

# 人类肝脂肪酶的研究进展

严瑾<sup>1,2</sup>, 范春雷<sup>1</sup>综述, 沃兴德<sup>1</sup>审校

(1. 浙江中医学院分子医学研究所, 浙江省杭州市 310053;

2. 杭州师范学院医学院生物化学教研室, 浙江省杭州市 310012)

[关键词] 分子生物学; 肝脂肪酶的研究; 综述; 脂蛋白代谢; 基因变异

[摘要] 肝脂肪酶是由肝实质细胞合成的一种具有磷脂酶A1和甘油三酯水解酶活性, 对血浆脂质转运有重要作用的胞外蛋白, 主要参与高密度脂蛋白的重构和乳糜微粒残骸、低密度脂蛋白的代谢以及胆固醇的逆向转运。肝脂肪酶活力异常与动脉粥样硬化及糖尿病有较高的相关性。肝脂肪酶活力受激素及载脂蛋白的影响, 肝脂肪酶基因启动子的多态性及肝脂肪酶基因错义也影响酶的活力。

[中图分类号] Q7

[文献标识码] A

人类肝脂肪酶(hepatic lipase, HL)是由肝实质细胞合成参与脂蛋白代谢的关键酶, 是脂肪酶家族中的成员之一, 与脂蛋白脂肪酶(lipoprotein lipase, LPL)、胰脂肪酶具有同源性, 在血浆脂蛋白代谢中具有重要作用。肝脂肪酶活力异常可引起血浆脂蛋白代谢紊乱, 与高脂血症所致的冠心病及糖尿病等有较高的相关性。本文将从肝脂肪酶的结构、功能、基因多态性、基因变异及肝脂肪酶与某些疾病的关系等几方面作一介绍。

## 1 肝脂肪酶的结构及细胞定位

### 1.1 肝脂肪酶的基因结构

肝脂肪酶位于人染色体的15q21-q23, 全长约35 000 bp。在肝脂肪酶基因5'侧翼区的-29 bp和-349 bp处分别有TATA-框和TATA-框样的结构。AP-2、cAMP和OCT-1、C/EBP、雌激素、糖皮质激素、类固醇激素及甲状腺激素等的顺式反应元件均位于此基因的上游调节区, 提示这些序列可能在肝脂肪酶基因的表达过程中起转录调节作用<sup>[1]</sup>。

在转录起始点-398、-387、-188和-77 bp处有富含GC的结构, 并与SP-1保守序列5'-GGCCCCGGGC-3'部分同源, 还不清楚它们是否是真正的GC-box。有9个外显子及8个内含子, 内含子大多超过1 kb(除了内含子3), 均位于基因的编码区, 基因的5'和3'非翻译区和信号肽区无内含子。9个外显子编码1.5 kb的mRNA。外显子4是酶与底物一脂质的结合区, 外显子5与不同酶有高度同源的保守序列, 与编码催化功能的区域有关, 外显子6和9编码的氨基酸, 可与毛细血管内皮细胞表面肝素结合。在LPL基因上有类似结构和相同功能的外显子, 说明两者有共同的祖基因<sup>[2]</sup>。

与肝脂肪酶相近的脂肪酶还有LPL、胰脂肪酶、胰酶相关蛋白1、胰酶相关蛋白2和大黄蜂磷脂酶A1, 它们在进化上较为保守。与肝脂肪酶同源性最高的是LPL, 除了N端外, 其余均相同; 胰脂肪酶只有N端和C端有非同源性; 胰酶相关蛋白1和2中除了一个较大的片断, 也几乎与整个肝脂肪酶序列相同; 大黄蜂磷脂酶A1与肝脂肪酶的整个中心区域有同源性, 但C端结构域缺乏同源性, 因此该酶缺乏与底物脂蛋白结合的能力<sup>[3]</sup>。

### 1.2 肝脂肪酶的蛋白质结构及细胞定位

人及鼠cDNA克隆的DNA序列表明, 肝脂肪酶的cDNA编码476个氨基酸残基, 多肽链分子量为53 431 Da。肝脂肪酶的蛋白质尚未结晶成功, 因此没有X-衍射的三维空间结构, 但是已知N端一个5肽共有序列(甘-X-丝-X-甘)中含有活性丝氨酸Ser 32, 定点突变证明是催化位点, 而大多数脂质结合在羧基端。肝脂肪酶与肝素有较高的亲和力, 其结合功能区也在羧基端。Dugi等利用脂蛋白脂肪酶/肝脂肪酶嵌合酶发现, 与LPL相似, 肝脂肪酶有一22个氨基酸残基的环型结构域(Loop)像一盖子盖在肝脂肪酶活性位点上, 这一环型结构是结合脂质的, 直接决定了底物的特异性。在LPL这一环型结构首选甘油三酯, 在肝脂肪酶则大大增加对磷脂的水解。当底物与肝脂肪酶结合时盖子打开, 底物进入后与催化中心起作用。

