

## 载脂蛋白 A-I 结合蛋白介导胆固醇 流出调控血管新生\*

张敏<sup>1)\*\*</sup> 何平平<sup>1, 2)\*\*</sup> 欧阳新平<sup>1, 3)</sup> 尹凯<sup>4)\*\*\*</sup> 唐朝克<sup>1)\*\*\*</sup>

<sup>1)</sup> 南华大学心血管疾病研究所, 动脉硬化湖南省重点实验室, 生命科学研究中心, 衡阳 421001; <sup>2)</sup> 南华大学护理学院, 衡阳 421001;

<sup>3)</sup> 南华大学医学院生理教研室, 认知与神经系统疾病研究所, 衡阳 421001; <sup>4)</sup> 南华大学诊断学教研室, 衡阳 421001)

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00308

胆固醇流出在维持细胞正常结构和功能中发挥着关键的生理作用, 然而其在调节血管新生中的作用一直未明. 近日, 美国加州大学医学院的研究人员发现(*Nature*, 2013, **498**: 118-122), 载脂蛋白 A-I 结合蛋白(apoA-I binding protein, AIBP)介导的内皮细胞胆固醇流出在调节血管新生中起着关键作用<sup>[1]</sup>. 研究者在小鼠离体主动脉和斑马鱼的血管新生实验中发现, AIBP 和高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)协同调控胆固醇流出, 抑制血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)刺激的血管新生.

AIBP 是 Ritter 等通过酵母双杂交技术从人肝脏 cDNA 文库中筛选出的一种分泌蛋白, 其编码基因为 APOA1BP, 位于人体 1 号染色体长臂 21 区, 由 6 个外显子和 5 个内含子组成, 基因全长为 2.5 kb<sup>[2-3]</sup>. AIBP 可结合 apoA-I, 提示 AIBP 在胆固醇流出中可能发挥重要作用. 由于 AIBP 主要分泌入外周血, 研究者首先选择了人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)为研究对象, 观察其对胆固醇流出及血管内皮功能的影响. 研究发现, 单独使用 AIBP 不能促进胆固醇流出, 而在 HDL<sub>3</sub> 协同下 AIBP 可增强 HDL 与 HUVECs 结合能力, 促进胆固醇流出.

细胞内胆固醇流出主要涉及到两种关键的转运蛋白: 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1(ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1)和三磷酸腺苷结合盒转运体 G1(ATP-binding cassette transporter G1, ABCG1). ABCA1 蛋白主要介导胆固醇转运至细胞外贫脂的 apoA-I<sup>[4-6]</sup>, 而 ABCG1 主要介导细胞

内胆固醇流出至成熟的 HDL<sup>[7-8]</sup>. 除了促进胆固醇流出外, 近来研究发现, ABCA1/ABCG1 在调控细胞增殖、迁移、炎症反应和凋亡等过程中发挥着重要作用<sup>[9]</sup>. 本研究发现, 使用 AIBP 或 HDL<sub>3</sub> 孵育 HUVECs 并不影响 HUVECs 细胞管状结构形成, 但二者协同作用后显著抑制 VEGF 刺激的细胞管状结构形成, 从而抑制血管新生. 研究还发现, ABCA1 和 ABCG1 介导的胆固醇流出至 HDL 在此过程中发挥着关键作用. 虽然已有研究发现胆固醇流出在内皮功能的调节中起着重要作用<sup>[10]</sup>, 但本研究首次发现胆固醇流出在血管新生中的重要作用. 早期研究发现 HDL 可通过促进内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)活性调节内皮细胞功能<sup>[10]</sup>. 本研究发现, AIBP/HDL<sub>3</sub> 抑制血管新生的作用与其介导的胆固醇流出改变了细胞膜上脂筏结构, 抑制血管内皮生长因子受体 2(vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR2)与细胞膜脂筏结构中的小窝蛋白 1(caveolin 1, CAV1)共定位, 从而降低 VEGFR2 二聚化水平, 抑制 VEGF/VEGFR2 的下游信号通路. 国内唐朝克等发现 apoA-I 通过 ABCA1 促进细胞膜脂筏区的胆固醇流出并改变脂筏结构, 进一步抑制 CD40L/CD40 依赖的促炎效应<sup>[11]</sup>. 这些研究

\* 国家自然科学基金(81170278, 81070220, 81300158)资助项目.

\*\* 共同第一作者.

