文章编号:1000-5404(2005)05-0461-03

综述

# ANGPTL3 研究进展

# Development of ANGPTL3 research

李丙蓉,郑宏庭 综述,邓华聪 审校 (重庆医科大学附属第一医院内分泌科,重庆 400016)

脂代谢紊乱是动脉粥样硬化性心血管疾病、2 型糖尿病、中心性肥胖的独立危险因素。新近发现的血管生成素样蛋白 3 (angiopoietin-like protein 3, ANGPTL3)可调节脂代谢,有望成为一个新的治疗靶点,以下就其研究进展作一综述。

## 1 ANGPTL3 概述

Conklin 等[1]鉴定并克隆了 Angptl3 基因,该基因在肝脏发育的早期开始表达,并持续到成熟期。人 Angptl3 定位于 1p31,鼠 Angptl3 定位于 4 号染色体。Angptl3 基因编码 ANGPTL3,分子量为 $70\times10^3$ 的分泌性蛋白。人 ANGPTL3 是由 460 个氨基酸组成的蛋白质,具有血管生成素家族的特征性结构:氨基端一个信号肽序列和一个卷曲螺旋区域,羧基端的纤维蛋白原同源结构域。由于其氨基酸序列和结构的相似性而属于类血管生成素家族。鼠 ANGPTL3 由 455 个氨基酸组成。ANGPTL3 所包含的 4 个保守的半胱氨酸可形成分子内的二硫键,但不包含血管生成素 1、2、4 中可见的另两个半胱氨酸序列。ANGPTL3 中没有血管生成素家族所具有的特征性钙结合模序。

## 2 Angptl3 基因表达及其调控

Angptl3 基因主要在人、大鼠、小鼠的肝脏中表达,Angptl3 约 $7\times10^3$ bp,有 7 个外显子。Angptl3 mRNA 的表达可通过延长空腹时间而诱导,进而导致血浆游离脂肪酸和胆固醇升高。Inaba 等[2]发现天然的和合成的肝 X 受体(liver X receptor, LXR)配体可增强 Angptl3 mRNA 表达和肝肿瘤细胞产生 ANGPTL3。LXR 配体和肝 X 受体/维甲酸 X 受体(retinoid X receptor, RXR)复合体可增强 Angptl3 基因启动子活性。Angptl3 启动子区域有 LXR 反应元件(liver X receptor response element, LXRE),LXRE 的点突变终止配体介导的 Angptl3 启动子的反式激活。LXR/RXR 复合体可直接结合于 Angptl3 的 LXR 反应元件。并且,用合成的 LXR 配体处理小鼠可致肝和血浆中甘油三酯集聚,并可诱导肝脏 LXR 靶基因 mRNA 的表达,产生甾醇调节因子结合蛋白、脂肪酸合酶和 ANGPTL3。在 Angptl3 基因缺失的 C57BL/6J 小鼠,LXR 配体并没有引起高甘油三酯血症,但肝脏有甘油三酯的集聚,这些结果表明 Angptl3 是 LXR 的直接作用靶点,肝 Angptl3 基因的诱导表达可解释与 LXR 配体处理相关的高甘油三酯血症。

Kaplan 等[3]研究也发现 Angptl3 基因是 LXR 的直接靶点,高胆固醇饮食的小鼠肝脏 Angptl3 基因表达明显增加,给鼠口服一种合成的选择性 LXR 激动剂 T090137,会提高血浆脂质水平和肝脏 Angptl3 mRNA 的水平;用选择性 LXR 激动剂处理 HepG 2 细胞可剂量依赖性的提高 Angptl3 mRNA 的水平;Angptl3 转录起始点 5′端 DNA 序列分析显示存在几个潜在的转录因子结合位点:包括 LXR 结合位点。当转染到 HepG 2 细胞,Angptl3 启动子活性被 LXR 或视黄醛 X 受体选择性激动剂明显诱导,LXR 结合位点突变完全终止 LXR 激动剂介导的启动子激活;这些结果表明 Angptl3 被 LXR 进行转录调控,LXR 可通过一个新机制对脂代谢进行调控。

