

高密度脂蛋白重构——体内含少量脂质和(或)无脂质的载脂蛋白 AI 产生的重要途径及其生理意义

吴 满 平

(复旦大学药学院生物化学教研室, 上海市 200032)

[作者简介] 吴满平, 二级教授, 博士研究生导师。曾担任复旦大学药学院院长、中国药学会常务理事、上海药学会副理事长, 现任中国药学会名誉理事、中国生物化学与分子生物学学会理事、脂蛋白专业委员会副主任委员、《中国动脉硬化杂志》常务编委。自 1978 年以来主要从事脂质、高密度脂蛋白代谢、动脉粥样硬化防治和载脂蛋白 AI 功能研究。曾主持国家自然科学基金项目 5 项、省部级以上科研项目 2 项。目前承担一类新药载脂蛋白 AI 抗内毒素抗系统性炎症的研发(与企业合作)和鞘磷脂与动脉粥样硬化研究(与国外合作项目)。曾获上海市科技成果三等奖一项、上海市药学科二等奖一项。近三年来在核心期刊上发表通讯作者论文 12 篇, 其中有 7 篇是 SCI 收录论文。有 7 篇论文获市级以上优秀论文奖(一二三等奖各三篇)。联系电话 021-54237291, E-mail 为 mpwu@shmu.edu.cn。



[关键词] 生物化学; 含少量脂质或无脂质的载脂蛋白 AI; 高密度脂蛋白重构; 细胞胆固醇流出; ATP 结合盒转运体 A1

[摘 要] 高密度脂蛋白重构是细胞外间隙产生含少量脂质或无脂质的载脂蛋白 AI 的重要途径。“细胞核肝 X 受体-ATP 结合盒转运体 A1-载脂蛋白 AI”通路对调控细胞胆固醇流出、调节细胞内环境稳定是十分重要的, 并在体内胆固醇逆向转运起始步骤—细胞胆固醇流出中起关键作用。炎症状态下高密度脂蛋白重构增强, 这对机体急性相反应是一种保护作用, 慢性炎症及持续增强高密度脂蛋白重构导致高密度脂蛋白分解加强, 血浆高密度脂蛋白降低, 具有潜在危害性。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

载脂蛋白 AI 是高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 中最重要的功能蛋白, 在血浆中含量极其丰富 (1.23 g/L)。血浆中载脂蛋白 AI 存在形式有三种^[1,3]: 绝大部分血浆载脂蛋白 AI (约占 90%) 是以球状 HDL 形式存在, 呈现 α 电泳迁移, 每个球状 HDL 颗粒含 2~3 分子载脂蛋白 AI、单层磷脂、游离胆固醇 (free cholesterol, FC)、胆固醇酯 (cholesteryl ester, CE)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、含或不含载脂蛋白 A_{II}。小部分血浆载脂蛋白 AI 是以盘状 HDL 形式存在, 呈现前 β 电泳迁移, 每个盘状 HDL 颗粒含 2~3 分子载脂蛋白 AI、150~160 分子双层磷脂、不含或含少量 FC, 分子质量 > 60 kDa, 颗粒直径 < 7 nm。极少量载脂蛋白 AI 是以无脂游离状态或结合有少量脂质的状态存在 (lipid poor/free apolipoprotein AI, LPF 载脂蛋白 AI), 呈现前 β 电泳迁移, 每颗粒含单分子载脂蛋白 AI、不含或含很少量磷脂, 分子质量 29~30 kDa^[2,3]。

高密度脂蛋白 (HDL) 的逆向转运胆固醇 (reverse transfer cholesterol, RTC) 功能是其抗动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 功能的一个重要组成部分。公认的 RTC 过程由三个步骤组成: 第一步, HDL 接收细胞流出的胆固醇; 第二步, 在卵磷脂

