

载脂蛋白 AⅡ研究进展

张红梅, 周 新

(武汉大学中南医院基因诊断中心, 湖北省武汉市 430071)

[关键词] 生物化学; 载脂蛋白 AⅡ 综述; 甘油三酯; 单核苷酸多态性

[摘要] 人载脂蛋白 AⅡ是一种新发现的载脂蛋白, 平均分子质量为 38 905 Da, 由 366 个氨基酸组成, 在血浆中的含量甚微, 主要在肝脏中表达。基因定位于 11 号染色体长臂 q23 区, 与载脂蛋白 AⅣ/CⅢAⅤ基因簇紧密相联, 在人群中存在多个单核苷酸多态性位点, 其中 5 种主要的单核苷酸多态性组成 3 种单倍型。它们在人群中的分布频率及其对血浆甘油三酯浓度的影响因种族和性别存在差异, 载脂蛋白 AⅡ也是迄今发现的唯一一个高表达能降低血浆甘油三酯含量的载脂蛋白。它参与血脂的转运与代谢; 降低血浆中甘油三酯的浓度; 在肝脏再生中起上调作用。有关它的表达调控及其生理、病理功能尚需进一步研究。

[中图分类号] Q5

[文献标识码] A

血浆中的甘油三酯水平是引起冠心病的独立危险因素, 是导致死亡的重要因素^[1,2]。除吸烟和肥胖等原因引起甘油三酯水平升高, 基因也是导致甘油三酯含量上升的一个重要原因。众多研究发现脂蛋白脂肪酶、载脂蛋白 CⅢ 载脂蛋白 E 与血浆甘油三酯水平有密切关系^[3-5]。最近又有一种新的载脂蛋白被发现, 即载脂蛋白 AⅡ 它对血浆甘油三酯含量有重要影响。载脂蛋白 AⅡ是一种低水溶性蛋白质, 疏水性高于载脂蛋白 AⅣ和载脂蛋白 AⅤ 它在血浆中的浓度甚微, 低于载脂蛋白 AⅤ浓度的 1%、载脂蛋白 AⅣ浓度的 0.1%。载脂蛋白 AⅡ是利用计算机软件通过 DNA 对比分析发现的, 它的生理学效应是通过转基因动物和遗传学方法进行研究的, 但载脂蛋白 AⅡ蛋白质本身还没有被分离出来, 有关它的生理和生物化学特性还知之甚少。现简要叙述载脂蛋白 AⅡ的发现及命名, 蛋白结构, 基因特点, 单核苷酸多态性和可能的功能。

1 载脂蛋白 AⅡ的发现及命名

加洲劳伦斯·伯克利国家实验室 Len 等^[6]在比较小鼠和人类的 DNA 时发现了一种新的基因, 它靠近载脂蛋白 AⅣ/CⅢAⅤ基因簇, 在载脂蛋白 AⅤ下游-27 kb 的位置。为了研究这种新基因的功能, 他们建成了两类基因工程小鼠, 先用 XhoI 限制性内切酶将人的预计为载脂蛋白 AⅡ的基因进行切割, 得到 26 kb 的基因片断, 然后将片断转入 FVB 小鼠的受精卵建成转基因小鼠, 随后他们又通过标准的胚胎干细胞技术剔除小鼠内生的载脂蛋白 AⅡ基因建成基因剔除小鼠。比较两类小鼠血浆脂质含量, 他们发现载脂蛋白 AⅡ

与血浆甘油三酯水平有关。表达人类载脂蛋白 AⅡ转基因小鼠的血浆甘油三酯的浓度比对照鼠减少了三分之二, 而缺少载脂蛋白 AⅡ基因的小鼠血浆甘油三酯浓度却增加了 4 倍。纯合子基因剔除小鼠血浆极低密度脂蛋白浓度也增加了, 转基因小鼠血浆极低密度脂蛋白下降了, 杂合子基因剔除小鼠极低密度脂蛋白浓度介于纯合子和对照鼠之间, 高密度脂蛋白在两者之间没有显示差异。他们同时发现人类的这段疑为载脂蛋白 AⅡ的基因与小鼠的载脂蛋白 AⅡ和人类载脂蛋白 AⅤ有高度同源性, 表达的蛋白质与人的载脂蛋白 AⅤ也有高度的同源性, 这种相关性以及它所表现出来的载脂蛋白的性质使他们命名这个新基因为载脂蛋白 AⅡ。

