

本文引用: 王圣文, 唐文斌, 石俊晓, 等. 调控棕色脂肪产热关键基因的新筛选方法[J]. 中国动脉硬化杂志, 2025, 33(9): 745-753. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2025.09.002.

[文章编号] 1007-3949(2025)33-09-0745-09

· 肥胖专栏 ·

调控棕色脂肪产热关键基因的新筛选方法

王圣文, 唐文斌, 石俊晓, 章卫平, 魏纯纯

海军军医大学基础医学院病理生理学教研室, 上海市 200433

[摘要] **[目的]** 通过多组学整合分析, 系统解析棕色脂肪组织(BAT)产热功能的分子调控网络, 发现新型产热调控基因, 为代谢性疾病的治疗提供新靶点。**[方法]** 构建筛选棕色脂肪产热关键基因的新方法: 首先, 对小鼠棕色脂肪 Bulk RNA-seq 数据进行差异表达分析, 以 $ABS(\log_2 \text{FoldChange}) > 1$ 且 $P_{adj} < 0.05$ 为条件筛选差异基因, 并分别对上调和下调基因取交集。然后, 根据所得候选基因的表达量对 scRNA-seq 数据中棕色脂肪细胞进行分组, 对高表达组和低表达组进行差异分析和差异基因的基因集富集分析(GSEA), 以分析候选基因和产热功能的相关性。通过实时荧光定量 PCR 和蛋白质印迹对部分候选基因进行实验验证。**[结果]** 生物信息学分析共鉴定出产热正相关基因 65 个和负相关基因 7 个, 实时荧光定量 PCR 分析发现候选基因 *Mfsd2a*、*Me1*、*Slc25a34*、*Pfcp*、*Ankrd9*、*Hsd17b12*、*Aldoa*、*Ctsz* 和 *Pcyt2* 上调倍数超过 5 倍, *Pid1*、*Angpt1* 下调超过 50% (均 $P < 0.01$), 可进行进一步的产热相关功能学和分子机制研究。**[结论]** 本研究创建了“计算筛选→模拟敲除→实验验证”的靶点发现范式, 系统揭示了参与 BAT 产热调控的分子网络, 发现了 11 个核心基因, 可能在 BAT 产热激活过程中发挥关键调控作用, 有望为改善能量代谢、治疗肥胖及其并发症提供新的药物干预靶点。

[关键词] 棕色脂肪组织; 肥胖; 生物信息学分析

[中图分类号] R5; Q4

[文献标识码] A

A novel screening approach for identifying key genes involved in the regulation of brown adipose tissue thermogenesis

WANG Shengwen, TANG Wenbin, SHI Junxiao, ZHANG Weiping, WEI Chunchun

Department of Pathophysiology, School of Basic Medicine, Naval Medical University, Shanghai 200433, China

[ABSTRACT] **Aim** To systematically elucidate the molecular regulatory network of thermogenic function in brown adipose tissue (BAT) through multi-omics integrative analysis, to discover novel thermogenic regulatory genes and provide novel therapeutic targets for metabolic disorders. **Methods** A novel methodology for screening key genes regulating thermogenesis in BAT was constructed: First, differential expression analysis was performed on bulk RNA-seq data from murine BAT. Genes meeting the thresholds of $ABS(\log_2 \text{FoldChange}) > 1$ and $P_{adj} < 0.05$ were identified as differentially expressed genes. Intersectional analysis was then applied to obtain consensus upregulated and downregulated gene sets.

Subsequently, scRNA-seq data of brown adipocytes were partitioned into high-expression group and low-expression group based on the expression levels of candidate genes. Differential analysis and gene set enrichment analysis (GSEA) were conducted between these groups to assess the correlation between candidate genes and thermogenic function. Finally, experimental validation of selected candidate genes was performed using quantitative real-time PCR and Western blot.

Results Bioinformatics analysis identified 65 thermogenesis-positive correlated genes and 7 thermogenesis-negative correlated genes. Subsequent quantitative PCR validation demonstrated that candidate genes *Mfsd2a*, *Me1*, *Slc25a34*, *Pfcp*, *Ankrd9*, *Hsd17b12*, *Aldoa*, *Ctsz* and *Pcyt2* exhibited upregulation exceeding 5-fold, while *Pid1* and *Angpt1* showed downregulation over 50%. All observed expression changes demonstrated statistical significance ($P < 0.01$) through rigorous hypothesis testing. These findings highlight the potential involvement of these genes in thermogenic regulation, warranting further functional investigations to elucidate their molecular mechanisms in energy metabolism pathways. **Conclusions**

[收稿日期] 2025-01-08

[修回日期] 2025-03-18

[基金项目] 国家自然科学基金项目(32471164)

[作者简介] 王圣文, 本科在读, 专业为医学影像学, E-mail: 2827634539@qq.com。通信作者魏纯纯, 博士, 讲师, 研究方向为代谢性疾病的病理生理机制, E-mail: weichunchun@smmu.edu.cn。

This study established a novel “computational screening → in silico knockout → experimental validation” paradigm for target discovery, systematically unveiling the molecular network involved in BAT thermogenic regulation. This methodology is equally applicable for identifying key regulatory genes in other physiological or pathological processes. The study identified 11 core genes that may play pivotal regulatory roles during BAT thermogenic activation, which could potentially offer novel pharmacological intervention targets to improve energy metabolism and treat obesity-related complications.

