

## • 文献综述 •

## 载脂蛋白 AI 的抗动脉粥样硬化作用

梁利波 黎 健

(卫生部北京老年医学研究所, 卫生部老年医学重点实验室, 北京 100730)

**摘要** 动物实验和流行病学调查证明载脂蛋白 AI 具有抗动脉粥样硬化作用。其机理可能涉及到胆固醇的逆向转运、前列环素稳定、低密度脂蛋白氧化修饰抑制、血管内皮细胞的保护、细胞膜结构的稳定等。但氧化型高密度脂蛋白中的载脂蛋白 AI 寡聚体却可能参与了动脉粥样硬化的发展。

**关键词** 载脂蛋白 AI; 动脉粥样硬化

大量流行病学调查显示高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)胆固醇水平与动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)的发生呈负相关<sup>[1]</sup>。动物实验表明 HDL 能抑制兔动脉粥样斑块发展<sup>[2]</sup>。载脂蛋白 AI 作为 HDL 中主要的载脂蛋白,可能介导了 HDL 的抗 As 作用。流行病学和临床研究也证实载脂蛋白 AI 水平与冠心病患病率呈负相关<sup>[3]</sup>。兔静脉注射载脂蛋白 AI 能显著抑制脂纹损伤和气囊损伤后动脉壁的增厚<sup>[4]</sup>。在转基因小鼠和转基因兔中,载脂蛋白 AI 能抑制高胆固醇饮食、载脂蛋白 E 缺失或载脂蛋白( $\alpha$ )所致的 As 发展<sup>[5~8]</sup>。载脂蛋白 AI 在胆固醇逆向转运、前列环素(prostacycline, PGI<sub>2</sub>)的稳定、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)的氧化修饰抑制、血管内皮细胞的保护以及细胞膜结构的稳定中发挥重要作用。但氧化型高密度脂蛋白(oxidized HDL, ox-HDL)中的载脂蛋白 AI 寡聚体却可能参与了 As 的发展。

## 1 在胆固醇逆向转运中的作用

高密度脂蛋白(HDL)能将外周细胞过多的胆固醇转运到肝脏,用于胆酸的合成与分泌,此途径称为胆固醇逆向转运。胆固醇逆向转运途径被认为有助于维持外周细胞正常的胆固醇水平和清除“泡沫”细胞中过多的胆固醇。胆固醇逆向转运的第一步是将胆固醇从细胞转移到脂蛋白上。HDL 中的载脂蛋白 AI 被认为是

胆固醇重要的接受体。大量实验证明,载脂蛋白 AI 能促进血管平滑肌细胞、内皮细胞、巨噬细胞、肝细胞和成纤维细胞中胆固醇的外流,并且载脂蛋白 AI 与脂质结合后,其作用有所提高<sup>[9~12]</sup>。用<sup>3</sup>H 标记胆固醇,薄层层析和高效液相层析分析表明外流胆固醇绝大部分(95%)为游离胆固醇,胆固醇酯只占很少部分(5%)<sup>[13]</sup>。将载脂蛋白 AI 加入细胞培养基中,4 h 后发现产生了 5 种前- $\alpha$  脂蛋白(前- $\alpha$ 1、前- $\alpha$ 2、前- $\alpha$ 3、前- $\alpha$ 4、前- $\alpha$ 5)。胆固醇转运的第一步在于载脂蛋白 AI 与外周细胞相互作用形成前- $\alpha$  脂蛋白<sup>[14]</sup>。细胞中不同胆固醇池受载脂蛋白 AI 影响并不相同。分别用<sup>[14</sup>C]FC-HDL、<sup>[14</sup>C]FC-LDL、<sup>[14</sup>C]FC-PC 标记 HepG2 细胞的细胞膜、内质网和溶酶体,发现内质网和溶酶体胆固醇外流半衰期显著长于细胞膜,当用抗体封闭载脂蛋白 AI 时,内质网的胆固醇外流下降了 77%,而细胞膜胆固醇受影响不大<sup>[9]</sup>。

