

载脂蛋白 C 研究进展

刘 皓, 刘秉文

(四川大学华西医学中心生物化学与分子生物学研究所, 成都 610041)

[主题词] 载脂蛋白 C; 基因; 分子缺陷; 功能; 转基因及基因敲除

[摘要] 载脂蛋白 C 是血浆中一组水溶性的低分子量蛋白质, 主要分布在乳糜微粒、极低密度和高密度脂蛋白, 其生理功能目前尚未完全阐明, 大量研究表明载脂蛋白 C 在脂蛋白代谢中发挥重要作用。本文对载脂蛋白 C iv、C ①、C ②和 C ③的结构功能、基因缺陷和基因多态性, 以及转基因和基因敲除的研究进展作一介绍。

[中图分类号] Q513

[文献标识码] A

载脂蛋白 C (apolipoprotein C) 是血浆中一组水溶性的低分子量蛋白质, 包括载脂蛋白 C iv、C ①、C ②和新近发现的 C ③四个亚类, 它们主要分布在乳糜微粒 (chylomicron, CM)、极低密度脂蛋白 (very low density lipoprotein, VLDL) 和高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL)。长期以来, 由于载脂蛋白 C 的纯化及基因表达调控等问题未得到很好解决, 阻碍了对载脂蛋白 C 功能的研究, 到目前为止载脂蛋白 C 在脂蛋白代谢中的作用还没完全阐明。但近年来, 尤其是转基因及基因敲除技术的应用, 取得了一些新进展。本文对此做一综述。

1 载脂蛋白 C 的结构

1.1 载脂蛋白 C 基因结构

人载脂蛋白 C iv 和载脂蛋白 C ①基因均位于第 19 号染色体上长约 48 kb 的载脂蛋白 E/C iv/C ①基因簇内。载脂蛋白 C iv 基因位于载脂蛋白 E 基因下游 4.3 kb 或 5.3 kb 处, 长约 4.7 kb, 主要在肝脏中表达, 也有少量在肺、皮肤、睾丸和脾脏中表达。一种载脂蛋白 C iv 基因拷贝, 位于载脂蛋白 C iv 基因下游 7.5 kb 处, 即所谓假载脂蛋白 C iv' 基因, 但其 mRNA 产物尚未在任何组织中发现^[1]。载脂蛋白 C ①基因长 3.4 kb, 主要在肝脏和小肠中表达。近年在小鼠载脂蛋白 E/C iv/C ①基因簇内发现另一与载脂蛋白 C ①基因相连的基因。最近在人体中亦发现这一基因, 位于载脂蛋白 C ①基因上游 555 bp 处, 长约 3.3 kb, 称为载脂蛋白 C ②基因。该基因可能缺少 TATA 序列, 在人肝脏中几乎不表达^[2]。

人载脂蛋白 C iv 和载脂蛋白 E 基因处于同一个转录区。载脂蛋白 E 基因下游约 18 kb 和载脂蛋白 C iv 基因下游约 9 kb 处有一长约 764 bp 的顺式作用元件, 其中功能区长 319 bp, 可调控肝脏载脂蛋白 C iv 和载脂蛋白 E 基因的表达, 称之为肝脏调控域 1。最近, 在载脂蛋白 E/C iv/C ①基因簇载脂蛋白

E 基因下游 27 kb 和肝脏调控域 1 下游约 10 kb 处确定了第二个肝脏调控域, 即肝脏调控域 2。核酸序列分析表明, 肝脏调控域 2 与肝脏调控域 1 功能区的同源性高达 85%。最近的研究发现, 所有肝脏调控域均可单独调节载脂蛋白 E/C iv/C ①基因簇所含四个基因的表达, 而且只要有一个肝脏调控域存在, 就可调控上述任一基因在肝脏的表达^[3]。

