

微粒体三酰甘油转运蛋白研究进展

张彩虹, 刘宏峰 综述, 朱 斌 审校
(山东省淄博市中心医院检验科 255036)

关键词:微粒体三酰甘油转运蛋白; 脂质代谢; 紊乱

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.10.035

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)10-1384-03

微粒体三酰甘油转运蛋白(MTP)是一种主要存在于肝细胞和肠上皮细胞的内质网及微粒体中的蛋白复合物,其主要生理功能是将内质网外的三酰甘油(TG)、胆固醇酯、磷脂酰胆碱转运至内质网腔,参与含有载脂蛋白 B(apoB)的脂蛋白合成,是肝细胞内极低密度脂蛋白(VLDL)及肠上皮细胞内乳糜微粒(CM)的合成及分泌不可或缺的脂质转运蛋白。MTP 表达水平的高低可通过影响脂类和脂蛋白的代谢,从而导致许多疾病,如脂类代谢障碍、代谢性疾病及心血管疾病等。MTP 基因的突变或者缺失等可导致遗传性疾病,例如无 β -脂蛋白血症和糖尿病血脂紊乱等。因此,研究 MTP 对了解人类代谢性疾病具有十分重要的意义。

1 MTP 的结构功能及活性

MTP 是由相对分子质量为 58×10^3 的小亚基和 97×10^3 的大亚基以非共价键结合组成的存在于细胞线粒体和内质网中的脂质转运蛋白^[1]。MTP 包含由中央 α 螺旋、N-末端 β 折叠和 C-末端脂质结合空腔组成的结构模体和 apoB 结合区、脂质结合位点和膜关联区组成的功能结构域。MTP 主要存在于肝细胞和肠上皮细胞的内质网及微粒体中的蛋白复合物。MTP 在囊泡间通过穿梭机制对脂质进行转运,可使胆固醇、磷脂和 TG 在膜间的转运速度加快^[2]。MTP 在肾脏、卵巢和心脏等器官中也有较低水平的表达。Love 等^[3]的研究发现, MTP 在有绒毛的小肠上皮细胞中全程表达,且从小肠上段至末端,表达逐渐减少(上 20% 小肠表达的 MTP 最多,远端 1/3 小肠表达量最少,约为最大表达处的 3%)。在细胞中, MTP 主要分布在微粒体和内质网,其中以内质网含量最高(占总蛋白的 0.5%~1.0%)。MTP 的大亚基由 894 个氨基酸残基构成,是 MTP 的脂质转运作用的功能基团,具有脂质转运活性,其突变会导致脂质转运功能障碍,进而引起无 β -脂蛋白血症;小亚基由 491 个氨基酸构成,免疫化学及氨基酸分析显示 MTP 为蛋白二硫化化合物异构酶(PDI),对保持大亚基催化活性及其可溶性状态具有重要意义,是 MTP 组成和功能的基础。研究表明,单独将 MTP 大亚基表达于昆虫杆状细胞(sf9 细胞)中时, MTP 无活性,且亚细胞成分分析显示表达的蛋白为不可溶的凝聚物;而将 PDI 与 MTP 大亚基一起表达时, MTP 表现出活性,且在可溶性成分中发现 MTP 大亚基及 PDI,这表明 PDI 对 MTP 功能的实现和组成的完整是非常重要的,这对于保持 MTP 的结构及活性是必需的^[4]。

2 MTP 在小肠脂蛋白合成中的作用及其表达调节

乳糜微粒是在小肠合成的富含 TG 的脂蛋白,其主要作用是转运外源性 TG 及胆固醇。乳糜微粒的合成是一个复杂的过程。已知的“两步模型”认为^[5], apoB48 在粗面内质网中合成后,然后在内质网膜腔内,生成一个原始的小而密集的产物,然后,大量的脂质结合进原始颗粒形成成熟的乳糜微粒。该过程涉及 MTP 对 TG、胆固醇和磷脂等脂质的转运。同时,没有

经 MTP 的转运,而合成的高密度颗粒的 apoB48 会被泛素-蛋白酶系统降解。MTP 表达水平改变影响小肠脂蛋白合成,进而影响小肠脂肪吸收功能。研究表明,用 MTP 抑制剂 BMS-200150 作用于人肠癌细胞系(Caco-2 细胞系),会导致 apoB 蛋白的分泌减少,从而导致富含 TG 的脂蛋白的分泌减少^[6]。Fatma 等^[7]也发现,新型的高分子非离子表面活性剂 PL81 处理的细胞, MTP 活性显著降低,细胞内 TG 积聚,乳糜微粒的分泌被抑制。

