

高密度脂蛋白受体在胆固醇逆行转运中的作用

张林华 刘秉文

(华西医科大学生物化学教研室,成都)

提 要

本文综述了近两三年来 HDL 受体及其在胆固醇逆行转运过程中作用的研究进展,着重讨论了肝外细胞及肝组织细胞 HDL 受体介导胆固醇转移的机理。

胆固醇从外周组织细胞转运到肝脏的过程,称为胆固醇的逆行转运(reverse cholesterol transport, RCT)。血浆高密度脂蛋白(HDL)浓度升高具有明显的抗动脉粥样硬化的作用。现已证实, HDL 是 RCT 的主要传递者^[1]。1976 年 Gwynne 等^[2]首先在大鼠肾上腺皮质细胞上发现有特异的、高亲和性、可饱和的 HDL 结合部位,提示细胞膜上可能有 HDL 的受体存在。此后十余年间,人们对 HDL 及 HDL 受体与胆固醇在体内转运的机理进行了大量研究。然而,无论对 RCT 或 HDL 受体的研究

至今尚未得到完全一致的结论^[1,3,4]。主要原因是: ① 虽然从生物学特性方面基本上肯定了 HDL 受体的存在,表明它不同于已知的低密度脂蛋白(LDL)受体,即载脂蛋白(apolipoprotein, apo) B. E 受体和 apoE 受体,但迄今尚未获得纯化的 HDL 受体蛋白;② HDL 与细胞作用的详细机理尚不清楚。

一、HDL 受体

细胞结合、内移及降解 HDL 具有特异的、高亲和性可饱和和反应的特征。目前已经证明,

表 1 HDL 受体与 LDL 受体及 apoE 受体之比较

受 体	LDL	Apo E	HDL
分 布	成纤维细胞,平滑肌细胞、肝脏、肾上腺皮质、卵巢、淋巴细胞、动脉内皮细胞,小肠粘膜细胞等	肝 脏	成纤维细胞,平滑肌细胞,肝脏、肾上腺皮质、卵巢、淋巴细胞、动脉内皮细胞,小肠粘膜细胞等
结合的脂蛋白	LDL; 含 apoE 的 HDL (HDL _c); VLDL、乳糜微粒残骸; Lp(a); β -VLDL (饲胆固醇诱导产生)	乳糜微粒残骸; 含 apo E 的 HDL (HDL _c)	不含 apo E 的 HDL
相关配体	Apo B, Apo E	Apo E	Apo AI, Apo AII? Apo C?
受体的调节	下降调节	无明显的下降调节作用	上升调节
生理功能	调节 LDL 水平;经含 apoB、apoE 脂蛋白介导调节胆固醇在各组织的分布,提供胆固醇为细胞利用	摄取乳糜微粒残骸及富含胆固醇的含 apo E 的 HDL; 转运胆固醇至肝脏排泄	肝外: 移除细胞内过多胆固醇; 提供原料为合成类固醇物质的组织利用。 肝脏: 摄取 HDL-胆固醇, 主要以胆汁排泄
对环境因素的敏感性	①需 Ca ⁺⁺ 等二价金属离子 ②对赖氨酸、精氨酸修饰试剂及链霉蛋白酶、胰蛋白酶、刀豆蛋白 A 敏感 ③对溶酶体抑制剂敏感	①需 Ca ⁺⁺ ②对赖氨酸、精氨酸修饰试剂敏感	①不需要 Ca ⁺⁺ 等二价离子 ②对赖氨酸、精氨酸修饰试剂及链霉蛋白酶等不敏感,但对酪氨酸修饰试剂敏感 ③对溶酶体抑制剂不敏感
分子量	160000	56000	78000—110000

HDL 受体广泛存在于不同组织细胞膜上,不论其配体特异性、结合特性及生理功能均与 LDL 受体及 apoE 受体有很大的不同,在许多情况下 HDL 受体与 LDL 受体在生理功能上是互补的(见表 1)^[4,5]。

1. HDL 受体的配体特异性

人血清 HDL 为不均一分子,所含蛋白质主要有 apoA I 和 apoA II (二者共约占 90%),以及 apo C (6—8%),还含少量 apo E (1—2%)。HDL₃ 则几乎不含 apo E^[1]。目前关于 HDL 受体主要识别 HDL 中哪种载脂蛋白进而介导 HDL 受体功能尚未完全确定。HDL 受体的配体特异性仍是目前研究 HDL 受体的一个重要课题。

