

## •文献综述•

[文章编号] 1007-3949(2007)15-12-0964-05

## 载脂蛋白 A5 低甘油三酯效应的机制

张聪聪<sup>1,2</sup>综述, 卢立志<sup>2</sup>, 石放雄<sup>1</sup>审校

(1. 南京农业大学动物科技学院动物繁育研究所, 江苏省南京市 210095;

2. 浙江农科院畜牧兽医研究所, 浙江省杭州市 310021)

[关键词] 分子生物学; 载脂蛋白 A5; 甘油三酯; 脂蛋白脂酶; 低甘油三酯效应; 心血管疾病

[摘要] 载脂蛋白 A5 是降低血浆甘油三酯水平最为显著的因子之一, 高甘油三酯血症是冠状动脉粥样硬化性心脏病的独立危险因素, 因而成为近年来医学研究热点之一。本文简要介绍了载脂蛋白 A5 的表达调控机制, 重点阐述了载脂蛋白 A5 在降低血浆甘油三酯水平中的作用, 为治疗高甘油三酯血症、心血管疾病等人类重大疾病提供新的方向和思路。

[中图分类号] Q7

[文献标识码] A

载脂蛋白 A5 (apolipoprotein, ApoA5) 是 2001 年 Pennacchio 等和 Vliet 等应用人和鼠的比较基因组学和功能基因组学方法, 分别在载脂蛋白 A1/ C3/ A4 基因簇下游鉴定的新颖载脂蛋白基因, 载脂蛋白 A5 敲除和转基因鼠模型的研究表明, 载脂蛋白 A5 与血浆甘油三酯 (triglyceride, TG) 水平呈反向关系。此外, 载脂蛋白 A5 基因可能在大鼠肝脏再生过程中调节肝脏脂质的摄入量, 载脂蛋白 A5 的突变可导致血浆 TG 水平增高, 其基因多态性可能是冠心病新的危险因素<sup>[1-3]</sup>。近些年的研究证实, 载脂蛋白 A5 是调节血浆 TG 水平的关键因素, 同时也是机体代谢综合症的生物标记, 所以, 阐明载脂蛋白 A5 的表达调控机制及其低甘油三酯效应的机理至关重要。

## 1 载脂蛋白 A5 的结构与功能

载脂蛋白 A5 基因定位于人染色体 11q23 区域, 位于载脂蛋白 A1/C3/A4 基因簇下游大约 30 kb 处, 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。Northern 印迹分析人载脂蛋白 A5 组织表达谱, 结果显示载脂蛋白 A5 mRNA 在肝脏中特异表达, 且存在约 1.3 kb 和 1.9 kb 两个转录本。其编码一个全长 366 个氨基酸、平均分子量 38 905 Da 的人载脂蛋白家族新成员, 该蛋白具有典型的脂质结合特性结构域——两性  $\alpha$  螺旋结构域和氨基端信号肽, 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<sup>[1,3,4]</sup>, 载脂蛋白 A5 的这些特性可能延迟富含甘油三酯脂蛋白 (triglyceride rich lipoprotein, TRL) 微粒在肝细胞内的组装。

载脂蛋白 A5 的主要功能是降低血浆 TG 的水平, 在血浆脂质动态平衡中起关键作用, 但其结构与功能之间的关系还不甚明了。荧光光谱法和截短突变分析揭示载脂蛋白 A5 C-末端区域司脂质结合功能。Talmud 等<sup>[5]</sup>研究了载脂蛋白 A5 结构与功能之间的关系, 认为载脂蛋白 A5 由两个独立的折叠式结构域和受体结合结构域组成, 前者指的是螺旋式结构两两互相缠绕、交互作用形成的卷曲螺旋元件和疏水脂质结合结构域。该蛋白 76% 是由 5 个卷曲螺旋元件形成的稳定  $\alpha$  螺旋结构域; 载脂蛋白 A5 的截短突变体 Q148X (40%)、Q139X (38%) 和 C161+ 3G> C (5%) 揭示了 9 个潜在的带正电荷的受体结合结构域, 系蛋白质间可能强烈交互作用或结合肝素的区域, 同时鉴定了 Q161 和 V181 之间的疏水脂质结合结构域。Sun 等<sup>[6]</sup>研究人载脂蛋白 A5 基因的一个野生型和六个缺失突变型即 AV ( $\Delta$ (1-51)), AV ( $\Delta$ (51-128)), AV ( $\Delta$ (132-188)), AV ( $\Delta$ (192-238)), AV ( $\Delta$ (246-299)), AV ( $\Delta$ (301-343)) 在大肠杆菌中的表达, 发现野生型的被删区域几乎覆盖了 343 个氨基酸序列。循环二色性光谱分析显示游离脂野生型的  $\alpha$  螺旋含量是 46%, 而 AV ( $\Delta$ (192-238)) 和 AV ( $\Delta$ (301-343)) 的脂质结合活性显著降低, 证实了这两个区域在载脂蛋白 A5 的脂质结合功能中的重要性。当删除 192-238 残基后载脂蛋白 A5 激活脂蛋白脂酶 (lipoprotein lipase, LPL) 的功能明显被削弱。因此, 192-238 结构域完全是载脂蛋白 A5 结合脂质和激活 LPL 所必需的。