因此,小肠 MTP 表达调节的研究,对理解不同因素对小肠脂蛋白形成的影响有重要的意义。研究证实, MTP 表达水平可受饮食、胰岛素、胰高血糖素、葡萄糖和油酸盐及细胞内毒素、细胞因子的影响。

2.1 饮食 不同的饮食成分会影响 MTP 的表达水平。动物模型实验结果显示^[8],给予仓鼠高脂饮食或高脂及高糖饮食 31 d 后,小肠细胞内 MTP 大亚基 mRNA 水平增加了 126%, MTP 蛋白含量增加 40%,而单纯给予高糖饮食或使其处于饥饿状态不会导致小肠 MTP mRNA 含量的变化。另外,有关短期饮食的研究报告显示,在开始高脂饮食 24 h,肠内 MTP mRNA 含量开始上调,提示肠道 MTP mRNA 对高脂饮食的反应较快,这可能与肠细胞的更新速度快有关。研究发现, MTP 基因启动子区-116 至-119 区是油酸调控的重要区域,通过与该区域结合,油酸可直接上调 MTP 基因的转录^[9]。此外,也有研究发现,新鲜的大蒜汁以剂量依赖的方式降低 Caco-2 细胞系 MTP mRNA 水平^[10]。体内研究也证实,给予大鼠单一剂量的新鲜大蒜汁,3 h 后大鼠小肠 mRNA 水平下降 46%。将不同浓度的乙醇作用于人肝癌细胞系(HepG2 细胞系),发现 HepG2 细胞的 MTP mRNA 表达水平的高低与 50~100 ppmol/L 的乙醇的剂量及时间依赖的呈正相关性。当乙醇浓度>100 ppmol/L 时,乙醇对 MTP mRNA 表达水平的影响与乙醇的浓度没有必然联系。将乙醇作用于 HepG2 细胞 10 d 后, MTP 活性下降了 50%。给予大鼠 1 g 或 3 g 剂量乙醇,3 h 后小肠 MTP mRNA 表达水平显著抑制^[11]。

2.2 胰岛素、胰高血糖素、葡萄糖和油酸盐 MTP 的调节是受多种因素影响的。大量的研究证实油酸可使 MTP 活性增强。Bremmer 等^[12]则研究发现,在细胞培养基中没有添加胰岛素和胰高血糖素的 MTP mRNA 含量高于添加了的细胞培养基。因此,在活体外,胰岛素、胰高血糖素和 TG 积累都可对肝脏 MTP 活性产生影响。其中,影响最大的是胰岛素。在 MTP 基因启动子区的上游有许多顺式调节元件,其中就包括胰岛素负性调节元件^[13]。有研究发现,把 10^{-7} mol/L 胰岛素和 HepG2 细胞一起分别孵育 3 h 和 6 h 后, MTP 大亚基 mRNA 的表达水平下降了 80%,孵育 12 h 和 24 h 后, MTP 大亚基 mRNA 水平逐渐回升到对照组的 40% 和 60%^[14]。然而体内研究却发现,在高胰岛素血症的动物模型中, MTP 基因的转

录水平增加而不是预想中的减少。研究者们推测,可能是由于这些动物体内存在胰岛素抵抗的结果。Lewis 等^[15]证明了这推论,他们发现胰岛素增敏剂罗格列酮可以显著改善胰岛素抵抗仓鼠 MTP 过度表达的情况。

2.3 细胞内毒素及细胞因子 Navasa 等^[16]发现,在低剂量(0.1 ng/mL)给药 8 h 后,IL-1 和 IL-6 即可使 HepG2 细胞内 MTP 的 mRNA 表达水平显著降低。在同一研究中,他们通过敲除 MTP 启动子区基因发现,上游-121~-88 编码序列是 IL-1 的调节位点。这一区域包括激活蛋白(AP-1)、胰岛素反应元件(IRE)、肝细胞核因子 1(HNF-1)和肝细胞核因子 IV(HNF-4)的共同序列。研究还发现,HNF-4 和 IRE 位点的突变与 IL-1 的作用无相关性,而 AP-1 和 HNF-1 位点的突变则与 MTP 表达量减少和 IL-1 效应的丧失呈现正相关,这表明对 IL-1 调节 MTP 基因的表达与完整的 AP-1 和/或 HNF-1 位点是密切相关的。用染色质免疫沉淀方法研究发现^[17],HNF-4 和 HNF-1 能与 MTP 启动子区的某些组分作用,会使 MTP 基因的表达被直接调节,MTP 基因的表达也会伴随着抑制 HNF-4 的活性时也被抑制。

