

# 促酰化蛋白与促酰化蛋白受体

温宇, 卢慧玲 综述, 王宏伟 审校

(华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科, 湖北省武汉市 430030)

[关键词] 生物化学与分子生物学: 促酰化蛋白与其受体的特性和功能: 综述: 促酰化蛋白: 促酰化蛋白受体

[摘要] 促酰化蛋白是由脂肪细胞分泌的一种生物活性物质, 是调节脂肪功能与脂肪储备的关键因素之一。促酰化蛋白与其效应细胞表面的特异性受体相互作用, 在胞内信号转导途径(包括蛋白激酶C途径)参与下, 可调控细胞内甘油三酯合成的关键酶——二酰基甘油转酰酶的活性, 并影响激素敏感性脂肪酶活性, 从而促进细胞内甘油三酯的合成, 并调控脂肪细胞的分化及成脂作用。同时, 影响糖代谢, 调节胰岛素的敏感性。促酰化蛋白代谢途径功能失调, 将引起一系列脂质代谢紊乱, 并认为与肥胖症、糖尿病和心血管疾病密切相关。

[中图分类号] Q5

[文献标识码] A

促酰化蛋白(acylation stimulating protein, ASP)是从人血浆分离出的一种小分子蛋白质, 能显著促进脂肪细胞合成甘油三酯(triglyceride, TG)。ASP代谢途径功能失调, 与肥胖症、糖尿病和心血管疾病的发生密切相关。近十余年来, 对ASP的合成、结构功能和ASP受体等各方面的研究均取得重要的进展。现将ASP的相关研究结果综述如下。

## 1 促酰化蛋白的合成与结构

促酰化蛋白(ASP)是1989年由Cianflone等<sup>[1]</sup>发现并从人血浆中分离出的一种胰酶敏感性的小分子蛋白质, 由76个氨基酸组成, 分子质量为8932 Da, 与补体C3a的一个生物学片段C3a desArg<sup>77</sup>为同一物质, 并根据其生物学活性命名为ASP。

促酰化蛋白(ASP)源于脂肪细胞, 由脂肪细胞分泌的三种蛋白质: 补体C3、因子B、因子D(adipsin, Adn)在补体旁路途径中相互作用而生成。ASP合成过程如下: 血浆补体C3上的硫酯键自发水解断裂, 形成有活性的C3\* (C3b类似物); ④C3\*或C3b与因子B在Mg<sup>2+</sup>参与下, 结合成C3\*-B或C3b-B复合物, 此过程为Mg<sup>2+</sup>依赖性, 可逆性; ④因子B变构, 易被Adn降解, 形成C3\*-Bb或C3b-Bb复合体和一个β片段; C3\*-Bb或C3b-Bb复合体为C3转化酶, 是一种有活性的丝氨酸酯酶复合体, 其中Bb含酶活性成分, C3b或C3\*仅起锚定于细胞膜的作用, 此复合体使C3的α链氨基末端上的精氨酸-丝氨酸键断裂, 生成一分子C3a和一分子C3b; 上述反应中生成的C3a羧基末端上的精氨酸(Arg)迅速被羧基肽酶B(carboxypeptidase B, CPB)移去, 从而生成含

76个氨基酸的肽链, 即ASP(C3a desArg<sup>77</sup>)<sup>[2,3]</sup>。而C3裂解产生的C3b重新进入循环, 从而不断扩大循环。

促酰化蛋白(ASP)与C3a仅一个氨基酸不同, 但两者的结合域和功能域却大不相同<sup>[4]</sup>。研究发现, 两者结构相似, 三级结构中有一紧密连接的核心域, 由3个α螺旋形成, α螺旋间通过二硫键连接, 其中一个α螺旋向核心域外延伸, 形成可以自由伸缩的羧基尾域(含5~6个氨基酸残基)。此完整的二硫键连接的核心域与ASP促进TG合成的活性有关, 经赖氨酸(Lys)、组氨酸(His)修饰此核心域后, ASP生物学活性丧失; 但此核心域与C3a的生物学活性无关, 而与C-端尤其是C-末端上的精氨酸密切相关<sup>[3,4]</sup>。

