

极低密度脂蛋白受体与脂代谢研究进展

詹宇红

极低密度脂蛋白受体(very low density lipoprotein receptor, VLDLR)是一种细胞膜表面的蛋白质,它主要负责结合和内移含载脂蛋白 E 的脂蛋白,如极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL),向肝外组织提供甘油三酯作为能量来源。早在 20 世纪 80 年代初期,同济医科大学冯宗忱等人就发现了 VLDL 可以被巨噬细胞摄取、降解,推测可能存在自身受体代谢途径,提出了“VLDLR 假说”。1992 年, Takahashi 等成功的克隆了兔的 VLDLR,并且阐明了其氨基酸序列和功能域。1994 年, Sakai 等^[1]成功的分离了人的 VLDLR 基因,分析了其结构和染色体定位。目前,随着人们对 VLDLR 的研究不停的深入,已经逐步认识到该受体对脂代谢紊乱,动脉粥样硬化,胰岛素抵抗方面有着重要的影响,并且开始运用分子生物学的技术挖掘它的治疗潜力。

一、VLDLR 的分子生物学特征

VLDLR 属于低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)家族,VLDLR 的基因是完全保守的,在物种之间编码区也是完全保守的,人 VLDLR 基因定位于 9P24,含 19 个外显子,18 个内含子,长约 40kb。对人和动物 VLDLR 的研究发现,它们之间的同源性很高,人和兔的 VLDLR 有 96% 的氨基酸相同。完整的 VLDLR 含 5 个功能域,共 846 个氨基酸:①VLDLR 第 1 功能域是配体结合域,由氨基末端 328 个氨基酸构成,位于细胞膜外,其中含 40 个氨基酸的 8 个配体结合重复序列(ligand binding repeated sequence, LBR),而 LDLR 只有 7 个 LBR,这种重复序列以含 6 个半胱氨酸残基为特征,形成 3 个二硫键, LBR1 和 LBR2、LBR2 和 LBR3 之间存在(螺旋结构,可能与配体结合有关。VLDLR 与 LDLR 结构基本相似,两者的区别就在第 1 功能域;②第 2 功能域是表皮生长因子前体同源域,含 396 个氨基酸,位于膜外,包含 3 个表皮生长因子重复序列,每个重复序列又由 40 个富含半胱氨酸的氨基酸组成,第 3 个重复序列还有酪-色-苏-天冬氨酸保守结构;③第 3 个功能

域是 O-连接糖链结合域,含 84 个氨基酸,位于膜外,是蛋白质糖基化的主要结合位点,富含丝氨酸、苏氨酸残基。该域由单一的外显子编码,以 O-连接的方式和糖链结合;④第 4 个功能域是跨膜域,含 22 个疏水性氨基酸,横跨于浆膜;⑤第 5 个功能域是胞质域,含 54 个氨基酸,突出与胞质内,有信号传导的作用,其中有一段 NPXY 序列(N:天冬酰胺,P:脯氨酸,X:任意氨基酸,Y:酪氨酸),对 VLDLR 簇集于被覆陷窝有关键作用。除此之外,VLDLR 的氨基末端还有一 27 个氨基酸的信号序列,推测与蛋白定位有关,无保守性^[1]。

二、VLDLR 的分类和组织分布

主要根据 VLDLR 是否含 O-连接糖域分为 I 型和 II 型。I 型 VLDLR 含 O-连接糖域,在脂肪酸代谢活跃的心肌,骨骼肌、脂肪组织中大量表达,在脾、肾等组织中也有少量分布。II 型 VLDLR 不含 O-连接糖域,主要分布于脑中,在脾、肾、睾丸、卵巢、肾上腺等组织中也能少量检测到。O-连接糖域可能封闭 VLDLR 对蛋白酶敏感的位点,所以 I 型比 II 型更稳定,并且,O-连接糖域使受体和配体的结合力增强,所以 I 型结合 VLDL 的能力更强,已有研究发现, I 型 VLDLR 在脂代谢和泡沫细胞形成中比 II 型起更重要作用^[2]。II 型主要分布在神经组织,胃癌、乳腺癌等肿瘤组织,可能跟神经组织发育,肿瘤组织发生及转移有关。