3 MTP 与疾病

3.1 MTP 与无 β 脂蛋白血症 无 β 脂蛋白血症是一种罕见的常染色体隐性遗传性疾病,其特点是脂肪吸收不良,棘红细胞增多,低血清胆固醇,血清中缺乏含 apoB 的脂蛋白及神经系统的损害。随着对该病不断深入研究发现,该病是由于 MTP 大亚基基因突变引起的^[18],MTP 分子结构异常导致其功能的异常改变,导致转录翻译的脂蛋白分子不能够被正常的组装及分泌,脂质代谢异常,这样就导致血浆内的脂质水平下降,而细胞内的脂质堆积,从而导致无 β 脂蛋白血症研究发现,敲出肠绒毛上皮细胞的 MTP 基因,可导致小鼠脂肪痢、生长停滞和胆固醇吸收降低;小鼠乳糜微粒合成与敲除 MTP 的肠绒毛上皮细胞中含有大的 TG 微滴无明显相关性。此外还发现,肠道乳糜微粒分泌缺失与肝脏脂肪生长和 VLDL 分泌代偿性增加呈负相关性。

3.2 MTP 与脂代谢紊乱 MTP 的启动子区有-164 T/C、-400A/T 和-493 G/T 等几种基因多态性,其中研究较多的是-493G/T,其与血脂及血浆脂蛋白的代谢有密切相关性。黎荣山等^[19]的研究发现,T/T 基因型携带者的 TC、TG、LDL-C 和 apoB 水平明显高于 G/G 和 G/T 基因型携带者。陈莉明等^[20]的研究也发现,与 MTP -493 G/T 和 G/G 基因型携带者相比,携带 T/T 基因型的 2 型糖尿病患者血浆 TG 及 VLDL-C 水平显著升高。目前,已有报道称 MTP 抑制剂能作为高脂血症的治疗药物,包括家族性高胆固醇血症^[21]。动物实验也证实,MTP 抑制剂确实能降低血脂水平^[22-23]。这种作用可能是通过抑制肝脏和小肠含 TG 的脂蛋白分泌而实现的。Ueshima 等^[24]研究发现,MTP 抑制剂 Implitapide 可显著降低 apoE 基因敲除小鼠血浆胆固醇和 TG 水平,且使其粪便排出增加。此外,还有研究显示某些 MTP 抑制剂能有效地减轻体质量。虽然,MTP 抑制剂可使血脂水平降低,但某些脂肪性肝病的形成可与某些 MTP 抑制剂增加了肝脏 TG 的积聚有关^[21,25]。改良后的 MTP 抑制剂 JTT-130,可使血脂明显的降低,而没有导致肝脏脂质聚积和诱导脂肪性肝病发生等副作用。

3.3 MTP 与非酒精性脂肪性肝病 非酒精性脂肪性肝病包括单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎及非酒精性脂肪肝硬化和非酒精性脂肪肝癌。研究显示,肝脏 VLDL 分泌障碍是非

酒精性脂肪性肝病发病的重要环节^[26],小鼠肝脏的 MTP mRNA 高表达可导致肝脏的 VLDL 分泌增加,这就表明 MTP 可决定肝脏 VLDL 的分泌^[27]。因此,MTP 表达及活性异常可诱导非酒精性脂肪性肝病的形成。如果 MTP mRNA 蛋白酶体被阻止可以逆转四氯化碳导致的小鼠肝脏的脂肪变性。Welty 等^[27]发现在 MTP 基因敲除的杂合子小鼠中,肝脏和小肠 MTP mRNA、蛋白及活性下降约 50%,肝脏和小肠不同程度的脂质积聚,并且 TG 的水平要比正常小鼠的 TG 水平高 3 倍。其另一项研究发现,特异性敲除肝细胞中 MTP 基因的小鼠肝细胞中有大量的脂质积聚,肝脏脂肪变性。以上证据表明,MTP 基因的低表达可促使肝细胞内的脂肪堆积,并使脂肪肝的易感性增加,因此 MTP 的高表达可对非酒精性脂肪肝有治疗的作用。MTP 的基因多态性可通过影响核蛋白的特异性等位基因对 MTP 的转录活性进行调节,从而改变 VLDL 的合成水平。大量的研究已经证实了 MTP 基因 493 位点上的单碱基突变(-493 G/T)是增加人群脂肪肝的易感性的独立危险因素。G 等位基因可使 MTP 的转录降低,使肝内 TG 水平升高。