## 3 ANGPTL3 与脂代谢

### 3.1 ANGPTL3 可升高甘油三酯和非酯化脂肪酸水平

kk 肥胖鼠具有中度肥胖和高胰岛素血症、高血糖、高脂血症,kk/san 鼠虽然有高胰岛素血症和高血糖,但具有反常的低脂血症,这种突变表型是以孟德尔的隐性遗传方式传递,进一步研究表明编码 ANGPTL3 的 Angptl3 基因的突变可引起低脂血症。低脂血症(hypolipidemia, hyl)位点定位在 4 号染色体,并定位克隆了引起低脂血症的常染色体隐性突变,hyl 位点编码独特的血管生成素样蛋白调节因子,称为 Allml。与 kk 鼠相比,kk/san 鼠血浆甘油三酯、总胆固醇、非酯化脂肪酸水平降低,血糖和胰岛素水平相同,体质量相同,但性腺脂肪垫的质量降低,肝脏质量相同,未发现组织学异常,肝甘油三酯的分泌率降低 15%,周围组织处理外源甘油三酯的能力提高 85%,附睾脂肪组织中脂蛋白脂酶(lipoprotein lipase, LPL)活性升高 102%。电泳分析表明血浆甘油三酯、总胆固醇、非酯化脂肪酸降低主要由于乳糜微粒、极低密度脂蛋白、低密度脂蛋白降低,高密度脂蛋白轻微降低。进一步研究发现 kk/san 鼠中 Angptl3 基因外显子 6 中有 4 个碱基对的插入序列,Angptl3 的表达只有野生型鼠中的 1/30 ~ 1/40。用重组腺病毒将 Angptl3 导入 kk/san 鼠,可致其在肝脏中的表达增加,并使血浆甘油三酯、总胆固醇、非酯化脂肪酸水平升高。向 kk/san 鼠中注入重组 ANGPTL3 可致甘油三酯和非酯化脂肪酸水平迅速升高,注射 1 h 后可升高 4 ~ 5 倍,总胆固醇轻微升高,在正常 C57BL/6J 鼠中也可观察到相同结果[4]。

### 3.2 ANGPTL3 可抑制脂蛋白脂酶活性

Shimamura 等[5]用阿糖胞苷标记的 ANGPTL3 与人脂肪组织、心、脑、肾、肝、肺、胰腺、脾、骨骼肌、胃、小肠、食管、结肠、子宫、胎盘、膀胱组织共同孵育,只在脂肪组织中观察到强荧光信号,在其它组织中几乎没有荧光信号。肝素可以结合 ANGPTL3,加入 1 mg/ml 肝素可以明显减弱脂肪组织的荧光信号。进一步研究表明 ANGPTL3 与脂肪组织的结合是特异性的,并具有饱和性。ANGPTL3 可增强 3T3-L1 脂肪细胞的脂肪分解,用

作者简介:李丙蓉(1977 - ),女,四川省邛崃市人,博士研究生,主要从事糖尿病慢性并发症方面的研究。电话:(023)89014433

收稿日期:2004-06-12;修回日期:2004-12-19

100 nmol/L 人 ANGPTL3 孵育 3T3-L1 脂肪细胞，可增强其向介质中释放甘油和游离脂肪酸，其效应与 100 nmol/L 肾上腺素相同。脂解作用的意义在于提供脂肪酸和甘油，用于肝合成甘油三酯和葡萄糖。因此，ANGPTL3 促进脂肪分解作用将能量从脂肪转移到肝脏，ANGPTL3 指导肝中能量储存，特别是脂质的集聚。ANGPTL3 可通过抑制脂蛋白脂酶使肝中的脂肪储存增加，并刺激脂肪细胞中的脂肪分解。而 ANGPTL3 是通过何种机制增强脂肪细胞脂解作用还需进一步研究，但 ANGPTL3 在脂肪细胞上有特异性结合位点，ANGPTL3 可通过其在脂肪细胞上受体的介导而发挥效应。激素敏感性脂肪酶是水解脂肪细胞中甘油三酯的关键酶，Perilipin 是包围在细胞内脂质表面的包被蛋白，并促进脂肪细胞的脂解作用，AQPap 是脂肪的特异性甘油通道。ANGPTL3 并不影响激素敏感性脂肪酶、Perilipin、AQPap mRNA 表达。但由于这些蛋白的功能主要被翻译后调节，因此，ANGPTL3 对这些蛋白修饰的影响尚需进一步研究。

