

肠道胆固醇转运关键蛋白 NPC1L1 的研究进展

许崇利¹, 欧阳红生²

(1. 吉林化工学院 生物与食品工程学院, 吉林 吉林 132022; 2. 吉林大学 动物医学学院, 长春 130062)

摘 要: Niemann-Pick C1 Like1(NPC1L1)是肠道吸收胆固醇的关键转运蛋白. NPC1L1 存在于小肠上皮细胞刷状缘膜上. 影响着胆固醇吸收和血浆低密度脂蛋白水平, 是维持体内胆固醇代谢平衡的重要因素. 同时也是新型降脂药物依泽替米贝的作用靶点.

关键词: NPC1L1; 肠道胆固醇吸收; 胆固醇转运

中图分类号: Q512

文献标志码: A

小肠对胆固醇的吸收开始于饮食和胆汁中胆固醇的胶团增溶作用. 在人体中, 大约 50% 的肠道胆固醇被吸收, 其中 2/3 的胆固醇来自于胆汁, 另外 1/3 来自于饮食. 随后, 游离的胆固醇从胶团被转移到肠上皮细胞刷状缘膜的表面. 直到现在, 人们对游离胆固醇转运机制仍然知之甚少. 依泽替米贝(Ezetimibe), 作为一种有效的选择性抑制剂^[1-3], 抑制动物和人类肠胆固醇摄取和吸收, 这表明肠胆固醇的摄取过程是由一个特定的转运者介导的^[4-7].

1 NPC1L1 的组织分布

NPC1L1 的氨基酸序列 40% 和 NPC1 是相同的, 并且像 NPC1 一样, 在 N-末端有一个信号肽, 中部有一个甾醇敏感区. NPC1L1 的表达分布具有物种差异性. 在小鼠中, 主要表达于小肠中^[8-9]. 而在人类, 除了在小肠中表达以外, 在肝脏中也大量表达. 研究表明, NPC1L1 存在于肠上皮细胞的刷状缘膜和肝脏胆小管膜上. NPC1L1 基因敲除小鼠饮食中胆固醇在肠道的吸收水平大约为野生型小鼠的一半, 并且残留的低水平胆固醇对依泽替米贝治疗不敏感. 而且给敲除的小鼠饲喂高胆固醇的膳食不能诱导高胆固醇血症, 也不能生成脂肪肝^[10-11]. NPC1L1 的组织性分布和基因敲除小鼠模型表明, NPC1L1 是肠道吸收胆固醇的关键转运蛋白^[12]. 另外, 唐蔚清等^[13]构建的肝脏中特异性表达 NPC1L1 的转基因小鼠表明, NPC1L1 定位于肝胆小管膜上, 并且在重新吸收胆汁胆固醇到肝脏中起着重要作用.

2 NPC1L1 和植物甾醇

依泽替米贝已被证明可以降低高胆固醇血症患者和谷固醇血症患者血浆当中植物甾醇水平, 这两种病是由 ABCG5 或 ABCG8 基因突变引起的. ABCG5/G8 是异源二聚体, 是 ATP 结合盒式转运蛋白家族的一员, 主要分布在肝细胞和肠上皮细胞的细胞膜上, 二者同被细胞核激素受体 LXR α 所调控. 它们的功能是运输植物甾醇到胆汁和肠腔^[14-15]. ABCG5/G8 任何一个功能丧失, 都会引起血清和组织中植物甾醇水平的增加, 从而导致遗传性谷固醇血症. 研究表明, 在大量表达 NPC1L1 的转基因小鼠中, 饮食中胆固醇的吸收量下降了 50%, 并且胆汁中胆固醇的浓度增加了 5 倍^[14]. 相比于胆固醇而言, 植物甾醇很难被吸收, 并且植物甾醇和胆固醇是否通过相同的机制被吸收进入肠上皮细胞尚不清楚. 在 NPC1L1 基因敲除或 NPC1L1/AB-

收稿日期: 2014-06-20

基金项目: 国家科技支撑计划(2011BA115B02)

作者简介: 许崇利(1974-), 男, 黑龙江鸡东人, 吉林化工学院副教授, 博士, 从事微生物与基因工程研究, E-mail: xcl902@163.com.

