

载脂蛋白 A- I 在高密度脂蛋白生物合成中的作用研究进展*

莫中成¹⁾ 欧含笑¹⁾ 易光辉^{2)**}

¹⁾南华大学医学院组织学与胚胎学教研室, 衡阳 421001;

²⁾南华大学心血管疾病研究所, 动脉粥样硬化化学湖南省重点实验室, 衡阳 421001)

摘要 高密度脂蛋白(HDL)生物合成是一个有多种膜蛋白和胞质蛋白参与的复杂过程, 载脂蛋白 A- I (apoA- I)是 HDL 中最主要的结构和功能蛋白, 它能活化卵磷脂胆固醇脂酰基转移酶(LCAT), 贫脂 apoA- I 也是巨噬细胞中三磷酸腺苷结合盒转运体 A1(ABCA1)介导的胆固醇流出的重要接受体。因此, apoA- I 在 HDL 及胆固醇代谢中的作用至关重要, 它赋予了 HDL 多种抗动脉粥样硬化活性。本文主要就 HDL 生物合成及 apoA- I 在其中的作用作一综述, 以期揭示 HDL 的代谢机制提供新思路。

关键词 载脂蛋白 A- I, 高密度脂蛋白, 胆固醇流出, 基因突变

学科分类号 R363

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0109

大量流行病学和临床资料表明, 高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL)胆固醇水平与冠心病等动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)性疾病的发生发展呈负相关, 是抗 As 的一个独立因素^[1]。HDL 可将胆固醇从肝外周围组织转运到肝脏以胆酸的形式排泄, 这一过程称之为胆固醇逆向转运(reverse cholesterol transport, RCT)。HDL 通过促进 RCT 可使动脉壁胆固醇酯的蓄积减少, 这是 HDL 心血管保护作用的主要机制。此外, HDL 还可以通过改善内皮功能、抗氧化、抗炎、抗血栓和促纤溶等功能发挥抗 As 作用^[2]。

新生 HDL 含有载脂蛋白、磷脂、胆固醇和少量脂肪酸, 主要是由肝脏和小肠合成。体内 HDL 的生物合成及代谢有多种酶和蛋白质参与, 是一个相当复杂的过程, 并与 HDL 的心血管保护功能密切相关。载脂蛋白 A- I (apoA- I)是 HDL 颗粒中最主要的载脂蛋白, 贫脂 apoA- I 是巨噬细胞中由三磷酸腺苷结合盒转运体 A1(ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1)所介导的胆固醇流出的重要接受体^[3]。本文就 HDL 的生物合成及 apoA- I 在其中的作用作一综述, 以期揭示 HDL 的代谢机

制提供新思路。

1 HDL 的分类

HDL 是一种复杂的脂蛋白, 蛋白质组学分析显示, 许多血浆蛋白与 HDL 相关, 并影响 HDL 的结构和功能。HDL 有多种亚类, 不同 HDL 亚类中蛋白质的构成不同。根据水化密度、颗粒大小、带电荷及构成的载脂蛋白种类的不同可将 HDL 分成多种亚类, 不同亚类的 HDL 颗粒大小、组成及功能极不均一。HDL 亚类因为形状、密度、大小的不同而表现出不同的特性, 具有各自的代谢、功能和临床意义。

a. 根据 HDL 形状及大小的不同, 可分为盘状 HDL 和球形 HDL。盘状 HDL 体积较小, 主要由载脂蛋白、磷脂、游离胆固醇组成的脂质单层构成。

* 国家自然科学基金(81100211, 81270360), 南华大学博士启动基金(2012XQD27), 湖南省重点学科建设项目(南华大学基础医学学科, 湘教发[2011]76 号), 南华大学“十二五”科技创新团队项目资助。

** 通讯联系人。

Tel: 0734-8281586, E-mail: ghyi6108@163.com

收稿日期: 2014-05-22, 接受日期: 2015-07-20

球形 HDL 体积较大, 主要含有一个由胆固醇酯及甘油三酯组成的疏水核。b. 根据密度的不同, 经密度梯度离心可将 HDL 分为 HDL₂(密度范围 1.063~1.125 g/ml)、HDL₃(密度范围 1.125~1.210 g/ml) 和极高密度脂蛋白(VHDL, 密度范围 1.210~1.250 g/ml)。c. 根据所含载脂蛋白的不同, HDL 可分为仅含 apoA- I 的 HDL 及同时含 apoA- I 和 apoA- II 的 HDL。d. 目前国内外根据电荷的不同, 通过双向电泳将 HDL 分为 α -HDL 和前 β -HDL(pre β -HDL)。 α -HDL 体积较大, 包括 HDL_{3a}、HDL_{3b}、HDL_{3c}、HDL_{2a} 和 HDL_{2b}, 主要与细胞胆固醇的酯化、转运及清除有关; pre β -HDL 体积小, 包括 pre β 1-HDL 和 pre β 2-HDL, 主要介导细胞胆固醇的流出^[4-5]。

