

•文献综述•

[文章编号] 1007-3949(2007)15-04-0318-03

载脂蛋白 M 抗动脉粥样硬化机制的研究进展

黄贤圣 综述, 赵水平 审校

(中南大学湘雅二医院心血管内科, 湖南省长沙市 410011)

[关键词] 内科学; 载脂蛋白 M; 动脉粥样硬化; 高密度脂蛋白; 胆固醇逆转运

[摘要] 载脂蛋白 M 是新近发现的一种脂质转运蛋白, 是高密度脂蛋白的组成成分, 特异表达于肝脏和肾脏。研究表明, 载脂蛋白 M 具有抗动脉粥样硬化作用, 其相关机制可能涉及胆固醇逆转运、炎症以及糖尿病防治等。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

载脂蛋白 M 是 1999 年由 Xu 等^[1] 在研究富含甘油三酯脂蛋白 (triglyceride rich lipoproteins, TGRLP) 时发现的一种不同于以往的脂质转运蛋白类蛋白, 因其结构符合载脂蛋白的分类标准, 故将其命名为载脂蛋白 M。新近的研究表明, 载脂蛋白 M 作为高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 颗粒的一个组成成分, 可能具有抗动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 作用。近年来, 有关载脂蛋白 M 抗 As 相关作用机制的研究取得了较大的进展。

1 载脂蛋白 M 的结构、表达和调控

人类载脂蛋白 M 分子量约为 26 kDa, 基因定位于 6 号染色体短臂 6p21.3, 鼠为 7 号染色体, 其 cDNA 全长为 734 bp, 编码 188 个氨基酸残基。血浆中的载脂蛋白 M 主要存在于 HDL 颗粒中, 仅有极小部分存在于 TGRLP 和低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 中, 故被认为是 HDL 的一个组成成分。载脂蛋白 M 属于脂质转运蛋白超家族, 具有该家族成员类似的分子结构。三维模型显示, 载脂蛋白 M 分子的空间结构表现为 8 股反向 β 折叠片段, 并在 135 天冬氨酸上存在一个潜在的糖基化位点, 该位点发生糖基化后可在其 N 末端和紧邻 β 折叠的开放处形成两个较强的酸性基团。N 末端存在一个由 20 个氨基酸序列组成的信号肽, 该信号肽序列类似于跨膜蛋白中的跨膜区, 并可通过其形成的疏水区域, 介导载脂蛋白 M “锚着”于脂蛋白颗粒的单层磷脂上^[1-6]。

载脂蛋白 M 的表达具有高度的组织特异性。多组织表达阵列研究显示, 人类载脂蛋白 M 特异表达于肝和肾中, 而免疫组织化学染色及载脂蛋白 M mRNA 原位杂交更进一步显示, 载脂蛋白 M 专一表达于肝细胞和肾小管上皮细胞中^[7-9]。由此可推断, 载脂蛋白 M 可能与肝和肾的相关机能活动存在密切关系。尽管目前对载脂蛋白 M 的调控机制还不清楚, 但近来的研究表明, 多种生物活性因子可能参与该蛋白的表达和调控。细胞或动物模型试验表明, 胰岛素、瘦素、血小板活化因子 (platelet activating factor, PAF)、肝细胞核

因子 1 α (hepatocyte nuclear factor-1 α , HNF-1 α) 以及甲基泼尼松龙等均可上调载脂蛋白 M mRNA 的表达及其分泌^[10-15], 相反, 磷脂酰肌醇-3 激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, I3K)、胰岛素样生长因子 I (insulin-like growth factor-I, IGF-I) 和转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 则抑制其表达和分泌^[16, 17]。值得一提的是, 瘦素对载脂蛋白 M 的调节似乎颇为复杂, 出现了体内和体外试验不一致的结果。Xu 等发现瘦素缺失和瘦素受体缺失小鼠中的载脂蛋白 M mRNA 表达水平较正常对照组鼠明显降低, 且在瘦素缺失鼠注射瘦素后, 肝肾中的载脂蛋白 M mRNA 水平及血浆中载脂蛋白 M 浓度都明显升高^[11]。此外, 人体内载脂蛋白 M 和瘦素相关性研究同样表明, 两者在血浆中的浓度水平呈高度正相关^[12]。然而, 令人费解的是, Luo 等^[18] 在其体外实验中却发现, 超过生理剂量的重组瘦素能够明显抑制肝癌细胞株 (HepG2) 细胞中载脂蛋白 M 的转录, 并呈剂量依赖性, 而且瘦素的这种抑制作用即使是在生理浓度时也同样存在, 但未发现瘦素对其他载脂蛋白 (如载脂蛋白 A iv、E 和 B) 有任何调节作用。由此可见, 瘦素可能是参与载脂蛋白 M 表达调节的一个重要因子, 但其确切机制还有待进一步研究。

