

Молекулярные и клеточные механизмы адипогенеза

Егоров А.Д.¹, Пеньков Д.Н.², Ткачук В.А.^{1,2}

¹ГБОУ ВПО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва
(ректор — академик РАН В.А. Садовничий)

²ФГБУ Российский кардиологический научно-производственный комплекс, Москва
(директор - академик РАН Е.И. Чазов)

Ожирение является одной из причин метаболического синдрома, включающего инсулинорезистентность, гипертриглицеридемию и артериальную гипертензию, а также серьезным фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. Это обусловлено тем, что жировая ткань — эндокринный орган, и нарушения ее нормальной функции приводят к системным последствиям. Объем жировой ткани зависит как от размера жировых клеток, так и от их общего количества. Процессом, определяющим количество жировых клеток, является адипогенная дифференцировка. Транскрипционный каскад, регулирующий эту дифференцировку, хорошо изучен. Мастер-регулятором адипогенной дифференцировки является PPAR γ — ядерный рецептор, лиганды которого используются в терапии сахарного диабета 2-го типа (СД2) и метаболического синдрома. В статье рассмотрены основные молекулярные и клеточные механизмы адипогенеза, а также влияние на этот процесс инсулина, глюкокортикоидов, цАМФ-активирующих агентов, ядерных рецепторов и факторов транскрипции. Описаны регуляторные области генома, способные связывать множество факторов транскрипции при адипогенной дифференцировке. Обсуждены наиболее перспективные мишени для поиска новых лекарственных препаратов для лечения ожирения и метаболического синдрома, среди которых, наряду с PPAR γ , находится гомеодомен-содержащие белки Pbx1 и Prepl.

Ключевые слова: адипогенез; транскрипционные факторы; активация транскрипции; PPAR γ ; гомеодомен-содержащие белки

Molecular and cellular mechanisms of adipogenesis

Egorov A.D.¹, Penkov D.N.², Tkachuk V.A.^{1,2}

¹Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

²Russian Cardiology Research and Production Complex, Moscow, Russia

The main components of metabolic syndrome include insulin resistance, hypertriglyceridemia and arterial hypertension. Obesity is the cause of metabolic syndrome, mainly as a consequence of the endocrine function of adipose tissue. The volume of adipose tissue depends on the size of individual adipocytes and on their number. The number of adipocytes increases as a result of enhanced adipocyte differentiation. The transcriptional cascade that regulates this differentiation has been well studied. The major adipogenic transcription factor peroxisome proliferator-activated receptor gamma is a ligand-activated nuclear receptor with essential roles in adipogenesis. Its ligands are used to treat metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus. The present article describes the basic molecular and cellular mechanisms of adipogenesis and discusses the impact of insulin, glucocorticoids, cyclic adenosine monophosphate-activating agents, nuclear receptors and transcription factors on the process of adipogenesis. New regulatory regions of the genome that are capable of binding multiple transcription factors are described, and the most promising drug targets for the treatment of metabolic syndrome and obesity, including the homeodomain proteins Pbx1 and Prepl, are discussed.

Keywords: adipogenesis; transcription factors; transcriptional activation; PPAR γ ; homeodomain proteins

DOI: 10.14341/DM2015212-19

Проблема метаболического синдрома, характеризующегося развитием висцерального ожирения в сочетании с инсулинорезистентностью и артериальной гипертензией, является крайне актуальной в настоящее время. Особую роль в развитии метаболического синдрома играет жировая ткань. Она чувствительна к действию инсулина, и, в то же время, является одним из основных регуляторов метаболизма. Ее избыточное развитие, возникающее за счет гипер-

плазии и/или гипертрофии составляющих ее клеток, сначала приводит к развитию ожирения, а затем и инсулинорезистентности. Транскрипционный каскад, обуславливающий развитие клеток жировой ткани, относительно хорошо изучен, и известно множество факторов, регулирующих транскрипцию генов в адипоцитах. Однако для более полного понимания адипогенной дифференцировки необходим комплексный взгляд на процесс.

Функции жировой ткани

Возникновение жировой ткани в процессе эволюции связывают с тем, что по мере увеличения размеров многоклеточных организмов возрастал объем потребляемых ими питательных веществ, и появилась необходимость в органе-накопителе энергетически ценных молекул для обеспечения равномерности процесса потребления. Этим органом стала жировая ткань, клетки которой (адипоциты) способны запасать триглицериды. Триглицериды накапливаются в липидных каплях адипоцитов, а при необходимости (во время голодания, при активной физической работе) расщепляются до глицерина и жирных кислот. Регуляция данного переключения осуществляется гуморальным путем: под действием инсулина происходит липогенез, а при стимуляции глюкагоном — липолиз.

Помимо своей первичной функции запасаания энергии жировая ткань является важнейшим эндокринным органом. Секретируемые ею гормоны, называемые также адипокинами, непосредственно регулируют метаболические процессы всех тканей организма. Двумя наиболее изученными адипокинами являются лептин и адипонектин. Лептин вызывает чувство насыщения за счет способности регулировать синтез и высвобождение медиатора голода — нейропептида Y. Адипонектин стимулирует β -окисление жирных кислот и поддерживает уровень глюкозы в кровотоке [1], а его высокомолекулярная форма улучшает регенерацию при сердечно-сосудистых заболеваниях [2]. Совместное действие двух этих гормонов имеет синергический эффект, выражающийся в значительном увеличении чувствительности к инсулину, показанном на модели липоатрофических мышей [3].

Белая жировая ткань является преобладающим типом жировой ткани у млекопитающих. Она расположена под кожей (подкожная жировая ткань), а также вокруг внутренних органов (висцеральная жировая ткань). Наряду с белым жиром, у млекопитающих существует второй тип жировой ткани — бурая жировая ткань, отличающаяся морфологически и функционально. Два типа жировой ткани состоят из разных клеток: белых и бурых адипоцитов.