[KEY WORDS] brown adipose tissue; obesity; bioinformatics analysis

作为一种渐进性的代谢性疾病,肥胖逐渐成为人类面临的一大健康威胁^[1]。预计到2035年,全球将有24%的人口,即近20亿人面临肥胖问题^[2]。肥胖患者的脂肪组织过度堆积、炎症反应的增加、脂质异位沉积以及血脂水平的升高可诱发2型糖尿病、心脏病和各种形式的癌症,危害各年龄段人群的身体健^[3-5]。

棕色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT)可通过消耗脂肪酸和葡萄糖改善肥胖,但其功能的调控机制并不清楚^[6-9]。寻找参与BAT产热调控的关键分子,并筛选调控该分子活性的药物,可为改善能量代谢、治疗肥胖及其并发症提供方法思路。本研究构建了棕色脂肪产热关键基因的筛选方法,分析了公共数据库中BAT转录组测序数据,筛选了在棕色脂肪产热激活过程中上调和下调的基因,并用单细胞转录组测序数据验证了这些基因和产热激活的相关性。

1 材料和方法

1.1 数据获取

本文中涉及的所有测序数据,均从公共数据库中检索下载。其中,小鼠BAT的Bulk RNA-seq数据从GEO数据库中下载,数据编号和发表期刊为GSE181123 (*Nature*)^[10]、GSE96679 (*Cell Met*)^[11]、GSE96680 (*Cell Met*)^[11]、GSE118849 (*Sci Data*)^[12]、GSE162907 (*Cell Rep*)^[13]、GSE198046 (*Elife*)^[14]、GSE207705 (*Elife*)^[15]、GSE144186 (*Cell Rep*)^[16]、GSE119964 (*Cell Rep*)^[17]及GSE164936 (*Am J Hum Genet*)^[18];小鼠BAT scRNA-seq数据从EMBL-EBI数据库中下载,数据编号为E-MTAB-8562,该数据相关论文于2020年发表在*Nature*杂志上^[19]。

1.2 Bulk RNA-seq 数据的处理和分析

用R(v4.3.2)对表达矩阵进行整理,并用R包DESeq2(v1.44.0)进行质控和差异分析。用plotPCA函数绘出主成分分析图,检验同组数据的一致性。用DESeq2(v1.44.0)函数进行差异分析,比较室温(room temperature, RT)与热中性

(thermoneutral, TN)、寒冷(severe cold, SC)与RT、SC与TN条件下小鼠BAT基因表达情况,满足 $ABS(\log_2 \text{FoldChange}) > 1$ 且 $P_{adj} < 0.05$ 的基因为差异基因。用R包ggplot2(v3.5.0),绘制上述数据相关的火山图。对相同条件下各数据库中上调和下调的基因分别取交集。得到的基因再取交集作为下一步继续筛选的基因。

1.3 在 scRNA-seq 数据库中验证筛选到的基因(模拟敲除)

下载公共数据库中小鼠棕色脂肪单细胞核转录组测序数据(E-MTAB-8562)^[19],用R包Seurat(v4.3.0.1)进行数据质控、降维、聚类,并根据标志基因表达情况对细胞类型进行注释。之后用上述候选基因的表达量对棕色脂肪细胞进行分组,并用R包Seurat(v4.3.0.1)和GSEABase(v1.64.0)对高表达组和低表达组进行差异分析和差异基因的基因集富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA)。若差异基因成功富集到产热相关通路,则证明该候选基因与产热调控相关,而非只是伴随改变。在基因集富集分析中,以GOBP positive regulation of cold induced thermogenesis通路的评分NES>1.8为标准,进一步筛选得到候选目标基因。

1.4 小鼠冷刺激激活棕色脂肪

小鼠在30℃环境中饲养3周后,随机分为3组,每组6~7只。其中一组直接进行取材。另外两组小鼠先在16℃单笼饲养12h,随后一组在4℃单笼饲养12h,另一组在4℃单笼饲养3周。

1.5 实时荧光定量 PCR

使用RNAiso Plus(TaKaRa)从脂肪组织中提取总RNA。通过分光光度法(NanoDrop, Thermo Scientific)测定总RNA的浓度和纯度,并使用cDNA合成试剂盒ReverTra Ace- α (Toyobo)合成cDNA。用SYBR Green和靶基因特异性引物,在荧光温控PCR仪中(Mastercycler Eprealplex, Eppendorf, Germany)对cDNA进行定量PCR。所有引物在生工生物科技公司(中国上海)合成,以 β -actin为内参。引物序列及相关信息见表1。

表 1. 目的基因引物序列
Table 1. Primer sequences of target genes

基因名称	方向	引物序列(5'-3')	位置	扩增长度/bp	退火温度/℃
Slc25a17	Forward	AGCCGCGCCTCATGTTCTTGTGTA	875	372	56.6
	Reverse	CCCCCTTGAGAAAAATGAATGAAC	1 246		
Dnajc11	Forward	AGGGCTGCCGGGTTCTATG	1 560	370	59.0
	Reverse	GGCCGTGCTGGGGTCTGG	1 929		
Hsd17b12	Forward	GGCGCCGGCTTCCTGT	58	391	57.2
	Reverse	CATGCCACGTTTCTACTAAAA	448		
Mfsd2a	Forward	CCGGCCGGCAGAACAACAAGA	94	331	61.5
	Reverse	GTCGGCCACAAAAAGGATAATG	424		
Ddhd2	Forward	ATCCGTCCCCATCCCCGAACTCTT	144	255	57.6
	Reverse	CATACCGCATCCGCTCCCCTAAAT	398		
Me1	Forward	GCATTCCGGAAGCCAAGAGG	510	295	57.7
	Reverse	GGTGCCGCAGCCCGATGTA	804		
Pid1	Forward	AGGCAGCATTTGGGCAAGGAGTTT	953	175	54.3
	Reverse	CACGGCAGCAGCAGGTTTCAATGT	1 127		
Ppif	Forward	CTCCGCGCCGCTGCTCCTCTC	116	394	63.9
	Reverse	ATTGCTTTGGGGCCTGCGTTCG	509		
Slc25a34	Forward	GGGGAGGCAGAGGCAGGAGGAT	2 061	347	61.8
	Reverse	CCCCCGGACGTACACAAAACAGGAA	2 407		
Them4	Forward	CCCCCTTCTTTCTGTGTGTGTGT	587	295	55.8
	Reverse	GAGGCTGTTCTGAAGGGTCTGTGA	881		
Angpt1	Forward	CATTCTTCGTGCCATTCTGACTC	539	325	57.1
	Reverse	TGTATCTGGGCCATCTCCGACTTC	863		
Clstn3	Forward	CCCCTCGCCTCTATTTCCATTTCA	3 332	338	59.3
	Reverse	TGCGGCCCTCCTTTACCACAC	3 669		
Ctsz	Forward	CTGCGGGTCCGGTCAAGAGGT	72	169	62.0
	Reverse	CTGGCCCGAGCGGAAGTAGAGTC	240		
Pcyt2	Forward	GCCGCTGGAGGGGAGATTGACTA	1 284	314	62.0
	Reverse	CCATGGATGCCCGGGATACACAGC	1 597		
Pfkp	Forward	GTGATCGGCGGGGACGGAAGT	459	317	59.8
	Reverse	GCGCTACCAAGGCCAAGTAACC	775		
Sqle	Forward	TTGCCCCGAACCCCTTTGAGAA	611	284	59.2
	Reverse	ATGGCGACAGCGGTAGGAGAGCAC	894		
Atf5	Forward	CTTGCCCTTGCCACCTTTGACCT	715	280	62.9
	Reverse	CTGGCCCTCTGCCCGCTTCC	998		
Tmem41a	Forward	CATCGCCCTGGTCGCTTTGGTTC	747	115	59.0
	Reverse	TCATGCGTCCCTTCTGCGGCTCTGG	861		
Ankrd9	Forward	CCGGCGTCTGGGATCTCTGTCT	117	253	61.2
	Reverse	GGCGGCCCTGGGTTCTGTAG	369		
Aldoa	Forward	TGGCACCGAGAACCCGAGGAG	240	348	61.1
	Reverse	GCCAGGGCCGAGGGAGTATGTTT	587		

