

干预载脂蛋白 A I 表达的研究进展

刘益洲¹, 刘亚密², 马小峰¹, 王佐²

(1.南华大学附属南华医院,湖南省衡阳市 421002;2.南华大学心血管疾病研究所,湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 高密度脂蛋白; 载脂蛋白 A I; 心血管疾病

[摘要] 大量的临床流行病学研究已经表明,高密度脂蛋白(HDL)水平与心血管疾病风险呈负相关。载脂蛋白 A I (ApoA I) 是 HDL 中的主要功能蛋白,其含量约占 HDL 的 70% 左右。寡脂的 ApoA I 是 ATP 结合盒转运子 A1 (ABCA1) 介导的巨噬细胞胆固醇流出的主要接受体,能够介导巨噬细胞中游离胆固醇的外流,启动胆固醇逆转运 (RCT) 过程,并在肝外组织清除过多胆固醇。大量的动物实验也已证实即使 HDL 保持正常水平,ApoA I 的缺乏也可导致动脉粥样硬化病变加重,过表达人 ApoA I 基因抑制动脉粥样硬化早期脂纹的产生,因此调控 ApoA I 基因表达对动脉粥样硬化及其他心血管疾病具有重要意义。本文拟就干预 ApoA I 基因表达调控机制及诱导和抑制 ApoA I 表达的相关因素进行综述。

[中图分类号] Q5

[文献标识码] A

The development of regulatory factors on apolipoprotein A I expression

LIU Yi-Zhou¹, LIU Ya-Mi², MA Xiao-Feng¹, WANG Zuo²

(1.Affiliated Nanhua Hospital of University of South China, Hengyang, Hunan 421002, China; 2.Institute of Cardiovascular Disease Research, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

[KEY WORDS] High density lipoprotein; Apolipoprotein A I; Cardiovascular disease

[ABSTRACT] A large number of clinical epidemiological studies have shown that high density lipoprotein (HDL) level is inversely associated with cardiovascular disease risk factors. Apolipoprotein A I (ApoA I) is the main functional protein in HDL, and the content of HDL is about 70%. Oligo-lipid ApoA I is the main recipient of ATP-binding cassette transporters (ABCA1) mediated cholesterol efflux from macrophages. It can mediate cholesterol efflux free from macrophage, then start reverse cholesterol transport (RCT) process, and remove excess cholesterol in extrahepatic tissue. A large number of animal experiments have also confirmed that the lack of HDL ApoA I can also lead to the increase of atherosclerosis, and overexpression of human ApoA I gene can significantly inhibit the generation of early atherosclerosis in mice. The mechanisms of ApoA I gene expression and the related factors of inducing and inhibiting ApoA I expression will be reviewed in this article.

载脂蛋白 A I (apolipoprotein A I, ApoA I) 是 高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 中的主要载脂蛋白,也是 HDL 生理功能承载蛋白,约占 HDL 总量的 70% 左右,其主要合成场所位于肝脏和小肠,具有抗炎、抗氧化及抗血栓、内皮保护的作用。人成熟的 ApoA I 蛋白是含有 243 个氨基酸组成的单一多肽链,以多种形式存在,包括有未结合脂质、少量结合脂质以及结合脂质、盘状、球状的结

构,其结构与功能关系密切^[1]。寡脂状态下的 ApoA I 是 ATP 结合盒转运子 A1 (ATP-binding cassette A1, ABCA1) 所介导的巨噬细胞胆固醇流出的主要接受体,在磷脂结合的状态下激活卵磷脂酰基转移酶 (lecithin cholesterol acyltransferase, LCAT), 并与 HDL 受体 SR-BI 相关联,从而介导巨噬细胞中游离胆固醇的外流,启动胆固醇逆转运 (reverse cholesterol transport, RCT) 过程,在肝外组织清除过多胆

[收稿日期] 2016-04-11

[修回日期] 2016-05-03

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (81070221)

[作者简介] 刘益洲,硕士研究生,研究方向为动脉粥样硬化发病机制,E-mail 为 6845120@qq.com。通讯作者王佐,博士,教授,硕士研究生导师,研究方向为动脉粥样硬化发病机制,E-mail 为 smt121101@163.com。通讯作者马小峰,E-mail 为 13786437543@139.com。

固醇并选择性地促进脂质摄取^[2],大量研究发现这一过程与改善动脉粥样硬化和其他心血管疾病有关。人体的生理机能复杂多变,很多因素都能使 ApoA I 转录生成产生不同程度影响。以下将对影响 ApoA I 基因表达调控的相关因素进行综述,希望对以后的研究有一定的参考价值。