肝脂肪酶是一种N-糖蛋白, 主要在肝脏合成, 首先在肝实质细胞的内质网里合成含有N-连接高甘露糖型的前体物质, 再转移至高尔基体分泌出成熟的有活性的肝脂肪酶。目前还发现在人及小鼠的巨噬细胞中也有肝脂肪酶mRNA, 并有肝脂肪酶的头合成。若发生点突变, 改变肝脂肪酶基因中编码连接糖链的氨基酸序列(天冬酰胺-X-丝氨酸)的碱基, 使突变基因表达的肝脂肪酶不能糖基化和分泌, 因此蛋白质的糖化及紧随的低聚糖化修饰对分泌有催化活性的肝脂肪酶极其重要。

免疫电镜研究表明, 肝脂肪酶分泌出来后与肝素硫酸蛋白多糖(heparan sulfate proteoglycans, HSPG)结合后特异定位于肝窦状隙内皮细胞表面。作为肝素受体的蛋白多糖, 肝素竞

[收稿日期] 2003-01-29 [修回日期] 2003-08-05

[基金项目] 国家自然科学基金(30070932)资助

[作者简介] 严瑾, 生于1966年3月, 浙江省杭州市人, 讲师, 硕士研究生, E-mail: vanjin65@hotmail.com。沃兴德, 生于1952年, 上海市人, 教授, 博士研究生导师, 主要从事“中医药降血脂抗动脉粥样硬化”和“脂与脂蛋白代谢”的研究。E-mail: woxdcm@21cn.com。范春雷, 生于1965年1月, 慈溪人, 副教授, 主要从事“细胞生物学与脂质代谢”的研究。

争性地结合到细胞表面的蛋白多糖分子后,肝脂肪酶被置换下来进入血液中,经血液循环分布在卵巢、肾上腺等产生类固醇激素的腺体。

用 Fu5AH 鼠肝细胞瘤研究肝素对肝脂肪酶的刺激作用发现,肝素首先影响肝脂肪酶在高尔基体浆膜上的滞留时间,使之缩短,而在细胞表面结合的及在细胞内的肝脂肪酶分别下降 70% 和 20%,同时减少肝脂肪酶的降解率,但肝脂肪酶的合成率并没有改变<sup>[4]</sup>。

## 2 肝脂肪酶在脂蛋白代谢中的作用

肝脂肪酶是脂蛋白代谢中重要关键酶之一,与 LPL 在功能上有相似之处,在性质上却与 LPL 不同:肝脂肪酶不需载脂蛋白 C<sup>②</sup>作为激活剂;④SDS 可抑制肝脂肪酶活性,且肝脂肪酶不受高盐及鱼精蛋白抑制;④肝脂肪酶的底物特异性不高,几乎能水解各类脂蛋白中的甘油三酯和磷脂、甘油二酯及甘油一酯;肝脂肪酶的羧基端对乳糜微粒残骸及中间密度脂蛋白(intermediate density lipoprotein, IDL)大于对其它脂蛋白的结合。

### 2.1 对高密度脂蛋白的代谢调节

高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)具有十分重要的抗动脉粥样硬化功能,血浆高密度脂蛋白胆固醇(HDL cholesterol, HDLC)水平高低与冠心病的发生呈负相关,HDLC 受多种因素的影响,其中肝脂肪酶活力异常是影响血浆 HDLC 水平的重要因素之一。肝脂肪酶协同磷脂转运蛋白选择性的分解 HDL<sub>2</sub>,水解其中的甘油三酯和磷脂,生成“前 $\beta$ -HDL”,这是一种含有“胆固醇-少量磷脂-载脂蛋白 A<sub>iv</sub>”的复合物。在接受细胞胆固醇的 HDL 组分中,“前 $\beta$ -HDL”是最有活性的;同时它也是肝脂肪酶的抑制剂,可反馈作用于肝脂肪酶,从而调节“前 $\beta$ -HDL”的生成<sup>[5]</sup>。“前 $\beta$ -HDL”很快在卵磷脂胆固醇酰基转移酶的催化下,颗粒表面的胆固醇/磷脂比值升高,有助于 HDL 释放游离胆固醇或胆固醇酯到肝细胞,使 HDL<sub>2</sub> 转变为 HDL<sub>3</sub>。HDL<sub>3</sub> 通过载脂蛋白 A<sub>iv</sub>与细胞受体作用被细胞内吞,摄取胞浆中胆固醇后以逆向胞饮方式释放到细胞外,使细胞内的胆固醇流出<sup>[6]</sup>。这样 HDL<sub>3</sub> 经血液循环不断从肝外组织及极低密度脂蛋白中获取胆固醇及其酯。HDL<sub>2</sub> 和 HDL<sub>3</sub> 在肝外组织与肝细胞之间的循环促使胆固醇的逆转运。因此 HDL 各亚类组分(HDL<sub>2</sub>、HDL<sub>3</sub>、前 $\beta$ -HDL)之间的动态平衡是肝脂肪酶和卵磷脂胆固醇酰基转移酶对 HDL 竞争的结果,这意味着肝脂肪酶部份决定 HDLC 水平并参与 HDL 逆转运胆固醇作用。

