

低密度脂蛋白受体基因表达调控研究

姚婕, 王继文* (四川农业大学动物科技学院, 四川雅安 625014)

摘要 低密度脂蛋白受体(LDLR)调节体内胆固醇的平衡是通过其启动区的固醇调节元件(SRE)感受体内胆固醇的变化,从而调控LDLR基因的表达来实现的。胆固醇调节元件结合蛋白(SREBP)、SREBP裂解蛋白(SCAP)参与这一调节。LDLR基因的表达还受到HMG-CoA还原酶抑制剂、激素、细胞生长因子等因素的影响。

关键词 低密度脂蛋白受体(LDLR);固醇调节元件(SRE);基因表达;胆固醇平衡

中图分类号 Q786 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)13-2977-03

Research on Expression and Regulation of the Low Density Lipoprotein Receptor(LDLR) Gene

YAO Jie et al (Animal S & T College, Sichuan Agricultural University, Yaan, Sichuan 625014)

Abstract The sterol response element (SRE) of the LDL receptor promoter is responsible for normal sterol regulation and the expression of LDLR gene. This regulation involves sterol regulatory element binding proteins (SREBP) and the SREBP cleavage activating protein (SCAP). A number of serum factors and hormones have been reported to regulate LDL receptor expression such as 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase (HMG CoA reductase), hormones, Hepatocyte growth factor.

Key words Low density lipoprotein receptor (LDLR); Sterol response element (SRE); Gene expression; Cholesterol homeostasis

低密度脂蛋白受体(LDLR)是低密度脂蛋白受体家族中的主要成员之一,它能与低密度脂蛋白(LDL)、载脂蛋白B₁₀₀(ApoB₁₀₀)和载脂蛋白E(ApoE)的脂蛋白结合,调节胆固醇的体内平衡。LDLR的功能缺陷是引起高胆固醇血症及动脉粥样硬化的主要原因之一。随着分子生物学的不断发展,对LDLR基因表达水平与调控水平研究的不断深入,不仅有助于进一步了解高胆固醇血症及动脉粥样硬化等疾病的发病机制,而且对于指导动物生产(特别是鹅肥肝生产)具有十分重要的意义。

1 LDLR 的结构

LDLR是由839个氨基酸残基组成的有5个功能结构域的成熟单链糖蛋白,人类LDLR基因定位于19号染色体p臂13.1~13.3,长度为45 kb,其中包含18个外显子。5.3 kb的mRNA编码1个含839个氨基酸的成熟蛋白,分离并经逆转录得到的cDNA为5.3 kb,LDLR基因mRNA3'端非翻译区长度为2.5 kb,其中包含多拷贝的Alu家族的重复序列^[1]。

LDLR的5个结构域从N端到C端分别为:配体结合结构域,由292个氨基酸组成,外显子2~6编码。其中含有7个富含半胱氨酸的重复序列(LA1~LA7),LA3~LA7与结合LDL密切相关,LA5与结合-VLDL密切相关。当pH值为5.3时,配体结合结构域的LA2~LA7折叠成弓状,包裹在表皮生长因子前体同源结构域上面,配体结合的脂蛋白(LDL、-VLDL等)释放出来^[2]。表皮生长因子前体同源结构域,由400个氨基酸组成,包括表皮生长因子重复单位和YWTD间隔区(YWTD spacer,其中Y是酪氨酸,W是色氨酸,T是苏氨酸,D是天冬氨酸)2部分,由外显子7~14编码,其中外显子7、8、9~13、14分别编码EGF A、EGF B、-propeller、EGF C。

氧连接糖结构域,由58个氨基酸组成,外显子15编码。跨膜结构域,由22个氨基酸组成,外显子16、17的部分序列编码。胞浆尾结构域,由50个氨基酸组成,外显子17的部分序列和外显子18编码^[3]。

2 LDLR 的功能

LDLR的主要功能是通过摄取胆固醇进入细胞内,用于细胞增殖和固醇类激素及胆汁酸盐的合成,这种代谢过程称为LDL受体途径(LDLR pathway)。LDL或其他含ApoB₁₀₀、ApoE的脂蛋白如VLDL、-VLDL均可与LDL受体结合,内吞入细胞使其获得脂类。LDL与细胞膜表面的LDLR结合,被吞入细胞,LDL经溶酶体酶作用,其中的胆固醇酯水解成游离胆固醇和脂肪酸。LDL被溶酶体水解形成的游离胆固醇再进入胞浆的代谢库,供细胞膜等膜结构利用。

