

ABCA1 的胞内运输及功能研究新进展*

唐艳艳¹⁾ 陈五军^{1, 2)} 路倩¹⁾ 唐朝克^{1)**}

¹⁾ 南华大学心血管疾病研究所, 动脉硬化化学湖南省重点实验室, 生命科学研究中心, 衡阳 421001;

²⁾ 南华大学药物药理研究所, 衡阳 421001)

摘要 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1(ABCA1)具有介导细胞内脂质流出, 维持细胞脂质稳态的功能。新生的 ABCA1 必须经过胞内运输和各种化学修饰等过程, 最终成为具有功能的成熟转运体, 才能行使其转运脂质的功能, 因此, ABCA1 在胞内的运输过程和正确质膜定位对其介导胆固醇流出的功能至关重要。目前 ABCA1 相关研究主要集中于脂质转运方面, 并提出各种胆固醇流出机制的模型, 如通道转运模型、蘑菇状突起模型和胞吞-胞吐转运模型等。最近研究显示, ABCA1 还具有调节质膜脂筏结构、参与免疫和炎症调节等新功能。本文主要针对 ABCA1 的胞内运输过程以及各种功能做一综述, 以期对动脉粥样硬化相关疾病提供新的治疗靶点和途径。

关键词 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1(ABCA1), 胞内运输, 胆固醇流出, 免疫, 炎症

学科分类号 R363

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00419

三磷酸腺苷结合盒转运体 A1(ABCA1)作为介导细胞胆固醇流出的关键转运体, 对防止动脉粥样硬化形成具有重要意义^[1]。研究发现, 在细胞内生成的 ABCA1, 必须从胞内运输到质膜, 才能行使其转运脂质的功能, 影响 ABCA1 胞内运输过程及质膜定位, 可导致 ABCA1 介导细胞胆固醇流出的功能发生障碍^[2-3], 因此, ABCA1 的正确运输和定位与其脂质转运的功能密切相关。

ABCA1 的主要功能是介导细胞磷脂和胆固醇流出, 结合至细胞表面贫脂或无脂的载脂蛋白 A- I (apolipoprotein A- I, apoA- I), 形成 HDL, 进而启动胆固醇逆向转运(reverse cholesterol transport, RCT)^[4]。ABCA1 介导脂质转运形成 HDL 的具体机制主要存在三种模型: 通道转运模型、蘑菇状突起模型和胞吞-胞吐转运模型, 各种模型在不同情况下发挥作用。最近研究发现, ABCA1 还具有一些新功能, 如调节质膜脂筏结构、参与免疫调节、介导抗炎等。本文主要针对 ABCA1 运输与功能的新进展做一综述, 以推动 ABCA1 的功能及机制研究, 为防治动脉粥样硬化提供理论依据。

1 ABCA1 胞内运输

1.1 运输方式

ABCA1 细胞内运输的主要方式是囊泡运输, 根据被膜成分的差异, 囊泡可分为以下三种类型, 网格蛋白被膜囊泡、COP I 被膜囊泡(coat protein I, COP I)和 COP II 被膜囊泡(coat protein II, COP II)^[5]。网格蛋白被膜囊泡表面包裹着一层聚合的网格蛋白, 主要参与胞吞转运以及高尔基体后的运输^[6]。COP II 被膜囊泡由 Sec23/Sec24 等多亚基构成, 主要负责 ABCA1 从内质网到高尔基体的运输, 同时可能将一些内质网自身蛋白运至高尔基体^[7-8]。COP I 被膜囊泡在 ABCA1 运输过程中起辅助作用, 主要将内质网自身蛋白从高尔基体运回内质网, 包括高尔基体各区域间的蛋白质运输, 例如从反面的网络结构(trans Golgi network, TGN)运向高

* 国家自然科学基金资助项目(81170278, 81070220)。

** 通讯联系人。

Tel: 0734-8281853, E-mail: tchaoke@yahoo.com.cn

收稿日期: 2012-08-21, 接受日期: 2012-11-21

尔基体顺面的网络结构(*cis* Golgi network, CGN)^[9-10]. 上述三类被膜囊泡作为 ABCA1 的主要转运工具, 贯穿于 ABCA1 整个运输过程.

1.2 运输过程及质膜定位

ABCA1 基因完成复制与转录后进入细胞质, 在核糖体中进行 ABCA1 蛋白合成, 新合成的 ABCA1 跨过内质网膜, 进入内质网腔, 从而启动 ABCA1 从内质网到质膜的运输过程, 整个运输主要包括三个环节: 内质网修饰、高尔基体加工以及质膜定位^[5]. 首先, 新生的 ABCA1 在氨基端 60 个氨基酸组成的信号序列指导下, ABCA1 的核苷酸结合区域(ECD)指向内质网管腔, 正确定位于内质网膜之后, 在 ABCA1 的 ECD 天冬酰胺残基上发生糖基化修饰, 并且在 ECD 半胱氨酸之间二硫键指导下, ABCA1 进行正确折叠和二聚体化^[5]. 丝氨酸棕榈酰转移酶 1(*serine palmitoyltransferase enzyme*, SPTLC1)的抑制作用解除之后, ABCA1 才能离开内质网. 随后, COP II 被膜囊泡将 ABCA1 运输至高尔基体, 而 COP I 被膜囊泡将一些内质网自身蛋白从高尔基体运回内质网^[10]. 在高尔基体膜, ABCA1 氨基端经过寡聚糖到复合聚糖的糖基化修饰. 位于高尔基体膜的棕榈酰转移酶 8 (DHHC8), 对 ABCA1 进行棕榈酰化修饰, 使

ABCA1 蛋白的疏水性增加, 促进 ABCA1 向质膜转运. 研究发现, ABCA1 的棕榈酰化发生于 4 个不同位点的半胱氨酸残基, 即 ABCA1 的第 3、23、1110 和 1111 位半胱氨酸残基^[9](图 1). ABCA1 棕榈酰化具有亚细胞靶点锚定作用, 对其正确定位于质膜具有重要作用, 但具体的调节机制尚不明确. 将半胱氨酸突变后, ABCA1 的棕榈酰化修饰缺陷, 将导致质膜上 ABCA1 的数量减少, 其介导的胆固醇流出显著降低, 提示棕榈酰化修饰对 ABCA1 的正常分布及功能具有重要影响^[9]. ABCA1 经过高尔基体的进一步加工修饰之后, 在 LLLWKN 信号序列指导下离开高尔基体^[11], 可以通过 TGN 分泌的囊泡直接到达细胞表面, 或者通过将 ABCA1 从高尔基体运输到早期内体, 进而转运到循环内体, 并接近细胞表面与质膜融合, 最后 ABCA1 定位于质膜表面, 那么 ABCA1 具体定位在质膜哪个区域呢? 研究显示, 质膜可分为脂筏区和非脂筏区, 脂筏是富含固醇和鞘脂类的动态微区结构, 而非脂筏区所含磷脂和胆固醇较少^[12-13]. Iatan 等^[14]采用蔗糖平衡密度的方法, 将质膜从低至高细分为 10 个区段, 脂筏区为 1~5 区段, 非脂筏区为 6~10 区段, 进而发现 ABCA1 分布于 7~10 区段, 提示 ABCA1 定位于质膜非脂筏区(图 1).

