

PUFA 对脂肪代谢基因表达的影响及其作用机制

叶华, 王继文*, 罗辉 (1. 四川农业大学动物科技学院, 四川雅安625014; 2. 四川农业大学动物营养研究所, 四川雅安625014)

摘要 综述了多不饱和脂肪酸(PUFA)可以抑制脂肪酸合成酶的基因表达,促进脂肪酸氧化的基因表达的作用。其具体机制可能与3种细胞核受体肝细胞核因子4(HNF-4)(LXR和)和过氧化物酶体活化增殖因子受体(PPAR,和)的相互作用以及转录因子胆固醇调节元件结合蛋白(SREBP1和2)相关。

关键词 多不饱和脂肪酸;基因表达;SREBP;LXR;PPAR;HNF

中图分类号 Q344+.13 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2005)15-3689-03

多不饱和脂肪酸(PUFA)是包括2个及2个以上双键的长链脂肪酸,其中n-3和n-6系列的脂肪酸具有重要的生物学意义。Aunani和Gibson首先观察到PUFA具有调节体内某些酶活性的独特性质,他们发现在2d内喂食高糖、无脂肪饲料的老鼠,其肝脂肪酸合成速率和脂肪酸酶活性、琥珀酸酶和葡萄糖6-磷酸脱氢酶活性都有所降低。相反,在高糖饲料中加入棕榈油或油酸,对鼠的肝脂肪形成活性没有任何影响。随后,众多学者开始对脂肪酸与基因表达的关系展开了广泛而深入的研究。近年的研究表明:PUFA不仅可以调节体内多种酶的活性,而且可以影响体内某些基因的表达,尤其是PUFA可影响脂肪代谢中的相关基因的表达。总的来看PUFA可抑制脂肪酸合成酶基因的表达,上调脂肪氧化分解基因的表达,最终使体内的脂肪合成和存储减少。笔者将综述PUFA对脂肪代谢相关基因表达的影响以及PUFA影响基因表达的作用机制。

1 多不饱和脂肪酸对基因表达的影响

1.1 PUFA抑制脂肪酸合成酶的相关基因的表达 脂肪酸合成酶(FAS)是脂肪酸合成的主要限制酶,存在于脂肪、肝脏及肺等组织中,在动物体内起催化丙二酸单酰CoA连续结合成长链脂肪酸的反应,其活性高低将直接控制着体内脂肪合成的强弱,从而影响整个机体中脂肪的含量。大量研究表明,不饱和脂肪酸对动物脂肪酸合成酶活性具有抑制作用。这种抑制作用与不饱和脂肪酸的含量、不饱和程度、链的长短、双键位置等多种因素有关^[1]。Clarke等研究不饱和脂肪酸对大鼠肝脏脂肪酸合成酶的影响时发现不饱和脂肪酸对大鼠肝脏脂肪酸合成酶的活性有显著的抑制作用,在对脂肪酸合成酶的活性抑制中,二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸比双不饱和脂肪酸即十八碳二烯酸有效。脂肪酸链的双键,特别是从甲基末端起的第1个双键的位置,对脂肪酸合成酶活性的影响具有独特的作用^[2]。许多研究表明,当第1个双键位于n-3时,对脂肪酸合成酶的抑制作用比n-6强,第1个双键位于n-9时,与饱和脂肪酸相似,对酶的活性基本无影响^[3-5]。

多不饱和脂肪酸对FAS基因表达也具有抑制作用。Nakamura等给雄性BALB/c鼠饲喂高葡萄糖无脂日粮并补加50g/kg的多不饱和脂肪酸[18:2(n-6)],结果发现鼠肝脏脂肪酸合成酶mRNA的丰度在5d后显著降低。Clarke等

