

# 高密度脂蛋白受体研究进展

徐燕华, 傅明德

(华西医科大学生物化学与分子生物学研究所, 四川省成都市 610041)

[主题词] 受体, 高密度脂蛋白; 载脂蛋白 AI; 胆固醇

[摘要] 组织细胞中存在多种高密度脂蛋白受体或高密度脂蛋白结合蛋白, 这些受体蛋白的组成、结构及一般特征各不相同。载脂蛋白 AI 是高密度脂蛋白受体的配基, 其受体结合部位位于肽链 C-末端。研究发现载脂蛋白 AI 是以从脂蛋白表面解离下来的游离形式与高密度脂蛋白受体结合。肝细胞及肝外细胞高密度脂蛋白受体分别具有不同功能, 其中肝细胞高密度脂蛋白受体介导高密度脂蛋白 CE 选择性进入细胞, 肝外细胞高密度脂蛋白受体则介导细胞胆固醇流出。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Gwynne 于 1976 年首次在大鼠肾上腺皮质中发现高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 受体后, 人们又在肝细胞、动脉平滑肌细胞、巨噬细胞、成纤维细胞、内皮细胞以及卵巢组织等的细胞膜上发现可特异性结合 HDL 的受体或 HDL 结合蛋白。研究发现不同种类的 HDL 受体在组成、结构甚至功能上均有一定差异。本文将对已分离并被克隆的几种 HDL 受体及其配基的研究进展作一综述。

## 1 高密度脂蛋白受体分类

组织细胞中存在多种可以特异结合 HDL 的受体或结合蛋白。这些受体蛋白的组成、结构及一般特征各不相同。

### 1.1 清道夫受体 B iv

清道夫受体 B iv (scavenger receptor BI, SR-B iv) 同其它清道夫受体一样, 具有广泛的结合特性, 可以与低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL)、修饰的 LDL 及多种载脂蛋白结合, 在脂质代谢, 特别是氧化修饰 LDL 清除中发挥重要作用。Acton 等<sup>[1]</sup>发现 SR-B iv 转染的不含 LDL 受体的中国仓鼠卵巢 (chinese hamster ovary, CHO) 细胞, 其 SR-B iv 不仅可结合 LDL 及修饰 LDL, 还可与 HDL 以高亲和力结合, 并介导 HDL 胆固醇酯 (cholesterol ester, CE) 选择性转运至细胞, 因而提出 SR-B iv 也是 HDL 的受体。随后发现 SR-B iv 与 HDL 结合后还可介导细胞胆固醇流向 HDL<sup>[2]</sup>, 使 SR-B iv 的 HDL 受体地位得到进一步确认。

清道夫受体 B iv (SR-B iv) 属于具有免疫控制配体结合区特征的清道夫受体家族 B 族, 同时也是分化群抗原 (cluster of differentiation antigen, CD) 36 家族成员。主要分布于肝脏、

卵巢、肾上腺等组织, 小肠、乳腺及心脏中也有少量存在。SR-B iv 分子量约为 80 kDa, 与 CD36 相似, 亦是含 N-连接寡糖链的糖蛋白, 去掉糖基后其分子量由 80 kDa 降至 54 kDa。SR-B iv 肽链的 C-末端及 N-末端均位于胞内, 并各与一个疏水跨膜片段相连, 两个疏水区域之间的大部分片段则位于细胞外。在 N-末端的 Cys3、Cys7 以及 C-末端的 Cys464、Cys466 上各有一个软脂酰化位点。另外, 在 Cys462 和 Cys470 上还连接有脂肪酰链, 其中 Cys462 位于 Cys470 接近于跨膜片段 (440 ~ 464 残基) 与 C-末端 (465 ~ 509) 的接合处, 推测可能与 SR-B1 和质膜陷窝的共同区域化有关<sup>[3]</sup>。

清道夫受体 SR-B iv 在组织中的表达受反馈控制。Wang 等<sup>[4]</sup>发现在载脂蛋白 AI 基因敲除大鼠的肾上腺 SR-B iv mRNA 表达水平增高, 肝脂酶基因敲除的雌性大鼠的 SR-B iv 表达也增加 3~4 倍。由于肝脂酶可介导胆固醇的转移和 CE 的选择性吸收, 因此肝脂酶的缺乏使 SR-B iv 的表达反馈性增加。另外, SR-B iv 在类固醇激素合成组织中的表达受相应的垂体激素的诱导<sup>[5]</sup>。当把大鼠放到冷水浴中时, 由于冷水浴可刺激肾上腺皮质激素和皮质类固醇合成, 其肾上腺中 SR-B iv mRNA 的表达比正常大鼠高两倍。