在卵巢中发现肝脂肪酶有促进胆固醇向类固醇激素的转变作用,在敲除肝脂肪酶基因(HL<sup>-/-</sup>)的小鼠中发现卵巢生成的孕酮含量下降,导致排卵减少。

越来越多的实验证明肝脂肪酶除了有脂解酶作用以外,还可作为配体介导脂蛋白与细胞表面的受体或蛋白多糖相互作用。如可作为配体调节 HDL 及含载脂蛋白 B 的脂蛋白中的胆固醇和磷脂,从而影响这些脂蛋白的大小和密度,促进 HDL 及含载脂蛋白 B 的脂蛋白残骸的摄取<sup>[7]</sup>。不同动物模型中,肝脂肪酶及 LPL 的这种配体介导途径均有调节脂蛋

白代谢及影响动脉硬化进展的作用。Lambert 等<sup>[8]</sup>发现肝脂肪酶能和清道夫受体 B1 结合促进 HDLC 的摄取,而且这种非脂解作用在无活性肝脂肪酶蛋白质中更能影响和 IDL 的含量。

### 2.2 对乳糜微粒残骸的作用

乳糜微粒、极低密度脂蛋白在被肝摄取之前要经两个酶水解,首先 LPL 水解乳糜微粒、极低密度脂蛋白中大部分的甘油三酯后形成乳糜微粒残骸,这些代谢剩余物是引起动脉硬化的重要原因;肝脂肪酶进一步作用于这些残骸,将乳糜微粒和极低密度脂蛋白残骸一起与肝细胞孵育后显示磷脂含量下降近一半,而甘油三酯几乎没有水解。说明肝脂肪酶有类似磷脂酶 A1 样的作用清除乳糜微粒残骸。但肝脂肪酶似乎不是通过脂解作用来吸收残骸的,而是作为乳糜微粒残骸的一个结合体,从而增加乳糜微粒残骸对肝细胞表面的亲和力,最终被低密度脂蛋白受体家族的成员识别而摄入肝细胞<sup>[9]</sup>。

### 2.3 肝脂肪酶决定低密度脂蛋白的大小和密度

低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)中以小颗粒致密 LDL 为主的称为 LDL-B 亚型,以较大 LDL 颗粒为主的称为 LDL-A 亚型。在卵磷脂胆固醇酰基转移酶的作用下,LDL 中的胆固醇酯与乳糜微粒、极低密度脂蛋白甘油三酯的交换,成为富含甘油三酯的密度小的 LDL(LDL-A 亚型)。肝脂肪酶作用于这类大 LDL 使之成为不含甘油三酯的 LDL(LDL-B 亚型)。但肝脂肪酶对 LDL 的重建不完全依赖卵磷脂胆固醇酰基转移酶的作用,缺乏卵磷脂胆固醇酰基转移酶的小鼠,肝脂肪酶基因剔除可明显损害极低密度脂蛋白(主要为 IDL)向 LDL 转化,并且 LDL 颗粒比野生型的密度更小。在肝脂肪酶缺乏的人群中也有类似的情况,即 IDL 向 LDL 转变受影响,且有 LDL-A 亚型。已经证实肝脂肪酶基因的-250G/A 与 LDL-A 亚型增高相关。临床上冠心病患者的动脉粥样硬化退化与 LDL 密度改变有很高的相关性,正是肝脂肪酶活力的改变引起 LDL 密度的改变所致<sup>[10]</sup>。

## 3 影响肝脂肪酶表达及活性的因素

### 3.1 营养条件对肝脂肪酶表达及活性的影响

幼鼠禁食时,虽然肝细胞内肝脂肪酶 mRNA 含量不变,但肝细胞内肝脂肪酶含量及酶活性下降,肝脂肪酶的分泌率也下降。而在急性反应期,脂代谢会有多重改变,包括高甘油三酯、高 LDL-甘油三酯和低 HDL。有报道,HepG2 细胞经内毒素脂多糖和白细胞介素 1 处理,肝脂肪酶 mRNA 水平明显下降,说明它们能调节肝脂肪酶在肝内的表达。在急性时相反初期这些变化可能对机体是有益的,但如果持续延长,则可能导致动脉硬化<sup>[11]</sup>。

