

## 综述

# 载脂蛋白C3在非酒精性脂肪肝、糖脂代谢和胰岛β细胞功能调节中的作用

闫 珊<sup>1,2</sup>, 丁智勇<sup>3</sup>, 高 媛<sup>2,4</sup>, 毛王佳<sup>1,2</sup>, 程晓芸<sup>1,3,\*</sup>

<sup>1</sup>同济大学附属第十人民医院内分泌科, 上海 200072; <sup>2</sup>同济大学医学院, 上海 200092; <sup>3</sup>同济大学附属第十人民医院崇明分院内分泌科, 上海 202157; <sup>4</sup>广饶县人民医院内分泌科, 东营 257300

**摘 要:** 作为载脂蛋白C (apolipoprotein C, ApoC)家族中含量较高的一员, ApoC3在甘油三酯代谢的调节中起着主要作用, 同时在心血管疾病、糖脂代谢紊乱等疾病的发生、发展中发挥重要作用。非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指患者在不存在慢性饮酒史及其他损肝因素的情况下, 肝脏内有大量脂肪堆积的现象。既往有大量的研究表明, ApoC3的基因多态性、高表达与NAFLD之间存在相关性, 但仍存有争议。本文以高甘油三酯血症(hypertriglyceridemia, HTG)为背景, 综述ApoC3与NAFLD、糖脂代谢及胰岛β细胞功能之间的关联, 表明ApoC3不仅可以通过抑制脂蛋白脂酶(lipoprotein lipase, LPL)和肝脂酶(hepatic lipase, HL)的活性、延缓甘油三酯在血浆中的分解来维持机体在禁食期间的能量代谢, 还可在胰岛素抵抗的情况下显著升高, 促使肝脏分泌大量极低密度脂蛋白(very low-density lipoprotein, VLDL)而诱发HTG, 因此靶向抑制ApoC3将成为治疗HTG的新策略。但对于NAFLD来说, ApoC3不是一个独立的“贡献者”。同样地, 本研究组前期研究显示, ApoC3并不能成为引发ApoC3转基因小鼠β细胞功能障碍的独立因素, 但在营养过剩状态下, ApoC3高表达所引发的HTG可能会加剧高血糖和胰岛素抵抗对胰岛β细胞功能的影响, 其作用机制有待进一步深入讨论。

**关键词:** 载脂蛋白C3; 高甘油三酯血症; 非酒精性脂肪肝; 胰岛β细胞功能

## The role of apolipoprotein C3 in the regulation of nonalcoholic fatty liver disease, glucose and lipid metabolism, and islet β cell function

YAN Shan<sup>1,2</sup>, DING Zhi-Yong<sup>3</sup>, GAO Yuan<sup>2,4</sup>, MAO Wang-Jia<sup>1,2</sup>, CHENG Xiao-Yun<sup>1,3,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Endocrinology and Metabolism, Tenth People's Hospital of Tongji University, Shanghai 200072, China; <sup>2</sup>School of Medicine, Tongji University, Shanghai 200092, China; <sup>3</sup>Department of Endocrinology and Metabolism, Chongming Branch, Tenth People's Hospital of Tongji University, Shanghai 202157, China; <sup>4</sup>Department of Endocrinology, the People's Hospital of Guangrao, Dongying 257300, China

**Abstract:** As a member of the apolipoprotein C (ApoC) family with a relatively high content, ApoC3 plays a major role in the regulation of triglyceride metabolism, and plays an important role in the occurrence and development of cardiovascular diseases, glucose and lipid metabolism disorders. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) refers to the accumulation of a large amount of fat in the liver in the absence of a history of chronic alcohol consumption or other damage to the liver. A large number of previous studies have shown that there is a correlation between the gene polymorphism and high expression of ApoC3 and NAFLD. In the context of hypertriglyceridemia (HTG), this article reviews the relationship between ApoC3 and NAFLD, glucose and lipid metabolism, and islet β cell function, showing that ApoC3 can not only inhibit lipoprotein lipase (LPL) and hepatic lipase (HL) activity, delay the decomposition of triglyceride in plasma to maintain the body's energy metabolism during fasting, but also be significantly increased under insulin

This work was supported by the Key Research and Development Program of the Ministry of Science and Technology (No. 2018YFC1314100, 2016YFC1305600) and New Action Plan for Sustainable Development Science and Technology of Chongming District, Shanghai (No. CKY2018-19).

\*Corresponding author. E-mail: chenxiaoyun0210@163.com

resistance, prompting the liver to secrete a large amount of very low-density lipoprotein (VLDL) to induce HTG. Therefore, targeting and inhibiting ApoC3 might become a new approach to treat HTG. Increasing evidence suggests that ApoC3 does not appear to be an independent “contributor” to NAFLD. Similarly, our previous studies have shown that ApoC3 is not an independent factor triggering islet  $\beta$  cell dysfunction in ApoC3 transgenic mice, but in a state of excess nutrition, HTG triggered by ApoC3 high expression may exacerbate the effects of hyperglycemia and insulin resistance on islet  $\beta$  cell function, and the underlying mechanism remains to be further discussed.

**Key words:** apolipoprotein C3; hypertriglyceridemia; nonalcoholic fatty liver disease; islet  $\beta$  cell function

载脂蛋白 C3 (apolipoprotein C3, ApoC3) 主要在肝脏和肠道中表达, 尤以肝脏为主, 在调节富含甘油三酯 (triglycerides, TG) 的脂蛋白代谢中发挥关键性作用。相关研究表明, ApoC3 不仅参与心血管疾病、糖脂代谢紊乱等多种疾病的发生、发展, 还参与其他生理和病理生理学过程, 例如炎症通路的激活、单核细胞的黏附、葡萄糖稳态维持等<sup>[1]</sup>。高甘油三酯血症 (hypertriglyceridemia, HTG) 是一种以血浆 TG 升高为主要特征的血脂异常疾病, 与肝脏中富含 TG 颗粒的生成增加、分解代谢减少和摄取减少有关<sup>[2]</sup>。缺乏 ApoC3 基因的动物模型血浆 TG 水平降低, 而过表达 ApoC3 基因则导致血浆 TG 水平升高<sup>[3]</sup>。因此靶向抑制 ApoC3 将成为治疗 HTG 的一个新策略。目前非酒精性脂肪肝 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 已成为全球慢性肝病的主要病因, 其病理改变是肝细胞脂肪变性、气球样变和肝小叶炎症性改变, 具有肝纤维化/肝硬化、肝细胞癌和相关死亡率的临床后果<sup>[4]</sup>, 而大部分 NAFLD 患者多伴有脂代谢紊乱。本文主要综述 ApoC3 与 NAFLD、糖脂代谢及胰岛  $\beta$  细胞功能间的联系及 ApoC3 发挥的作用, 以期对 ApoC3 作为糖脂代谢干预靶点提供理论依据。

## 1 ApoC3的特性

载脂蛋白是一类特殊蛋白质, 其家族较为庞大, 可分为 A、B、C、E 等, 在脂质转运过程中发挥重要作用, 其中尤以 C 族含量较高。ApoC 是一种分子量较低的水溶性蛋白质, 多分布于血浆高密度脂蛋白 (high-density lipoprotein, HDL) 和富含 TG 的脂蛋白 [triglyceride rich lipoproteins, TRLs, 包括极低密度脂蛋白 (very low-density lipoprotein, VLDL)、乳糜颗粒 (chylomicron, CM)] 表面<sup>[5]</sup>, 负责调节脂蛋白的分解与代谢。ApoC 家族包含三个成员, 分别是 ApoC1、ApoC2 和 ApoC3。ApoC1 可抑制胆固醇酯转移蛋白、低密度脂蛋白 (low-density lipoprotein, LDL) 受体及其相关蛋白发挥相应作用, 从而诱发高胆固醇血症<sup>[6]</sup>; ApoC2 则通过激活脂蛋白脂酶 (lipoprotein lipase, LPL) 对血液循环中的 VLDL 及 CM 中的 TG 进行降解, 以输送或储存能量<sup>[7]</sup>; ApoC3 是 ApoC 家族中含量最为丰富的一类, 主要在肝细胞中表达, 在肠上皮细胞中也有少量表达<sup>[8]</sup>, 是调节血浆 TG 的关键因子。ApoC3 在血浆中主要以蛋白质的形式存在, ApoC3<sub>0</sub>、ApoC3<sub>1</sub>、ApoC3<sub>2</sub> 是其常见的三种蛋白质形式, 三者分别因唾液酸的数量不同而存在差异<sup>[8]</sup>。最初合成的 ApoC3 是一个含有 99 个氨基酸残基的肽链, 肽链经内质网剪切后, 形成了一个仅含有 79 个氨基酸残基的成熟 ApoC3。ApoC3 基因位于 11q23 染色体上, 其基因长度为 3 367 bp, 包含 4 个外显子<sup>[9]</sup>。ApoC3 蛋白包含  $\alpha$  螺旋和  $\beta$  转角两种结构, 其中 41~79 位氨基酸残基是结合脂质的“主力军”。ApoC3 具有三个结构域, 分别是 N 端结构域、中间片段和 C 端结构域, Meyers 等<sup>[10]</sup> 研究发现, ApoC3 的 C 端结构域末端中的芳香族残基主要通过降低 LPL 的活性在 ApoC3 与脂质结合中发挥了重要作用。