目前,从培养细胞及纯化的细胞膜的研究结果来看,apoA I 确在 HDL 与其受体结合过程中起主要作用^[6-8]。然而,许多实验结果显示,apo C 也可能作为 HDL 受体的特异配体之一,引起了人们的关注^[8,9]。已发现,含 apo C₃ (包括 apo C₁、C₂ 及 C₃),或 apo C₃ 的人工脂质体与天然的不含 apo E HDL₃ 一样,可与 ¹²⁵I-HDL₃ (不含 apo E) 竞争结合大鼠肝细胞膜、睾丸细胞膜、肾上腺皮质细胞膜及培养的肝内皮细胞、人皮肤成纤维细胞^[9]上 HDL 的结合部位。我们最近的研究结果表明,未用脂质体包装的 apo C₃ (尤其是 apo C₃) 确可竞争抑制 ¹²⁵I-不含 apo E HDL₃ 与大鼠肝细胞膜的结合。表明 apo C (尤其是 apo C₃) 在细胞 HDL 受体功能的调节上具有重要作用。虽然 HDL 含不到 10% 的 apo C,但这类载脂蛋白分子量较小(6,600—8,800 道尔顿),其等电点低于 pH5,为血浆 9 种主要载脂蛋白中等电点最低的一类。提示它们在生理状态下负电荷密度较高。已发现,apo C₃ 可阻抑肝脏摄取含 apo E 的脂蛋白^[10]。含 apo E 及不含 apo E 的人 HDL 均可抑制肝细胞摄取含 apo E 的甘油三酯乳化颗粒,但除去 HDL 的 apo C 后,其抑制作用消失^[9]。有人提出, HDL 受体分子结构上可能包括了对 apo A 及 apo C 两类载脂蛋白识别的结构域^[8],并称之为 apoA · C

受体^[9];亦有人认为肝细胞膜上可能有独立的“apo C₃ 受体”存在^[11]。这些假设值得进一步研究。

2. HDL 受体分子的存在

分离纯化 HDL 受体并从结构上证明其存在是十分重要的。最近这方面的研究取得重要进展。

首先,1985 年澳大利亚 Backer 医学研究所 Fidge 等^[12]用辛酰-D-葡萄糖苷从羊肾上腺皮质细胞膜上增溶出可特异结合人血清不含 apo E HDL 的膜蛋白。经蛋白质印迹技术及免疫酶标染色方法鉴定出一分子量为 78000 道尔顿的膜蛋白。该膜蛋白不同于皮质上其它膜蛋白及白蛋白,它可特异结合 apo A₁ 及 apo A₂。1986 年该实验室 Fidge 等^[13]用同样方法从大鼠肾及肝细胞膜上鉴定出可特异结合人血清不含 apo E 的 HDL₃ 及 apo A₁、apo A₂ 的膜蛋白,其分子量为 78000 道尔顿,并用 SDS-PAGE 方法进行了部分纯化。1986 年美国西雅图 Graham 及 Oram 等^[13]亦用相似方法从人皮肤成纤维细胞及牛动脉内皮细胞上分离鉴定出分子量为 110000 道尔顿的 HDL 受体蛋白。上述研究结果进一步证实了 HDL 受体是位于质膜上的一种膜蛋白。

二、肝外细胞 HDL 受体与细胞胆固醇流出

在 RCT 过程中,胆固醇从肝外细胞流出(RCT 第一步)及进入肝细胞合成胆汁酸(RCT 最后一步)均涉及 HDL 受体介导的反应^[4,14]。以动脉平滑肌细胞为例,肝外细胞至少存在四条途径,以维持细胞内游离胆固醇的浓度(图 1)^[4]。细胞通过 LDL 受体途径从血流中获取 LDL-胆固醇;当细胞内胆固醇浓度升高,可通过下降调节(down-regulation)抑制 LDL 受体活性。

