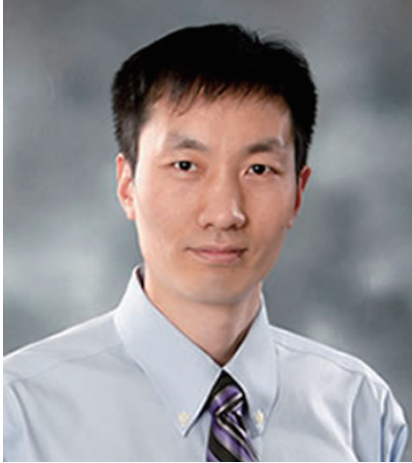


2015年度“中国生命科学领域十大进展”:细胞内胆固醇运输的新机制



◀ 牵头科学家宋保亮, 武汉大学教授, 武汉大学生命科学院院长, 教育部“长江学者”特聘教授, “万人计划”科技创新领军人才入选者, “新世纪百千万人才工程”国家级人选, 国家杰出青年科学基金获得者。曾获陈嘉庚青年科学奖, 中国青年科技奖, 谈家桢生命科学创新奖, 中国细胞生物学学会—普洛麦格创新奖。

✎ 中国科协生命科学学会联合体: 胆固醇是细胞不可或缺的脂类物质, 其代谢异常会引起动脉粥样硬化和神经系统病变。胆固醇不溶于水, 其在细胞内运输机制并不清楚。武汉大学宋保亮团队研究发现, 细胞内过氧化物酶体上的脂质分子PI(4,5)P2与溶酶体 SytVII 蛋白之间相互作用而产生动态接触。通过这一接触, 胆固醇由溶酶体运输至过氧化物酶体, 揭示了胆固醇堆积是过氧化物酶体紊乱疾病的发病原因之一。这项研究发现了细胞内胆固醇运输的新机制, 揭示了过氧化物酶体细胞器的新功能, 同时为治疗胆固醇代谢异常相关疾病提供了新的线索和思路。研究成果在2015年4月《Cell》上发表。

胆固醇的代谢调控与细胞内运输机制

廖雅成¹, 宋保亮²

1. 中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所, 上海 200031
2. 武汉大学生命科学院, 武汉 430072

近年来随着生活水平的提高和饮食习惯的改变, 胆固醇越来越多地出现在公众视野。无论是去医院验血检查时化验单中的胆固醇水平指标, 还是电视广告里铺天盖地的降血脂降胆固醇广告, 胆固醇似乎成为“健康杀手”的代名词。但是, 大家知道的是真实而完整的胆固醇吗? 胆固醇仅仅只有负面作用吗? 我们是如何获取胆固醇的? 胆固醇在人体内又是如何运转利用的? 带着这些问题, 让我们走近胆固醇。

1 “双刃”胆固醇

胆固醇最早发现于胆结石中, 是存在于真核动物细胞上的甾醇类小分子(图1)。胆固醇的分子式是 $C_{27}H_{46}O$, 它具有环戊烷多氢菲的基本结构, 即一个4个碳环组成的刚性疏水身, 和一个亲

水极性的羟基头组成。胆固醇这种独特的结构使它具有一系列重要的生理功能。一方面, 它参入到磷脂双分子膜上, 成为细胞膜的主要组成成分之一, 调节细胞膜的流动性和相变^[1,2]。另一方面, 胆固醇也是包括胆汁酸^[3]、脂溶性维生素和甾醇类激素等生物活性分子的合成前体^[4]。以胆固醇为原料合成的各类类固醇激素参与着机体的各项代谢, 如肾上腺皮质激素(皮质醇、醛固酮等)、雌激素(孕酮、雌二醇等)以及雄激素(睾酮)等。经胆固醇脱氢产生的7脱氢胆固醇, 在皮肤中经紫外线照射后, 可转变为维生素D3,

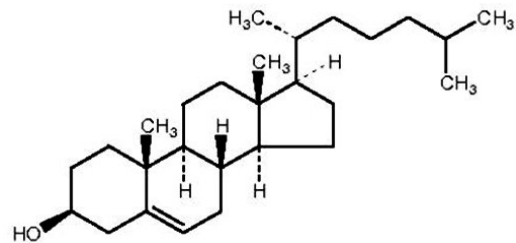


图1 胆固醇的分子结构

在肝及肾中进一步羟化并调节钙、磷代谢。与此同时, 胆固醇还通过蛋白质修饰, 参与了包括 hedgehog 信号通路在内的一些重要的信号通路转导^[5]。此外, 它对神经系统中突触和髓鞘的形成也至关重要。所以, 胆固醇对于有机生命的生存和机能至关重要。

但另一方面, 大量来自临床医学、

实验科学和流行病学的证据指出,过多的胆固醇会导致一系列严重的疾病。动脉粥样硬化就是其中一种常见的危害极大的疾病。在动脉粥样硬化的发病过程中,巨噬细胞迁移到血管下皮,通过表面的清道夫受体吸收大量氧化型胆固醇,巨噬细胞不能有效地外排胆固醇并堆积了大量胆固醇酯,转化成了泡沫细胞,大量的泡沫细胞在血管内皮下堆积,从而形成了动脉硬化斑块。最终血管壁破裂释放斑块,影响正常的血液循环。除此之外,胆固醇代谢的异常还会引起胆结石、脂肪肝、阿尔兹海默氏病等疾病^[2]。另外,胆固醇在细胞运输的异常还会导致如C型尼曼-匹克病(Niemann-Pick type C, NPC)等神经退

