

apoA- I 的 α 螺旋在胆固醇流出中的作用 *

高嘉慧¹⁾ 莫中成^{2)**} 唐朝克^{1)**}

¹⁾ 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, 医学研究实验中心, 衡阳 421001;

²⁾ 南华大学医学院应用解剖与生殖医学研究所, 组织学与胚胎学教研室, 衡阳 421001)

摘要 血浆载脂蛋白 A- I (apoA- I) 的水平与动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)性心血管疾病的风险呈负相关. ApoA- I 经载脂形成高密度脂蛋白(HDL), HDL 通过促进胆固醇逆向转运(RCT), 使细胞内的多余胆固醇流出. α 螺旋是 apoA- I 载脂的主要结构, 在 apoA- I 参与的胆固醇流出中具有重要作用. 模拟 α 螺旋建立的 apoA- I 模拟肽能通过不同方式发挥抗 AS 的作用. 本文就 α 螺旋在胆固醇流出中的作用作一综述, 以便进一步探索 apoA- I 的结构对胆固醇流出的影响, 为以 apoA- I 为靶点防治 AS 提供理论基础.

关键词 载脂蛋白 A- I, 高密度脂蛋白, 胆固醇的逆向转运, 动脉粥样硬化

学科分类号 R363

DOI: 10.16476/j.pibb.2018.0008

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)的发生是多种因素共同作用的结果, 脂质代谢紊乱是 AS 的重要危险因子, 研究表明, 脂质的蓄积贯穿 AS 发生及发展的全过程. 高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)通过促进胆固醇逆向转运(reverse cholesterol transport, RCT)将胆固醇运送到肝脏, 以胆汁酸或合成类固醇激素代谢, 减少胆固醇的蓄积, 发挥抗 AS 的作用^[1].

载脂蛋白 A- I (ApoA- I) 是 HDL 内的主要结构蛋白^[2], 也是 ABCA1 介导胆固醇流出的接受体, 参与卵磷脂胆固醇脂酰基转移酶(lecithin cholesterol acyltransferase, LCAT)对游离胆固醇的酯化, 并协助 SR-BI(scavenger receptor type B class I, SR-BI)介导的肝脏对胆固醇酯的摄取. 此外, apoA- I 能通过其他方式抑制 AS 发生发展, 例如发挥抗炎及抗氧化作用、增加胰岛素的敏感性以及脂肪动员等. 南华大学唐朝克课题组的研究发现, apoA- I 能通过促进炎症因子的 mRNA 降解发挥抗炎功能^[3], 产生抗 AS 的作用. α 螺旋是 apoA- I 参与胆固醇流出的主要功能性结构, 在脂代谢过程中具有重要意义. 一方面参与 HDL 的形成, 另一方面在游离胆固醇的酯化和肝脏对胆固醇酯摄取的过程中发挥重要作用. 一系列以 α 螺旋为结构基础而设

计的 apoA- I 模拟肽能通过不同方式发挥抗 AS 的作用, 例如参与促胆固醇的流出、抗炎和抗氧化作用以及抑制 AS 斑块的形成等. 本文就 α 螺旋在胆固醇流出中的作用作一综述, 以便进一步探索 apoA- I 的结构对胆固醇流出的影响, 为以 apoA- I 为靶点防治 AS 提供理论基础.

1 ApoA- I 的结构

ApoA- I 是不含二硫键且缺失异亮氨酸和半胱氨酸的单一多肽, 在人体内以成熟形式、前肽形式或前肽原形式存在. 人类成熟形式的 apoA- I 分子质量约 28 ku, 其氨基酸残基由 11 号染色体上的第 3、4 个外显子所编码. N 端包含第 1~179 位氨基酸残基, C 端包含第 180~243 位氨基酸残基. 第 3 个外显子编码第 1~43 位氨基酸残基, 第 4 个外显子编码第 44~243 位氨基酸残基. Tall 等^[4]研究 apoA- I 的二级结构, 他们提出 apoA- I 的二级结构主要由 α 螺旋构成, 包含少量的 β 折叠以及无

* 国家自然科学基金资助项目(81770461).

** 通讯联系人.

莫中成. Tel: 0734-8281853, E-mail: zhchmo@163.com

唐朝克. Tel: 0734-8281853, E-mail: tangchaoke@qq.com

收稿日期: 2018-01-06, 接受日期: 2018-04-08

规则卷曲(图 1). N 端的 α 螺旋参与维持 apoA- I 结构的稳定性, C 端的 α 螺旋与 apoA- I 的载脂功能密切相关^[5-6]. β 折叠由第 214~220 位氨基酸残基形成, 无规则卷曲分布于第 170~182 位、第 189~199 位、第 206~212 位以及第 221~238 位氨基酸残基. Phillips 等^[7]最早提出 apoA- I 的三级结构, 他们认为 apoA- I 的三级结构包括两种结构域, 一种是由第 1~189 位氨基酸残基形成的反向平行螺旋束, 位于 N 端, 另外一种是由第 190~243 位氨基酸残基构成的 α 螺旋所形成的无序结构域, 位于 C 端.