2 载脂蛋白 M 抗动脉粥样硬化的证据

焦国庆等^[19] 应用 Dot Blotting 技术检测并比较了冠心病患者和健康人群血浆载脂蛋白 M 水平, 发现健康人群血浆载脂蛋白 M 与 HDL 胆固醇 (HDL cholesterol, HDLC) 及 HDLC/载脂蛋白 A iv 呈正相关, 而冠心病患者血浆载脂蛋白 M 与载脂蛋白 A iv、LDL 胆固醇 (LDL cholesterol, LDLC) 及 LDLC/载脂蛋白 B 呈负相关, 提示载脂蛋白 M 可能是冠心病的一种保护因素。Wolfrum 等^[20] 的动物模型试验更是有力地证明了这一点, 将腺病毒表达的重组载脂蛋白 M (recombinant adenovirus expressing apolipoprotein M, Ad-apoM) 注入经高胆固醇饮食喂养的 LDL 受体缺失鼠 (mice deficient in the LDL receptor, LDLR^{-/-}), 以造成其体内的载脂蛋白 M 过表达, 结果发现血浆中 HDLC 上升达 40%。同时, 主动脉根横切面分析和胸主动脉表面分析显示, 经 Ad-apoM 处理后的 LDLR^{-/-}, 其主动脉根和胸主动脉两处的 As 平均病变面积分别下降约 28% 和 31%。由此表明, 载脂蛋白 M 可明显阻止 LDLR^{-/-} 体内因高

[收稿日期] 2006-10-18 [修回日期] 2007-04-02

[作者简介] 黄贤圣, 博士研究生, 研究方向为血脂与动脉粥样硬化, E-mail 为 initialhxs@163.com。赵水平, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为血脂与动脉粥样硬化。

胆固醇所导致的 As 病变的形成。

3 载脂蛋白 M 抗动脉粥样硬化的作用机制

As 的形成是一个复杂的病理生理过程,涉及多种发病环节,若对其中任何一种环节进行干预乃至阻断,都将有助于防止 As 的形成并延缓其进程。载脂蛋白 M 自发现起,研究者便根据其特定的生物性状以及其在体内的特征性表达分布推断其可能通过参与相关脂代谢的途径,进而影响 As 的发病进程。然而,资料表明,载脂蛋白 M 不仅具有抗 As 的作用,而且其抗 As 的作用机制或途径还不仅局限于脂代谢这条途径。

3.1 载脂蛋白 M 促进胆固醇逆转运

胆固醇逆转运(reverse cholesterol transport, RCT)是 HDL 抗 As 的一个主要机制,其定义是指胆固醇从肝外周组织或细胞流出,并转运至肝脏进行代谢^[21,22]。RCT 的具体生理过程包括以下五步:①细胞内胆固醇被特异性受体摄取(即胆固醇的流出);②HDL 内胆固醇的酯化;③胆固醇被转运至含载脂蛋白 B 的脂蛋白(即胆固醇的转移);④HDL 的重构;⑤HDL 内的胆固醇通过特异的脂蛋白受体最终被肝脏摄取(即胆固醇的摄取)^[23]。其中,前 β -HDL 是参与细胞内胆固醇流出的胞外受体,换句话说,这种 HDL 亚型介导的是 RCT 的首要环节^[24,25]。Wolfum 等^[20]研究表明载脂蛋白 M 正是通过参与前 β -HDL 的形成来调节 RCT。他们应用 siRNA 技术证明,通过使载脂蛋白 M 基因表达沉默导致血浆 HDL 水平下降约 25%,甚至可导致 HDL₁ 消失。又证明缺乏载脂蛋白 M 的 HDL,其血浆清除率和被组织摄取率均明显升高。此外,还发现载脂蛋白 M 能移除 HDL₂ 颗粒表面上的胆固醇和磷脂,进而促使 HDL₂ 转变成 HDL₁。最后,运用免疫印迹技术和单向凝胶电泳发现,无论是在人还是鼠的血清前 β -HDL 中,均可检测到载脂蛋白 M 的存在。由此推测载脂蛋白 M 是人和鼠前 β -HDL 的一个组成成分,且该蛋白是参与前 β -HDL 形成的一个重要因素。而在接下来的胆固醇流出模型中观察到,用载脂蛋白 M 缺失的 HDL 孵育巨噬细胞,其胆固醇流出率较正常下降近 50%。而且还发现在经 siRNA 技术处理的动物模型中,几乎未见^[14C]标记的胆固醇流出。这表明载脂蛋白 M 作为 HDL 的一个组成成分,不仅促进前 β -HDL 的形成,而且还藉此参与胆固醇的流出。