1 ApoA I 基因表达调控的机制

ApoA I 基因表达调控主要是在转录水平上进行的,是通过其顺式反应元件和其相应的反式作用因子的相互作用来完成的。

1.1 顺式反应元件

人类 ApoA I 基因转录起始点上游-75 bp 处有 G/A 多态性位点,由于其位于 DNA 的 GC 富集区,这一富含 GC 区域为 ApoA I 基因转录的调控元件,具有激活转录的作用,当这一序列发生变化时可能影响其转录和表达,并影响 ApoA I 的合成。在 ApoA I 基因的 5'上游调控区存在 3 个肝细胞特异性增强子^[3],分别为 A 位点(-214 bp~-192 bp)、B 位点(-169 bp~-142 bp)和 C 位点(-134 bp~-119 bp)。其中 A 位点和 C 位点具有较大的同源性,当两者与提取物中的蛋白因子结合时具有一定的竞争性,都能与肝细胞核因子 4 (hepatocyte nuclear factor 4, HNF4) 结合;B 位点能与肝细胞核因子 3 (hepatocyte nuclear factor 3, HNF3) 结合。3 个位点都对 ApoA I 转录具有重要作用。突变分析证实,单独与一个位点结合时,不能被转录,与其中两个位点结合时,只能较弱的促进基因转录,而三个位点同时结合时,才能最大的促进转录。而 ApoA I 基因在小肠的表达是另外一条转录激活途径所控制的。Walsh 等^[4]通过转基因小鼠实验发现,ApoA I 基因在转基因小鼠小肠中表达,必须具有位于人 ApoC III 基因 5'上游的-0.2 bp~1.4 bp 的 DNA 片段,将此片段以不同方向与人 ApoA I 基因 5'连接,都能使人 ApoA I 基因在转基因小鼠小肠中高水平表达。

1.2 反式作用因子

目前已发现多种核蛋白因子能与 ApoA I 基因调控区域 DNA 序列位点结合,主要有载脂蛋白 A I 调控蛋白 1 (apolipoprotein A I regulation protein 1, ARP-1)、HNF4、维甲酸受体 α (retinoic acid receptor α , RXR α)、人 T3 受体 $\alpha 1$ (human T3 receptor $\alpha 1$, hT3R $\alpha 1$) 等。其中 ARP-1 是一种能特异性结合于 ApoA I 基因肝细胞特异性增强子中 A 位点上的负调控性蛋白因子,广泛存在于各种组织细胞中,在

控制 ApoA I 基因的特异性表达中起着关键作用^[5]。HNF4 也是一种参与 ApoA I 基因表达调控的重要蛋白因子,只存在于肝、小肠和肾组织中,是一种受转录调控的具有组织特异性的转录调控因子,其既能与 A 位点结合又能与 C 位点结合,但 A 位点优于 C 位点^[6]。ApoA I 基因的 A 位点还是一个高度选择性的维甲酸反应元件。目前已发现维甲酸的几种受体 RXR α 、RAR β 和 RXR γ 都能与 A 位点相结合,其中以 RXR α 亲和力最强,A 位点对于维甲酸介导下的 ApoA I 基因表达是必不可少和足够的,而通过共转化表达出的 ARP-1 可消除 RXR α 介导的转录激活作用。ARP-1 和 RXR α 与 A 位点结合的亲和力相似,而二者构成的异源二聚体的亲和力是单独 ARP-1 和 RXR α 的 10 倍。无论有无维甲酸,RXR α 单独对 ApoA I 转录的影响很小。无维甲酸存在时,ARP-1 或 RP-1 和 RXR α 的共同作用能大大地抑制 ApoA I 的转录;而有维甲酸时,ARP-1 和 RXR α 共同作用的抑制作用几乎完全被解除。这说明 ARP-1 对 ApoA I 基因转录的抑制作用,使得 ApoA I 基因对维甲酸和 RXR α 的反应性变得敏感,RXR α 既能与 ARP-1 相互作用而抑制 ApoA I 的转录,又能在维甲酸的参与下解除 ARP-1 对 ApoA I 转录的抑制^[7]。hT3R $\alpha 1$ 也参与 ApoA I 基因的转录调控,当其与 A 位点结合时表现为促进作用,而当其与其他位点结合时则表现为抑制作用。另外,其他转录因子如 Ear-3/COUP-TF 等也参与 ApoA I 基因表达调控^[8]。

2 诱导 ApoA I 表达调控的相关因素

2.1 烟酸

烟酸属水溶性 B 族维生素,作为调脂药物已在临床应用半个多世纪,在他其类调脂药物上市之前,烟酸及其缓释剂是临床上较常用的调脂药物之一,是现有已知调脂药物中最有效的药物,具有全面而独特的调脂作用,既能有效地降低血浆甘油三酯 (triglyceride, TG)、升高高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDLC),也能降低总胆固醇 (total cholesterol, TC) 和低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDLC),并且还独特的降低脂蛋白 (a) [lipoprotein (a), Lp(a)] 的作用。在一项老年病学临床研究中,每日予以 3 g 烟酸能使血浆 HDLC 上升 23%,血浆 ApoA I 浓度上升 7%,并认为这种上升归因于分级