3.4 MTP 与糖尿病 研究证实,糖尿病患者的 MTP mRNA 含量要比非糖尿病患者的 MTP mRNA 含量要高,在经过他汀类药物治疗以后,糖尿病患者的 MTP mRNA 含量则明显地降低^[15]。果糖喂养 5 周建立的胰岛素抵抗非糖尿病的小鼠体内的 MTP 蛋白表达水平比正常喂养的小鼠高 2~3 倍。在罗格列酮喂养的 5 周小鼠模型中,MTP 蛋白的分泌和活性则明显降低。这与胰岛素可能通过调节 MTP 基因启动子区的胰岛素负性调节元件对 MTP 的产生起到调节作用。

4 结 语

MTP 是机体合成和分泌含 apoB 脂蛋白的重要蛋白,在脂蛋白的合成和代谢过程中起着十分重要的作用。饮食、胰岛素及细胞内毒素、细胞因子等因素可对 MTP 的合成进行调控。已有大量研究证实,MTP 在脂质代谢紊乱及其相关疾病中起着重要作用。MTP 基因突变可导致无 β 脂蛋白血症。MTP 抑制剂能降低血脂,减轻肥胖者的体质量,但其副作用会引起肝脏和小肠细胞内脂质的积聚。新型的副作用小的 MTP 抑制剂有待于研究。

参考文献

- [1] Suzuki T, Swift LL. Discovery of novel splice variants and regulatory mechanisms for microsomal triglyceride transfer protein in human tissues[J]. Scientific Rep, 2016, 6: 27308.
- [2] Walsh MT, Di Leo E, Okur I, et al. Structure-function analyses of microsomal triglyceride transfer protein missense mutations in abetalipoproteinemia and hypobetalipoproteinemia subjects[J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1861 (11): 1623-1633.
- [3] Love JD, Suzuki T, Robinson DB, et al. Microsomal triglyceride transfer protein(MTP) associates with cytosolic lipid droplets in 3T3-L1 adipocytes[J]. PLoS One, 2015, 10(8): e0135598.
- [4] Iqbal J, Walsh MT, Hammad SM, et al. Microsomal triglyceride transfer protein transfers and determines plasma concentrations of ceramide and sphingomyelin but not glycosylceramide[J]. J Biol Chem, 2015, 290(43): 25863-

