

ATP 结合盒转运子调节细胞内胆固醇流出 及对动脉粥样硬化的影响

许竹梅 综述, 赵水平 审校

(中南大学湘雅第二医院心内科, 湖南省长沙市 410011)

[主题词] ATP 结合盒转运子; 胆固醇逆转运; 高密度脂蛋白

[摘要] ATP 结合盒转运子是细胞内胆固醇流出至贫脂或无脂的高密度脂蛋白前体载脂蛋白 A_{iv}的调节子, 在高密度脂蛋白合成和胆固醇逆转运过程中起重要作用, ATP 结合盒转运子基因表达受核受体的高度调节。通过对 ATP 结合盒转运子调节, 增加高密度脂蛋白浓度和胆固醇的逆转运, 为预防和治疗动脉粥样硬化提供新思路和新方法。

[中图分类号] R541.4

[文献标识码] A

巨噬细胞的脂质代谢在动脉粥样硬化的形成中起关键作用, 巨噬细胞通过低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 受体途径摄取血浆和间质液中氧化型 LDL (oxidized LDL, ox-LDL) 中的胆固醇, 巨噬细胞本身并不能以降解的方式清除或流出细胞中过剩的胆固醇。细胞胆固醇必须通过胆固醇逆向转运 (reverse cholesterol transport, RCT) 转运至肝脏进行代谢, RCT 是指高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein, HDL) 转运外周细胞中过剩的胆固醇至肝脏或固醇代谢器官的过程。RCT 促使巨噬细胞内胆固醇的流出, 因而阻断巨噬细胞转化为泡沫细胞, 是 HDL 抗动脉粥样硬化的最主要的机制之一。许多研究证实 ATP 结合盒转运子 (ATP binding cassette transporter A1, ABCA1) 是细胞内胆固醇流出至贫脂或无脂的 HDL 前体载脂蛋白 A_{iv}的调节子, 在 HDL 合成和 RCT 过程中起重要作用, ABCA1 基因表达受核受体的高度调节, 因此寻找调节 ABCA1 表达的新药物将为动脉粥样硬化的防治提供新方法。

1 ATP 结合盒转运子的发现

Tangier 病 (TD) 是一种罕见的常染色体隐性遗传性疾病, 目前全世界共发现 40 多例病人, 临床表现为桔色样扁桃体肿大、肝脾肿大、外周神经病和早发心血管疾病, HDLC 浓度异常低下 ($< 0.2 \text{ mmol/L}$), 外周细胞胆固醇异常沉积。Gordon 等发现 TD 患者细胞内胆固醇和磷脂转运至载脂蛋白 A_{iv}能力下降, 载脂蛋白 A_{iv}不能与外周细胞的高亲和结合位点结合, 因而含载脂蛋白 A_{iv}的新生 HDL 不能转化为成熟的 HDL, 新生 HDL 在血中迅速降解, 导致血 HDL 异常低下, 胆固醇在外周细胞异常沉积。1999 年文献 [1~3] 同时报道 Tangier 病的原因是 ABCA1 基因缺陷, ABCA1 (曾称为 ABC1) 基因编码细胞内胆固醇流出调节蛋白 (cholesterol efflux regulatory protein, CERP), 它决定细胞内胆固醇流出和 HDL 合成

的速度; ABCA1 基因缺陷的杂合子患者血 HDL 为正常人的 一半, 胆固醇从成纤维细胞流出至载脂蛋白 A_{iv}的速度也为正常成纤维细胞 1/2, 而经 ABCA1 基因转染的细胞胆固醇流出速度增加。家族性 HDL 缺乏是一种较 TD 常见的常染色体显性遗传性疾病, 也是由于 ABCA1 基因缺陷所致, 同样存在外周细胞转运胆固醇功能障碍^[4]。有关 Tangier 病和家族性 HDL 缺乏症基因缺陷的研究使人们认识到 ABCA1 在脂质代谢中起重要作用, ABCA1 是调节和决定 HDL 浓度的一个重要因素。当 ABCA1 途径缺陷时, 细胞内胆固醇和磷脂不能转运至贫脂或无脂的载脂蛋白 A_{iv}, 导致新合成的载脂蛋白 A_{iv}迅速降解, HDL 浓度低下, 外周细胞胆固醇严重沉积, 促进动脉粥样硬化的发展。