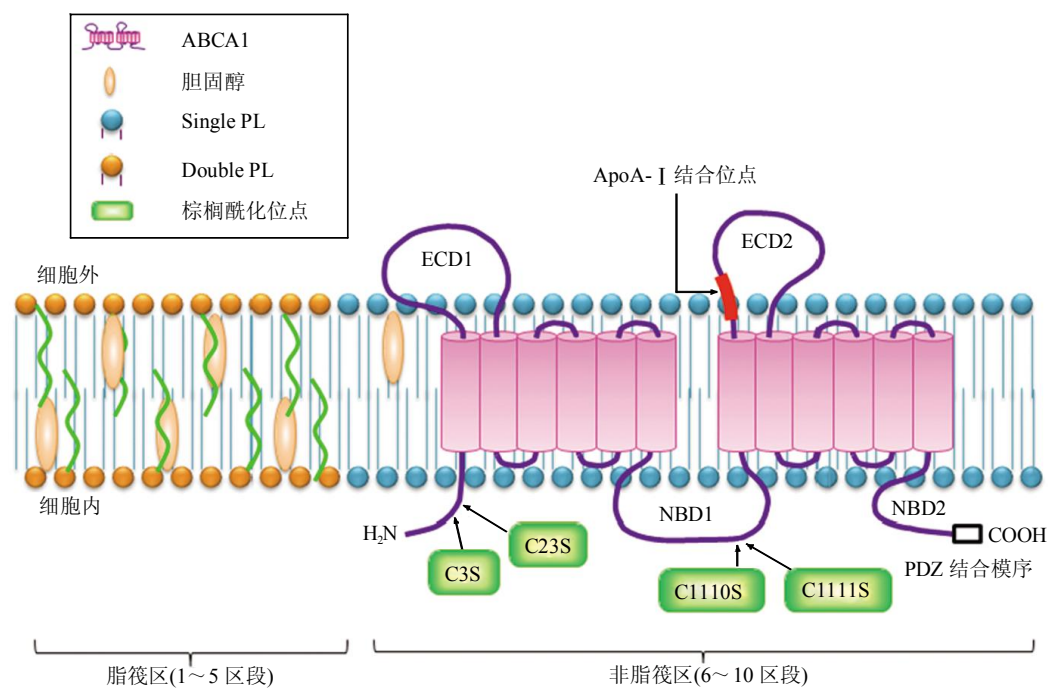


Fig. 1 Plasma membrane location of ABCA1

图 1 ABCA1 的质膜定位示意图

ABCA1: 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1; H₂N: ABCA1 氨基端; COOH: ABCA1 羧基端; ECD: 核苷酸结合区域; NBD: ATP 结合区; C3/23S: 第 3/23 位半胱氨酸; C1110S/C1111S: 第 1110/1111 位半胱氨酸; ApoA-I: 载脂蛋白 A-I; Single PL: 单个磷脂分子; Double PL: 两个磷脂分子.

简言之,新生的 ABCA1 在内质网进行修饰后,经 COP II 被膜囊泡运输至高尔基体进一步加工,然后通过 TGN 分泌的囊泡将 ABCA1 直

接运输到质膜表面,或者将 ABCA1 运输到早期内体,进而转运到循环内体,最终 ABCA1 定位于质膜非脂筏区(图 2).

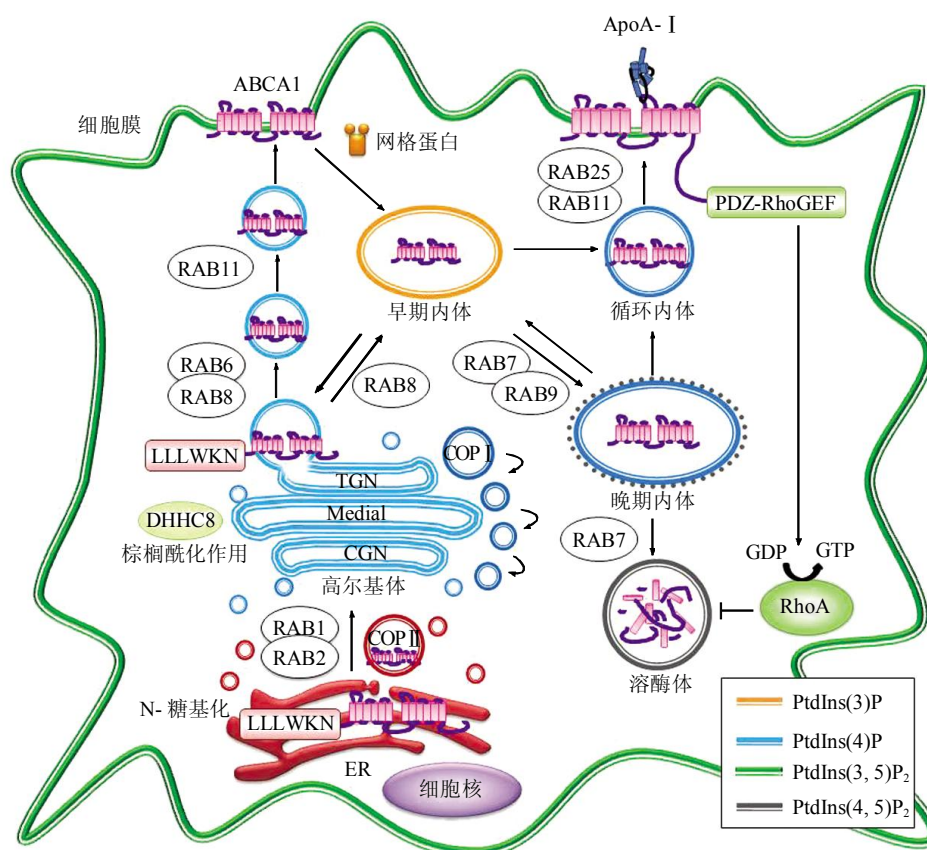


Fig. 2 Trafficking and regulation of ABCA1

图 2 ABCA1 的运输和调节

新生的 ABCA1 在氨基端 60 个氨基酸组成的信号序列指导下,正确定位于内质网膜,在内质网经过糖基化修饰、折叠和二聚体化等加工之后,ABCA1 克服 SPTLC1 的抑制作用离开内质网。随后, COP II 被膜囊泡将 ABCA1 运输至高尔基体,在高尔基体膜, ABCA1 经过寡聚糖到复合聚糖的糖基化修饰以及棕榈酰化修饰之后,可促进 ABCA1 向质膜转运。ABCA1 在 LLLWKN 信号序列指导下离开高尔基体,网格蛋白被膜囊泡将 ABCA1 运输到早期内体,进而转运到循环内体,最后 RAB8 等参与将其运输到质膜表面。→: 运输方向; —|: 抑制作用; ABCA1: 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1; ApoA-I: 载脂蛋白 A-I; RAB: GTP 酶; COP I: 被膜囊泡 I; COP II: 被膜囊泡 II; LLLWKN/ xLxxKN: ABCA1 氨基端信号序列; PDZ-Rho GEF: 鸟苷酸交换因子; Rho A: 小分子 G 蛋白; TGN: 反面高尔基体网络结构; CGN: 顺面高尔基体网络结构; ER: 内质网; PtdIns: 磷脂酰肌醇。

