

脂蛋白(a)分解代谢研究进展

沃兴德

(浙江中医学院分子医学研究所, 浙江省杭州市 310009)

[关键词] 脂蛋白(a); 脂蛋白, 低密度; 代谢; 受体

[摘要] 脂蛋白(a)分子结构中除载脂蛋白B以外,还含有载脂蛋白(a),载脂蛋白(a)与纤溶酶原高度同源,它参与了血管壁的脂质沉积和血栓形成两个过程,是心脑血管病独立的危险因素。目前虽然对脂蛋白(a)结构了解得比较清楚,但对其病理生理学意义,特别是它的分解代谢途径了解甚少。有人认为脂蛋白(a)中含有载脂蛋白B,所以主要经低密度脂蛋白受体途径代谢;但由于脂蛋白(a)中的载脂蛋白B与载脂蛋白(a)结合形成二硫键,使空间构象发生改变,因此有人认为脂蛋白(a)是低密度脂蛋白受体的不良配体,只有当脂蛋白(a)分子内部的二硫键被打开,使载脂蛋白B从脂蛋白(a)中解离出来,脂蛋白(a)部分才能恢复与低密度脂蛋白受体的亲和力;甚至有学者认为脂蛋白(a)根本不通过低密度脂蛋白受体途径代谢,而且脂蛋白(a)还可能促进低密度脂蛋白代谢的作用;一部分氧化型脂蛋白(a)可经巨噬细胞“清道夫”受体途径代谢已被肯定,但完整的脂蛋白(a)是否通过此途径代谢尚不清楚;还有一些说法认为脂蛋白(a)可能不是通过特异的受体途径代谢,而是经由细胞被动的扩散作用;也有认为由于脂蛋白(a)是一个糖蛋白,可能经多糖受体途径代谢。我们的研究认为脂蛋白(a)可能经特异的受体途径代谢,并且在猴肝细胞膜上发现了特异的脂蛋白(a)受体。

[中图分类号] Q513.5

[文献标识码] A

脂蛋白(a)由 Berg 1963年在研究 β 脂蛋白的变构时偶然发现,开始把其作为低密度脂蛋白的一个变构体,以后研究发现脂蛋白(a)的分子结构中除载脂蛋白B以外还含有载脂蛋白(a),载脂蛋白(a)又与纤溶酶原高度同源。载脂蛋白(a)由肝脏合成后分泌到细胞外,与细胞外的载脂蛋白B通过分子间形成二硫键组装成脂蛋白(a)颗粒内蛋白部分,脂蛋白(a)与低密度脂蛋白不仅结构相似,其化学组成也相似,均含有相似的脂质。脂蛋白(a)参与了血管壁的脂质沉积和血栓形成两个过程,是心脑血管疾病独立的危险因素,血浆高浓度的脂蛋白(a)易导致动脉粥样硬化和脑卒中。虽然目前我们对脂蛋白(a)的结构已经了解得比较清楚,但对其病理生理学意义,特别是它的分解代谢的途径了解甚少,以下我们就此作一综述。

1 脂蛋白(a)经低密度脂蛋白受体途径代谢

由于脂蛋白(a)分子结构中含有载脂蛋白B,因此人们首先想到脂蛋白(a)可能经低密度脂蛋白受体途径进行代谢,家族性高胆固醇血症病人是一个很好的研究对象,因为患者低密度脂蛋白受体基因缺陷,造成高胆固醇血症。Utermann^[1]的研究证明这些病人血浆低密度脂蛋白胆固醇含量可增高2~3倍,血中脂蛋白(a)浓度也相应增高,说明低密度脂蛋白受体缺陷会影响脂蛋白(a)的浓度。Hiraga等^[2]

发现雌激素能降低家族性高胆固醇血症病人血中脂蛋白(a)浓度,并比较7例雌激素治疗的前列腺癌和7例经手术治疗不用雌激素的男性病人治疗前后血脂情况,发现经雌激素治疗者脂蛋白(a)明显降低,证实雌激素对脂蛋白(a)有调节作用,也提示脂蛋白(a)可能通过低密度脂蛋白受体途径被清除。Hofer等^[3]用不同的荧光染料标记低密度脂蛋白和脂蛋白(a),当它们与Hep-G2细胞反应时,在4℃下二个荧光颗粒以结合的方式存在于细胞内,只有少数散在的低密度脂蛋白和脂蛋白(a),低密度脂蛋白能增加细胞表面低密度脂蛋白与脂蛋白(a)的结合,因此推测其可能是通过形成脂蛋白(a)-低密度脂蛋白复合物而被摄入细胞内。在37℃时这种作用更明显,实验认为脂蛋白(a)经低密度脂蛋白受体途径代谢,但它是通过低密度脂蛋白以免费搭乘的方式经低密度脂蛋白受体途径被摄入细胞内的。