2 HDL 的生物合成与 apoA- I

2.1 HDL 的生物合成

HDL 的生物合成是一个有多种膜蛋白和胞质蛋白参与的复杂过程, 其中第一步就是肝脏和小肠分泌 apoA- I (图 1)。分泌的 apoA- I 与 ABCA1 产生功能性相互作用, 导致细胞内磷脂和胆固醇流向贫脂 apoA- I。脂化的 apoA- I 逐渐转变为富含未酯化胆固醇的圆盘状颗粒, 随即卵磷脂-胆固醇酰基转移酶(lecithin/cholesterol acyltransferase, LCAT)催化游离胆固醇酯化, 使 HDL 颗粒从圆盘状转变为球形 HDL^[6]。研究发现, apoA- I、ABCA1 和 LCAT 缺陷或突变失活可阻止含 apoA- I 的 HDL 生物合成^[7], 这说明在 HDL 生物合成过程中, apoA- I、ABCA1 和 LCAT 的相互作用十分重要(图 1)。

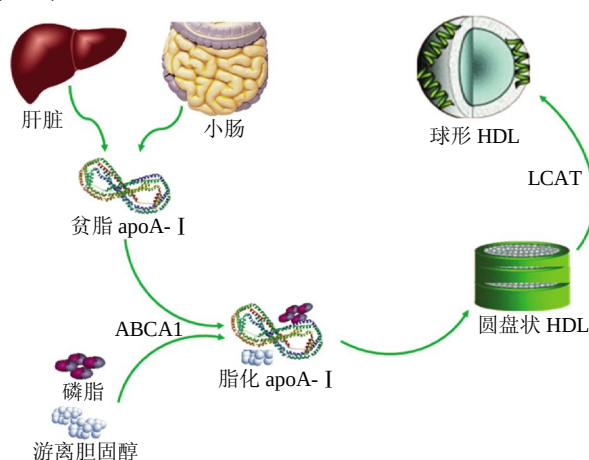


Fig. 1 Pathway of the biogenesis of HDL containing apoA- I

图 1 含 apoA- I 的高密度脂蛋白生物合成途径示意图

HDL: 高密度脂蛋白; apoA- I: 载脂蛋白 A- I; ABCA1: 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1; LCAT: 卵磷脂-胆固醇酰基转移酶。

2.2 apoA- I 的结构

apoA- I 是 HDL 最主要的结构和功能蛋白, 约占 HDL 蛋白总量的 70%, 几乎所有的 HDL 微粒都可能含有 apoA- I^[8]。apoA- I 主要由肝脏和小肠合成、分泌, 它最主要的功能是与细胞内受体相互作用, 活化 LCAT 并赋予 HDL 的多种抗动脉粥样硬化活性。人成熟的 apoA- I 由 243 个氨基酸残基组成, 是单一多肽链, 分子质量为 28.3 ku, 其分子中含有 8 个由 22 个氨基酸残基组成的两亲性 α 螺旋结构域, 即结合脂质, 又可与水环境相互作用。此外, apoA- I 还含有 2 个由 11 个氨基酸残基组成的重复序列^[9]。

2.3 apoA- I 与 ABCA1 间相互作用对 HDL 生物合成的影响

ABCA1 属 ABC 转运体家族, 在肝脏、巨噬细胞、脑及其他多种组织中广泛表达, 它主要促进细胞内磷脂和胆固醇向无脂、贫脂的 apoA- I 或其他脂蛋白流出^[10-11]。众所周知, apoA- I 是 HDL 最主要的载脂蛋白, 绿色荧光蛋白示踪显示, ABCA1 可与 apoA- I 形成复合物^[12], 巨噬细胞中 ABCA1 与 apoA- I 在被覆小凹处相互作用, 与内化、胞内脂质池及脂化微粒的再分泌相关^[13]。

apoA- I 突变影响其与 ABCA1 交联以及 ABCA1 介导的胆固醇和磷脂的流出, 这些突变包括氨基末端缺失、羧基末端缺失以及氨基末端和羧基末端双重缺失^[14-15]。研究发现, apoA- I 氨基末端缺失突变不影响野生型 ABCA1 介导的胆固醇和磷脂的流出, 但是在 C 端 220~231 残基移码缺失则会使野生型 ABCA1 介导的胆固醇和磷脂的流出减少, 而羧基末端 232~243 区域的缺失突变则不影响^[14]。但是氨基末端和羧基末端双重缺失, 其 ABCA1 介导的胆固醇和磷脂的流出仅为野生型的 80%^[16]。突变的 apoA- I 对 ABCA1 依赖的脂质流出作用与这些突变跟 ABCA1 有效的交联能力有关, 同样, apoA- I 与 ABCA1 的交联及胆固醇流出也可以被 ABCA1 突变所影响, 多数情况下 ABCA1 的突变不容易与野生型 apoA- I 产生交联, 其促进胆固醇流出的能力下降^[17]。但是 ABCA1 [W590S]突变是一个例外, 与野生型 ABCA1 相比, [W590S]突变可使 ABCA1 与 apoA- I 的交联增强, 但仍降低其促胆固醇流出和促 HDL 形成的能力^[18]。因此, ABCA1 的突变可能以某种方式改变了 ABCA1 结合 apoA- I 位点的微环境, 从而有效阻止脂质流出^[17]。

体内研究发现, Tangier 病患者 ABCA1 失活突变与其体内的低 HDL 水平相关, 其促胆固醇流出的功能受到抑制, 在不同的组织中形成前 β 迁移颗粒和异常的脂质沉积^[19]. ABCA1 的纯合子或杂合子复合突变不能形成 α -HDL 微粒, 转而形成 pre- β 和其他小型 HDL 颗粒^[15]. Fotakis 等^[20]研究发现, apoA- I 的 218~222 疏水性残基的变化破坏 apoA- I /ABCA1 的相互作用, 促进缺陷性 pre- β 微粒的生成, 影响成熟 α -HDL 微粒的产生, 因而导致血浆中 apoA- I 和 HDL 水平降低.