而诱发高胆固醇血症<sup>[6]</sup>; ApoC2 则通过激活脂蛋白脂酶 (lipoprotein lipase, LPL) 对血液循环中的 VLDL 及 CM 中的 TG 进行降解, 以输送或储存能量<sup>[7]</sup>; ApoC3 是 ApoC 家族中含量最为丰富的一类, 主要在肝细胞中表达, 在肠上皮细胞中也有少量表达<sup>[8]</sup>, 是调节血浆 TG 的关键因子。ApoC3 在血浆中主要以蛋白质的形式存在, ApoC3<sub>0</sub>、ApoC3<sub>1</sub>、ApoC3<sub>2</sub> 是其常见的三种蛋白质形式, 三者分别因唾液酸的数量不同而存在差异<sup>[8]</sup>。最初合成的 ApoC3 是一个含有 99 个氨基酸残基的肽链, 肽链经内质网剪切后, 形成了一个仅含有 79 个氨基酸残基的成熟 ApoC3。ApoC3 基因位于 11q23 染色体上, 其基因长度为 3 367 bp, 包含 4 个外显子<sup>[9]</sup>。ApoC3 蛋白包含  $\alpha$  螺旋和  $\beta$  转角两种结构, 其中 41~79 位氨基酸残基是结合脂质的“主力军”。ApoC3 具有三个结构域, 分别是 N 端结构域、中间片段和 C 端结构域, Meyers 等<sup>[10]</sup> 研究发现, ApoC3 的 C 端结构域末端中的芳香族残基主要通过降低 LPL 的活性在 ApoC3 与脂质结合中发挥了重要作用。

## 2 ApoC3与HTG和NAFLD

ApoC3 的基因多态性与 HTG、NAFLD、代谢综合征等多种疾病间的关系已被报道。目前与 ApoC3 基因多态性相关的位点有很多, 位于 ApoC3 基因启动子区域的 2 个单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 位点 [rs2854117 (C-482T)、rs2854116 (T-455C)] 和位于 3' 非翻译区的 Sst I 多态性位点是当前的研究热点。

TRLs 主要在肝脏和小肠中合成<sup>[11]</sup>。VLDL 利用来自脂肪组织或脂肪酸从头合成过程中的游离脂肪酸在肝脏中完成组装, ApoB100 是其主要载脂蛋白, 此外, VLDL 还携带 ApoC2、ApoC3、ApoA5 和 ApoE 等, 部分载脂蛋白会在脂解过程中转移至 HDL 上。CM 的组装主要是在进食后, 食物中的

TG 与 ApoB48 在肠上皮细胞中完成组装，其表面同样携带 ApoC2、ApoC3、ApoA5 和 ApoE<sup>[12]</sup>。ApoC2 是激活 LPL 的重要辅助因子，ApoC3 则通过抑制脂质的分解及降低肝脏对脂质的摄取来延长 TRLs 在体内的停留。ApoA5 主要作用是帮助 TRLs 在硫酸乙酰肝素蛋白多糖 (heparan sulfate proteoglycans, HSPG) 的作用下结合到内皮细胞表面以稳定 LPL-ApoC2 复合物<sup>[12]</sup>。LPL 在心脏、骨骼肌和脂肪组织中合成后分泌至内皮下，被糖基磷脂酰肌醇锚定高密度脂蛋白结合蛋白 1 (glycosylphosphatidylinositol-anchored high-density lipoprotein-binding protein 1, GPIHBP1) 和 HSPG 锚定在毛细血管的腔侧 (此部位是 LPL 发挥作用的主要位点)，并由脂肪酶成熟因子 -1 (lipase maturation factor-1, LMF1) 和血管生成素样蛋白 (angiopoietin-like protein, ANGPTL) 进一步稳固及调节其活性<sup>[12, 13]</sup>。VLDL 和 CM 离开肝脏和肠道，进入到血液循环，在脂肪组织及肌肉的毛细血管里，TG 易被 LPL 分解形成游离脂肪酸为机体供能或被周围细胞吸收<sup>[3]</sup>。VLDL 和 CM 在

LPL 的脂解作用下还形成了富含胆固醇酯的 CM 残粒和 VLDL 残粒，VLDL 残粒还可在 LPL 的进一步脂解下形成 LDL，三者均可沉积于动脉壁，诱发动脉粥样硬化<sup>[12]</sup>。VLDL 残粒和 CM 残粒的清除主要是通过 ApoE 介导的低密度脂蛋白受体家族 (LDLR 和 LPR1) 和 HSPG 多配体蛋白聚糖 (SDC) 结合完成<sup>[12, 14]</sup> (TRLs 合成过程见图 1)。

在细胞外，ApoC3 主要通过抑制肝脂酶 (hepatic lipase, HL)、脂肪酶等酶的活性来阻断 LPL 对 VLDL 及 CM 中 TG 的水解，进而影响脂代谢过程<sup>[15]</sup>，同时 ApoC3 还可促进细胞内 VLDL-TG 的组装和分泌<sup>[6]</sup>，因此血浆中的 ApoC3 的表达增多与 VLDL-TG 的生成增多及 TRLs 的清除减少有关。

## 2.1 ApoC3与HTG

HTG 是体内 TG 代谢紊乱的结果，其发生主要与遗传、不良生活习惯、机体原发性疾病有关。其特点是血浆中 TG 和 VLDL 中的 TG 含量较高，同时血浆 ApoC3 也处于一个高表达状态<sup>[3]</sup>。目前 HTG 已成为冠心病、高血压、糖尿病、急性胰腺炎等疾

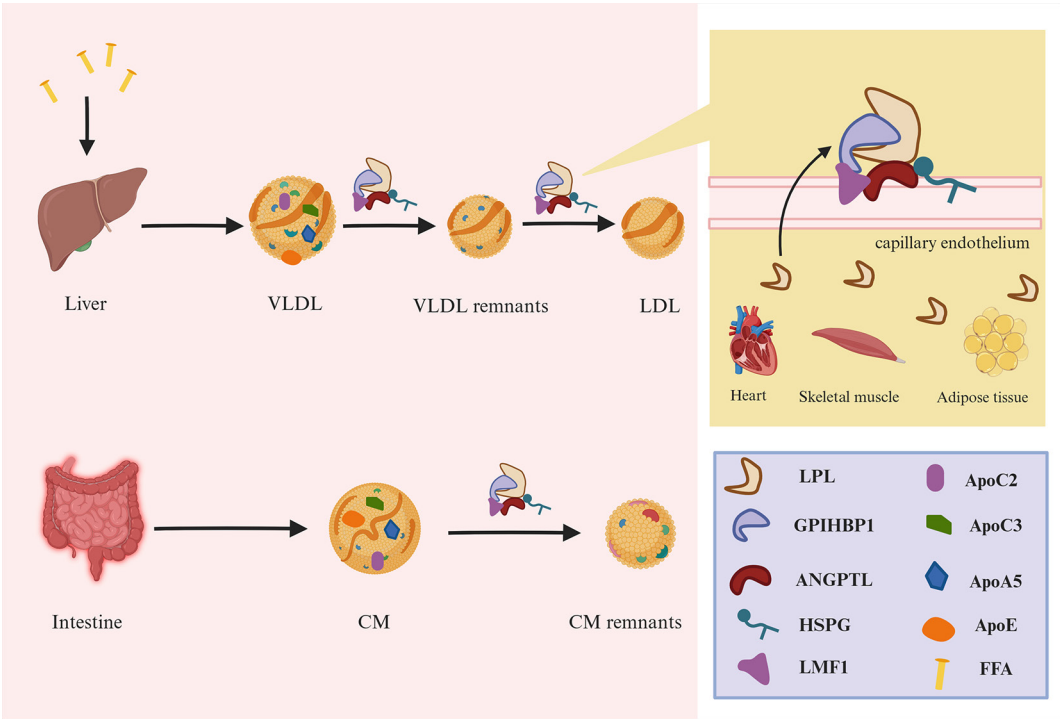


图 1. 富含甘油三酯的脂蛋白(TRLs)合成相关机制图

Fig. 1. Mechanism diagram of synthesis of triglyceride rich lipoproteins (TRLs). VLDL, very low-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; CM, chylomicron; LPL, lipoprotein lipase; GPIHBP1, glycosylphosphatidylinositol-anchored high-density lipoprotein-binding protein 1; ANGPTL, angiopoietin-like protein; HSPG, heparan sulfate proteoglycans; LMF1, lipase maturation factor-1; ApoC2, apolipoprotein C2; ApoC3, apolipoprotein C3; ApoA5, apolipoprotein A5; ApoE, apolipoprotein E; FFA, free fatty acid.

