

载脂蛋白 A- I 抗动脉粥样硬化的研究进展

黎明 刘志敏*

(军事医学科学院生物工程研究所,北京 100071)

摘要 载脂蛋白 A- I 是 HDL 最主要的结构成分,是卵磷脂胆固醇酰基转移酶的主要激活剂。它决定了 HDL 的代谢和在血浆中的浓度。实验已经证明,载脂蛋白 A- I 具有抗动脉粥样硬化症的功能。在这里阐述了载脂蛋白 A- I 的结构和制备,载脂蛋白 A- I 和 HDL 的关系以及它在抗动脉粥样硬化方面的作用和可能的机理:胆固醇的逆向转运、抗氧化作用和调节炎症反应。

关键词 载脂蛋白 A- I, 动脉粥样硬化, 高密度脂蛋白

中图分类号 Q513 文献标识码 A 文章编号 1000-3061(2003)04-0387-05

载脂蛋白 A- I (Apolipoprotein A- I, ApoA- I) 是高密度脂蛋白 (High-density lipoprotein, HDL) 最主要的蛋白成分,并与高密度脂蛋白颗粒的形成有关,它还是卵磷脂-胆固醇酰基转移酶 (Lecithin-cholesterol acyltransferase, LCAT) 的主要激活剂。LCAT 在胆固醇的逆向转运 (Reverse cholesterol transport, RCT) 中起关键作用。胆固醇的逆向转运是将散布、沉积在周围组织中未脂化的胆固醇经 LCAT 的催化转化成胆固醇酯进入 HDL, 然后转运到肝脏, 在肝脏进行代谢排入胆囊。

研究证明, 血浆中 HDL 的含量与冠状动脉疾病 (Coronary artery disease, CAD) 的发生呈负相关性^[1], 即 HDL 含量越高, CAD 的发病率越低。流行病学调查表明, 人群中 HDL-胆固醇水平低于 0.907 mmol/L (< 35mg/dL) 者, 冠心病发病的危险性为 HDL-胆固醇 (HDL-cholesterol, HDL-C) 高于 1.68mmol/L 者的 8 倍。HDL-C 水平每上升 0.026 mmol/L (1 mg/dL), 患冠心病的危险性则下降 2% ~ 3%。这与 HDL 的主要成分 ApoA- I 的结构和功能有关。

1 载脂蛋白 A- I 的结构

人类 Apo A- I 基因位于第 11 号染色体长臂末端区域内 (Chromosome11q ~ 13q ter)。人 ApoA- I 基因组基因由 3 个内含子和 4 个外显子组成, 基因长 1863bp, 含 3 个插入序列 (Intervening sequence, IVS)。apoA- I 基因外显子分别编码 Apo A- I 不同功能域, 如外显子 2 编码大部分 ApoA- I 前导肽 (Prepeptide); 外显子 3 编码 ApoA- I 肽原 (Propeptide) 和 N 端序列; 外显子 4 编码包括 C 端 200 个氨基酸残基。

研究 apoA- I cDNA 序列提示, apoA- I mRNA 长度为

893bp, 其初级翻译产物包括 24 个氨基酸的前导肽及由 243 个氨基酸组成的成熟的 ApoA- I 序列。ApoA- I 具有 2 个蛋白质结构域, 即一个球形的 N-末端 (1-43) 结构域和一个与脂结合的 C-末端 (44-243) 结构域, 有 8 个 22 氨基酸残基和 2 个 11 氨基酸残基的重复, 重复序列之间被脯氨酸隔断。

apoA- I 是血液循环中球形的 HDL 和新生成的 HDL 的重要组成部分。HDL 的圆盘是由小的单边的脂双层组成, 周围被 apoA- I 单体所包围。关于 ApoA- I 在圆饼状周围的形状, 提出了两种分子模型, 即带状模型 (Belt model) 和栅栏模型 (Picket-fence)。带状模型^[2]认为, ApoA- I 的连续的双亲的 α -螺旋平行于圆饼状的平面, 栅栏模型^[3]认为, ApoA- I 的 22 个氨基酸的双亲的 α -螺旋重复形成反平行的螺旋, 垂直于圆饼状的平面。

