

ABC 转运体超家族对胆固醇吸收和血浆植物甾醇水平的调节作用*

唐朝克 易光辉 阮长耿 杨永宗**

(南华大学心血管病研究所, 衡阳 421001)

摘要 人们对控制胆固醇吸收和血浆植物甾醇水平的分子基础了解尚少. ABCG5 和 ABCG8 的发现使得理解甾醇吸收的分子基础获得突破. ABCG5 和 ABCG8 主要涉及植物甾醇代谢, 而其他基因涉及胆固醇吸收. 最近, 一种新胆固醇吸收阻止剂 (ezetimibe) 的问世, 给胆固醇吸收和血浆植物甾醇水平基因控制研究提供新的亮点. 主要综述胆固醇吸收和血浆植物甾醇水平的基因控制, 关注调节它们的共同点和不同点, 讨论这一领域的最近发展和展望未来希望.

关键词 三磷酸腺苷结合盒转运体, 胆固醇, 吸收, 植物甾醇

学科分类号 R363

三磷酸腺苷结合盒转运体 (ATP binding cassette transporter, ABC) 超家族目前已发现有 7 个家族, 分别为 A、B、C、D、E、F、G, 它们共有 48 个成员. 人们对 ABCA1 的功能与调节已有较多的了解^[1, 2]. 已知 ABCA1 是一种整合膜蛋白, 它以 ATP 为能源, 促进细胞内游离胆固醇和磷脂的流出; 在胆固醇逆转运和高密度脂蛋白 (HDL) 生成的起始步骤中起重要作用, 被称作胆固醇逆转运的守门人. 最近, 人们才发现 ABCG5、ABCG8 和 ABCA1 对胆固醇吸收和血浆植物甾醇水平具有调节作用^[3, 4].

20 多年前, Bhattacharyya 等^[5]就描写了两姐妹随着肠道植物甾醇吸收的增加, 血浆中植物甾醇水平也增加, 并把它命名为 β -谷甾醇血症. 在 β -谷甾醇出现之后, 病人出现大量的植物甾醇. 作者认为两姐妹 β -谷甾醇的出现可能是一种隐性遗传, 甾醇从肠道吸收受基因控制. 这激起了人们对这些过程的相关基因研究. 研究显示, 胆固醇吸收受载脂蛋白 E、载脂蛋白 A-IV、ACAT、SR-BI、CEL 和 ABCA1 等基因的调节. ABCA1 作为候选基因受到特别关注. LXR 激动剂可减少胆固醇的吸收, 这与 ABCA1 有关: a. ABCA1 与胆固醇转运有关; b. 肠组织有 ABCA1 表达; c. LXR 激动剂可诱导 ABCA1 表达^[6]. Repa 等^[7]认为 ABCA1 调节胆固醇的吸收. 其他研究者发现在肠上皮细胞基底膜外侧有 ABCA1 表达^[8]. 然而, LXR 激动剂减少胆固醇吸收的发现, 对解释 β -谷甾醇血症的分子基础更为重要. 最近, 2 个实验室应用基因方法和 LXR 激

动剂发现, ABCG5 和 ABCG8 基因突变是 β -谷甾醇血症的原因^[9, 10]. 研究人体血浆植物甾醇水平的后续变化与基因的关系, 以及研究小鼠胆固醇吸收和血浆植物甾醇的关系, 为研究控制胆固醇吸收和血浆植物甾醇水平的相关基因提供了有利的支持.

本文主要综述胆固醇吸收和血浆植物甾醇水平的基因控制, 关注调节它们的共同点和不同点, 讨论这一领域的最近发展和展望未来希望.

1 ABCG5 和 ABCG8 控制植物甾醇水平

最近由于 ABCG5 和 ABCG8 的发现使得理解甾醇吸收的分子基础获得突破. Lee 等^[11]对 β -谷甾醇血症家系进行研究发现, 在 β -谷甾醇血症家系人群 2 号染色体短臂存在缺陷. 随后用小鼠研究发现肝 X 受体 (LXR) 激动剂抑制肠对胆固醇的吸收. Repa 等^[7]用微阵列技术在转录水平研究 LXR 激动剂对小鼠肝和肠的作用, 结果发现小鼠一个 EST 增加 2.5 倍. 其他 ABC 转运体主要作用为转运胆固醇, 因此他们认为这种新的转运体即 ABCG5 涉及肝和肠的甾醇吸收. 研究者在靠近 ABCG5 发现另一 ABC 转运体即 ABCG8, 它仅含 374 个核苷酸. 对 β -谷甾醇血症病人 ABCG5 和 ABCG8 基因进行测序, 结果发现有无义突变和错

* 湖南省科技厅重点资助项目 (01SSY1003), 湖南省卫生厅资助课题 (Y02-065) 和湖南省教育厅资助课题 (02C399).