行性疾病^[6,7]。所以,机体必须有一套严密而精准的调控机制调节体内胆固醇的平衡。总的来说,胆固醇平衡在个体水平上可以从3个方面调控:内源胆固醇的从头合成、外源胆固醇的吸收、胆固醇的转化和外排(图2)。

2 胆固醇的自身合成

人体胆固醇的最主要来源是胆固醇的自身合成,人体内每天合成的胆固醇总量约为1 g,与人从食物中获取的胆固醇比例约为7:3^[8]。成年人的各个组织都能合成胆固醇,其中肝脏和肠黏膜是合成胆固醇的主要场所,分别占胆固醇合成量的50%和24%,而几乎所有哺乳动物细胞都能合成胆固醇。胆固醇的合成原料是2个碳的乙酰辅酶A,细胞经过30余步酶促反应,通过甲羟戊酸途径合成27个碳的胆固醇^[9]。每合成一分子的胆固醇大约消耗18分子的ATP、27分子的NADPH和11分子的O₂。胆固醇的合成主要发生在内质网上,这个过程涉及很多重要的基因、酶和小分子代谢物。这一过程中的限速步骤是由羟甲基戊二酰辅酶A还原酶(HMG-CoA reductase, HMGCR)控制,它催化了胆固醇合成过程中HMG-CoA转化为甲羟戊酸^[10]。临床上

广泛应用的他汀类降胆固醇药物正是通过抑制HMGCR活性而实现其作用的。近几十年的研究发现,胆固醇合成过程受到SCAP-SREBP通路和HMGCR降解的负反馈调控(图3^[11])。

3 SREBP介导的转录调控

SREBPs属于bHLH-Zip转录因子家族,存在3种形式:SREBP1-a、SREBP1-c和SREBP2。其中SREBP1-a、SREBP1-c是由同一基因通过不同的转录起始位点所转录的,主要负责调控脂肪酸和甘油三酯合成过程中关键基因的表达,而SREBP2主要负责胆固醇合成基因的转录调控。SREBPs在合成后以无活性前体的形式存在于内质网上^[12]。SREBP前体主要由3个结构域组成:N端具有转录调控功能的bHLH-Zip结构域、中部2个跨膜区,朝向内质网的亲水区以及C端的剪切调控区。在内质网上,新合成的SREBPs前体会插入内质网膜,SREBP的C端结构域与SCAP蛋白(SREBP cleavage-activating protein)以及Insig蛋白(insulin-induced gene)形成复合物。在转录调控时,SREBP的N端结构域必须从位于内质网的前体上剪切释放出来,进入细胞核发挥转录调节功能。当细胞内胆固醇水平高时,SCAP的甾醇感受结构域(sterol-sensing domain, SSD)感知ER胆固醇水平,与Insig相结合,将SREBP/SCAP复合物滞留在内质网上,抑制N端转录调控域剪切入核发挥转录调节作用,从而抑制了胆固醇的合成。而当细胞内胆固醇水平降低后,SCAP蛋白构象发生变化,与Insig分离,协助SREBP前体从内质网转运到高尔基体上,在高尔基体上经过S1P(Site-1 protease)、S2P(Site-2 protease)介导的两步酶切后,产生具有转录调节活性的核形式N端结构域(nSREBPs),转运入核,通过结合甾醇调控元件(sterol regulatory element)激活下游胆固醇合成途径相关基因的表达,从而起到增加胆固醇合成供应的作用^[13,14](图4)。

