

•文献综述•

[文章编号] 1007-3949(2007)15-11-0870-03

一个新的高甘油三酯血症候选基因——载脂蛋白 A5

曾武威 综述, 陈保生 审校

(中国医学科学院基础医学研究所 中国协和医科大学基础医学院医学分子生物学国家重点实验室, 北京市 100005)

[关键词] 分子生物学; 载脂蛋白 A5; 甘油三酯; 高甘油三酯血症; 脂蛋白脂肪酶

[摘要] 高甘油三酯血症已经被明确列为冠心病的独立危险因素。几个已知基因的突变可导致原发性高甘油三酯血症,但并不是在所有的原发性严重高甘油三酯血症患者中都发现了这些基因的异常,提示可能还有其它基因参与了高甘油三酯血症的形成机制。载脂蛋白 A5 是最新发现的决定血浆甘油三酯水平的重要因子,与高甘油三酯血症密切相关,因此成为一个新的高甘油三酯血症候选基因。文章即简单介绍载脂蛋白 A5 的结构、功能、作用机制及与疾病关系的研究现状。

[中图分类号] Q7

[文献标识码] A

大型流行病学研究和临床干预实验表明,血浆甘油三酯(triglyceride, TG)水平升高是冠心病的独立危险因素。高甘油三酯血症(hypertriglyceridemia, HTG)已被明确列为冠心病的独立危险因素。引起高甘油三酯血症的因素有很多,除继发性高甘油三酯血症外,一些基因的突变或缺陷将导致严重的高甘油三酯血症,这些基因包括脂蛋白脂肪酶(lipoprotein lipase, LPL)及其辅助因子载脂蛋白 C^①。但并没有在所有的原发性严重高甘油三酯血症患者中都发现了这些基因的异常,实际上只有一小部分这样的患者携带有上述基因的突变,这提示可能还有其它基因参与了高甘油三酯血症的形成机制。最近,一个新的载脂蛋白家族成员被发现,它就是载脂蛋白 A5(apolipoprotein A5, ApoA5)。动物实验和大量人群流行病学研究均提示,载脂蛋白 A5 参与体内 TG 的代谢,是血浆 TG 水平的重要决定因子,与高甘油三酯血症密切相关^[2-5]。由此,载脂蛋白 A5 作为一个新的高甘油三酯血症候选基因而为人们所关注。

1 载脂蛋白 A5 的结构、分布和血浆含量

载脂蛋白 A5 是由 Pennacchio^[2]和 Vliet^[3]的课题组在 2001 年分别发现并证实的。载脂蛋白 A5 基因位于人染色体 11q23,在载脂蛋白 A1/C3/A4 基因簇下游约 30 kb 处。该基因长约 2 kb,含 3 个外显子和 2 个内含子,编码一个 366 个氨基酸的蛋白前体。载脂蛋白 A5 蛋白主要在肝脏合成,切除信号肽后成为含有 343 个氨基酸残基的成熟蛋白分泌入血,主要分布在高密度脂蛋白、极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)和乳糜微粒(chylomicron, CM)中。血浆载脂蛋白 A5 的浓度非常低,在高加索白人中约为 24~406

μg/L^[6],在日本人群中为 179±74.8 μg/L^[7],远低于其它常见载脂蛋白的浓度。

2 载脂蛋白 A5 的基因表达及影响因素

载脂蛋白 A5 基因的表达受到与 TG 代谢相关的转录因子的调控。这些转录因子主要是一些核受体,如过氧化物增殖物激活型受体 α(peroxisome proliferator activated receptor alpha, PPARα)、法呢酸 X 受体(farnesoid X receptor, FXR)、肝脏 X 受体(liver X receptor, LXR)、固醇调节元件结合蛋白(sterol regulatory element binding protein 1c, SREBP1c)、视黄酸相关孤儿受体(retinoic acid related orphan receptor alpha, RORα)和甲状腺素受体(thyroid hormone receptor, TR)等。