** 通讯联系人.

Tel: 0734-8281288, E-mail: yzyang@mail.hy.hn.cn

收稿日期: 2003-10-08, 接受日期: 2003-12-09

义突变,说明这些基因在 β -谷甾醇血症中起作用.与此同时,有人认为在肝和肠有 β -谷甾醇血症基因的表达,寻找这些器官的ESTs的表达,发现有ABCG5,并对ABCG5进行测序,结果发现有错义突变和缺失^[9,10].因此,经过2个实验室的努力成功地解决 β -谷甾醇血症的分子基础.进一步研究表明,胆固醇饮食可诱导肝和肠ABCG5和ABCG8的表达,它们在胆固醇分泌到胆汁中起着重要的作用^[3].在小鼠这些基因的过表达或剔除引起血浆植物甾醇降低或升高^[3].这些发现表明,在肠ABCG5和ABCG8涉及甾醇分泌返回肠腔,在肝将甾醇分泌到胆汁.然而,这些作用都是推测性的,ABCG5和ABCG8对甾醇代谢作用的确切机制还未完全阐明.由于目前对ABCG5和ABCG8还没有合适的功能试验,因此,在分子水平阐明它们的功能还存在很大的挑战.

一个相关问题是ABCG5和ABCG8基因共同变化,是否影响非 β -谷甾醇血症人群血浆甾醇水平的个体差异. Berge等^[12]检测ABCG5和ABCG8位点的多态性与血浆植物甾醇水平之间的关系,他们发现ABCG8 2个碱基序列变化与低血浆植物甾醇水平有关.人群10%为ABCG8 D19H基因型,其中31%血浆油菜甾醇水平低,人群36%为ABCG8 T400K基因型,其中2%血浆油菜甾醇水平低.因此,这些人群大约占血浆油菜甾醇水平变化的5.5%和0.1%.同时,通过计算得出结果,基因在血浆油菜甾醇浓度的变化起到59%的作用.除了ABCG5和ABCG8外,基因其他位点的变化很可能对一般人群血浆植物甾醇水平变化起作用.虽然ABCG5和ABCG8的发现解决了 β -谷甾醇血症的分子基础,但这些研究表明其他基因涉及血浆植物甾醇水平的调节.

2 基因位点控制作用

2.1 基因位点控制胆固醇吸收

Schwarz等^[13]研究证实129P3/J和AKR/J型小鼠为高胆固醇吸收率,而DBA/2J和SJL/J型小鼠为低胆固醇吸收率.他们共进行3次不同的实验,一次实验他们将AKR/J和DBA/2J的后代进行杂交产生低胆固醇吸收的DBA/2J型小鼠,检测132只雄性小鼠的胆固醇吸收率,对20只最高胆固醇吸收率雄性小鼠和20只最低胆固醇吸收率雄性小鼠进行基因组扫描和相关分析,结果发现,在2号染色体64 cM处有1个位点和10号染色体24 cM

处有1个位点与胆固醇吸收有关;另一次实验测量21种不同DBA X AKR重组小鼠的胆固醇吸收率并进行相关分析,结果发现另外3个位点,第1个在6号染色体51 cM处,第2个在15号染色体58 cM处,第3个在19号染色体16 cM处;还有一次实验,用129P3/J和SJL/J的后代进行杂交,产生高胆固醇吸收率的129P3/J型小鼠,测量168只小鼠胆固醇吸收率,对40只最高吸收率和40只最低吸收率小鼠进行关联分析,结果发现,在1号染色体57 cM处和5号染色体57 cM处各有1个位点与胆固醇吸收有关.

