

载脂蛋白 CI 的分子生物学研究进展

吕新跃 综述 王克勤^① 陈保生^① 审校

(武警医学院病理学教研室, 天津 300162)

摘要 人、狒狒、大鼠、小鼠、狗和树鼩载脂蛋白 CI 基因已克隆, 人也含有无功能的载脂蛋白 CI 假基因, 二者共同位于第 19 号染色体, 并与载脂蛋白 E、CII 和 CIV 基因形成一个紧密的基因簇。载脂蛋白 CI 主要在肝脏表达, 其特异性表达受基因的肝特异表达调控区及肝转录活性因子相互作用所决定。除在体外可激活卵磷脂胆固醇酰基转移酶及抑制磷脂酶 A₂ 外, 该蛋白对低密度脂蛋白受体亦有调节作用, 从而影响血浆甘油三酯和胆固醇及相关脂蛋白的代谢。其多样的生物活性及其作用机制有待进一步研究。

关键词 载脂蛋白 CI; 基因; 功能

载脂蛋白 CI (apolipoprotein CI) 是目前所发现的

载脂蛋白家族中分子量最小的成员, 分子量为 6 600 kDa, 为单链蛋白分子, 一般分布于极低密度脂蛋白 (very low density lipoprotein, VLDL)、乳糜微粒 (chylomicron, CM) 和高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 颗粒的表面。载脂蛋白 CI 由肝脏分泌入血, 人的血清浓度约为 60 mg/L。以往的研究表明它在体外可激活卵磷脂胆固醇酰基转移酶 (lecithin cholesterol acyltransferase, LCAT), 但其功能并不清楚。由于分子生物学技术的飞速发展, 其详细的基因结构及表达调控区已有报道。转基因动物等技术的应用为探索其功能提供了重要的分子生物学手段, 揭示载脂蛋白 CI 的生物学作用呈多样性和复杂性。本文就当前载脂蛋白 CI 的重要分子生物学研究进展作一综述。

1 载脂蛋白 CI 的基因结构

^①中国医学科学院基础医学研究所

自从1984年克隆出人载脂蛋白CI cDNA^[1]以来,迄今已发现并确定了人及五种动物载脂蛋白CI cDNA序列或完整的基因结构^[2-7]。人载脂蛋白CI cDNA全长419个碱基对(base pairs, bp),编码83个氨基酸(amino acid)构成的载脂蛋白CI前体,其中包括26个氨基酸的信号肽和57个氨基酸的成熟蛋白。根据引物延伸的不同,其5'非翻译区长度在40~63个bp之间,而3'非翻译区由111bp组成。由cDNA推导出的人载脂蛋白CI成熟肽部分与血清载脂蛋白CI蛋白序列的直接测序结果一致,均为相同的57个氨基酸。狒狒载脂蛋白CI cDNA也编码83个氨基酸的载脂蛋白CI前体蛋白,其成熟肽部分的氨基酸数目与人相同。而由大鼠、小鼠、狗及树鼩载脂蛋白CI cDNA推导出的蛋白序列,其成熟肽部分较人及狒狒多5个氨基酸,为62个氨基酸构成,反映了载脂蛋白CI在种属进化上的差异。与大鼠载脂蛋白AN、E等相似,上述所有种属的载脂蛋白CI均未发现与信号肽和成熟肽相连接的原肽片段(propeptide),都只含有26个氨基酸构成的信号肽。已知人及各种动物载脂蛋白CI的氨基酸序列有较大的差异^[22],其二级结构疏水性特征都明显保守,这可能反映载脂蛋白CI的功能域所在。

人载脂蛋白CI基因定位于19号染色体长臂,与载脂蛋白E、CII基因相邻,距载脂蛋白E基因4.3 kbp左右的距离^[5-11],三个基因在第19号染色体的长臂上形成一个约为45 kbp长的紧密的基因簇(gene cluster)。这些基因头尾相对,基因的转录方向一致。在这一基因簇还新发现了载脂蛋白CN基因。此外,载脂蛋白E基因附近还有紧密连锁的低密度脂蛋白(low

density lipoprotein, LDL)受体基因。

人载脂蛋白E基因的下游存在两个载脂蛋白CI基因的拷贝^[12]。其一为载脂蛋白CI基因,长4 653 bp,距载脂蛋白E基因4.5~5.5 kbp;其二为载脂蛋白CI'基因,长4 387 bp,位于载脂蛋白CI基因下游7.5 kbp,被认为是无功能的假基因(pseudogene)^[12-13]。这两个基因的共同特点为均有四个外显子和三个内含子。每一基因内部第一个内含子位于翻译起始信号上游20 bp处,第二个内含子位于信号肽区,将Gly-7的密码子分隔开,第三个内含子位于成熟肽第39位Arg的密码子之间,分隔成熟肽部分。编码血浆中载脂蛋白CI蛋白的载脂蛋白CI基因与下游的载脂蛋白CI'基因外显子结构有9%的差异,最主要表现在编码信号肽第Gln-2的密码子CAG在载脂蛋白CI'基因发生突变,出现了终止密码TAG,导致成熟肽不被表达。使载脂蛋白CI'基因转录翻译形成一个只有24个氨基酸的信号

