

本文引用: 陈也, 蒋凡. 低密度脂蛋白受体转运的调节机制[J]. 中国动脉硬化杂志, 2025, 33(4): 277-285. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2025.04.001.

[文章编号] 1007-3949(2025)33-04-0277-09

· 专家论坛 ·

低密度脂蛋白受体转运的调节机制

陈也^{1,2}, 蒋凡¹

1. 山东大学齐鲁医院老年医学科 山东大学衰老与老年健康研究中心, 山东省济南市 250012;

2. 山东大学第二医院检验医学中心, 山东省济南市 250031

[专家简介] 蒋凡, 教授, 博士研究生导师, 历任山东大学心血管重构与功能研究重点实验室副主任, 山东大学基础医学院生理与病理生理学系副主任, 山东大学齐鲁医院衰老与老年健康研究中心副主任。中国病理生理学会动脉硬化专业委员会委员, 山东省病理生理学会副理事长。发表学术论文 130 余篇 (h-index 37), 应邀参编 Elsevier、Academic Press 等出版社的学术专著 4 部。被邀请参与 Springer 大百科全书系列章节的编写。副主编、参编国家“十三五”规划教材 2 部。主持国家、省部级科研项目累计超过一千万元。主要研究方向为心血管药理学、血管生物学、细胞应激反应及损伤修复。

[摘要] 肝细胞表面的低密度脂蛋白受体所介导的脂蛋白颗粒吞噬是机体清除循环中低密度脂蛋白的主要途径, 在维持体内胆固醇代谢稳态中扮演极其重要的角色。本文简要回顾了低密度脂蛋白受体转运的不同环节, 包括内吞、分选、受体分子的降解通道或再循环通道, 以及各环节的主要调控因子, 总结了相关领域的最新前沿进展。目前, 间接靶向低密度脂蛋白受体转录调控的药物开发 (他汀类药物) 及靶向低密度脂蛋白受体进入降解通道的药物开发 [前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 (PCSK9) 抑制剂] 均取得了巨大成功。尽管如此, 人们对调控低密度脂蛋白受体转运的分子机制了解尚不完全, 特别是对低密度脂蛋白受体的胞内再循环过程及相关的信号传导机制尚需更多研究。因此对这些机制的进一步深入研究可以为发现治疗高胆固醇血症的新靶点提供思路。

[关键词] 心血管疾病; 高胆固醇血症; 低密度脂蛋白; 低密度脂蛋白受体; 胞内体; 胞内体再循环; 胞内体转运

[中图分类号] R5; R363

[文献标识码] A



Regulatory mechanism of low density lipoprotein receptor trafficking

CHEN Ye^{1,2}, JIANG Fan¹

1. Department of Geriatrics Medicine, Qilu Hospital of Shandong University & Center for Aging and Geriatric Health Research, Shandong University, Jinan, Shandong 250012, China; 2. Laboratory Medicine Center, the Second Hospital of Shandong University, Jinan, Shandong 250031, China

[ABSTRACT] Phagocytosis of lipoprotein particles mediated by low density lipoprotein receptors on the surface of hepatocytes is the main pathway for the body to clear circulating low density lipoprotein, and plays a pivotal role in maintaining the homeostasis of cholesterol metabolism in the body. This article briefly reviewed the different links of low density lipoprotein receptor trafficking, including endocytosis, sorting, degradation or recycling channels of receptor molecules, and the main regulatory factors of each link, and summarized the latest advances in related fields. At present, the development of drugs indirectly targeting low density lipoprotein receptor transcriptional regulation (statins) and drugs targeting low density lipoprotein receptor degradation (proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) inhibitors) have achieved tremendous success. However, our understanding of the molecular mechanisms regulating low density lipoprotein receptor trafficking remains to be incomplete, especially the intracellular recycling processes and the related signaling mechanisms

[收稿日期] 2024-04-10

[修回日期] 2024-07-08

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (82070265)

[作者简介] 陈也, 博士, 助理研究员, 研究方向为心血管药理学, E-mail: chenye18963066905@163.com。通信作者蒋凡, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为血管生物学及心血管药理学, E-mail: fjiang@sdu.edu.cn。

need more research. It is anticipated that further in-depth research in these areas may foster the discovery of new targets for the treatment of hypercholesterolemia in the future.

[KEY WORDS] cardiovascular disease; hypercholesterolemia; low density lipoprotein; low density lipoprotein receptor; endosome; endosomal recycling; endosomal trafficking

动脉粥样硬化是血管的一种慢性进行性炎症过程,动脉粥样硬化性心血管疾病是全球范围内主要的死亡原因之一^[1-2]。血浆中含有各种含载脂蛋白 B 和/或载脂蛋白 E 的直径在 70 nm 以下的脂蛋白颗粒,包括乳糜颗粒残余物,极低密度、中等密度及低密度脂蛋白,以及脂蛋白(a)。它们能够穿过血管内皮,沉积在内皮下区域,这一过程是动脉粥样硬化斑块形成机制中的关键环节之一^[1-2]。在这些脂蛋白颗粒中,低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)水平的升高是动脉粥样硬化性心血管疾病的重要危险因素。临床研究及实践均证明通过药物干预降低 LDL 水平能够有效预防动脉粥样硬化性心血管疾病^[3]。血浆中 LDL 颗粒的清除主要依赖于肝脏的摄取,这一过程是通过肝细胞表面的低密度脂蛋白受体(LDL receptor, LDLR)介导的^[3-5]。LDLR 结合配体 LDL 后通过细胞内吞作用进入胞内,随后受体配体复合物解离,受体分子返回至细胞膜表面被重新利用,参与下一次的 LDL 吞噬过程,如此循环。通常情况下,一个 LDLR 大约可以完成 100 次数量的内吞循环过程^[6]。当 LDLR 的转运途径出现障碍时,可能导致细胞膜表面受体数量减少,引发 LDL 胆固醇清除障碍,进而导致高胆固醇血症的发生^[5-6]。LDLR 家族包括 LDLR、低密度脂蛋白受体相关蛋白 1(LDLR-related protein 1, LRP1)、极低密度脂蛋白受体(very low density lipoprotein receptor, VLDLR)、LRP8/载脂蛋白 E 受体 2 (apolipoprotein E receptor 2, ApoER2)、LRP4/表皮生长因子样结构域 7 (multiple EGF like domains 7, MEGF7)、LRP1B 和 LRP2/巨蛋白(Megalyn) 7 个成员^[5]。除了 LDLR,虽然其他家族成员如 LRP1 也有摄取 LDL 的功能,但 LDLR 介导的脂蛋白摄取在生理条件下对有效清除循环中的 LDL 胆固醇起主导作用。人类 LDLR 的基因突变可导致家族性高胆固醇血症的发生^[3-5],因此 LDLR 的功能障碍具有明确的临床意义。同时,相较于家族其他成员,人们对 LDLR 的研究最为深入。本文针对 LDLR 转运的不同环节(包括内吞、分选、受体分子的降解通道或再循环通道)以及各环节的主要调控因子,对以往的研究结果及相关领域的最新前沿进展进行了简要回顾。