3.2 载脂蛋白 M 与炎症反应

炎症是 As 形成的一个重要机制,贯穿 As 发病的整个过程^[26]。因此,减轻或阻止 As 相关的炎症反应被认为是防治 As 的一个重要手段。研究表明,人类载脂蛋白 M 基因定位于 6 号染色体的 MHC- α 区,该区的许多基因均与体内免疫炎症反应相关,且载脂蛋白 M 基因与肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和肿瘤坏死因子 β (tumor necrosis factor- β , TNF- β)这两种炎症因子的基因序列非常接近^[1]。因此,有研究者推测,载脂蛋白 M 很可能参与体内免疫炎症反应的调控。然而,目前的研究显示,载脂蛋白 M 在动脉粥样硬化发病中扮演的炎症角色(抗炎或致炎)远不如其在脂代谢中的明确。Xu 等^[11]检测比较了正常鼠与瘦素敲除鼠和瘦素受

体敲除鼠体内载脂蛋白 M mRNA 表达水平,结果发现,后两组基因敲除鼠体内载脂蛋白 M mRNA 表达水平较正常鼠明显下降。相反,当他们将重组瘦素注入两组基因敲除鼠体内后,这两组小鼠的血浆载脂蛋白 M 浓度水平和肝、肾载脂蛋白 M mRNA 表达水平较前显著升高。同样,在人群中也发现了载脂蛋白 M 与瘦素的这种正相关关系。Xu 等^[12]检测了 51 名女性(除两名受试者患有 2 型糖尿病外,其余均健康)血浆载脂蛋白 M 与瘦素水平,结果发现载脂蛋白 M 与瘦素显著正相关。上述研究似乎表明,瘦素这种致 As 的炎症因子参与并促进载脂蛋白 M 的表达与合成。然而,随后在体外实验中却观察到一个与体内相悖的现象。分别以生理剂量和超大剂量的重组瘦素干预 HepG2 细胞。结果发现,经瘦素干预后的 HepG2 细胞载脂蛋白 M mRNA 表达水平均有不同程度下调,且瘦素的这种抑制作用呈剂量依赖性^[18]。瘦素的这种因体内或体外环境不同而产生的不同调节效应提示,载脂蛋白 M 与炎症及炎症因子之间的关系是复杂的。此外,Xu 等^[13]还观察到,尽管载脂蛋白 M 在基因序列上与 TNF- α 非常接近,但在代谢和表达方面,它们之间却没有多大相关性。他们分别用 TNF- α 、白细胞介素 1 α (interleukin 1 α , IL-1 α)和血小板激活因子(platelet activating factor, PAF)刺激 HepG2,结果发现 TNF- α 和 IL-1 α 均不能影响载脂蛋白 M 的表达和分泌,相反,PAF 既可上调载脂蛋白 M mRNA 的表达还可促进其分泌,且该效应能够为来昔帕泛(一种 PAF 的拮抗剂)所阻断,但 PAF 对其它载脂蛋白包括载脂蛋白 A iv、B 和 E 却无类似效应。这表明,PAF 及其拮抗剂能够选择性作用于肝细胞上的载脂蛋白 M,促进其表达和分泌。由此看来,载脂蛋白 M 很可能通过某种特定的作用途径参与体内的免疫炎症反应。

需要强调的是,载脂蛋白 M 是一种新发现的载脂蛋白,尽管已有直接证据证明该蛋白是 As 的一个保护因子^[20],且已有证据显示该蛋白很可能参与体内免疫炎症反应,但现有的证据似乎还不能完全明确界定载脂蛋白 M 在 As 发病中扮演的炎症角色,仍需要进一步的研究探讨。但不管怎样,研究载脂蛋白 M 抗 As 的机制是绕不开炎症这条通路。