肽残基,在胞浆内快速降解;其次表现在载脂蛋白CI和载脂蛋白CI'基因第二、三个内含子结构,分别含有9和7.5个Alu重复序列。每一基因的第一个内含子在长度和碱基组成上相似(84%的一致性),然而两基因的第二、三个内含子变化都相当大。共有的Alu序列占载脂蛋白CI基因第二、三个内含子的61%和66%,但仅占载脂蛋白CI'基因第二、三个内含子的34%和62%,因此每一基因既有共有的Alu序列,也有独特的Alu序列,这些序列在载脂蛋白CI、CI'基因中的转座(transposition)可能在进化过程中起作用。

载脂蛋白CI基因的结构类似于载脂蛋白AI、AII、CII和E基因的结构,即四个外显子和三个内含子结构。外显子分别被内含子在5'非编码区、信号肽和成熟肽编码区所分隔,内含子-外显子的连接呈高度保守性。这些分子结构上的相似性揭示它们可能起源于一个共同的前体^[24]。

分析载脂蛋白CI、CI'基因的Alu重复序列,可推断出载脂蛋白CI基因的复制可能出现在约4 000万年前^[14]。依据如下:①两基因共有的Alu序列出现在载脂蛋白CI基因复制之前,而每一基因中单独出现的Alu序列是在其后;②共有的Alu序列属于Alu基因的古老家族,单一序列属该基因的年轻家族。载脂蛋白CI基因的显著变化开始于灵长目早期,古老Alu家族出现于古新纪和始新世时期,六个共有Alu序列发生单独的替换提供了载脂蛋白CI基因在始新世末复制,约在3 900±600万年前。在此之后,其它的Alu序列转换出现于每一基因,进一步的替换演变则形成了现在人类的载脂蛋白CI基因。

(载脂蛋白CI成熟肽的二级结构模型)

人载脂蛋白CI在结构上的功能域已基本确定^[15-17],成熟肽第7~24位氨基酸(ALDKLKEFGN-TLEDKARE)和第35~53位氨基酸(SAKMREWF-SETFQKVKEKL)为结合脂质的部位,其结构基础为两性 α 螺旋。对人工合成的这两段肽段进行圆二色及二维核磁共振光谱分析,发现这两段肽链在水溶液中均缺乏限定的结构,呈随机状,但在SDS溶液中则采取螺旋有序的构象,核磁共振亦证明它们均呈两性螺旋基元。这些区域在已知不同种属载脂蛋白CI的氨基酸组成上相对保守,特别是后一区段。通过识别这些保守区域,可以预测或定位载脂蛋白CI的某些功能域^[18]。在晶体及X光衍射分析中发现,人载脂蛋白CI在盐溶液中呈现两种晶体形式,均为含两个分子的不对称单位^[15]。

2 载脂蛋白CI基因的表达及调控

载脂蛋白 CI 基因主要在肝脏表达,表现出较明显的组织特异性。Northern blotting 分析显示,肝组织载脂蛋白 CI mRNA 形成较宽的带,这可能是由于 poly (A)部分的异质性所致,生成长短不一的 mRNA。该基因在单核细胞分化为巨噬细胞时被活化,因而在有这些细胞停留的部位(肺和脾组织)亦能检测到相同大小的载脂蛋白 CI mRNA,这与载脂蛋白 E 的表达部位和方式相似。相反,利用特异的载脂蛋白 CI'基因第三个外显子的寡核苷酸探针,未能检测到肝、巨噬细胞及其它组织中载脂蛋白 CI' mRNA 的表达,甚至降低杂交条件时结果仍为阴性。因此,证实载脂蛋白 CI 基因并无 mRNA 产物生成,为验证其为假基因提供了依据。

