ราฟต์ คาวีโอเล และการขนส่งคอเลสเตอรอลภายในเซลล์
Rafts, Caveolae and Intracellular Cholesterol Trafficking

ชัยสิทธิ์ สิทธิเวช*
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
Chaiyasit Sittiwet*
Faculty of Medicine, Mahasarakham University.

บทคัดย่อ

คอเลสเตอรอลเป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์และเป็นสารต้นตอในการสังเคราะห์สเตียรอยด์ฮอร์โมน เซลล์มีกลไกควบคุมการขนส่งคอเลสเตอรอลเข้าออกเซลล์ ซึ่งบริเวณของเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีบทบาทต่อการขนส่งคอเลสเตอรอลเข้าสู่เซลล์นั้นก็มีคอเลสเตอรอลเป็นองค์ประกอบอยู่ทำให้การขนส่งคอเลสเตอรอลเข้าออกเซลล์เป็นสิ่งที่น่าสนใจ เซลล์รับคอเลสเตอรอลส่วนใหญ่จาก LDL ผ่านกลไก receptor mediated endocytosis และเข้าสู่ vesicular pathway (ไลโซโซม) ในขณะที่การรับคอเลสเตอรอลส่วนน้อยจาก HDL จะเกิดผ่านกลไก non-vesicular pathway โดยมีบทบาทของไมโครโดเมน (Microdomain) ที่ผิวเซลล์ ได้แก่ ราฟต์ และคาวีโอเลเข้ามาเกี่ยวข้อง จากการที่คอเลสเตอรอลเองก็เป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ดังนั้นการขนส่งคอเลสเตอรอลภายในเซลล์จากไลโซโซมไปยังออร์กาเนลอื่นๆ รวมทั้งเยื่อหุ้มเซลล์ ย่อมมีการควบคุมกลไกโดยการทำงานของโปรตีน เช่น SCP-2 โปรตีนคาวีโอลิน SRB1 และ StAR เป็นต้น ในขณะที่การขนส่งคอเลสเตอรอลออกจากเซลล์จะเกี่ยวข้องกับโปรตีนคาวีโอลิน SRB1 และ ApoAI

คำสำคัญ : ราฟต์ คาวีโอเล โปรตีนคาวีโอลิน การขนส่งคอเลสเตอรอล ไมโครโดเมน

Abstract

Cholesterol is an important component of cell membrane and precursor of steroid hormones synthesis. Interestingly, cholesterol itself plays the roles in cell membrane microdomains and cholesterol influx and efflux. Cholesterol entered cell via the low –density lipoprotein (LDL) through receptor mediated endocytosis/vesicular pathway (Lysosome) and less amount via high-density lipoprotein (HDL) through non-vesicular pathway. Microdomains, rafts and caveolae are characterized by its cholesterol content which play important roles in intracellular cholesterol transport from lysosome to other organelles involving protein such as SCP-2, caveolin, SRB-1 and StAR while the cholesterol efflux from cell to HDL is mediated via caviolin, SRB1 and ApoAI.

Keywords : rafts, caveolae, caveolin, cholesterol transport, microdomains

***E-mail:** Chaiyasit.s@msu.ac.th

บทนำ

คอเลสเตอรอล (Cholesterol) เป็นสารในกลุ่มสเตียรอล (Sterol) โดยมีโครงสร้างหลักเป็น สเตียรอยด์ (Steroid) และมีหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl group; -OH) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 จึงเรียกคอเลสเตอรอลว่า 3β-hydroxy cholesterol คอเลสเตอรอลมีบทบาทที่สำคัญต่อสิ่งมีชีวิต เนื่องจากเป็นองค์ประกอบสำคัญของเยื่อหุ้มเซลล์และเป็นสารต้นตอในการสังเคราะห์น้ำดี วิตามินดี และสเตียรอยด์ฮอร์โมนต่างๆ

ในผู้ที่ไม่สามารถสังเคราะห์คอเลสเตอรอลได้ เช่น ผู้ที่เป็นโรค Smith-Lemli-Opitz syndrome ซึ่งเป็นโรคพันธุกรรมโดยมีการกลายพันธ์ของยีน *DHCR7* ที่โครโมโซม 11q13 (ในปัจจุบันพบรูปแบบการกลายพันธุ์ของยีนนี้มี 105 แบบ) โดยยีน *DHCR7* เป็นยีนที่ใช้สังเคราะห์เอนไซม์ 3β-hydroxysterol-Δ7- reductase ซึ่งพบในวิถีสังเคราะห์คอเลสเตอรอลทำให้ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์คอเลสเตอรอลได้ (Yu & Patel, 2005) ทำให้เกิดความผิดปกติในส่วนต่างๆ ของร่างกายต่างๆ เช่น desmosterosis, lathosterolosis และกลุ่มอาการที่เรียกว่า Greenberg dysplasia หรือ hydrops-ectopic calcification-moth-eaten skeleton dysplasia (Yu & Patel, 2005) เป็นต้น

ร่างกายได้รับคอเลสเตอรอลมาจาก 2 ทางคือ จากอาหารโดยดูดซึมผ่านลำไส้เล็กมายังระบบน้ำเหลืองและเลือดในรูปของไคโลไมครอน (Chylomicron) และจากเซลล์ตับซึ่งจะสังเคราะห์คอเลสเตอรอลและหลั่งอนุภาคไลโพโปรตีน (Lipoprotein) อีกชนิดหนึ่งคือ VLDL (Very low density lipoprotein) เข้าสู่กระแสเลือดเพื่อขนส่งคอเลสเตอรอลและไขมันอื่นๆ ไปยังเซลล์ต่างๆ ทั่วร่างกาย อย่างไรก็ตามคอเลสเตอรอลส่วนใหญ่ที่เซลล์จะรับมาจากไลโพโปรตีน LDL (Low density lipoprotein) โดยกลไกที่เรียกว่า เอนโดไซโตซิส (Endocytosis) แต่ก็ยังมีกลไกอื่นๆ อีก เช่น การแพร่แบบ spontaneous diffusion ราฟต์ คาวีโอเล และ reverse cholesterol transport ดังรูปที่ 1

เอนโดไซโตซิส (Endocytosis)

คอเลสเตอรอลส่วนใหญ่ที่เซลล์ได้รับมาจากสารอาหารและส่วนน้อยจากการสังเคราะห์ที่ขึ้นเซลล์ตับ รวมทั้งได้รับจาก LDL ผ่านสื่อสัญญาณของ LDL-receptor โดยกลไก clathrin-coated pits และ lysosomal vesicular pathway ซึ่งกลไกนี้เซลล์จะส่งลิพิดที่เดิมเป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์กลับคืนไปโดยวิถี membrane lipid recycle ซึ่งใช้เวลาประมาณ 1-2 นาที ในขณะที่โปรตีนที่เยื่อหุ้มเซลล์เช่น LDL-receptor และ clathrin protein จะถูกนำกลับมาใช้ใหม่หรือสังเคราะห์ขึ้นใหม่ด้วยวิถี protein recycle ซึ่งใช้เวลาประมาณ 18-24 นาที ดังนั้นลิพิดและโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์จะไม่รวมตัวกับไลโซโซม ดังภาพที่ 1