1.6 蛋白质印迹

组织在尿素裂解缓冲液(25 mmol/L Tris-HCl、8 mol/L 尿素、1% SDS、1 mmol/L EDTA、0.7 mol/L

DTT, pH7.4) 中裂解。超声均质化后,将样品在 12 000 g 下离心 15 min。用 10% 梯度 SDS-PAGE 凝胶电泳分离整个裂解物,并将其转移到 PVDF 膜上。

将膜与一抗(β -actin, Proteintech, 1 : 5 000; MFSD2, Proteintech, 1 : 1 000)于4℃孵育过夜,之后用辣根过氧化物酶偶联的抗兔或抗小鼠二抗(Vector Laboratories, 1 : 5 000)于室温孵育1 h。使用化学发光检测试剂盒(ECL Plus, Amersham Pharmacia Biotech),在发光图像分析仪(las-4000mini, Fujifilm)中进行显影。然后,用 β -actin对靶蛋白进行标准化。

1.7 统计学分析

对于定量PCR和蛋白质印迹定量分析数据,使用GraphPad Prism 7和SPSS 17.0进行统计分析。用独立样本 t 检验比较两组间的统计学差异,用单因素方差分析比较多组间的统计学差异,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 数据分析流程和质量控制

本研究选用了10篇领域内权威期刊发表的小鼠BAT的Bulk RNA-seq和scRNA-seq数据,按图1A中流程进行分析和筛选。对于Bulk RNA-seq,用主成分分析和样品距离矩阵灰度图,分析样品间的一致性和差异性。同组样品一致性好,不同处理组样品差异性好,代表实验条件控制得好,数据质量高。以GSE181123数据为例,30℃组3个样品和4℃组4个样品分别聚成一簇,两组间分离好,距离较远(图1B)。图1C展示了类似的结果,显示同一种处理条件下,样品之间的相似度较高,而不同组之间的样品相似度较低,证明所选取的数据实验条件控制得好,数据质量高。

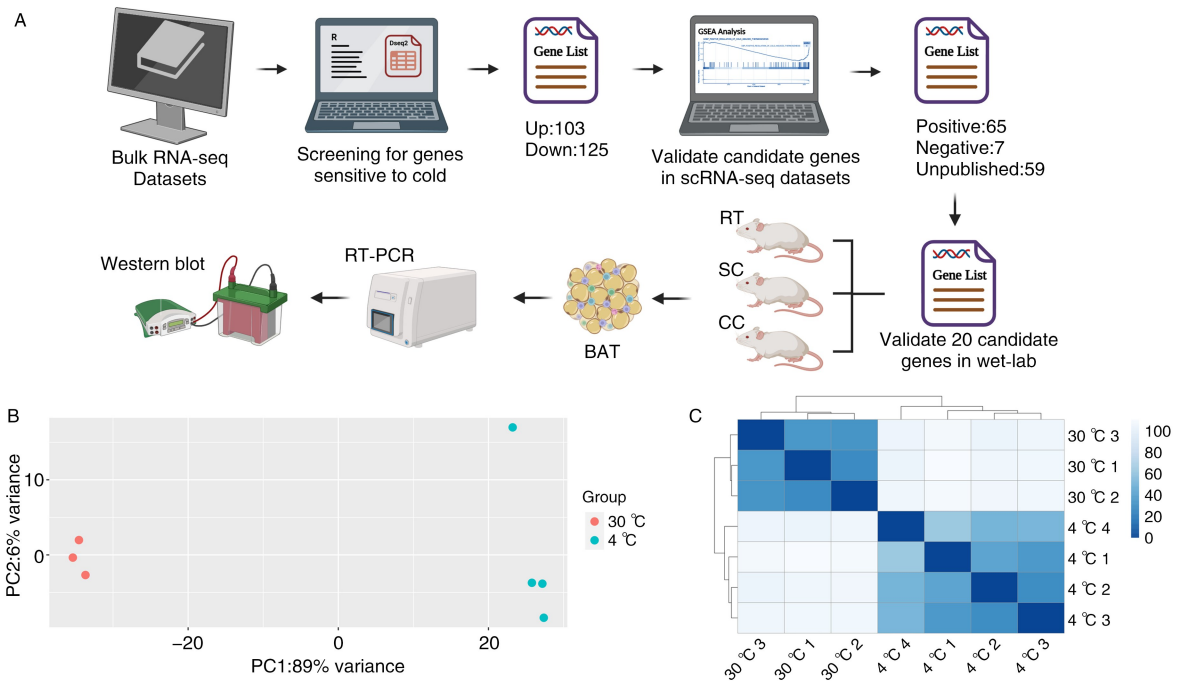


图1. 数据分析流程和质量控制

A为数据分析和基因筛选流程,B为主成分分析图,C为样品距离矩阵灰度图。

Figure 1. Data analysis process and quality control

2.2 利用Bulk RNA-seq数据筛选BAT产热激活过程中上调和下调的基因

使用R包DESeq2对BAT的Bulk RNA-seq数据中的RT与TN、SC与RT以及SC与TN三组进行比较,进行差异基因分析。用ABS(\log_2 FoldChange) > 1 且 $P_{adj} < 0.05$ 的条件进行筛选,得到不同数据库中BAT产热激活过程中上调和下调的基因。用R包ggplot2对差异基因进行火山图展示,结果显示环境温度显著改变了棕色脂肪基因表达谱(图2)。为

