

文章编号: 1004-0374(2012)10-1185-04

BMP2基因在脂肪形成过程中的功能研究进展

何林芝, 冷丽*, 李辉*

(东北农业大学动物科学技术学院, 农业部鸡遗传育种重点实验室, 哈尔滨 150030)

摘要: 骨形态发生蛋白 2 (BMP2) 属于转化生长因子 β (TGF- β) 超家族成员, 是一种分泌性蛋白, 具有多重生物学功能。BMP2 基因不仅可以诱导骨细胞的形成, 还可以促进间充质干细胞向脂肪细胞分化, 在脂肪的形成过程中发挥着重要作用。就该基因的结构、表达及其在诱导脂肪细胞形成方面的功能等进行综述。

关键词: BMP2 基因; 脂肪; 结构; 功能

中图分类号: Q786 **文献标志码:** A

Research progress of BMP2 gene function during fat formation

HE Lin-Zhi, LENG Li*, LI Hui*

(Key Laboratory of Chicken Genetics and Breeding, Ministry of Agriculture; College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: Bone morphogenetic proteins (BMPs) belong to the transforming growth factor β (TGF- β) superfamily. It's a kind of secretory protein with multiple biological functions. Researches indicates that BMP2 not only can induce the formation of bone cells, but also can promote mesenchymal stem cells to adipocytes, and plays a critical role in the formation of fat. This review summarized recent research progresses in gene structure, expression and function of BMP2.

Key words: BMP2 gene; fat; structure; function

骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic proteins, BMPs) 又名成骨蛋白 (osteogenic proteins, Ops), 属于转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β) 超家族成员。1965 年, 首次被发现并因其具有很强的诱导骨细胞形成的能力而得名^[1-2]。1988 年, Wozney 等^[3]首次对 BMPs 的部分成员 (BMP2、BMP3 和 BMP4) 基因进行了克隆。BMPs 不仅存在于骨组织中, 还在脊椎动物胚胎的许多组织中被发现^[4]。自从 BMPs 被发现以来, 科研人员对其进行了更加深入的研究, 其中的 BMP2 基因作为诱导骨细胞形成能力最强的因子之一而受到了广泛的关注。随着研究的不断深入发现, BMP2 基因不仅能诱导骨的形成, 还能在脂肪细胞的形成过程中发挥重要作用。

1 BMP2基因的结构

人的 BMP2 基因 (GenBank NM_000020.10) 定位于 20 号染色体, 成熟 mRNA 长为 3 150 nt; 小鼠

的 BMP2 基因 (GenBank NM_000068.6) 定位于 2 号染色体, 成熟 mRNA 长为 2 540 nt; 大鼠的 BMP2 基因 (GenBank NC_005102.2) 定位于 3 号染色体, 成熟 mRNA 长为 1 275 nt; 鸡的 BMP2 基因 (GenBank NC_010459.4) 定位于 3 号染色体, 成熟 mRNA 长为 1 197 nt。不同物种 BMP2 基因编码区的同源性较高, 人与小鼠为 87.07%, 人与鸡为 78.78%。鼠的 BMP2 基因包含 3 个外显子和 2 个内含子, 其 CDS 区长为 1 189 bp。该基因的 3'-UTR 区较长, 且具有很高的保守性, 小鼠、人、狗 BMP2 基因 3'-UTR 区的同源性高达 83%~87%。另外, 从哺乳动物到鸟类再到鱼, BMP2 基因的 3'-UTR 区都存在一

收稿日期: 2012-05-05; 修回日期: 2012-06-18

基金项目: 国家自然科学基金(31101708); 教育部博士点新教师基金项目

*通信作者: E-mail: 冷丽, lengli1981@163.com; 李辉, lihui@neau.edu.cn

段长为 265 bp 的高度保守序列, 由此可以推测在 *BMP2* 基因的 3'-UTR 区可能存在着某些重要的调控元件^[5]。

2 *BMP2*的蛋白结构及理化性质

BMP2 为疏水性酸性糖蛋白, 属于分泌性蛋白, 等电点 pI 为 (5.0±2.0)。在酸性条件下较为稳定, 但对碱性很敏感, 当 pH>8.5 时便会失去活性。*BMP2* 基因的 cDNA 编码一个约由 400 个氨基酸组成的较大的前体蛋白, 该蛋白经翻译合成分泌后, 其 N 端的 20 多个氨基酸分泌信号肽被切除, 随后前体蛋白经内切蛋白酶降解而成熟。成熟的 *BMP2* 蛋白间一般以一个二硫键相连, 构成具有活性的二聚体。该蛋白的 C 端具有较大的同源性, 而 N 端的同源性则较低。除了 *BMP8* 有 8 个半胱氨酸外, 所有的 *BMP* 分子在其 C 端都包含 7 个高度保守的半胱氨酸 (这也成为辨别 *BMP* 分子的特征)。