## 2 载脂蛋白 A5 的表达调控机制

## 2.1 核受体与载脂蛋白 A5 启动子区域相应反应元件结合, 激活载脂蛋白 A5 表达

应用 5' 缺失突变、位点直接诱变、凝胶阻滞实验, 证实过氧化物酶体增值体激活受体  $\alpha$  (peroxisome proliferator-activated receptor $\alpha$ , PPAR $\alpha$ ) 在载脂蛋白 A5 转录起始位点的上游

[收稿日期] 2007-07-08 [修回日期] 2007-12-01

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (30571335, 30771553); 浙江省科技厅重大科技攻关项目 (2005C12005-01)

[作者简介] 张聪聪, 硕士研究生, 研究方向为脂肪代谢机理与调控技术, 联系电话为 0571-86404214, 13806510391, E-mail 为 ccz.rock@yahoo.com.cn。卢立志, 硕士, 研究员, 硕士研究生导师, 主要研究方向为家禽遗传育种, 联系电话为 0571-86404216, 13306813018E-mail 为 lulizhibox@163.com。通讯作者石放雄, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向为动物繁殖营养学, 联系电话为 025-84399112, 13601464057, E-mail 为 fxshi@njau.edu.cn。

存在直接重复序列 1 (direct repeat 1, DR1) 和反向重复序列 8 (inverted repeat, IR8) 两个反应元件, 后者是胆汁酸激活的类法尼醇 X 受体 (farnesoid x receptor, FXR) 反应所必需的。这两个元件分别赋予 PPAR $\alpha$ 、FXR 结合异质启动子的能力: 通过与视黄酸受体 (retinoic acid receptor, RXR) 结合以 PPAR $\alpha$ /RXR $\alpha$ 、FXR/RXR 异二聚体形式特异性地与载脂蛋白 A5 启动子区域的 DR1、IR8 序列相互作用, 激活载脂蛋白 A5 的表达<sup>[7]</sup>。另外, N $\gg$ oc 等<sup>[8]</sup> 研究发现人原代培养的肝细胞经 fibrates 处理, 则表现载脂蛋白 A5 mRNA 的强诱导效应。Schultze 等<sup>[9]</sup> 证实了 PPAR $\alpha$  激动剂增加载脂蛋白 A5 mRNA 的表达量, 也增加循环载脂蛋白 A5 蛋白质水平和载脂蛋白 A5/C3 比率。因此, PPAR $\alpha$  及其激动剂可以在转录水平上调载脂蛋白 A5 的表达。

核受体亚家族的一半成员都属于所谓的“孤儿”受体, 是因为目前仍没有鉴定出它们的配体, 其多样性体现在与 DNA 结合形式的差异性。视黄酸受体相关孤儿受体  $\alpha$  (retinoic acid receptor-related orphan receptor- $\alpha$ , ROR $\alpha$ )、肝细胞核因子 4 $\alpha$  (hepatic nuclear factor-4 $\alpha$ , HNF-4 $\alpha$ ) 属于“孤儿”核受体家族<sup>[10]</sup>, 均可以诱导人载脂蛋白 A5 基因发生转录。Lind 等<sup>[11]</sup> 鉴定载脂蛋白 A5 启动子有三个能反式激活 ROR $\alpha$  的 AGGTCA 基序, 其中之一与 PPAR $\alpha$  结合载脂蛋白 A5 的位点重叠, 揭示载脂蛋白 A5 基因是 ROR $\alpha$  新颖的靶基因。Genoux 等<sup>[12]</sup> 研究发现 ROR $\alpha$ 1 和 ROR $\alpha$ 4 能特异地与载脂蛋白 A5 启动子区域的 DR1 元件结合, 极大地增强了载脂蛋白 A5 启动子活性且呈剂量依赖性。可见, ROR $\alpha$ 1 和 ROR $\alpha$ 4 可作为人载脂蛋白 A5 基因表达的转录激活剂。Priour 等<sup>[13]</sup> 揭示 HNF-4 $\alpha$  通过 DR1 和 IR8 元件直接调节人载脂蛋白 A5 启动子活性。过氧化物酶体增殖体激活受体  $\gamma$  辅激活因子 1 $\alpha$  能优先通过 DR1 和 IR8 元件适度地刺激依赖 HNF-4 $\alpha$  的载脂蛋白 A5 启动子的反式激活, 可见, HNF-4 $\alpha$  和过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  辅激活因子 1 $\alpha$  调控人载脂蛋白 A5 启动子活性时存在明显的协同效应。