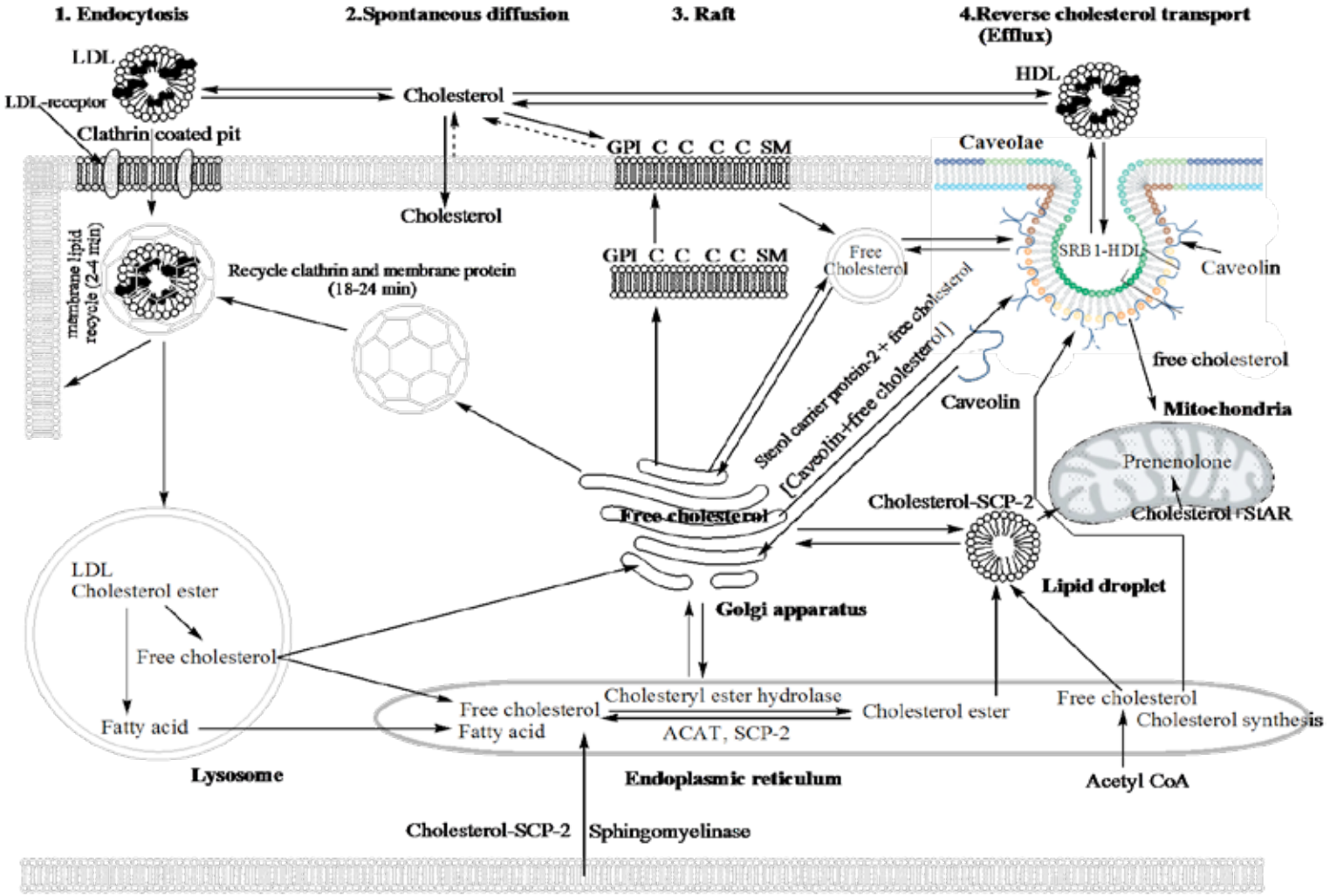
คอเลสเตอรอลที่เข้าสู่ไลโซโซมจะอยู่ในรูปคอเลสเตอรอลเอสเทอร์เท่านั้น ดังนั้นคอเลสเตอรอลเสรี (Free cholesterol) ที่ได้จาก LDL จะถูกส่งกลับเข้าสู่เยื่อหุ้มเซลล์ด้วยวิถี membrane lipid recycle การเดินทางของ LDL-cholesterol เข้าสู่เซลล์ด้วยวิถีเอนโดไซโตซิสและรวมตัวกับไลโซโซมใช้เวลาทั้งหมด 10-30 นาที (Brasaemle & Attie, 1990)

ราฟต์ (Rafts)

ราฟต์ คือ บริเวณหนึ่งของเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีบทบาทในการสื่อสัญญาณเซลล์ (Signal transduction) ซึ่งบริเวณที่เป็นราฟต์จะไม่มีโปรตีน clathrin และ โปรตีนคาวีโอลิน อยู่ ราฟต์ประกอบด้วยคอเลสเตอรอล ไกลโคสฟิงโกลิพิด (Glycosphingolipids) GPI-anchored protein และ โมเลกุลสื่อสัญญาณ (Signaling molecules) การที่ราฟต์มีคอเลสเตอรอลเป็นองค์ประกอบอยู่สูงจึงทำให้บริเวณนี้สามารถจับกับสารที่จับกับคอเลสเตอรอลได้ดีเช่น flipin และ nystatin เป็นผลให้เกิดการยับยั้งการขนส่งคอเลสเตอรอลออกนอกเซลล์

เยื่อหุ้มเซลล์ที่มีโครงสร้างแบบราฟต์นี้ไม่ได้พบในมนุษย์เท่านั้น ยังสามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตไฟลัมอื่นๆ อีกด้วย ขนาดของราฟต์จะมีเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 70 – 370 นาโนเมตร และเป็นบริเวณที่มีคุณสมบัติแตกต่างจากเยื่อหุ้มเซลล์บริเวณอื่น คือ ราฟต์จะไม่ละลายในสารซักฟอก (Detergent) เช่น Triton X-100 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นต้น นอกจากนี้คุณสมบัติที่สำคัญของราฟต์คือ เป็นบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีลิพิดด้านที่หันออกนอกเซลล์ (Exofacial leaflet) และด้านที่หันเข้าหาไซโทพลาสซึม (Cytofacial leaflet) ไม่เหมือนกัน กล่าวคือมีลักษณะของชั้นไขมัน 2 ชั้น (Lipid bilayer) แบบไม่สมมาตร (Asymmetric) ดังภาพที่ 2 (Brasaemle & Attie, 1990)

ราฟต์มีบทบาทหลายอย่างในเซลล์เนื่องจากมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบเช่น reggie-1, reggie-2, GM3, sSrc, RhoA, และ B cell antigen receptor ทำให้ราฟต์เป็นบริเวณที่เกิดการรับสารเข้าสู่เซลล์แบบคัดเลือกโดยใช้ตัวรับ แต่ราฟต์จะไม่มีโปรตีน clathrin โปรตีนคาวีโอลิน และ Ras เป็นองค์ประกอบแต่อย่างใด (Simon & Sampaio, 2011)



ภาพที่ 1 กลไกการขนส่งคอเลสเตอรอลเข้าสู่เซลล์ผ่านกลไกเอนโดไซโตซิส spontaneous diffusion ราฟต์ และคาวีโอเล รวมทั้งกลไกการขนส่งคอเลสเตอรอลเข้าหรือออกนอกเซลล์ผ่านอนุภาค HDL (HDL receptor (SRB1)-mediated) ที่เรียกว่า reverse cholesterol transport (ดัดแปลงจาก Schroeder *et al.*, 2001)

หมายเหตุ: ACAT = Acyl CoA: cholesterol acyltransferase
C = Cholesterol
SM = Sphingomyelin
GPI = Glycosylphosphatidylinositol
SCP-2 = Sterol carrier protein-2
StAR = Steroidogenic acute regulatory protein
HDL = High-density lipoprotein
LDL = Low density lipoprotein
SRB1 = Scavenger receptor B1

ราฟต์อาจถูกจำแนกตามโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบและหน้าที่ เช่น กลุ่มที่จับกับ glycosylphosphatidylinositol (GPI) anchoring protein ซึ่งเป็นราฟที่จับกับโปรตีน GPI ด้านนอกของเยื่อหุ้มเซลล์ กลุ่มที่จับกับโปรตีน Src-family tyrosine kinase (เช่น Lkc, Fyn และ Lyn) ซึ่งจับกับ protein tyrosine kinase ด้านในของเยื่อหุ้มเซลล์ กลุ่มที่จับกับโปรตีน palmitoylated และmyristoylated protein เช่น flotillins (Reggies) โปรตีน hedgehog กลุ่มที่จับกับ heterotrimetric G protein และกลุ่มที่จะกับ annexins (Rajendran & Simon, 2005)

ราฟต์ที่ประกอบด้วย GPI anchoring protein ได้ถูกรายงานว่ามีบทบาทสำคัญในการเกิดพยาธิสภาพของ Prion disease การตอบสนองการทำงานของภูมิคุ้มกันและพยาธิสภาพที่เกิดจาก trypanosomal parasites (Paulick & Bertozzi, 2008) โดยโครงสร้างของ GPI ประกอบด้วย phosphoethanolamine ต่อกับ glycan core (แกนหมู่น้ำตาล) และ phospholipid ต่อในส่วนท้าย แกนหมู่น้ำตาลของ GPI มักประกอบด้วยน้ำตาลแมนโนส ฟอสโฟอินโนซิทอล (Phosphoinositol) และกลูโคซามีน GPI anchoring protein มีขนาดแตกต่างกันตั้งแต่ในเซลล์ CD52 ขนาด 12 กรดอะมิโนในและไปจนถึงขนาด 175 กิโลดาลตันในเซลล์ CDw109 โปรตีนที่อยู่ในราฟต์ชนิดนี้อาจเป็นเอนไซม์เช่น alkaline phosphatase, 5’-nucleotiase, acetylcholinesterase หรือ dipeptidase หรือเกี่ยวข้องกับอัตรกิริยาระหว่างเซลล์ (Cell-cell interaction) เช่น lymphocyte function-associated antigen-3 (LFA-3) หรือ neural cell adhesion molecule (NCAM) การควบคุมการทำงานของคอมพลีเมนท์ (Complement) พวก Decay-Accelerating Factor เช่น CD55 (DAF) หรือ CD59 (Paulick & Bertozzi, 2008) เป็น antigen ทั้งในเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมเช่น Thy-1, Qa-2, CD14 และ carcinoembryonic antigen (CEA) และ serapie prion protein ก็มีองค์ประกอบเป็น GPI anchoring protein (Paulick & Bertozzi, 2008)