2 载脂蛋白 AⅡ的蛋白结构

Weinberg 等^[7]对载脂蛋白 AⅡ的蛋白结构和表面特性进行了研究, 人类载脂蛋白 AⅡ平均分子质量为 38 905 Da, 由 366 个氨基酸组成, 有 4 个色氨酸残基、5 个酪氨酸残基和 1 个半胱氨酸残基。载脂蛋白 AⅡ主要在肝脏中合成, 成熟载脂蛋白 AⅡ等电点为 5.99, 在 pH3.5~9.5 时溶解度极低, N 端没有糖基化位点, N 末端有输出信号肽, 信号肽可能位于 23-24 号氨基酸之间, 根据氨基酸组成的计算分析表明, 蛋白分子具有高度 α 二级螺旋结构, 也有 β 折叠和 β 转角。疏水残基呈不对称分布, N 末端到 85 号残基, C 末端 1/3 是相当亲水的, 而中间区域 85-220 是疏水区。载脂蛋白 AⅡ不象其它脂蛋白由 11 或 22 个重复氨基酸被脯氨酸间隔而成, 它的 α 螺旋区域是一些不连续独立的折叠区, 长度和疏水性各不相同, 螺旋与螺旋之间被脯氨酸间隔, 功能亦不同。载脂蛋白 AⅡ有多个结构域: 1-60 构成亲水、球形、中度双向 α 螺旋区域; 61-170 构成疏水、弱双向 α 螺旋区域; 171-245 形成 3 个强疏水性、高度双向 α 螺旋区域; 246-295 和 296-343 间隔区由脯氨酸构成, 相对亲水, 没有突出的二级结构基序。人和鼠 155-222、254-290 呈高度保守性。载脂蛋白 AⅡ与脂质结合可能由几个区域决定, 171-188 是最佳候选区域。通过

[收稿日期] 2003-12-15 [修回日期] 2004-04-21

[作者简介] 张红梅, 硕士研究生, 研究方向为动脉粥样硬化的生物化学诊断, 联系电话为 027-88731417, E-mail 为 fangjun@china-net.com.com。周新, 教授, 博士研究生导师, 本文通讯作者, 研究方向为动脉粥样硬化的生物化学诊断, 联系电话为 027-62231139, E-mail 为 zhouxjyk@sina.com。

表面化学分析和动力学分析发现,载脂蛋白 A_Ⅱ比载脂蛋白 A_Ⅰ有更高的球形疏水区,容纳更多的 α 螺旋结构,这预示载脂蛋白 A_Ⅱ有更强的表面排斥力、高脂亲和力和低弹性,而正是由于这种表面特性使载脂蛋白 A_Ⅱ调控极低密度脂蛋白在肝脏内的装配和分泌,这可能是载脂蛋白 A_Ⅱ影响甘油三酯水平的原因,功能研究还需要进一步验证这个假设。

3 载脂蛋白 A_Ⅱ基因定位和表达

人载脂蛋白 A_Ⅱ基因定位于 11 号染色体长臂 q23 区,与载脂蛋白 A_Ⅳ/C_Ⅲ A_Ⅴ 基因簇紧密相联,共同组成一个基因家族。载脂蛋白 A_Ⅱ基因长约 2.5 kb,有 4 个外显子、2 个内含子和 4 个静默子。序列比较发现人类载脂蛋白 A_Ⅱ基因序列与鼠有 71% 相同、78% 相关;与人类的载脂蛋白 A_Ⅰ有 27% 相同、48% 相关。Northern blot 分析显示载脂蛋白 A_Ⅱ有两种基因转录产物: 1.3 kb 和 1.9 kb,这种特性在这个基因家族其它成员中还没有被发现,在基因库中检查表达序列标记显示两种转录产物是两个多聚腺苷酰化位点选择作用的结果,两种转录产物各自的功能目前还不太清楚。Vir-Dac 等^[8]研究过氧化物酶体增生生物激活受体(peroxisome proliferator activated receptor, PPAR)对载脂蛋白 A_Ⅱ的影响发现 PPAR 能促进载脂蛋白 A_Ⅱ转录,这可能是 PPAR 降低血浆甘油三酯原因之一。

