

载脂蛋白 A5 研究现状

龙 晓 综 述, 李向平 审 校

(中南大学湘雅二医院心内科, 湖南省长沙市 410011)

[关键词] 分子生物学; 载脂蛋白 A5; 甘油三酯; 脂蛋白脂酶; 基因多态性; 冠心病

[摘 要] 载脂蛋白 A5 是载脂蛋白家族的新成员。载脂蛋白 A5 基因多态性可以影响血浆甘油三酯水平, 这种作用可能是通过调节肝脏极低密度脂蛋白的合成和促进极低密度脂蛋白分解来实现的。载脂蛋白 A5 可能是脂蛋白脂酶的激活剂, 其可加强结合在蛋白多糖上的脂蛋白脂酶对极低密度脂蛋白和乳糜微粒的水解作用。载脂蛋白 A5 基因多态性可能是冠心病新的危险因子。

[中图分类号] Q7

[文献标识码] A

载脂蛋白 A5 (apolipoprotein A5, ApoA5) 是 2001 年由两个独立的课题小组同时发现的载脂蛋白家族的新成员^[1,2]。动物实验和人体研究表明载脂蛋白 A5 有调节血浆甘油三酯 (triglyceride, TG) 代谢的作用, 载脂蛋白 A5 的基因变异可导致血浆 TG 水平增高。载脂蛋白 A5 对脂代谢影响的作用机制及载脂蛋白 A5 基因变异与心血管病之间的关系是近年来研究的热点。本文对载脂蛋白 A5 的研究现状作一综述。

1 载脂蛋白 A5 概述

1.1 载脂蛋白 A5 基因

载脂蛋白 A5 基因定位于 11q23 染色体上, 与载脂蛋白 A1/C3/A4 基因簇相距约 30 kb, 与小鼠载脂蛋白 A5 基因同源性达 71%, 与人载脂蛋白 A4 基因同源性达 27%。该基因全长 1 889 bp, 有 4 个外显子和 3 个内含子。目前为止 NCBI 共收录了载脂蛋白 A5 基因内及其附近区域的 16 个单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNP) 位点。Pennacchio 等^[3]根据 5 个多态性位点定义了 3 种常见的单倍型: 5 个位点都无单核苷酸变异称为载脂蛋白 A5 1 型; c. - 3A> G 与 c. 1259T> G、IVS3+ 476G> A、- 1131T> C 连锁不平衡构成载脂蛋白 A5 2 型, - 1131C 等位基因是载脂蛋白 A5 2 型的标志; c. 56C> G (S19W) 是 C 到 G 的非同义替换, 导致 19 号位置的丝氨酸变成色氨酸, 被命名为载脂蛋白 A5 3 型。

1.2 载脂蛋白 A5 蛋白

载脂蛋白 A5 平均分子量 38 905 Da, 由 343 个氨基酸组成, 主要在肝脏中合成, 有信号肽和二级螺旋结构, 有比载脂蛋白 A4 更高的球形疏水区, 有更强的表面排斥力、高脂质亲和力和低弹性。人血清载脂蛋白 A5 浓度为 24~ 406 μg/L, 主要分布在极低密度脂蛋白 (very low density lipoprotein, VLDL)、高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 和乳糜微粒中^[4]。

2 载脂蛋白 A5 对血脂的影响

研究表明载脂蛋白 A5 主要影响血浆 TG 代谢, 载脂蛋白 A5 基因变异与血浆 TG 水平增高及家族性混合型高脂血症有关, 血浆载脂蛋白 A5 浓度与 TG 浓度呈负相关, 提示载脂蛋白 A5 有降 TG 的作用。载脂蛋白 A5 对其它血脂成分的影响目前尚无定论。