1 LDLR 的内吞作用及降解通道

1.1 LDLR 的内吞作用

LDLR 与 LDL 颗粒结合之后的受体-配体复合物通过经典的细胞内吞作用进入胞内(图 1)。LDLR 是一个理论分子量为 95 kDa 的糖蛋白,其肽链包含一个较大的细胞外结构域(由大约 740 个氨基酸组成)、一个跨膜结构域(约 25 个氨基酸)和一个含有保守的 NPxY 模体的胞内尾端^[7]。受糖基化程度的影响,其 Western blot 印记可显示为 110 ~ 160 kDa 间的多重条带。LDLR 通过胞外结构域中钙结合的 LR 重复序列识别并结合 LDL 颗粒中的载脂蛋白 B^[8]。LDLR-LDL 复合物的内吞是经典的网格蛋白依赖的内吞过程,首先形成网格蛋白包被小窝(clathrin-coated pit)和网格蛋白包被囊泡(clathrin-coated vesicle),进一步囊泡在胞质中去包被,形成的无被小泡与细胞内的早期胞内体融合,形成包裹了 LDLR-LDL 的早期胞内体^[9]。关于受体介导的细胞内吞过程的详细分子机制读者可参阅以下两篇文献^[10-11]。LDLR 的内吞不严格依赖于与其配体(LDL 颗粒)的结合,空载的 LDLR 亦可通过细胞内吞作用进入到胞内^[11]。

1.2 LDLR 内吞作用的调控因子

接头蛋白 Dab2 和低密度脂蛋白受体适配器蛋白 1 (low density lipoprotein receptor adaptor protein 1, LDLRAP1/ARH),在调节 LDLR 内吞过程中具有重要作用。这两个蛋白均能与 LDLR 分子胞内段的 NPxY 序列结合,同时作为分子桥梁连接网格蛋白包被小窝中的网格蛋白和衔接蛋白 2 (adaptor protein-2, AP-2),并且 Dab2 蛋白和 ARH 蛋白还能与膜脂中磷酸肌醇分子 PtdIns(4,5)P₂ 相互作用^[6]。有临床研究证实, NPxY 序列中的酪氨酸位点突变造成患者出现高胆固醇血症,患者细胞膜上的 LDLR 无法在网格蛋白包被小窝处聚集,呈现 LDLR 内吞功能障碍及摄取 LDL 过程受阻^[12]。同理, ARH 基因突变在临床亦可造成患者出现高 LDL 胆固醇血症^[13]。由于 Dab2 基因在胚胎发育过程中不可缺少,临床上并未见到携带有 Dab2 基因突变的个体。在实验研究中,条件性敲除 Dab2 基因的小鼠出现高 LDL 胆固醇血症^[6]。在肝脏细胞中,

ARH 蛋白对 LDLR 内吞功能的正常维持起到不可或缺的作用,而在其他细胞(例如成纤维细胞)中,ARH 蛋白和 Dab2 蛋白有相互替代的作用,只有将两个基因同时敲除后细胞才显示 LDLR 内吞功能的严重缺失^[13]。还有研究结果显示,ARH 蛋白的功能受蛋白硝基化修饰的影响:一氧化氮诱导的特定半胱氨酸残基硝基化可以促进 ARH 蛋白与 AP-2 蛋白的结合及 LDLR 的内吞^[14]。相反,没有证据显示 Dab2 蛋白受硝基化修饰的影响^[6]。另外 Dab2 蛋白还能与另外一种称为仅含 FCH 结构域 2(FCH domain only 2, FCHO2)的内吞辅助蛋白结合,在 AP-2 蛋白缺乏的情况下,FCHO2 可替代 AP-2 蛋白的功能以维持 LDLR 内吞作用的正常进行^[15]。

1.3 LDLR 在早期胞内体中的分选过程

进入到早期胞内体的 LDLR-LDL 复合物在胞内体特有的酸性环境下,其中的 LDLR 蛋白构象发生改变,随即 LDL 与 LDLR 解离,LDL 被转运到晚期胞内体^[9],最终晚期胞内体与溶酶体融合,LDL 中的胆固醇酯被溶酶体中的酯酶水解,释放出的游离胆固醇用于细胞膜装配或其他的代谢途径^[6,16](图 1)。另一方面,释放的 LDLR 有两条转归途径:(1)跟随 LDL 进入晚期胞内体-溶酶体通路,最终被降解;(2)被重新转运至细胞膜表面再次发挥生物学功能,这个过程被称为内吞再循环^[6,17-19](图 1)。文献中通常将进入到胞内体的受体-配体复合物或其他锚定于细胞膜表面的蛋白分子称为“货物”,而决定货物进入降解通道或再循环通道的过程称为“分选”。虽然晚期胞内体也具有分选功能,但绝大多数的分选过程是在早期胞内体中完成的^[20]。胞内体中的分选过程涉及非常复杂的分子机制^[20-21],目前研究相对比较透彻的是指向降解通道的分选机制,主要由 4 个内体分选转运复合体(endosomal sorting complex required for transport, ESCRT)蛋白复合体(即 ESCRT-0, -I, -II 和 -III)顺序完成^[20,22-23]。货物分子(受体)的泛素化修饰是将其靶向降解通道的主要分子标签^[24],但也有不少受体并非直接接受泛素化修饰,而是通过结合特定的 ESCRT 辅助蛋白被靶向降解通道^[20,24]。

1.4 促进 LDLR 进入降解通道的调控因子 PCSK9 和 IDOL

研究显示,LDLR 进入降解通道既受泛素化依赖机制调控也受非泛素化依赖机制调控。前者包括 E3 泛素连接酶低密度脂蛋白受体可诱导降解蛋白(inducible degrader of the low density lipoprotein receptor, IDOL/MYLIPI)介导的 LDLR 降解,后者包

