脂质生物合成的转录调控、相关靶标确证及新药发现

林超, 柳军, 孙宏斌*

江苏省代谢性疾病药物重点实验室; 中国药科大学药物科学研究院, 南京 210009

*通讯作者, E-mail: hbsun2000@yahoo.com

收稿日期: 2015-07-03; 接受日期: 2015-08-03; 网络版发表日期: 2015-08-25

doi: 10.1360/N032015-00114

摘要 脂质生物合成失调是代谢异常的重要方面, 与高脂血症、胰岛素抵抗、动脉粥样硬化、骨质疏松及肿瘤等多种疾病密切相关. 在转录调控层面上, 固醇调节元件结合蛋白和肝脏 X 型受体二者分别负责脂质生物合成及转运代谢相关蛋白的调控. 两条调控信号网络之间既相互关联又互相制约, 共同维持体内脂质代谢的平衡. 转录共激活因子 PGC-1 β 同时调控 SREBP、LXR 和 ERR α 三种转录因子的活性, 在脂代谢转录调节方面处于关键枢纽地位.

关键词

脂质生物合成

SREBPs

LXR

PGC-1 β

ERR α

1 引言

脂质是机体内细胞组织的重要组成部分, 如各种质膜、神经髓鞘等都必须有脂质参与. 脂质也是机体内重要营养物质之一, 它与蛋白质、碳水化合物合称为机体三大营养物质. 脂质还是体内性激素(由胆固醇转化而来)和前列腺素(以花生四烯酸为起始物)等重要内源性功能分子的起始原料. 脂质主要包括胆固醇及胆固醇酯、脂肪酸、甘油三酯、磷酸甘油酯、鞘磷脂和糖脂等, 其中, 最基础的脂质是胆固醇和游离脂肪酸. 体内脂质主要是通过外源性食物和体内生物合成途径获得. 在健康状态下, 体内的脂质代谢受到转录水平和“转录后”水平的精细调控而达到平衡. 在病理情况下, 脂代谢异常可导致高脂血症、动脉粥样硬化、非酒精性脂肪肝、肿瘤和神经退行性疾病等多种疾病.

在哺乳动物中, 胆固醇、脂肪酸和甘油三酯的合成、转运、储藏在转录层面受到一系列转录因子的调控, 其中, 固醇调节元件结合蛋白(sterol regulatory element-binding proteins, SREBPs)和肝脏 X 型受体

(liver X receptor, LXR)分别在脂质的合成及转运两个方面发挥重要作用. SREBPs 能够促进脂质合成相关的基因表达. 抑制 SREBPs 通路有可能成为治疗高脂血症、动脉粥样硬化和脂肪肝等代谢性疾病的有效手段^[1]. LXR 激动剂可以促进机体外周的脂质逆向转运回肝脏, LXR 抑制剂有利于降低肝脏内脂肪酸、甘油三酯的合成, 进而对非酒精性脂肪肝有利. SREBPs 和 LXR 两条通路之间并不是孤立的, 二者间存在许多交叉联系. 其中, 最重要的关联体现在: LXR 是 SREBP-1c 的转录因子, 可以调控 SREBP-1c 蛋白的表达. 同时 LXR 通路下游的低密度脂蛋白受体降解蛋白(inducible degrader of LDLR, IDOL)能够介导 LDLR 的泛素化降解, 而 LDLR 正是 SREBP-2 下游最重要的靶蛋白之一. 另外, LXR 和 SREBPs 两条通路的上游也存在交集, 即二者共用过氧化物酶体增生激活受体 γ 协同刺激因子 1 β (PPAR γ coactivator-1 β , PGC-1 β)作为转录共激活因子^[2]. 关于 PGC-1 β 的上下游调控机制现在还不太清楚, 但是已知雌激素相关受体 α (estrogen related receptors α , ERR α)是 PGC-1 β 的转录因子, ERR α 对于 PGC-1 β 的表达是必不可少的,

同时 $ERR\alpha$ 也利用 PGC-1 β 作为其转录共激活因子^[3], 这就有可能通过 PGC-1 β 将 SREBPs、LXR 及 $ERR\alpha$ 三者联系起来。

本综述将从 LXR 和 SREBPs 两条通路分别介绍各自对脂代谢方面的调控作用及潜在的药物新靶标, 之后介绍两条通路间的联系及 PGC-1 β 在 LXR、SREBPs 和 $ERR\alpha$ 之间发挥的重要作用, 最后对基于脂代谢转录调控的新药发现研究做出展望。

2 固醇调节元件结合蛋白(SREBPs)

2.1 SREBPs 的分类与相关通路

人体存在两种 SREBPs 基因, 即 SREBP-1 和 SREBP-2, 他们编码产生三种蛋白。SREBP-1 基因产生两个蛋白, SREBP-1a 和 SREBP-1c。SREBP-1c 主要表达在肝脏和肾上腺, SREBP-1a 周身分布。在人体内, SREBP-1c 主要负责脂肪酸代谢相关酶的转录调控, 包括脂肪酸合酶(fatty acid synthase, FAS)、乙酰辅酶 A 羧化酶(acetyl-CoA carboxylase, ACC)、硬脂酰辅酶 A 去饱和酶-1 (stearoyl-CoA desaturase-1, SCD-1), 这三者都是在脂肪酸生物合成中起关键作用的酶。SREBP-2 主要负责胆固醇合成相关酶的表达, 包括 HMG-CoA 还原酶(3-hydroxy-3-methyl glutaryl coenzyme A reductase, HMGCR)、氧化角鲨烯环化酶(oxido squalene cyclases, OSC)、LDLR 及前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶 Kexin9 型 (proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, PCSK9)^[4]等。

SREBPs 属于亮氨酸拉链蛋白超家族转录因子, 但是它又不同于一般的拉链蛋白转录因子, SREBPs 最初合成时是无活性的前体形式绑定在内质网上^[5]。为了到达细胞核内发挥转录因子的作用, SREBPs 的非活性前体(pre-SREBPs)需要经过迁移、裂解活化、入核三个步骤(图 1)^[6]。首先, pre-SREBPs 作为内质网上的膜蛋白是与 SCAP (SREBPs cleavage-activating protein)结合。SCAP 于 1996 年被首次发现, 由 1276 个氨基酸组成的表达在内质网上的膜蛋白。离体和细胞内的实验都证明, SCAP 对于 SREBPs 发挥正常的转录作用是必不可少的^[7]。除了作为胆固醇感受器, SCAP 也起到稳定 SREBPs 不被降解的作用。在 SCAP 敲除的 CHO 细胞系中, pre-SREBPs 被降解^[8]。缺少 SCAP 时, 内质网上的 SREBPs 是不稳定的, 也不可能迁移到高尔基体成熟。SCAP 敲除的小鼠肝脏

内, 由于缺少多种脂质合成中的关键酶, 胆固醇和脂肪酸的合成降低了 80%^[9]。位于 SCAP 上的 MELADL 氨基酸序列是转运蛋白 COPII 结合的部位, 转运蛋白 COPII 负责将 SCAP-SREBPs 复合体从内质网转运到高尔基体。当胞内的胆固醇水平低于正常值, SCAP-SREBPs 复合体由转运蛋白 COPII 转运到高尔基体, 在高尔基体上 pre-SREBPs 经过两个蛋白水解酶(S1P 和 S2P)加工处理形成成熟的 SREBPs, 成熟的 SREBPs 入核二聚化, 结合到固醇调节元件上而启动脂质合成相关基因的表达。当胞内胆固醇水平过量时, SCAP 结合胆固醇或者 Insig 结合氧化甾醇(如 25-羟基胆固醇)都会促使 SCAP-SREBPs 复合体与 Insig 结合, 这种结合使得 SCAP 蛋白的构象发生改变, 转运蛋白 COPII 无法与 SCAP-SREBPs 复合体结合, 从而阻断了 SREBPs 从内质网迁移到高尔基体的过程, 进而导致脂质合成相关酶的下调^[5]。