真核基因表达调控主要在转录水平,由反式作用因子与顺式作用元件相结合,在 RNA 聚合酶的参与下以不同的转录起始活性进行转录,表现出不同的转录水平,进而形成组织特异性的基因表达。由于载脂蛋白 CI 基因与载脂蛋白 E 基因紧密相连,且转录方向一致,因而推测两基因可能受共同的调控因素影响其在组织中的表达^[19]。大多数的实验认为载脂蛋白 CI 主要或只在肝脏表达,也有文献报道它在皮肤、肺及脾组织低水平的表达。在体外单核细胞分化为巨噬细胞时也观测到载脂蛋白 CI 和载脂蛋白 E 的表达,而载脂蛋白 E 则在多种组织及细胞中表达^[20~23],这反映两者在表达上的差异。人载脂蛋白 E/CI 基因在肝脏的特异表达是受位于载脂蛋白 E 基因下游 15 kbp 的肝调控区 (hepatic control region, HCR) 序列的作用。用细胞核抽提物对这一序列进行 DNase 足迹试验发现 HCR 区域富含核蛋白结合位点;染色质核酶分析也揭示肝特异性的 DNase I 超敏位点与这一区域相关。HCR 区域有一个限定的结合核支架的亲合活性。通过将 HCR 不同的亚克隆片段连接到载脂蛋白 E 基因转基因后,观察转基因小鼠肝特异表达载脂蛋白 E 与否,可进一步证实 HCR 对基因表达的调节功能。

一系列载脂蛋白 E 和载脂蛋白 CI 基因不同重叠片段的转基因小鼠实验表明,这两种基因在肝脏的表达需要一个共有的顺式调节元件^[23],即 HCR。它被确定是一个 764 bp 大小的区域,位于载脂蛋白 E 基因启动子下游 18 kbp 处,距载脂蛋白 CI 启动子下游 9 kbp 左右。所有带有这一区域的转基因小鼠都有相当高水平的肝转基因表达。相反,这一片段序列缺失的人载脂蛋白 CI 转基因小鼠的肝不表达载脂蛋白 CI。原位杂交也显示 HCR 直接作用于载脂蛋白 E/CI 基因在转基因小鼠的肝细胞表达。Simene 等^[21]将不同长度的载脂蛋白 E 和载脂蛋白 CI 5'端及 3'端序列导入转基因动物,

发现数种组织特异性的调控元件位于载脂蛋白 E 和载脂蛋白 CI 基因之间的区域,另还有一个元件位于载脂蛋白 CI 基因下游的远端。两基因在肝脏表达时需要一些下游调控元件,它们可能位于距载脂蛋白 CI 基因 3'端大于 2 kbp,距载脂蛋白 E 基因启动子下游约 14 kbp。此外,在载脂蛋白 E 基因下游 1.7~2.2 kbp 之间的区域还有一个单一的强的增强子,直接增强两基因在皮肤组织表达。这表明多重独立的调控元件控制着载脂蛋白 E/CI 基因在不同组织的表达。

含有载脂蛋白 CI 基因和载脂蛋白 CI'假基因之间完整序列的重组子可在转基因小鼠肝脏高水平的表达,并可在肺、睾丸、胃等数种组织低水平表达,该序列的调控元件位于载脂蛋白 CI 基因下游 2.3~8.0 kbp 的区域。但是导入人载脂蛋白 E 和载脂蛋白 CI 基因之间的序列,而无载脂蛋白 CI-载脂蛋白 CI'基因之间序列的转基因小鼠未见其肝脏表达人载脂蛋白 CI。表明载脂蛋白 E/CI 基因的表达是受数种独立的组织特异性增强子和寂静子相互作用相互制约决定的。

用瞬时转染报告基因分析结合转基因技术也证实位于载脂蛋白 CI'基因 5'末端约 5.7 kbp 范围的 DNA 不仅对转基因小鼠肝特异表达人载脂蛋白 CI 有关,而且还发现它在肝细胞株体外培养时充当载脂蛋白 CI 表达的增强子^[25],当对其进行快速突变分析,确定这一增强子活性局限在 154 bp 区域。这 154 bp 的核苷酸很可能在功能上作为一般肝细胞特异的增强子,去掉这一 154 bp 的区域,转基因小鼠肝脏不能表达载脂蛋白 E/CI,而含这一区域的载脂蛋白 E/CI 转基因小鼠肝可完全特异地表达目的基因,但不能检测到小鼠肾的表达,这一增强子对位于 19 号染色体的载脂蛋白 E、CI 和 CII 三个基因的肝特异表达均有正调控作用。

DNase I 保护实验显示,在这 154 bp 组成的增强子 3'末端有两个足迹蛋白 (footprints),每一足迹均包含一个已知的转录活性基元 (transcriptionally active motif) TGACCT,原位诱导其突变或缺失,这两个基元均可部分消除增强子的活性。序列中 DNase I 超敏位点共有的 GCAAACA 可能是肝转录活性因子 HNF5 的识别序列。

3 载脂蛋白 CI 的生物活性

3.1 载脂蛋白对卵磷脂胆固醇酰基转移酶的作用

Soutar 等最早发现载脂蛋白 CI 在体外可激活 LCAT,当用磷脂作底物时,载脂蛋白 CI 可使 LCAT 活性提高 10 倍。Steyner 等^[27]发现并证实了这一作用。