## 2 促酰化蛋白分泌的调节

促酰化蛋白(ASP)是一种脂源性激素, 源于C3, 与C3a desArg<sup>77</sup>为同一物质。已证实, 成熟脂肪细胞中, Adn、C3和B因子水平明显高于前脂肪细胞<sup>[3]</sup>。凡影响Adn、C3、B因子的因素均可调节ASP的生成。

### 2.1 内分泌因子的调节

脂肪细胞分泌的白细胞介素1α、1β、4和6及肿瘤坏死因子α均可促进内皮细胞、人皮肤成纤维母细胞(human skin fibroblast, HSF)、脂肪细胞等合成因子B和C3, 但肿瘤坏死因子α使Adn表达减少<sup>[5]</sup>。给予糖皮质激素刺激内皮细胞后, C3和因子B表达降低, Adn表达增加; 而在脂肪细胞、上皮细胞等细胞中, C3表达增加, Adn降低。Peake等<sup>[6]</sup>由此提出, 在各种细胞因子诱导的脂肪细胞ASP合成的过程中, 因子B的生成是限速步骤。此外, 雌激素刺激后C3表达显著增加。已有研究把雌激素或抗雌激素化合物的变化作为评价C3的一个关键指标<sup>[7,8]</sup>。

### 2.2 餐后乳糜微粒的影响

在ASP合成的诸多影响因素中, 餐后乳糜微粒(chylomicrons, CM)对ASP的影响最大, 能使ASP生成增加10倍以上, 升高水平与C3浓度成正比, 餐后胰岛素升高也可致ASP增

[收稿日期] 2003-09-21 [修回日期] 2003-12-30

[基金项目] 国家自然科学基金(30170442)资助

[作者简介] 温宇, 硕士研究生, 研究方向为儿科心血管和脂质代谢。E-mail: ywen79@yahoo.com.cn。卢慧玲, 博士研究生, 研究方向为儿科心血管和脂质代谢。王宏伟, 博士研究生导师, 研究方向为儿科心血管、儿童免疫和脂质代谢。

加 2~3 倍<sup>[9]</sup>。餐后乳糜微粒及其相关因子转甲状腺素蛋白 (transthyretin, TTR)、视黄酸 (retinoic acid, RA) 可增加 C3 的蛋白水平, 视黄酸并能激活 C3 基因, 而 TTR 介导乳糜微粒中的活性成分转移致脂肪组织, 从而促进 C3 和 ASP 的生成。已证实, 乳糜微粒也能促进人类分化脂肪细胞合成和分泌因子 B、Adn。在乳糜微粒中加入 TTR 和视黄酸能使乳糜微粒的作用显著增强, 而加入 TTR 多克隆抗体或视黄酸拮抗剂均能抑制 C3 的合成; 但均不影响 Adn 的生成。由此可见, 乳糜微粒促进 Adn 生成的机制不同于 C3 或因子 B<sup>[3, 10]</sup>。

