

doi:10.3969/j.issn.1672-5565.2015.04.06

调控胆固醇吸收的分子通路

邵 翹, 杨 林*

(哈尔滨工业大学化工学院, 哈尔滨 150090)

摘要: 机体内的胆固醇失衡会引发多种疾病, 如高胆固醇血症、心脑血管疾病等, 而其平衡由胆固醇的合成、吸收、代谢和循环共同维持, 其中胆固醇的吸收至关重要。胆固醇的吸收主要发生在小肠和近段空肠, 受众多蛋白的调控。尼曼-匹克 C1 样蛋白 1 (NPC1L1) 负责胆固醇的摄取; ATP 结合盒转运蛋白 (ABCG5/ABCG8) 则抑制胆固醇的吸收, 酰基辅酶 A-胆固醇酰基转移酶 (ACAT) 催化胆固醇脂化提高胆固醇吸收; ATP 结合盒转运蛋白 A1 (ABCA1) 负责外周组织胆固醇的转运, 而这些蛋白又受到其他调控因子的影响。解析胆固醇吸收的分子通路对胆固醇失衡相关疾病的预防及治疗具有重大指导意义。因此, 本文就调控胆固醇吸收的分子通路进行综述。

关键词: 胆固醇吸收; NPC1L1; ABCG5/G8; ACAT2; ABCA1

中图分类号: 文献标志码: A 文章编号: 1672-5565(2015)04-239-05

Molecular pathways of cholesterol absorption regulation

SHAO Chi, YANG Lin *

(School of Chemical Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China)

Abstract: Cholesterol imbalance can cause a variety of diseases, such as high cholesterol, cardiovascular disease, while the cholesterol balance in body is maintained by synthesis, absorption, metabolism and circulation of cholesterol, and the absorption of cholesterol is a crucial step. Cholesterol absorption occurs mainly in the small intestine and proximal jejunum, and it is regulated by a number of proteins. Niemann-Pick C1-like 1 protein (NPC1L1) is responsible for the cholesterol uptake. ATP-binding cassette (ABC) G5/G8 inhibits the absorption of cholesterol. Acyl-coenzyme A (CoA): cholesterol acyltransferase (ACAT) catalyzes the cholesterol esterified reaction for raising cholesterol absorption. ATP-binding cassette transporters A1 (ABCA1) transports cholesterol in peripheral tissues and these proteins are also affected by other regulatory factors. Parsing cholesterol absorption of molecular pathways has major directive significance the prevention and treatment of diseases related with cholesterol imbalance. Therefore, the molecular pathways of cholesterol absorption regulation were reviewed in this paper.

Keywords: Cholesterol absorption; NPC1L1; ABCG5/G8; ACAT2; ABCA1

机体内的胆固醇主要来源于食物和生物合成, 肝脏和肠粘膜是合成的主要场所。人体内 70% ~ 80% 的胆固醇由肝脏合成, 10% 由小肠合成。小肠可吸收来自食物的胆固醇, 也可吸收由胆汁酸转化来的胆固醇。肝脏胆固醇通过极低密度脂蛋白 (Very low density lipoproteins, VLDL) 分泌到血浆, 胆固醇的代谢也在肝脏中, 大部分的胆固醇转变为胆汁酸, 随胆汁排出。在小肠下段, 大部分的胆汁酸

通过肠粘膜的重吸收到肝脏, 小部分经肠道排出。胆固醇的合成、吸收、代谢和循环维持机体内的胆固醇平衡^[1,2]。胆固醇的失衡会对机体产生不良影响。肝脏胆固醇通过 VLDL 分泌到血浆, 血浆胆固醇含量增高, 在血管壁中堆积会引起动脉粥样硬化, 还会引起其他病症如高胆固醇血症、胆固醇结石、心脑血管疾病、阿尔茨海默氏病及某些的癌症等。胆固醇吸收是维持体内胆固醇平衡的关键, 因此, 了解

收稿日期: 2015-10-09; 修回日期: 2015-11-19.