分解率的减少^[9]。另外在测定同位素氨基酸掺入的研究发现,在肝细胞中也不出现 ApoA I 的从头合成并且不出现 ApoA I mRNA 水平的增加。然而近年的临床研究却发现,每日 3 g 缓释烟酸显著增加了 HDLC 水平和 ApoA I 浓度,这些变化与 ApoA I 生产率显著增加有关,但与其分级分解率无明显相关性^[10]。由此推测烟酸可能增加 ApoA I 基因的表达。Haas 等^[11]通过实时荧光定量 PCR 测定 ApoA I mRNA 水平及其启动子活性,发现可变的启动子长度结构识别 ApoA I 基因区域位于-170 bp~-186 bp 之间,此区域为新型的烟酸反应元件,并证实了烟酸诱导 ApoA I 基因启动子活性需要这一反应元件,除此之外还表明 HDL 水平的上升部分通过增加肝脏和小肠中 ApoA I 的合成。

烟酸主要的不良反应比较明显,如皮肤潮红、胃肠道反应,他汀类药物出现后,烟酸的使用率大大下降。未来关于烟酸研究的方向可能在于寻找其类似物,增强 ApoA I 基因启动子活性,并消除烟酸不良反应。

2.2 他汀类药物

他汀类药物是 HMG-CoA 还原酶抑制剂,通过竞争性抑制内源性胆固醇合成限速酶还原酶,阻断细胞内羟甲戊酸代谢途径,使细胞内胆固醇合成减少,从而反馈性刺激细胞膜表面(主要为肝细胞)LDL 受体数量和活性增加、加速 LDL 的分解代谢,并能减少 VLDL 的生成,减少 VLDL 转化成 LDL,从而进一步降低 LDLC 水平。丁洁卫^[12]等研究发现阿托伐他汀可以通过降低 ApoE 缺陷小鼠的胆固醇水平,上调 ApoA I 和 SR-BI 表达,发挥抗动脉粥样硬化的作用。表明阿托伐他汀能够上调肝组织 ApoA I 表达水平,这可能与他汀药物在抑制 HMG-CoA 后还抑制了下游的 Rho 信号转导通路,使得 PPAR α 水平升高,从而促进肝脏分泌 ApoA I 有关。阿托伐他汀在降低 TC 和 LDLC 水平的同时,虽然降低了 HDLC 水平,但 ApoA I 含量仍较高,可以有效地与肝组织 SR-BI 结合介导 RCT 过程,明显减少 ApoE 缺陷小鼠动脉粥样斑块面积,起到了延缓动脉粥样硬化的作用。Marchesi 等^[13]发现人 ApoA I 转基因小鼠模型中,瑞舒伐他汀治疗既不增加 ApoA I 转录和肝脏分泌也不增加 ApoA I 血浆水平,推测这可能与 ApoA I 转基因小鼠缺乏胆固醇酯转移蛋白(cholesterol ester transfer protein, CETP)有关,间接证明他汀类对 HDL 水平的作用可能与 CETP 活性降低有关。

2.3 雌激素类药物

雌激素是一种女性激素,主要由卵巢和胎盘产生,肾上腺皮质也有少量分泌。可维持较高的血浆 HDL 和 ApoA I 水平,是绝经前女性冠心病发病率较低的原因之一。崔丽等^[14]利用体外培养的人 HepG2 细胞加入外源性雌二醇刺激,证明雌二醇可在转录水平调节 ApoA I 基因表达,并呈现部分的剂量和时间依赖性。Lamon-Fava 等^[15]发现雌激素和金雀异黄酮能通过激活 MPA 激酶信号途径增加 ApoA I 基因表达,并发现这一过程并不涉及-220 bp~-148 bp 启动子区域(雌二醇和金雀异黄酮保持效应最小区域)而是上游区域(-425 bp~-376 bp),并需要转录因子 SP1 的参与。Haas 等^[16]通过对黄酮类化合物槲皮素和异槲皮素的研究发现,这两种化合物均能在肝细胞中诱导 ApoA I mRNA 及其蛋白的合成,并提高其启动子活性;而沉默 ESR 后的槲皮素和异槲皮素对 ApoA I 基因表达无效,从而证明槲皮素诱导 ApoA I 基因表达至少部分需要通过诱导 ESR;并且还发现 ApoA I 基因启动子包含一个非典型雌激素反应区域(-325 bp~-186 bp),槲皮素诱导 ApoA I 基因表达需要与此区域结合。