的研究发现:大鼠饲喂高碳水化合物(无脂)日粮补加少量长链不饱和脂肪酸(20~30g/kg)能明显降低脂肪合成能力及脂肪合成酶活力;用大鼠肝细胞作原始培养时发现,长链脂肪酸抑制脂肪合成酶(如乙酰CoA羧化酶、葡萄糖6-磷酸脱氢酶)的活性,主要是通过抑制基因转录完成的^[4]。Clarke等用单不饱和脂肪酸(三油酸甘油酯,n-9)、双不饱和脂肪酸(红花油,n-6)和多不饱和脂肪酸(鱼油,n-3)喂大鼠,测定肝脏中脂肪酸合成酶的基因表达。结果表明,日粮中多不饱和脂肪酸使肝脏中的FAS mRNA水平降低了75%~90%;鱼油比红花油更有效,而三油酸甘油酯对FAS mRNA无影响。鱼油和红花油等多不饱和脂肪酸降低FAS的活性80%~90%,其中主要是降低了FAS mRNA的丰度。饲喂红花油大鼠肝脏中FAS mRNA的丰度是饲喂鱼油的2倍,而高碳水化合物日粮中加鱼油,大鼠肝脏中FAS mRNA的丰度是加饱和脂肪酸和单不饱和脂肪酸的13%和25%。同时,Clarke等的试验还证明n-3脂肪酸对FAS基因转录的抑制比n-6脂肪酸有效。另外,Salati等报道PUFA可以抑制ACC(该酶是脂肪酸合成过程的限速酶)的表达,同时苹果酸酶基因的表达也受到抑制。PUFA也可抑制硬脂酰CoA脱氢酶(SCD),使其活性下降60%,mRNA丰度下降80%,半衰期从25.1h缩短至8.5h^[8]。

1.2 PUFA增加脂肪酸分解相关酶的活性 研究表明,不饱和脂肪酸增加脂肪酸分解相关酶的活性并影响其基因的表达。Chapman等报道当日粮鱼油用量为50g/kg时,大鼠脂肪组织中脂蛋白脂肪酶(LPL)的活性明显高于对照组。梁旭方用高脂饲料饲喂真鲷时发现:当真鲷处于饱食状态时,高脂食物显著提高其肝脏LDL基因表达水平^[10]。一些研究者采用20日龄大鼠胚胎肝细胞进行的体外研究表明,在培养基中添加长链脂肪酸能将肉碱棕榈酰转移酶I(CPT-I,该酶是脂肪酸氧化分解的关键限速酶之一)mRNA的含量提高2~4倍。研究使用的长链脂肪酸中有饱和的(棕榈酸)、单不饱和的(油酸)和多不饱和的(亚麻酸),其中亚麻酸不仅能将CPT-I mRNA含量提高2倍,而且还能将其半衰期延长50%。体外大鼠肝细胞培养研究表明,当向培养的肝细胞中加入脂肪酸时,中链脂肪酸不能改变线粒体中3-羟3-甲基戊二酰CoA(HMG CoA)合成酶基因(该酶是脂肪酸氧化分解的关键限速酶之一)mRNA的含量,而长链脂肪酸则能将其提高2~4倍。研究日粮中添加红花油(多不饱和脂肪酸)和猪油(饱和脂肪酸)对鼠脂肪酶转录和翻译的影响时发现:中等剂量PUFA(红花油)组的胰脂肪酶活性比低剂量组提高280%;数据分析表明,在红花油组中脂肪摄入量与脂肪酶活性呈线性相

作者简介 叶华(1981-),女,四川广元人,硕士研究生,研究方向:动物遗传育种与繁殖。* 通讯作者,教授,Email: vjw2886166@163.com。

收稿日期 2006-04-18

关,而饱和脂肪酸(猪油)组的脂肪酶活性无显著差异。也有研究发现,增加日粮中多不饱和脂肪含量,会增加胰脂酶的转录和 mRNA 含量^[11-13]。

2 脂肪酸对基因表达调控的机制

目前,PUFA 调节基因表达的确切机制尚不完全清楚,但研究发现 PUFA 调节基因表达是通过与至少 3 种细胞核受体——肝细胞核因子 4 (HNF-4)、肝脏 X 受体 (LXR) 和 (LXR α 和 LXR β)、过氧化物酶体活化增殖因子受体 (PPAR α , PPAR β 和 PPAR γ) 的相互作用,和通过调节转录因子——胆固醇调节元件结合蛋白 1 和 2 (SREBP1 和 2) 起作用的。