\*\*\* 通讯联系人. Tel: 0734-8281853

唐朝克. E-mail: tangchaoke@qq.com

尹凯. E-mail: kaiyinby@hotmail.com

收稿日期: 2013-07-02, 接受日期: 2013-08-14

提示, 作为细胞膜信号转导异常活跃的区域, ABCA1/ABCG1 介导脂筏区胆固醇流出可能是其发挥多种生物学功能的重要基础.

模式生物是研究基因功能的理想手段, 斑马鱼具有通体透明便于追踪血管形成的基因分析、繁殖快、适合高通量筛选等优势, 是研究血管新生的重要模式生物<sup>[12-13]</sup>. 本研究观察了与人类 AIBP 同源的 *aibp* 基因在调节斑马鱼血管发育过程中的作用, 发现敲除 *aibp* 基因导致异常的新生血管尖端细胞增生, 过表达 *aibp* 则抑制血管新生. 此外, 将人 AIBP 和斑马鱼 *aibp2* 基因转移至 HEK293 细胞内, 随后移植入 VEGF 刺激的野生型小鼠和 ABCG1<sup>-/-</sup> 小鼠主动脉环, 发现野生型小鼠内 AIBP 和 *aibp2* 均能显著抑制主动脉环处新生血管的形成, 而 ABCG1<sup>-/-</sup> 小鼠主动脉环处新生血管显著增多, 提示 ABCG1 介导了 AIBP 对血管新生的抑制作用. 研究发现: 野生型斑马鱼胚胎发育过程中, 前段动脉处脂筏集中分布于顶细胞, 柄细胞处较少, 血管新生受到显著地抑制; 用吗啉代寡核苷酸(morpholino oligonucleotides, MO)使 *aibp2* 低表达后, 脂筏均一地分布于顶细胞和柄细胞处, 发生血管新生, 而用 HDL<sub>3</sub> 促进胆固醇流出以弥补 *aibp2* 基因缺失的效应, 减少了柄细胞处脂筏含量, 抑制血管新生, 提示 *aibp2* 介导斑马鱼胆固醇流出, 改变前段动脉脂筏分布减少柄细胞处脂筏含量, 抑制血管新生. 研究还发现, *aibp2* 的低表达可改变斑马鱼内 *vegfr2* 介导血管新生信号通路中多种蛋白激酶(如 Akt、Vegfr2、Src、Erk1 和 Erk2)的磷酸化水平, 抑制血管新生. 综上所述, *aibp2* 可调节斑马鱼胚胎内胆固醇水平、膜脂分布和 *Vegfr2* 介导的血管新生信号通路, 最终调控血管新生.

ABCA1 和 ABCG1 作为同一家族成员, 往往协同发挥生物学效应. 同时下调斑马鱼胚胎 ABCA1 和 ABCG1 的表达后, 研究者发现, 胚胎内游离胆固醇增多, 与 VEGFR2 信号通路相关的蛋白质如 AKT、VEGFR2 和 SRC 磷酸化水平增加, 前段动脉和肠下静脉血管新生增多, 该效应较单独敲除 ABCG1 更为明显, 提示 ABCA1 和 ABCG1 在维持正常的血管新生中具有重要的协同调节作用. Yvan-Charvet 等<sup>[9]</sup>发现, 相对于 ABCA1 或 ABCG1 单独敲除, 将 ABCA1/ABCG1 共敲除小鼠的骨髓移植入野生型小鼠能够显著抑制其造血干细胞的增殖, 进一步提示 ABCA1/ABCG1 协同发挥多种生物学功能. 这些效应一方面可能与其介导

胆固醇流出有关, 另一方面也可能与其激活胞内信号途径有关. 国内唐朝克等通过生物信息学分析发现, ABCA1 蛋白质胞内环的核苷酸结合结构域(nucleotide-binding domain, NBD)存在多个 STAT3 的激活位点 YXXQ 基序(924~927 和 1990~1993), 而且 apoA- I /ABCA1 的结合具有类似于配 / 受体结合的关系, 通过直接激活胞内信号途径发挥其生物学效应<sup>[14]</sup>. 由于 ABCG1 主要介导胆固醇流出至成熟的 HDL, 其是否能够直接调节胞内信号途径还有待进一步研究. 本研究发现在斑马鱼胚胎发育血管形成过程中 ABCA1 可能起主导作用, 表明 ABCA1 在血管再生调节中可能是更为重要的调节靶点. 然而, apoA- I 与 AIBP 结合, ABCA1/ABCG1 在血管新生调节中的确切机制还有待进一步研究.