3 LDLR 基因表达调控

胆固醇是通过一个负反馈调控机制来调控LDLR的转录的。当细胞内胆固醇水平升高时,LDLR的转录就下降。当细胞内胆固醇被消耗时,LDLR的转录就被激活,LDLR启动区与这一过程密切相关。

人的LDLR启动区由相连的3个重复序列组成,大约12~16 bp,这个重复序列位于TATA盒元件上游,大约在转录起始区的100 bp上游。重复序列2包括1个特殊的序列固醇调节元件1(SRE1),它能与SREBPs结合并受到胆固醇的调控。重复序列3含有Sp1结合位点,它能与转录因子Sp1结合,与LDLR的转录活性密切相关。如果把重复序列3的Sp1结合位点替换将阻碍胆固醇的调节作用。

猪LDLR基因启动区包含3个Sp1/Sp3结合位点,独特的类Sp1/Sp3结合位点位于SRE和重复序列1之间^[4]。人类LDLR启动区SRE与SREBP相互作用能够促进Sp1与重复序列3的结合,从而促进转录。SREBP刺激LDLR启动区上的Sp1结合位点相邻区能使结合速度增加约10倍^[5]。

胆固醇调节元件1(SRE1),位于编码低密度脂蛋白受体(LDLR)的基因5'侧翼区,SRE是一个条件正性调节元件,仅在细胞内胆固醇缺乏的条件下才被激活。LDLR的SRE的序列为5'ATCACCCAC3'。固醇调节原件结合蛋白(SREBP)能够识别固醇调节元件(SRE),并对SRE序列呈现高度亲和性。

当细胞内胆固醇水平正常时,SREBP、SREBP裂解激活蛋白(SCAP)和胰岛素诱导基因固定蛋白(Insig1)在内质网上形成一个巨大的复合体。当内质网上胆固醇水平低时,刺激Insig1从复合体上释放出来,之后SCAP护送SREBP到COP-

作者简介 姚婕(1981-),女,四川雅安人,硕士研究生,研究方向:动物遗传育种与繁殖。* 通讯作者,教授,Email: wjw2886166@163.com。

收稿日期 2006-05-18

发生突变后胆固醇就不能调节 LDLR 的转录,但是不影响 OM 调控 LDLR 的转录。OM 调控 LDLR 的转录作用于重复序列 3。LDLR 启动区 -17 ~ -1 bp 是非胆固醇调控元件 (SIRE),早期生长反应基因 1 (Egr1) 能与 LDLR 启动区的 SIRE 结合是 OM 诱导转录的催化剂^[20]。

维生素 C (Vc) 能上调 LDLR mRNA 的表达。Vc 通过抑制 HMG CoA 还原酶活性而促进 LDLR 基因表达,增加细胞对 LDL C 的摄取^[21]。

5 结语

低密度脂蛋白受体 (LDLR) 基因表达受到胆固醇、HMG CoA 还原酶抑制剂、激素、细胞生长因子等因素的调控。对低密度脂蛋白受体 (LDLR) 研究的不断深入,将有助于进一步了解高胆固醇血症及动脉粥样硬化等心血管疾病的发病机制和指导临床治疗。目前人们对 LDLR 基因表达的研究主要集中在人、兔、鼠上。因此,进一步研究 LDLR 在其他动物胆固醇平衡中的作用,以及进一步阐明 LDLR 的表达调控机制都将具有十分重要的意义。