小鼠经甲状腺激素受体 (thyroid receptor, TR) 选择性激动剂的处理, 载脂蛋白 A5 水平上升, 而血浆 TG 水平下降, 暗示 TR 在转录水平上激活载脂蛋白 A5 的表达。T3 和人工合成的 TR $\beta$  配体增加肝细胞载脂蛋白 A5 mRNA 和蛋白质水平, 机理是 T3 激活的 TR 以 RXR-TR 异二聚体形式特异地与一个功能性反应元件 DR4 结合直接调节载脂蛋白 A5 启动子活性。另外, 载脂蛋白 A5 启动子上游刺激因子 2 (upstream stimulatory factor, USF2) 与启动子临近的 E 盒基序 (CACGTC) 相结合并配合 TR 协同激活载脂蛋白 A5 启动子活性, 且呈配体依赖性<sup>[14]</sup>。因此, 将载脂蛋白 A5 鉴定为 T3 的靶基因, 揭示了甲状腺激素影响 TG 动态平衡的新机制, 此外, TR $\beta$  也许是治疗高甘油三酯血症的潜在药理学靶点。

## 2.2 下调载脂蛋白 A5 表达

Jakel 等<sup>[15]</sup> 体外培养肝细胞癌细胞系, 经肝脏 X 受体 (liver x receptor, LXR) 的配体 T0901317 处理后, 载脂蛋白 A5 mRNA 水平降低。LXR-RXR 共转染模型的研究表明, 只有 LXR 的靶基因固醇调节元件结合蛋白 1C (sterol regulatory ele-

ment binding protein 1C, SREBP-1C) 被激活时才下调载脂蛋白 A5 启动子活性且呈剂量依赖性; 电泳迁移率检测、突变分析表明人载脂蛋白 A5 启动子序列中鉴定的两个功能性 E 盒元件能够特异地结合 SREBP-1C; 通过 siRNA 抑制 SREBP-1C mRNA 表达, 结果响应 T0901317 的载脂蛋白 A5 mRNA 水平下降效应终止。因此, LXR 配体 T0901317 是通过激活 SREBP-1C 显著阴性地调控载脂蛋白 A5 表达。Nowak 等<sup>[16]</sup> 鉴定载脂蛋白 A5 启动子区域存在功能性 E 盒; 电泳迁移率检测、染色质免疫沉淀分析表明, USF 通过与载脂蛋白 A5 的 E 盒相结合以激活载脂蛋白 A5 启动子活性。经胰岛素处理后, PI3K 和 P70S6 激酶信号通路被激活, 导致 USF1/USF2 发生磷酸化, 不能与载脂蛋白 A5 启动子结合。可见, USF1/USF2 被胰岛素介导的 PI3K 和 P70S6 激酶信号通路磷酸化会引起载脂蛋白 A5 转录活性的抑制。

## 3 载脂蛋白 A5 降低血浆甘油三酯水平的机理

载脂蛋白 A5 在血浆中的浓度甚微, 远低于载脂蛋白 A1、C3, 却能极大地影响血浆 TG 代谢。Brien 等<sup>[17]</sup> 应用双抗夹心 ELISA 法观察到浓度为 24~406  $\mu$ g/L 的人血清载脂蛋白 A5, 仅为血清载脂蛋白 A1 的 0.1%, 与其他载脂蛋白比较, 人载脂蛋白 A5 的循环浓度也较低, 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。载脂蛋白 A5 降低血浆 TG 水平的机理目前仍没有完全阐明, 但是, 其低甘油三酯效应源于 TG 及脂蛋白代谢的一系列连续事件。Rensen 等<sup>[18]</sup> 认为载脂蛋白 A5 是由细胞内和细胞外两条途径发挥作用: 肝细胞内, 载脂蛋白 A5 抑制 VLDL 的分泌; 肝细胞外, 载脂蛋白 A5 促进血浆 TG 的清除。