由于SCAP在胆固醇合成中起到

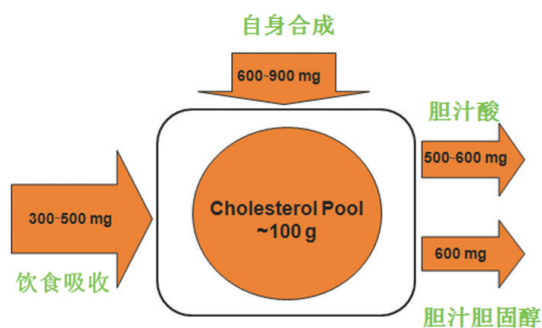


图2 胆固醇的来源与去向

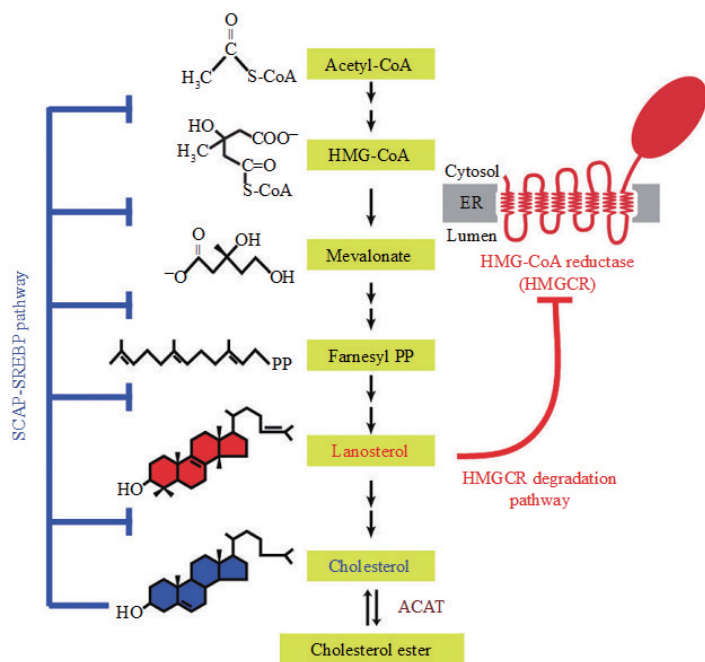


图3 胆固醇的合成与调控

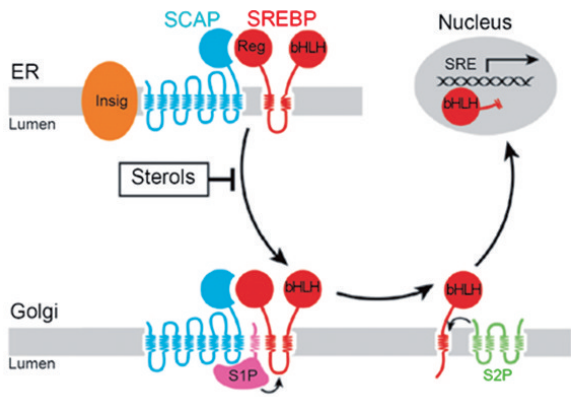


图4 甾醇调控的SREBP通路

关键性的调控作用,本课题组将其作为一个降胆固醇的新靶标做了一系列筛选工作。研究发现一种特异性结合SCAP蛋白的小分子化合物白桦酯醇(Betulin),它能抑制SCAP的构象变化,从而阻止SCAP将SREBP转运到高尔基体剪切产生活性核形式,进而产生抑制胆固醇合成的作用。而进一步动物实验也发现,白桦酯醇可以有效降低小鼠的血脂和肝脂,有望成为新的降脂药物^[15]。

4 HMGCR的降解调控

除转录水平的调控之外,HMGCR作为胆固醇合成的限速酶,也是胆固醇反馈抑制的重要调控位点。其中,甾醇诱导的HMGCR蛋白质降解是其中的重要调控机制。HMGCR的泛素化降解是由氧化型胆固醇(oxysterol)或羊毛甾醇(lanosterol)诱导的。当细胞内的胆固醇水平升高时,氧化型胆固醇或羊毛甾醇在内质网膜上积累,触发了HMGCR与Insig的结合,同时还招募了泛素连接酶gp78^[16]。gp78与泛素交联酶Ubc7和ATP酶VCP97形成复合物,协同将HMGCR泛素化修饰并转运到蛋白酶体上降解。本实验室还发现,Ufd1蛋白(ubiquitin fusion degradation1)能够直接与gp78相互作用而促进gp78的泛素连接酶活性,从而加速HMGCR的降解^[17]。相反的,当细胞内缺乏胆固醇,HMGCR无法与gp78/UBC7/VCP复合物结合,无法完成

对HMGCR的降解,从而胆固醇的合成得以提高。但是,除了HMGCR,gp78还同时介导了Insig-1的降解过程^[18]。这样一方面,gp78可以催化HMGCR泛素化使其快速降解,从而负反馈降低胆固醇合成速率。另一方面,gp78也参与Insig-1的泛素化-蛋白酶体降解途径,而Insig-1是阻止SREBP剪切成熟的负调控因子,降解Insig-1能解除SREBP通路的抑制,激活下游靶基因,增加胆固醇合成速率。本实验室发现,在gp78肝脏KO小鼠中,HMGCR的蛋白量和酶活力增加,泛素化减少,但Insig-1和Insig-2蛋白量和蛋白稳定性也增加,SREBP靶基因下调,胆固醇和脂肪酸的合成速率下降。所以gp78肝脏敲除的整体效果是抑制胆固醇合成^[19](图5^[11])。

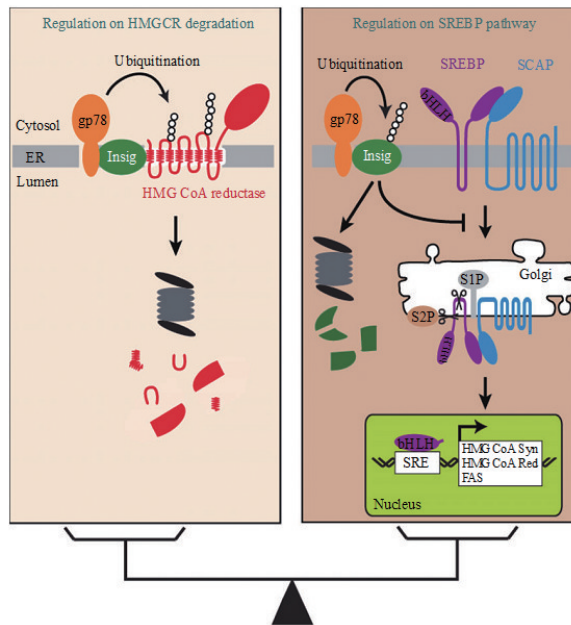


图5 gp78在脂代谢中的作用^[11]