与啮齿类动物 SR-B iv 同源的人的共同淋巴细胞抗原-1 (common lymphocyte antigen, CLA-1) 现已被克隆并测序<sup>[6]</sup>。CLA-1 与 SR-B iv 有 81% 的同源性, 主要分布于肾上腺、肝脏及卵巢中, 也可以介导 CE 的吸收。

最近, Webb 等<sup>[7]</sup>发现一种不同的 SR-B iv, 命名为 SR-B ③。它由 SR-B iv 前体经过不同剪切形成, 其 C-末端胞质区域的编码与 SR-B iv 完全不同。SR-B ③同样可调节脂质在 HDL 和细胞间的转运, 但效率较 SR-B iv 低。

### 1.2 高密度脂蛋白结合蛋白

高密度脂蛋白结合蛋白 (HDL binding protein, HBP) 普遍存在于成纤维细胞、主动脉内皮细胞和肝细胞等质量为 110 kDa, 分子中不含典型的疏水跨膜片段, 也没有受体特征的细胞质或胞外区域。但它具有 14 个重复的 K 族区域及核定位片段, 并可与 mRNA 结合, 因此可能与 mRNA 的代谢有关<sup>[8]</sup>。

[作者简介] 徐燕华, 女, 1973 年 11 月出生, 河北人, 1996 年毕业于包头医学院临床医学专业, 现为华西医科大学生物化学与分子生物学专业博士研究生, 研究方向为 HDL 抗动脉粥样硬化作用。Tel 028-5501289, E-mail: yhxu73@263.net。傅明德, 男, 1942 年 10 月出生, 杭州人, 1965 年毕业于四川大学生物化学专业, 教授, 博士研究生导师, 主要从事 HDL 抗动脉粥样硬化作用的研究。

HBP 可能存在于细胞质中,推测它与 HDL 作用时,通过含糖基化磷脂酰肌醇丰富的区域“锚”定在膜上,然后与膜上对胆固醇成分敏感的信号分子或陷窝相互作用。

高密度脂蛋白结合蛋白(HBP)的配体包括 HDL 及载脂蛋白 AI。但它的功能还没有阐明。有研究者提出它与 HDL 或载脂蛋白 AI 相互作用后,可促进胆固醇的流动,但是 Mcknight 等<sup>[9]</sup>却发现当 HBP mRNA 在细胞中过量表达时,其产物缺乏 HDL 结合活性,而且 HBP 特异性抗体不能阻止 HDL 与 HBP 的结合。目前这些资料都不足以支持或排除 HBP 具有 HDL 受体功能的可能性,仍需进一步的研究。

高密度脂蛋白结合蛋白(HBP)的表达受细胞胆固醇负载的上升调节。Mcknight 等<sup>[9]</sup>发现,把培养的平滑肌细胞用胆固醇负载后,细胞中 HBP mRNA 的表达随胆固醇负载量的增加而增加。Chiu 等<sup>[8]</sup>用免疫组化及原位杂交技术对动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)患者和正常人冠状动脉进行的研究发现,他们的 HBP 均集中在内皮细胞中,仅在患者的冠状动脉中检测到表达 HBP 的非内皮细胞-泡沫巨噬细胞,亦说明 HBP 的表达与细胞胆固醇负载有关。

### 1.3 高密度脂蛋白结合蛋白 1 和 2

高密度脂蛋白结合蛋白 1 和 2 (HDL binding protein, HB1 和 HB2) 是另外两种可以结合 HDL 的膜蛋白。HB1 分子量大约为 120 kDa, 主要分布于脾、肝、肠、肺中。HB2 是一种分子量约为 100 kDa 的糖蛋白, 属于免疫球蛋白超家族, 与活化白细胞-细胞粘附分子极为相似(93% 同源性), 主要分布于肺、肝、小肠、肾、卵巢及睾丸也有少量存在<sup>[10]</sup>。HB2 具有典型的受体特征: 其 C-末端含有 32 个氨基酸, 位于胞内, 疏水跨膜区域由 24 个氨基酸组成, N-末端由大约 500 个氨基酸组成, 位于胞外, 其上有 8 个潜在的 N-糖基化位点, 分别位于 95、167、265、306、361、457、480 及 499 残基, 在分离得到的 HB2 中, 这些位点大都被糖基化, 但其功能目前尚不清楚。在胞外的 8、73、74、209、421 残基上还存在蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 磷酸化位点, 当完整的 HB2 或其部分产物内在化时, 这些位点可以激活, 其功能目前亦未阐明。

