

多个核受体调节 ApoM 表达的研究进展*

王宗春¹, 朱春华¹综述, 张晓膺^{1△}, 罗光华²审校

(苏州大学附属第三医院: 1. 心胸外科; 2. 综合实验室, 江苏常州 213003)

关键词: 载脂蛋白类; 核受体; 表达调节

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.20.030

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)20-2366-03

核受体是一类可扩散并可与特异性配体结合的细胞内信号蛋白, 存在于细胞质或细胞核内, 它通过与配体结合后在细胞核内调节基因表达而使配体发挥作用。目前, 主要将其分为 3 类^[1]: 第 1 类为甾体激素受体家族, 如糖皮质激素受体(GR) α 、 β , 盐皮质激素受(MR)及雌激素受体(ER) α 、 β ; 第 2 类为非甾体激素受体, 包括 1,25(OH)₂ 维生素 D 受体(VDR), 甲状腺激素受体(TR) α 、 β , 视黄酸受体(RAR)以及视黄素 X 受体(RXR); 第 3 类为孤儿核受体^[2], 有肝受体同系物(LRH-1)、小异源二聚体伴侣(SHP)、肝细胞核因子 4(HNF-4)等。其他核受体还有过氧化物酶体增殖因子激活受体(PPAR)、肝 X 受体(LXR)、法尼醇 X 受体(FXR)。核受体都有相似的分子结构, 包括配体结合区、DNA 结合区以及转录激活区。目前, 有研究表明, 多种核受体对脂质代谢和胆固醇平衡起重要的调控作用^[3], 并调节 ApoA1, Apo A2, ApoC3 及 ApoE 等载脂蛋白的转录表达^[4-6]。载脂蛋白 M (ApoM) 是 Xu 和 Dallback 等^[7] 于 1999 年在乳糜微粒中克隆、分离而获得的一种新型的载脂蛋白。该蛋白存在于人的 6 号染色体的 p21.31, 小鼠定位于 17 号染色体, 其相对分子质量为 26×10^3 , 主要在肝实质细胞及肾小管上皮细胞中表达, 在胎肝和胎肾中亦有少量表达^[8]。最近, Luo 等^[9] 研究发现 ApoM 在正常的结肠组织以及结肠癌组织中亦有不同程度的表达。近年来, 已经有多项研究表明核受体参与 ApoM 表达的调节, 下面主要就核受体家族中肝 X 受体、法尼醇受体以及孤儿核受体与 ApoM 的关系综述如下。

1 肝 X 受体对 ApoM 的调节

大量研究表明, 肝 X 受体反式激活胆固醇-7 α -羟化酶(CYP7A)、胆固醇脂转移蛋白(CETP)以及 ATP 结合盒转运子 A1(ABCA1)介导外周组织的胆固醇逆转运, 调节细胞内胆固醇代谢平衡。肝 X 受体激动剂 T0901317 能上调 C57BL/6J 鼠的高密度脂蛋白胆固醇和磷脂水平, 并产生富含胆固醇、ApoA1、ApoE 以及磷脂异常增大的高密度脂蛋白颗粒^[10-11]。目前, 已有研究表明, 肝 X 受体亦参与调节 ApoM 的表达。Zhang 等^[12] 用肝 X 受体激动剂 T0901317 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 处理 C57BL/6 老鼠动物模型, 发现肝 X 受体激动剂能显著下调鼠肝脏组织 ApoM 的表达, 进一步用 T0901317 及 9-顺式维 A 酸分别处理 HepG2 细胞, 结果表明, 肝 X 受体激动剂 T0901317 和 9-顺式维 A 酸均下调 ApoM mRNA 水平, 并且两者具有协同调节 ApoM 表达的作用。另外, 维 A 酸呈剂量和时间依赖性下调 ApoM 的表达, 但是 T0901317 对 ApoB 没有影响。这些体内实验研究数据一致表明, ApoM 可能是肝 X 受体的又一靶基因。此发现得到了 Calayir 等^[13] 的证实。Calayir 分别用 T0901317 和 22(R)-OHC 处理小肠黏膜上皮细胞