Shimizugawa 等[6]比较了 kk 鼠和 kk/san 鼠的脂蛋白组成，发现两者 apoB100 和 apoB48 水平无显著差异，kk/san 鼠中低甘油三酯和总胆固醇水平主要是由于极低密度脂蛋白的降低。注射了 Ad/Angptl3 的 kk/san 鼠极低密度脂蛋白显著升高。kk 鼠和 kk/san 鼠极低密度脂蛋白的分泌率和摄取无显著性差异，kk/san鼠中极低密度脂蛋白的脂肪分解作用增强，清除率升高。进一步研究表明 ANGPTL3 不但可以抑制粗制的大鼠脂肪细胞脂蛋白脂酶(lipoprotein lipase, LPL)，还可以抑制提纯的牛的脂蛋白脂酶。ANGPTL3 浓度为 10 μg/ml 时，鼠脂肪细胞 LPL 被抑制约 70%，肝脂肪酶被抑制 16%。ApoCII 在低浓度(0.07 μmol/L)时不影响 ANGPTL3 对脂蛋白脂酶的抑制作用，但在高浓度时剂量依赖性的减弱 ANGPTL3 对脂蛋白脂酶的抑制作用。由于鼠血浆中的 ANGPTL3 水平为 100～500 μg/ml，正常人血浆中的 ANGPTL3 水平约为 500 ng/ml，而 ANGPTL3 浓度为 10 μg/ml 时可抑制 LPL，因此，在活体内 ANGPTL3 调节极低密度脂蛋白的机制很可能是通过对脂蛋白酶的抑制。另外，研究还显示 ANGPTL3 的卷曲螺旋结构是抑制 LPL 所必需，脂蛋白脂酶可以增强肌肉组织对非酯化脂肪酸的摄取，因此，Angptl3 的过度表达而引起的非酯化脂肪酸的升高是由于外周组织对其摄取降低。

人 ANGPTL3 的缺失突变分析显示，ANGPTL3 的 N 端卷曲螺旋结构而不是 C 端的纤维蛋白原样结构域升高血浆甘油三酯水平，替代 61～66 个氨基酸残基时，ANGPTL3 既不升高血浆甘油三酯水平，也不抑制脂蛋白脂酶活性。进一步分析人 ANGPTL3 发现：ANGPTL3 在 221R-222A 和 224R-225T 两处裂解，正好在 N 端卷曲螺旋结构和 C 端的纤维蛋白原样结构的连接处。研究还表明 ANGPTL3 的持久裂解突变体升高鼠甘油三酯水平的活性比野生型 ANGPTL3 低，但抑制脂蛋白脂酶的活性与野生型 ANGPTL3 相同。这些研究提示 ANGPTL3 的裂解对于 ANGPTL3 在体内的激活具有重要作用。

## 4 ANGPTL3 与动脉粥样硬化

为了阐明 ANGPTL3 在动脉粥样硬化形成中的作用，Ando 等[7]研究了 apoE 基因敲除(apolipoprotein E knockout, apoEKO)鼠中 hypl 突变对高脂血症和动脉粥样硬化的作用。具有 hypl 突变的 apoEKO 鼠与单纯的 apoEKO 鼠相比，VLDL 甘油三酯、VLDL 胆固醇和血浆 apoB 水平显著降低，肝脏的 VLDL 甘油三酯分泌率无显著性差异，VLDL 的清除显著增强，脂蛋白脂酶和肝脂肪酶的活性显著升高，餐后血浆甘油三酯水平降低。而且，具有 hypl 突变的 apoEKO 鼠主动脉窦的动脉粥样硬化性损害减小 3 倍。因此，Angptl3 的表达降低是高脂血症和动脉粥样硬化的保护性因素，即使在缺乏 apoE 时，也可增强富含甘油三酯的脂蛋白的分解代谢和清除。高脂血症是动脉粥样硬化、冠心病、糖尿病的主要危险因素，Angptl3 基因突变可降低鼠的动脉粥样硬化。因此，ANGPTL3 可能是治疗动脉粥样硬化和高脂血症所致疾病的有效靶点。