Бурая жировая ткань представляет собой малую часть жировой ткани организма взрослого человека и сосредоточена в нескольких участках тела: в подмышечных впадинах, между лопаток и на задней поверхности шеи. Темный цвет ткани обусловлен большей васкуляризацией и высоким содержанием цитохромов в митохондриях адипоцитов, количество митохондрий увеличено вследствие выполнения специфической функции. В бурых адипоцитах экспрессируется ген термогенина *UCP1* (uncoupling protein 1), разобщающего дыхательную цепь белка, что позволяет транспортируемым протонам входить в митохондриальный матрикс без синтеза АТФ. Таким образом, скорость клеточного дыхания возрастает, и генерируется тепло. Бурые адипоциты отличаются от белых по морфологии: клетки имеют меньший размер, ядро часто располагается в центре клетки (у белых — всегда эксцентрично), а триглицериды накапливаются во множестве маленьких

липидных капель, поэтому эти клетки иногда называют многокапельными адипоцитами.

Появление избыточной массы тела и развитие ожирения связано с экспансией белой жировой ткани. Это увеличение происходит при нарастании объема адипоцитов (гипертрофии) и/или изменении их количества (гиперплазии) [4], сопровождающих ожирением и инсулинорезистентностью. Гиперплазия адипоцитов чаще всего сопутствует наиболее тяжелым формам ожирения, развивающимся, как правило, в молодом возрасте. Основной причиной ожирения является нарушение баланса между накоплением и потреблением энергии. Ускоренное превращение преадипоцитов в адипоциты как таковое не способно коренным образом изменить этот баланс. Сходным образом, изменение количества жировых клеток является неправильным подходом лечения ожирения, так как в отсутствие адипоцитов жир накапливается в других органах и приводит к еще более тяжелым последствиям [5]. Избыточный объем и эктопическая локализация жировой ткани приводят к нарушению не только ее метаболической, но и секреторной функции, что сопровождается развитием осложнений метаболического синдрома: ишемической болезни сердца, атеросклероза, почечной недостаточности, неалкогольной жировой болезни печени. Изучение механизмов индукции патологического адипогенеза и сопутствующих нарушений сигнализации жировой ткани представляет большой интерес для понимания путей адаптации метаболизма современного человека, а также имеет первостепенное значение для разработки эффективных способов профилактики и лечения метаболического синдрома.

Сроки формирования функционирующей жировой ткани зависят от вида. У грызунов белая жировая ткань возникает большей частью после рождения, хотя с помощью чувствительных методов можно наблюдать экспрессию маркеров жировой ткани в подкожной области уже на 16,5–17,5 день эмбрионального развития, а подкожные адипоциты с липидными каплями видны на день позже этого [6, 7]. В организме человека, напротив, наблюдается развитие белого жира на 14-й неделе беременности, хотя точные сроки зависят от размера плода. Кроме того, чем крупнее плод, тем раньше развиваются адипоциты [8, 9]. Пролиферация клеток-предшественников снижается в конце беременности, и далее жировая ткань увеличивается в первую очередь за счет преддифференцированных клеток примерно до 10 лет, далее следует подростковый период, во время которого возрастает количество жировых клеток. Этот период определяет общее количество адипоцитов, которое индивид будет иметь на протяжении жизни, несмотря на то, что новые клетки будут образовываться и разрушаться [10]. Подобным образом обновляется около 10% адипоцитов человека в год. Для сравнения: за день у мыши погибает и возникает вновь 0,6% адипоцитов [11, 12].

Развитие адипоцитов

Выделяют два основных этапа развития адипоцита. На первом этапе происходит превращение мезенхи-

мальной стромальной клетки (mesenchymal stromal cell, MSC) в предшественник жировой клетки (преадипоцит), а на втором, наиболее изученном, окончательное превращение в зрелую жировую клетку [13]. Как белые, так и бурые адипоциты происходят от мезенхимальной стромальной клетки, однако они образуются из различных клеток-предшественников.

Предшественники белых адипоцитов присутствуют в жировой ткани на протяжении всей жизни. Жировая ткань только на треть состоит из адипоцитов, тогда как оставшиеся две трети – это клетки кровеносных сосудов (ткань сильно васкуляризована), нервные волокна, фибробласты и собственно предшественники клеток жировой ткани на разных стадиях развития [14].

Существующие экспериментальные модели не позволяют с точностью идентифицировать предшественники жировой клетки – преадипоциты. Как правило, во время исследований содержащая клетки-предшественники стромоваскулярная фракция отделяется от зрелых жировых клеток посредством ферментативной обработки коллагеназой и последующего центрифугирования на низких скоростях. Когда стромоваскулярная фракция культивируется *ex vivo*, то клетки крови, эндотелия и другие не фибробластоподобные клетки не прикрепляются к поверхности чашки. Прикрепившиеся клетки способны дифференцироваться под действием гормонального коктейля, включающего инсулин, дексаметазон (агонист глюкокортикоидного рецептора), изобутилметилксантин (повышающий уровень внутриклеточного цАМФ-агент). Подобная методика не позволяет выделить специфическую популяцию в составе стромоваскулярной фракции, которая непосредственно участвует в образовании зрелых адипоцитов *in vivo*, и это послужило причиной множества исследований методами проточной цитометрии с использованием антител к различным поверхностным маркерам. Большинство из них показывают, что мезенхимальные стволовые клетки, имеющие маркеры CD34 и Sca-1, богаты предшественниками адипоцитов [15]. Более тщательный анализ поверхностных маркеров первичной культуры клеток, дифференцировавшихся *in vitro* в зрелые адипоциты, выявил наличие двух различных популяций: CD24⁺ (lin⁻:CD29⁺:CD34⁺:Sca-1⁺:CD24⁺) и CD24⁻. Однако опыты по трансплантации липодистрофичным мышам обеих популяций, меченных зеленым флуоресцентным белком (GFP), показали, что лишь инъекции клеток CD24⁺ приводят к образованию жировой ткани, адипоциты которой имеют нормальную морфологию. Клетки CD24⁻, как и CD34⁻, не способны образовывать жировых отложений [16]. Для преадипоцитов характерна экспрессия гена *Pref1(Dlk1)*, который кодирует секретлируемый белок Dlk1, член семейства EGF-подобных гомеотических белков, однако он не презентуется на поверхности клеток. Недавно было показано, что клетки-предшественники адипоцитов белой жировой ткани экспрессируют PDGFR α (CD140a), который также является маркером всех адипоцитов в белом жире [17]. Имеющаяся линия трансгенных мышей PDGFR α -Cre является одной

из наиболее адекватных для исследований клеток-предшественников жировой ткани, так как позволяет производить делецию в преадипоцитах [18].