2 部份脂蛋白(a)经低密度脂蛋白受体途径代谢

许多实验报道脂蛋白(a)本身与低密度脂蛋白结合能力很弱,因为在脂蛋白(a)中的载脂蛋白B与载脂蛋白(a)形成二硫键,引起载脂蛋白B的构象发生改变所致,如果分子内部的二硫键断裂,使载脂蛋白B从脂蛋白(a)中解离出来,它与低密度脂蛋白受体的亲和力就能恢复^[4]。但Fless^[5]研究结果与此相反,他发现用等摩尔浓度脂蛋白(a)和低密度脂蛋白在4℃时几乎等量地结合到人单核细胞受体上,结合到单核细胞上的脂蛋白(a)能够被50倍量的低密度脂蛋白竞争63%。在37℃时脂蛋白(a)的降解不同于4℃时,是非特异的,以同一个浓度进行比较,5h后几乎低密度脂蛋白占有

[作者简介] 沃兴德,男,1952年出生,上海人,研究员,硕士研究生导师,现任浙江中医学院分子医学研究所所长、生命科学系主任和浙江省中医心血管病重点实验室主任,现从事中医药降血脂抗动脉粥样硬化、中西医结合防治心脑血管病和脂与脂代谢研究。

的低密度脂蛋白受体比脂蛋白(a)多6倍,因此脂蛋白(a)降解减少是由于37℃时的结合降低之故。由于低密度脂蛋白受体在4℃时能与脂蛋白(a)结合,提示在4℃时脂蛋白(a)可通过低密度脂蛋白受体途径代谢,而在37℃时脂蛋白(a)发生降解,脂蛋白(a)代谢不依赖低密度脂蛋白受体,他也认为这是由于构象发生变化之故。

3 脂蛋白(a)不经低密度脂蛋白受体途径代谢

有许多文献不支持脂蛋白(a)经低密度脂蛋白受体途径代谢,应用不同方法增加低密度脂蛋白受体(如用ACTH激活低密度脂蛋白受体)^[6]或者服用富含饱和脂肪酸的饮食以及使用降低低密度脂蛋白胆固醇的药物(如HMG-CoA还原酶抑制剂),并不影响血液中脂蛋白(a)的浓度。Statin可在肝中使低密度脂蛋白受体数目增加,但它并不因此而使血浆脂蛋白(a)浓度降低,间接说明脂蛋白(a)并不经低密度脂蛋白受体途径代谢^[7,8]。Rader等^[9]用¹²⁵I-脂蛋白(a)和¹³¹I-低密度脂蛋白同时注入纯合子家族性高胆固醇血症病人以及这些病人杂合子双亲和对照组人体内,记录血浆放射性同位素消失时间,发现¹³¹I-低密度脂蛋白部分代谢率在纯合子病人中明显降低,杂合子病人中略微降低,相反¹²⁵I-脂蛋白(a)代谢在纯合子和杂合子病人中均无差异,因此低密度脂蛋白受体缺陷不会引起脂蛋白(a)分解代谢延迟,指出低密度脂蛋白受体在人体内对脂蛋白(a)代谢不起直接作用。低密度脂蛋白经低密度脂蛋白受体摄入细胞后可以抑制细胞内胆固醇合成,在糖尿病和非糖尿病患者中用5g/L低密度脂蛋白抑制单核淋巴细胞胆固醇合成达66.2%,而同样量的脂蛋白(a)仅抑制胆固醇合成5.8%,20g/L脂蛋白(a)抑制率才达到31.7%^[7]。Kostner等^[10]同样发现正常人皮肤成纤维细胞预先用40g/L脂蛋白(a)孵育可下调胆固醇合成大约35%,同样量的低密度脂蛋白可引起95%的下调,而有低密度脂蛋白受体缺陷的纤维细胞的胆固醇合成一点也不受低密度脂蛋白影响,而脂蛋白(a)同样能下调胆固醇合成32%,因此可以认为脂蛋白(a)可不依赖低密度脂蛋白受体而摄入纤维细胞内。Rebin等^[11]通过使用缺少和存在低密度脂蛋白受体和低密度脂蛋白受体相关蛋白(LRP)的小鼠胚胎成纤维细胞株对脂蛋白(a)摄取进行研究,野生型成纤维细胞(MEF1)对¹²⁵I标记的低密度脂蛋白和¹²⁵I标记的脂蛋白(a)的摄取与敲除LRP等位基因的纯合子(MEF2)、缺少低密度脂蛋白受体等位基因(MEF3)和缺少低密度脂蛋白受体和LRP基因的纯合子成纤维细胞(MEF4)比较,发现与MEF1比较,由MEF2摄入的¹²⁵I标记低密度脂蛋白是77%,MEF3是30%,MEF4是24%,然而观察到4个小鼠胚胎细胞株对碘标记的脂蛋白(a)摄取没有显著差异,提示脂蛋白(a)并不经过低密度脂蛋白受体途径代谢。沃兴德等^[12]应用低密度脂蛋白受体抑制剂Lactoferrin和受体结合蛋白(receptor-associated protein, RAP)经刺猬腋下静脉注入,2min后注射¹²⁵I标记的低密度脂蛋白或脂蛋白(a),6h后处死动物测定血、肝、肾、脾、胆汁和肾上腺的放射活性,发现Lactoferrin和受体结合蛋白均能抑制低密度脂蛋白受体活性,使各组织摄取低