2 载脂蛋白 A- I 与 HDL 的关系

ApoA- I 是 HDL 的主要结构成分, 约占 HDL 总蛋白含量的 70%。它在血浆中的浓度与 HDL-C 的水平相关, Brinton 等^[4]已经阐明, 血浆 HDL-C 的水平主要由 ApoA- I 和 ApoA- II 的分解代谢率 (Fractional catabolic rate, FCR) 决定。因此, HDL 中载脂蛋白 (主要是 ApoA- I) 代谢的特征已经成为整个 HDL 颗粒代谢的代表。ApoA- I 完全缺陷的人血浆中没有或只有很低的 HDL-C, 并且更容易患动脉粥样硬化; ApoA- I 部分缺陷的人血浆中也只有很低的 HDL-C, 患 CAD 的危险性也增加了。唯一例外的是, ApoA- I 米兰突变体 (ApolipoproteinA- I Milano, AIM), 即一种载脂蛋白 A- I 天然突变体, 虽然它也导致 HDL-C 的降低, 却具有抗动脉粥样硬化的功能。

3 载脂蛋白 A- I 的动物试验和临床研究

研究表明, ApoA- I 具有抗动脉粥样硬化的功能。Benoit 等^[5]用含人 apoA- I 基因的重组腺病毒转染小鼠后发现, 小鼠体内过度表达的 apoA- I 明显抑制血管内膜下脂纹的形成, 即抑制了早期动脉粥样硬化病变的发生。Rubin 等^[6]将人 apoA- I 基因转入小鼠后发现, 转基因小鼠高水平表达人 ApoA- I, 可直接抑制动脉粥样硬化早期病变(脂纹)的形成。许多实验表明, apo E (Apolipoprotein E) 基因缺陷的小鼠易发生高胆固醇血症, 并进一步发展为动脉粥样病变。Paszty 等^[7]将 apoA- I 基因导入 apo E 基因缺陷小鼠, 在喂养同样的食物后, 与未导入外源 apoA- I 基因的 apoE 基因缺陷小鼠相比, 两者血浆中胆固醇浓度都升高, 但 apoA- I 转基因小鼠动脉粥样硬化的易患性下降到对照组的 1/6。Liu AC 等^[8]将致动脉粥样硬化的载脂蛋白 a (Apolipoprotein [a], Apo(a)) 基因和 apoA- I 一起转入小鼠, 发现转 apo(a) 基因小鼠易发生动脉粥样硬化, 而同时转入 apo(a) 和 apoA- I 基因的小鼠仍可以有效地防止动脉粥样硬化斑块的形成, 提示 ApoA- I 能对抗 Apo(a) 的致动脉粥样硬化作用。转基因兔实验也证实 ApoA- I 有抑制粥样硬化斑块形成的作用。在以上动物实验中, 高水平的人载脂蛋白 ApoA- I 可明显抑制动脉粥样硬化斑块的形成。此外, Tangirala 等^[9]还发现, 用含人 apoA- I 基因的重组腺病毒转染体内已有动脉粥样硬化的小鼠后, 其血浆中高水平的 ApoA- I 可使已有病变消退; 与对照组小鼠相比, 经重组腺病毒转染的小鼠的血管病变面积减少 58%。Sun 等^[10]将重组的 ApoA- I 蛋白与脂类结合, 形成合成的 HDL (Synthetic HDL, sHDL) 注射用胆固醇喂养的家兔, 结果抑制了动脉粥样损害, 同时减少了主动脉的胆固醇。

关于 ApoA- I 的第一个临床研究计划是用重组带有前肽的 ApoA- I (Proapolipoprotein A- I, ProapoA- I) 与磷脂酰胆碱制备成 sHDL 注射 4 个病人, 他们血浆中的 HDL-C 的含量都极低, 其中两个患有冠状动脉疾病。注射含 1.6g ProapoA- I 的 sHDL 后, HDL-C 的水平迅速升高, 并维持了 3d; 且副作用很小, 也没有检测到相关抗体的产生^[11]。作者推测可能是通过 RCT 将组织中的胆固醇排出到血液中的缘故。随后, Eriksson 等^[12]用含 4g ProapoA- I 的 sHDL 注射家族性高胆固醇血症病人, 结果增加了粪便中胆固醇的排泄, 这表明前面的推测是正确的。Nanjee 等^[13]将 sHDL 注射到 7 个健康者体内, 研究 HDL 的代谢, 证明 sHDL 的确能促进胆固醇从动脉管壁细胞排出到血浆中, 促进 RCT。