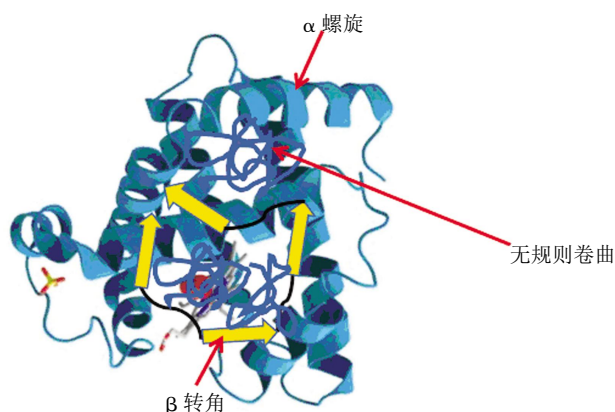


Fig. 1 Secondary structure of apoA- I

图 1 ApoA- I 的二级结构示意图

1.1 ApoA- I 的 α 螺旋结构分类

Segrest 等^[8]将 α 螺旋分为 8 类, 即 A、H、L、G、K、C、M 和 Y. ApoA- I 以 A 类螺旋为主, 包含少量 G 类螺旋. 第 4 个外显子编码的 A 类螺旋共 6 个, 位于第 44~164 位氨基酸残基间, 分别是 H1(第 44~65 位)、H2(第 66~87 位)、H3(第 88~98 位)、H4(第 99~120 位)、H5(第 121~142 位)、H6(第 143~164 位). 第 4 个外显子编码的 Y 类螺旋共 4 个, 分布于第 165~243 位氨基酸残基间, 分别是 H7(第 165~187 位)、H8(第 188~208 位)、H9(第 209~219 位)、H10(第 220~243 位). 其中, H10 对脂质具有高亲和性. G 类螺旋仅一个, 由第 3 个外显子编码的第 1~43 位氨基酸残基形成.

1.2 ApoA- I 的 α 螺旋结构的功能

α 螺旋可与脂质结合, 能在水溶液中发生化学反应^[9], A 类 α 螺旋是 apoA- I 接受游离胆固醇的结构基础. 研究显示, apoA- I 上的 H5 连同 H6 形

成一种类似铰链的区域, 帮助 apoA- I 载脂, 并调控 apoA- I 在 HDL 上的大小和分布, 促进 HDL 的形成以及成熟^[9]. 同时, apoA- I 的 H4 和 H6 进行分子内配对, 连同 H5 形成口袋状的结构, N 端螺旋束与 C 端弧形螺旋分开, 暴露出 C 端弧形螺旋的疏水面, 使胆固醇储存在口袋状结构内, 促进圆盘状 HDL 形成^[10]. 点突变实验证实, H7 上第 165 位脯氨酸突变成精氨酸或第 173 位精氨酸突变成半胱氨酸时, 会导致 apoA- I N 端 α 螺旋间的相互交联消失, 抑制 apoA- I 与脂质结合. 这提示 H7 与 apoA- I 的载脂相关, N 端经第 165、173 位氨基酸残基连接的 α 螺旋形成交联能帮助 apoA- I 载脂.

研究发现载脂能使 α 螺旋的含量增加, 并加强 apoA- I 的抗炎作用. Townsend 等^[11]通过建立由 apoLP- III 及 apoA- I C 端构成的合成蛋白 CT-apoA- I, 证实 C 端的 α 螺旋能够结合脂多糖 (LPS), 中和其毒性, 减少细胞因子的表达, 抑制 AS 的发生. 此外, apoA- I 以淀粉原纤维的形式沉积于血管内壁, 会导致 AS 斑块形成, 促进 AS 进程^[12]. 目前已知关于 apoA- I 的淀粉样突变多发生在 N 端的 H1~H4 以及 H6~H7 螺旋上, 表明这些 α 螺旋的结构稳定性较差, 同时也证实 N 端 α 螺旋影响 apoA- I 结构的稳定性, 提示我们维持 α 螺旋结构的稳定对 AS 的防治更为重要.

Segrest 等^[8]发现 apoA- I H3 螺旋上的精氨酸具有抗氧化作用, H8 螺旋上的第 192 位酪氨酸是 AS 中特异性的氧化修饰位点. 推测可通过抑制患者第 192 位酪氨酸的氧化修饰或者在 H3 螺旋上加入精氨酸, 可对 AS 进行防治. 研究显示, H8~H10 上的氨基酸残基缺失可抑制 apoA- I 载脂, 但若同时发生第 55 位丝氨酸突变成脯氨酸却能够恢复 apoA- I 的载脂功能, 这表明第 55 位氨基酸残基可能通过降低结构的稳定性或者促进 α 螺旋的形成, 弥补因氨基酸残基缺失造成 apoA- I 的载脂功能障碍. 因此, 提示我们通过对 AS 患者 apoA- I 上的某些特异位点进行点突变, 在将来可能成为一种治疗 AS 的手段.