3 *BMP2*基因的信号转导

BMPs 主要通过两种类型的受体传递信号, 即 *BMPR-I* 型受体 (*BMPR-I*) 和 *BMPR-II* 型受体 (*BMPR-II*), 这两类受体均为跨膜的丝氨酸 / 苏氨酸受体。其中 I 型受体包括 *BMPR-IA* (或 *ALK-3*) 和 *BMPR-IB* (或 *ALK-6*)。在 *BMPR-I* 的 N 端靠近激酶结构域的位置, 有一个富含甘氨酸和丝氨酸的特征性 *SGSGS* 标志区域 (*GS* 区域), 而 *BMPR-II* 却不存在该 *GS* 区, 该区域在 *BMP* 的信号转导过程中发挥着重要作用。当 *BMPs* 与 *BMPR-II* 作用后, 活化的 II 型受体可使 *BMPR-I* 的 *GS* 区磷酸化, 引起 *BMPR-I* 激酶的激活, 随后形成一个由 I 型受体和 II 型受体组成的复合物再作用于配体, 并进一步将信号传递给下游^[6-7]。

BMP 受体下游最重要的信号分子之一是 *Smads*。*BMPR-I* 被磷酸化激活后, 可募集受体调节 *Smads* (*R-Smads*, *Smad1*、5 或 8) 并使之磷酸化。*R-Smads* 被磷酸化后又会与共同介导 *Smad* (*Co-Smad*, *Smad4*) 形成复合体, 随后转移至细胞核内, 对下游的相关基因进行调节。除 *Smad* 信号通路外, *BMP* 还能激活其下游的 *p38MAPK* 进行信号的转导。当 *BMPR-I* 作用于 *TGF-β* 活化激酶 1 / *MAP3K7* 结合蛋白 1 (*TGF-β* activated kinase 1 / *MAP-3K7* binding protein 1, *TAB1*) 后, 可促使 *TAB1* 与 X 染色体连锁凋亡抑制蛋白 (*X-linked inhibitor of apoptosis*, *XIAP*)、*TGF-β* 活化激酶 1 (*TGF-β* activated kinase 1, *TAK1*) 结合并

提高 *TAK1* 的活性, 随后 *TAK1* 激活 *MEKK3* 和 *MEKK6*, 然后磷酸化并激活 *p38MAPK*, 活化的 *p38MAPK* 便可进入细胞核并调控相关基因的表达^[8-9]。

4 *BMP2*基因在诱导脂肪形成过程中的生物学功能

4.1 *BMP2*基因具有促进脂肪细胞形成的能力

1993 年, Ahrens 等^[10] 研究 *BMP2* 基因在多能干细胞中的生物学功能时意外地发现, 在 *BMP2* 蛋白的作用下, 这些细胞不仅能分化为骨细胞, 还能分化为脂肪细胞。后来, zur Nieden 等^[11] 和 Ji 等^[12] 通过 Real-time PCR 检测发现, 在这个过程中, 与脂肪分化相关的标记基因 (*ADD1*、*aP2*、*C/EBPα*、*GLUT-4*、*LPL*、*PPARγ* 和 *SCD1*) 的表达也得到了一定程度的上调。随后, Devaney 等^[13] 在人 *BMP2* 基因的 3'-UTR 区发现了一个 SNP 位点, 证实该位点与人体皮下脂肪的形成显著相关。这些结果都进一步证实该基因不仅具有诱导成骨形成的能力, 还能促进脂肪细胞的分化。在小鼠体内的研究结果也显示, 用 *BMP2* 诱导后的前脂肪样细胞注入裸鼠皮下后, 也可以分化为正常的脂肪组织^[14]。冷丽等^[15] 通过 RT-PCR 的方法检测了 *BMP2* 基因在鸡不同组织的表达情况, 结果表明, 该基因在鸡体内各组织均有表达, 其中在脂肪组织和骨中的表达量较高, 该结论进一步证实 *BMP2* 基因与脂肪的形成有关。但脂肪细胞的形成过程极为复杂, 首先是多能干细胞定向分化为前脂肪细胞, 然后才能进一步分化为成熟的脂肪细胞, 所以, *BMP2* 基因发挥其作用的阶段和分子机制便成为了关注的焦点。Huang 等^[16] 用多能干细胞系 C3H10T1/2 作为实验材料, 对 *BMP2* 基因进行了更加深入的研究, 结果显示该基因发挥其诱导脂肪细胞形成的原理主要是促进了多能干细胞向前脂肪细胞的定向分化。随后, 该实验组的研究人员又对 *BMP2* 基因定向分化作用的分子机制做了进一步的探究, 并发现了 3 种在 *BMP2* 蛋白处理后细胞中高表达的蛋白, 分别为赖氨酰氧化酶 (*lysyl oxidase*, *LOX*)、翻译控制肿瘤蛋白 1 (*translationally controlled tumor protein 1*, *TPT1*) 和 α -晶体蛋白 (α -*crystallin*)。这 3 种蛋白均与细胞骨架的形成有关, 并在多潜能干细胞向脂肪细胞定向分化过程中起着重要作用。在研究过程中, 作者发现了一个非常有趣的现象, 即伴随着脂肪细胞的形成, C3H10T1/2 细胞的形态会逐渐由纺锤形变成圆形,