三、VLDLR 与脂代谢

VLDLR 能摄取降解含载脂蛋白 E 的脂蛋白如 VLDL、 β -VLDL、中间密度脂蛋白(intermediated density lipoprotein, IDL)、乳糜微粒残粒,但是只能摄入极少量的低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)。许多研究表明,该受体可能与内源性甘油三酯从肝脏转移到脂肪酸代谢活跃的肝外组织如心脏、骨骼肌、脂肪有关,使组织摄取甘油三酯利用脂肪酸获能。VLDL 能通过蛋白激酶 C/细胞外信号调节激酶诱导 VLDLR 的表达,这个作用与 VLDLR 启动子转录激活有关^[3]。在骨骼肌细胞中,葡萄糖作为能量

的主要来源,近来研究发现,当葡萄糖缺乏时,能激活 AMP 活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK),促进 VLDLR 介导的富含甘油三酯的脂蛋白的摄入,可作为能量的补充^[4]。胰岛素在体内调节糖脂代谢,胰岛素能下调 I 型 VLDLR 蛋白及 RNA 的表达,上调 II 型 VLDLR 的表达,因此认为胰岛素可能通过对不同 VLDLR 亚型表达的影响作为调节因子维持葡萄糖和血脂的平衡^[5]。脂联素是脂肪细胞来源的激素,在糖脂代谢中起了重要作用,研究发现,脂联素能够通过增加骨骼肌 VLDLR 表达,促进 VLDL 内甘油三酯的分解,从而减少血浆甘油三酯水平^[6]。蛋白转换酶 PCSK9 促进 LDLR 的降解,是与家族性高胆固醇血症相关的第 3 个基因,研究发现 PCSK9 能控制 VLDLR 的表达,减少甘油三酯转移到内脏脂肪细胞,抑制内脏脂肪的形成^[7]。

四、VLDLR 与动脉粥样硬化

以往认为,氧化的 LDL 能被巨噬细胞,平滑肌细胞吞噬,使之形成泡沫细胞,最终发展为粥样斑块,近年研究发现,除了 LDL, VLDLR 与动脉粥样硬化也有着密切的联系。血管内皮细胞、平滑肌细胞,单核细胞、巨噬细胞、粥样斑块中巨噬细胞来源的泡沫细胞中有 VLDLR 表达。目前认为 VLDLR 表达不受甘油三酯和胆固醇的含量调节,细胞可因此不断地摄取 VLDL,不存在负反馈调节,导致细胞内甘油三酯,胆固醇不断增加,巨噬细胞转变为泡沫细胞,最终导致了动脉粥样病变的发展。Eck 等将 VLDLR 阴性小鼠的骨髓移植到 VLDLR 阳性小鼠,可使 VLDLR 阳性小鼠动脉粥样病变面积缩小,反之在 VLDLR 阴性小鼠中重建 VLDLR 可使原先的动脉粥样硬化面积 2~7 倍的增加。因此认为巨噬细胞表达的 VLDLR 促进了动脉粥样病变的发展^[8]。Takahashi 等^[9]认为巨噬细胞 VLDLR 蛋白表达存在种属差异。在人类和大鼠动脉粥样病变中发现 VLDLR,但在小鼠巨噬细胞系(Raw264.7 和 J774.2)以及腹膜巨噬细胞中并未发现,说明在人类、大鼠和小鼠间,动脉粥样硬化的形成和发展机制存在区别。在 HL-1 心肌细胞和小鼠心脏中发现,缺氧-缺血诱导的脂质聚集依赖 VLDLR 的表达。在人的心脏左心室中, VLDLR 在缺血部位的表达高于非缺血部位,与心肌细胞中脂滴量相关。VLDLR 缺乏小鼠在诱导心肌梗死后,生存率更高,梗死面积减少^[10]。