### 3.2 激素对肝脂肪酶表达及活性的影响

虽然与 LPL 不同,肝脂肪酶无需肽类辅因子或激活物的激活,但其活性受许多激素的影响。雄激素对肝脂肪酶有上行性调节作用,使肝脂肪酶活性增高;而雌激素则对肝脂肪酶有下行性调节作用。肝脂肪酶缺乏的冠心病患者经康力龙治疗,证明类固醇激素刺激肝脂肪酶活性从而影响 HDL 代谢。雌激素可减少肝脂肪酶的合成。有证据表明,缺乏

17- $\beta$  雌二醇可导致绝经后妇女各种脂代谢紊乱,与易致动脉粥样硬化的血脂组分有相关性。绝经后妇女经雌激素治疗可改善脂代谢状况,其血浆总胆固醇、LDLC、载脂蛋白 B 明显下降,而 HDLC 和载脂蛋白 A1 显著升高<sup>[12]</sup>。雌激素对肝脂肪酶的作用机制可能是通过雌激素受体  $\alpha$  与肝脂肪酶启动子-1557/-1175 中的 AP-1 保守序列结合,抑制肝脂肪酶的转录<sup>[13]</sup>。

肾上腺皮质激素和儿茶酚胺均可以减少肝脂肪酶的表达。儿茶酚胺类影响肝脂肪酶的常规量的表达,使肝脂肪酶活性有较大幅度的生理改变。肾上腺素对肝脂肪酶的分泌有急性抑制作用,肾上腺素抑制肝脂肪酶前体物质向成熟肝脂肪酶的转变,并增加肝脂肪酶在细胞内的降解。

甲状旁腺素对肝脂肪酶也有影响。动物模型显示由于肾功能衰退引起的继发性高甲状旁腺病有肝脂肪酶代谢障碍,包括肝脂肪酶 mRNA 下调;酶的合成、活性、释放受损。对肾功能衰退动物实施甲状旁腺切除术,可防止上述代谢异常<sup>[14]</sup>。

肝脂肪酶活性还与胰岛素浓度呈正相关,在肥胖和胰岛素抗性的高胰岛素血症的肝素后血浆中,可见肝脂肪酶含量增高。男性口服葡萄糖负荷后,肝脂肪酶的活力与血浆胰岛素正相关,当血糖升高时,肝脂肪酶上游刺激因子在肝内表达增多,肝脂肪酶转录增加<sup>[15]</sup>。肝脂肪酶基因的纯合子-514 CC 型中肝脂肪酶随空腹胰岛素水平的增高而增高,但-514 T 型携带者中则无此现象。说明肝脂肪酶基因的碱基变异干扰了胰岛素反应<sup>[16]</sup>。

离体实验中生长素能增加肝素后血浆及肝细胞肝脂肪酶活性,且能部分增加 mRNA 的表达。虽然生长素可以恢复肝脂肪酶 mRNA 水平,但翻译后受抑制,肝脂肪酶 mRNA 和肝脂肪酶分泌不一致,但其机制尚不清楚<sup>[17]</sup>。甲状腺素也能调节肝脂肪酶及卵磷脂胆固醇酰基转移酶的活性,甲状腺功能减退的小鼠甲状腺素分泌的减少可使胆固醇酯由 HDL<sub>2</sub> 向极低密度脂蛋白、LDL 的转运及由 HDL<sub>2</sub> 向 HDL<sub>3</sub> 转运量下降<sup>[18]</sup>。

### 3.3 脂蛋白、载脂蛋白对肝脂肪酶表达及活性的影响

载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 是 HDL 的主要载脂蛋白成份、胆固醇的重要接受体。载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 能促进血管平滑肌细胞、内皮细胞、巨噬细胞、肝细胞和成纤维细胞中的胆固醇的外流,因而也具有介导 HDL 抗动脉粥样硬化的功能。研究发现,HSPG-HL 是非活性的,各类脂蛋白将肝脂肪酶置换出来的能力是不同,纯化的载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 和 HDL 很容易将肝脂肪酶从 HSPG 中置换出来,尤其是载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 直接能和 HSPG 结合,载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 通过将肝脂肪酶从 HSPG 中置换出,使之激活从而调节脂蛋白的水解<sup>[19]</sup>。较早的转基因实验显示,载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 可以阻碍肝脂肪酶介导的 HDL-TG 水解,使 HDL 颗粒变大,因而认为载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 是肝脂肪酶的生理抑制剂,维持 HDL 水平。Hedrick 等<sup>[20]</sup> 认为 HDL 颗粒变大的部分原因是肝脂肪酶水解 HDL 中的磷脂、甘油三酯活力受到抑制。体外实验证明来自载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 转基因鼠的 HDL 对肝脂肪酶有一定的抵抗作用。为进一步了解肝脂肪酶和载脂

蛋白 A<sub>iv</sub> 是否能独立影响 HDL 的大小,分别检测载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 转基因伴肝脂肪酶基因剔除(HLko)小鼠、载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 转基因鼠、HLko 鼠的 HDL,发现三者有着大小相似的 HDL,这说明肝脂肪酶和载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 各自不能独立影响 HDL 的大小。