基金项目: 国家自然科学基金 (No.31371755)。

作者简介: 邵翹, 女, 硕士研究生, 研究方向: 功能性食品; E-mail: 1883692772@qq.com.

* 通信作者: 杨林, 女, 教授, 博士生导师, 研究方向: 功能性食品; E-mail: ly6617@hit.edu.cn.

胆固醇吸收的分子通路对各种相关疾病的预防及治疗具有十分重要的意义。

1 胆固醇吸收过程

膳食胆固醇进入肠腔后,穿过肠粘膜表面的扩散屏障,被位于肠上皮细胞刷状缘膜表面的尼曼-匹克 C1 样蛋白 1 (Niemann-Pick C1 like 1, NPC1L1) 摄取。游离胆固醇在肠上皮细胞被乙酰辅酶 A:胆固醇转乙酰基酶 (Acyl-coenzyme A (CoA): cholesterol acyltransferase, ACAT) 催化酯化,与胆汁盐和脂肪酸形成乳糜微粒,经过淋巴系统进入血液循环(如图 1)。部分未被酯化的胆固醇直接进入循

环系统,形成高密度脂蛋白 (High-density lipoprotein, HDL)。胆固醇被吸收时则从乳糜微粒中分离出来。而位于回肠的胆汁酸转运体则将胆汁酸运回至肝脏,形成的胆汁酸肠肝循环^[3]。另外,肝外组织和巨噬细胞中的胆固醇会从细胞中流出,被新生 HDL 摄取后,在血浆中在卵磷脂胆固醇酰基转移酶 (Lecithin cholesterol acyltransferase, LACT) 的作用下发生形成胆固醇酯,并 HDL 内核转移,最终形成球状的成熟的 HDL,最后将胆固醇运输至肝脏被摄取^[4]。这是胆固醇逆向转运的过程,通过此过程将外周组织中衰老细胞膜中的胆固醇转运到肝脏并代谢排出体外。因此,胆固醇的逆向转运对胆固醇的吸收具有重要的影响。