4 载脂蛋白 A_Ⅱ基因多态性及与血浆甘油三酯的关系

众多实验研究表明载脂蛋白 A_Ⅱ基因多态性与血浆甘油三酯含量有重要关系,是目前研究的热点。最开始发现了 4 个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs) 位点,从 1-4 分别为 c. 1259T> C、IVS3+ 476G> A、-1131T> C 和 -12,238T> C, SNP1、SNP2 和 SNP3 连锁不平衡构成一种单倍型,出现在 15% 的白人基因中^[6]。随后, Pennacchio 等^[9]对 116 个高甘油三酯血症个体 DNA 序列进行筛查又发现了 9 个 SNPs,其中 c.-3A> G、c. 56C> G 和 SNP1、SNP2、SNP3 这 5 个位点共构成 3 种单倍型在人群中的比例占 98%: 载脂蛋白 A_Ⅱ1 型占 82%, 载脂蛋白 A_Ⅱ2 型占 8%, 载脂蛋白 A_Ⅱ3 型占 8%。5 个位点都无突变为载脂蛋白 A_Ⅱ1 型, c.-3A> G 这个位点与 1-3 连锁不平衡,这 4 个位点突变构成的单倍型被命名为载脂蛋白 A_Ⅱ2 型, -1131C 等位基因是 2 型的标志, c. 56C> G 突变导致 19 号位置的丝氨酸变成色氨酸,它在白人中的比例也占 15%,被命名为载脂蛋白 A_Ⅱ3 型,剩下的 7 个 SNPs 或者分布频率不高,或者是与甘油三酯含量没有显著联系而没被进一步研究。携带载脂蛋白 A_Ⅱ2 型和载脂蛋白 A_Ⅱ3 型等位基因人群血浆甘油三酯浓度较之正常人群高出约 30%。但在进一步的研究中发现-1131T> C、c. 56C> G 这两个位点的突变频率及对血浆甘油三酯浓度的影响因种族和性别不同而存在差异^[9,10]。Endo 等^[11]对日本血脂正常的学龄儿童-1131T> C 进行分析,结果带-1131C 等位基因的儿童血浆甘油三酯浓度高出 15%,说明载脂蛋白 A_Ⅱ对血浆

甘油三酯的影响是不依赖于年龄的,而且 SNP3 在日本人群中的分布频率较之其它种族更高,61% 的人至少携带 SNP3 的一个拷贝。在进行家族性高脂血症的研究中也发现,家族性高脂血症家族成员-1131C 基因分布频率及携带这个基因的成员血浆甘油三酯浓度都较对照组高^[12]。

5 载脂蛋白 A_Ⅱ的功能

载脂蛋白 A_Ⅱ与其它脂蛋白序列的相似性提示,它可能参与血脂的转运与代谢。结构研究也表明它含有一个输出信号肽序列,能使之从肝脏转移至血浆中。成熟的载脂蛋白 A_Ⅱ蛋白分子有几个双向螺旋区域,这些基序是脂结合蛋白分子的特性,有报道称小鼠的载脂蛋白 A_Ⅱ存在于高密度脂蛋白和极低密度脂蛋白中^[13],人类是否也如此尚待研究。

载脂蛋白 A_Ⅱ对血浆中甘油三酯的浓度有重要影响。van der Vliet 等^[14]将整合有人类载脂蛋白 A_Ⅱ的腺病毒感染小鼠,估计小鼠血浆中载脂蛋白 A_Ⅱ浓度增加了 20 倍,血脂检测发现被感染小鼠血浆甘油三酯含量比对照小鼠下降了 70%,这与转基因小鼠观察到的结果是一致的。感染腺病毒的小鼠同时观察到血浆胆固醇含量有 40% 下降,这些研究表明载脂蛋白 A_Ⅱ对血浆甘油三酯内环境的稳定起重要作用。

研究小鼠的载脂蛋白 A_Ⅱ时发现它在肝脏再生中起上调作用。van der vliet 等^[13]将小鼠的肝脏切除 70%, 6 h 后检测各种基因表达情况,发现载脂蛋白 A_ⅡmRNA 和血浆含量增加非常显著,是表达上升最多的基因之一,还被命名为 RAP3,分析载脂蛋白 A_Ⅱ在肝脏再生早期可能对脂吸收起抑制作用,以避免受损肝脏对脂质的超负荷吸收。

6 结语

载脂蛋白 A_Ⅱ是通过基因序列对比分析被发现的,这为我们发现新基因提供了一种思路。它的发现及已进行的系列研究极大地推动了血脂代谢和临床疾病的研究进展。载脂蛋白 A_Ⅱ对血浆甘油三酯浓度有重要影响,但它的作用机制尚需深入研究。

[参考文献]

- [1] Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *Cardiovasc Risk*, 1996, **3**: 213-219
- [2] 杨志明, 萧传实. 高甘油三酯—低高密度脂蛋白与冠状动脉病变. *中国动脉硬化杂志*, 2002, **10** (1): 59-61
- [3] Talmud PJ, Humphries SE. Apolipoprotein C- ϵ gene variation and dyslipidaemia. *Curr Opin Lipidol*, 1997, **8**: 154-158
- [4] 张国兵, 陈灏珠, 江智文, 温沁竹, 陆元善, 庄文燕. 载脂蛋白 E 基因多态性与冠心病的关系. *中国动脉硬化杂志*, 2001, **9** (4): 310-313
- [5] Kastelein JJ, Ordoas JM, Wittekoek ME. Two common mutations (D9N, N291S) in lipoprotein lipase: a cumulative analysis of their influence on plasma lipids and lipoproteins in men and women. *Clin Genet*, 1999, **56**: 297-305
- [6] Len AP, Olivier M, Hubacek JA, Jonathan CC, Cox DR, Jean CF. An Apolipoprotein influencing triglycerides in humans and mice revealed by comparative sequencing. *Science*, 2001, **294**: 169-173
- [7] Weinberg RB, Cook VR, Beckstead JA, Martin DD, Gallagher JW, Shelness GS,