Происхождение бурых адипоцитов несколько иное [19]. Они образуются из Myf5⁺ клеток-предшественников скелетной мышечной ткани и мышечных тканей других типов. Дифференцировка предшественников в бурые адипоциты происходит под контролем транскрипционного кофактора PRDM16 [20].

Примечательно, что в подкожных отложениях белой жировой ткани часто находят многокапельные адипоциты, подобные бурым по морфологии и физиологии. Холодовая адаптация и стимуляция β 3-селективными адрэнергическими агонистами стимулируют PRDM16, что приводит к повышению в клетках экспрессии UCP1 и к образованию бежевых (буроподобных) адипоцитов [21].

Экспериментальное моделирование адипогенеза

Механизмы дифференцировки преадипоцитов изучаются, главным образом, посредством *in vitro* моделей адипогенеза, и большая часть имеющихся данных была получена именно с использованием таких систем. Полученная клонированием клеточная линия представляет собой гомогенную популяцию, состоящую из клеток, находящихся на одной стадии дифференцировки. Это, в первую очередь, позволяет получить определенный ответ на стимуляцию. В то же время, клетки могут многократно пассироваться и культивироваться в течение долгого времени, что дает практически неограниченный источник преадипоцитов для исследования.

Линии предшественников жировых клеток подразделяют на мультипотентные фибробласты и унипотентные преадипоциты. Мультипотентные фибробласты (CHEF/18, RCJ3.1, 10T1/2, 1246, Balb/c 3T3, NIH 3T3 и 3T3-Swissalbin) сохраняют способность к дифференцировке в различные типы клеток. Унипотентные преадипоциты (3T3-F422A, 1246, Ob1771, TA1, 30A5, SGBS и 3T3-L1) уже прошли первую стадию дифференцировки, но сохраняют способность к пролиферации и могут как терминально дифференцироваться в адипоциты, так и оставаться в недифференцированном состоянии. Именно линии унипотентных прогениторных клеток являются наиболее изученными моделями исследования молекулярных процессов перехода преадипоцитов в адипоциты. Подавляющее число исследований проводится с использованием линии 3T3-L1, полученной субклонированием клеток 3T3 из дезагрегированных эмбрионов мышей Swiss [22]. Дифференцированные клетки 3T3-L1 в культуре обладают большинством ультраструктурных характеристик адипоцитов жировой ткани животных [23]. Инъекции преадипоцитов 3T3-L1 мышам вызывают формирование нормальных жировых отложений [24].

Конфлюентные преадипоциты 3T3-L1 дифференцируются синхронно в присутствии индукторов адипогенеза.

погенеза в среде культивации. Максимальная степень дифференцировки была показана при действии смеси инсулина, глюкокортикоидов, агента, повышающего уровень внутриклеточного цАМФ и фетальной бычьей сыворотки [25]. Инсулин действует через инсулиновый рецептор и рецептор инсулиноподобного фактора роста 1 (insulin-like growth factor 1, ИРФ-1). Интересно, что сходство инсулина с ИРФ-1 позволяет использовать последний вместо инсулина в адипогенных коктейлях [26]. Синтетический глюкокортикоид дексаметазон традиционно используется для стимуляции сигнального пути рецептора глюкокортикоидов (ГР). Изобутилметилксантин (ИБМХ, иногда МІХ), ингибитор цАМФ-фосфодиэстеразы, используется для повышения концентрации цАМФ внутри клетки и активации цАМФ-зависимых протеинкиназ.

Приблизительно через 24 ч после индукции адипогенным коктейлем преадипоциты проходят постконфлюентный митоз. Ко 2-му дню дифференцировки клетки завершают деление и входят в специфическую фазу блокировки роста, называемую GD [27]. Предполагается, что митотическое деление необходимо для того, чтобы освободить ДНК для связывания транскрипционных факторов с регуляторными элементами генов, экспрессирующихся в зрелых адипоцитах [28, 29]. После вступления в GD клетки принято считать дифференцированными. К 3-му дню в клетках уже экспрессируются поздние маркеры дифференцировки: липогенные и липолитические ферменты и другие белки. Позднее клетки принимают округлую форму, и начинается формирование липидных капель. Окончательно адипоциты дифференцируются к 5–7 дням от индукции.

Транскрипционные факторы адипогенеза

Транскрипционные факторы определяют выбор пути развития клетки за счет управления экспрессией множества генов, в том числе и генов других факторов транскрипции, определяющих дальнейшую специализацию. Адипогенный каскад (рис. 1) по составу вовлеченных в процесс транскрипционных факторов и активируемых ими генов адипогенной программы можно разделить на две основных «волны». «Первая волна» инициируется адипогенными стимулами и включает в себя такие факторы, как C/EBP β и C/EBP δ , факторы KLF (Krüppel-подобные факторы), CREB (белок, связывающий цАМФ-зависимый элемент). Транскрипционные факторы первой «волны» индуцируют экспрессию факторов «второй волны» – C/EBP α и PPAR γ . Предполагается, что главную роль в осуществлении адипогенной программы играет экспрессия и активация липид-активируемого ядерного рецептора PPAR γ (peroxisome proliferators-activated receptor). Его экспрессия является необходимым и достаточным условием для дифференцировки в адипоцитарном направлении. Эктопической экспрессии PPAR γ достаточно для индукции адипоцитарной дифференцировки фибробластов,

и кроме того, не было идентифицировано ни одного фактора, способного вызывать адипогенез в отсутствие PPAR γ [30].