HDL 中的载脂蛋白 A<sub>iv</sub>、载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 和肝脂肪酶相互作用,可以影响 HDL 颗粒的磷脂、甘油三酯的水解,影响 rHDL 的生成。载脂蛋白 A<sub>iv</sub>/载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 的比值决定了肝脂肪酶的活性,过多的载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 可逆反载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 过度表达所致的作用,载脂蛋白 A<sub>iv</sub>/载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 的比值下降使 HDL 的颗粒变大,失去抗动脉粥样硬化的功能<sup>[20]</sup>。

载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 能刺激 HDL<sub>2</sub> 及极低密度脂蛋白中脑磷脂、卵磷脂的水解,完全抑制甘油三酯的水解,表明载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 是肝脂肪酶的重要辅助因子,可影响酶的催化效率及底物的特异性。因此富含载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 的 HDL 是肝脂肪酶的首选底物<sup>[21]</sup>。载脂蛋白 C 亚类对肝脂肪酶和脂蛋白脂肪酶的作用有所不同<sup>[22]</sup>:载脂蛋白 C<sub>iv</sub> 是脂蛋白脂肪酶的必需激活剂,载脂蛋白 C<sub>iv</sub> 是脂蛋白脂肪酶最强的抑制剂,而载脂蛋白 C<sub>iv</sub>、载脂蛋白 C<sub>iv</sub> 均能抑制肝脂肪酶活性,两者是通过影响载脂蛋白 E 介导的含甘油三酯乳浊液与肝脂肪酶的结合起作用。细胞培养实验显示在 4℃ 或 37℃,肝脂肪酶通过 LDL 受体途径增加 LDL 的摄取,但这种作用可被抗载脂蛋白 B 单克隆抗体明显抑制,推测肝脂肪酶可以与载脂蛋白 B 特异的相互作用促进含载脂蛋白 B 的脂蛋白吸收<sup>[23]</sup>。

脂蛋白本身也能反馈调节肝脂肪酶的表达<sup>[24]</sup>。LDL 在一定范围内增加时,肝细胞中肝脂肪酶 mRNA 表达水平上调,肝脂肪酶合成增加有利于肝细胞摄取并清除环境中的 LDL,但 LDL 浓度过高,或氧化型 LDL 浓度增高,则表现出对肝细胞的脂毒作用,使细胞中肝脂肪酶 mRNA 下调。

## 4 肝脂肪酶的基因变异

### 4.1 肝脂肪酶基因的多态性与肝脂肪酶活性关系

肝脂肪酶的基因变异是血浆 HDLC 水平的重要遗传决定因素之一。人类肝脂肪酶基因(LIPC)启动子有四个常见的多态性,即-514C/T、-250G/A、-710T/C 和-763A/G。这四个多态性几乎完全是连锁不平衡的,其中完全等位相关的是-250G/A、-710T/C 和-763A/G,而-514C/T 与其他多态性有明显的连锁不平衡。-514T/T 型的肝脂肪酶活性最低,而 C/C 型的肝脂肪酶活性最高。但带有 T 等位基因的个体中,其 LIPC 的外显子上没有发现影响肝脂肪酶活性的基因变异,因而推测真正的变异在启动子区域。较早的研究发现,-250G/A、-514C/T 和-763A/G 的等位基因的变异与野生型之间无核酸-蛋白质结合模式方面的差异,只是-710 处变异的-710T 和野生型-710C 有一明显的核酸-蛋白质结合模式的差异。然而研究显示 HepG2 细胞虽然有这方面的差异,但并不影响肝脂肪酶基因的转录速率。

瞬时转染法分析-514C-T 多态性是否影响邻近启动子-693 $\rightarrow$ +29 的转录活性时发现,在-514 有 T 的启动子比在同一位点为 C 的启动子低 30% 的活力。因而似乎可以解释-514C/T 中 TT 基因型的肝脂肪酶活性最低, HDL 及

LDL 中甘油三酯升高, 并引起 HDLC 的增高(主要是 HDL2 亚类); 而基因型 - 514C/C 可以引起肝脂肪酶活性增高, 对降低 HDLC 水平有明显作用<sup>[25]</sup>。

据 2002 年美国糖尿病协会(ADA)第 62 届年会消息: LIPC 启动子 514C/T 变异显著影响 iv 型糖尿病男性患者的 HDL 水平, TT 纯合子患者 HDL 水平最高, CC 纯合子最低。另外, 514C/T 变异也影响大 HDL 向小 HDL 转换, 因为 TT 纯合子患者的大 HDL/小 HDL 之比及 HDL 颗粒大小增加。多元回归分析显示, LIPC 基因型可解释 HDL 水平 6.2% 的变异及 HDL 大小 8.0% 的变异, 而这一数据明显高于年龄、体重指数、糖化血红蛋白及吸烟状态对 HDL 影响的总和。