ราฟต์ที่จับกับเอนไซม์กลุ่ม kinase โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Src kinases เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทต่อการสื่อสัญญาณการเพิ่มจำนวนเซลล์ (Proliferation) การควบคุมวัฏจักรเซลล์และการตายของเซลล์แบบ apoptosis บทบาทของ Src kinase ที่อยู่บนราฟต์ยังมีบทบาทต่อการกระตุ้นการทำงานของ CD20 และ CD5 ส่งผลให้เกิดการตายแบบ apoptosis ของ B lymphocytes โดย Lyn protein ซึ่งอยู่ภายในเยื่อหุ้มเซลล์จะทำหน้าที่ในการส่งสัญญาณ tyrosine phosphorylation CD79a และ CD79b นอกจากนี้ โปรตีนพวก Akt (Serine/threonine specific protein kinase) ซึ่งมีบทบาทป้องกันการตายของเซลล์แบบ apoptosis โปรตีนกลุ่ม JNK (C-Jun N-terminal kinase) ซึ่งเป็น Mitogen activation protein kinase (MAP) ชนิดหนึ่ง พบว่า JNK มีบทบาททั้งสองด้านคือ death receptor-initiated extrinsic และ mitochondrial intrinsic apoptotic pathways และโปรตีนกลุ่ม Protein kinase C (PKC) ซึ่งมีบทบาทในการกระตุ้นการตายของเซลล์แบบ apoptosis และยับยั้งการตายแบบ apoptosis ในเซลล์บางชนิด (George & Wu, 2012)

ราฟต์ที่ประกอบด้วย reggie-1 และ reggie-2 เรียกว่า reggies microdomain (RM) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 1 ไมโครเมตร โปรตีน reggies เป็นโปรตีนที่มีลำดับกรดอะมิโนเหมือนกันทั้งในแมลงหวี่ ปลาและมนุษย์ เมื่ออยู่ในRM reggie-1 และ reggie-2 จะจับกันเป็น oligomer มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการเรียงตัวของ actin cytoskeleton complex และเรียงตัวของเซลล์พบที่เยื่อหุ้มเซลล์ประสาทบริเวณแอกซอนและ filopodia อีพิธีเลียลเซลล์ นอกจากนี้ยังมีบทบาทในการทำงานของทีเซลล์ (T-cell) เมื่อทีเซลล์ถูกกระตุ้นให้เกิดการหลั่งแอนติบอดีจะเกิดการกระตุ้น glycosylphosphatidylinositol ทำให้เกิดการเรียงตัวของ actin cytoskeleton reorganization (Stuermer, 2009)

นอกจากบทบาทที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของเซลล์แล้ว ราฟต์ยังมีหน้าที่เป็นบริเวณจดจำของไวรัสต่อโฮสต์เซลล์ (Host cell) เช่น ไวรัส influenza A จะจดจำ Hemagglutinin (HA) และ neuraminidase (NA) ที่เกาะอยู่บนราฟต์นอกจากจะเป็นบริเวณจดจำแล้วไวรัสยังใช้ราฟต์ในการ budding ออกนอกโฮสต์เซลล์อีกด้วย โดยการ budding ของไวรัสออกจากเซลล์จะเกิดจากการจดจำ M-protein ที่อยู่ในราฟต์ (Takeda *et al*, 2003) ไวรัส Human Immunodeficiency (HIV) จะอาศัยบริเวณราฟต์ในการขนส่ง endosomal sorting complexes required for transport (ESCRT) เพื่อที่จะทำให้เกิด multivesicular bodies (MVBs) ของ envelopes จากการวิเคราะห์ลิพิดที่หุ้มอนุภาคไวรัสขณะออกจากเซลล์พบว่ามีราฟต์รายล้อมอยู่แสดงให้เห็นว่าการออกจากเซลล์ของ HIV นั้นจะต้องอาศัยหน้าที่ของราฟต์ (von Schwedler *et al*., 2003)

คาวีโอเล (Caveolae)

คาวีโอเล คือ ราฟต์ชนิดหนึ่งที่มีโปรตีนคาวีโอลิน (Caveolin) เป็นองค์ประกอบและมีโปรตีนสื่อสัญญาณชนิดอื่นๆ เป็นองค์ประกอบอยู่หลายชนิด คาวีโอเลจะมีโครงสร้างเป็น หลุม ถ้ำ หรือรอยโค้งที่เยื่อหุ้มเซลล์ โดยมีโปรตีนคาวีโอลินจับกับลิพิดด้าน

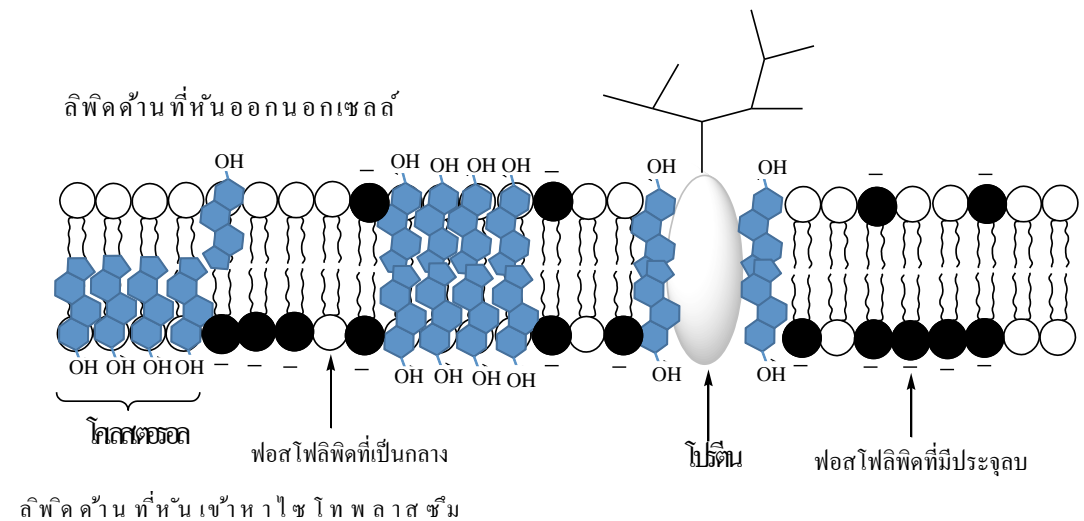
ไซโตพลาสซึมและจะไม่ทะลุผ่านลิพิดด้านที่หันออกนอกเซลล์ ในปัจจุบันยังไม่สามารถสรุปองค์ประกอบของลิพิดที่เป็นองค์ประกอบของคาวีโอเลได้ แต่สามารถสรุปคร่าวๆ ได้ว่า คาวีโอเลประกอบด้วย สฟิงโกไมอีลินร้อยละ 50-96 ฟอสฟาทิดิลอินโนซิทอล P_2 (Phosphatidyl inositol P_2) ประมาณร้อยละ 50 เซราไมด์ (Ceramide) ประมาณร้อยละ 50 และไดเอซิลกลีเซอรอล (Diacylglycerol) ร้อยละ 50 จะเห็นว่าคาวีโอเลมีความแปรผันขององค์ประกอบสูง (Schroeder *et al*., 2001)

ในเยื่อหุ้มเซลล์จะพบบริเวณที่เป็นคาวีโอเลอยู่ร้อยละ 1 และเป็นบริเวณที่มีคอเลสเตอรอลอยู่ร้อยละ 10 ของคอเลสเตอรอลในเยื่อหุ้มเซลล์ทั้งหมด ในปัจจุบันพบโปรตีนคาวีโอลิน 3 ชนิดคือ คาวีโอลิน-1 (Caveolin-1), คาวีโอลิน-2 (Caveolin-2) และ คาวีโอลิน-3 (Caveolin-3) โดย คาวีโอลิน-1 แบ่งออกเป็น คาวีโอลิน-1α และ คาวีโอลิน-1β โดย คาวีโอลิน-1 และ คาวีโอลิน-2 พบในเนื้อเยื่อหลายชนิดในร่างกาย ส่วน คาวีโอลิน-3 พบในกล้ามเนื้อลาย เป็นส่วนใหญ่ โปรตีนคาวีโอลินส่วนใหญ่จะพบเป็นองค์ประกอบของคาวีโอเล แต่อาจจะพบในไซโทพลาสซึม เอนโดพลาสมิกเรติคูลัม และกอลจิคอมเพล็กซ์ได้ในปริมาณน้อย (Schroeder *et al*., 2001; Quinn, 2011; Razani *et al*., 2011; Harvey & Calaghan, 2012)