了排除不同实验室实验体系对结果造成的影响,对相同条件下各数据库中上调和下调的基因分别取交集。在SC与RT的比较中,取交集后得到20个上调基因和19个下调基因(图3A-B)。在SC与TN的比较中,取交集后得到67个上调基因和48个下调基因(图3C-D)。在RT与TN的比较中,取交集后得到35个上调基因和73个下调基因(图3E-F)。在对三种情况进行比较后,将上调的基因和下调的基因分别取并集,结果显示在棕色脂肪产热激活过

程中,上调的基因共有 103 个,下调的基因则有 125 个。

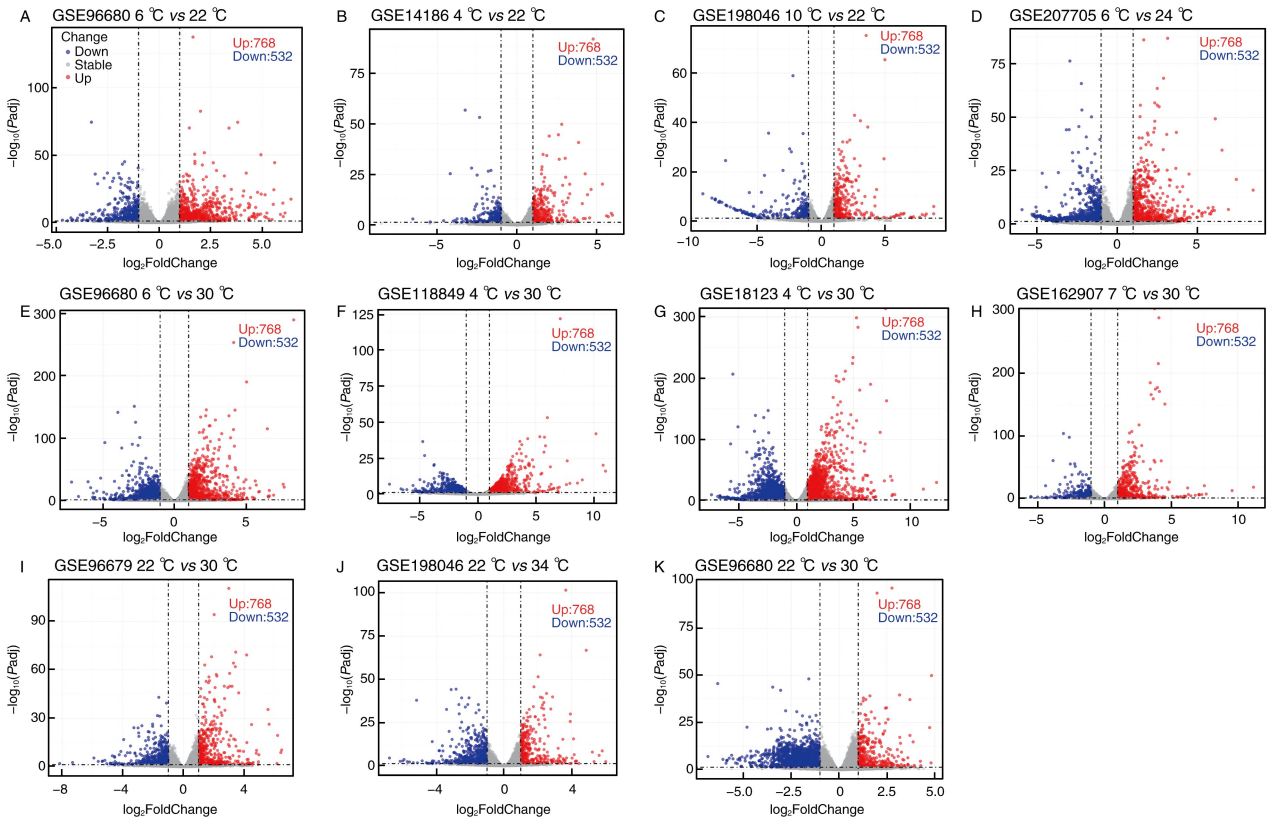


图 2. 差异表达基因火山图

A-D 为 SC 与 RT 比较的 4 组数据的差异基因火山图, E-H 为 SC 与 TN 比较的 4 组数据的差异基因火山图, I-K 为 RT 与 TN 比较的 3 组数据的差异基因火山图。