2 ApoA- I 的 α 螺旋结构在胆固醇流出中的作用

ApoA- I 在胆固醇的代谢中扮演着重要的角色, 它能够通过两种方式帮助胆固醇向细胞外流出. 第一种是 α 螺旋通过被动转运的形式, 直接促进胆固醇流出; 第二种称为胆固醇流出依赖的结合 -

转移途径, 通过转运体将胆固醇先转运到细胞膜, 然后 apoA- I 与细胞膜结合, 接受胞内的游离胆固醇并使其外流. ApoA- I 促胆固醇流出以第二种方式为主(图 2). RCT 是人体内排出多余胆固醇的主要途径, 是指细胞内的多余胆固醇流到细胞外, 经过 HDL 介导运送到肝脏, 在肝细胞中合成类固醇激素或者以胆汁酸的形式排泄^[13]. ApoA- I 通过三条途径参与 RCT, 第一个途径, apoA- I 在细胞膜

表面接受 ABCA1 所转运的胆固醇形成新生的圆盘状 HDL 启动 RCT^[14]. 第二个途径, 圆盘状 HDL 上的 apoA- I 能刺激 LCAT 活化, 活化的 LCAT 将 HDL 上的游离胆固醇转化成胆固醇酯, 促进球状 HDL 形成. 第三个途径, SR-BI 通过结合球状 HDL 上 apoA- I 的 α 螺旋, 帮助肝细胞选择性地摄取球状 HDL 内的胆固醇酯.

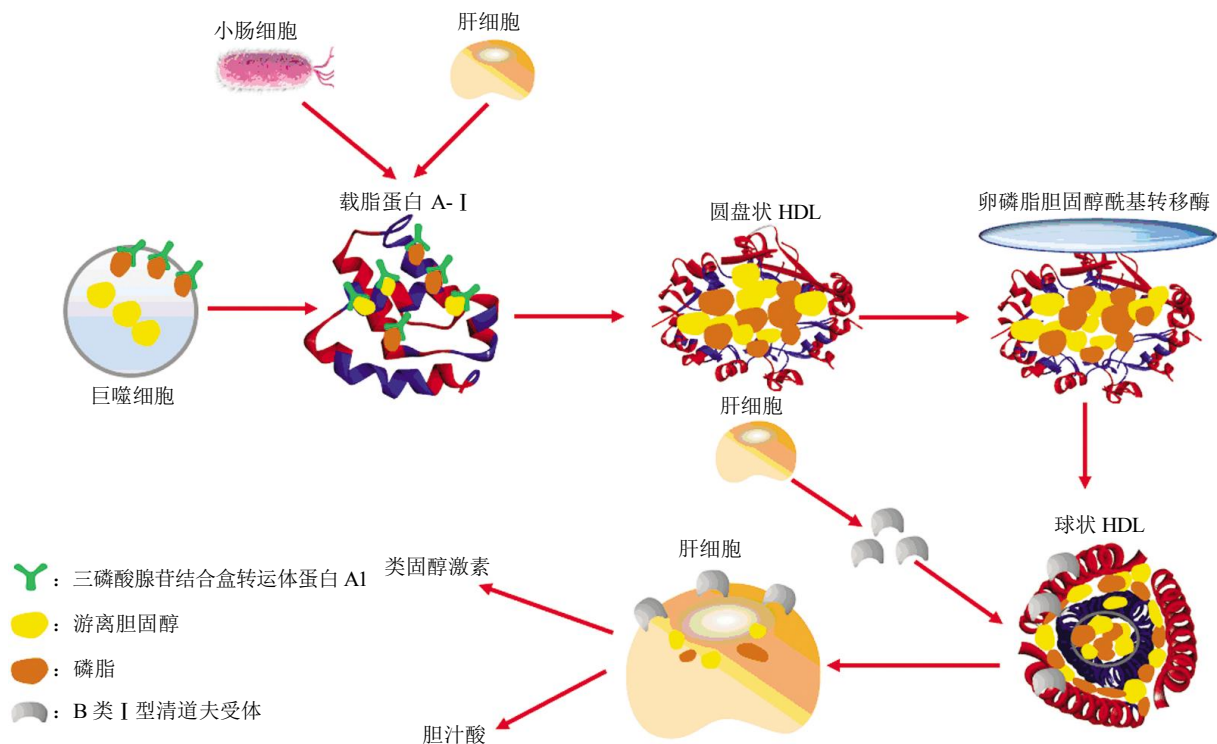


Fig. 2 The role of α -helix in cholesterol efflux

图 2 α 螺旋在胆固醇流出中的作用

三磷酸腺苷结合盒转运体蛋白 A1 介导游离的胆固醇和磷脂向载脂蛋白 A- I 的 α 螺旋, 脂质促进载脂蛋白 A- I 形成圆盘状的高密度脂蛋白, 卵磷脂胆固醇酰基转移酶通过其盖状结构与 α 螺旋结合, 促进球状高密度脂蛋白的形成. 最后球状高密度脂蛋白上的 α 螺旋通过结合 B 类 I 型清道夫受体将游离胆固醇和磷脂运送到肝脏以胆汁酸或类固醇激素的形式代谢.

