

## Research Progress of Niemann-Pick-C1-Like 1, a Key Target Related to Cholesterol Absorption\*

Mochao Fang<sup>1,2,3</sup>, Le Cao<sup>1,2,3</sup>, Weijian Bei<sup>1,2,3#</sup>

<sup>1</sup>Institute of Chinese Medicinal Sciences, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou

<sup>2</sup>Key Unit of Modulating Liver to Treat Hyperlipemia, State Administration of Traditional Chinese Medicine (SATCM), SATCM Level 3 Lab of Lipid Metabolism, Guangzhou

<sup>3</sup>Guangdong TCM Key Laboratory against Metabolic Diseases, Guangzhou

Email: mc\_fang@foxmail, caole8560@163.com, #beiwj2000@yahoo.com.cn

Received: Mar. 20<sup>th</sup>, 2013; revised: Apr. 18<sup>th</sup>, 2013; accepted: Apr. 26<sup>th</sup>, 2013

Copyright © 2013 Mochao Fang et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**Abstract:** NPC1L1 is a new found target protein in the regulation of cholesterol absorption. NPC1L1 is directly related to cholesterol absorption in the intestine. By interacting with cholesterol transport protein Flotillin-1 and Flotillin-2, NPC1L1 protein transports the cholesterol and other sterols across the intestinal epithelial brush border membrane into the intestinal epithelial cells. The cholesterol transporter function of NPC1L1 was specifically inhibited by cholesterol-lowering agent Ezetimibe via blocking the interaction. NPC1L1 expression is highly modulated by a variety of nuclear regulators such as PPARs, LXR $\alpha$ , SREBP2, HNF4 $\alpha$ . NPC1L1 could otherwise regulate the related downstream genes to maintain cholesterol homeostasis via regulating cholesterol level in the related cells. A variety of traditional Chinese medicine have inhibitory effect on cholesterol absorption. It has not yet reported that Traditional Chinese Medicine could regulate cholesterol absorption by inhibiting NPC1L1.

**Keywords:** Cholesterol Absorption; Niemann-Pick-C1-Like 1; Traditional Chinese Medicine; Ezetimibe

## 胆固醇吸收靶点 NPC1L1 研究进展\*

方沐潮<sup>1,2,3</sup>, 曹乐<sup>1,2,3</sup>, 贝伟剑<sup>1,2,3#</sup>

<sup>1</sup>广东药学院中医药研究院, 广州

<sup>2</sup>国家中医药管理局脂代谢三级实验室及高脂血症调肝降脂重点实验室, 广州

<sup>3</sup>广东省代谢性疾病中医药防治重点实验室, 广州

Email: mc\_fang@foxmail, caole8560@163.com, #beiwj2000@yahoo.com.cn

收稿日期: 2013年3月20日; 修回日期: 2013年4月18日; 录用日期: 2013年4月26日

**摘要:** NPC1L1 是近年发现对胆固醇的吸收有调控作用的新靶点。在小肠内 NPC1L1 蛋白与胆固醇吸收直接相关。NPC1L1 蛋白与相关胆固醇转运蛋白 Flotillin-1 和 Flotillin-2 相互作用, 将胆固醇和其他甾醇转运通过肠上皮细胞刷状缘、运送到肠上皮细胞内。降胆固醇药物 Ezetimibe 正是阻断了 NPC1L1 和 Flotillin-1 和 Flotillin-2 的相互作用, 从而抑制胆固醇吸收。NPC1L1 的表达受到多个核因子如 PPARs, LXR $\alpha$ , SREBP2, HNF4 $\alpha$  的调控; 另一方面, NPC1L1 又能够通过调节细胞胆固醇水平, 进而调控胆固醇代谢相关的 SREBP1c、FAS 和 ABCA1 等基因, 进一步维持体内胆固醇的动态平衡。多种中药对胆固醇吸收有抑制作用, 但是目前尚未发现中药直接作用于 NPC1L1 而抑制胆固醇吸收的报道。

**关键词:** 胆固醇吸收; NPC1L1; 中药; 依泽麦布

\*基金项目: 国家自然科学基金项目(NO. 81173626)。

#通讯作者。

## 1. 引言

高胆固醇血症是心脑血管疾病的独立危险因素，可直接引起动脉粥样硬化，最终导致冠心病和脑中风等致死、致残性疾病。阐明胆固醇吸收的分子机制将为防治这类疾病提供重要基础。

体内合成、肠道吸收和肝脏代谢是人体胆固醇动态平衡的三大调节渠道。血浆胆固醇的来源主要有 2 条途径，一是肝脏和外周组织合成的胆固醇，二是由肠道吸收膳食和胆汁中的胆固醇。

Niemann-Pick-C1-Like 1 (NPC1L1) 是近年来发现的新基因，主要表达在人、猴子及大、小鼠的小肠和肝脏，可调控胆固醇的吸收<sup>[1]</sup>。蛋白是胆固醇跨膜转运的关键蛋白，在人肠表皮细胞膜和肝实质细胞膜上大量表达，是人体胆固醇代谢调节网络的关键节点之一<sup>[2,3]</sup>。大量的细胞及动物实验表明，NPC1L1 在肠道胆固醇吸收及代谢过程中发挥重要作用<sup>[4-6]</sup>。且近年研究证明 NPC1L1 在 Caco-2 细胞中表达促进胆固醇和谷固醇的吸收，并且这种作用能够被 ezetimibe 所抑制<sup>[7]</sup>。