Insigs 是存在于内质网上的一种六次跨膜蛋白, 分为 Insig-1 和 Insig-2 两种亚型。在人体中, Insig-1 由 277 个氨基酸组成, Insig-2 由 225 个氨基酸组成。Insigs 主要发挥两种功能: (1) 参与调控 SCAP-SREBPs 通路^[10]; (2) 介导 HMGCR 的降解。当细胞内固醇水平过高, Insigs 招募 E3 连接酶 gp78 泛素化 HMGCR 的 N 端, 泛素化的 HMGCR 离开内质网膜被溶酶体降解^[11]。

2.2 胰岛素对 SREBPs 通路的调节作用

胰岛素能够诱导脂肪酸合成并调控脂肪合成相关酶的表达。胰岛素对于 SREBPs 通路的调控主要包括三个层面(图 2): (1) 调节 SREBPs mRNA 的表达; (2) 参与 SREBPs 的酶切成熟过程; (3) 调控成熟 SREBPs 的稳定性。

2.2.1 调节 SREBPs 的 mRNA 的表达

有文献报道, 给小鼠注射胰岛素后, 小鼠肝脏内 Srebp-1c mRNA 的水平迅速升高^[12]。禁食后, 随着胰岛素水平的下降, 小鼠肝脏内 Srebp-1c 的表达下降^[13]。在新鲜分离的小鼠肝脏细胞内, 胰岛素可以诱导 Srebp-1c mRNA 的水平升高 40 多倍^[14,15]。同时, 当用胰岛素分泌抑制剂链脲霉素处理鼠, Srebp-1c mRNA 的水平明显下降^[16]。这些结果暗示了胰岛素可能诱导 Srebp-1c 的表达^[17]。这种效应可能部分是通过 PI3K/Akt-mTORC1 通路产生的(图 2)。用渥曼青

图 1 SREBPs 的成熟过程^[6]

图 2 胰岛素对 SREBPs 通路的调节

霉素(一种 PI3K 抑制剂)处理后, 胰岛素对于 SREBP-1c 的诱导作用被阻滞^[12]. Akt 的激活能够增加 SREBP-1 及其靶基因的表达. 最重要的是, SREBP-1 的增加能够被低浓度的雷帕霉素(一种 mTORC1 抑制剂)抑制, 这就表明 mTORC1 对于 SREBP-1 的增加是必须的. Porstmann 等^[18]也证明了用干扰 RNA 阻断 mTORC1 会使 Akt 增加 SREBP-1cmRNA 的作用受到影响. 以上这些说明胰岛素增加 SREBP-1cmRNA 的

转录作用主要是通过 mTORC1.

2.2.2 参与 SREBPs 的酶切成熟过程

胰岛素主要通过两种方式影响 SREBPs 的酶切成熟过程: (1) 减少 Insig-2 的表达; (2) 促进 mTORC1 诱导的 p70 S6 激酶活性^[12].

在体内, Insigs 的水平与胰岛素直接相关. 禁食情况下(低胰岛素水平), 小鼠转录翻译的 Insig-2 都会

增加。因此, SREBP-1 的转运受阻, 成熟的 SREBP-1c 不能产生。当重新进食后(高胰岛素水平), Insig-2 的转录被抑制。已有的 Insig-2 被 gp-78 介导泛素化降解, 释放出 SCAP-SREBPs 复合体^[19]。上述结果说明, 胰岛素能够通过调节 Insig-2 的表达来控制 SREBP 的酶切成熟过程。

文献报道胰岛素能够促进内质网上 SREBP-1c 的磷酸化, 增加 SCAP-SREBP-1c 复合体与 COPII 转运蛋白的亲和力^[20]。因此, SREBPs 的成熟过程加速。另外, 在胰岛素处理过的肝细胞中, 内质网上的 SREBP-1c 不仅增加了丝氨酸磷酸化水平, 苏氨酸的磷酸化水平也提升了。这说明胰岛素增加了 SREBP-1c 上的丝氨酸和苏氨酸的磷酸化水平。胰岛素的这种作用同 PI3K 和 PKB/Akt 通路密切相关。S6K 属于丝氨酸/苏氨酸激酶家族, 是 PI3K 和 PKB/Akt 底物, 激活的 S6K 能够加速 SREBP 的成熟过程^[12]。S6K 也许就是胰岛素介导的 SREBPs 磷酸化时的激酶。

2.2.3 调控成熟 SREBPs 的稳定性

除了调控 SREBPs mRNA 的含量及 SREBPs 的成熟过程外, 胰岛素也可以调节成熟的 SREBPs 的稳定性及含量。研究表明, 胰岛素通路在 Akt 处存在分支。一条通路是通过激活 mTORC1 来调节 SREBPs。另外一条则是通过 GSK3-Fbw7 通路来阻止成熟 SREBPs 的降解(图 2)。Akt 可以磷酸化糖原合成激酶 3 (GSK3), 这可以阻止 GSK3 的激活^[21]。成熟的 SREBP-1 结合到 DNA 上, 迅速招募 GSK3, GSK3 磷酸化 SREBP-1 的 434 位丝氨酸^[22]。结果是泛素连接酶 SCE-Fbw7 被招募, 使得成熟的 SREBPs 被泛素化降解。同样, SCF-Fbw7 也可以降解成熟的 SREBP-2。由于 Akt 能够磷酸化抑制 GSK3, 进而使得成熟 SREBP 不会招募泛素连接酶 Fbw7, 避免了成熟的 SREBP 降解^[23]。

2.3 调节 SREBPs 通路是治疗代谢性疾病的可能策略

抑制 SREBPs 通路能够降低脂质生物合成, 因此是一种潜在的治疗代谢性疾病的方法。SREBPs 通路的复杂性决定了存在不同的策略来抑制它。这些方法包括: (1) 促进 SCAP 与 Insig 的相互作用; (2) 抑制 S1P 或者 S2P; (3) miRNAs 干扰。目前已经有一些研究通过抑制 SREBPs 通路来缓解代谢性疾病。Kamisuki 等^[24]利用细胞实验筛选得到第一个小分子

化合物 fatostatin (图 3), 它通过作用于 SCAP, 使得 SCAP 变构之后无法与转运蛋白 COPII 结合, 从而导致 SREBPs 无法从内质网迁移到高尔基体, 阻碍了 SREBPs 的成熟过程。在肥胖的 ob/ob 鼠实验中, 即使是在不控制食物摄取的情况下, fatostatin 仍然能够抑制鼠体重增加, 抑制肝脏脂肪积累。宋保亮等^[25]证明了天然五环三萜白桦酸(betulinic acid)通过诱导 SCAP 与 Insig 的结合导致 SCAP-SREBPs 复合体停留在内质网上, 同样抑制 SREBPs 的成熟。白桦酸能够减少胆固醇和脂肪酸的生物合成。在动物实验中, 白桦酸缓解了食物诱导的肥胖, 降低了血浆和组织中的脂质含量并且增加了胰岛素敏感性。另外, 白桦酸减小了动脉粥样硬化形成的斑块的大小。以上两个小分子的发现证明了抑制 SREBPs 信号通路可能是治疗代谢性疾病的有效手段。另外, Moon 等^[26]证明, 在胰岛素抵抗的 ob/ob 鼠敲除 SCAP 能够阻止肝脏脂肪变性。即使是在持续性的肥胖、高胰岛素血症和高甘油血症的情况下, SCAP 敲除也能够减少脂质合成, 预防脂肪肝。这项研究说明, SREBPs 通路的激活对于糖尿病情况下肝脂肪变性和碳水化合物诱导的高甘油三酯血症是必需的。