另外两个临床研究计划考察了人患内毒血症时 ApoA- I 的影响^[14, 15]。将 sHDL 注射到 8 个健康的志愿者体内, 剂量为 40mg/kg ApoA- I。结果表明: ApoA- I 抑制了内毒素诱导的炎症性细胞因子 TNF、IL-6 和 IL-8 的释放, 而对炎症性细胞因子的抑制因子 IL-1ra、可溶性的 TNF 受体和 IL-10 的释放的影响却很小; ApoA- I 还减少了 LPS 诱导的凝集和纤维蛋白溶解的激活。这些结果证实了先前在动物试验中的

发现, 明显支持 ApoA- I 能治疗脂肪条纹的结论。由于炎症反应是动脉粥样硬化发生的最早期事件, 因此, 抑制炎症反应表明 ApoA- I 能治疗和预防动脉粥样硬化。

AIM 具有更强的抗动脉粥样硬化功能, 而且体内半衰期比 apoA- I 长^[16]。Franceschini 等^[17]用重组的 AIM 与磷脂酰胆碱结合形成 sHDL 多次注射用胆固醇喂养的 apoE 缺陷鼠, 可明显减轻动脉粥样硬化症的进程, 减少斑块中脂的含量, 降低炎症反应。Shah 等^[18]用 sHDL 也观察到了相似的结果。据源自美国 FDA 生物制品研究与开发公告, Esperion 公司研制的重组 AIM 以动脉粥样硬化症为适应症, 已完成 I 期临床试验, 临床试验证明: 受试者在预期的剂量范围内能很好地耐受, 没有发生过敏、急性期反应, 也未出现生化、血液学指标方面的改变。目前 AIM 已进入 II 期临床研究阶段。

4 载脂蛋白 A- I 抗动脉粥样硬化的可能机理

ApoA- I 抗动脉粥样硬化的可能机理主要有 3 种: RCT、抑制 LDL 的氧化、调节炎症反应。其中以 RCT 阐述最清楚。

4.1 胆固醇的逆向转运(RCT)

脂质浸润学说认为, 动脉粥样硬化的主要病理变化是动脉壁出现脂质粥样斑块, 而胆固醇和胆固醇酯是构成粥样斑块的主要成分。而 ApoA- I 可以促进胆固醇的逆向运输, 将胆固醇从外周组织运送至肝, 减少胆固醇在外周组织细胞的含量, 避免胆固醇在外周组织的沉积, 从而减少动脉粥样硬化发病的危险性。现在, RCT 的分子机理已经阐明, 圆饼状的 HDL 上的 ApoA- I 与外周组织细胞上的 ATP-结合盒式转运蛋白 K (ATP-binding cassette transporter 1, ABC1) 结合, 促进细胞内的胆固醇流出到 HDL 上, 然后 apoA- I 激活 LCAT, 将胆固醇变成胆固醇酯, 进入 HDL 的内部, 形成成熟的 HDL, 成熟的 HDL 通过 ApoA- I 的介导, 与肝细胞上的清道夫受体 BK (Scavenger receptor B1, SR-B1) 结合, 肝细胞选择性地吸收胆固醇酯入肝, 在肝细胞内进行胆固醇的代谢。成熟的 HDL 上的胆固醇酯还可以被低密度脂蛋白、极低密度脂蛋白、中间密度脂蛋白吸收, 通过它们转运至肝进行代谢。

Banka 等^[19]利用免疫组化方法发现 ApoA- I 在 HDL 介导的胆固醇外溢的过程中发挥重要作用。Francis 等^[20]发现 ApoA- I 能有效地介导胆固醇和磷脂从人主动脉平滑肌细胞的流出。Castro 等^[21]在实验中发现 ApoA- I 能加速胆固醇从细胞外溢, 同时还提高了 LCAT 的活性, 促进外溢胆固醇的酯化, 从而在细胞周围形成游离胆固醇的梯度, 加速外溢。Eriksson 等^[12]将重组的人 ProapoA- I 脂质体复合物从静脉注入家族性高胆固醇血症患者体内, 其粪便中胆固醇的量高于对照组患者, 而胆固醇的合成并未改变, 提示静注 ProapoA- I 可加速胆固醇从人体排泄, 刺激胆固醇逆向转运。

4.2 抑制低密度脂蛋白的氧化

脂蛋白氧化学说认为, 天然低密度脂蛋白 (Low-density lipoprotein, LDL) 并不具有很强的致动脉粥样作用。当 LDL 被氧化形成氧化型 LDL 后, 极易被巨噬细胞吞噬而形成泡