2.4 葡萄籽原花青素

葡萄籽原花青素(grape seed proanthocyanidins extract, GSPE)是从葡萄籽中提取的多酚类混合物,其原花青素含量超过 95%,具有抗氧化、清除自由基、抗炎、心血管保护和抗肿瘤的作用,其抗氧化的作用明显优于维生素 C、E 和 β -胡萝卜素。翟茜等^[17]将大鼠随机分为对照组、糖尿病组和糖尿病 GSPE 治疗组,用以观察 GSPE 对糖尿病大鼠主动脉 ApoA I 表达的影响,结果发现糖尿病组大鼠主动脉内皮细胞肥大,结构紊乱,平滑肌细胞增殖,内弹力板破坏,管腔变小,经 GSPE 治疗后血管结构区域正常。糖尿病组大鼠 ApoA I 表达较对照组明显下降,而经 GSPE 治疗后 ApoA I 表达上调,提示 ApoA I 有可能参与到 GSPE 的心血管保护作用。研究发现,GSPE 浓度高于 20 mg/L 时能明显抑制肝细胞存活,且暴露在高糖环境中的外源性 ApoA I 也显著抑制,而当浓度低于 10 mg/L 时能促进 ApoA I mRNA 表达并呈剂量依赖性^[18]。另外还发现 ApoA I 的第三和第四外显子区域可能是激活 GSPE 的靶点。但是潜在的 GSPE 调控 ApoA I 表达的确切分子机制还需进一步研究。

2.5 5238B-69 和 RVX-208

通过 PCR 扩增人 ApoA I 基因上游的启动子序列,构建相应的重组荧光素酶报告基因质粒 pGL4-

ApoP,并建立稳定转染细胞株 ApoP-Luc HepG2,利用 ApoP-Luc HepG2 细胞对本所国家新药(微生物)筛选实验室化合物库进行筛选,通过 20000 样次化合物筛选及复筛得到的上调人 ApoA I 新型活性化合物 5238B-69,其化学名称是 2-(1,3-苯并噻唑-2-巯基)-N-喹啉基-5-乙酰胺,化学式为 C₁₈H₁₃N₃O₂S₂,分子量为 351.45。杜郁等通过大量的实验研究发现 5238B-69 在一定浓度范围内存在转录调控活性的量-效关系,当化合物浓度为 0.30 mg/L 时,上调 ApoA I 表达活性达到最高值(408%),EC₅₀为 0.01 mg/L。5238B-69 能显著上调 HepG2 细胞中 ApoA I mRNA 和蛋白的表达。ELISA 结果显示,5238B-69 作用 48 h 时,胞外 ApoA I 水平增加了 48%;流式细胞检测表明,5238B-69 作用 24 h 后,胞内 ApoA I 蛋白水平增加了 2.4%。功能分析试验显示,5238B-69 上调 HepG2 细胞 ApoA I 生成,促进巨噬细胞 RAW264.7 内胆固醇流出。5238B-69 是内源性上调 ApoA I 表达的化合物,胆固醇流出试验表明这种基于蛋白表达水平的上调所产生的是具有生理功能的 ApoA I 及 HDL,可通过增强 ApoA I/HDL 介导的胆固醇外排来减少细胞中脂质蓄积^[19]。

RVX-208 是植物多酚白藜芦醇的衍生物,特异性的 BET 第二溴区结构域抑制剂,是第一个能增加 ApoA I 内源性表达的小分子化合物。临床上 RVX-208 显著增加 ApoA I 和大颗粒 HDL 水平,并可能在增强 RCT 的过程中发挥重要作用。研究进一步发现,联合使用瑞舒伐他汀和 RVX-208 的患者表现出显著的斑块消退,其动脉粥样斑块体积百分比(percent atheroma volume, PAV)变化为-1.43%,是试验预先设定的 PAV 终点(-0.6%)的两倍多^[20-21]。

2.6 黑籽

在印度、巴基斯坦、整个中东国家和地中海国家,黑籽(黑种草紫花苜蓿,毛茛科)作为一种草本植物治疗疾病至今已有几百年历史,现代研究表明其含有的百利香醌具有抗肿瘤、抗炎、抗氧化、调脂和调血糖作用。在调脂方面,Meral 等^[22]已证实给大鼠喂大量黑籽后可降低 TC、TG、LDL。Haas 等^[23]发现黑籽中某些耐热耐水解成分能增加 ApoA I 的分泌及 mRNA 水平,但是百里香醌不能提高其分泌水平。在 ApoA I 基因启动子区域存在着 PPAR α 和 RXR α 结合位点,实验表明黑籽提取物能诱导 PPAR α 和 RXR α 表达,且 ApoA I 的表达依赖 PPAR α 和 RXR α 水平。而沉默 PPAR α 后,对 ApoA I 表达没有影响,说明黑籽诱导 ApoA I 表达

