

载脂蛋白的结构和功能与病毒病的预防和治疗

陈保生

中国医学科学院 北京协和医学院 基础医学研究所医学分子生物学国家重点实验室, 北京 100005

电话: 010-65296413, 传真: 010-65240529, 电子邮件: BSChen@ibms.pumc.edu.cn

摘要: 载脂蛋白 (apo) 是脂蛋白的重要组成成分, 其主要功能是调节酶活性, 介导细胞受体与脂蛋白结合, 保持脂蛋白结构的稳定性。目前已发现数十种载脂蛋白, 其结构的显著特点是分子中具有多个双性 alpha 螺旋及 Beta-折叠结构。载脂蛋白的这种双性 alpha 螺旋结构是其结合及转运脂质的结构基础。在 HIV 外壳结构中的一种糖蛋白 (gp) 也具有这种 alpha 螺旋结构。近年研究表明, 载脂蛋白和由载脂蛋白组成的脂质体还具有抗肝炎病毒、抗 HIV 病毒、抗单纯疱疹和中和细菌内毒素的功能。以脂蛋白和载脂蛋白为主要成分构成的脂质体已成为运载抗病毒和抗肿瘤药物受体的靶向性载体。

关键词: 载脂蛋白 A1; 双性 alpha 螺旋; 冠状病毒; 抗病毒;

中图分类号: Q71 文献标识码: A 文章编号: 1000-503X(2007)03-0448-04

Structure and Function of Apolipoprotein and Prevention and Therapy of Virus Diseases

CHEN Bao-sheng

National Laboratory of Medical Molecular Biology, Institute of Basic Medical Sciences, CAMS and PUMC, Beijing 100005, China

Tel: 010-65296413, Fax: 010-65240529, E-mail: BSChen@ibms.pumc.edu.cn

ABSTRACT: Apolipoprotein, an important component of the lipoproteins, modulates the activity of enzyme, introduces the binding of cell receptor and lipoproteins, and keeps the structural stability of lipoproteins. The amphipathic helices structure in apolipoproteins is the structural basis that it binds and transports lipids. A certain envelope glycoprotein (gp) in the outer membrane of HIV also has been found to be with such amphipathic helices structure. Recent studies have shown that the liposome consisted of apolipoproteins and phospholipids may defend against HCV, HIV, and herpes simplex virus, and even neutralize the endotoxin released by bacteria. The liposome made up of apolipoproteins and phospholipid has become a potential carrier for anti-tumor and anti-virus drugs.

Key words: apolipoprotein; amphipathic helices; coronavirus; antiviral

Acta Acad Med Sin, 2007, 29(3): 448-451

载脂蛋白 (apolipoprotein, apo) 是脂蛋白的重要组成成分, 其主要功能是调节酶活性, 介导细胞受体与脂蛋白结合, 保持脂蛋白结构稳定性。目前

已发现的 apo 有数十种, 包括 apoAI、apoAII、apoAIV、apoAV、apoB100、apoB48、apoCI、apoCII、apoCIII、apoD和apoE等。这些apo结构的显著特点是

分子中具有多个双性 alpha 螺旋及 Beta-折叠结构, 例如: apoA1 含有 254 个氨基酸, 在其多肽链中包含有多个串联的重复片段, 每个片段分别是由 11 或 22 个氨基酸组成, 这种排列使 apoA1 含有丰富的双性 alpha 螺旋结构。双性 alpha 螺旋包括极性面和非极性面, 极性氨基酸和非极性氨基酸残基沿着螺旋的轴呈不对称分布。圆二色结果显示, 去脂的 apoA1 具有 40% ~ 50% 的双性 alpha 螺旋, 与磷脂结合后, alpha 螺旋可增至 75%。apo 的这种双性 alpha 螺旋结构是其结合及转运脂质的结构基础。研究表明, 这种双性 alpha 螺旋结构也存在于其他蛋白质中, 但其含量均不如 apo 高。人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 外壳结构的一种糖蛋白 (envelope glycoprotein, gp) 也含有这种 alpha 螺旋结构, 例如: 在 gp160 的羧基端含有两个可形成双性 alpha 螺旋的疏水性结构域; 在 gp120 和 gp41 这两种糖蛋白中也含有能形成双性 alpha 螺旋的结构^[1]。此外近年研究还发现, apo 和由 apo 组成的脂质体还具有抗肝炎病毒、抗 HIV 病毒、抗单纯疱疹和中和细菌内毒素的功能。以脂蛋白和 apo 为主要成分构成的脂质体已经成为运载抗病毒和抗肿瘤药物的一种靶向性载体。

