

# 原发性卵磷脂胆固醇酰基转移酶缺乏症

赵革平 综述      刘德文 审校

(山西医科大学生物化学教研室, 太原 030001)

**摘要** 原发性卵磷脂胆固醇酰基转移酶缺乏症是一类卵磷脂胆固醇酰基转移酶基因缺陷导致脂质代谢紊乱的分子病。根据其生物化学和临床表现分为鱼眼病和家族性卵磷脂胆固醇酰基转移酶缺乏症, 导致卵磷脂胆固醇酰基转移酶缺陷的基因突变包括碱基置换、缺失和插入。其突变由常染色体隐性遗传。

**关键词** 鱼眼病; 家族性卵磷脂胆固醇酰基转移酶缺乏症; 基因缺陷

原发性卵磷脂胆固醇酰基转移酶(lecithin cholesterol acyltransferase, LCAT)缺乏症是指患者 LCAT 基因缺陷, 血浆 LCAT 活性全部或部分丧失, 以致高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)胆固醇代谢障碍的一类常染色体隐性遗传性疾病<sup>[1~5]</sup>。根据患者血浆 LCAT 活性丧失程度|生物化学和临床表现不同分为鱼眼病和家族性卵磷脂胆固醇酰基转移酶缺乏症(familial LCAT deficiency, FLD)。自 1967 年和 1979 年分别发现鱼眼病和 FLD 以来, 一直在探索其发病的分子基础。1990 年, Taramelli 等<sup>[6]</sup>首先报道了 FLD 患者的 LCAT 基因缺陷。随后 Karmin 和 Qu SJ 等<sup>[2,3]</sup>用基因体外表达模型证实: 鱼眼病和 FLD 患者的 LCAT 基因缺陷是其发病的分子基础。这一发现使人们对鱼眼病和 FLD 的病理机制有了更深入的认识。

## 1 卵磷脂胆固醇酰基转移酶结构和功能

卵磷脂胆固醇酰基转移酶(LCAT)是一种糖蛋白, 用 DNA 序列分析和 Southern Blot 杂交方法证实 LCAT 等位基因位于第 16 号染色体 q<sup>21~22</sup> 区。LCAT 的 cDNA 和基因组序列已被分析清楚, 其一级结构也被阐明。LCAT 基因由 6 个外显子和 5 个内含子组成, 其 mRNA 含有 1 550 个核苷酸<sup>[7,8]</sup>。LCAT 仅在肝脏中合成并被分泌到血浆, 以游离或与脂蛋白结合形式存在。成熟 LCAT 分子量约 67 kDa, 其蛋白组分由 416 个氨基酸残基组成, 分子量为 45 kDa, 富含谷氨酸、天冬氨酸、甘氨酸、脯氨酸和亮氨酸。LCAT 总量的 25% 是碳水化合物, 以共价键连接在四个潜在 N-糖基化位点

上。Yang 等<sup>[9]</sup>用 AA 序列和结构推算方法推算其二级结构疏水性和螺旋性疏水矩, 推算出  $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -折叠和其它结构分别占 21%、24% 和 25%。至今尚无 LCAT 三级结构报道。LCAT 选择性底物为 HDL(HDL), 特别是新生盘状或小球形 HDL。激活因子是载脂蛋白 A I。LCAT 催化卵磷脂 Sn-2 位上的酯酰基转移至胆固醇的 3-位羟基, 形成溶血卵磷脂和胆固醇酯。HDL 核心是 LCAT 酶促反应产物胆固醇酯的贮所<sup>[10]</sup>, 并通过胆固醇转移蛋白将胆固醇酯转移至其它脂蛋白和细胞膜, 与它们交换表面组分。因此, 通过 HDL 的作用, LCAT 降低血浆游离胆固醇的水平, 参与 HDL 的成熟, 改变 HDL 亚型分布和组成, 修饰其它脂蛋白的脂质组成和整体结构, 同时通过影响膜的游离胆固醇含量而影响膜结构的稳态, 从而间接地影响细胞的胆固醇水平。总之, LCAT 对于 HDL 逆转运外周组织胆固醇至肝脏代谢, 对血浆游离胆固醇及其酯水平调节具有非常重要意义。