CG5/ABCG8 基因敲除的小鼠中,植物甾醇、菜油甾醇和谷甾醇的血浆水平基本检测不到,并且家养小鼠相对于野生型小鼠而言,也都减少了 90% 以上. 在 NPC1L1 基因敲除的小鼠的肠道中,被标记的谷甾醇吸收减少了,这和观察到的依泽替米贝处理过的野生型小鼠谷甾醇的吸收减少相似. 这些结果表明,NPC1L1 是胆固醇和结构上相关的植物甾醇吸收的转运者,而且依泽替米贝的作用效果是抑制 NPC1L1 的通路^[16].

3 NPC1L1 和疾病

胆固醇是细胞膜重要的组成成分,也是胆汁酸和固醇类激素合成的前体. 然而血液中的胆固醇含量过高则会引发动脉粥样硬化、冠心病和心脏病. 通过抑制 NPC1L1 的表达来降低血液中胆固醇含量,对上述疾病产生积极的治疗作用. 研究表明,在 ApoE 基因敲除小鼠中,依泽替米贝能够减少胆固醇的吸收,降低血液中胆固醇含量,有效地抑制动脉粥样硬化的进一步恶化^[17]. 而在 NPC1L1 和 ApoE 基因都敲除的小鼠中,则大大降低了胆固醇的吸收,几乎完全抑制了动脉粥样硬化的发生和发展^[18]. NPC1L1 在代谢性疾病中也扮演着重要的角色. 依泽替米贝和敲除 NPC1L1 对代谢性疾病都具有有效的治疗作用. 依泽替米贝通过降低胆固醇的吸收抑制肝脏的脂肪变性,从而对非酒精性脂肪肝起到有效的治疗作用^[19]. NPC1L1 基因敲除小鼠即使给予高脂饲喂,也能阻止脂肪肝的形成^[11]. 另外抑制 NPC1L1 也可以有效地改善胰岛素的耐受性^[20]. 上述研究表明 NPC1L1 在代谢性疾病的发病机制中起着关键作用. 抑制 NPC1L1 和 NPC1L1 介导的肠道胆固醇吸收,对于非酒精性脂肪肝、胰岛素耐受性,2 型糖尿病等代谢类疾病会起到有效的预防和治疗作用.

4 NPC1L1 和其它肠胆固醇转运者

NPC1L1 在肠胆固醇和植物甾醇的摄取和吸收方面发挥着关键作用. 但位于空肠上皮细胞处的 B 类 I 型清道夫受体 (SR-BI) 也被认为在胆固醇吸收和提升依泽替米贝活性方面发挥着作用^[21]. 研究发现在 NPC1L1^{-/-} 小鼠中,胆固醇的吸收减少了 90%, 在 SR-BI/NPC1L1^{-/-} 小鼠中,胆固醇的吸收减少了 92%, 这类似于 SR-BI^{-/-} 小鼠中的野生型. 这表明 SR-BI 的缺乏在胆固醇摄取和吸收方面并没有显著的影响. 同时为更好地了解缺乏 SR-BI 和 NPC1L1 时胆固醇的吸收变化,实验测定了肠和肝脏中相关胆固醇代谢基因 mRNA 的表达水平. 在 SR-BI^{-/-} 小鼠中,基因表达的变化和胆固醇饲喂的野生型小鼠是相似的,而在 SR-BI/NPC1L1^{-/-} 中基因的变化类似于 NPC1L1^{-/-} 小鼠. 上述实验结果表明 NPC1L1 似乎是重要的肠胆固醇转运者,而 SR-BI 在肠胆固醇的吸收和摄取方面没有明显的作用^[22-23]. 其它的蛋白质,如 CD36, caveolin-1 和 ABCA1 也被认为在肠胆固醇吸收方面发挥着作用,但是这些蛋白质都不是主要的肠胆固醇吸收的转运者^[24].

