

# APOLİPOPROTEİN J: YAPISAL ÖZELLİKLERİ, TİPLERİ VE FONKSİYONLARI

Hüray İŞLEKEL, Banu ÖNVURAL

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı

## ÖZET

*Apolipoprotein J (apo J) biyolojik sıvılarda ve dokularda yaygın olarak bulunan, salgısal bir glikoproteindir. Lipid transportu, kompleman fonksiyon düzenlenmesi, sperm maturasyonu, programlı hücre ölümü, gibi pek çok fizyolojik işleve katılması yanısıra ateroskleroz, Alzheimer gibi hastalıklar ile de ilişkili bulunmaktadır. Doku hasarına yanıt olarak, dokularda ve biyolojik sıvı bölüklerini kaplayan epitel yüzeylerde apo J geninin uyarılabilmesi nedeniyle sınırları hasardan korumak üzere görevli bir onarım yanıt proteini olduğu düşünülmektedir. Molekül ağırlığı 70-80 kDa olan insan apo J'si disulfid bağlı iki subüniteli (apo J  $\alpha$  ve apo J  $\beta$ ) bir heterodimerdir. Plazma ve trombosit olmak üzere iki tipi bulunmaktadır. Fonksiyonu tam olarak anlaşılammış olmasına karşın bir hücre ölüm belirteci olduğu kabul edilmektedir. Bu derlemede henüz yeni keşfedilen bu proteinin yapısal ve fonksiyonel özellikleri yeni bilgiler ışığında ele alınmıştır.*

**Anahtar sözcükler:** Apolipoprotein J, klasterin, kompleman lizis inhibitörü, doku hasar yanıt proteini, hücre ölüm belirteci

## SUMMARY

*Apolipoprotein J (apo J) is an abundant secreted glycoprotein found in most biological fluids and tissues. Besides its contribution to physiological processes including lipid transport, regulation of complement function, programmed cell death, sperm maturation, apo J is found to be associated with chronic degenerative diseases such as atherosclerosis and Alzheimer. The inducibility of apo J gene in response to tissue damage at epithelial barriers between tissues and biologically active fluids, suggests that apo J functions as a repair response protein protecting the barriers from damage. Human apo J is a 70-80 kDa disulphide-linked heterodimer with two subunits. The two major types of apo J are plasma and trombocyte apo J. In this paper, the structural and functional properties of this novel protein will be reviewed considering new data.*

**Key words:** Apolipoprotein J, clusterin, complement lysis inhibitor, repair response protein, programmed cell death marker

Apolipoprotein J (apo J) kan, beyin omurilik sıvısı, idrar, seminal sıvı, süt, vitroz sıvı gibi biyolojik sıvılarda bulunan sekretuar bir glikoproteindir (1,2). Son on yıl içinde keşfedilen apo J proteini bir çok araştırmacı tarafından saflaştırılmış ve çeşitli biyokimyasal özellikleri nedeniyle bir çok şekilde isimlendirilmiştir. Clusterin, complement lysis inhibitor, CLI; sulfated glycoprotein 2, SGP-2; SP-40,40; testosteron-repressed prostatic messenger 2, TRPM-2; gp-III apo J nin eşanlamlısı olarak kullanılan isimlerdir (3).

## Apo J Yapısal Özellikleri

Molekül ağırlığı 70-80 kDa olan insan plazma apo J'si disulfid bağlı bir heterodimerdir. Bir preproprotein olarak sentezlenen apo J proteini, apo J signal peptidin ayrılmasının ardından apo J  $\alpha$  (34-36 kDa) ve apo J  $\beta$  (36-39 kDa) olmak üzere iki subüniteye ayrılmaktadır. Bu subünitelerin gösterdikleri yük heterojeniteleri nedeniyle pl değerleri 4.9-5.4'dür (4). Her subünite amfipatik sarmal bölgelerden meydana gelmektedir ve ağırlığının %30'u kadar N-bağlı karbonhidrat