1.3 运输过程的调节

将 ABCA1 运输到质膜的过程受到精密调控。研究显示,由于靶细胞器膜上的受体能够识别运输囊泡表面的标志蛋白,使得各类被膜囊泡准确运输到靶细胞器并与之融合^[5]。涉及识别过程的受体包括 SNAREs(soluble NSF attachment protein receptor)

和 RABs(targeting GTPase)两类蛋白,其中 SNARE 的作用是保证识别的特异性, RAB 的主要作用为调节囊泡运输^[16-17]。研究表明, RAB 和磷酸肌醇具有协同作用,磷酸肌醇主要作为信号分子和囊泡支架。从酵母到人类, RAB 和磷酸肌醇均具有高度保守性,有“质膜密码”之称^[18]。不同类型 RAB

和磷酸肌醇定位于不同细胞器膜。其中, RAB 属于小 GTP 酶家族, 已知 30 余种, 各自的定位与功能有所差异^[19-20], 例如 RAB4、5 定位于早期内体, 介导囊泡到早期内体的运输, RAB8 定位于 TGN, 参与 ABCA1 从高尔基体到内体以及从内体到质膜的运输, RAB11、25 介导内体到质膜的运输等^[18, 21]。除此之外, ABCA1 运输还受到特异性信号序列的调控, 内质网新生的 ABCA1 氨基端包含 LLLWKN 模序, 即特异性的氨基端信号锚定序列, 可指导 ABCA1 正确定位于内质网膜上, 并在 LLLWKN 模序指导下从 CGN 运输至 TGN, 提示 LLLWKN 模序可作为 ABCA1 离开高尔基体的信号^[11, 22]。随后, 在其他信号指导下 ABCA1 运输到最终目的地——质膜表面(图 2)。

质膜表面 ABCA1 的半衰期和稳定性同样受到精细的分子调控。研究发现, 在 HEK293 细胞, ABCA1 更新周转的速率较快, 其半衰期约为 4~5 h。apoA-I 与 ABCA1 结合后能增强 ABCA1 的稳定性, 延缓其降解, 其机制主要是 Rho A 信号通路激活^[23]。研究显示, ABCA1 羧基端的 4 个氨基酸残基形成 PDZ 蛋白结合模序, 该模序与鸟苷酸交换因子(Rho guanine nucleotide exchange factors, PDZ-Rho GEF)结合, 激活 Rho A 信号通路, 从而抑制 ABCA1 的降解^[24]。其中, Rho GEF 是 G 蛋白调节蛋白, Rho A 蛋白属于小分子 G 蛋白, GEF 可以促进无活性的 Rho A 释放 GDP, 与 GTP 结合, 转化为活化状态, 起到分子开关的作用。活化的 Rho A 以 GTP 结合形式触发下游信号通路, 从而抑制 ABCA1 降解^[23, 25]。研究显示, 外源性增加 Rho GEF 的表达, 可激活 Rho A, 从而增加 ABCA1 的蛋白质水平, 促进胆固醇流出^[23]。因此, Rho A 信号通路对 ABCA1 蛋白半衰期和稳定性起调控作用(图 2)。

2 ABCA1 功能与调节机制

2.1 ABCA1 介导质膜重塑

研究发现, apoA-I 与 ABCA1 结合不仅导致 ABCA1 的构象发生变化, 而且以 ATP 为能量, 影响质膜外侧磷脂和胆固醇的分布, 进而改变脂质微环境, 使质膜发生重塑, 有助于 apoA-I 荷脂^[26]。细胞质中存在一些膜曲率感受器(membrane curvature sensors), 如 BAR 结构和 ALPS 模序, BAR 为卷曲螺旋二聚体形成的弓形结构, 长度约 20 nm。ALPS 模序由 20~40 个氨基酸组成, 容易

发生弯曲。两者都能够感受膜的形态以及弯曲的程度, 并且参与膜脂质转移^[27]。apoA-I 与 ABCA1 结合后, 激活膜曲率感受器, 并在 ABCA1 的介导下重塑(reorganization)质膜。ABCA1 介导质膜微区重塑包括纵向和横向两种方式, 纵向重塑为 ABCA1 介导磷脂和胆固醇从质膜内小叶流出至外小叶, 增加质膜外小叶磷脂和胆固醇的含量, 调节质膜的脂质密度。横向重塑为 ABCA1 通过水解 ATP 转化为 ADP, 使质膜磷脂和胆固醇分子横向移位, 导致脂质从非脂筏到脂筏重新分配, 改变整个质膜的脂质分布^[28]。ABCA1 介导的重塑可引起质膜脂质双分子层发生弯曲, 在磷脂酰丝氨酸作用下膜曲率(membrane curvature)增加, 形成高曲率位点, 即蘑菇状突起(mushroom-like protrusions), 增强质膜与 apoA-I 的结合, 又称之为 apoA-I 结合的高容量结合位点(HCBS), 因此 ABCA1 介导的质膜重塑是蘑菇状突起形成的基础^[14, 26]。

2.2 ABCA1 介导 apo A-I 荷脂及其机制

ABCA1 以 ATP 为能源, 促进细胞内游离胆固醇和磷脂流出, 结合至细胞表面的 apoA-I, 形成新生 HDL, 进而启动胆固醇逆向转运的过程。我们的结果显示, 很多因素可以调节 ABCA1 的表达, 进而影响胆固醇流出, 例如 PAPP-A 通过 IGF-I 信号通路抑制 LXR α , 下调 ABCA1 的表达^[29], IL-18、IL-12 通过 IL-18R/NF- κ B 信号通路, 降低 THP-1 细胞上 ABCA1 的表达和胆固醇流出等^[30]。目前认为 ABCA1 介导胆固醇流出机制主要有三种模型, 即通道转运、蘑菇状突起和胞吞-胞吐转运模型。第一种通道转运模型, 即 ABCA1 直接介导胆固醇和磷脂的翻转作用, 使之从膜内翻到膜外, 然后与 apoA-I 结合形成 HDL。第二种是蘑菇状突起模型, 即 ABCA1 的翻转作用可形成蘑菇状突起, 能够结合 apoA-I 分子, 形成 HDL(图 3)。第三种为胞吞-胞吐转运模型, 即少数情况下 apoA-I 通过胞吞作用进入细胞内荷脂, 形成 HDL 后, 再经胞吐转运将 HDL 释放到细胞外(图 4)。

第一种通道转运模型即经典模型, 该模型认为, ABCA1 二聚体之间的结构通过构象变化形成脂质转运通道, ATP 调控其开放或关闭, 整个转运过程是一种消耗 ATP 的主动转运^[31-32], 主要包括三个步骤: 第一步, ABCA1 内侧通道开放, 摄取脂质。当大量胆固醇和磷脂蓄积于细胞脂质双分子层的内小叶时, ABCA1 内侧通道处于开放状态, 摄取胆固醇和磷脂, 使其进入 ABCA1 内侧开放的