Figure 2. Volcanic map of differentially expressed genes

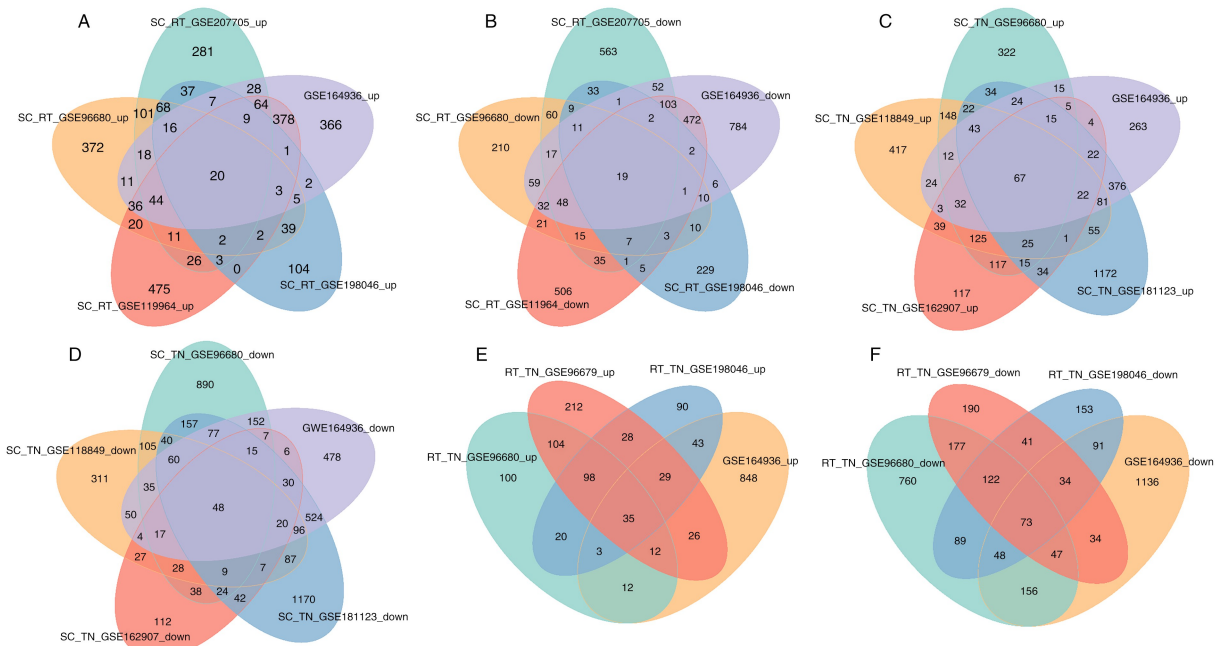


图 3. 对显著上调和下调的基因分别取交集的韦恩图

A 和 B 分别为 SC 与 RT 比较差异分析中显著上调和显著下调的基因取交集的韦恩图, C 和 D 分别为 SC 与 TN 比较差异分析中显著上调和下调的基因取交集的韦恩图, E 和 F 分别为 RT 与 TN 比较差异分析中显著上调和下调的基因取交集的韦恩图。

Figure 3. Venn plot of intersection of significantly upregulated and downregulated genes

2.3 目标基因在 scRNA-seq 数据库中的筛选

下载小鼠棕色脂肪单细胞核转录组测序数据 (E-MTAB-8562), 用 R 包 Seurat 进行数据质控、降维、聚类, 并根据标志基因表达情况对细胞类型进行注释。然后, 用上述候选基因的表达量将棕色脂肪细胞分为高表达组和低表达组, 并对高表达组和低表达组进行差异分析和差异基因的基因集富集分析。若差异基因富集到产热相关通路 GOBP positive regulation of cold induced thermogenesis, 则证明该候选基因与产热调控相关, 而非只是伴随改变

(图 4A-F)。在基因集富集分析所得结果中, 与产热通路正相关的冷刺激后上调基因有 65 个, 与产热通路负相关的冷刺激后下调基因有 7 个 (图 4G)。经过文献检索发现, 其中 13 个基因参与棕色脂肪产热的调控, 证明筛选流程的有效性 (图 4G)。对 72 个候选基因进行过表征富集分析, 主要分析 GOBP 和 KEGG 两个基因集数据库, 发现差异基因主要富集在核苷酸、脂质和糖类的代谢通路上, 这和棕色脂肪动员过程中代谢活动的增强是相符的 (图 4H-I)。

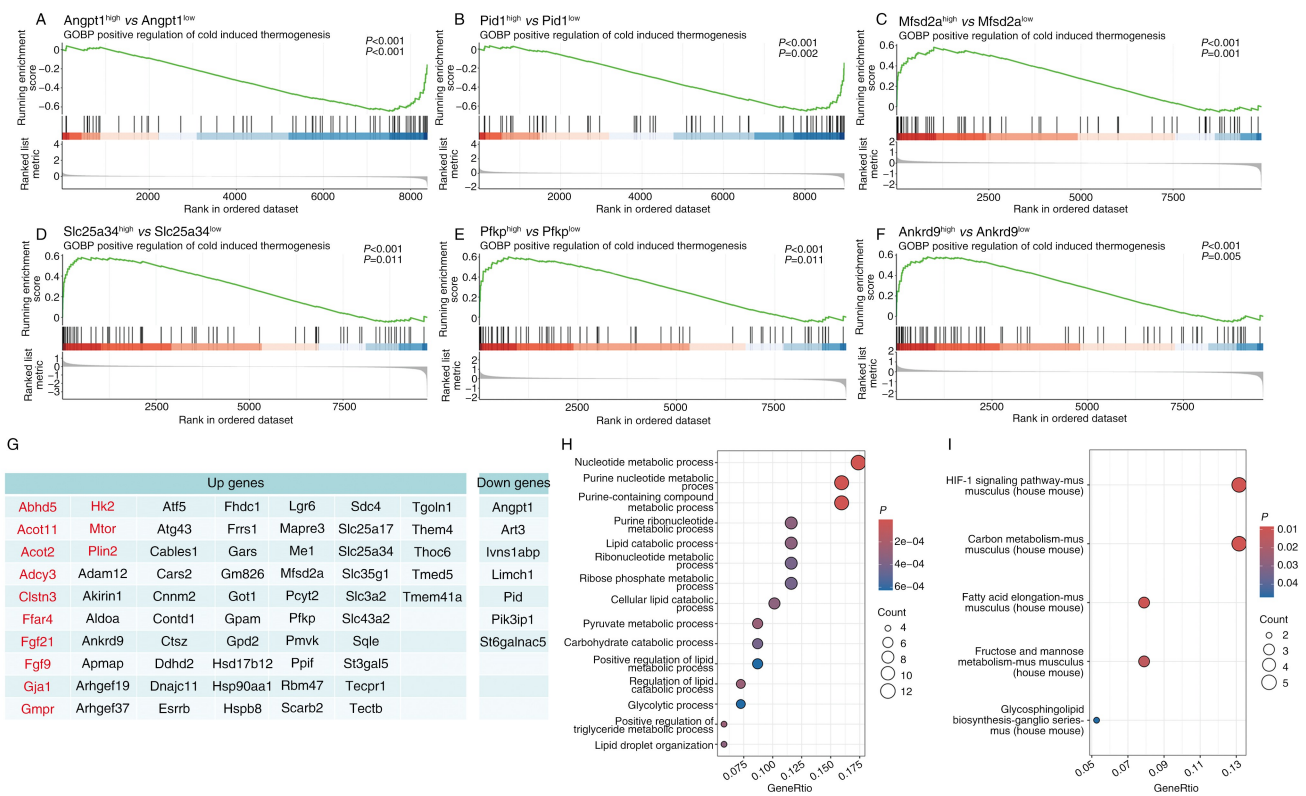


图 4. 用 scRNA-seq 数据筛选与产热通路相关的基因

A 和 B 为高表达 Angpt1 和 Pid1 的棕色脂肪细胞群中产热相关通路显著下调, C-F 为高表达 Mfsd2a、Slc25a34、Pfkp、Ankrd9 的棕色脂肪细胞群中产热相关通路显著上调, G 为与产热通路正相关和负相关的基因 (标注为红色的基因已有文献报道与产热相关), H-I 为用 GOBP 和 KEGG 基因集数据库对候选基因进行过表征富集分析。