并分别合成了含载脂蛋白 AI、CI 和 D 的蛋白脂质体, 在适当的蛋白浓度(10~300 mg/L)及底物和 LCAT 存在的条件下, 载脂蛋白 CI 对 LCAT 的激活能力低于载脂蛋白 AI, 但强于载脂蛋白 D。载脂蛋白 CI 提高 LCAT 活性的机制可能通过两种途径: 其一作为 LCAT 激活剂, 其二作为酶促反应中间产物的接受者。

类似的研究也报道了载脂蛋白 CI 对溶血卵磷脂胆固醇酰基转移酶(lysolecithin acyltransferase)活性的影响^[28]。该酶作用于溶血卵磷脂, 使其酰基化为卵磷脂, 分别将载脂蛋白 AI、CI、E 及蛋黄卵磷脂和标记的溶血卵磷脂按摩尔比 0.8:250:12.5 混合, 作为酶的底物, 观察酶促反应。结果发现, 在这一底物形式中溶血卵磷脂酰基化为卵磷脂的百分比明显高于对照组, 载脂蛋白 CI 为载脂蛋白 AI 活性的 70%, 溶血卵磷脂和游离胆固醇的酯化涉及到相同的机制。若把溶血卵磷脂和游离胆固醇共同掺入到同一蛋白脂质体中, 它们彼此竞争酯酰化, 在相同克分子浓度下, 总酯酰化组份中约有 72% 来自游离胆固醇, 28% 来自溶血卵磷脂。

3.2 载脂蛋白 CI 对脂蛋白受体的作用

载脂蛋白 CI 作为 HDL 的蛋白成份之一, 能否与 HDL 受体结合发挥其生物活性是人们关注的一个问题。我国学者曾发现未标记的载脂蛋白 AI、CI、C II 和 C III 能分别有效抑制¹²⁵I 标记的 HDL₃ 与大鼠细胞膜的结合, 结果暗示载脂蛋白 C 族脂蛋白可能是 HDL 受体的另一配基^[29], 但实验依据不多, 仍需进一步研究证实。

Weisgraber 等^[40]首先报道了载脂蛋白 CI 介导载脂蛋白 E 与 β -VLDL 的相互作用, 从而抑制 β -VLDL 与 LDL 受体相关蛋白(LDL receptor related protein, LRP)结合。作者通过测定缺乏 LDL 受体(LDL-R)突变的纤维细胞内胆固醇酯的形成, 或利用配基印迹实验抑制 LRP, 结果显示 载脂蛋白 CI、CII 均能封闭 β -VLDL 与 LRP 的结合, 且前者抑制作用大于后者。载脂蛋白 CI、CII 与 β -VLDL 共孵育, 载脂蛋白 CI、CII 可替换 β -VLDL 上足够的载脂蛋白 E, 从而消除 β -VLDL 与 LRP 的结合。近来, Clavey 等^[30]报道外源性载脂蛋白 CI、CII、CIII 和 E 对可结合 LDL 受体含载脂蛋白 B 的脂蛋白有修饰作用。从而影响后者与 LDL 受体结合的程度, 但目前研究较多的是载脂蛋白 CI 的作用。敲除载脂蛋白 CI 基因的小鼠, 由于各脂蛋白组份中缺乏载脂蛋白 CI, 因而在密度小于 1.00 kg/L 时与¹²⁵I 标记的 LDL 竞争结合 HepG₂ 细胞上的 LDL 受体^[32], 表明载脂蛋白 CI 缺乏将造成受体介导的脂蛋白残基的清除过程受损害。

Swanry 等^[35]进行配基印迹实验显示, 载脂蛋白 CI 的多肽片段第 1~38、10~57、20~57、30~57、40~57 肽段均无抑制 β -VLDL 结合 LRP 的活性, 而完整的载脂蛋白 CI 则有效地抑制这种脂蛋白与 LRP 的结合。但当用¹²⁵I 标记的载脂蛋白 E 替换 β -VLDL 后, 载脂蛋白 CI 的最大片段肽(第 10~57 残基)的活性为完整载脂蛋白 CI 的 2/3。其他小片段肽则无活性(第 40~57 和第 1~38), 或仅有少部分活性(第 20~57 和第 30~57)。在高胆固醇饮食情况下, 血浆 HDLC 转换降低, 但伴血浆 VLDLC 和 LDLC 增加, 故增加的胆固醇主要来自 VLDLC 和 LDLC。提示载脂蛋白 CI 的活性依赖其结构上的完整性, 但并不反映它们对结合膜双层脂质结构的能力。

