

影响血浆甘油三酯代谢的新基因

白璐综述, 刘国庆审校

(北京大学心血管研究所, 北京市 100191)

[关键词] 高甘油三酯血症; 载脂蛋白 A_Ⅱ; 糖基化磷脂酰肌醇锚定高密度脂蛋白结合蛋白 1; 脂肪酶成熟因子 1

[摘要] 随着生活环境的改变, 高甘油三酯血症已经成为最为常见的病症之一。血浆甘油三酯的代谢受到众多基因的调控。进入二十一世纪以来, 几种明显影响血浆甘油三酯水平的新基因(载脂蛋白 A_Ⅱ、糖基化磷脂酰肌醇锚定高密度脂蛋白结合蛋白 1 和脂肪酶成熟因子 1)相继被发现, 其作用主要是通过影响脂蛋白脂肪酶而实现。对这几类基因的研究, 丰富了人们对血浆甘油三酯代谢调控的认识, 并为预防和控制高甘油三酯血症提供了新的途径。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

高脂血症包括高甘油三酯血症、高胆固醇血症以及高甘油三酯合并高胆固醇血症。由于饮食、环境等各方面的差异, 国外以高胆固醇血症的情况比较多见, 所以对于胆固醇的代谢研究比较多, 对于甘油三酯的代谢研究则相对缺乏。而在我国人群中, 高甘油三酯血症比单纯的高胆固醇血症更为常见。新近的大宗流行病学研究已经证实高甘油三酯血症是动脉粥样硬化发生的危险因素, 同时还有促动脉粥样硬化斑块破裂的危险^[1]。因此, 对高甘油三酯血症的研究是很有必要的。与人类疾病相似的动物模型是深入研究的必要工具, 然而大多数常用实验动物对普通高甘油三酯食物喂饲不产生相应的反应, 如家兔喂饲 10% 以上含猪油饲料时血浆甘油三酯反而降低, 大鼠和小鼠喂饲高甘油三酯饲料后也不发生或只产生很轻微的高甘油三酯血症, 因此以往对高甘油三酯的实验研究一直进展较慢。

随着基因修饰技术的发展, 人们通过修饰动物体内已知影响血浆甘油三酯(TG)代谢的基因, 建立了一些高甘油三酯血症的动物模型, 为人类认识与治疗这一疾病提供了较好的参照系统。如人类载脂蛋白 C_Ⅲ转基因小鼠在普通喂养的条件下其血浆甘油三酯水平可达到 300 mg/dL 以上, 而野生型小鼠血浆甘油三酯水平仅介于 60~120 mg/dL 之间^[2]。Yagyu 等^[3]制备的极低密度脂蛋白受体缺陷小鼠血浆甘油三酯水平为野生型小鼠的 2.2 倍。还有人发现腺病毒介导高表达受体相关蛋白(RAP), 也可引起高甘油三酯血症。此外, 人载脂蛋白 C_Ⅲ、C_Ⅳ的转基因小鼠也表现为高甘油三酯血症。

脂蛋白脂肪酶(LPL)是水解富含甘油三酯的脂蛋白中甘油三酯的关键酶, 它的功能异常将导致严重的高脂血症, 以下介绍的基因与它们对脂蛋白脂肪酶的相互作用有关, 直

接或间接地通过脂蛋白脂肪酶影响机体的甘油三酯代谢。由于脂蛋白脂肪酶基因敲除的纯合子小鼠在出生后 48 h 以内即全部死亡, 我们通过体细胞有益突变体(LPL447)基因转移技术, 成功救治纯合子小鼠^[4], 由此建立了一种严重高甘油三酯血症的小鼠模型, 并发现该小鼠在老年阶段可发生自发性动脉粥样硬化, 其机理可能是乳糜微粒氧化而导致内皮细胞活化^[5]。内皮脂肪酶是与脂蛋白脂肪酶、肝脂肪酶同属甘油三酯脂肪酶基因家族的一名成员, 参与高密度脂蛋白的代谢, Ma 等^[6]发现内皮脂肪酶基因敲除的小鼠与野生型小鼠相比甘油三酯水平上升了 52.3%, 胆固醇水平上升了 42.6%。二十一世纪以来又发现了几种影响血浆甘油三酯代谢的新基因。对这些基因的研究进一步拓宽了人们对血浆甘油三酯代谢的认识。