PPAR 是类固醇细胞核受体超家族中的一员,存在多种亚型,如: PPAR α , PPAR β 和 PPAR γ 。它们分别由 3 种独立的基因所编码,可被过氧化物酶体增殖因子所激活。PPAR 在脂肪氧化和炎症反应中起重要作用;PPAR 与细胞分化、脂肪储存等有关;PPAR 在脂肪代谢、上皮细胞增殖和炎症中有重要作用^[14]。PPAR 能够以与视黄醇 X 受体 (RXR) 形成二聚体的形式结合到许多基因的启动子区的正向重复序列单元——过氧化物酶体增殖因子反应元件上,进而激活靶基因的转录。PUFA 是 PPAR 的内源配体^[14],可有效地激活 PPAR。非脂化脂肪酸 (NEFA) 结合到 PPAR 上可导致编码脂肪 - 氧化的基因表达迅速改变,诱导编码肝脏、心脏、骨骼肌中参与脂肪转运、氧化和生热作用的数个蛋白(如:肉毒碱棕榈酰转移酶、过氧化物酶体乙酰 CoA 氧化酶、解偶联蛋白 3) 的基因表达,从而促进脂肪酸的氧化分解。但同时发现,PUFA 对脂肪合成的抑制作用和对脂肪氧化的促进作用并不是通过同一个转录因子介导的。Bing 等研究发现:日粮中添加鱼油 (PUFA) 可以上调野生型大鼠的 - 氧化基因,但不能上调 PPAR 缺失大鼠的 - 氧化基因。但同样的日粮可以同时抑制脂肪合成基因 (S14 和 FAS) 的表达。随后的研究发现,PUFA 对脂肪合成的抑制作用与 SREBP 有关^[15]。

SREBPs 是碱性区螺旋-环-螺旋-亮氨酸拉链蛋白转录因子,它作用于启动子区域含有称为固醇反应元件的特殊序列的靶基因。目前已分离出 3 种亚型,即 SREBP1 α 、SREBP1 β 和 SREBP2。SREBP1 α 和 SREBP1 β 由相同的基因编码,但其 N 末端不同。而 SREBP2 则是由独立的基因编码的。在啮齿类和人上,SREBP1 β 是其肝脏中主要的形式,而且 SREBP1 β 也被认为是脂肪酸和甘油三酯合成的关键调节者^[16]。SREBPs 以其前体的形式合成,并以其碳端和氮端朝向细胞质的方向插入到内质网膜上。在缺乏固醇的细胞中,高尔基体膜上 SREBPs 的溶蛋白性裂解作用可促使 SREBPs 的成熟,并导致其转移进入细胞核中^[17]。SREBPs 在细胞核中与固醇反应元件 (SRE) 结合即可诱导包括胆固醇、甘油三酯和脂肪酸合成酶等多种基因的转录。许多研究表明 PUFA 可通过抑制 SREBPs 的细胞核内丰度进而抑制脂肪合成基因的表达^[18]。给大鼠饲喂添加 n-3 和 n-6 PUFA 的无脂日粮的研究结果表明:PUFA 可降低细胞核内 SREBP 的水平和含有固醇反应元件的目标基因的表达^[19]。Yahagi 等 (1999) 研究也发现,过度表达 SREBPs 的转基因鼠对由 PUFA 介导的脂肪合成基因的抑制作用并不敏感^[20]。随后的研究发现:PUFA 介导的降低 SREBPs 基因转录与细胞神经鞘磷脂的代谢有

关。用 PUFA 处理细胞后可使细胞膜上不饱和脂肪酸增加并促进胆固醇从血浆膜向内质网上的重分布,另外还可激活鞘磷脂酶并导致一种重要的信号分子——神经酰胺的释放。而此过程可抑制 SREBP 前体转化为成熟形式的蛋白水解过程,进而降低细胞核中 SREBP 的水平和 SREBP 介导的基因表达^[21]。另有研究发现:PUFA 可选择性抑制肝脏中编码 SREBP1 的 mRNA 水平,但却并不抑制编码 SREBP2 的 mRNA 水平^[22]。由此可见,PUFA 对 SREBP1 水平的影响是非常复杂的,这种影响有利于抑制 SREBP1 基因的转录和提高编码 SREBP1 mRNA 的周转。在对 mRNA_{SREBP1 β} 调节上,不同的脂肪酸其调节能力不同,依次为:20:5 n-3 > 20:4 n-3 > 18:2 n-6。总之,PUFA 对 SREBP 的控制是非常复杂的,这种复杂性也反映了 SREBPs 在维持细胞脂肪的动态平衡中的关键性作用。PUFA 是 SREBP1 的反馈调节者,而 SREBP1 是控制脂肪酸合成、脱饱和延长,以及甘油酯合成的早期步骤的关键性转录因子^[17]。SREBP1 在控制细胞脂肪组成中起着关键性作用,然而目前对 PUFA 控制 SREBP1 的蛋白水解过程和其 mRNA 的周转方面的分子基础还知之甚少,还有待于进一步的研究。