由于促进细胞内胆固醇流出, 可以减少血管壁脂质蓄积, 对于 HDL 功能以及胆固醇流出机制的探讨一直是动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)研究领域的热点<sup>[15]</sup>. 本研究发现胆固醇流出在血管新生中起着重要作用, 这为恶性肿瘤和缺血性心脑血管病的防治提供了新的思路. 肝 X 受体(liver X receptor, LXR)是促进 ABCA1 和 ABCG1 转录的重要核转录因子, 目前多种 LXR 激动剂作为调脂和 As 防治药物进入了临床 I 期试验, 本研究为 LXR 激动剂的临床应用提供了新的领域. 值得注意的是, 脂质代谢紊乱与恶性肿瘤的发生和转移密切相关, HDL 能够抑制恶性肿瘤发生发展<sup>[16]</sup>, 而汉族人群载脂蛋白 B(apolipoprotein B, apoB)基因与乳腺癌的发展呈正相关<sup>[17]</sup>, apoB 能够促进内皮细胞膜胆固醇蓄积, 这种效应是否与调节肿瘤血管新生有关还有待进一步探索.

## 参 考 文 献

- [1] Fang L, Choi S H, Baek J S, *et al.* Control of angiogenesis by AIBP-mediated cholesterol efflux. *Nature*, 2013, **498**(7452): 118-122
- [2] Jha K N, Shumilin I A, Digilio L C, *et al.* Biochemical and structural characterization of apolipoprotein A- I binding protein, a novel phosphoprotein with a potential role in sperm capacitation. *Endocrinology*, 2008, **149**(5): 2108-2120
- [3] Ritter M, Buechler C, Boettcher A, *et al.* Cloning and characterization of a novel apolipoprotein A- I binding protein, AI-BP, secreted by cells of the kidney proximal tubules in response to HDL or ApoA- I. *Genomics*, 2002, **79**(5): 693-702
- [4] Brooks-Wilson A, Marcil M, Clee S M, *et al.* Mutations in ABC1 in Tangier disease and familial high-density lipoprotein deficiency.

- Nature Genetics, 1999, **22**(4): 336-345
- [5] Marcil M, Brooks-Wilson A, Clee S M, *et al.* Mutations in the ABC1 gene in familial HDL deficiency with defective cholesterol efflux. *Lancet*, 1999, **354**(9187): 1341-1346
- [6] Rust S, Rosier M, Funke H, *et al.* Tangier disease is caused by mutations in the gene encoding ATP-binding cassette transporter 1. *Nature Genetics*, 1999, **22**(4): 352-355
- [7] Chen H, Rossier C, Laloti M D, *et al.* Cloning of the cDNA for a human homologue of the *Drosophila* white gene and mapping to chromosome 21q22.3. *American J Human Genetics*, 1996, **59**(1): 66-75
- [8] Klucken J, Buchler C, Orso E *et al.* ABCG1 (ABC8), the human homolog of the *Drosophila* white gene, is a regulator of macrophage cholesterol and phospholipid transport. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**(2): 817-822
- [9] Yvan-Charvet L, Pagler T, Gautier E L, *et al.* ATP-binding cassette transporters and HDL suppress hematopoietic stem cell proliferation. *Science*, 2010, **328**(5986): 1689-1693
- [10] Terasaka N, Yu S, Yvan-Charvet L, *et al.* ABCG1 and HDL protect against endothelial dysfunction in mice fed a high-cholesterol diet. *J Clinical Investigation*, 2008, **118**(11): 3701-3713
- [11] 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
- [12] Norrby K. *In vivo* models of angiogenesis. *J Cellular and Molecular Medicine*, 2006, **10**(3): 588-612
- [13] Serbedzija G N, Flynn E, Willett C E. Zebrafish angiogenesis: a new model for drug screening. *Angiogenesis*, 1999, **3**(4): 353-359
- [14] 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 Biological Chemistry*, 2011, **286** (16): 13834-13845
- [15] de Vries R, Groen A K, Dullaart R P. Cholesterol efflux capacity and atherosclerosis. *N Engl J Med*, 2011, **364**(15): 1473-1474
- [16] Su F, Grijalva V, Navab K, *et al.* HDL mimetics inhibit tumor development in both induced and spontaneous mouse models of colon cancer. *Mol Cancer Ther*, 2012, **11**(6): 1311-1319
- [17] Liu X, Wang Y, Qu H, *et al.* Associations of polymorphisms of rs693 and rs1042031 in apolipoprotein B gene with risk of breast cancer in Chinese. *Jpn J Clin Oncol*, 2013, **43**(4): 362-368