## 5 ANGPTL3 对血管的作用

ANGPTL3 不与 Tie2、Tie1 受体结合，而是结合于整合素 $\alpha v\beta_3$ 受体，该受体可结合于一系列细胞外基质蛋白，包括玻基结合素、纤维连接蛋白、纤维蛋白原、层粘连蛋白、胶原蛋白、骨桥接素、基质金属蛋白酶 2。$\alpha v\beta_3$ 受体存在于一些血管、肠、子宫平滑肌，另外，在激活的白细胞、巨噬细胞、破骨细胞也发现了该受体。当内皮细胞被暴露于缺氧和细胞因子如血管内皮生长因子时，$\alpha v\beta_3$ 受体被上调，在肿瘤的脉管系统和动脉粥样硬化患者的动脉过度表达。ANGPTL3 结合于整合素 $\alpha v\beta_3$ 受体后，诱导了内皮细胞的粘附和迁移，这种作用可被 $\alpha v\beta_3$ 的中和抗体完全阻断。当用 ANGPTL3 刺激 16～20 h 后，与对照组相比，细胞迁移增高 2.5 倍。当重组的 ANGPTL3 包被到膜表面时，诱导的内皮细胞移动更加显著，而加到介质中此作用就会减弱。ANGPTL3 诱导的内皮细胞的粘附刺激了许多细胞内的信号转导途径，使 FAK、MAPK、Akt/PKB 磷酸化增强，导致特征性的细胞骨架重排。Angptl3 在肝脏特异表达，可能通过与肝脏内皮上表达的 $\alpha v\beta_3$ 结合而调节血管反应；ANGPTL3 还可诱导大鼠角膜新生血管的形成，且不依赖于其它的促血管生成因子。因此，调节远处部位的新生血管的形成是其生物学作用之一。研究还发现 ANGPTL3 的纤维蛋白原样结构域对血管生成起关键作用[8]。

## 6 结语

Angptl3 基因在肝脏特异性表达，并受许多因素的调控。ANGPTL3 可调节脂代谢，诱导新生血管的形成。但是，ANGPTL3 是否在肝脏和其它组织的病理性血管形成中起作用；它的翻译后修饰是否能调节其活性；ANGPTL3 的病理生理学意义，ANGPTL3 调控脂代谢的分子机制，还需进一步研究。另一个有趣的问题是，虽然 kk/san 鼠血浆甘油三酯和游离脂肪酸浓度降低，但并不影响其糖尿病表型；游离脂肪酸的代谢异常在 2 型糖尿病和代谢综合征的发病机制中起关键作用；摄入高脂饮食和循环中的游离脂肪酸浓度增高可导致外周组织和肝脏的胰岛素抵抗；这些以及其它研究都支持脂毒性学说，即甘油三酯和长链脂酰 CoA 在肌肉、肝脏、胰岛的集聚，可以引起胰岛素抵抗和胰岛分泌功能降低，进而产生 2 型糖尿病和代谢综合征。然而，在 kk/san 鼠中发现的低脂血症并不改变糖尿病表型。的确，贝特类和烟酸类降脂药及其衍生物降低了甘油三酯、游离脂肪酸的浓度，但并不影响血糖控制。因此，研究贝特类和烟酸类降脂药以及体力活动对 Angptl3 基因表达的影响具

有重要意义。如果 ANGPTL3 在人体内的作用与研究鼠所得的作用一致，那么阻抑它的活性可以作为降脂治疗很重要的靶点。ANGPTL3 的阻滞剂不仅可以用于治疗糖尿病脂代谢紊乱，还可以治疗代谢综合征的患者，特别是家族性的高脂血症、脂代谢紊乱所致高血压、与中心性肥胖相联的脂代谢紊乱。

**关键词**：血管生成素样蛋白 3；脂代谢紊乱；2 型糖尿病
**中图法分类号**：R341 **文献标识码**：A

## 参考文献：

[1] Conklin D, Gilbertson D, Taft D W, *et al*. Identification of a mammalian angiopoietin-related protein expressed specifically in liver[J]. Genomics, 1999, 62(3): 477 - 482.
[2] Inaba T, Matsuda M, Shimamura M, *et al*. Angiopoietin-like protein 3 mediates hypertriglyceridemia induced by the liver X receptor[J]. J Biol Chem, 2003, 278(24): 21344 - 21351.
[3] Kaplan R, Zhang T, Hernandez M, *et al*. Regulation of the angiopoitin-like protein 3 gene by LXR[J]. J Lipid Res, 2003, 44(1): 136 - 143.
[4] Koishi R, Ando Y, Ono M, *et al*. Angptl3 regulates lipid metabolism in mice[J]. Nat Genet, 2002, 30(2): 151 - 157.
[5] Shimamura M, Matsuda M, Kobayashi S, *et al*. Angiopoietin-like protein3, a hepatic secretory factor, activates lipolysis in adipocytes[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 301(2): 604 - 609.
[6] Shimizugawa T, Ono M, Shimamura M, *et al*. ANGPTL3 decreases very low density lipoprotein triglyceride clearance by inhibition of lipoprotein lipase[J]. J Biol Chem, 2002, 277(37): 33742 - 33748.
[7] Ando Y, Shimizugawa T, Takeshita S, *et al*. A decreased expression of angiopoietin-like 3 is protective against atherosclerosis in apoE-deficient mice[J]. J lipid Res, 2003, 44(6): 1216 - 1223.
[8] Camenisch G, Pisabarro M T, Sherman D, *et al*. ANGPTL3 stimulates endothelial cell adhesion and migration *via* integrin alpha *v* beta 3 and induces blood vessel formation *in vivo*[J]. J Biol Chem, 2002, 277(19): 17281 - 17290.