2.1 α 螺旋促进 apoA- I 的载脂

ApoA- I 的载脂是指 apoA- I 接受由膜上的 ABCA1 介导流出的游离胆固醇和磷脂^[14](图 2). 本小组的研究发现, 在此过程中 apoA- I 结合蛋白 (AIBP) 能促进 apoA- I 与 ABCA1 的结合, 并抑制 β 酪蛋白(CNS2)介导的 ABCA1 降解, 防治泡沫细胞的形成^[15]. 研究表明, 内质网的氧化应激反应能降低肝脏内的 ABCA1 水平, 王宇童等^[15]发现 apoA- I 过表达可抑制肝细胞内质网的氧化应激反应, 维持 ABCA1 的正常水平, 促进胆固醇的流

出. 但关于抑制内质网氧化应激反应的主要结构是否是 α 螺旋, 仍需要进一步的实验研究. Vedhachalam 等^[16]的研究发现, 胆固醇的流出率主要取决于 apoA- I 的 C 端 H10 螺旋, C 端的 H8~H10 螺旋上的任意氨基酸残基发生突变能抑制 apoA- I 的载脂. 然而, N 端的 H4~H6 螺旋上发生点突变却不影响 apoA- I 的载脂. 若 N 端和 C 端发生双重突变, apoA- I 的载脂将受到抑制^[17]. 以上的研究结果都表明, apoA- I 的 C 端与胆固醇流出的关系更为密切, C 端的突变可能影响 apoA- I

接受 ABCA1 介导流出的胆固醇和磷脂. 进一步的研究也支持 C 端对 apoA- I 功能发挥的重要性.

Dinnes 等^[18]发现, 人单核细胞源性巨噬细胞内存在组织蛋白酶 B, 使 apoA- I 的第 228 位丝氨酸残基处发生水解, 阻碍 apoA- I 接受由 ABCA1 转运的游离胆固醇和磷脂, 抑制胆固醇的流出, 增加 AS 的发生率.

2.2 α 螺旋对 HDL 的作用

ApoA- I 是 HDL 内的主要蛋白质成分, 经一系列复杂的过程参与 HDL 的形成. ABCA1 介导磷脂和游离的胆固醇流出到 apoA- I 形成圆盘状 HDL. 进而由 LCAT 将圆盘状 HDL 上的游离胆固醇酯化成胆固醇酯, 胆固醇酯和甘油三酯聚集形成疏水脂核, 并逐渐变大与 apoA- I 共同构成球状 HDL(图 2). α 螺旋是 apoA- I 的主要结构, 在 HDL 的形成中发挥重要作用, 且能影响 HDL 的水平及功能.

2.2.1 α 螺旋参与圆盘状 HDL 的形成

在 96Å 的分辨率下, 观察到水溶液中的圆盘状 HDL 由 2 分子 apoA- I 和 150~160 个磷脂分子组成, apoA- I 上的 α 螺旋环绕磷脂双分子层垂直于酰基链呈“带状模型”. 此外, 在 4Å 的分辨率下, 同样观察到 4 个 apoA- I 单体呈“环状”或“带状”晶体结构, 这种晶体结构也被称为 apoA- I 在圆盘状 HDL 上的“带状模型”. Silva 等^[19]在不同分辨率下, 观察到大小不同的两种圆盘状 HDL, 它们分别是 D79 和 D96. D79 主要由 2 个分子 apoA- I 组成, 2 个分子 apoA- I 在 D79 上反向平行形成“双带模型”, 而 D96 主要由 apoA- I 和磷脂构成, 并且 apoA- I 上的 α 螺旋间会形成 21 个盐键, 能够促使 apoA- I 在圆盘状 HDL 上形成“双带模型”^[20]. 也有研究者提出一种“栅栏模型”, 这种“栅栏模型”是由 2 个 apoA- I 分子以头-头相接的方式形成^[21]. 多数研究者都认同圆盘状 HDL 上的 apoA- I 多以“带状模型”存在, α 螺旋能帮助固定由 ABCA1 介导流出到 apoA- I 上的磷脂以及游离胆固醇, 促进圆盘状 HDL 形成(图 2). 那么呈带状分布的 apoA- I 如何维持圆盘状 HDL 结构的稳定性呢? Bibow 等^[22]的研究表明, 在形成圆盘状 HDL 的过程中, apoA- I 上的 H4 和 H6 螺旋间通过形成盐键以及拉链样的阳离子 π 键维持圆盘状 HDL 结构的稳定.

2.2.2 α 螺旋参与球状 HDL 的形成

部分研究者提出由于圆盘状 HDL 上的 apoA- I

呈“带状模型”, “带状模型”能够限制 apoA- I 的结构变化, 所以疏水脂核的形成不会影响 apoA- I 在球状 HDL 上的结构. Silva 等^[19]的研究观察到, 不同分辨率下存在大小不同的两种球状 HDL, 称为 S80 和 S93. S80 由游离的胆固醇、疏水脂核以及 apoA- I 和磷脂组成, 其上的 apoA- I 呈“双带模型”, S93 由疏水脂核和三分子 apoA- I 组成, 其上的 apoA- I 呈现与在 D96 上相似的“双带模型”. 进一步研究发现, apoA- I 在球状 HDL 上可能有 3 种结构模型. 第一种是“发夹结构”, 由 2 分子 apoA- I 环绕球状 HDL 周围形成“双带”; 第二种是“三带模型”, 由 3 个 apoA- I 分子相互反向平行环绕球状 HDL 形成; 第三种是“三叶草模型”, 也是被大多数研究者所认同的 apoA- I 在球状 HDL 上的结构模型, 此模型是在每个 apoA- I 的 H5 和 H10 螺旋上引入一个拐点, 接着分子都在此拐点处弯曲 60°环绕球状 HDL 构成^[21](图 2). 这种“三叶草模型”结构可能将胆固醇酯锁定于球状 HDL 中心, 有利于 RCT 过程的进行. 但关于 apoA- I 在球状 HDL 上的具体结构, 仍需要进一步进行实验验证.