人 ABCA1 的一些突变可改变 ABCA1 功能, 增加 As 的易感性. 研究发现, 丹麦普通人群中 ABCA1 基因特异性的氨基酸置换增加缺血性心脏病风险, 降低患者生存率, 但是机制仍不明确^[21]. 鼠 ABCA1 基因的失活可致血浆中总胆固醇水平降低, 脂质在不同组织中沉积, 损害机体的生长及神经发育, 这种现象同样可见于 Tangier 病患者^[22-23]. 此外, ABCA1 缺陷小鼠胆固醇吸收适度增加, 这可能是其对高胆固醇饮食的一种反应. 人和鼠类似, 其 HDL 的生成主要与肝脏和肠道相关, 当肝脏和肠道 ABCA1 基因失活, 小鼠血浆中几乎没有 HDL 的存在. 小鼠肠特异性 ABCA1 基因失活, 其肝脏 HDL 的产生率仅为野生型小鼠的 70%^[24]. 尽管肠道在 HDL 的合成中的作用为 30%, 但当肝脏不表达 ABCA1 时, 小鼠淋巴液中 HDL 的浓度显著减少, 这表明肠道产生的 HDL 是直接分泌入血的. 因此, 小鼠肠道不表达 ABCA1, 并不影响 apoA- I 和淋巴液中胆固醇的浓度^[24]. 肝特异性或整体 ABCA1 基因敲除小鼠血浆 HDL 的分解代谢及肝、肾和肾上腺的分级分解率增加, ABCA1 缺陷小鼠体内, 脂化的 apoA- I 微粒或 pre- β -HDL 不能成熟, 并可经肾脏快速分解^[25].

2.4 apoA- I 与 LCAT 间相互作用对 HDL 生物合成的影响

LCAT 是一种含 416 个氨基酸的血浆蛋白, 主要在肝脏合成和分泌, 以游离或与脂蛋白结合的形式存在, 是一种在血浆中起催化作用的酶^[26]. LCAT 选择性底物是 HDL, 特别是新生盘状或小球形 HDL₃. LCAT 常与 HDL 结合在一起, 在 HDL 颗粒表面活性很高并起催化作用, 对 VLDL 和 LDL 的颗粒几乎不起作用^[27]. LCAT 与圆盘状和球形 HDL 相互作用, 其作用是将 HDL 的卵磷脂 C2 位不饱和脂肪酸转移给游离胆固醇, 生成溶血卵磷脂和胆固醇酯, apoA- I 在其中起活化作用^[6]. 有

关 apoA- I 活化 LCAT 的机制, 可能与 R130 和 K133 残基在兼性转运通道形成中的重要作用有关, 这种通道可允许磷脂疏水性酰基链及兼性未酯化的胆固醇从双分子层向 LCAT 活化位点迁移, LCAT 的这种活化位点具有磷脂酶和酯化活性^[28].

LCAT 突变一般表现为家族性 LCAT 缺陷和鱼眼病两种类型, 家族性 LCAT 缺陷(familial LCAT deficiency, FLD)以 LCAT 突变失去酯化 HDL 和 LDL 中胆固醇的能力, 致使圆盘状 HDL 在血浆中蓄积为特征^[29]. 鱼眼病(fish eye disease, FED)是以 LCAT 突变仅失去酯化 HDL 中胆固醇的能力为特征. 这两种疾病的共同特征为低 HDL 水平及形成 pre- β -HDL 和 α_4 -HDL 微粒^[15]. LCAT 缺失患者血浆中存在大量的小 α -HDL 微粒, LCAT 缺陷小鼠血浆中主要为 pre- β -HDL 和 α_4 -HDL 微粒^[7]. 腺病毒转染表达人 LCAT 基因后, 血浆中产生大 α -HDL 颗粒, 而表达突变 LCAT 基因则产生 pre- β -HDL, 伴随有小颗粒的 α_4 、 α_3 和 α_2 -HDL 亚类的产生^[15]. 这些现象可能与 LCAT 酯化游离胆固醇的功能相关, 即 LCAT 酯化 HDL 表面的游离胆固醇形成胆固醇酯, 并迁移入 HDL 的核心, 从而使 HDL 微粒体积增大^[30]. 获自 LCAT 杂合子突变者的血清促进巨噬细胞 ABCA1 介导的胆固醇流出能力增强, 而促进 ABCG1 和 SR-B I 介导的胆固醇流出能力则降低, 这些变化导致杂合子 LCAT 突变者血清中 pre- β -HDL 增加和 α -HDL 微粒的减少^[31].

此外, apoA- I 活化 LCAT 的能力可被髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)抑制, MPO 修饰可以改变 HDL 的某些功能, 产生一些具有促炎效应的 HDL 微粒^[32]. apoA- I 的突变可明显影响 LCAT 的活化. 研究显示, 46 种天然 apoA- I 突变体中, 有 25 种与低 HDL 水平有关, 其中有 17 种可减少 apoA- I 活化 LCAT 的能力, 并且这些突变与动脉粥样硬化的发生相关, 有些突变可影响 HDL 的生物合成和成熟^[15].