人载脂蛋白 C ②基因长约 3.1 kb, 位于第 11 号染色体长臂载脂蛋白 A iv/C ②A ③基因簇内, 在肝脏和小肠中均有表达。载脂蛋白 A iv/C ②A ③基因簇的三个基因在小肠均有表达, 但小肠不同部位的表达由特异调节元件介导。载脂蛋白 C ②基因的 -780/-520 增强子调控小肠腺和绒毛中的载脂蛋白 A iv 基因的表达; 而载脂蛋白 A ③启动子 -700/-310 末端的调节元件及载脂蛋白 C ② -890/+24 近端启动子元件与载脂蛋白 C ② -500/-890 增强子的结合, 则抑制小肠绒毛载脂蛋白 C ②和 A ③基因的表达^[4]。Ribalta J 等^[5]在家族性结合型高脂血症患者中发现载脂蛋白 C ②基因外显子 3 C1100-T 和载脂蛋白 A iv 基因启动子 G-75-A 突变携带者, 在其血浆载脂蛋白 A iv 和载脂蛋白 C ②浓度升高的同时, 血浆维生素 A 的浓度亦升高; 而外显子 4 G3206-T 突变则未见这种关系。表明家族性结合型高脂血症 (familial combined hyperlipidemia, FCH) 患者载脂蛋白 A iv/C ②A ③基因簇蛋白表达增加与维生素 A 有一定关联。在 Zucker 肥胖大鼠中发现, 瘦素受体 (leptin receptor) 突变可引起重度肥胖, 诱发高 TG 血症, 并显著影响了大鼠肝脏载脂蛋白 A ③ C ②和 A iv 基因表达和饮食诱导的调节^[6]。

1.2 载脂蛋白 C 蛋白结构

载脂蛋白 C iv、C ①和 C ②的蛋白结构早已清楚, 本文将不再介绍。最近新发现一种载脂蛋白 C ③。人载脂蛋白 C ③序列分析表明: 它由 127 个氨基酸残基组成, 含一长为 25 个氨基酸残基的信号肽和 2 个 α 螺旋结构^[7]。人血浆中不含载脂蛋白 C ③。载脂蛋白 C ③基因在肝脏中的表达也较低, 提示载脂蛋白 C ③在脂蛋白代谢中可能不起主要的作用^[2]。兔分泌载脂蛋白 C ③的水平较高, 新生载脂蛋白 C ③由 124 个氨基酸残基组成, 分子量约为 14 kDa, 含一长为 27 个氨基酸残基的信

[收稿日期] 2001-04-04 [修回日期] 2002-01-15

[基金项目] 国家自然科学基金(39870298)资助。

[作者简介] 刘皓, 女, 生物化学与分子生物学专业在读博士研究生; 刘秉文, 男, 生物化学与分子生物学教授, 博士研究生导师, 本文通讯作者, 联系电话: 028-5501289, E-mail: BWLiu1205@hotmail.com

号肽;其成熟载脂蛋白 C Ⅱ含 97 个氨基酸,主要与 VLDL 和 HDL 结合^[7]。

2 载脂蛋白 C 的功能

载脂蛋白 C 的生理功能目前尚未完全阐明,大量研究表明,载脂蛋白 C 对参与脂蛋白代谢的许多关键酶及受体均有影响^[8]。

2.1 调节脂蛋白脂酶和肝脂酶的活性

体外实验观察到载脂蛋白 C 可影响脂蛋白脂酶对富含 TG 脂蛋白的水解。载脂蛋白 C Ⅱ是脂蛋白脂酶的必需激活剂,但高浓度的载脂蛋白 C Ⅱ反而抑制脂蛋白脂酶的活性。载脂蛋白 C Ⅱ激活脂蛋白脂酶的机制目前尚不完全清楚。有研究认为,当脂蛋白脂酶与富含 TG 脂蛋白表面的磷脂结合后,载脂蛋白 C Ⅱ才能激活脂蛋白脂酶。最近有研究发现,载脂蛋白 C Ⅱ对作用于水溶性底物的脂蛋白脂酶的活性无影响,只有当载脂蛋白 C Ⅱ与脂质形成复合物时,才有激活脂蛋白脂酶的作用。研究表明,脂蛋白脂酶的激活位点被一环状区域所掩盖,该区域主要包含一个螺旋-转角-螺旋结构;载脂蛋白 C Ⅱ的第 39~62 位氨基酸残基亦可形成一小段双性螺旋,但不参与脂质的结合。当载脂蛋白 C Ⅱ与脂质结合后,载脂蛋白 C Ⅱ与脂蛋白脂酶的亲和力增强,形成载脂蛋白 C Ⅱ脂蛋白脂酶复合物,其中载脂蛋白 C Ⅱ的第 39~62 位氨基酸残基与脂蛋白脂酶环状区域相互作用,形成螺旋-螺旋结构,从而激活脂蛋白脂酶。很显然,载脂蛋白 C Ⅱ的脂质结合区域是其激活脂蛋白脂酶所必需的^[9]。