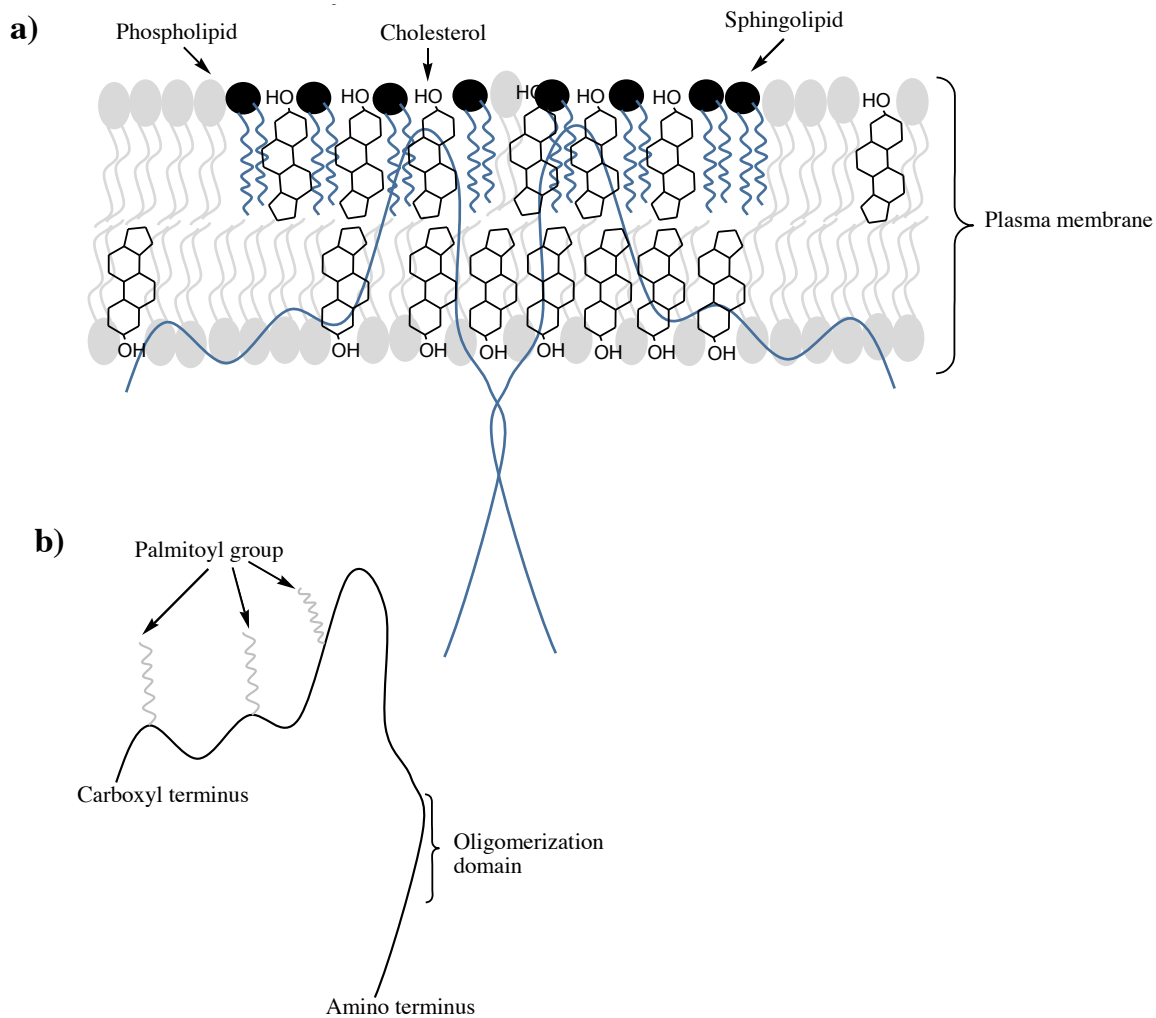
จากการศึกษาพบว่าเมื่อระดับคอเลสเตอรอลเสรีในเซลล์ลดลงจะทำให้เซลล์ลดปริมาณการสังเคราะห์ mRNA ของคาวีโอลิน-1 ลงอย่างรวดเร็วทำให้จำนวนของคาวีโอเลที่ผิวเซลล์ลดลงด้วย ในทางตรงกันข้ามถ้าคอเลสเตอรอลเสรีมีปริมาณเพิ่มขึ้นจะทำให้เซลล์เพิ่มการสังเคราะห์ คาวีโอลิน-1 มีผลให้คอเลสเตอรอลเสรีถูกส่งไปที่เยื่อหุ้มเซลล์เพิ่มขึ้น (Up regulation) จะเห็นว่าปริมาณคอเลสเตอรอลเสรีในเซลล์มีผลอย่างมากต่อรูปร่างและจำนวนของคาวีโอเลที่ผิวเซลล์ (Schroeder *et al*., 2001)

ในบริเวณคาวีโอเลจะมีโปรตีน Scavenger receptor B1 (SRB1) อยู่มาก ซึ่ง SRB1 นี้มีบทบาทสำคัญในการส่งคอเลสเตอรอลออกนอกเซลล์ และการรับคอเลสเตอรอลเข้าสู่เซลล์โดยกลไก non-endocytosis pathway อย่างไรก็ตามกลไกการควบคุมการจับกันของ SRB1 กับ HDL และการสื่อสัญญาณระหว่าง SRB1 และ HDL ยังไม่สามารถสรุปแน่ชัดได้ เนื่องจากการรับคอเลสเตอรอลจาก HDL ผ่าน SRB1 นั้นเป็นแบบ selective uptake จึงยังไม่สามารถอธิบายได้ว่าคอเลสเตอรอลปริมาณเท่าใดที่เซลล์แต่ละเซลล์ควรจะได้รับจาก HDL รวมทั้งสภาวะของเซลล์ และการควบคุม

การส่งคอเลสเตอรอลส่วนเกินออกนอกเซลล์นั้นถูกควบคุมโดย caveolin-1 ซึ่งจะจับกับคอเลสเตอรอลและส่งคอเลสเตอรอล



ภาพที่ 2 ลักษณะของราฟต์บนเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งจะมีองค์ประกอบของลิพิดที่ไม่สมมาตรโดยมีองค์ประกอบของลิพิดด้านที่หันออกนอกเซลล์ (Exofacial leaflet) จะมีความหนาแน่นของฟอสโฟลิพิดที่เป็นกลาง (Neutral phospholipid) และกรดไขมันอิ่มตัวมากกว่า ในขณะที่ลิพิดด้านที่หันเข้าหาไซโตพลาสซึม (Cytofacial leaflet) จะมีความหนาแน่นของ ฟอสโฟลิพิดที่มีประจุลบ (Anionic phospholipid) กรดไขมันไม่อิ่มตัว และคอเลสเตอรอลมากกว่าทำให้ด้านในเยื่อหุ้มเซลล์บริเวณราฟต์จะมีประจุลบและมีความมีขั้วมากกว่าด้านนอก (ดัดแปลงจาก Schroeder *et al*., 2001)



ภาพที่ 3 โครงสร้างของ a) คาวีโอเลซึ่งประกอบด้วยบริเวณของเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีคอเลสเตอรอลอยู่หนาแน่นและมีสฟิงโกลิพิดอยู่ด้านนอกของเยื่อหุ้มเซลล์โดยในคาวิโอเลจะมีโปรตีนคาวีโอลินเข้าคู่กับอยู่ในลักษณะ dimer b) โครงสร้างของโปรตีนคาวีโอลินซึ่งประกอบด้วยบริเวณที่เข้าคู่กันเรียก oligomerization domain และมีหมู่ palmitoyl (ดัดแปลงจาก http://genomebiology.com/2004/5/3/214/figure/F2?highres=y /22 กันยายน 2556)

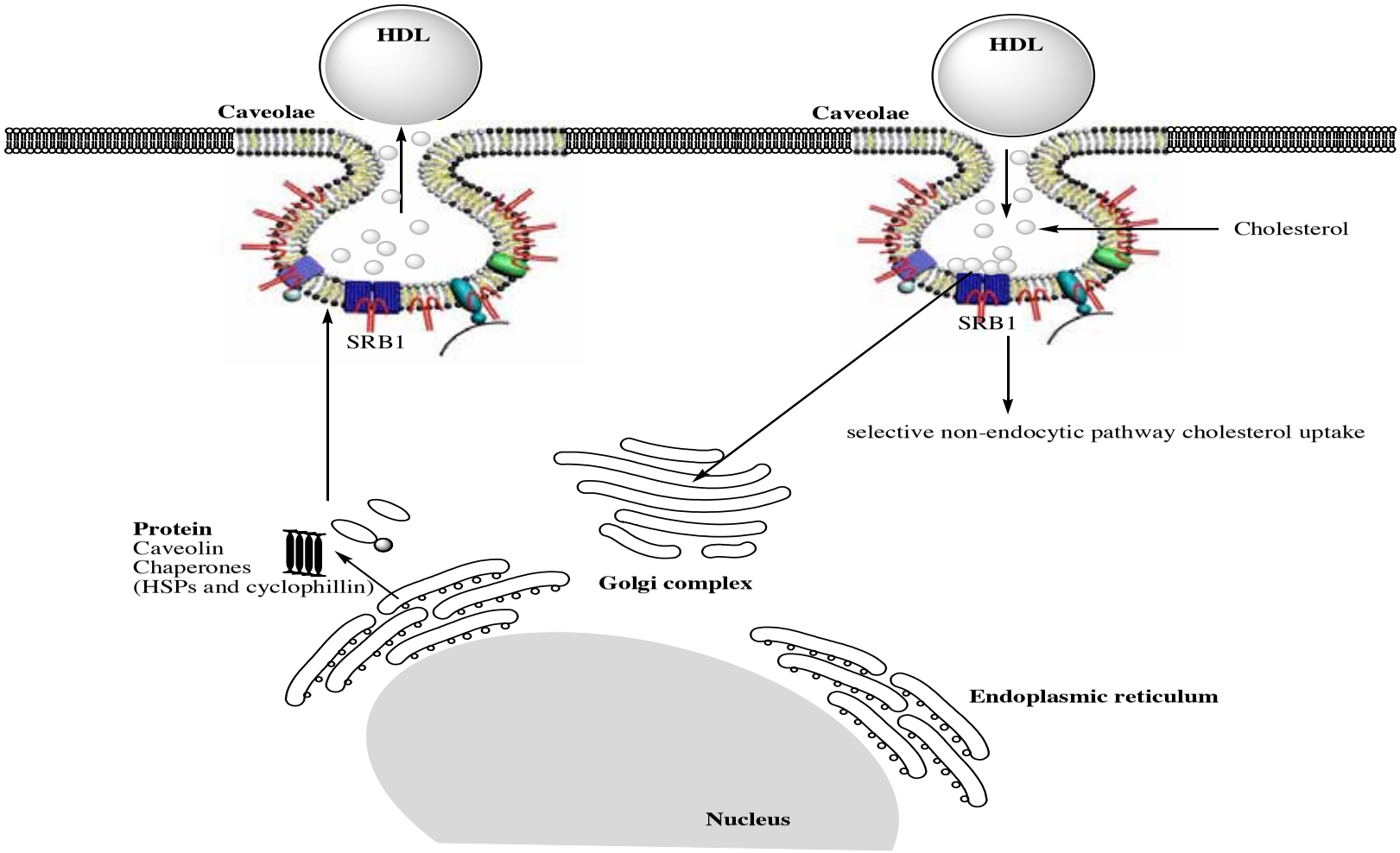
อิสระในเซลล์ไปยังเยื่อหุ้มเซลล์ กลไกการส่งคอเลสเตอรอลออกนอกเซลล์ผ่าน คาวีโอลิน-1 ยังไม่เป็นที่สรุปแน่ชัดแต่ข้อสรุปเบื้องต้นคือมีการทำงานร่วมกันของคาวีโอเล ApoAI และ SRB1