2.2 基因位点控制血浆植物甾醇水平

Sehayek等^[14]发现C57BL/6J小鼠血浆植物甾醇水平高,而CASA/RK小鼠血浆植物甾醇水平低,并将它们的子代进行杂交.测量201只杂交子代小鼠的血浆植物甾醇和总胆固醇水平,并对血浆油菜甾醇与血浆总胆固醇浓度的比率进行相关分析,结果显示,在9号染色体17 cM处有1位点,在2号染色体有2个位点,第一个在18 cM处,第2个在65 cM,血浆总胆固醇浓度与这些位点不相关.这两个实验的结果值得我们进一步考虑. a. 虽然这些研究用不同的品系鼠和测量胆固醇吸收及血浆植物甾醇水平,但他们确定2号染色体上有一个共同位点. b. 他们未能发现胆固醇吸收或血浆植物甾醇水平与小鼠17号染色体上ABCG5/ABCG8位点的联系^[15].因此,把Berge等^[12]对人类的研究一起考虑时,这些研究提供明显证据,除了ABCG5/ABCG8外,还有其他基因控制胆固醇吸收和血浆植物甾醇水平. c. 到目前为止,还没有对人类相关研究报道,希望通过对这些空白点的研究将有助于ABCG5/ABCG8位点作用的理解.

3 胆固醇吸收和植物甾醇水平的基因控制

最近,一种新胆固醇吸收阻止剂(ezetimibe)的问世给胆固醇吸收和血浆植物甾醇水平基因控制研究提供新的亮点.对多种动物包括大鼠、小鼠、恒河猴、猿猴和人类的研究表明,ezetimibe减少胆固醇吸收达50%~90%^[16,17].此外,ezetimibe的抑制效果有如下特点: a. 具有高效力作用,大鼠和恒河猴的 ID_{50} 分别为0.0005 mg/kg和0.0015 mg/kg^[17]; b. 不受胆汁酸池大小和成分或水解作用以及肠内脂肪加工过程变化的影响^[18]; c. 在肠绒毛顶点具有较高的药物浓度^[17].因此,这些发现说明,ezetimibe可能与细胞内特殊蛋白质

相互作用而发挥作用。那么 ezetimibe 是否通过 ABCG5/ABCG8 发挥抑制作用呢? 2 项研究不支持这样的可能性, Repa 等^[18] 在小鼠检测到 ezetimibe 类似物对肠 ABCG5/ABCG8 表达的影响。如果 ezetimibe 通过诱导这些基因减少胆固醇吸收, 类似物就应增加肠 ABCG5/ABCG8 的表达。但实际相反, 类似物减少 ABCG5/ABCG8 的表达。另一项研究检测 ezetimibe 对 β -谷甾醇血症病人的影响。如果 ezetimibe 通过 ABCG5/ABCG8 起作用, 它将不会影响这些病人血浆植物甾醇水平。实际相反, ezetimibe 显著减少这些病人血浆植物甾醇浓度。到目前为止还未见报道 ezetimibe 能影响 ABCG5/ABCG8 剔除动物的胆固醇吸收和血浆植物甾醇水平^[19]。综合上述研究表明: a. ezetimibe 抑制作用不依赖于 ABCG5/ABCG8; b. 如果 ezetimibe 的确通过与细胞内蛋白质的相互作用阻碍胆固醇吸收的话, 这些蛋白质应与 ABCG5/ABCG8 转运体不同。

4 遗传学的共同点与不同点

研究表明, 胆固醇吸收与植物甾醇代谢相关。对人体研究显示, 血浆植物甾醇水平与胆固醇吸收率相关。分析 2 个家庭 17 个受试者胆固醇吸收与血浆植物甾醇水平的相关性, 结果发现血浆油菜甾醇与胆固醇的比率及胆固醇吸收的百分数相关。在另一项研究中检测 63 个男性志愿者的血浆植物甾醇和胆固醇吸收, 也发现油菜甾醇和胆固醇比率与胆固醇吸收呈明显相关。这些相关性说明, 胆固醇吸收和血浆植物甾醇水平的调节可能存在共同过程。最近一项研究支持这一可能性, 研究发现 ezetimibe 影响人的胆固醇吸收和血浆植物甾醇水平^[16], ezetimibe 不仅减少胆固醇吸收达 54%, 而且减少血浆植物甾醇水平到 41% ~ 48%。此外 ezetimibe 对胆固醇吸收率和血浆植物甾醇水平的影响存在很大的个体差异。因此, 如果 ezetimibe 的确与肠绒毛中特异的蛋白质相互作用, 有理由推测编码这些蛋白质的基因应涉及植物甾醇和胆固醇吸收的调节。综合上述研究, 我们有理由相信调节胆固醇吸收和血浆植物甾醇水平的过程应存在某些共同点。但是, 与上述研究结果相反, 一些研究表明涉及植物甾醇代谢的基因不影响胆固醇吸收。例如: β -谷甾醇血症病人, 其植物甾醇吸收, 血浆水平和体内池大小的明显增加与正常水平上限范围内胆固醇吸收相关。此外, 与胆固醇比较, 植物甾醇更有效地分泌到胆汁。这使谷甾醇杂合子免于植物