至于 - 250G/A 多态性, 不同的基因型其肝脂肪酶活性、HDLC 和 LDL 密度有一定的差异。日本人和菲律宾人的 - 250A 等位基因频率比美国人高。无论在正常组或冠心病对照组中 - 250A 等位基因(A/A、A/G)比纯合子 G/G 有较低的肝脂肪酶活性、较高的 HDL<sub>2</sub>C、更低密度的 LDL 颗粒; 而纯合子 A/A 则有更低的肝脂肪酶活性。- 250 启动子等位基因频率的差异不仅与 HDL 水平有关, 还与胰岛素抗性有关<sup>[26]</sup>。

#### 4.2 其他基因对肝脂肪酶的作用

尽管肝脂肪酶活性的确和 LIPC 启动子变异有关, 但相同的 LIPC 基因型却显出差异很大的肝脂肪酶活性, 这有可能意味着有其他因素参与调控 LIPC。有证据表明 - 514T 等位基因若伴有较高频率的卵磷脂胆固醇酰基转移酶基因变异, 则可以引起大约 9% HDLC 表型的变异<sup>[27]</sup>。- 514C/T 和 - 216G/A 一起可引起 LIPC 启动子活性减少 40% ~ 50%, 从而影响肝脂肪酶的表达。但这两种碱基对肝脂肪酶转录均无独立影响作用, 而二者结合后则表现出明显的差异。- 216G/A 单独有可能影响 - 650/+ 48 的结构, 但对启动子的影响可能被上游刺激因子的过度表达所抑制。在 - 514 处有一个与上游刺激因子结合的高度亲和的位点, - 514C/T 破坏了处于 LIPC 启动子区域的一个上游刺激因子结合位点, 从而减少了与这个位点的结合<sup>[28]</sup>。

此外, 虽然有实验显示 25% 的 HDLC 水平变异是由于 LIPC 引起的, 但另有 22% 是由 11 号染色体上的载脂蛋白 A iv/载脂蛋白 C ④/载脂蛋白 A ⑤基因簇引起的<sup>[29]</sup>。

关于肝脂肪酶基因表达是如何被调节的目前了解得还不多, 虽然转染实验表明在启动子的前端有多重元件影响肝脂肪酶的转录, 但有些元件还没鉴定出或未详尽分析过。然而肝脂肪酶的基因型和肝脂肪酶活性、HDL 有明显的相关性, 提示在肝脂肪酶基因上确实存在功能性变异, 还需要对此做进一步的研究。

#### 4.3 肝脂肪酶基因的错义变异

肝脂肪酶基因除了几个多态性以外还有若干错义变异。较早确定的三个是: Asn37His、Val73Met 和 Ser267Phe。其中 Ser267Phe 的变异可引起肝脂肪酶缺乏, 并与 ④型高脂血症有关。编码 133 和 202 的两个变异是复等位基因 DNA 多态性, 但它们在氨基酸水平则是沉默的。此外 Thr383Met 可导致肝脂肪酶分泌减少和活性下降<sup>[30]</sup>。

肝脂肪酶第三个外显子发现有一段碱基插入的突变, 序

列分析显示是编码组氨酸-苏氨酸-酪氨酸-缬氨酸-精氨酸-缬氨酸的 18 个核苷酸重复片断, 该病患者在这一重复序列的第 9 个核苷酸处还有 A-G 的错义变异, 使编码的氨基酸从异亮氨酸 Ile 变为 Val 缬氨酸。这种碱基插入和错义在女性可引起肥胖症及异常血脂浓度<sup>[31]</sup>。

## 5 展望

肝脂肪酶是多种脂蛋白(包括乳糜微粒残骸、LDL 和 HDL)代谢的关键酶。肝脂肪酶基因的多态性和基因突变引起高脂血症。已经证实 LIPC - 514C/T 多态性可明显预示血管狭窄的改变, 在脉管功能紊乱早期就表现出差异, 其基因标示具有潜在的临床意义。然而肝脂肪酶在动脉粥样硬化中起什么作用仍没有确切的结论。最近十年有证据表明 LDL 颗粒的致动脉粥样硬化性不仅和血浆 LDL 水平有关, 也和它们的大小、密度有关, 其中小颗粒致密 LDL 与冠心病相关性极高。肝脂肪酶降解 IDL 生成 LDL。肝脂肪酶的活性越高越会产生更小更密更易致动脉硬化的颗粒。因此肝脂肪酶是冠心病病情进展及治疗的关键。- 514C/T 多态性 CC 型患者的肝脂肪酶活性很高, 通过降脂疗法降低肝脂肪酶的活性, 减少 LDL 密度, 可促进冠心病退化。虽然大多数实验显示高肝脂肪酶可能会促进动脉硬化, 然而另一方面关于这一点还有不少争论。如转基因鼠中高肝脂肪酶与动脉内胆固醇低积聚呈相关性。在纯合子家族性高胆固醇血症中肝脂肪酶与动脉粥样硬化的钙化进展成负相关<sup>[32]</sup>。

