

脂肪分泌组学的研究进展*

闫晓红 王 宁[△]

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

摘要 分泌蛋白是由细胞主动运输到细胞外的一大类具有重要生物学功能的蛋白,主要参与细胞信号转导、细胞的增殖、分化及凋亡等多种生物学过程。细胞、组织、器官及个体分泌的所有蛋白称为分泌组。脂肪组织曾被认为是机体内能量储藏的地方,但现在发现它还是体内最大的内分泌器官。近年来,由于蛋白质组学技术的快速发展,脂肪分泌组研究已成为脂肪生物学、肥胖症及其相关疾病研究的热点之一。本文概述了脂肪分泌组学的主要策略和方法,重点介绍了脂肪组织间充质干细胞、前脂肪细胞、脂肪细胞以及三类脂肪组织的分泌组研究进展,分析了目前脂肪分泌组学研究中存在的问题,并提出了未来脂肪分泌组学的研究方向。

关键词 脂肪组织;分泌组学;蛋白质组;生物信息学;脂肪细胞因子

中图分类号 Q433

Advances in Adipose Secretomics* YAN Xiao-Hong, WANG Ning[△] (Key Laboratory of Chicken Genetics and Breeding, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract Secreted proteins are a large class of proteins secreted from the cells and involve various important biological processes including signal transductions, cell proliferation, differentiation, and apoptosis. The total proteins secreted from cells, tissues, organs or organisms are referred to as secretome. Adipose tissue, which was once considered as a simple energy storage depot, now is recognized as the largest endocrine organ, which secretes a number of hormones, cytokines, growth factors, collectively called adipokines. Adipokines exert crucial roles in various physiological and pathological processes. With the development of proteomics technology in recent years, adipose secretome has been one of the research hot spots in the field of adipose biology, obesity, and its comorbidities. In this review, we briefly describe bioinformatics and proteomics strategies to decipher the secretome, summarize the progress in the secretomics of adipose-derived stem cells, preadipocytes, adipocytes, and three types of adipose tissues (white, brown and beige adipose tissues), and lastly discuss the challenges and future trends in adipose secretomics.

Key words adipose tissue; secretomics; proteome; bioinformatics; adipokine

细胞蛋白分为分泌蛋白(secreted protein)、膜蛋白(membrane protein)和胞内蛋白(intracellular protein)三类。其中,分泌蛋白是由细胞主动运输到细胞外的一大类具有重要生物学功能的蛋白,是细胞、组织和器官间信息交流的重要信号分子,主要参与细胞信号转导、细胞的增殖、分化及凋亡等多种生物学过程。细胞分泌蛋白的持续性改变与疾病密切相关^[1]。随着分泌蛋白研究的深入,人们发现机体中所有细胞都不同程度地向细胞外分泌一定的蛋白。由于分泌蛋白具有重要的生物学作用,因此,除少数分泌蛋白是持续性分泌的之外,大多数分泌蛋白的分泌都受到严格的调控。

一、分泌蛋白的分泌途径

细胞通过经典和非经典两个分泌途径将分泌蛋白运输至细胞外。经典分泌途径是通过内质网-高尔基体分泌通路将蛋白运输至细胞外,这类分泌蛋白通常具有N端信号肽(signal peptide)。非经典分泌途径不依赖于内质网和高尔基复合体通路,这类分泌蛋白没有信号肽,它们在游离的核糖体中合成,其分泌机制还不是很清楚,目前只知道这类分泌蛋白可直接通过细胞膜或由ABC转运体(transporter)

* 国家自然科学基金(31872346; 31572392)资助课题

[△] 通讯作者 wangning@neau.edu.cn

将蛋白运输至细胞膜外;也可通过再循环胞内体(endosome)直接跨细胞膜将蛋白运至细胞外;还能由溶酶体、胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)如外泌体(exosomes)等将蛋白运输至细胞膜外^[2,3]。

