

# 低密度脂蛋白受体功能及其影响因素研究进展

陈 芬<sup>1</sup>综述; 王绿娅<sup>2</sup>, 尹卫东<sup>1</sup>审校

(1. 南华大学心血管病研究所, 湖南省衡阳市 421001;

2. 北京市心肺血管疾病研究所动脉粥样硬化研究室, 北京市 100029)

[关键词] 病理学与病理生理学; 低密度脂蛋白受体; 综述; 受体功能; 影响因素

[摘要] 低密度脂蛋白受体是一种细胞表面糖蛋白, 主要功能是结合低密度脂蛋白或其它含载脂蛋白 B100 及载脂蛋白 E 的脂蛋白, 然后内吞入细胞, 在胆固醇代谢中起关键作用, 但其功能受遗传、内分泌等多种因素的综合影响; 同时, 各种遗传和环境因素也可从转录、转录后等不同水平调节低密度脂蛋白受体的表达。研究证实, 提高和促进低密度脂蛋白受体基因表达, 可使血中低密度脂蛋白水平降低; 反之, 则低密度脂蛋白水平升高。本文提出应积极在低密度脂蛋白受体基因表达与调控水平提高其功能, 预防高胆固醇血症和动脉粥样硬化的发生。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)是一种细胞表面糖蛋白, 主要功能是结合并内吞 LDL, 在胆固醇代谢中起关键作用。当 LDLR 功能缺陷时可导致家族性高胆固醇血症(familial hypercholesterolemia, FH)及早发冠心病。近年来研究发现, 许多非 FH 患者也存在不同程度的 LDLR 数量不足及功能障碍, 进而血浆中低密度脂蛋白胆固醇水平升高, 动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)进展加速。这类患者的 LDLR 功能改变可能由轻微的遗传缺陷与环境因素共同引起。随着分子生物学技术的发展, 检测 LDLR 功能的方法相继问世, 对该基因表达与调控水平在 As 及冠心病发病中的作用认识水平不断提高, 一些旨在增强 LDLR 基因表达以降胆固醇的药物应运而生, 高胆固醇血症的治疗已从过去的对症治疗逐步发展到增强受体活性和基因替代疗法。因此对 LDLR 表达、功能及其影响因素的关注, 已成为近年来研究的一大热点。

## 1 低密度脂蛋白受体调控元件

低密度脂蛋白受体(LDLR)是一种跨膜糖蛋白, 位于细胞表面被膜凹的浆膜部位, 广泛分布于各种细胞和组织, 如肝细胞、成纤维细胞、血管平滑肌细胞、淋巴细胞、单核细胞及肾上腺、卵巢等, 它在肝脏和肾上腺皮质、睾丸、卵巢等甾源性组织的脂蛋白代谢中发挥重要作用, 其主要功能是参与 LDL 的代谢, 但各组织或细胞的 LDLR 活性差别很大<sup>[1]</sup>。

低密度脂蛋白受体启动子与参与胆固醇、甘油三酯代谢的几个关键调节酶基因的启动子相同, 均含有特定的核酸序

列固醇调控元件(sterol regulatory element, SRE), SRE-1 是固醇调节元件结合蛋白(sterol regulatory elements binding protein, SREBP)的结合位点。

人类 SREBP-2 基因定位于染色体 22q13, 在胆固醇代谢中起到至关重要的作用。肝脏中 LDLC 的摄取是通过 LDLR 完成。细胞表面 LDLR 数目由细胞内胆固醇通过 SREBP-2 进行负反馈调节。当细胞内胆固醇水平降低时, 引起 SREBP-2 蛋白水解暴露 SREBP-2 NH<sub>2</sub> 末端, NH<sub>2</sub> 末端与 SRE-1 结合, 通过与两个 Sp1 位点的协同作用, 促进 LDLR 的高效转录, LDLR 表达增加, 从而导致细胞对胆固醇的吸收增加<sup>[2]</sup>。另外研究发现 PP90RSK 和 PKC $\beta$  可通过激活 Raf-MEK-p42-44MAPK 途径促进 LDLR 的转录<sup>[3]</sup>。