和 Caco2 细胞, 发现肝 X 受体下调肝脏 ApoM 和 ApoA1 表达的同时, 小肠黏膜上皮 ApoM mRNA 的表达水平却分别升高了 30%~40% 及 60%。并且 ApoA1 和 ABCA1 的表达水平也有不同程度升高, 又以 ABCA1 表达水平升高最为显著。但是上述研究并未明确肝 X 受体调节 ApoM 是直接作用还是间接作用, 并且肝 X 受体在不同组织调节 ApoM 的作用却截然相反, 这可能与 ApoM 不同组织中的调节机制有关。T0901317 不仅是肝 X 受体的激动剂^[14], 也是法尼醇受体的激动剂, 并且 T0901317 的对法尼醇受体的激动效应显著强于其天然配体胆汁酸^[15]。Houck 等^[15] 用 T0901317 和胆汁酸分别处理肝癌 Huh7 细胞, 结果显示, 法尼醇 X 受体的靶基因 SHP 均呈现剂量依赖性表达。Venteclef 等^[16] 最近发现在肝细胞实验中胆汁酸能抑制 ApoM 的表达, 认为这是法尼醇 X 受体的激动剂介导 FXR-SHP 抑制 LRH-1 途径, 从而发挥抑制 ApoM 表达的作用。这些结果或许可以说明 T0901317 作用于肝组织和小肠组织后, ApoM 表达水平截然相反的原因。

Costet 等^[17] 在 ATP ABCA1 基因上定位了肝 X 受体效应元件 DR4, 并发现 LXR α /RXR α 和 LXR β /RXR α 都是结合到 DR4 上发挥调节作用的。这也表明, 肝 X 受体有间接调节 ApoM 表达的可能。但是最近刘杨等^[18] 用肝 X 受体激动剂 T0901317 处理 HepG2 细胞的基础上加入 ABCA1 阻滞剂 DIDS(4,4'-Diisothiocyanatostilbene-2,2'-disulfonate), 却发现 ApoM 的表达水平进一步下降, 这表明, 在 HepG2 细胞内, ABCA1 影响 ApoM mRNA 的表达, 但是不参与 LXR 降低 ApoM mRNA 水平的效应过程, LXR 降低 ApoM 的机制还需进一步探讨。

2 孤儿核受体对 ApoM 的调节

2.1 肝细胞核因子 4 α (HNF-4 α) 诱导 ApoM 的表达 HNF-4 α 已有研究表明孤儿核受体家族中的、小异源二聚体伴侣(SHP)以及肝受体同系物(LRH-1)均参与调节 ApoM 的表达。Mosialou 等^[19] 研究发现 HNF-4 α 、RXR α /TR、RXR α /RAR α 、RXR α /PPAR α 以及 RXR α /LXR α 这些激素核受体异二聚体, 在相应的配体, 如贝特类、固醇类和甲状腺素等的作用下, 结合 ApoM 核苷酸近端启动子上激素效应元件 DR1(定位于核苷酸-33 到-21 区), 正向调节 ApoM 的表达。这与先前通过诱导肝 HNF-4 α 基因过表达使 ApoM 表达升高了 4.5 倍是一致的^[20], 表明 HNF-4 α 在肝脏组织调节 ApoM 可能起到至关重要的作用。

2.2 SHP 抑制 ApoM 的表达 Venteclef 等^[16] 用法尼醇 X 受体的人工合成激动剂或天然配体胆汁酸处理肝细胞后发现 ApoM 的表达量降低, 而小异源二聚体伴侣(SHP)的表达却增

加。接着他们将小剂量的 SHP 表达质粒共转染,发现能降低 LRH-1 诱导的 ApoM 启动子的活性,过表达 SHP 后亦出现类似结果。而法尼醇受体可以通过 SHP 依赖性抑制 LRH-1 的转录活性,进而抑制 LRH-1 靶基因的表达^[21-22]。这些研究结果表明,胆汁酸或人工合成的法尼醇受体激动剂在体内可以介导 FXR-SHP-LRH-1 途径抑制 ApoM 的表达。

2.3 LRH-1 调节 ApoM 的表达 LXR α 亦可直接调节肝受体同系物(LRH1)的表达^[23]。Ventenclef 等^[16]分别用基因静默、腺病毒介导过表达、瞬时转染以及染色质免疫沉淀法的技术发现在人和鼠中,肝受体同系物(LRH-1)均直接调节 ApoM 的表达。肝受体同系物(LRH1)是通过识别 ApoM 近端启动子上(-29/-25)基序 5'CAAGG3'并结合到该基序,调节 ApoM 的表达的^[16]。在稳定表达短发夹 RNA(shRNA)的 HepG2 细胞中发现,只有 ApoM 的表达被抑制达 60%,其他如 ApoA2、ApoA4、ApoA5、ApoB、ApoE 等载脂蛋白表达并没有受到影响。为了证明该效应是 RNA 干扰的作用,他们又用腺病毒介导的方法将 LRH1 过表达,有研究表明对应的 ApoM 的表达量升高近 4 倍。同样他们在鼠动物模型中也得到了相似数据,这些都表明 LRH1 在人和鼠的肝组织中均调节 ApoM 的表达^[16]。RXR α /LXR α 通过作用于 ApoM 上的激素效应元件 HRE[DR1 (-33/-21)],而 LRH1 作用于核苷酸 (-29/-25)区^[16,19],这表明他们作用区域 DR4 元件有重叠^[23]。