Matsumoto 等<sup>[10]</sup>用 HB2 cDNA 转染 COS-1 非洲绿猴肾细胞, 肝癌细胞株 G2 细胞及 CHO 细胞, 再与<sup>125</sup>I-HDL3 共同孵育, 发现上述细胞与<sup>125</sup>I-HDL3 的结合增加了 80% ~ 100%, 配体杂交试验也表明上述结合作用与 HB1 和 HB2 有关。此外, Matsumoto 等还发现巨噬细胞与 LDL 共同孵育负载胆固醇后, 表达的 HB2 mRNA 随胆固醇负载量的增加而减少, 提示 HB2 的表达受细胞胆固醇水平的反馈调节。

## 2 高密度脂蛋白受体的配基

高密度脂蛋白(HDL)颗粒含有 9 种载脂蛋白, 主要有载脂蛋白 AI、A Ⅱ、A Ⅲ和 Cs, 载脂蛋白 AI 是 HDL 受体的配基早已达成共识。但其它载脂蛋白如 A Ⅱ等是否也是 HDL 受体的配基仍有争议。

### 2.1 载脂蛋白 AI 作为高密度脂蛋白受体配基的证据

早期研究报道载脂蛋白 AI 和载脂蛋白 A Ⅱ分子中均有 HDL 受体结合位点, 也有研究者发现载脂蛋白 AI、A Ⅱ及 C

也可识别 HDL 受体。为消除脂蛋白中载脂蛋白交换对判定 HDL 受体配基的影响, Vadeloo 及 Fidge<sup>[11]</sup>制备了仅含载脂蛋白 AI 或仅含 A Ⅱ类似于 HDL3 的颗粒, 他们发现载脂蛋白 AI-HDL3 结合到牛主动脉内皮细胞的能力比载脂蛋白 A Ⅱ-HDL3 高 3~4 倍。另外, Castro 等<sup>[12]</sup>发现富含载脂蛋白 A Ⅱ的 HDL 在促进胆固醇流出方面也弱于富含载脂蛋白 AI 的 HDL, 表明载脂蛋白 AI 是 HDL 受体的特异性配基。

### 2.2 载脂蛋白 AI 结合部位及其特性

载脂蛋白 AI 分子量为 28.3 kDa, 是由 243 个氨基酸残基组成的单链蛋白质。其分子中含 7~9 段由 22 个氨基酸残基组成的重复序列, 其间含有可使肽链形成  $\beta$  转角的脯氨酸残基, 在有磷脂存在时, 可以形成多个反向平行排列的双  $\alpha$  螺旋。这些双  $\alpha$  螺旋对维持载脂蛋白 AI 结构的稳定及其发挥正常功能是非常重要的。

载脂蛋白 AI 受体结合部位位于 C-末端。Morrisan 等<sup>[13]</sup>对载脂蛋白 AI 四个溴化氰裂解片段的研究发现仅仅位于 C-末端的第四个片段的磷脂脂质体与大鼠肝细胞 HDL 受体呈高亲和性结合。随后 Allan 等<sup>[14]</sup>发现识别载脂蛋白 AI 150 和 243 残基的抗原决定簇的单克隆抗体抑制 HDL 与受体的结合。另外载脂蛋白 AI 中精氨酸被修饰后不影响载脂蛋白 AI 与 HDL 受体结合。但用四硝基甲烷处理载脂蛋白 AI 分子中的酪氨酸残基则对载脂蛋白 AI 与 HDL 受体的结合有影响, 因此推测载脂蛋白 AI 的酪氨酸残基可能在 HDL 受体结合过程中起重要作用。

载脂蛋白 AI 是以从脂蛋白表面解离下来的游离形式与 HDL 受体结合。磷脂转运蛋白和 CE 转运蛋白在有游离脂肪酸存在时, 可促进 HDL 亚类之间的互变, 同时产生不含脂质形式的载脂蛋白 AI<sup>[15]</sup>。这些游离的载脂蛋白 AI 可以高亲和力与 HDL 受体特异性结合, 进而引起细胞胆固醇流出或摄入的一系列生物化学反应。

## 3 高密度脂蛋白受体的功能

胆固醇逆向转运是将外周细胞中过剩的胆固醇移出并转运至肝脏进行转化和清除。研究证实, 胆固醇从外周细胞的移出及进入肝细胞分别与外周细胞 HDL 受体及肝细胞 HDL 受体介导有关。此外, 外周细胞 HDL 受体还在类固醇激素的合成中发挥作用。