içerir. İki subunitte sistein kalıntıları aracılığı ile oluşan beş disulfid köprüsü aracılığı ile çaprazlaşır. Apo J proteini hidrofobik moleküllerle etkileşime girme kapasitesine sahiptir. Bu nedenle protein kanda HDL ve VHDL yapısındaki lipid ve apo A1 ile sıkı bir etkileşim içinde bulunmaktadır. Northern blotting analizleri birçok yetişkin ve embrionik dokunun apo J mRNA içerdiğini göstermekteyse de, insitu hibridizasyon çalışmaları dokularda sadece özel hücre subpopulasyonlarında eksprese edildiklerini ortaya koymaktadır (2,5,6). Bu hücreler sıklıkla sıvı içeren boşlukları çevreleyen epitel hücreleri olup, ya salgı yaparlar ya da ekstrasellüler boşluğun yüzey-aktif bileşenleri ile temas halindedirler (5).

Apo J genetik bir polimorfizm göstermektedir. İzoelektrik foküsleme ile en fazla bulunan iki apo J alleli (APO J\* 1, APO J\* 2) tanımlanmıştır. Allel polimorfizmi Afrika kökenli kişilerde daha fazla görülmektedir. APOJ 1\* sıklığı 0,75, APOJ 2\* ise 0,25 dir. Amerikalı zencilerde de nadir olarak tek allel APOJ\*3 bulunduğu bildirilmiştir (4).

#### **Kandaki Apo J Tipleri ve Fonksiyonları**

Kanda apo J başlıca plazma ve trombositlerde bulunmaktadır. Plazmada apo J'nin en önemli kaynağı yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) ve çok yüksek dansiteli lipoprotein (VHDL) lerdir. Bu lipoproteinlerle olan ilişkisi apo J'nin lipid metabolizmasındaki rolünü ortaya koymaktadır. Plazma apo J lipoproteinleri HDL<sub>2</sub> ve HDL<sub>3</sub>+VHDL tipleri arasında (1,16-1,25 g/ml yoğunluk aralığında) dağılım gösteren yuvarlak partiküllerdir. Apo-J içeren lipoproteinler lipidden oldukça fakirdir. Yapısında %78-89 protein içerirken lipid oranı sadece %11-22'dir. Lipidlerin

çoğunluğu fosfolipid ve kolesterol; %11'i trigliseridten oluşmaktadır (7, 8). Temel proteinler apo J ve apo A1'dir. Safılaştırılmış apo J-HDL'de apo J, apo A-1 molar oranı 5:1 dir (9). Apo J ile ilişkili olan apo A-1 plazmadaki total apo A-1 in %2-4 ünü oluşturmaktadır ve apo J'ye noniyonik deterjanlarla ayrılabilir derecede sıkı bağlanmıştır (8).

Apo J içeren HDL partikülleri daha evvel tanımlanmış HDL alt sınıflarından farklıdır. Örneğin apo J-HDL partiküllerinin  $\alpha 2$  elektroforetik mobiliteleri vardır. Oysa plazmadaki HDL nin asıl bölümü  $\alpha 1$  mobilite, minör HDL alt sınıfı da pre $\beta$  mobilite göstermektedir. Bu  $\alpha 2$  lipoproteinlerden apo J-HDL büyüklük ve kompozisyon açısından heterojendir. Denatürasyonsuz gradient jel elektroforezi ile, apo J-HDL'nin yaklaşık eşit miktardaki büyük (>240 Kda ) ve daha küçük (70-90 Kda) partiküllerden oluştuğu gösterilmiştir (4).

Apo J-HDL plazmada kolesterol ester transfer protein (CETP) ile de ilişkili bulunmakla birlikte bu proteinin aktivitesi üzerine etkisinin olmaması ya da çok az olması nedeniyle bu etkileşimin fizyolojik önemi kesin değildir. Bilinen fonksiyonu organofostat insektisit paraoksonu metabolize etmek olan paraoksonazın da özellikle küçük apo J-HDL partikülleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Paraoksonaz'ın apo A-1 ile birlikte apo J'ye direkt olarak bağlandıkları bildirilmiştir. Plazma apo J nin lipoproteinlerle olan ilişkisi yanısıra, terminal kompleman kaskat bileşenleri C5b-9 ile birlikte de izole edilmiştir (4,10). Bu bileşenlerle olan ilişkisi kompleman fonksiyonunda rolleri olduğunu ortaya koymaktadır. In vitro olarak apo J, C5b-7 ile