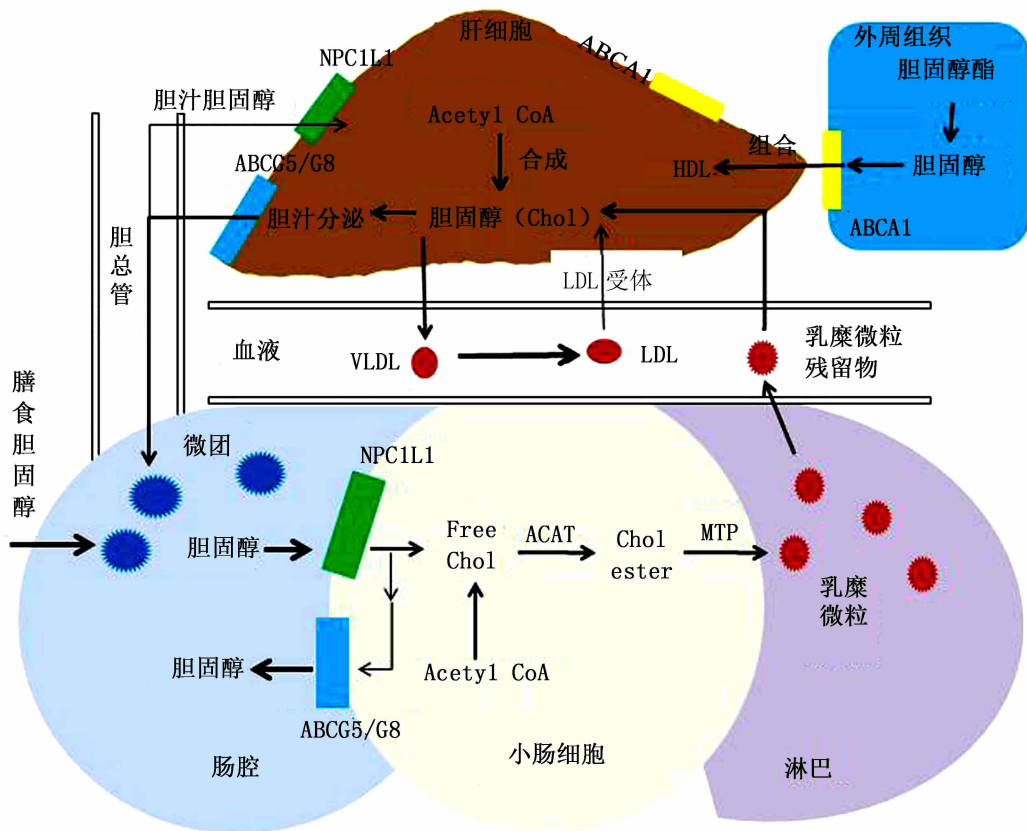


图 1 胆固醇吸收模拟图

Fig.1 Cholesterol simulation diagram

2 胆固醇吸收的调控因子

2.1 NPC1L1

NPC1L1 广泛在许多人类组织中表达,但在肝脏和小肠中高度表达,尤其在近段空肠,具体位于肠细胞的刷状缘膜,并进行胆固醇吸收。研究已经表明, NPC1L1 是位于小肠上皮细胞刷状缘表面有重要作用的胆固醇摄取相关转运体^[5]。NPC1L1 与其同系

物 NPC1 类似,也含有信号肽区域,其中包含 13 个跨膜区域和 3 个胞外区段(分设为 A、B、C)。胞外区段 A 是 NPC1L1 的 NH₂ 端, NPC1L1 通过其中存在的一个富含半胱氨酸的氨基结构域 (N-terminal domain, NTD) 结合胆固醇,若 NPC1L1 的 NTD 缺失则对胆固醇的吸收无促进作用;胞外区段 B 上存在胆固醇吸收抑制剂-依泽替米贝 (Ezetimibe) 的结合位点;胞外区段 C 中存在多个糖基化位点,经过糖基化修饰, NPC1L1 稳定性增加不易被胆汁或小肠

消化液酶分解,若其中的糖基化位点发生突变对 NPC1L1 的成熟和功能也会产生影响。另外 NPC1L1 分子中还有一个作为 NPC1L1 固醇感应结构域(Sterol sensing domain, SSD)的跨膜区域^[6]。

胆固醇通过网格蛋白/衔接蛋白 2 (Adaptor protein complex 2, AP2) 介导的内吞作用输送到细胞的 NPC1L1,并被其摄取。研究表明,脂质筏蛋白质 flotillins 可以与 NPC1L1 结合形成 NPC1L1-Flotillin-胆固醇(NFC)膜微结构,可以增加胆固醇的摄取效率^[7]。并且研究者还建立了 NPC1L1 介导的胆固醇摄取模型: NPC1L1 的 N 端识别游离胆固醇,并将其转移到细胞膜微结构区,当游离胆固醇浓度增加到一定程度时,胆固醇在跨膜转运过程中,直接与 NPC1L1 蛋白的 SSD 区结合,引起该蛋白构象改变,经 AP2 介导进入网格蛋白装配的囊泡内,并触发细胞内吞,囊泡沿微丝移至核内区, NPC1L1 和胆固醇则贮存于此。当细胞内胆固醇减少时, NPC1L1 则通过微丝再返回至细胞膜,介导胆固醇的摄取^[8]。需要更多的研究阐明该机制的细节。