apoAI 具有抑制 HIV 作用

HIV 的外壳膜蛋白是病毒吸附并进入宿主细胞所必需的, 一旦在被感染细胞的浆膜上表达, 外壳蛋白即介导细胞融合, 形成多核细胞。在 HIV 的外壳糖蛋白中包含可形成双性 alpha 螺旋的区域 (gp120 和 gp41), 这些区域在诱导细胞融合中可能起重要作用。人工合成的 gp41 双性肽可导致细胞溶解和其他细胞毒性^[1]。根据该结构特点, 利用其他含有双性 alpha 螺旋的多肽和蛋白有可能干扰 HIV 双性螺旋肽段, 从而抑制 HIV 感染中的细胞膜融合。目前已经发现 apoAI 双性 alpha 螺旋及人工合成的类似物可以抑制 HIV 感染和病毒诱导的细胞融合, 阻碍多核细胞形成, 抑制病毒进入宿主细胞。其机制可能是 apoAI 的双性螺旋与 HIV 外壳膜蛋白 gp41 的 N-末端肽段相互作用, 并与这些肽段结合, 阻止 HIV gp41 插入到细胞膜中, 从而抑制病毒与宿主细胞的融合, 使其不能进入宿主细胞^[2]。近期研究进一步证实了 HIV 外壳蛋白与 apoAI 有免疫同源性。CD4 受体是 T 辅助细胞的标记物, 是 HIV 攻击的主

要受体。免疫学研究显示, apoAI 可以与重组的 CD4 受体相互作用。由于 apoAI 与 HIV 外壳蛋白具有免疫同源性, 二者可同时竞争结合 CD4 受体, 减弱了 HIV 病毒感染宿主细胞的能力, 证实了 apoAI 的抗 HIV-1 的作用, 并从反面证明 HIV-1 的 gp120 和 gp41 糖蛋白也与 apoAI 竞争细胞膜上的 apoAI 受体^[3-5]。

冠状病毒与 HIV 的相似性

冠状病毒及其变种是导致严重急性呼吸综合征 (severe acute respiratory syndrome, SARS) 爆发流行的主要病原体, 目前对其基因结构、致病性、感染传播途径、预防和治疗等方面虽有一定了解, 但还缺乏有效的治疗与预防药物和疫苗。对冠状病毒的结构和感染人类的机制认识, 各国科学家已初步形成共识, 认为引起 SARS 爆发流行的冠状病毒与 HIV 有很多相似性, 例如 SARS 病毒与 HIV 同为 RNA 病毒, 在侵害宿主细胞的机制上类似, 都是与宿主细胞融合后攻击机体的免疫系统, 造成机体免疫缺陷。

对北京地区部分 SARS 患者多项生化指标的分析表明, SARS 患者与艾滋病患者在急性期的血象具有相似变化。艾滋病患者表现为血脂紊乱, 总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、apoAI、apoB 均明显降低, 而甘油三酯 (triglyceride, TG) 和 Lp (a) 反而高于对照人群; 特别是 CD4 细胞计数明显低于正常^[6]。北京协和医院对确诊 SARS 患者的研究显示, 所有 SARS 患者的 CD4 和 CD8 细胞计数均明显降低。另一项对 37 例 SARS 患者的研究显示, 所有 SARS 患者均出现血小板计数减少, 血脂紊乱, TC、LDL-C、HDL-C、apoAI 和 apoB 的明显下降^[7]。中国科学院微生物研究所、武汉大学现代病毒学研究中心应用合成多肽阻止 HIV 的原理来治疗 SARS, 得到了初步结果, 表明阻断 SARS 冠状病毒与宿主细胞融合的机制可能是治疗 SARS 的关键。笔者的研究结果也表明, apoAI 及其片段可以抑制单纯疱疹病毒对真核细胞的浸润和感染, 保护细胞的正常生长^[7]。