Белки C/EBP были первыми описанными факторами транскрипции, которые играют критическую роль в процессе адипогенеза. Они также одними из первых после добавления дифференцировочного коктейля увеличивают свою экспрессию и индуцируются в основном под воздействием ИБМХ (сигнальный каскад цАМФ). Последовательность экспрессии этих факторов в адипогенной дифференцировке определяет каскад, в котором очень ранняя индукция C/EBP β и C/EBP δ приводит к индукции C/EBP α . Данная концепция подтверждается последовательностью связывания данных транскрипционных факторов с несколькими адипоцитарными промоторами в ходе процесса дифференцировки.

Мыши со сниженной экспрессией C/EBP β имеют меньший объем жировой ткани, что, впрочем, может быть вызвано нарушениями липогенеза. Скорее всего, недостаток C/EBP β может компенсироваться C/EBP δ , так, мыши с двойным нокаутом по C/ebp β и C/ebp δ имеют еще меньшую массу жировой ткани [31].

Ключевые события «первой волны» адипогенной дифференцировки, такие как индукция C/EBP β , вызываются увеличением внутриклеточного цАМФ [32, 33, 34]. Связывающий цАМФ-зависимый элемент белок (CREB) – важный для адипогенеза и содержащий bZIP-домен транскрипционный фактор, поскольку именно он индуцирует экспрессию C/EBP β [35, 33, 36]. CREB изначально был описан как внутриклеточная мишень цАМФ, чья транскрипционная активность регулируется цАМФ-зависимой протеинкиназой A (PKA).

На первом этапе адипогенной дифференцировки большую роль играет инсулин. Фибробласты и предшественники бурых жировых клеток, не экспрессирующие рецептор инсулина, не способны к адипогенной дифференцировке [37]. Другие участники сигнального каскада инсулина также имеют решающее значение для адипогенеза. «Выключение» субстрата инсулинового рецептора (IRS) снижает уровень адипогенной дифференцировки [38]. Двойной нокаут по *Irs1* и *Irs2* полностью блокирует адипогенез [39]. Ингибирование активности киназ PI3K и *Akt1* или *Akt2* снижает адипогенную дифференцировку. Двойной нокаут по *Akt1* и *Akt2* приводит к липоатрофии, а MEF из этих животных не способны к дифференцировке [40]. Важность инсулинового пути подчеркивает также то, что известный случай семейного липодистрофического диабета вызван именно мутацией в гене *Akt2* [41].

Установлено несколько возможных механизмов действия инсулина на адипогенез. Во-первых, связываясь со своим рецептором, он запускает внутриклеточный сигнальный каскад, приводящий к активации киназы Akt и фосфорилированию анти-адипогенные транскрипционные факторы FOXO1 и FOXA2, что вызывает их выход из ядра и деактивацию [42, 43]. Во-вторых, инсулин вызывает фосфорилирование белка CREB. Это приводит к его активации, осуществляя своеобразную связь между