2.5 apoA- I 突变在 HDL 生物合成中的作用及机制

2.5.1 apoA- I 特异性突变可能影响 apoA- I / ABCA1 间相互作用, 抑制 HDL 生物合成

研究显示, apoA- I 的 218~222 和 225~230 位点的点突变影响 HDL 生物合成过程中的 apoA- I / ABCA1 相互作用(图 2). apoA- I 结构中的 L218/L219/V221/L222 残基在 HDL 生物合成中起重要作用, 与野生型 apoA- I 比较, apoA- I 和 apoE 基因

敲除小鼠经腺病毒介导转染 apoA- I 的这些突变基因后, apoA- I [L218A/L219A/V221A/L222A]突变降低血浆中胆固醇、apoA- I 和 HDL 胆固醇水平, 并生成 pre β -HDL 和 α 4-HDL 亚类, 这可能是由于 apoA- I 的突变导致 apoA- I 脂化不全, 损害了 apoA- I 与 ABCA1 间的相互作用, 从而仅产生 pre β -HDL, 并且不能转变为成熟的 α -HDL^[20].

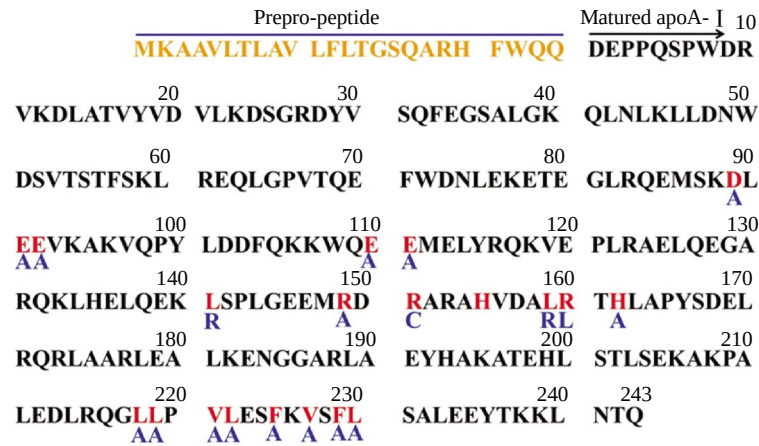


Fig. 2 The schematic diagram of amino acid sequence and mutation sites in apoA- I
图 2 apoA- I 氨基酸序列及突变位点示意图

为消除 apoE 在含 apoE 的 HDL 微粒生成中的影响, 在 apoA- I 和 apoE 双重敲除小鼠体内, 通过腺病毒介导转染 apoA- I [L218A/L219A/V221A/L222A]突变基因后, 血浆中几乎缺乏 HDL 胆固醇, 密度梯度离心显示血浆中只少量的 apoA- I 存在于 HDL₃ 中, 另外可见一些密度小于 1.21 g/ml 的片段^[20]. 电镜分析显示, 存在一些圆盘状微粒, 沿着 IDL/LDL 大小的大颗粒分布. 这些微粒可能是源于 HDL 片段中含 apoB-48 的脂蛋白, 而二维电泳分析则显示仅存在 pre β -HDL. 表达野生型 apoA- I 的对照组 apoA- I 和 apoE 双重敲除小鼠体内主要存在 HDL₂/HDL₃, 并形成球形微粒, 其亚类则显示为正常的 pre β -HDL 和 α -HDL^[20]. 复合表达突变 apoA- I [L218A/L219A/V221A/L222A]和人 LCAT 后, apoA- I 和 apoE 双重敲除小鼠, 血浆 apoA- I 水平及 HDL 表型的异常并未被纠正^[15].

LCAT 过表达不能纠正 apoA- I [L218A/L219A/V221A/L222A]突变所致的表型改变, 这些突变可抑制 apoA- I 促进 ABCA1 介导的胆固醇流出作用. 体内外研究表明, apoA- I [L218A/L219A/V221A/L222A]突变体与 ABCA1 的相互作用导致 apoA- I 的脂化受损, 致使 pre β -HDL 微粒形成, 而 pre β -HDL 并非 LCAT 最佳底物. 因此, apoA- I 的正常脂化可能需要 ABCA1 结合位点内的 apoA- I 配体与之精确定位, 这类似于酶和底物的相互作用. 正常脂化的 apoA- I 能执行胆固醇酯化及形成成熟 HDL 的功能, 而脂化受损的 apoA- I 则不是 LCAT 的合适底物, 从而影响其在 HDL 合成中的作用^[15]. 此外, L218/L219/V221/L222 残基除了在 HDL 生物合成中具有特异性作用外, 它们在 apoA- I 的内皮跨膜转运能力和杀菌活性方面也有重要作用, 这说明 L218/L219/V221/L222 残基是 apoA- I 活性的效应结构域^[15].

表达 apoA- I [F225A/V227A/F229A/L230A]突变基因的表型类似于 apoA- I [L218A/L219A/V221A/L222A]基因突变(图 2), 但是复合表达 apoA- I [F225A/V227A/F229A/L230A]突变基因与人 LCAT 基因后, 能矫正 HDL 水平的异常, 生成正常 pre β -HDL 和 α -HDL 亚类并产生球形的 HDL 微粒^[33]. LCAT 具有恢复由遗传或环境因素所致的异常 HDL 表型的能力, 这是纠正人体异常 HDL 水平的潜在靶点, 具有十分重要的临床意义, 但其具体的作用机制尚需进一步阐明.