甾醇堆积。研究表明, ABCG5/ABCG8 对植物甾醇和胆固醇代谢存在明显不同的影响^[20]。例如: 与对照组动物比较, ABCG5/ABCG8 剔除动物的植物甾醇吸收率增加 2 ~ 3 倍, 血浆植物甾醇水平增加近 30 倍, 肝植物甾醇含量明显增加。相反, 基因剔除动物与对照组动物比较, 胆固醇吸收率没有明显差异, 血浆胆固醇水平明显下降, 肝胆固醇含量明显下降。因此, 综合对 β -谷甾醇血症病人和小鼠的研究表明, ABCG5/ABCG8 位点主要涉及植物甾醇吸收的过程, 而胆固醇的吸收主要依赖于其他基因。如情况确实如此, 那么 ABCG5/ABCG8 如何在胆固醇分泌到胆汁中起重要作用呢? 这个问题还未阐明。但 ABCG5/ABCG8 异二聚体对不同甾醇的吸引力在条件允许下可能引起胆固醇的有效分泌作用。

因此, 涉及胆固醇吸收和植物甾醇代谢的基因如 ABCG5/ABCG8 对不同甾醇有特异范围, 它们主要涉及植物甾醇代谢, 而其他基因涉及胆固醇吸收。

5 展 望

自从 β -谷甾醇首次描述以来, 几十年后才发现 ABCG5 和 ABCG8。目前认为除 ABCG5/ABCG8 外, 还有其他基因涉及胆固醇吸收和血浆植物甾醇水平的调节。此外, 对小鼠的研究显示这些过程受许多基因调节。这些基因的发现使人们认识到这个过程在多个水平上受到调节。因此, 使人们认识到只要影响胆固醇吸收相关基因改变的因素, 就应加以注意, 如对心血管疾病高危家庭的后代进行保护, 教育和培养他们适当的饮食习惯; 要求病人限制食物胆固醇的吸入; 对病人选择适当的药物治疗。在分子水平上理解胆固醇吸收过程将有助于加速在多水平调节吸收过程药物的开发。

参 考 文 献

- 1 唐朝克, 易光辉, 王 佐, 等. 干扰素- γ 对 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞胆固醇流出和 ABCA1 表达的影响. 生物化学与生物物理进展, 2004, 31 (2): 127 ~ 133
Tang C K, Yi G H, Wang Z, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2004, 31 (2): 127 ~ 133
- 2 唐朝克, 杨峻浩, 易光辉, 等. 油酸对 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 表达和胆固醇流出的影响. 生物化学与生物物理学报, 2003, 35 (12): 1077 ~ 1082
Tang C K, Yang J H, Yi G H, *et al.* Acta Biochim Biophys Sin, 2003, 35 (12): 1077 ~ 1082
- 3 Yu L Q, Jia L H, Hammer R E, *et al.* Overexpression of ABCG5 and ABCG8 promotes biliary cholesterol secretion and reduces fractional absorption of dietary cholesterol. J Clin Invest, 2002, 110 (5): 671 ~ 680