关于 HDL 受体介导的细胞内胆固醇流出过程,目前主要有两类看法。

1. 通过 HDL 受体介导的细胞内吞与反内吞作用将细胞内胆固醇移除。1985 年 Schnitz

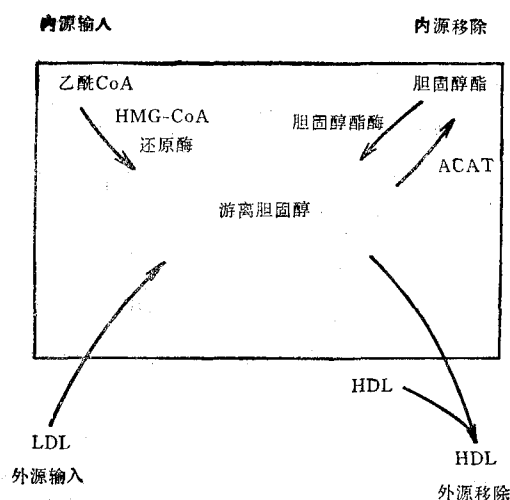


图1 细胞内游离胆固醇的动态平衡

等^[6]观察到,巨噬细胞膜上 HDL 受体与胶态金标记的人 HDL 结合后,内移入细胞形成内吞体 (endosome)。该内吞体并不与溶酶体融合而发生降解,而是与胞浆内的脂粒相互作用,然后移向质膜,并以类似细胞外倾 (exocytosis) 方式重新释放出来。作者认为 HDL 与巨噬细胞获取胆固醇经历了一种受体介导的反内吞途径 (a receptor-mediated retroendocytosis pathway) 完成的。Bierman 及 Oram 等^[4]亦认为动脉平滑肌细胞胆固醇流出,也可能是一种 HDL 受体介导的内吞-反内吞过程: HDL 与受体结合内移入细胞后,以某种方式提取 (extract) 或分离 (sequester) 出细胞内游离胆固醇,并以反内吞 (retroendocytosis) 方式排出细胞之外。

2. HDL 受体识别结合 HDL 后,所形成的受体复合物并不内移进入细胞,仅使 HDL 富集于细胞表面,从而提取出细胞内游离胆固醇,胆固醇与质膜融合渗出细胞。这种看法已得到许多实验结果的支持。

将人皮肤成纤维细胞及小鼠巨噬细胞与人 ^{125}I -HDL₃ 在 0℃ 温育, ^{125}I -HDL₃ 即结合至细胞表面 HDL 受体。除去未结合的 ^{125}I -HDL₃ 并转入 37℃ 继续温育后,则发现大多数细胞表面结合的 ^{125}I -HDL₃ 又重新完整地回到培养介

质中。在 37℃ 温育过程中,随着细胞负荷胆固醇量增加, ^{125}I -HDL 结合亦增加,但细胞上结合的 ^{125}I -HDL₃ 仍对胰蛋白酶敏感^[15]。这些结果表明, HDL 与细胞上 HDL 受体呈可逆的表面结合,以获取细胞内的胆固醇。至于 HDL 受体结合 HDL 后是否在质膜上形成胆固醇流出的通道,并涉及细胞骨架系统,这些详细过程尚不清楚^[16]。但至少可以肯定,肝外细胞胆固醇的流出是由细胞表面 HDL 受体与 HDL 结合后触发的。

肝外细胞 HDL 受体受细胞内游离胆固醇浓度的上升调节 (up-regulation)。细胞胆固醇流出直接与 HDL 受体结合活性有关。大量实验结果表明,经 LDL 受体途径负荷胆固醇于成纤维细胞及动脉平滑肌细胞,或经修饰 LDL 负荷内皮细胞及巨噬细胞,均可引起 HDL 受体的结合功能增高^[4,17]。细胞胆固醇流出与细胞 HDL 活性还平行性地受某些因素的调节。Brinton 等^[17]发现,高甘油三酯血症患者,其 HDL₃ 中甘油三酯含量增加,胆固醇酯降低,结果患者皮肤成纤维细胞与 HDL 结合增加的同时,细胞胆固醇流出增加。Oppenheimer 等^[4]观察到,血小板衍生的生长因子及胰岛素可刺激动脉平滑肌细胞增殖,细胞对胆固醇需要量增加。此时,细胞 HDL 受体活性受到抑制,而 HDL-介导的胆固醇流出减少。反之,当细胞增殖受阻时,则可增加 HDL 受体活性及增加细胞胆固醇流出,防止细胞内胆固醇堆积过多。

由上述可见,肝外组织细胞内胆固醇浓度生理平衡的维持,不仅依赖于 LDL 受体及其环境 LDL 的浓度,在相当程度上也依赖于 HDL 受体及其环境中 HDL 的浓度。二者之一发生缺陷均可能导致细胞内胆固醇的过度堆积^[4]。