通道内(图 3a). 第二步, 通道关闭与翻转脂质. ATP 结合到 ABCA1 的 2 个 ATP 结合区域——NBD1

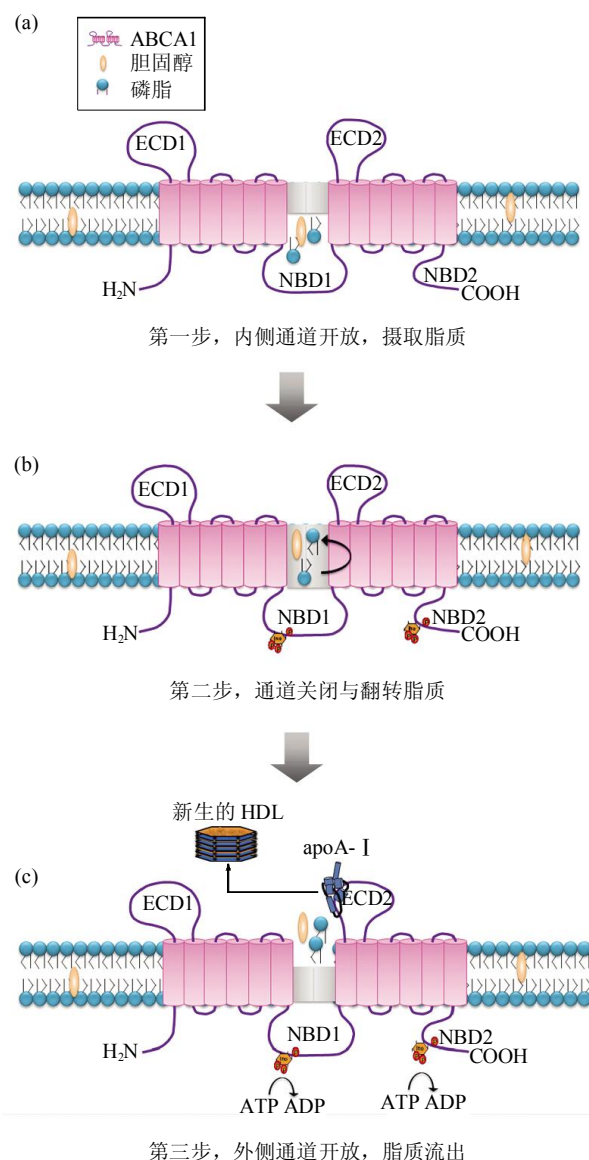


Fig. 3 Model of channel transport

图 3 通道转运模型示意图

通道转运模型主要包括三个步骤: 第一步, ABCA1 内侧通道开放, 摄取脂质(图 3a). 第二步, 通道关闭与翻转脂质. ABCA1 的 NBD1 和 NBD2 与 ATP 结合, ATP 酶在 2 个 NBD 中交替激活, 使通道关闭形成一个封闭的小室, 其内的胆固醇和磷脂翻转至双分子层的外小叶. 第三步, ABCA1 外侧通道开放, 脂质流出. ATP 水解成 ADP, 使 ABCA1 跨膜区构象改变, ABCA1 外侧通道开放, 胆固醇和磷脂从通道释放至细胞表面并结合到 apoA-I, 形成新生的 HDL. ABCA1: 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1; ApoA-I: 载脂蛋白 A-I; H₂N: ABCA1 氨基端; COOH: ABCA1 羧基端; ECD: 核苷酸结合区域; NBD: ATP 结合区; ATP: 三磷酸腺苷; ADP: 二磷酸腺苷.

和 NBD2, ATP 酶在 2 个 NBD 中交替激活, 使通道关闭形成一个封闭的小室, 其内的胆固醇和磷脂翻转至双分子层的外小叶(图 3b). 第三步, 外侧通道开放, 脂质流出. ATP 水解成 ADP, 使 ABCA1 跨膜区构象改变, ABCA1 外侧通道开放, 胆固醇和磷脂从通道释放至细胞表面并结合到 apoA-I, 形成新生的 HDL, 最后 ADP 从 ABCA1 的 NBD 解离, 使 ABCA1 通道构象恢复到摄取脂质时的开放状态^[33-35]. (图 3c)

第二种蘑菇状突起模型, 该模型认为, apoA-I 激活 ABCA1, 导致质膜微环境发生改变, 形成蘑菇状突起, apoA-I 与蘑菇状突起上高容量结合位点(HCBS)结合并荷脂, 形成新生的 HDL^[14]. 其主要过程分为三个步骤: 第一步, apoA-I 与 ABCA1 结合, 使质膜发生纵向和横向重塑. apoA-I 的两亲性 α 螺旋能特异性识别 ABCA1 的核苷酸结合区域(ECD)疏水区的 apoA-I 结合位点, 并与之结合^[36]. apoA-I 与 ABCA1 结合后可激活 ABCA1 转位酶活性, 使质膜发生纵向重塑, 即介导磷脂酰胆碱和胆固醇通过 ABCA1 二聚体之间的通道, 从脂质双分子层的内小叶翻转至外小叶. 此翻转作用导致磷脂酰胆碱和胆固醇分子侧向压缩于双分子层的外小叶, 使双分子层外侧密度增加^[28, 36]. 由于脂质双分子层具有流动性, ABCA1 可以在纵向重塑的基础上介导质膜发生横向重塑, 即 ABCA1 通过耗能介导外小叶的磷脂酰胆碱和胆固醇横向移位到脂筏区, 使脂筏区的脂质含量进一步增加^[37]. 研究显示, apoA-I 与 ABCA1 结合的解离常数(K_d)约为 10^{-7} mol/L, 但此结合容易达到饱和, 使得 apoA-I 与 ABCA1 结合的容量有限, 进而引起 apoA-I 与蘑菇状突起上的脂质直接结合^[36]. 第二步, 蘑菇状突起形成. 由于第一步使质膜双分子层外小叶磷脂酰胆碱和胆固醇的密度增加, 质膜发生纵向和横向重塑, 增加脂筏区脂质含量, 使其容易发生弯曲, 加之 ABCA1 介导纵向重塑的方向指向外小叶, 两者共同作用导致 ABCA1 附近脂筏区的质膜双分子层向细胞外侧突出, 形成蘑菇状突起即 apoA-I 的高容量结合位点(HCBS)^[33, 35-36]. Phillips 等研究发现, 蘑菇状突起 HCBS 的主要成分是磷脂酰胆碱和胆固醇, 脂质含量相对丰富, 容易发生弯曲, 有利于 apoA-I 荷脂^[14]. 第三步, apoA-I 与蘑菇状突起结

合, 形成新生 HDL. apoA- I 分子通过 α 螺旋羧基端的疏水作用插入蘑菇状突起的磷脂双分子层, 使 apoA- I 与蘑菇状突起 HCBS 的脂质结合^[33, 36]. apoA- I 与蘑菇状突起结合可激活 ABCA1, 使其介导磷脂酰丝氨酸发生纵向和横向移位, 将磷脂酰丝氨酸转运到蘑菇状突起外小叶, 进一步增强蘑菇状突起曲率, 促进 apoA- I 荷脂^[14, 36]. apoA- I 结合蘑菇状突起外小叶的脂质后, 形成新生盘形的 HDL^[14]. 综上, apoA- I 与 ABCA1 结合, 使质膜双分子层外侧密度增加, 进而形成蘑菇状突起, 当 apoA- I 与蘑菇状突起的 HCBS 结合后, 蘑菇状突起的脂质结合到 apoA- I, 形成新生 HDL, 最后 HDL 与质膜解离(图 4).