Figure 4. Screening genes related to thermogenesis pathway using scRNA-seq data

2.4 候选基因 mRNA 与蛋白表达水平的验证

对筛选到的部分候选基因进行了实验验证。与来源于热中性小鼠的 BAT 相比, 候选基因在室温和 (或) 冷刺激小鼠的 BAT 中均明显上调或下调 (图 5A)。其中, Mfsd2a、Me1、Slc25a34、Pfkp、Ankrd9、Hsd17b12、Aldoa、Ctsz 及 Pcyt2 为慢性冷刺激处理后显著上调的基因 ($P < 0.01$; 图 5B), 而 Pid1、Angpt1 为慢性冷刺激处理后显著下调的基因 ($P < 0.01$; 图

5B)。在急性冷刺激处理后, Mfsd2a、Slc25a34、Pfkp、Ankrd9、Hsd17b12、Aldoa 及 Ctsz 的表达上调 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 而 Pid1 和 Angpt1 的表达下调 ($P < 0.01$)。用蛋白质印迹法检测了差异倍数最大的候选基因 Mfsd2a 在 BAT 中的蛋白水平, 结果发现冷刺激显著诱导了该基因的蛋白表达 (图 6C)。以上数据证明本研究中的筛选方法是有效且准确的。

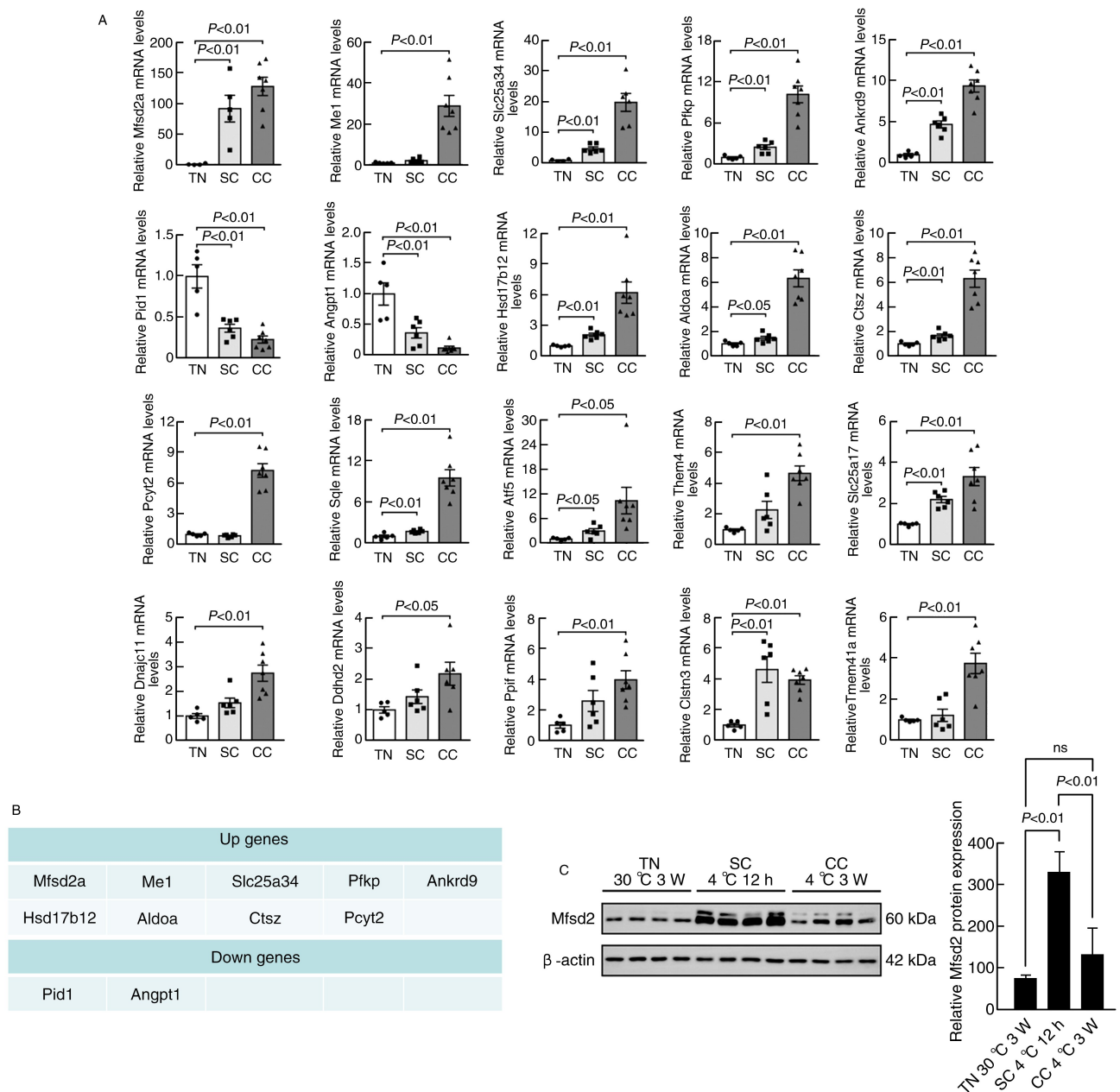


图 5. 湿实验验证生物信息学分析筛选结果

A 为部分候选基因在不同温度处理小鼠 BAT 中的 mRNA 水平 ($n=6 \sim 7$), B 为根据表达量变化显著情况筛选出的冷刺激后上调和下调的基因, C 为蛋白质印迹检测候选基因 Mfsd2a 在不同温度处理小鼠 BAT 中的蛋白水平 ($n=4$)。