本文将就 NPC1L1 近年来相关胆固醇代谢方面的研究进展做一综述。

## 2. 胆固醇吸收过程及其抑制剂 Ezetimibe

NPC1L1 蛋白位于小肠黏膜上皮细胞的刷状缘，是小肠内饮食性胆固醇吸收的转运体。在小肠内饮食胆固醇吸收过程中起关键作用。

先灵葆雅研究院的科学家发现蛋白质 NPC1L1 在肠道胆固醇吸收机制中扮演重要角色。用免疫组织化学法，分子生物学家 Scott Altmann<sup>[8,9]</sup>博士等人发现 NPC1L1 蛋白质位于空肠(jejunum)的肠道细胞。为了确认此新发现蛋白质的作用，Harry Chip Davis 博士<sup>[10-12]</sup>等通过基因工程发现缺乏 NPC1L1 蛋白质的老鼠只能吸收较正常老鼠不到 70%的胆固醇数量，显示 NPC1L1 是胆固醇吸收路径的重要组成部分之一。

早期研究显示，NPC1L1 缺失或 ezetimibe 治疗可以减少血液中胆固醇含量，在此基础上的进一步研究确定 NPC1L1 是强效胆固醇吸收抑制剂 ezetimibe 的作用靶点<sup>[7,13]</sup>。ezetimibe 在临床使用中用来治疗高胆固醇血症，也用来预防饮食所导致的脂肪肝和肥胖症。同时，研究结果表明降低 NPC1L1 基因的表达可

减少因高脂饮食所致的肝脏脂肪性变<sup>[14,15]</sup>。

胆固醇吸收过程可分为三个阶段<sup>[16,17]</sup>：1) 初始阶段(the initial or intraluminal phase)：亦称管腔内过程，是一系列理化过程，主要为在混合胶束(mixed micelles)中的甾醇被转运到肠上皮细胞刷状缘(BBM, brush border membrane)上的过程。2) BBM 阶段(brush border membrane phase)：NPC1L1 和其他相关胆固醇转运蛋白将胆固醇与其他甾醇跨膜转运通过 BBM。3) 细胞内阶段(intracellular phase)：包含了数个复杂过程，比如大多数胆固醇进入上皮细胞后的再酯化，胆固醇与其他脂类随载脂蛋白 B48 组成乳糜微粒等过程。本综述重点在第二阶段，即 BBM 阶段中 NPC1L1 与胆固醇相互作用<sup>[18,19]</sup>。

在初始阶段，胆固醇吸收过程从消化液中各种酶与食物在口腔中混合开始。食物进入胃部与胃蛋白酶等消化液混合，胃蠕动将食物加工成糜状。食物乳糜从胃进入十二指肠，在十二指肠中食物乳糜与胆汁和胰液混合后，进入小肠中。脂肪水解酶将脂类水解成包括胆固醇在内的不溶于水相的各种脂类，其中胆汁酸与胆固醇结合成胆酸盐，胆酸盐可以增加胆固醇在水相中溶解度。BBM 阶段，即胶束穿过小肠腔膜上的一层可以改变胆固醇吸收动力学的屏障。小肠腔中胆固醇与胆固醇转运体结合通过上皮细胞刷状缘。胆固醇在小肠上皮细胞被迅速加工并转运至淋巴液中。进入上皮细胞后，即为细胞内阶段，一半的胆固醇被转移至内质网，胆固醇在内质网被 ACAT (acyl CoA: cholesterol acyltransferase 脂肪酰转移酶)催化，聚合成乳糜微粒。乳糜微粒从淋巴液分泌至血液中。乳糜微粒通过血管脂蛋白脂肪酶 lipoprotein lipase (LPL)的水解作用向外周组织转运甘油三酯，水解残留部分含有丰富的胆固醇，肝脏吸收之。在肝脏，胆固醇去路有两条：合成胆汁酸，再次与 VLDL 结合进入全身循环。与脂蛋白和载脂蛋白相关的蛋白质，作为脂质受体，酶的辅助因子或受体介导的细胞摄取的配体。

Altmann 等<sup>[1]</sup>在 2004 年发表的文章中称 NPC1L1 是食物与胆汁中胆固醇吸收的重要蛋白。2005 年，Garcia-Calov 等<sup>[7]</sup>发表论文宣布 NPC1L1 为 ezetimibe 的作用靶点。Hawes 等<sup>[13]</sup>发现，ezetimibe 体内实验表明，其作用于 NPC1L1 的亲和力直接相关。有研究表明 NPC1L1 敲除小鼠中，胆固醇吸收显著下降。

ezetimibe 可抑制食物胆固醇从小肠管腔转运至小肠细胞中。其他领域研究开始向 NPC1L1 在人类中表达的遗传多样性和此特性与人类个体血浆 LDL-C 水平相关性研究<sup>[6,20-22]</sup>。

### 3. NPC1L1 转运胆固醇及 Ezetimibe 抑制 NPC1L1 的分子机制

NPC1L1 为治疗高胆固醇血症的药物靶点,对该基因的研究有助于在分子水平上深入理解胆固醇吸收过程,有助于加速在分子水平开发调节胆固醇代谢的药物。

“NPC1L1”蛋白质和两个名为“Flotillin-1”和“Flotillin-2”的同源蛋白相互作用,形成一个含有高浓度胆固醇的特殊膜结构域,将人们饮食中所含的大量胆固醇高效摄取进入细胞<sup>[23]</sup>。这个过程依赖于细胞内的微丝系统和 Clathrin/AP2 蛋白复合体<sup>[24]</sup>。

该膜结构域在小肠上皮细胞膜表面组装。其中,蛋白质 NPC1L1 为转运体,同源蛋白 Flotillin-1 和 Flotillin-2 结合细胞外的大量游离胆固醇,该结构域在一个 Clathrin/AP2 的蛋白复合体共同作用下,通过细胞的微丝,将大量胆固醇运送到细胞内<sup>[23]</sup>。