由于 SREBP-2 是 LDLR 的转录因子, 那么抑制 SREBPs 会不会使 LDLR 水平下降, 进而引起血浆中 LDL 水平上升? 大量的实验表明, 抑制 SREBPs 的确会使 LDLR 的 mRNA 水平下降, 但细胞膜上 LDLR 蛋白的表达并未受到影响。一个可能的原因是 PCSK9 的作用。PCSK9 属于蛋白酶 K 家族, 其本身具有水解酶活性, 催化自身水解成熟产生生物活性。PCSK9 的生理作用是诱导 LDLR 内吞入胞介导其转移到溶酶体降解, 因此, 在体内 PCSK9 发挥着破坏 LDLR 升高血浆 LDL 水平的作用^[27]。SREBP-2 是 PCSK9 的转录因子, 因此, 抑制 SREBP-2 不仅会抑制 LDLR 的表达, 同样也会降低 PCSK9 的表达。二者作用的叠加很好地解释了为什么 LDLR 的 mRNA 水

图 3 Fatostatin 和白桦酸(betulinic acid)的结构

平下降但是其蛋白水平未受影响。

3 肝脏 X 型受体(LXR)

3.1 LXR 受体的分类与结构

LXR 是细胞核内的一种转录因子,天然配体为甾醇类,如羟固醇。LXR 分为 LXR α 和 LXR β 两个亚型,分别由 447 和 461 个氨基酸组成^[28]。LXR α 主要表达在肝脏、小肠、脂肪组织以及巨噬细胞,而 LXR β 在周身分布^[29]。结构上, LXR 由氨基端的 AF-1 区、DNA 结合区(DBD)、连接区、配体结合区(LBD)和羧基端组成^[30](图 4)。在抑制状态下, LXR 与 RXR 形成异源二聚体,结合在 LXR 靶基因的 LXRE 区抑制基因的表达。细胞内的胆固醇及氧化胆固醇的水平升高可激活 LXRs, 导致 LXRs 与 RXRs 异源二聚体构象改变,结合转录共激活因子而启动下游的基因转录^[31]。两种 LXR 亚型的 DBD 区及 LBD 区分别具有 75.6%和 74%的相似性,这使得开发高选择性 LXR 激动剂成为难题。

3.2 LXR 的生理功能

3.2.1 参与胆固醇的逆向转运

LXR 的靶基因及相关蛋白参与胆固醇的逆向转运过程。胆固醇逆向转运的第一步是通过一系列的转运蛋白,如三磷酸腺苷结合盒转运体 1 (ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1),将胆固醇转运到血浆中的胆固醇载体蛋白上,如载脂蛋白 AI (apolipoprotein AI, APOAI)和 HDL^[32]。LXR 激动剂通过促

进 ABCA1 的表达来促进胆固醇的逆向转运。除了 ABCA1, LXRs 也会转录调控其他转运蛋白的表达,如 ABCG1,来协助 ABCA1 发挥作用^[33]。研究显示, ABCG1 的功能主要是在细胞内发挥转运胆固醇的功能。然而,关于 ABCG1 和 ABCA1 发挥作用的分子机制还不太清楚^[34]。LXR 控制载脂蛋白如 APOE、APOC1、APOC2 和 APOC4 等的表达。这些分泌型的载脂蛋白协助将胆固醇转运到肝脏^[35,36]。

除了控制脂质转运相关蛋白的表达外, LXR 还控制一系列脂蛋白转化酶的表达,如磷脂转移蛋白(phospholipid transfer protein, PLTP)^[37]、脂蛋白脂肪酶(lipoprotein lipase, LPL)^[38]和胆固醇酯转移蛋白(cholesterol ester transfer protein, CETP)^[39]等。LXR 在胆固醇逆向转运回肝脏中的重要作用促使人们开发 LXR 的激动剂,以增强胆固醇从外周逆向转运回肝脏并且在肝内转化成胆酸排出体外。大量的细胞和动物实验也验证了 LXR 激动剂的确可以促进胆固醇的逆向转运过程。

3.2.2 肝细胞代谢

动物细胞中的胆固醇不能被代谢分解,因此必须被转化为胆汁酸排除体外。细胞色素 P450 7A1 (CYP7A1)是胆固醇转化为胆汁酸的限速酶, CYP7A1 也是 LXR 的靶蛋白^[40]。对于 LXR α 敲除的小鼠,当喂养高胆固醇饲料时,会发现大量胆固醇酯积聚在肝脏。进一步研究发现,敲除 LXR α 使得下游靶蛋白 CYP7A1 无法表达,因此造成大量胆固醇积聚在肝脏。

除了胆固醇的代谢,肝脏 LXR 的另外功能是控制脂肪酸的从头合成。LXR 通过诱导 SREBP-1c 的表

图 4 LXR 的结构^[30]

达进而调控了 ACC、FAS 等的表达^[41,42]。过量的游离胆固醇对细胞是有害的, 因此, 当胆固醇水平过高时, 脂肪酸合成加强为胆固醇酯化提供原料是必须的。必须指出的是, 在利用 LXR 激动剂治疗时, 肝脏内的脂肪酸、甘油三酯合成加强进而引起高甘油三酯血症等不良反应, 这也是 LXR 激动剂的主要副作用。

3.2.3 LXR 与胆固醇的吸收排泄

越来越多的研究证明, 小肠吸收胆固醇的水平对于机体内胆固醇的总量有重要影响^[43]。LXRs 通过调节转运体 ABCG5 和 ABCG8 的表达来调控这个过程^[38]。用 LXR 激动剂处理小鼠会发现在小肠中的 ABCG5 和 ABCG8 表达增加, 同时胆固醇的吸收也明显增加。但是在 LXR 敲除的小鼠就没有观察到这种现象^[44]。

研究发现, LXR 激活后, 依靠 ABCG5 蛋白的转运, 小肠内胆固醇的分泌水平提升了 2 倍。与此同时, LXR 激活会降低小肠细胞上 NPC1L1 (Niemann-Pick C1-like 1) 转运体的水平。NPC1L1 是存在于小肠细胞肠腔一侧细胞膜上的转运蛋白, 主要负责胆固醇的吸收^[45]。NPC1L1 开始发现时被认为是一种 NPC1 的同源蛋白, 后者是存在于细胞溶酶体内的胆固醇转运蛋白。直到 2004 年, NPC1L1 的真正功能才被 Altmann 及其同事发现, 它是小肠细胞膜上的一种关键的胆固醇转运蛋白^[46]。NPC1L1 敲除的小鼠对饮食中的胆固醇的吸收大量减少^[47,48]。除了在小肠胆固醇的吸收作用之外, 肝脏中的 NPC1L1 过度表达后会使得胆汁中的胆固醇浓度降低而血浆中的胆固醇水平升高, 这暗示了 NPC1L1 介导了胆汁中胆固醇的重吸收^[49]。结构上 NPC1L1 由 1300 个氨基酸残基构成, 13 次跨膜, 主要分为三个功能区域: (1) NPC1L1 的 N 端存在一段高度保守的固醇感受区 (sterol-sensing domain, SSD), 这种结构在许多跨膜蛋白上都有发现, 如 NPC1、HMG-CoA 还原酶和 SCAP, 主要是与胆固醇结合^[50]; (2) 中间部分的跨膜区具有许多大的 loop 结构, 临床降脂药物依折麦布正是通过作用于 NPC1L1 的跨膜区导致 NPC1L1 的构象发生改变, 无法介导胆固醇进入小肠细胞而发挥降血脂作用^[51,52]; (3) NPC1L1 的 C 端包含 YVNXXF 胞内信号区域, 当 N 端与胆固醇结合后, 通过跨膜区的构象改变, 使得 C 端与胞内的 Numb 蛋白结合, 进而招募网格蛋白,