2.5.2 apoA- I 突变影响 apoA- I /LCAT 间相互作用

apoA- I 的一些天然突变可以产生某些病理性的表型, apoA- I 的结构性突变可影响 HDL 水平. 以前的研究显示, 复合杂合子 apoA- I 无效等位基因和 apoA- I (L141R)_{Pis} 等位基因形成的半合子可

显著降低血浆中 apoA- I 的水平, 并使 HDL 胆固醇近乎缺失. 半合子血浆中含有 pre β 1-HDL 和低浓度的具有 α 电泳迁移率的小颗粒分子. apoA- I (L141R)_{Pisa} 杂合子 HDL 胆固醇和 apoA- I 的水平则为正常的 50%^[34]. apoA- I (L159R)_{FIN} 杂合子突变可显著减少血浆中 HDL 胆固醇和 apoA- I, 但有小颗粒的 HDL(8~9 nm), 并且 HDL 胆固醇酯水平也降低^[35]. 与正常 HDL 相比, 含 apoA- I (L159R)_{FIN} 突变体的 HDL 分级分解率增加, 提示突变的 apoA- I 蛋白的代谢增加. 体外研究显示, apoA- I 在发生 apoA- I (L141R)_{Pisa} 和 apoA- I (L159R)_{FIN} 复合突变后, 其促进 ABCA1 介导的胆固醇流出能力正常, 但是活化 LCAT 的能力明显受到抑制^[36]. apoA- I (L141R)_{Pisa} 和 apoA- I (L159R)_{FIN} 复合突变的 apoA- I^{-/-} 再转染人 LCAT, 其血浆 apoA- I, 总胆固醇及 CE/TC 比率则恢复正常, 血浆中也可形成大量的球形 HDL, 其 pre β -HDL 和 α -HDL 亦恢复正常^[36]. apoA- I (L141R)_{Pisa} 和 apoA- I (L159R)_{FIN} 两种突变的作用可能与抑制内源性 LCAT 所致 pre β 1-HDL 的胆固醇酯化不全, 从而抑制 HDL 早期合成步骤有关.

apoA- I (R160L)_{Oslo} 杂合子突变后, 其 HDL 和 apoA- I 的水平分别约为正常的 60% 和 70%, LCAT 的活性减少约 30%. 复合表达 apoA- I (R160L)_{Oslo} 杂合子突变基因及人 LCAT 基因后, HDL 异常可被恢复. 生物工程产生的 apoA- I [R160V/H162A] 和 apoA- I [R149A] 突变及 apoA- I [R151C]_{Paris} 和 apoA- I [L144R]_{Zaragoza} 的天然突变(图 2)所产生的表型与之相类似, 但尚未完全确定, 但是这种表型在复合表达突变体与 LCAT 基因后可以被矫正^[36-37].

Roosbeek 等^[38]报道, apoA- I 的 R149、R153 和 R160 残基可产生围绕 apoA- I 的正静电位, 这些残基的突变显著减少重构 HDL 体外活化 LCAT 的能力. 根据盘状重构 HDL 的带状模型结构, 这些残基位于 apoA- I 螺旋的亲水面, 在反向平行的 apoA- I 二聚体中不形成分子内盐桥. 这种排列基本上满足这些 apoA- I 残基与某些 LCAT 残基形成盐桥或以氢键结合, 从而促使 LCAT 活化^[15].

apoA- I (L141R)_{Pisa} 和 apoA- I (L159R)_{FIN} 突变可促进 ABCA1 介导的胆固醇流出, 提示在这两种突变的情况下, 导致 apoA- I 脂化的 apoA- I 与 ABCA1 功能性相互作用是正常的, 而突变所引起的低 apoA- I 和 HDL 水平可能是由于脂化的新生

HDL 微粒快速清除所致. 此外, pre β -HDL 是 LCAT 的有效底物, LCAT 过量时, 新形成 pre β -微粒的胆固醇酯化阻止其快速的分解代谢, 并促使形成圆盘状和球形的 HDL.

因此, apoA- I 突变是研究 HDL 生物合成中的分子事件及理解 apoA- I /LCAT 分子间相互作用的一个极有价值的工具.

2.5.3 apoA- I 的突变可能诱发高甘油三酯血症和高胆固醇血症

apoA- I 的突变可致高甘油三酯血症, 有研究显示, apoA- I [D89A/E91A/E92A] 突变(图 2), 带电荷的残基被丙氨酸取代. apoA- I [D89A/E91A/E92A] 突变促进 ABCA1 介导的胆固醇流出和活化 LCAT 的效率为野生型 apoA- I 的 2/3^[39]. 与转染野生型 apoA- I 比较, 转染了 apoA- I [D89A/E91A/E92A] 突变基因的 apoA- I^{-/-} 小鼠血浆中 HDL 胆固醇水平增加、CE/TC 比率降低, 并产生严重的高甘油三酯血症. 40% 突变 apoA- I 分布在 VLDL/IDL, 而野生型 apoA- I 则主要分布在 HDL₂/HDL₃. 野生型的 apoA- I 形成球形 HDL, apoA- I [D89A/E91A/E92A] 突变基因主要形成大量的球形 HDL 和少量圆盘状 HDL 微粒. 而二维电泳显示, 野生型的 apoA- I 形成正常的 pre β -HDL 和 α -HDL 亚类, 但是突变型的 apoA- I 则形成 pre β - 和 α 4-HDL 亚类^[39]. apoA- I^{-/-} 小鼠复合表达 apoA- I [D89A/E91A/E92A] 突变基因和人脂蛋白脂酶后, 其高甘油三酯血症可消失, apoA- I 可在 HDL₂/HDL₃ 区域再分配, 并恢复部分 α 1, 2, 3, 4-HDL 亚类, 但是 CE/TC 比率没有显著变化^[39]. 这些结果提示, apoA- I 的 D89, E91 和 E92 残基在维持血浆中胆固醇和甘油三酯稳态及对 HDL 成熟起重要作用.