二、分泌组学

(一) 分泌组学的概念 分泌组学(secretomics)是蛋白质组学的一个分支。分泌组一词最早由 Tjalsma 等(2000)分析枯草芽孢杆菌的分泌蛋白时提出,之后人们对它重新做了定义,将在特定时间和条件下,由细胞、组织和器官通过已知和未知机制运至细胞外的所有蛋白统称为分泌组(secretome)。由于微生物的均一性高,能在无血清培养基中生长,因此,微生物分泌组学研究相对比较简单,相关研究开展的也比较早。高等生物因其组成的复杂性和组织多样性,开展研究的难度较大,使得其分泌组学研究起步较晚,进展也较慢。但是近年来,由于蛋白组学技术的成熟和完善,分泌组学研究目前已广泛应用于动物、植物和微生物等领域。

(二) 分泌组学研究的策略

1. 生物信息学分析策略:生物信息学分析策略就是利用基因组、转录组和蛋白质组数据,运用生物信息学方法预测出特定细胞、组织或器官的分泌组。经典分泌蛋白在其 N 端具有信号肽序列,信号肽通常由 3 部分构成,即碱性氨基酸残基组成的 N 端区、疏水性氨基酸残基组成的中部区以及极性氨基酸残基组成的 C 端区域。基于这一结构特点,可采用生物信息学方法对基因组和转录组数据预测的所有蛋白以及实验获得的蛋白质组数据进行分析,获取所有可能的经典分泌蛋白(Hathout 等, 2007)。目前常用分析软件有 SignalP 4.1、Protein Prowler、SigCleave、SPOCTOPUS、SpScan、SIG-Pred 和 Signal-BLAST 等。非经典分泌蛋白也可以采用生物信息学方法进行预测,常用的软件有 SecretomeP2.0,另外,还可以查询分泌蛋白数据库,如 SPD 分泌蛋白数据库、血浆蛋白质数据库(The Plasma Proteome Database, PPD)、人血浆多肽图谱数据库(the Human Plasma Peptide Atlas)、外泌体(exosomes)及微泡(microvesicles)蛋白的数据库 ExoCarta 和 Vesiclepedia。

利用生物信息学分析策略已建立起了人、猪及河豚等动物的分泌组(Klee 等, 2004, Mutch 等, 2009, Dahlman 等, 2012)。比较而言,利用这一策略容易获得分泌组,但是存在许多假阳性和假阴性结果。此外,由于现有的基因组、转录组和蛋白质组数据不完整等原因,致使很难鉴定出所有的分泌蛋白,

加之,基因的 mRNA 表达水平和蛋白表达水平的一致性不高,因此,用这一策略难以对分泌蛋白做出准确的定量分析。

2. 蛋白组学分析策略:蛋白组学分析是最直接的研究策略,应用也最为广泛,它是直接收集特定细胞、组织或器官的分泌蛋白,采用蛋白组学技术进行定性和定量分析从而获得其分泌组。近年来,由于高效液相色谱等非凝胶分离技术和高通量、高灵敏、高分辨率的基于标记和非标记的定量蛋白质组分析技术的建立,以及生物信息学分析方法的发展,极大地推动了定量蛋白组学的飞速发展^[3,4],也带动了分泌组学研究的快速发展^[5]。目前,分泌组学研究集中于体外细胞的分泌组研究,即采用无血清培养基培养细胞,培养一段时间后收集细胞培养基(CM),开展 CM 的蛋白组学分析。由于分泌蛋白的浓度普遍比较低,通常需先对所收集的 CM 进行浓缩、纯化和脱盐处理。为获得尽可能多的分泌蛋白,并同时减少样品损失,常采用超滤法、超离心、透析、冻干以及沉淀等方法中的一种或几种联合使用来处理样品。随着研究的深入,人们发现绝大多数分泌蛋白都是糖基化蛋白,基于此,目前已建立凝集素法和酰肼法等糖基化蛋白的富集方法,用这些方法不仅能富集分泌蛋白,还能消除或减少细胞蛋白的污染。采用无血清培养可以避免胎牛血清蛋白对实验结果的干扰,减少假阳性。但是,随着无血清培养基的广泛使用,人们发现它会降低细胞增殖,导致死亡细胞数增加、细胞的蛋白合成和蛋白分泌模式等发生改变^[3,6]。为解决这一问题,人们建立了代谢标记方法,即通过在正常细胞培养基中添加非天然氨基酸(甲硫氨酸类似物, AHA)或同位素标记的赖氨酸或精氨酸来标记分泌蛋白,从而避免血清蛋白的干扰^[3,7]。