重组 apo 作为抗病毒、抗肿瘤的受体 靶向性药物载体及其优越性

apo 是存在于体内的天然物质, 主要包括乳糜微

粒 (CM)、VLDL、LDL、HDL, 它们把脂类物质通过血液运送到全身组织和细胞, 在那里被特异的脂蛋白受体识别和吸收, 因此这些脂蛋白颗粒是运送药物到特异靶细胞的理想载体, 因为其不仅可以运载脂溶性和水溶性药物, 也可以运载离子性药物。鉴于脂蛋白的内源性特点, 其在体内可以被彻底降解, 而不会引起机体的免疫反应, 同时也不为网状内皮系统识别和清除。药物经脂蛋白运载有如下优点: (1) 不会发生自发解离而再分布到其他脂蛋白或膜上; (2) 这种载体与脂蛋白代谢相关的酶 (LPL、CETP、PLTP) 没有亲和力; (3) 不影响脂蛋白与其相应受体的相互作用, 因此可作为受体介导的靶向性载体运送药物。研究结果显示, 由 apoE 重组的 LDL 与 B16 黑色素瘤细胞上 LDL 受体的亲和力比天然 LDL 与其受体的亲和力高 15 倍以上。组织分布显示, 肿瘤细胞上的 LDL 受体识别和内吞含 apoE 脂质的能力接近天然状态。含 apoE 的脂质体携带的抗肿瘤药物可以在 LDL 受体的介导下选择性进入肿瘤细胞^[8]。

磷脂具有自发形成脂双层的特性, 所以可以方便获得大小不同、形状各异、电荷多少不同的脂质体。提高安全性、降低毒性对于研制和开发抗肿瘤、抗病毒等药物十分必要。必须指出, 由 apo 组成的脂质体作为药物受体靶向性载体具有不致癌和低免疫原性的特点, 在大量临床应用中可降低这些药物的毒副作用, 同时可以增加药物在靶细胞位点上的聚集。亲水性药物修饰后可进入重组颗粒的外壳中, 寡核苷酸和多聚核苷酸与阳离子脂质结合后, 可以进入重组颗粒的内核, 这两种方式都增加了药物在肝细胞上的聚集。体外和活体研究都证明, 应用含 apo 的脂质体可成功地把所携带的药物选择性运送, 并进入靶细胞内, 能更好地发挥药物疗效^[9, 10]。

许多肿瘤细胞膜上都可过量表达 LDL 受体 (apoB 受体和 apoE 受体), 如: 急性淋巴性白血病 LDL 受体表达增加 3 ~ 100 倍, 肾上腺瘤细胞 LDL 受体数量增加 8 倍, 在肺癌细胞、脑瘤细胞和乳腺癌细胞上 LDL 受体也均有大量表达。重组的 LDL 颗粒可将抗肿瘤药物选择性运送到肿瘤细胞表面, 显著改善抗肿瘤药物的治疗效果, 减轻药物副作用^[11]。Versluis 等^[12]研究显示, 人工合成亲脂性红霉素衍生物与重组 LDL 脂质体结合后, 药物与脂质载体结合牢固, 携带药物的重组 LDL 可选择性到达肿瘤组织, 对肿瘤进行治疗。Hortobagyi 等^[13]用具抗肿瘤

活性的 *EIA* 基因与脂质体混合物治疗乳腺癌和卵巢癌患者, 结果发现 *EIA* 可在患者体内表达, 同时这两种癌细胞过表达的 *HER-2/neu* 表达下调。