1 载脂蛋白 A_Ⅱ

载脂蛋白 A_Ⅱ基因是 2001 年 Vliet 等^[7]和 Pennacchio 等^[8]两组独立的研究人员分别在大鼠的部分肝切除与比较基因组学的研究中发现的一种新型载脂蛋白基因。研究发现, 人类载脂蛋白 A_Ⅱ基因的转基因小鼠血浆甘油三酯水平降低至野生型对照组小鼠的 1/3。而去除载脂蛋白 A_Ⅱ基因, 其血浆甘油三酯浓度则增高了 4 倍^[9]。对于载脂蛋白 A_Ⅱ在甘油三酯代谢中的作用机制仍在不断的研究中。Schaap 等^[10]发现载脂蛋白 A_Ⅱ是脂蛋白脂肪酶活性的潜在激活因子, 因此, 载脂蛋白 A_Ⅱ主要通过减少肝脏极低密度脂蛋白-甘油三酯的产生以及增加富含甘油三酯的脂蛋白脂解来降低血浆甘油三酯水平。而 Qu 等^[11]则发现腺病毒介导载脂蛋白 A_Ⅱ转入人载脂蛋白 C_Ⅲ转基因小鼠体内后, 其血浆甘油三酯水平下降了 3 倍, 并证明肝脏的极低密度脂蛋白-甘油三酯的生成与组织脂蛋白脂肪酶的活性没有统计学意义上的改变, 而是极低密度脂蛋白-甘油三酯降解加快和高密度脂蛋白的形成与成熟增多, 从而起到了有益的调节血浆脂质代谢的作用。我们在动脉粥样硬化易感的研究中还

[收稿日期] 2009-03-17 [修回日期] 2009-04-05

[作者简介] 白璐, 硕士研究生, 主要从事脂代谢紊乱、动脉粥样硬化及其基因治疗研究。通讯作者刘国庆, 博士研究生导师, E-mail 为 vangeorgeli@gmail.com。

发现载脂蛋白 E 基因缺陷高胆固醇小鼠体内将高表达载脂蛋白 AⅡ表明在载脂蛋白 AⅡ降低血浆甘油三酯的同时对高密度脂蛋白没有影响,进一步提示载脂蛋白 AⅡ有可能作为一个降脂的治疗性靶点。

载脂蛋白 AⅡ基因的表达受多种因素的影响,而它的表达同样也影响着其它基因的表达。研究者对过氧化体增殖物激活型受体 α (PPAR α) 在载脂蛋白 AⅡ基因转录中的作用进行研究后发现,载脂蛋白 AⅡ是 PPAR α 的一个下游靶基因,PPAR α 激动可促进载脂蛋白 AⅡ的转录,这是 PPAR α 可降低血浆甘油三酯的原因之一^[12-13]。细胞核受体中视黄醇类核内受体 (ROR- α) 1 和 4 在基因转录过程中也参与调节了载脂蛋白 AⅡ的表达^[14]。另外,肝 X 受体配体 (T0901317) 能够通过激活固醇调节元件结合蛋白 1c (SREBP-1c) 来下调载脂蛋白 AⅡ的基因表达^[15]。在对人类载脂蛋白 CⅢ的转基因小鼠的研究中发现,血浆载脂蛋白 AⅡ水平达对照组的 4 倍时,其血浆中的载脂蛋白 CⅢ水平有明显的下降,并同时发现高密度脂蛋白 1 中载脂蛋白 CⅢ下降而载脂蛋白 E 升高,高密度脂蛋白 2 中载脂蛋白 CⅢ下降,载脂蛋白 AⅡ升高,表明高密度脂蛋白的结构进行了重组^[11]。Lookene 等^[16]还发现载脂蛋白 AⅡ可以促进硫酸乙酰肝素蛋白多糖与脂蛋白脂肪酶的结合,这样通过对脂蛋白脂肪酶的间接作用来实现对血浆甘油三酯的调节。但也有研究发现,载脂蛋白 AⅡ对脂蛋白脂肪酶有直接作用^[17]。目前还发现了载脂蛋白 AⅡ的多个多态性位点 (SNP),有种族和性别的差异,并与心血管疾病有一定的相关^[18],其确切的机制还有待进一步的研究来发现。载脂蛋白 AⅡ可作为可能作用靶点,达到降低血浆甘油三酯水平的目的,也有可能成为对心血管疾病风险进行评估的一类有效指标。