五、VLDLR 与胰岛素抵抗

关于胰岛素抵抗和游离脂肪酸的关系已经有越

来越多的证据证明, VLDLR 因为与游离脂肪酸代谢相关,所以有人推测 VLDLR 基因可能是胰岛素抵抗的一个候选基因。但 Leppert 等对 1050 个个体进行分析,发现空腹胰岛素、胰岛素抵抗指数与 VLDLR 基因并无相关性^[11]。而在鼠 3T3-L1 细胞的分化过程中 VLDLR 表达增加,诱导胰岛素抵抗能明显减少 VLDLR 的表达,增加 TG 和胆固醇水平。过氧化物酶体增生激活受体- γ (peroxisome proliferator-activated receptor- γ , PPAR- γ)是脂肪细胞脂代谢的重要调节因子,控制着与脂代谢相关的基因的表达。VLDLR 表达受 PPAR- γ 调节,通过诱导 PPAR- γ 的表达, VLDLR 的蛋白及 mRNA 表达相应增加,能加快体内甘油三酯的清除,引起脂肪沉积^[12]。在 3T3-L1 脂肪细胞中, PPAR γ 激动剂通过 VLDLR 启动子中的敏感序列,以剂量时间依赖的方式上调 VLDLR 的表达。给予 PPAR γ 激动剂的治疗,在 VLDLR 阳性小鼠中能增加脂肪细胞脂肪的合成和 VLDL 的摄入,同时 VLDLR 相应表达增加,进一步证实 VLDLR 在脂肪分化及介导 PPAR γ 促脂肪形成中起重要作用。但 VLDLR 是否与 PPAR- γ 激动剂增加胰岛素敏感性有关需要进一步证实。

六、展 望

虽然 VLDLR 与巨噬细胞向泡沫细胞转变、动脉粥样病变的发展有关,但研究发现给予链脲佐菌素诱导的 2 型糖尿病大鼠静脉注射含 VLDLR 基因的腺病毒质粒,使血浆甘油三酯、胆固醇减少,空腹胰岛素明显降低,血管动脉粥样硬化减少^[13]。如果将该技术应用于临床,可能对高脂血症,动脉粥样硬化有治疗的潜力。氯贝丁酯类降脂药如吉非罗齐可增加 VLDLR 表达,进一步让人们从上调受体表达这点出发去探索治疗高脂血症的新方法。并且,是否能通过转染 VLDLR 技术改善胰岛素抵抗,也有待于进一步的研究。

参考文献

- 1 Sakai J, Hoshino A, Takahashi S, *et al.* Structure, chromosome location, and expression of the human very low density lipoprotein receptor gene[J]. J Biol Chem, 1994, 269(3):2173-2182
- 2 Tian J, Bi H, Li Y, *et al.* Function and significance of very low density lipoprotein receptor subtype II[J]. Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2005, 25(3):229-233
- 3 Liu ZG, Li H, Li YH, *et al.* Up-regulation of VLDL receptor expression and its signaling pathway induced by VLDL and beta-VLDL[J]. Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2009, 29(1):1-7
- 4 Zenimaru Y, Takahashi S, Takahashi M, *et al.* Glucose deprivation accelerates VLDL receptor-mediated TG-rich lipoprotein uptake by

AMPK activation in skeletal muscle cells[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2008, 368(3):716-722

5 Cai Z, Li F, Peng C, *et al.* Effect of insulin on the differential expression of VLDL receptor isoforms of SGC7901 cell and its biological implication[J]. Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2010, 30(5):551-555

6 Qiao L, Zou C, van der Westhuyzen DR, *et al.* Adiponectin reduces plasma triglyceride by increasing VLDL triglyceride catabolism[J]. Diabetes, 2008, 57(7):1824-1833

7 Roubtsova A, Munkonda MN, Awan Z, *et al.* Circulating proprotein convertase subtilisin/kexin 9 (PCSK9) regulates VLDLR protein and triglyceride accumulation in visceral adipose tissue[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011, 31(4):785-791