贝特类药物作为 PPARα 的激活剂,诱导 LPL 基因表达而抑制载脂蛋白 C^②表达,从而起到降低血浆 TG 水平的疗效。新的研究发现,贝特类药物通过 PPARα 的介导也诱导载脂蛋白 A5 基因转录,增加肝细胞中载脂蛋白 A5 mRNA 水平^[8,9],这也进一步揭示了贝特类药物降低血浆 TG 的机制。除 PPARα 外,FXR 和 RORα 也上调载脂蛋白 A5 基因表达。Prieur 等^[8]在载脂蛋白 A5 基因转录起始的上游发现了一个由反向重复序列组成的被称作 IR8 的 FXR 应答元件,FXR 与其相互作用,从而激活载脂蛋白 A5 启动子,促进载脂蛋白 A5 基因的转录。RORα 1 和 RORα 4 则通过与远端启动子中的三个 ROR 应答元件相互作用,诱导载脂蛋白 A5 基因转录,增加肝细胞中载脂蛋白 A5 基因表达^[10]。与 PPARα、FXR 和 RORα 的上调作用相反,LXR 则抑制肝细胞和载脂蛋白 A5 转基因鼠中的载脂蛋白 A5 表达,LXR 的下调作用是通过其靶基因 SREBP1c 与载脂蛋白 A5 基因启动子区的 E-box 元件结合,从而抑制载脂蛋白 A5 基因的转录^[11]。

3 载脂蛋白 A5 的功能

通过对敲除鼠和转基因鼠的研究,初步揭示了载脂蛋白 A5 在 TG 代谢中的重要作用。载脂蛋白 A5 基因敲除小鼠的血浆 TG 水平是正常对照小鼠的 4 倍,同时伴有 VLDL 的升

[收稿日期] 2007-05-30 [修回日期] 2007-11-05

[基金项目] 国家自然科学基金(NSFC 30100068)

[作者简介] 曾武威,硕士,研究方向为脂质代谢及其与心血管疾病的关系,E-mail 为 zengwuwei@ibms.pumc.edu.cn。陈保生,硕士,教授,博士研究生导师,研究方向为脂质代谢及其与心血管疾病的关系。

高, 杂合敲除小鼠的 VLDL 水平介于纯合敲除小鼠与对照小鼠之间; 而转入人载脂蛋白 A5 基因的转基因小鼠, 其血浆 TG 水平只有对照组小鼠的 1/3, 下降约 70%, VLDL 水平亦降低^[2, 12]。在此基础上, 对不同种族(包括高加索白人、非裔美国人、亚洲人和中国汉族人等)和不同人群(正常人群、家族性混合高脂血症患者和冠心病人群等)的遗传学关联研究^[25, 13-18]证实, 载脂蛋白 A5 对人血浆 TG 水平也有非常显著的影响。一些载脂蛋白 A5 单核苷酸位点多态性与血浆 TG 水平升高密切相关, 如-1131T/C、S19W(56C/G)和 G185C(553G/T)等, 这些结果提示载脂蛋白 A5 可能直接或间接参与体内 TG 的代谢。

2005 年, 在高甘油三酯血症患者中发现了两个载脂蛋白 A5 基因的无义突变——Q148X^[19]和 Q139X^[20]。这两个无义突变均发生在载脂蛋白 A5 基因的第 3 外显子上, 单个核苷酸的突变造成终止密码子的提前出现, 形成长度截短的载脂蛋白 A5 蛋白, 疏水性的脂质结构域完全缺失, 导致其功能丧失。两种突变携带者的 LPL 和载脂蛋白 C^①基因均未发现异常, 血浆载脂蛋白 C^①水平正常或稍高。肝素后血浆 LPL 活性在 Q148X 纯合子患者中只有轻微降低, 但在 Q139X 杂合子患者中则显著降低, 数量也下降, 该患者同时携带有不同的载脂蛋白 A5 单倍体型。这两个突变病例的发现, 一方面更加证实了载脂蛋白 A5 在维持 TG 正常代谢中的关键作用, 以及载脂蛋白 A5 异常与高甘油三酯血症的关系; 而另一方面, 两个不同突变病例的血脂谱差异也提示载脂蛋白 A5 调控血浆 TG 水平的作用机制可能有不同途径, 它可能与其参与 TG 代谢的因子相互作用。

4 载脂蛋白 A5 调节甘油三酯代谢的可能机制

甘油三酯(TG)在体内的代谢是以大分子脂蛋白颗粒的形式进行的。饮食摄入的 TG 和脂溶性维生素在小肠中形成 CM, 而内源性合成的 TG 在肝脏中以 VLDL 的形式分泌入血。CM 和 VLDL 并称为富含 TG 的脂蛋白颗粒(TG-rich lipoproteins, TGRL)。TGRL 进入血液后, 颗粒中的载脂蛋白或与细胞表面受体相互作用将脂质运输到靶组织, 或激活细胞表面的脂酶将脂质水解。TGRL 颗粒很大, 一般不能通过毛细血管内皮细胞。LPL 通过与硫酸肝素蛋白聚糖(heparan sulphate proteoglycans, HSPG)作用而附着在毛细血管内皮细胞的管腔面, 从而使 LPL 能够接近这些大颗粒中的 TG 并进行水解作用^[21]。在此代谢过程中, LPL 作为 TG 水解的限速酶在脂质的代谢和转运过程中起关键作用, 它有多个功能位点与不同因子相互作用, 从而保证在最适的位置发生最佳的脂酶反应。