### 3.1 外周细胞高密度脂蛋白受体

外周细胞如动脉平滑肌细胞、巨噬细胞、内皮细胞的胆固醇主要通过两种机制流出, 一种是细胞膜胆固醇通过水相扩散流向受体, 是一种缓慢非特异过程。另一种是细胞源性胆固醇通过 HDL 受体介导流出, 是一种快速特异过程<sup>[16]</sup>。

同位素标记胆固醇负载的纤维细胞或主动脉内皮细胞与不含载脂蛋白 E 的 HDL3 一起孵育, 可观察到 HDL3 促使标记胆固醇从细胞内移出至培养基中。用鼠 SR-B iv 转染 CHO 细胞, 细胞胆固醇流出显著增加, 且流出速率与受体过量表达的程度相关。另外腹膜巨噬细胞、成纤维细胞及肾上腺细胞的胆固醇流出的速率与 SR-B iv 的表达呈正相关<sup>[2]</sup>, 亦说明外周细胞 HDL 受体可介导细胞内胆固醇流出。

外周细胞 HDL 受体介导细胞胆固醇流出虽已明确, 但与 HDL 结合后至细胞胆固醇流出间的一系列生物化学反应仍未完全阐明, 目前仅了解 HDL 受体与 HDL 结合后可激活 PKC 信号通路, 并使细胞内胆固醇动员至质膜然后移出。也有人提出 HDL 受体与 HDL 结合后, 激活磷脂酶 C 和 D, 磷脂酶 C 和 D 作用于磷脂酰肌醇和磷脂酰胆碱后, 产生第二信使甘油二酯及磷酸酸, 后者进而激活 PKC 和其它信号通路, 然后通过某种仍需阐明的机制使细胞内胆固醇流出<sup>[17]</sup>。

除了介导细胞胆固醇流出外, 在合成类固醇激素有关的组织, 如肾上腺皮质、卵巢和睾丸组织细胞 HDL 受体可介导胆固醇由 HDL 流入细胞用以合成类固醇激素。

### 3.2 肝细胞高密度脂蛋白受体

肝脏是机体排出过剩胆固醇的重要器官。外周细胞移出的胆固醇在卵磷脂 CE 酰转移酶及 CE 转运蛋白 (cholesteryl ester transfer protein, CETP) 的作用下, 转化为 CE, 并在 HDL 与 LDL 及极低密度脂蛋白之间进行交换, 最后主要由 LDL 以及中间密度脂蛋白通过 LDL 受体或载脂蛋白 E 受体途径进入肝细胞, 部分由 HDL 直接通过 HDL 受体途径进入肝细胞。在无 CETP 或 CETP 活性很低的动物种属, 胆固醇则主要由 HDL 受体途径进入肝细胞。

大量研究表明肝细胞 HDL 受体可介导细胞摄取 HDLCE。把含有<sup>125</sup>I 标记 CE 的 HDL 与培养的肝实质细胞共同孵育一段时间后, 可观察到 HDL 中标记 CE 减少, 而一部分标记 CE 出现在细胞内。但目前 HDLCE 进入细胞的机理尚不清楚。早期认为 HDL 受体与 HDL 结合后, HDLCE 进入细胞而载脂蛋白颗粒不进入细胞内, Delamatre 等<sup>[18]</sup>则认为 HDL- 受体复合物以胞饮体形式进入细胞, 然后通过逆向胞饮机制将内吞 HDL 中的载脂蛋白输出胞外, 而 CE 留在胞内。最近有研究认为 SR-B iv 是唯一可介导 HDL CE 进入细胞的 HDL 受体。SR-B iv 可能位于质膜上称为“陷窝”的富含胆固醇和鞘磷脂的微区, 这些微区被认为与胆固醇运输直接有关。推测 SR-B iv 与 HDL 结合后, 先选择性介导 HDL 胆固醇进入陷窝中一个可逆的胆固醇池, 随后胆固醇再通过某种机制进入细胞内的胆固醇池中<sup>[19]</sup>。

尽管 HDL 受体研究不断深入, 但许多问题尚未阐明。特别是为何外周细胞与肝细胞 HDL 受体在胆固醇移出与进入细胞中发挥不同作用仍是今后研究的重要课题。

### 参考文献

- [1] Acton S, Rigotti A, Landschulz K, et al. Identification of scavenger receptor SR-B iv as a high density lipoprotein receptor [J]. *Science*, 1996, **271** (5248): 518- 520
- [2] Trigatti B, Rigotti A, Krieger M. The role of the high-density lipoprotein receptor SRB iv in cholesterol metabolism [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2000, **11** (2): 127- 131
- [3] Mizutani T, Sonoda Y, Minegishi T, et al. Cloning, characterization and cellular distribution of rat scavenger receptor class B type I (SR-B iv) in the ovary [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, **234** (2): 499- 505
- [4] Wang N, Weng W, Breslow JL, et al. Scavenger receptor BI