括前蛋白转化酶枯草溶菌素 9(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, PCSK9)介导的 LDLR 降解(图 1)。PCSK9 是前蛋白转化酶枯草溶菌素家族的第 9 个成员,是一个主要表达在肝、肾脏及肠道的蛋白水解酶^[25-27]。人源 PCSK9 mRNA 编码共 692 个氨基酸的肽链,包含信号肽、N 端功能前区、丝氨酸蛋白酶催化结构域,以及富含半胱氨酸/组氨酸的 C 端结构域。PCSK9 首先以酶原的形式表达,随后在内质网上进行自我剪切,被剪切下来的 N 端功能前区仍与成熟形式的 PCSK9 蛋白共价结合。在经过高尔基体内的翻译后修饰过程后,PCSK9 最终分泌至细胞外,其主要功能是对各种分泌型细胞因子、生长因子以及膜受体的前体分子肽链进行剪切^[25-29]。

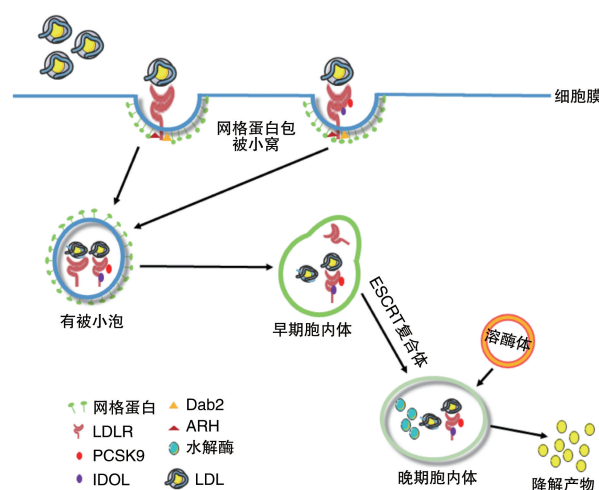


图 1. 低密度脂蛋白受体的内吞过程、降解通道及相关调控因子

IDOL 和 PCSK9 结合的 LDLR 优先进入降解通道。

Figure 1. Low density lipoprotein receptor endocytosis process, degradation pathways and related regulatory factors

研究发现 PCSK9 在促进靶向 LDLR 进入降解通道的过程中亦扮演重要角色,这一作用不依赖于 PCSK9 的蛋白酶活性^[26]。分泌的 PCSK9 蛋白在细胞表面与 LDLR 的表皮生长因子前体同源结构域结合(与 LDL 结合的位点不同)^[30],招募接头蛋白 ARH 和 Dab2 以及 AP-2、网格蛋白等蛋白启动内吞过程^[31]。在早期胞内体中,PCSK9 阻碍了 LDLR 的空间构型变化,导致在分选过程中 LDLR 优先进入晚期胞内体-溶酶体降解途径,从而干扰了 LDLR 的再循环,使得细胞膜表面 LDLR 的总数量减少,清除 LDL 颗粒的能力降低^[6,26,28-29]。PCSK9 促进 LDLR

降解的作用具有重要临床意义;PCSK9 功能获得性突变导致出现高胆固醇血症,而 PCSK9 功能缺失性突变携带者表现为血浆 LDL 胆固醇水平降低以及动脉粥样硬化性心血管疾病风险降低^[26-27]。基于此,PCSK9 已成为继羟甲基戊二酸单酰辅酶 a(3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase, HMG-CoA)还原酶(他汀类药物的靶点)之后的另一个明星降脂药物靶点^[28-29]。目前 PCSK9 的单克隆抗体抑制剂已上市并且得到同行的广泛认可,开始应用于临床治疗他汀效果不佳或他汀类药物不耐受的高胆固醇血症患者^[26,28-29,32]。

另外一个已知的对靶向 LDLR 进入降解通道具有重要促进作用的因子是 IDOL 蛋白^[33]。IDOL 蛋白本身是一个 E3 泛素连接酶(ubiquitin ligase),凭借其 N 端的蛋白 4.1 埃兹蛋白根蛋白膜突蛋白(protein 4.1 ezrin radixin moesin,FERM)结构域识别并结合 LDLR 的胞内段,同时凭借其 C 端的环指(really interesting new gene, RING)结构域(一种特殊类型的锌指结构,是 RING 类 E3 泛素连接酶的特征)介导底物的泛素化链接^[33]。除了 LDLR 之外, VLDLR 和 ApoER2 也是 IDOL 蛋白的底物。IDOL 的表达受核受体肝 X 受体(liver X receptor, LXR)的调控。当细胞内胆固醇水平过高时, LXR 被激活,进而上调 ATP 结合盒转运体 A1(ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1)、ATP 结合盒转运体 G1(ATP-binding cassette transporter G1, ABCG1)及磷脂转移蛋白(phospholipid transfer protein, PLTP)等因子的表达,这些因子可以介导细胞内的胆固醇外流,形成一个调节细胞内胆固醇稳态的负反馈机制^[33]。同理, LXR/IDOL 通路通过增加 LDLR 降解,减少细胞表面的 LDLR 数量,抑制细胞摄入 LDL,同样达到减少细胞内胆固醇负荷的目的^[34]。IDOL 蛋白是否可以作为有价值的药物靶点目前尚无定论。

2 LDLR 的再循环通道

2.1 LDLR 在胞内体中的索回过程及调控因子

除了降解通道,早期胞内体中的货物分子也可以被分选进入再循环通道返回细胞表面,或者进入高尔基体系统,因而避开被降解的命运,这一过程被称为货物的索回^[20]。相较于细胞内吞作用和分选进入降解通道的机制,人们对货物索回和再循环机制的理解尚不完整,更多新的细节正在不断被发现。以往的观点认为进入再循环通道是一个相对被动的、缺乏选择性的选择过程,如果货物分子没

有被分选进入降解通道,则其将跟随细胞膜成分的固有流动路径一起返回到细胞膜表面^[20]。虽然这一模型对一部分货物分子来说是适用的,但是越来越多的证据表明,也有相当一部分货物分子的索回和再循环是一个受特异性调控的生物学过程,这种特异性来源于特定的接头蛋白和位于货物分子中的某些特异性序列(即分选模体)^[20,35]。完成货物索回的分子基础是两个大的蛋白复合体:逆向转运复合体 Retromer 和逆向回收体复合物 Retriever。(1) Retromer 是由 Vps35、Vps29 和 Vps26A/B 三个蛋白形成的聚合体。Retromer 行使索回功能还需要接头蛋白的参与,主要是分选连接蛋白(sorting nexin, Snx)家族的一些成员。在哺乳动物细胞中, Snx27 蛋白主要负责特异性地将货物索回并分选进入再循环通道^[20,36]。Snx 蛋白在此过程中发挥多重功能,包括识别、结合货物分子,结合 Retromer 并将其锚定于胞内体膜等。(2) Retriever 也是由三个蛋白组成的聚合体,包含 Vps26C、Vps35L 和 Vps29。Retriever 发挥功能需要与一个大的蛋白复合体即 CCC 复合体(COMMD/CCDC93/CCDC22 complex)相结合^[37],结合后的衍生复合体被称为 Commander 复合体^[38]。Commander 还需要 Snx17 和 WASP 与 SCAR 同源蛋白复合体(WASP and scar homology complex, WASH)的参与才能完成正常的分选功能^[35,39]。