细胞内途径通过载脂蛋白 A5 延迟 VLDL 的组装来实现, 基于一些事实: 载脂蛋白 A5 极具疏水性的多结构域构架, 且疏水界面呈现较慢的结合动力学特征<sup>[18]</sup>; VLDL 的组装起始于粗面内质网, 微粒体甘油三酯转运蛋白酯化载脂蛋白 B100 形成原始 VLDL 微粒, 体积依赖性酯化反应将原始 VLDL 转化成 TG 贫乏的 VLDL2, 加载大量中性脂质于 VLDL2 形成 TG 丰富的 VLDL1 即成熟 VLDL, 内质网中载脂蛋白 A5 主要参与修饰载脂蛋白 B100 的酯化反应, 该酯化反应则依赖胞质脂滴中贮存的 TG 分解释放脂肪酸。载脂蛋白 A5 同时与细胞膜疏水单分子层和脂滴表层相互作用, 以改变 TG 池的结构和有效性, 而且可能与原始 VLDL 或 VLDL2 互作以抑制它们与脂滴的融合, 从而减少成熟 VLDL 形成<sup>[19]</sup>。

细胞外途径则依赖于载脂蛋白 A5 激活 LPL 活性, 促进乳糜微粒和 VLDL 的脂解。此外, 载脂蛋白 A5 促进 TRL 残骸的清除及其与肝细胞表面低密度脂蛋白受体 (low density lipoprotein receptor, LR) 的相互作用也是载脂蛋白 A5 低甘油三酯效应的诱因。

### 3.1 载脂蛋白 A5 抑制极低密度脂蛋白的分泌

载脂蛋白 A5 降低血浆 TG 水平可能是通过抑制成熟 VLDL 生成的同时刺激 LPL 介导的 VLDL-TG 的脂解作用实现的, 即载脂蛋白 A5 能双重影响 VLDL 的代谢: 抑制肝脏载脂

蛋白 B 的酯化反应和提高循环脂蛋白中 TG 的清除效率。其中,载脂蛋白 A5 抑制肝脏内载脂蛋白 B 的酯化反应,将会延迟 VLDL 的组装以及成熟 VLDL 的分泌。Schaap 等<sup>[20]</sup>利用 Triton WR1339 封锁 VLDL-TG 的脂解作用和清除作用,结果证实载脂蛋白 A5 降低 VLDL-TG 的分泌速率,但并未影响 VLDL-[<sup>35</sup>S]-载脂蛋白 B 的生成速率。很明显,载脂蛋白 A5 延迟肝细胞内载脂蛋白 B 的酯化反应的同时并未影响 VLDL 微粒的生成。人载脂蛋白 A5 转基因鼠研究发现,乳糜微粒和 VLDL 的分解代谢加速,但肝脏 VLDL 和肠乳糜微粒的生成不受影响<sup>[21]</sup>,这与 Schaap 等的观点相符合。

Grosskopf 等<sup>[22]</sup>研究发现载脂蛋白 A5 基因缺失小鼠与对照组之间 TG 合成速率没有明显的不同,可见,载脂蛋白 A5 基因的缺失并不影响 TG 的合成速率。但是,毕楠<sup>[23]</sup>同时利用细胞模型和小鼠模型证实载脂蛋白 A5 可以抑制 TG 合成关键酶的表达。利用重组腺病毒 Ad-hApoA5 感染,与表达人碱性磷酸酶的重组腺病毒 Ad-hAp 感染的对照组细胞相比,酶法测定细胞内 TG 水平和总胆固醇水平无明显变化,揭示载脂蛋白 A5 高表达对 HepG2 细胞内脂质水平无明显影响,但 RT-PCR 法检测到肝脏内二酯酰甘油乙酰转移酶 1 和肝脂酶的表达明显被抑制。这说明载脂蛋白 A5 可在 mRNA 水平显著抑制 TG 合成关键酶表达,暗示其在某种程度上可以影响 TG 的生物合成。TG 的合成对成熟 VLDL 的形成和分泌至关重要,在肝细胞内,载脂蛋白 A5 主要是通过抑制成熟 VLDL 的分泌来降低血浆 TG 水平。