病发生的重要危险因素, 因此积极控制 HTG 将成为预防这些疾病的首要环节。虽然主要的贝特类药物试验对降低 TG 的心血管获益出现矛盾结果<sup>[16–20]</sup>, 但对这些试验的系统评价和荟萃分析表明, 合并高甘油三酯和 / 或低的高密度脂蛋白血症的糖尿病患者, 对 HTG 进行干预, 会降低他汀类药物所“残留的”心血管疾病风险。

Petersen 等<sup>[21]</sup> 招募了一批生活习惯相对较好, 且出生体重正常的亚洲印度男性, 从全血中提取他们的基因组 DNA, 根据基因分型将其分为两组: 低表达(野生型) SNPs 组和高表达(变异) SNPs 组, 结果显示, 与低表达 SNPs 组相比, 高表达 SNPs 组空腹血浆 ApoC3 浓度增加了 30%, 空腹血浆 TG 浓度则增加了 60%。Chhabra 等<sup>[22]</sup> 通过研究来自印度北部平原 139 名健康志愿者男性的 ApoC3 Sst I 多态性(可分为 S1S1、S1S2、S2S2 三种基因型)与血浆 TG 的关系发现, 携带 S1S2 型等位基因的个体发生 HTG 的几率是携带 S1S1 型等位基因个体的 3.2 倍, 表明在亚洲印度人群中, Sst I 的 S2 型等位基因与 HTG 的发生高度相关, 同时也提示 Sst I 的 S2 型等位基因可作为 HTG 易感性的一个重要危险因素。Bai 等<sup>[23]</sup> 对来自中国吉林省的 3 850 名志愿者进行研究, 在测量其血脂后, 利用 PCR 和 MALDI-TOF-MS 技术对 6 个功能性 SNPs 进行基因分型, 结果显示, ApoC3 rs5128 位点的多态性与 HTG 相关。

对于脂质正常的人群来说, 血浆 ApoC3 的浓度约为 8~10 mg/dL, 而在 HTG 患者中血浆 ApoC3 的浓度可高达其 3 倍<sup>[1]</sup>。在小鼠模型中同样可以发现, ApoC3 过表达可能是诱发 HTG 的主要原因<sup>[24]</sup>。此外相关研究还证实, ApoC3 不仅影响肝脏分泌 TG 的速率和程度, 同时高表达的 ApoC3 还使 VLDL-TG 的清除率变慢<sup>[25, 26]</sup>。显然, ApoC3 是 TG 代谢的重要调节因子, 并在脂蛋白间进行交换。在正常情况下, ApoC3 主要与 HDL 结合(当 LPL 水解 VLDL 时, ApoC3 会从 VLDL 表面转移至 HDL 表面), 而在 HTG 的患者体内, ApoC3 会从 HDL 表面转移出来与 VLDL 和 CM 结合, 其转移程度与释放的游离脂肪酸数量有关<sup>[1]</sup>。ApoC3 最初被描述为 LPL 和 HL 的抑制剂, 这两种脂肪酶负责全身 TG 清除<sup>[27–29]</sup>。后续的研究表明 ApoC3 在调节肝脏 VLDL-TG 分泌中也起着一定作用。研究显示, ApoC3 负责形成管腔脂滴(lumenal lipid droplets, LLD)和将富含 TG 的

LLD 大量掺入新生 VLDL, 从而促进富含 TG 的 VLDL1 颗粒的扩张, 这一效应可归因于 ApoC3 的 41~79 位氨基酸羧基区内的脂质结合域<sup>[30–32]</sup>。基因突变(如在人 ApoC3 cDNA 编码区内产生位点特异性突变的 cDNA, 如 K58E)可扰乱羧基脂质结合域, 导致 ApoC3 在促进富含 TG 的 LLD 和 VLDL1 分泌形成方面的功能丧失<sup>[30–32]</sup>。这种效应在肝脏微粒体甘油三酯转移蛋白(microsomal triglyceride transfer protein, MTP)活性没有变化的情况下产生, 表明 ApoC3 促进 LLD 的形成和富含 TG 的大 VLDL1 颗粒的分泌, 而与 MTP 无关<sup>[30]</sup>。与上述研究一致, 本研究组研究显示, ApoC3-tg 小鼠肝脏 VLDL-TG 分泌显著增加, 而肝脏 MTP 表达无改变<sup>[33]</sup>。同样, 本研究组在 ApoC3 tg 和野生型小鼠中未检测到肝脏 ApoB mRNA 水平的显著变化, 这与 ApoB mRNA 组成性表达和 ApoB 蛋白脂质化在共翻译水平上受到非酯化脂肪酸(non-esterified fatty acid, NEFA)底物可用性的严格调控这一发现一致<sup>[34]</sup>, 在缺乏底物的情况下, ApoB 蛋白发生蛋白水解降解。在这种情况下, 本研究组研究显示, ApoC3-tg 小鼠的脂肪酸水平显著升高, 并且这种效应在高脂喂养下加剧<sup>[33]</sup>, 可能的机制是进入肝脏的游离脂肪酸增加, 通过肝脏中的脂肪酸再酯化促进了 TG 的产生。这种作用与 ApoC3 介导的富含 TG 的 LLD 形成的诱导一起促进肝脏 VLDL-TG 的分泌, 并有助于肝脏脂质的去除, 与 ApoC3 对 ApoC3-tg 小鼠脂肪变性没有加重作用一致。

上述研究结果表明, ApoC3 在 HTG 的形成过程中扮演了重要角色, 具体作用机制可概括为: (1) 促进 VLDL 在肝脏中的组装与产生; (2) 抑制 LPL 的活性; (3) 干扰 ApoE 介导的 TRLs 与相关肝受体(LDLR 和 LRP1)的结合, 进而延迟肝细胞对 TRLs 的摄取和清除<sup>[35]</sup>。还有学者指出在正常人或轻度 HTG 患者体内 ApoC3 的浓度不足以抑制 LPL 的活性, 只有高浓度的 ApoC3 才可抑制 LPL 的活性<sup>[36]</sup>。考虑到 ApoC3 在细胞内还可促进 VLDL-TG 的组装和分泌, 我们猜想: ApoC3 虽促进了 HTG 的发展, 但抑制 ApoC3 的分泌也可能会诱发脂肪变性。

## 2.2 ApoC3与NAFLD

NAFLD 是指除酒精和其他明确的肝损害因素所致的, 以肝脏脂肪变性为主要特征的临床病理综合征。目前随着代谢综合征发病率的逐渐升高,

NAFLD 已成为世界上较为常见的一种慢性肝病, 同时也是导致肝硬化的主要病因之一。

Petersen 等<sup>[21]</sup> 研究显示, 位于启动子区域的 rs2854116 (T-455C) 及 rs2854117 (C-482T) 位点的多态性与 NAFLD 相关。Kozlitina 等<sup>[37]</sup> 通过对 1 228 名非洲裔美国人、843 名欧洲裔美国人和 426 名西班牙裔美国人进行基因分型, 其研究结果否定了 Petersen 等人的结论, 即 rs2854116 (T-455C) 及 rs2854117 (C-482T) 位点的多态性与 NAFLD 无关。Song 等<sup>[38]</sup> 通过 PCR 及质谱芯片的方法对 132 名 NAFLD 患者和 252 名健康对照者基因型进行研究, 发现 ApoC3 rs2854116 位点的多态性与 NAFLD 易感性无关。而 Puppala 等<sup>[39]</sup> 通过将 150 名 NAFLD 患者及与其年龄性别相匹配的 150 名健康人群纳入研究, 采用 PCR-RFLP 的方法检测 ApoC3 的基因型, 分析血清脂质谱, 结果显示, NAFLD 组血清 TG 的含量高于对照组, 同时位于启动子区域的 rs2854116 (T-455C) 位点的多态性与 NAFLD 显著相关, 而另一位点 rs2854117 (C-482T) 的多态性与 NAFLD 无关。Tong 等<sup>[40]</sup> 和 Jain 等<sup>[41]</sup> 的研究同样也表明 ApoC3 rs2854116 位点的多态性与 NAFLD 易感性有关。因此 ApoC3 基因多态性与 NAFLD 之间是否具有关联性这一问题仍存在争议。

鉴于这样的研究背景, 人们为解决这一争议进行了深入研究。Lee 等<sup>[42]</sup> 发现在高脂饮食条件下, ApoC3-tg 小鼠肝脏中 TG 的含量增加, 同时高脂饮食还致 ApoC3-tg 小鼠肝脏中 VLDL-TG 的分泌减少, 表明血浆 ApoC3 的升高使小鼠发生高脂饮食诱导下的 NAFLD, 此外给予高脂饮食的小鼠空腹血浆中促炎因子的释放量较正常饮食的小鼠也明显增加。为了揭示 ApoC3 对 NAFLD 的直接影响, 本研究组<sup>[33]</sup> 测定了 ApoC3-tg 小鼠和野生型小鼠的肝脏脂质代谢, 结果发现, 尽管存在普遍的 HTG, ApoC3-tg 小鼠不易发生 NAFLD。本研究组在 ApoC3-tg 小鼠中验证了这一发现: 正常饮食 7 个月, 高果糖饮食 4 个月, 高脂肪饮食 10 个月后, 尽管高果糖喂养和单独高脂喂养导致肝脏中脂肪过度积聚, 但根据肝脏组织学和肝脏脂肪含量定量测定, ApoC3-tg 和野生型小鼠之间的脂肪变性程度不可区分。这种效应与肝脏新生脂肪生成相关基因 [如甾醇调节元件结合蛋白 1c (sterol regulatory element binding protein 1c, *srebp-1c*)、脂肪酸合成酶 (fatty acid synthase, *fas*)、乙酰辅酶 A 羧化酶 (acetyl-CoA

carboxylase, *acc*)、过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  辅助活化因子 1 $\beta$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator-1 $\beta$ , *pgc-1 $\beta$* )、过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ , *ppar- $\gamma$* ) 和脂肪酸氧化相关基因 [如过氧化物酶体增殖物激活受体  $\alpha$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ , *ppar- $\alpha$* )、肉毒碱棕榈酰转移酶 1 (carnitine palmitoyltransferase 1, *cpt1*)、酰基辅酶 A 氧化酶 1 (acyl-CoA oxidase 1, *acox1*)] 表达缺乏变化有关。本研究组研究结果反驳了 ApoC3 是 NAFLD 独立危险因素的观点。与本研究组上述研究结果一致的是临床观察结果显示<sup>[37]</sup>, 两种常见的 ApoC3 变体 (C-482T 和 T-455C) 与 ApoC3 功能获得相关, 并与 HTG 的遗传相关, 与人类的 NAFLD 无关, 并在携带 C-482T 和 T-455C 等位基因或同时携带这两种等位基因不同种族群体 (包括非洲裔美国人、欧洲裔美国人、西班牙裔美国人、南欧裔人、意大利人和中国人) 中均出现一致性的表现。这一结果部分否定了 Lee 等<sup>[42]</sup> 的研究结果, 但也充分验证了 ApoC3 虽是 HTG 的一个重要诱发因素, 其失调与 HTG 的发生密切相关, 但对于 NAFLD 来说, ApoC3 并不是一个独立且重要的“贡献者”(图 2)。