密度脂蛋白分别降低15%~86%,但反能使脂蛋白(a)进入组织量增加,分别增加40%~126%。因此可以认为低密度脂蛋白和脂蛋白(a)分别经各自不同的受体途径代谢,并且提示低密度脂蛋白受体活性的降低有利于脂蛋白(a)的代谢。

4 巨噬细胞对脂蛋白(a)代谢的影响

脂蛋白(a)分解代谢的另一个途径可能是经吞噬细胞“清道夫”受体。用铜离子氧化修饰的脂蛋白(a)能被肝中内皮细胞和枯否氏细胞上特异的氧化脂蛋白受体摄取,由枯否氏细胞识别的量远比内皮细胞大^[13]。氧化型脂蛋白可经巨噬细胞清道夫受体途径代谢这一点较为肯定,但对完整的脂蛋白(a)颗粒是否亦通过这种途径还缺乏足够的根据。Keesler等^[14]实验证明培养的巨噬细胞负荷胆固醇时,可通过细胞表面受体与脂蛋白(a)中的载脂蛋白(a)相互作用,获得内吞和降解脂蛋白(a)的能力,有胆固醇负荷的巨噬细胞使载脂蛋白(a)降解必须依赖巨噬细胞合成一个新的蛋白质,单纯的载脂蛋白(a)结合则不能使降解增加,因此认为这一受体的结合、内吞和降解机制是有区别的。这一受体具有配体导致的再循环功能, γ -干扰素能通过中断配体导致受体再循环,并且引起泡沫细胞脂蛋白(a)/载脂蛋白(a)受体的活性下调^[15]。

5 脂蛋白(a)可能促进低密度脂蛋白代谢

大量事实证明脂蛋白(a)可能不经低密度脂蛋白受体途径代谢,只有极少部分脂蛋白(a)水解后产生的脂蛋白(a)片段可能经低密度脂蛋白受体途径代谢。Mims等^[16]发现脂蛋白(a)常常增加125I-低密度脂蛋白与成纤维细胞的结合,这种作用呈时间依赖性,在受体阴性的成纤维细胞中这种增加与低密度脂蛋白受体的存在与否没有相关性,如果在介质中去钙离子就能抑制增加,加上毫摩尔浓度的唾液酸就可以显著地抑制脂蛋白(a)引起的成纤维细胞对125I-低密度脂蛋白的结合,因此认为脂蛋白(a)增加低密度脂蛋白对细胞的结合可能通过与细胞表面glycosaminoglycans、proteoglycans或胶原的相互作用。Kostner^[17]也证明当Hep-G2细胞与脂蛋白(a)或载脂蛋白(a)预先孵育48~72h,¹²⁵I-低密度脂蛋白结合增加2倍多,抗低密度脂蛋白受体的单克隆抗体不能阻断由载脂蛋白(a)刺激的低密度脂蛋白结合增加。