可能还存在其他通路。黑籽提取物具有多种有效成分,具体哪种活性成分能诱导 ApoA I 表达仍在研究中。

2.7 胰高血糖素样肽 1 和 exendin-4

胰高血糖素样肽 1 (glucagon like peptide-1, GLP-1) 和 exendin-4 是一种多肽激素,与 GLP-1 有 53% 的同源性。Chehade 等^[24]发现 GLP-1 和 exendin-4 能使肝细胞(而不是小肠细胞)的 ApoA I 分泌增多,并且增加 ApoA I 的基因转录和 ApoA I mRNA 的稳定性。其作用可能是通过转录因子 SP1 和胰岛素反应核心要素(insulin response core element, IRCE),肝 GLP-1 受体刺激激活腺苷酸环化酶活性,导致 cAMP 水平升高。升高的 cAMP 刺激蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 活性导致磷酸化 SP1 的 ApoA I 通过 IRCE 激活基因启动子;GLP-1 和 exendin-4 还能增加 ABCA1 mRNA 水平,但是对 SR-BI mRNA 水平、SP1 和 PPAR α 的表达没有影响;GLP-1 和 exendin-4 诱导 ApoA I 启动子活性的变化需要 ApoA I 基因启动子的 cAMP/PKA 响应区域包含 SP1 站点而不包括 PPAR α 反应元件。目前其诱导 ApoA I 表达的机制尚未完全明了。

3 抑制 ApoA I 表达调控的相关因素

3.1 内源性大麻素

内源性大麻素是一类脂质化合物,其受体 CBR1 和 CBR2 的配体存在于中枢神经系统、免疫细胞和周围组织中。内源性大麻素与 Δ^9 -四氢大麻酚有关,通过下丘脑和感官刺激控制食欲作用强大,腹部的肥胖与内源性大麻素含量及多种危险因素呈正相关,例如 TG、腰围、体质指数及胰岛素水平。利莫那班(内源性大麻素受体拮抗剂)已经开始作为临床治疗肥胖的药物,并且证实能够升高 HDLC 水平^[25]。Haas 等^[26]观察了在肝细胞和小肠细胞中内源性大麻素对 ApoA I 基因表达的影响,结果发现:①肥胖相关的内源性大麻素通过抑制 ApoA I 基因转录直接抑制 ApoA I 基因表达;②同时抑制 ApoA I mRNA 水平和启动子活性;③ ApoA I 基因启动子在 A 位点与内源性大麻素受体结合表现出明显的抑制作用;④在 HepG2 细胞中,外源性大麻素受体 1 表达能抑制 ApoA I 启动子活性,而在 Caco-2 细胞中,外源性大麻素受体 1 和 2 表达皆能抑制 ApoA I 启动子活性。然而内源性大麻素对 ApoA I 基因表达的抑制作用的机制尚不清楚,可能是内源性大麻素通过肝细胞和小肠上皮细胞抑制

核受体功能诱发促炎途径从而抑制 ApoA I 基因表达,或者通过激活已知能抑制 ApoA I 基因启动子活性的应激调节转录因子如 AP1 和核因子 κ B 等,另外内源性大麻素可能会降低细胞内 cAMP 水平,导致通过蛋白激酶生长因子 A 信号的变化从而抑制 ApoA I 启动子活性。然而由于实验中内源性大麻素的浓度在 ApoA I 表达后发生明显的下降,比已报道的在人体血浆更高(大于 100 倍),这让人对此实验的报道结果在生理上的意义产生质疑。

3.2 肿瘤坏死因子 α

肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 是一种有巨噬细胞和单核细胞产生的促炎细胞因子,参与正常的炎症反应和免疫反应,有促进动脉粥样硬化形成的作用。促炎细胞因子通过调整参与胆固醇和 TG 代谢与运输的相关基因表达促进血脂异常发生,降低血浆 HDL 和 ApoA I 水平。已经有研究表明,肿瘤坏死因子可以抑制几个核受体等的表达和(或)活性如类视黄醇 X 受体、法尼酯 X 受体、甲状腺激素受体和过氧化体增殖物激活型受体 α 和 γ ,从而诱导胰岛素抵抗改变 TG 和胆固醇的代谢。Mogilenko 等^[27]也发现在肝细胞中通过 TNF- α 介导的 ApoA I 基因表达和蛋白质分泌的复杂机制,涉及核受体 HNF4 α 、PPAR α 、LXR 的参与。TNF- α 在转录水平上抑制 ApoA I 基因表达,但需要依赖有丝分裂原激活蛋白激酶包括 ERK1/2 和 JNK1 的参与。Parseghian 等^[28]研究证明,在 HepG2 细胞中 TNF- α 通过 MKK4/JNK/c-Jun 的一部分信号通路抑制 ApoA I 表达, MKK4/JNK/c-Jun 对于 TNF- α 抑制 ApoA I 基因表达是一条非常重要的依赖性信号通路,将来可能是治疗血脂异常的抗炎药的重要目标。