脂质体也可成为抗病毒药物的特异受体靶向性载体。乙型肝炎是在我国感染率很高的一种慢性病毒性传染病, 肝实质细胞是乙型肝炎病毒 (HBV) 感染并复制的主要场所, 目前对 HBV 还没有安全有效的治疗措施。核苷类似物等抗病毒药物由于其严重的副作用而在临床治疗中受到限制。将核苷类似物衍生物与重组 CM 囊, 一种大颗粒的脂蛋白囊结合后, CM 携带的药物可以选择性地到达肝实质细胞表面, 并被实质细胞上的 apoE 受体识别, 内吞进入肝细胞, 使细胞内的药物达到了预期浓度。

参 考 文 献

- [1] Owens BJ, Anantharamaiah GM, Kahlon JB, *et al.* Apolipoprotein A-I and its amphipathic helix peptide analogues inhibit human immunodeficiency virus-induced syncytium formation [J]. *J Clin Invest*, 1990, 86(4):1142-1150.
- [2] Martin I, Dubois MC, Saermark T, *et al.* Apolipoprotein A-I interacts with the N-terminal fusogenic domains of SIV (simian immunodeficiency virus) GP32 and HIV (human immunodeficiency virus) GP41: implications in viral entry [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1992, 186(1):95-101.
- [3] Panin LE, Kostina NE, Poteriaeva ON, *et al.* Immunological homology of HIV-1 envelope proteins and human apolipoprotein AI [J]. *Vopr Virusol*, 2001, 46(5):13-16.
- [4] Panin LE, Kostina NE. Interaction of human apolipoprotein AI and HIV-1 envelope proteins with the native and recombinant CD4 receptors [J]. *Vopr Virusol*, 2003, 48(1):24-26.
- [5] Panin LE, Kostina NE. Interaction of human apolipoprotein A-I with rsCD4 receptor [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2002, 133(4):342-343.
- [6] Constans J, Pellegrin JL, Peuchant E, *et al.* Plasma lipids in HIV-infected patients: a prospective study in 95 patients [J]. *Eur J Clin Invest*, 1994, 24(6):416-420.
- [7] 胡国芳, 陈保生, 杨晓惠, 等. 血浆载脂蛋白 AI 生理功能的研究——A-I 及其裂解片段对单纯疱疹病毒感染细胞的作用 [J]. *中国医学科学院学报*, 1994, 16(2):98-103.
- [8] Versluis AJ, Rensen PC, Rump ET, *et al.* Low-density lipoprotein receptor-mediated delivery of a lipophilic daunorubi-

- cin derivative to B16 tumours in mice using apolipoprotein E-enriched liposomes [J]. *Br J Cancer* , 1998 , 78(12) : 1607-1614.
- [9] Romero EL , Morilla MJ , Bakas LS. Lipid vectors. New strategies for gene therapy [J]. *Medicina (B Aires)* , 2001 , 61(2) 205-214.
- [10] Lian T , Ho RJ. Trends and developments in liposome drug delivery systems [J]. *J Pharm Sci* , 2001 , 90(6) :667-680.
- [11] Rensen PC , de Vruh RL , Kuiper J , *et al.* Recombinant lipoproteins : lipoprotein-like lipid particles for drug targeting [J]. *Adv Drug Deliv Rev* , 2001 , 47(2-3) 251-276.
- [12] Versluis AJ , Rump ET , Rensen PC , *et al.* Synthesis of a lipophilic daunorubicin derivative and its incorporation into lipidic carriers developed for LDL receptor-mediated tumor therapy [J]. *Pharm Res* , 1998 , 15(4) 531-537.
- [13] Hortobagyi GN , Ueno NT , Xia W , *et al.* Cationic liposome-mediated E1A gene transfer to human breast and ovarian cancer cells and its biologic effects : a phase I clinical trial [J]. *J Clin Oncol* , 2001 , 19(14) 3422-3433.

(2007-01-22 收稿)