载脂蛋白 C iv 和载脂蛋白 C Ⅲ均可抑制脂蛋白脂酶的活性,其中载脂蛋白 C Ⅲ是脂蛋白脂酶最强的抑制剂之一。利用血清脂蛋白脂酶和纯化载脂蛋白 C Ⅲ进行体内动力学实验发现,载脂蛋白 C Ⅲ能非竞争性抑制脂蛋白脂酶对载脂蛋白 C Ⅱ和油酸甘油酯的作用,提示载脂蛋白 C Ⅲ可能直接对脂蛋白脂酶起抑制作用。对合成载脂蛋白 C Ⅲ多肽片段的研究表明,载脂蛋白 C Ⅲ的 N-末端区为抑制脂蛋白脂酶活性所必需。

此外,载脂蛋白 C Ⅱ和载脂蛋白 C Ⅲ还可抑制肝脂酶的活性,两者均通过影响载脂蛋白 E 介导的含 TG 乳浊液与肝脂酶的结合起作用,其中载脂蛋白 C Ⅲ的抑制作用较强。

2.2 抑制肝脏脂蛋白受体对富含 TG 脂蛋白的摄取

80 年代的研究表明,载脂蛋白 C 可抑制肝脏对富含 TG 脂蛋白的摄取。进一步的研究发现,载脂蛋白 C iv 和载脂蛋白 C Ⅱ均能抑制载脂蛋白 E 介导的 β -VLDL 与 LDL 受体及 LDL 受体相关蛋白(LRP)的结合,且载脂蛋白 C iv 的抑制作用比载脂蛋白 C Ⅱ强,Weisgraber 等认为载脂蛋白 C iv 可能通过置换 β -VLDL 中的载脂蛋白 E 或掩盖、改变载脂蛋白 E 结构而抑制 β -VLDL 与受体的结合;载脂蛋白 C Ⅲ和载脂蛋白 C Ⅱ还能抑制载脂蛋白 B 介导的脂蛋白与 LDL 受体的结合,其中载脂蛋白 C Ⅲ可遮盖载脂蛋白 B 与受体结合的区域。载脂蛋白 C Ⅱ还能影响脂蛋白与 VLDL 受体和脂解刺激受体(lipolysis-stimulated receptor, LSR)的结合。载脂蛋白 C iv 可完全抑制脂蛋白与 VLDL 受体的结合,而载脂蛋白 C Ⅲ则特异地抑制 CM 和 VLDL 对脂解刺激受体的结合。

此外,载脂蛋白 C Ⅲ也可能通过载脂蛋白 C Ⅲ受体影响血浆 VLDL 的清除。早在 1988 年,本室张林华和刘秉文^[10]提出肝细胞膜上存在载脂蛋白 C Ⅲ受体的设想,并用大鼠肝细胞与¹²⁵I 载脂蛋白 C Ⅲ的结合实验得到证实;其后,方定志和刘秉文等^[11]证实人及小鼠肝细胞膜上存在载脂蛋白 C Ⅲ受体。载脂蛋白 C Ⅲ受体不同于已发现的脂蛋白受体,不依赖于 Ca^{2+} ,不受 EDTA 抑制,对胰蛋白酶敏感。研究发现,载脂蛋白 C Ⅲ受体活性增高的同时,肝脏结合 VLDL 的活性降低。因而推测,当 VLDL 中的载脂蛋白 C Ⅲ与肝细胞膜上的载脂蛋白 C Ⅲ受体结合后,可使肝细胞膜上清除 VLDL 的受体功能发生改变,识别结合 VLDL 的作用下降或/和内在化减少,引起血浆 VLDL 清除减少。

2.3 参与调节卵磷脂胆固醇酰基转移酶和胆固醇酯转移蛋白的活性

卵磷脂胆固醇酰基转移酶是参与血浆脂蛋白代谢的关键酶之一,在血浆胆固醇及其酯水平的调节中具重要的作用,其活性亦受到载脂蛋白 C 的影响。载脂蛋白 A iv 是卵磷脂胆固醇酰基转移酶最强的激活剂,载脂蛋白 C iv 亦可激活卵磷脂胆固醇酰基转移酶,激活能力约为载脂蛋白 A iv 的 78%;而载脂蛋白 C Ⅱ和载脂蛋白 C Ⅲ则能抑制卵磷脂胆固醇酰基转移酶的活性。研究表明,载脂蛋白 C iv 可抑制胆固醇酯转移蛋白的活性。对一血浆 HDL 胆固醇浓度高的狒狒家族进行研究发现,其胆固醇酯由 HDL 向 LDL 的转移可被一 4 kDa 的多肽抑制,其氨基酸序列与载脂蛋白 C iv N-末端的序列相同。体外实验表明,按载脂蛋白 C iv N-末端的 38 个氨基酸序列合成的多肽亦能抑制胆固醇酯转移蛋白的活性。此 4 kDa 多肽还能分别与 HDL 载脂蛋白 A iv 和 VLDL 载脂蛋白 E 结合,尽管结合程度较低,但仍可能影响这两种载脂蛋白的功能。可以设想载脂蛋白 C iv N 端与 HDL 表面的载脂蛋白 A iv 以及 VLDL 载脂蛋白 E 之间的结合可能阻止胆固醇酯转移蛋白与这两种底物脂蛋白的结合,从而抑制 CE 在二者之间的转移。