2.1 载脂蛋白 A5 对血浆甘油三酯水平的影响

动物实验表明, 过度表达载脂蛋白 A5 的转基因鼠血浆 TG 浓度比对照组降低 65%, 而载脂蛋白 A5 敲除鼠的 TG 水平比对照组增高 4 倍, 这两种小鼠模型的总胆固醇 (total cholesterol, TC) 和高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDLC) 的浓度均没有明显变化^[1]。研究发现 TG 水平变化主要是由于血中 VLDL 变化所致。另有研究显示, 带载脂蛋白 A5 腺病毒载体小鼠的血浆 TG 和 TC 浓度分别降低了 70% 和 40%, 原因是载脂蛋白 A5 过度表达后极大地降低了 VLDL 的比例, 从而降低 TG 水平, 也使脂蛋白中的胆固醇减少, 其中 HDL 中的胆固醇降低幅度最大, 从而使血浆 TC 浓度降低^[5]。在人类的研究表明, 载脂蛋白 A5 不同位点的多态性与 TG 水平相关联, 携带稀有等位基因个体的 TG 水平增高。Pennacchio 等^[1]根据统计学上的第 90 百分位数和第 10 百分位数选取高脂人群和低脂人群, 比较发现高 TG 人群中 - 1131T> C 杂合子个体所占比例为 21.7%, 低 TG 人群中 - 1131T> C 杂合子个体所占比例为 6.7%。Klos 等^[6]选择了 18~ 30 岁的美国黑人 (女性 1 075 人, 男性 783 人) 和白人 (女性 1 041 人, 男性 932 人) 研究载脂蛋白 A5 的 16 个多态性位点与 TG 水平的关系, 结果发现在白人中不论是男性还是女性, TG 都与 27376、28837 (- 3A/G) 显著相关 ($P < 0.01$); 白人女性的 TG 水平与 27709 (- 1131T/C) 相关, 白人男性与 29085 相关; 在美国黑人中, 无论男女 TG 都与 29009 (S19W) 相关, 女性 TG 还与 30966 相关, 男性 TG 与 30966 无明显相关关系。这 6 个多态性位点能解释白人女性 TG 变化的 0%~ 0.78%, 白人男性 TG 变化的 0%~ 2.46%, 美国黑人女性 TG 变化的 0%~ 0.69%。该研究结果表明载脂蛋白 A5 多态性对年青健康个体的 TG 水平有影响。另一

[收稿日期] 2006-02-13

[修回日期] 2006-08-29

[作者简介] 龙晓, 硕士研究生, 研究方向为动脉粥样硬化的发病机制与防治, E-mail 为 longxiao97@163.com。通讯作者李向平, 教授, 硕士研究生导师, 主要研究方向为冠心病的防治, E-mail 为 lixp@med-mail.com.cn。

项涉及三组人群的研究^[3]发现,第一组人群(为 264 名高加索人)载脂蛋白 A5 3 型个体比载脂蛋白 A5 1 型个体 TG 高 3 倍;第二组人群(为 419 名高加索人)不论是随机饮食、高脂饮食还是高碳水化合物饮食,载脂蛋白 A5 3 型都有升高 TG 的作用;第三组人群(为 2 660 名随机个体)载脂蛋白 A5 3 型在高加索人中占 12%,在美国黑人中占 14%,在西班牙人中占 28%。由此可见-1131T>C 和 c.56C>G 多态性在不同种族人群中均有升高 TG 的作用。LOCAT 研究^[7]发现,-1131C 等位基因携带者 TG 水平比-1131TT 纯合子高,主要是 VLDL(VLDL-TG、VLDLC、VLDL 蛋白和表面脂质)增加,载脂蛋白 B 的水平不受影响。这提示 VLDL 增加是因为 VLDL 的体积增大而不是数量增多。新近 Oliva 等^[8]观察到遗传性载脂蛋白 A5 基因缺陷会引起严重的高 TG 血症。

为进一步探讨血清载脂蛋白 A5 蛋白浓度对血脂代谢的影响,Ishihara 等^[9]用酶联免疫吸附法测得 196 名健康个体血清载脂蛋白 A5 浓度为 $179.2 \pm 74.5 \mu\text{g/L}$,女性高于男性($P < 0.005$),载脂蛋白 A5 与 TG 浓度呈负相关($r = -0.22$, $P = 0.021$),提示载脂蛋白 A5 有降 TG 的作用。

