CGL 患者的多种病理表现也提示了 Seipin 可能在不同组织或条件下具有不同的功能。

参 考 文 献

- [1] Berardinelli W. An undiagnosed endocrinometabolic syndrome: report of 2 cases[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1954, 14(2): 193–204.
- [2] Seip M. Lipodystrophy and gigantism with associated endocrine manifestations: a new diencephalic syndrome? [J]. Acta Paediatr, 1959, 48(6): 555–574.
- [3] Garg A. Acquired and inherited lipodystrophies[J]. N Engl J Med, 2004, 350(12): 1220–1234.
- [4] Agarwal A K, Arioglu E. AGPAT2 is mutated in congenital generalized lipodystrophy linked to chromosome 9q34[J]. Nat Genet, 2002, 31(1): 21–23.
- [5] Magre J, Delepine M. Identification of the gene altered in Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy on chromosome 11q13[J]. Nat Genet, 2001, 28(4): 365–370.
- [6] Garg A, Agarwal A K. Caveolin-1: a new locus for human lipodystrophy[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2008, 93(4): 1183–1185.
- [7] Kim C A, Delepine M. Association of a homozygous nonsense caveolin-1 mutation with Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2008, 93(4): 1129–1134.
- [8] Hayashi Y K, Matsuda C. Human PTRF mutations cause secondary deficiency of caveolins resulting in muscular dystrophy with generalized lipodystrophy[J]. J Clin Invest, 2009, 119(9): 2623–2633.
- [9] Magre J, Delepine M, Khallouf E, et al. Identification of the gene altered in Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy on chromosome 11q13[J]. Nat Genet, 2001, 28(4): 365–370.
- [10] Lundin C, Nordstrom R, Wanger K, et al. Membrane topology of the human seipin protein[J]. FEBS Lett, 2006, 580(9): 2281–2284.
- [11] Van Maldergem, Magre L J. Genotype-phenotype relationships in Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy[J]. J Med Gene, 2002, 39(10): 722–733.
- [12] Windpassinger C. Heterozygous missense mutations in BSCL2 are associated with distal hereditary motor neuropathy and Silver syndrome[J]. Nat Genet, 2004, 36(3): 271–276.
- [13] Payne V A, Grimsey N, Tuthill A, et al. The human lipodystrophy gene BSCL2/seipin may be essential for normal adipocyte differentiation[J]. Diabetes, 2008, 57(8): 2055–2260.
- [14] Chen W, Yechoor V K. The human lipodystrophy gene product Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy 2/seipin plays a key role in adipocyte differentiation[J]. Endocrinology, 2009, 150(10): 4552–4561.
- [15] Ito D, Suzuki N. Seipinopathy: a novel endoplasmic reticulum stress-associated disease[J]. Brain, 2009, 132(Pt1): 8–15.
- [16] Ito D, Fujisawa T. Characterization of seipin/BSCL2, a protein associated with spastic paraplegia 17[J]. Neurobiol Dis, 2008, 31(2): 266–277.
- [17] Agarwal A K, Garg A. Seipin: a mysterious protein[J]. Trends Mol Med, 2004, 10(9): 440–444.
- [18] Ito D, Suzuki N. Molecular pathogenesis of seipin/BSCL2-related motor neuron diseases[J]. Ann Neurol, 2007, 61(3): 237–250.
- [19] Simha V, Garg A. Phenotypic heterogeneity in body fat distribution in patients with congenital generalized lipodystrophy caused by mutations in the AGPAT2 or seipin genes[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2003, 88(11): 5433–5437.
- [20] Agarwal A K, Simha V. Phenotypic and genetic heterogeneity in congenital generalized lipodystrophy[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2003, 88(10): 4840–4847.
- [21] Haque W A, Shimomura I. Serum adiponectin and leptin levels in patients with lipodystrophies[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2002, 87(5): 2395.
- [22] Wu Y R, Hung S I. Complementary mutations in seipin gene in a patient with Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy and dystonia: phenotype variability suggests multiple roles of seipin gene[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2009, 80(10): 1180–1181.
- [23] Cui X, Wang Y H. Seipin ablation in mice results in severe generalized lipodystrophy[J]. Hum Mol Genet, 2011, 20(15): 3022–3030.
- [24] Szymanski K M, Binns D. The lipodystrophy protein seipin is found at endoplasmic reticulum lipid droplet junctions and is important for droplet morphology[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(52): 20890–20895.
- [25] Fei W, Shui G. Fld1p, a functional homologue of human seipin, regulates the size of lipid droplets in yeast[J]. J Cell Biol, 2008, 180(3): 473–482.
- [26] Boutet E, Mourabit H E. Seipin deficiency alters fatty acid Delta9 desaturation and lipid droplet formation in Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy[J]. Biochimie, 2009, 91(6): 796–803.
- [27] Fujimoto Y, Onoduka J, Homma K J, et al. Long-chain fatty acids induce lipid droplet formation in a cultured human hepatocyte in a manner dependent of Acyl-CoA synthetase[J]. Biol Pharm Bull, 2006, 29(11): 2174–2180.

(责任编辑:冉明会)