Ge 等<sup>[25]</sup>报道了在肝脏和小肠细胞中, NPC1L1 控制胆固醇在细胞表面和细胞内循环转运,并鉴定出这个过程依赖于细胞内的微丝系统和 Clathrin/AP2 蛋白复合体。进一步研究证明新近上市的降胆固醇药物 ezetimibe 的作用机制,证明该药物通过抑制 NPC1L1 蛋白,从而抑制细胞对胆固醇的吸收。

宋保亮研究组<sup>[26,27]</sup>进一步阐明了降胆固醇类药物 Ezetimibe 的作用机制,证明该药物通过抑制 NPC1L1 蛋白,从而抑制细胞对胆固醇的吸收。研究还发现,降胆固醇药物益适纯的作机理在于该药物阻断了 NPC1L1 和 Flotillin-1 和 Flotillin-2 之间的作用关系,让 NPC1L1 不能发挥运送胆固醇进入细胞内部的功效。Smart 等研究发现<sup>[28]</sup>, ezetimibe 能够作用于胆固醇转运复合物,随后小凹蛋白 1 (caveolin-1)从该复合物释放出来。胆固醇和植物固醇在肠上皮细胞的吸收都需要 NPC1L1 蛋白,植物固醇同胆固醇竞争使用 NPC1L1 蛋白<sup>[23,29-30]</sup>。

### 4. NPC1L1 上游调控因子

NPC1L1 基因表达在转录水平受多种转录调节因

子的调控。近年研究显示,过氧化物酶增殖体激活受体(peroxisome proliferator activated receptor, PPAR),肝脏 X 受体(Liver X receptor, LXR),甾体调节原件结合蛋白 2 (sterol regulatory element binding protein 2, SREBP2),肝核因子 1 $\alpha$ 、4 $\alpha$  (hepatocyte nuclear factor 1 $\alpha$ /4 $\alpha$ , HNF1 $\alpha$ /4 $\alpha$ )是细胞内调节胆固醇代谢的重要转录调节因子。上述调控因子受到药物等因素刺激,在细胞内被激活或抑制,进而调控 NPC1L1 的表达,从而维持细胞内胆固醇含量稳定。

#### 4.1. PPARs

激活 PPAR $\delta$ ,可下调 NPC1L1 基因的表达,抑制肠道胆固醇吸收。Oliver 等<sup>[31]</sup>使用 PPAR $\delta$  激动剂 GW501516 对肥胖恒河猴进行 4 周治疗后,发现 NPC1L1 表达下调,胆固醇吸收减少。并且其血脂谱明显改善:血清高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)上升 79%,低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)下降 29%,甘油三酯下降 56%,血清中与 HDL-C 相关的载脂蛋白 apoA 和 apoC 水平升高。Van der Veen<sup>[32]</sup>等用 GW 610742 激动 PPAR $\delta$ ,在肥胖和非肥胖的小鼠模型上也得到相似的结果。

PPAR $\alpha$  和 PPAR $\delta$  均能下调肠内 NPC1L1 表达,抑制肠内胆固醇吸收。其可能机制如下。PPAR $\alpha$  和  $\delta$  激动剂可增加肌肉中氧化型纤维比例与含量,提高琥珀酸脱氢酶活性;上调心肌脂肪酸氧化相关基因或阻滞核转录因子对心肌脂肪酸氧化的抑制,进而促进心肌脂肪酸氧化,从而有效促进骨骼肌、心肌、脂肪组织的脂肪酸摄取、 $\beta$  氧化和能量耗散等体内脂肪酸代谢去路而调节血脂,如可显著升高血 HDL-C,促进血中 apoA I/II 增加,体内巨噬细胞、肠细胞以及纤维细胞中 ABCA1 的表达;进而调节 NPC1L1 的表达<sup>[33-35]</sup>。

#### 4.2. LXR $\alpha$

激活 LXR $\alpha$ ,可下调 NPC1L1 基因的表达,抑制肠道胆固醇吸收。

LXR 属于核受体超家族,是细胞核的胆固醇感受器,可调节外周组织胆固醇逆转运、胆酸形成和胆固醇分泌过程中相关基因的表达。其在调节细胞内胆固醇、脂肪酸、葡萄糖的动态平衡中发挥了重要作用。在维持体内胆固醇的动态平衡方面,激活 LXR $\alpha$ ,可

上调三磷酸腺苷结合盒转运体(ABC)中 ABCA1 和 ABCG5/8 异二聚体的表达,增加细胞内胆固醇逆转运至肝和肠腔,促进体内胆固醇清除。同时,可通过调控 NPC1L1,使 NPC1L1 调节摄取固醇类脂质,然而具体机制仍不清楚。

NPC1L1 蛋白的细胞表达和活性受到一些因素的调节,目前证实胆固醇浓度是最主要的调节因子。Repa 的体内实验发现,当食物中胆固醇含量高时,小鼠的小肠上皮细胞 NPC1L1 蛋白的表达较正常饮食的小鼠下调<sup>[36]</sup>;当细胞内胆固醇浓度升高时, LXR $\alpha$  激活并导致小肠上皮细胞的 NPC1L1 mRNA 和蛋白表达下调<sup>[37,38]</sup>。Duval 等<sup>[37]</sup>研究发现,在人肠上皮细胞株 Caco2/TC7 内, LXR 激动剂 T0901317 则下调 NPC1L1 mRNA 的表达。用同样方法处理过的小鼠十二指肠 NPC1L1 降低 30%给予小鼠单剂量 LXR 激动剂(T0901317) 6h 后, NPC1L1 mRNA 表达水平显著降低,表明 NPC1L1 是 LXR 的靶点基因<sup>[39,40]</sup>。