肝脂肪酶缺乏患者血浆富含胆固醇和甘油三酯的脂蛋白残骸增加也会引起早发性动脉粥样硬化, 而多种肝脂肪酶基因变异会降低血浆肝脂肪酶活性, 增加 HDLC 浓度, 降低动脉粥样硬化的易患性。肝脂肪酶既有脂肪酶的作用, 也可作为配体参与脂蛋白的代谢, 难以决定它的作用中的哪一种在生理上对动脉粥样硬化最为重要。目前还需进一步研究的问题: 肝脂肪酶是否通过水解磷脂和/或甘油三酯, 或在脂蛋白-细胞膜相互作用中起配体作用? 或两者兼而有之? ④肝脂肪酶和胆固醇酯转移蛋白是如何共同调节 HDLC 的转运? ④肝脂肪酶基因表达受哪些因素的调控? 肝脂肪酶在动脉粥样硬化中起什么作用? 其作用机制是什么? 肝脂肪酶活性高是否会增高动脉粥样硬化发生的危险性? 用药物降低肝脂肪酶活性能否降低发生动脉粥样硬化的危险性?

#### [参考文献]

- [1] Sensel MG, Legrand-Lorans A, Wang ME, Bensadoun A. Isolation and characterization of clones for the rat hepatic lipase gene upstream regulatory region. *Biochim Biophys Acta*, 1990, **6** (2-3): 297-302
- [2] DM Cai SJ, Wong DM, Chen SH. Structure of the human hepatic triglyceride lipase gene. *Biochemistry*, 1989, **28** (23): 8 966-971
- [3] Philip W, Connelly. The role of hepatic lipase in lipoprotein metabolism. *Clinica Chimica Acta*, 1999, **286**: 243-255
- [4] Cisar LA, Melford KH, Sensel M, Bensadoun A. Heparin decreases the degradation rate of hepatic lipase in Fu5AH rat hepatoma cells. A model for hepatic lipase efflux from hepatocytes. *Biochim Biophys Acta*, 1989, **1 004** (2): 196-204
- [5] Cheung AK, Parker CJ, Ren K, Iverius PH. Increased lipase inhibition in uremia: identification of pre-betaHDL as a major inhibitor in normal and uremic plasma. *Kidney Int*, 1996, **49**: 1 360-371