3.3 24,25-二羟维生素

24,25-二羟维生素_D[24,25-(OH)₂D₃]是维生素 D 的代谢产物,已被证明具有独特的生物效应——对 ApoA I 基因表达具有强而有力的抑制作用。Wehmeier 等^[29]发现在 HepG2 细胞和 Caco-2 细胞中,24,25-(OH)₂D₃ 抑制 ApoA I 分泌和下调 ApoA I mRNA 水平、基因启动子活性;24,25-(OH)₂D₃ 抑制 ApoA I 表达需要通过位点 A 并与核受体元素相结合。表明维生素 D 代谢产物 24,25-(OH)₂D₃ 是一种 ApoA I 合成的内源性调节剂,需要通过 VDR 独立性信号机制作用。而早在 1981 年 Kanis 等^[30]就发现 24,25-(OH)₂D₃ 对 ApoA I 表达的抑制效果在生理浓度时更加显著,证明了这一发

现具有生理意义。这也提示盲目补充维生素 D 可能存在健康隐患。

3.4 二十二碳六烯酸

鱼类的食用量与减少冠状动脉心脏疾病风险有关。主要是两种来至于鱼的极长链 N23 多不饱和脂肪酸补充物:二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)和二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA),已被证明对冠状动脉心脏疾病的二级预防有益^[31]。很多干预性的实验表明鱼油补充物对血浆 ApoA I 浓度无显著影响^[32]。然而人类动力学研究却发现在不改变血浆 ApoA I 浓度的情况下,补充大剂量的极长链 N23 不饱和脂肪酸可显著减少 ApoA I 的产生及其清除率^[32]。有研究表明野生型小鼠喂饲鱼油能减少血浆 ApoA I 浓度和 ApoA I mRNA 水平,而鱼油对缺失 PPAR α 的小鼠没有影响,提示 PPAR α 可能对鱼油在 ApoA I 基因表达中有作用^[33]。Kuang 等^[34]发现 PPAR α 没有直接对 DHA 介导的 ApoA I 启动子活性降低发挥作用,而是通过增加包括-256 bp~-185 bp 区域质粒结构活性或增加 2 份 DHA 处理过的-214 bp~-192 bp,可能是 DHA 活化 PPAR α 间接干扰 ApoA I 启动子区域转录(除核苷酸-256 bp 至-185 bp 外),但确切机制还需要进一步验证。HNF-3 β (也称为 Foxa2)是转录因子家族叉头的一员,调节许多肝特异基因,能通过与 ApoA I 启动子区域(-169 bp~-146bp)的相互作用、HNF-4 β 的协同作用和额外的共和化剂作用激活肝 ApoA I 表达。中断 ApoA I 启动子区域-214 bp~-192 bp、-169 bp~-146 bp、-134 bp~-119bp 其中一个或者几个都可显著降低其转录活性。而删除 ApoA I 启动子区域(-185 bp~-148 bp)就完全废除了 DHA 抑制 ApoA I 启动子活性的能力,也就意味着这一区域对于 DHA 介导的 ApoA I 抑制的需要和 HNF-3 β 在调节 DHA 对 ApoA I 表达的潜在作用的需要。表明 DHA 抑制 HNF-3 β 与 ApoA I 启动子的相互作用,主要通过与干扰 HNF-3 β 与 ApoA I 的启动子结合,并因此引起 ApoA I 启动子活性降低和 mRNA 表达抑制。

人类动力学研究表明^[32],极长链 N23 不饱和脂肪酸减少 ApoA I 生产率再加上显著减少 ApoA I 分级分解率,故血浆 ApoA I 浓度保持不变。因此 DHA 抑制 ApoA I 的效果可能不直接转化为增加冠心病风险,且除 ApoA I 表达外很多因素都能影响 HDL 的浓度。由于鱼油极长链 N23 不饱和脂肪酸降低 TG 的作用经常被用来治疗高脂血症,并因此降低胆固醇转移蛋白酶活性从而增加 HDLC 浓度。

然而极长链 N23 不饱和脂肪酸对于 HDL 和 ApoA I 代谢的作用机制还需进一步证实。

4 总结与展望

通过对近些年大量国内外文献的收集整理,不难发现许多因素都可影响 ApoA I 表达调控。其中诱导 ApoA I 表达的因素,包括烟酸、他汀类、雌激素、GLP-1 和 exendin-4、GSPE、黑籽、Apo A I 表达上调剂等。这些因素有些能直接上调 ApoA I 表达,有些则需间接借助其他转录因子,有些诱导 ApoA I 表达作用机制尚不完全清楚还需进一步研究。抑制 ApoA I 表达的因素有 TNF- α 、内源性大麻素、24,25-(OH) $_2$ D $_3$ 、DHA 等,其中 EC 生理上的意义还存在质疑,而 24,25-(OH) $_2$ D $_3$ 在生理浓度时抑制作用更加显著, TNF- α 抑制肝 ApoA I 的表达且需要依赖 MKK4/JNK/c-Jun 的一部分信号通路抑制其表达, DHA 抑制 ApoA I 表达需要 HNF-3 β 并且其抑制效果可能不直接转化为增加冠心病风险。