有关载脂蛋白 C Ⅱ和载脂蛋白 C Ⅲ对胆固醇酯转移蛋白活性影响的报道很少。Spark 和 Pritchard 利用重组 HDL 颗粒作了初步研究,表明载脂蛋白 C Ⅲ可刺激胆固醇酯转移蛋白活性。

3 人载脂蛋白 C 基因缺陷及基因多态性

3.1 人载脂蛋白 C 基因缺陷与脂蛋白代谢异常的关系

迄今仅有一例报道表明家族性乳糜血症患者存在载脂蛋白 C iv 基因缺陷。但这些患者亦同时存在载脂蛋白 C Ⅱ基因缺陷,因而其血 CM 的升高可能是载脂蛋白 C Ⅱ基因缺陷使脂蛋白脂酶活性降低所致。值得注意的是,同时存在载脂蛋白 C iv/载脂蛋白 C Ⅱ缺陷的病人,其胆固醇酯水平显著下降,HDL 胆固醇酯下降尤为明显。提示 HDL 载脂蛋白 C iv 的缺陷可能影响卵磷脂胆固醇酰基转移酶的活性,从而使胆固醇酯化减少。

载脂蛋白 C Ⅱ基因缺陷病人的血浆脂蛋白脂酶活性明显降低,TG 水平极度升高。迄今进行基因测序的载脂蛋白 C Ⅱ缺乏症共有 11 个家系,其基因突变多发生在第 3 和第 2 外显

子,可分为下列5种类型:(1)移码突变:在7个家系中均发现,载脂蛋白C_{II}基因中单一碱基的缺失导致终止密码提前出现,使得载脂蛋白C_{II}蛋白在未成熟前合成停止,因而形成截短的载脂蛋白C_{II}不能被分泌入血或被迅速清除。(2)剪接供体位点突变:在一Hamburg家族和东京一日本新生儿病人中(分别为载脂蛋白C_{II}Hamburg和载脂蛋白C_{II}Tokyo)发现,载脂蛋白C_{II}基因内含子2的首位碱基突变,导致载脂蛋白C_{II}mRNA的非正常剪切,最终导致体内缺乏载脂蛋白C_{II}。(3)启动信号突变:该类突变发生在启动信号AUG(A⁺G),使得载脂蛋白C_{II}基因不能正常转录为载脂蛋白C_{II}mRNA。(4)无义突变和(5)误义突变,在载脂蛋白C_{II}基因突变体中还发现了一系列的单个氨基酸发生替换,它们往往是由上述2种突变所引起,导致载脂蛋白C_{II}的合成不能正常启动,或产生无功能的载脂蛋白C_{II}。

本室及国内外研究表明血浆载脂蛋白C_{III}水平升高可引起高TG血症,血浆载脂蛋白C_{III}水平与血浆TG及VLDL-TG水平呈正相关。VLDL等电聚焦电泳发现载脂蛋白C_{III}有5个基因突变体。其中一为过度唾液酸化,而另一为74位Thr⁺Ala突变,使载脂蛋白C_{III}不能唾液酸化。这两种突变体的携带者血中脂质水平正常,表明载脂蛋白C_{III}74位唾液酸化的程度对血浆脂蛋白代谢无影响。另三个突变体均在载脂蛋白C_{III}N-端和C-端发生氨基酸替换。

Lys⁺Glu突变与血浆中载脂蛋白C_{III}浓度降低有关。在一土耳其病人中发现Asp45⁺Asn突变,该病人曾接受过冠状动脉搭桥术。在一墨西哥裔男孩中发现载脂蛋白C_{III}Gln38⁺Lys突变,该家族中的16人均均为杂合子,血浆TG水平均有一定程度升高。有研究报道,在载脂蛋白C_{III}完全缺失的家族中,早发冠心病的发生率相应升高。但上述所有病例均同时存在载脂蛋白A_{IV}和载脂蛋白C_{III}缺陷,因而很难估计载脂蛋白C_{III}缺陷在引起脂蛋白水平发生改变的过程中所起的确切作用。