(三) 脂肪的分泌组学分析 脂肪细胞能分泌多种激素、细胞因子、生长因子、补体以及胞外基质蛋白等,这些分泌因子统称为脂肪细胞因子(adipokine)^[8]。脂肪组织细胞分泌的所有脂肪细胞因子称为脂肪分泌组(adipose secretome 或 adipokinome)^[9]。脂肪细胞因子通过自分泌、旁分泌及内分泌方式发挥作用^[9],参与调控机体能量平衡、食物摄取、脂类代谢、胰岛素敏感性、脂肪生成以及免疫细胞的募集等^[10,11]。脂肪组织分泌组的改变与肥胖症及其相关的疾病(胰岛素抵抗、2 型糖尿病和代谢综合症等)密切相关(Alvarez-Llamas 等, 2007)。最新研究显示,脂肪细胞分泌组的特征能

反映脂肪组织的健康状态^[12,13]。

鉴于脂肪组织在动物生长发育以及疾病发生中的重要性,人类很早就开展了脂肪组织的蛋白质组学研究,但受限于分析技术,对脂肪分泌组的研究却很少。近年来,伴随蛋白质组学技术的发展和成熟,脂肪分泌组研究成为了脂肪生物学研究的热点之一(Chen 等, 2008; Renes 等, 2013),目前已开展了脂肪组织间充质干细胞(adipose-derived stem cell, ASC)、前脂肪细胞、脂肪细胞及白色、棕色和米色脂肪组织的分泌组研究。

1. 脂肪间充质干细胞(ASC)的分泌组分析: Zvonic 等(2007)最早比较分析了人皮下脂肪 ASC 细胞在分化和非分化状态下的分泌组,研究发现,表达量差异超过 2 倍以上的分泌蛋白有 80 多个,其中约 50% 的分泌蛋白在鼠 3T3L1 前脂肪细胞分泌组和人乳腺脂肪组织的组织液中已有了报道。同年, Kilroy 等(2007)分析了外源细胞因子和 LPS 处理对人 ASC 细胞分泌组的影响,结果发现,EGF 或 bFGF 处理促进 ASC 细胞分泌 HGF(hepatocyte growth factor); LPS 处理促进 ASC 细胞分泌造血因子和促炎因子。Lee 等(2010)分析了 TNF α 处理对人 ASC 细胞分泌组的影响,共鉴定出 187 个分泌蛋白,发现 TNF α 处理会引起 118 个分泌蛋白的分泌增加,这其中包括多种细胞因子、趋化因子以及蛋白酶。

Amos 等(2010)比较分析了在 2D 和 3D 培养条件下 ASC 细胞的转录组与分泌组间的差异,研究发现,3D 培养显著增加 ASC 细胞分泌细胞外基质和可溶性分泌因子。Chiellini(2008)等比较分析了人 ASC 细胞定向分化为脂肪细胞和骨细胞早期阶段的分泌组,鉴定出 73 个分泌蛋白。Frazier 等(2013)开展了低氧和常规氧浓度对 ASC 细胞分泌组的影响分析,发现低氧导致 ASC 细胞的细胞外基质(ECM)蛋白和 II 型细胞因子分泌下降。Mitchell 等分析了人 ASC 细胞的胞外囊泡(EV)蛋白和非胞外囊泡蛋白(可溶性蛋白),鉴定出 96 个可溶性蛋白,301 个胞外囊泡蛋白^[14]。

目前,人们已开展了不同培养条件、不同处理及不同分化阶段 ASC 细胞的分泌组研究,鉴定出了大量分泌蛋白因子。功能研究发现,ASC 细胞的分泌蛋白因子能促进血管生成和再生、促进免疫调节、骨和软骨及肌肉等的再生^[14]。深入开展 ASC 细胞分泌组研究将有助于揭示脂肪组织生长发育的分子机制,同时将推动基于 ASC 细胞分泌组的再生医学新药的研发。