第三种胞吞-胞吐转运模型, 在少数情况下, apoA- I 与 ABCA1 通过胞吞作用进入细胞, 并且在细胞内荷脂, 形成盘状 HDL, 之后通过胞吐作用将 HDL 释放到细胞外, 这种将胞吞作用与胞吐作用串联起来的转运过程称为胞吞-胞吐转运^[26, 32](图 5). 首先, apoA- I 与质膜上的 ABCA1 结合, 形成 apoA- I-ABCA1 复合物, 并且在网格蛋白介导下内化, 并将 apoA- I-ABCA1 复合物运输到早期内体^[34, 38]. 同时, 定位于内体囊泡膜上的 ABCA1 将细胞质中的脂质转运到早期内体囊泡腔内, 进而与 apoA- I 结合, 随后早期内体逐渐形成体积较大的晚期内体, apoA- I 在晚期内体中进一步荷脂, 形成新生的 HDL 颗粒, 转运到循环内体并向细胞表面运输, 到达细胞表面, 循环内体与质膜发生融合, 最后 ABCA1 回到细胞膜, 而 HDL 颗粒通过胞吐作用释放到细胞外^[34, 39]. 在胞吞-胞吐转运中, 各种类型的 RAB GTP 酶参与转运过程的各个阶段, 例如 RAB4、5 介导囊泡到早期内体的运输, RAB7、9 介导早期内体到晚期内体的运输, RAB11、25 参与内体到质膜的运输等^[17, 40]. 研究发现, ABCA1 的 ATP 结合区 NBD1 含有 PEST 序列, 富含脯氨酸、谷氨酸、丝氨酸、苏氨酸, 不仅是卡配因降解途径的信号序列, 而且与 ABCA1 内化, 运输到晚期内体密切相关^[26]. 综上所述, ABCA1 能够在质膜、早期内体、晚期内体和循环内体之间动态循环, 介导 apoA- I 的胞内荷脂过程.

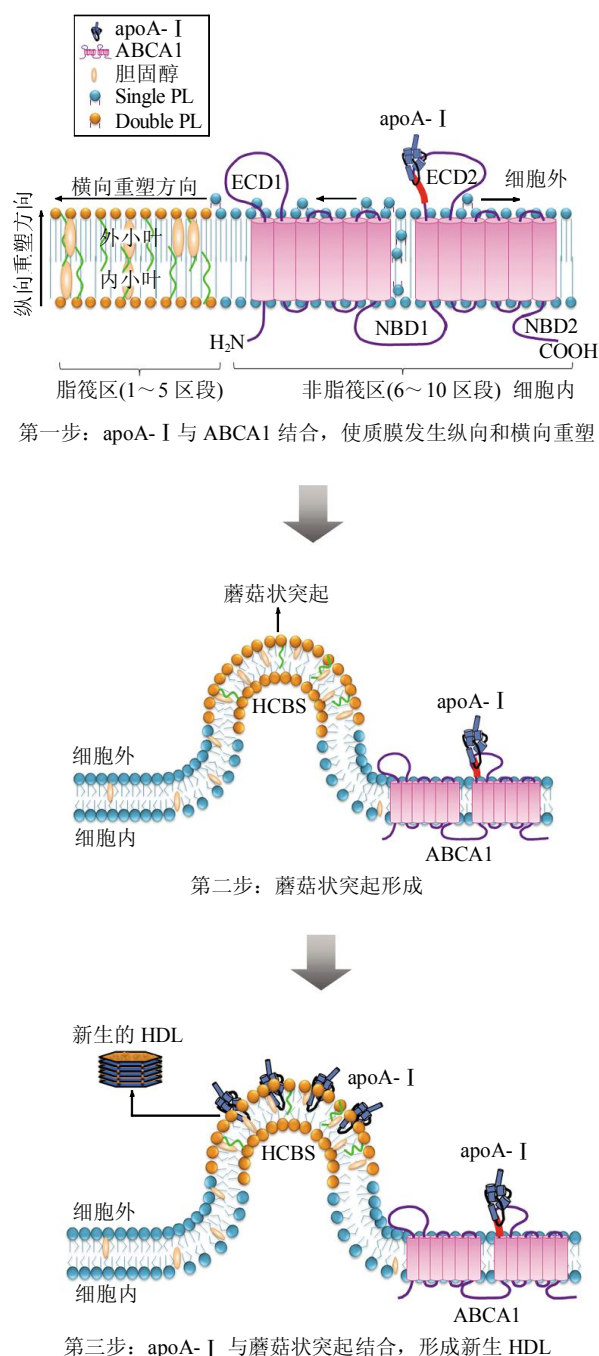


Fig. 4 Model of mushroom-like protrusions

图 4 蘑菇状突起模型示意图

蘑菇状突起模型主要包括三个步骤. 第一步, apoA- I 与 ABCA1 结合, 激活 ABCA1 的转位酶活性, 使磷脂酰胆碱和胆固醇从脂质双分子层的小小叶翻转至外小叶, 随后横向移位到脂筏区, 使质膜发生纵向和横向重塑. 第二步, 蘑菇状突起形成, ABCA1 介导的质膜重塑, 引起 ABCA1 附近的脂质含量丰富的质膜弯曲, 形成蘑菇状突起 HCBS. 第三步, apoA- I 与蘑菇状突起结合, 使 apoA- I 荷脂, 形成新生的 HDL, 最后 HDL 与质膜解离. ABCA1: 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1; ApoA- I: 载脂蛋白 A- I; HCBS: (apoA- I) 高亲和力和结合位点; H₂N: ABCA1 氨基端; COOH: ABCA1 羧基端; ECD: 核苷酸结合区域; NBD: ATP 结合区; Single PL: 单个磷脂分子; Double PL: 两个磷脂分子.