最近研究发现细胞因子 oncostatin M (OM) 刺激 HepG2 细胞可增加 Egr1 和  $\sigma$ -EBP $\beta$  (固醇依赖性调节元件的组成成分) 结合于 LDLR 的水平。Egr1 可通过与  $\sigma$ -EBP $\beta$  相互作用这一新的蛋白质-蛋白质相互作用途径调节 LDLR 的转录<sup>[4]</sup>。

## 2 上调低密度脂蛋白受体转录的因素

固醇调节元件结合蛋白与 SRE 结合可促进 LDLR 的高效转录, 从而使胆固醇吸收增加, 降低 LDL 水平。胰岛素、甲状腺激素等可通过此途径上调 LDLR mRNA 水平, 使血浆 LDL 水平降低, 对冠心病的防治有积极意义。

### 2.1 胰岛素

Laurence Duvillard 等<sup>[5]</sup>选择 21 名血糖控制较差的 2 型糖尿病患者, 采用流式细胞术对比检测胰岛素治疗 3 个月前后单核细胞表面 LDLR 的数目, 结果表明, 与正常对照组相比, 2 型糖尿病患者于胰岛素治疗前 LDLR 表达减少 41%, 而治疗后 LDLR 数目增加了 57%, 达正常对照组水平。提示胰岛素可通过上调 LDLR mRNA, 增加 LDLR 在单核细胞表面的表达; 同时发现对 2 型糖尿病患者 LDLR 的调节可促进 LDL 分解代谢率的变化; 表明胰岛素在体内 LDLR 表达中起重要作用。研究发现, 胰岛素是通过促进 SREBP-1a 和 Sp1/Sp3 结合

[收稿日期] 2005-06-21

[修回日期] 2006-01-11

[基金项目] 国家自然科学基金(30470722); 北京市自然科学基金(7032012 和 7052021); 北京市科技新星项目(04B27)联合资助

[作者简介] 陈芬, 硕士研究生, 研究方向为脂代谢异常和动脉粥样硬化。通讯作者王绿娅, 研究员, 硕士研究生导师, 从事动脉粥样硬化病理生理学研究, E-mail 为 wangluya@sina.com。尹卫东, 教授, 博士研究生导师, 从事动脉粥样硬化病理生理学研究。

元件与其相应位点结合,使 LDLR 启动子转录活性增加,从而促进 LDLR 的转录。

## 2.2 甲状腺激素

Shin 等<sup>[6]</sup>发现 SREBP-2 基因受到甲状腺激素的调节。增强甲状腺功能能增加小鼠 SREBP-2 核蛋白水平,可导致依赖甲状腺激素途径激活的 LDLR 基因表达,高胆固醇血症得以改善,而对其他甲状腺激素调节基因未见明显影响。因此,甲状腺机能减退所导致的 LDLR 表达降低和胆固醇水平升高归因于甲状腺激素对 SREBP-2 的影响,并通过 SREBP-2 途径,增加 LDLR 的表达,最终使胆固醇的水平降低。

## 3 下调低密度脂蛋白受体转录的因素

研究发现氧化型 LDL(oxidant-LDL, ox-LDL)等可下调 LDLR mRNA,导致血浆 LDL 水平显著升高,促使 LDL 在血管壁沉积引发 As。此外 ox-LDL 可上调其受体,促进 As 斑块的形成<sup>[7]</sup>。研究发现,冠状动脉内皮细胞与 ox-LDL 共培养 3~24 h,LDLR 表达与 ox-LDL 呈负相关,且呈时间和浓度依赖性;而加入其受体抗体进行预处理,则可抑制 ox-LDL 对 LDLR 表达的影响;ox-LDL 可产生超氧阴离子,经维生素 E 处理后的内皮细胞可抑制超氧阴离子的形成并上调 LDLR 表达。结果表明,冠状动脉内皮细胞 LDLR 的表达,受到 ox-LDL 和其受体调节<sup>[8]</sup>。