Alrefai 等的研究表明, NPC1L1 的表达和启动子的胆固醇激活具有固醇调节元件结合蛋白 2 (SREBP-2) 依赖性。实验中,胆固醇膳食和 ACAT2 缺失引起胞内胆固醇水平增加,原因被认为是 SREBP-2 结合到 NPC1L1 启动子上的两个固醇调节元件上,从而导致 NPC1L1 表达量降低。Van Der Veen 等的实验揭示血清 HDL 增加引起的过氧化物酶体增殖物激活受体 δ (Peroxisome proliferator-activated receptor δ , PPAR δ)^[9] 活化导致胆固醇吸收降低,可能与 PPAR δ 降低了 NPC1L1 的表达量相关。Sui 等人进行了人体 NPC1L1 的启动子分析,在其中发现了一个 DR-4 型的孕烷 X 受体(Pregnane X receptor, PXR) 响应元件,并发现柠檬酸三丁酯(Tributyl citrate, TBC) 能够促进 PXR 结合到 NPC1L1 启动子上。Valasek 和 Kumar 等在研究非诺贝特(Fenofibrate)和姜黄素(Curcumin)降低小肠胆固醇吸收机制时发现,激活过氧化物酶体增殖物激活受体 α (Peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR α) 能够降低胆固醇吸收和 NPC1L1 mRNA 的表达。另外,研究发现, NPC1L1 的基因中含有肝受体同系物 1 (Liver Receptor Homologue-1, LRH-1) 反应元件,且固醇调节元件结合蛋白 (Sterol regulatory element binding protein-2, SREBP-2) 与 LRH-1 协同表达;肝细胞核因子-4 α (Hepatocyte nuclear factor-4 α , HNF-4 α) 对人类 NPC1L1 基因的表达具有重要的调控作用。还有一些实验结果表明,衔接蛋白 Numb 在人体肠和肝脏能够特异性的

调控 NPC1L1 介导的胆固醇吸收过程^[10]。还有其他一些因素也会对 NPC1L1 产生调控,例如含高甘油三酸酯的膳食和长链脂肪酸,以及糖尿病等,但是关于 NPC1L1 调节的精确机制尚不清晰。

2.2 ABCG5/ G8

ATP 结合盒转运蛋白 G5/G8 (ATP-binding cassette transporters G5/G8, ABCG5/ G8) 属于 ATP 结合盒转运蛋白(ABC)半转运体。ABC 转运体家族在体内胆固醇的代谢中发挥重要作用。人类的 ABCG5 和 ABCG8 基因在 2 号染色体 2p21 上,以头对头的方式存在,二者均含有 13 个外显子和 12 个内显子。ABC 转运体家族中的其他蛋白均含有 2 个跨膜域和 2 个核苷酸结合域 (Nucleotide binding domain, NBD),而 ABCG5 和 ABCG8 却均只含有 1 个跨膜区域和 1 个 NBD。因此, ABCG5 和 ABCG8 需结合成异二聚体,组成完整的 ABC 转运体才能发挥转运的作用。异二聚体的主要功能是将被摄取进入小肠上皮细胞的胆固醇逆转运回肠腔。大部分 ABCG5/ G8 在肝细胞的小管膜和小肠上皮细胞刷状缘膜表达,参与胆固醇和植物固醇的代谢。Vrins 等的实验结果证明人肾脏和胆囊上皮细胞 ABCG5 和 ABCG8 的过度表达促进胆固醇和植物固醇流出。验证 ABCG5 和 ABCG8 能够抑制胆固醇的吸收实验中, Abcg5 和 Abcg8 过度表达小鼠体内膳食胆固醇的吸收率降低约 50%,而肝脏中胆固醇合成量增加 2~4 倍,胆汁胆固醇含量增加超过 5 倍,粪便内中性固醇排泄量增加 3~6 倍^[11]。 Abcg5 和 Abcg8 的表达在不同种系小鼠间存在差异,小鼠胆固醇吸收率与其小肠 Abcg5 和 Abcg8 的 mRNA 表达水平呈负相关^[12]。另外,研究表明,敲除 NPC1L1 的小鼠可通过 ABCG5/G8 通路排出少量胆固醇。上述结果均证明, ABCG5 和 ABCG8 通过逆向转运小肠中的胆固醇降低胆固醇的吸收。