etkileşime girerek C8 ve C9 un aktivasyonunu ve hücre membranında toplanmasını inhibe eder. Bu nedenle kompleman aracılı sitolizin potansiyel bir inhibitörüdür (11,12). Apo J litik terminal kompleman komplekslerinin hücre membranları üzerinde toplanmasını engellediği için, damar duvarı hasar bölgesinde kompleman aktivasyonunu önlemekte, böylelikle endotel düz kas hücrelerini kompleman atağından koruyabilmektedir (3). Apo J'nin kompleman fonksiyonundaki potansiyel rolü üzerinde yapısal özelliğinin de önemi vardır. Örneğin, dolaşımında bazı pıhtılaşma ve kompleman proteinlerine benzer şekilde disulfid-bağlı heterodimerler şeklinde bulunmaktadır. Ayrıca apo J, özellikle  $\alpha$  subünitesindeki sisteinden zengin yapı (75-98 aminoasid kalıntıları) açısından kompleman bileşenleri C7, C8 ve C9 ile yapısal benzerlik göstermektedir (13-16).

Diğer bir apo J tipi olan trombosit apo J, dolaşımdaki apo J'nin %30-40'ını oluşturmaktadır. Trombosit apo J'nin saflaştırılması ve yapısal özelliklerinin incelenmesi sonucunda, çift sarmal yapısının ve glikozilasyon özelliğinin her iki apo J türünde korunduğu ortaya konmuştur. Ancak apo J belirli doku ve hücre tiplerinde farklı posttranslasyonel glikozilasyona uğramaktadır. Bu nedenle dokuya spesifik glikozillenme söz konusudur; bu da trombosit apo J'nin plazma apo J den ayrılmasını mümkün kılar (4). Ayrıca apo A-1 ile ilişkili olmayışı ile plazma apo-J den ayrılmaktadır. Trombosit içinde apo J alfa granüller içinde depolanır ve trombosit aktivasyonu ile salınır. Apo J düzeyleri ile total kolesterol, trigliserid, LDL kolesterol, apo B ve apo E arasındaki pozitif korelasyon, vasküler hasar

bölgesindeki trombosit aktivasyonunun derecesini yansıtabilir (3,4).

Apo J mRNA'nın hepatositlerdeki yüksek miktarı dolaşımdaki apo J'nin temel kaynağının karaciğer olduğunu düşündürmektedir (13,17). Ayrıca beyin, mide, testis, overler, böbrekler, kalp, dalak, timusda apo J mRNA ekspresyonu gösterilmiştir (14,15). Apo J ekspresyonunun bu denli yaygın doku dağılımı, lipid transportu ve kompleman fonksiyon düzenlenmesi dışında diğer biyolojik fonksiyonlara katılabileceğini göstermektedir. Apo J erkek üreme yollarında testiküler Sertoli hücreleri ve epididimal epitel tarafından salınmaktadır, bu nedenle sperm maturasyonunda da rol oynadığı düşünülmektedir (18). Ayrıca adrenal kromafin hücreleri ve eritrosit membranlarına da bağlanarak hücre-hücre etkileşime de katılmaktadır. Apo J gen transkripsiyonu hasar gören veya yenilenen dokularda geçici olarak hızlanmaktadır. Ayrıca programlı hücre ölümüne giden embriyolojik dokularda, Alzheimer hastalığında hipokampusta, epileptik odaklarda, laktasyon sonrası regrese olan meme bezi duktal epitelinde ve kastrasyondan sonra involüsyon gösteren prostat luminal epitel hücrelerinde hormon çekilmesini takiben apo J düzeyleri belirgin derecede yükselmektedir (19,20).