### 4.3. 其他调控因子

NPC1L1 与转录调节因子甾醇调节元件结合蛋白 2 (sterol regulatory element binding protein 2, SREBP2) 基因表达呈正相关,提示 NPC1L1 的转录表达可能受到 SREBP2 的调控。Horton<sup>[41]</sup>等实验研究发现,在 Caco-2 细胞中,应用洛伐他汀导致细胞内胆固醇水平降低时,通过激活 SREBP2,可以上调细胞 NPC1L1 mRNA 和蛋白的表达<sup>[13]</sup>。Pramfalk 等通过构建 NPC1L1 启动子荧光素酶报告基因,染色质免疫沉淀和凝胶迟滞电泳等方法,在人肝细胞 HuH7 实验证实, NPC1L1 基因主要受两个肝脏核受体 SREBP2 和肝细胞核因子 1 $\alpha$  (HNF1 $\alpha$ )的转录调节<sup>[42,43]</sup>。

SREBP2 是细胞内调节胆固醇代谢的重要转录调节因子,Goldstein<sup>[44]</sup>等发现,在 Caco-2 细胞内 SREBP2 能增进人体 NPC1L1 启动子的转录活性。上海瑞金医院与瑞典 Karolinska 医学院的合作研究后亦证实,人体肝细胞 NPC1L1 基因受 SREBP2 以及肝核因子 1 的转录调控<sup>[43]</sup>。

研究这些转录因子对表达调节的意义在于,有可能采用特定药物调控基因表达及其功能,进而改变小肠细胞和肝细胞对胆固醇的摄取,调节胆固醇代谢以及胆汁胆固醇含量。

肝细胞核因子 4 (HNF4)是核受体超家族中一种孤儿受体,广泛表达于人体各个器官,是脂质和糖代谢的关键调节因子。体外实验研究发现, HNF4 直接作用于 NPC1L1 启动子区,与 SREBP2 协同上调 NPC1L1 的转录水平,增加 NPC1L1 蛋白的表达,增加肠道对胆固醇的吸收。敲除 HNF4 基因小鼠 NPC1L1 mRNA 的表达显著减少<sup>[45]</sup>。

近期研究显示胆石患者空肠黏膜 NPC1L1 基因表达显著增加,同时 ACAT2 基因表达也增加<sup>[46]</sup>。

## 5. NPC1L1 的下游调控靶点

NPC1L1 不但是胆固醇跨膜转运的关键蛋白,还对全身的胆固醇动态平衡的调控起关键作用。通过细胞内吞作用的循环途径, NPC1L1 蛋白在细胞浆膜和细胞内结构间的分布可以转换,药物刺激、胆固醇水平变化等因素可引起 NPC1L1 蛋白在细胞膜上分布的变化,进而影响 NPC1L1 蛋白于细胞膜上突起的子区域数量的增减,从而增加或减少游离胆固醇的摄取<sup>[47]</sup>。Duval 等<sup>[37]</sup> NPC1L1 蛋白通过调节细胞内胆固醇的浓度,进而调节其他基因的活性,来维持胆固醇在体内的动态平衡,如 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(3-hydroxy-3-methyl glutaryl coenzyme A reductase, HMGR)、胆固醇酰基转移酶(acyl-coenzyme A cholesterol acyltransferase, ACAT)等。在肝脏表达的几种调控脂肪生成的基因,如 SREBP1c、FAS 和 ABCA1 基因等,抑或与 NPC1L1 的下游调控有关,它们的转录激活及表达紊乱可能参与肝脏脂肪性变性<sup>[48,49]</sup>。

### 5.1. NPC1L1 与 ACAT、HMGR 和 SREBP2

NPC1L1 表达下调能够抑制游离胆固醇和脂酰 CoA 向胆固醇酯的转变,促进体内胆固醇合成,从而在体内胆固醇代谢平衡中起到重要的调控作用。当小鼠 NPC1L1 基因敲除时,肝细胞和小肠上皮细胞中的胆固醇合成限速酶(HMGR)活性增加。NPC1L1 $-/-$ 小鼠肝细胞的 HMGR 的基因表达是正常 NPC1L1 $+/+$ 小鼠的 35 倍,显示 NPC1L1 基因敲除小鼠通过增加体内胆固醇的合成来代偿肠道吸收减少的胆固醇<sup>[50]</sup>。同时,对胆固醇饲养的野生型小鼠的研究发现,其肠道 NPC1L1 的 mRNA 表达量下调,肠道 HMG-CoA 合成酶的 mRNA 和胆固醇合成酶的 mRNA 表达上调。

Sane 等研究表明, NPC1L1 表达下调, 可抑制胆固醇酰基转移酶(ACAT)活性, 同时促进 HMG-CoA 还原酶活性和 SREBP2 RNA 水平的提高<sup>[51]</sup>。

## 5.2. NPC1L1 与 ABC 家族

ATP 结合盒转运子(ATP-binding cassette, ABC) A1 (ABCA1)基因调节胆固醇逆向转运, 它由高密度脂蛋白(HDL)介导, 从肝外组织将胆固醇转运至肝脏进行代谢, 通过这种机制, 机体可将外周组织细胞中的胆固醇转运至肝脏代谢。