### 3 ApoC3与β细胞功能障碍

糖尿病是一组由多病因引起的以慢性高血糖为特征的代谢性疾病, 病因主要与胰岛素抵抗、胰岛  $\beta$  细胞功能缺陷和 / 或胰岛  $\beta$  细胞破坏有关。

氧化应激、炎症因子、葡萄糖毒性及脂毒性都是导致  $\beta$  细胞功能障碍的主要因素, 它们会阻碍胰岛  $\beta$  细胞分泌胰岛素<sup>[43]</sup>。HTG 是代谢综合征受试者中最常见的脂质紊乱, HTG 及其 TRLs 残留物积累的代谢后遗症会导致动脉粥样硬化, 从而增加冠状动脉疾病的风险和进展。虽然 HTG 与肥胖和 2 型糖尿病密切相关, 但 HTG 本身是否是  $\beta$  细胞功能障碍的致病因素尚不十分清楚。ApoC3 作为 TG 代谢的重要调节因子, 其与糖尿病、胰岛  $\beta$  细胞功能之间的相关性一直存在争议。研究表明, 胰岛素、法尼酯 X 受体、PPAR- $\alpha$  可降低 ApoC3 的转录率<sup>[44-46]</sup>, 而作为 ApoC3 代谢的重要调节剂, 葡萄糖主要通过与肝脏核因子 -4 (hepatic nuclear factor 4, HNF4) 和碳水化合物反应元件结合蛋白 (carbohydrate response element binding protein, ChREBP) 作用后刺激 ApoC3 的表达<sup>[47]</sup>。当机体处于胰岛素抵抗

状态时, ApoC3 的表达会上调, 通过 TPK-PI3K-AKT 信号转导通路来发挥作用, 叉头框蛋白 O1 (forkhead box protein O1, FoxO1) 是胰岛素信号通路的重要信号分子, 它是 PI3K/AKT 信号通路的直接靶点, 参与胰岛细胞增殖的调控过程<sup>[48, 49]</sup>, 本课题组研究显示, 过表达 ApoC3 会抑制细胞核中 FoxO1 的转录<sup>[43]</sup>。

研究显示, 在胰岛素抵抗的肝细胞中, FoxO1 磷酸化减少, 进而促进了其靶基因 [ApoC3、葡萄糖-6-磷酸酶 (糖异生的关键酶) 及 mttp1 (一种参与脂蛋白组装的微粒体甘油三酯转移蛋白)] 的表达<sup>[50, 51]</sup>, 对此 Åvall 等<sup>[51]</sup> 为探究在肥胖小鼠 (随着发育会出现胰岛素抵抗和短暂高血糖的小鼠模型<sup>[52]</sup>) 是否也有类似作用, 并探讨 ApoC3 对  $\beta$  细胞功能是否产生负面作用, 结果证实, 当机体表现为胰岛素抵抗时, 可致 FoxO1 磷酸化水平降低, 促使 ApoC3 在肥胖小鼠胰岛中表达增多, 进而导致  $\text{Ca}^{2+}$  内流增加、caspase 3/7 酶激活最终诱导  $\beta$  细胞发生凋亡。

Åvall 等<sup>[51]</sup> 为进一步证实胰岛内 ApoC3 水平对胰岛  $\beta$  细胞功能及存活的影响, 将来自 ApoC3 基因敲除小鼠的胰岛移植至 C57BL/6 小鼠 (B6 小鼠) 右眼中, 再将来自 B6 小鼠的对照胰岛移至同一小鼠的左眼中, 然后给移植小鼠喂高脂饮食, 与对照胰岛相比, 来自 ApoC3 基因敲除小鼠的胰岛增加幅度较小, 胰岛内血管密度、巨噬细胞的数量及 NAD(P)H:FAD 比率较低, 表明胰岛内 ApoC3 含量减少阻止了高脂饮食诱导的炎症反应。

本课题组的研究结果<sup>[52]</sup> 与 Åvall 等<sup>[51]</sup> 有所不同, 给予 ApoC3-tg 小鼠和对照野生型小鼠喂养普通饮食及高脂饮食, 观察 ApoC3 对胰岛  $\beta$  细胞的影响, 结果显示, 在普通饮食喂养下, ApoC3-tg 和野生型同窝小鼠的葡萄糖曲线、葡萄糖刺激胰岛素分泌幅度相似, 具有相同水平的胰岛敏感性, 参与胰岛  $\beta$  细胞葡萄糖感应的基因 [葡萄糖激酶 (glucokinase, *gck*) 和葡萄糖转运蛋白 2 (glucose transporter 2, *glut2*)]、胰岛素信号基因 [胰岛素 1 (insulin 1, *ins1*) 和胰岛素 2 (insulin 2, *ins2*)] 表达无显著变化, 这与参与胰岛素合成和分泌的 4 个关键转录因子 [胰腺和十二指肠同源盒 1 (pancreatic and duodenal homeobox-1, *pdx1*)、v-maf 肌筋膜性纤维肉瘤癌基因家族蛋白 A (mus musculus v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene family, protein A,

*mafa*)、神经源性分化因子 (neuronal differentiation, *neuroD*) 和叉头框蛋白 A2 (forkhead box protein A2, *foxA2*)] 的缺乏有关; 而高脂饮食喂养下, 与对照小鼠比较, ApoC3-tg 小鼠参与  $\beta$  细胞胰岛素合成和分泌的关键基因 (*ins1*、*ins2* 及 *pdx1*) 表达增加, 促进  $\beta$  细胞补偿, 并呈现胰岛体积的增大和  $\beta$  细胞数量的增加, 提示尽管存在严重的 HTG, 但与野生型小鼠相比, ApoC3-tg 小鼠  $\beta$  细胞的质量及功能未受影响, 仍具有正常的葡萄糖代谢和胰岛素敏感性<sup>[52]</sup>。Reaven 等<sup>[53]</sup> 研究也证实, 存在 HTG 的 ApoC3-tg 的小鼠既没有出现胰岛素抵抗, 也没有产生高胰岛素血症, 提示 HTG 不是  $\beta$  细胞功能障碍的独立危险因素。以上结果表明, 在没有胰岛素抵抗的情况下, HTG 不会直接刺激胰岛  $\beta$  细胞质量增大, 而营养过剩导致的胰岛素抵抗状态下, ApoC3 对胰岛  $\beta$  细胞具有代偿作用, 但这种代偿作用在后期是否会加重胰岛  $\beta$  细胞功能损伤, 其确切机制仍需进一步研究明确 (图 2)。

Sol 等<sup>[54]</sup> 研究显示, ApoC3 水平升高后可能通过激活 MAPK p38 和 ERK1/2 来促进生成胰岛素的  $\beta$  细胞发生凋亡。此外, 在暴露于高水平脂肪酸、氧自由基形成和细胞因子的  $\beta$  细胞中可观察到 MAPK 信号的激活, 而这些条件都与  $\beta$  细胞凋亡的增强有关<sup>[55, 56]</sup>。本课题组研究显示, ApoC3 为 miR-383 (在 T2DM 患者血清中低表达) 的靶基因, miR-383 可通过抑制 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 和 ApoC3 基因的表达来缓解高糖诱导的胰岛  $\beta$  细胞的损伤, 同时还可改善高脂饮食诱导的糖尿病小鼠的高血糖及胰岛细胞的凋亡<sup>[43]</sup>。本课题组研究显示, 尽管存在 HTG, ApoC3 转基因小鼠在进食和禁食状态下均保持正常的血糖, 没有胰岛素抵抗和空腹高胰岛素血症<sup>[52]</sup>。ApoC3 转基因小鼠和野生型小鼠  $\beta$  细胞和  $\alpha$  细胞质量相似, 同时胰岛大小和结构也相似<sup>[52]</sup>。

Kozlitina 等<sup>[37]</sup> 研究证实, 在没有高血糖和胰岛素抵抗的情况下, 高甘油三酯水平本身并不是具有 HTG 遗传易感性的人类胰岛  $\beta$  细胞质量损失的致病因素。与之一致的是, 本课题组动物实验结果显示, HTG 并不能作为引发 ApoC3-tg 小鼠  $\beta$  细胞功能障碍的独立因素<sup>[33]</sup>。在体外实验中, Tricò 等<sup>[57]</sup> 观察到小鼠克隆 MIN6  $\beta$  细胞短时间 (24 h) 或长时间 (72 h) 暴露于富含 TG 的 VLDL 后, 高浓度 TG 并未诱导  $\beta$  细胞凋亡, 表明  $\beta$  细胞凋亡不受长时间