近几年来, 体外表达野生型和突变型 LCAT 基因研究发现: 野生型 LCAT 蛋白同时具有  $\alpha$ -LCAT 和  $\beta$ -LCAT 两种活性; FLD 患者的  $\alpha$ -LCAT 和  $\beta$ -LCAT 活性完全或基本丧失; 鱼眼病患者仅缺乏  $\alpha$ -LCAT 活性, 保持  $\beta$ -LCAT 活性<sup>[3~5]</sup>。 $\alpha$ -LCAT 活性是指 LCAT 经载脂蛋白 A I 激活后, 在 HDL 表面发生酶促反应, 使游离胆固醇转变为胆固醇酯。 $\beta$ -LCAT 活性是指 LCAT 在低密度脂蛋白和极低密度脂蛋白表面起催化作用使游离胆固醇转变为胆固醇酯。人体内维持正常脂蛋白代谢的总 LCAT 活性中,  $\alpha$ -LCAT 活性占 95%, 而  $\beta$ -LCAT 活性仅占 5%<sup>[11,12]</sup>。LCAT 酶促反应机制尚未彻底阐明, 但可以肯定其活性中心含丝氨酸、组氨酸和半胱氨酸残基。

## 2 卵磷脂胆固醇酰基转移酶基因缺陷

自 1967 年和 1979 年 Norum 和 Carlson 等分别报道 FLD 和鱼眼病, 以来, 人们一直在研究 FLD 和鱼眼病的分子基础。1974 年, Gjone 等从一个家族中两个成员患 FLD 病例推测 FLD 是遗传性疾病。直到 1990 年,

附表. 卵磷脂胆固醇酰基转移酶基因缺陷.

	突变	碱基置换
致鱼眼病突变		
M <sub>10</sub>	Pro <sup>10</sup> →Leu	5'-CCC-CT*G-CAC-3'
M <sub>32</sub>	Leu <sup>32</sup> →Pro	5'-TGC-CC*G-GG*G-3'
M <sub>123</sub>	Thr <sup>123</sup> →Ile	5'-CAC-AT*A-CTG-3'
M <sub>144</sub>	Tyr <sup>144</sup> →Cys	5'-CAG-TA*T-CCC-3'
M <sub>347</sub>	Thr <sup>347</sup> →Met	5'-GAC-AT*G-GTG-3'
M <sub>300</sub>	Leu <sup>300</sup> →delet	5'-GTC-CTC <sup>Δ</sup> -CAG-3'
致家族性卵磷脂胆固醇酰基转移酶缺乏症突变		
M <sub>83</sub>	Tyr <sup>83</sup> →stop	5'-GTC-TAA*-AAC-3'
M <sub>93</sub>	Ala <sup>93</sup> →Thr	5'-A*AC-ACC-CCT-3'
M <sub>135</sub>	Arg <sup>135</sup> →Trp	5'-GTG-T*GG-GAC-3'
M <sub>147</sub>	Arg <sup>147</sup> →Trp	5'-TGG-T*GG-CTG-3'
M <sub>156</sub>	Tyr <sup>156</sup> →Asn	5'-GAG-A*AC-TAC-3'
M <sub>158</sub>	Arg <sup>158</sup> →Cys	5'-TAC-T*GC-AAG-3'
M <sub>209</sub>	Leu <sup>209</sup> →Pro	5'-TCT-CC*T-GGG-3'
M <sub>293</sub>	Met <sup>293</sup> →Ile	5'-TAC-ATA*-TGG-3'
M <sub>321</sub>	Thr <sup>321</sup> →Ile	5'-CCC-AT*G-CC*C-3'
M <sub>376</sub>	Gln <sup>375</sup> →Thr <sup>376</sup> →...→416: end	5'-ATA-A*CA-G...→3'

\*: 碱基置换; ·: 该碱基插入; Δ: 该密码子缺失。

Taramelli 等<sup>[6]</sup>应用 DNA 序列分析技术测定了一个 FLD 患者的 LCAT 基因序列,发现其中一个 LCAT 等位基因第 147 位密码子中一个碱基 C 被 T 置换,才证实 FLD 患者有 LCAT 基因突变。随后许多科学家应用等位基因特异性突变检测系统—诱变分离聚合酶链反应、限制性核酸内切酶酶谱分析及 DNA 序列分析技术发现了 50 多例 10 多种分别与 FLD 或鱼眼病相关的 LCAT 基在突变。目前为止已发病的 LCAT 基因突变见附表<sup>[2~4,14~19]</sup>。