3.3 载脂蛋白 CI 对脂代谢的影响

转基因及基因敲除动物实验提供了有关载脂蛋白 CI 在体内脂代谢中的作用^[31~32]的大量依据。当把小鼠紧密相连的载脂蛋白 E 和载脂蛋白 CI 基因单独或共同从胚胎干细胞敲除后, 惊奇地发现无论这些位点两基因单独或共同缺失均影响该基因簇其它基因 RNA 水平的表达, 如载脂蛋白 CI/CII 基因的表达。纯合子的载脂蛋白 CI 基因缺失小鼠表现出高胆固醇血症, 这与载脂蛋白 E 缺陷小鼠的表现相类似。

令人感兴趣的是过度表达人载脂蛋白 CI 的转基因小鼠在禁食和喂食状态均出现血浆甘油三酯浓度高于正常小鼠。不像人载脂蛋白 CII、CIII 转基因小鼠出现的高甘油三酯血症, 其血浆胆固醇是不成比例地升高, 伴随胆固醇/甘油三酯比例增高, 脂蛋白增高的组份是 VLDL、IDL 和 LDL。VLDL 中载脂蛋白 E/B 比例降低 3.4 倍, 而载脂蛋白 CII 和载脂蛋白 CIII 下降与载脂蛋白 E 的降低呈比例^[33]。虽然甘油三酯和载脂蛋白 B 生成比正常, 但 VLDL 中甘油三酯的清除及脂蛋白“残体”的酯解明显减缓, 造成血浆载脂蛋白 B 显著升高, 而载脂蛋白 CI 转基因小鼠的 VLDL 结合肝素-Sepharose 即细胞表面糖胺聚糖(glycosaminoglycans)的能力正常。由此可见, 过量表达载脂蛋白 CI 与摄取含载脂蛋白 B 脂蛋白颗粒的减少有关, 从而导致血浆数种潜在的致 As 的脂蛋白包括富含甘油三酯的 VLDL 和富含胆固醇的 IDL、LDL 水平的增高^[34]。

3.4 载脂蛋白 CI 对磷脂酶的作用^[37~38]

载脂蛋白 CI 在体内和体外通过抑制磷脂酶 A₂ (phospholipase A₂) 的活性降低或抑制细胞膜及脂质体上的磷脂水解。实验体系中将载脂蛋白 CI 与酶及底物预孵育 10 min 左右, 其抑制酶活性的效率较三者同时共同孵育时提高, 当然这也与磷脂的浓度相关。50%

酶活性被抑制时底物浓度为 0.2 mol/L DPPC。载脂蛋白 CI 也可在近似生理条件下发挥其抑制作用。在破碎的人白血病细胞(HL-60),载脂蛋白 CI 抑制来自膜内源性磷脂酶释放花生四烯酸,这一生物活性也在血清中发现。推测载脂蛋白 CI 和类似的磷脂结合蛋白一样,可能是通过封闭酶与底物的结合抑制磷脂酶 A2 的活性。由此可见,载脂蛋白 CI 在调控体内磷脂的代谢方面也起重要作用。

3.5 载脂蛋白 CI 对血管内皮细胞的保护作用^[39]

已知血浆高 LDL 可损伤血管内皮细胞(endothelial cell, EC),而高 HDL 可抵抗 EC 免受这种损害。当向 EC 培养基中加入 LDL 后,观察到细胞出现收缩,乳酸脱氢酶释放增加和前列腺素释放减少等病理改变,但预先加入 HDL 或载脂蛋白 CI,则 LDL 的损害作用被抑制,EC 形态学改变仍保持正常,推测 HDL 中的载脂蛋白 CI 可能也具有保护 EC 的作用。

3.6 载脂蛋白 CI 的其它功能

文献^[41]报道 HDL 中的载脂蛋白 CI、AI 和 C II 可刺激人胎盘组织分泌胎盘泌乳素,HDL 的刺激作用并不被脱脂所阻断,但被胰蛋白酶消化后完全封闭。而其它载脂蛋白没有这一生物活性,但 HDL 和载脂蛋白 CI 对黄体生成素和卵泡刺激素的释放无刺激作用。鉴于胎盘细胞具有特殊的 HDL 受体,而且怀孕期间血浆中 HDL 浓度增高,这些结果提示 HDL 及载脂蛋白 CI 对人胎盘泌乳素的调节可能不同于它们对血浆脂质的转运作用。

4 载脂蛋白 CI 与疾病的关系

4.1 与心血管病及高脂蛋白血症的关系

刘秉文等^[42]调查并测定了我国成都地区冠状动脉粥样硬化性心脏病(coronary heart disease, CHD)患者血清载脂蛋白 CI 的含量,没有发现在正常与 CHD 组之间载脂蛋白 CI 水平的显著差异。但发现脑血管病患者,特别是 72 例脑卒中患者载脂蛋白 CI 和 C II 水平显著降低,而这类病人载脂蛋白 AI 和 B 含量仅轻微地下降或升高^[43]。