2.2.3 α 螺旋维持 HDL 的水平及功能

Del Giudice 等^[23]的研究表明, apoA- I 上 H5 或 H9 螺旋的结构改变能够抑制 apoA- I 与 ABCA1 的相互作用, 影响圆盘状 HDL 和成熟的球状 HDL 产生. apoA- I_{mytilus} 由 H9 螺旋上第 216 位谷氨酸突变成形成, apoA- I_{paris} 由 H5 螺旋第 151 位精氨酸突变成半胱氨酸形成, 它们的 α 螺旋结构被破坏, 载脂能力受抑制, 无法形成 HDL, 导致血浆 HDL 水平降低.

韩迎春等^[24]的研究发现, 不同结构的 apoA- I 参与构成的重组 HDL 能通过不同的方式发挥抗 AS 功能. apoA- I_{Milano} 是由第 173 位的精氨酸突变成赖氨酸所形成的突变体, MDCO-216 是由 apoA- I_{Milano} 联合 POPC 构成的重组 HDL, 临床实验表明, MDCO-216 能够维持斑块的稳定以及促进斑块的消退. 这提示, 一些次级键的破坏, 可能增强 apoA- I 结构的稳定性, 提高 α 螺旋的载脂能力, 进而抑制 AS 发生发展. ETC-624 是具有较高 α 螺旋含量的 apoA- I 模拟肽, 动物实验发现, 由 ETC-624 参与形成的 HDL 能抑制 ICAM-1 及 VCAM-1 的表达, 抵抗早期 AS 的发生^[25]. 由此可见, α 螺旋含量的增加能通过上调 HDL 的抗炎功能发挥抗 AS 的作用.

2.3 α 螺旋参与 LCAT 的活化

LCAT 是一种可溶性酶, 主要由肝脏合成, 在血浆中发挥酯化作用. LCAT 的主要功能是将 HDL 上的游离胆固醇酯化成胆固醇酯. ApoA- I 是 LCAT 的活化因子, 促使 LCAT 发挥酯化作用. 研究 apoA- I 的结构对 C127 细胞内 LCAT 活化的影响, 发现第 148~186 位氨基酸残基的缺失, 导致 apoA- I 失去活化 LCAT 的能力. 第 113~124 位氨基酸残基的缺失, 对 LCAT 的活化仅产生部分抑制作用^[26]. 由于 apoA- I 的第 148~186 位氨基酸残基形成 H6 和 H7 螺旋, 第 113~124 位氨基酸残基形成 H4 和 H5 螺旋, 因此 LCAT 的活性受 H4~H7 螺旋的影响. 其中, H6 和 H7 螺旋对 LCAT 活化的影响更为重要. 进一步的研究发现, H6 螺旋上不同氨基酸残基发生点突变对 LCAT 的活性具有不同的影响, 其中第 143 位或第 165 位脯氨酸突变成精氨酸以及第 151 位精氨酸突变成半胱氨酸的突变体都能抑制 LCAT 的活性, 而第 156 位缬氨酸突变成谷氨酸或第 160 位精氨酸突变成亮氨酸的突变体会直接导致 LCAT 失活. 这表明, H6 螺旋对 LCAT 的活性具有多样性的影响, 进而影响 LCAT 对游离胆固醇的酯化作用.

LCAT 上的 α 螺旋能形成一个盖状结构与脂质结合, 游离胆固醇酯化也与 LCAT 上的 α 螺旋相关^[27]. ApoA- I 的二级结构主要也由 α 螺旋构成, 提示可能 apoA- I 与 LCAT 上的 α 螺旋间产生协同作用, 一方面促进 LCAT 活化, 另一方面使游离胆固醇发生酯化. Jones 等^[27]的研究发现, apoA- I H5 螺旋上的第 139 位氨基酸残基两侧分别连接 β 折叠, β 折叠以第 139 位氨基酸残基位上的 α 螺旋为核心形成一个圆环. 基于之前对 LCAT 结构的研究, 推测 apoA- I 上的这一圆环结构可能与 LCAT 上的盖状结构结合, 使 LCAT 活化并且发挥酯化作用. Sorci-Thomas 等^[28]发现, apoA- I 上 H5、H6 以及 H7 螺旋能通过静电作用刺激 LCAT 的活化, 或者通过分子间相互作用形成盐键刺激 LCAT 的活化. 综合以上的研究结果, apoA- I 上的 H2~H7 螺旋与 LCAT 的活化密切相关(图 2), 其中, H5 参与构成圆环结构, 通过与 H6 及 H7 螺旋产生静电作用或者形成次级键结合 LCAT 上的盖状结构, 使 LCAT 发挥酯化作用.

2.4 α 螺旋上的点突变抑制 SR-BI 介导的肝脏摄取胆固醇酯

SR-BI 是第一个被发现位于肝细胞膜表面的

HDL 高亲和受体, 在 RCT 中起关键作用, 能通过选择性摄取, 将胆固醇酯运送到肝脏进行代谢. SR-BI 具有马蹄状结构, 包括由 N 端以及 C 端构成的 2 个胞质域, 2 个跨膜结构域以及 1 个大的细胞外环和多个 N-连接的糖基化位点.