高浓度 TG 的影响。此外, 本课题组研究显示, 普遍存在的 HTG 不会加剧高血糖对 β 细胞功能的影响, 也不会加速链脲佐菌素处理的 ApoC3 转基因小鼠中糖尿病的发展<sup>[52]</sup>。这些研究结果表明, 作为降低心血管风险的主要治疗靶点的 HTG 可能不是肥胖和 2 型糖尿病患者保持功能性 β 细胞群的主要靶点。再结合本课题组的研究结果<sup>[52]</sup>, 我们推断 HTG 不是直接导致胰岛 β 细胞功能障碍的主导因素, 但需要认识到的是 HTG 所带来的后续胰岛素

抵抗加重并持续存在的基础上, 可能会诱发或加重 β 细胞功能障碍<sup>[58-61]</sup>。因此, 需要进一步研究以阐明 HTG 是否会加剧高血糖和胰岛素抵抗对 ApoC3 转基因小鼠的 β 细胞质量和功能的有害影响。

#### 4 ApoC3的靶向抑制

ApoC3 主要是通过调节脂解和脂质合成过程来调节血浆 TG 水平。ApoC3 的高表达参与多种脂质相关代谢性疾病的发生、发展, 除本文提及的

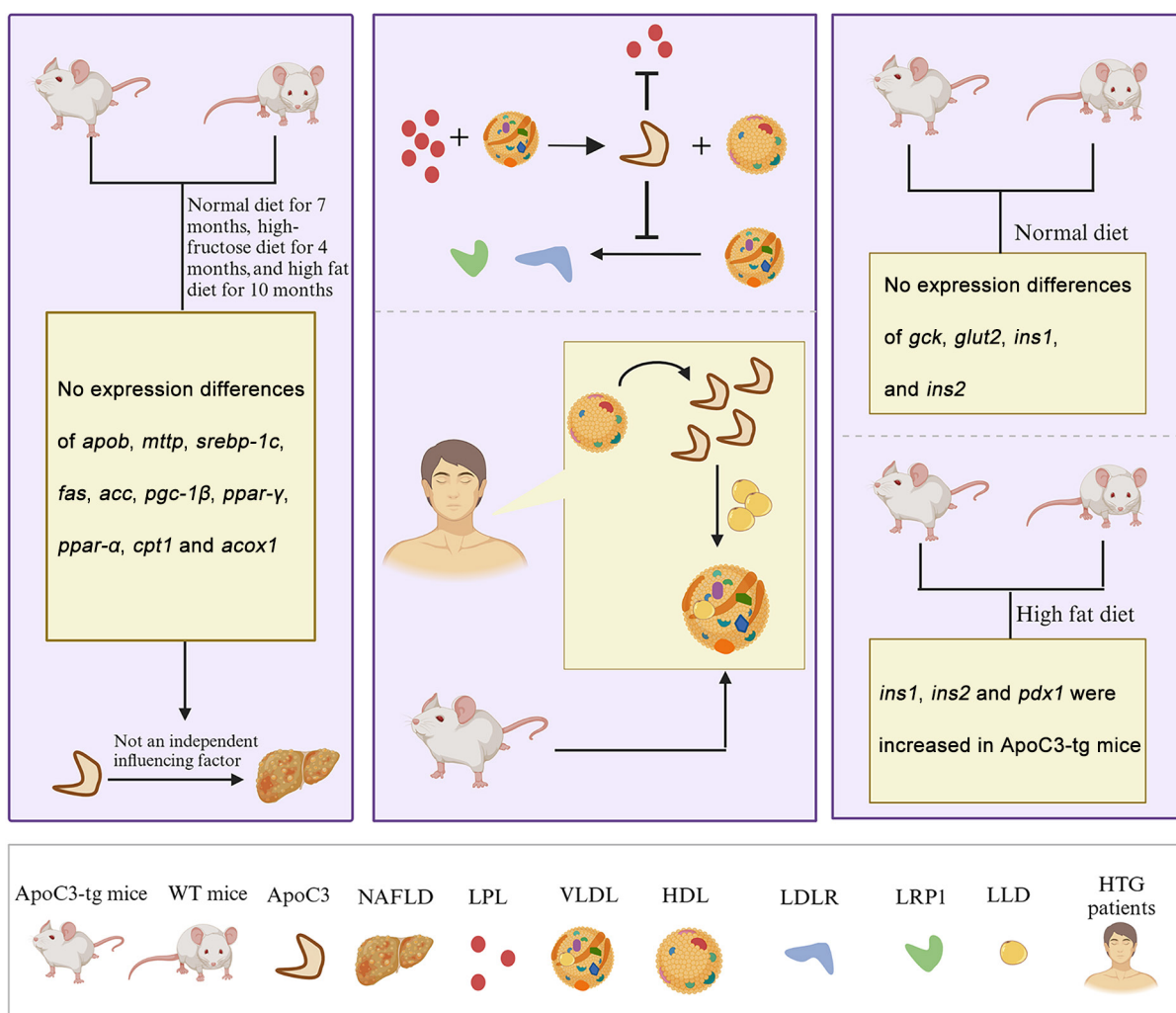


图 2 ApoC3与高甘油三酯血症、非酒精性脂肪肝及β细胞功能之间的关联

Fig. 2. Relationship between ApoC3 and hypertriglyceridemia (HTG), nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD), and β-cell function. *apob*, apolipoproteinb; *mttp*: microsomal triglyceride transfer protein; *srebp-1c*, sterol regulatory element binding protein 1c; *fas*, fatty acid synthase; *acc*, acetyl-CoA carboxylase; *pgc-1β*, peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1β; *ppar-γ*, peroxisome proliferator-activated receptor γ; *ppar-α*, peroxisome proliferator-activated receptor α; *cpt1*, carnitine palmitoyltransferase 1; *acox1*, acyl-CoA oxidase 1; *gck*, glucokinase; *glut2*, glucose transporter 2; *ins1*, insulin 1; *ins2*, insulin 2; ApoC3, apolipoprotein C3; *pdx1*, pancreatic and duodenal homeobox-1; WT, wildtype; LPL, lipoprotein lipase; VLDL, very low-density lipoprotein; HDL, high-density lipoprotein; LDLR, low-density lipoprotein receptor; LRP1, low-density lipoprotein receptor associated protein 1; LLD, luminal lipid droplets.

NAFLD、HTG 以外，动脉粥样硬化的发生、发展也与 ApoC3 密切相关。Kawakami 等<sup>[62]</sup>研究显示，ApoC3 可通过增加单核细胞与血管内皮细胞的黏附来诱发炎症反应，促进动脉粥样硬化的形成，因此靶向抑制 ApoC3 可改善脂质相关代谢性疾病。从现阶段研究来看，反义寡核苷酸 (antisense oligonucleotides, ASO) 是目前较为热门的研究对象。

#### 4.1 ASO对ApoC3的靶向抑制

##### 4.1.1 ASO临床前研究、ASO临床试验及相关不良反应

药效学研究表明，ASO 不仅可以有选择性地结合在 ApoC3 mRNA 的 3' 非翻译区内阻止 ApoC3 基因的翻译，还介导核糖核酸酶 -1 对 ApoC3 的 mRNA 进行降解，实现了非依赖 LPL 的途径来降低血浆 TG 的水平 and 加快机体对 TG 的清除<sup>[63, 64]</sup>。

Graham 等<sup>[65]</sup>通过研究表明，ASO 介导的 ApoC3 抑制在不同品种的啮齿类动物模型及非人灵长类动物模型中可致血浆 TG 和 VLDL 表现出较为明显的降低，同时还显著提高了小鼠和非人灵长动物的餐后 TG 清除率。此外，全身敲除 ApoC3 的小鼠 (低 TG 血症) 服用 ASO 后，其血浆 TG 的水平并未受到影响，表明 ASO 发挥作用依赖于 ApoC3 的存在<sup>[65]</sup>。研究人员还在 HTG 的猴子体内发现，ASO 介导的 ApoC3 抑制似乎提高了 HDL 的表达，而对 LDL 的表达没有影响<sup>[65]</sup>。

基于临床前研究得出的数据，人们开始将 ASO 用于临床试验，以期尽早将其纳入到治疗脂代谢紊乱的药物中。研究人员分别采用双盲、安慰剂对照、剂量递增等多种研究方法对不同血浆 TG 水平的受试者进行 I、II、III 期试验<sup>[65-68]</sup>，结果证实 ASO 在抑制血浆 ApoC3、TG 水平升高中发挥良好药效，但仍有少部分受试者出现了不良反应，例如注射部位出现了轻微的红斑或疼痛、血小板减少、相关血清疾病反应等。

##### 4.1.2 新ASO药物的开发

相较于第 I、II 期试验来看，III 期试验中 ASO 诱发患者出现血小板减少的不良事件引起了人们的关注，对此 Alexander 等<sup>[69]</sup>通过双盲、随机、安慰剂对照和剂量递增的方式进行研究，发现与 volanesorsen 有着相同核苷酸序列的 AKCEA-APOCIII-LRx 也可降低 HTG 患者血浆中 ApoC3 和 TG 的水平，其发挥作用主要是在三触角型 N-乙酰基半乳糖胺 (GalNAc<sub>3</sub>) 的修饰下，靶向抑制肝细胞内的去