#### **Apo J Üzerinde Yapılan Son Çalışmalar**

Son yıllarda apo J'nin farklı fonksiyonlarını ortaya koyan çalışmalar yayınlanmıştır. Brown (21) gebeliğin erken dönemlerinde uterusu blastosit implantasyonundan hemen önce ve implantasyondan sonra da bir süre devam eden glandüler epitel tarafından apo J mRNA ekspresyonunu belirlemiş ve apo J ekspresyonunun uterusun blastosit implasyonunu kabulünün bir

belirteci olduğunu ileri sürmüştür.

İki ayrı çalışmada gözde humör aköz dışında retinada da bulunan apo J'nin lokal olarak sentezlendiği ve gözde görme için gerekli olan hidrofobik moleküllerin stabilizasyonu ve doku şekillenmesinde rol oynadıkları sonucuna varılmıştır (22,23).

Sıçanlarda yapılan bir global serebral iskemi çalışmasında immunohistokimyasal olarak beyin dokusunda bol miktarda apo J ve apo E toplandığı gösterilmiştir (24).

Farklı çalışmalarda apo J nin normal kişilerde plazma ve beyin omurilik sıvısında çözünür amiloid beta (sABeta) ile, Alzheimer hastalığında ise serebrovasküler ve parankimal lezyonlarda fibriller amiloid beta ile birlikte çöktüğü gösterilmiştir (25-27). Ayrıca son çalışmalar Alzheimer hastalığında hipokampus ve entorhinal korteksteki piramidal nöronlarda klasterin mRNA artışını, ve senil plaklarda, nörofibriller liflerde klasterin immunoreaktivitesini ortaya koymaktadır (28). Stone, kortikal lezyon oluşturulan farelerde Alzheimer'in başlangıcını engellediği öne sürülen östrojen yerine koyma tedavisi ile apo J mRNA düzeylerinin arttığını göstermiştir (29). Bir immunohistokimyasal çalışma sonucunda apo J'nin nöroprotektif rolü olduğu ve Alzheimer hastalığında bu proteinin düşük hücrel ekspresyonunun nöronal dejenerasyon ve ölümle ilişkili olduğunu ileri sürülmüştür (28).

İnsan aortasında ateroskleroz gelişiminde apo J dağılımını inceleyen bir immunohistokimyasal çalışmada, normal aortada apo J gözlenmezken, intimal kalınlaşması olan ve aterosklerotik lezyonlu aortalarda hem intima hem media

tabakalarında apo J gözlenmiştir. Bu çalışmada aort duvarındaki apo J kaynağının sadece dolaşımdaki apo J olmadığı aynı zamanda aort duvarındaki düz kas hücrelerince oluşturulduğu ve apo J'nin aort duvarından karaciğere kolesterol taşınmasındaki rolü nedeniyle ateroskleroza karşı koruyucu etkisi olduğu öne sürülmüştür (30). Gellisen, köpük hücreleri ile enkübe edilmiş saflaştırılmış apo J'nin, köpük hücrelerinden kolesterol taşınmasına yol açtığını göstermiş ve bu etki ile normal ve patolojik koşullarda kolesterol dengesinin düzenlenmesinde rol oynadığını öne sürmüştür (31).

Apoptozis ile apo J ilişkisini inceleyen birçok çalışma sonucunda, apoptotik hücre ölümlerinde klasterin mRNA ve proteininde gözlenen artış nedeniyle klasterin gen ekspresyonunun apoptotik hücre ölüm belirteci olabileceği belirtilmektedir. Ancak canlı hücrelerde de bildirilen artmış protein ekspresyonu nedeniyle klasterinin apoptozise özgülüğü soru işaretidir. Klasterin alfa zinciri, beta zinciri ve alfa/beta karışık epitoplara karşı oluşturulan poliklonal ve monoklonal antikolar ile yapılan bir çalışma sonucunda apoptotik hücrelerce sentezlenen klasterinin hasarlı dokudaki canlı hücrelerce sentezlenen klasterinden immunolojik olarak ayrılabilceği öne sürülmüştür (32).