Bartuzi 等^[40]的研究表明, LDLR 的索回过程依赖于 CCC 复合体; LDLR 能够通过其胞内段的 NPxY 模体与 COMMD1 直接结合; LDLR 还与 WASH 复合体相互作用;破坏 CCC 复合体或 WASH 复合体均可导致 LDLR 再循环受阻,细胞摄取 LDL 的能力降低。在动物模型中, COMMD1 缺失导致个体出现高胆固醇血症。这些作者证实 LDLR 与 Snx27 之间没有相互作用,提示 Snx27/Retromer 通路对 LDLR 的分选可能不起主要作用。在另外一项基于蛋白质组学技术的研究中, McNally 等^[39]发现 Snx17/Commander 通路负责众多货物分子的索回和再循环,这其中包括 LDLR 家族成员 LRP1 和 VLDLR。以上这些结果虽然没有直接证明 LDLR 的索回过程需要 Retriever 参与,但是综合这些结果,提示 Retriever 在调节 LDLR 再循环的过程中发挥重要作用^[41]。为进一步解开这个疑问, Vos 等^[42]在最近的一项研究中制造了肝细胞特异性 Vps35L 和 Vps26C 的敲除模型,发现 Vps35L 不仅参与形成 Retriever,同时对维持 CCC 复合体的稳定也至关重要。敲除 Vps35L 降低了细胞膜表面的 LDLR 和 LRP1 数量,并导致

出现高胆固醇血症。但是有意思的是这些作者并没有发现敲除 Vps26C 和敲除 Vps35L 显现完全相同的生物学作用,他们的结果提示 Vps26C 只对 LRP1 的再循环起作用,而对 LDLR 的再循环调节作用不明显^[42]。在对 X 染色体连锁智力障碍(X-linked intellectual disability, XLID)患者临床家系的研究中, Bartuzi 等^[40]还发现 CCC 复合体中 CCDC22 蛋白的 T17A 位点突变和 Y557C 位点突变携带者均伴有高 LDL 胆固醇血症(图 2)。以上这些结果提示 Snx17/Commander 介导的 LDLR 索回-再循环过程受阻可能在某些高胆固醇血症的发病机制中具有关键意义。

2.2 LDLR 再循环的快循环路径和慢循环路径

货物分子通过再循环通道返回细胞表面有两条不同的路径:快循环路径(fast recycling)和慢循环路径(slow recycling)^[18-19,43]。快循环路径是指包含货物分子的膜性囊泡从早期胞内体中出芽并脱落,然后将货物直接转运至细胞膜表面的过程。与此相对,在慢循环路径中,货物分子首先被集中转运至内吞循环区室(endocytic recycling compartment, ERC)(一个位于细胞核周、靠近微管组织中心的管-囊泡状膜性结构)^[44],然后再通过循环胞内体(一类位于 ERC 和细胞膜之间,处于不断动态变化当中的过渡类型管状膜结构)^[19],最终被转运至细胞膜表面(图 2)。决定瞬时状态下细胞吞噬 LDL 能力的关键因素之一是细胞表面 LDLR 的数量,而不是细胞总的 LDLR 表达量。不管通过快循环路径还是慢循环路径,LDLR 从胞内返回到细胞膜表面重新发挥功能,都有助于细胞对 LDL 颗粒的吞噬;如果 LDLR 的再循环过程受到破坏,则细胞摄取(清除)外周 LDL 的能力下降,理论上在整体水平可导致高胆固醇血症的发生。

2.3 LDLR 再循环的关键调控因子 Rab 家族小 G 蛋白

目前的理论认为协调细胞内各种膜性囊泡的有序转运离不开各种小 G 蛋白 Rab 的作用,Rab 蛋白通过向胞内体表面募集特定的效应因子来调控胞内体膜系统的结构和功能,从而起到调控囊泡出芽(budding)、靶向定位(docking)、融合(fusion)等各个环节^[45]。因此,不同的 Rab 蛋白参与调控不同类型胞内体的功能,同时在研究当中这些 Rab 蛋白也被作为不同类型胞内体的标志物^[45]。目前已知通过快循环路径的再循环过程依赖于 Rab4 和 Rab35,而慢循环过程依赖于 Rab11^[19,43](图 2)。现有的证据支持无论是 Rab4 还是 Rab11,这些小 G 蛋白发挥协调囊泡转运的作用需要招募数量众多的

辅助因子(包括各种接头蛋白和 GTPase 的调控因子如 GEF、GAP 等)共同参与^[19,43,46-48],例如 Rab4 需要衔接蛋白 1(adaptor protein 1, AP-1)和耳结构域结合被膜相关蛋白 2(ear-binding coat associated protein 2, NECAP2);Rab11 需要 C 端 Eps15 同源结构域蛋白(C-terminal Eps15 homology domain-containing, EHD1/3)、Rab11 家族互作蛋白(Rab11 family-interacting protein, Rab11FIP2/3/5)、ADP 核糖基化因子 6(ADP ribosylation factor 6, ARF6)、Rab22a 和 Rab10。

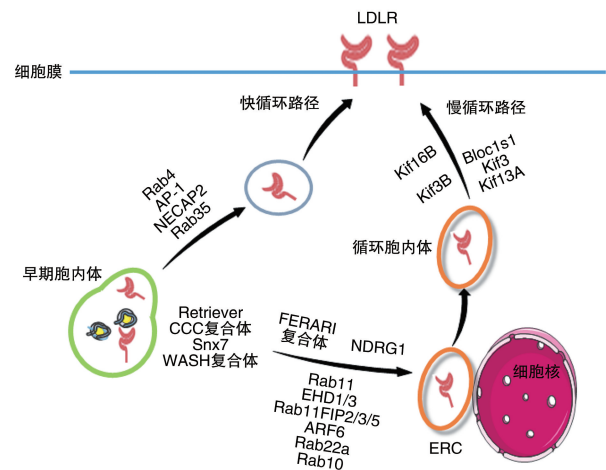


图 2. 低密度脂蛋白受体再循环的不同途径及主要调控因子 BLOC1s1:溶酶体相关细胞器生成复合体 1 亚基 1 (biogenesis of lysosome-related organelles complex 1 subunit 1); ERC:内吞循环区室(endocytic recycling compartment); Kif:驱动蛋白(kinesin); NDRG1: N-myc 下游调节基因 1(N-myc downstream-regulated gene 1)。