5 胆固醇的小肠吸收

人体获取胆固醇的途径除了通过自身合成外,还有小肠吸收。胆固醇

的合成过程中,每合成一分子胆固醇需要消耗大量能量,与之相比,通过吸收获取胆固醇耗能更少,也更为经济。那么胆固醇在小肠中是如何被吸收的呢?首先看看肠道中胆固醇都从哪里来。肠道中的胆固醇主要有3个来源,分别是食物、胆汁和脱落的小肠上皮细胞。食物中的脂质经过小肠中多种消化酶处理后,甘油三酯和磷脂被逐渐分解消化,释放出游离胆固醇。在胆汁中也有着大量的游离胆固醇,它们是由肝脏细胞膜上的甾醇转运蛋白ABCG5/G8外排到胆汁中。胆固醇是高度疏水的小分子,要与小肠绒毛上皮吸收细胞结合前,需要穿过一层肠腔与绒毛吸收细胞间的静水层。这个过程需要胆汁酸的帮助,胆汁酸是既包含亲水性羧基和羟基又包含疏水性烃基的两性分子,它可以帮助包括胆固醇在内的脂质乳化形成球状微团,从而穿越静水屏障到达上皮细胞表面^[20]。

那么胆固醇是如何进入小肠吸收细胞的呢?一直以来,人们认为胆固醇吸收是一个不依赖能量的被动扩散过程。但事实上小肠吸收胆固醇的速率

是十分高效的,小肠对胆固醇的吸收效率远高于其他与胆固醇结构相似的植物性甾醇,而且,不同人群对胆固醇的吸收效率也相距甚远。这种高效、特异性,而又具有差别性的胆固醇吸收特点对于被动扩散都是难以实现的。因此,在小肠吸收细胞的刷状缘膜上,推测存在一个能特异、高效介导胆固醇分子吸收的蛋白。2004年,Altmann等通过生物信息学预测发现了这个蛋白NPC1L1^[21]。NPC1L1是定位于小肠上皮细胞刷状缘膜上的13次跨膜蛋白,它的N端位于细胞膜外侧朝向肠腔,C端位于细胞内,而3~7跨膜区段构成了甾醇感受结构域^[22]。NPC1L1在小肠中大量表达,在

空肠和回肠段表容量达到最高^[23]。而在人或其他灵长动物体内, NPC1L1 也在朝向胆汁的胆小管膜上表达, 负责重吸收肝脏分泌到胆汁中的胆固醇。在敲除 NPC1L1 后, 小鼠对胆固醇的吸收效率下降约 70%^[21], 而甘油三酯等其他脂质的吸收不受影响, 表明 NPC1L1 特异性参与小肠胆固醇的吸收过程。并且, 临床上唯一使用的胆固醇吸收抑制剂 Ezetimibe 不能进一步降低 NPC1L1 敲除小鼠的胆固醇吸收, 说明 NPC1L1 是 Ezetimibe 的作用靶点^[24]。

NPC1L1 是如何介导胆固醇进入小肠吸收细胞, 又有哪些蛋白质因子参与到胆固醇的吸收过程。本实验室对此开展了一系列研究, 发现 NPC1L1 有 2 个功能结构域, 其中, 羧基端有一个保守的 YVNxxF 内吞信号, 当细胞质膜上的胆固醇含量低时, NPC1L1 蛋白 COOH 端的 YVNxxF 内吞信号区段与细胞质膜结合, 无法启动内吞; 而当肠腔内有胆固醇流动时, NPC1L1 蛋白的 NH₂ 结构域 (NTD) 可以特异性结合胆固醇^[25]。同时, 质膜上的脂筏组成蛋白 Flotillin-1 和 Flotillin-2 与 NPC1L1 结合, 协助 NPC1L1 在其周围形成一个富含胆固醇的微结构域^[26]。局部的高胆固醇导致 NPC1L1 的蛋白质构象变化, 使羧基端的 YVNxxF 序列与质膜解离。暴露的细胞质 YVNxxF 内吞信号被接头蛋白 Numb 识别, Numb 进一步招募 Clathrin/AP2, 装配形成内吞复合体, 启动囊泡内吞 (图 6)^[27]。随后这些富含胆固醇的囊泡, 通过内吞沿着微丝转运到内吞循环体上 (ERC)^[28]。而当细胞缺乏胆固醇时, 内吞进入 ERC 的 NPC1L1 与胆固醇分离, 激活的 Cdc42 蛋白通过调控 N-WASP、Arp2/3、Rab11a / Rab11- FIP2/MyosinVb 等膜泡运输相关蛋白将 NPC1L1 蛋白沿着微丝重新转运到质膜上^[25], 继续参与胆固醇的吸收。作为介导胆固醇吸收的关键蛋白, NPC1L1 的表达水平和变异与胆固醇的吸收效率有着密切关系。我们发现, 在人群中鉴定出的 NPC1L1 的部分非同义突变, 会导致 NPC1L1 表达、亚细胞定位、糖基化、蛋