沫细胞,从而导致动脉粥样硬化症的发生。Navab 等^[22,23]提出了 LDL 被氧化的过程和 ApoA-I 抑制 LDL 氧化的机理。首先,血浆中的 LDL 结合一些氧化型的代谢产物如 HPODE (13(S)-hydroxyperoxyoctadecadienoic acid, HPODE) 和 HPETE (15(S)-hydroxyperoxyicosatetraenoic acid, HPETE) 等,结合有这些物质的 LDL 极易被动脉管壁细胞捕捉并沉积在它的上面,使动脉管壁细胞中的氧化型物质(如脂肪氧合酶)也结合到 LDL 上;当 LDL 上的氧化型物质达到一定域值时,就促使 LDL 上的磷脂氧化成氧化型的有生物学活性的磷脂,即氧化型 LDL。ApoA-I 可以抑制 LDL 氧化的全过程:ApoA-I 可以吸收结合于 LDL 上的氧化型物质,阻止 LDL 沉积在动脉管壁上;ApoA-I 可以排出动脉管壁细胞中的氧化型物质,防止它们结合到 LDL 上,而且, ApoA-I 可以直接抑制氧化型 LDL 中磷脂的生物活性。不仅 ApoA-I 可抑制 LDL 的氧化, HDL 和结合于 HDL 上的 PON (Paraoxonase) 也以同样的机理抑制 LDL 的氧化,保护血管壁细胞不受氧化的 LDL 的损伤^[22,23]。

Navab 等^[21,22]将人 ApoA-I 注射到鼠和人体内 6h 后,血浆中 HDL 浓度和 PON 活性增长了约 20%,此时提取 LDL 并将其纯化后与人动脉管壁细胞一起孵育, LDL 不能被氧化,而以 ApoA-I 为对照提取的 LDL 却被动脉管壁细胞氧化了。他们还将 ApoA-I、HDL、PON 直接与 LDL 孵育后再与动脉管壁细胞一起孵育, LDL 都不能被氧化而对照 LDL 却能被氧化。而且证明这些氧化型的物质是 HPODE、HPETE 和脂肪氧合酶等。这与许多试验结果是一致的:Thomas 等^[24]认为 LDL 必须与氧化型物质结合才能被氧化, Spector 等^[25]指出了动脉管壁细胞上 LDL 氧化的脂肪氧合酶途径, Cyrus 等^[26]将 apoE 基因缺陷鼠的脂肪氧合酶基因敲除后,明显减轻了动脉粥样硬化症的症状。Mackness 等^[27]研究指出, PON 通过防止 LDL 的氧化修饰,成为抗动脉粥样硬化的决定因素。Shih 等^[28]发现, PON 缺陷的 HDL 不能防止 LDL 的氧化,并且, PON 缺陷的 apoE 基因敲除鼠促进了动脉粥样硬化。由于 ApoA-I 决定了 HDL 的代谢和存在状态,直接影响了 PON 活性,因而还间接抑制了 LDL 的氧化。

4.3 调节炎症反应

动脉粥样硬化最早期的现象是炎症反应。现在认为动脉粥样硬化是由于血管内壁损伤而引起的一种慢性炎症性疾病,并以单核淋巴细胞等炎症因子渗透进血管内膜,致使平滑肌细胞增生并在细胞外基质的积累为其病理特征^[29,30]。内皮细胞粘连性和渗透性的增加导致淋巴细胞包括单核细胞来源的巨噬细胞和 T 淋巴细胞的积累,它们形成了早期的脂肪条纹并一直存在于粥样斑块内。而含有 ApoA-I 的 HDL 可调节炎症反应。研究指出,炎症因子的产生是由于受到刺激的 T 淋巴细胞和单核细胞的接触产生的。与 HDL 结合的 ApoA-I 阻碍了细胞间的接触,抑制了单核细胞的活化和炎症因子的产生^[31]。因此, ApoA-I 是淋巴细胞和单核细胞的天然抑制剂。在动脉粥样硬化发生早期,由于缺乏 ApoA-I 抑制作用,单核细胞通过接触活化产生炎症因子,随