2.2 载脂蛋白 A5 调节血浆甘油三酯代谢的作用机制

大量研究已证实载脂蛋白 A5 是影响 TG 代谢的一个关键因素,但载脂蛋白 A5 调节 TG 代谢的作用机制尚未完全阐明。目前认为载脂蛋白 A5 主要通过以下途径影响 TG 代谢:阻碍肝脏中 VLDL 的装配,使 VLDL 分泌减少;④脂蛋白脂酶(lipoprotein lipase, LPL)是 TG 代谢中的关键酶,载脂蛋白 A5 可能作为 LPL 的激活剂促进 TG 分解;⑤促进肝脏摄取脂质颗粒,增强 VLDL 与低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)受体的亲和力。Schaap 等^[10]给 C57BL/6 鼠静脉注射小剂量载脂蛋白 A5 腺病毒载体[(1~5) × 10⁸ pfu]后,测得血浆 TG、TC 降低;肝脏 VLDL-TG 分泌率降低 29%~37% ($P < 0.01$),而 VLDL 的生成率不变,提示载脂蛋白 A5 抑制载脂蛋白 B 的酯化反应;餐后 TG 降低 68%~88%,提示载脂蛋白 A5 增加了 LPL 对富含甘油三酯脂蛋白(TG-rich lipoproteins, TRL)的清除。体外试验发现,重组的载脂蛋白 A5 使 LPL 活性增高 2~3 倍,在鼠的骨骼肌和脂肪组织中,类似 VLDL 的富含 TG 颗粒清除加速,来源于 TG 的脂肪酸颗粒摄取增加。由此推测载脂蛋白 A5 可能是 LPL 的激活物,可以减少肝脏 VLDL-TG 的产生,增强 LPL 对 TRL 的水解从而降低 TG。Grosskopf 等^[11]用缺乏载脂蛋白 A5(ApoA5^{-/-})的小鼠进一步研究了载脂蛋白 A5 对 TG 的影响,结果发现 ApoA5^{-/-}鼠 TG 增高,VLDL 中 TG 较对照组增高 4.6 倍($P = 0.001$),VLDL 颗粒体积增大,TRL、乳糜微粒及乳糜微粒残粒的清除速度下降,LPL 活性降低 87%,对 TG 的水解降低 10 倍,而 TG 的产生率与对照组无明显差别。Marcais 等^[12]在对家族性高脂血症的研究中发现,Q139X 突变导致载脂蛋白 A5 异常患者 VLDL 分解代谢率下降,VLDL-载脂蛋白 B 的分解代谢率比正常人降低 22~26 倍,LPL 活性降低。上述研究结果提示载脂蛋白 A5 可能通过减少肝脏 VLDL 的分泌和增加 TRL 的清除使血中 TG 水平降低。

Merkel 等^[13]在对载脂蛋白 A5 转基因鼠的研究中发现,

载脂蛋白 A5 不影响肝内 VLDL 和肠内乳糜微粒的产生,他们观察到 LPL 对 TG 的酯解增强,乳糜微粒和 VLDL 的分解代谢增加。他们用转 LPL 的载脂蛋白 A5 敲除鼠和缺乏 LPL 的载脂蛋白 A5 转基因鼠进一步观察载脂蛋白 A5 与 LPL 间的作用,结果发现在有高活性 LPL 的载脂蛋白 A5 敲除鼠中 TG 水平明显减低,而缺乏 LPL 的载脂蛋白 A5 转基因鼠 TG 水平只有轻微下降。可见在缺乏 LPL 的情况下载脂蛋白 A5 对 TG 没有显著影响,提示载脂蛋白 A5 对 TG 的调节作用是通过 LPL 实现的。他们还观察到载脂蛋白 A5 与 LPL 的作用需要细胞表面蛋白多糖的参与,在缺乏蛋白多糖的情况下,不论是从转基因鼠 TRL 中获得的载脂蛋白 A5 还是体外重组的载脂蛋白 A5 都不能对 LPL 的水解作用产生影响;而在蛋白多糖存在的情况下,载脂蛋白 A5 显著增强 LPL 对 TG 的水解,说明载脂蛋白 A5 的降 TG 效应是通过加强结合在蛋白多糖上的 LPL 对 VLDL 和乳糜微粒水解实现的。

2.3 载脂蛋白 A5 对其它血脂成分的影响

Lee 等^[14]对 537 名高加索人群进行研究,对用于区分常见的三种单倍型的-1131T>C 和 c.56C>G 两个多态性位点进行研究,结果发现载脂蛋白 A5 1 型 TG 水平降低、HDL 水平升高,载脂蛋白 A5 2 型和 3 型 TG 升高、HDL 下降。Grosskopf 等^[11]在研究中发现,载脂蛋白 A5 缺乏使血清 TC 水平升高,HDL 中胆固醇增高 41%,TG 增高 38%。蛋白定量分析^[9]则显示载脂蛋白 A5 的浓度与血清 HDLC 呈正相关($r = 0.32$, $P < 0.0001$)。提示载脂蛋白 A5 对 HDL 代谢可能也有影响。但各项研究结果尚不一致。