8 Eck MV, Oost J, Goudriaan JR, *et al.* Role of the macrophage very low-density lipoprotein receptor in atherosclerotic lesion development[J]. Atherosclerosis, 2005, 183, (2):230-237

9 Takahashi S, Ito T, Zenimaru Y, *et al.* Species differences of macrophage very low-density lipoprotein (VLDL) receptor protein expression[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 407(4):656-

662

10 Perman JC, Boström P, Lindbom M, *et al.* The VLDL receptor promotes lipotoxicity and increases mortality in mice following an acute myocardial infarction[J]. J Clin Invest, 2011, 121(7):2625-2640

11 Hong Y, Leppert M, Lin J, *et al.* No evidence of linkage between the very low-density lipoprotein receptor gene and fasting serum insulin or homeostasis model assessment insulin resistance index: the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study[J]. Metabolism, 2000, 49:293-297

12 Tao H, Aakula S, Abumrad NN, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor- γ regulates the expression and function of very low-density lipoprotein receptor[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2010, 298(1):E68-79

13 Yuan G, Liu Y, Sun T, *et al.* The therapeutic role of very low-density lipoprotein receptor gene in hyperlipidemia in type 2 diabetic rats[J]. Hum Gene Ther, 2011, 22(3):302-312

(收稿:2011-10-12)

(修回:2011-10-27)

内皮型一氧化氮合酶基因多态性与冠心病关联研究

马 莎 王玉璟

冠心病是一种严重威胁着人类健康的常见心血管疾病,至今病因尚未完全清楚,但认为与高血压、高脂血症、糖尿病、内分泌功能低下等因素有关。近年来,国内外的研究结果均证实了遗传因素在心血管疾病中的重要作用,内皮型一氧化氮合酶(eNOS)基因多态性对冠心病的影响受到了人们的重视。内皮型一氧化氮合酶(eNOS)基因位于染色体 7q35~36,与冠心病可能有关的多态性有 3 种:G894T、T-786C 和 27VNTR。现将国内外针对一氧化氮合酶基因多态性与心血管疾病关系的研究结果做一综述。

一、eNOS

Forstermann 和 Pollock 于 1991 年首次在内皮细胞中发现了内皮型一氧化氮合酶(eNOS),编码该酶的 DNA 序列也已经从人和牛的内皮细胞中分离出来。自然界中,一氧化氮合酶(NOS)是一种同工酶,分别存在于内皮细胞、巨噬细胞、神经吞噬细胞及神

经细胞中。NOS 广泛存在于神经系统,其同工酶有 3 种亚型,即在正常状态下表达的神经元型一氧化氮合酶(nNOS)内皮型一氧化氮合酶(eNOS),以及在损伤后诱导表达的诱导型一氧化氮合酶(iNOS)。nNOS 和 iNOS 具有神经毒性作用,而 eNOS 则具有保护作用。NOS 以 L-精氨酸为底物,利用氧生成 NO 和 L-瓜氨酸,NOS 还能生成氧化产物。NOS 是精氨酸-NOS-瓜氨酸途径的唯一限速酶,是决定血管壁 NO 基础水平的关键酶。Furchgott 和 Zawadzki 于 1980 年第 1 次发现了 NO,NO 是一种内皮源性血管舒张因子,具有重要的生理功能,如舒张血管平滑肌、降低血压、防止血小板的黏附和聚集,防止过度凝血和氧化应激等^[1]。eNOS 基因定位于染色体 7q35~36,共有 21~22kb,包含 26 个外显子和 25 个内含子,编码 1203 个氨基酸。已有研究发现 eNOS 有十多个多态性位点,目前较为关注的位点是:位于启动子区的 T-786C,位于第 7 外显子 G894T 和位于第 4 内含子 4a/4b。结构决定功能,NO 水平也与 eNOS 基因的多态性有密切关系,进而影响心血管疾病的发生和发展。

作者单位:434000 荆州,长江大学临床医学院(马莎);434000 荆州,长江大学附属第一医院科教科(王玉璟)

通讯作者:王玉璟,博士,硕士研究生导师,主任医师,电子信箱:masha939@126.com