内陷入胞^[53]。开发作用于 NPC1L1 的抑制剂来抑制小肠细胞对胆固醇的吸收也是治疗高度固醇血症的有效策略。

3.2.4 LXR 对脂肪酸代谢的影响

LXR 除了在胆固醇代谢方面的影响之外, 也是脂肪酸生物合成以及代谢调节的重要参与者。LXR 对脂肪酸合成的调控主要是通过 SREBP-1c 来实现的, SREBP-1c 是 LXR 的下游靶蛋白, 当 LXR 被激活时 SREBP-1c 表达增加, 而 SREBP-1c 又是脂肪酸合成途径中关键酶的转录因子。因此, SREBP-1c 的上调使得其下游的各种靶蛋白如 FAS 和 SCD-1 等上调, 进而促进脂肪酸的合成^[36]。给予小鼠 LXR 激动剂后发现其肝脏内甘油三酯合成增加, VLDL 分泌增加, 血浆中的甘油三酯水平上升^[54]。LXR 激动剂促进肝脏内脂肪合成, 升高血浆中甘油三酯的作用也成为其作为心血管疾病药物的最大障碍。大量的 LXR 激动剂在临床一期临床实验中发现了升高甘油三酯的副作用而被迫终止实验^[55]。有趣的是, LXR α 是主要表达在肝脏的亚型, 因此, 理论上选择性激动 LXR β 就可以避免促进脂肪合成的副作用^[56]。但是, LXR 两种亚型的配体结合区域结构极其相似, 完全选择性作用于 LXR β 的激动剂还未发现。

除了 LXR 激动剂的开发工作外, 也有一些报道表明, LXR 的抑制可能对糖尿病患者有益。LXR 的激活对于胰岛素抵抗以及代谢综合征至关重要, 在 LXR 敲除的小鼠上, 肝脏脂肪变性得到缓解, 胰岛素敏感性提升。同时, 抑制肝脏的 LXR 也可以缓解脂肪肝等代谢性疾病^[57-59]。然而, 必须引起注意的是, LXR 抑制剂可能会带来阻碍胆固醇逆转运回肝脏、胆固醇无法转化为胆酸排除体外等问题。

3.3 LXR 调节剂

在约 10 年前, 研究人员已将 LXR 视作治疗动脉粥样硬化的潜在靶点, 为此而开发了大量的 LXR 激动剂, 希望提升 LXR 的转录活性进而表达各种脂质转运蛋白及相关代谢酶, 从而提升脂质的逆向转运回肝脏的过程。近些年来, LXR 调节剂分子又被开发用于治疗炎症、阿尔兹海默症、肝炎等疾病。但到目前为止, 没有一个 LXR 调节剂分子成功地完成一期临床试验^[49]。在此, 我们只列举几个代表性的 LXR 调节剂分子。

3.3.1 ATI-829

LXR 的天然配体为氧化甾醇类. ATI-829 (图 5) 在结构上与 LXR 天然配体有极大相似性, 其对于 LXR α 和 LXR β 的蛋白抑制常数 K_i 值分别为 130 和 100 nmol/L. 在肝细胞 ATI-829 上调了 LXR 下游的 ABCA1 基因的表达, 但对 SREBP-1c 的表达几乎没有影响. ApoE 敲除的小鼠按照 8 mg/(kg d) 的剂量喂食 ATI-829 8 周, 可以明显减少动脉粥样硬化斑块的形成, 并且未见肝脏炎症和甘油三酯等的积累^[60,61].

3.3.2 XL-652

XL-652 (图 5)是百时美施贵宝公司与 Exelixis 公司联合开发的 LXR 激动剂, 目前处于一期临床阶段, 主要用于治疗动脉粥样硬化和高胆固醇血症. XL-652 对 LXR α 和 LXR β 的半抑制率 IC_{50} 分别是 1.9 和 12 nmol/L. 同时, 在全血试验中 XL-652 对 ABCA1 的 EC_{50} 为 10 nmol/L. 在狗和猴上的药代动力学分析显示, XL-652 的血浆清除率分别为 9 和 8 mL/(min kg), 血浆半衰期分别为 7 和 12 h, 口服生物利用度分别为 71%和 42%. XL-652 在人体上的血浆半衰期为 10~15 h. 在 LDLR 敲除的动脉粥样硬化小鼠模型上, 12 周之内, 0.1~3 mg/kg 的剂量梯度下 XL-652 显示出剂量依赖性的抗损伤效果. 临床前的安全测试中, XL-652 引起雄性小鼠的肝毒性反应, 但对雌性小鼠没有影响. 在 14 d 的猕猴实验中, XL-652 可以升高其血浆中 ABCG1 水平 15 倍^[62,63].

3.3.3 猪脱氧胆酸

猪脱氧胆酸(hyodeoxycholic acid)为胆汁酸类似物(图 5), 它是 Vitae 和 AtheroNova 两个制药公司联合研发的 LXR 激动剂, 目前已经完成一期临床试验. 文献报道^[64]在 LDLR 敲除的小鼠上, 猪脱氧胆酸能够有效提升 HDL 功能, 并且降低动脉粥样硬化斑块的损伤. 另外, 猪脱氧胆酸显著增加胆固醇转运相关基因的表达, 如 ABCG1、ABCA1 和 APOE.

图 5 部分 LXR 激动剂的结构

4 LXR 与 SREBPs 对脂代谢的协同调节作用

大量研究证明, LXR 与 SREBPs 转录调控协同配合共同维持机体内脂质的平衡(图 6). SREBPs 由细胞内低胆固醇水平激活, 而 LXR 由高胆固醇水平激活. SREBP-2 通路的一个主要靶蛋白是 LDLR, 它能够清除循环系统中的 LDL. 最近的研究证明, LXR 对 LDLR 具有负调控作用^[65]. LXR 控制 IDOL 的表达. IDOL 本质上是 E3 连接酶, 它可以泛素化 LDLR 并介导 LDLR 在溶酶体的降解. 因此, 激活 LXR 会使得细胞减少吸收 LDL. 同时, LXR-IDOL 降解通路只是针对 LDLR、VLDLR 和 APOER2 发挥作用^[66]. 再如, 氧化甾醇作为 LXR 的天然小分子配体可以激活 LXR, 同时氧化甾醇可以作用于 Insig 蛋白, 结果使得 Insig 蛋白与 SCAP 相互作用, 将 SREBP-SCAP 复合体铆钉在内质网膜上, 阻断了 SREBP 的成熟过程, 从而阻断细胞内胆固醇的生物合成. 配合 LXR 激活所产生的胆固醇的逆向转运, 肝细胞将胆固醇代谢成胆汁酸排除体外等过程起到了降低体内胆固醇水平的作用. 除此之外, SREBP-1c 是 LXR 的下游靶蛋白, 激活的 LXR 通过上调 SREBP-1c 的水平来提高脂肪酸、甘油三酯等的水平. 合成的脂肪酸、甘油三酯一方面可以促进胆固醇酯化为胆固醇酯而降低其毒性, 另一方面也参与载脂蛋白复合体的构建, 促进胆固醇的逆向转运.