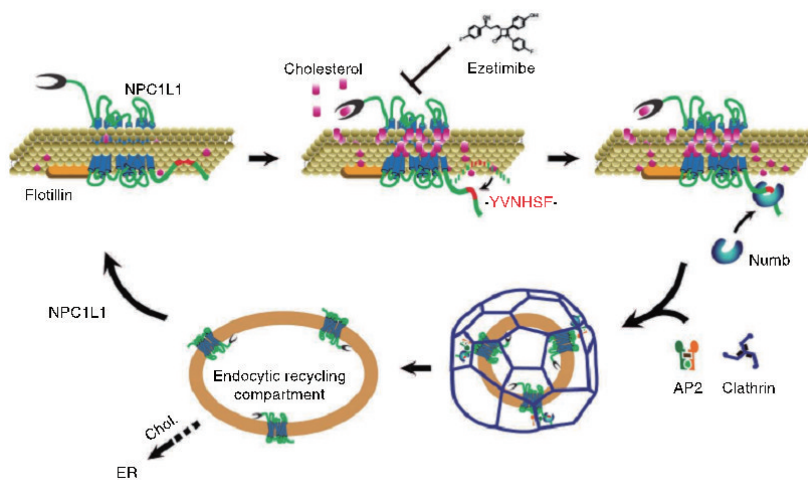


图6 NPC1L1介导的胆固醇吸收

白稳定性等异常, 从而降低 NPC1L1 介导的胆固醇的吸收效率^[29]。并且, 在小鼠体内观察到, 喂食胆固醇会诱导小肠刷状缘膜下出现包含 NPC1L1 的囊泡, 而 Ezetimibe 处理会抑制这些囊泡的出现^[23]。

在胆固醇被运输入吸收细胞后, 绝大部分胆固醇在小肠吸收细胞内被重新酯化。目前唯一已知的胆固醇酯化酶是酰基辅酶 A: 胆固醇酰基转移酶蛋白 (ACAT) 蛋白, 它能催化胆固醇和长链脂肪酸形成胆固醇酯。ACAT 蛋白定位在内质网上, 其中 ACAT1 表达在各组织和细胞中, 而 ACAT2 特异性地表达于小肠和肝脏细胞中, 胆固醇在运输到内质网上后, 由内质网上的 ACAT2 催化形成胆固醇酯^[30]。这些胆固醇再在载脂蛋白 ApoB 和 MTTP 等作用下, 同甘油三酯、磷脂及少部分的游离胆固醇一起装配形成乳糜微粒, 经基底膜分泌进入淋巴循环^[31]。

6 胆固醇的转化与外排

人体胆固醇来源包含了自身合成与吸收, 而胆固醇的去向则包含了胆固醇的转化和外排。在哺乳动物细胞内, 胆固醇无法被彻底氧化分解为二氧化碳和水, 而是经氧化、还原转变为其他含环戊烷多氢菲母核的化合物, 经一步参与体内代谢。除机体自身转化利用的胆固醇外, 多余的胆固醇还可以胆固醇酯形式存储在细胞内或者直接外排

到肠腔中, 也可以将胆固醇外排到高密度脂蛋白中, 由高密度脂蛋白运送回肝脏。在肝脏中, 胆固醇经羧化、侧链氧化断裂, 转变为胆汁酸, 通过肝脏分泌胆汁的形式排出体外。人体每天排出约 1.2 g 的胆固醇, 其中 1/2 是以胆汁酸的形式排出, 这些胆汁酸能进入肠道帮助脂类物质消化吸收。在小肠下段, 大部分胆汁酸又通过肝循环重新收入肝脏构成胆汁的肝肠循环, 小部分胆汁酸在经肠道细菌的作用后排出体外。除此之外, 小肠也能直接将胆固醇排入肠道, 或者通过肠黏膜脱落而排入肠腔, 以及被肠道细菌还原为粪固醇后排出体外。

LXR 是近年来发现的调节胆固醇外排的转录因子。它可以通过调节胆固醇输出、胆汁酸的产生、脂肪酸的合成以及脂质转运蛋白的表达来调节胆固醇代谢的动态平衡^[32]。它能活化包括 ABCA1、ABCG5/8 及 Cyp7a1 在内的参与胆固醇外排的基因的表达。而在肠道细胞中植物甾醇和胆固醇含量过高时, 位于小肠细胞刷状缘面的 ABCG5/ABCG8 能介导多余的植物甾醇和胆固醇外排到肠腔中^[33]。

7 胆固醇的细胞内运输

无论是内源合成的胆固醇从肝脏运送到身体各组织利用, 还是组织细胞将胆固醇运回肝脏代谢, 都涉及胆固醇的运输。胆固醇在血液中以脂蛋白的

形式进行运输。脂蛋白主要由载脂蛋白、磷脂、甘油三酯、胆固醇及胆固醇酯组成。根据密度可将脂蛋白颗粒分成4类:乳糜微粒、极低密度脂蛋白(very low-density lipoprotein, VLDL)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)、高密度脂蛋白(high low-density lipoprotein, HDL)。乳糜微粒负责肠道吸收的甘油三酯、磷脂和胆固醇的运输;VLDL主要用于甘油三酯的转运;LDL负责将肝脏合成的内源性胆固醇运往全身各处;而HDL负责将各组织外排的胆固醇运回肝脏代谢。不同脂蛋白颗粒中的脂质比例差异很大。其中LDL中的胆固醇和胆固醇酯含量最高,可占到LDL质量的50%,也是血液中运输胆固醇的主力。