Deneysel olarak oluşturulan miyokarditte kalp dokusunda apo J mRNA indüksiyonunun yangısal reaksiyon ve doku hasarından önce başladığı, lezyonun hemen çevresindeki miyositlerde en yüksek düzeyde iken, lezyondan uzaklaştıkça azaldığı gözlemlenmiştir. Böylece apo J'nin diğer birçok dokuda olduğu gibi, miyokarda da doku



hasarını sınırlayan ve doku yenilenmesini hızlandıran bir onarım yanıt proteini olduğu kanıtlanmıştır (33).

### SONUÇ

Sonuç olarak; lipid transportu, kompleman fonksiyon düzenlenmesi, sperm maturasyonu, programlı hücre ölümü, membran yenilenmesi, ateroskleroz, Alzheimer gibi çok çeşitli fizyolojik

ve patolojik olayda rol oynadığı düşünülen apo J'nin doku ve hücre hasarına karşı savunma yanıtına katılan bir gen ürünü olduğu söylenebilir. Hasarlı dokulardaki yüksek üretimi nedeniyle iyi bir "hücre ölüm belirteci" olarak kabul edilen bu apolipoproteinin, olası başka fonksiyonlarının anlaşılması amacıyla araştırmaya açık bir konu olduğu düşüncesindeyiz.

### KAYNAKLAR

1. Jenne DE, Tschopp J. Clusterin: the intriguing guises of a widely expressed glycoprotein. *TIBBS* 1992; 17:154-159.
2. Jordan-Starck TC, Witte DP, Aronow BJ, Harmony JAK. Apolipoprotein J: a membrane policeman? *Curr Opin Lipidol* 1991; 3: 75-85.
3. Tschopp J, Jenne DE, Hertig S, et al. Human megacaryocytes express clusterin and package it without apolipoprotein A-1 alfa granules. *Blood* 1993; 82:118-125.
4. Jenkins SH, Stuart WD, Bottoms LA, Harmony JA. Quantitation of plasma apolipoprotein J *Methods Enzymol* 1996; 263:309-316.
5. Aronow BJ, Lund SP, Brown TL, et al. Apolipoprotein J expression at fluid-tissue interfaces : Potential role in barrier cytoprotection: *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 725-729.
6. Harding MA, Chadwick IJ, Gattone VH, Calvet JP. The SGP-2 gene is developmentally regulated in the mouse kidney and abnormally expressed in collecting duct cysts in polycystic kidney disease. *Devel Biol* 1991; 146:483-490.
7. de Silva HV, Stuart WD, Duvic JR et al. A 70-kDa apolipoprotein designated apoJ is a marker for subclasses of human plasma high density lipoproteins. *J Biol Chem* 1990;256:13240-13247.
8. Jenne DE, Lowin B, Peitsch MC et al. Clusterin (complement lysis inhibitor) forms a high density lipoprotein complex with apolipoprotein A-1 in human plasma. *J Biol Chem* 1991;226: 11030-11036.
9. Stuart WD, Krol B, Jenkins SH, Harmony JAK. Structure and stability of apolipoprotein J-containing high density lipoproteins. *Biochemistry* 1992; 31: 5426-5430.
10. Murphy BF, Kirszbaum L, Walker ID, d' Apice A JF. Sp-40.40 a newly identified normal human serum protein found in the SC5b-9 complex of complement and in the immune deposits in glomerulonephritis. *J Clin Invest* 1988; 81:1858-1864.
11. Choi NH, Mazda T, Tomita M. A serum protein SP-40,40 modulates the formation of membrane attack complex of complement on erythrocytes. *Mol Immunol* 1989; 26:835-840.
12. Murphy BF, Saunders JR, O'Bryan MK et al. Sp-40.40 is an inhibitor of C5b-6 initiated haemolysis; *Int Immunol* 1989; 1: 551-554.
13. Burkey BF, de Silva HV, Harmony JAK. Intracellular processing of apolipoprotein J precursor to the mature heterodimer. *J Lipid Res* 1991; 32:1039-1048.