有研究表明, 肠道 NPC1L1 对胆固醇的吸收是由雌激素受体介导的, 同时, 跨膜蛋白 ATP 结合盒转运子 G5 和 G8 (ABCG5 和 ABCG8)参与了其中的过程<sup>[52]</sup>。但是, 对胆固醇饲养的野生型小鼠的研究发现, 肝脏 NPC1L1 表达增加, ABCA1 表达降低。同时, 在 NPC1L1 缺失的小鼠体内, ABCA1 的 mRNA 的表达下调, 但是 ABCG5 和 ABCG8 的 mRNA 并没有改变, 说明 NPC1L1 对于调节肠道内胆固醇和植物甾醇类的摄取有重要的作用<sup>[1]</sup>。

魏长林<sup>[53]</sup>等研究则发现, 肝脏过表达人 NPC1L1 的转基因小鼠(LITg)给予 LXR 激动剂(T0901317) 7 天后, 发现其与相同处理的野生小鼠对比, 粪便核心甾醇降低并升高了血浆游离胆固醇。其表明肝脏过表达人 NPC1L1 能够下调由 LXR 诱导的小鼠肝脏 ABCG5 和 ABCG8 的 mRNA 水平。

有实验表明, 用 ezetimibe 处理小鼠, 可以发现小鼠肠内 ABCA1 的 mRNA 表达量下调, 但是 ABCG5 和 ABCG8 的 mRNA 表达量并没有改变, 说明 ezetimibe 通过 NPC1L1 抑制胆固醇的吸收, 可能同这些胆固醇跨膜转运蛋白有关的<sup>[54-56]</sup>。

NPC1L1 对胆固醇跨膜转运的调节作用是与 ABCA1 的相互调节来实现的。ABCA1 和 SR-B 在胆固醇的跨膜转运中起重要的作用, ABCA1 的 mRNA 在 NPC1L1+/+和 NPC1L1-/-的小鼠体内都有表达, 但在这些基因未被激活的小鼠体内, 它们对胆固醇的吸收并没有影响, 说明在这种情况下, 胆固醇的跨膜转运是通过另一种信号通路来实现的。在胆固醇食物喂养的 NPC1L1 缺失小鼠中可以发现, 肠道 ABCA1 的 mRNA 的表达和下调, 这种现象说明了 NPC1L1 对胆固醇的吸收调节作用有可能是通过 ABCA1 或者是

SR-B 实现的<sup>[57-60]</sup>。

## 5.3. NPC1L1 与 SREBP1c 和 FAS

SREBP1c 的功能是加强 LDL 受体的转录, 介导胆固醇从血浆脂蛋白的吸收, 促进胆固醇的合成。而脂肪酸合成酶(fatty acid synthetase, FAS)的体内平衡是由上游刺激因子和 SREBP1c 进行转录调控, 以对进食行为和胰岛素做出反应。对胆固醇饲养的野生型小鼠的研究发现, 肝脏 NPC1L1 表达增加, 同时脂肪及胆固醇代谢调节基因 SREBP1c 和 FAS 基因表达明显增高。NPC1L1 可以调节胞内胆固醇浓度, SREBP 裂解激活蛋白(SREBP cleavage activating protein, SCAP)对此信号——胆固醇浓度——敏感。故 NPC1L1 可对 SREBP1c 和 FAS 的表达进行调控<sup>[61,62]</sup>。

人类的 NPC1L1 的跨膜转运区域中具有一个分泌性信号区, 跨膜转运的 N 端糖基化位点定位在该蛋白的细胞小凹的结构处, 该蛋白还有一个固醇敏感的区域, Davies 等研究证实该区域可调节调节包括 HMG-CoA 还原酶、SREBP-1 的激活蛋白 SCAP、PATCHED 和 NPC1 在内的胆固醇平衡调节部位<sup>[63-65]</sup>。

## 6. 影响胆固醇吸收的中药

目前还未见中药作用于 NPC1L1 靶点而抑制胆固醇吸收的报道。但许多中药对胆固醇吸收有抑制作用。这类中药主要是抑制机体对外源性脂类的吸收, 同时, 在肝肠循环中减少胆酸重吸收的数量, 从而达到降血脂的目的。外源性胆固醇经过小肠的消化吸收而进入到人体内, 摄入的胆固醇在肠黏膜细胞经酶作用重新酯化成胆固醇酯, 再进入淋巴管, 淋巴管和血液中的胆固醇大部分以胆固醇酯的形式存在<sup>[66-69]</sup>。

含三萜类化合物的中药, 如泽泻能影响脂肪分解, 使合成胆固醇的原料减少而起到降血脂、防止动脉粥样硬化和脂肪肝的功效; 含甾醇类植物能与动物性固醇的化学本质一样, 如豆类、蒲黄、海藻等含有谷甾醇、豆甾醇、菜油甾醇等植物甾醇, 在肠道中可以与动物性固醇竞争, 从而减少胆固醇的吸收; 何首乌、草决明、虎杖、大黄等含有蒽醌类化合物及其衍生物, 能促进肠的蠕动, 减少脂类在肠道停留时间, 从而减少胆固醇在肠道的吸收。荷叶能使肠道形成一层膜, 阻止脂类进入小肠黏膜细胞, 减少吸收。中药

影响胆汁酸的肠肝循环。胆盐为胆固醇的转化物，在胆汁酸的肝肠循环中，有些植物中的纤维素、果胶等和胆盐结合形成复合物，阻断胆汁酸的肝肠循环，减少胆汁酸重吸收的数量，不仅增加胆汁酸及其生物物的排泄量，还能通过反馈机制增加胆汁酸合成限速酶活性，促进胆固醇转化为胆汁酸，从而达到降胆固醇的目的。甘薯中的黏蛋白、决明子蛋白质、大豆蛋白等这类活性蛋白质，能与胆汁酸相结合，减少肝肠循环中胆汁酸重吸收量，达到降胆固醇的目的；枸杞多糖、海带多糖、魔芋中所含的葡甘聚糖等都有类似的功效<sup>[70-77]</sup>。