2 糖基化磷脂酰肌醇锚定高密度脂蛋白结合蛋白 1

糖基化磷脂酰肌醇锚定高密度脂蛋白结合蛋白 1 (glycosylphosphatidylinositol anchored high density lipoprotein-binding protein 1, GPHBP1) 是通过基因敲除后才发现对血浆甘油三酯影响很大的一个基因。研究报道, GPHBP1 基因敲除小鼠发生严重的高甘油三酯血症,甘油三酯水平高达 2000 ~ 4000 mg/dL,胆固醇水平也显著升高,而高密度脂蛋白胆固醇水平下降。同时发现血浆乳糜微粒蓄积,颗粒直径为 122~ 289 nm,载脂蛋白以载脂蛋白 B48 为主,表明 GPHBP1 在乳糜微粒的清除过程中有极其重要的作用^[19-20]。

加拿大 Hegele 研究组^[21]在对 160 名禁食状态下乳糜微粒血症并且血浆甘油三酯水平高达 10 mmol/L 的患者(他们的脂蛋白脂肪酶及载脂蛋白 CⅢ基因均正常)研究发现,其中一名患有第五型高脂血症的患者是纯合 GPHBP1 的错义突变体 (G56R),在 22 岁时就发生胰腺炎,禁食状态下检测为乳糜微粒血症,甚至在限制饮食的状态下也可检测到。杂合型的 G56R 患者则表现为轻度的高脂血症。

关于 GPHBP1 的生物功能,Beigneux 等认为它可能是通过促进脂蛋白脂肪酶与乳糜微粒之间相互作用而起作用

的。研究证实 GPHBP1 有结合脂蛋白脂肪酶和乳糜微粒的能力(识别载脂蛋白 B48)。另外,还发现载脂蛋白 AⅡ也可以作为 GPHBP1 的一个配体来发挥其降低血浆甘油三酯水平的作用,因为在载脂蛋白 AⅡ基因敲除小鼠所发生的高甘油三酯血症中,其主要机制之一是脂蛋白脂肪酶介导的脂解作用缺陷。GPHBP1 基因缺陷小鼠出生后几周之内血浆甘油三酯水平并不很高,与脂蛋白脂肪酶基因敲除小鼠出生哺乳后血浆甘油三酯水平就高达 20000 mg/dL 不同,所以 GPHBP1 基因缺陷小鼠得以存活下来。据推测,这可能是由于小鼠早期肝脏有脂蛋白脂肪酶高水平表达,而肝脏中的脂蛋白脂肪酶不需要与 GPHBP1 结合就可以起到清除乳糜微粒的作用。正常小鼠肝脏的脂蛋白脂肪酶基因在出生 4 周后终止表达。

GPHBP1 基因表达有明显的组织特异性,在脂肪组织与心脏这样的组织器官中高表达,在大脑这样高度依赖葡萄糖供能的器官中却几乎不表达。这种表达的差异,是由于内皮细胞基因表达的不同所造成的,还是受到了心肌细胞与脂肪细胞产生的细胞因子作用而造成的,目前尚不明了。