肝细胞核因子 4 (HNF-4) 以同质二聚体的形式结合到 DNA 的正向重复序列 1 上,在肝脏、肾脏、肠道和胰腺中表达。由于至今尚未发现其内原配体,因此又将其称为孤核受体。目前已对其 4 种亚型 (1、2、4 和 5) 进行了描述,这 4 种亚型仅在其 A/B 区和 F 区上存在差异^[17]。HNF-4 可通过直接或间接作用控制许多肝脏基因,如载脂蛋白、铁和碳水化合物代谢的相关酶(转铁蛋白、丙酮酸激酶等)、细胞色素 P450 单氧酶和一些负责胆酸合成的酶类。Bar-Tana 等首先发现 HNF-4 可结合脂肪酸及其代谢产物,他们发现当饱和脂肪酸 (14:0-CoA 或 16:0-CoA) 结合到 HNF-4 上可使 HNF-4 激活,而当不饱和脂肪酸 (18:3 n-3-CoA, 20:5 n-3-CoA, 或 22:6 n-3-CoA) 结合其上时,HNF-4 的活性受到抑制。Hertz 等研究也发现,脂酰辅酶 A 硫酯可通过直接结合到 HNF-4 的配体结合域上进而调节其活性。最近,Rajas 等又发现多不饱和脂肪酸通过 HNF-4 调节基因表达的另一条机制,即多不饱和脂肪酸可通过抑制 HNF-4 结合到 6-磷酸葡萄糖酶的识别位点而降低其启动子的活性^[23]。

肝脏 X 受体 (LXRs) 是类固醇-甲状腺受体超家族中的另一成员。它可以结合脂肪酸,其活性也受脂肪酸的影响^[14]。目前已知 2 种亚型:LXR α 和 LXR β ,LXR 主要存在于肝脏、脂肪组织、巨噬细胞、肠道和肾脏中,而 LXR β 则存在于绝大多数组织中。LXRs 以氧化固醇为内源配体,可与视黄醇 X 受体 (RXR) 以二聚体的形式结合到称为肝脏 X 受体反应元件 (LXREs) 的正向重复序列 4 上,进而影响许多基因的表达,如胆酸的合成基因和脂肪生成基因 (SREBP1 β 、FAS、ACC 和 SCD1) 等。LXRs 可结合到 SREBP1 β 启动子区的肝脏 X 受体反应元件上而上调 SREBP1 β 的转录,并促进脂肪的合成与存储。但有研究表明 PUFA 可结合到 LXRs 上使其失活而无法诱导 SREBP1 β 的转录并最终减少脂肪的生成^[24]。PUFAs 亦可通过激活 PPARs 而使其直接结合到 LXRs 上进而抑制 LXRs 对脂肪生成的积极作用。另外尚发现 PUFAs 还可

通过抑制氧化固醇与 LXR α 的结合而抑制 LXR α 的作用。最近, Yoshikawa 等发现脂肪酸实际上是抑制了 LXR α /RXR 异源二聚体与 LXRE 的结合过程, 从而降低了靶基因的启动子活性。

3 结语

众所周知, 多不饱和脂肪酸具有双重的生理作用, 一方面可作为机体的能量来源和结构组成成分; 另一方面, 多不饱和脂肪酸还可通过改变基因表达而改变机体的代谢状况。因此, 多不饱和脂肪酸影响着动物体的多种生理功能, 在动物的正常生长和健康方面起着十分重要的作用。然而尽管目前关于多不饱和脂肪酸对基因表达的影响已有许多报道, 其作用机制方面也有较多研究, 但其作用机制方面尚有许多有待进一步研究的问题。例如脂肪酸的结构与基因表达的关系; 脂肪酸影响的转录因子和具体过程以及在同一细胞中存在的不同的脂肪酸调节途径等。