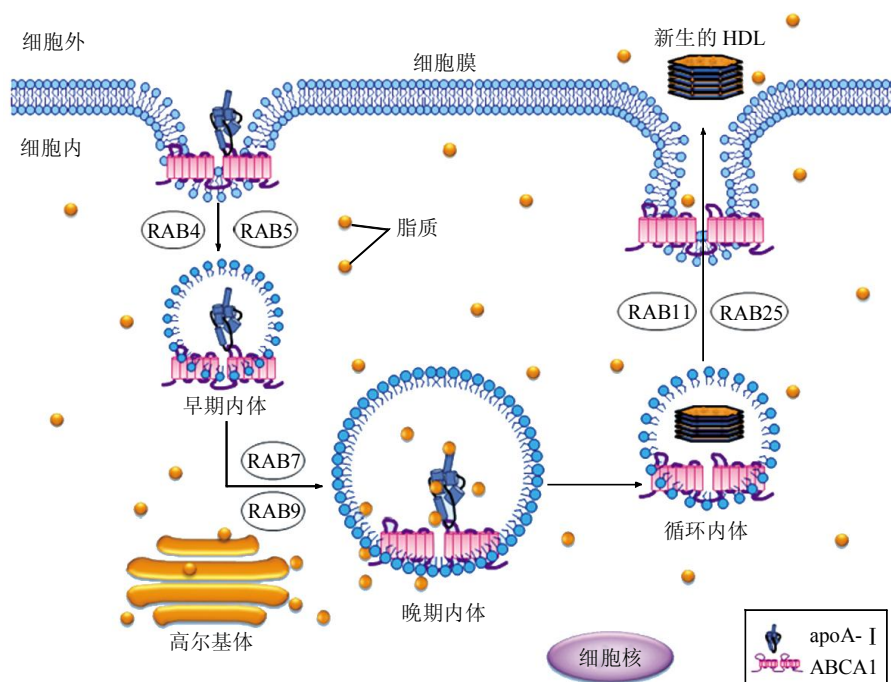


Fig. 5 Working model of retroendocytosis

图5 胞吞-胞吐作用模型示意图

2.3 ABCA1 的免疫调节功能

在动脉粥样硬化的早期阶段,就有免疫细胞渗入到动脉内膜,外源性或组织源性促炎信号激活免疫系统可加速心血管疾病的进展,这一过程涉及多种病理生理机制,主要包括 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)激活固有免疫系统^[41-42]. 研究显示,固有免疫系统通过种子序列编码的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)来防御致病原的入侵,TLRs 就是该受体的家族成员之一,相当于固有免疫系统的中心传感器^[43-44]. 细菌脂多糖可激活质膜上的 TLRs,使其与相应配体结合,并且与质膜和脂筏中的鞘脂、胆固醇一起形成信号平台,通过骨髓源初次应答蛋白(myeloid differentiation primary-response protein 88, MyD88)依赖途径激活固有免疫系统^[45-46]. 研究证实,ABCA1 介导胆固醇流出,同时减少质膜游离胆固醇以及脂筏中的脂质含量,抑制 MyD88 依赖性 TLRs 信号途径,削弱巨噬细胞趋化功能,进而延缓动脉粥样硬化疾病的进展^[46].

此外,人免疫缺陷病毒(HIV)相关蛋白与 ABCA1 之间的相互作用,提示 ABCA1 参与免疫

调节. 负调控因子(negative factor, Nef)是 HIV 的辅助蛋白,其介导 HIV 感染宿主细胞,损害 ABCA1 功能,加速动脉粥样硬化的发生发展^[47]. Nef 损害 ABCA1 功能主要是通过降低细胞表面 ABCA1 活性,进而诱导 ABCA1 通过溶酶体途径降解. 研究发现, Nef 还能与 ABCA1 竞争性介导胆固醇转运,将胆固醇和磷脂转运至质膜脂筏区,增加脂筏区的胆固醇含量,有利于 HIV 复制,最终促进动脉粥样硬化的发生发展^[48]. 因此, Nef 主要促进脂筏形成,用于病毒复制所需,不参与胆固醇逆向转运,而 ABCA1 能够介导脂筏区的胆固醇外流,不利于 HIV 复制. 此外, ABCA1 水平与 HIV-1 感染率呈负相关,提示 ABCA1 通过与 Nef 竞争胆固醇流出以及潜在的抗 HIV 作用,延缓动脉粥样硬化进展^[49].

2.4 ABCA1 参与炎症调节

慢性炎症与动脉粥样硬化的发生发展密切相关,我们的研究显示,炎症影响 ABCA1 的表达和功能,降低胆固醇逆向转运的效率^[30, 50]. 反之, ABCA1 通过介导胆固醇流出和抑制炎症,能够起到心血管保护作用^[51]. 我们发现,没食子酸儿茶素

通过 Nrf2/Keap1 途径上调 ABCA1 表达, 提示没食子酸儿茶素的抗炎作用与 ABCA1 功能有关. ABCA1 通过转运胆固醇改变细胞膜脂质微环境, 并且激活抗炎信号通路, 发挥其抗炎作用^[52]. 研究发现, 将小鼠 ABCA1 敲除, 导致其巨噬细胞膜上脂筏的胆固醇含量增加, 通过 Toll 样受体 4 (TLR4), 激活炎症信号通路, 导致炎症因子增加^[53], 提示 ABCA1 功能失调, 引起慢性炎症. 我们进一步研究证实, ABCA1 调节巨噬细胞质膜的脂筏含量, 抑制 CD40 促炎信号^[54]. 此外, ABCA1 能够通过其他信号通路调节细胞内抗炎物质的生成, 进而抑制炎症. 生物信息学结果显示, ABCA1 的胞内环存在两个 STAT3 活化位点, 活化的 STAT3 在巨噬细胞内具有显著的抗炎效应. 研究发现, apoA-I 与 ABCA1 相互作用可激活转录因子 STAT3, 显著抑制炎症因子的表达. 我们的实验结果支持上述观点, apoA-I 通过上调 TTP, 能够抑制炎症反应, 验证了 ABCA1/JAK2/STAT3/TTP 途径在介导抗炎过程中起关键作用^[55]. 因此, ABCA1 既可以通过调节细胞质膜脂筏含量影响炎症信号通路, 也可直接激活抗炎信号通路发挥其炎症调节功能, ABCA1 的这种介导抗炎的功能可能成为 As 防治的新靶点.

3 问题与展望

新生 ABCA1 从内质网运输到质膜, 这一过程受到精密的调控以及化学修饰, 最终成为具有功能的整合膜蛋白, ABCA1 的各种功能对动脉粥样硬化防治都具有重要意义, 而 ABCA1 正确的胞内运输和调节对维持其正常生理功能至关重要. 目前研究主要集中于 ABCA1 的脂质转运功能, 由于研究方法和深度不同, ABCA1 介导脂质转运的各种模型与机制并存. 近年研究显示, ABCA1 不仅是脂质转运体, 还可作为信号通路的效应蛋白, 通过改变质膜脂筏含量, 参与免疫和炎症调节, 共同起到心血管保护作用. 本文所述内容及相关模型尚不能完整描绘出 ABCA1 功能的分子微环境, 加之其作用机制错综复杂, 仍有大量 ABCA1 的功能尚未阐明. 因此, 目前还有很多问题亟待解决, 例如新生的 ABCA1 离开高尔基体后运输到质膜的机制是什么? ABCA1 运输过程中, RAB 和磷酸肌醇如何定位以及精确地调控, 与细胞系统怎样进行衔接? 如何提高 ABCA1 在质膜上的稳定性及其介导脂质转运的效率? 是否可以用于治疗动脉粥样硬化相关疾

病? ABCA1 在哪些情况下内化进入细胞? ABCA1 的免疫调节功能如何应用于疾病的防治? 怎样增强 ABCA1 的抗炎效应? 调节 ABCA1 功能的因素有多少? 哪些起关键作用? 进一步解决这些问题, 将为我们全面了解 ABCA1 功能和防治动脉粥样硬化疾病提供线索.