### 3.2 载脂蛋白 A5 激活脂蛋白脂酶的活性

载脂蛋白 A5 在乳糜微粒、VLDL 的脂解阶段发挥着重要作用,这依赖载脂蛋白 A5 对 LPL 活性的调控。利用 ApoA5<sup>-/-</sup> 小鼠模型,发现 VLDL 中载脂蛋白 A5 缺乏时,LPL 活性明显降低,VLDL 脂解作用的抑制增强。载脂蛋白 A5 明显地影响 LPL 活性,能通过增强 LPL 活性来加快血浆 TG 的清除。Jamila 等<sup>[24]</sup>利用 hApoA5 × hApoC3 转基因小鼠模型,发现载脂蛋白 A5 是通过激活 VLDL 的脂解作用和加速 VLDL 的清除作用以诱导 VLDL 微粒体积变小;同时载脂蛋白 A5 首先从 HDL 向 VLDL 重新分配,这种转移通过激活 LPL 活性来限制 VLDL 的增加。LPL 和载脂蛋白 C2 基因突变被认为是遗传型严重高甘油三酯血症的诱因,但是,Oliva 等<sup>[25]</sup>研究表明 10 位高甘油三酯血症患者的 LPL 和载脂蛋白 C2 基因没有突变,而患者载脂蛋白 A5 基因经测序发现,其中一位患者载脂蛋白 A5 基因的突变体是纯合子,推测产生的是缺乏关键功能性结构域的截短突变型载脂蛋白 A5,在该患者家族中发现截短突变体 Q145X 携带者,其中有 5 位患中度高甘油三酯血症,暗示截短突变型载脂蛋白 A5 不能激活 LPL,反而导致血浆中 TG 水平升高。可见,载脂蛋白 A5 是 LPL 的有效激活剂。

转 LPL 的载脂蛋白 A5 敲除鼠和缺乏 LPL 的载脂蛋白 A5 转基因鼠的对比研究发现,在转 LPL 的载脂蛋白 A5 敲除鼠中 TG 水平明显减低,LPL 活性增强会完全规格化高甘油三酯血症;LPL 一旦减少,载脂蛋白 A5 的过表达仅能轻微调节血浆 TG 水平<sup>[21]</sup>。这证实了载脂蛋白 A5 降低血浆 TG 水

平是通过 LPL 实现的,但也有研究表明载脂蛋白 A5 低甘油三酯效应与 LPL 的脂解作用没有直接的关系。毕楠<sup>[23]</sup>利用 LPL 基因敲除小鼠模型,Ad-hApoA5 转基因小鼠在 LPL 功能缺失情况下,载脂蛋白 A5 仍可显著降低血浆 TG 和总胆固醇水平,表明载脂蛋白 A5 对脂质代谢的影响独立于或至少独立于 LPL 的作用。

然而,载脂蛋白 A5 是结合在细胞表面蛋白多糖上的,考虑到载脂蛋白 A5 的生理生化特征,载脂蛋白 A5 能否与 LPL 相互作用以调控 LPL 的活性,这涉及到载脂蛋白 A5 降低血浆 TG 水平的分子机制。Lookene 等<sup>[26]</sup>研究发现,载脂蛋白 A5 脂质复合物结合到肝素上,当 TRL 微粒存在时,会促进载脂蛋白 A5 与细胞表面肝素硫酸化蛋白多糖互作,通过这个互作,载脂蛋白 A5 可能间接影响 LPL 的活性,从而解释了其与血浆 TG 水平的负相关关系。另有研究表明,当蛋白多糖不存在时,载脂蛋白 A5 不会改变 LPL 的水解速率,蛋白多糖存在时,载脂蛋白 A5 影响 LPL 催化的 VLDL 脂解作用且呈显著的剂量依赖性的增强;蛋白多糖缺失细胞系的培养和配体印迹分析,显示 LPL 与载脂蛋白 A5 存在直接的相互作用,即载脂蛋白 A5 是通过蛋白多糖结合型 LPL 定向脂解 VLDL 和乳糜微粒的作用来降低血浆 TG 水平<sup>[21]</sup>。所以,载脂蛋白 A5 低甘油三酯效应离不开脂蛋白代谢关键酶 LPL 的脂解作用,载脂蛋白 A5 正是通过激活 LPL 的活性,促进乳糜微粒和成熟 VLDL 的分解,从而达到降低血浆 TG 水平的目的。

Merkel 等<sup>[27]</sup>认为载脂蛋白 A5 降低血浆 TG 水平的分子机制可能是:载脂蛋白 A5 促进脂蛋白与血管壁上的蛋白多糖结合;载脂蛋白 A5 激活蛋白多糖结合型 LPL 的活性。载脂蛋白 A5 一方面结合脂蛋白并运载至血管内皮蛋白多糖,另一方面与蛋白多糖上 LPL 结合,以稳固血管内皮的脂解系统,从而增强 LPL 介导的血浆 TG 的水解作用。TRL 与血管内皮上蛋白多糖的结合可能是限速过程,而载脂蛋白 A5 可将其锚定到蛋白多糖上,特异性地加速 TRL 与蛋白多糖结合<sup>[26]</sup>,并可能改变其形状以作为 LPL 更合适的底物。以上观点揭示了载脂蛋白 A5 低甘油三酯效应的分子机理:LPL 二聚体结合在血管内皮上乙酰肝素硫酸化蛋白多糖,载脂蛋白 A5 将 VLDL 锚定到蛋白多糖,且非常接近 LPL,同时载脂蛋白 A5 可能通过稳定 LPL 二聚体构象或与 LPL 的变构位点结合以激活蛋白多糖结合型 LPL。TRL 水解后其产物残骸微粒释放入血液,而载脂蛋白 A5 被转移至其他 VLDL 微粒重新利用。Merkel 等<sup>[27]</sup>对载脂蛋白 A5 突变体 Q139X 携带者的研究揭示,截短突变型载脂蛋白 A5 不与脂蛋白互作,可能以游离的形式直接结合 LPL 或蛋白多糖,导致 LPL 被释放和降解。可见,载脂蛋白 A5 是正常脂解系统的有效激活剂。