从分子遗传和基因变异的角度研究家族性脂蛋白血症与载脂蛋白 CI 基因启动子区域 HpaI 限制性酶切位点(位于转录起始位点上游 317 bp 处)变异的关系,Smit 等^[44]报道了 HpaI 限制性片段长度的多态性(restricted fragment length polymorphism, RFLP)与 II 型高脂蛋白血症显著相关。

此外,V 型高脂蛋白血症患者载脂蛋白 CI 水平亦

增高^[45]。

4.2 与其它疾病的关系

Sarfarazi 等^[46]将载脂蛋白 CI 基因和细胞色素 P₄₅₀基因(CYP2A)作为肌强直性营养不良(myotonic dystrophy, MD)的相关基因,对两基因进行连锁分析。发现这两个遗传基因紧密连锁,CYP2A 基因作图似乎更接近 MD。CYP2A 在一组杂合体细胞的定位也提示它接近 MD 和载脂蛋白 C2/C1/E 基因簇。

近年来对老年性痴呆(alzhetmers disease, AD)与载脂蛋白 E 关系的研究成为神经科学研究的热点之一。已证实载脂蛋白 ϵ_4 等位基因是早老性痴呆的危险因素。载脂蛋白 E 与载脂蛋白 CI、C II 三者的基因紧密相连形成一基因簇,共同位于第 19 号染色体的长臂,使一些学者从功能上考虑这一基因簇的其它基因及其相互作用是否也与 AD 的发病相关。有研究显示载脂蛋白 CI 基因位点同载脂蛋白 E 基因位点一样,均与早老型 AD 相关,但载脂蛋白 C II 基因位点与这型 AD 并不相关^[47]。与正常组比较,早老型 AD 与载脂蛋白 CI、E 基因位点在统计学上显著相关。分析这些单元型频率(haplotype frequencies)显示出载脂蛋白 E/CI 单元与早老型 AD 的关系更显著于载脂蛋白 E 与载脂蛋白 CI 基因位点的连锁不平衡($P < 0.01$)。提示载脂蛋白 E 和载脂蛋白 CI 基因的相互作用可能修饰或介入早老型 AD 的危险因子 ϵ_4 等位基因,估计载脂蛋白 E/CI 位点分别与日本人群中 54.8%的早老型 AD 有关。

对于普通型 AD 来讲,已发现一个载脂蛋白 CI 基因上的限制性位点在 AD 病人的分布频率为 45%^[48],显著高于正常对照组(14%),类似于载脂蛋白 ϵ_4 等位基因在 AD 病人中的分布。载脂蛋白 ϵ_4 等位基因与载脂蛋白 CI 的限制性位点呈连锁不平衡。因此,这二者都被认作是 AD 发病的危险因素。

综上所述,载脂蛋白 CI 分子生物学研究使其分子结构及生物活性初见端倪,但仍有很多未知的细节有待研究,特别是其详尽的表达调控机制、在脂蛋白代谢过程中作用的准确定位及与其他影响脂蛋白代谢因素的相互关系等方面均了解不多。相信随着分子结构和功能研究的深入,载脂蛋白 CI 的本质终将会被人们所认识。

参考文献

- Knott TJ, Robertson LM, Priestly LM, et al. Characterization of mRNAs encoding the precursor for human apolipoprotein CI. *Nucl Acid Res*, 1984, **12**: 3 909 ~ 915.