参考文献

- [1] 颜新春, 汪以真, 许梓荣. 动物脂肪酸合成酶(FAS)基因表达的调控[J]. 动物营养学报, 2002, 14(2): 1-4.
- [2] CLARKE S D, HENREE J. Inhibition of Triiodothyronine's induction of rat liver lipogenic enzymes by dietary fat[J]. J Nutr, 1990, 120: 625-630.
- [3] CLARKE S D, ARMSTRONG M K, JUMP D B. Nutritional control of rat liver fatty acid synthase and S14 mRNA abundance[J]. J Nutr, 1990, 120: 218-224.
- [4] CLARKE S D. Regulation of fatty acid synthase gene expression: An approach for reducing fat accumulation[J]. J Anim Sci, 1993, 71: 1957-1965.
- [5] DANA R S, DARRELL A K, STEPHEN B S. Depression of lipogenesis in swine adipose tissue by specific dietary fatty acids[J]. J Anim Sci, 1996, 74: 975-983.
- [6] NAKAMURA M T, CHO H P, CLARKE S D. Regulation of hepatic Delta-6 desaturase expression and its role in the polyunsaturated fatty acid inhibition of fatty acid synthase gene expression in mice[J]. The Journal of Nutrition, 2000, 130(6): 1561-1565.
- [7] CLARKE S D, ARMSTRONG M K, JUMP D B. Dietary polyunsaturated fats uniquely suppress rat liver fatty acid synthase and S14 mRNA content[J]. J Nutr, 1990, 120: 225-231.
- [8] SALATI L M, CLARKE S D. Fatty acid inhibition of hormonal induction of acetyl-coenzyme A carboxylase in hepatocyte monolayers[J]. Arch Biochem Biophys, 1986, 246: 82-89.
- [9] CHAPMAN B, MORGAN L M, MURPHY M C. Maternal and early dietary fatty acid intake: changes in lipid metabolism and liver enzymes in adult rats[J]. Nutr, 2000, 130: 146-151.
- [10] 梁旭方, 白俊杰, 劳海华, 等. 真鲷脂蛋白脂肪酶基因表达与内脏脂肪蓄积营养调控定量研究[J]. 海洋与湖沼, 2003, 34(6): 625-631.
- [11] CHENAIS B, MOLLEI, TRENTESAUX C, et al. Time-course of butyric acid induced differentiation in human K562 leukemic cell line: rapid increase in retinol, porphobilinogen deaminase and NF-E2 mRNA levels[J]. Leukemia, 1997, 11(9): 1575-1579.
- [12] TEBBEY D M, MCGOWAN K M, STEPHENS J M, et al. Arachidonic acid downregulates the insulin-dependent glucose transporter gene in 3T3-L1 adipocytes by inhibiting transcription and enhancing mRNA turnover[J]. Biochem, 1994, 269: 639-644.
- [13] RAJAS F, GAUJER A, BADIYI, et al. Polyunsaturated fatty acyl coenzyme A suppress the glucose 6-phosphatase promoter activity by modulating the DNA binding of hepatocyte nuclear factor 4[J]. J Biol Chem, 2002, 277: 15736-15744.
- [14] HARIN SAMPATH, B SC, JAMES. Polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression[J]. Nutrition Reviews, 2004, 62: 333-339.
- [15] HING R, THELENAP, PETERS J M, et al. Polyunsaturated fatty acid suppression of hepatic fatty acid synthase and S14 gene expression does not require peroxisome proliferator activated receptor[J]. J Biol Chem, 1997, 272: 26827-26832.
- [16] BROWN M S, GOLDSTEIN J L. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor[J]. Cell, 1997, 89: 331-340.
- [17] JUMP D B. Fatty acid regulation of gene transcription[J]. Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, 2004, 41(1): 41-78.
- [18] KIM H J, MIYAZAKI M, MAN W C, et al. Sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs) as regulators of lipid metabolism: polyunsaturated fatty acids oppose cholesterol-mediated induction of SREBP-1 maturation[J]. Ann NY Acad Sci, 2002, 967: 34-42.
- [19] XI J, ZIMMER D B. Differential regulation of A and G fetal hemoglobin mRNA levels by hydroxyurea and butyrate[J]. Exp Hematol, 1998, 26(3): 265-272.
- [20] YAHAGI N, SHIMANO H, HASTY A H, et al. A crucial role of sterol regulatory element-binding protein-1 in the regulation of lipogenic gene expression by polyunsaturated fatty acids[J]. J Biol Chem, 1999, 274: 35840-35844.
- [21] WORGALL T S, JOHNSON R A, SEO T, et al. Unsaturated fatty acid mediated decreases in sterol regulatory element-mediated gene transcription are linked to cellular sphingolipid metabolism[J]. J Biol Chem, 2002, 277: 3878-3885.
- [22] MAIER M K, THELENAP, PAN D A, et al. Sterol regulatory element-binding protein 1c (SREBP1c) is involved in the polyunsaturated fatty acid suppression of hepatic S14 gene transcription[J]. J Biol Chem, 1999, 274: 32725-32732.
- [23] HERIZ R, MAGENHEIM J, BERMANI, et al. Fatty acyl-CoA thioesters are ligands of hepatic nuclear factor-4[J]. Nature, 1998, 392: 512-516.
- [24] REPA J J, MANGELSDORF D J. The role of orphan nuclear receptors in the regulation of cholesterol homeostasis[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2000, 16: 459-481.