5 PGC-1 β 是 LXR 和 SREBP 共同的转录共激活因子

对于转录因子功能的调节主要是通过转录共激活因子和转录共抑制因子起作用的. 转录因子结合到 DNA 链上时必须招募一系列转录的辅助因子共同组成转录复合体才能结合 RNA 聚合酶启动转录过程. 研究发现, PGC-1 β 是 SREBP 和 LXR 共同的转录共激活

图6 LXR与SREBPs对脂质生物合成及转运的协同调节作用

因子,对脂质的生物合成及转运具有关键的调控作用。

PGC-1家族中首先被发现的是过氧化物酶体增生激活受体 γ 协同刺激因子1 α (PPAR γ coactivator-1 α , PGC-1 α)^[67]。PGC-1 β 和PGC-1 α 具有高度的同源性,并且具有相似的组织分布^[68,69]。但是,二者在细胞内发挥的作用却有所不同,PGC-1 α 主要是控制线粒体内相关酶、蛋白的表达,与细胞内线粒体的含量与功能密切相关。PGC-1 β 不仅参与线粒体的合成调控,而且在脂质的合成、能量的储藏方面也发挥重要作用。在高脂饮食的条件下,PGC-1 β 会诱导SREBP-1c的表达增高,但是对SREBP-2却没有影响。同时,PGC-1 β 也会诱导LXR的表达增加,进而有利于脂蛋白的分泌转运。临床上常用的降脂药烟酸通过降低游离脂肪酸水平间接抑制PGC-1 β 的表达,进而发挥其降血脂功效^[70]。同时,PGC-1 β 还作为PPAR γ 和ERR α 的转录共激活因子参与到骨质疏松的病理进程^[70]。此外,PGC-1 β 过表达与肠道肿瘤的形成也密切相关。以上这些都提示PGC-1 β 在脂代谢方面发挥重要的调控作用。理论上,通过下调PGC-1 β 的表达或者降低PGC-1 β 的活性,进而影响SREBP-1c和LXR的转录激活作用可以作为开发新型降脂药的有效途径。然而,目前为止尚不清楚PGC-1 β 的上游调控通路,也未见靶标明确的特异性PGC-1 β 调控剂的报道。在研究五环三萜的降血脂作用机制时,我们发现五环三萜化合物

可以显著降低PGC-1 β 的mRNA表达水平和蛋白水平,具体的分子机制正在研究中。

6 雌激素相关受体 α (ERR α)

6.1 ERR α 抑制剂

雌激素相关受体 α (estrogen related receptor α , ERR α)是第一个孤儿受体^[71]。由于不需要小分子配体的激活就可以发挥转录因子的作用。许多研究认为,ERR α 的转录共激活因子发挥了配体的作用,调控了ERR α 的转录活性。另外,ERR α 特异性的反向激动剂XCT790正是通过降低ERR α 与其转录共激活因子的蛋白-蛋白相关作用来抑制ERR α 的转录活性^[72]。

1999年,Yang等^[73]报道了有机氯杀虫剂八氯萜烯和氯丹是ERR α 的抑制剂,但活性较弱。合成的雌激素替代物己烯雌酚也是ERR的抑制剂,它可以阻断ERR与其转录共激活因子PGC-1 α 的结合^[74,75]。目前已经有许多ERR α 抑制剂的IC₅₀达到纳摩尔级水平,但是它们大多也会对ERR β 、ERR γ 产生抑制作用,选择性不强。

目前,已进入临床前研究阶段的ERR α 调节剂有三个,分别为JNJ-35815208、XCT-790和Kaempferol。

6.1.1 JNJ-35815208

Janssen公司开发的化合物JNJ-35815208(图7)

图 7 部分 ERR α 调节剂的结构

为 ERR α 反向激动剂^[76]. 在肥胖小鼠模型上, 30 mg/kg 的剂量下可以观察到动物体重下降、进食减少、循环系统内胰岛素水平得到改善和甘油三酯水平下降等. 在 2 型糖尿病小鼠模型上, 该化合物明显增加了血浆中的胰岛素水平并且使血浆中的葡萄糖、甘油三酯、游离脂肪酸水平下降. 在长达 28 d 的实验时间内该化合物仍然可以发挥作用.

6.1.2 XCT-790

化合物 XCT-790 (图 7)是第一个强效的 ERR α 反向激动剂, 文献报道的 IC₅₀ 为 300~500 nm^[72]. XCT-790 对 ERR γ 没有激动活性, 对 PPAR γ 的活性十分微弱. 共晶结构显示, XCT-790 作用于 ERR α 的配体结合口袋, 使得 ERR α 构象改变而不能与 PGC-1 α 结合, 进而失去转录活性. XCT-790 可能被开发用于治疗代谢性疾病, 如肥胖和糖尿病. 目前开发的 ERR α 抑制剂一般都以 XCT-790 作为阳性对照分子.

6.1.3 山奈酚(Kaempferol)

山奈酚(Kaempferol, 图 7)属于黄酮类, 在蕨类植物中常见, 具有抗癌、抑制生育、抗氧化和抗炎等药理活性. 文献报道, 山奈酚可以作为 ERR α 和 γ 的反向激动剂^[77]. 同时, 山奈酚抑制了 ERR 下游靶基因如丙酮酸脱氢酶激酶 2 和 4 的表达, 这证明了山奈酚的确可以通过干预 ERR 及其下游信号通路来对糖脂代谢产生影响.

6.2 ERR α 与 PGC-1 β

ERR α 在骨质疏松症中发挥重要作用. 研究证明, ERR α 会抑制成骨细胞的分化成熟, 并且 ERR α 敲除的小鼠的成骨细胞数量及骨密度都有所增加. 这都暗示了 ERR α 抑制剂有可能是治疗骨质疏松的新策略. Ishii 课题组^[78]证明, PGC-1 β 介导的线粒体合成过程是破骨细胞分化成熟所必需的. Wan 课题组^[79]的研究证明, PPAR γ 增敏剂罗格列酮引起的骨质疏松中

PGC-1 β 发挥重要作用. 根据以上实验推测, PGC-1 β 作为 ERR α 的转录共激活因子能够增强 ERR α 的活性, 增强破骨细胞的分化成熟、脂肪酸氧化及氧化磷酸化过程. 在脂代谢方面, ERR α 能够促进脂肪细胞合成脂肪, 并且发现 PGC-1 β 在 ERR α 诱导的脂肪合成中发挥着至关重要的作用^[80]. ERR α 被认为在多种线粒体丰富的组织中起调节氧化代谢作用. 许多实验也证明了由于各种组织特异性的表达转录共激活因子及靶基因的不同, ERR α 在各种组织中的功能也有所不同.

PGC-1 β 作为转录共激活因子与转录因子 ERR α 之间存在复杂的关联(图 8). 一方面, PGC-1 β 作为 ERR α 的转录共激活因子, 是 ERR α 发挥转录激活作用所不可缺少的; 另一方面, PGC-1 β 又是 ERR α 转录调控的下游靶蛋白, ERR α 转录活性的改变也会影响到 PGC-1 β 的水平. 同时, 由于 PGC-1 β 又是 SREBP-1c 和 LXR 共同的转录共激活因子, ERR α 就可以通过调节 PGC-1 β 的水平, 进而影响到 SREBP-1c 和 LXR 的转录活性, 最终对脂肪酸等的合成及转运产生影响.