- 2 Paik YK, Lauer SJ, Levy B. Linkage of human apolipoprotein E and CI genes and expression of apo E promoter in cultured mammalian cells. *Atherosclerosis*, 1985, **5**(5): 503a.
- 3 Pastorcic M, Birnbaum S, Hixson JE. Baboon apolipoprotein CI cDNA and gene structure and evolution. *Genomics*, 1992, **13**(2): 368~374.
- 4 Shen PY, Howlett GJ. Nucleotide sequence of cDNA for rat apolipoprotein CI. *Nucl Acid Res*, 1989, **17**(15): 6405.
- 5 Hoffer MJV, van Eck MM, Havekes, et al. The mouse apolipoprotein CI gene; structure and expression. *Genomics*, 1993, **18**: 37~42.
- 6 Luo CC, Li WH, Chan. Structure and expression of dog apolipoprotein AI, E and CI mRNAs; implications for the evolution and functional constraints of apolipoprotein structure. *J Lipid Res*, 1989, **30**(11): 1735~746.
- 7 吕新跃, 陈保生, 王克勤. 树鼩apoCI cDNA 的克隆和测序. *中国医学科学院学报*, 1997, **19**(4): 267.
- 8 Myklebost O, Rogne S. The gene for human apolipoprotein CI is located 4.3 kilobase away from the apolipoprotein E gene on chromosome 19. *Hum Genet*, 1986, **73**(4): 286~289.
- 9 Lusis AJ, Heinzmann C, Sparkes RS, et al. Regional mapping of human chromosome 19; organization of genes for plasma lipid transport (apoCI, CII and E and LDL-R) and genes C3, PEPO and GP1. *Proc Nat Acad Sci USA*, 1986, **83**(11): 929~933.
- 10 Tata F, Henry I, Markham AF, et al. Isolation and characterization of a cDNA clone for human apolipoprotein CI and assignment of the gene to chromosome 19. *Hum Genet*, 1985, **69**(4): 345~349.
- 11 Myklebost O and Rogne S. A physical map of the apolipoprotein gene cluster on human chromosome 19. *Hum Genet*, 1989, **78**(3): 244~247.
- 12 Lauer SJ, Walker D, Elshourbagy NA, et al. Two copies of the human apolipoprotein CI gene are linked closely to the apo E gene. *J Biol Chem*, 1988, **263**(15): 7277~286.
- 13 Davison PJ, Norten P, Wallis SC, et al. There are two gene sequences for human apolipoprotein CI on chromosome 19, one of which is 4kbp from the gene for apoE. *Biochem Biophys Res Commun*, 1986, **136**(3): 876~884.
- 14 Raisonnier A. Duplication of the apolipoprotein CI gene occurred about forty million years ago. *J Mol Evol*, 1991, **32**(3): 211~219.
- 15 Weisgraber KH, Newhouse YM, Mcpherson A. Crystallization and preliminary X-ray analysis of human plasma apolipoprotein CI. *J Mol Biol*, 1994, **236**(1): 382~384.
- 16 Rozek A, Buchko GW, Gushley RJ. Conformation of two peptides corresponding to human apolipoprotein CI residues 7~24 and 35~53 in the presence of sodium dodecyl sulfate by cDNA and NMR spectroscopy. *Biochemistry*, 1995, **34**(22): 7401~408.
- 17 Buchko GW, Rozek A, Zhong Q, et al. Sequence-specific 1H NMR assignments and secondary structure of a lipid-association peptide from human apoCI: an NMR study of an amphipathic helix motif. *Peptide Res*, 1995, **8**(2): 86~94.
- 18 Weinberg RB. Identification of function domains in the plasma apolipoproteins by analysis of inter species sequence variability. *J Lipid Res*, 1994, **35**(12): 2212~222.
- 19 Allan CM, Walker D, Segrest JP, et al. Identification and characterization of a new human gene (apoCIV) in the apolipoprotein E, CI and CII gene locus. *Genomics*, 1995, **28**(2): 291~300.
- 20 Van den Maagdenberg AM, Hofker MH, Krimpenfort PJ, et al. Transgenic mice carrying the apolipoprotein E3-Leiden gene exhibit hyperlipoproteinemia. *J Biol Chem*, 1993, **268**(14): 5440~545.
- 21 Simenet WS, Bucay N, Pitas RE, et al. Multiple tissue-specific elements control the apolipoprotein E/CI gene locus in transgenic mice. *J Biol Chem*, 1991, **266**(14): 6511~654.
- 22 Shen P and Howlett GJ. Two coding regions closely linked to the rat apolipoprotein CI and ECL cDNA. *Arch Biochem Biophys*, 1992, **297**(2): 345~353.
- 23 Simenet WS, Bucay N, Lauer SJ, et al. A far-downstream hepatocyte-specific control region directs expression of the linked human apolipoprotein E and CI genes in transgenic mice. *J Biol Chem*, 1993, **268**(11): 8221~229.
- 24 Luo CC, Li WH, Moore MN, et al. Structure and evolution of the apolipoprotein multigene family. *J Mol Biol*, 1986, **187**(3): 325~340.
- 25 Shachter NS, Zhu Y, Walsh A, et al. Localization of a liver specific enhancer in the apolipoprotein E/CI/CII gene locus. *J Lipid Res*, 1993, **34**(10): 1699~707.
- 26 Dang Q, Walker D, Taylor S, et al. Structure of the hepatic control region of human apolipoprotein E/CI gene locus. *J Biol Chem*, 1995, **270**(38): 5777~585.