3 脂酶成熟因子 1

脂酶成熟因子 1 (lipase maturation factor 1, LMF1) 也是新近发现对血浆甘油三酯有重要影响的基因。早在上世纪 60 年代,人们就发现了一种联合性脂酶缺陷型小鼠,这种小鼠血浆甘油三酯水平将高出正常的 400 倍,胆固醇水平也高出正常的 15 倍,体内几乎检测不到脂蛋白脂肪酶和肝脂酶活性,出生后 4 天之内便死亡^[22]。通过定位克隆技术,证明这种小鼠的基因缺陷是由位于小鼠 17 号染色体上的 LMF1 基因。该基因全长 84 kb 其中有 11 个外显子,编码 574 个氨基酸。在人类定位于 16p13.3 染色体上。

LMF1 的表达产物具有促进脂蛋白脂肪酶和肝脂酶在合成后发生糖基化、从而获得催化活性的功能。缺乏该基因的细胞胞浆内能够检测到高浓度的脂蛋白脂肪酶和肝脂酶,但该脂酶缺乏一个主要的糖链,并且没有水解甘油三酯底物的功能,表现为功能性蛋白的成熟障碍。LMF1 通过促进糖基的转移,参与了脂酶的成熟过程,所以将其命名为脂酶成熟因子 1。经 RT-PCR 分析发现 LMF1 基因在合成脂蛋白脂肪酶与肝脂酶的组织中(脂肪组织、骨骼肌、心脏及肝脏)高度表达,然而表达量与实际测量值存在差异也提示 LMF1 在组织中可能发挥着其他的功能。LMF1 在内质网表达,编码一种有着高度保守序列的跨膜蛋白,但是其功能现在还未明了,不过它在蛋白成熟过程中的作用是得到肯定结论的。在另一报道中指出,LMF1 在运送脂蛋白脂肪酶由组织到毛细血管内皮参与富含甘油三酯的乳糜微粒和极低密度脂蛋白的代谢中起作用,并影响其活性^[23]。

在人类,也已发现了 LMF1 表达缺陷的纯合子型个体。这些患者表现为严重高甘油三酯血症,并同时显示脂蛋白脂肪酶和肝脂酶活性减低或丧失。LMF 基因 Y439X 突变患者只表达了 LMF1 的一个片段,以严重高甘油三酯血症为主要临床表现,其血浆中脂蛋白脂肪酶的活性下降了 93%,肝

脂肪酶的活性降低了 50%^[24]。因此,在脂蛋白脂肪酶活性丧失的严重高甘油三酯血症患者中,检测 LMFI 基因是否有缺陷是很有必要的,如果是 LMFI 基因突变所造成,就应考虑针对 LMFI 进行治疗,如表达 LMFI 的基因治疗。

4 结语

由于高甘油三酯血症与代谢综合症、糖尿病以及冠心病等众多严重影响人类健康的多发性疾病密切相关,人们对高甘油三酯血症的研究也不断深入。这些影响甘油三酯代谢新基因的发现,将会大大促进我们对甘油三酯在上述疾病中所起作用的研究,得到更深入的认识,为预防和治疗脂质代谢疾病开辟新的途径。

[参考文献]