（编辑 陈聪连）

综述

文章编号：1000-5404(2005)05-0463-03

# 多原发性乳腺癌

# Multiple primary breast carcinoma

张 毅 综述，姜 军 审校 （第三军医大学西南医院乳腺疾病中心，重庆 400038）

近年来，随着乳腺癌早期诊断技术的提高及生存时间的延长，乳腺癌的多原发性发生率也呈增高趋势。乳腺癌的多原发性主要表现在双侧乳腺癌与单侧多中心性乳腺癌，后者与日前日益增多的保留乳房手术有密切关系，多原发性乳腺癌在临床特性及诊断治疗上有其独特的特点，下面就此作一综述。

## 1 多原发性恶性肿瘤概念

多原发性恶性肿瘤（multiple primary malignant neoplasm, MPMN）是指一个患者同时或先后发生两个以上原发性恶性肿瘤，可以是同一器官，组织来源，也可以是不同的器官，组织来源。多原发恶性肿瘤分为同时性多原发性与异时性多原发性恶性肿瘤。一般将第一原发恶性肿瘤发生、诊疗后，半年内又出现另一原发恶性肿瘤，称为同时性多原发性恶性肿瘤，半年后又出现另一原发恶性肿瘤，称为异时性多原发性恶性肿瘤。

对于多原发性恶性肿瘤的诊断标准，许多文献报道不完全一致。目前国内文献上应用的标准是：①每个肿瘤均为恶性；②肿瘤发生在不同部位，两者不相连续；③有其独特的形态特点；④每个肿瘤一般有其特有的转移途径。

在实际工作中，经常观察到虽同在一个器官但可以有多个经病理证实确为不同病理类型的恶性肿瘤。随着分子生物学技术的进展，经肿瘤的基因分析认为，即使是相同器官相同病理类型的两个肿瘤，经 PCR 扩增后分析，可发现肿瘤组织的癌基因或抑癌基因片断不同，表明这两个肿瘤起源不同。分子生物学技术使 MPMN 的诊断技术有了进一步的提高。

## 2 多原发性乳腺癌

由于乳腺是成对器官，也是肿瘤的好发器官，所以有它的特殊性，多原发性乳腺癌包括两种，一是双侧原发性乳腺癌，第二是多中心性乳腺癌。

### 2.1 双侧原发性乳腺癌

双侧原发性乳腺癌是指同时或先后两侧乳房发生独立的原发性乳腺癌。分为同时性与异时性双侧乳腺癌。同时性是指发现两侧乳腺癌的时间≤6 个月，发现时可以两侧同时存在或在 6 个月内。异时性即间隔时间 > 6 个月，间隔时间最长可以 10 多年至 20 几年。发病率方面，国外报道双侧乳腺癌发病率占所有乳腺癌中 5% ~ 15%[2]，国内报道为 1.7% ~ 6%[1]，可能与随访不严格有关。

### 2.2 双侧原发性乳腺癌诊断标准

双侧原发性乳腺癌需要与转移到对侧的乳腺癌相区别，因为它们两者在治疗及预后上完全不同。所以，对于双侧原发性乳腺癌也需要制定诊断标准[3]：①双侧乳腺癌的病理类型不同。②双侧乳腺癌组织中分别找到原位癌成分，如导管癌、小叶癌等。③双侧乳腺癌病理组织学类型相同，而先发者无局部复发、淋巴道转移及其它远处转。④原发癌好发部位多在外上象限，生长在乳腺实质中，边界不清，常有浸润，转移癌多见于对侧乳腺内侧或尾部脂肪组织中，呈扩张性生长，常为多发。

作者简介：张 毅（1969 - ），男，河南省新乡市人，硕士，主治医师，讲师，主要从事乳腺、甲状腺外科临床及基础方面的研究，发表论文 10 余篇。
电话：(023)65366053

收稿日期：2003-08-30；修回日期：2004-10-1