2 ATP 结合盒转运子的结构

ATP 结合盒转运子属于 ABC 超家族成员, ABC 基因能编码多种结构相似的跨膜转运蛋白, 介导许多作用底物的跨膜转运, 如氨基酸、离子、蛋白质、磷脂和药物^[5]。ABCA1 蛋白与 ATP 结合并使之水解, 提供能量促使 ABCA1 的作用底物胆固醇和磷脂的跨膜转运至载脂蛋白 A_{iv}, 这是 HDL 合成和胆固醇逆转运的关键性第一步, 能转运外周细胞中过剩的胆固醇至肝脏。

ATP 结合盒转运子基因位于 9q31, 主要在肝细胞、巨噬细胞、小肠和胎盘组织中表达。人类完整 ABCA1 基因序列包含 1 453 bp 启动子、146 581 bp 内含子和外显子以及 1 kb 3' 空白区, ABCA1 片段长度 149 kb, 包含 50 个外显子和 49 个内含子。转录起始位点位于蛋氨酸密码子上游 315 bp, 编码 6 783 bp 开放阅读框架, 因此, ABCA1 蛋白质由 2 261 个氨基酸组成。转录起始位点上游 1 453 bp 是调节脂肪代谢转录因子的结合位点^[7]。

ATP 结合盒转运子是完整的 ABC 转运子, 包含 2 个高度保守的细胞浆 ATP 结合盒和 2 个跨膜结构域, 每个跨膜域由 6 个跨膜片段构成, 其跨膜片段构成浆膜内液性通道壁, 连通细胞外和浆膜内脂相, 但与细胞质不相通, ABCA1 作用底

[收稿日期] 2002-04-08

[修回日期] 2002-09-20

[作者简介] 许竹梅, 女, 1967 年出生, 湖南洞口人, 在职博士, 主治医师, 主要研究方向为血脂与动脉粥样硬化。

物如胆固醇和磷脂通过该通道转运。除 ABCA1 外, 还有其他的 ABC 转运子, ABC8 (ABCG1) 可能与巨噬细胞流出胆固醇有关, 由于它仅有 1 个 ATP 结合盒和 1 个跨膜结构域, 需要另外一个转运子才能发挥作用, 又称为半转运子^[8]。

3 ATP 结合盒转运子调节细胞胆固醇流出

ATP 结合盒转运子转运子在外周细胞内胆固醇流出中起关键作用, 介导细胞内胆固醇和磷脂至无脂或贫脂载脂蛋白上, 是胆固醇逆转运的关键性第一步, 使血中 HDLC 浓度增加, 阻止巨噬细胞转化为泡沫细胞, 因而人们推测上调 ABCA1 能阻断动脉粥样硬化的发生发展, 因此人们近年来试图寻找上调 ABCA1 的方法, 从而防治动脉粥样硬化。目前

最引人瞩目的上调 ABCA1 的方法是增加 ABCA1 基因的转录。有研究表明在肝细胞和巨噬细胞上过度表达人类 ABCA1 基因的转基因鼠其血浆 HDLC 和载脂蛋白 A 增加, 且载脂蛋白 A 介导的巨噬细胞内胆固醇流出增加, 胆固醇的逆转运增加^[9]。Oram 等^[10] 研究发现 cAMP 类似物可以增加 ABCA1 mRNA 和蛋白质, 同时经载脂蛋白 AI 介导的巨噬细胞内胆固醇和磷脂流出增加, 但其作用机制不详。细胞内胆固醇促进 ABCA1 表达主要是通过 2 个核受体超家族成员 LXR/RXR 介导。肝 X 受体 (Liver X receptor, LXR) 和视黄酸 X 受体 (retinoid X receptor, RXR) 是细胞内转录因子, 当配体和它们结合后被激活, 启动靶基因, 促进靶基因的转录。核受体对 ABCA1 转录和细胞排出胆固醇的调节模式图见图 1。