胆固醇酰基转移酶 (lecithin: cholesterol acyltransferase, LCAT) 催化下胆固醇转变成 CE; 第三步, 在清道夫受体 BI (scavenger receptor class BI, SR-BI) 介导下肝脏选择性摄取 HDL-CE。部分 HDL-CE 通过胆固醇酯转运蛋白 (cholesteryl ester transfer protein, CETP) 与乳糜微粒 TG (CM-TG)、VLDL-TG 和 IDL-TG 交换, 然后经由载脂蛋白 B、E 受体或 LDL 受体相关蛋白被肝脏内吞。此三步机理的 RTC 过程上有许多细节, 尤其是周围细胞胆固醇流出过程尚有待进一步阐明。

近年来研究发现, 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 (ATP binding cassette transporter A1, ABCA1)-载脂蛋白 AI 相互作用在介导细胞胆固醇流出、形成新生 HDL 中起关键作用, 也是 RTC 过程中的一个起始步骤^[4,8]。载脂蛋白 AI 是 ABCA1 的专一配体, 球状 HDL 不能与 ABCA1 相互作用^[9]。由此产生一个问题: 在体内除了肝脏和小肠能合成分泌载脂蛋白 AI 外, 周围组织介导细胞胆固醇流出所需载脂蛋白 AI 是如何产生的? 最新研究结果表明, HDL 重构 (remodeling) 是体内产生 LPF 载脂蛋白 AI 的重要途径^[1,9]。

1 高密度脂蛋白重构

1.1 重构过程

在胆固醇酯转运蛋白 (cholesteryl ester transfer protein,

CETP)介导下,乳糜微粒TG(CM-TG)与HDL-CE交换。此交换是不对等的,转运出HDL的CE量要大于转运入HDL的TG量,导致HDL核心中的脂质净减少,形成CE降低TG增加的HDL。在肝脂肪酶(hepatic lipase, HL)作用下, HDL-TG水解,导致HDL核缩小,颗粒热动力学稳定性降低, HDL表面组分过剩。载脂蛋白AI从HDL表面解离,形成LPF载脂蛋白AI。此重构发生在血管外细胞间隙^[1,9]。

1.2 参与并影响重构的其它因子

1.2.1 磷脂转运蛋白 磷脂转运蛋白(phospholipid transfer protein, PLTP)^[9,10]作为一种融合剂,介导两个HDL颗粒(含3分子载脂蛋白AI)融合,生成一个不稳定的融合产物(含6分子载脂蛋白AI)。此融合产物重排生成3个小颗粒HDL(含2分子载脂蛋白AI)或者解离2分子载脂蛋白AI后转化成1个较稳定的大颗粒HDL(含4分子载脂蛋白AI)。融合产物的此两种转换途径是彼此独立的。CETP作用下HDL中TG含量升高,使载脂蛋白AI不稳定,更易发生PLTP介导的HDL重构。

1.2.2 脂蛋白脂肪酶 脂蛋白脂肪酶(lipoprotein lipase, LPL)^[11,9]水解富含TG脂蛋白,释放LPF载脂蛋白AI。

1.2.3 载脂蛋白A₂ 载脂蛋白A₂^[1,11]与AI C末端形成盐桥,从而增加载脂蛋白AI稳定性,抑制AI/A₂HDL重构和载脂蛋白AI解离。

1.2.4 高密度脂蛋白-磷脂组成^[12] 体外试验发现,与棕榈酰-油酰卵磷脂(POPC)、棕榈酰-亚油酰卵磷脂(PLPC)相比,由棕榈酰二十二碳六烯酰卵磷脂(PDPC)或棕榈酰花生四烯酰卵磷脂(PAPC)和载脂蛋白AI重组的球状HDL更易重构,导致大量LPF载脂蛋白AI生成。

2 血浆载脂蛋白AI存在一个“贫脂-富脂(lipid-poor- lipid-rich,)”形式的循环

由于LPF载脂蛋白AI在体内迅速被脂质化以及肾排泄,使血浆LPF载脂蛋白AI浓度很低。一般梯度聚丙烯酰胺凝胶电泳不能发现其存在,但一般免疫电泳技术可检测其血浆存在^[2,3,13]。