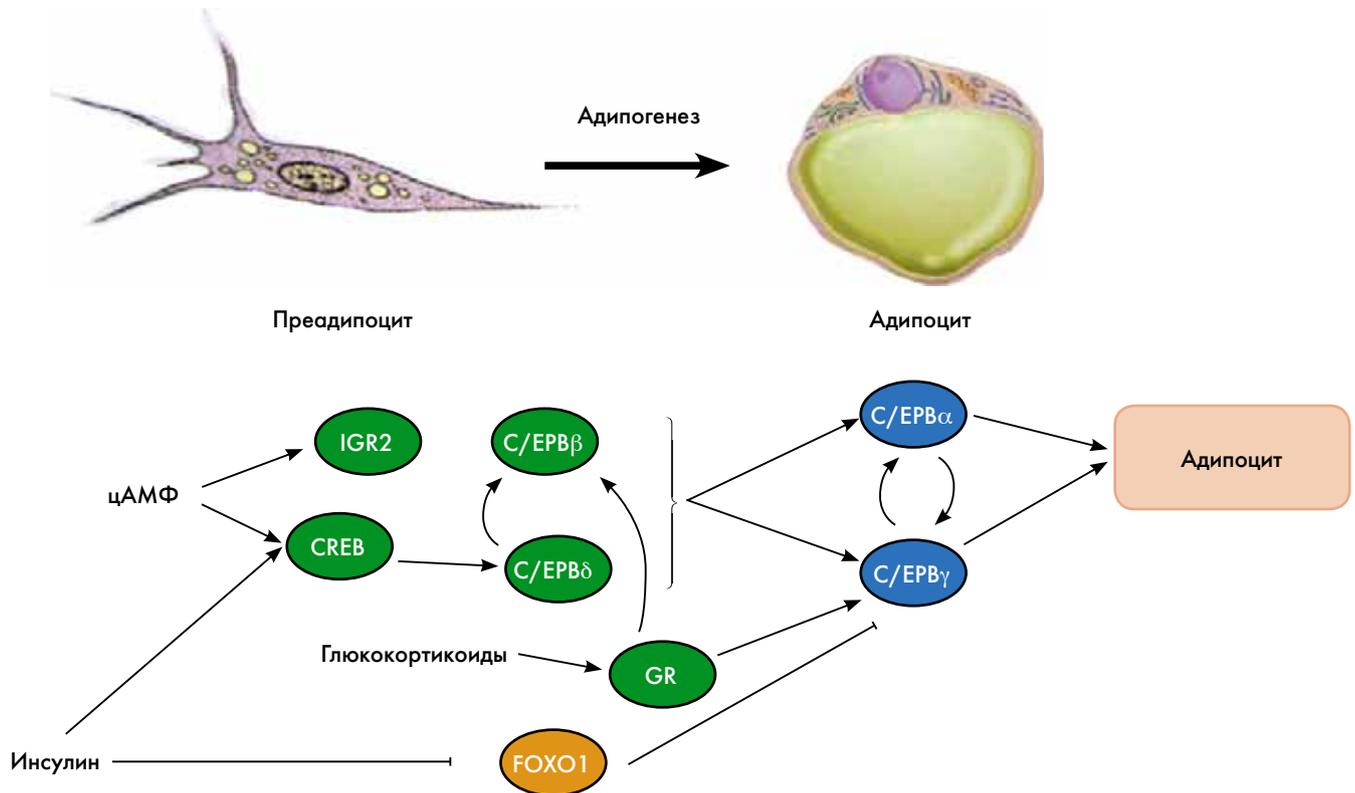


Рис. 1. Схема транскрипционного каскада активации адипогенной дифференцировки. Активация транскрипционных факторов «первой волны» (отмечены зеленым) происходит под действием адипогенного коктейля, состоящего из глюкокортикоидов, инсулина и цАМФ-активирующих агентов. Транскрипционные факторы «второй волны» (отмечены синим) напрямую контролируют экспрессию адипоцитарных генов. Анти-адипогенный фактор FOXO1 (отмечен оранжевым) подавляет адипогенез.

инсулиновым и цАМФ-зависимым каскадами. Наконец, инсулин приводит к активации гена *Srebf1*, играющего значительную роль на последующих стадиях адипогенеза [44].

Глюкокортикоиды, участники третьего каскада дифференцировки, являются неотъемлемыми индукторами адипогенной дифференцировки [45]. Точная роль глюкокортикоидного рецептора в процессе дифференцировки до недавнего времени сводилась к регуляции экспрессии гена преадипоцитарного секретлируемого фактора *Pref1*, однако новые методы исследования позволили раскрыть его функции в регуляции большого числа адипоцит-специфических генов. Недавно было показано, что ГР совместно с C/EBPβ связываются с ДНК в нескольких тысячах геномных участках, имеющих свойства энхансеров, уже через несколько часов после индукции дифференцировки. Полученные данные позволяют говорить о новой роли ГР и C/EBPβ в адипоцитарной дифференцировке.

Во «второй волне» дифференцировки основную роль играют факторы C/EBPα и PPARγ. Анализ *C/ebpα*^{-/-} мышей затруднен в силу их высокой гипогликемии и смертности сразу после рождения и требует искусственного восстановления экспрессии *C/ebpα* в печени. Мыши же с восстановленной экспрессией *C/ebpα* в печени были практически лишены жировой ткани [46]. Примечательно, что C/EBPα и PPARγ могут взаимно индуцировать экспрессию, связываясь с регуляторными

элементами генов *Pparg* и *C/ebpα*, кроме того, полные исследования показывают, что C/EBPα может связывать до 60% участков связывания PPARγ [47]. Таким образом, C/EBPα и PPARγ работают совместно при активации адипоцитарной метаболической программы, а также облегчают связывание друг друга с хроматином и рекрутируют кофакторы [48].

PPARγ – ядерный рецептор, относящийся к семейству PPAR. Белки этого семейства выполняют роль транскрипционных регуляторов внутриклеточных процессов во многих тканях. Как и все рецепторы семейства PPAR, PPARγ активен только в форме гетеродимера с RXR (retinoid X-receptors, рецепторы ретиноидов X) [49]. Существует две различные (γ1 и γ2) изоформы PPARγ, причем изоформа γ2 высокоспецифична для жировой ткани. PPARγ активируется позднее других транскрипционных факторов и играет критическую роль в развитии и адипогенной дифференцировке. Как уже отмечалось выше, его экспрессия является необходимым и достаточным условием для дифференцировки фибробластов в адипоцитарном направлении.

Для функционирования PPARγ требуется наличие лиганда, поиск которого был в значительной степени неудачным. На протяжении первых двух дней дифференцировки клеток 3T3-L1 наблюдается цАМФ-зависимая активация лиганд-зависимого домена PPARγ, после чего быстро спадает. Это наблюдение показывает, что лиганд-зависимая активация PPARγ необходима для индукции

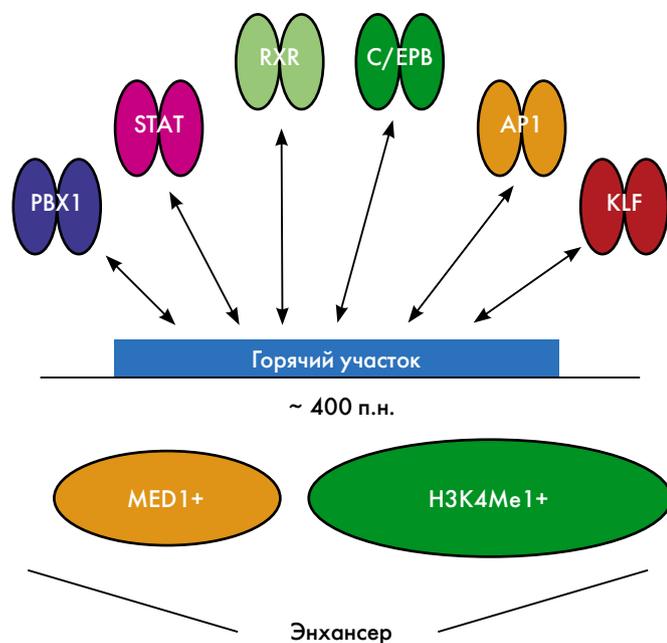


Рис. 2. Модель взаимодействия транскрипционных факторов в «горячих участках» генома. Множество различных транскрипционных факторов связываются с ДНК вместе в небольшом по протяженности участке генома. «Горячие участки» обладают свойствами энхансеров (H3K4Me1+, Med1+).

адипогенеза, но не для поддержания PPAR γ -зависимой экспрессии генов в зрелых адипоцитах. В ходе других исследований было обнаружено, что транскрипционные факторы SREBP1с и C/EBP β могут повышать продукцию лигандов PPAR γ . Все это, однако, не привело к идентификации эндогенных агонистов [34, 44]. В терапии метаболического синдрома (резистентность к инсулину, ожирение и гипертензия) и СД2 широко применяют тиазолидиндионы (TZD), действующие непосредственно на PPAR γ . TZD являются синтетическими лигандами PPAR γ [50].