Figure 2. Different recycling pathways of low density lipoprotein receptor (LDLR) and key regulatory factors

以上这些只是目前已知的一些线索,实际上我们对 Rab 蛋白调控胞内体再循环的分子机制尚不是完全了解。最近 Solinger 等^[49-50]鉴定出一个位于早期胞内体的、进化上保守的蛋白复合体(取名为 FERARI),其功能是作为 Rab11 介导的内吞再循环过程中一个重要的系链平台。FERARI 的组成成分除了上面提到的 Rab11FIP5 和 EHD1 之外,还包括 rabenosyn-5、Vps45、Ank3(ankyrin 3)和 Vps33B 互作蛋白-顶基底极性调节因子(Vps33B interacting protein, apical-basolateral polarity regulator, spe-39 homolog, VIPAS39)^[49]。目前我们并不清楚是什么样的机制决定了货物分子是优先进入快循环路径还是优先进入慢循环路径,有观点认为,通过网格蛋白介导的经典内吞过程进入胞内体的货物有机会通过快循环路径返回至细胞表面,而通过其他不依赖

于网格蛋白介导的吞噬过程进入胞内体的货物分子则是通过慢循环过程运输^[19]。在研究中人们还观察到,过表达 Rabenosyn-5(一个 Rab5 的下游效应蛋白)可以增加快循环路径转运转铁蛋白受体(transferrin receptor)的能力^[51]。Rabenosyn-5 可以同时与 Rab4 及 Rab5 相互作用;当 Rabenosyn-5 表达增加时,分布于 Rab5 阳性区域的 Rab4 数量增加,同时分布于 Rab11 阳性区域的 Rab4 数量减少^[51]。这些现象提示 Rabenosyn-5 的表达量可能对快循环路径和慢循环路径的相对功能变化具有调控作用。在最近的研究中,Khan 等^[52]报道了小 G 蛋白 Rab10 对 LDLR 通过慢循环路径再循环具有正向调控作用。在肝细胞系中敲除 Rab10 后,细胞内位于 Rab11 阳性胞内体中的(慢循环路径中的)LDLR 数量增加而细胞表面的 LDLR 数量减少,同时细胞摄取 LDL 的功能出现障碍,而这些变化可以被过表达 GTP 结合的 Rab10 所逆转,提示 Rab10 参与介导了 LDLR 经慢循环路径再循环的过程^[52]。相反,敲除 Rab10 对 LDLR 的内吞过程没有显著影响。有意思的是,Rab10 同样促进转铁蛋白受体的内吞再循环,而这一过程主要是通过快循环路径实现的,提示 Rab10 的作用针对不同货物分子具有相对的特异性^[52]。实际上,Rab10 在调控细胞内囊泡转运中的作用相当广泛,例如 Rab10 参与了囊泡从高尔基体向细胞膜的转运,参与了胰岛素刺激引发的葡萄糖转运体 Glut4 特异性囊泡的转运,参与了吞噬小体的成熟等过程^[53]。

2.4 影响 LDLR 再循环的其他调控因子

一些研究团队特异性针对 LDLR 的再循环过程进行了研究。Pietiäinen 等^[54]发现在上皮细胞中沉默 N-myc 下游调控基因 1(N-myc downstream-regulated gene 1, NDRG1)蛋白的表达导致细胞表面 LDLR 数量减少以及细胞吞噬 LDL 功能障碍。NDRG1 缺失后导致 LDLR 在早期胞内体堆积,同时早期胞内体不但体积异常增大,同时还呈现出某些晚期胞内体的特征(腔内出现大量小囊泡)。这些作者提供的证据显示滞留在异常早期胞内体中的 LDLR 虽然大量被泛素化,但由于这些胞内体功能异常,无法将泛素化的 LDLR 分选进入降解通道,亦无法将其再循环至细胞表面^[54]。

2.5 动力蛋白在 LDLR 再循环过程中的作用

Rab 小 G 蛋白发挥调节囊泡运动的作用机制主要是通过直接或间接作用于细胞内的动力蛋白,诸如 Myosin 和驱动蛋白(kinesin, Kif)家族成员,以及

Dynein 等^[45,55]。将细胞内的胞内体囊泡转运至细胞表面的过程中,由 Kif 家族的动力蛋白驱动的沿细胞微管进行的传送运动是不可缺少的。例如,以往研究显示在细胞中沉默 Kif16B 的表达导致早期胞内体在细胞核周区域聚集,阻碍转铁蛋白受体的再循环因而加速其进入降解通道^[56]。另外,Kif3B 被证明能够与 Rab11FIP5 结合,并且对于慢循环路径的正常功能是必不可少的^[57]。除了 Kif16B 和 Kif3B,有证据显示 Kif13A 参与了循环胞内体的生成、形态演化和功能维持等,因此 Kif13A 在协助完成胞内体再循环的过程中也具有举足轻重的作用^[58]。不难理解,LDLR 的再循环也需要 Kif 家族蛋白的协助。最近 Zhang 等^[59]研究发现溶酶体相关细胞器生成复合体 1 亚基 1(biogenesis of lysosome-related organelles complex 1 subunit 1, Bloc1s1)作为一个接头蛋白,能够与 Kif3 形成二聚体,进而同时与 Kif13A 和 LDLR 相互作用,完成胞内体囊泡在微管上的滚动运动。除此之外,这些作者还证实 Kif13A 在辅助 LDLR 分子通过循环胞内体离开 ERC 的过程中发挥重要作用^[59]。Bloc1s1 缺失后导致的 LDLR 再循环障碍迫使更多的 LDLR 分子进入降解通道。在整体水平,肝脏特异性敲除 Bloc1s1 后,小鼠血浆 LDL 水平显著升高,而肝脏摄取 LDL 的能力降低^[59]。