14. Collard MW, Grixvold MD. Biosynthesis and molecular cloning of sulfated glycoprotein 2 secreted by rat Sertoli cells. *Biochemistry* 1987; 26:3297-3303.
15. de Silva HV, Harmony JAK, Stuart WD, et al. Apolipoprotein J: structure and tissue distribution. *Biochemistry* 1990; 29:5380-5389.
16. Li WH, Tanimura M, Lus CC et al. The apolipoprotein multigene family: biosynthesis, structure, structure-function relationship and evolution. *J Lipid Res* 1988; 29:245-271.
17. Jenkins SH, Stuart WD, Harmany JAK, Kaplan LA. Development of competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for a new apoprotein (J). *Clin Chem* 1990; 36:958-963.
18. Sylvester SR, Skinner MK, Growold MD. A sulfated glycoprotein synthesized by Sertoli cells and epididymal cells is a component of the sperm membrane. *Biol Reprod* 1984; 31:1087-1101.
19. Buttyan R, Osison CA, Pintar et al. Induction of the TRPM-2 gene in cells undergoing programmed death. *Mol Cell Biol* 1989; 9:3473-3481.
20. Patzak A, Winkler H. Exocytotic exposure and recycling of membrane antigens of cromaffin granules: ultrastructural evaluation after immunolabeling. *J Cell Biol* 1986; 102:510-515.
21. Brown IL, Moulton BC, Witte DP et al. Apolipoprotein J/Clusterin expression defines distinct stages of blastocysts implantation in the mouse stens. *Biol Reprod* 1996; 55:740-747.
22. Nishida K, Kawasaki S, Adochi W, Kinoshita S. Apolipoprotein J expression in human ocular surface epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 3:2285-2292.
23. Reeder DJ, Stuart WD, Witte DP, Brown IL, Harmony JA. Local synthesis of apolipoprotein J in the eye. *Exp Eye Res* 1995; 60:495-504.
24. Kida E, Pluta R, Lossinsky AS et al. Complete cerebral ischemia with short-term survival in rat induced by cardiac arrest. Extracellular and intracellular accumulation of apolipoprotein E and J in brain. *Brain Res* 1995; 4: 341-346.
25. Golabek A, Marques MD, Lalowski M, Wisniewski I. Amyloid beta binding protein invitro and in normal human cerebrospinal fluid. *Neurosci Lett* 1995;191:79-82.
26. Matsubara E, Frangione B, Ghiso J. Characterization of apolipoprotein J-Alzheimer's A beta interaction. *J Biol Chem* 1995; 270:563-567.
27. Matsubara E, Soto G, Governale S, et al. Apolipoprotein J and Alzheimer's amyloid beta solubility. *Biochem J* 1996; 316: 6: 1-9.
28. Giannakopoulos P, Kovari E, French LE, Viard I, Hof PR, Bouras C. Possible neuroprotective role of clusterin in Alzheimer's disease: a quantitative immunocytochemical study. *Acta Neuropathol (Berl)* 1998 Apr; 95: 387-394.
29. Stone DJ, Rozovsky I, Morgan TE, Anderson CP, Finch CE. Increased synaptic sprouting in response to estrogen via an apolipoprotein E-dependent mechanism: implications for Alzheimer's disease. *Tissue Cell* 1998 Feb;30:1-13.
30. Ishikawa Y, Akasaka Y, Ishii T, et al. Distribution and synthesis of apolipoprotein J in atherosclerotic aorta. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998 Apr; 18: 665-672.
31. Gellisen IC, Hochgrebe T, Wilson MR, et al. Apolipoprotein J (clusterin) induces cholesterol export from macrophage-foam cells: a potential anti-atherogenic function? *Biochem J* 1998; 331:

- 231-237.
32. Lakins J, Bennett SA, Chen JH, et al. Clusterin biosynthesis is altered during apoptosis in the regressing rat ventral prostate. *J Biol Chem* 1998 Oct 23; 273 : 27887-27895.
33. Swetfeger DK, Witte DP, Stuart WD, et al. Apolipoprotein J/Clusterin induction in myocarditis: A localized response gene to myocardial injury. *Am J Pathol* 1996;148:1971-1983.