7 展望

目前, 已上市和在研的调脂药物(如他汀类药物、

图 8 PGC-1 β 与 ERR α 、SREBP-1c 及 LXR 三者的关联

CETP 抑制剂和 PCSK9 抑制剂等)大都是脂质生物合成相关酶或脂质转运蛋白的调控剂。而针对脂质生物合成的“转录调控剂”的分子机制、靶标确证及相关新药发现研究则非常滞后。脂质的生物合成是一个十分复杂的系统工程,需要许多重要的转录因子协同配合发挥调节作用,其中, SREBPs、LXR 及 $ERR\alpha$ 被认为是调控脂质生物合成最重要的转录因子。因此,基于上述三个转录调控网络研制新靶点调脂

药物具有很好的前景。此外,尤其值得关注的是, PGC-1 β 恰好是上述三个转录因子共同的转录共激活因子,并且, PGC-1 β 也是 PPAR γ 的转录共激活因子。因此, PGC-1 β 在脂代谢的转录调节方面处于关键枢纽地位。迄今为止,尚无基于脂质生物合成转录调控的新靶点药物上市,也极少有相关药物进入临床研究阶段,尤其是亟待开展 PGC-1 β 的上游调控分子机制、新靶标确证等基础研究及相关新药发现研究。

致谢 本工作得到国家自然科学基金(81373303)资助,特此致谢。

参考文献

- Walker AK, Naar AM. SREBPs: regulators of cholesterol/lipids as therapeutic targets in metabolic disorders, cancers and viral diseases. *Clin Lipidol*, 2012, 7: 27–36
- Lin JD, Yang RJ, Tarr PT, Wu PH, Handschin C, Li SM, Yang WL, Pei LM, Uldry M, Tontonoz P, Newgard CB, Spiegelman BM. Hyperlipidemic effects of dietary saturated fats mediated through PGC-1 β coactivation of SREBP. *Cell*, 2005, 120: 261–273
- Cunningham KF, Beeson GC, Baicu CF, Zile MR, McDermott PJ. Estrogen-related receptor α ($ERR\alpha$) is required for adaptive increases in PGC-1 isoform expression during electrically stimulated contraction of adult cardiomyocytes in sustained hypoxic conditions. *Int J Cardiol*, 2015, 187: 393–400
- Horton JD, Shah NA, Warrington JA, Anderson NN, Park SW, Brown MS, Goldstein JL. Combined analysis of oligonucleotide microarray data from transgenic and knockout mice identifies direct SREBP target genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 12027–12032
- Osborne TF, Espenshade PJ. Evolutionary conservation and adaptation in the mechanism that regulates SREBP action: what a long, strange tRIP it's been. *Genes Dev*, 2009, 23: 2578–2591
- Watanabe M, Uesugi M. Small-molecule inhibitors of SREBP activation potential for new treatment of metabolic disorders. *Med Chem Commun*, 2013, 4: 1422–1433
- Hua X, Nohturfft A, Goldstein JL, Brown MS. Sterol resistance in CHO cells traced to point mutation in SREBP cleavage activating protein (SCAP). *Cell*, 1996, 87: 415–426
- Rawson RB, Goldstein JL, Brown MS. Failure to cleave sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs) causes cholesterol auxotrophy in Chinese hamster ovary cells with genetic absence of SREBP cleavage-activating protein. *J Biol Chem*, 1999, 274: 28549–28556
- Matsuda M, Korn BS, Hammer RE, Moon YA, Komuro R, Horton JD, Goldstein JL, Brown MS, Shimomura I. SREBP cleavage-activating protein (SCAP) is required for increased lipid synthesis in liver induced by cholesterol deprivation and insulin elevation. *Genes Dev*, 2001, 15: 1206–1216
- Adams CM, Reitz J, DeBrabander JK, Feramisco JD, Brown MS, Goldstein JL. Cholesterol and 25-hydroxycholesterol inhibit activation of SREBPs by different mechanisms, both involving SCAP and insigs. *J Biol Chem*, 2004, 279: 52772–52780
- Sever N, Yang T, Brown MS, Goldstein JL, DeBose-Boyd RA. Accelerated degradation of HMG CoA reductase mediated by binding of Insig-1 to its sterol-sensing domain. *Mol Cell*, 2003, 11: 25–33
- Owen JL, Zhang Y, Bae SH, Farooqi MS, Liang G, Hammer RE, Goldstein JL, Brown MS. Insulin stimulation of SREBP-1c processing in transgenic rat hepatocytes requires p70 S6-kinase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 16184–16189
- Horton JD, Shimomura I, Brown MS, Hammer RE, Goldstein JL, Shimano H. Activation of cholesterol synthesis in preference to fatty acid synthesis in liver and adipose tissue of transgenic mice overproducing sterol regulatory element-binding protein-2. *J Clin Invest*, 1998, 101: 2331–2339
- Li S, Brown MS, Goldstein JL. Bifurcation of insulin signaling pathway in rat liver: mTORC1 required for stimulation of lipogenesis, but not inhibition of gluconeogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 3441–3446
- Chen G, Liang G, Ou J, Goldstein JL, Brown MS. Central role for liver X receptor in insulin-mediated activation of Srebp-1c transcription and stimulation of fatty acid synthesis in liver. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 11245–11250
- Shimomura I, Bashmakov Y, Ikemoto S, Horton JD, Brown MS, Goldstein JL. Insulin selectively increases SREBP-1c mRNA in the livers