从附表可以看出,鱼眼病和 FLD 的 LCAT 的基因突变可以发生在 LCAT 基因 6 个外显子中的任何一个,鱼眼病或 FLD 的 LCAT 基因突变位点分布没有相对集中性,而有不同表型的 LCAT 基因突变位点却很接近,如导致鱼眼病的 LCAT 基因第 144 位密码子突变位点和导致 FLD 的第 147 位密码子突变位点之间仅隔一个密码子。LCAT 基因序列中相近区域发生突变

可导致不同 LCAT 缺陷,而各个外显子中的不同位点基因突变导致相似 LCAT 缺陷,这提示 LCAT 结构复杂,含有多个具有重要功能的结构域。LCAT 基因突变有三种类型:碱基置换、缺失和插入。例如,导致鱼眼病的 LCAT 基因突变第 123 位密码子中碱基 C 被 T 置换,LCAT 酶蛋白第 123 位氨基酸残基苏氨酸被异亮氨酸取代。又如鱼眼病患者 LCAT 基因中第 300 位密码子整个缺失,LCAT 酶蛋白第 300 位氨基酸残基亮氨酸丢失。还如导致 FLD 病变的 LCAT 基因中第 376 位密码子中插入一个碱基 A,从而使其的读码框架发生改变。FLD 和鱼眼病患者是纯合子或复合杂合子。如某鱼眼病患者两个 LCAT 等位基因都是第 300 位密码子整个缺失,而有的鱼眼病患者两个 LCAT 等位基因一个是第 123 位密码子突变,另一个是第 144 位密码子突变,即为复合杂合子<sup>[17]</sup>。

为了证实与 FLD 或鱼眼病相关的 LCAT 基因缺

陷是导致 FLD 和鱼眼病的原发病因,1993 年, Karmin 等<sup>[4]</sup>首先用定点突变技术人工合成 LCAT 缺陷基因,并用重组 DNA 技术体外表达野生型和突变型 LCAT 基因。随后 Qu SJ 等<sup>[3]</sup>也用基因体外表达模型证实了导致 FLD 或鱼眼病的 LCAT 基因缺陷,实验结果显示:野生型和突变型 LCAT 基因转化细胞都转录 LCAT 的 mRNA, Western Blot 分析证实所有转化细胞合成 LCAT 酶蛋白。鱼眼病 LCAT 缺陷基因转化细胞分泌的 LCAT 量相当于野生型的 75%,而 FLD 的仅为 15%。FLD 和鱼眼病的 LCAT 缺陷基因转化细胞培养液  $\alpha$ -LCAT 活性分别为野生型的 4.5% 和 2.3%,而  $\beta$ -LCAT 活性分别为野生型的 66% 和 2%。这与 FLD 患者血浆缺乏  $\alpha$ -和  $\beta$ -LCAT 活性,而鱼眼病患者血浆缺乏  $\alpha$ -LCAT 活性,保持  $\beta$ -LCAT 活性的生物化学表型相似<sup>[1,11,12,19,20]</sup>,从而证实了 LCAT 基因缺陷是 FLD 和鱼眼病的分子基础,也证实了正常 LCAT 酶蛋白同时具有  $\alpha$ -LCAT 和  $\beta$ -LCAT 活性, $\alpha$ -LCAT 和  $\beta$ -LCAT 活性仅是 LCAT 的两个功能,而不是 LCAT 基因的两种植表型。

### 3 鱼眼病和家族性卵磷脂胆固醇酰基转移酶缺乏症患者的生物化学及临床表现

典型情况下,鱼眼病及 FLD 患者血浆 LCAT 没有能力使人工构建的 HDL 样颗粒中的胆固醇进行酯化,即缺乏  $\alpha$ -LCAT 活性。但鱼眼病患者血浆具有正常  $\beta$ -LCAT 活性,血浆胆固醇酯化速率正常,故其血浆非酯化胆固醇与总胆固醇的比值正常。相反,FLD 患者血浆 LCAT 活性完全或基本丧失,血浆胆固醇酯化速率下降,非酯化胆固醇水平明显增高。虽然鱼眼病和 FLD 患者血浆 LCAT 含量都减少,呈现 HDL 胆固醇水平低下、低  $\alpha$ -脂蛋白血症、甘油三酯增高及角膜混浊,但 FLD 患者有不同于鱼眼病的临床表现即前者能发生贫血和肾病<sup>[11,12,19,20]</sup>。

虽然血浆 HDL 胆固醇水平低下是冠心病发生发展的危险因素<sup>[21]</sup>,而 FLD 和鱼眼病患者血浆 HDL 胆固醇含量下降却还没有发现患冠心病危险性增加的倾向,仅观察到一些 FLD 患者出现早发性动脉粥样硬化。因此,冠心病不是 FLD 和鱼眼病的临床特征<sup>[1,17]</sup>。