α 迁移球状大颗粒AI HDL(HDL₂)是载脂蛋白AI富含脂质形式(富脂载脂蛋白AI),经重构后形成LPF载脂蛋白AI。在细胞ABCA1介导下获得胆固醇和磷脂,生成新生盘状HDL。在LCAT催化下转变成 α 迁移球状小颗粒AI HDL(HDL₃),然后进一步转变重新生成HDL₂,从而完成血浆载脂蛋白AI“贫脂-富脂”循环。贫脂载脂蛋白AI也可直接掺入到HDL₃中^[1]。因此,LPF载脂蛋白AI体内代谢途径有三条^[1]: 通过“贫脂-富脂”循环转变成大颗粒 α AI HDL; ④直接掺入到小颗粒 α AI HDL转变成大颗粒 α AI HDL; ③通过肾脏直接排出体外。Tangier患者ABCA1遗传缺陷,LPF载脂蛋白AI不能获得细胞流出胆固醇,因此迅速从血浆清除(通过肾脏),载脂蛋白AI血浆居留时间从正常人3~4.5 d下降到Tangier患者0.22 d^[14,15]。贫脂载脂蛋白AI转化成富脂载脂蛋白AI过程受LCAT驱动,当LCAT缺乏时,载脂蛋白AI不能重新掺回到HDL。

3 周围组织胆固醇流出和转运^[9]

周围组织胆固醇流出需要二个必要条件:能量取得的ABCA1介导的胆固醇转运及胆固醇接受体LPF载脂蛋白AI的存在。

细胞胆固醇流出过程是,在As损伤血管内膜和CE负荷巨噬细胞-泡沫细胞之间间隙存在HDL,其主要形式是由血浆渗滤的 α 球状HDL。在巨噬细胞-泡沫细胞分泌CETP、PLTP、HL和LPL作用下,在此部位发生HDL重构,产生贫脂载脂蛋白AI。新生成载脂蛋白AI与胞膜ABCA1相互作用,获得细胞流出胆固醇和磷脂,形成盘状HDL。盘状HDL进入血浆或在间隙部位经过“贫脂-富脂载脂蛋白AI循环”,在LCAT作用下,转化成 α 球状HDL再回到血浆。ABCA1介导巨噬细胞胆固醇流出是一个ATP依赖、由细胞CE负荷诱导的过程,ABCA1与载脂蛋白AI结合是专一的,其它载脂蛋白及球状HDL不能替代。

4 巨噬细胞胆固醇流出的调节

细胞核肝X受体(liver X receptor, LXR)是胆固醇代谢和转运的一种重要调节剂,它控制多种基因(ABCA1、PLTP/CETP、LPL/HL/EL、载脂蛋白E/CI/C₂/CIV)转录。巨噬细胞的LXR通路对高胆固醇血症细胞胆固醇负荷情况下调节内环境稳定是十分重要的。在胆固醇负荷增加时,LXR调控的各种基因协同表达上调^[9]。氧化固醇是LXR的生理配体。巨噬细胞摄取 α -LDL使细胞内氧化固醇浓度增加,导致LXR被激活^[9]。在3T3-L1脂肪细胞也存在LXR-ABCA1-载脂蛋白AI通路。氧化LDL对此通路具有双重作用:低浓度 α -LDL通过此通路促进脂肪细胞胆固醇流出,而高浓度时则不能^[16]。LXR是过氧化体增殖物激活型受体 α (PPAR α)的下游靶点。PPAR α 结合LXR α promoter上PPAR α 结合部位,导致LXR表达增加。在巨噬细胞存在一个“PPAR α -LXR-ABCA1”通路,促进胆固醇流出,呈现抗As作用^[17]。

5 高密度脂蛋白重构及细胞胆固醇转运到高密度脂蛋白过程发生部位

高密度脂蛋白重构及细胞胆固醇转运到HDL过程是在细胞外间隙(内皮下空间或内膜),而不是在血浆^[9]。

巨噬细胞通过LXR调控ABCA1和参与HDL重构的一系列因子表达(LXR介导的转录级联反应)。巨噬细胞虽然不能分泌载脂蛋白AI,但可通过HDL重构生成LPF载脂蛋白AI。载脂蛋白AI与ABCA1相互作用介导细胞胆固醇流出。目前存在二种观点:一种认为载脂蛋白AI/ABCA1互相作用,同时介导细胞磷脂和胆固醇流出;另一种认为两者互相作用,首先介导细胞磷脂流出,导致盘状HDL形成,而盘状HDL是细胞流出胆固醇有效接受体,通过一种不需要ABCA1介导的扩散机制接收细胞流出胆固醇,然后通过淋巴系统进入血浆^[18]。