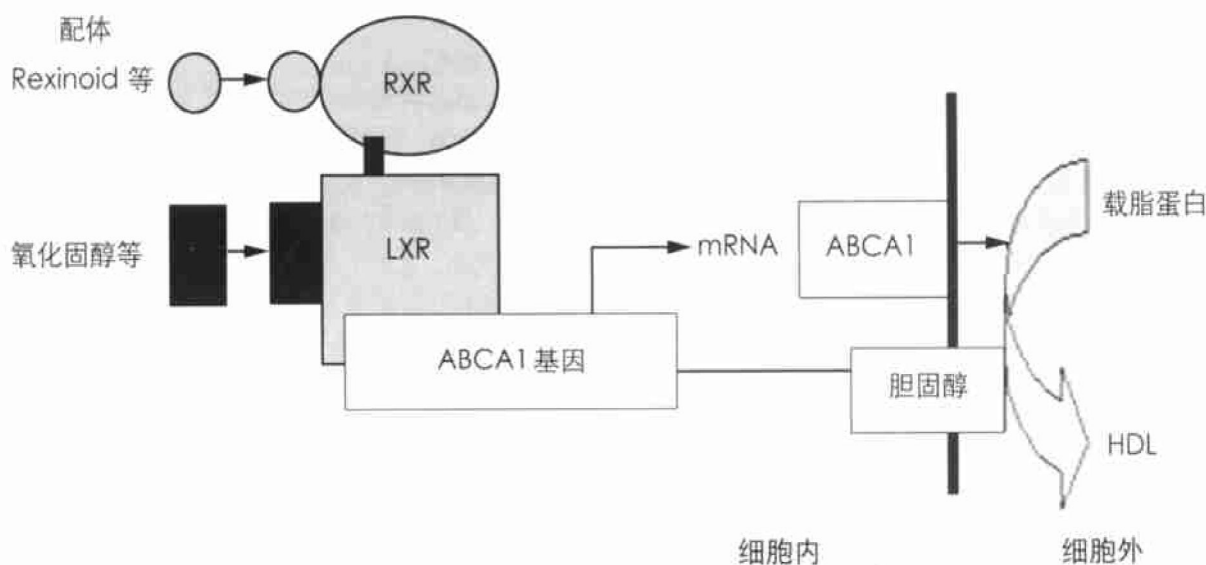


图 1. 核受体对 ATP 结合盒转运子转录和细胞流出胆固醇的调节。

目前发现这些受体的高亲和力配体和靶基因对脂肪和能量代谢起重要作用。LXR、过氧化物增殖体激活型受体 α (PPAR α)、过氧化物增殖体激活型受体 γ (PPAR γ) 和 FXR 均为核受体亚组, 这些核受体只有和另外一个核受体 RXR 形成二聚体时, 才能和基因启动子结合, 因此这些二聚体又称为“准许二聚体”, RXR 和其特异性配偶的配体均能启动靶基因的转录, 由于 RXR 的这种特性, 可通过 RXR 及其配偶的配体对多种靶基因进行调节。当 LXR 和 RXR 形成二聚体时, 结合至靶基因 (如 ABCA1) 启动子上的识别序列 (称为 DR-4 元件, DR-4 元件是由 4 个碱基对分隔的重复 TGACCA), 当它们的配体作用在受体的结合域时, 刺激靶基因转录, 位于转录起始位点附近的 RNA 聚合酶也被激活, 生成多种 mRNA 拷贝数^[11]。