三、肝脏 HDL 受体与 HDL 的分解代谢

肝脏是摄取降解 HDL 的主要器官。从肝脏排泄 HDL-胆固醇是清除血浆胆固醇的一条重要途径,也是 RCT 的关键步骤之一^[1,7,14,15,18]。

1. 肝脏摄取 HDL 过程的特点

① 肝组织细胞摄取 HDL-胆固醇酯 (CE) 及其蛋白质不是按同一方式进行的^[7,14,18]。已发现,培养的大鼠肝细胞摄取重组的 HDL 中的 CE 是摄取 HDL-apo AI 的 8 倍。Arbeeny 等^[7]证明,大鼠肝灌注系统中,肝脏摄取和降解不含 apo E 的 HDL-CE 及其蛋白质是两种具有不同反应特征的过程。蛋白质的摄取为一受体介导的可饱和过程,CE 则为非饱和过程;但 CE 的摄入量是前者的 4 倍。因此, HDL 显然不是作为一个完整的单位而被细胞摄取降解;肝脏可优先选择利用 HDL-胆固醇酯,进而用于合成胆汁酸^[7]。这一点与肝外某些能合成固醇组织(如肾上腺、卵巢、睾丸等)优先摄取 HDL-CE 是相似的^[1,5]。

② 肝脏细胞摄取 HDL 后并不像 LDL 或 TRL (富含甘油三酯脂蛋白) 残骸那样迅速内移,及在溶酶体内彻底降解^[7,14,18,19]。

首先,肝细胞可优先摄入 HDL-CE。其可能的过程有 a) HDL 与细胞表面受体结合,其上 CE 优先转运进入细胞;b) HDL 可以完整地进入细胞,其上 CE 转移,仅重新释出 HDL-载脂蛋白于细胞表面;c) HDL 与细胞表面 HDL 受体结合后,一部分发生内移,一部分则被修饰后回到培养液中;后者因 CE 转移,载脂蛋白保留,其浮力密度增加。最近,Arbeeny 等^[7]的实验表明后一种机制存在的可能性较大。

其次,肝细胞摄取 HDL 后并不迅速转移到溶酶体降解,虽然已发现溶酶体对 HDL 有一定水解作用。通过与 LDL 及 VLDL-残骸比较发现, HDL 内移入细胞后,不论它转移至溶酶体,还是其降解均比 LDL 及 VLDL-残骸缓慢。在大鼠肝灌注系统中,¹²⁵I-HDL 的降解速度比 VLDL-残骸低 4 倍,而后者移至溶酶体的速度比 HDL 快得多。培养的猪肝细胞内吞的 ¹²⁵I-HDL 在溶酶体降解速度仅为 LDL 的 50%^[18]。

第三,即使 HDL 的蛋白组分及 CE 在细胞内的代谢途径与 LDL 受体途径比较亦不相

同^[7,19]。LDL 进入细胞后,很快与溶酶体融合,蛋白质分解为氨基酸,CE 生成游离胆固醇。HDL 内移入细胞后,其蛋白组分向溶酶体的移动及其降解缓慢,也可能直接分泌入胆汁之中。而 HDL 胆固醇酯在质膜上即可发生广泛水解,由此生成的游离胆固醇,可能并不与细胞内源胆固醇重新平衡,而是直接用于胆汁合成。已发现,氯喹并不能阻断 HDL 受体介导进入细胞内的胆固醇用于合成胆汁。总之,与肝外类固醇合成组织细胞相似,肝细胞膜上 HDL 受体介导的 HDL 分解代谢可能是一种经溶酶体以外的途径完成的。

2. 肝脏不同类型细胞的 HDL 受体

肝脏组织细胞主要由肝实质细胞,肝非实质细胞包括肝内皮细胞(70%)及 Kupffer 细胞(20%)及贮脂细胞组成。许多研究结果表明,肝非实质细胞上脂蛋白受体活性高于肝实质细胞, HDL 受体活性比实质细胞高若干倍^[11,14]。Van Berkel 等发现,肝非实质细胞内的胆固醇酯酶可水解酯化胆固醇,生成游离胆固醇并转移给肝实质细胞从胆汁排出。何志刚、蔡海江等亦发现,大鼠肝实质细胞及非实质细胞负荷高脂后, HDL 受体结合及降解功能增强,胆固醇从胆汁排泄增加;不同的 Kupffer 细胞培养液可影响肝实质细胞 HDL 受体活性。这些结果均说明,肝脏摄取 HDL-CE 合成胆汁酸过程中,不仅在细胞内有一复杂的转运过程,肝实质细胞与非实质细胞之间亦可能存在受体介导的胆固醇转运过程。研究这些不同类型的肝细胞上 HDL 受体结构功能及其调节,对阐明胆固醇经肝脏的排泄有重要意义。

参 考 文 献

- [1] Eisenberg, S.: *J. Lipid Res.*, 1984, 25, 1017.
- [2] Gwynne, J. T. et al.: *Pro. Natl. Acad. Sci. USA*, 1976, 73, 4329.
- [3] Shepherd, J. and Packard, C. J.: *Clin. Sci.*, 1986, 70, 1.
- [4] Bierman, E. L. et al.: *Am. Heart J.*, 1987, 113, 549.
- [5] 孙锡铭,蔡海江:《国外医学分子生物学分册》,1986,8, 26.
- [6] Schmitz, G. et al.: *EMBO J.*, 1985, 4, 2773.
- [7] Arbeeny, C. M. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, 1987,