ABCG5 和 ABCG8 的调控主要在转录水平。胆固醇膳食和 LXR 激动剂可以增加野生型小鼠小肠和肝脏中的 ABCG5 和 ABCG8 mRNA 的表达,但 LXR 基因敲除的小鼠则不会^[13]。大豆蛋白异黄酮可以通过肝和肠中的 LXR α 或 LXR β 增加 Abcg5 和 Abcg8 的表达。实验者在 ABCG5/ ABCG8 基因间区域发现了 LRH-1 的结合位点,而这个基因间区域是 ABCG5/ ABCG8 基因启动子激活所必需的。电泳迁移率变动分析,结果揭示 LRH-1 特异性结合于 ABCG5/ ABCG8 基因间区域的 LRH-1 结合位点。在 HepG2 和 CaCO₂ 细胞中,突变 ABCG5/ ABCG8 基因间区域的 LRH-1 结合位点, ABCG5/ ABCG8 基因启动子活性减低超过 7 倍。在 CaCO₂ 和 293 细胞中

过表达 LRH-1, ABCG5/ ABCG8 基因启动子活性则分别达到 1.6 倍和 3 倍^[14]。另一些实验也发现 HNF-4 α 对 ABCG5/ ABCG8 基因有相似的调控作用,且 HNF-4 α 需要 GATA4 和 GATA6 因子的激活。解除叉头转录因子 FoxO1 抑制能够增加 ABCG5 和 ABCG8 的表达。学者在 ABCG5/ ABCG8 基因鉴定出两个 LXREs,尤其在 ECR20 中,其对 LXR α /RXR α ,GATA4,HNF-4 α 和 LRH-1 的调控起重要作用^[15]。实验还表明肝脏胰岛素,细菌内毒素和瘦素可以降低 ABCG5/ ABCG8 基因的转录水平。尤特普甘蓝 (*Euterpe oleracea* Mart.) 和甲状腺激素可以增加 Abcg5 and Abcg8 表达。但是关于以上因素调控 ABCG5/ ABCG8 基因转录的细节,还需要进一步研究。

2.3 ACAT2

胆固醇被 NPC1L1 摄取进入上皮细胞后,以游离形式存在,在 ACAT 作用下发生酯化。ACAT 广泛存在于肾上腺、皮脂腺、巨噬细胞、肝脏、肠细胞中,包括 ACAT1 和 ACAT2 两种亚型。肠细胞和肝细胞中主要表达 ACAT2,生成的胆固醇酯与甘油三酯 (Triglycerides, TG) 形成乳糜微粒或 VLDL,将胆固醇转运出肠细胞和肝细胞^[16,17]。之前的研究已经证明 ACAT2 缺失对胆固醇饮食具有重要作用,深层机制可能是 ACAT2 的缺失降低胆固醇酯的合成量,从而改善胆固醇膳食对人体的影响。一些实验也揭示 ACAT2 在肝脏和肠中有很显著的催化作用及 ACAT2 功能的丧失会造成胆固醇不能发生脂化,与之前的实验结果一致。另外实验证据表明 ACAT2 启动子含有转录因子 CDX2 和 HNF-1 α 的顺式元件,而 ACAT2 的表达需要两者的刺激。缺失 ACAT2 的脂化作用导致胆固醇吸收降低,但供给 Acat2 基因缺失鼠致石饲料时,与供给基础饲料正常鼠相比,其胆固醇净吸收量高出 4 倍以上^[16]。说明除去 ACAT2 介导的胆固醇吸收途径,还存在另外的胆固醇吸收机制。到目前为止,认为此过程主要由 ABCA1 介导。

2.4 ABCA1

ABCA1 与 ABCG5/ G8 一样,也属于 ABC 转运体家族,不同的是其主要参与外周组织中胆固醇的转运,与载脂蛋白 A-1 (Apolipoprotein A-1, ApoA1) 及 HDL 的形成也有关联。实验中增加小鼠巨噬细胞 line RAW264.7 中 ABCA1 的表达,揭示 ABCA1 的表达水平限制胆固醇和磷脂流出量。2 个研究小组先后报道过表达小鼠的 ABCA1 基因能够增加 HDL 胆固醇的量。另外的研究结果显示小肠胆固醇吸收率降低,ABCA1 表达上调以及 ABCA1 的基