## 4 影响低密度脂蛋白受体转录后水平的因素

Shioji 等<sup>[9]</sup>发现一种蛋白转化酶——枯草溶菌素 9 (proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, PCSK9) 基因编码神经细胞凋亡蛋白转换酶,该基因突变可导致严重的 FH 样临床表型,如胆固醇极度增高、皮肤肌腱黄色瘤和早发 As。文献[10]报道,发现食物中的胆固醇可下调 PCSK9 的表达。将腺病毒导入 PCSK9 基因在野生型 C57BL/6 小鼠体内过表达,与仅导入空腺病毒载体的小鼠相比,血浆总胆固醇提高 2 倍;而将相同剂量的人 PCSK9 基因重组腺病毒导入胆固醇水平原本较高的 LDLR 基因缺陷小鼠时,血脂水平并未见进一步增高,提示 PCSK9 基因过表达可增高血浆 LDLC 水平,但此过程依赖于 LDLR 的存在。Lalanne 等<sup>[11]</sup>的研究得出相似结论。进一步的体外实验证实,将人 PCSK9 基因导入培养的细胞,并未见 LDLR mRNA 水平改变,但 LDLR 蛋白表达却显著减少,且细胞对荧光标记的 LDL 内吞功能显著降低。上述研究表明,PCSK9 基因降低细胞表面 LDLR 蛋白并干扰 LDLR 介导的细胞对胆固醇的摄取,但有人认为 PCSK9 基因可能不是通过传统的固醇调节元件介导的转录途径调节 LDLR 表达,而是通过新的机制调节 LDLR 功能<sup>[10]</sup>。

## 5 低密度脂蛋白受体功能及其影响因素

### 5.1 低密度脂蛋白受体的结合功能

低密度脂蛋白由血浆中中间密度脂蛋白(middle density lipoprotein, IDL)转化而成,当 LDLR 功能受损时,IDL 清除也受到障碍,但 VLDL 仍正常分泌并以正常速率转化为 IDL,然

而 IDL 不能有效地被 LDLR 清除转化成 LDL<sup>[12,13]</sup>。因此 LDLR 缺陷不仅导致 LDL 清除降低,并且导致生成增加。

血浆中的胆固醇主要存在于 LDL 中,而 LDL 主要通过 LDLR 介导进入细胞降解成蛋白与胆固醇,细胞膜对游离胆固醇主要取决于细胞膜表面 LDLR 的数量及其活性。同时 LDL 中载脂蛋白 B(apolipoprotein)基因突变也可导致 LDL 与 LDLR 的结合减少而导致高胆固醇血症。但 Benn 等<sup>[14]</sup>最近研究发现,载脂蛋白 B R3480P 杂合子虽然 LDL 与 LDLR 结合减少,却表现为低  $\beta$  脂蛋白血症,推测与 LDLR 清除 IDL 代偿性增加而转化成 LDL 减少有关。

家族性高胆固醇血症是一类异质性非常高的单基因遗传性疾病,遗传方式包括显性和隐性两种,LDLR 是其主要的致病基因<sup>[15]</sup>,以血浆总胆固醇和 LDLC 水平增高、黄色瘤及早发冠心病为特征<sup>[16]</sup>。杂合子患者由于携带有一个正常和一个异常的等位基因,只能摄取约 1/2 正常量的 LDL,而加速 As 进程;纯合子患者其 LDLR 具有 2 个突变等位基因,完全或几乎完全不能摄取 LDL,通常于儿童期发生 As<sup>[17]</sup>。FH 患者病情的严重性与残余的 LDLR 活性紧密相关。通过调查发现即使携带同一 LDLR 突变的 FH 患者其血浆 LDL 水平也存在较大差异<sup>[18]</sup>。最近研究还发现携带  $\beta$  地中海贫血的 FH 患者与仅有 LDLR 突变的 FH 患者比较,其 LDLC 水平可下降 25%,推测与骨髓摄取 LDL 增加以促进红系祖细胞增殖和炎症因子增加 LDL 分解代谢有关<sup>[19]</sup>。

### 5.2 低密度脂蛋白受体内化功能

低密度脂蛋白受体(LDLR)在细胞内粗面内质网上合成,最初合成前体,合成后渐转移至高尔基体,成熟的 LDLR 逐渐转移至细胞表面呈非均匀分布,仅 20%~50% 分布在细胞表面,50%~80% 在被覆陷窝内聚集成簇,此陷窝被一种含脂的被覆蛋白所覆盖,其合成速度受到与细胞内胆固醇含量有关的反馈机制调节<sup>[11]</sup>。