- of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 13656–13661
- 17 Horton JD, Goldstein JL, Brown MS. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest*, 2002, 109: 1125–1131
- 18 Porstmann T, Santos CR, Griffiths B, Cully M, Wu M, Leevers S, Griffiths JR, Chung YL, Schulze A. SREBP activity is regulated by mTORC1 and contributes to Akt-dependent cell growth. *Cell Metab*, 2008, 8: 224–236
- 19 Liu TF, Tang JJ, Li PS, Shen Y, Li JG, Miao HH, Li BL, Song BL. Ablation of gp78 in liver improves hyperlipidemia and insulin resistance by inhibiting SREBP to decrease lipid biosynthesis. *Cell Metab*, 2012, 16: 213–225
- 20 Yellaturu CR, Deng X, Cagen LM, Wilcox HG, Mansbach CM, Siddiqi SA, Park EA, Raghov R, Elam MB. Insulin enhances post-translational processing of nascent SREBP-1c by promoting its phosphorylation and association with COPII vesicles. *J Biol Chem*, 2009, 284: 7518–7532
- 21 Krycer JR, Sharpe LJ, Luu W, Brown AJ. The Akt-SREBP nexus: cell signaling meets lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab*, 2010, 21: 268–276
- 22 Bengoechea-Alonso MT, Ericsson J. A phosphorylation cascade controls the degradation of active SREBP1. *J Biol Chem*, 2009, 284: 5885–5895
- 23 Cross DA, Alessi DR, Cohen P, Andjelkovich M, Hemmings BA. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase B. *Nature*, 1995, 378: 785–789
- 24 Kamisuki S, Mao Q, Abu-Elheiga L, Gu ZW, Kugimiya A, Kwon Y, Shinohara T, Kawazoe Y, Sato S, Asakura K, Choo HP, Sakai J, Wakil SJ, Uesugi M. A small molecule that blocks fat synthesis by inhibiting the activation of SREBP. *Chem Biol*, 2009, 16: 882–892
- 25 Tang JJ, Li JG, Qi W, Qiu WW, Li PS, Li BL, Song BL. Inhibition of SREBP by a small molecule, Betulin, improves hyperlipidemia and insulin resistance and reduces atherosclerotic plaques. *Cell Metab*, 2011, 13: 44–56
- 26 Moon YA, Liang G, Xie X, Frank-Kamenetsky M, Fitzgerald K, Kotliansky V, Brown MS, Goldstein JL, Horton JD. The Scap/SREBP pathway is essential for developing diabetic fatty liver and carbohydrate-induced hypertriglyceridemia in animals. *Cell Metab*, 2012, 15: 240–246
- 27 Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH. PCSK9: a convertase that coordinates LDL catabolism. *J Lipid Res*, 2009, 50: 172–177
- 28 Janowski BA, Grogan MJ, Jones SA, Wisely GB, Kliewer SA, Corey EJ, Mangelsdorf DJ. Structural requirements of ligands for the oxysterol liver X receptors LXR α and LXR β . *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 266–271
- 29 Annicotte JS, Schoonjans K, Auwerx J. Expression of the liver X receptor α and β in embryonic and adult mice. *Anat Rec Part A*, 2004, 277: 312–316
- 30 Glass CK, Rosenfeld MG. The coregulator exchange in transcriptional functions of nuclear receptors. *Genes Dev*, 2000, 14: 121–141
- 31 Chen JD, Evans RM. A transcriptional co-repressor that interacts with nuclear hormone receptors. *Nature*, 1995, 377: 454–457
- 32 Brooks-Wilson A, Marcil M, Clee SM, Zhang LH, Roomp K, Dam MV, Yu L, Brewer C, Collins JA, Molhuizen HO, Loubser O. Mutations in ABC1 in tanger disease and familial high-density lipoprotein deficiency. *Nat Genet*, 1999, 22: 336–345
- 33 Venkateswaran A, Laffitte BA, Joseph SB, Mak PA, Wilpitz DC, Edwards PA, Tontonoz P. Control of cellular cholesterol efflux by the nuclear oxysterol receptor LXR α . *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 12097–12102
- 34 Tarling EJ, Edwards PA. ATP binding cassette transporter G1 (ABCG1) is an intracellular sterol transporter. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 19719–19724
- 35 Mak PA, Laffitte BA, Desrumaux C, Joseph SB, Curtiss LK, Mangelsdorf DJ, Tontonoz P, Edwards PA. Regulated expression of the apolipoprotein E/C-I/C-IV/C-II gene cluster in murine and human macrophages. A critical role for nuclear liver X receptors- α and - β . *J Biol Chem*, 2002, 277: 31900–31908
- 36 Laffitte BA, Repa JJ, Joseph SB, Wilpitz DC, Kasts HR, Mangelsdorf DJ, Tontonoz P. LXRs control lipid-inducible expression of the apolipoprotein E gene in macrophages and adipocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 507–512
- 37 Laffitte BA, Joseph SB, Chen M, Castrillo A, Repa J, Wilpitz D, Mangelsdorf DJ, Tontonoz P. The phospholipid transfer protein gene is a liver X receptor target expressed by macrophages in atherosclerotic lesions. *Mol Cell Biol*, 2003, 23: 2182–2191
- 38 Zhang Y, Repa JJ, Gauthier K, Mangelsdorf DJ. Regulation of lipoprotein lipase by the oxysterol receptors, LXR α and LXR β . *J Biol Chem*, 2001, 276: 43018–43024
- 39 Luo Y, Tall AR. Sterol upregulation of human CETP expression *in vitro* and in transgenic mice by an LXR element. *J Clin Invest*, 2000, 105: 513–520
- 40 Peet DJ, Turley SD, Ma WZ, Janowski BA, Alobaccaro JA, Hammer RE, Mangelsdorf DJ. Cholesterol and bile acid metabolism are impaired in mice lacking the nuclear oxysterol receptor LXR α . *Cell*, 1998, 93: 693–704

- 41 Repa JJ. Regulation of mouse sterol regulatory element-binding protein-1c gene (SREBP-1c) by oxysterol receptors, LXR α and LXR β . *Genes Dev*, 2000, 14: 2819–2830
- 42 Schultz JR, Tu H, Luk A, Repa JJ, Medina JC, Li LP, Schwendner S, Wang S, Thoolen M, Mangelsdorf DJ, Lustig KD, Shan B. Role of LXRs in control of lipogenesis. *Genes Dev*, 2000, 14: 2831–2838
- 43 Repa JJ, Berge KE, Pomajzl C, Richardson JA, Hobbs H, Mangelsdorf DJ. Regulation of ATP-binding cassette sterol transporters ABCG5 and ABCG8 by the liver X receptors- α and - β . *J Biol Chem*, 2002, 277: 18793–18800
- 44 Yasuda T, Grillot D, Billheimer JT, Briand F, Delerive P, Huet S, Rader DJ. Tissue-specific liver X receptor activation promotes macrophage reverse cholesterol transport *in vivo*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30: 781–786
- 45 Duval C, Touche V, Tailleux A, Fruchart JC, Fievet C, Clavey V, Staels B, Lestavel S. Niemann-Pick C1 like 1 gene expression is downregulated by LXR activators in the intestine. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 340: 1259–1263
- 46 Altmann SW, Davis HR, Zhu LJ, Yao XR, Hoos LM, Tetzloff G, Iyer SP, Maguire M, Golovko A, Zeng M, Wang LQ, Murgolo N, Graziano MP. Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. *Science*, 2004, 303: 1201–1204
- 47 Davies JP, Scott C, Oishi K, Liapis A, Ioannou YA. Inactivation of NPC1L1 causes multiple lipid transport defects and protects against diet-induced hypercholesterolemia. *J Biol Chem*, 2005, 280: 12710–12720
- 48 Davis HR, Zhu LJ, Hoos LM, Tetzloff G, Maguire M, Liu J, Yao X, Iyer SP, Lam MH, Lund EG. Niemann-Pick C1 like 1 (NPC1L1) is the intestinal phytosterol and cholesterol transporter and a key modulator of whole-body cholesterol homeostasis. *J Biol Chem*, 2004, 279: 33586–33592
- 49 Temel RE, Tang W, Ma Y, Rudel LL, Willingham MC, Ioannou YA, Davies JP, Nilsson LM, Yu L. Hepatic Niemann-Pick C1-like 1 regulates biliary cholesterol concentration and is a target of ezetimibe. *J Clin Invest*, 2007, 117: 1968–1978
- 50 Zhang JH, Ge L, Qi W, Zhang LQ, Miao HH, Li BL, Yang MJ, Song BL. The N-terminal domain of NPC1L1 protein binds cholesterol and plays essential roles in cholesterol uptake. *J Biol Chem*, 2011, 286: 25088–25097
- 51 Weinglass AB, Kohler M, Schulte U, Liu J, Nketiah EO, Thomas A, Schmalhofer W, Williams B, Bildl W, McMasters DR, Dai K, Beers L, Mccann ME, Kaczorowski GJ, Garcia ML. Extracellular loop C of NPC1L1 is important for binding to ezetimibe. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 11140–11145
- 52 Ge L, Wang J, Qi W, Miao HH, Gao J, Qu YX, Li BL, Song BL. The cholesterol absorption inhibitor ezetimibe acts by blocking the sterol-induced internalization of NPC1L1. *Cell Metab*, 2008, 7: 508–519
- 53 Li PS, Fu ZY, Zhang YY, Zhang JH, Ma YT, Li BL, Song BL. The clathrin adaptor Numb regulates intestinal cholesterol absorption through dynamic interaction with NPC1L1. *Nat Med*, 2014, 20: 80–86
- 54 Tice CM, Noto PB, Fan KY, Zhuang LH, Lala DS, Singh SB. The medicinal chemistry of liver X receptor (LXR) modulators. *J Med Chem*, 2014, 57: 7182–7205
- 55 Hu Y, Yang Y, Yu Y, Wen G, Shang N, Zhuang W, Lu D, Zhou B, Liang B, Yue X, Li F, Du J, Bu X. Synthesis and identification of new flavonoids targeting liver X receptor β involved pathway as potential facilitators of A β clearance with reduced lipid accumulation. *J Med Chem*, 2013, 56: 6033–6053
- 56 Viennois E, Mouzat K, Dufour J, Morel L, Lobaccaro JM, Baron S. Selective liver X receptor modulators (SLiMs): what use in human health? *Mol Cell Endocrinol*, 2012, 351: 129–141
- 57 Griffett K, Solt LA, El-Gendy BE, Kamenecka TM, Burris TP. A liver-selective LXR inverse agonist that suppresses hepatic steatosis. *ACS Chem Biol*, 2013, 8: 559–567
- 58 Ou JF, Tu H, Shan B, Luk A, DeBose-Boyd RA, Bashmakov Y, Goldstein JL, Brown MS. Unsaturated fatty acids inhibit transcription of the sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) gene by antagonizing ligand dependent activation of the LXR. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 6027–6032
- 59 Sim WC, Park S, Lee KY, Je YT, Yin HQ, Choi YJ, Sung SH, Park SJ, Park HJ, Shin KJ, Lee BH. LXR- α antagonist meso-dihydroguaiaretic acid attenuates high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver. *Biochem Pharmacol*, 2014, 90: 414–424
- 60 Peng D, Hiipakka RA, Dai Q, Guo J, Reardon CA, Getz GS, Liao S. Antiatherosclerotic effects of a novel synthetic tissue-selective steroidal liver X receptor agonist in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *J Pharmacol Exp Ther*, 2008, 327: 332–342
- 61 Peng D, Hiipakka RA, Xie JT, Dai Q, Reardon CA, Getz GS, Liao S. A novel potent synthetic steroidal liver X receptor agonist lowers plasma cholesterol and triglycerides and reduces atherosclerosis in LDLR-/- mice. *Br J Pharmacol*, 2011, 162: 1792–1804
- 62 Hong C, Tontonoz P. Liver X receptors in lipid metabolism: opportunities for drug discovery. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, 13: 433–444
- 63 Kim SH, Kim GH. TRAP80 regulators for treating or preventing metabolic syndrome. KR Patent, 201059202, 2010-06-22
- 64 Shih DM, Shaposhnik Z, Meng Y, Rosales M, Wang X, Wu J, Ratiner B, Zadini F, Zadini G, Lusis AJ. Hyodeoxycholic acid improves HDL