### 3.3 载脂蛋白 A5 与肝细胞表面受体相互作用,促进脂蛋白残骸的清除

Grosskopf 等<sup>[22]</sup>认为载脂蛋白 A5 基因缺失小鼠 TG 水平的升高是以下两条代谢途径紊乱所致:(1) LPL 介导的 VLDL-TG 脂解作用减弱和血浆 LPL、肝脂酶水平下降导致脂蛋白残骸的形成减少;(2) 脂蛋白对 LR 的亲性和减弱导致肝脏对脂蛋白残骸的摄取减弱。由此推测,载脂蛋白 A5 也可加速

TRL 残骸的清除,以降低血浆 TG 水平。研究表明 ApoA5<sup>-/-</sup> 小鼠 TRL 残骸的清除速率下降,若 ApoA5<sup>-/-</sup> 小鼠注射<sup>14</sup>C 棕榈酸盐、<sup>3</sup>H 胆固醇标记的乳糜微粒和<sup>125</sup>I 标记的乳糜微粒残骸以后,<sup>14</sup>C、<sup>3</sup>H 和<sup>125</sup>I 的消失明显比对照组慢,是因为载脂蛋白 A5 能加速乳糜微粒残骸的清除作用<sup>[22]</sup>。VLDL 残骸载脂蛋白组分主要是载脂蛋白 B100 和载脂蛋白 E,可以被肝细胞表面 LR 和低密度脂蛋白受体相关蛋白(low density lipoprotein receptor related protein, LRP) 识别,引起 VLDL 残骸的清除;而乳糜微粒以载脂蛋白 B48 为主,因载脂蛋白 B48 缺乏被 LR 识别的载脂蛋白 B100 的 C-末端结构导致肝脏对乳糜微粒残骸的清除依靠载脂蛋白 E 介导的 LRP 的识别。脂蛋白残骸的清除途径有:LR 直接摄取残骸,乙酰肝素硫酸化蛋白多糖介导对残骸的直接摄取和乙酰肝素硫酸化蛋白多糖-LRP 途径<sup>[23]</sup>。LRP 属于一种内吞性受体,系 LR 基因家族的一员,能够与多种结构及功能各异的配体相互作用,对血脂动态平衡及纤溶功能的稳定进行调节。载脂蛋白 A5 可与肝细胞表面受体交互作用,以促进脂蛋白微粒的内吞作用。因此,脂蛋白残骸清除减弱是脂蛋白对 LR 的亲合力下降所致,暗示载脂蛋白 A5 加快脂蛋白残骸清除,涉及载脂蛋白 A5 与 LR 的相互作用。

受体相关蛋白 (receptor associated protein, RAP) 是一种分子量约 39 kDa 的常驻内质网蛋白,目前已证实是 LR 家族的特异性分子伴侣。该蛋白若过表达,可被分泌到胞外与 LR 家族成员结合,作为其配体之一与其他配体竞争结合,几乎可拮抗所有其他配体与 LR 家族成员的结合。Dichlberger 等<sup>[28]</sup> 首次研究鸡载脂蛋白 A5 基因,Western 印迹分析发现禽类载脂蛋白 A5 在肝脏、小肠、大脑、肾脏和卵巢小而白卵泡中均有表达,在鸡卵泡中,免疫印迹显示载脂蛋白 A5 与分子量约 95 kDa LR8 的结合位点,而 RAP 非常有效地与其竞争结合 LR8。当鸡卵泡提取物经 SDS-PAGE 后,载脂蛋白 A5 结合 LR8 的能力消失,表明载脂蛋白 A5 与 LR 的结合需要受体中完整的二硫化物键。载脂蛋白 A5 主要结合在蛋鸡的 LR 家族成员,显示真实配体与 LR 富含半胱氨酸的配体结合结构域互作的特性,而且这个互作并不依赖载脂蛋白 A5 与脂质或脂蛋白的缔合作用。由此推测,载脂蛋白 A5 与 LR 直接互作,也许是载脂蛋白 A5 调节 TG 水平的一个新颖机制。Nilsson 等<sup>[29]</sup> 研究表明,游离或脂质结合型载脂蛋白 A5 与 LRP 和镶嵌型 1 受体(mosaic type 1 receptor, SorLA)/LR11 的结合呈钙依赖性,但是会被 RAP 所抑制,此外,双突变型载脂蛋白 A5 结合 LRP 的能力降低。因此,载脂蛋白 A5 是与肝细胞表面受体相互作用,通过增强 LR 介导的 TRL 内吞作用,促进肝脏对脂蛋白残骸的摄取,加快血浆 TG 的清除,揭示了载脂蛋白 A5 降低血浆 TG 水平的新机制。