5 NPC1L1 和基因调控

胆固醇的合成和细胞的摄取是被严格调控的,通过 NPC1L1 的敲除或是抑制的方法来阻止肠胆固醇的吸收,也许会影响肠道和肝脏胆固醇代谢相关基因的表达. 肠和肝脏 LDL 受体, HMG-CoA 合成酶和其它胆固醇合成途径中的相关基因在胆固醇饲喂的 NPC1L1 基因敲除小鼠中的表达增加了,而在饲喂胆固醇的 NPC1L1^{+/-} 和 ^{+/+} 小鼠中的这些基因是被下调的^[16,22,25]. 没有胆固醇通过 NPC1L1 途径进入空肠上皮细胞, LDL 的摄取和胆固醇的合成上调以便维持正常细胞水平和乳糜微粒的产量从而保证甘油三酯和其它营养物质的吸收. ATP 结合盒转运体 A1 (ABCA1) 在细胞内胆固醇外流到 apoA1 中发挥着重要作用. 肠 ABCA1 和 apoA1 的 mRNA 表达量在 NPC1L1 基因敲除小鼠中大幅减少,即使饲喂含有胆固醇的食物也不会增加. 这些结果暗示,在依泽替米贝处理的小鼠和 NPC1L1 基因敲除的小鼠中,空肠上皮细胞吸收的固醇大量减少,并且肠上皮细胞胆固醇代谢也发生相应改变以应对胞内胆固醇的降低. 而且在这些小鼠中由于肠胆固醇转入肝脏的减少导致肝脏胆固醇合成和胆固醇合成途径中相关基因上调了 3~4 倍^[16].

研究表明在喂养胆固醇的小鼠中, NPC1L1 的表达下调,而在依泽替米贝处理过的猪中, NPC1L1 的表达上调^[26]. 饮食中的胆固醇或 ACAT2 的缺乏都会导致胞内胆固醇水平的增加,主要是通过 SREBP-2 结

合到 NPC1L1 启动子上两个固醇调控原件从而下调 NPC1L1 的表达来实现的^[27-28]。另外在体内和体外 NPC1L1 还被其他各种机制所调控,比如肝 X 受体(LXR_s)激动剂^[29]、视黄醇类受体(RXR)激动剂^[30]、过氧化物酶体增殖物激活受体 α 和 δ 激动剂^[31],高甘油三酯饮食和长链脂肪酸^[32-33]和糖尿病^[34],但这些 NPC1L1 的调控机制目前还不是很清楚。

6 NPC1L1 基因变异和胆固醇的吸收

研究表明人类 NPC1L1 基因的多态性通过影响甾醇吸收和血浆 LDL 胆固醇的水平从而影响体内胆固醇平衡^[33-34]。此外,NPC1L1 非同义突变在低胆固醇摄入人群中更容易发生。迄今为止,已经发现 NPC1L1 的 45 个单核苷酸多态性或非同义变异体。由于 NPC1L1 是依泽替米贝的分子靶点,所以 NPC1L1 SNPs 已经被用于研究依泽替米贝单独治疗或结合他汀类药物联合治疗人类临床实验的研究。

总之,NPC1L1 作为固醇类脂质吸收的关键蛋白,调控着体内胆固醇代谢平衡,同时也是依泽替米贝作用的靶点。依泽替米贝通过抑制 NPC1L1 从而治疗高胆固醇血症和谷固醇血症。因此对于 NPC1L1 的深入研究具有极其重要的意义。