2. 前脂肪细胞和脂肪细胞的分泌组分析: 鼠 3T3L1 细胞系最早被应用于前脂肪细胞和脂肪细胞的分泌组研究。Kratchmarova 等(2002)分析了 3T3L1 前脂肪细胞和脂肪细胞的分泌组,鉴定出 4 个前脂肪细胞和成熟脂肪细胞差异分泌的蛋白。Wang 等(2004)分析 3T3L1 前脂肪细胞在分化过程中的分泌蛋白,共鉴定出 41 个分泌蛋白。Chen 等(2005)比较分析大鼠脂肪细胞在有和无胰岛素情况下的分泌蛋白,共鉴定出 84 个经典的分泌蛋白,这些分泌蛋白包括细胞因子、酶、补体及受体等。Zhou 等(2009)分析胰岛素对 3T3L1 脂肪细胞分泌组的影响,发现胰岛素处理可显著增强其中 179 个分泌蛋白的分泌,但降低另外 53 个分泌蛋白的分泌;通路分析显示,3T3L1 脂肪细胞的分泌组显著富集于 ECM-受体互作通路和聚糖结构降解通路。Rosenow 等(2010)分析人前脂肪细胞系 SGBS 的分泌组,共鉴定出 80 个分泌蛋白。Kim 等(2010)分析原代前脂肪细胞分化过程中的分泌组,鉴定出了 474 个分泌蛋白,其中 177 个分泌蛋白随着脂肪细胞的分化其分泌量显著升高,相反,另外 60 个则显著下降。Zhong 等(2010)分析了人原代前脂肪细胞在分化过程中的分泌组变化,共鉴定出 420 个分泌蛋白,其中 164 个蛋白具有信号肽,148 个蛋白定位于细胞外室,且这些分泌蛋白绝大多数在脂肪细胞分化过程中呈现差异表达。Lehr 等(2012)分析了人脂肪细胞分泌组,共鉴定出 347 蛋白,其中 263 个推测为分泌蛋白。Knebel 等分析了正常小鼠(C57Bl6)、转基因鼠(alb-SREBP-1c,具有“健康”的肥胖表型)和饮食诱导的病理性肥胖小鼠的脂肪细胞分泌组,共鉴定出了 922 个分泌蛋白,其中 543 个为典型或非典型的分泌蛋白,379 个蛋白没有已知的分泌信号序列。分泌组分析显示,转基因小鼠与正常小鼠脂肪细胞的分泌组相似,但两者都与饮食诱导的病理性肥胖小鼠的分泌组明显不同^[13]。

从目前的研究看,前脂肪细胞和脂肪细胞的分泌组不同^[11]。脂肪细胞因子的分泌与脂肪细胞的形态、所处局部环境及解剖部位有关,不同解剖部位脂肪细胞的分泌组不同^[9,11,15]。Meissburger 等^[16]分析小鼠皮下和内脏脂肪组织来源的前脂肪细胞分泌组,共鉴定出 113 个分泌蛋白,其中最多的是细胞外基质蛋白和受体蛋白;比较后发现皮下和内脏脂肪组织的前脂肪细胞都分泌的蛋白只占 42%。研究发现,许多因素影响前脂肪细胞和脂肪细胞的分泌组。Rosenow 等(2013)分析低氧模拟物(CoCl₂)

对人 SGBS 前脂肪细胞和成熟脂肪细胞分泌组的影响,结果发现,低氧模拟物处理可致人脂肪细胞 SGBS 的多数差异分泌蛋白分泌下降,却能使脂肪细胞的胶原蛋白和血清白蛋白分泌增加。Rosenow 等(2012)和 Renes 等(2014)发现热量限制(caloric restriction)和白藜芦醇(RSV)都能致人脂肪细胞 SGBS 的分泌组改变,但两者对人脂肪细胞分泌组的影响不完全相同。Qiao 等分析了葡萄糖限制处理对人脂肪细胞 SGBS 分泌组的影响,共检测到 338 个分泌蛋白,发现葡萄糖限制处理与正常葡萄糖量培养的脂肪细胞分泌组存在 39 个差异分泌蛋白,这些差异蛋白可以分为细胞外基质修饰、细胞粘附、补体系统蛋白、脂代谢和组织稳定等功能类^[17]。