SRB1 จะพบมากใน caveolae และทำหน้าที่เป็น HDL receptor โดยจับกับ ApoAI ทำให้เกิดการส่งคอเลสเตอรอลอิสระจากเยื่อหุ้มเซลล์ไปยัง HDL และ SRB1 ยังมีบทบาทต่อการขนส่งคอเลสเตอรอลจาก HDL เข้าสู่เซลล์ ดังภาพที่ 4

การขนส่งคอเลสเตอรอลภายในเซลล์ (Intracellular cholesterol traffic)

ในการขนส่ง LDL-cholesterol เข้าสู่เซลล์จะเริ่มตั้งแต่ขั้นตอนการเกิดกลไก clathrin coated pit โดย LDL-cholesterol จะรวมตัวกับไลโซโซม และเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของคอเลสเตอรอลเอสเทอร์ได้เป็นคอเลสเตอรอลเสรีเพื่อส่งเข้าสู่กอลจิคอลเพล็กและเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม จากนั้นคอเลสเตอรอลเสรีจะถูกนำไปใช้ เช่น ถูกส่งเข้าสู่ไมโตคอนเดรียเพื่อสังเคราะห์เป็นสารสเตียรอยด์ต่างๆ หรือถูกส่งไปเป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ หรือแม้กระทั่งการขับคอเลสเตอรอลส่วนเกินออกจากเซลล์ซึ่งกระบวนการทั้งหมดนี้จะใช้เวลาทั้งหมดประมาณ 37 – 50 นาที (Schroeder *et al*., 2001)

ส่วนขั้นตอนของการขนส่งคอเลสเตอรอลภายในเซลล์จะมีบางขั้นตอนที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว เช่น ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของคอเลสเตอรอลเอสเทอร์ในไลโซโซมโดยเอนไซม์ acidic lipase จะเกิดขึ้นภายในเวลาน้อยกว่า 2 นาที นอกจากนี้การขนส่ง



ภาพที่ 4 บทบาทของคาวีโอเลต่อการขนส่งคอเลสเตอรอลเข้าออกเซลล์ การขนส่งคอเลสเตอรอลออกจากเซลล์จะใช้โปรตีนคาวีโอลิน และ SRB1 ส่วนการรับคอเลสเตอรอลเข้าสู่เซลล์จาก HDL ผ่าน SRB1 นั้นจะเกิดแบบ selective non-endocytic pathway; HSPs = heat shock proteins (Razani *et al*., 2002)

คอเลสเตอรอลเสรีจะเกี่ยวข้องกับโปรตีนหลายชนิด เช่น โปรตีน Niemann-Pick C1 protein (NPC1) ซึ่งเป็นโปรตีนที่เยื่อหุ้มไลโซโซม โปรตีน Sterol carrier protein-2 (SCP-2) และโปรตีนคาวีโอลิน เป็นต้น (Schroeder *et al*., 2001)

จากการทดลองให้เซลล์มีการแสดงออกของโปรตีน NPC1 มากว่าปกติ (Puglieli *et al*., 1995) พบว่าจะทำให้เกิดการสะสมของคอเลสเตอรอลเสรีในกอลจิคอมเพล็กซ์และเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมเพิ่มมากขึ้น แสดงว่าบทบาทของโปรตีน NPC1 เกี่ยวข้องกับการลำเลียงคอเลสเตอรอลเสรีออกจากไลโซโซมไปยังกอลจิคอมเพล็กซ์และเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม หรือเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ late endosome ภายในเซลล์นั่นเอง ในขณะที่โปรตีน SCP-2 ซึ่งเป็นโปรตีนที่จับกับ anionic phospholipid ในเยื่อหุ้มเซลล์ได้ดี พบว่าเมื่อเปรียบเทียบเซลล์ที่ไม่มี SCP-2 จะขนส่งคอเลสเตอรอลเสรีออกจากไลโซโซมได้ช้ากว่าเซลล์ที่มี SCP-2 ประมาณ 50 เท่า ในเซลล์ตับพบว่า SCP-2 มีบทบาทสำคัญในการขนส่งคอเลสเตอรอลจากเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมไปเป็นองค์ประกอบของน้ำดี และยังมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของยีนที่สังเคราะห์โปรตีน Liver fatty acid binding protein (L-FABP) ซึ่งเป็นโปรตีนที่จับกับคอเลสเตอรอลภายในเซลล์อีกชนิดหนึ่ง (Schroeder *et al*., 2010; Schroeder *et al*., 2007)

ดังที่ได้กล่าวแล้วว่าโปรตีนคาวีโอลินเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องในการขนส่งลิพิดระหว่างเยื่อหุ้มเซลล์และกอลจิคอมเพล็กซ์หรือเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม โปรตีนคาวีโอลินสามารถละลายในไซโตพลาสซึมและเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับคอเลสเตอรอลและโปรตีน chaperonin ในขณะที่เมื่ออยู่ที่ผิวเซลล์โปรตีนคาวีโอลินจะจับกับลิพิดที่เยื่อหุ้มเซลล์ บทบาทที่สำคัญของโปรตีน คาวีโอลิน-1 จะเกี่ยวข้องกับการกำจัดคอเลสเตอรอลส่วนเกินออกจากไลโซโซม กอลจิคอมเพล็กซ์หรือเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม (Schroeder *et al*., 2001)

กลไกการขนส่งคอเลสเตอรอลในเซลล์มีความสลับซับซ้อนและกลไกบางส่วนยังไม่สามารถสรุปแน่ชัดได้ อย่างไรก็ตามในปัจจุบันได้มีงานวิจัยที่สามารถสรุปการขนส่งคอเลสเตอรอลในเซลล์จากออร์กาเนลต่างๆ ที่เกี่ยวข้องดังนี้

1. การขนส่งคอเลสเตอรอลจากไลโซโซมไปยังกอลจิคอมเพล็กซ์ และ/หรือเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม คอเลสเตอรอล 2 ใน 3 ส่วนที่เซลล์รับเข้ามาและผ่านกระบวนการ lysosomal pathway นั้นจะถูกส่งไปที่กอลจิคอลเพล็ก จากนั้นจะถูกส่งจากกอลจิคอมเพล็กซ์ไปที่เยื่อหุ้มเซลล์และเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมต่อไปตามลำดับ (ไลโซโซม → กอลจิคอมเพล็กซ์ → เยื่อหุ้มเซลล์ → เอนโดพลาสมิกเรติคูลัม) ดังภาพที่ 1 การขนส่งคอเลสเตอรอลจากกอลจิคอมเพล็กซ์หรือเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมไปยังเยื่อหุ้มเซลล์จะใช้เวลาประมาณ 10 – 20 นาที พบว่าเซลล์สามารถส่งคอเลสเตอรอลจากไลโซโซมไปยังเยื่อหุ้มเซลล์ได้โดยตรงโดยใช้เวลาน้อยกว่า 1 นาที แต่ยังไม่สามารถพิสูจน์กลไกการขนส่งคอเลสเตอรอลในลักษณะนี้ได้ (Brasaemle & Attie, 1990)

เซลล์สามารถขนส่งคอเลสเตอรอลจากไลโซโซมไปยังกอลจิคอมเพล็กซ์และเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมโดยไม่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ก็เป็นอีกกลไกหนึ่งที่เกิดขึ้น (ไลโซโซม → กอลจิคอมเพล็กซ์ → เอนโดพลาสมิกเรติคูลัม) ซึ่งจะเกิดผ่าน vesicular-mediated pathway (Brasaemle & Attie, 1990)