apoA- I 突变是血脂异常的潜在机制. 研究发现, apoA- I [D89A/E91A/E92A] 突变与 apoA- I [Δ (61-68)]、apoA- I [E110A/E111A] 突变(图 2)一样均可导致高甘油三酯血症, 它们有两个共同特征: 一方面是 apoA- I 在 VLDL/IDL 区域聚集, apoA- I 在较低密度脂蛋白区聚集影响体外内源性脂蛋白脂酶催化的 VLDL/IDL 片段的脂解作用; 另一方面则是部分负电荷残基的丢失. 在盘状 HDL 中反向平行的 apoA- I 分子中, E78、D89 和 E111 残基可与带正电荷的残基形成溶剂难以渗透的盐桥. HDL 微粒中 apoA- I 分子的第 2 螺旋上 E78、第 3 螺旋上 D89 和第 4 螺旋上 E111 残基可分别与第 8 螺旋

上 R188、第 7 螺旋上 R177 和第 6 螺旋上 H155 残基形成溶剂难以渗透的盐桥。Gorshkova 等^[40]发现, apoA- I [Δ (61-68)]、apoA- I [E110A/ E111A]突变可以增强 apoA- I 与富含甘油三酯的脂蛋白微粒结合, 更好地暴露蛋白的疏水性表面。apoA- I 的这些位点突变均存在脂质和脂蛋白的异常, 这表明 VLDL/IDL 中 apoA- I 的增加可能引起脂蛋白脂酶的缺乏, 从而诱导高甘油三酯血症。

不难想到, D89 和 E92 附近 apoA- I 结构的松散导致丙氨酸残基的替代, 从而为 HDL 与其他蛋白或 VLDL 等脂蛋白微粒的相互作用提供新的表面, 在某种程度上抑制了甘油三酯的水解。而且, 盘状 HDL 的聚集与 pre β -HDL 和小颗粒 α 4-HDL 的形成也提示 D89、E91 和 E92 位点的替代突变可直接影响 LCAT 的活性^[15]。

在不同鼠模型中表达 apoA- I 突变基因, 可干扰 HDL 生物合成中的特定步骤, 产生不连续的脂质和 HDL 表型。这些表型包括抑制 HDL 生成、产生不稳定的中间产物、抑制 LCAT 的活性及血浆胆固醇水平的增高或血浆中胆固醇和甘油三酯均增高^[20, 33, 39]。

3 问题与展望

HDL 由于可输出胆固醇促进胆固醇的代谢而作为动脉硬化预防因子而备受重视, 但人体内 HDL 的代谢过程十分复杂, 探讨 HDL 的代谢及功能一直是临床及基础研究所关注的重点。apoA- I 是 HDL 中最主要的载脂蛋白, 广泛参与了 HDL 的生物合成和代谢, 也是介导 HDL 抗 As 多重效应的活性分子。随着研究的深入, apoA- I 的作用显得越来越重要, 除了在介导胆固醇代谢外, apoA- I 在 HDL 抗氧化和抗炎等其他功能中也可能具有关键性的作用。因此, 人们普遍认为, 内源性 apoA- I 表达上调是临床上应用 HDL 抗 As 治疗的最佳方法, 但是目前仍然很难确定上调 apoA- I 转录的小分子调节剂。许多研究表明, 一段与 apoA- I 序列相仿由 18~22 个氨基酸组成的 apoA- I 模拟肽具有类似 apoA- I 的功能, 包括促进细胞胆固醇流出以及激活 LCAT 等, apoA- I 模拟肽的应用可望成为 As 相关疾病的一种新的治疗措施。但是, apoA- I 在 HDL 代谢中的确切作用及机制仍未明确, 目前尚有许多问题亟待解决, 例如, 如何调控 apoA- I 的功能, 进而调控 HDL 的代谢和功能? 如何干预 apoA- I 与 HDL 合成代谢中关键蛋白质间的相互作用

用以调节 HDL 的代谢? 如何合理诱导心血管病患者 apoA- I 基因突变以改善其功能? 这些问题的解决, 将为我们深入了解 HDL 和 apoA- I 的功能及防治动脉粥样硬化性疾病提供有意义的实验依据, HDL 及 apo- I 研究的深入将影响动脉粥样硬化性疾病防治的研究进展。