- [1] Sarwar N, Danesh J, Eiriksdottir G, et al. Triglycerides and the risk of coronary heart disease: 10 158 incident cases among 262 525 participants in 29 western prospective studies [J]. *Circulation*, 2007, **115** (4): 450-458
- [2] Ito Y, Azrolan N, O'Connell A, et al. Hypertriglyceridemia as a result of human apoCIII gene expression in transgenic mice [J]. *Science*, 1990, **249** (4970): 790-793
- [3] Yagyu H, Lutz EP, Kako Y, et al. Very low density lipoprotein (VLDL) receptor-deficient mice have reduced lipoprotein lipase activity [J]. *J Biol Chem*, 2002, **277** (12): 10 037-043
- [4] 李慧, 刘国庆. 应用体细胞基因转移技术建立的遗传性极高血脂小鼠模型 [J]. *中国实验动物学报*, 2004, **12** (2): 81-83
- [5] Zhang XH, Qi R, Xian XD, et al. Spontaneous atherosclerosis in aged lipoprotein lipase-deficient mice with severe hypertriglyceridemia on a normal chow diet [J]. *Circulation*, 2008, **102** (21): 250-256
- [6] Ma K, Cilingiroglu M, Otvos JD, et al. Endothelial lipase is a major genetic determinant for high-density lipoprotein concentration, structure, and metabolism [J]. *PNAS*, 2003, **100** (5): 2 748-753
- [7] van der Vliet HN, Samuels MG, Leeswater AJ, et al. Apolipoprotein A-III: a novel apolipoprotein associated with an early phase of liver regeneration [J]. *J Biol Chem*, 2001, **276** (48): 44 512-520
- [8] Pennacchio LA, Olivier M, Hubacek JA, et al. An apolipoprotein influencing triglycerides in humans and mice revealed by comparative sequencing [J]. *Science*, 2001, **294** (5540): 169-173
- [9] Pennacchio L, Rubin E. Apolipoprotein A5: a newly identified gene that affects plasma triglyceride levels in humans and mice [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, **23**: 529-534
- [10] Schaap FG, Rensen PC, Voshol PJ, et al. ApoA-V 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] Qu S, Perdomo G, Su D, et al. Effects of apoA-III on HDL and VLDL metabolism in APOC3 transgenic mice [J]. *Lipid Research*, 2007, **48** (7): 1 476-487
- [12] Prieur X, Coste H, Rodriguez JC. The human apolipoprotein A-III gene is regulated by peroxisome proliferator-activated receptor- α and contains a novel farnesoid X-activated receptor response element [J]. *J Biol Chem*, 2003, **278** (28): 25 468-480
- [13] Vu-Dac N, Gervois P, Jakel H, et al. Apolipoprotein A5: a crucial determinant of plasma triglyceride levels is highly responsive to peroxisome proliferator-activated receptor-activators- α [J]. *J Biol Chem*, 2003, **278** (20): 17 982-985
- [14] Genoux A, Dehondt H, Helleboid-Chapman A, et al. Transcriptional regulation of apolipoprotein A5 gene expression by the nuclear receptor ROR- α [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **25**: 1 186-192
- [15] Jakel H, Nowak M, Moitrot E, 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] Lookene A, Beckstead JA, Nilsson S, et al. Apolipoprotein A-V-heparin interactions: implications for plasma lipoprotein metabolism [J]. *J Biol Chem*, 2005, **280**: 25 383-387
- [17] Fruchart-Najib J, Baug E, Niculescu LS, et al. Mechanism of triglyceride lowering in mice expressing human apolipoprotein A5 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **319** (2): 397-404
- [18] Aouizerat BE, Kulkarni M, Heilbron D, et al. Genetic analysis of a polymorphism in the human apoA-V gene: effect on plasma lipids [J]. *J Lipid Res*, 2003, **44**: 1 167-173
- [19] Begneux AP, Davies BJ, Gin P, et al. Glycosylphosphatidylinositol-anchored high density lipoprotein-binding protein 1 plays a critical role in the lipolytic processing of chylomicrons [J]. *Cell Metab*, 2007, **5** (4): 279-291
- [20] Young SG, Davies BS, Fong LG, et al. GPHBP1: an endothelial cell molecule important for the lipolytic processing of chylomicrons [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2007, **18** (4): 389-396
- [21] Wang J, Hegele RA. Homozygous missense mutation (G56R) in glycosylphosphatidylinositol-anchored high-density lipoprotein-binding protein 1 (GPHBP1) in two siblings with fasting chylomicronemia (MIM 144650) [J]. *Lipids Health Dis*, 2007, **6**: 22
- [22] Patemiti JR Jr, Brown WV, Ginsberg HN, et al. Combined lipase deficiency (cld): a lethal mutation on chromosome 17 of the mouse [J]. *Science*, 1983, **221** (4606): 167-169
- [23] Attie AD. High maintenance proteins and hypertriglyceridemia [J]. *Nat Genet*, 2007, **39** (12): 1 424-425
- [24] Pterfym, Ben-Zeev O, Mao HZ, et al. Mutations in LMFI cause combined lipase deficiency and severe hypertriglyceridemia [J]. *Nat Genet*, 2007, **39**: 1 483-487

(此文编辑 文玉珊)