6 炎症状态下高密度脂蛋白重构^[19]

分泌型磷脂酶 A2- sPLA_2 存在于 As 损伤部位。在 APR 时 sPLA_2 与 CETP 协同促进 HDL 重构, 增加 LPF 载脂蛋白 AI 及血清淀粉样蛋白 A (SAA) 释放, 促进 ABCA1 依赖细胞胆固醇流出。SAA 也可促进 SR-BI 依赖细胞胆固醇流出^[20]。炎症诱导 HDL 重构在 APR 过程中具有保护作用。但在慢性炎症时 sPLA_2 过表达也可导致持续增强的重构、载脂蛋白 AI 释放, 载脂蛋白 AI 分解代谢加强, 使血浆 HDL 降低, 从而具有潜在危害性^[21, 22]。

炎症状态下 HDL 和载脂蛋白 AI 浓度下降的可能机理^[19]是: sPLA_2 促进 HDL 重构, 导致分解增加。④ APR-HDL 中 TG 增加, 加速 HDL 分解。④肝脏核因子 κB 与 PPAR(交互协同调节导致载脂蛋白 AI 降低, SAA 升高^[23]: 细胞因子(CK)激活核因子 κB 促进 SAA 表达增高; CK 抑制核受体 PPAR α , 使载脂蛋白 AI 表达降低; 核因子 κB 与 PPAR α 相互作用又进一步促进此交互协同调节。APR 时, SAA 取代载脂蛋白 AI 成为 HDL 主要蛋白组分与载脂蛋白 AI 降低无因果关系。因为无 APR 时小鼠 SAA 表达不能降低载脂蛋白 AI, 在 APR 时, 血浆 HDL 降低迅速发生, 并在 SAA 蓄积发生之前^[24]。炎症和感染情况下, α 巨球蛋白显著增加, 抑制骨形态发生蛋白 1 (BMP-1) 活性, 从而抑制前载脂蛋白 AI 成熟(转变成可结合脂质的成熟载脂蛋白 AI), 肾滤过清除增加, 导致载脂蛋白 AI 降低^[25]。

[参考文献]