3.2 载脂蛋白C基因多态性与脂蛋白代谢异常的关系

载脂蛋白C_{IV}基因启动子上有一Hpa I RFLP,位于载脂蛋白C_{IV}基因转录起始位点5端的317 bp。研究表明,携带有Hpa I位点的启动子与肝脏调控元件结合,可使载脂蛋白C_{IV}基因表达水平升高。提示在特定的条件下,Hpa I启动子变异可导致血浆载脂蛋白C_{IV}水平升高,富含TG脂蛋白清除受阻,促进高脂血症的形成。在非洲裔美国人群中,载脂蛋白C_{IV}Hpa I等位基因和与其相连的载脂蛋白E基因之间存在种族特异性的连锁不平衡,载脂蛋白C_{IV}Hpa I+ (H2)序列可使载脂蛋白C_{IV}基因与一反式作用转录因子的结合降低,亦导致载脂蛋白C_{IV}的过度表达^[12]。

载脂蛋白C_{III}基因外显子4的非编码区有一Sst I RFLP,其变异并不影响载脂蛋白C_{III}的氨基酸序列,但在许多人群中均发现,载脂蛋白C_{III}基因Sst I RFLP的小片段等位基因S2与高TG血症相关,因而推测其可能与载脂蛋白C_{III}基因或其附近的功能序列存在连锁不平衡,使载脂蛋白C_{III}基因表达受到影响,从而调节血浆TG水平。最近Esterbauer H等^[13]发现不同S2等位基因携带者的载脂蛋白C_{III}mRNA丰度均高于野

生型。还有研究发现,载脂蛋白C_{III}基因外显子3上的C1100⁺T多态性与家族性复合型高脂血症先证者中血浆VLDL和LDL浓度增加有关。载脂蛋白C_{III}基因启动子的胰岛素反应元件(IRE)中也发现两个RFLP,即T-455C的Fok I RFLP和G-482T的Msp I RFLP,但它们与血脂变化并不相关^[14]。然而在法国北部一人群中,携带T-455C的Fok I RFLP和G-482T的Msp I RFLP的妇女,其血浆TG水平升高^[15]。载脂蛋白A_{IV}/C_{III}A_{III}基因簇内的其它RFLP,如Xmn I和Msp I等,与脂蛋白代谢异常亦有关联。研究表明,位于载脂蛋白A_{IV}基因5'端起始位点的Xmn I RFLP和Msp I RFLP,与载脂蛋白C_{III}基因的Sst I RFLP有协同作用。三者的小片段等位基因出现频率增加,与血浆TC、TG、LDL-C、载脂蛋白B₁₀₀和载脂蛋白C_{III}水平的升高均有关。

4 载脂蛋白Cs的转基因及基因敲除

体内脂蛋白代谢非常复杂,可被多种基因和环境因子所影响。为在严格控制的基因背景和环境条件下研究各种载脂蛋白Cs在体内脂蛋白代谢中的功能,近年来一些实验室利用转基因和基因敲除技术,建立了各种缺乏或过度表达人载脂蛋白C基因的小鼠模型。

4.1 转人载脂蛋白C_{IV}基因小鼠模型及敲除载脂蛋白C_{IV}基因小鼠模型

转载脂蛋白C_{IV}基因鼠是利用含人载脂蛋白C_{IV}基因的DNA片段建立的。这些DNA片段长度各异,但均包含长154 bp的肝脏调控域,肝脏调控域可直接调控人载脂蛋白C_{IV}基因在肝脏的表达。用标记VLDL进行体内清除实验发现,与野生型小鼠相比,患高脂血症的转人载脂蛋白C_{IV}基因小鼠的血浆VLDL-TG和VLDL载脂蛋白B的清除率显著降低,但两者的VLDL-TG合成率相同,体内脂解过程也相似;在体外,两者的VLDL与肝素-葡聚糖的结合能力相同,脂蛋白脂酶对它们的水解亦无明显差别。提示转载脂蛋白C_{IV}基因小鼠中血浆TG水平升高主要是由于肝脏对VLDL的清除降低,而非VLDL的合成率增加或脂解作用被抑制所致^[16]。过度表达载脂蛋白C_{IV}的敲除LDL受体小鼠的血浆胆固醇和TG水平明显高于敲除LDL-R小鼠,提示载脂蛋白C_{IV}可能抑制了某一脂蛋白清除途径。过度表达受体结合蛋白(receptor associated protein, RAP)的LDLR^{-/-}小鼠血清胆固醇和TG水平大幅度升高,但POC_{IV}/LDLR^{-/-}双敲除小鼠的血清脂质水平并无变化,提示过度表达的RAP和载脂蛋白C_{IV}可能作用于相同的途径来抑制肝脏清除VLDL残粒。研究发现RAP的过度表达可使LRP的作用受阻,因而推测载脂蛋白C_{IV}亦通过作用于LRP来抑制肝脏对脂蛋白的摄取。体外研究亦发现,载脂蛋白C_{IV}可明显抑制VLDL与LRP的结合,且在C类脂蛋白中,它的抑制作用最强^[17]。