3.3 载脂蛋白 M 与糖尿病

糖尿病极易并发 As 相关性疾病^[27]。尽管目前尚不清楚载脂蛋白 M 通过何种机制或途径阻止糖尿病的发病,但现有的研究显示,血浆载脂蛋白 M 水平与糖尿病发病呈明显负相关。Richter 等^[14]观察到,青春晚期糖尿病(maturity onset diabetes of the young 3, MODY3)患者血浆载脂蛋白 M 水平较正常人群明显下降。其原因在于该类患者体内的 HNF-1 α 存在基因突变,而 HNF-1 α 恰恰又是编码载脂蛋白 M 基因的一个强效转录激活因子。在动物实验中进一步发现,当敲除小鼠的 HNF-1 α 后,其肝脏和肾脏中的载脂蛋白 M 表达会因此完全抑制,同时也造成小鼠的血糖水平显著升高。由此表明,血浆载脂蛋白 M 水平减低与 HNF-1 α 基因表达显著相关,也是 MODY3 发病的一个重要预测因子。Xu 等^[10]比较了四氧嘧啶糖尿病大鼠与正常大鼠体内的载脂蛋白 M 血浆水平和 mRNA 表达。结果发现,与生理盐水处理的正常大鼠相

比,经四氧嘧啶处理的糖尿病大鼠,其体内血浆载脂蛋白M水平下降70%,肝脏和肾脏中的载脂蛋白M mRNA表达分别下降40%和20%,且伴有相应的胰岛素降低和血糖升高。随后,他们给糖尿病大鼠注射了胰岛素,发现该激素能够呈剂量依赖性地增加大鼠体内载脂蛋白M的血浆水平和mRNA的表达。Niu等^[28]研究了汉族人群载脂蛋白M基因近端启动子与2型糖尿病发病的关系。结果发现,与非糖尿病人群相比,2型糖尿病人群的近端启动子区域存在单核苷酸多态性778C,这种载脂蛋白M的基因多态性能够显著升高糖尿病患者血浆胆固醇水平和空腹血糖水平。由此认为载脂蛋白M的单核苷酸多态性778C能够增加汉族人群罹患2型糖尿病的风险。

此外,还有研究表明,无论是动物还是人,其体内载脂蛋白M的浓度或表达均与瘦素呈正相关,而后者恰恰是糖尿病尤其是2型糖尿病发病的一个重要负调节因子^[11,12]。由此可见,载脂蛋白M很可能在一定程度上延缓甚至阻止糖尿病的发病,从而降低由此病所导致的As的发病率。

总之,现有的资料表明,载脂蛋白M具有抗As作用,且其抗As的作用机制不仅局限于介导RCT这条途径,还可能与炎症和防治糖尿病等因素有关。随着对载脂蛋白M研究的不断拓展和深入,相信在不久的将来会更加明确该蛋白与As发病的确切关系及其具体机制。

[参考文献]