- Structure and interfacial properties of human apolipoprotein A-V. *J Biol Chem*, 2003, **278** (36): 34 438-444
- [8] Vir-Dac N, Gervois P, Jakel H, Nowak M, Bauge E, Dehondt H. Apolipoprotein A (V) a Crucial Determinant of Plasma Triglyceride Levels, Is Highly Responsive to Peroxisome Proliferator-activated Receptor alpha Activators. *Biol Chem*, 2003, **278**: 17 982-985
- [9] Pennacchio LA, Olivier M, Hubacek JA, Krauss RM, Rubin EM, Cohen JC. Two independent Apolipoprotein A (V) haplotypes influence human plasma triglyceride levels. *Hum Mol Genet*, 2002, **11**: 3 031-038
- [10] Lai CQ, Tai ES, Tan CE. The Apolipoprotein A (V) locus is a strong determinant of plasma triglyceride concentrations across ethnic groups in Singapore. *Lipid Res*, 2003, **200**: 1 194-204
- [11] Endo K, Yanagi H, Araki J, Hirano C, Yamakawa-Kobayashi K, Tomura S. Association found between the promoter region polymorphism in the Apolipoprotein A-V gene and the serum triglyceride level in Japanese schoolchildren. *Hum Genet*, 2002, **111**: 570-572
- [12] Ribalta J, Figuera L, Fernandez-Ballart J, Vilella E, Masana L, Joven J. Newly identified Apolipoprotein AV gene predisposes to high plasma triglycerides in familial combined hyperlipidemia. *Clin Chem*, 2002, **48**: 1 597-600
- [13] Van der Vliet HN, Samuels MG, Leegwater AC, Levels JH, Reitsma PH, Boers W. Apolipoprotein A-V: a novel Apolipoprotein associated with an early phase of liver regeneration. *Biol Chem*, 2001, **276**: 44 512-520
- [14] Van der Vliet HN, Schaap FG, Levels JH, Ottenhoff R, Looije N, Wesseling JG. Adenoviral overexpression of Apolipoprotein A-V reduces serum levels of triglycerides and cholesterol in mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, **295**: 1 156-159
- (此文编辑 朱雯霞)

•读者•作者•编者•

《中国动脉硬化杂志》报道的疾病和诊治方法

- 1 肥胖症
 - 2 小儿肥胖病
 - 3 原发性高脂蛋白血症
 - 4 高脂血症
 - 5 原发性肺动脉高压症
 - 6 早老症
 - 6.1 弥漫性动脉粥样硬化
 - 6.2 冠状动脉栓塞
 - 7 冠状动脉粥样硬化性心脏病
 - 7.1 原发性心跳骤停
 - 7.2 心绞痛
 - 7.3 心肌梗死
 - 7.4 冠状动脉性心力衰竭
 - 7.5 缺血性心律失常
 - 8 动脉硬化症
 - 8.1 颈动脉硬化症
 - 8.2 肾动脉硬化
 - 8.3 动脉硬化性主动脉瘤
 - 8.4 动脉硬化性闭塞症
 - 8.5 动脉硬化性周围动脉缺血
 - 9 高血压病
 - 10 周围血管疾病
 - 10.1 血栓闭塞性脉管炎
 - 10.2 雷诺综合征
 - 10.3 手足紫绀症
 - 10.4 急性动脉栓塞
 - 10.5 肢端动脉痉挛病
 - 11 伯格氏病
 - 12 短暂性脑缺血发作
 - 12.1 黑矇
 - 12.2 视野异常
 - 13 脑梗死
 - 13.1 脑血栓形成
 - 13.2 脑血管栓塞
 - 13.3 腔隙性脑梗死
 - 13.4 多发梗死性痴呆
 - 14 脑动脉硬化症
 - 15 动脉硬化性精神病
 - 16 其他缺血性脑血管疾病
 - 17 粥样栓塞性肾病
 - 18 肾动脉血栓形成或栓塞
 - 19 糖尿病合并心血管疾病
 - 19.1 糖尿病并发冠心病
 - 19.2 糖尿病性心肌梗死
 - 19.3 糖尿病并发血管病变
 - 20 血管疾病的影像学诊断
 - 21 血管疾病的手术疗法
 - 21.1 动脉旁路移植术
 - 21.2 动脉内膜切除术
 - 21.3 激光心肌内血管重建术
 - 21.4 经皮腔内血管成形术
 - 21.5 其它血管手术
 - 22 血管疾病的基因疗法
 - 23 代谢综合征
 - 24 冠状动脉综合征
- (胡必利编写)