Транскрипционные сети адипогенеза

Обнаружение факта совместного связывания GR и C/EBP β с энхансерами в геноме привело к предположению о наличии определенных участков в геноме (впоследствии названных «горячими участками» («hot spots»), в которых осуществляется взаимодействие сразу большого числа транскрипционных факторов с ДНК (рис. 2). Полногеномный анализ связывания 15 известных адипоцит-специфичных транскрипционных факторов (проанализированы в том числе факторы AP1, C/EBP, KLF, STAT) показал наличие более 12 тысяч таких участков, в которых наблюдается связывание одновременно пяти или более таких факторов. Было установлено, что это связывание осуществляется уже в первые 4 ч после индукции дифференцировки, а эти участки обладают всеми свойствами полноценных энхансеров [51].

Кроме того, связывание с этими участками функционально коррелирует с индукцией экспрессии ранних адипоцит-специфичных генов, доказывая их функцио-

нальную значимость. Большинство из них расположено в местах транскрипционно-активного хроматина на ранних стадиях адипогенеза, что подтверждает их значимость на «первой волне» дифференцировки.

Таким образом, эти данные доказывают существование взаимодействия между многочисленными транскрипционными факторами непосредственно на хроматине *in vivo*, что может служить точками интегрирования различных адипогенных сигналов в масштабе всего генома. Это наблюдение приводит к значительному переосмыслению механизма распространения сигнальных каскадов в адипогенной дифференцировке.

PBX1 и PREP1

Одним из основных связывающихся с «горячими участками» в раннем адипогенезе факторов является транскрипционный фактор Pbx1 [51]. Pbx1 относится к семейству TALE и является гомеодомен-содержащим белком. Было показано, что снижение экспрессии Pbx1 в выделенных из жировой ткани мезенхимальных стромальных клетках приводит к значительному усилению способности к дифференцировке [52].

Pbx1 функционирует в форме многомерных комплексов. Одним из основных белков-партнеров Pbx1 является Prep1 (Pbx regulating protein 1). Prep1, как и Pbx1, относится к семейству гомеобокс-содержащих транскрипционных факторов TALE (three aminoacid loop extension, гомеодомен белков этого семейства имеет три дополнительные аминокислоты по сравнению с Hox) [53]. Prep1, взаимодействуя с Pbx1, влияет на специфичность его связывания с ДНК, а также значительно повышает аффинность. Prep1 и Pbx1 совместно участвуют в процессах эмбриогенеза, в частности, они образуют с фактором Hoxb1 тройной комплекс, регулирующий экспрессию генов в эмбриогенезе [54].

Нокаут, как Prep1, так и Pbx1 приводит к гибели мышиных эмбрионов на ранних стадиях развития [55, 56]. Понижение экспрессии гена Prep1 в клетках-предшественниках жировой ткани также приводит к усилению способности к дифференцировке (Пеньков и Егоров, не опубликовано). Мы предполагаем, что фактор транскрипции Prep1 совместно с Pbx1 участвует в формировании энхансеосомных комплексов, контролирующего пребывание клеток-предшественников в недифференцированном состоянии, и контроле раннего адипогенеза.

Заключение

В настоящее время в терапии СД2 и метаболического синдрома используются лекарственные средства направленного действия, искусственно синтезированные агонисты PPAR γ – TZD, а полученные данные о транскрипционной программе адипогенной дифференцировки позволяют прогнозировать наследственную предрасположенность к этим патологическим состояниям. Однако многое в транскрипционной регуляции адипогенеза остается неизвестным. В част-

ности, не до конца выяснен механизм формирования многомерных комплексов транскрипционных факторов и перестройки хроматина, вызывающие переход от недифференцированного состояния к дифференцированному.

В настоящем обзоре рассмотрены основные сигнальные пути и транскрипционные факторы, представляющие интерес в качестве новых мишеней для поиска лекарственных средств. Один из описанных факторов адипогенеза, PPAR γ , — уже широко используется. В данном обзоре рассмотрена возможность использования

других факторов, таких как факторы транскрипции Prer1 и Pbx1, в качестве таких мишеней.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Работа проведена в рамках выполнения научного проекта, поддержанного грантом Российского научного фонда (проект № 14-35-00026).

Авторы декларируют отсутствие двойственности (конфликта) интересов, связанных с рукописью.