研究发现, SR-BI 上的 N-连接的糖基化位点通过结合球状 HDL 上 apoA- I 的 α 螺旋, 打开一个疏水的通道, 将胆固醇酯摄取到肝脏进行代谢(图 2). 进一步的研究显示, apoA- I 上的 H4 以及 H6 螺旋发生点突变, 不会影响 SR-BI 与 HDL 的结合, 但能抑制 SR-BI 摄取胆固醇酯, 使胆固醇酯无法流入肝脏. 由此推测 H4 以及 H6 螺旋与 SR-BI 摄取胆固醇酯的功能密切相关. 当 SR-BI 的 N 端同时发生点突变时, SR-BI(M158R)对胆固醇酯的摄取增加, SR-BI(Q402R/Q418R)摄取胆固醇酯的能力明显受抑制. 这表明, SR-BI 的某些位点发生突变可能修复因 apoA- I 突变所致的胆固醇酯摄取的障碍, 促进胆固醇的代谢^[29].

3 ApoA- I 的 α 螺旋与 AS 的防治

细胞内多余的胆固醇流出能够维持体内的胆固醇代谢平衡, 减少脂质的蓄积所致的泡沫细胞形成, 抑制 AS 的发生. α 螺旋是 apoA- I 促进胆固醇流出, 发挥载脂功能的主要结构, 为此人们模拟 α 螺旋的结构设计了一系列小分子肽, 称为 apoA- I 模拟肽. Ditiatkovski 等^[30]在小鼠体内研究 apoA- I 模拟肽对 AS 的影响, 发现多种 apoA- I 模拟肽能通过不同方式发挥抗 AS 的作用, 这对 AS 的防治具有重要意义^[31]. 因此, ApoA- I 模拟肽成为近年来 AS 防治的研究热点.

研究表明, 模拟肽 4F 的 α 螺旋结构更为稳定, 载脂能力更强. 但 4F 只能预防早期的 AS 发生, 无法治疗或延缓 AS^[31-32]. D-4F 是由 4F 与天冬氨酸的合成肽, 它不影响血浆中的 HDL 水平, 能通过上调 PON-1 的表达, 下调 IL-6 和 MPO 的表达, 增强 HDL 的抗炎及抗氧化的能力. 此外, 南华大学唐朝克课题组的研究发现, D-4F 能显著增加 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞 ABCA1 的表达, 促进胆固醇流出^[33]. 进一步的研究发现, D-4F 使年轻小鼠血管内的 AS 斑块消退, 并抑制年轻小鼠血管壁 AS 斑块形成^[34]. L-4F 是由 4F 与亮氨酸合成的合成肽, 能够抵制胃肠道内胰蛋白酶的水解作用, 所以 L-4F 口服给药更有效^[34], 但关于其抗胰蛋白酶水解的具体机制目前尚无阐明. 以上结果提

示, 天冬氨酸的加入可能赋予 α 螺旋一定逆转 AS 损伤的功能, 而亮氨酸的加入可能赋予 α 螺旋抗胰蛋白酶水解作用。

模拟肽 ELK-2A2K2E 能够减少主动脉的粥样斑块面积, 并且抑制巨噬细胞向 M1 型极化, 发挥抗 AS 的作用。Sethi 等^[34]发现模拟肽 5A 具有极高的亲脂性和对人体几乎无影响的细胞毒性, 提示 5A 更适合投放临床用于治疗 AS。研究表明, 模拟肽 5A-C1 与 ELK-2A2K2E 联合作用, 能增强 HDL 促 RCT 的过程, 帮助胆固醇流出。但 5A-C1 或 ELK-2A2K2E 单独作用却具有更强的抗 AS 效应^[31], 提示两种模拟肽的联合作用可能会发生结构的相互干扰, 产生竞争性抑制, 具体的机制仍需要进一步的实验证实。

4 小结与展望

过去人们研究 AS 的防治, 总是将 HDL 作为关注点, 然而越来越多的研究证实, 存在着失功能性 HDL 能促 AS 的发生^[35], 因此 HDL 对于 AS 的发生具有双重作用, 单纯地研究 HDL 抗 AS 的功能已无法达到最佳的心血管保护作用。ApoA-I 是 HDL 内的主要蛋白质成分, 在胆固醇的流出过程中起重要的作用, 能通过多种方式抗 AS, 现今已成为人们研究 AS 防治的新靶点。Hernandez-One 等^[36]发现, 敲除 C57BL/6J 小鼠肝脏的特殊胰岛素受体能下调 I 型碘甲腺氨酸脱碘酶的表达, 进而降低 apoA-I 的 mRNA 水平, 这表明, 胰岛素受体可能成为未来新的 AS 治疗途径。冯美卿等^[37]发现经高脂喂养的家兔 apoA-I 能降低 cox-2 和 NF- κ B mRNA 的水平预防 AS 发生。

α 螺旋是 apoA-I 抗 AS 的结构基础, 除了促进胆固醇的流出外, 还能通过抗炎、抗氧化等作用抑制 AS 发生。ApoA-I 的结构易受许多因素影响, 这提示深入研究的必要性。例如, 能否通过促进患者 apoA-I 上 α 螺旋的形成, 恢复 apoA-I 的载脂, 使与 AS 相关的疾病能够治疗? 肝脏特殊胰岛素受体的敲除是否影响 α 螺旋结构, 使血浆 apoA-I 呈低水平? 以及 apoA-I 抑制血浆促炎因子的表达是否与 α 螺旋相关? 研究表明, 模拟肽的抗 AS 功能可能与 α 螺旋相关, 但关于模拟肽的研究多数是在诱导小鼠患 AS 的情况下进行, 加上控制一些与胆固醇流出相关蛋白质的表达等因素, 小鼠与人类 AS 患者间的差异可能影响模拟肽抗 AS 的效果。这些问题的解决有助于发现 α 螺旋为 AS 防治