参 考 文 献

- [1] Xie Ping, Jia Lin, Ma Yinyan, et al. Ezetimibe inhibits hepatic Niemann-Pick C1-Like 1 to facilitate macrophage reverse cholesterol transport in mice[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*,2013,33(5):920-925.
- [2] Ahmed M H, Byrne C D. Ezetimibe as a potential treatment for non-alcoholic fatty liver disease; is the intestine a modulator of hepatic insulin sensitivity and hepatic fat accumulation? [J]. *Drug Discov Today*,2010,15(15/16):590-595.
- [3] Tang Wei-Qing, Jia Lin, Ma Yin-yan et al. Ezetimibe restores biliary cholesterol excretion in mice expressing Niemann-Pick C1-Like 1 only in liver[J]. *Biochim Biophys Acta*,2011,1811(9):549-555.
- [4] Park S W. Intestinal and hepatic niemann-pick c1-like 1[J]. *Diabetes Metab J*,2013,37(4):240-248.
- [5] Huff M W, Pollex R L, Hegele R A. NPC1L1: evolution from pharmacological target to physiological sterol transporter[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*,2006,26(11):2433-2438.
- [6] Davis H R, Veltri E P. Zetia; inhibition of Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1) to reduce intestinal cholesterol absorption and treat hyperlipidemia[J]. *J Atheroscler Thromb*,2007,14(3):99-108.
- [7] Clader J. The discovery of ezetimibe; a view from outside the receptor[J]. *J Med Chem*,2004,47(1):1-9.
- [8] Davies J P, Levy B, Ioannou Y A. Evidence for a Niemann-Pick C (NPC) Gene Family; Identification and Characterization of NPC1L1 [J]. *Genomics*,2000,65(2):137-145.
- [9] Ahmed M H, Byrne C D. Potential therapeutic uses for ezetimibe beyond lowering LDL-c to decrease cardiovascular events[J]. *Diabetes, Obesity and Metabolism*,2010,12(11):958-966.
- [10] Altmann S W, Davis H R, Zhu L J, et al. Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption[J]. *Science*,2004,303(5661):1201-1204.
- [11] Davies J P, Scott C, Oishi K, et al. Inactivation of NPC1L1 causes multiple lipid transport defects and protects against diet-induced hypercholesterolemia[J]. *J Biol Chem*,2005,280(13):12710-12720.
- [12] Davis H R, Altmann S W. Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1) an intestinal sterol transporter[J]. *Biochim Biophys Acta*,2009,1791(7):679-683.
- [13] Temel R E, Tang W, Ma Y, et al. Hepatic Niemann-Pick C1-like 1 regulates biliary cholesterol concentration and is a target of ezetimibe[J]. *J Clin Invest*,2007,117(7):1968-1978.
- [14] Yu L, Li-Hawkins J, Hammer R E, et al. Overexpression of ABCG5 and ABCG8 promotes biliary cholesterol secretion and reduces fractional absorption of dietary cholesterol[J]. *J Clin Invest*,2002,110(5):671-680.
- [15] Yu L, Hammer R E, Li-Hawkins J, et al. Disruption of Abcg5 and Abcg8 in mice reveals their crucial role in biliary cholesterol secretion[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2002,99(25):16237-16242.
- [16] Davis H R, Zhu L, Hoos L M, et al. Niemann-Pick C1 Like 1(NPC1L1) is the intestinal phytosterol and cholesterol transporter and a key modulator of whole body cholesterol homeostasis[J]. *J Biol Chem*,2004,279(32):33486-33592.
- [17] Davis H R, Compton D S, Hoos L, et al. Ezetimibe, a potent cholesterol absorption inhibitor, inhibits the development of atherosclerosis in ApoE knockout mice[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*,2001,21(12):2032-2038.
- [18] Davis H R, Hoos L M, Tetzloff G, et al. Deficiency of Niemann-Pick C1 Like 1 Prevents Atherosclerosis in ApoE^{-/-}Mice[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*,2007,27(4):841-849.