## 7. 展望

NPC1L1 作为一个体内调节胆固醇的新节点，为调脂中药活性成分筛选提供了新靶标。调脂中药是否具有调节 NPC1L1 的具体机制仍不清楚，中药中何种成分调节 NPC1L1 的表达也不清楚。深入研究调脂中药或其活性成分对 NPC1L1 的调控作用及其分子机制，有望为中药调节血脂平衡提供科学内涵，并为中药防治高脂血症提供新策略。

## 参考文献 (References)

- [1] S. W. Altmann, H. J. Davis, L. J. Zhu, et al. Niemann-Pick C1-Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. *Science*, 2004, 303(5661): 1201-1204.
- [2] M. Yoshida. Novel role of NPC1L1 in the regulation of hepatic metabolism: Potential contribution of ezetimibe in NAFLD/NASH treatment. *Current Vascular Pharmacology*, 2011, 9(1): 121-123.
- [3] B. Klop, J. W. Elte and M. C. Cabezas. Cholesterol homeostasis and enterohepatic connection: New insights in cholesterol absorption. *Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde*, 2011, 155: A2503.
- [4] L. Jia, J. L. Betters and L. Yu. Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) protein in intestinal and hepatic cholesterol transport. *Annual Review of Physiology*, 2011, 73: 239-259.
- [5] J. L. Betters, L. Yu. Transporters as drug targets: Discovery and development of NPC1L1 inhibitors. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2010, 87(1): 117-121.
- [6] H. J. Davis, S. W. Altmann. Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) an intestinal sterol transporter. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2009, 1791(7): 679-683.
- [7] M. Garcia-Calvo, J. Lisnock, H. G. Bull, et al. The target of ezetimibe is Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2005, 102(23): 8132-8137.
- [8] S. W. Altmann, H. J. Davis, X. Yao, et al. The identification of intestinal scavenger receptor class B, type I (SR-BI) by expression cloning and its role in cholesterol absorption. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2002, 1580(1): 77-93.
- [9] A. T. Sane, D. Sinnett, E. Delvin, et al. Localization and role of NPC1L1 in cholesterol absorption in human intestine. *The Journal of Lipid Research*, 2006, 47(10): 2112-2120.
- [10] H. J. Davis, F. Basso, L. M. Hoos, et al. Cholesterol homeostasis by the intestine: Lessons from Niemann-Pick C1-Like 1 [NPC1L1]. *Atherosclerosis Supplements*, 2008, 9(2): 77-81.
- [11] H. J. Davis, L. M. Hoos, G. Tetzloff, et al. Deficiency of Niemann-Pick C1 Like 1 prevents atherosclerosis in ApoE<sup>-/-</sup> mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2007, 27(4): 841-849.
- [12] H. J. Davis, L. J. Zhu, L. M. Hoos, et al. Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1) is the intestinal phytosterol and cholesterol transporter and a key modulator of whole-body cholesterol homeostasis. *The Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(32): 33586-33592.
- [13] B. E. Hawes, K. A. O'Neill, X. Yao, et al. In vivo responsiveness to ezetimibe correlates with Niemann-Pick C1-Like-1 (NPC1L1) binding affinity: Comparison of multiple species NPC1L1 orthologs. *Molecular Pharmacology*, 2007, 71(1): 19-29.
- [14] R. E. Temel, W. Tang, Y. Ma, et al. Hepatic Niemann-Pick C1-Like 1 regulates biliary cholesterol concentration and is a target of ezetimibe. *Journal of Clinical Investigation*, 2007, 117(7): 1968-1978.
- [15] Y. Yamanashi, T. Takada and H. Suzuki. Niemann-Pick C1-Like 1 overexpression facilitates ezetimibe-sensitive cholesterol and beta-sitosterol uptake in Caco-2 cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2007, 320(2): 559-564.
- [16] M. T. Chhabria, B. M. Mahajan. Update on patented cholesterol absorption inhibitors. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 2009, 19(8): 1083-1107.
- [17] A. Garg, V. Simha. Update on dyslipidemia. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2007, 92(5): 1581-1589.
- [18] D. Q. Wang. New concepts of mechanisms of intestinal cholesterol absorption. *Annals of Hepatology*, 2003, 2(3): 113-121.
- [19] S. D. Turley, J. M. Dietschy. Sterol absorption by the small intestine. *Current Opinion in Lipidology*, 2003, 14(3): 233-240.
- [20] Z. Z. Li, L. Y. Wang and Z. Q. Yu. Cholesterol absorption, synthesis markers and coronary heart disease. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*, 2009, 37(9): 857-859.
- [21] H. Drexel. Statins, fibrates, nicotinic acid, cholesterol absorption inhibitors, anion-exchange resins, omega-3 fatty acids: Which drugs for which patients? *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 2009, 23(6): 687-692.
- [22] A. K. Soutar, R. P. Naoumova. Mechanisms of disease: Genetic causes of familial hypercholesterolemia. *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine*, 2007, 4(4): 214-225.
- [23] J. H. Zhang, L. Ge, W. Qi, et al. The N-terminal domain of NPC1L1 protein binds cholesterol and plays essential roles in cholesterol uptake. *The Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(28): 25088-25097.
- [24] B. B. Chu, L. Ge, C. Xie, et al. Requirement of myosin Vb.Rab11a.Rab11-FIP2 complex in cholesterol-regulated translocation of NPC1L1 to the cell surface. *The Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(33): 22481-22490.
- [25] L. Ge, J. Wang, W. Qi, et al. The cholesterol absorption inhibitor ezetimibe acts by blocking the sterol-induced internalization of NPC1L1. *Cell Metabolism*, 2008, 7(6): 508-519.
- [26] L. J. Wang, B. L. Song. Niemann-Pick C1-Like 1 and cholesterol uptake. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2012, 1821(7): 964-974.
- [27] F. Wang, B. L. Song, B. Yang. Therapy with Chinese medicine in Waldenstrom's macroglobulinemia-associated retinal detachment. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 2012, 18(1): 46-47.
- [28] E. J. Smart, R. A. De Rose and S. A. Farber. Annexin 2-caveolin 1 complex is a target of ezetimibe and regulates intestinal cholesterol transport. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2004, 101(10): 3450-3455.
- [29] H. E. Li, J. Z. Qiu, Z. Q. Yang, et al. Glycyrrhetic acid protects mice from *Staphylococcus aureus* pneumonia. *Fitoterapia*, 2012, 83(1): 241-248.
- [30] C. Xie, N. Li, Z. J. Chen, et al. The small GTPase Cdc42 inter-