Figure 5. Wet experiment validation of bioinformatics analysis screening results

3 讨论

生物信息学分析可以通过比较不同样品的基因表达数据,利用计算机算法,筛选与特定生物学过程或疾病状态相关的关键基因,对于理解疾病机制、发现新的生物标志物和治疗靶点具有重要意义。本研究利用 R 语言分析了公共数据库中小鼠 BAT 转录组测序,同时创新性地单细胞数据中进行模拟敲除,筛选出了一系列参与棕色脂肪产热的

候选基因,并进行了实验验证。为探究棕色脂肪产热的调控机制,提供了思路和方向。

本研究使用 GEO 数据库中 10 个 Bulk RNA-seq 数据,筛选出在冷刺激处理后 BAT 中上调或下调的基因,再利用单细胞核组转录数据筛选出与产热通路相关的基因,共获得正相关基因 65 个,负相关基因 7 个,其中 Abhd5、Acot11 等 13 个基因已经有报道与棕色脂肪产热相关^[20-21]。选取 20 个基因,并通过湿实验进行验证。最后筛选出 9 个上调超过 5

倍的基因,分别为 Mfsd2a、Me1、Slc25a34、Pfkp、Ankrd9、Hsd17b12、Aldoa、Ctsz 及 Pcyt2;2 个下调超过 50% 的基因,分别为 Pid1、Angpt1。

13 个已见报道的基因中,Abhd5 是脂肪甘油三酯脂肪酶(adipose triglyceride lipase, ATGL)的共激活因子,ATGL 是脂肪组织、肝脏和心脏中脂肪分解的关键限速酶。Abhd5 通过与 ATGL 的相互作用,激活脂肪分解过程,从而释放出游离脂肪酸,促进棕色脂肪产热^[21]。Acot11(即 Them1)是一种长链酰基辅酶 A 硫酯酶,可水解棕色脂肪细胞内脂滴中的长链酰基辅酶 A,以阻止其作为燃料用于产热,从而抑制 BAT 的产热,且其基因敲除小鼠表现出产热增加和对饮食诱导的肥胖及代谢紊乱的抵抗^[20-22]。Clstn3 是产热脂肪细胞多房性脂肪变性和高效脂质利用的关键决定因素,Clstn3 β 是 Clstn3 基因座的脂肪细胞选择性产物。Clstn3 β 定位于 ER-LD 接触位点,通过阻断 CIDE 介导的脂滴融合来限制脂滴扩张,Clstn3 β 的表达缺失导致 BAT 脂滴形态异常和产热受损,而 Clstn3 β 的过表达能促进 BAT 脂滴的多房性和脂肪酸氧化^[10]。以上结果可作为本研究差异基因筛选准确性的验证。

在最终的 11 个候选基因中,Mfsd2a 是一种跨膜转运蛋白,能够转运长链脂肪酸,其在寒冷环境中表达升高,可能通过增强脂肪酸的摄取和氧化以增加产热^[23]。研究表明,Mfsd2a 的 mRNA 水平随着冷刺激时间的延长持续升高,蛋白水平在急性冷刺激时表达最高,而慢性冷刺激较急性冷刺激有下降趋势。该基因 mRNA 与蛋白在急性、慢性冷刺激后表达变化不一致的原因暂无报道,推测这可能与蛋白的稳定性和翻译后修饰调节有关。Slc25a34 是定位于线粒体的离子通道,研究表明,敲除 Slc25a34 的肝细胞显示出增加的线粒体生物合成、脂质合成和 ADP/ATP 比率,而 Slc25a34 过表达则有相反的效果^[24]。Slc25a34 可能通过调节线粒体功能来影响能量代谢。磷酸果糖激酶(phosphofructokinase, PFKP)是糖酵解途径中的关键限速酶,能催化果糖 6-磷酸转化为果糖 1,6-二磷酸,从而调节细胞的糖酵解^[25],PFKP 可能通过影响糖酵解过程进而影响 BAT 的代谢活动和产热功能。Ankrd9 在脂质代谢紊乱时表达水平会发生变化,由于核黄素缺乏导致的脂肪酸氧化障碍中,Ankrd9 mRNA 水平显著增加^[26],提示 Ankrd9 可能参与了脂质氧化过程,进而对 BAT 产热功能造成影响。综上所述,本研究认为筛选出的关键基因可能在 BAT 产热调控中发挥重要的调控作用。进一步深入探究,有望揭示药物干

预靶点,从而为改善肥胖提供新的治疗策略。

有研究为了筛选在 BAT 的功能和代谢途径中发挥调控作用的关键基因,利用人类基因连接组技术,预测了与解偶联蛋白 1(uncoupling protein 1, UCP1)生物学距离最近的 1% 的人类基因^[27]。本研究则是通过分析公共数据库中小鼠棕色脂肪 Bulk RNA-seq 和 scRNA-seq 数据,筛选出了一系列在产热激活过程显著变化且发挥关键作用的基因,并进行了实验验证。两研究虽然目的相同,但方法不同,前者筛选出的基因在生物学距离上均与 UCP1 接近,选出的基因与本研究没有重合;并且本研究选择小鼠作为研究对象并构建了动物模型,通过实验验证了候选基因的表达变化,为候选基因在 BAT 产热调控中的作用提供了更直接的证据。其他类似研究,如 Hua 等^[28]则是直接筛选对照组和肥胖组之间的差异表达基因,而本研究则是筛选 BAT 产热激活过程中上调和下调的基因。前者研究为肥胖的早期诊断和干预提供了潜在的生物标志物,而本研究则通过激活 BAT 的产热功能,为治疗肥胖提供了新的潜在靶点。

综上所述,本研究开创性地构建了调控棕色脂肪产热关键基因的筛选方法,并使用该方法基于公共数据库筛选出了与产热通路相关的差异表达基因,而后检测了部分候选基因的 mRNA 与蛋白质表达水平。这些基因可能参与调控 BAT 的产热过程,并有望成为新的靶点,以改善肥胖及其相关并发症,但仍然需要更深入的实验,以验证它们的生物学功能。