Eden 等<sup>[20]</sup>发现,具有典型的纯合子 FH 特征常染色体隐性家族性高胆固醇血症 (autosomal recessive hypercholesterolemia, ARH),由定位于染色体 1p36 的 ARH 基因突变所导致。该病患者肝脏对 LDL 清除率显著降低,然而培养的成纤维细胞膜上 LDLR 功能接近于正常,患者淋巴细胞中发现并未有 LDLR 基因突变,而是存在 LDLR 依赖的 LDL 内化和降解的异常,将重组病毒的野生型 ARH 基因转染患者淋巴细胞后,摄取<sup>125</sup>I 标记的 LDL 的功能得到恢复,上述结果提示,ARH 基因与 LDLR 的内化途径有关。

文献[21]报道,在饲喂 4 周不含胆固醇饮食的 ARH 基因缺陷小鼠(ARH<sup>-/-</sup>鼠)仅发生轻度高胆固醇血症,当饲喂富含胆固醇的饮食后,血浆胆固醇升高数倍接近于饲喂相同饮食的 LDLR<sup>-/-</sup>鼠,表明 ARH<sup>-/-</sup>鼠与 LDLR<sup>-/-</sup>鼠对饲喂胆固醇饮食同样敏感。免疫组化分析 LDLR 在 ARH<sup>-/-</sup>小鼠肝脏的定位提示,ARH<sup>-/-</sup>小鼠肝脏 LDLR 表达水平正常,但隐藏在肝表面,这结果提示 ARH 蛋白是介导小鼠肝脏 LDLR 内在化的必要步骤。

常染色体隐性家族性高胆固醇血症蛋白的磷酸酪氨酸结合结构域结合于 LDLR 的胞内部分,如 ARH 发生突变会导

致 LDLR 无法与笼型蛋白形成被覆小凹进行再循环, 导致淋巴细胞和肝脏实质细胞表面结合 LDL 增加但是内吞显著减少, 但成纤维细胞 LDLR 活性接近于正常<sup>[21]</sup>。提示 ARH 患者的 LDLR 功能缺陷不仅为受体特异性并且为组织特异性<sup>[22]</sup>。

## 6 结语

低密度脂蛋白受体 (LDLR) 与体内 LDL 的代谢密切相关, 通过介导细胞摄取 LDL, 增加 LDL 的降解, 对于血浆 LDL 维持于一相对恒定水平具有重要作用。在 LDLR 结合、内化、降解和再循环过程中任一环节出现障碍, 均可能导致 LDL 积聚, 引发高胆固醇血症。同时, LDLR 受到不同因素、不同水平的调节, 本文指出提高和促进 LDLR 的表达, 能降低 LDL 水平, 从而调控血脂水平, 对冠心病的预防有积极意义。对 LDLR 表达及其功能的研究不仅为遗传性疾病的研究拓展了一新的领域, 也为基因替代治疗和增强受体活性的新药的开发带来光明的前景。