所提供的新研究思路, 推进与 AS 相关的疾病防治的发展。

参 考 文 献

- [1] 唐朝克, 冯大明, 孙文清, 等. 动脉粥样硬化小型猪三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 表达的变化. 生物化学与生物物理进展, 2005, **32**(03): 221-227
Tang C K, Feng D M, Sun W Q, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2005, **32**(03): 221-227
- [2] 唐朝克. 以 ABCA1 为靶点防治动脉粥样硬化. 中国动脉硬化杂志, 2011, **19**(11): 879-884
Tang C K. China J Atherosclerosis, 2011, **19**(11): 879-884
- [3] 尹凯, 莫中成, 赵国军, 等. ApoA I /ABCA1 通过 STAT3/TTP 途径调节炎症因子 mRNA 降解. 中国动脉硬化杂志, 2011, **19**(03): 243-244
Yin K, Mo Z C, Zhao G J. China J Atherosclerosis, 2011, **19**(03): 243-244
- [4] Tall A R, Shipley G G, Small D M. Conformational and thermodynamic properties of apoA-I of human plasma high density lipoproteins. The Journal of Biological Chemistry, 1976, **251**(12): 3749-3755
- [5] Bashtovyy D, Jones M K, Anantharamaiah G M, *et al.* Sequence conservation of apolipoprotein A- I affords novel insights into HDL structure-function. Journal of Lipid Research, 2011, **52**(3): 435-450
- [6] Mei X, Atkinson D. Lipid-free apolipoprotein A- I structure: insights into HDL formation and atherosclerosis development. Archives of Medical Research, 2015, **46**(5): 351-360
- [7] Tanaka M, Koyama M, Dhanasekaran P, *et al.* Influence of tertiary structure domain properties on the functionality of apolipoprotein A- I. Biochemistry, 2008, **47**(7): 2172-2180
- [8] Segrest J P, Jones M K, De Loof H, *et al.* The amphipathic helix in the exchangeable apolipoproteins: a review of secondary structure and function. Journal of Lipid Research, 1992, **33**(2): 141-166
- [9] Mei X, Atkinson D. Crystal structure of C-terminal truncated apolipoprotein A- I reveals the assembly of high density lipoprotein (HDL) by dimerization. The Journal of Biological Chemistry, 2011, **286**(44): 38570-38582
- [10] Sallee D E, Horn J V C, Fuentes L A, *et al.* Expression of the C-terminal domain of human apolipoprotein A- I using a chimeric apolipoprotein. Protein Expression and Purification, 2017, **137**: 13-19(DOI:10.1016/j.pep.2017.06.008)
- [11] Townsend D, Hughes E, Hussain R, *et al.* Heparin and methionine oxidation promote the formation of apolipoprotein A- I amyloid comprising alpha-helical and beta-Sheet. Structures, 2017, **56**(11): 1632-1644
- [12] 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, 2012, **39**(04): 319-326
Lu Q, Chen W J, Yin K, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2012, **39**(04): 319-326
- [13] 唐朝克, 严鹏科, 杨永宗. 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 在巨噬细胞胆固醇流出中的作用. 中国病理生理学杂志, 2003, **19**(10):