在载脂蛋白 AI 结构中有若干个区域与载脂蛋白 AI 促进胆固醇外流作用关系密切。载脂蛋白 AI 165 位氨基酸残基附近的区域是与细胞相互作用的位点,人工合成载脂蛋白 AI 多肽类似物也证实此区域与载脂蛋白 AI 具有相似性质<sup>[15]</sup>。用重组产生的原载脂蛋白 AI [载脂蛋白 AI (-6-243)]和突变的原载脂蛋白 AI [载脂蛋白 AI (-6-222)、载脂蛋白 AI (-6-210)、载脂蛋白 AI (-6-150)、载脂蛋白 AI (-6-135)]促进胆固醇和磷脂从 HepG2 细胞的外流,发现载脂蛋白 AI (-6-222)、载脂蛋白 AI (-6-210)促进胆固醇外流的作用下降了 70%~95%,而载脂蛋白 AI (-6-150)和载脂蛋白 AI (-6-135)则完全恢复了载脂蛋白 AI (-6-243)的能力,因而载脂蛋白 AI 促进胆固醇外流作用与其动员细胞磷脂的作用有关,C 末端 222~243 氨基酸残基之间的区域参与了此作用<sup>[16]</sup>。

在胆固醇逆向转运中,胆固醇主要转运到肝脏,但也有少量胆固醇运送到激素合成组织中用于人体所需激素的合成。HDL 如何把胆固醇转移到这些组织细胞膜上? 其机制还不清楚,但此途径与 LDL 受体介导的

脂质的代谢不同,称为HDL胆固醇的选择性摄取。Xu等<sup>[17]</sup>报道HDL的载脂蛋白AⅠ、载脂蛋白AⅡ、载脂蛋白AⅢ可能介导了此过程。载脂蛋白AⅠ、载脂蛋白AⅡ、载脂蛋白AⅢ通过直接与细胞清道夫受体SR-BI结合,将HDL中胆固醇转移至细胞。

## 2 稳定前列环素

前列环素(PGI<sub>2</sub>)是强有力的血管扩张剂和血小板聚集的抑制剂。但PGI<sub>2</sub>不稳定,其血浆水平受PGI<sub>2</sub>合成刺激因子和PGI<sub>2</sub>稳定因子的调节。PGI<sub>2</sub>稳定因子与PGI<sub>2</sub>结合后能延长PGI<sub>2</sub>的半衰期。开始认为血浆白蛋白起PGI<sub>2</sub>稳定因子作用,后来发现白蛋白组分中含有载脂蛋白AⅠ,并且通过实验证实HDL、载脂蛋白AⅠ及重组HDL具有延长PGI<sub>2</sub>半衰期作用,而LDL、载脂蛋白AⅡ、载脂蛋白CⅠ、载脂蛋白CⅡ、载脂蛋白CⅢ、载脂蛋白D和载脂蛋白E皆无此作用,因此认为PGI<sub>2</sub>稳定因子就是载脂蛋白AⅠ。载脂蛋白AⅠ的 $\alpha$ -螺旋在载脂蛋白AⅠ与PGI<sub>2</sub>的结合中起重要作用<sup>[18]</sup>。Li Jian等<sup>[19]</sup>利用培养的内皮细胞发现载脂蛋白AⅠ能促进PGI<sub>2</sub>的产生,可能是通过刺激内皮细胞中PGI<sub>2</sub>合成酶,使得PGI<sub>2</sub>合成量增加。