载脂蛋白C_{IV}是卵磷脂胆固醇酰基转移酶的一个有效激活剂。有学者认为,转人载脂蛋白C_{IV}基因小鼠中,卵磷脂胆固醇酰基转移酶活性增强可导致血浆胆固醇酯水平升高,但目前在这一问题上还有争议。在过度表达人卵磷脂胆固醇酰基转移酶的转基因小鼠中确实发现,卵磷脂胆固醇酰基转移

酶活性增强导致血浆 HDL 胆固醇酯水平升高。但在转人载脂蛋白 C iv 基因小鼠中,其游离胆固醇/总胆固醇之比并无改变,HDL 胆固醇酯的水平也未见明显升高^[16]。除高脂血症外,转人载脂蛋白 C iv 基因小鼠中还存在血浆游离脂肪酸水平升高,表皮增生和角化,皮脂腺萎缩,皮下脂肪缺乏等异常。提示载脂蛋白 C iv 在表皮脂质合成及脂肪组织形成过程中亦有作用。

由于过度表达载脂蛋白 C iv 的转基因小鼠可引起高脂血症,因而推测敲除载脂蛋白 C iv 基因小鼠可引起低脂血症。但令人惊奇的是,正常饮食的敲除载脂蛋白 C iv 基因小鼠,其血浆脂质水平正常,只有食用高脂肪和高胆固醇饮食的敲除载脂蛋白 C iv 小鼠才会形成高胆固醇血症。VLDL 和 LDL 可竞争结合 LDL 受体,但体外结合实验表明,缺乏载脂蛋白 C iv 的 VLDL 竞争能力很弱,这可能是导致敲除载脂蛋白 C iv 小鼠肝脏对 VLDL 的摄取能力下降的重要原因。

总的说来,转人载脂蛋白 C iv 基因小鼠中,载脂蛋白 C iv 的过度表达可显著抑制肝脏对 VLDL 的摄取,而内源性载脂蛋白 C iv 的缺失亦有同样的作用,但后者的抑制程度较轻。载脂蛋白 C iv 可能通过直接作用于肝脏脂蛋白受体,降低其对 VLDL 的摄取能力;亦可能通过取代 VLDL 中的载脂蛋白 E,而间接抑制肝脏对 VLDL 的摄取^[16]。但另据报道,体内含载脂蛋白 A iv 和载脂蛋白 A iI 的 VLDL 含量增加,可抑制肝脏受体摄取缺乏载脂蛋白 C iv 的 VLDL。

4.2 转人载脂蛋白 C Ⅱ基因小鼠

转人载脂蛋白 C Ⅱ基因小鼠是用含与细胞色素 P450 CYP1A1 启动子相连的人载脂蛋白 C Ⅱ基因的质粒产生。在胚胎期该启动子一般是静止的,服用 β -naphthoflavone 可诱导该转基因的表达。转人载脂蛋白 C Ⅱ基因小鼠血浆富含 VLDL,且 VLDL TG 清除受阻,形成高 TG 血症,但其血浆 TC 水平并未见明显升高,因而推测高浓度的载脂蛋白 C Ⅱ可能抑制脂蛋白脂酶对 VLDL 的水解。体外研究发现,转人载脂蛋白 C Ⅱ基因小鼠的 VLDL 与肝素-葡聚糖的结合能力下降,表明它们可能与脂蛋白脂酶的亲和力降低。载脂蛋白 C Ⅱ是脂蛋白脂酶的生理激活剂,但如果 VLDL 含过多载脂蛋白 C Ⅱ反而可抑制脂蛋白脂酶活性,从而抑制 VLDL 的降解^[18]。我们发现 IV 型高脂血症患者,在血清 VLDL 及 TG 升高的同时,不仅载脂蛋白 C Ⅱ水平成倍增加,而且载脂蛋白 C Ⅱ亦显著增加,后者亦是导致患者 VLDL 及 TG 升高的重要原因。