肝脏合成的胆固醇由血液中的LDL运送到全身各处,供各组织细胞使用。而在各组织细胞上负责接收LDL的是位于细胞质膜上的受体LDLR。它最早由Brown和Goldstein在研究家族性高胆固醇血症时发现。在高胆固醇血症患者体内,由于LDLR的突变,血浆中LDL含量是正常人的4~6倍。LDLR广泛存在于哺乳动物外周细胞中,是一个单次跨膜蛋白,它可以通过受体介导的内吞途径介导LDL的吸收。在这个过程中,LDLR的胞外段与载脂蛋白ApoB相互作用,从而介导了LDLR与LDL的结合。随后,接头蛋白ARH和Dab2结合识别LDLR胞浆段的信号序列,而进一步招募了包被蛋白clathrin和脚手架蛋白AP2,形成clathrin包被的凹陷小窝(coated pit),LDLR携带LDL被富集到小窝中起始内吞。这些囊泡在进入细胞后,脱离了包被蛋白clathrin和脚手架蛋白AP2,进一步与早期内体(early endosome)相结合,进入晚期内体(late endosome)和溶酶体(lysosome)中。在晚期内体和溶酶体低pH值的诱导下,LDL从LDLR上解离下来,LDLR被转运至细胞质膜上继续被循环利用,而LDL则在多种胆固醇酯酶等作用下分解为脂肪酸和游离胆固醇^[34]。

LDL在溶酶体中水解释放出的胆

固醇后,在溶酶体内继续由NPC1、NPC2这2个蛋白进行运输。NPC1是一个位于溶酶体膜上的具有13次跨膜结构的膜蛋白,而NPC2是位于溶酶体腔中的可溶性蛋白。NPC1和NPC2的突变都会导致一种严重的神经退行性疾病——C型尼曼-匹克病(Niemann-Pick C disease, NPC disease)。目前的统计数据,现实NPC疾病中由NPC1突变引起的占总数的95%,由NPC2突变引起的占总数的5%^[6]。在NPC疾病中,胆固醇、鞘磷脂、神经节苷酯等转运发生异常,在溶酶体内产生堆积。患者多在幼年时发病,表现为肝脾肿大、进行性神经细胞死亡、小脑共济失调等症状,患者多在青春期前死亡。NPC1、NPC2在溶酶体内是如何转运胆固醇的呢?目前认为,NPC2首先结合水解释放的游离胆固醇,胆固醇的烷基侧链可以插入到NPC2蛋白的疏水口袋,而亲水的羟基端则被暴露在外。NPC1的N端结构域进一步与暴露在外面的胆固醇羟基结合,从而以一种手对手的形式接收了由NPC2传递而来的胆固醇。随后,NPC1将胆固醇插入到溶酶体膜上(图7)^[35]。

那么,胆固醇在到达溶酶体膜上之后,是如何离开溶酶体,又是如何进一步到达其他细胞器上呢?在细胞内,又是哪些蛋白质负责这一运输?为了回答这些问题,本实验室设计了一套筛选

方案,筛选细胞内胆固醇运输有缺陷的细胞。我们利用两性酶素B的小分子作为筛选药物,这种小分子具有一个特性,它可以结合细胞质膜上的胆固醇,形成孔道结构,增大细胞通透性,造成细胞内容物外泄,最终导致细胞死亡。对于两性酶素B这个小分子的利用,步骤为:首先,将细胞培养在含有LDL、U18666A、lovastatin和mevalonate的去脂蛋白血清培养基中。其中,lovastatin抑制内源性胆固醇合成,并提高LDLR表达,低浓度mevalonate保证细胞的正常功能,而LDL和U18666A导致大量胆固醇在溶酶体和细胞内堆积。随后,使用环化糊精短时间处理细胞,去除掉质膜上的胆固醇,再将细胞培养基更换为不含U18666A的培养基。这时,在胆固醇转运正常的细胞中,胆固醇会从溶酶体中转运到细胞质膜上,这样用两性酶素B处理细胞,细胞会穿孔死亡。而在胆固醇运输有缺陷的细胞中,溶酶体内的胆固醇无法转运到细胞质膜上,这样两性酶素B的处理起不到作用,细胞从而存活下来。因此,用这个方法可以杀死正常细胞而富集胆固醇运输有缺陷的细胞。在建立筛选方法后,开始对参与胆固醇运输的基因进行大规模筛选。首先,用慢病毒介导的全基因组shRNA文库感染细胞;再用筛选方法对这群细胞进行多轮筛选,逐步富集胆固醇运输缺陷的细胞;最后,结合高通