高胆固醇饮食小鼠肝脏内生成的氧化固醇是核受体 LXR 的配体, 因而激活 LXR 可增加 7α 羟化酶的转录, 7α 羟化酶是胆固醇生成胆酸过程中的关键性限制酶, 因而促进胆酸分泌至小肠, 可减轻饮食所致的胆固醇超负荷。RXR 的配体可以同时激活 LXR/RXR 和 FXR/RXR 两条途径, FXR/RXR 活化后下调 7α 羟化酶, 减少胆酸的合成, 减少小肠中胆固醇

的溶解和吸收。RXR 配体对胆固醇的吸收产生双向作用, 但 RXR/FXR 作用较 RXR/LXR 的作用明显, 因此 RXR 配体的作用表现为抑制胆固醇的吸收。

最近的研究表明, RXR/LXR 二聚体调节细胞内胆固醇转运是通过上调 ABCA1 表达来实现的^[12,13]。22-羟基胆固醇和 9-顺式视黄醛分别是核受体 LXR 和 RXR 的配体, 它们能明显增加 ABCA1 转录, 更有意义的是它们同时能明显增加细胞内胆固醇外流至贫脂的载脂蛋白 AI, 提示这些核受体的配体可能增加胆固醇逆转运和 HDL 的合成。

Rexinoid 是一种合成的 RXR 高度特异性配体, 该受体不影响巨噬细胞内胆固醇浓度, 因而不影响 3β 羟基 3 -甲基戊二酸辅酶 A 还原酶的表达 (细胞内胆固醇增加时, 固醇调节元件调节蛋白信号途径可抑制 HMG-CoA 合成酶的表达), 因而避免了其他因素对血脂代谢的影响, Repa 等采用 LG26-8Rexinoid 配体 (或非固醇 LXR 配体, T090317) 加入细胞培养液中, 发现明显 Rexinoid 增加小肠和巨噬细胞 ABCA1 表达, 7 天后, 血浆 HDLC 浓度增加 50%。有研究提示人类 ABCA1 基因启动子上可能存在 RXR/LXR 结合域单元, 以上证据说明 ABCA1 基因是 LXR/RXR 的靶基因, 通过核受体 RXR/LXR

信号途径调节 ABCA1 基因的转录,促进细胞内胆固醇的流出,减少细胞内胆固醇的聚积,从而阻断泡沫细胞的形成,将可能成为防治动脉粥样硬化的新方法。

在影响 ABCA1 表达的同时,rexinoid 也阻断了饮食中胆固醇的吸收,其可能的机制为: Rexinoid 活化二聚体 RXR 和 FXR,FXR 活化后能明显减少 7α 羟化酶的转录, 7α 羟化酶是胆酸合成的限速酶,从而使胆酸合成减少,胆酸是小肠吸收胆固醇的必需物质,因而胆固醇的吸收减少。④Rexinoid 活化 RXR/LXR 二聚体,诱导小肠内皮细胞 ABCA1 的表达,小肠内皮细胞中胆固醇的流出增加,也抑制了胆固醇的吸收。

有研究表明选择性 PPAR δ 的配体 GW501516 也能够增加巨噬细胞、成纤维细胞和小肠细胞上 ABCA1 的表达,诱导载脂蛋白 A1 特异性胆固醇的外流,伴随剂量相关的血清 HDL 升高,小而致密 LDL、空腹甘油三酯和空腹胰岛素下降,提示 PPAR δ 的配体可能成为增加胆固醇逆向转运和降低心血管病的有效药物^[14]。

Clee 等^[15]对 ABCA1 基因缺陷的杂合子进行研究,他们发现 ABCA1 基因缺陷的杂合子患者 HDLC 浓度降低,与年龄相关,且发生冠心病的危险性增加,并且证实 HDLC 的下降、冠心病的危险性增加与细胞内胆固醇流出减少以及胆固醇逆转运途径受损有关,提示增加 ABCA1 的功能可以增加 HDL 水平和预防动脉粥样硬化。此外有研究发现人体动脉粥样硬化的组织中巨噬细胞 ABCA1 表达增加,可能为动脉粥样硬化组织中巨噬细胞对脂质超负荷的反应性增加所致^[16]。