3 细胞营养应激与 LDLR 内吞再循环

氨基酸稳态对于维持细胞正常代谢及生长至关重要,其中发挥关键调节作用的是哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合体 1(mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1)通路^[60]。细胞内自由氨基酸的水平主要通过各种溶质载体转运蛋白(SLC 家族)依赖的跨膜转运来维持^[61]。当细胞处于氨基酸缺乏环境时,细胞会启动自噬过程,消化细胞内的一些蛋白分子及细胞器,产生的自由氨基酸被重新再利用^[61-62]。实际上,细胞外的脂蛋白分子也有可能被作为营养物质的来源。比如分泌类固醇激素的细胞能够通过摄取 LDL 作为胆固醇的来源^[63]。当缺乏内源性胆固醇合成时,细胞也会通过增加摄取 LDL 作为外源性的胆固醇补充^[4]。近期研究还提示,在一些特殊情况下(例如肿瘤细胞),细胞也会通过增加内吞活动摄入外源性大分子作为氨基酸的来源,以应对营养缺乏的环境^[64]。

我们最近的一项研究发现,在成纤维细胞株 NIH-3T3 及肝细胞株 HepG2 中,给予氨基酸剥夺刺

激能够增加细胞内吞 LDL 的速度,而葡萄糖剥夺或血清剥夺刺激没有这样的作用。这一作用遵循典型的网格蛋白依赖的内吞过程,并且与自噬无关。我们证实这种作用是由于氨基酸剥夺增加了细胞膜表面 LDLR 的数量^[65]。我们的证据显示,氨基酸剥夺增加细胞表面 LDLR 数量不是因为增加了其基因表达,而是与增加了 LDLR 通过快循环路径的再循环有关,因为这一作用与 Rab4 密切相关,表达固有活性的 Rab4a-Q67L 增强这一作用,而表达非活性的 Rab4a-S22N 有抑制作用。同样我们证实 LDLR 的再循环依赖于 CCC 复合体和 WASH 复合体介导的分选过程。目前已知哺乳动物细胞中葡萄糖转运体 Glut4 的细胞内转运是受蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB/Akt) 信号通路调控的,而 LDLR 的细胞内转运是否也接受某些信号通路的调控目前还不清楚。我们的进一步研究提示氨基酸剥夺增加 LDLR 进入快循环路径的作用受细胞内 Ca²⁺ 离子信号及钙/钙调素依赖性蛋白激酶 II (calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, CamK II) 通路的控制^[65]。氨基酸剥夺的功能方面,体外实验证实诱导的 LDL 摄取增加与普伐他汀的作用相当。在体内,施加 72 h 的急性氨基酸剥夺刺激可提高肝脏 LDL 摄取率。将杂合子 LDLR 缺陷小鼠膳食氨基酸减少 50% 持续 2~4 周,可改善高脂饮食诱导的高胆固醇血症,同时降低 LDL 和 VLDL 组分^[65]。限制饮食中蛋白质/氨基酸的摄入对机体脂质代谢的影响受到越来越多的关注(见近期综述文章^[66])。而现有的研究结果尚存在争议。我们的体内研究数据与最近的几项研究一致^[67-69]。阐明氨基酸稳态失衡对 LDLR 再循环的调控作用不仅为这些体内研究结果背后的生物学机制提供了新思路,同时也为发现治疗高胆固醇血症的新靶点提供了新的理论基础。

4 总结

血浆中 LDL 胆固醇水平的升高已经被证实是引起动脉粥样硬化的关键独立危险因素。人体血浆中大约 70% 的 LDL 通过肝脏细胞表面的 LDLR 介导的内吞作用被清除。本文简要总结了 LDLR 转运的不同环节,包括内吞、分选、进入降解通道或再循环通道,以及各环节的主要调控因子(图 3)。迄今为止,针对 LDLR 转录及转录后水平调控机制的研究已经取得了很大进展,例如:间接靶向 LDLR 转录调控的药物开发(他汀类药物)及靶向 LDLR 进

入降解通道的药物开发(PCSK9 抑制剂)均取得了成功。但是我们对于调控 LDLR 转运的分子机制,特别是 LDLR 再循环过程及相关的信号传导机制的了解尚不完全。对这些机制的研究可能为发现治疗高胆固醇血症的新靶点提供思路。同时,因为有相当一部分家族性高胆固醇血症患者并没有携带目前已知的相关基因突变,对 LDLR 转运机制的深入了解可能帮助发现新的候选基因,不但能解释这部分患者的发病原因,还能为将来开发针对这部分患者的新诊疗策略提供巨大帮助。

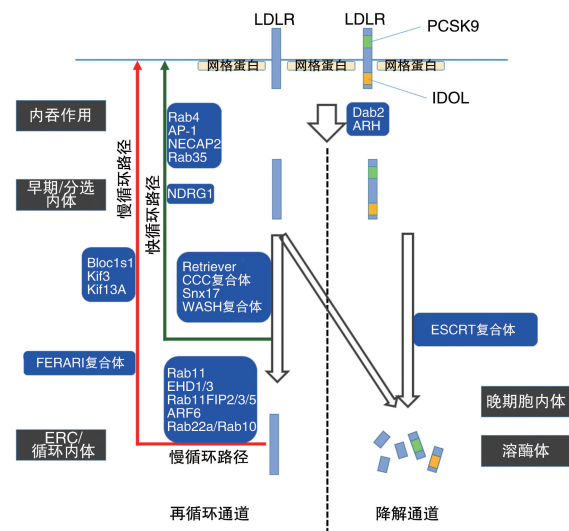


图 3. 低密度脂蛋白受体转运的不同环节及主要调控因子总览

Figure 3. Overview of LDL receptor trafficking pathways and key regulatory factors

[参考文献]

- [1] BORÉN J, WILLIAMS K J. The central role of arterial retention of cholesterol-rich apolipoprotein-B-containing lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis: a triumph of simplicity[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2016, 27(5): 473-483.
- [2] KOUNATIDIS D, VALLIANOU N G, POULAKI A, et al. ApoB100 and atherosclerosis: what's new in the 21st century? [J]. *Metabolites*, 2024, 14(2): 123.
- [3] GOLDSTEIN J L, BROWN M S. A century of cholesterol and coronaries: from plaques to genes to statins[J]. *Cell*, 2015, 161(1): 161-172.
- [4] GOLDSTEIN J L, BROWN M S. The LDL receptor[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29(4): 431-438.
- [5] VAN DE SLUIS B, WIJERS M, HERZ J. News on the molecular regulation and function of hepatic low-density lipoprotein receptor and LDLR-related protein 1[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2017, 28(3): 241-247.
- [6] WIJERS M, KUIVENHOVEN J A, VAN DE SLUIS B. The life cycle of the low-density lipoprotein receptor: insights from cellular and