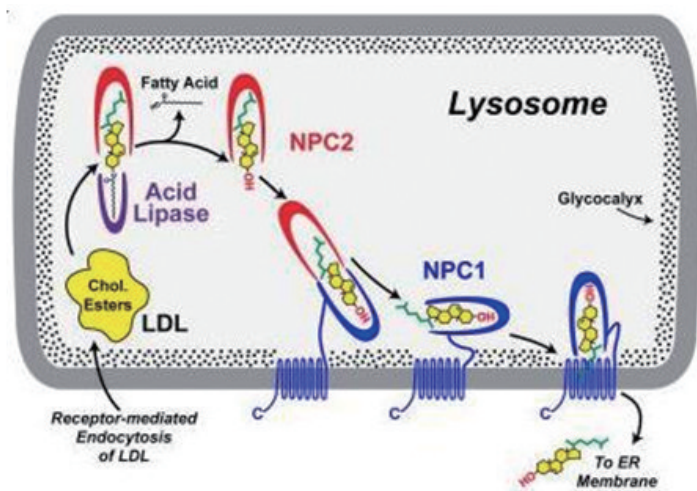


图7 胆固醇运输与尼曼匹克C疾病

量测序, 鉴定在这些缺陷细胞中影响胆固醇运输的基因。大规模筛选获得了 341 个参与胆固醇细胞内运输的候选基因, 通过生物信息学分析, 发现和过氧化物酶体相关的基因被大量富集出来。在把注意力放在过氧化物酶体上后, 我们发现了一个有趣的现象, 过氧化物酶体和溶酶体间具有膜接触。为排除我们看到的膜接触是由于显微镜分辨率不够造成的假象, 进一步用超高分辨率显微镜、三维重构、透射电镜、实时荧光显微镜、细胞器免疫共沉淀、体外重构来验证过氧化物酶体和溶酶体接触这一现象。接下来继续发现, 溶酶体和过氧化物酶体间的接触是由溶酶体上蛋白 Syt7 结合过氧化物酶体上磷脂 PI(4,5)P₂ 所介导的, 而这 2 个细胞器间的膜接触, 能介导胆固醇由溶酶体向过氧化物酶体的转运 (图 8)。这样我

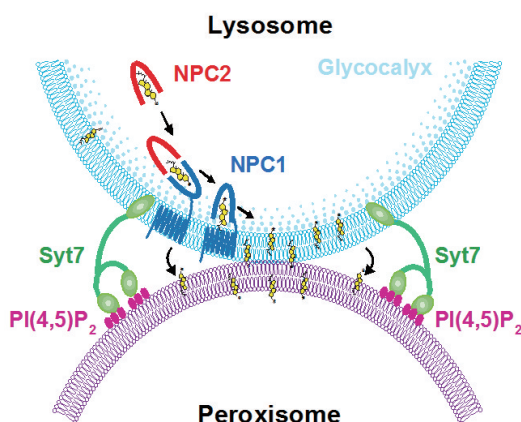


图 8 溶酶体过氧化物酶体接触介导的胆固醇运输

们的工作发现了胆固醇从溶酶体运输出来的一个新途径, 并揭示了过氧化物酶体这种细胞器转运胆固醇这一新的功能。同时还发现, 在过氧化物酶体紊

乱疾病的病人细胞和动物模型中, 也有胆固醇的堆积, 提示胆固醇运输异常可能是导致这些过氧化物酶体疾病的原因之一^[36]。

8 结论

胆固醇是生命体不可或缺的脂质小分子, 在许多生命过程中发挥着重要作用。但如果胆固醇代谢或者运输失调, 也会导致动脉粥样硬化、冠心病甚至退行性神经系统疾病。因此, 深入研究胆固醇合成、吸收以及细胞内胆固醇运输等机制, 有助于我们理解这些胆固醇相关疾病, 并对相关疾病的治疗提供必不可少的基础。

参考文献

- [1] Chang T Y, Chang C C, Ohgami N, et al. Cholesterol sensing, trafficking, and esterification[J]. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 2006, 22: 129-157.
- [2] Maxfield F R, Tabas I. Role of cholesterol and lipid organization in disease[J]. Nature, 2005, 438: 612-621.
- [3] Russell D W. The enzymes, regulation, and genetics of bile acid synthesis[J]. Annual Review of Biochemistry, 2003, 72: 137-174.
- [4] Payne A H, Hales D B. Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones[J]. Endocrine Reviews, 2004, 25: 947-970.
- [5] Porter J A, Young K E, Beachy P A. Cholesterol modification of hedgehog signaling proteins in animal development[J]. Science, 1996, 274: 255-259.
- [6] Carstea E D, Morris J A, Coleman K G, et al. Niemann-Pick C1 disease gene: Homology to mediators of cholesterol homeostasis[J]. Science, 1997, 277: 228-231.
- [7] Loftus S K, Morris J A, Carstea E D, et al. Murine model of Niemann-Pick C disease: Mutation in a cholesterol homeostasis gene[J]. Science, 1997, 277: 232-235.
- [8] Grundy S M. Absorption and metabolism of dietary cholesterol[J]. Annual Review of Nutrition, 1983, 3: 71-96.
- [9] Espenshade P J, Hughes A L. Regulation of sterol synthesis in eukaryotes[J]. Annual Review of Genetics, 2007, 41: 401-427.
- [10] Goldstein J L, Brown M S. Regulation of the mevalonate pathway[J]. Nature, 1990, 343: 425-430.
- [11] De Bose-Boyd R A. Feedback regulation of cholesterol synthesis: sterol-accelerated ubiquitination and degradation of HMG CoA reductase[J]. Cell Research, 2008, 18: 609-621.
- [12] Brown M S, Goldstein J L. The SREBP pathway: Regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor[J]. Cell, 1997, 89: 331-340.
- [13] Horton J D, Goldstein J L, Brown M S. SREBPs: Activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver[J]. Journal of Clinical Investigation, 2002, 109: 1125-1131.
- [14] 柳童斐, 宋保亮. 胆固醇合成途径的负反馈调控机制[J]. 中国细胞生物学学报, 2013, 35(4): 401-409.
- [15] Tang J J, Li J G, Qi W, et al. Inhibition of SREBP by a small molecule, betulin, improves hyperlipidemia and insulin resistance and reduces atherosclerotic plaques[J]. Cell Metabolism, 2011, 13: 44-56.
- [16] Song B L, Sever N, DeBose-Boyd R A. Gp78, a membrane-anchored ubiquitin ligase, associates with Insig-1 and couples sterol-regulated ubiquitination to degradation of HMG CoA reductase[J]. Molecular Cell, 2005, 19: 829-840.
- [17] Cao J, Wang J, Qi W, et al. Ufd1 is a cofactor of gp78 and plays a key role in cholesterol metabolism by regulating the stability of HMG-CoA reductase [J]. Cell Metabolism, 2007, 6: 115-128.
- [18] Lee J N, Song B, DeBose-Boyd R A, et al. Sterol-regulated degradation of Insig-1 mediated by the membrane-bound ubiquitin ligase gp78[J]. Journal