Список литературы

- Diez JJ, Iglesias P. The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease. *Eur J Endocrinol.* 2003;148(3):293-300. doi: 10.1530/eje.0.1480293
- Denzel MS, Scimia MC, Zumstein PM, et al. T-cadherin is critical for adiponectin-mediated cardioprotection in mice. *J Clin Invest.* 2010;120(12):4342-4352. doi: 10.1172/JCI43464
- Yamauchi T, Kamon J, Waki H, et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nat Med.* 2001;7(8):941-946. doi: 10.1038/90984
- Hirsch J, Batchelor B. Adipose tissue cellularity in obesity. *Clin Endocrinol Metab.* 1976;5(2):299-311. doi: 10.1016/S0300-595X(76)80023-0
- Rosen ED, MacDougald OA. Adipocyte differentiation from the inside out. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2006;7(12):885-896. doi: 10.1038/nrm2066
- Birsoy K, Berry R, Wang T, et al. Analysis of gene networks in white adipose tissue development reveals a role for ETS2 in adipogenesis. *Development.* 2011;138(21):4709-4719. doi: 10.1242/dev.067710
- Greenwood MR, Hirsch J. Postnatal development of adipocyte cellularity in the normal rat. *J Lipid Res.* 1974;15(5):474-483.
- Poissonnet CM, Burdi AR, Bookstein FL. Growth and development of human adipose tissue during early gestation. *Early Hum Dev.* 1983;8(1):1-11. doi: 10.1016/0378-3782(83)90028-2
- Poissonnet CM, Burdi AR, Garn SM. The chronology of adipose tissue appearance and distribution in the human fetus. *Early Hum Dev.* 1984;10(1-2):1-11. doi: 10.1016/0378-3782(84)90106-3
- Knittle JL, Timmers K, Ginsberg-Fellner F, et al. The growth of adipose tissue in children and adolescents. Cross-sectional and longitudinal studies of adipose cell number and size. *J Clin Invest.* 1979;63(2):239-246. doi: 10.1172/JCI109295
- Rigamonti A, Brennan K, Lau F, Cowan CA. Rapid cellular turnover in adipose tissue. *PLoS One.* 2011;6(3):e17637. doi: 10.1371/journal.pone.0017637
- Spalding KL, Arner E, Westermark PO et al. Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature.* 2008; 453, 783–787. doi: 10.1038/nature06902
- Löffler G, Hauner H. Adipose tissue development: the role of precursor cells and adipogenic factors. Part II: The regulation of the adipogenic conversion by hormones and serum factors. *KlinWochenschr.* 1987 Sep 1; 65(17), 812-817. doi: 10.1007/BF01727475
- Géloën A, Roy PE, Bukowiecki LJ. Regression of white adipose tissue in diabetic rats. *Am J Physiol.* 1989; 257(4 Pt 1):E547-553.
- Cawthorn WP, Scheller EL, MacDougald OA. Adipose tissue stem cells meet preadipocyte commitment: going back to the future. *J Lipid Res.* 2012;53(2):227-246. doi: 10.1194/jlr.R021089
- Rodeheffer MS, Birsoy K, Friedman JM. Identification of white adipocyte progenitor cells in vivo. *Cell.* 2008;135(2):240-249. doi: 10.1016/j.cell.2008.09.036
- Berry R, Rodeheffer MS. Characterization of the adipocyte cellular lineage in vivo. *Nat Cell Biol.* 2013;15(3):302-308. doi: 10.1038/ncb2696
- Jeffery E, Berry R, Church CD et al. Characterization of Cre recombinase models for the study of adipose tissue. *Adipocyte.* 2014;3(3):206-211. doi: 10.4161/adip.29674
- Timmons JA, Wennmalm K, Larsson O, et al. Myogenic gene expression signature establishes that brown and white adipocytes originate from distinct cell lineages. *Proc Natl AcadSci USA.* 2007;104(11):4401-4406. doi: 10.1073/pnas.0610615104
- Seale P, Bjork B, Yang W, et al. PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature.* 2008;454(7207):961-967. doi: 10.1038/nature07182
- Seale P, Conroe HM, Estall J, Kajimura S, Frontini A, Ishibashi J, Cohen P, Cinti S, Spiegelman BM. Prdm16 determines the thermogenic program of subcutaneous white adipose tissue in mice. *J Clin Invest.* 2011;121(1):96-105. doi: 10.1172/JCI44271
- Green H, Kehinde O. An established preadipose cell line and its differentiation in culture. *Cell.* 1974;1:113-116. doi: 10.1016/0092-8674(74)90126-3
- Novikoff AB, Novikoff PM, Rosen OM, et al. Organelle relationships in cultured 3T3-L1 preadipocytes. *J Cell Biol.* 1980;87(1):180-196. doi: 10.1083/jcb.87.1.180
- Green H, Kehinde O. Formation of normally differentiated subcutaneous fat pads by an established preadipose cell line. *J Cell Physiol.* 1979;101:169-172. doi: 10.1002/jcp.1041010119
- Student AK, Hsu RY, Lane MD. Induction of fatty acid synthetase synthesis in differentiating 3T3-L1 preadipocytes. *J Biol Chem.* 1980;255(10):4745-4750.
- Smith PJ, Wise LS, Berkowitz R, et al. Insulin-like growth factor-I is an essential regulator of the differentiation of 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem.* 1988;263(19):9402-9408.
- Scott RE, Florine DL, Wille JJ Jr, et al. Coupling of growth arrest and differentiation at a distinct state in the G1 phase of the cell cycle: GD. *Proc Natl AcadSci USA.* 1982;79(3):845-849. doi: 10.1073/pnas.79.3.845
- Cornelius P, MacDougald OA, Lane MD. Regulation of adipocyte development. *Annu Rev Nutr.* 1994;14:99-129. doi: 10.1146/annurev.nu.14.070194.000531
- MacDougald OA, Lane MD. Transcriptional regulation of gene expression during adipocyte differentiation. *Annu Rev Biochem.* 1995;64:345-373. doi: 10.1146/annurev.bi.64.070195.002021
- Siersbæk R, Nielsen R, Mandrup S. Transcriptional networks and chromatin remodeling controlling adipogenesis. *Trends Endocrinol Metab.* 2012;23(2):56-64. doi: 10.1016/j.tem.2011.10.001
- Tanaka T, Yoshida N, Kishimoto T, et al. Defective adipocyte differentiation in mice lacking the C/EBPbeta and/or C/EBPdelta gene. *EMBO J.* 1997;16(24):7432-7443. doi: 10.1093/emboj/16.24.7432
- Cao Z, Umek RM, McKnight SL. Regulated expression of three C/EBP isoforms during adipose conversion of 3T3-L1 cells. *Genes Dev.* 1991;5(9):1538-1552. doi: 10.1101/gad.5.9.1538
- Yeh WC, Cao Z, Classon M, et al. Cascade regulation of terminal adipocyte differentiation by three members of the C/EBP family of leucine zipper proteins. *Genes Dev.* 1995;9(2):168-181. doi: 10.1101/gad.9.2.168
- Hamm JK, Park BH, Farmer SR. A role for C/EBPbeta in regulating peroxisome proliferator-activated receptor gamma activity during adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes. *J Biol Chem.* 2001;276(21):18464-18471. doi: 10.1074/jbc.M100797200
- Christy RJ, Kaestner KH, Geiman DE, et al. CCAAT/enhancer binding protein promoter: binding of nuclear factors during differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *Proc Natl AcadSci USA.* 1991;88(6):2593-2597. doi: 10.1073/pnas.88.6.2593
- Zhang JW, Klemm DJ, Vinson C, et al. Role of CREB in transcriptional regulation of CCAAT/enhancer-binding protein beta gene during adipogenesis. *J Biol Chem.* 2004;279(6):4471-4478. doi: 10.1074/jbc.M311327200
- Blüher M, Michael MD, Peroni OD, et al. Adipose tissue selective insulin receptor knockout protects against obesity and obesity-related glucose intolerance. *Dev Cell.* 2002;3(1):25-38. doi: 10.1016/S1534-5807(02)00199-5
- Tseng YH, Kriacunas KM, Kokkotou E, et al. Differential roles of insulin receptor substrates in brown adipocyte differentiation. *Mol Cell Biol.* 2004;24(5):1918-1929. doi: 10.1128/MCB.24.5.1918-1929.2004
- Miki H, Yamauchi T, Suzuki R, et al. Essential role of insulin receptor substrate 1 (IRS-1) and IRS-2 in adipocyte differentiation. *Mol Cell Biol.* 2001;21(7):2521-2532. doi: 10.1128/MCB.21.7.2521-2532.2001