- 25875.
- [5] Khatun I, Walsh MT, Hussain MM. Loss of both phospholipid and triglyceride transfer activities of microsomal triglyceride transfer protein in abetalipoproteinemia[J]. *J Lipid Res*, 2013, 54(6):1541-1549.
- [6] Dai K, Khatun I, Hussain MM. NR2F1 and IRE1 β suppress microsomal triglyceride transfer protein expression and lipoprotein assembly in undifferentiated intestinal epithelial cells[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(3):568-574.
- [7] Fatma S, Yakubov R, Anwar K, et al. Pluronic L81 enhances triacylglycerol accumulation in the cytosol and inhibits chylomicron secretion[J]. *J Lipid Res*, 2006, 47(11):2422-2432.
- [8] Hussain MM, Rava P, Walsh M, et al. Multiple functions of microsomal triglyceride transfer protein [J]. *Nutr Metab(Lond)*, 2012, 9:14.
- [9] Liou YJ, Tsai SJ, Wang YC, et al. Genetic variants of microsomal triglyceride transfer protein(MTTP) are associated with metabolic syndrome in schizophrenic patients treated with atypical antipsychotics[J]. *J Clin Psychopharmacol*, 2013, 33(3):313-318.
- [10] Mohammadi A, Oshaghi EA. Effect of garlic on lipid profile and expression of LXR α in intestine and liver of hypercholesterolemic mice[J]. *J Diabetes Metab Disord*, 2014, 13(1):20-26.
- [11] Szary N, Rector RS, Uptergrove GM, et al. High intrinsic aerobic capacity protects against Ethanol-Induced hepatic injury and metabolic dysfunction; study using high capacity runner rat model[J]. *Biomolecules*, 2015, 5(4):3295-3308.
- [12] Bremmer DR, Trower SL, Bertics SJ, et al. Etiology of fatty liver in dairy cattle; effects of nutritional and hormonal status on hepatic microsomal triglyceride transfer protein[J]. *J Dairy Sci*, 2000, 83(10):2239-2251.
- [13] Hashemi M, Hoseini H, Yaghmaei P, et al. Association of polymorphisms in glutamate-cysteine ligase catalytic subunit and microsomal triglyceride transfer protein genes with nonalcoholic fatty liver disease[J]. *DNA Cell Biol*, 2011, 30(8):569-575.
- [14] Wang FB, Zhu CL, Liu X, et al. HBV inhibits apoB production via the suppression of MTP expression[J]. *Lipids Health Dis*, 2011, 10(1):207-213.
- [15] Lewis GF, Uffelman K, Naples M, et al. Intestinal lipoprotein overproduction, a newly recognized component of insulin resistance, is ameliorated by the insulin sensitizer rosiglitazone; studies in the fructose-fed Syrian golden hamster[J]. *Endocrinology*, 2005, 146(1):247-255.
- [16] Urbatzka R, Galante-Oliveira S, Rocha E, et al. Effects of the PPAR α agonist WY-14,643 on plasma lipids, enzymatic activities and mRNA expression of lipid metabolism genes in a Marine flatfish, *Scophthalmus maximus* [J]. *Aquat Toxicol*, 2015, 164(5):155-162.
- [17] Navab M, Reddy ST, Anantharamaiah GM, et al. D-4F-mediated reduction in metabolites of arachidonic and linoleic acids in the small intestine is associated with decreased inflammation in low-density lipoprotein receptor-null mice[J]. *J Lipid Res*, 2012, 53(3):437-445.
- [18] Nasr MB, Symeonidis C, Mikropoulos DG, et al. Disc swelling in abetalipoproteinemia; a novel feature of Basen-Kornzweig syndrome[J]. *Eur J Ophthalmol*, 2011, 21(5):674-676.
- [19] 黎荣山, 尹瑞兴, 林伟雄, 等. 广西黑衣壮族群微粒体甘油三酯转移蛋白基因多态性与血脂水平的关系[J]. *中华医学杂志*, 2005, 85(35):2492-2496.
- [20] 陈睿, 陈莉明, 孙蓓, 等. 甘油三酯转移蛋白基因多态性对 2 型糖尿病患者血脂水平的影响[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2012, 14(3):320.
- [21] Raper A, Kolansky DM, Sachais BS, et al. Long-term clinical results of microsomal triglyceride transfer protein inhibitor use in a patient with homozygous familial hypercholesterolemia[J]. *J Clin Lipidol*, 2015, 9(1):107-112.
- [22] Vuorio A, Tikkanen MJ, Kovanen PT. Inhibition of hepatic microsomal triglyceride transfer protein—a novel therapeutic option for treatment of homozygous familial hypercholesterolemia[J]. *Vasc Health Risk Manag*, 2014, 10(5):263-270.
- [23] Kim E, Campbell S, Schueller O, et al. A small-molecule inhibitor of enterocytic microsomal triglyceride transfer protein, SLx-4090; biochemical, pharmacodynamic, pharmacokinetic, and safety profile[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2011, 337(3):775-785.
- [24] Ueshima K, Akihisa-Umeno H, Nagayoshi A, et al. Implitapide, a microsomal triglyceride transfer protein inhibitor, reduces progression of atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice fed a Western-type diet; involvement of the inhibition of postprandial triglyceride elevation[J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(2):247-252.
- [25] Chandler CE, Wilder DE, Pettini JL, et al. CP-346086; an MTP inhibitor that lowers plasma cholesterol and triglycerides in experimental animals and in humans[J]. *J Lipid Res*, 2003, 44(10):1887-1901.
- [26] 高鑫. 非酒精性脂肪性肝病研究进展[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2012, 28(7):533-536.
- [27] Welty FK. Hypobetalipoproteinemia and abetalipoproteinemia [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2014, 25(3):161-168.