- [6] 陈佩芳, 李剑军, 吴满平, 楼滨, 杨小琪. 高密度脂蛋白3介导大鼠腹腔巨噬细胞内胆固醇流出. *中国动脉硬化杂志*, 2000, **8** (2): 111-114
- [7] Zambon A, Deeb SS, Bensadoun A. In vivo evidence of a role for hepatic lipase in human apoB-containing lipoprotein metabolism, independent of its lipolytic activity. *J Lipid Res*, 2000, **41** (12): 2 094-099
- [8] Lambert G, Chase MB, Santamarina FS. Hepatic lipase promotes the selective uptake of high density lipoprotein cholesteryl esters via the scavenger receptor B1. *J Lipid Res*, 1999, **40** (7): 1 294-303
- [9] De Faria E, Fong LG, Komaromy M, Cooper AD. Relative roles of the LDL receptor, the LDL receptor-like protein, and hepatic lipase in chylomicron remnant removal by the liver. *J Lipid Res*, 1996, **37** (1): 197-209
- [10] Havel RJ. Genetic underpinning of LDL size and density: a role for hepatic lipase? *Am J Clin Nutr*, 2000, **71**: 1 390-391
- [11] Feingold KR, Memon RA, Moser AH, Shigenaga JK, Grunfeld C. Endotoxin and interleukin I decrease hepatic lipase mRNA levels. *Atherosclerosis*, 1999, **142** (2): 379-387
- [12] Yamakawa Kobayashi K, Somekawa Y, Fujimura M, Tomura S, Arinami T, Hamaguchi H. Relation of the -514C/T polymorphism in the hepatic lipase gene to serum HDL and LDL cholesterol levels in postmenopausal women under hormone replacement therapy. *Atherosclerosis*, 2002, **162** (1): 17-21
- [13] Jones DR, Schmidt RJ, Pickard RT, Foxworthy PS, Eacho PI. Estrogen receptor-mediated repression of human hepatic lipase gene transcription. *J Lipid Res*, 2002, **43**: 383-390
- [14] Klin M, Smogorzewski M, Zhenmin Ni, Guoxiang Zhang, Shaul G Massry. Abnormalities in hepatic lipase in chronic renal failure: role of excess parathyroid hormone. *J Clin Invest*, 1996, **97** (10): 2 167-173
- [15] Botma GJ, Verhoeven AJ. Hepatic lipase promoter activity is reduced by the G-480T and G-216A substitutions present in the common LIPC gene variant, and is increased by Upstream Stimulatory Factor. *Atherosclerosis*, 2001, **154** (3): 625-632
- [16] Jansen H, Verhoeven AJ, Weeks L, Kastelein JJP, Halley DJJ, Ans van den Ouweland. Common G-to-T substitution at position -480 of the hepatic lipase promoter: associated with a lowered lipase activity in coronary artery disease patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, **17**: 2 837-842
- [17] Oscarsson J, Ottosson M, Eden S. Effects of growth hormone on lipoprotein lipase and hepatic lipase. *J Endocrinol Invest*, 1999, **22**(5 Suppl): 2-9
- [18] Duntas LH. Thyroid disease and lipids. *Thyroid*, 2002, **12** (4): 287-293
- [19] Ramsamy TA, Neville TA, Chauhan BM, Dhiraaj Aggarwal, aDaniel L Sparkset. Apolipoprotein A iv regulates lipid hydrolysis by hepatic lipase. *J Biol Chem*, 2000, **275** (43): 33 480-486
- [20] Hedrick CC, Castellani LW, Wong H, Aldons J, Lusic. In vivo interactions of apo A iv, apo A iv, and hepatic lipase contributing to HDL structure and antiatherogenic functions. *J Lipid Res*, 2001, **42** (4): 563-570
- [21] Sindelar PJ, Chojnacki I, Valtersson C. Role of apolipoprotein A in hepatic lipase catalyzed dolichol acylation and phospholipid hydrolysis. *Biochemistry*, 1997, **36** (7): 1 807-813
- [22] Yamamoto M, Katoh N, Oilawa S. Evaluation of serum apolipoprotein C concentration by enzyme-linked immunosorbent assay and its higher concentration in cows during the nonlactating stage. *Am J vet Res*, 1998, **59** (11): 1 358-363
- [23] Choi SY, Goldberg IJ, Curtiss LK, Cooper AD. Interaction between apo B and hepatic lipase mediates the uptake of ApoB-containing lipoproteins. *J Biol Chem*, 1998, **273** (32): 20 456-462
- [24] 张晓刚, 陈运贞. 低密度脂蛋白和氧化型低密度脂蛋白对 HepG2 细胞肝脂酶活性及肝脂酶 mRNA 表达的影响. *中国动脉硬化杂志*, 2003, **11** (2): 147-150
- [25] Couture P, Otvos JD, Cupples LA, Lahoz C, Wilson PW F, Schaefer E J. Association of the G-514T polymorphism in the hepatic lipase gene with variations in lipoprotein subclass profiles: the framingham offspring study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **20** (3): 815-822
- [26] Zambon A, Deeb SS, Hokanson JE, Brown BG, Brunzell JD. Common variants in the promoter of the hepatic lipase gene are associated with lower levels of hepatic lipase activity, buoyant LDL, and higher HDL<sub>2</sub> cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998, **18** (11): 1 723-729
- [27] Inazu A, Nishimura Y, Terada Y, Mabuchi H. Effects of hepatic lipase gene promoter nucleotide variations on serum HDL cholesterol concentration in the general Japanese population. *J Hum Genet*, 2001, **46** (4): 172-177
- [28] Botma GJ, Verhoeven AJ, Jansen H. Hepatic lipase promoter activity is reduced by the G-480T and G-216A substitutions present in the common LIPC gene variant, and is increased by upstream stimulatory factor. *Atherosclerosis*, 2001, **154** (3): 625-632
- [29] Cohen JC, Wang Z, Grundy SM, Stoez MR, Guerra R. Variation at the hepatic lipase and apolipoprotein A iv/C loci is a major cause of genetically determined variation in plasma HDL cholesterol levels. *J Clin Invest*, 1994, **94** (6): 2 377-384
- [30] Moennig G, Wiebusch H, Enbergs A, Dorszewski A, Kerber S, Schulte H. Detection of missense mutations in the genes for lipoprotein lipase and hepatic triglyceride lipase in patients with dyslipidemia undergoing coronary angiography. *Atherosclerosis*, 2000, **149** (2): 395-401
- [31] Tielbe O, Gehrlich S, Pietzsch J, Gromeier S, Jaross W, et al. 18 bp insertion/duplication with internal missense mutation in human hepatic lipase gene exon 3. Mutations in brief no. 181. *Online Hum Mutat*, 1998, **12** (3): 216
- [32] Tahvanainen E, Sivanne M, Frick MH, Murtomäki Repo S, Antikainen M, Kesäniemi A, et al. Association of variation in hepatic lipase activity with promoter variation in the hepatic lipase gene. *Clin Invest*, 1998, **101** (5): 956-960