- 1427-1443
Tang C K, Yan P K, Yang Y Z. Chinese J of Pathophysiology, 2003, **19**(10): 1427-1443
- [14] Zhang M, Li L, Xie W, *et al.* Apolipoprotein A-1 binding protein promotes macrophage cholesterol efflux by facilitating apolipoprotein A-1 binding to ABCA1 and preventing ABCA1 degradation. *Atherosclerosis*, 2016, **248**: 149-159
- [15] Guo Q, Zhang C, Wang Y. Overexpression of apolipoprotein A- I alleviates endoplasmic reticulum stress in hepatocytes. *Lipids in Health and Disease*, 2017, **16**(1): 105-115
- [16] Vedhachalam C, Liu L, Nickel M, *et al.* Influence of ApoA- I structure on the ABCA1-mediated efflux of cellular lipids. *The Journal of Biological Chemistry*, 2004, **279**(48): 49931-49939
- [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] Dinnes D L, White M Y, Kockx M, *et al.* Human macrophage cathepsin B-mediated C-terminal cleavage of apolipoprotein A- I at Ser228 severely impairs antiatherogenic capacity. *FASEB Journal*, 2016, **30**(12): 4239-4255
- [19] Silva R A, Huang R, Morris J, *et al.* Structure of apolipoprotein A- I in spherical high density lipoproteins of different sizes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, **105**(34): 12176-12181
- [20] Segrest J P, Jones M K, Shao B, *et al.* An experimentally robust model of monomeric apolipoprotein A- I created from a chimera of two X-ray structures and molecular dynamics simulations. *Biochemistry*, 2014, **53**(48): 7625-7640
- [21] Frank P G, Marcel Y L. Apolipoprotein A- I : structure-function relationships. *Journal of Lipid Research*, 2000, **41**(6): 853-872
- [22] Bibow S, Polyhach Y, Eichmann C, *et al.* Solution structure of discoidal high-density lipoprotein particles with a shortened apolipoprotein A- I . *Nat Struct Mol Biol*, 2017, **24**(2): 187-193
- [23] Del Giudice R, Domingo-Espin J, Iacobucci I, *et al.* Structural determinants in ApoA- I amyloidogenic variants explain improved cholesterol metabolism despite low HDL levels. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2017, **1863**(12): 3038-3048
- [24] Cao Y N, Xu L, Han Y C, *et al.* Recombinant high-density lipoproteins and their use in cardiovascular diseases. *Drug Discovery Today*, 2017, **22**(1): 180-185
- [25] Minnich A, Collet X, Roghani A, *et al.* Site-directed mutagenesis and structure-function analysis of the human apolipoprotein A- I . Relation between lecithin-cholesterol acyltransferase activation and lipid binding. *The Journal of Biological Chemistry*, 1992, **267**(23): 16553-16560
- [26] Jonas A. Lecithin cholesterol acyltransferase. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2000, **1529**(1-3): 245-256
- [27] 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
- [28] Sorci-Thomas M G, Bhat S, Thomas M J. Activation of lecithin: cholesterol acyltransferase by HDL ApoA- I central helices. *Clinical Lipidology*, 2009, **4**(1): 113-124
- [29] Liu T, Krieger M, Kan H Y, *et al.* The effects of mutations in helices 4 and 6 of ApoA- I on scavenger receptor class B type I (SR-BI)-mediated cholesterol efflux suggest that formation of a productive complex between reconstituted high density lipoprotein and SR-BI is required for efficient lipid transport. *The Journal of Biological Chemistry*, 2002, **277**(24): 21576-21584
- [30] Ditiatkovski M, Palsson J, Chin-Dusting J, *et al.* Apolipoprotein A- I mimetic peptides: discordance between *in vitro* and *in vivo* properties-brief report. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2017, **37**(7): 1301-1306
- [31] Navab M, Anantharamaiah G M, Reddy S T, *et al.* Apolipoprotein A- I mimetic peptides. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2005, **25**(7): 1325-1331
- [32] Sherman C B, Peterson S J, Frishman W H. Apolipoprotein A- I mimetic peptides: a potential new therapy for the prevention of atherosclerosis. *Cardiology in Review*, 2010, **18**(3): 141-147
- [33] Getz G S, Wool G D, Reardon C A. Biological properties of apolipoprotein a-I mimetic peptides. *Current Atherosclerosis Reports*, 2010, **12**(2): 96-104
- [34] Sethi A A, Stonik J A, Thomas F, *et al.* Asymmetry in the lipid affinity of bihelical amphipathic peptides. A structural determinant for the specificity of ABCA1-dependent cholesterol efflux by peptides. *The Journal of Biological Chemistry*, 2008, **283** (47): 32273-32282
- [35] 夏晓丹, 唐朝克. 失功能性 HDL 研究进展. *生理科学进展*, 2016, (05): 381-385
Xia X D, Tang C K. *Progress In Physiological Sciences*, 2016, (05): 381-385
- [36] Liu J, Hernandez-Ono A, Graham M J, *et al.* Type 1 deiodinase regulates ApoA- I gene expression and ApoA- I synthesis independent of thyroid hormone signaling. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2016, **36**(7): 1356-1366
- [37] Li J, Wang W, Feng M Q, *et al.* Human apolipoprotein A- I exerts a prophylactic effect on high-fat diet-induced atherosclerosis *via* inflammation inhibition in a rabbit model. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2017, **49**(2): 149-158

The Role of apoA- I 's α -Helix in Cholesterol Efflux*

GAO Jia-Hui¹⁾, MO Zhong-Cheng^{2)**}, TANG Chao-Ke^{2)**}

¹⁾ Institute of Cardiovascular Disease, Key Lab for Arteriosclerosis of Hunan Province, Hengyang 421001, China;

²⁾ Clinical Natomy & Reproductive Medicine Application Institute, Department of Histology and Embryology, University of South China, Hengyang 421001, China)

Abstract Since the inverse relationship between the levels of apoA- I in plasma and the risk of cardiovascular disease is derived from the atherosclerosis (AS). Lipid apoA- I formation of high-density lipoprotein(HDL), which by promoting reverse cholesterol transport(RCT) helps cholesterol efflux. α -Helix plays an important role in cholesterol efflux, it's the acceptor of lipid on apoA- I. The mimic peptides of apoA- I have similar structure with α -helix, and they can inhibit the development of AS by different ways. This review focuses on the effects of α -helix of apoA- I in cholesterol efflux, in order to further explore the structure of apoA- I influence on cholesterol efflux, aims at providing the new thought and therapy targeting for AS.

Key words apolipoprotein A- I, high-density lipoprotein, reverse cholesterol transport, atherosclerosis

DOI: 10.16476/j.pibb.2018.0008

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (81770461).

**Corresponding author. Tel: 86-734-8281853

MO Zhong-Cheng. E-mail: zhchmo@163.com

TANG Chao-Ke. E-mail: tangchaoke@qq.com

Received: January 6, 2018 Accepted: April 8, 2018