- [1] Rye KA, Barter PJ. Formation and metabolism of pre-beta migrating, lipid-poor apolipoprotein AI [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24** (3): 421-428.
- [2] Asztalos BF, Roheim PS. Presence and formation of 'free apolipoprotein AI-like' particles in human plasma [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995, **15** (9): 1419-423.
- [3] Neary RH, Gowland E. Stability of free apolipoprotein AI concentration in serum, and its measurement in normal and hyperlipidemic subjects [J]. *Clin Chem*, 1987, **33** (7): 1163-169.
- [4] Vedhachalam C, Duong PT, Nickel M, et al. Mechanism of ATP-binding cassette transporter A1-mediated cellular lipid efflux to apolipoprotein AI and formation of high density lipoprotein particles [J]. *J Biol Chem*, 2007, **282** (34): 25123-130.
- [5] Mukhamedova N, Fu Y, Bukrinsky M, et al. The role of different regions of ATP-binding cassette transporter A1 in cholesterol efflux [J]. *Biochemistry*, 2007, **46** (33): 9388-398.
- [6] Vedhachalam C, Ghering AB, Davidson WS, et al. ABCA1-induced cell surface binding sites for Apo AI [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, **27** (7): 1603-609.
- [7] Hajj Hassan H, Denis M, Donna Lee DY, et al. Identification of an ABCA1-dependent phospholipid-rich plasma membrane apolipoprotein AI binding site for nascent HDL formation: Implications for current models of HDL biogenesis [J]. *J Lipid Res*, 2007, [Epub ahead of print].
- [8] Chroni A, Koukos G, Duka A, Zannis VI. The carboxy-terminal region of apoA-I is required for the ABCA1-dependent formation of alpha-HDL but not pre-beta-HDL particles in vivo [J]. *Biochem*, 2007, **46** (19): 5697-708.
- [9] Curtiss LK, Valenta DT, Hime NJ, Rye KA. What is so special about apolipoprotein AI in reverse cholesterol transport [J]? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, **26** (1): 12-19.
- [10] Settasatian N, Duong M, Curtiss LK, et al. The mechanism of the remodeling of high density lipoproteins by phospholipid transfer protein [J]. *J Biol Chem*, 2001, **276** (29): 26898-905.
- [11] Rye KA, Wee K, Curtiss LK, et al. Apolipoprotein AII inhibits high density lipoprotein remodeling and lipid-poor apolipoprotein AI formation [J]. *J Biol Chem*, 2003, **278** (25): 22530-536.
- [12] Rye KA, Duong M, Psaltis MK, et al. Evidence that phospholipids play a key role in pre-beta apoAI formation and high density lipoprotein remodeling [J]. *Biochemistry*, 2002, **41** (41): 12538-545.
- [13] 吴新伟, 傅明德, 刘秉文, 邓萍. 人血清高密度脂蛋白亚类免疫印迹检测法[J]. *中国动脉硬化杂志*, 1999, **7** (3): 253-255.
- [14] Bodzioch M, Ors E, Klucken J, et al. The gene encoding ATP-binding cassette transporter 1 is mutated in Tangier disease [J]. *Nat Genet*, 1999, **22** (4): 347-351.
- [15] Genest J Jr, Marcil M, Denis M, Yu L. High density lipoproteins in health and in disease [J]. *J Invest Med*, 1999, **47** (1): 31-42.
- [16] Zhao SP, Yu BL, Xie XZ, et al. Dual effects of oxidized low-density lipoprotein on LXR-ABCA1-apoA-I pathway in 3T3-L1 cells [J]. *Int J Cardiol*, 2007, [Epub ahead of print].
- [17] Chawla A, Boisvert WA, Lee CH, et al. A PPAR gamma-LXR-ABCA1 pathway in macrophages is involved in cholesterol efflux and atherogenesis [J]. *Mol Cell*, 2001, **7** (1): 161-171.
- [18] Fielding PE, Nagao K, Hakamata H, et al. A two-step mechanism for free cholesterol and phospholipid efflux from human vascular cells to apolipoprotein AI [J]. *Biochemistry*, 2000, **39** (46): 14113-120.
- [19] van der Westhuyzen DR, de Beer FC, Webb NR. HDL cholesterol transport during inflammation [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2007, **18** (2): 147-151.
- [20] Jahangiri A, Witta J, de Beer MC, et al. Cholesteryl ester transfer protein and group IIa secretory phospholipase A2 liberate bioactive serum amyloid A from HDL [abstract] [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, **26** (5): e62.
- [21] de Beer FC, Connell PM, Yu J, et al. HDL modification by secretory phospholipase A(2) promotes scavenger receptor class B type I interaction and accelerates HDL catabolism [J]. *J Lipid Res*, 2000, **41** (11): 1849-857.
- [22] Tietge UJ, Maugeais C, Cain W, et al. Overexpression of secretory phospholipase A(2) causes rapid catabolism and altered tissue uptake of high density lipoprotein cholesteryl ester and apolipoprotein AI [J]. *J Biol Chem*, 2000, **275** (14): 10077-084.
- [23] Han CY, Chiba T, Campbell JS, et al. Reciprocal and coordinate regulation of serum amyloid A versus apolipoprotein AI and paraoxonase 1 by inflammation in murine hepatocytes [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, **26** (8): 1806-813.
- [24] Hosoi H, Webb NR, Glick JM, et al. Expression of serum amyloid A protein in the absence of the acute phase response does not reduce HDL cholesterol or apoA-I levels in human apoA-I transgenic mice [J]. *J Lipid Res*, 1999, **40** (4): 648-653.
- [25] Chau P, Fielding PE, Fielding CJ. Bone morphogenetic protein 1 (BMP-1) cleaves human proapolipoprotein AI and regulates its activation for lipid binding [J]. *Biochemistry*, 2007, **46** (28): 8445-450.

(此文编辑 胡必利)