参 考 文 献

- [1] Annema W, von Eckardstein A, Kovanen P T. HDL and atherothrombotic vascular disease. *Handb Exp Pharmacol*, 2015, **224**(1): 369-403
- [2] Karlsson H, Kontush A, James R W. Functionality of HDL: antioxidation and detoxifying effects. *Handb Exp Pharmacol*, 2015, **224**(1): 207-228
- [3] Niesor E J. Will lipidation of ApoA1 through interaction with ABCA1 at the intestinal level affect the protective functions of HDL? *Biology (Basel)*, 2015, **4**(1): 17-38
- [4] 范永臻, 王振坤, 郭志刚. 高密度脂蛋白——重要而又尚未攻克的靶点. *心血管病学进展*, 2010, **31**(01): 37-40
Fan Y Z, Wang Z K, Guo Z G. *Adv Cardiovasc Dis*, 2010, **31**(01): 37-40
- [5] Kontush A, Lindahl M, Lhomme M, *et al.* Structure of HDL: particle subclasses and molecular components. *Handb Exp Pharmacol*, 2015, **224**(1): 3-51
- [6] Zannis V I, Chroni A, Krieger M. Role of apoA- I, ABCA1, LCAT, and SR-BI in the biogenesis of HDL. *J Mol Med (Berl)*, 2006, **84**(4): 276-294
- [7] Daniil G, Phedonos A A, Holleboom A G, *et al.* Characterization of antioxidant/anti-inflammatory properties and apoA- I -containing subpopulations of HDL from family subjects with monogenic low HDL disorders. *Clin Chim Acta*, 2011, **412**(13-14): 1213-1220
- [8] Scherer M, Bottcher A, Schmitz G, *et al.* Sphingolipid profiling of human plasma and FPLC-separated lipoprotein fractions by hydrophilic interaction chromatography tandem mass spectrometry. *Biochim Biophys Acta*, 2011, **1811**(2): 68-75
- [9] Nolte R T, Atkinson D. Conformational analysis of apolipoprotein A- I and E-3 based on primary sequence and circular dichroism. *Biophys J*, 1992, **63**(5): 1221-1239
- [10] 唐艳艳, 陈五军, 路倩, 等. ABCA1 的胞内运输及功能研究新进展. *生物化学与生物物理进展*, 2013, **40**(06): 510-519
Tang Y Y, Chen W J, Lu Q, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2013, **40**(06): 510-519
- [11] Remaley A T, Stonik J A, Demosky S J, *et al.* Apolipoprotein specificity for lipid efflux by the human ABCA1 transporter. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, **280**(3): 818-823
- [12] Neufeld E B, Demosky S J, Stonik J A, *et al.* The ABCA1 transporter functions on the basolateral surface of hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, **297**(4): 974-979
- [13] Lorenzi I, von Eckardstein A, Cavelier C, *et al.* Apolipoprotein A- I but not high-density lipoproteins are internalised by RAW macrophages: roles of ATP-binding cassette transporter A1 and