6 脂蛋白(a)代谢可能有特异的受体途径

既然脂蛋白(a)不是通过低密度脂蛋白受体途径代谢,那就一定存在一个特异的脂蛋白(a)代谢途径,Argraves等^[18]实验认为表达人极低密度脂蛋白的纤维细胞可以介导脂蛋白(a)内吞,导致它在溶酶体中的降解,相反,缺少这个受体的纤维细胞不影响脂蛋白(a)的分解代谢。脂蛋白(a)降解通过抗极低密度脂蛋白受体的抗体和RAP而被阻断,RAP是配体结合到极低密度脂蛋白受体上的拮抗剂。脂蛋白(a)分解代谢被载脂蛋白(a)所抑制,但低密度脂蛋白或载

脂蛋白 B100 抗体不能阻断其代谢。实验指出载脂蛋白(a)介导脂蛋白(a)结合到这个受体上,因此极低密度脂蛋白受体在体内脂蛋白(a)分解代谢中起重要作用。沃兴德等^[19]用猴肝细胞膜蛋白经免疫印迹法测定,使用抗牛肾上腺皮质低密度脂蛋白受体的抗体、低密度脂蛋白、脂蛋白(a)和纤溶酶原(PLG)与其反应,发现3个不同的蛋白条带,其分子量分别为370 kDa、290 kDa和80 kDa,进一步使用酶标法分析,发现经脂蛋白(a)+PLG温育后用脂蛋白(a)抗体反应的结果与脂蛋白(a)温育后用脂蛋白(a)抗体反应的结果比较无差异,而经脂蛋白(a)+PLG温育后用PLG抗体反应的结果比单独用PLG温育后用PLG抗体的反应强;同样经脂蛋白(a)+低密度脂蛋白温育后用脂蛋白(a)抗体反应的结果与经脂蛋白(a)温育后用脂蛋白(a)抗体反应的结果比较无差异,而经脂蛋白(a)+低密度脂蛋白温育后用低密度脂蛋白抗体反应比单独经低密度脂蛋白温育后用低密度脂蛋白抗体的反应强,排除脂蛋白(a)与PLG和低密度脂蛋白的交叉反应,实验认为猴肝细胞膜上可能同时存在低密度脂蛋白受体、PLG受体和脂蛋白(a)受体。

7 脂蛋白(a)代谢的其它途径

此外,存在一种非受体控制的机制也是可能的,特别是这类非受体机制对糖化的脂蛋白有一种特殊的结合能力。我们知道脂蛋白(a)是一个糖蛋白,在分子结构中其糖的含量高于低密度脂蛋白,通过体外用葡萄糖基化脂蛋白(a)其降解速率更快和更能刺激胆固醇酯形成,其降解速度比糖基化低密度脂蛋白快4~5倍^[20]。脂蛋白(a)也被认为可能通过非特异的受体途径代谢,经由细胞被动的扩散作用,目前尚缺乏有力的实验支持。沃兴德等^[21]发现低密度脂蛋白和脂蛋白(a)结构中的糖链对低密度脂蛋白和脂蛋白(a)的代谢起非常重要的作用,他们将低密度脂蛋白和脂蛋白(a)用神经氨酸酶处理后去除低密度脂蛋白和脂蛋白(a)中所含糖链中末端唾液酸,然后用¹²⁵I标记注入刺猬体内,分别于3h和6h处死,测定不同组织中放射性,发现去唾液酸的脂蛋白(a)比去唾液酸的低密度脂蛋白代谢明显快4倍以上,从脂蛋白(a)中的唾液酸含量比低密度脂蛋白高6倍中不难看出,脂蛋白(a)中的唾液酸在脂蛋白(a)结构中起稳定作用,脂蛋白(a)的分解代谢可能需要分子中脱唾液酸过程,去糖链末端唾液酸的脂蛋白(a)暴露了其它糖,因此脂蛋白(a)可能经糖受体途径进行代谢。