3 载脂蛋白 A5 基因多态性与冠心病

近年国内外已有一些载脂蛋白 A5 基因多态性与冠心病易感性关系的报道,但结论尚不一致。毕楠等^[15]对中国北方汉族 312 例冠心病人群和 317 例健康人群的研究发现,冠心病组-1131T>C 等位基因频率明显高于对照组(39.9%比 33.3%, $P = 0.02$),CC 纯合子患冠心病的风险是 TT 纯合子的 1.93 倍(OR=1.93,95%CI 为 1.12~3.32),-1131T>C 多态性增加冠心病风险的效应独立于载脂蛋白 C3-382C>T;而且冠心病组 CC 纯合子的 TG 水平明显高于 TC 杂合子,TT 纯合子 TG 水平最低($P < 0.01$)。说明-1131T>C 多态性在冠心病人群中与血脂水平也有密切关系,C 等位基因可升高 TG 水平,与 TT 纯合子比,冠心病易感性增高。Hubacek 等^[16]对包括 1 191 名男性、1 368 名女性捷克斯洛伐克人群载脂蛋白 A5 基因多态性与血脂水平和心肌梗死危险性关系进行了研究,观察到无论是男性还是女性,-1131T>C 多态性个体的 TG 比 TT 纯合子高($P < 0.001$),W19 携带者 TG 显著高于 S19 携带者;在 435 名心肌梗死病人中,-1131T>C 和 S19>W 位点的频率高于正常人(7.4%比 2.0%, $P < 0.0001$)。Szalai 等^[17]在对匈牙利的 308 名冠心病患者和 301 名正常人的研究中发现,冠心病人群-1131C 等位基因频率明显高于对照组[10.9%比 5.7%; $P < 0.001$, OR=1.99(1.30~3.04)]。用 logistic 回归模型调整年龄、性别、糖尿病情况、体质指数、吸烟、LDLC、HDL 和高血压等危险因素后,载脂蛋

白 A5 的 1131T> C 等位基因携带者仍有较高的冠心病危险性 [$P < 0.001$, OR = 1.98 (1.14~3.48)], 提示 1131T> C 等位基因是冠心病的独立危险因素。

LOCAT^[7] 研究发现, 携带载脂蛋白 A5-1131C 等位基因的男性虽 TG 增高, 但冠心病的风险并不增大; 携带 56G 等位基因的男性中密度脂蛋白 (intermediate density lipoprotein, IDL) 浓度增高, 有易患冠心病的趋势。Framingham 心脏研究^[18] 发现, 携带-1131C 等位基因的女性 TG 明显增高, TC、IDL、VLDL 明显增高, 冠心病风险提高 2 倍; 而男性的研究结果与 LOCAT 相似, -1131C 等位基因携带者 TC、IDL、VLDL 和 HDL 增高, 56G 等位基因携带者 TG、IDL、VLDL 增高, 两种等位基因在男性都与冠心病无相关关系。Lee 等^[14] 对 537 名高加索人群进行研究则认为载脂蛋白 A5 多态性和单倍型与冠心病无关。

上述研究结果的不同可能与等位基因在不同人群中的表达不同有关。等位基因的表达可能与环境、饮食、吸烟、生活方式等有关, 如果对环境因素进行校正, 可能会得到更为客观的结果。此外, 样本特征、实验方法、观察手段等造成的系统误差也可能对实验结果造成影响。尽管目前多数观点认为载脂蛋白 A5 基因多态性可能是冠心病新的危险因子, 但它们与冠心病易感性的确切关系仍有待进一步研究。

4 小结

载脂蛋白 A5 与血 TG 代谢密切相关, 它可能通过减少 VLDL 的分泌、促进 VLDL 分解而降低 TG 水平, 但具体作用机制尚待进一步阐明。目前多数研究主要集中在载脂蛋白 A5 基因多态性与血脂及冠心病的关系方面, 有关载脂蛋白 A5 蛋白方面的研究报道还很少。不少研究提示载脂蛋白 A5 基因多态性可能与冠心病的易感性相关, 但在不同人群中的研究结果尚不一致, 仍需进一步研究证实。由于载脂蛋白 A5 基因变异明显影响血浆 TG 水平, 所以其基因多态性位点的检测可能成为高 TG 血症的预警指标, 载脂蛋白 A5 基因多态性位点也可能成为未来基因治疗的靶点。

[参考文献]

- [1] Pennacchio LA, Olivier M, Hubacek JA, Cohen JC, Cox DR, Fruchart JC, et al. An apolipoprotein influencing triglycerides in humans and mice revealed by comparative sequencing [J]. *Science*, 2001, **294** (5540): 169-173
- [2] van der Vliet HN, Samuels MG, Leegwater AC, Levels JH, Reitsma PH, Boers W, et al. Apolipoprotein A-V: a novel apolipoprotein associated with an early phase of liver regeneration [J]. *J Biol Chem*, 2001, **276** (48): 44 512-520
- [3] Pennacchio LA, Olivier M, Hubacek JA, Krauss RM, Rubin EM, Cohen JC. Two independent apolipoprotein A5 haplotypes influence human plasma triglyceride