3 法尼醇 X 受体对 ApoM 的调节

法尼醇 X 受体与相应的配体结合,进而通过 SHP 抑制 LRH1 转录来负向调节 LRH1 的靶基因^[22],如 ApoA1^[24]。Ventenclef 等^[16]认为 ApoM 是孤儿核受体 LRH1 的靶基因,而且证实在肝组织存在着抑制 ApoM 表达的 FXR-SHP-LRH1 信号途径。他们用人工合成激动剂或天然激动剂鹅脱氧胆酸激活激素核受体 FXR,结果发现 SHP 基因表达量增加,而 ApoM 的表达水平随之下降。这表明胆汁酸或合成的 FXR 激动剂通过 FXR-SHP-LRH1 途径抑制 ApoM 的表达。另外,在 SHP-缺陷的老鼠中 ApoM 的表达水平显著升高,这也从另一方面证明了 SHP 的作用^[25]。上述研究表明,FXR-SHP 途径抑制 LRH-1 的表达,进而负向调节 ApoM 的表达。然而,在尚未有人证明在其他组织该途径亦发挥调节 ApoM 表达的作用。

4 其他核受体对 ApoM 的调节

Richter 发现肝细胞核因子 1 α -/- (HNF-1 α -/-)老鼠的 ApoM 表达比 HNF-1 α +/+ 组低 25 倍,这提示 HNF-1 α 可能是 ApoM 的转录激活因子,他们进一步研究发现,HNF-1 α 与 ApoM 核苷酸上近端启动子-103/-88 区域结合来发挥转录调节作用的^[26]。Wolfrum 等^[27]用基因敲除的方法将老鼠的 HNF-1 基因敲除,发现鼠血浆中的 ApoM 几乎完全消失,并出现异常的高密度脂蛋白颗粒。这些结果表明,HNF-1 在调节 ApoM 的表达过程中起到非常重要的作用。最近 Mosialou 等^[28]又报道 HNF-1 与炎症因子 JUN 蛋白竞争性结合 ApoM 的近端启动子区域上特定位点,激活或者抑制 ApoM 的表达。他们用 RNA 干扰技术使 HepG2 细胞的 HNF-1 基因静默,发现 JUN 蛋白抑制 ApoM 的功能消失。在小鼠的 ApoM 近端启动子中亦未发现有功能性结合 JUN 蛋白的 AP-1(-55/-41 区域)位点,但是结合 HNF-1 的功能性结合位点依然存在,说明 JUN 蛋白并不能抑制小鼠 ApoM 的表达,并且 HNF-1 过表达时,能明显减弱 JUN 蛋白的抑制作用^[28]。上述研究说明,JUN 蛋白在 HNF-1 存在的情况下才能起拮抗的作用。

Wolfrum 等^[29]发现高胰岛素血症鼠模型中的 ApoM 比对照组显著降低,他们在进一步研究后证实人和鼠类的肝脏组织都通过胰岛素/磷脂酰肌醇-(3)激酶/丙氨酸氨基转移酶——Foxa2 途径靶向作用于 ApoM 近端启动子上游一段高度保守序列(位于核苷酸-474 区域),从而负向调节 ApoM 的表达。Mosialou 等^[19]研究也表明甲状腺激素受体(TR),视黄酸受体(RAR),过氧化物酶体增殖因子激活受体(PPAR)分别与视黄素 X 受体(RXR)在相应配体刺激下,形成异源二聚体或同源二聚体直接作用于 ApoM 的激素反应元件(HRE)直接调节 ApoM 的表达。另外,初步研究发现,雌激素可能亦参与对 ApoM 表达的调节。