- acts with Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) and controls its movement from endocytic recycling compartment to plasma membrane in a cholesterol-dependent manner. *The Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(41): 35933-35942.
- [31] W. J. Oliver, J. L. Shenk, M. R. Snaith, et al. A selective peroxisome proliferator-activated receptor delta agonist promotes reverse cholesterol transport. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001, 98(9): 5306-5311.
- [32] J. N. van der Veen, J. K. Kruit, R. Havinga, et al. Reduced cholesterol absorption upon PPARdelta activation coincides with decreased intestinal expression of NPC1L1[J]. *The Journal of Lipid Research*, 2005, 46(3): 526-534.
- [33] M. Naples, C. Baker, M. Lino, et al. Ezetimibe ameliorates intestinal chylomicron overproduction and improves glucose tolerance in a diet-induced hamster model of insulin resistance. *Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2012, 302(9): G1043-G1052.
- [34] Z. Ravid, M. Bendayan, E. Delvin, et al. Modulation of intestinal cholesterol absorption by high glucose levels: Impact on cholesterol transporters, regulatory enzymes, and transcription factors. *Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2008, 295(5): G873-G885.
- [35] M. A. Valasek, S. L. Clarke and J. J. Repa. Fenofibrate reduces intestinal cholesterol absorption via PPARalpha-dependent modulation of NPC1L1 expression in mouse. *The Journal of Lipid Research*, 2007, 48(12): 2725-2735.
- [36] J. J. Repa, K. K. Buhman, R. J. Farese, et al. ACAT2 deficiency limits cholesterol absorption in the cholesterol-fed mouse: Impact on hepatic cholesterol homeostasis. *Hepatology*, 2004, 40(5): 1088-1097.
- [37] C. Duval, V. Touche, A. Tailleux, et al. Niemann-Pick C1-Like 1 gene expression is down-regulated by LXR activators in the intestine. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2006, 340(4): 1259-1263.
- [38] J. J. Repa, D. J. Mangelsdorf. The liver X receptor gene team: Potential new players in atherosclerosis. *Nature Medicine*, 2002, 8(11): 1243-1248.
- [39] W. Tang, L. Jia, Y. Ma, et al. Ezetimibe restores biliary cholesterol excretion in mice expressing Niemann-Pick C1-Like 1 only in liver. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2011, 1811(9): 549-555.
- [40] W. Tang, Y. Ma, L. Jia, et al. Niemann-Pick C1-Like 1 is required for an LXR agonist to raise plasma HDL cholesterol in mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2008, 28(3): 448-454.
- [41] J. D. Horton, J. L. Goldstein and M. S. Brown. SREBPs: Activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *Journal of Clinical Investigation*, 2002, 109(9): 1125-1131.
- [42] C. Pramfalk, Z. Y. Jiang and P. Parini. Hepatic Niemann-Pick C1-Like 1. *Current Opinion in Lipidology*, 2011, 22(3): 225-230.
- [43] C. Pramfalk, Z. Y. Jiang, Q. Cai, et al. HNF1 alpha and SREBP2 are important regulators of NPC1L1 in human liver. *The Journal of Lipid Research*, 2010, 51(6): 1354-1362.
- [44] J. L. Goldstein, M. S. Brown. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature*, 1990, 343(6257): 425-430.
- [45] Y. Iwayanagi, T. Takada and H. Suzuki. HNF4 alpha is a crucial modulator of the cholesterol-dependent regulation of NPC1L1. *Pharmaceutical Research*, 2008, 25(5): 1134-1141.
- [46] Z. Y. Jiang, C. Y. Jiang, L. Wang, et al. Increased NPC1L1 and ACAT2 expression in the jejunal mucosa from Chinese gallstone patients. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2009, 379(1): 49-54.
- [47] L. Yu, S. Bharadwaj, J. M. Brown, et al. Cholesterol-regulated translocation of NPC1L1 to the cell surface facilitates free cholesterol uptake. *The Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281(10): 6616-6624.
- [48] M. Halleck, H. R. Davis, P. Kirschmeier, et al. An assessment of the carcinogenic potential of ezetimibe using nonclinical data in a weight-of-evidence approach. *Toxicology*, 2009, 258(2-3): 116-130.
- [49] J. D. Mulligan, M. T. Flowers, A. Tebon, et al. ABCA1 is essential for efficient basolateral cholesterol efflux during the absorption of dietary cholesterol in chickens. *The Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(15): 13356-13366.
- [50] H. J. Davis, L. J. Zhu, L. M. Hoos, et al. Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) is the intestinal phytosterol and cholesterol transporter and a key modulator of whole-body cholesterol homeostasis. *The Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(32): 33586-33592.
- [51] A. T. Sane, D. Sinnett, E. Delvin, et al. Localization and role of NPC1L1 in cholesterol absorption in human intestine. *The Journal of Lipid Research*, 2006, 47(10): 2112-2120.
- [52] L. P. Duan, H. H. Wang, A. Ohashi, et al. Role of intestinal sterol transporters Abcg5, Abcg8, and Npc1l1 in cholesterol absorption in mice: gender and age effects. *Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2006, 290(2): G269-G276.
- [53] 魏长林, 李红霞, 满永等. 肝脏表达 Niemann-Pick C1-Like 1 调节肝 X 受体诱导的小鼠胆固醇分泌[J]. *心肺血管病杂志*, 2012, 5: 616-619.
- [54] D. Konopka-Postupolska, G. Clark and A. Hofmann. Structure, function and membrane interactions of plant annexins: An update. *Plant Science*, 2011, 181(3): 230-241.
- [55] V. Gerke, S. E. Moss. Annexins: From structure to function. *Physiological Reviews*, 2002, 82(2): 331-371.
- [56] J. Benz, A. Hofmann. Annexins: From structure to function. *The Journal of Biological Chemistry*, 1997, 378(3-4): 177-183.
- [57] A. Aql, B. Liu, C. M. Ramirez, et al. Unesterified cholesterol accumulation in late endosomes/lysosomes causes neurodegeneration and is prevented by driving cholesterol export from this compartment. *The Journal of Neuroscience*, 2011, 31(25): 9404-9413.
- [58] W. S. Garver, C. Xie, J. J. Repa, et al. Niemann-Pick C1 expression is not regulated by the amount of cholesterol flowing through cells in the mouse. *The Journal of Lipid Research*, 2005, 46(8): 1745-1754.
- [59] J. J. Repa, J. M. Dietschy and S. D. Turley. Inhibition of cholesterol absorption by SCH 58053 in the mouse is not mediated via changes in the expression of mRNA for ABCA1, ABCG5, or ABCG8 in the enterocyte. *The Journal of Lipid Research*, 2002, 43(11): 1864-1874.
- [60] K. K. Buhman, M. Accad, S. Novak, et al. Resistance to diet-induced hypercholesterolemia and gallstone formation in ACAT2-deficient mice. *Nature Medicine*, 2000, 6(12): 1341-1347.
- [61] M. J. Latasa, M. J. Griffin, Y. S. Moon, et al. Occupancy and function of the -150 sterol regulatory element and -65 E-box in nutritional regulation of the fatty acid synthase gene in living animals. *Molecular and Cellular Biology*, 2003, 23(16): 5896-5907.
- [62] Y. S. Moon, M. J. Latasa, M. J. Griffin, et al. Suppression of fatty acid synthase promoter by polyunsaturated fatty acids. *The Journal of Lipid Research*, 2002, 43(5): 691-698.
- [63] J. P. Davies, B. Levy and Y. A. Ioannou. Evidence for a Niemann-pick C (NPC) gene family: Identification and characterization of NPC1L1. *Genomics*, 2000, 65(2): 137-145.
- [64] J. D. Horton, J. L. Goldstein and M. S. Brown. SREBPs: Transcriptional mediators of lipid homeostasis. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 2002, 67: 491-498.
- [65] J. D. Horton, J. L. Goldstein and M. S. Brown. SREBPs: Activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *Journal of Clinical Investigation*, 2002, 109(9): 1125-1131.
- [66] 曹晓钢, 于刚, 叶小利等. 中药提取物抑制胆固醇吸收的研究[J]. *中成药*, 2009, 4: 616-618.
- [67] 陈继承, 何国庆. 醋粉对大鼠脂质代谢调节及体外脂肪酶抑制作用研究[A]. 北京: 中国食品科学技术学会第七届年会, 2010.
- [68] 王玉斌, 张惠斌, 钱海等. 单环  $\beta$ -内酰胺类衍生物的合成及