(SR-B iv) is up-regulated in adrenal gland in apolipoprotein AI and hepatic lipase knock-out mice as response to depletion of cholesterol stores [J]. *J Biol Chem*, 1996, **271** (35): 21 001- 004

- [5] Rigotti A, Edelman ER, Seifert P, et al. Regulation by adrenocorticotrophic hormone of the in vivo expression of scavenger receptor class B type I (SR-B iv), a high density lipoprotein receptor, in steroidogenic cells of the murine gland [J]. *J Biol Chem*, 1996, **271** (52): 33 545- 549
- [6] Lwifond J, Charest MC, Alain JF, et al. Presence of CLA-1 and HDL bind sites on cytotrophoblast brush border and basal plasma membranes of human placenta [J]. *Placenta*, 1999, **20** (7): 583- 590
- [7] Webb NR, Connell PM, Graf A, et al. SR-B  $\alpha$ , an isoform of the scavenger receptor BI containing an alternate cytoplasmic tail, mediates lipid transfer between high density lipoprotein and cells [J]. *J Biol Chem*, 1998, **273** (24): 15 241- 248
- [8] Chiu DS, Oram JF, LeBoeuf RC, et al. High density lipoprotein binding protein (HBP) vigilin is expressed in human atherosclerotic lesions and colocalizes with apolipoprotein E [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, **17** (15): 2 350- 358
- [9] Mcnight GL, Reasoner J, Gilbert T, et al. Cloning and expression of a cellular high density lipoprotein binding protein that is up-regulated by cholesterol loading of cells [J]. *J Biol Chem*, 1992, **267** (17): 12 131- 141
- [10] Msatsumoto A, Mitchell A, Kurata H, et al. Cloning and characterization of HB2, a candidate high density lipoprotein receptor: sequence homology with membranes of the immunoglobulin superfamily of membrane proteins [J]. *J Biol Chem*, 1997, **272** (27): 16 778- 782
- [11] Vadiveloo PK, Fidge NF. The role of apoprotein AI and A  $\alpha$  in binding of high density lipoproteins to membranes derived from bovine aortic endothelial cells [J]. *Biochem J*, 1992, **284** (1): 145- 151
- [12] Castro G, Nihoul LP, Dengermon C, et al. Cholesterol efflux lecithin:cholesterol acyltransferase activity, and pre-beta particle formation by serum from human apolipoprotein AI and apolipoprotein AI/apolipoprotein A  $\alpha$  transgenic mice consistent with the latter being less effective for reverse cholesterol transport [J]. *Biochemistry*, 1997, **36** (8): 2 243- 249
- [13] Morrison J, Fidge NH, Tozuka M. Determination of the structure domain of apo AI recognized by high density lipoprotein receptors [J]. *J Biol Chem*, 1991, **266** (28): 18 780- 785
- [14] Allan C, Fidge NH, Morrison J, et al. Monoclonal antibodies to human apolipoprotein AI: structural probes for the cellular binding domain of apo AI [J]. *Biochem J*, 1993, **290** (2): 449- 455
- [15] Rye KA, Clay MA, Barter PJ. Remodelling of high density lipoproteins by plasma factors [J]. *Atherosclerosis*, 1999, **145** (2): 227- 238
- [16] Rothblat GH, Llera MM, Atger V, et al. Cell cholesterol efflux: integration of old and new observations provides new insights [J]. *J Lipid Res*, 1999, **40** (50): 29 993- 989
- [17] Fidge NH. High density lipoprotein receptors, binding proteins, and ligands [J]. *J Lipid Res*, 1999, **40** (1): 187- 201

- [ 18] Delamatre JG. Metabolism of apo E-free high density lipoprotein in rat hepatoma cells: Evidence for a retroendocytic pathway [ J] .

*J Lipid Res*, 1990, **31** ( 1): 191– 197

- [ 19] Graf A, Connell PM, Deneys R, et al. The class B, type I scavenger receptor promotes the selective uptake of high density

lipoprotein cholesterol ester into caveolae [ J] . *J Biol Chem*,

1999, **274** ( 17): 12 043– 048

( 此文 2000– 11– 21 收到, 2001– 05– 08 修回)

( 此文编辑 胡必利)