分泌组比较分析发现,不同物种和同物种不同品系间脂肪细胞的分泌组也不尽相同。例如鼠脂肪细胞能分泌脂肪细胞因子 resistin,但是人脂肪细胞并不分泌 resistin(Mutch 等,2009)。Hartwig 等(2014)分析 C57BL/Ks(BKS)和 C57BL/6(C57)两个品系小鼠内脏脂肪的脂肪细胞分泌组,共鉴定出 116 个新脂肪细胞因子,其中有 35 个在这两个品系小鼠的内脏脂肪细胞中差异分泌。Knebel 等分析了 C57BL/6(C57)、C57BL/KS(BKS)、C57BL/KS·Cg-Leprd(dbdb)以及 C57BL/KS·Cg-Lep^{ob}(obob)四个小鼠模型内脏脂肪细胞的分泌组,共鉴定出 873 个可能的分泌蛋白,其中 216 个蛋白具有信号肽,290 个没有典型的信号肽,其余 367 个蛋白没有已知的信号肽序列;分泌组比较分析发现,这四种小鼠模型的分泌蛋白之间差异很大,这些显著差异的分泌蛋白主要为参与脂类运输的蛋白、酶及信号蛋白^[12]。

目前已知许多脂肪细胞因子是通过胞外囊泡,特别是外泌体,分泌到胞外。因此,开展胞外囊泡的蛋白组学分析有助于了解脂肪细胞的分泌组,揭示分泌蛋白的分泌机制。Hartwig 等(2019)开展了人皮下脂肪脂肪细胞的外泌体蛋白组分析,共鉴定出 884 个外泌体蛋白,与数据库的比较分析发现,其中 212 个外泌体蛋白存在于人的脂肪组织分泌组,有 672 个为外泌体特异性蛋白,这些外泌体特异蛋白主要为无信号肽的分泌蛋白,主要参与 mTOR 和整合素等信号通路以及膜介导的过程^[18]。Tamara 等(2020)以 C3H10T1/2 细胞为材料,分别利用棕榈酸和油酸建立了两个鼠脂肪细胞肥大的细胞模型,利用高糖和高胰岛素处理建立了一个胰岛素抵抗脂肪细胞模型。这三个病理性脂肪细胞模型的胞外囊泡

蛋白组分析发现,与正常脂肪细胞相比,病理性脂肪细胞的胞外囊泡蛋白有很高比例的肥胖和胰岛素抵抗相关蛋白;功能分析显示,病理性脂肪细胞能通过分泌 EVs 诱导正常脂肪细胞发生分化/肥大和胰岛素抵抗^[19]。

3. 脂肪组织的分泌组学分析:脂肪组织一般分为白色和棕色脂肪组织。白色脂肪组织是机体脂肪组织的主要成分,而棕色脂肪组织主要存在于新生儿,成人只残存少量棕色脂肪组织^[20]。近年发现,交感神经兴奋,如在运动或处于低温环境下,白色脂肪组织会发生棕色化,形成一种新型脂肪组织,即米色脂肪组织。米色和棕色脂肪细胞虽然形态相似,都具有产热功能,但是它们起源不同,在体内的分布不同,而且它们的基因表达特征和基础 UCP1 水平也不同。普遍认为棕色脂肪和米色脂肪功能互补和重叠,共同维持机体能量平衡。

脂肪组织由多种不同类型的细胞构成,不同类型细胞间存在相互作用。因此,与前述的各类细胞的分泌组相比,脂肪组织的分泌组更为复杂,Fain 等(2004)报道,脂肪组织分泌的绝大多数脂肪细胞因子是非脂肪细胞分泌的。目前,由于技术原因,很难获得足够的脂肪组织间隙液,因此,关于体内脂肪组织分泌组的研究报道较少,目前的研究报道多是以整个脂肪组织为材料,先开展转录组和蛋白组分析,然后再借助于生物信息学方法预测出脂肪组织的分泌组。

(1) 白色脂肪组织的分泌组学分析: Celis 等(2005)开展了人乳腺脂肪组织间隙液的蛋白质组分析,发现乳腺脂肪组织能分泌许多细胞因子和生长因子。Alvarez-Llamas 等(2007)采用脂肪组织块培养分析人内脏脂肪组织分泌组,共鉴定出 259 个分泌蛋白,根据功能,这些分泌蛋白可归类为信号功能、细胞外基质、免疫功能、蛋白降解及其他功能共五类。不同脂肪组织的分泌组比较分析发现,皮下脂肪组织分泌大量有益于代谢的脂肪细胞因子,如瘦素和脂联素;内脏脂肪组织的分泌能力高于皮下脂肪组织,且分泌大量促炎细胞因子^[9,11]。脂肪组织分泌组受到疾病如肥胖和癌症等的影响,Dahlman 等(2012)采用表达芯片分析了 347 个脂肪细胞因子在健康和肥胖人群不同部位脂肪组织的表达情况,结果发现,60% 脂肪细胞因子受到肥胖的调控;50% 脂肪细胞因子在内脏和皮下脂肪间差异表达。