## 胆固醇吸收靶点 NPC1L1 研究进展

- 其胆固醇吸收抑制活性[J]. 中国药科大学学报, 2011, 3: 213-219.
- [69] 赵锐, 黄文龙, 张惠斌等. 新型单环  $\beta$ -内酰胺类降脂药物的合成及其活性[J]. 中国药科大学学报, 2006, 6: 483-486.
- [70] 冯丹, 凌文华. 姜黄素抑制 Caco-2 细胞胆固醇吸收的作用及机制研究[J]. 营养学报, 2011, 5: 488-491.
- [71] 廖安妮, 向一, 钱振宇等. 开口箭皂苷对高脂血症小鼠动脉粥样硬化的治疗作用[J]. 中国医院药学杂志, 2009, 13: 1077-1080.
- [72] 林建维, 钟进义. 魔芋多糖对小鼠肠道吸收功能的抑制作用与机制[J]. 营养学报, 2009, 2: 164-166.
- [73] 马海英, 赵志涛, 王丽娟等. 薯蓣皂苷元和黄山药总皂苷抗高脂血症作用比较[J]. 中国中药杂志, 2002, 7: 51-54.
- [74] 彭罡, 覃冬云. 岩豇豆脂肪酸对高脂血症小鼠动脉粥样硬化的治疗作用[J]. 中国现代医药杂志, 2009, 10: 13-16.
- [75] 栗时颖. 山(金)银花有效成分的分析 and 提取以及抑制巨噬细胞胆固醇蓄积作用的研究[D]. 南华大学, 2011.
- [76] 王春艳. 普洱茶抑制膳食脂肪吸收功效的研究[D]. 吉林大学, 2011.
- [77] 夏晓凯, 童希琼, 张庭廷等. 柚肉黄酮降脂作用研究[J]. 中国中医药现代远程教育, 2008, 10: 1164-1165.