- of Biological Chemistry, 2006, 281: 39308–39315.
- [19] Liu T F, Tang J J, Li P S, et al. Ablation of gp78 in liver improves hyperlipidemia and insulin resistance by inhibiting SREBP to decrease lipid biosynthesis[J]. Cell Metabolism, 2012, 16: 213–225.
- [20] Wang D Q. Regulation of intestinal cholesterol absorption[J]. Annual Review of Physiology, 2007, 69: 221–248.
- [21] Altmann S W, Davis H R, Zhu L J, Jr, et al. Niemann–Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption[J]. Science, 2004, 303: 1201–1204.
- [22] Wang J, Chu B B, Ge L, et al. Membrane topology of human NPC1L1, a key protein in enterohepatic cholesterol absorption[J]. Journal of Lipid Research, 2009, 50: 1653–1662.
- [23] Xie C, Zhou Z S, Li N, et al. Ezetimibe blocks the internalization of NPC1L1 and cholesterol in mouse small intestine[J]. Journal of Lipid Research, 2012, 53: 2092–2101.
- [24] Rosenblum S B, Huynh T, Afonso A, et al. Discovery of 1-(4-fluorophenyl)-(3R)-[3-(4-fluorophenyl)-(3S)-hydroxypropyl]-(4S)-(4-hydroxyphenyl)-2-azetidinone (SCH 58235): A designed, potent, orally active inhibitor of cholesterol absorption[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 1998, 41: 973–980.
- [25] Xie C, Li N, Chen Z J, et al. The small GTPase Cdc42 interacts with Niemann–Pick C1-like 1 (NPC1L1) and controls its movement from endocytic recycling compartment to plasma membrane in a cholesterol-dependent manner[J]. Journal of Biological Chemistry, 2011, 286: 35933–35942.
- [26] Ge L, Qi W, Wang L J, et al. Flotillins play an essential role in Niemann–Pick C1-like 1-mediated cholesterol uptake[J]. PNAS, 2011, 108: 551–556.
- [27] Li P S, Fu Z Y, Zhang Y Y, et al. The clathrin adaptor Numb regulates intestinal cholesterol absorption through dynamic interaction with NPC1L1[J]. Nature Medicine, 2014, 20: 80–86.
- [28] Ge L, Wang J, Qi W, et al. The cholesterol absorption inhibitor ezetimibe acts by blocking the sterol-induced internalization of NPC1L1[J]. Cell Metabolism, 2008, 7: 508–519.
- [29] Wang L J, Wang J, Li N, et al. Molecular characterization of the NPC1L1 variants identified from cholesterol low absorbers[J]. Journal of Biological Chemistry, 2011, 286: 7397–7408.
- [30] Anderson R A, Joyce C, Davis M, et al. Identification of a form of acyl-CoA:cholesterol acyltransferase specific to liver and intestine in nonhuman primates[J]. Journal of Biological Chemistry, 1998, 273: 26747–26754.
- [31] Wetterau J R, Aggerbeck L P, Bouma M E, et al. Absence of microsomal triglyceride transfer protein in individuals with abetalipoproteinemia[J]. Science, 1992, 258: 999–1001.
- [32] Tontonoz P, Mangelsdorf D J. Liver X receptor signaling pathways in cardiovascular disease[J]. Molecular Endocrinology, 2003, 17: 985–993.
- [33] Dikkers A, Tietge U J. Biliary cholesterol secretion: More than a simple ABC[J]. World Journal of Gastroenterology, 2010, 16: 5936–5945.
- [34] Brown M S, Goldstein J L. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis[J]. Science, 1986, 232: 34–47.
- [35] Kwon H J, Abi-Mosleh L, Wang M L, et al. Structure of N-terminal domain of NPC1 reveals distinct subdomains for binding and transfer of cholesterol[J]. Cell, 2009, 137: 1213–1224.
- [36] Chu B B, Liao Y C, Qi W, et al. Cholesterol transport through Lysosome–peroxisome membrane contacts[J]. Cell, 2015, 161: 291–306.

(责任编辑 王媛媛)