2. การขนส่งคอเลสเตอรอลจากไลโซโซมไปยังเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม การขนส่งคอเลสเตอรอลโดยตรงจากไลโซโซมไปยังเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมโดยปกติแล้วจะเกิดผ่านกอลจิคอลเพล็กและ/หรือเยื่อหุ้มเซลล์ แต่ในกรณีที่ถูกรบกวนการทำงานโดยยาบางชนิด เช่น brefeldin A เป็นต้น ซึ่งทำให้กอลจิคอมเพล็กแยกตัวออกจากกันทำให้เซลล์เปลี่ยนการขนส่งคอเลสเตอรอลจากไลโซโซมไปยังเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมโดยตรง

การขนส่งคอเลสเตอรอลจากไลโซโซมเข้าสู่เอนโดพลาสมิกเรติคูลัมจะเกิดในลักษณะ protein mediated cholesterol transfer ซึ่งการยับยั้งการขนส่งคอเลสเตอรอลแบบ versicular-mediated pathway จะทำให้เซลล์สังเคราะห์โปรตีน SCP-2 มากขึ้น SCP-2 ไม่ได้มีหน้าที่ในการขนส่งคอเลสเตอรอลจากไลโซโซมไปยังเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมเพียงอย่างเดียวแต่ยังมีหน้าที่ในการขนส่งฟอสโฟลิพิดและกรดไขมัน ซึ่งใช้ในปฏิกิริยา esterification ระหว่างกรดไขมันและคอเลสเตอรอลได้เป็นคอเลสเตอรอลเอสเทอร์

นอกจากนี้ยังพบว่า SCP-2 ยังมีบทบาทต่อการสังเคราะห์กรดฟอสฟาทิดิก (Phosphatidic acid) ซึ่งเป็นสารต้นในการสังเคราะห์ฟอสโฟลิพิดที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของเยื่อหุ้มเซลล์ ดังนั้นจึงสามารถสรุปบทบาทของโปรตีน SCP-2 ว่าเกี่ยวข้องกับการสะสมคอเลสเตอรอลที่เอนโดพลาสมิกเรติคูลัมทั้งคอเลสเตอรอลอิสระและคอเลสเตอรอลเอสเทอร์และการสะสมฟอสโฟลิพิด รวมทั้งการกำหนดชนิดของฟอสโฟลิพิดซึ่งจะมีผลอย่างมากต่อองค์ประกอบของลิพิดที่เยื่อหุ้มเซลล์

3. การขนส่งคอเลสเตอรอลจากไลโซโซมไปยังไมโตคอนเดรีย ไมโตคอนเดรียได้รับคอเลสเตอรอลจาก 2 แหล่ง คือ เยื่อหุ้มเซลล์และหยดไขมัน (Lipid droplet) ภายในเซลล์ โปรตีนที่มีบทบาทสำคัญในการขนส่งคอเลสเตอรอลเข้าสู่ไมโตคอนเดรีย

คือ SCP-2 จากนั้นโปรตีน steroidogenic acute regulatory protein (StAR) จะทำหน้าที่ขนส่งคอเลสเตอรอลจากเยื่อหุ้มไมโตคอนเดรียด้านนอกเข้าสู่เยื่อหุ้มไมโตคอนเดรียด้านใน

4. การขนส่งคอเลสเตอรอลออกจากเซลล์ การขนส่งคอเลสเตอรอลออกจากเซลล์ (Cholesterol efflux) หรือ reverse cholesterol transport จะเกิดผ่านกลไก vesicular pathway ออกจากเซลล์ที่คาวีโอเล

การขนส่งคอเลสเตอรอลจาก LDL ทั้งคอเลสเตอรอลอิสระและคอเลสเตอรอลเอสเทอร์จะเกิดผ่านกอลจิคอมเพล็กซ์ โดยใช้เวลาประมาณ 30-60 นาที ดังภาพที่ 1 การขนส่งนี้จะอาศัยการทำงานของโปรตีนคาวีโอลิน และ SRB1 โดยโปรตีนคาวีโอลินจะรับคอเลสเตอรอลจากกอลจิคอมเพล็กซ์ไปที่คาวีโอเลขณะที่ SRB1 จะเป็นตัวรับของ ApoAI ที่อยู่บนผิวของ HDL ทำให้ HDL สามารถรับคอเลสเตอรอลเข้าไป อย่างไรก็ตามผลการวิจัยพบว่าการขนส่งคอเลสเตอรอลโดยโปรตีนคาวีโอลินนั้นเกิดได้ใน 2 ทิศทางคือ การรับคอเลสเตอรอลจากเยื่อหุ้มเซลล์เข้ามายังกอลจิคอมเพล็กซ์และการขนส่งคอเลสเตอรอลจากกอลจิคอมเพล็กซ์ไปยังเยื่อหุ้มเซลล์ (Harvey & Calaghan, 2011)

อย่างไรก็ตามได้มีผู้รายงานการขนส่งคอเลสเตอรอลจากกอลจิคอมเพล็กซ์ไปยังเยื่อหุ้มเซลล์แบบ non-vesicular pathway หรือการขนส่งโดย protein mediated pathway ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการขนส่งคอเลสเตอรอลที่เซลล์สังเคราะห์ขึ้นมาเอง ที่เอนโดพลาสมิกเรติคูลัมไปที่เยื่อหุ้มเซลล์และจากกอลจิคอมเพล็กซ์ไปยังเยื่อหุ้มเซลล์ (Atshaves *et al*., 2000) การขนส่งคอเลสเตอรอลแบบ non-vesicular pathway นี้จะอาศัยโปรตีนชนิดต่างๆ หรือไม่อาศัยโปรตีน ในปัจจุบันได้มีผู้คิดทฤษฎีอธิบายกลไกการขนส่งคอเลสเตอรอลแบบ non-vesicular pathway ไว้ 4 แบบดังภาพที่ 5

โปรตีนกลุ่ม lipid transfer protein (LTPs) ซึ่งมีทั้งหมด 5 ชนิด เป็นโปรตีนที่จับกับลิพิดได้ในอัตราส่วน 1:1 โดย LPTs อาจจับกับเยื่อหุ้มเซลล์/หรือเยื้อหุ้มออร์กาเนลโดยตรงแล้วขนส่งคอเลสเตอรอลให้แก่โปรตีนตัวรับชนิดอื่นหรือ LPTs สามารถแยกตัวออกจากเยื่อหุ้มเซลล์เพื่อขนส่งคอเลสเตอรอลได้โดยตรง (Prinz, 2007)

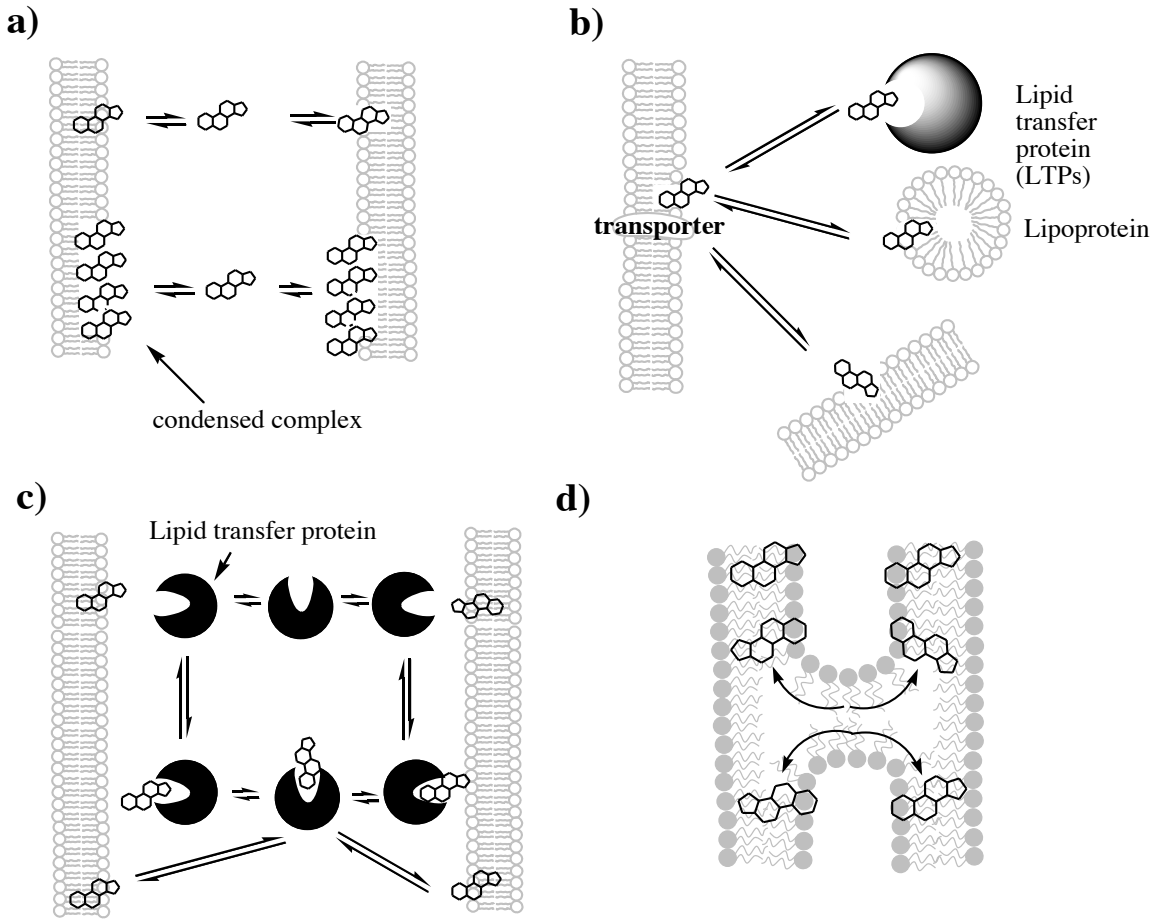
- **Steroidogenic acute regulatory protein (StAR) และ StAR-related lipid transfer (START) proteins** โปรตีน StAR จำเป็นต่อการขนส่งคอเลสเตอรอลจากเยื่อหุ้มไมโตคอนเดรียด้านนอก (Outer mitochondrial membrane) ไปยังเยื่อหุ้มไมโตคอนเดรียด้านใน (Inner mitochondrial membrane) จากนั้นคอเลสเตอรอลจะถูกเปลี่ยนเป็น pregnenolone ซึ่งเป็นขั้นตอนแรกในการสังเคราะห์สารพวกสเตียรอยด์ (Steroid) (Prinz, 2007)