### 2.3 对补体旁路途径的调节

促酰化蛋白 (ASP) 的生成不仅可通过 ASP 前体蛋白 (C3、B、Adn) 来调节, 而且可通过 C3<sup>\*</sup> ASP 途径 (如前述) 来调节。某些活性物质, 如白细胞介素 1 $\beta$ 、干扰素  $\gamma$ 、乳糜微粒能诱导血管内皮细胞形态改变, 暴露细胞外基质, 从而诱导内皮细胞结合 C3b, 激活补体旁路途径, 从而促进 ASP 的生成<sup>[11]</sup>。脂肪细胞的某些分泌性蛋白, 如因子 H、因子 I 和备解素 (P 因子), 以及某些膜蛋白, 如补体受体 1 (complement receptor 1, CR-1)、低密度脂蛋白受体相关蛋白/ $\alpha_2$  巨球蛋白受体 (LRP/ $\alpha_2$ MR), 能进一步影响 ASP 的生成<sup>[6, 12]</sup>。其中因子 H 能结合 C3b-Bb 复合物中的 Bb 亚单位, 导致 C3b-Bb 复合物不可逆性解离, 从而加速 C3b 被因子 I 或血清蛋白酶降解, 对 ASP 起负调控作用<sup>[13]</sup>。备解素是一种血清糖蛋白, 结合并稳定 C3b-Bb 复合物; 并能抑制因子 I 降解 C3b 的作用。有报导, CR-1 可协同因子 H、因子 I 抑制 ASP 的生成<sup>[14]</sup>; 而 LRP 通过与 C3<sup>\*</sup> 直接相连, 调节 C3<sup>\*</sup> 的胞吞及结合效应。抑制 LRP/ $\alpha_2$ MR 与其配体的结合, 导致 LRP/ $\alpha_2$ MR 无能, 细胞吸收功能受破坏<sup>[15]</sup>。很有可能 LRP/ $\alpha_2$ MR 与乳糜微粒相互作用, 调节 ASP 的生成, 但具体机制有待研究。

### 3 促酰化蛋白受体

促酰化蛋白 (ASP) 的生物学作用与 ASP 受体密切相关。ASP 通过粘附于脂肪细胞表面特异性高亲和力受体部位, 激活细胞内信号传导途径发挥效应<sup>[16]</sup>。已证实, 孤儿受体蛋白 C5L2 能与补体 C5a、C5a desArg<sup>74</sup>、C4a 和 C3a 高亲和力结合<sup>[17]</sup>。近来, Cianflone 等<sup>[18]</sup>发现, C4a desArg<sup>77</sup>、C3a desArg<sup>77</sup> (ASP) 也可结合 C5L2, 并能与<sup>125</sup>I-C3a 强烈竞争鼠嗜碱性白血细胞 (RBL 细胞) 上的 C5L2 结合位点。尽管 C3a 与 C3a 受体或 C5L2 亲和力相当, 但 ASP 不结合 C3a 受体或 CD88 (C5a 受体); 也不能有效竞争 RBL 细胞上与<sup>125</sup>I-C5a 结合的 C5L2 结合位点。因此提出, 与不同的配体结合时, C5L2 呈现两种不同的空间构象, 也就是有两个不同的结合位点。其中一个位点结合 C3a 或 ASP, 并可被除 C5a desArg<sup>74</sup>外的其它补体片段竞争结合; 另一个位点优先结合 C5a, 仅被 C5a desArg<sup>74</sup>竞争结合, C4a 在一定程度上可结合此位点。在不同的细胞株上试验也得到相同的结论。

C3a、ASP 均结合 HSF 或转染 C5L2 的 RBL 细胞, 分别与两种细胞的亲和力相当, 表明 C5L2 可能是 HSF 上 ASP 受体。Kalant 等<sup>[18]</sup>以特异性 C5L2 为引物, 逆转录-聚合酶链反应扩增 ASP 效应细胞 (如人类脂肪细胞、皮肤成纤维母细胞、鼠

3T3-L1 前脂肪细胞等<sup>[9]</sup>的 mRNA 片段, 凝胶电泳后, 可见 C5L2 带 (人类为 798 bp, 鼠为 739 bp); 而非 ASP 效应细胞, 如 U937 单核细胞扩增后未见此条带。可见, ASP 效应细胞表达 C5L2。已证实, ASP 或 C3a 结合 HSF 后, 能促进 TG 的合成<sup>[9]</sup>; 而高浓度 C5a、C5a desArg<sup>74</sup>、C4a 或 C4a desArg<sup>77</sup> 结合 HSF 后, 均无 TG 的合成。这可能与 C5L2 上不同的结合位点有关。其中一个仅可结合配体, 另一个结合配体后, 促进 TG 的合成。C5L2 的某些配体, 如 C5a, 结合第一个结合位点后, C5L2 变构, 阻止其它配体如: C3a、ASP 结合第二个位点, 从而未能激活 C5L2, 无 TG 的合成<sup>[18]</sup>。