白色脂肪过多会导致肥胖、胰岛素抵抗性等疾病的发生,目前已证实,白色脂肪分泌的脂肪细胞因

子参与这些疾病的发生和发展。因此,深入研究白色脂肪细胞和组织的分泌组,将有助于揭示白色脂肪组织生长发育的分子机制和肥胖症等代谢疾病发生发展的机理,同时还将为肥胖症、胰岛素抵抗等代谢性疾病的治疗提供一系列的潜在药物靶点。

(2) 棕色和米色脂肪组织的分泌组分析:棕色和米色脂肪组织不仅是一个产热组织,也是机体重要的内分泌器官^[21]。棕色和米色脂肪细胞分泌的脂肪细胞因子,统称为棕色脂肪细胞因子(brown adipokines 或 batokines)。棕色脂肪细胞因子同样也在机体代谢中发挥重要作用^[20]。

Wang 等利用小鼠分泌蛋白数据库、小鼠组织芯片表达数据及棕色脂肪细胞分化表达谱芯片数据,采用生物信息学分析方法,鉴定出了 26 个棕色脂肪组织富集的分泌因子^[22]。Khan 等^[23]比较鼠棕色和白色脂肪细胞在有去甲肾上腺素处理情况下两者分泌组的差异,结果发现,白色和棕色脂肪细胞的分泌组不同,相比而言,白色脂肪细胞分泌较多的糖代谢相关蛋白,而棕色脂肪细胞分泌较多的细胞外基质成分;研究发现肾上腺素处理对这两种细胞分泌组的影响也不同。Deshmukh 等^[24]分析了基础状态和肾上腺素处理下人白色和棕色脂肪细胞的分泌组,研究共鉴定出 471 个分泌蛋白,这些分泌蛋白主要为激素、生长因子、细胞外基质蛋白以及补体系统的蛋白;其中有 37 个蛋白仅存在于白色脂肪细胞分泌组,101 个仅存在于棕色脂肪细胞分泌组;进一步的功能分析发现,EPDR1 是一个新的棕色脂肪细胞因子,它在棕色脂肪定向中发挥重要作用。

目前关于米色脂肪组织分泌组的研究报道很少。Svensson 等利用转基因鼠(aP2-PRDM16)体内具有大量米色脂肪的特点,分离了该转基因鼠和野生型小鼠腹股沟脂肪组织的前脂肪细胞,采用 TMT 标记定量蛋白组学技术分析米色脂肪细胞的分泌组。研究共检测到 5 360 个蛋白,其中约 1 260 个分泌蛋白在转基因鼠富集;首次实验证实 Slit2 是米色脂肪细胞分泌的一个脂肪细胞因子,发现 Slit2 在分泌后会被蛋白酶切割为几个小的蛋白片段,其中的 C 端蛋白片段(slit2-C)具有促进脂肪产热,提高能量消耗以及改善机体葡萄糖平衡的作用^[25]。

棕色脂肪细胞因子能通过自分泌和旁分泌方式作用于脂肪组织内不同的细胞类型,促进脂肪生成、血管生成、免疫细胞互作、神经突生长;也能通过内分泌的方式作用于肝脏、肌肉、肠道以及中枢神经系统调控机体能量代谢平衡^[20 26]。棕色和米色脂肪

组织的激活可以防止肥胖症及其相关疾病的发生。目前已知棕色脂肪细胞因子在棕色和米色脂肪的激活中发挥重要作用。因此,深入开展棕色和米色脂肪组织的分泌组研究,不仅可以揭示这两种脂肪组织生长发育以及机体代谢的调控机制;还将促进开发出肥胖症及其相关疾病的棕色脂肪细胞因子类治疗药物。