鸟苷酸结合蛋白信号转导的分子机制

周 宝 宏

(同济医科大学病理生理学教研室, 武汉)

提 要

鸟苷酸结合蛋白, 具有信号转导作用, 它涉及到第二信使的控制、细胞生长的调节、离子通道的开关、嗅、视觉和其它信号转导系统等多种功能。本文简述 G 蛋白的类型及其信号转导的分子机制。

鸟苷酸结合蛋白 (G 蛋白), 亦称为鸟苷酸调节蛋白 (N 蛋白), 其基本作用是将受体和效应分子偶联起来。受体及起到类似功能的分子被称为信号检测元件 (signal detector element), 效应分子被称为效应元件 (effector element)。G 蛋白大致有以下几种, 其基本特征如表 1 所示。

1. 腺苷环化酶系统 G_s 、 G_i (分为 G_i' 和 G_i'')、2. 磷酸肌醇系统: G_p 、 $G_r(?)$ 、3. 视觉系统: G_t 、4. 胰岛素系统: G_{ins} 、5. 细胞分泌系统: G_c 、6. 离子通道系统: G_k 、 G_o 、 G_{ca} 、7. 其它系统: ras 蛋白家族、管蛋白 (tubulin)、EF-Tu、 G_c 、 G_{ho}

一、G 蛋白信号转导的分子机制

(一) G 蛋白信号转导机制的一般模型

如图 1 所示^[1], 1 到 2 步: G 蛋白 $\alpha\beta\gamma$ 三聚体与受体反应, 提高受体对激动剂的亲和力 (R 为低亲和力状态, R^* 为高亲和力状态)。2 到 3 步: 激动剂与 R^* 结合, 诱导 α 亚基构象变

化, 促进 GDP 与 GTP 的交换, 此步需 Mg^{2+} 。3 到 4 步: GTP 结合导致 G 蛋白激活, $\beta\gamma$ 与 α 亚基分开, α 亚基与膜上效应元件的胞浆部分结合, α 亚基在胞液中亦有效应元件, 由于 $\beta\gamma$ 亦可作用于相应的效应元件, 因而提出双效应元件模型。此时 R^* 又回到 R 状态。4 到 1 步: α^* 有 GTP 酶活性, 水解 GTP, 则 G 蛋白失活,

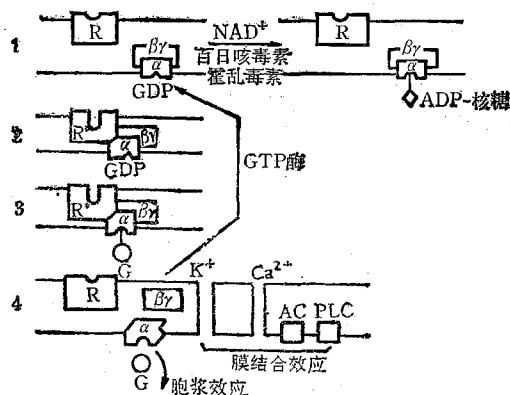


图 1 G 蛋白作用机理的一般模型

AC——腺苷环化酶; R——受体;
PLC——磷脂酶 C

- 917, 9.
- [8] Mitchel, Y. B. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, 1987, 917, 324.
- [9] Oswald, B. and Quarfordt, S.: *J. Lipid Res.*, 1987, 28, 798.
- [10] Windler, E. et al.: *J. Lipid Res.*, 1985, 26, 556.
- [11] Gustafson, S. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, 1985, 834, 308.
- [12] Fidge, N. H. et al.: *FEBS Lett.*, 1986, 199, 265.

- [13] Graham, J. L. and Oram, J. E.: *Arteriosclerosis*, 1986, 6, 537a.
- [14] Havel, R. J.: *Ann. Rev. Physiol.*, 1986, 48, 119.
- [15] Oram, J. F. et al.: *J. Biol. Chem.*, 1987, 262, 2405.
- [16] 梅美珍: 《衡阳医学院学报》, 1987年增刊, 15(4), 29.
- [17] Brinton, E. A. et al.: *Arteriosclerosis*, 1985, 5, 324.
- [18] Bachorik, P. S. et al.: *Arteriosclerosis*, 1985, 5, 142.

[本文于1988年4月25日收到]