4.3 过度表达或缺乏载脂蛋白 C Ⅱ的转基因小鼠模型

Ito Y 等^[19]和 de Silva HV 等^[20]分别利用含人和小鼠载脂蛋白 C Ⅱ基因的 DNA 片段建立了转人及小鼠载脂蛋白 C Ⅱ基因小鼠。这两种小鼠的肝脏和小肠均可高水平表达人及小鼠载脂蛋白 C Ⅱ mRNA,同时血浆 VLDL-TG 水平显著升高,载脂蛋白 E/载脂蛋白 C Ⅱ的比值降低,导致 VLDL-TG 的清除受阻,引起高 TG 血症。若转人载脂蛋白 C Ⅱ基因小鼠与转人载脂蛋白 E 基因小鼠交叉繁殖,则其子代血浆 TG 水平趋于正常,因而推测载脂蛋白 C Ⅱ转基因小鼠中 VLDL-TG 的清除受阻,可能是过量载脂蛋白 C Ⅱ取代了 VLDL 中载脂蛋白 E 所致。也有学者认为,转人载脂蛋白 C Ⅱ基因小鼠中,过量载脂蛋白

C Ⅱ可直接引发高 TG 血症,而非通过取代载脂蛋白 E 所致。敲除载脂蛋白 E 小鼠血浆中存在含胆固醇酯较多而 TG 较少的 VLDL,当这种小鼠与转人载脂蛋白 C Ⅱ基因小鼠交叉繁殖后,其后代血浆中 VLDL-TG 显著升高,表明过量载脂蛋白 C Ⅱ可引起高 TG 血症。

目前大多数研究认为,过量表达的载脂蛋白 C Ⅱ能抑制 VLDL-TG 的水解,导致人载脂蛋白 C Ⅱ转基因小鼠产生高 TG 血症。主要表现在:(1)转人载脂蛋白 C Ⅱ基因小鼠中,富含 TG/VLDL 颗粒体积明显增大,在体内滞留时间延长;(2)从转人载脂蛋白 C Ⅱ基因小鼠中分离的 VLDL,与肝素-葡聚糖的结合能力降低,表明富含载脂蛋白 C Ⅱ的 VLDL 与脂蛋白脂酶的亲和力下降;(3)敲除载脂蛋白 C Ⅱ小鼠进食后并不出现高 TG 血症;且与对照组小鼠相比,其血浆脂质水平降低;(4)过量载脂蛋白 C Ⅱ还可抑制 VLDL 与 LDL 受体的结合,肝脏对 VLDL 的摄取减少。

4.4 转人载脂蛋白 C Ⅲ基因小鼠

转人载脂蛋白 C Ⅲ基因小鼠是利用含人载脂蛋白 C Ⅲ cDNA \ 肝脏调控域元件 \ 人载脂蛋白 E 基因启动子的质粒建立的,其中肝脏调控域元件受人载脂蛋白 E 基因启动子的调控。转人载脂蛋白 C Ⅲ基因小鼠血浆载脂蛋白 C Ⅲ含量显著升高,同时 VLDL-TG 水平显著升高,引起高 TG 血症,但胆固醇水平无改变。载脂蛋白 C Ⅲ可能也是通过抑制 VLDL 的水解而影响 VLDL TG 的清除,这与载脂蛋白 C Ⅱ和载脂蛋白 C Ⅳ对 VLDL 的作用相似^[21]。

5 小结

载脂蛋白 Cs 各亚类均参与脂蛋白代谢的调节,尤其在调节血浆富含 TG 脂蛋白的分解代谢中起重要作用。它们的含量或结构异常将抑制富含 TG 脂蛋白的水解,或影响肝脏受体对富含 TG 脂蛋白的摄取,引起血浆 TG 水平升高,导致人高 TG 血症的形成。载脂蛋白 Cs 还可能通过影响卵磷脂胆固醇酰基转移酶和胆固醇酯转移蛋白的活性,参与胆固醇逆向转运的调节。总之,载脂蛋白 Cs 各亚类对脂蛋白的主要代谢途径均有各自独特的影响,它们在脂蛋白代谢以及高 TG 血症发生中具有重要作用,值得进一步研究。

[参考文献]