## 3 保护血管内皮细胞

高密度脂蛋白(HDL)能拮抗LDL对内皮细胞损伤<sup>[20~22]</sup>,此作用可能与载脂蛋白AⅠ有关。在加入LDL损伤内皮细胞前,先加入载脂蛋白AⅠ以观察其对内皮细胞的保护作用。在对照组,LDL造成内皮细胞明显收缩,细胞间隙增大,胞浆收缩成分支状,细胞超微结构中出现线粒体肿胀,胞浆微丝减少等现象,乳酸脱氢酶释放增多。而载脂蛋白AⅠ组内皮细胞形态仅轻微改变,乳酸脱氢酶释放显著减少。载脂蛋白AⅠ在维持内皮细胞形态、提高内皮细胞生存率及维持细胞膜完整性方面发挥了重要作用,能拮抗LDL对内皮细胞的损伤<sup>[19]</sup>。二豆蔻酰磷脂酰胆碱(dimyristoylphosphatidylcholine, DMPC)与载脂蛋白AⅠ的复合物(DMPC/载脂蛋白AⅠ)能抑制ox-LDL导致的内皮细胞依赖性动脉粥样硬化。其作用机制在于降低ox-LDL的活性脂转移到EC膜上,抑制ox-LDL对细胞的作用,保护内皮细胞,改善内皮细胞依赖性动脉粥样硬化<sup>[23]</sup>。

## 4 对低密度脂蛋白氧化修饰的作用

低密度脂蛋白(LDL)的氧化修饰与As的关系越来越受到重视。有证据表明ox-LDL参与了As的发生发展。ox-LDL可被巨噬细胞、平滑肌细胞和血管内皮细胞摄取,造成胆固醇的积累和“泡沫”细胞的形成。HDL具有保护血管内皮细胞的作用可能与其抑制LDL脂质过氧化有关<sup>[20,21]</sup>。载脂蛋白AⅠ亦能抑制LDL的氧化修饰。人载脂蛋白AⅠ转基因小鼠的HDL抑制LDL脂质过氧化的作用是正常小鼠HDL的2倍,在其作用下,ox-LDL的电泳迁移率下降了1/2,因而认为载脂蛋白AⅠ可能中和了LDL脂质过氧化<sup>[24]</sup>。ox-LDL与DMPC/载脂蛋白AⅠ共同孵育后ox-LDL电泳迁移率有显著下降,几乎与正常LDL相同,而ox-LDL被巨噬细胞的摄取降解及其在巨噬细胞聚集胆固醇酯的能力分别下降了60%和80%,表明DMPC/载脂蛋白AⅠ能抑制ox-LDL作为清道夫受体配体的活性,但是单独载脂蛋白AⅠ无此作用,必须与DMPC配合才有作用<sup>[25]</sup>。DMPC/载脂蛋白AⅠ复合物和HDL能吸收ox-LDL中的溶血卵磷脂,降低溶血卵磷脂从ox-LDL转移到内皮细胞膜上,从而抑制动脉壁中ox-LDL的活性<sup>[23]</sup>。

## 5 对细胞膜的稳定作用

载脂蛋白AⅠ分子的C端和中部含有9个 $\alpha$ -螺旋区域。在 $\alpha$ -螺旋中,疏水性氨基酸组成螺旋的非极性面,而亲水性氨基酸组成螺旋的极性面,称为双性螺旋。双性螺旋在蛋白-蛋白、蛋白-膜的相互作用中起重要作用。载脂蛋白AⅠ类型的双性螺旋(class A)对细胞膜具有保护作用<sup>[26]</sup>。血液凝集过程中,在因子Xa、Va和Ca<sup>2+</sup>作用下,前凝血酶可转变为凝血酶,这是凝血级联中一个重要步骤。此过程一般在膜外出现阴离子脂质磷脂酰丝氨酸时才能发生,通常情况下磷脂酰丝氨酸只存在于膜的胞浆侧。利用红细胞作为实验材料,发现载脂蛋白AⅠ与其双性螺旋多肽类似物以及HDL能稳定细胞膜的结构,拮抗Ca<sup>2+</sup>及其载体A23187导致的磷脂酰丝氨酸从膜的胞浆侧跨膜扩散到胞外侧,从而抑制前凝血酶的活化,指出载脂蛋白AⅠ抗As作用可能与此作用有关<sup>[27]</sup>。