另外,载脂蛋白 A5 和 C3 均能调节 TRL 代谢,但是,载脂蛋白 A5 是降低血浆 TG 水平,而载脂蛋白 C3 是 LPL 和肝脏摄取 TRL 残骸的抑制剂。已有研究认为载脂蛋白 A5 可能通过影响载脂蛋白 C3 的功能即抑制载脂蛋白 B 与载脂蛋白 C3 的作用来实现其低甘油三酯效应。Baroukh 等<sup>[30]</sup> 应用载脂蛋白 A5/C3 基因双转染和双敲除小鼠模型,研究证实载脂

蛋白 A5 和 C3 分别调节血浆 TG 浓度的作用是相互独立的。载脂蛋白 A5 和 C3 是 VLDL 和 HDL 的可替换成份,载脂蛋白 A5 可抵消载脂蛋白 C3 对 TG 代谢的影响,但机制尚不明了。应用 ELISA 测量高甘油三酯血症患者的血浆载脂蛋白 A5 水平,出乎意料的是,高甘油三酯血症患者 TG 水平的升高伴随着高水平的载脂蛋白 A5 和 C3<sup>[31]</sup>。这为严重高甘油三酯血症患者载脂蛋白 A5 与 C3 之间复杂的相互作用提供了证据。Qu 等<sup>[32]</sup> 构建载脂蛋白 A5 处理的载脂蛋白 C3 转基因小鼠模型,研究表明其 VLDL-胆固醇水平降低而 HDL-胆固醇水平升高。载脂蛋白 A5 介导的 VLDL 中载脂蛋白 C3 含量的减少揭示了一个重要的机制:载脂蛋白 A5 致力于改善载脂蛋白 C3 转基因鼠的高甘油三酯血症,其水平的升高会导致胆固醇从 VLDL 向体积更大的 HDL 微粒的重分配。因此,载脂蛋白 A5 除了降低 TG 水平外,在 HDL 成熟和胆固醇代谢调节中也扮演重要角色。

#### 4 总结与展望

载脂蛋白 A5 的低甘油三酯效应是通过调控 TG 代谢过程中一系列连续事件来实现的,从 TG 的合成,肠乳糜微粒、VLDL 的组装与分泌,TRL 的脂解,血浆 TG 的清除等代谢事件。近年来人、鼠该基因单核苷酸多态性位点与血脂水平、心血管病等疾病的相关性研究一直备受关注,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,揭示其多态性位点可能成为基因治疗的靶点,将心血管疾病等的临床治疗、新特效药开发引向了一个全新的领域。

#### [参考文献]

- 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** (5 540): 169-173.
- 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.
- 龙 晓, 李向平. 载脂蛋白 A5 研究现状[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2006, **14** (9): 826-828.
- 李国平, 陈保生. 载脂蛋白家族新成员-载脂蛋白 A5 基因研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2004, **12** (2): 229-232.
- Talmud PJ. Rare APOA5 mutations-Clinical consequences, metabolic and functional effects [J]. *Atherosclerosis*, 2007, **194** (2): 287-292.
- Sun GT, Bi N, Li GP, Zhu XW, Zeng WW, Wu G, et al. Identification of lipid binding and lipoprotein lipase activation domains of human apoAV [J]. *J Chem Phys Lip*, 2006, **143** (1-2): 22-28.
- Prieur X, Coste H, and 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.
- Nloc VD, Gervois P, Jakel H, Nowak M, Baug 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.
- Schultze AE, Alborn WE, Newton RK, and Konrad RJ. Administration of a PPAR  $\alpha$  agonist increases serum apolipoprotein A-V levels and the apolipoprotein A-V/apolipoprotein C-III ratio [J]. *J Lipid Res*, 2005, **46** (8): 1 591-595.
- Benoit G, Cooney A, Giguere V, Ingraham H, Lazar M, Muscat G, et al. International Union of Pharmacology LXVI. Orphan Nuclear Receptors [J]. *Pharmacol Rev*, 2006, **58** (4): 798-836.
- Lind U, Nilsson T, McPheat J, Stenstedt PE, Bamberg K, Balendran C, et