- function and inhibits atherosclerotic lesion formation in LDLR-knockout mice. *FASEB J*, 2013, 27: 3805–3817
- 65 Zelcer N, Hong C, Boyadjian R, Tontonoz P. LXR regulates cholesterol uptake through Idol-dependent ubiquitination of the LDL receptor. *Science*, 2009, 325: 100–104
- 66 Hong C, Marshall SM, McDaniel AL, Graham M, Layne JD, Cai L, Scotti E, Boyadjian R, Kim J, Chamberlain BT, Tangirala RK, Jung ME, Fong L, Lee R, Young SG, Temel RE, Tontonoz P. The LXR-idol axis differentially regulates plasma LDL levels in primates and mice. *Cell Metab*, 2014, 20: 910–918
- 67 Puigserver P, Wu Z, Park CW, Graves R, Wright M, Spiegelman BM. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell*, 1998, 92: 829–839
- 68 Lin J, Puigserver P, Donovan J, Tarr P, Spiegelman BM. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1beta (PGC-1beta), a novel PGC-1-related transcription coactivator associated with host cell factor. *J Biol Chem*, 2002, 277: 1645–1648
- 69 Kressler D, Schreiber SN, Knutti D, Kralli A. The PGC-1-related protein PERC is a selective coactivator of estrogen receptor alpha. *J Biol Chem*, 2002, 277: 13918–13925
- 70 Hernandez C, Molusky M, Li YQ, Li SM, Lin JD. Regulation of hepatic ApoC3 expression by PGC-1 β mediates hypolipidemic effect of nicotinic acid. *Cell Metab*, 2010, 12: 411–419
- 71 Giguere V, Yang N, Segui P, Evans RM. Identification of a new class of steroid hormone receptors. *Nature*, 1988, 331: 91–94
- 72 Busch BB, Stevens WC, Martin R, Ordentlich P, Zhou SH, Sapp DW, Horlick RA, Mohan R. Identification of a selective inverse agonist for the orphan nuclear receptor estrogen-related receptor α . *J Med Chem*, 2004, 47: 5593–5596
- 73 Yang C, Chen S. Two organochlorine pesticides, toxaphene and chlordane, are antagonists for estrogen related receptor alpha-1 orphan receptor. *Cancer Res*, 1999, 59: 4519–4524
- 74 Coward P, Lee D, Hull MV. 4-Hydroxytamoxifen binds to and deactivates the estrogen-related receptor gamma. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 8880–8884
- 75 Tremblay GB, Bergeron D, Giguere V. 4-Hydroxytamoxifen is an isoform-specific inhibitor of orphan estrogen-receptor-related (ERR) nuclear receptors beta and gamma. *Endocrinology*, 2001, 142: 4572–4575
- 76 Zhou J, Selan F, Hall L, Mamidi R, Duvall M, Loudon C. Preclinical safety evaluation of JNJ-35815208, a selective estrogen-related receptor alpha modulator. In: *52nd Annu Meet Soc Toxicol*. San Antonio, 2013. 1814
- 77 Wang JJ, Fang F, Huang ZY, Wang YF, Wong CW. Kaempferol is an estrogen-related receptor α and γ inverse agonist. *FEBS Lett*, 2009, 583: 643–647
- 78 Ishii KA, Fumoto T, Iwai K, Takeshita S, Ito M, Shimohata N, Aburatani H, Taketani S, Lelliott CJ, Vidal-Puig A, Ikeda K. Coordination of PGC-1 β and iron uptake in mitochondrial biogenesis and osteoclast activation. *Nat Med*, 2009, 15: 259–266
- 79 Wei W, Wang XQ, Yang M, Smith LC, Dechow PC, Wan YH. PGC1b Mediates PPAR γ activation of osteoclastogenesis and rosiglitazone-induced bone loss. *Cell Metab*, 2010, 11: 503–516
- 80 Ju DP, He JJ, Zhao LL, Zheng XL, Yang GS. Estrogen related receptor α -induced adipogenesis is PGC-1 β -dependent. *Mol Biol Rep*, 2012, 39: 3343–3354

Transcriptional regulation of lipid biosynthesis, related target validation and drug discovery

Chao Lin, Jun Liu, Hongbin Sun*

Jiangsu Key Laboratory of Drug Discovery for Metabolic Disease; College of Pharmaceutical Sciences, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

*Corresponding author (email: hbsun2000@yahoo.com)

Abstract: Disorders in lipid biosynthesis is a key aspect of metabolic disorders, and is associated with many disease, including hyperlipidemia, insulin resistance, atherosclerosis, osteoporosis, and tumors. In transcriptional level, sterol regulating element binding protein (SREBP) and liver X receptor (LXR) are respectively responsible for regulation of lipid biosynthesis and transports, and thus play key roles in lipid metabolism. Both SREBP and LXR control signalling networks and are interconnected with each other, leading to the balance of lipid metabolism. PGC-1 β is the key co-activator for SREBP, LXR and ERR α , and is of great importance in regulating lipid biosynthesis and transports.

Keywords: lipid biosynthesis, SREBPs, LXR, PGC-1 β , ERR α