因缺失对胆固醇吸收的影响作用较小,从而表明 ABCA1 对胆固醇转运作用较小。但关于 ABCA1 基因调控胆固醇吸收的其他实验结果显示,同时敲除小鼠 ABCA1 基因和 ACAT2 基因,胆固醇吸收明显降低,且肝脏和胆汁酸水平下降;敲除 ACAT2 时,胆固醇吸收并无明显变化,但 ABCA1 的 mRNA 水平提高 3 倍;敲除 ABCA1 基因时,胆固醇吸收变化不明显^[18]。综合以上结果,认为 ABCA1 介导另一条胆固醇排出途径,参与摄取未酯化的胆固醇直接转运到血液系统形成 HDL,但其影响远小于 ACAT2。一些研究发现巨噬细胞中 ABCA1 的表达受 cAMP (Adenosine 3', 5'-cyclic monophosphate)、胆固醇水平、LXR 及 RXR 的调控。LXR 和 RXR 作为一个非特异性的异源二聚体介导巨噬细胞中 ABCA1 表达和胆固醇流出,并且在人类 ABCA1 基因中发现了推测的 RXR/ LXR 结合基序^[19]。有些研究发现, microRNAs 对 Abca1 的表达具有抑制作用。

另外,也有一些关于 ABCG1、SR-BI (Scavenger receptor BI) 介导胆固醇流出的相关报道,但具体机制尚未清晰,也有实验结果显示 LDLR 基因及蛋白表达量增加可增加胆固醇逆转运^[20]。

3 结束语

胆固醇的吸收是由小肠上皮细胞完成。其分子通路概括如下:位于小肠上皮细胞刷状缘膜上的 NPC1L1 将胆固醇分子摄入细胞,而肝细胞及上皮细胞中的 ABCG5/G8 则将已摄入的胆固醇分子转出细胞。被摄取的游离胆固醇在 ACAT2 的作用下发生酯化,进而形成乳糜微粒进入血液循环,未脂化的胆固醇则在 ABCA1 的作用下直接进入血液循环形成 HDL。在此过程受多种因素及多种调控因子的调节,但具体机制还需深入的探索。因此,关于调控胆固醇吸收的分子通路还需要广泛深入的研究。随着心脑血管疾病患病率的不断增高,精确解析各分子对胆固醇吸收的调控作用及其影响因素已逐渐成为研究的热点,以发现抑制胆固醇吸收的新研究方向,为预防与治疗动脉粥样硬化、高胆固醇血症、胆固醇结石、心血管疾病、阿尔茨海默氏病及某些的癌症等与胆固醇相关的疾病提供新的理论基础,以便新药物的开发。

参考文献

- [1] YANG L, HAN G, LIU QH, et al. Rice protein exerts a hypocholesterolemic effect through regulating cholesterol metabolism-related gene expression and enzyme activity in adult