[参考文献]

- [1] LINGVAY I, COHEN R V, ROUX C W L, et al. Obesity in adults[J]. Lancet, 2024, 404(10456): 972-987.
- [2] World Obesity Federation. Obesity atlas 2023[EB/OL]. [2024-10-23]. <https://data.worldobesity.org/publications/?cat=19>.
- [3] BURGIO E, LOPOMO A, MIGLIORE L. Obesity and diabetes: from genetics to epigenetics[J]. Mol Biol Rep, 2015, 42(4): 799-818.
- [4] CASCETTA P, CAVALIERE A, PIRO G, et al. Pancreatic cancer and obesity: molecular mechanisms of cell transformation and chemoresistance[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(11): 3331.
- [5] ZELJKOVIC A, VEKIC J, STEFANOVIC A. Obesity and dyslipidemia in early life: impact on cardiometabolic risk[J]. Metabolism, 2024, 156: 155919.
- [6] BARTELT A, BRUNS O T, REIMER R, et al. Brown adi-

- pose tissue activity controls triglyceride clearance[J]. *Nat Med*, 2011, 17(2): 200-205.
- [7] VAN MARKEN LICHTENBELT W D, VANHOMMERIG J W, SMULDERS N M, et al. Cold-activated brown adipose tissue in healthy men [J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(15): 1500-1508.
- [8] HANSEN M J W, HOEKS J, BRANS B, et al. Short-term cold acclimation improves insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *Nat Med*, 2015, 21(8): 863-865.
- [9] CYPESS A M, CANNON B, NEDERGAARD J, et al. Emerging debates and resolutions in brown adipose tissue research[J]. *Cell Metab*, 2025, 37(1): 12-33.
- [10] QIAN K, TOL M J, WU J, et al. CLSTN3 β enforces adipocyte multilocularity to facilitate lipid utilization[J]. *Nature*, 2023, 613(7942): 160-168.
- [11] SANCHEZ-GURMACHES J, TANG Y, JESPERSEN N Z, et al. Brown fat AKT2 is a cold-induced kinase that stimulates ChREBP-mediated de novo lipogenesis to optimize fuel storage and thermogenesis[J]. *Cell Metab*, 2018, 27(1): 195-209.
- [12] YU P, LI J, DENG S P, et al. Publisher correction: integrated analysis of a compendium of RNA-seq datasets for splicing factors[J]. *Sci Data*, 2020, 7(1): 267.
- [13] CHOI K M, KIM J H, KONG X, et al. Defective brown adipose tissue thermogenesis and impaired glucose metabolism in mice lacking *Letmd1* [J]. *Cell Rep*, 2021, 37(11): 110104.
- [14] HADADI N, SPILJAR M, STEINBACH K, et al. Comparative multi-tissue profiling reveals extensive tissue-specificity in transcriptome reprogramming during thermal adaptation[J]. *Elife*, 2022, 11: e78556.
- [15] BURL R B, RONDINI E A, WEI H G, et al. Deconstructing cold-induced brown adipocyte neogenesis in mice [J]. *Elife*, 2022, 11: e80167.
- [16] ANGUEIRA A R, SHAPIRA S N, ISHIBASHI J, et al. Early B cell factor activity controls developmental and adaptive thermogenic gene programming in adipocytes[J]. *Cell Rep*, 2020, 30(9): 2869-2878.
- [17] FLICKER D, SANCAK Y, MICK E, et al. Exploring the *in vivo* role of the mitochondrial calcium uniporter in brown fat bioenergetics [J]. *Cell Rep*, 2019, 27(5): 1364-1375.
- [18] WYCKELSMA V L, VENCKUNAS T, HOUWELING P J, et al. Loss of α -actinin-3 during human evolution provides superior cold resilience and muscle heat generation [J]. *Am J Hum Genet*, 2021, 108(3): 446-457.
- [19] SUN W, DONG H, BALAZ M, et al. snRNA-seq reveals a subpopulation of adipocytes that regulates thermogenesis [J]. *Nature*, 2020, 587(7832): 98-102.
- [20] TILLMAN M C, IMAI N, LI Y, et al. Allosteric regulation of thioesterase superfamily member 1 by lipid sensor domain binding fatty acids and lysophosphatidylcholine [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(36): 22080-22089.
- [21] YANG A, MOTTILLO E P, MLADENOVIC-LUCAS L, et al. Dynamic interactions of ABHD5 with PNPLA3 regulate triacylglycerol metabolism in brown adipocytes [J]. *Nat Metab*, 2019, 1(5): 560-569.
- [22] KRUMM C S, LANDZBERG R S, RAMOS-ESPIRITU L, et al. High-throughput screening identifies small molecule inhibitors of thioesterase superfamily member 1: implications for the management of non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Mol Metab*, 2023, 78: 101832.
- [23] NGUYEN L N, MA D, SHUI G, et al. *Mfsd2a* is a transporter for the essential omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid [J]. *Nature*, 2014, 509(7501): 503-506.
- [24] ROY N, ALENCASTRO F, ROSEMAN B A, et al. Dysregulation of lipid and glucose homeostasis in hepatocyte-specific SLC25A34 knockout mice [J]. *Am J Pathol*, 2022, 192(9): 1259-1281.
- [25] WANG H Z, PENALOZA T, MANEA A J, et al. PFKF: more than phosphofructokinase [J]. *Adv Cancer Res*, 2023, 160: 1-15.
- [26] WANG X, NEWKIRK R F, CARRE W, et al. Regulation of ANKRD9 expression by lipid metabolic perturbations[J]. *BMB Rep*, 2009, 42(9): 568-573.
- [27] SALAZAR-TORTOSA D F, ENARD D, ITAN Y, et al. Novel brown adipose tissue candidate genes predicted by the human gene connectome [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 7614.
- [28] HUA Y, XIE D, ZHANG Y, et al. Identification and analysis of key genes in adipose tissue for human obesity based on bioinformatics [J]. *Gene*, 2023, 888: 147755.

(此文编辑 文玉珊)