唾液酸糖蛋白受体 (asialoglycoprotein receptor, ASGPR) 来完成的。更重要的是，他们还发现 AKCEA-APOCIII-LRx 不仅与 volanesorsen 有相似的疗效，而且使用剂量也比 volanesorsen 低 20~30 倍，安全性和耐受性都较高<sup>[69]</sup>。

#### 4.2 其它治疗

Lee 等<sup>[70]</sup>研究显示，维甲酸受体  $\alpha$  (retinoic acid receptor  $\alpha$ , RAR $\alpha$ ) 特异性激动剂 AM580 主要通过上调 SHP1、下调 HNF4 $\alpha$  的表达来抑制 Hep3B 细胞中 ApoC3 的分泌 (抑制率达 80%)，同时还在高脂饮食诱发的脂肪肝小鼠模型中发现，AM580 通过降低 ApoC3 的转录活性来降低肝脏和血浆中 ApoC3 的表达，此外还观察到 AM580 可有效降低体重、肝脏和血浆 TG 及总胆固醇水平。Yang 等<sup>[71]</sup>用 ox-LDL 处理 L02 细胞，建立脂代谢紊乱模型，发现 ox-LDL 促进了 L02 细胞的脂质累积，并显著增加了 ApoC3 的表达水平，同时外源性表达 STAT3 (主要通过介导生长因子、细胞因子及激素的作用在多种炎症反应通路中发挥关键性作用)<sup>[72]</sup>可使肝细胞内总胆固醇和 TG 含量升高，表明 STAT3 参与了 ApoC3 介导的脂质代谢紊乱。而一种能抑制 ApoC3 启动子活性的天然化合物 ALA 可有效抑制 STAT3 通路中酪氨酸的磷酸化，减少 STAT3 进入细胞核，进而下调 STAT3 的活性，抑制 ApoC3 的表达，并部分降低 ox-LDL 诱导的脂质的累积。Baiyisaiti 等<sup>[73]</sup>将表达 ApoC3 的转基因小鼠作为 HTG 小鼠模型，以 PPAR $\alpha$  激动剂非诺贝特 (fenofibrate, FNB) 作为降低 HTG 的对照药物，研究蔷薇黄酮 (Rosa rugosa flavonoids, RRFs) 对 TG 代谢的影响，结果显示 RRFs 和 FNB 均可降低 ApoC3 转基因小鼠体内 TG 的水平，RRFs 主要通过抑制 ApoC3 的表达，上调 LPL 的活性，促进血浆 TG 的水解，同时增加  $\beta$ -氧化和减少脂类合成来降低肝脏脂质的合成；FNB 则通过抑制 FoxO1，进一步下调其靶基因 ApoC3 的表达来影响 TG 代谢过程。

## 5 结语与展望

综上所述，ApoC3 在 NAFLD、糖脂代谢及调节胰岛  $\beta$  功能作用的研究中仍存在争议。作为 TG 代谢的重要调控因子，尽管 ApoC3 抑制剂的目标是抗 HTG 治疗以降低心血管风险，但在已确诊的 NAFLD 患者中应用此类治疗时必须谨慎。鉴于其在促进 VLDL-TG 组装和分泌方面的细胞内作用，

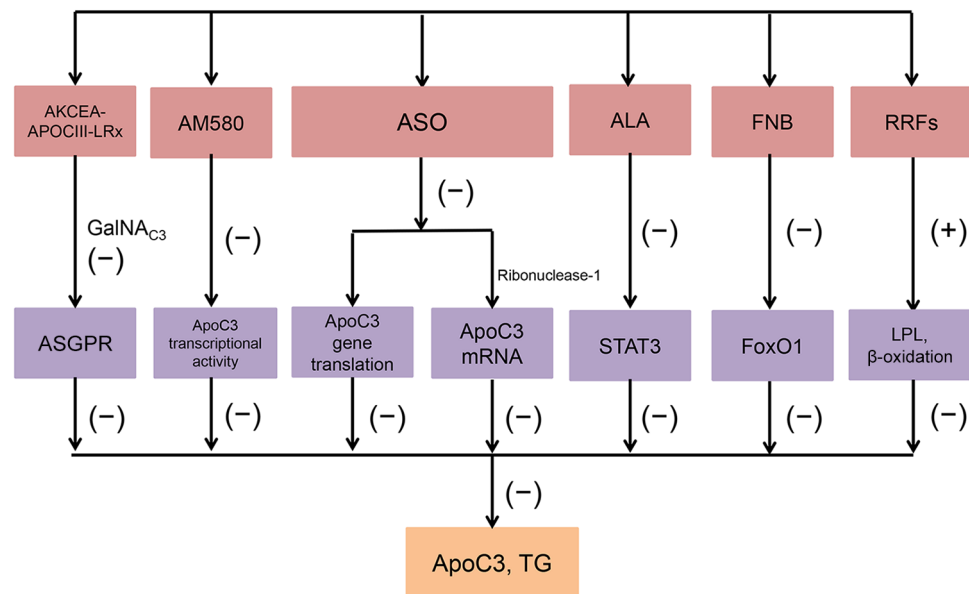


图 3. 以ApoC3为靶向抑制的药物作用机制图  
Fig. 3. The mechanism diagram of ApoC3 inhibitors. +: promotion effect; -, inhibition effect. ASO, antisense oligonucleotides; ALA, alantolactone; FNB, fenofibrate; RRFs, Rosa rugosa flavonoids; GalNAc<sub>3</sub>, triantennary N-acetyl galactosamine; ASGPR, asialoglycoprotein receptor; ApoC3, apolipoprotein C3; STAT3, transducer and activator of transcription 3; FoxO1, forkhead box protein O1; LPL, lipoprotein lipase; TG, triglycerides.

ApoC3 可能是 NAFLD 治疗干预的不良目标，选择性的 ApoC3 抑制可能会损害肝脏 VLDL-TG 的分泌，导致肝脏过多的脂肪堆积。事实上，在 ApoC3 基因敲除小鼠的高脂饮食诱导的研究中，由于缺乏 ApoC3 依赖性的 LPL 活性的减弱，确实显著增加了发生肥胖和胰岛素抵抗的倾向<sup>[74]</sup>，因此，需要进一步的研究来确定用于降低血浆 TG 水平的慢性 ApoC3 抑制剂是否与发生 NAFLD 的风险增加有关。

本研究组前期研究显示，HTG 并不能作为引发 ApoC3 转基因小鼠 β 细胞功能障碍的独立因素，但在胰岛素抵抗存在时，ApoC3 对胰岛 β 细胞具有代偿作用，导致胰岛 β 细胞数量增加和胰岛体积增大，但其可能机制仍需进一步明确<sup>[33, 52]</sup>。因此，我们不能排除在营养过剩状态下，ApoC3 高表达所引发的 HTG 可能会加剧高血糖和胰岛素抵抗对胰岛 β 细胞功能的有害影响，由此产生的组合效应称为“糖脂毒性”，会引发胰岛 β 细胞氧化应激并导致 2 型糖尿病中的胰岛 β 细胞功能的变化，其可能的作用机制有待我们深入探讨。

参考文献

1

D’Erasmio L, Di Costanzo A, Gallo A, Bruckert E, Arca M. ApoCIII: A multifaceted protein in cardiometabolic disease. *Metabolism* 2020; 113: 154395.

2

Garenc C, Aubert S, Laroche J, Girouard J, Vohl MC, Bergeron J, Rousseau F, Julien P. Population prevalence of APOE, APOC3 and PPAR-alpha mutations associated to hypertriglyceridemia in French Canadians. *J Hum Genet* 2004; 49(12): 691–700.

3

Norata GD, Tsimikas S, Pirillo A, Catapano AL. Apolipoprotein C-III: From pathophysiology to pharmacology. *Trends Pharmacol Sci* 2015; 36(10): 675–687.

4

Xu QY, Li H, Cao HX, Pan Q, Fan JG. APOC3 rs2070667 associates with serum triglyceride profile and hepatic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease. *Biomed Res Int* 2020; 2020: 8869674.

5

Xiao C, Hsieh J, Adeli K, Lewis GF. Gut-liver interaction in triglyceride-rich lipoprotein metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011; 301(3): E429–E446.

6

Shachter NS. Apolipoproteins C-I and C-III as important modulators of lipoprotein metabolism. *Curr Opin Lipidol* 2001; 12(3): 297–304.

7

Wolska A, Dunbar RL, Freeman LA, Ueda M, Amar MJ, Sviridov DO, Remaley AT. Apolipoprotein C-II: New findings related to genetics, biochemistry, and role in triglyceride metabolism. *Atherosclerosis* 2017; 267: 49–60.

8

Borén J, Packard CJ, Taskinen MR. The roles of ApoC-III on the metabolism of triglyceride-rich lipoproteins in humans. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2020; 11: 474.