但当 *LOX* 基因的表达受到干扰之后, C3H10T1/2 细胞由纺锤形变为圆形的趋势也会完全消失, 并且该细胞系向成熟脂肪细胞分化的能力也会完全受到抑制; 当 *TPT1* 基因和 *α B-crystallin* 基因的表达分别被干扰掉之后, 只能部分抑制 C3H10T1/2 细胞由纺锤形变为圆形, 并且只有部分 C3H10T1/2 细胞能分化为成熟的脂肪细胞^[17]。所以, 作者推测, *BMP2* 基因可以通过调控其下游基因 *LOX*、*TPT1* 和 *α B-crystallin* 的表达来发挥其诱导脂肪形成的作用。

4.2 *BMP2*基因诱导脂肪形成的能力与浓度有关

BMP2 基因对多能干细胞的定向分化作用显著复杂, 并且与 *BMP2* 蛋白的浓度存在着一定的关系。有研究显示, 当用浓度为 10 ng/mL 的 *BMP2* 蛋白处理 C3H10T1/2 细胞时, 只能观察到少量的多能干细胞分化为成熟脂肪细胞; 当 *BMP2* 蛋白的浓度增至 25 ng/mL 时, *BMP2* 基因诱导脂肪细胞形成的能力显著提高; 当浓度达到 50 ng/mL 时, 能观察到大量的成熟脂肪细胞形成; 但当 *BMP2* 蛋白的浓度增加至 100 ng/mL 时, 发现其诱导脂肪细胞形成的能力不再增强, 与浓度为 50 ng/mL 时的差异不显著, 说明在一定的浓度范围内, 随着 *BMP2* 蛋白浓度的增加, 其诱导脂肪细胞形成的能力也会得到进一步的提高^[16]。Gimble 等^[18] 的研究表明, *BMP2* 蛋白诱导脂肪细胞形成的能力并不完全与其浓度成正比, 当用 50~500 ng/mL 的 *BMP2* 蛋白处理骨髓基质细胞 (BMSCs) 时, 高浓度的 *BMP2* 蛋白不但没能促进脂肪细胞的形成, 反而会抑制 BMSCs 细胞向脂肪细胞的分化, 促进其向成骨细胞的分化。从以上众多的实验结果可以看出, *BMP2* 诱导脂肪形成的能力与其浓度有关, 较低浓度的 *BMP2* 蛋白能促进脂肪细胞的形成, 而高浓度的 *BMP2* 蛋白会抑制脂肪细胞的形成, 促进骨细胞的分化。

4.3 *BMP2*基因诱导脂肪形成的能力与激素有关

据研究表明, *BMP2* 基因诱导脂肪形成的能力还跟激素有关, 如当 *BMP2* 蛋白和维甲酸 (retinoic acid, RA) 同时作用于 3T3-F442A 前脂肪细胞系时, 能促进细胞增殖, 并能诱导早期成骨细胞标志基因的表达, 却会抑制前脂肪细胞向成熟脂肪细胞的形成^[19]。在 F9 胚胎癌细胞中, 当缺乏维甲酸的受体 (retinoic acid receptor γ , RAR γ) 时, 也检测不到 *BMP2* 基因的表达^[20]。当 *BMP2* 与罗格列酮或者曲格列酮共同作用时, 能促进多潜能干细胞向脂肪细胞分化。研究人员发现当单独用 *BMP2* 或罗格列酮处理 3T3-L1 细胞时, 只能观察到少量的成熟脂肪细胞。