参考文献

- Utemann G. Defects in the LDL- receptor gene affect Lp(a) levels [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, **86**: 4 171
- Hiraga T, Shimokawa K, Murase T, et al. Reduction of serum lipoprotein(a) by estrogen in men with prostatic cancer [J]. *Endocr J*, 1993, **40**(5): 507
- Hofer G, Steyrer E, Kostner GM, et al. LDL- mediated interaction of Lp(a) with HepG2 cells: a novel fluorescence microscopy approach [J]. *J Lipid Res*, 1997, **38**(12): 2 411
- Krempler F. Studies on the role of specific cell surface receptors in the removal of lipoprotein(a) in man [J]. *J Clin Invest*, 1983, **71**: 1 431
- Fless GM. Cellular binding and degradation of lipoprotein(a) [J]. *J Atheroscler Thromb*, 1995, **2**(1): 1
- Bartens W, Kroster GA, Wanner C. Corticotropin increase the receptor specific uptake of native LDL- but not of oxidized LDL and native or oxidized Lp(a) in HEPG2 cells: no evidence for Lp(a) catabolism via the LDL receptor [J]. *Metabolism*, 1997, **46**(7): 726
- Kostner GM. HMGCoA reductase inhibitors lower LDL cholesterol without reducing Lp(a) levels [J]. *Circulation*. 1989. **80**: 1 313
- Kostner GM, Wo XD, Frank SK, et al. Metabolism of Lp(a): assembly and excretion [J]. *Clin Genet*, 1997, **52**: 347
- Rader DJ, Mann WA, Cain W, et al. The LDL receptor is not required for normal catabolism of Lp(a) in humans [J]. *J Clin Invest*, 1995, **95**(3): 1 403
- Kostner GM, Grillhofer H. The interaction of Lp(a) with normal and LDL receptor deficient human skin fibroblasts [J]. *Chem Phys Lipids*, 1994, **67**: 153
- Rebin T, Niemeier A, Meyer N, et al. Cellular uptake of lipoprotein(a) by mouse embryonic fibroblasts via the LDLreceptor and the LDL receptor related protein [J]. *J Lipid Res*, 1997, **38**(10): 2 103
- 沃兴德, GM K, 洪行球, 等. 低密度脂蛋白受体抑制剂对低密度脂蛋白和脂蛋白(a)代谢的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 1996, **4**(2): 108
- De Rijke YB, Jorgens G, Hessels EM, et al. In vivo fate and scavenger receptor recognition of oxidized Lp(a) isoforms in rats [J]. *J Lipid Res*, 1992, **33**(9): 1 315
- Keesler GA, Gabel BR, Devlin CM, et al. The binding activity of the macrophage Lp(a)/apo(a) receptor is induced by cholesterol via a post translational mechanism and recognizes distinct kringle domains on apo(a) [J]. *J Biol Chem*, 1996, **271**(50): 32 096
- Skiba PJ, Keesler GA, Tabas I. Interferon gama down regulates the Lp(a)/apo(a) receptor activity on macrophage foam cells [J]. *J Biol Chem*, 1994, **269**(37): 23 059
- Mims MP, Gaubatz JW, Ghazzaly KK, et al. Interaction of LDL and Lp(a) with human skin fibroblasts [J]. *Chem Phys Lipids*, 1994, **67**: 145
- Kostner GM. Interaction of Lp(a) and of apo(a) with liver cells [J]. *Arterioscler Thromb*, 1993, **13**(7): 1 101
- Argraves KM, Kozarsky KF, Fallon JT, et al. The atherogenic lipoprotein Lp(a) is internalized and degraded in a process mediated by the VLDL receptor [J]. *J Clin Invest*, 1997, **100**(9): 2 170
- 沃兴德, 唐利华, 李白桦. 猴肝细胞膜脂蛋白(a)受体的研究 [J]. *生物化学与分子生物学杂志*, 2000, **(1)**: 17
- Makino K, Furbee J, Scanu AM, et al. Effect of glycation on the properties of Lipoprotein(a) [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995, **15**(3): 385
- 沃兴德, Kostner GM, 洪行球, 等. 去唾液酸对低密度脂蛋白和脂蛋白(a)代谢的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 1996, **4**(2): 115

(此文2000-03-28收到,2000-07-27修回)

(此文编辑 朱雯霞)