总之, C3a、ASP 可结合 C5L2, 并促进 TG 的合成, 而 C5a、C5a desArg<sup>74</sup>、C4a、C4a desArg<sup>77</sup> 结合 C5L2 后, 无 TG 的合成。C5L2 可能是 ASP 的受体, 但 C5L2 功能复杂, 有待深入研究。

### 4 促酰化蛋白的生物学功能

ASP 是脂肪细胞的一种自分泌激素, 是脂肪储备的调节剂, 可协调 TG 的合成和葡萄糖的转运, 改善餐后 TG 的清除<sup>[3]</sup>。目前研究表明, ASP 使二酰基甘油转酰酶活性增加 1 倍, 并降低激素敏感性脂肪酶的活性, 从而促进 TG 的合成和抑制其脂解。同时, ASP 刺激葡萄糖转运蛋白 (GLUT 1、GLUT 3 和 GLUT 4) 从胞内易位致细胞表面, 促进葡萄糖的转运<sup>[3]</sup>。Cianflone 等观察到, 与野生型鼠模型比较, C3 基因敲除, 导致 ASP 缺乏<sup>[5]</sup>的鼠模型在研究中有如下变化: 餐后 TG 和游离脂肪酸显著升高, 但空腹时两组血脂水平相当。④胰岛素敏感性增强。⑤耗能增加。血浆瘦素水平降低。脂肪储备量减少 26%<sup>[19, 20]</sup>。可见, ASP 在脂代谢和糖代谢中起着重要作用。许多研究已证实, 肥胖症尤其是向心性肥胖者存在显著脂代谢紊乱<sup>[21]</sup>; 肥胖症、糖尿病、冠心病患者血浆 ASP 显著升高<sup>[2]</sup>, 而我们对儿童肥胖症研究提示, 血浆 ASP 的升高发生于脂代谢紊乱之前 (文章待发表), ASP 可能参与肥胖症和肥胖相关性疾病中脂代谢紊乱的发生和发展。

综上所述, ASP 是一种由脂肪细胞分泌的激素, 其合成受许多生物因子的调节。ASP 与细胞表面的特异性受体结合, 在蛋白激酶 C 信号通路的参与下, 发挥其生物学作用, ASP 是调节机体代谢平衡的新的脂源性激素, ASP 途径已成为脂代谢的新的生物化学途径。对 ASP 的深入研究, 将为阐明脂肪细胞内分泌功能开辟新的研究方向, 为深入探讨与肥胖及脂代谢紊乱相关的多种疾病开拓新的思路。

### [参考文献]

- [1] Cianflone K, Sniderman AD, Walsh MJ, Vu HT, Gagnon J, Rodriguez MA. Purification and characterization of acylation stimulating protein. *J Biol Chem*, 1989, **264**: 426-430
- [2] Cianflone K, Xia Z, Chen LY. Critical review of acylation stimulating protein physiology in human and rodents. *Biochim Biophys Acta*, 2003, **1609**: 127-143
- [3] Cianflone K, Maslowska M, Sniderman AD. Acylation stimulating protein (ASP), an adipocyte autocrine: new directions. *Semin Cell Devel Biol*, 1999, **10**: 31-41
- [4] Murray L, Kohl J, Cianflone K. Acylation stimulating protein (ASP): structure-function determinants of cell surface binding and triacylglycerol synthetic activity. *Biochem J*, 1999, **342**: 41-48

(下转第 112 页)