ABCA1 功能研究将为临床疾病治疗提供新视角, 特别是其调节免疫及介导抗炎等新功能, 将为动脉粥样硬化疾病的治疗带来很多启示. 目前, ABCA1 仍有很多未知功能有待进一步研究和探讨, 多种调节机制相互交叉的现象, 也使今后的研究面临更大的挑战. 随着对 ABCA1 功能的认识加深以及胆固醇逆向转运研究的进展, 最终将为动脉粥样硬化性疾病提供新的防治靶点.

参 考 文 献

- [1] 路倩, 陈五军, 尹凯, 等. 动脉粥样硬化中胆固醇外流的研究进展. 生物化学与生物物理进展, 2011, **39**(4): 319-326
Lu Q, Chen W J, Yin K, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2011, **39**(4): 319-326
- [2] Singaraja R R, Visscher H, James E R, *et al.* Specific mutations in ABCA1 have discrete effects on ABCA1 function and lipid phenotypes both *in vivo* and *in vitro*. Circul Res, 2006, **99**(4): 389-397
- [3] Singaraja R R, Kang M H, Vaid K, *et al.* Palmitoylation of ATP-binding cassette transporter A1 is essential for its trafficking and function. Circul Res, 2009, **105**(2): 138-147
- [4] Chang Y C, Lee T S, Chiang A N. Quercetin enhances ABCA1 expression and cholesterol efflux through a p38-dependent pathway in macrophages. J Lip Res, 2012, **53**(9): 1840-1850
- [5] Kang M H, Singaraja R, Hayden M R. Adenosine-triphosphate-binding cassette transporter-1 trafficking and function. Trend Cardiovas Med, 2010, **20**(2): 41-49
- [6] Chen C L, Hou W H, Liu I H, *et al.* Inhibitors of clathrin-dependent endocytosis enhance TGFbeta signaling and responses. J Cell Sci, 2009, **122**(Pt 11): 1863-1871
- [7] Garcia I A, Martinez H E, Alvarez C. Rab1b regulates COPI and COPII dynamics in mammalian cells. Cellular Logistics, 2011, **1**(4): 159-163
- [8] Bacia K, Futai E, Prinz S, *et al.* Multibudded tubules formed by COP II on artificial liposomes. Scient Rep, 2011, **1**: 17
- [9] Yang J S, Valente C, Polishchuk R S, *et al.* COP I acts in both vesicular and tubular transport. Nat Cell Biol, 2011, **13**(8): 996-1003
- [10] Szul T, Sztul E. COP II and COP I traffic at the ER-Golgi interface. Physiology(Bethesda), 2011, **26**(5): 348-364
- [11] Beers M F, Hawkins A, Shuman H, *et al.* A novel conserved targeting motif found in ABCA transporters mediates trafficking to early post-Golgi compartments. J Lip Res, 2011, **52**(8): 1471-1482
- [12] Kusumi A, Fujiwara T K, Morone N, *et al.* Membrane mechanisms

- for signal transduction: the coupling of the meso-scale raft domains to membrane-skeleton-induced compartments and dynamic protein complexes. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2012, **23**(2): 126–144
- [13] Laude A J, Prior I A. Plasma membrane microdomains: organization, function and trafficking. *Mol Memb Biol*, 2004, **21**(3): 193–205
- [14] Iatan I, Bailey D, Ruel I, *et al.* Membrane microdomains modulate oligomeric ABCA1 function: impact on apoA1-mediated lipid removal and phosphatidylcholine biosynthesis. *J Lip Res*, 2011, **52**(11): 2043–2055
- [15] Jung J J, Inamdar S M, Tiwari A, *et al.* Regulation of intracellular membrane trafficking and cell dynamics by syntaxin-6. *Biosci Rep*, 2012, **32**(4): 383–391
- [16] Lord C, Bhandari D, Menon S, *et al.* Sequential interactions with Sec23 control the direction of vesicle traffic. *Nature*, 2011, **473**(7346): 181–186
- [17] Baschieri F, Farhan H. Crosstalk of small GTPases at the Golgi apparatus. *Small GTPases*, 2012, **3**(2): 80–90
- [18] Jean S, Kiger A A. Coordination between RAB GTPase and phosphoinositide regulation and functions. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, **13**(7): 463–470
- [19] Wurtzel J G, Kumar P, Goldfinger L E. Palmitoylation regulates vesicular trafficking of R-Ras to membrane ruffles and effects on ruffling and cell spreading. *Small GTPases*, 2012, **3**(3): 139–153
- [20] Hutagalung A H, Novick P J. Role of Rab GTPases in membrane traffic and cell physiology. *Physiol Rev*, 2011, **91**(1): 119–149
- [21] Linder M D, Uronen R L, Holtta-Vuori M, *et al.* Rab8-dependent recycling promotes endosomal cholesterol removal in normal and sphingolipidosis cells. *Mol Biol Cell*, 2007, **18**(1): 47–56
- [22] Tamehiro N, Zhou S, Okuhira K, *et al.* SPTLC1 binds ABCA1 to negatively regulate trafficking and cholesterol efflux activity of the transporter. *Biochemistry*, 2008, **47**(23): 6138–6147
- [23] Okuhira K, Fitzgerald M L, Tamehiro N, *et al.* Binding of PDZ-RhoGEF to ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) induces cholesterol efflux through RhoA activation and prevention of transporter degradation. *J Biol Chem*, 2010, **285**(21): 16369–16377
- [24] Okuhira K, Fitzgerald M L, Sarracino D A, *et al.* Purification of ATP-binding cassette transporter A1 and associated binding proteins reveals the importance of beta1-syntrophin in cholesterol efflux. *J Biol Chem*, 2005, **280**(47): 39653–39664
- [25] Barr F, Lambright D G. Rab GEFs and GAPs. *Curr Opin Cell Biol*, 2010, **22**(4): 461–470
- [26] Nagao K, Tomioka M, Ueda K. Function and regulation of ABCA1—membrane meso-domain organization and reorganization. *FEBS J*, 2011, **278**(18): 3190–3203
- [27] Antonny B. Mechanisms of membrane curvature sensing. *Annu Rev of Biochem*, 2011, **80**: 101–123.
- [28] Landry Y D, Denis M, Nandi S, *et al.* ATP-binding cassette transporter A1 expression disrupts raft membrane microdomains through its ATPase-related functions. *J Biol Chem*, 2006, **281**(47): 36091–36101
- [29] Tang S L, Chen W J, Yin K, *et al.* PAPP-A negatively regulates ABCA1, ABCG1 and SR-B1 expression by inhibiting LXRalpha through the IGF-I-mediated signaling pathway. *Atherosclerosis*, 2012, **222**(2): 344–354
- [30] Yu X H, Jiang H L, Chen W J, *et al.* Interleukin-18 and interleukin-12 together downregulate ATP-binding cassette transporter A1 expression through the interleukin-18R/nuclear factor-kappaB signaling pathway in THP-1 macrophage-derived foam cells. *Circulation J: Official J Japanese Circulation Society*, 2012, **76**(7): 1780–1791
- [31] Quazi F, Molday R S. Lipid transport by mammalian ABC proteins. *Essays in Biochem*, 2011, **50**(1): 265–290
- [32] Zhao G J, Yin K, Fu Y C, *et al.* The interaction of ApoA-I and ABCA1 triggers signal transduction pathways to mediate efflux of cellular lipids. *Mol Med*, 2012, **18**(1): 149–158
- [33] Tang C, Oram J F. The cell cholesterol exporter ABCA1 as a protector from cardiovascular disease and diabetes. *Biochim Biophys Acta*, 2009, **1791**(7): 563–572
- [34] Oram J F, Heinecke J W. ATP-binding cassette transporter A1: a cell cholesterol exporter that protects against cardiovascular disease. *Physiol Rev*, 2005, **85**(4): 1343–1372
- [35] Wang N, Tall A R. Regulation and mechanisms of ATP-binding cassette transporter A1-mediated cellular cholesterol efflux. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2003, **23**(7): 1178–1184
- [36] Vedhachalam C, Duong P T, Nickel M, *et al.* Mechanism of ATP-binding cassette transporter A1-mediated cellular lipid efflux to apolipoprotein A-I and formation of high density lipoprotein particles. *J Biol Chem*, 2007, **282**(34): 25123–25130
- [37] Vedhachalam C, Ghering A B, Davidson W S, *et al.* ABCA1-induced cell surface binding sites for ApoA-I. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2007, **27**(7): 1603–1609
- [38] Hassan H H, Bailey D, Lee D Y, *et al.* Quantitative analysis of ABCA1-dependent compartmentalization and trafficking of apolipoprotein A-I: implications for determining cellular kinetics of nascent high density lipoprotein biogenesis. *J Biol Chem*, 2008, **283**(17): 11164–11175
- [39] Faulkner L E, Panagiotopoulos S E, Johnson J D, *et al.* An analysis of the role of a retroendocytosis pathway in ABCA1-mediated cholesterol efflux from macrophages. *J Lip Res*, 2008, **49**(6): 1322–1332
- [40] Linder M D, Mayranpaa M I, Peranen J, *et al.* Rab8 regulates ABCA1 cell surface expression and facilitates cholesterol efflux in primary human macrophages. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2009, **29**(6): 883–888
- [41] Grundtman C, Wick G. The autoimmune concept of atherosclerosis. *Curr Opin Lipido*, 2011, **22**(5): 327–334
- [42] Keaney J F Jr. Immune modulation of atherosclerosis. *Circulation*, 2011, **124**(22): e559–560
- [43] Grundtman C, Kreutmayer S B, Almanzar G, *et al.* Heat shock protein 60 and immune inflammatory responses in atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2011, **31**(5): 1000–1008