- scavenger receptor BI. *J Mol Med (Berl)*, 2008, **86**(2): 171–183
- [14] Chroni A, Liu T, Gorshkova I, *et al.* The central helices of ApoA- I can promote ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)-mediated lipid efflux. Amino acid residues 220-231 of the wild-type ApoA- I are required for lipid efflux *in vitro* and high density lipoprotein formation *in vivo*. *J Biol Chem*, 2003, **278**(9): 6719–6730
- [15] Zannis V I, Fotakis P, Koukos G, *et al.* HDL biogenesis, remodeling, and catabolism. *Handb Exp Pharmacol*, 2015, **224**(1): 53–111
- [16] Zannis V I, Chroni A, Krieger M. Role of apoA- I, ABCA1, LCAT, and SR-BI in the biogenesis of HDL. *J Mol Med (Berl)*, 2006, **84**(4): 276–294
- [17] Chroni A, Liu T, Fitzgerald M L, *et al.* Cross-linking and lipid efflux properties of apoA- I mutants suggest direct association between apoA- I helices and ABCA1. *Biochemistry*, 2004, **43**(7): 2126–2139
- [18] Fitzgerald M L, Morris A L, Rhee J S, *et al.* Naturally occurring mutations in the largest extracellular loops of ABCA1 can disrupt its direct interaction with apolipoprotein A- I. *J Biol Chem*, 2002, **277**(36): 33178–33187
- [19] Daniil G, Phedonos A A, Holleboom A G, *et al.* Characterization of antioxidant/anti-inflammatory properties and apoA- I -containing subpopulations of HDL from family subjects with monogenic low HDL disorders. *Clin Chim Acta*, 2011, **412**(13–14): 1213–1220
- [20] Fotakis P, Kateifides A K, Gkolfinopoulou C, *et al.* Role of the hydrophobic and charged residues in the 218-226 region of apoA-I in the biogenesis of HDL. *J Lipid Res*, 2013, **54**(12): 3281–3292
- [21] Frikke-Schmidt R, Nordestgaard B G, Jensen G B, *et al.* Genetic variation in ABCA1 predicts ischemic heart disease in the general population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, **28**(1): 180–186
- [22] Brunham L R, Kang M H, Van Karnebeek C, *et al.* Clinical, biochemical, and molecular characterization of novel mutations in ABCA1 in families with tangier disease. *JIMD Rep*, 2015, **18**(1): 51–62
- [23] Negi S I, Brautbar A, Virani S S, *et al.* A novel mutation in the ABCA1 gene causing an atypical phenotype of Tangier disease. *J Clin Lipidol*, 2013, **7**(1): 82–87
- [24] Brunham L R, Kruit J K, Iqbal J, *et al.* Intestinal ABCA1 directly contributes to HDL biogenesis *in vivo*. *J Clin Invest*, 2006, **116**(4): 1052–1062
- [25] Timmins J M, Lee J Y, Boudyguina E, *et al.* Targeted inactivation of hepatic Abca1 causes profound hypoalphalipoproteinemia and kidney hypercatabolism of apoA- I. *J Clin Invest*, 2005, **115**(5): 1333–1342
- [26] Althaf M M, Almana H, Abdelfadiel A, *et al.* Familial lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency; a differential of proteinuria. *J Nephropathol*, 2015, **4**(1): 25–28
- [27] Kimak E, Bylina J, Solski J, *et al.* Association between lipids, lipoproteins composition of HDL particles and triglyceride-rich lipoproteins, and LCAT and CETP activity in post-renal transplant patients. *Cell Biochem Biophys*, 2013, **67**(2): 695–702
- [28] Jones M K, Catta A, Li L, *et al.* Dynamics of activation of lecithin: cholesterol acyltransferase by apolipoprotein A- I. *Biochemistry*, 2009, **48**(47): 11196–11210
- [29] Althaf M M, Almana H, Abdelfadiel A, *et al.* Familial lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency; a differential of proteinuria. *J Nephropathol*, 2015, **4**(1): 25–28
- [30] Asztalos B F, Schaefer E J, Horvath K V, *et al.* Role of LCAT in HDL remodeling: investigation of LCAT deficiency states. *J Lipid Res*, 2007, **48**(3): 592–599
- [31] Calabresi L, Favari E, Moleri E, *et al.* Functional LCAT is not required for macrophage cholesterol efflux to human serum. *Atherosclerosis*, 2009, **204**(1): 141–146
- [32] Undurti A, Huang Y, Lupica J A, *et al.* Modification of high density lipoprotein by myeloperoxidase generates a pro-inflammatory particle. *J Biol Chem*, 2009, **284**(45): 30825–30835
- [33] Fotakis P, Tiniakou I, Kateifides A K, *et al.* Significance of the hydrophobic residues 225-230 of apoA-I for the biogenesis of HDL. *J Lipid Res*, 2013, **54**(12): 3293–3302
- [34] Pisciotto L, Miccoli R, Cantafora A, *et al.* Recurrent mutations of the apolipoprotein A- I gene in three kindreds with severe HDL deficiency. *Atherosclerosis*, 2003, **167**(2): 335–345
- [35] Mcmanus D C, Scott B R, Franklin V, *et al.* Proteolytic degradation and impaired secretion of an apolipoprotein A- I mutant associated with dominantly inherited hypoalphalipoproteinemia. *J Biol Chem*, 2001, **276**(24): 21292–21302
- [36] Koukos G, Chroni A, Duka A, *et al.* LCAT can rescue the abnormal phenotype produced by the natural ApoA- I mutations (Leu141Arg)_{RES} and (Leu159Arg)_{FIN}. *Biochemistry*, 2007, **46**(37): 10713–10721
- [37] Haase C L, Frikke-Schmidt R, Nordestgaard B G, *et al.* Mutation in APOA1 predicts increased risk of ischaemic heart disease and total mortality without low HDL cholesterol levels. *J Intern Med*, 2011, **270**(2): 136–146
- [38] Roosbeek S, Vanloo B, Duverger N, *et al.* Three arginine residues in apolipoprotein A- I are critical for activation of lecithin: cholesterol acyltransferase. *J Lipid Res*, 2001, **42**(1): 31–40
- [39] Kateifides A K, Gorshkova I N, Duka A, *et al.* Alteration of negatively charged residues in the 89 to 99 domain of apoA- I affects lipid homeostasis and maturation of HDL. *J Lipid Res*, 2011, **52**(7): 1363–1372
- [40] Gorshkova I N, Atkinson D. Enhanced binding of apolipoprotein A- I variants associated with hypertriglyceridemia to triglyceride-rich particles. *Biochemistry*, 2011, **50**(12): 2040–2047

Research Advances on Roles of apoA- I in Biogenesis of High Density Lipoproteins*

MO Zhong-Cheng¹⁾, OU Han-Xiao¹⁾, YI Guang-Hui^{2)**}

¹⁾ Department of Histology and Embryology, University of South China, Hengyang 421001, China;

²⁾ Institute of Cardiovascular Disease, Key Laboratory for Atherosclerosis of Hunan Province, University of South China, Hengyang 421001, China)

Abstract The biogenesis of high density lipoproteins (HDL) is a complex process and involves several membrane proteins and plasma proteins. apoA- I is the major structural and functional protein in HDL. apoA- I can activate lecithin/cholesterol acyltransferase (LCAT) and poor-lipid apoA- I is the important receptor for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)-mediated efflux of cholesterol in macrophages. So, apoA- I plays an important role in the metabolism of HDL and cholesterol and endows HDL with multiple anti-atherogenic activities. This review focuses on the roles of apoA- I in biogenesis of HDL, in order to provide the new thought for revealing mechanisms of HDL metabolism.

Key words apoA- I , high density lipoproteins, cholesterol efflux, gene mutations

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0109

* This work was supported by grants from The National Natural Sciences Foundation of China (81100211, 81270360), Scientific Research Foundation for Doctor in University of South China (2012XQD27) , the Construct Program of The Key Discipline in Hunan Province (Basic Medicine Sciences in University of South China, Xiangjiaofa [2011]76) and the Construct Program of Innovation Team in University of South China.

**Corresponding author.

Tel: 86-734-8281586, E-mail: ghyi6108@163.com

Received: May 22, 2015 Accepted: July 20, 2015