后,由于炎症部位的渗透性增加, ApoA-I 扩散到血管外的基质,干扰了细胞间的接触,抑制了炎症因子的产生。

在动脉粥样硬化的发生发展过程中,血管内皮细胞渗透性增加,血管细胞粘附分子 1 和细胞间粘附分子 1 大量表达,高浓度的 ApoA-I 可抑制它们的表达^[32];同时,血管壁平滑肌细胞的增生亦具有重要的意义。动脉粥样斑块的局部病灶可能来源于单一的平滑肌细胞,该细胞在各种生长因子的刺激下明显增生,而 ApoA-I 可抑制血管内膜的增生。De Geest 等^[33]发现 apoE 基因缺陷小鼠的血管内皮细胞脱落,血管内膜明显增生,而将人 apoA-I 基因转入该类小鼠,迅速升高的 HDL 显著降低内膜增生程度。升高的 HDL 可能通过抑制生长因子的合成直接抑制新生内膜的形成,或通过加速降解溶血卵磷脂而间接抑制新生内膜的形成。此外, ApoA-I 可预防血管内皮功能异常, Deckert 等^[34]发现在 apoE 缺陷小鼠中,高脂饮食导致的内皮依赖性动脉舒张受损可以被表达的 ApoA-I 矫正。因此, ApoA-I 抑制平滑肌细胞增生的作用可能是其抗动脉粥样硬化的机制之一。

5 ApoA-I 制备

为了研究 ApoA-I 的结构、功能和作用的分子机理,需要大量制备高纯度的 ApoA-I 和其突变体;生产治疗用的 ApoA-I 必须依赖重组 DNA 技术。因为 ApoA-I 的临床用量很大,每针剂量在克级水平,不可能从血液中提取,据报道,从血液中提取 ApoA-I 的效率仅 1%。

近年来,已有 ApoA-I 在 CHO 细胞和杆状病毒昆虫表达系统获得表达的报道。据报道, ApoA-I 在 CHO 细胞中的表达水平很低;在杆状病毒昆虫表达系统中最高可达到 80 mg/L^[35]。但由于目前国际上用杆状病毒昆虫细胞表达系统生产重组产品的技术体系尚不成熟,再则, ApoA-I 是一种非糖基化蛋白,因而用原核表达系统表达 ApoA-I 是一种较为理想的选择。

在大肠杆菌表达系统中直接表达成熟的 ApoA-I 时,由于 ApoA-I 不稳定,在细胞内易降解,因此,表达量很低。Schmidt 等将 ApoA-I 分别与 β -半乳糖苷酶、谷胱甘肽-S-转移酶和麦芽糖结合蛋白融合表达,表达水平较高,但 ApoA-I 仍发生部分降解,且切割效率低,总产量仍然较低。McGuire 等^[36]表达带有前肽的 ProapoA-I,表达水平达 6mg/L,且重组 proapoA-I 在体内能有效地转变成成熟的 ApoA-I,促进 RCT,提高 HDL 的水平。研究发现, ApoA-I 的前 8 个氨基酸的密码子对它的表达影响很大, Bergeron 等^[37]将 ApoA-I 的前 8 个氨基酸的密码子进行同义突变,表达水平提高到 10mg/L。为了有利于表达和纯化,将亲和标签与 ApoA-I 融合表达,纯化后分别用内肽酶、因子 Xa 或凝血酶将亲和标签肽段切去。但这种酶切通常也能切断目的蛋白。为了避免这种情况, Safi 等^[38]先将目的蛋白与脂质结合,改变其结构,遮蔽了其酶切位点。但是,这种结合脂质和去脂质的方法不仅需要时间,而且影响了 ApoA-I 最终产量。Panagotopoulos 等^[39]在 ApoA-I 上的前肽和成熟的 ApoA-I 之间连接一个含 7n