5 总结与展望

综上所述,ApoM 的表达调节是受多种核受体共同作用的。在 T0901317 或氧化固醇类作用下,配体依赖性受体如肝 X 受体 α 和视黄醇 X 受体 α 组成二聚体(RXR α /LXR α)直接作用于 ApoM 近端启动子区-33/-21 区的 HRE,同时会激活法尼醇 X 受体与维甲类 X 受体构成异二聚体,刺激 SHP 的高表达,进而抑制 LRH-1 对 ApoM 转录调节的活力。这或许能够解释激活肝组织和小肠肝 X 受体后 ApoM 表达水平的差异,然而该机制的明确,还需要进一步的研究。另外,肝细胞核因子 4 以及肝细胞核因子 1 直接作用于 ApoM 启动子近端的相应效应元件直接参与调节 ApoM。核受体对 ApoM 表达的调节,为研究 ApoM 的病理、生理功能提供了新的视点,为脂类代谢及冠心病的研究提供了新的思路,进一步研究核受体对 ApoM 的调节,或许为临床治疗脂代谢疾病提供新方法。不同核受体在调节载脂蛋白的数种通路中发挥着不同的作用,虽然至今对核受体调节 ApoM 的研究已经取得了一定的进展,但是 ApoM 表达机制的明确还需要更多的研究来阐明。

参考文献

- [1] Beato M, Herrlich P, Schutz G. Steroid hormone receptors: many actors in search of a plot[J]. Cell, 1995, 83(6): 851-857.
- [2] Mangelsdorf DJ, Thummel C, Beato M, et al. The nuclear receptor superfamily: the second decade[J]. Cell, 1995, 83(6): 835-839.
- [3] Redinger RN. Nuclear receptors in cholesterol catabolism: molecular biology of the enterohepatic circulation of bile salts and its role in cholesterol homeostasis[J]. J Lab Clin Med, 2003, 142(1): 7-20.
- [4] Wang JH, Keisala T, Solakivi T, et al. Serum cholesterol and expression of ApoAI, LXRbeta and SREBP2 in vitamin D receptor knock-out mice[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2009, 113(3-5): 222-226.
- [5] Ladias JA, Hadzopoulou-Cladaras M, Kardassis D, et al. Transcriptional regulation of human Apolipoprotein genes ApoB, ApoCIII, and ApoAII by members of the steroid hormone receptor superfamily HNF-4, ARP-1, EAR-2, and EAR-3[J]. J Biol Chem, 1992, 267(22): 15849-15860.
- [6] Beyea MM, Heslop CL, Sawyez CG, et al. Selective up-regulation of LXR-regulated genes ABCA1, ABCG1, and APOE in macrophages through increased endogenous synthesis of 24(S), 25-epoxycholesterol[J]. J Biol Chem, 2007, 282(8): 5207-5216.
- [7] Xu N, Dahlback B. A novel human Apolipoprotein(ApoM)[J]. J Biol Chem, 1999, 274(44): 31286-31290.
- [8] Zhang XY, Dong X, Zheng L, et al. Specific tissue expression and cellular localization of human Apolipoprotein M as determined by in situ hybridization[J]. Acta Histochem, 2003, 105(1): 67-72.

[9] Luo G, Zhang X, Mu Q, et al. Expression and localization of Apolipoprotein M in human colorectal tissues[J]. *Lipids Health Dis*, 2010(9):102.

[10] Fernandez-Veledo S, Nieto-Vazquez I, Rondinone CM, et al. Liver X receptor agonists ameliorate TNF α -induced insulin resistance in murine brown adipocytes by downregulating protein tyrosine phosphatase-1B gene expression[J]. *Diabetologia*, 2006, 49(12):3038-3048.

[11] Nilsson M, Stulnig TM, Lin CY, et al. Liver X receptors regulate adrenal steroidogenesis and hypothalamic-pituitary-adrenal feedback[J]. *Mol Endocrinol*, 2007, 21(1):126-137.

[12] Zhang X, Zhu Z, Luo G, et al. Liver X receptor agonist downregulates hepatic ApoM expression in vivo and in vitro[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 371(1):114-117.

[13] Calayir E, Becker TM, Kratzer A, et al. LXR-agonists regulate ApoM expression differentially in liver and intestine[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2008, 9(6):516-521.

[14] Schultz JR, Tu H, Luk A, et al. Role of LXRs in control of lipogenesis[J]. *Genes Dev*, 2000, 14(22):2831-2838.

[15] Houck KA, Borchert KM, Hepler CD, et al. T0901317 is a dual LXR/FXR agonist[J]. *Mol Genet Metab*, 2004, 83(1/2):184-187.

[16] Venterclef N, Haroniti A, Tousaint JJ, et al. Regulation of anti-atherogenic Apolipoprotein M gene expression by the orphan nuclear receptor LRH-1[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(7):3694-3701.

[17] Costet P, Luo Y, Wang N, et al. Sterol-dependent transactivation of the ABC1 promoter by the liver X receptor/retinoid X receptor[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(36):28240-28245.