- [1] Xu N, Dahlback B. A novel human apolipoprotein (apoM) [J]. *J Biol Chem*, 1999, **274** (44): 31 286-290.
- [2] Luo G, Zhang X, Nilsson-Ehle P, Xu N. Apolipoprotein M [J]. *Lipids Health Dis*, 2004, **3**: 21.
- [3] Duan J, Dahlback B, Villoutreix BO. Proposed lipocalin fold for apolipoprotein M based on bioinformatics and site-directed mutagenesis [J]. *FEBS Lett*, 2001, **499** (1-2): 127-132.
- [4] Christoffersen C, Nielsen LB, Axler O, Andersson A, Johnsen AH, Dahlback B. Isolation and characterization of human apolipoprotein M-containing lipoproteins [J]. *J Lipid Res*, 2006, **47**(8): 1 833-843.
- [5] Zhang XY, Jiao GQ, Hurtig M, Dong X, Zheng L, Luo GH, et al. Expression pattern of apolipoprotein M during mouse and human embryogenesis [J]. *Acta Histochem*, 2004, **106** (2): 123-128.
- [6] Faber K, Axler O, Dahlback B, Nielsen LB. Characterization of apo M in normal and genetically modified mice [J]. *J Lipid Res*, 2004, **45**(7): 1 272-278.
- [7] Zhang XY, Dong X, Zheng L. Specific tissue expression and cellular localization of human apolipoprotein M as determined by in situ hybridization [J]. *Acta Histochem*, 2003, **105** (1): 67-72.
- [8] Faber K, Hvidberg V, Moestrup SK, Dahlback B, Nielsen LB. Megalin is a receptor for apolipoprotein M, and kidney-specific megalin deficiency confers urinary excretion of apolipoprotein M [J]. *Mol Endocrinol*, 2006, **20** (1): 212-218.
- [9] 郑璐,徐宁,罗光华,张晓鹰,董选, Peter Nilsson-Ehle. 应用免疫组织化学方法检测载脂蛋白M在人类肝肾中的特异表达[J]. *中华检验医学杂志*, 2003, **26** (7): 439.
- [10] Xu N, Nilsson-Ehle P, Ahren B. Suppression of apolipoprotein M expression and secretion in alloxan-diabetic mouse: Partial reversal by insulin [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, **342** (4): 1 174-177.
- [11] Xu N, Nilsson-Ehle P, Hurtig M, Ahren B. Both leptin and leptin receptor are essential for apolipoprotein M expression in vivo [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **321** (4): 916-921.
- [12] Xu N, Nilsson-Ehle P, Ahren B. Correlation of apolipoprotein M with leptin and cholesterol in normal and obese subjects [J]. *J Nutr Biochem*, 2004, **15** (10): 579-582.
- [13] Xu N, Zhang XY, Dong X, Ekstrom U, Ye Q, Nilsson-Ehle P. Effects of platelet activating factor, tumor necrosis factor, and interleukin-1alpha on the expression of apolipoprotein M in HepG2 cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, **292** (4): 944-950.
- [14] Richter S, Shih DQ, Pearson ER, Wolfrum C, Fajans SS, Hattersley AT, Stoffel M. Regulation of apolipoprotein M gene expression by MODY3 gene hepatocyte nuclear factor-1alpha: haploinsufficiency is associated with reduced serum apolipoprotein M levels [J]. *Diabetes*, 2003, **52** (12): 2 989-995.
- [15] 焦国庆,张晓鹰. 甲基泼尼松龙对肾癌细胞株786-0载脂蛋白M的影响[J]. *南京医科大学学报*, 2005, **25** (3): 166-168.
- [16] Xu N, Ahren B, Jiang J, Nilsson-Ehle P. Down-regulation of apolipoprotein M expression is mediated by phosphatidylinositol 3-kinase in HepG2 cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2006, **1761** (2): 256-260.
- [17] Xu N, Hurtig M, Zhang XY, Ye Q, Nilsson-Ehle P. Transforming growth factor-beta down-regulates apolipoprotein M in HepG2 cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2004, **1683** (1-3): 33-37.
- [18] Luo G, Hurtig M, Zhang X, Peter Nilsson-Ehle, Ning XU. Leptin inhibits apolipoprotein M transcription and secretion in human hepatoma cell line, HepG2 cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2005, **1734** (2): 198-202.
- [19] 焦国庆,张晓鹰,董选, Peter Nilsson-Ehle, Ning XU. 冠心病患者血浆载脂蛋白M水平及其相关性研究[J]. *现代医学*, 2004, **32** (1): 22-25.
- [20] Wolfrum C, Poy MN, Stoffel M. Apolipoprotein M is required for pre-beta-HDL formation and cholesterol efflux to HDL and protects against atherosclerosis [J]. *Nat Med*, 2005, **11** (4): 418-422.
- [21] Fielding CJ, Fielding PE. Molecular physiology of the reverse cholesterol transport [J]. *J Lipid Res*, 1995, **36**: 211-228.
- [22] 全其广,赵水平. 高密度脂蛋白的代谢研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2001, **9** (2): 169-171.
- [23] Tall A. An overview of reverse cholesterol transport [J]. *Europ Heart J*, 1998, **19** (Suppl A): A31-35.
- [24] Nakamura Y, Kotite L, Gan Y, Spencer TA, Fielding CJ, Fielding PE. Molecular mechanism of reverse cholesterol transport: reaction of pre-beta-migrating high density lipoprotein with plasma lecithin/cholesterol acyltransferase [J]. *Biochemistry*, 2004, **43** (46): 14 811-820.
- [25] Chau P, Nakamura Y, Fielding CJ, Fielding PE. Mechanism of pre-beta-HDL formation and activation [J]. *Biochemistry*, 2006, **45** (12): 3 981-987.
- [26] Corrado E, Novo S. Role of inflammation and infection in vascular disease [J]. *Acta Chir Belg*, 2005, **105** (6): 567-579.
- [27] Stone NJ, Bilek S, Rosenbaum S. Recent national cholesterol education program adult treatment panel update: adjustments and options [J]. *Am J Cardiol*, 2005, **96** (4A): 53E-59E.
- [28] Niu NF, Zhu XL, Liu Y, Du T, Wang X, Chen DM, et al. Single nucleotide polymorphisms in the proximal promoter region of apolipoprotein M gene (apoM) confer the susceptibility to development of type 2 diabetes in Han Chinese [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2006, **22** (4): 168-172.

(此文编辑 文玉珊)