如前所述, 载脂蛋白 A5 是最新发现的对 TG 水平有重要影响的因子, 那么它如何参与上述的 TG 代谢过程呢? 目前的研究结果对其作用机制还不甚了解, 推测可能通过以下两种途径: 一是细胞内作用。研究发现, 载脂蛋白 A5 基因转染 COS-1 细胞后只有极少的表达蛋白被分泌出细胞, 大部分则存留在细胞内质网中, 这与载脂蛋白 A5 基因在肝脏中高表达而在血浆中低浓度的情况相符, 因此推测载脂蛋白 A5

可能主要在细胞内发挥作用^[22]。对载脂蛋白 A5 的亲脂性和表面弹性的研究提示, 载脂蛋白 A5 可能通过结合并阻碍新生 VLDL 的移动、延迟 VLDL 在肝细胞内的装配, 以减少肝脏 VLDL 的合成及分泌^[3]。Schaap 等^[23]发现载脂蛋白 A5 降低小鼠 VLDL 的生成速率是通过影响 VLDL 组装时的载脂蛋白 B 脂化过程。然而, 来自人载脂蛋白 A5 转基因小鼠的研究结果并不支持“载脂蛋白 A5 抑制 VLDL 的组装及分泌”的观点, 这些转基因鼠的 VLDL 在肝脏中的合成和分泌没有发生改变^[24, 25]。此外, 携带 Q139X 突变的高甘油三酯血症患者血浆中含载脂蛋白 B 的脂蛋白没有显著升高^[20], 这也间接提示载脂蛋白 A5 对肝脏合成 VLDL 没有明显的抑制作用。二是对 LPL 活性的直接调节或间接影响。载脂蛋白 A5 可能具有类似载脂蛋白 C^①的激活 LPL 活性的作用^[23, 24]。体外实验表明, 以载脂蛋白 A5 功能缺陷的血浆作激活物时, LPL 的活性显著降低, 提示载脂蛋白 A5 可能是完全激活 LPL 所必需的生理因子^[19]。而另有一些研究者认为载脂蛋白 A5 并不直接激活 LPL 的活性。他们推测载脂蛋白 A5 可能结合到内皮表面的 HSPG 上, 从而间接促进附着在 HSPG 上的 LPL 水解 TG。体外研究表明, 重组载脂蛋白 A5 有很强的肝素结合能力, 能增强 VLDL 和 CM 与肝素的结合, 促进 CM 与附着在肝素上的 LPL 结合^[26]。载脂蛋白 A5 在 HSPG 缺乏时不能调节 LPL 的活性, 只有在 LPL 附着在 HSPG 上时, 才能促进 VLDL 的水解^[25]。本课题组对载脂蛋白 A5 缺失突变体的研究结果也提示, 载脂蛋白 A5 降低 TG 的作用可能主要是通过激活 LPL 活性, 增加了体内 TG 的水解速度, 从而降低血浆 TG 水平^[27]。

综上所述, 载脂蛋白 A5 作为新近发现的决定血浆 TG 水平的重要因子, 参与高甘油三酯血症的形成, 但其作用机制还没有完全阐明。进一步明确载脂蛋白 A5 的核心功能片段、阐明载脂蛋白 A5 与 TG 代谢中的其它关键成分之间的相互关系、从 TG 代谢通路的几个环节揭示载脂蛋白 A5 降低 TG 的可能机制、以及探讨载脂蛋白 A5 用于降低血浆 TG 水平和改善高甘油三酯血症的可能性都将是十分必要的。另外, 对于原发性严重高甘油三酯血症患者, 在筛查 LPL 和载脂蛋白 C^①基因的同时, 也应增加对载脂蛋白 A5 这一新的候选基因的检测。

[参考文献]