个氨基酸的 IgA 蛋白酶的识别序列,然后连接到含 6 个组氨酸标签的 pET30 载体上表达,纯化后用 IgA 蛋白酶切割,得到一个多出 2 个氨基酸的成熟的 ApoA-I。但切割后还要纯化除去蛋白酶。Ryan 等^[40]将 ApoA-I 第二位的 Glu 突变成 Asp,形成一个蛋白质酸性水解的位点,同时将 apoA-I 的 Pro、Arg、Leu、Gly 4 种氨基酸的密码子全部换成大肠杆菌的偏性密码子,目的蛋白的表达量可达到 100mg/L;而且,纯化后的亲和力标签和前肽可直接通过甲酸水解除去,但酸解后的 ApoA-I 的 N 端缺失了 2 个氨基酸。由于 ApoA-I 的前肽影响蛋白质结构的稳定性^[36],故我们直接表达带有前肽的 ProapoA-I;又由于 ApoA-I 基因的前 8 个氨基酸的密码子对其表达量影响很大^[37],因而我们将这 8 个氨基酸和前肽的氨基酸密码子作了同义突变,并用 DNA Star 软件对 proapoA-I mRNA 5' 端的序列进行优化。将此设计基因直接克隆到 pQE30 的起始密码子后,去掉了 pQE30 的 RGS、His 标签,构建一种不含亲和力标签的表达载体。最终,目的蛋白在大肠杆菌 JM109 中获得了高表达,其表达率占菌体总蛋白的 55% 左右^[41]。而且,目的蛋白的稳定性很好,在 5L 发酵罐中诱导表达 15h,没有发现 ApoA-I 降解。由于直接表达带有前肽的 apoA-I,减少了用酶切或酸解除去亲和力标签这一步,因而不必担心亲和力标签切割不完全,也减少了 ApoA-I 的损失。而且,纯化也比较容易,仅经过疏水色谱和阴离子色谱,ApoA-I 的纯度即达 95% 以上。

6 结语

随着人民生活水平的提高,冠状动脉粥样硬化性疾病的发病率越来越高,目前已成为危害人类健康的三大疾病之一。目前对冠状动脉粥样硬化性病变发生的确切机制虽然还存在争议,但 ApoA-I 能治疗和预防冠状动脉粥样硬化性病变的事实却受到学术界的高度重视。ApoA-I 基因已成为治疗动脉粥样硬化的靶基因。基因治疗虽然是一种最理想的方法,但技术本身还存在许多问题:载体的安全性、表达的效率与调节等。因此,将基因的表达产物应用于临床可能成为一种行之有效的治疗手段。在这方面已有很多成功的例子,如:用白蛋白治疗失血或创伤引起的休克,以及低蛋白血症和新生儿高胆红素血症;用红细胞生成素治疗肾衰引起的贫血;用胰岛素治疗糖尿病等。用基因工程方法,已经能生产出大量的重组人 ApoA-I,其结构与功能和天然的 ApoA-I 相同,完全能满足临床需要;另一方面,大量的动物和临床试验已证明,重组人 apoA-I 不仅能防止动脉粥样硬化的发生和发展,而且能逆转病变,临床研究也未见明显的毒副作用。因此,重组 ApoA-I 有可能成为治疗和预防动脉粥样硬化的理想药物,具有广阔的临床应用前景。

REFERENCES (参考文献)

[1] Goldberg U, Yaari S, Medalie JH. Isolated low HDL cholesterol as a risk factor for coronary heart disease mortality. A 21-year follow-up of 8000 men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, **17**(1):107-113