(上接第 107 页)

- [5] Ntambi JM, Young-Cheul K. Adipocyte differentiation and gene expression. *J Nutr*, 2000, **130**: 3122S-3126S
- [6] Peake PW, O'Grady S, Pussell BA, Charlesworth JA. Detection and quantification of the control proteins of the alternative pathway of complement in 3T3-L1 adipocytes. *Eur J Clin Invest*, 1997, **27**: 922-927
- [7] Lundeen SG, Zhang Z, Zhu Y, Carver JM, Winneker RC. Rat uterine complement C3 expression as a model for progesterone receptor modulators: characterization of the new progestin trimegestone. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2001, **78**: 137-143
- [8] Strunk E, Stemmann N, Hopert A, Wunsche W, Vollmer. Relative binding affinity does not predict biological response to xenoestrogens in rat endometrial adenocarcinoma cells. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2000, **74**: 73-81
- [9] Maslowska M, Scantlebury T, Germinario R, Cianflone K. Acute in vitro production of ASP in differentiated adipocytes. *J Lipid Res*, 1997, **38**: 1-11
- [10] Scantlebury T, Maslowska M, Cianflone K. Chylomicron-specific enhancement of acylation stimulating protein and precursor protein C3 production in differentiated human adipocytes. *J Biol Chem*, 1998, **273**: 20 903-909
- [11] Hindmarsh JF, Marks RM. Complement activation occurs on subendothelial extracellular matrix in vitro and is initiated by retraction or removal of overlying endothelial cells. *J Immunol*, 1998, **160**: 6 128-136
- [12] Choy LN, Spiegelman BM. Regulation of alternative pathway activation and C3a production by adipose cells. *Obes Res*, 1996, **4**: 521-532
- [13] Hourcade DE, Mitchell L, Kuttner-Kondo LA, Atkinson JP, Medof ME. Decay-accelerating factor (DAF), complement receptor 1 (CR 1), and factor H dissociate the complement AP C3 convertase (C3b Bb) via sites on the type A domain of Bb. *J Biol Chem*, 2002, **277**: 1 107-112
- [14] Farries TC, Lachmann PJ, Harrison RA. Analysis of the interactions between properdin, the third component of complement (C3), and its physiological activation products. *Biochem J*, 1988, **252**: 47-54
- [15] Meilinger M, Gschwentner C, Burger I, Haumer M, Wahrman M, Szollar L, et al. Metabolism of activated complement component C3 is mediated by the low density lipoprotein receptor-related protein/macroglobulin receptor. *J Biol Chem*, 1999, **274**: 38 091-096
- [16] 胡秀芬, 王宏伟, 赵月华. 促酰基化蛋白的生理及病理生理意义. 中国动脉硬化杂志, 1999, **7**: 280-282
- [17] Coppack SW. Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. *Proc Nutr Soc*, 2001, **60**: 349-356
- [18] Kalant D, Cain SA, Maslowska M, Sniderman AD, Cianflone K, Monk PN. The chemoattractant receptor-like protein C5L2 binds the C3a des-Arg<sup>77</sup>/acylation stimulating protein. *J Biol Chem*, 2003, **278**: 11 123-129
- [19] Murray I, Sniderman AD, Havel PJ, Cianflone K. Acylation stimulating protein (ASP) deficiency alters postprandial and adipose tissue metabolism in male mice. *J Biol Chem*, 1999, **274**: 36 219-225
- [20] Xia ZN, Sniderman AD, Cianflone K. Acylation stimulating protein (ASP) deficiency induces obesity resistance and increased energy expenditure in ob/ob mice. *J Biol Chem*, 2002, **277**: 45 874-879
- [21] 朱鹏立, 姜峰, 李建卫, 明春葡. 男性老年中心性肥胖与血脂及载脂蛋白的关系. 中国动脉硬化杂志, 1997, **5**: 231-233

(此文编辑 文玉珊)