กลไกการทำงานของ StAR นั้นยังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัด โดย StAR จะถูกสังเคราะห์โดยมี N-terminal mitochondrial targeting sequence ทำให้ StAR ถูกส่งไปที่เยื่อหุ้มไมโตคอนเดรียและรวมตัวกับปลาย C ของโปรตีน Tom20p ทำให้ StAR อยู่ในรูปที่ถูกกระตุ้น กลไกการขนส่งคอเลสเตอรอลโดย StAR นั้นยังไม่สรุปแน่ชัด โดย StAR อาจส่งคอเลสเตอรอลให้กับ Peripheral benzodiazepine receptor (PBR) ซึ่งเป็น integral membrane protein ที่เกาะอยู่กับเยื่อหุ้มไมโตคอนเดรียด้านนอก (Prinz, 2007; Mesmin & Maxfield, 2009)

ส่วนโปรตีน START นั้นเป็นโปรตีนที่สามารถจับกับสารสเตียรอลรวมทั้งคอเลสเตอรอลได้ ปัจจุบันพบโปรตีน START ในมนุษย์ 14 ชนิด โดย MLN64 และ STARD5 เป็นโปรตีน START ที่จับกับคอเลสเตอรอล ส่วน START ชนิดอื่นอาจจับกับลิพิดชนิดอื่นๆ เช่น ฟอสโฟลิพิด เซราไมด์ เป็นต้น (Prinz, 2007)

- **Niemann Pick type C (NPC)** เป็นโปรตีนที่มี 2 ชนิด โดย NPC1 เป็นไกลโคโปรตีนที่อาศัยอยู่ที่เยื่อหุ้มของ late endosome และไลโซโซม ส่วน NPC2 เป็นไกลโคโปรตีนที่มีขนาดเล็กกว่าและละลายอยู่ในสารน้ำด้านในของไลโซโซม หลังจากเกิดกระบวนการ Clathrin- mediated endocytosis เพื่อรับ LDL เข้าสู่เซลล์ โปรตีนทั้งสองชนิดนี้มีบทบาทในการขนส่งคอเลสเตอรอลที่ได้รับมาจาก LDL ออกจากไลโซโซมผ่านกระบวนการ non-vesicular pathway โดย NPC2 จะส่งคอเลสเตอรอลไปให้กับลิโพโซม ผ่านกลไก collisional mechanism กล่าวคือ NPC2 ซึ่งจับอยู่กับคอเลสเตอรอลจะส่งคอเลสเตอรอลให้กับเยื่อหุ้มที่เข้ามาใกล้ (เยื่อหุ้มลิโพโซม) ซึ่งจะต้องมีสฟิงโกไมอีลินอยู่เพื่อที่จะรับคอเลสเตอรอลจาก NPC2 เข้าสู่ ลิโพโซม (Cheruku *et al*., 2006)

- **Oxysterol-binding protein (OSBP)** เป็นกลุ่มโปรตีนที่มีบริเวณจับกับออกซีสเตอรอล (Oxysterol) แต่ก็สามารถจับกับลิพิดชนิดอื่นได้ โปรตีนกลุ่มนี้มีบทบาทในการควบคุมการกระจายตัวของลิพิดในเซลล์ ลิพิดเมแทบอลิซึม การสื่อสัญญาณเซลล์ และ vesicular transport นอกจากนี้ยังพบ OSBP-related proteins (ORPs) อีกมากกว่า 12 ชนิดในมนุษย์และยีสต์ (Prinz, 2007) อย่างไรก็ตามบทบาทของโปรตีนกลุ่มนี้ยังคงอยู่ในระหว่างการศึกษาวิจัย ปัจจุบันพบว่าในเซลล์ที่ขาดโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งคอเลสเตอรอลแบบ vesicular transport สามารถขนส่งคอเลสเตอรอลจากเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมไปยังกอลจิคอมเพล็กได้ในอัตราเร็วปกติ แต่เมื่อเซลล์ขาดโปรตีน OSBP-homolog



ภาพที่ 5 ทฤษฎีอธิบายกลไกการขนส่งคอเลสเตอรอลแบบ non-vesicular pathway a) การขนส่งคอเลสเตอรอลแบบ non-vesicular pathway ที่เกิดขึ้นเองซึ่งอาจเกิดจากบทบาทของไมโครโดเมนที่มีสฟิงโกลิพิดอยู่หนาแน่น b) การขนส่งคอเลสเตอรอลแบบ non-vesicular pathway โดยอาศัยโปรตีนกลุ่ม lipid transfer proteins (LTPs) ซึ่งโปรตีนอาจจะจับอยู่กับเยื่อหุ้ม (Membrane) หรือเป็นโปรตีนที่ละลายอยู่ในสารน้ำด้านในหรือนอกเซลล์ c) การขนส่งคอเลสเตอรอล (หรือสเตียรอล) แบบ facilitate transfer โดยอาศัยโปรตีน acceptor โดยอาจมีโปรตีนดึงคอเลสเตอรอลจากเยื่อหุ้มหนึ่งไปยังเยื่อหุ้มอีกอัน หรืออาจดึงคอเลสเตอรอลจากเยื่อหุ้มให้แก่ lipid transfer proteins และส่งต่อไปยังอีกเยื่อหุ้มหนึ่ง d) การแลกเปลี่ยนคอเลสเตอรอลและลิพิดชนิดอื่นๆ อาจเกิดขึ้นเมื่อเกิดการรวมตัวของเยื่อหุ้มแบบ transient hemifusion (ดัดแปลงจาก Prinz, 2007)

(การศึกษาในยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*) ชนิด Osh4p ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งคอเลสเตอรอลจากเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมไปยังกอลจิคอมเพล็กแบบ non-vesicular pathway พบว่าการขนส่งคอเลสเตอรอลช้าลงแต่ยังคงเกิดขึ้นได้ นั่นแสดงถึงบทบาทของโปรตีนกลุ่ม OSBP โดยเฉพาะ Osh4p และ Osh5p นอกจากนี้โปรตีนกลุ่ม OSBP ยังมีบทบาทในการเป็น lipid sensor เช่น ORP1L เป็นโปรตีนที่สามารถกระตุ้นการทำงานของ endosomal dynein motor (Beh *et al*., 2004; Sullivan *et al*., 2006)

- **Sterol carrier protein 2 (SCP-2)** หรือ non-specific lipid transfer protein (nsL-TP) เป็นโปรตีนขนาด 13.3 ดอลตัน มีหน้าที่ในการขนส่งคอเลสเตอรอลระหว่างเยื่อหุ้ม (ระหว่างเยื่อหุ้มออร์กาเนล ระหว่างเยื่อหุ้มออร์กาเนลและเยื่อหุ้มเซลล์ และระหว่างเยื่อหุ้มเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์) โปรตีน SCP-2 มี peroxisomal targeting signal นั่นคือเมื่อถูกสังเคราะห์แล้ว SCP-2 จะถูกส่งไปที่เพอร์รอกซีโซม การทดสอบในหนูทดลองที่ไม่มีโปรตีน SCP-2 พบว่าหนูทดลองดังกล่าวมีความบกพร่องของ branched fatty acid catabolism (Seedolf *et al*., 1998)

นอกจากนี้ยังมีรายงานบทบาทของ SCP-2 ในการขนส่งลิพิดระหว่างออร์กาเนล พบว่ามี SCP-2 บางส่วนที่ยังคงอยู่ในไซโตพลาสซึมและทำหน้าที่ขนส่งคอเลสเตอรอลจากลิโพโซมไปยังเยื่อหุ้มเซลล์ ผ่าน non-vesicular pathway และยังพบว่าการยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน SCP-2 ส่งผลยับยั้งการขับคอเลสเตอรอลออกจากร่างกายในรูปของน้ำดีอีกด้วย (Puglielli *et al*., 1996)