- [1] Lauer S, Walker D, Elshourbagy NA, et al. Two copies of the human apolipoprotein C iv gene are linked closely to the apolipoprotein E gene. *J Biol Chem*, 1988, **263**: 7 277-286
- [2] Allan CM, Walker D, Segrest JP, et al. Identification and characterization of a new human gene (APOC4) in the apolipoprotein E, C iv, and C gene locus. *Genomics*, 1995, **28**: 291-300
- [3] Allan CM, Walker D, Taylor JM. Evolutionary duplication of a hepatic control region in the human apolipoprotein E locus. *J Biol Chem*, 1995, **270**: 26 278-281
- [4] Le Beyec J, Chaffeton V, Kan HY, et al. The -700/-310 fragment of the apolipoprotein A Ⅱ gene combined with the -890/-500 apolipoprotein C Ⅱ enhancer is sufficient to direct a pattern of gene expression similar to that for the endogenous apolipoprotein A Ⅱ gene. *J Biol Chem*, 1999, **274** (8): 4 954-961
- [5] Ribalta J, Girona J, Vallve JC, et al. Vitamin A is linked to the expression of the AFC ⅡA Ⅱ gene cluster in familial combined hyperlipidemia. *J Lipid Res*, 1999, **40** (3): 426-431
- [6] Schuller E, Patel N, Item C, et al. The genetic background modifies the effects

- of the obesity mutation, 'fatty', on apolipoprotein gene regulation in rat liver. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 2000, **24**(4): 460-467
- [7] Zhang L-H, Kotite L, Havel RJ. Identification, characterization, cloning and expression of apolipoprotein C_{IV} a novel sialoglycoprotein of rabbit plasma lipoproteins. *J Biol Chem*, 1996, **271**: 1 776-783
- [8] Jong MC, Hofker MH, Havekes LM. Role of apo Cs in lipoprotein metabolism: Functional differences between apoC1, apoC2, and apoC3. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, **19**: 472-484
- [9] Yamamoto M, Katoh N, Oilawa S. Evaluation of serum apolipoprotein C_{III} concentration by enzyme-linked immunosorbent assay and its higher concentration in cows during midlactation then during the nonlactating stage. *Am J Vet Res*, 1998, **59** (11): 1 358-363
- [10] 张林华, 刘秉文. 大鼠肝非实质细胞载脂蛋白 C_{III} 结合位点(受体)的研究. 华西医科大学学报, 1992, **23** (3): 233-236
- [11] Fang DZ, Liu BW. Apolipoprotein C_{III} can specially bind to hepatic plasma membranes. *Mol Cell Biochem*, 2000, **207** (1): 57-64
- [12] Xu Y, Berglund L, Ramakrishnan R, et al. A common Hpa I RFLP of apolipoprotein C_{IV} increases gene transcription and exhibits an ethnically distinct pattern of linkage disequilibrium with the alleles of apolipoprotein E. *J Lipid Res*, 1999, **40** (1): 50-58
- [13] Esterbauer H, Hell E, Krempler F, et al. Allele-specific differences in apolipoprotein C_{III} mRNA expression in human liver. *Clin Chem*, 1999, **45** (3): 331-339
- [14] Groenendijk M, Cantor RM, Blom NH, et al. Association of plasma lipids and apolipoproteins with the insulin response element in the apo C_{III} promoter region in familial combined hyperlipidemia. *J Lipid Res*, 1999, **40** (6): 1 036-044
- [15] Dallongeville J, Meirhaeghe A, Cottel D, et al. Gender related association between genetic variations of apo C_{III} gene and lipid and lipoprotein variables in northern France. *Atherosclerosis*, 2000, **150** (1): 149-157
- [16] Jong MC, Dahlmans VEH, van Gorp PJJ, et al. In the absence of the low density lipoprotein receptor, human apolipoprotein C1 overexpression in transgenic mice inhibits the hepatic uptake of very low density lipoproteins via a receptor-associated protein-sensitive pathway. *J Clin Invest*, 1996, **98**: 2 259-267
- [17] Swaney JB, Weisgraber KH. Effects of apolipoprotein C_{IV} peptides on the apolipoprotein E content and receptor-binding properties of -migrating very low density lipoproteins. *J Lipid Res*, 1994, **35**: 134-142
- [18] Shachter NS, Hayek T, Leff T, et al. Overexpression of apolipoprotein C_{III} causes hypertriglyceridemia in transgenic mice. *J Clin Invest*, 1994, **93**: 1 683-690
- [19] Ito Y, Azrolan N, O'Connell A, et al. Hypertriglyceridemia as a result of human apo C_{III} gene expression in transgenic mice. *Science*, 1990, **249**: 790-793
- [20] de Silva HV, Lauer SJ, Wang J, et al. Overexpression of human apolipoprotein C_{III} in transgenic mice results in an accumulation of apolipoprotein B48 remnants that is corrected by excess apolipoprotein E. *J Biol Chem*, 1994, **269**: 2 324-335
- [21] Allan CM, Taylor JM. Expression of a novel human apolipoprotein (apo C_{III}) causes hypertriglyceridemia in transgenic mice. *J Lipid Res*, 1996, **37**: 1 510-518
- (此文编辑 胡必利)