[2] Segrest JP. Amphipathic helices and plasma lipoproteins: thermody-

amic and geometric considerations. *Chem Phys Lipids*, 1977, **18**(1):7-22

- [3] Tall A R, Small D M, Deckelbaum R J *et al.* Structure and thermodynamic properties of high density lipoprotein recombinants. *J Biol Chem*, 1977, **252**(13):4701-4711
- [4] Brinton E A, Eisenberg S, Breslow J L. Human HDL cholesterol levels are determined by apoA-I fractional catabolic rate, which correlates inversely with estimates of HDL particle size. Effects of gender, hepatic and lipoprotein lipases, triglyceride and insulin levels, and body fat distribution. *Arterioscler Thromb*, 1994, **14**(5):707-720
- [5] Benoit P, Emmanuel F, Caillaud JM *et al.* Somatic gene transfer of human apoA-I inhibits atherosclerosis progression in mouse models. *Circulation*, 1999, **99**(1):105-110
- [6] Rubin EM, Krauss RM, Spangler EA *et al.* Inhibition of early atherosclerosis in transgenic mice by human apolipoprotein A-I. *Nature*, 1991, **353**(6341):265-267
- [7] Paszty C, Maeda N, Verstuyft J *et al.* Apolipoprotein A-I transgene corrects apolipoprotein E deficiency-induced atherosclerosis in mice. *J Clin Invest*, 1994, **94**(2):899-903
- [8] Liu A C, Lawn R M, Verstuyft J *et al.* Human apolipoprotein A-I prevents atherosclerosis associated with apolipoprotein (a) in transgenic mice. *J Lipid Res*, 1994, **35**(12):2263-2267
- [9] Tangirala R K, Tsukamoto K, Chun S H *et al.* Regression of atherosclerosis induced by liver-directed gene transfer of apolipoprotein A-I in mice. *Circulation*, 1999, **100**(17):1816-1822
- [10] Sun S, Trachtenberg J D, Cochrane H *et al.* Apolipoprotein A-I inhibits atherosclerotic lesions progression. *Circulation*, 1993, **88**(3):549-552
- [11] Carlson L A. Effect of a single infusion of recombinant human apolipoprotein A-I liposomes (synthetic HDL) on plasma lipoproteins in patients with low high density lipoprotein cholesterol. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 1995, **5**(1):85-91
- [12] Eriksson M, Carlson L A, Miettinen T A *et al.* Stimulation of fecal steroidal excretion after infusion of recombinant apolipoprotein A-I: potential reverse cholesterol transport in humans. *Circulation*, 1999, **100**(6):594-598
- [13] Nanjee M N, Cooke C J, Garvin R *et al.* Intravenous apoA-I/lecithin discs increase pre- β -HDL concentration in tissue fluid and stimulate reverse cholesterol transport in humans. *J Lipid Res*, 2001, **42**(10):1586-1593
- [14] Pajkrt D, Doran J E, Koster F *et al.* Antiinflammatory effects of reconstituted high-density lipoprotein during human endotoxemia. *J Exp Med*, 1996, **184**(5):1601-1608
- [15] Pajkrt D, Lerch P G, Levi M *et al.* Different effects of reconstituted high-density lipoprotein on coagulation, fibrinolysis and platelet activation during human endotoxemia. *Thromb Haemost*, 1997, **77**(2):303-307
- [16] Calabresi L, Vecchio G, Longhi R *et al.* Molecular characterization of Native and Recombinant Apolipoprotein A-I Milano Dimer. *J Bio Chem*, 1994, **269**(51):32168-32174
- [17] Franceschini G, Sirtori C R, Bosio E *et al.* Relationship of the phenotypic expression of the A-I Milano apoprotein with plasma lipid and lipoprotein patterns. *Atherosclerosis*, 1985, **58**(1-3):159-174
- [18] Shah P K, Nilsson J, Kaul S *et al.* Effects of recombinant apolipoprotein A-I (Milano) on aortic atherosclerosis in apolipoprotein E deficient mice. *Circulation*, 1998, **97**(8):780-785
- [19] Banka C L, Black A S, Curtiss *et al.* Localization of apolipoprotein A-I epitope critical for lipoprotein-mediated cholesterol efflux from monocytic cells. *J Bio Chem*, 1994, **269**(14):10288-10297