但是, 当 *BMP2* 和罗格列酮同时作用于该细胞系时, 则会观察到大量的脂肪细胞形成。而且当有罗格列酮存在时, 即使增加 *BMP2* 蛋白的浓度, 也不会抑制脂肪细胞的形成^[21-22]。当 *BMP2* 与甲状腺激素相关肽作用于 C3H10T1/2 多能干细胞时, 会抑制其向脂肪细胞的分化, 促进成骨细胞的形成^[23]。当 *BMP2* 与 Sonic Hedgehog 共同作用于 C3H10T1/2 多能干细胞时, 也会抑制该细胞系分化为脂肪细胞^[24]。当 *BMP2* 在 TGF- β 和胰岛素共同作用时, 可促进胚胎干细胞向脂肪细胞分化^[11]。

4.4 *BMP2*基因诱导脂肪形成的能力与信号转导

在 *BMP2* 基因诱导多能干细胞向脂肪细胞分化的过程中, 不同的信号分子扮演着不同的角色。首先是 *BMP2* 的受体 *BMPR-IA* 和 *BMPR-IB* 在信号转导过程中的作用存在着差异。Chen 等^[25] 的研究显示, *BMPR-IB* 主要是在 *BMPs* 诱导骨细胞形成过程中发挥着重要作用, 而 *BMPR-IA* 则主要是参与了脂肪细胞的形成。Huang 等^[5] 通过对前脂肪细胞系 C3H10T1/2 的检测也发现, 该细胞中 *BMPR-IA* 和 *BMPR-II* 的表达都非常高, 却没有检测到 *BMPR-IB* 的表达。Böttcher 等^[26] 在人体的研究也显示, *BMPR-IA* 在胖人皮下脂肪和内脏脂肪的表达量都显著高于瘦的人群, 这些结果都进一步证实了 Chen 等的结论, 表明 *BMPR-IA* 在脂肪的形成过程中发挥着重要的作用。另外, 在 *BMP2* 诱导脂肪形成的过程中, Smads 和 p38MAPK 的作用机制也存在着差异。据研究表明, Smads 主要是在 *BMP2* 的作用下促进了 PPAR γ 的表达, 从而发挥其诱导成熟脂肪细胞形成的功能; 而 p38MAPK 主要是通过上调 PPAR γ 的转录活性来发挥作用, 但不影响 PPAR γ 的表达量^[22]。

5 展望

脂肪细胞形成的过程极为复杂, 深入了解脂肪形成的分子机理对于治疗人类肥胖及其相关疾病、控制畜禽腹脂沉积和改善肉质等都具有深远的意义。在脂肪形成过程中起重要作用的 *BMP2* 基因是近年来研究的热点, 但 *BMP2* 基因对于脂肪细胞形成的影响还不完全清楚, 还存在很多问题, 特别是涉及到其对目的基因的调控方式还需要做进一步的研究。

[参 考 文 献]