40. Garofalo RS, Orena SJ, Rafidi K, et al. Severe diabetes, age-dependent loss of adipose tissue, and mild growth deficiency in mice lacking Akt2/PKB beta. *J Clin Invest.* 2003;112(2):197-208. doi: 10.1172/JCI16885
41. George S, Rochford JJ, Wolfrum C, et al. A family with severe insulin resistance and diabetes due to a mutation in AKT2. *Science.* 2004;304(5675):1325-1328. doi: 10.1126/science.1096706
42. Wolfrum C, Shih DG, Kuwajima S, et al. Role of Foxa-2 in adipocyte metabolism and differentiation. *J Clin Invest.* 2003;112(3):345-356. doi: 10.1172/JCI18698
43. Nakae J, Kitamura T, Kitamura Y, et al. The forkhead transcription factor Foxo1 regulates adipocyte differentiation. *Dev Cell.* 2003;4(1):119-129. doi: 10.1016/S1534-5807(02)00401-X
44. Kim JB, Wright HM, Wright M, et al. ADD1/SREBP1 activates PPARgamma through the production of endogenous ligand. *Proc Natl AcadSci USA.* 1998;95(8):4333-4337. doi: 10.1073/pnas.95.8.4333
45. Pantoja C, Huff JT, Yamamoto KR. Glucocorticoid signaling defines a novel commitment state during adipogenesis in vitro. *Mol Cell Biol.* 2008;19(10):4032-4041. doi: 10.1091/mbc.e08-04-0420
46. Linhart HG, Ishimura-Oka K, DeMayo F, et al. C/EBPalpha is required for differentiation of white, but not brown, adipose tissue. *Proc Natl AcadSci USA.* 2001;98(22):12532-12537. doi: 10.1073/pnas.211416898
47. Lefterova MI, Zhang Y, Steger DJ, et al. PPARgamma and C/EBP factors orchestrate adipocyte biology via adjacent binding on a genome-wide scale. *Genes Dev.* 2008;22(21):2941-2952. doi: 10.1101/gad.1709008
48. Madsen MS, Siersbæk R, Boergesen M, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor γ and C/EBP α synergistically activate key metabolic adipocyte genes by assisted loading. *Mol Cell Biol.* 2014;34(6):939-954. doi: 10.1128/MCB.01344-13
49. Kliewer SA, Umesono K, Noonan DJ, et al. Convergence of 9-cis retinoic acid and peroxisome proliferator signalling pathways through heterodimer formation of their receptors. *Nature.* 1992;358(6389):771-774. doi: 10.1038/358771a0
50. Lehmann JM, Lenhard JM, Oliver BB, et al. Peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma are activated by indomethacin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Biol Chem.* 1997;272(6):3406-3410. doi: 10.1074/jbc.272.6.3406
51. Siersbæk R, Rabiee A, Nielsen R, et al. Transcription factor cooperativity in early adipogenic hotspots and super-enhancers. *Cell Rep.* 2014;7(5):1443-1455. doi: 10.1016/j.celrep.2014.04.042
52. Monteiro MC, Sanyal M, Cleary ML, et al. PBX1: a novel stage-specific regulator of adipocyte development. *Stem Cells.* 2011;29(11):1837-1848. doi: 10.1002/stem.737
53. Berthelsen J, Zappavigna V, Mavilio F, et al. Prep1, a novel functional partner of Pbx proteins. *EMBO J.* 1998;17(5):1423-1433. doi: 10.1093/emboj/17.5.1423
54. Ferretti E, Cambrono F, Tümpel S, et al. Hoxb1 enhancer and control of rhombomere 4 expression: complex interplay between PREP1-PBX1-HOXB1 binding sites. *Mol Cell Biol.* 2005;25(19):8541-8552. doi: 10.1128/MCB.25.19.8541-8552.2005
55. Selleri L, Depew MJ, Jacobs Y, et al. Requirement for Pbx1 in skeletal patterning and programming chondrocyte proliferation and differentiation. *Development.* 2001;128(18):3543-3557.
56. Fernandez-Diaz LC, Laurent A, Girasoli S, et al. The absence of Prep1 causes p53-dependent apoptosis of mouse pluripotent epiblast cells. *Development.* 2010;137(20):3393-3403. doi: 10.1242/dev.050567

Егоров Александр Дмитриевич

аспирант кафедры биохимии и молекулярной медицины Факультета фундаментальной медицины, ГБОУ ВПО московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация

Пеньков Дмитрий Николаевич

к.ф.-м.н., в.н.с. лаборатории молекулярной эндокринологии Института экспериментальной кардиологии, ФГБУ Российский кардиологический научно-производственный комплекс, Москва, Российская Федерация
Email: dpenkov@yahoo.com

Ткачук Всеволод Арсеньевич

д.б.н., академик РАН, зав. кафедрой биохимии и молекулярной медицины факультета фундаментальной медицины, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, зав. лабораторией молекулярной эндокринологии Института экспериментальной кардиологии, ФГБУ Российский кардиологический научно-производственный комплекс, Москва, Российская Федерация