## [参考文献]

- [1] Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis [J]. *Science*, 1986, **232**: 34-47
- [2] Miserez AR, Muller PY, Barella L, Barella S, Staehelin HB, Leitersdorf E, et al. Sterol regulatory element-binding protein (SREBP)-2 contributes to polygenic hypercholesterolaemia [J]. *Atherosclerosis*, 2002, **164** (1): 15-26
- [3] Pullinger CR, Kane JP, Malloy MJ. Primary hypercholesterolemia: genetic causes and treatment of five monogenic disorders [J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2003, **1**: 107-119
- [4] Zhang F, Lin M, Abidi P. Specific interaction of Egr1 and c/EBPbeta leads to the transcriptional activation of the human low density lipoprotein receptor gene [J]. *J Biol Chem*, 2003, **278** (45): 44 246-254
- [5] Laurencé Duvillard, Emmanuel Florentin, Gérard Lizard, Jéar-Michel Pett, Franc, OiseGalland, et al. Cell surface expression of LDL receptor is decreased in type 2 diabetic patients and is normalized by insulin therapy [J]. *Diabetes-care*, 2003, **26** (5): 1 540-544
- [6] Shin DJ, Osborne TF. Thyroid hormone regulation and cholesterol metabolism are connected through sterol regulatory element-binding protein 2 (SREBP-2) [J]. *J Biol Chem*, 2003, **278** (36): 34 114-118
- [7] Enkhmaa B, Shiwaku K, Katsube T, Kitajima K, Anurad E, Yamasaki M, et al. Leaves and their major flavonol quercetin 3-(6-Malonylglucoside) attenuate atherosclerotic lesion development in LDL Receptor-deficient mice [J]. *J Nutr*, 2005, **135** (4): 729-734
- [8] Hu B, Li D, Sawamura T, Mehta JL. Oxidized LDL through LOX-1 modulates LDLReceptor expression in human coronary artery endothelial cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, **307** (4): 1 008-012
- [9] Shioji K, Mannami T, Kokubo Y, Inamoto N, Takagi S, Goto Y, et al. Genetic variants in PCSK9 affect the cholesterol level in Japanese [J]. *J Hum Genet*, 2004, **49** (2): 109-114
- [10] Maxwell KN, Breslow JL. Adenoviral-mediated expression of Pcsk9 in mice results in a low-density lipoprotein receptor knockout phenotype [J]. *PNAS*, 2004, **101** (18): 7 100-105
- [11] Lallanée F, Lambert G, Amar MJ, Chetiveaux M, Zair Y, Jarnoux AL, et al. Wild-type PCSK9 inhibits LDL clearance but does not affect apoB containing lipoprotein production in mouse and cultured cells [J]. *J Lipid Res*, 2005, **1** [Epub ahead of print]
- [12] Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis [J]. *Science*, 1986, **232**: 232-234
- [13] Goldstein JL, Kita T, Brown MS. Defective lipoprotein receptor and atherosclerosis: lesion from an animal counterpart of familial hypercholesterolemia [J]. *N Engl J Med*, 1983, **288**: 309
- [14] Benn M, Nordestgaard BG, Jensen JS, Nilasen K, Meinertz H, Tybjaerg-Hansen A. Mutation in apolipoprotein B associated with hypobetalipoproteinemia despite decreased binding to the LDL receptor [J]. *J Biol Chem*, 2005, **28**: [Epub ahead of print]
- [15] 王绿娅, 蔺洁, 刘舒, 陈保生. 家族性高胆固醇血症样表型遗传异质性的分子基础[J]. *遗传学报*, 2005, **32** (7): 772-773
- [16] 王绿娅. 家族性高胆固醇血症基础与临床研究进展. 见: 杨永宗. 动脉粥样硬化性心血管病——基础与临床. 北京: 科学出版社, 2004; 437-459
- [17] Bertolini S, Cantafora A, Averna M, Cortese C, Motti C, Martini S, et al. Clinical expression of familial hypercholesterolemia in clusters of mutations of the LDL receptor gene that cause a receptor defective or receptor-negative phenotype [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **20**: E41252
- [18] Naoumova RP, Neuwirth C, Lee P, Miller JP, Taylor KC, Soutar AK. Autosomal recessive hypercholesterolaemia: long-term follow up and response to treatment [J]. *Atherosclerosis*, 2004, **174**: 165-172
- [19] Calandra S, Bertolini S, Pes GM, Deiana L, Tarugi P, Pisciotto L, et al. Beta-thalassemia is a modifying factor of the clinical expression of familial hypercholesterolemia [J]. *Semin Vasc Med*, 2004, **4** (3): 271-278
- [20] Eden ER, Patel DD, Sun XM, Burden JJ, Themis M, Edwards M, et al. Restoration of LDL receptor function in cells from patients with autosomal recessive hypercholesterolemia by retroviral expression of ARH1 [J]. *J Clin Invest*, 2002, **110** (11): 1 695-702
- [21] Cohen JC, Kimmel M, Polanski A, Hobbs HH. Molecular mechanisms of autosomal recessive hypercholesterolemia [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2003, **14** (2): 121-127
- [22] Garcia CK, Wilund K, Arca M, Zuliani G, Fellin R, Maioli M, et al. Autosomal recessive hypercholesterolemia caused by mutations in a putative LDL receptor adaptor protein [J]. *Science*, 2001, **292**: 1 394-398

(此文编辑 胡必利)