[1] Urist MR. Bone: formation by autoinduction. Science,

- 1965, 150(3698): 893-9
- [2] Reddi A. Bone morphogenetic proteins: from basic science to clinical applications. *J Bone Joint Surg Am*, 2001, 83(1_suppl_1): S1-6
- [3] Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, et al. Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science*, 1988, 242(4885): 1528-34
- [4] Hogan BLM. Bone morphogenetic proteins in development. *Curr Opin Genet Dev*, 1996, 6(4): 432-8
- [5] Fritz DT, Liu D, Xu J, et al. Conservation of Bmp2 post-transcriptional regulatory mechanisms. *J Biochem*, 2004, 279(47): 48950-8
- [6] Shiand JY. Mechanisms of TGF- β signaling from cell membrane to the nucleus. *Cell*, 2003, 113(6): 685-700
- [7] Attisano L, Wrana JL. Signal transduction by the TGF- β superfamily. *Science* 296(5573): 1646-7
- [8] Nohe A, Hassel S, Ehrlich M, et al. The mode of bone morphogenetic protein (BMP) receptor oligomerization determines different BMP-2 signaling pathways. *J Biochem*, 2002, 277(7): 5330-8
- [9] Nohe A, Keating E, Knaus P, et al. Signal transduction of bone morphogenetic protein receptors. *Cell Signal*, 2004, 16(3): 291-9
- [10] Ahrens M, Ankenbauer T, Schröder D, et al. Expression of human bone morphogenetic proteins-2 or -4 in murine mesenchymal progenitor C3H10T $\frac{1}{2}$ cells induces differentiation into distinct mesenchymal cell lineages. *DNA Cell Biol*, 1993, 12(10): 871-80
- [11] zur Nieden N, Kempka G, Rancourt D, et al. Induction of chondro-, osteo- and adipogenesis in embryonic stem cells by bone morphogenetic protein-2: effect of cofactors on differentiating lineages. *BMC Dev Biol*, 2005, 5(1): 1
- [12] Ji X, Chen D, Xu C, et al. Patterns of gene expression associated with BMP-2-induced osteoblast and adipocyte differentiation of mesenchymal progenitor cell 3T3-F442A. *J Bone Miner Metab*, 2000, 18(3): 132-9
- [13] Devaney JM, Tosi LL, Fritz DT, et al. Differences in fat and muscle mass associated with a functional human polymorphism in a post-transcriptional BMP2 gene regulatory element. *J Cell Biochem*, 2009, 107(6): 1073-82
- [14] Kang Q, Song WX, Luo Q, et al. A comprehensive analysis of the dual roles of BMPs in regulating adipogenic and osteogenic differentiation of mesenchymal progenitor cells. *Stem Cell Dev*, 2008, 18(4): 545-58
- [15] 冷丽, 王启贵, 王守志, 等. 鸡 *BMP-2* 基因的组织表达规律及其与体脂和骨骼性状的相关研究[C]. 中国动物遗传育种研究进展: 第十五次全国动物遗传育种学术讨论会论文集, 2009
- [16] Huang H, Song TJ, Li X, et al. BMP signaling pathway is required for commitment of C3H10T1/2 pluripotent stem cells to the adipocyte lineage. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(31): 12670-5
- [17] Huang HY, Hu LL, Song TJ, et al. Involvement of cytoskeleton-associated proteins in the commitment of C3H10T1/2 pluripotent stem cells to adipocyte lineage induced by BMP2/4. *Mol Cell Proteomics*, 2011, 10(1): M110.002691
- [18] Gimble J, Morgan C, Kelly K, et al. Bone morphogenetic proteins inhibit adipocyte differentiation by bone marrow stromal cells. *J Cell Biochem*, 1995, 58(3): 393-402
- [19] Skillington J, Choy L, Derynck R. Bone morphogenetic protein and retinoic acid signaling cooperate to induce osteoblast differentiation of preadipocytes. *J Cell Biol*, 2002, 159(1): 135-46
- [20] Boylan JF, Lufkin T, Achkar CC, et al. Targeted disruption of retinoic acid receptor α (RAR α) and RAR γ results in receptor-specific alterations in retinoic acid-mediated differentiation and retinoic acid metabolism. *Mol Cell Biol*, 1995, 15(2): 843-51
- [21] Sottile V, Seuwen K. Bone morphogenetic protein-2 stimulates adipogenic differentiation of mesenchymal precursor cells in synergy with BRL 49653 (rosiglitazone). *FEBS letters*, 2000, 475(3): 201-4
- [22] Hata K, Nishimura R, Ikeda F, et al. Differential roles of Smad1 and p38 kinase in regulation of peroxisome proliferator-activating receptor γ during bone morphogenetic protein 2-induced adipogenesis. *Mol Biol Cell*, 2003, 14(2): 545-55
- [23] Chan GK, Miao D, Deckelbaum R, et al. Parathyroid hormone-related peptide interacts with bone morphogenetic protein 2 to increase osteoblastogenesis and decrease adipogenesis in pluripotent C3H10T $\frac{1}{2}$ mesenchymal cells. *Endocrinology*, 2003, 144(12): 5511-20
- [24] Zehentner BK, Leser U, Burtscher H. BMP-2 and sonic hedgehog have contrary effects on adipocyte-like differentiation of C3H10T1/2 cells. *DNA Cell Biol*, 2000, 19(5): 275-81
- [25] Chen D, Ji X, Harris M, et al. Differential roles for bone morphogenetic protein (BMP) receptor type IB and IA in differentiation and specification of mesenchymal precursor cells to osteoblast and adipocyte lineages. *J Cell Biol*, 1998, 142(1): 295-305
- [26] Böttcher Y, Unbehauen H, Klötting N, et al. Adipose tissue expression and genetic variants of the bone morphogenetic protein receptor 1A gene (BMPRI1A) are associated with human obesity. *Diabetes*, 2009, 58(9): 2119-28