- levels [J]. *Human Molecular Genetics*, 2002, **11** (24): 3 031-038
- [4] O'Brien PJ, Alborn WE, Sloan JH, Ulmer M, Boodhoo A, Knieman MD, et al. The novel apolipoprotein A5 is present in human serum, is associated with VLDL, HDL, and chylomicrons, and circulates at very low concentrations compared with other apolipoproteins [J]. *Clin Chem*, 2005, **51** (2): 351
- [5] 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 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, **295** (5): 1 156-159
- [6] Klos KL, Hamon S, Clark AG, Boerwinkle E, Liu K, Sing CF. APOA5 polymorphisms influence plasma triglycerides in young, healthy African Americans and whites of the CARDIA Study [J]. *J Lipid Res*, 2005, **46** (3): 564-571
- [7] Talmud PJ, Martin S, Taskinen MR, Frick MH, Nieminen MS, Kesaniemi YA, et al. APOA5 gene variants, lipoprotein particle distribution, and progression of coronary heart disease: results from the LOCAT study [J]. *J Lipid Res*, 2004, **45** (4): 750-756
- [8] Oliva CP, Pisciotto L, Li Volti G, Sambataro MP, Cantafora A, Bellocchio A, et al. Inherited apolipoprotein A-V deficiency in severe hypertriglyceridemia [J]. *American Heart Association Inc*, 2005, **25** (2): pp 411-417
- [9] Ishihara M, Kujiraoka T, Iwasaki T, Nagano M, Takano M, Ishii J, et al. A sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for human plasma apolipoprotein A-V concentration [J]. *J Lipid Res*, 2005, **46** (9): 2 015-022
- [10] Schaap FG, Rensen PC, Voshol PJ, Vrin C, van der Vliet HN, Chamuleau RA, et al. ApoAV reduces plasma triglycerides by inhibiting very low density lipoprotein triglyceride (VLDL-TG) production and stimulating lipoprotein lipase-mediated VLDL-TG hydrolysis [J]. *J Biol Chem*, 2004, **279** (27): 27 941-947
- [11] Grosskopf I, Barouk N, Lee SJ, Kamari Y, Harats D, Rubin EM, et al. Apolipoprotein A-V deficiency results in marked hypertriglyceridemia attributable to decreased lipolysis of triglyceride-rich lipoproteins and removal of their remnants [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **25** (12): 2 573-579
- [12] Marçais C, Vergès B, Charrière S, Pruneta V, Merlin M, Billon S, et al. ApoA5 Q139X truncation predisposes to late-onset hyperchylomicronemia due to lipoprotein lipase impairment [J]. *J Clin Invest*, 2005, **115**: 2 862-869
- [13] Merkel M, Loeffler B, Kluger M, Fabig N, Geppert G, Pennacchio LA, et al. Apolipoprotein AV accelerates plasma hydrolysis of triglyceride-rich lipoproteins by interaction with proteoglycan-bound lipoprotein lipase [J]. *J Biol Chem*, 2005, **280** (22): 21 553-560
- [14] Lee KW, Ayyobi AF, Frohlich JJ, Hill JS. APOA5 gene polymorphism modulates levels of triglyceride, HDL cholesterol and FERHDL but is not a risk factor for coronary artery disease [J]. *Atherosclerosis*, 2004, **176** (1): 165-172
- [15] 毕楠, 鄢盛恺, 李国平, 尹志农, 薛红, 吴刚, 等. 冠心病患者载脂蛋白 A5 和载脂蛋白 C3 基因多态性的研究 [J]. *中华心血管病杂志*, 2005, **2**: 116-121
- [16] Hubacek JA, Skodova Z, Adamkova V, Lanska V, Poledne R. The influence of APOA5 polymorphisms (T-1131> C and S19> W) on plasma triglyceride levels and risk of myocardial infarction [J]. *Clin Genet*, 2004, **65** (2): 126-130
- [17] Szalai C, Keszei M, Duba J, Prohászka Z, Kozma GT, Csaszar A, et al. Polymorphism in the promoter region of the apolipoprotein A5 gene is associated with an increased susceptibility for coronary artery disease [J]. *Atherosclerosis*, 2004, **173** (1): 109-114
- [18] Lai CQ, Demissie S, Cupples LA, Zhu Y, Adiconis X, Parnell LD, et al. Influence of the APOA5 locus on plasma triglyceride, lipoprotein subclasses, and CVD risk in the Framingham Heart Study [J]. *J Lipid Res*, 2004, **45**: 2 096-105

(此文编辑 许雪梅)