- ciently binds to and mediates cholesterol and phospholipid efflux from human but not rat aortic smooth muscle cells. *Biochemistry*, 1999, **38** (49):16315 - 16322
- [21] Castro G ,Nihoul L P ,Dengremont C *et al.* Cholesterol efflux ,lecithin : cholesterol acyltransferase activity , and pre-beta particle formation by serum from human apolipoprotein A- I and/II transgenic mice consistent with the latter being less effective for reverse cholesterol transport. *Biochemistry*, 1997, **36** (8) :2243 - 2249
- [22] Navab M ,Hama S Y ,Anantharamaiah G M *et al.* Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein : steps 2 and 3. *J Lipid Res*, 2000, **41** (9) : 1495 - 1508
- [23] Navab M ,Hama SY ,Cooke CJ *et al.* Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein : step 1. *J Lipid Res*, 2000, **41** (9) :1481 - 1494
- [24] Thomas C E ,Jackson R L. Lipid hydroperoxide involvement in copper-dependent and independent oxidation of low density lipoproteins. *J Pharmacol Ther*, 1991, **256** (3) :1182 - 1188.
- [25] Spector A A ,North J A ,Kiminyo K P *et al.* Polyunsaturated fatty acids increase lipid radical formation induced by oxidant stress in endothelial cells. *J lipid Res*, 1994, **35** (10) :1773 - 1785
- [26] Cyrus T ,Witztum J L ,Rader D J *et al.* Disruption of the 12/15-lipoxygenase gene diminishes atherosclerosis in apoE-deficient mice. *J Clin Invest*, 1999, **103** (11) :1597 - 1604
- [27] Mackness B ,Durrington P N ,Mackness M I. Human serum paraoxonase. *Gen Pharmacol* 1998, **31** (3) :329 - 336
- [28] Shih D M ,Xia Y R ,Wang X P *et al.* Combined serum paraoxonase knockout/apolipoprotein E knockout mice exhibit increased lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *J Biol chem.*, 2000, **275** (23) :17527 - 17535
- [29] Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med*, 1999, **340** (2) :115 - 126
- [30] Burkhard L ,Rolf M Z ,Hans H. Arterial inflammation and atherosclerosis. *TCM* 2002, **12** (4) :154 - 159
- [31] Burger D ,Dayer J M. High-density lipoprotein-associated apolipoprotein A- I :the missing link between infection and chronic inflammation ? *Autoimmunity Reviews*, 2002, **1** :111 - 117
- [32] Clay M A ,Pyle D H ,Rye K A *et al.* Time sequence of the inhibition of endothelial adhesion molecule expression by reconstituted high density lipoproteins. *Atherosclerosis*, 2001, **157** (1) :23 - 29
- [33] Deckert V ,Lizard G ,Duverger N *et al.* Impairment of endothelium-dependent arterial relaxation by high-fat feeding in apoE - deficient mice toward normalization by human apoA- I expression. *Circulation*, 1999, **100** (11) :1230 - 1235
- [34] Nanjee M N ,Crouse J R ,King J M *et al.* Effects of intravenous infusion of lipid-free apoA-I in human. *Arteriocler Thromb Vasc Biol*, 1996, **16** (9) :1203 - 1214
- [35] Pyle LE ,Barton P ,Fujiwar Y *et al.* Secretion of biologically active human proapolipoprotein A- I in a baculovirus-insect cell system : protection from degradation by protease inhibitors. *J lipid Res*, 1995, **36** (11) :2355 - 2361
- [36] McGuire KA ,Davidson WS ,Jonas A. High yield overexpression and characterization of human recombinant human proapolipoprotein A- I. *J lipid Res*, 1996, **37** (7) :1519 - 1528
- [37] Bergeron J ,Frank PG ,Emmanuel F *et al.* Characterization of human apolipoprotein A- I expressed in Escherichia coli. *Biochim Biophys Acta*, 1997, **134** (4) :139 - 152
- [38] Safi W ,Maiorano J N ,Davidson W S. A proteolytic method for distinguishing between lipid-free and lipid-bound apolipoprotein A- I. *J lipid Res*, 2001, **42** (5) :846 - 872
- [39] Panaagotopoulos S E ,Witting S R ,Horace E M *et al.* Bacterial expression and characterization of mature apolipoprotein A- I. *Pro Expr Purif* 2002, **25** (2) :353 - 361
- [40] Ryan R O ,Forte T M ,Oda M N. Optimized bacterial expression of human apolipoprotein A- I. *Pro Expr Purif* 2003, **27** (1) :98 - 103
- [41] LI M(黎明) ,ZHAO H L(赵洪亮) ,LIU Z M(刘志敏) *et al.* High-level expression of recombinant human apolipoprotein A- I milano in *E. coli*. *Letters in Biotechnology*(生物技术通讯), 2003, **14** (3) :194 - 196

Advances in Apolipoprotein A- I and It 's Anti-atherosclerosis Properties

LI Ming LIU Zhi-Min *

(Institute of Biotechnology ,Academy of Military Medical Sciences , Beijing 100071 ,China)

Abstract Human apolipoprotein A- I ,the major protein component of high density lipoproteins and the main activator of the enzyme lecithin :cholesterol acyltransferase ,defines the structure and stability and functions of HDL. It is clearly demonstrated that high concentration of the apoA- I not only inhibits the initiation and progression of atherosclerosis ,but also makes the pre-existing atherosclerotic lesions regress. This review gives an overview of the apoA- I structure ,production ,relation between apoA- I and HDL ,and several mechanisms of the apoA-I anti-atherosclerosis. These mechanisms include directing excess cellular cholesterol from the peripheral tissues to the liver in reverse cholesterol transport ,inhibiting oxidative modification of LDL ,and modulating inflammatory responses to favour vasoprotection.

Key words apolipoprotein A- I ,atherosclerosis ,high-density lipoprotein

Received : 01-26-2003

This work was supported by Grants from National High Technology Program(No.2002AA2Z345B) and the State " 863 " High Technology R&D Project of China(No. 2002AA217021).

* Corresponding author. Tel 86-10-66948823 ,Fax 86-10-66948876 ,E-mail :liming096@sina.com

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>