- in-vivo* studies[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2015, 26(2): 82-87.
- [7] SCHNEIDER W J, NIMPF J. LDL receptor relatives at the cross road of endocytosis and signaling[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2003, 60(5): 892-903.
- [8] MARTÍNEZ-OLIVÁN J, ARIAS-MORENO X, VELAZQUEZ-CAMPOY A, et al. LDL receptor/lipoprotein recognition; endosomal weakening of ApoB and ApoE binding to the convex face of the LR5 repeat[J]. *FEBS J*, 2014, 281(6): 1534-1546.
- [9] GOPALDASS N, CHEN K E, COLLINS B, et al. Assembly and fission of tubular carriers mediating protein sorting in endosomes[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2024, 25(10): 765-783.
- [10] KAKSONEN M, ROUX A. Mechanisms of clathrin-mediated endocytosis[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(5): 313-326.
- [11] MCMAHON H T, BOUCROT E. Molecular mechanism and physiological functions of clathrin-mediated endocytosis[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2011, 12(8): 517-533.
- [12] DAVIS C G, LEHRMAN M A, RUSSELL D W, et al. The J. D. mutation in familial hypercholesterolemia; amino acid substitution in cytoplasmic domain impedes internalization of LDL receptors[J]. *Cell*, 1986, 45(1): 15-24.
- [13] GARCIA C K, WILUND K, ARCA M, et al. Autosomal recessive hypercholesterolemia caused by mutations in a putative LDL receptor adaptor protein[J]. *Science*, 2001, 292(5520): 1394-1398.
- [14] ZHAO Z, POMPEY S, DONG H, et al. S-nitrosylation of ARH is required for LDL uptake by the LDL receptor[J]. *J Lipid Res*, 2013, 54(6): 1550-1559.
- [15] MULKEARNS E E, COOPER J A. FCH domain only-2 organizes clathrin-coated structures and interacts with disabled-2 for low-density lipoprotein receptor endocytosis[J]. *Mol Biol Cell*, 2012, 23(7): 1330-1342.
- [16] NGUYEN M K L, JOSE J, WAHBA M, et al. Linking late endosomal cholesterol with cancer progression and anticancer drug resistance[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(13): 7206.
- [17] ISLAM M M, HLUSHCHENKO I, PFISTERER S G. Low-density lipoprotein internalization, degradation and receptor recycling along membrane contact sites[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 826379.
- [18] MAXFIELD F R, MCGRAW T E. Endocytic recycling[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2004, 5(2): 121-132.
- [19] GRANT B D, DONALDSON J G. Pathways and mechanisms of endocytic recycling[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(9): 597-608.
- [20] CULLEN P J, STEINBERG F. To degrade or not to degrade; mechanisms and significance of endocytic recycling[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(11): 679-696.
- [21] YONG X, MAO L, SEAMAN M N J, et al. An evolving understanding of sorting signals for endosomal retrieval[J]. *iScience*, 2022, 25(5): 104254.
- [22] MIGLIANO S M, WENZEL E M, STENMARK H. Biophysical and molecular mechanisms of ESCRT functions, and their implications for disease[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2022, 75: 102062.
- [23] SCHMIDT O, TEIS D. The ESCRT machinery[J]. *Curr Biol*, 2012, 22(4): R116-R120.
- [24] DORES M R, TREJO J. Endo-lysosomal sorting of G-protein-coupled receptors by ubiquitin: diverse pathways for G-protein-coupled receptor destruction and beyond[J]. *Traffic*, 2019, 20(2): 101-109.
- [25] DUTKA M, ZIMMER K, CÍWIERTNIA M, et al. The role of PCSK9 in heart failure and other cardiovascular diseases-mechanisms of action beyond its effect on LDL cholesterol[J]. *Heart Fail Rev*, 2024, 29(5): 917-937.
- [26] SEIDAH N G, PRAT A. The multifaceted biology of PCSK9[J]. *Endocr Rev*, 2022, 43(3): 558-582.
- [27] SCHULZ R, SCHLÜTER K D, LAUFS U. Molecular and cellular function of the proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9)[J]. *Basic Res Cardiol*, 2015, 110(2): 4.
- [28] 王伟志, 司书毅, 许艳妮. 前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 抑制剂的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2022, 30(8): 645-653. WANG W Z, SI S Y, XU Y N. Advances in proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibitors[J]. *Chin J Arterioscler*, 2022, 30(8): 645-653.
- [29] 杨帆, 刘楚轩, 彭飞, 等. PCSK9 抑制剂在治疗动脉粥样硬化中的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2023, 31(3): 185-189. YANG F, LIU C X, PENG F, et al. Research progress of PCSK9 inhibitors in the treatment of atherosclerosis[J]. *Chin J Arterioscler*, 2023, 31(3): 185-189.
- [30] GREJTAKOVA D, BORONOVA I, BERNASOVSKA J, et al. PCSK9 and lipid metabolism; genetic variants, current therapies, and cardiovascular outcomes[J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2024, DOI: 10.1007/s10557-024-07599-5.
- [31] CSISZAR A, TARANTINI S, YABLUCHANSKIY A, et al. PCSK9: an emerging player in cardiometabolic aging and its potential as a therapeutic target and biomarker[J]. *Geroscience*, 2024, 46(1): 257-263.
- [32] MOURIKIS P, ZAKO S, DANNENBERG L, et al. Lipid lowering therapy in cardiovascular disease: from myth to molecular reality[J]. *Pharmacol Ther*, 2020, 213: 107592.
- [33] ZHANG L, REUE K, FONG L G, et al. Feedback regulation of cholesterol uptake by the LXR-IDOL-LDLR axis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(11): 2541-2546.
- [34] HUANG Y, LIU F Y, YANG J T, et al. Curcumin nicotinate increases LDL cholesterol uptake in hepatocytes through IDOL/LDLR pathway regulation[J]. *Eur J Pharmacol*, 2024, 966: 176352.
- [35] CHEN K E, HEALY M D, COLLINS B M. Towards a molecular understanding of endosomal trafficking by retromer and retriever[J]. *Traffic*, 2019, 20(7): 465-478.
- [36] CAROSI J M, DENTON D, KUMAR S, et al. Receptor recycling by retromer[J]. *Mol Cell Biol*, 2023, 43(7): 317-334.
- [37] BOESCH D J, SINGLA A, HAN Y, et al. Structural organization of the retriever-CCC endosomal recycling complex[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2024, 31(6): 910-924.
- [38] YONG X, ZHOU C, BILLADEAU D D, et al. Commanding the commander: structure of a key protein machinery in endosomal trafficking[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 295.
- [39] MCNALLY K E, FAULKNER R, STEINBERG F, et al. Retriever is a multiprotein complex for retromer-independent endosomal cargo