- 960–968
- [44] Spirig R, Tsui J, Shaw S. The emerging role of TLR and innate immunity in cardiovascular disease. *Cardio Res Pract*, 2012, **2012**: 181394
- [45] Cole J E, Navin T J, Cross A J, *et al.* Unexpected protective role for Toll-like receptor 3 in the arterial wall. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(6): 2372–2377
- [46] Zhu X, Westcott M M, Bi X, *et al.* Myeloid cell specific ABCA1 deletion protects mice from bacterial infection. *Circul Res*, 2012, **111**(11): 1398–1409
- [47] Garg H, Joshi A. SNAREs in HIV-1 assembly. *Commun Integ Biol*, 2012, **5**(2): 172–174
- [48] Kremmentsov D N, Rassam P, Margeat E, *et al.* HIV-1 assembly differentially alters dynamics and partitioning of tetraspanins and raft components. *Traffic*, 2010, **11**(11): 1401–1414
- [49] Cui H L, Grant A, Mukhamedova N, *et al.* HIV-1 Nef mobilizes lipid rafts in macrophages through a pathway that competes with ABCA1-dependent cholesterol efflux. *J Lip Res*, 2012, **53**(4): 696–708
- [50] de la Llera Moya M, McGillicuddy FC, Hinkle CC, *et al.* Inflammation modulates human HDL composition and function *in vivo*. *Atherosclerosis*, 2012, **222**(2): 390–394
- [51] Liu Y, Tang C. Regulation of ABCA1 functions by signaling pathways. *Biochim Biophys Acta*, 2012, **1821**(3): 522–529
- [52] Murphy A J, Woollard K J, Suhartoyo A, *et al.* Neutrophil activation is attenuated by high-density lipoprotein and apolipoprotein A-I in *in vitro* and *in vivo* models of inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2011, **31**(6): 1333–1341
- [53] Zhu X, Owen J S, Wilson M D, *et al.* Macrophage ABCA1 reduces MyD88-dependent Toll-like receptor trafficking to lipid rafts by reduction of lipid raft cholesterol. *J Lip Res*, 2010, **51**(11): 3196–3206
- [54] Yin K, Chen W J, Zhou Z G, *et al.* Apolipoprotein A-I inhibits CD40 proinflammatory signaling *via* ATP-binding cassette transporter A1-mediated modulation of lipid raft in macrophages. *J Atherosclerosis and Thrombosis*, 2012, **19**(9): 823–836
- [55] Yin K, Deng X, Mo Z C, *et al.* Tristetraprolin-dependent post-transcriptional regulation of inflammatory cytokine mRNA expression by apolipoprotein A-I: role of ATP-binding membrane cassette transporter A1 and signal transducer and activator of transcription 3. *J Biol Chem*, 2011, **286**(16): 13834–13845

Research Advances of Intracellular Transport and Function of ABCA1*

TANG Yan-Yan¹⁾, CHEN Wu-Jun^{1,2)}, LU Qian¹⁾, TANG Chao-Ke^{1)**}

⁽¹⁾ Institute of Cardiovascular Disease, Key Laboratory for Atherosclerosis of Hunan Province, Life Science Research Center University of South China, Hengyang 421001, China;

⁽²⁾ Institute of Pharmacy and Pharmacology, University of South China, Hengyang 421001, China)

Abstract ATP-binding cassette transporter 1 (ABCA1) mediated lipid efflux and evolved to maintain cholesterol homeostasis. Newborn ABCA1 should through intracellular transport and chemical modification, ultimately being a mature functional transporter with its function of lipid transport. The intracellular transport and correct localization of ABCA1 plays an important role in its function. ABCA1 researches focused on the lipid transport, and proposed the model of the various cholesterol efflux mechanisms, such as channel transport model, mushroom-like protuberances model and retroendocytosis model. Recent studies have shown, ABCA1 can regulate the plasma membrane lipid rafts, and involve in immune and inflammatory regulation. This review focuses on the current views on intracellular transport and various functions of ABCA1, in order to provide the new therapeutic targets for atherosclerosis-related diseases.

Key words ATP-binding cassette transporters A1 (ABCA1), intracellular transport, cholesterol efflux, immune, inflammatory

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00419

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (81170278, 81070220).

**Corresponding author.

Tel: 86-734-8281853, E-mail: tchaoke@yahoo.com.cn

Received: August 21, 2012 Accepted: November 21, 2012