- [19] Enjoi M, Machida K, Kohjima M, et al. NPC1L1 inhibitor ezetimibe is a reliable therapeutic agent for non-obese patients with nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Lipids Health Dis*, 2010, 9:29.
- [20] Nomura M, Ishii H, Kawakami A, et al. Inhibition of hepatic Niemann-Pick C1-like 1 improves hepatic insulin resistance[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2009, 297(5):E1030-1038.
- [21] Labonte E D, Howles P N, Norman G A, et al. Class B type I scavenger receptor is responsible for the high affinity cholesterol binding activity of intestinal brush border membrane vesicles[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1771(9):1132-1139.
- [22] Haikal Z, Play B, Landrier J F, et al. NPC1L1 and SR-BI are involved in intestinal cholesterol absorption from small-size lipid donors [J]. *Lipids*, 2008, 43(5):401-408.
- [23] Kruit J K, Plosch T, Havinga R, et al. Increased fecal neutral sterol loss upon liver X receptor activation is independent of biliary sterol secretion in mice[J]. *Gastroenterology*, 2005, 128(1):147-156.
- [24] Turley S D. The role of Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) in intestinal sterol absorption[J]. *J Clin Lipidol*, 2008, 2(2):S20-S28.
- [25] Davis H R, Basso F, Hoos L M, et al. Cholesterol homeostasis by the intestine: lessons from Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1)[J]. *Atherosclerosis Suppl*, 2008, 9(2):77-81.
- [26] Telford D E, Sutherland B G, Edwards J Y, et al. The molecular mechanisms underlying the reduction of LDL apoB-100 by ezetimibe plus simvastatin[J]. *J Lipid Res*, 2007, 48(3):699-708.
- [27] 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]. *J Lipid Res*, 2005, 46(11):2423-2431.
- [28] Alrefai W A, Annaba F, Sarwar Z, et al. Modulation of human Niemann-Pick C1-like 1 gene expression by sterol: role of sterol regulatory element binding protein2[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007, 292(1):G369-G376.
- [29] Valasek M A, Clarke S L, Repa J J. Fenofibrate reduces intestinal cholesterol absorption via PPARalpha-dependent modulation of NPC1L1 expression in mouse[J]. *J Lipid Res*, 2007, 48(12):2725-2735.
- [30] Lalloyer F, Fiévet C, Lestavel S, et al. The RXR agonist bexarotene improves cholesterol homeostasis and inhibits atherosclerosis progression in a mouse model of mixed dyslipidemia[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(12):2731-2737.
- [31] van der Veen J N, Kruit J K, Havinga R, et al. Reduced cholesterol absorption upon PPARdelta activation coincides with decreased intestinal expression of NPC1L1[J]. *J Lipid Res*, 2005, 46(3):526-534.
- [32] de Vogel-van den Bosch H M, de Wit N J, Hooiveld G J, et al. A cholesterol-free, high-fat diet suppresses gene expression of cholesterol transporters in murine small intestine[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2008, 294(5):G1171-1180.
- [33] Mathur S N, Watt K R, Field F J. Regulation of intestinal NPC1L1 expression by dietary fish oil and docosahexaenoic acid[J]. *J Lipid Res*, 2007, 48(2):395-404.
- [34] Lally S, Tan C Y, Owens D, et al. Messenger RNA levels of genes involved in dysregulation of postprandial lipoproteins in type 2 diabetes: the role of Niemann-Pick C1-like 1, ATP-binding cassette, transporters G5 and G8, and of microsomal triglyceride transfer protein [J]. *Diabetologia*, 2006, 49(5):1008-1016.

Development of the Key Protein Niemann-Pick C1 Like 1 in Intestinal Cholesterol Transport

XU Chongli¹, OUYANG Hongsheng²

(1. College of Biology and Food Engineering, Jilin Institute of Chemical Technology, Jilin 132022, China;

2. College of Veterinary Medicine, Jilin University, Changchun 130062, China)

Abstract: Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1) is a critical transport protein in the intestinal cholesterol absorption process. NPC1L1 expresses on the brush border membrane of the intestinal epithelial cells. It influences the cholesterol absorption and the plasma low-density lipoprotein level to maintain the whole body cholesterol homeostasis. At the same time, it is the target of ezetimibe.

Keywords: Niemann-Pick C1 Like 1; intestinal cholesterol absorption; cholesterol transport