- [1] Gehrlich S. Common mutations of the lipoprotein lipase gene and their clinical significance [J]. *Curr Atheroscler Rep*, 1999, 1 (1): 70-78.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] Pennacchio LA, Olivier M, Hubacek JA, Krauss RM, Rubin EM, Cohen JC. Two independent apolipoprotein A5 haplotypes influence human plasma triglyceride levels [J]. *Hum Mol Genet*, 2002, 11 (24): 3 031-038.
- [5] 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.
- [6] 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): 351-359.
- [7] 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.
- [8] Prieur X, Coste H, Rodriguez JC. The human apolipoprotein AV gene is regulated by peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and contains a novel farnesoid X-activated receptor response element [J]. *J Biol Chem*, 2003, **278** (28): 25 468-480.
- [9] Vu-Dac N, Gervois P, Jakel H, Nowak M, Bauge E, Dehondt H, et al. Apolipoprotein A5, a crucial determinant of plasma triglyceride levels, is highly responsive to peroxisome proliferator-activated receptor alpha activators [J]. *J Biol Chem*, 2003, **278** (20): 17 982-985.
- [10] Genoux A, Dehondt H, Helleboid-Chapman A, Duhem C, Hum DW, Martin G, et al. Transcriptional regulation of apolipoprotein A5 gene expression by the nuclear receptor RORalpha [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **25** (6): 1 186-192.
- [11] Jakel H, Nowak M, Moitrot E, Dehondt H, Hum DW, Pennacchio LA, et al. The liver X receptor ligand T0901317 downregulates APOA5 gene expression through activation of SREBP-1c [J]. *J Biol Chem*, 2004, **279** (44): 45 462-469.
- [12] van der Vliet HN, Schaap FG, Levels JH, Ottenhoff R, Looije N, Wesseling JG, et al. 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.
- [13] Lai CQ, Tai ES, Tan CE, Cutter J, Chew SK, Zhu YP, et al. The APOA5 locus is a strong determinant of plasma triglyceride concentrations across ethnic groups in Singapore [J]. *J Lipid Res*, 2003, **44** (12): 2 365-373.
- [14] Szalai C, Keszei M, Duba J, Prohászka Z, Kozma GT, Császár 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.
- [15] Talmud PJ, Martin S, Taskinen MR, Frick MH, Nieminen MS, Kesäniemi 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.
- [16] Kao JT, Wen HC, Chien KL, Hsu HC, Lin SW. A novel genetic variant in the apolipoprotein A5 gene is associated with hypertriglyceridemia [J]. *Hum Mol Genet*, 2003, **12** (19): 2 533-539.
- [17] 李国平, 王建跃, 鄢盛恺, 张立军, 薛红, 曾武威, 等. 人载脂蛋白 A5 基因多态性 56 C→G 与血浆甘油三酯的关系[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2004, **12** (5): 574-576.
- [18] 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, **33** (2): 116-121.
- [19] Priore Oliva C, Pisciotto L, Li Volti G, Sambataro MP, Cantafora A, Bellocchio A, et al. Inherited apolipoprotein A-V deficiency in severe hypertriglyceridemia [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **25** (2): 411-417.
- [20] Marçais C, Verges 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** (10): 2 862-869.
- [21] Mead JR, Ramji DP. The pivotal role of lipoprotein lipase in atherosclerosis [J]. *Cardiovasc Res*, 2002, **55** (2): 261-269.
- [22] Weinberg RB, Cook VR, Beckstead JA, Martin DD, Gallagher JW, Shelness GS, et al. Structure and interfacial properties of human apolipoprotein A-V [J]. *J Biol Chem*, 2003, **278** (36): 34 438-444.
- [23] Schaap FG, Rensen PC, Voshol PJ, Vriens 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.
- [24] Fruchart-Najib J, Baugé E, Niculescu LS, Pham T, Thomas B, Rommens C, et al. Mechanism of triglyceride lowering in mice expressing human apolipoprotein A5 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **319** (2): 397-404.
- [25] 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.
- [26] Lookene A, Beckstead JA, Nilsson S, Olivecrona G, Ryan RO. Apolipoprotein A-V heparin interactions: implications for plasma lipoprotein metabolism [J]. *J Biol Chem*, 2005, **280** (27): 25 383-387.
- [27] Sun G, Bi N, Li G, Zhu X, Zeng W, Wu G, et al. Identification of lipid binding and lipoprotein lipase activation domains of human apoAV [J]. *Chem Phys Lipids*, 2006, **143** (1-2): 22-28.

(此文编辑 许雪梅)