已经证实 FLD 和鱼眼病是常染色体隐性遗传的分子病。患者为纯合子或复合杂合子。家族谱系调查显示:纯合子患者父亲和母亲往往是近亲结婚,携带相同的 LCAT 缺陷基因,且患者子女是杂合子。而复合杂合子患者父亲和母亲往往非近亲结婚,各携带不同的 LCAT 缺陷基因,患者子女也是纯合子携带者。无论非

何种 LCAT 基因缺陷,杂合子携带者除了 HDL 胆固醇水平、载脂蛋白 A I 水平及 LCAT 活性略有下降外,其血脂代谢基本正常,残余 LCAT 活性能维持脂蛋白正常代谢<sup>[14,16]</sup>。因此,杂合子携带者无临床症状,它们的生物化学表型相似,与 LCAT 基因突变类型及位点无关<sup>[17]</sup>。

典型鱼眼病患者缺乏  $\alpha$ -LCAT 活性。然而 Klein 等<sup>[2]</sup>报道的一个纯合子鱼眼病患者例外,其 LCAT 基因发生缺失突变,第 300 位亮氨酸密码子缺失,血浆保持一定的  $\alpha$ -LCAT 活性(为正常对照的 14%),而且每单位质量的  $\alpha$ -LCAT 活性正常。患者血浆胆固醇酯化速率下降,表现鱼眼病的临床症状。作者认为其临床表现是  $\alpha$ -LCAT 和  $\beta$ -LCAT 活性均降低的结果。因此, $\alpha$ -LCAT 活性缺乏不是产生鱼眼病的必备条件。FLD 和鱼眼病仅是原发性 LCAT 缺乏症的不同临床表现,主要由患者残余的总 LCAT 活性缺乏严重程度所决定。

目前掌握资料表明,携带不同甚至相同 LCAT 缺陷基因的 FLD 和鱼眼病患者,他们之间的生物化学及临床表型有多样性的特点,其 LCAT 基因缺陷所导致的机体损害程度是不同的。如已报道的具有相同 LCAT 基因型的两个兄弟具有不同表型,仅弟弟出现肾病。因此,原发性 LCAT 缺乏症患者临床表现不仅与 LCAT 基因型有关,还可能受 LCAT 分解代谢速率个体差异、膳食因素及其它相关基因缺陷的影响<sup>[22,23]</sup>。

### 4 展望

虽然对 FLD 和鱼眼病的分子基础、生物化学及临床表现有一定了解,但还没有彻底了解其病理机制,LCAT 的三级结构还需进一步研究。LCAT 活性中心位置的详细排列、酶激活及表面结合中涉及的其它功能区域还需要定点突变或专一的化学标记等实验证实。要鉴别诊断 FLD 和鱼眼病,还需要更清楚地揭示 LCAT 基因及其调控机制,对某些与 LCAT 缺乏状态相关的基因缺陷进行鉴定<sup>[24]</sup>。随着分子生物学技术发展及研究进一步深入,对原发性 LCAT 缺乏症的病理机制、诊断及治疗研究会有很大进展。

### 参考文献

- 1 Norum KR, Gjone E, Glomset JA. Familial lecithin: cholesterol acyltransferase deficiency, including fish eye disease. *Metabolic Basis of Inherited Disease*. 6th ed, New York: Scriver CR, 1989; 1181~1194.
- 2 Klein HG, Silvia SF, Nicolas D, et al. Fish eye syndrome: a molecular defect in the lecithin-cholesterol acyltrans-