- 9 Malalla ZH, Al-Serri AE, AlAskar HM, Al-Kandari WY, Al-Bustan SA. Sequence analysis and variant identification at the APOC3 gene locus indicates association of rs5218 with BMI in a sample of Kuwaiti's. *Lipids Health Dis* 2019; 18(1): 224.
- 10 Meyers NL, Larsson M, Vorrjö E, Olivecrona G, Small DM. Aromatic residues in the C terminus of apolipoprotein C-III mediate lipid binding and LPL inhibition. *J Lipid Res* 2017; 58(5): 840–852.
- 11 Taskinen MR. Diabetic dyslipidaemia: from basic research to clinical practice. *Diabetologia* 2003; 46(6): 733–749.
- 12 Basu D, Bornfeldt KE. Hypertriglyceridemia and atherosclerosis: Using human research to guide mechanistic studies in animal models. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2020; 11: 504.
- 13 Kristensen KK, Leth-Espensen KZ, Mertens HDT, Birrane G, Meiyappan M, Olivecrona G, Jørgensen TJD, Young SG, Ploug M. Unfolding of monomeric lipoprotein lipase by ANGPTL4: Insight into the regulation of plasma triglyceride metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020; 117(8): 4337–4346.
- 14 Morita SY. Metabolism and modification of apolipoprotein B-containing lipoproteins involved in dyslipidemia and atherosclerosis. *Biol Pharm Bull* 2016; 39(1): 1–24.
- 15 Weber C, Noels H. Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options. *Nat Med* 2011; 17(11): 1410–1422.
- 16 ACCORD Study Group; Ginsberg HN, Elam MB, Lovato LC, Crouse JR 3rd, Leiter LA, Linz P, Friedewald WT, Buse JB, Gerstein HC, Probstfield J, Grimm RH, Ismail-Beigi F, Bigger JT, Goff DC Jr, Cushman WC, Simons-Morton DG, Byington RP. Effects of combination lipid therapy in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2010; 362(17): 1563–1574.
- 17 Keech A, Simes RJ, Barter P, Best J, Scott R, Taskinen MR, Forder P, Pillai A, Davis T, Glasziou P, Drury P, Kesäniemi YA, Sullivan D, Hunt D, Colman P, d'Emden M, Whiting M, Ehnholm C, Laakso M; FIELD study investigators. Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in 9795 people with type 2 diabetes mellitus (the FIELD study): Randomised controlled trial. *Lancet* 2005; 366(9500): 1849–1861.
- 18 Koskinen P, Mänttari M, Manninen V, Huttunen JK, Heinonen OP, Frick MH. Coronary heart disease incidence in NIDDM patients in the Helsinki Heart Study. *Diabetes Care* 1992; 15(7): 820–825.
- 19 Rubins HB, Robins SJ, Collins D, Fye CL, Anderson JW, Elam MB, Faas FH, Linares E, Schaefer EJ, Schectman G, Wilt TJ, Wittes J. Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high-density lipoprotein cholesterol. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group. *N Engl J Med* 1999; 341(6): 410–418.
- 20 Scott R, O'Brien R, Fulcher G, Pardy C, D'Emden M, Tse D, Taskinen MR, Ehnholm C, Keech A; Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes (FIELD) Study Investigators. Effects of fenofibrate treatment on cardiovascular disease risk in 9,795 individuals with type 2 diabetes and various components of the metabolic syndrome: the Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes (FIELD) study. *Diabetes Care* 2009; 32(3): 493–498.
- 21 Petersen KF, Dufour S, Hariri A, Nelson-Williams C, Foon JN, Zhang XM, Dziura J, Lifton RP, Shulman GI. Apolipoprotein C3 gene variants in nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2010; 362(12): 1082–1089.
- 22 Chhabra S, Narang R, Krishnan LR, Vasisht S, Agarwal DP, Srivastava LM, Manchanda SC, Das N. Apolipoprotein C3 SstI polymorphism and triglyceride levels in Asian Indians. *BMC Genet* 2002; 3: 9.
- 23 Bai W, Kou C, Zhang L, You Y, Yu W, Hua W, Li Y, Yu Y, Zhao T, Wu Y. Functional polymorphisms of the APOA1/C3/A4/A5-ZPR1-BUD13 gene cluster are associated with dyslipidemia in a sex-specific pattern. *PeerJ* 2019; 6: e6175.
- 24 Ito Y, Azrolan N, O'Connell A, Walsh A, Breslow JL. Hypertriglyceridemia as a result of human apo CIII gene expression in transgenic mice. *Science* 1990; 249(4970): 790–793.
- 25 Cohn JS, Patterson BW, Uffelman KD, Davignon J, Steiner G. Rate of production of plasma and very-low-density lipoprotein (VLDL) apolipoprotein C-III is strongly related to the concentration and level of production of VLDL triglyceride in male subjects with different body weights and levels of insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(8): 3949–3955.
- 26 Ebara T, Ramakrishnan R, Steiner G, Shachter NS. Chylomicronemia due to apolipoprotein CIII overexpression in apolipoprotein E-null mice. Apolipoprotein CIII-induced hypertriglyceridemia is not mediated by effects on apolipoprotein E. *J Clin Invest* 1997; 99(11): 2672–2681.
- 27 Wang CS, McConathy WJ, Kloer HU, Alaupovic P. Modulation of lipoprotein lipase activity by apolipoproteins. Effect of apolipoprotein C-III. *J Clin Invest* 1985; 75(2): 384–390.
- 28 McConathy WJ, Gesquiere JC, Bass H, Tartar A, Fruchart JC, Wang CS. Inhibition of lipoprotein lipase activity by synthetic peptides of apolipoprotein C-III. *J Lipid Res* 1992; 33(7): 995–1003.
- 29 Kinnunen PK, Ehnolm C. Effect of serum and C-apoproteins from very low density lipoproteins on human postheparin plasma hepatic lipase. *FEBS Lett* 1976; 65(3): 354–357.
- 30 Yao Z. Human apolipoprotein C-III - a new intrahepatic protein factor promoting assembly and secretion of very low

- density lipoproteins. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 2012; 12(2): 133–140.
- 31 Qin W, Sundaram M, Wang Y, Zhou H, Zhong S, Chang CC, Manhas S, Yao EF, Parks RJ, McFie PJ, Stone SJ, Jiang ZG, Wang C, Figeys D, Jia W, Yao Z. Missense mutation in APOC3 within the C-terminal lipid binding domain of human ApoC-III results in impaired assembly and secretion of triacylglycerol-rich very low density lipoproteins: evidence that ApoC-III plays a major role in the formation of lipid precursors within the microsomal lumen. *J Biol Chem* 2011; 286(31): 27769–27780.
- 32 Sundaram M, Zhong S, Bou Khalil M, Zhou H, Jiang ZG, Zhao Y, Iqbal J, Hussain MM, Figeys D, Wang Y, Yao Z. Functional analysis of the missense APOC3 mutation Ala23Thr associated with human hypotriglyceridemia. *J Lipid Res* 2010; 51(6): 1524–1534.
- 33 Cheng X, Yamauchi J, Lee S, Zhang T, Gong Z, Muzumdar R, Qu S, Dong HH. APOC3 protein is not a predisposing factor for fat-induced nonalcoholic fatty liver disease in mice. *J Biol Chem* 2017; 292(9): 3692–3705.
- 34 Ginsberg HN, Fisher EA. The ever-expanding role of degradation in the regulation of apolipoprotein B metabolism. *J Lipid Res* 2009; 50 Suppl(Suppl): S162–S166.
- 35 Ramms B, Gordts PLSM. Apolipoprotein C-III in triglyceride-rich lipoprotein metabolism. *Curr Opin Lipidol* 2018; 29(3): 171–179.
- 36 Sacks FM. The crucial roles of apolipoproteins E and C-III in apoB lipoprotein metabolism in normolipidemia and hypertriglyceridemia. *Curr Opin Lipidol* 2015; 26(1): 56–63.
- 37 Kozlitina J, Boerwinkle E, Cohen JC, Hobbs HH. Dissociation between APOC3 variants, hepatic triglyceride content and insulin resistance. *Hepatology* 2011; 53(2): 467–474.
- 38 Song XC (宋晓超), Song CL, Fan L, Ma QH, Mao JL, Xu WX, Li XL. Association of single nucleotide polymorphism of SIRT1 and APOC3 with nonalcoholic fatty liver disease. *J Hyg Res (卫生研究)* 2017; 46(4): 527–532 (in Chinese).
- 39 Puppala J, Bhrugumalla S, Kumar A, Siddapuram SP, Viswa PD, Kondawar M, Akka J, Munshi A. Apolipoprotein C3 gene polymorphisms in Southern Indian patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Indian J Gastroenterol* 2014; 33(6): 524–529.
- 40 Tong M, Wang F. APOC3rs2854116, PNPLA3rs738409, and TM6SF2rs58542926 polymorphisms might influence predisposition of NAFLD: A meta-analysis. *IUBMB Life* 2020; 72(8): 1757–1764.
- 41 Jain V, Kumar A, Ahmad N, Jana M, Kalaivani M, Kumar B, Shastri S, Jain O, Kabra M. Genetic polymorphisms associated with obesity and non-alcoholic fatty liver disease in Asian Indian adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2019; 32(7): 749–758.
- 42 Lee HY, Birkenfeld AL, Jornayvaz FR, Jurczak MJ, Kanda S, Popov V, Frederick DW, Zhang D, Guigni B, Bharadwaj KG, Choi CS, Goldberg IJ, Park JH, Petersen KF, Samuel VT, Shulman GI. Apolipoprotein CIII overexpressing mice are predisposed to diet-induced hepatic steatosis and hepatic insulin resistance. *Hepatology* 2011; 54(5): 1650–1660.
- 43 Cheng X, Huang Y, Yang P, Bu L. miR-383 ameliorates high glucose-induced β-cells apoptosis and hyperglycemia in high-fat induced diabetic mice. *Life Sci* 2020; 263: 118571.
- 44 Altomonte J, Cong L, Harbaran S, Richter A, Xu J, Meseck M, Dong HH. Foxo1 mediates insulin action on apoC-III and triglyceride metabolism. *J Clin Invest* 2004; 114(10): 1493–1503.
- 45 Hertz R, Bishara-Shieban J, Bar-Tana J. Mode of action of peroxisome proliferators as hypolipidemic drugs. Suppression of apolipoprotein C-III. *J Biol Chem* 1995; 270(22): 13470–13475.
- 46 Claudel T, Inoue Y, Barbier O, Duran-Sandoval D, Kosykh V, Fruchart J, Fruchart JC, Gonzalez FJ, Staels B. Farnesoid X receptor agonists suppress hepatic apolipoprotein CIII expression. *Gastroenterology* 2003; 125(2): 544–555.
- 47 Caron S, Verrijken A, Mertens I, Samanez CH, Mautino G, Haas JT, Duran-Sandoval D, Prawitt J, Francque S, Vallez E, Muhr-Tailleux A, Berard I, Kuipers F, Kuivenhoven JA, Biddinger SB, Taskinen MR, Van Gaal L, Staels B. Transcriptional activation of apolipoprotein CIII expression by glucose may contribute to diabetic dyslipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31(3): 513–519.
- 48 Nakae J, Biggs WH 3rd, Kitamura T, Cavenee WK, Wright CV, Arden KC, Accili D. Regulation of insulin action and pancreatic beta-cell function by mutated alleles of the gene encoding forkhead transcription factor Foxo1. *Nat Genet* 2002; 32(2): 245–253.
- 49 Martinez SC, Cras-Méneur C, Bernal-Mizrachi E, Permutt MA. Glucose regulates Foxo1 through insulin receptor signaling in the pancreatic islet beta-cell. *Diabetes* 2006; 55(6): 1581–1591.
- 50 Kamagate A, Qu S, Perdomo G, Su D, Kim DH, Slusher S, Meseck M, Dong HH. FoxO1 mediates insulin-dependent regulation of hepatic VLDL production in mice. *J Clin Invest* 2008; 118(6): 2347–2364.
- 51 Åvall K, Ali Y, Leibiger IB, Leibiger B, Moede T, Paschen M, Dicker A, Daré E, Köhler M, Ilegems E, Abdulreda MH, Graham M, Crooke RM, Tay VS, Refai E, Nilsson SK, Jacob S, Selander L, Berggren PO, Juntti-Berggren L. Apolipoprotein CIII links islet insulin resistance to β-cell failure in diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015; 112(20): E2611–E2619.
- 52 Liu YZ, Cheng X, Zhang T, Lee S, Yamauchi J, Xiao X,