- 4 Turley S D, Dietschy J M. Sterol absorption by the small intestine. *Curr Opin Lipidol*, 2003, **14** (3): 233 ~ 240
- 5 Bhattacharyya A K, Connor W E. Beta-sitosterolemia and xanthomatosis. A newly described lipid storage disease in two sisters. *J Clin Invest*, 1974, **53** (4): 1033 ~ 1043
- 6 唐朝克, 贺修胜, 易光辉, 等. 肝 X 受体 α 在泡沫细胞胆固醇流出中的调控作用. *生物化学与生物物理进展*, 2003, **30** (6): 940-944
Tang C K, He X S, Yi G H, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2003, **30** (6): 940 ~ 944
- 7 Repa J J, Turley S D, Lobaccaro J M A *et al.* Regulation of absorption and ABC1-mediated efflux of cholesterol by RXR heterodimers. *Science*, 2000, **289** (5484): 1524 ~ 1529
- 8 Mulligan J D, Flowers M T, Tebon A, *et al.* ABCA1 is essential for efficient basolateral cholesterol efflux during the absorption of dietary cholesterol in chickens. *J Biol Chem*, 2003, **278** (15): 13356 ~ 13366
- 9 Lee M H, Lu K, Hazard S, *et al.* Identification of a gene, ABCG5, important in the regulation of dietary cholesterol absorption. *Nat Genet*, 2001, **27** (1): 79 ~ 83
- 10 Lu K, Lee M H, Hazard S, *et al.* Two genes that map to the STSL locus cause sitosterolemia: genomic structure and spectrum of mutations involving sterolin-1 and sterolin-2, encoded by ABCG5 and ABCG8, respectively. *Am J Hum Genet*, 2001, **69** (2): 278 ~ 290
- 11 Lee M H, Gordon D, Ott J, *et al.* Fine mapping of a gene responsible for regulating dietary cholesterol absorption; founder effects underlie cases of phytosterolaemia in multiple communities. *Eur J Hum Genet*, 2001, **9** (5): 375 ~ 384
- 12 Berge K E, Bergmann K V, Lutjohann D, *et al.* Heritability of plasma noncholesterol sterols and relationship to DNA sequence polymorphism in ABCG5 and ABCG8. *J Lipid Res*, 2002, **43** (3): 486 ~ 494
- 13 Schwarz M, Davis D L, Vick B R, *et al.* Genetic analysis of intestinal cholesterol absorption in inbred mice. *J Lipid Res*, 2001, **42** (11): 1801 ~ 1811
- 14 Sehaye E, Duncan E M, Lutjohann D, *et al.* Loci on chromosomes 14 and 2, distinct from ABCG5/ABCG8, regulate plasma plant sterol levels in a C57BL/6J $\times$ CASA/Rk intercross. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99** (25): 16215 ~ 16219
- 15 Lu K M, Lee M H, Yu H W, *et al.* Molecular cloning, genomic organization, genetic variations, and characterization of murine sterolin genes *abcg5* and *abcg8*. *J Lipid Res*, 2002, **43** (4): 565 ~ 578
- 16 Sudhop T, Lutjohann D, Kodal A, *et al.* Inhibition of intestinal cholesterol absorption by ezetimibe in humans. *Circulation*, 2002, **106** (15): 1943 ~ 1948
- 17 Heek M V, Farley C, Compton D S, *et al.* Comparison of the activity and disposition of the novel cholesterol absorption inhibitor, SCH58235, and its glucuronide, SCH60663. *Br J Pharmacol*, 2000, **129** (8): 1748 ~ 1754
- 18 Repa J J, Dietschy J M, Turley S D. Inhibition of cholesterol absorption by SCH 58053 in the mouse is not mediated via changes in the expression of mRNA for ABCA1, ABCG5, or ABCG8 in the enterocyte. *J Lipid Res*, 2002, **43** (11): 1864 ~ 1874
- 19 Scoggan K A, Gruber H, Larivière K. A missense mutation in the *Abcg5* gene causes phytosterolemia in SHR, stroke-prone SHR, and WKY rats. *J Lipid Res*, 2003, **44** (5): 911 ~ 916
- 20 Yu L Q, Hammer R E, Jia L H, *et al.* Disruption of *abcg5* and *abcg8* in mice reveals their crucial role in biliary cholesterol secretion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99** (25): 16237 ~ 16242

Regulation of ATP Binding Cassette Transporter Superfamily on Cholesterol Absorption and Plasma Plant Sterol Levels*

TANG Chao-Ke, YI Guang-Hui, RUAN Chang-Geng, YANG Yong-Zong**

(Institute of Cardiovascular Disease of Nanhua University, Hengyang 421001, China)

Abstract The molecular basis of the processes of cholesterol absorption and plasma plant sterol levels is only partially understood. A breakthrough in understanding the molecular basis of sterol absorption has recently achieved by the discovery of ABCG5 and ABCG8. The genes involved in cholesterol absorption and plant sterols metabolism are characterized by a spectrum of specificity. Studies on a recently developed novel cholesterol absorption-blocking agent, ezetimibe, provide additional insight into the genetics of cholesterol absorption and plasma plant sterol levels. Focuses on the evidence for genetic control of cholesterol absorption and plasma plant sterol levels are reviewed. The commonalities and difference in the regulation of these two traits are examined and the recent developments and future perspectives in this field are discussed.

Key words ATP binding cassette transporter, cholesterol, absorption, plant sterol

* This work was supported by grants from The Special Funds for Department of Science and Technology of Hunan Province (01SSY1003), The Special Funds for Department of Health of Human Province (Y02-065) and The Special Funds for Department of Education of Human Province (02C399).

** Corresponding author. Tel: 86-734-8281288, E-mail: yzyang@mail.hy.hn.cn

Received: October 8, 2003 Accepted: December 9, 2003