- recycling[J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(10): 1214-1225.
- [40] BARTUZI P, BILLADEAU D D, FAVIER R, et al. CCC- and WASH-mediated endosomal sorting of LDL is required for normal clearance of circulating LDL[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 10961.
- [41] VOS D, KUIVENHOVEN J A, VAN DE SLUIS B. Recycling the LDL receptor to combat atherosclerosis[J]. *Aging (Albany NY)*, 2018, 10(12): 3638-3640.
- [42] VOS D Y, WIJERS M, SMIT M, et al. Cargo-specific role for retriever subunit VPS26C in hepatocyte lipoprotein receptor recycling to control postprandial triglyceride-rich lipoproteins[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2023, 43(1): e29-e45.
- [43] NASLAVSKY N, CAPLAN S. The enigmatic endosome-sorting the ins and outs of endocytic trafficking[J]. *J Cell Sci*, 2018, 131(13): jcs216499.
- [44] CHENG Y, KANG X Z, CHAN P, et al. FACI is a novel clathrin adaptor protein 2-binding protein that facilitates low-density lipoprotein endocytosis[J]. *Cell Biosci*, 2023, 13(1): 74.
- [45] STENMARK H. Rab GTPases as coordinators of vesicle traffic[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(8): 513-525.
- [46] D'SOUZA R S, SEMUS R, BILLINGS E A, et al. Rab4 orchestrates a small GTPase cascade for recruitment of adaptor proteins to early endosomes[J]. *Curr Biol*, 2014, 24(11): 1187-1198.
- [47] CHAMBERLAND J P, ANTONOW L T, DIAS SANTOS M, et al. NECAP2 controls clathrin coat recruitment to early endosomes for fast endocytic recycling[J]. *J Cell Sci*, 2016, 129(13): 2625-2637.
- [48] KONG L, HUANG S, BAO Y, et al. Crucial roles of Rab22a in endosomal cargo recycling[J]. *Traffic*, 2023, 24(9): 397-412.
- [49] SOLINGER J A, RASHID H O, PRESCIANOTTO-BASCHONG C, et al. FERARI is required for Rab11-dependent endocytic recycling[J]. *Nat Cell Biol*, 2020, 22(2): 213-224.
- [50] SOLINGER J A, RASHID H O, SPANG A. FERARI and cargo adaptors coordinate cargo flow through sorting endosomes[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 4620.
- [51] DE RENZIS S, SÖNNICHSEN B, ZERIAL M. Divalent rab effectors regulate the sub-compartmental organization and sorting of early endosomes[J]. *Nat Cell Biol*, 2002, 4(2): 124-133.
- [52] KHAN T G, GINSBURG D, EMMER B T. The small GTPase RAB10 regulates endosomal recycling of the LDL receptor and transferrin receptor in hepatocytes[J]. *J Lipid Res*, 2022, 63(8): 100248.
- [53] WANDINGER-NESS A, ZERIAL M. Rab proteins and the compartmentalization of the endosomal system[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2014, 6(11): a022616.
- [54] PIETIÄINEN V, VASSILEV B, BLOM T, et al. NDRG1 functions in LDL receptor trafficking by regulating endosomal recycling and degradation[J]. *J Cell Sci*, 2013, 126(Pt 17): 3961-3971.
- [55] LI G, MARLIN M C. Rab family of GTPases[J]. *Methods Mol Biol*, 2015, 1298: 1-15.
- [56] HOEPFNER S, SEVERIN F, CABEZAS A, et al. Modulation of receptor recycling and degradation by the endosomal kinesin KIF16B[J]. *Cell*, 2005, 121(3): 437-450.
- [57] SCHONTEICH E, WILSON G M, BURDEN J, et al. The rip11/Rab11-FIP5 and kinesin II complex regulates endocytic protein recycling[J]. *J Cell Sci*, 2008, 121(Pt 22): 3824-3833.
- [58] THANKACHAN J M, SETTY S R G. KIF13A-A key regulator of recycling endosome dynamics[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 877532.
- [59] ZHANG C, HAO C, SHUI G, et al. BLOS1 mediates kinesin switch during endosomal recycling of LDL receptor[J]. *Elife*, 2020, 9: e58069.
- [60] JEWELL J L, GUAN K L. Nutrient signaling to mTOR and cell growth[J]. *Trends Biochem Sci*, 2013, 38(5): 233-242.
- [61] CARROLL B, KOROLCHUK V I, SARKAR S. Amino acids and autophagy: cross-talk and co-operation to control cellular homeostasis[J]. *Amino Acids*, 2015, 47(10): 2065-2088.
- [62] RAVIKUMAR B, SARKAR S, DAVIES J E, et al. Regulation of mammalian autophagy in physiology and pathophysiology[J]. *Physiol Rev*, 2010, 90(4): 1383-1435.
- [63] HU J, ZHANG Z, SHEN W J, et al. Cellular cholesterol delivery, intracellular processing and utilization for biosynthesis of steroid hormones[J]. *Nutr Metab (Lond)*, 2010, 7: 47.
- [64] XIAO Y, RABIEN A, BUSCHOW R, et al. Endocytosis-mediated replenishment of amino acids favors cancer cell proliferation and survival in chromophobe renal cell carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2020, 80(24): 5491-5501.
- [65] CHEN Y, WU X, ZHANG J, et al. Amino acid starvation-induced LDLR trafficking accelerates lipoprotein endocytosis and LDL clearance[J]. *EMBO Rep*, 2022, 23(3): e53373.
- [66] TRICÒ D, BIANCALANA E, SOLINI A. Protein and amino acids in nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2021, 24(1): 96-101.
- [67] TREVIÑO-VILLARREAL J H, REYNOLDS J S, BARTELT A, et al. Dietary protein restriction reduces circulating VLDL triglyceride levels via CREBH-ApoA5-dependent and -independent mechanisms[J]. *JCI Insight*, 2018, 3(21): 99470.
- [68] MAIDA A, ZOTA A, VEGIOPOULOS A, et al. Dietary protein dilution limits dyslipidemia in obesity through FGF21-driven fatty acid clearance[J]. *J Nutr Biochem*, 2018, 57: 189-196.
- [69] HENAGAN T M, LAEGER T, NAVARD A M, et al. Hepatic autophagy contributes to the metabolic response to dietary protein restriction[J]. *Metabolism*, 2016, 65(6): 805-815.

(此文编辑 许雪梅)