- Gittes G, Qu S, Jiang CL, Dong HH. Effect of hypertriglyceridemia on beta cell mass and function in ApoC3 transgenic mice. *J Biol Chem* 2016; 291(28): 14695–14705.
- 53 Reaven GM, Mondon CE, Chen YD, Breslow JL. Hypertriglyceridemic mice transgenic for the human apolipoprotein C-III gene are neither insulin resistant nor hyperinsulinemic. *J Lipid Res* 1994; 35(5): 820–824.
- 54 Sol EM, Sundsten T, Bergsten P. Role of MAPK in apolipoprotein CIII-induced apoptosis in INS-1E cells. *Lipids Health Dis* 2009; 8: 3.
- 55 Larsen L, Størling J, Darville M, Eizirik DL, Bonny C, Billestrup N, Mandrup-Poulsen T. Extracellular signal-regulated kinase is essential for interleukin-1-induced and nuclear factor kappaB-mediated gene expression in insulin-producing INS-1E cells. *Diabetologia* 2005; 48(12): 2582–2590.
- 56 Cai Y, Martens GA, Hinke SA, Heimberg H, Pipeleers D, Van de Casteele M. Increased oxygen radical formation and mitochondrial dysfunction mediate beta cell apoptosis under conditions of AMP-activated protein kinase stimulation. *Free Radic Biol Med* 2007; 42(1): 64–78.
- 57 Tricò D, Mengozzi A, Baldi S, Bizzotto R, Olaniru O, Toczyska K, Huang GC, Seghieri M, Frascerra S, Amiel SA, Persaud S, Jones P, Mari A, Natali A. Lipid-induced glucose intolerance is driven by impaired glucose kinetics and insulin metabolism in healthy individuals. *Metabolism* 2022; 134: 155247.
- 58 Robertson RP. Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet beta cells in diabetes. *J Biol Chem* 2004; 279(41): 42351–42354.
- 59 Malhotra JD, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious cycle or a double-edged sword? *Antioxid Redox Signal* 2007; 9(12): 2277–2293.
- 60 Poitout V, Robertson RP. Glucolipotoxicity: fuel excess and beta-cell dysfunction. *Endocr Rev* 2008; 29(3): 351–366.
- 61 Meares GP, Fontanilla D, Broniowska KA, Andreone T, Lancaster JR Jr, Corbett JA. Differential responses of pancreatic  $\beta$ -cells to ROS and RNS. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013; 304(6): E614–E622.
- 62 Kawakami A, Aikawa M, Nitta N, Yoshida M, Libby P, Sacks FM. Apolipoprotein CIII-induced THP-1 cell adhesion to endothelial cells involves pertussis toxin-sensitive G protein- and protein kinase C  $\alpha$ -mediated nuclear factor-kappaB activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27(1): 219–225.
- 63 Hanssen R, Gouni-Berthold I. Antisense oligonucleotides for the treatment of hypertriglyceridemia and hyperlipoproteinemia(a). *Curr Pharmacol Rep* 2017; 3(6): 458–468.
- 64 Paik J, Duggan S. Volanesorsen: First global approval. *Drugs* 2019; 79(12): 1349–1354.
- 65 Graham MJ, Lee RG, Bell TA 3rd, Fu W, Mullick AE, Alexander VJ, Singleton W, Viney N, Geary R, Su J, Baker BF, Burkey J, Crooke ST, Crooke RM. Antisense oligonucleotide inhibition of apolipoprotein C-III reduces plasma triglycerides in rodents, nonhuman primates, and humans. *Circ Res* 2013; 112(11): 1479–1490.
- 66 Gaudet D, Brisson D, Tremblay K, Alexander VJ, Singleton W, Hughes SG, Geary RS, Baker BF, Graham MJ, Crooke RM, Witztum JL. Targeting APOC3 in the familial chylomicronemia syndrome. *N Engl J Med* 2014; 371(23): 2200–2206.
- 67 Gaudet D, Alexander VJ, Baker BF, Brisson D, Tremblay K, Singleton W, Geary RS, Hughes SG, Viney NJ, Graham MJ, Crooke RM, Witztum JL, Brunzell JD, Kastelein JJ. Antisense inhibition of apolipoprotein C-III in patients with hypertriglyceridemia. *N Engl J Med* 2015; 373(5): 438–447.
- 68 Witztum JL, Gaudet D, Freedman SD, Alexander VJ, Digenio A, Williams KR, Yang Q, Hughes SG, Geary RS, Arca M, Stroes ESG, Bergeron J, Soran H, Civeira F, Hemphill L, Tsimikas S, Blom DJ, O'Dea L, Bruckert E. Volanesorsen and triglyceride levels in familial chylomicronemia syndrome. *N Engl J Med* 2019; 381(6): 531–542.
- 69 Alexander VJ, Xia S, Hurh E, Hughes SG, O'Dea L, Geary RS, Witztum JL, Tsimikas S. N-acetyl galactosamine-conjugated antisense drug to APOC3 mRNA, triglycerides and atherogenic lipoprotein levels. *Eur Heart J* 2019; 40(33): 2785–2796.
- 70 Lee SJ, Mahankali M, Bitar A, Zou H, Chao E, Nguyen H, Gonzalez J, Caballero D, Hull M, Wang D, Schultz PG, Shen W. A novel role for RAR $\alpha$  agonists as apolipoprotein CIII Inhibitors identified from high throughput screening. *Sci Rep* 2017; 7(1): 5824.
- 71 Yang M, Zhao H, Ai H, Zhu H, Wang S, Bao Y, Li Y. Alantolactone suppresses APOC3 expression and alters lipid homeostasis in L02 liver cells. *Eur J Pharmacol* 2018; 828: 60–66.
- 72 Wang R, Zhang Y, Xu L, Lin Y, Yang X, Bai L, Chen Y, Zhao S, Fan J, Cheng X, Liu E. Protein inhibitor of activated STAT3 suppresses oxidized LDL-induced cell responses during atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Sci Rep* 2016; 6: 36790.
- 73 Baiyisaiti A, Wang Y, Zhang X, Chen W, Qi R. Rosa rugosa flavonoids exhibited PPAR $\alpha$  agonist-like effects on genetic severe hypertriglyceridemia of mice. *J Ethnopharmacol* 2019; 240: 111952.
- 74 Duivenvoorden I, Teusink B, Rensen PC, Romijn JA, Havekes LM, Voshol PJ. Apolipoprotein C3 deficiency results in diet-induced obesity and aggravated insulin resistance in mice. *Diabetes* 2005; 54(3): 664–671.