HDLC 和 ApoA I 水平与心血管疾病风险呈负相关,那么升高 HDLC 水平就一定可以降低心血管疾病发生率吗? 答案却是否定的,因为 HDLC 水平并不一定代表 HDLC 体内功能即 RCT 的速率,这也使得之前对升高 HDLC 水平的研究转向更好的提高其功能研究,而 ApoA I 作为 ABCA1 介导的巨噬细胞胆固醇流出的主要接受体、RCT 启动的关键因素,对于提高 RCT 速率也有重要的意义。未来 ApoA I 可能作为预防和治疗心血管疾病的新靶点,并最大限度地提高治疗效果和减少药物副作用。一方面,在体内寻找更多的信号通路促进 ApoA I 高表达;另一方面,在体外 ApoA I 注射剂及其化合物的研发与运用将成为未来研究的重要内容。

[参考文献]

- [1] Rye KA, Barter PJ. Formation and metabolism of prebeta-migrating, lipid-poor apolipoprotein A-I [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(3): 421-428.
- [2] Rader DJ. Molecular regulation of HDL metabolism and function: implications for novel therapies [J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(12): 3 090-100.
- [3] Widom RL, Ladas JA, Kouidou S, et al. Synergistic interactions between transcription factors control expression of the apolipoprotein AI gene in liver cells [J]. *Mol Cell Biol*, 1991, 11(2): 677-687.
- [4] Walsh A, Azrolan N, Wang K, et al. Intestinal expression of the human ApoA I gene in transgenic mice is controlled by a DNA region 3' to the gene in the promoter of the adjacent convergently transcribed apoC-III gene [J]. *J Lipid Res*, 1993, 34(4): 617-623.
- [5] Ladas JA, Karathanasis SK. Regulation of the apolipoprotein AI gene by ARP-1, a novel member of the steroid receptor superfamily [J]. *Science*, 1991, 251(4993): 561-565.
- [6] Sladek FM, Zhong WM, Lai E, et al. Liver-enriched transcription factor HNF-4 is a novel member of the steroid hormone receptor superfamily [J]. *Genes Dev*, 1990, 4(12B): 2 353-365.
- [7] Rottman JN, Widom RL, Nadal-Ginard B, et al. A retinoic acid-responsive element in the apolipoprotein AI gene distinguishes between two different retinoic acid response pathways [J]. *Mol Cell Biol*, 1991, 11(7): 3 814-820.
- [8] Romney JS, Chan J, Carr FE, et al. Identification of the thyroid hormone-responsive messenger RNA spot 11 as apolipoprotein-A1 messenger RNA and effects of the hormone on the promoter [J]. *Mol Endocrinol*, 1992, 6(6): 943-950.
- [9] Shepherd J, Packard CJ, Patsch JR, et al. Effects of nicotinic acid therapy on plasma high density lipoprotein subfraction distribution and composition and on apolipoprotein A metabolism [J]. *J Clin Invest*, 1979, 63(5): 858-867.
- [10] Lamou-Fava S, Diffenderfer MR, Barrett PH, et al. Extended-release niacin alters the metabolism of plasma apolipoprotein (Apo) A-I and ApoB-containing lipoproteins [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(9): 1 672-678.
- [11] Haas MJ, Alamir AR, Sultan S, et al. Nicotinic acid induces apolipoprotein A-I gene expression in HepG2 and Caco-2 cell lines [J]. *Metabolism*, 2011, 60(12): 1 790-796.
- [12] 丁洁卫, 王建平. 阿托伐他汀对 ApoE $^{-/-}$ 小鼠载脂蛋白 A-I 和 B 族 I 型清道夫受体的影响 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2013, 18(11): 1 233-238.
- [13] Marchesi M, Parolini C, Caligari S, et al. Rosuvastatin does not affect human apolipoprotein A-I expression in genetically modified mice: a clue to the disputed effect of statins on HDL [J]. *Br J Pharmacol*, 2011, 164(5): 1 460-468.
- [14] 崔丽, 毛用敏, 赵莉莉, 等. 雌二醇对 HepG2 细胞载脂蛋白 A I mRNA 表达的影响 [J]. *天津医药*, 2010, 38(10): 862-864.
- [15] Lamou-Fava S, Micherone D. Regulation of ApoA I gene expression: mechanism of action of estrogen and genistein [J]. *J Lipid Res*, 2004, 45(1): 106-112.
- [16] Haas MJ, Onstead-Haas LM, Szafran-Swietlik A, et al. Induction of hepatic apolipoprotein A-I gene expression by the isoflavones quercetin and isoquercitrin [J]. *Life Sci*,