4 展望

基于 ABCA1 在启动胆固醇逆转运过程的重要作用,目前已经证实 ABCA1 基因的变异可导致 HDLC 浓度降低,增加动脉粥样硬化的危险性,因此,需进一步在人群中明确人群中低 HDLC 患者 ABCA1 基因变异的频率,ABCA1 微效多态性对冠心病患者 HDLC 浓度的影响;此外,部分 ABCA1 基因缺陷 TD 病患者并不发生冠心病,所以有必要探讨 ABCA1 基因型和表型之间的关系以及与其它基因的相互作用。

[参考文献]

- [1] Brook-Wilson A, Marcil M, Clee SM, et al. Mutation in ABC1 in Tangier disease and familial high-density lipoprotein deficiency. *Nat Genet*, 1999, **22**: 336-346
- [2] Bodzioch M, Orso E, Klucken J, et al. The gene encoding ATP-binding cassette transporter 1 is mutated in Tangier disease. *Nat Genet*, 1999, **22**: 347-352
- [3] Rust S, Rosier M, Funke H, et al. Tangier disease is caused by mutations in gene encoding ATP binding cassette transporter 1. *Nat Genet*, 1999, **22**: 352-355
- [4] Marcil M, Brook-Wilson A, Clee SM, et al. Mutation in the ABC1 gene in familial HDL deficiency with defective cholesterol efflux. *Lancet*, 1999, **354**: 1341-1346
- [5] Higgins CF. Flip-flop: the transmembrane translocation of lipids. *Cell*, 1994, **79**: 393-395
- [6] Francis GA, Kaopp RH, Oram JF. Defective removal of cellular cholesterol and phospholipids by apolipoprotein A-1 in Tangier disease. *J Clin Invest*, 1995, **96**: 78-87
- [7] Santamarina-Fojo S, Peterson K, Knapper C, et al. Complete genomic sequence of human ABCA1 gene: Analysis of human and mouse ATP-binding cassette A promoter. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**: 7 987-992
- [8] Eckardstein AV, Nofer JR, Assmann G. High density lipoproteins and atherosclerosis role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, **21**: 13-27
- [9] Vaisman BL, Lambert G, Amar M, et al. ABCA1 overexpression leads to hyperalphalipoproteinemia and increased biliary cholesterol excretion in transgenic mice. *J Clin Invest*, 2001, **108**: 303-309
- [10] Oram JF, Lawn RM, Garvin MR, et al. ABCA1 is the camp-inducible apolipoprotein receptor that mediates cholesterol secretion from macrophages. *J Biol Chem*, 2000, **275**: 34 508-511
- [11] Wade DP, Owen JS. Regulation of the cholesterol efflux gene, ABCA1. *Lancet*, 2001, **20** (357): 161-163
- [12] Venkateswaran A, Lafitte BA, Joseph SB, et al. Control of cellular cholesterol efflux by the nuclear oxysterol receptor LXRA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**: 12 097-102
- [13] Hepa JJ, Turley SD, Locaccaro JA, et al. Regulation of absorption and ABC1-mediated efflux of cholesterol by RXR heterodimers. *Science*, 2000, **289**: 1 524-529
- [14] Olive JWR, Shank JL, Snaith MR, et al. A selective peroxisome proliferator-activated receptor agonist promotes reverse cholesterol transport. *Proc Natl Acad Sci*, 2001, **98**: 5 306-311
- [15] Clee SM, Kastelein JJP, Dam MV, et al. Age and residual cholesterol efflux affect HDL cholesterol levels and coronary artery disease in ABCA1 heterozygotes. *J Clin Invest*, 2000, **106**: 1 263-270
- [16] Lawn RM, Wade DP, Couse TL, et al. Localization of human ATP-binding cassette transporter1(ABC1) in normal and atherosclerotic tissues. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, **21**: 378-385

(此文编辑 朱雯霞)