三、结语与展望

目前已报道的前脂肪细胞和脂肪细胞分泌蛋白的数量已超过 600 个(Renes 等, 2013),新的脂肪细胞因子还在不断发现^[20 22]。随着技术的不断进步和研究的深入,人们发现脂肪细胞除了分泌蛋白因子,还分泌许多非蛋白因子,如 T3 和 miRNA^[27]。因此,未来脂肪分泌组学的研究范围还将进一步扩大,不仅研究分泌蛋白因子,还需要研究 miRNA、mRNA、多糖和脂类等非分泌蛋白因子。目前棕色脂肪分泌组研究主要集中于鼠,关于人棕色和米色脂肪组织分泌组的研究较少,考虑到人和鼠的物种差异,未来有必要加大对人棕色和米色脂肪的研究,分析二者分泌组的差异,揭示人棕色脂肪细胞因子在体内代谢中的作用和机制。另外,当前脂肪分泌组研究多集中于体外培养的细胞,由于体外研究结果不一定能完全反映体内真实的分泌情况,因此,未来有必要重点开展体内脂肪组织的分泌组学研究。考虑到体内脂肪组织间隙液难以大量获取,加之分泌蛋白浓度低等,因此,未来尚需要尝试建立微透析、毛细管超滤等更为敏感、准确和标准化的蛋白组学分析技术和高效的生物信息学分析技术。

脂肪分泌组研究进展的很快,一些脂肪细胞因子的具体功能和作用机制已被阐明^[11 28 29],但是还有许多脂肪分泌因子的生理和病理作用及其分泌机制尚不清楚。因此,未来脂肪分泌组学的另一个重要研究方向就是脂肪分泌因子的功能与作用机制分析,需要确定它们的作用方式、受体、靶细胞和靶组织等。相信随着脂肪分泌组研究的深入,脂肪组织生长发育和机体代谢的调控机制将被阐明,并将推动治疗肥胖症及其相关疾病药物的研究和开发。

参 考 文 献

- 1 Aleckovic M, Wei Y, LeRoy G, et al. Identification of Nidogen 1 as a lung metastasis protein through secretome analysis. *Genes Dev* 2017, 31 : 1439 ~ 1455.
- 2 Pardo M, Roca-Rivada A, Seoane LM, et al. contribution of adipose tissue secretome analysis to obesity research. *Endo-*