[18] 刘杨, 张晓鹰, 罗光华, 等. ATP 结合盒转运子 A1 对肝 X 受体与载脂蛋白 M 调节通路的影响[J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2010, 4(12):2417-2420.

[19] Mosialou I, Zannis VI, Kardassis D. Regulation of human Apolipoprotein m gene expression by orphan and ligand-dependent nuclear receptors[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(40):30719-30730.

[20] Naiki T, Nagaki M, Shidoji Y, et al. Analysis of gene expression

profile induced by hepatocyte nuclear factor 4 α in hepatoma cells using an oligonucleotide microarray[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(16):14011-14019.

[21] Malerod L, Sporstol M, Juvet LK, et al. Bile acids reduce SR-BI expression in hepatocytes by a pathway involving FXR/RXR, SHP, and LRH-1[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 336(4):1096-1105.

[22] Boulias K, Katrakili N, Bamberg K, et al. Regulation of hepatic metabolic pathways by the orphan nuclear receptor SHP[J]. *EMBO J*, 2005, 24(14):2624-2633.

[23] Tirona RG, Kim RB. Nuclear receptors and drug disposition gene regulation[J]. *J Pharm Sci*, 2005, 94(6):1169-1186.

[24] Delerive P, Galardi CM, Bisi JE, et al. Identification of liver receptor homolog-1 as a novel regulator of Apolipoprotein AI gene transcription[J]. *Mol Endocrinol*, 2004, 18(10):2378-2387.

[25] Huang XS, Zhao SP, Hu M, et al. Apolipoprotein M likely extends its anti-atherogenesis via anti-inflammation[J]. *Med Hypotheses*, 2007, 69(1):136-140.

[26] Richter S, Shih DQ, Pearson ER, et al. Regulation of Apolipoprotein M gene expression by MODY3 gene hepatocyte nuclear factor-1 α : haploinsufficiency is associated with reduced serum Apolipoprotein M levels[J]. *Diabetes*, 2003, 52(12):2989-2995.

[27] Wolfrum C, Poy MN, Stoffel M. Apolipoprotein M is required for prebeta-HDL formation and cholesterol efflux to HDL and protects against atherosclerosis[J]. *Nat Med*, 2005, 11(4):418-422.

[28] Mosialou I, Krasagakis K, Kardassis D. Opposite regulation of the human Apolipoprotein M gene by hepatocyte nuclear factor 1 and Jun transcription factors[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(19):17259-17269.

[29] Wolfrum C, Howell JJ, Ndungo E, et al. Foxa2 activity increases plasma high density lipoprotein levels by regulating Apolipoprotein M[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(24):16940-16949.

(收稿日期:2011-08-03)

• 综 述 •

血吸虫蛋白组学研究进展*

钟政荣¹综述, 沈继龙²审校

(1. 安徽蚌埠医学院第一附属医院检验科 233004; 2. 安徽医科大学病原生物学教研室, 合肥 230032)

关键词: 血吸虫属; 蛋白质组学; 研究

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 20. 031

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)20-2368-04

血吸虫病是热带和亚热带地区主要的寄生虫病之一^[1], 目前全球大约有 2 亿人感染, 每年死亡人数超过 28 万。由于血吸虫能够在宿主血管内生活数十年, 血吸虫明显能够逃逸宿主的免疫反应。因此, 血吸虫病已成为寄生虫乃至免疫学领域的研究热点, 然而目前对血吸虫参与宿主免疫调节的分子机制认识仍然有限。蛋白质组学是系统地研究生物体、组织或细胞的蛋白质表达谱, 是近年来发展起来的一门新兴学科^[2]。尽管一种生物的基因组是相对恒定的, 但是它的转录组和蛋白质组因

细胞而异, 而且随着环境的变化而变化。毋庸置疑, 蛋白质是生命活动的执行者, 是生命现象的直接体现者, 对蛋白质的研究将直接揭示生命现象的本质。

1 血吸虫不同生活史阶段的蛋白组学

血吸虫蛋白组学第一个报道是关于曼氏血吸虫(Sm)的 4 个不同阶段的可溶性蛋白研究: 尾蚴、肺部童虫、成虫和虫卵。该研究利用两维电泳(2-DE)和基质辅助激光解电离子飞行时间质谱技术, 比较了 4 个时期的蛋白质组, 结果表明, 他们之间

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81071376); 安徽省自然科学基金资助项目(090413089); 安徽省教育厅自然科学基金重点项目(KJ2011A205)。