## 6 氧化型高密度脂蛋白中载脂蛋白AⅠ寡聚体致动脉粥样硬化作用

与 LDL 一样, HDL 体外也可被氧化, 形成 ox-HDL, 在 ox-HDL 中存在脂质过氧化和载脂蛋白 A I 寡聚体。ox-HDL 可形成分子上的多聚体<sup>[28]</sup>, 可能与动脉粥样硬化有关, 因为在 As 损伤部位发现了 HDL 和载脂蛋白 A I 或其片段的存在, 并且随着 As 的发展载脂蛋白 A I 沉积增加<sup>[29,30]</sup>。Artola 等<sup>[31]</sup>从动脉粥样硬化鸡的 HDL 中检测到载脂蛋白 A I 寡聚体和脂过氧化物, 并认为由于载脂蛋白 A I 寡聚体不能在体内迅速清除造成积累和聚集, 导致了动脉粥样硬化的发展, 载脂蛋白 A I 的聚集和脂质过氧化是动脉粥样硬化发展过程中一个关键步骤。

综上所述, 由于载脂蛋白 A I 所具有的抗 As 的功能, 因此载脂蛋白 A I 有望用于 As 的治疗, 特别是基因治疗。

### 参考文献

- 1 Miller NE. Association of high-density lipoprotein subclasses and apolipoproteins with ischemic heart disease and coronary atherosclerosis. *Am Heart J*, 1987, **113**: 589~597.
- 2 Badimon JJ, Badimon L, and Fuster V. Regression of atherosclerotic lesions by high density lipoprotein plasma fraction in the cholesterol-fed rabbit. *J Clin Invest*, 1990, **85**: 12 134~141.
- 3 Maciejko JJ, Holmes DR, Kottle BA, et al. Apolipoprotein A I as a marker of angiographically assessed coronary-artery disease. *N Engl J Med*, 1983, **309**: 385~389.
- 4 Miyazaki A, Sakuma S, Morikawa W, et al. Intravenous injection of rabbit apolipoprotein A I inhibits the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Arterioscler Thromb Vas Biol*, 1995, **15**: 1 882~888.
- 5 Liu AC, Lawn RM, Verstuyft JG, et al. Human apolipoprotein A I prevents atherosclerosis associated with apolipoprotein [α] in transgenic mice. *J Lipid Res*, 1994, **35**: 2 263~267.
- 6 Rubin EM, Krauss RM, Spangler EA, et al. Inhibition of early atherosclerosis in transgenic mice by human apolipoprotein A I. *Nature*, 1991, **353**: 265~267.
- 7 Duverger N, Viglitta C, Berthou L, et al. Transgenic rabbits expressing human apolipoprotein A I in the liver. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996, **16**: 1 424~429.
- 8 Duverger N, Kruth H, Emmanuel F, et al. Inhibition of Atherosclerosis Development in Cholesterolemic Fed. Human apolipoprotein A I-Transgenic Rabbits. *Circulation*, 1996, **94**: 713~717.
- 9 Sviridov D, Fidge N. Efflux of intracellular versus plasma membrane cholesterol in HepG2 cells: different availability and regulation by apolipoprotein A I. *J Lipid Res*, 1995, **36**: 1 887~896.
- 10 Zhao Y, Sparks DL, and Marce YL. Specific phospholipid association with apolipoprotein A I stimulates cholesterol efflux from human fibroblasts. *J Biol Chem*, 1996, **271**: 25 145~151.
- 11 Huang Y, Eckardstein AV, Wu S, et al. Cholesterol efflux, cholesterol esterification, and cholesteryl ester transfer by LpA I and LpA II in native plasma. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995, **15**: 1 412~418.
- 12 Savion N, Kotev-Emeth S. Role of apolipoprotein A I, A II and C I in cholesterol efflux from endothelial and smooth muscle cells. *Euro Heart J*, 1993, **14**: 930~935.
- 13 Lindstedt L, Lee M, Castro GR, et al. Chymase in exocytosed rat mast cell granules effectively proteolyzes apolipoprotein A I-containing lipoproteins, so reducing the cholesterol efflux-inducing ability of serum and aortic intimal fluid. *J Clin Invest*, 1996, **97**: 2 174~182.
- 14 Asztalos B, Zhang W, Roheim PS, et al. Role of free apolipoprotein A I in cholesterol efflux. *Arterioscler Thromb Vas Biol*, 1997, **17**: 1 630~636.
- 15 Luchoomun J, Demoor L, Tartar A, et al. A synthetic tetrameric peptide that mimics properties of apoA I. *Circulation*, 1993, **88**(suppl): 2 482.
- 16 Sviridov D, Pyle LE, Fidge N. Efflux of cellular cholesterol and phospholipid to apolipoprotein A I mutants. *J Biol Chem*, 1996, **271**: 33 277~283.
- 17 Xu S, Laccotripe M, Huang X, et al. Apolipoprotein of HDL can directly mediate binding to the scavenger receptor SR-BI, an HDL receptor that mediates selective lipid uptake. *J Lipid Res*, 1997, **38**: 1 289~297.
- 18 Yui Y, Aoyama T, Morishita H, et al. Serum prostacycline stabilizing factor is identical to apolipoprotein A I (apo A I). *J Clin Invest*, 1988, **82**: 803~807.
- 19 Li Jian, Jiang Lei, Liu Qinghua. Protective effect of apolipoprotein AI, AII, CI and CII on endothelial cells injury induced by low density lipoprotein. *Chin Med J*, 1998, **111**: 78~81.
- 20 Klimov AN, Gurevich VS, Nikiforova AA, et al. Antioxidative activity of high density lipoproteins in vivo. *Atherosclerosis*, 1993, **100**: 13~18.
- 21 黎健, 蒋雷, 刘清华. 载脂蛋白 A I 保护内皮细胞的实验研究. *生物化学与生物物理进展*, 1997, **24**: 344~347.