- crine 2012 41 : 374 ~ 383.
- 3 Brandi J , Manfredi M , Speziali G , et al. Proteomic approaches to decipher cancer cell secretome. *Semin Cell Dev Biol* 2018 78 : 93 ~ 101.
 - 4 常乘 , 朱云平. 基于质谱的定量蛋白质组学策略和方法研究进展. *中国科学: 生命科学* 2015 45 : 425 ~ 438.
 - 5 Eichelbaum K , Krijgsveld J. Combining pulsed SILAC labeling and click-chemistry for quantitative secretome analysis. *Methods Mol Biol* 2014 1174 : 101 ~ 114.
 - 6 Papaleo E , Gromova I , Gromov P. Gaining insights into cancer biology through exploration of the cancer secretome using proteomic and bioinformatic tools. *Expert Rev Proteomics* 2017 14 : 1021 ~ 1035.
 - 7 Weng Y , Sui Z , Shan Y , et al. In-Depth Proteomic Quantification of Cell Secretome in Serum-Containing Conditioned Medium. *Anal Chem* 2016 88 : 4971 ~ 4978.
 - 8 Rodríguez A , Ezquerro S , Méndez-Giménez L , et al. Revisiting the adipocyte: a model for integration of cytokine signaling in the regulation of energy metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2015 309 : E691 ~ E714.
 - 9 Kiliaan AJ , Arnoldussen IA , Gustafson DR. Adipokines: a link between obesity and dementia? *Lancet Neurol* 2014 , 13 : 913 ~ 923.
 - 10 Henry SL , Bensley JG , Wood-Bradley RJ , et al. White adipocytes: more than just fat depots. *Int J Biochem Cell Biol* 2012 44 : 435 ~ 440.
 - 11 Challa TD , Straub LG , Balaz M , et al. Regulation of de novo adipocyte differentiation through cross talk between adipocytes and preadipocytes. *Diabetes* 2015 64 : 4075 ~ 4087.
 - 12 Knebel B , Goeddeke S , Poschmann G , et al. Novel insights into the adipokinome of obese and obese/diabetic mouse models. *Int J Mol Sci* 2017 18 : 1928.
 - 13 Knebel B , Fahlbusch P , Poschmann G , et al. Adipokinome signatures in obese mouse models reflect adipose tissue health and are associated with serum lipid composition. *Int J Mol Sci* 2019 20 : 2559.
 - 14 Mitchell R , Mellows B , Sheard J , et al. Secretome of adipose-derived mesenchymal stem cells promotes skeletal muscle regeneration through synergistic action of extracellular vesicle cargo and soluble proteins. *Stem Cell Res Ther* , 2019 10 : 116.
 - 15 Hocking SL , Wu LE , Guilhaus M , et al. Intrinsic depot-specific differences in the secretome of adipose tissue , preadipocytes , and adipose tissue-derived microvascular endothelial cells. *Diabetes* 2010 59 : 3008 ~ 3016.
 - 16 Meissburger B , Perdikari A , Moest H , et al. Regulation of adipogenesis by paracrine factors from adipose stromal-vascular fraction – a link to fat depot-specific differences. *Biochim Biophys Acta* 2016 1861 : 1121 ~ 1131.
 - 17 Qiao Q , Bouwman FG , Baak MAV , et al. Mariman ECM glucose restriction plus refeeding in vitro induce changes of the human adipocyte secretome with an impact on complement factors and cathepsins. *Int J Mol Sci* , 2019 20 : 4055.
 - 18 Hartwig S , De Filippo E , Göddeke S , et al. Exosomal proteins constitute an essential part of the human adipose tissue secretome. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom* , 2019 1867 : 140172.
 - 19 Tamara C , Nerea LB , Belén BS , et al. Vesicles shed by pathological murine adipocytes spread pathology: characterization and functional role of insulin resistant/hypertrophied adiposomes. *Int J Mol Sci* 2020 21 : 2252.
 - 20 Wang GX , Zhao XY , Lin JD. The brown fat secretome: metabolic functions beyond thermogenesis. *Trends Endocrinol Metab* 2015 26 : 231 ~ 237.
 - 21 Villarroya F , Cereijo R , Villarroya J , et al. Brown adipose tissue as a secretory organ. *Nat Rev Endocrinol* 2017 13 : 26 ~ 35.
 - 22 Wang GX , Zhao XY , Meng ZX , et al. The brown fat-enriched secreted factor Nrg4 preserves metabolic homeostasis through attenuation of hepatic lipogenesis. *Nat Med* 2014 , 20 : 1436 ~ 1443.
 - 23 Ali Khan A , Hansson J , Weber P , et al. Comparative secretome analyses of primary murine white and brown adipocytes reveal novel adipokines. *Mol Cell Proteomics* 2018 , 17 : 2358 ~ 2370.
 - 24 Deshmukh AS , Peijs L , Beaudry JL , et al. Proteomics-based comparative mapping of the secretomes of human brown and white adipocytes reveals EPDR1 as a novel adipokine. *Cell Metab* 2019 30 : 963 ~ 975.
 - 25 Svensson KJ , Long JZ , Jedrychowski MP , et al. A Secreted slit2 fragment regulates adipose tissue thermogenesis and metabolic function. *Cell Metab* 2016 23 : 454 ~ 466.
 - 26 Scheele C , Wolfrum C. Brown adipose crosstalk in tissue plasticity and human metabolism. *Endocr Rev* 2020 41 : 53 ~ 65.
 - 27 Villarroya F , Gavaldà-Navarro A , Peyrou M , et al. Brown adipokines. *Handb Exp Pharmacol* 2019 251 : 239 ~ 256.
 - 28 Chen Z , Wang GX , Ma SL , et al. Nrg4 promotes fuel oxidation and a healthy adipokine profile to ameliorate diet-induced metabolic disorders. *Mol Metab* , 2017 6 : 863 ~ 872.
 - 29 Chalise JP , Hashimoto S , Parajuli G , et al. Feedback regulation of Arid5a and Ppar- γ 2 maintains adipose tissue homeostasis. *Proc Natl Acad Sci USA* , 2019 116 : 15128 ~ 15133.