参考文献

- [1] COUTURE P, MORISSETTE J, GAUDET D, et al. Fine mapping of low density lipoprotein receptor gene by genetic linkage on chromosome 19p13.1-p13.3 and study of the founder effect of four French Canadian low density lipoprotein receptor gene mutations [J]. *Atherosclerosis*, 1999, 143(1): 145 - 151.
- [2] GENT J, BRAAKMANI. Low density lipoprotein receptor structure and folding CMS [J]. *Cell Life Science*, 2004, 61(19-20): 2461 - 2470.
- [3] LEUVEN V F, THIRY E, LAMBRECHIS M, et al. Thiry Sequencing of the coding exons of the LRP1 and LDLR genes on individual DNA samples reveals novel mutations in both genes [J]. *Atherosclerosis*, 2001, 154(3): 567 - 577.
- [4] SEKAR N, VELDHUIS J D. Involvement of Sp1 and SREBP-1a in transcriptional activation of the LDL receptor gene by insulin and LH in cultured porcine granulosa luteal cells [J]. *AIP Endocrinology Metabolism*, 2004, 287(7): 128 - 135.
- [5] BENNETT MK, OSBORNE T F. Nutrient regulation of gene expression by the sterol regulatory element binding proteins: Increased recruitment of gene-specific coregulatory factors and selective hyperacetylation of histone H3 in vivo [J]. *PNAS*, 2000, 6(7): 6340 - 6344.
- [6] GANDOMENICO V, SIMONSSON M, GR RNOCOS E, et al. Coactivator-dependent acetylation stabilizes members of the SREBP family of transcription factors [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2003, 23(7): 2587 - 2599.
- [7] RICHARD G W. Joe Goldstein and Mike Brown: From cholesterol homeostasis to new paradigms in membrane biology [J]. *TRENDS in Cell Biology*, 2003, 13(10): 534 - 539.
- [8] DHAWAN P, CHANG R X, MEHIA K D. Identification of essential nucleotides of the FPI element responsible for enhancement of low density lipoprotein receptor gene transcription [J]. *Nucleic Acids Research*, 1997, 25(20): 4132 - 4138.
- [9] LOPEZ D, NESSL G C. Inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase unmask transcriptional regulation of hepatic low density lipoprotein receptor gene expression by dietary cholesterol [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1997, 344(1): 215 - 219.
- [10] MLIAD WA, ELLSWORTH J F, COOPER A D, et al. Dietary linoleic acid increases and palmitic acid decreases hepatic LDL receptor protein and mRNA abundance in young pigs [J]. *Journal of Lipid Research*, 1996, 37(11): 2310 - 2323.
- [11] MAISUYAMA H, SATO K, NAKAMURA Y, et al. Modulation of regulatory factors involved in cholesterol metabolism in response to feeding of pravastatin or cholesterol-supplemented diet in chickens [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 2005, 1734(2): 136 - 142.
- [12] RAWSON R B. The SREBP pathway—insights from insects and insects [J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2003, 4(8): 631 - 640.
- [13] LI C, BRIGGS MR, AHLBORN T E, et al. Requirement of Sp1 and estrogen receptor interaction in 17-estradiol-mediated transcriptional activation of the low density lipoprotein receptor gene expression [J]. *Endocrinology*, 2001, 142(4): 1546 - 1553.
- [14] DISTEFANO E, MARINO M, GILLETTE J A, et al. Role of tyrosine kinase signaling in estrogen-induced LDL receptor gene expression in HepG2 cells [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2002, 1580(2-3): 145 - 149.
- [15] SEKAR N, VELDHUIS J D. Involvement of Sp1 and SREBP-1a in transcriptional activation of the LDL receptor gene by insulin and LH in cultured porcine granulosa luteal cells [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2004, 287(2): 128 - 135.
- [16] PAK Y K, KANUCK MP, BERRIOS D, et al. Activation of LDL receptor gene expression in HepG2 cells by hepatocyte growth factor [J]. *Journal of Lipid Research*, 1996, 37(5): 985 - 998.
- [17] CUTHBERT J A, LIPSKY P E. Mitogenic stimulation alters the regulation of LDL receptor gene expression in human lymphocytes [J]. *Journal of Lipid Research*, 1990, 31(11): 2067 - 2078.
- [18] KUHN D J, BURNS A C, KAZI A, et al. Direct inhibition of the ubiquitin proteasome pathway by ester bond containing green tea polyphenols is associated with increased expression of sterol regulatory element binding protein 2 and LDL receptor [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 2004, 1682(1-3): 1 - 10.
- [19] CHU Y F, LIU R H. Garbanies inhibit LDL oxidation and induce LDL receptor expression in hepatocytes [J]. *Life Sciences*, 2005, 77(15): 1892 - 1901.
- [20] ZHANG F, AHLBORN T E, CONG L, et al. Identification of Egr1 as the oncogene M-induced transcription activator that binds to sterol-independent regulatory element of human LDL receptor promoter [J]. *Journal of Lipid Research*, 2002, 43(9): 1477 - 1485.
- [21] 田克立, 许刚, 吴桂云, 等. 维生素 C 对 LDL 受体活性的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 1997, 4(17): 110 - 113.