- 27 Steyner E, Kostner GM. Activation of lecithin-cholesterol acyltransferase by apolipoprotein D; comparison of proteoliposomes containing apoD, AI or CI. *Biochem Biophys Acta*, 1988, **958**(3): 484~491.
- 28 Liu M, Subbaiah PV. Activation of plasma lysolecithin acyltransferase reaction by apolipoprotein AI, CI and E. *Biochem Biophys Acta*, 1993, **1168**(2): 144~152.
- 29 Zhang L, Liu B. Effects of apolipoprotein AI, CI, CII, CIII on the binding of ¹²⁵I-labeled apoE-deficient HDL₃ to rat liver plasma membranes. *J West China University Med Sci*, 1991, **22**(2): 120~123.
- 30 Clavey V, Lestavel-Delattre S, Copin C, et al. Modulation of lipoprotein B binding to the LDL receptor by exogenous lipids and apolipoproteins CI, CII, CIII and E. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995, **15**(5): 963~971.
- 31 Van Ree JH, Van den Broek WJ, Van der Zee A, et al. Inactivation of apoE and apoCI by two consecutive rounds of gene targeting: effects on mRNA expression levels of gene cluster members. *Hum Mol Genet*, 1995, **4**(8): 1403~409.
- 32 Van Ree JH, Hofker MH, Van den Broek WJ, et al. Increased response to cholesterol feeding in apolipoprotein CI-deficient mice. *Biochem*, 1995, **305**(Pt3): 905~911.
- 33 Jeng MC, Dahlmans VE, van Gorp PJ, et al. Both Lipolysis and hepatic uptake of VLDL are impaired in transgenic mice coexpressing human apolipoprotein E₃ Leiden and human apolipoprotein CI. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996, **16**(8): 934~940.
- 34 Shachter NS, Ebara T, Ramakrishnan R, et al. Combined hyperlipidemia in transgenic mice overexpressing human apolipoprotein CI. *J Clin Invest*, 1996, **98**(3): 846~855.
- 35 Swaney JB, Weisgraber KH. Effect of apolipoprotein CI peptides on the apolipoprotein E content and receptor-binding properties of beta-migrating VLDL. *J Lipid Res*, 1994, **35**(1): 134~140.
- 36 Dang O, Taylor J. In vivo footprinting analysis of the hepatic control region of the human apolipoprotein E/CI/CIV/CII gene locus. *J Biol Chem*, 1996, **271**(45): 28667~676.
- 37 Poensgen J. Are phospholipid-binding proteins in vivo phospholipase inhibitors. *Klin Wochenschr*, 1989, **67**(3): 163~165.
- 38 Poensgen J. Apolipoprotein CI inhibits the hydrolysis by phospholipase AII of phospholipids in liposomes and cell membranes. *Biochem Biophys Acta*, 1990, **1042**(2): 188~192.
- 39 Liu QH. The protective effect of apolipoprotein CI on endothelial cells injured by low density lipoprotein in vitro. *J West China University Med Sci*, 1992, **21**(1): 8~10.
- 40 Weisgraber KH, Mahley RW, Kowal RC, et al. apolipoprotein CI modulates the interaction of apoE with beta-migrating VLDL (beta-VLDL) and inhibits binding of beta-VLDL to LDL related protein. *J Biol Chem*, 1990, **265**(36): 22453~459.
- 41 Handwerker S, Quarfordt S, Barrett J, et al. Apolipoprotein AI, AII and CI stimulate placental lactagen release from human placental tissue. A novel acting of high density lipoprotein apolipoproteins. *J Clin Invest* 1987, **79**(2): 625~628.
- 42 Liu BW, Shao MZ, Yuan HJ, et al. Serum lipid and apolipoproteins AI, B100, CI, CII and CIII in 142 patients with coronary heart disease. *J West China University Med Sci*, 1989, **20**(2): 119~122.
- 43 Liu BW, Zhang ZH, Wu ZF, et al. Serum lipid and apolipoproteins AI, B100, CI, CII in patients with apoplexy. *J West China University Med Sci*, 1989, **20**(1): 9~12.
- 44 Smit M, Van der kooij-Meijis E, Woudt LP, et al. Exact localization of the familial dysbetalipoproteinemia associated HpaI restriction site in the promoter region of apoCI gene. *Biochem Biophys Res Commun*, 1988, **152**(3): 1282~288.
- 45 Riesen WF, Sturzenegger E. Enzyme-linked immunosorbent assay for apolipoprotein CI. *J Clin Chem Clin Biochem*, 1986, **24**(10): 723~727.
- 46 Sarfarazi M, Harper PS, Shaw DJ. Linkage relationships of the apolipoprotein CI gene and a cytochrome P₄₅₀ gene (CYP2A) to myotonic dystrophy. *Hum Genet*, 1990, **85**(3): 305~310.
- 47 Kamino K, Yoshiwa A, Nishiwaki Y, et al. Genetic association study between senile dementia of Alzheimer's type and apoE/CI/CII gene cluster. *Gerontology*, 1996, **42** (Suppl 1): 12~19.
- 48 Poduslo SE, Neal M, Schwankhaus J. A closely linked gene to apolipoprotein E may serve as an additional risk factor for Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*, 1995, **201**(1): 81~83.

(此文 1998-04-16 收到, 1998-11-05 修回)

(此文编辑: 文玉珊)