- 2014, 110(1): 8-14.
- [17] 翟茜, 李保应, 高海青, 等. 葡萄子原花青素对糖尿病大鼠主动脉载脂蛋白 A-I 表达的影响[J]. 山东大学学报(医学版), 2009, 47(6): 1-4.
- [18] Zhai O, Zhong N, Gao HQ, et al. Grape seed proanthocyanidins extracts promote apolipoprotein A-I mRNA expression in HepG2 cells under experimental sugar and high-sugar conditions[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2012, 16(3): 299-304.
- [19] 杜郁, 贾晓健, 王丽, 等. 人载脂蛋白 A-I 表达上调剂的发现与活性研究[J]. 中国医药生物技术, 2014, 9(2): 95-102.
- [20] Bailey D, Jahagirdar R, Gordon A, et al. RVX-208: a small molecule that increases apolipoprotein A-I and high-density lipoprotein cholesterol in vitro and in vivo[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2010, 55(23): 2580-589.
- [21] Nicholls SJ, Gordon A, Johansson J, et al. ApoA I induction as a potential cardioprotective strategy: rationale for the SUSTAIN and ASSURE studies[J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2012, 26(2): 181-187.
- [22] Meral I, Yener Z, Kahraman T, et al. Effect of *Nigella sativa* on glucose concentration, lipid peroxidation, anti-oxidant defence system and liver damage in experimentally-induced diabetic rabbits[J]. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, 2001, 48(10): 593-599.
- [23] Haas MJ, Onstead-Haas LM, Naem E, et al. Induction of apolipoprotein A-I gene expression by black seed (*Nigella sativa*) extracts[J]. *Pharm Biol*, 2014, 52(9): 1119-127.
- [24] Chehade JM, Alcalde R, Naem E, et al. Induction of apolipoprotein A-I gene expression by glucagon-like peptide-1 and exendin-4 in hepatocytes but not intestinal cells[J]. *Metabolism*, 2013, 62(2): 265-274.
- [25] Scheen AJ. CB1 receptor blockade and its impact on cardiometabolic risk factors: overview of the RIO programme with rimonabant[J]. *J Neuroendocrinol*, 2008, 20(Suppl 1): 139-146.
- [26] Haas MJ, Mazza AD, Wong NC, et al. Inhibition of apolipoprotein A-I gene expression by obesity-associated endocannabinoids[J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2012, 20(4): 721-729.
- [27] Mogilenko DA, Dizhe EB, Shavva VS, et al. Role of the nuclear receptors HNF4 alpha, PPAR alpha, and LXRs in the TNF alpha-mediated inhibition of human apolipoprotein A-I gene expression in HepG2 cells[J]. *Biochemistry*, 2009, 48(50): 11950-960.
- [28] Parseghian S, Onstead-Haas LM, Wong NC, et al. Inhibition of apolipoprotein A-I expression by TNF-alpha in HepG2 cells: requirement for c-jun[J]. *J Cell Biochem*, 2014, 115(2): 253-260.
- [29] Wehmeier KR, Alamir AR, Sultan S, et al. 24,25-dihydroxycholecalciferol but not 25-hydroxycholecalciferol suppresses apolipoprotein A-I gene expression[J]. *Life Sci*, 2011, 88(1-2): 110-116.
- [30] Kanis JA, Taylor CM, Douglas DL, et al. Effects of 24,25-dihydroxy-vitamin D₃ on its plasma level in man[J]. *Metab Bone Dis Relat Res*, 1981, 3(3): 155-158.
- [31] Jacobson TA. Secondary prevention of coronary artery disease with omega-3 fatty acids[J]. *Am J Cardiol*, 2006, 98(4A): 61i-70i.
- [32] Chan DC, Watts GF, Nguyen MN, et al. Factorial study of the effect of n-3 fatty acid supplementation and atorvastatin on the kinetics of HDL apolipoproteins A-I and A-II in men with abdominal obesity[J]. *Am J Clin Nutr*, 2006, 84(1): 37-43.
- [33] Dallongeville J, Bauge E, Talleux A, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha is not rate-limiting for the lipoprotein-lowering action of fish oil[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(7): 4634-639.
- [34] Kuang YL, Paulson KE, Lichtenstein AH, et al. Docosahexaenoic acid suppresses apolipoprotein A-I gene expression through hepatocyte nuclear factor-3beta[J]. *Am J Clin Nutr*, 2011, 94(2): 594-600.

(此文编辑 文玉珊)