- rats fed a cholesterol-enriched diet[J]. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2013, 64(7): 836-842.
- [2] 叶健强, 蒋立, 王继文. 微粒体甘油三脂转运蛋白 MTP 的结构和功能研究概况[J]. *生物信息学*, 2005, 3(3): 140-143.
- YE Jianqiang, JIANG Li, WANG Jiwen. Recent advance on microsomal triglyceride transfer protein[J]. *China Journal of Bioinformatics*, 2005, 3(3): 140-143.
- [3] LI T, CHIANG J Y. Regulation of bile acid and cholesterol metabolism by PPARs[J]. *PPAR Research*, 2009(2008): 501739-501739.
- [4] FIELDING C J, FIELDING P E. Molecular physiology of reverse cholesterol transport [J]. *Journal of Lipid Research*, 1995, 36(2): 211-228.
- [5] ALTMANN S W, DAVIS H R, ZHU L, et al. Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption[J]. *Science*, 2004, 303(5661): 1201-1204.
- [6] 袁敏, 徐东刚. 小肠胆固醇吸收相关蛋白的研究进展[J]. *军事医学 ISTIC*, 2015, (6): 472-475.
- YUAN Min, XU Donggang. Several proteins involved in absorption of cholesterol in small intestine[J]. *Military Medical Sciences ISTIC*, 2015, (6): 472-475.
- [7] GE L, QI W, WANG L J, et al. Flotillins play an essential role in Niemann-Pick C1-like 1-mediated cholesterol uptake [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011, 108(2): 551-556.
- [8] BETTERS J L, YU L. NPC1L1 and cholesterol transport [J]. *FEBS Letters*, 2010, 584(13): 2740-2747.
- [9] 许恒勇, 王继文, 蒋立. PPAR 基因在脊椎动物发育过程中的功能研究[J]. *生物信息学*, 2004, 2(1): 41-45.
- XU Hengyong, WANG Jiwen, JIANG Li. PPAR expression and function during vertebrate development [J]. *China Journal of Bioinformatics*, 2004(1): 41-45.
- [10] WEI, FU Z Y, LI P S, et al. The Clathrin Adaptor Proteins ARH, Dab2, and Numb Play Distinct Roles in Niemann-Pick C1-Like 1 Versus Low Density Lipoprotein Receptor-mediated Cholesterol Uptake [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289(48): 33689-33700.
- [11] VRINS C, VINK E, VANDENBERGHE K E, et al. The sterol transporting heterodimer ABCG5/ABCG8 requires bile salts to mediate cholesterol efflux [J]. *FEBS letters*, 2007, 581(24): 4616-4620.
- [12] YU L, LI H J, HAMMER R E, et al. Overexpression of ABCG5 and ABCG8 promotes biliary cholesterol secretion and reduces fractional absorption of dietary cholesterol [J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2002, 110(5): 671-680.
- [13] REPA J J, BERGE K E, POMAJZLC, et al. Regulation of ATP-binding cassette sterol transporters ABCG5 and ABCG8 by the liver X receptors α and β [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(21): 18793-18800.
- [14] FREEMAN L A, KENNEDY A, WU J, et al. The orphan nuclear receptor LRH-1 activates the ABCG5/ABCG8 intergenic promoter [J]. *Journal of Lipid Research*, 2004, 45(7): 1197-1206.
- [15] BACK S S, CHOI D H, CHOI S Y. Cooperative transcriptional activation of ATP-binding cassette sterol transporters ABCG5 and ABCG8 genes by nuclear receptors including Liver-X-Receptor [J]. *Biochemistry and Molecular Biology Reports*, 2013, 46(6): 322-327.
- [16] REPA J J, BUHMAN K K, FARESE R V, et al. ACAT2 deficiency limits cholesterol absorption in the cholesterol-fed mouse; Impact on hepatic cholesterol homeostasis [J]. *Hepatology*, 2004, 40(5): 1088-1097.
- [17] 刘志国, 江会峰, 屈伸. VLDL-受体的配体结合结构域结构分析[J]. *生物信息学*, 2003, 1(1): 20-24.
- LIU Zhiguo, JIANG Huifeng, QU Shen. The structure analysis of VLDL receptor's ligand-binding domain [J]. *China Journal of Bioinformatics*, 2003, 1(1): 20-24.
- [18] TEMEL R E, LEE R G, KELLEY K L, et al. Intestinal cholesterol absorption is substantially reduced in mice deficient in both ABCA1 and ACAT2 [J]. *Journal of lipid research*, 2005, 46(11): 2423-2431.
- [19] COSTET P, LUO Y, WANG N, et al. Sterol-dependent transactivation of the ABC1 promoter by the liver X receptor/retinoid X receptor [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275(36): 28240-28245.
- [20] 彭雪, 杨林, 刘巧红, 等. 大米蛋白调控成熟期大鼠 LDLR 基因及蛋白表达 [J]. *生物信息学*, 2013, 11(2): 120-123.
- PENG Xue, YANG Lin, LIU Qiaohong. Rice protein affects gene and protein expressions of LDLR in adult rats [J]. *China Journal of Bioinformatics*, 2013, 11(2): 120-123.