- al. Identification of the human ApoAV gene as a novel ROR $\alpha$  target gene [J]. *J Biochem Biophys Res Commun*, 2005, **330** (1): 233-241.
- [12] Genoux A, Dehondt H, Chapman AH, Duhem C, Hum DW, Martin G, et al. Transcriptional regulation of apolipoprotein A5 gene expression by the nuclear receptor ROR $\alpha$  [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **25** (6): 1 186-192.
- [13] Prieur X, Schaap FG, Coste H, Rodrguez JC. Hepatocyte nuclear factor-4a regulates the human apolipoprotein AV gene: identification of a novel response element and involvement in the control by peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$ , AMP-activated protein kinase, and mitogen-activated protein kinase pathway [J]. *Mol Endocrinol*, 2005, **19** (12): 3 107-125.
- [14] Prieur X, Huby T, Coste H, Schaap FG, Chapman MJ, Rodrguez JC. Thyroid Hormone Regulates the Hypotriglyceridemic Gene APOA5 [J]. *J Biol Chem*, 2005, **280** (30): 27 533-543.
- [15] Jakel H, Nowak M, Moitrot E, Dehondt H, Hum DW, Pennacchio LA, et al. The liver X receptor ligand T0901317 down regulates APOA5 gene expression through activation of SREBP-1c [J]. *J Biol Chem*, 2004, **279** (44): 45 462-469.
- [16] Nowak M, Chapman AH, Jake H, Martin G, Sandoval DD, Staels B, et al. Insulin-mediated downregulation of apolipoprotein A5 gene expression through the phosphatidylinositol 3-Kinase pathway: role of upstream stimulatory factor [J]. *Mol Cell Biol*, 2005, **25** (4): 1 537-548.
- [17] Brien PJ, Alborn WE, Sloan JH, Ulmer M, Boodhoo A, Knierman 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]. *J Clin Chem*, 2005, **51** (2): 351.
- [18] Rensen PCN, van Dijk KW, Havekes LM. Apolipoprotein AV: low concentration, high impact [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **25** (12): 2 445-447.
- [19] Olofinso SO. ApoA-V: the regulation of a regulator of plasma triglycerides [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **25** (6): 1 097-099.
- [20] Schaap FG, Rensen PCN, Voshol PJ, Vrins C, van der Vliet HN, Chamuleau RAFM, 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.
- [21] 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.
- [22] Grosskopf I, Baroukh N, Lee SJ, KamariY, 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.
- [23] 毕楠, 陈保生. 脂蛋白代谢中活性蛋白的结构与功能[D]. 北京: 中国协和医科大学, 2005; 1-80.
- [24] Jamila FN, Baug E, Niculescu LS, PhamT, Thomas B, Rommens C, et al. Mechanism of triglyceride lowering in mice expressing human apolipoprotein A5 [J]. *J Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **319** (2): 397-404.
- [25] Oliva CP, Pisciotta L, Volti GL, 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.
- [26] Lookene A, Beckstead JA, Nilsson S, 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] Merkel M, Heeren J. Give me A5 for lipoprotein hydrolysis [J]. *J Clin Invest*, 2005, **115** (10): 2 694-696.
- [28] Dichlberger A, Cogburn LA, Nimpf J, Schneider WJ. Avian apolipoprotein A-V binds to LDL receptor gene family members [J]. *J Lipid Res*, 2007, **48** (7): 1 451-456.
- [29] Nilsson SK, Lookene A, Beckstead JA, Gliemann J, Ryan RO, Olivecrona G. Apolipoprotein A-V interaction with members of the low density lipoprotein receptor gene family [J]. *Biochemistry*, 2007, **46** (12): 3 896-904.
- [30] Baroukh N, Bauge E, Akiyama J, Chang J, Afzal V, Fruchart JC, et al. Analysis of apolipoprotein A5, C3, and plasma triglyceride concentrations in genetically engineered mice [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24** (7): 1 297-302.
- [31] Schaap FG, Nieman MC, Berber JFP, Hattori H, Talmud PJ, Vaessen SFC, et al. Evidence for a complex relationship between apoA-V and apoC-III in patients with severe hypertriglyceridemia [J]. *J Lipid Res*, 2006, **47** (10): 2 333-339.
- [32] Qu S, Perdomo G, Su DG, D'Souza FM, Shachter NS, Dong HH. Effects of apoA-V on HDL and VLDL metabolism in APOC3 transgenic mice [J]. *J Lipid Res*, 2007, **48** (7): 1 476-487.