- 22 黎健, 刘清华, 蒋雷, 等. 载脂蛋白 CⅢ拮抗低密度脂蛋白对内皮细胞的损伤. 中国动脉硬化杂志, 1997, 5: 32~36.
- 23 Ota Y, Kugiyama K, Sugiyama S, et al. Complexes of apo A I with phosphatidylcholinesuppress dysregulation of arterial tone by oxidized LDL. *Am J Physiol*, 1997, 273(3 part 2): H1 215~222.
- 24 Hayek T, Oiknine J, Dankner G, et al. HDL apolipoprotein A I attenuates oxidative modification of low density lipoprotein: studies in transgenic mice. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*, 1995, 33: 721~725.
- 25 Sakai M, Miyazaki A, Hakamata H, et al. Reconstituted high density lipoprotein reduces the capacity of oxidatively modified low density lipoprotein to accumulate cholesterol esters in mouse peritoneal macrophages. *Atherosclerosis*, 1996, 119: 191~202.
- 26 Tyler EM, Segret JP, Epand RM, et al. Reciprocal effects of apolipoprotein and lytic peptide analogs on membranes. *J Biol Chem*, 1993, 268: 22 112~118.
- 27 Epand RM, Stafford A, Leon B, et al. HDL and apolipoprotein A I protect erythrocytes against the generation of procoagulant activity. *Arterioscler Thromb*, 1994, 14: 1 775~783.
- 28 Kivatinitz SC, Pelsman MA, Alonso ADC, et al. High-density lipoprotein aggregated by oxidation induces degeneration of neuronal cells. *J Neurochem*, 1997, 69: 2 102~114.
- 29 Wisniewski T, Golabek AA, Kida E, et al. Apolipoprotein and alzheimer's disease. *Am J Pathol*, 1995, 147: 238~244.
- 30 Kaesberg B, Harrach B, Dieplinger H, et al. In situ immunolocalization of lipoproteins in human arteriosclerosis tissue. *Arterioscler Thromb*, 1993, 13: 133~146.
- 31 Artola RL, Conde CB, Bagatolli L, et al. High-density lipoprotein from hypercholesterolemic animals has peroxidized lipids and oligomeric apolipoprotein A I: its putative role in atherogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 239: 570~574.

(此文 1998-06-29 收到, 1998-11-11 修回)

(此文编辑: 胡必利)