- ferase (LCAT) gene associated with normal  $\alpha$ -LCAT-specific activity. *J Clin Invest*, 1993, **92**: 479~485.
- 3 Qu SJ, Fan HZ, Pownal HJ, et al. Invitro expression of natural mutants of human lecithin-cholesterol acyltransferase. *J Lipid Res*, 1995, **36**: 967~974.
  - 4 Funke H, Eckardstein AV, Pritchard PH. Genetic and phenotypic heterogeneity in familial lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency. *J Clin Invest*, 1993, **91**: 677~683.
  - 5 Karmin O, Hill JS, Wang X, et al. Recombinant lecithin-cholesterol acyltransferase containing a Thr<sup>123</sup> → Ile mutation esterifies cholesterol in low density lipoprotein but not in high density lipoprotein. *J Lipid Res*, 1993, **34**: 81~88.
  - 6 Taramelli R, Pontoglio M, Candiani G, et al. Lecithin-cholesterol acyltransferase deficiency; molecular analysis of a mutated allele. *Hum Genet*, 1990, **85**: 195~199.
  - 7 Mclean J, Fielding C, Drayna D, et al. Cloning and expression of human lecithin - cholesterol acyltransferase cDNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, **83**: 2 335~339.
  - 8 Mclean J, Wion K, Drayna D, et al. Human lecithin-cholesterol acyltransferase gene; complete gene sequence and sites of expression. *Nucleic Acids Res*, 1986, **14**: 9 397~406.
  - 9 Yang CY, Manoogian D, Pao Q, et al. Lecithin-cholesterol acyltransferase; functional vegions and a structural mode of the enzyme. *J Biol Chem*, 1987, **262**: 3 086~091.
  - 10 Jonas A. Lecithin-cholesterol acyltransferase in the metabolism of high density lipoproteins. *Biochem Biophys Acta*, 1991, **1 084**: 205~220.
  - 11 Carlson LA, Holmquist L. Evidence for the presence in human plasma of lecithin-cholesterol acyltransferase activity ( $\beta$ -LCAT) specifically esterifying free cholesterol of combined pre- $\beta$ -and  $\beta$ -lipoproteins studies of fish eye disease patients and control subjects. *Acta Med Scand*, 1985, **218**: 197~205.
  - 12 Carlson LA, Holmquist L. Evidence for deficiency of high density lipoprotein lecithin-cholesterol acyltransferase activity ( $\alpha$ -LCAT) in fish eye disease. *Acta Med Scand*, 1985, **218**: 189~196.
  - 13 Funke H, Eckardstein AV, Pritchard PH, et al. Genetic and phenotypic heterogeneity in familial lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency. *J Clin Invest*, 1993, **91**: 677~683.
  - 14 Bujo H, Kusunoki J, Ogasawara M, et al. Molecular defect in familial lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency; a single nucleotide insertion in LCAT gene cause a complete deficient type of the disease. *Biochem Biophys Res Commun*, 1991, **181**: 933~940.
  - 15 Klein HG, Lohse P, Pritchard PH, et al. Two different allelic mutations in the lecithin-cholesterol acyltransferase gene associated with the fish eye syndrome. *J Clin Invest*, 1992, **89**: 499~506.
  - 16 Klein HG, Lohse P, Duverger N, et al. Two different allelic mutations in the lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) gene resulting in classic LCAT deficiency; LCAT (Tyr<sup>83</sup>→stop) and LCAT (Tyr<sup>156</sup>→Asn). *J Lipid Res*, 1992, **33**: 49~58.
  - 17 Contacos C, Sullivan DR, Rye KA, et al. A new molecular defect in the lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) gene associated with fish eye disease. *J Lipid Res*, 1996, **37**: 35~44.
  - 18 Eiichi M, Yoshiko N, akashi M, et al. Lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency with a missense mutation in exon 6 of the LCAT gene. *Biochem Biophys Res Commun*, 1991, **178**: 460~466.
  - 19 Assmann G, Eckardstein AV, Funke H. Lecithin-cholesterol acyltransferase deficiency and fish eye disease. *Curr Opin Lipidol*, 1991, **2**: 110~117.
  - 20 Funke H, Eckardstein AV, Pritchard PH, et al. A molecular defect causing fish eye disease; an amino acid exchange in lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) leads to the selective loss of  $\alpha$ -LCAT activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, **88**: 4 855~859.
  - 21 Tall AR. Plasma high density lipoproteins metabolism and relationship to athero genesis. *J Clin Invest*, 1990, **86**: 379~384.
  - 22 Gotoda T, Yamada N, Murase T, et al. Differential phenotypic expression by three mutant alleles in familial lecithin-cholesterol acyltransferase deficiency. *Lancet*, 1991, **338**: 178~181.
  - 23 Murayama N, Asano Y, Kato K, et al. Effects of plasma infusion on plasma lipids, apo lipoproteins and plasma enzyme activites in familial lecithin-cholesterol acyltransferase deficiency. *Eur J Clin Invest*, 1984, **14**: 122~129.
  - 24 贺延春, 王克勤. 卵磷脂胆固醇酰基转移酶. 见: 王克勤(主编). 脂蛋白与动脉粥样硬化. 北京: 人民卫生出版社, 1995, 238~260.

(1997-03-13 收到, 1997-05-30 修回)