- **โปรตีนคาวีโอลิน** เป็นโปรตีนที่พบมากที่เยื่อหุ้มเซลล์ในบริเวณที่มีคอเลสเตอรอลและสฟิงโกลิพิดอยู่หนาแน่นเมื่อเกิดกระบวนการ oligomerization ของโปรตีน โปรตีนคาวีโอลินจะทำให้เกิดเป็นคาวีโอเล พบว่าโปรตีนคาวีโอลินมีบทบาทสำคัญต่อสมดุลของคอเลสเตอรอลภายในเซลล์ พบว่าโปรตีนคาวีโอลินมีบทบาทในการขนส่งคอเลสเตอรอลจากเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมไปยังเยื่อหุ้มเซลล์ในรูปของ soluble complex ซึ่งประกอบด้วยคอเลสเตอรอล heat shock protein 56 cyclophillin A และ cyclophillin 40 ในปัจจุบันกลไกการขนส่งคอเลสเตอรอลโดยโปรตีนคาวีโอลิไม่สามารถสรุปได้แน่ชัดแต่พบว่าในเซลล์ที่ไม่มีโปรตีนคาวีโอลินอยู่จะทำให้การขนส่งคอเลสเตอรอลจากเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมไปยังเยื่อหุ้มเซลล์เกิดขึ้นได้ช้าเมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่มีโปรีตีนคาวีโอลินในระดับปกติ (Smart *et al*., 1996)

สรุป

บทบาทของคอเลสเตอรอลในร่างกายไม่ใช่แค่เพียงเป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์และการสังเคราะห์สเตียรอยด์ฮอร์โมนเท่านั้น คอเลสเตอรอลยังมีบทบาทในการทำหน้าที่เป็นบริเวณจำเพาะที่เยื่อหุ้มเซลล์อีกด้วย ได้แก่ ราฟต์ และคาวีโอเล นอกจากนี้ยังพบว่า annular cholesterol domains หรือคอเลสเตอรอลที่ล้อมโปรตีนหรือไมโครโดเมน (Microdomains) ก็มีความสำคัญต่อการทำงานของเซลล์เช่นเดียวกัน เช่น ตัวรับอะเซทิลโคลีน (Acetylcholine receptor) หรือตัวรับของฮอร์โมนออกซีโตซิน (Oxytocin receptor) ก็มีคอเลสเตอรอลรายล้อมอยู่มาก (Cholesterol-rich annuli) เป็นต้น ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสำคัญของคอเลสเตอรอลต่อการทำงานของเซลล์

สำหรับการขนส่งคอเลสเตอรอลภายในเซลล์แบบ vesicular pathway และ protein mediated pathway ก็มีความสำคัญต่อภาวะสมดุลของคอเลสเตอรอลภายในเซลล์ จะเห็นว่าองค์ความรู้จากงานวิจัยในปัจจุบันที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งคอเลสเตอรอลภายในเซลล์ยังคงต้องศึกษาต่อไปเนื่องจากยังมีกลไกอีกหลายชนิดที่ยังไม่สามารถอธิบายได้ เช่น กลไกการส่งคอเลสเตอรอลออกจากเซลล์ กลไกการรักษาสมดุลของลิพิดในเยื่อหุ้มเซลล์ด้านที่สัมผัสกับเซลล์อื่นและด้านที่หันออกไปสัมผัสกับสิ่งแวดล้อม การศึกษาหาบริเวณที่มีหน้าที่จำเพาะที่เยื่อหุ้มเซลล์ที่เรียกว่าไมโครโดเมนอื่นๆ ที่มีบทบาทต่อการทำงานของเซลล์ การควบคุมการขนส่งคอเลสเตอรอลแบบ vesicular pathway และแบบ protein mediated pathway (Non-vesicular pathway) ซึ่งการศึกษาเหล่านี้จะทำให้เราเข้าใจถึงกลไกการเกิดโรคต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับสมดุลของคอเลสเตอรอลในเซลล์ เช่น Niemann Pick disease หรือ Tangier disease เป็นต้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้แต่งขอขอบพระคุณ Prof. Tatu A. Miettinen ผู้ซึ่งจากไปแล้วสำหรับโอกาสในชีวิต ความรู้ที่ประเมินค่ามิได้และการสั่งสอนที่ทำให้ข้าพเจ้ารู้จักพินิจและวิเคราะห์ทุกสิ่ง ตลอดจนทักษะการเป็นนักวิทยาศาสตร์ที่ดีที่ท่านได้ถ่ายทอดให้แก่ข้าพเจ้า ผู้แต่งขอบคุณ Prof.Helena Gylling ผู้ซึ่งคอยแนะนำและเอาใจช่วยข้าพเจ้าอยู่เสมอในทุกๆ เรื่อง และ คุณ Leena Kaipiainen สำหรับการถ่ายทอดทักษะการวิเคราะห์และความละเอียดรอบคอบที่นักวิทยาศาสตร์พึงมี

เอกสารอ้างอิง

Atshaves, B.P., Starodub, O., McIntosh, A.I., Roths, J.B., Kier, A.B. & Schroeder, F. (2000). Sterol carrier protein-2 alter HDL-mediated cholesterol efflux. *Journal of Biological Cheimistry. 275*, 36852-36861.

Beh, C.T., Rine, J.A. (2004). A role of yeast oxysterol-binding protein homologs in endocytosis and in the maintenance of intracellular sterol lipid distribution. *Journal of Cell Science. 117*, 2983-2996.

Brasaemle, D.L. & Attie, A.D. (1990). Rapid intracellular transport of LDL-derived cholesterol to the plasma membrane in cultured fibroblasts. *Journal of Lipid Research. 31*, 103-112.

Cherugu, S.R., Xu, Z., Dutia, R., Lobel, P. & Storch, J. (2006). Mechanism of cholesterol transfer from the Niemann-Pick Type C2 protein to model membranes supports a role in lysosomal cholesterol transport. *The Journal of Biological Chemistry. 42*, 31594-31604.

Geourge, K.S. & Wu, S. (2012). Lipid raft: a floating island of death or survival. *Journal of Toxicology and Apply Pharmacology. 259*(3), 311-319.

Harvey, R.D. & Calaghan, S.C. (2011). Caveolae create local signalling domains through their distinct protein content, lipid profile and morphology. *Journal of Molecular Cell Biology and Cardiology. 52*, 366-375.

Harvey, R.D. & Calaghan, S.C. (2012). Caveolae create local signaling domains through their distrinct protein content, lipid profile and morphology, *Journal of Molecular Cell Biology and Cardiology, 52*, 366-375.

Mesmin, B. & Maxfield, F.R. (2009). Intracellular sterol dynamics. *Biochimica et Biophysica Acta. 1791*, 636-645.

Michel, V. & Bakovic, M. (2007). Lipid rafts in health and disease. *Biology of the cell, 99*, 129-140.

Paulick & Bertozzi, C.R. (2008). The glycosylphosphatidylinositol anchor: a complex membrane-anchoring structure for proteins. *Biochemistry. 47*, 6991-7000.

Prinz, W.A. (2007). Non-vesicular sterol transport in cells. *Progress in Lipid Research. 46*, 297-314.

Puglielli, L., Rigotti, A., Greco, A.V., Santos, M.J. & Nervi, F. (1995). Sterol carrier protein-2 is involved in cholesterol transfer from the endoplasmic reticulum to the plasma membrane in human fibroblasts, *Journal of Biological Chemistry, 270*, 19723-18726.

Puglielli, L., Rigotti, A., Amigo, L., Nunez, L., Greco, A.V., Santos, M.J. & Nervi, F. (1996). Modulation on intrahepatic cholesterol trafficking: Evidence by in vivo antisense treatment for the involvement of sterol carrier protein-2 in newly synthesized cholesterol transfer into bile. *Journal of Biochemistry. 317*, 681-687.

Quinn, P.J. (2011). A lipid matrix model of membrane raft structure. *Progress in Lipid Research, 49*, 390-406.

Rajendran, L & Simon, K. (2005). Lipid rafts and membrane dynamics. Journal of Cell Science. 118, 1099-1102.

Razani, B., Woodman, S.E. & Lisanti, M.P. (2002). Caveolae: from cell biology to animal physiology. *Pharmacology Research, 54*, 431-467.

Schroeder, F., Gallegos, A.M., Atshaves,B.P., Storey, S.M., McInTosh, A.L., Petrescu, A.D., Huang, H., Starodub, O. H., H. Yang, Chao, Frolov A. & Kier, B. (2001). Recent advance in membrane microdomains: Rafts, caveolae, and intracellular cholesterol trafficking, *Experimental Biology and Medicine (Maywood), 266*, 873-890.

Schroeder, F., Atshaves, B.P., McIntosh, A.L., Gallegos, A.M., Storey, S.M., Parr, R.D., Jefferson, J.R., Ball, J.M. & Kier, A.B. (2007). Sterol carrier protein-2: new roles in regulating lipid rafts and signaling. *Biochimica Biophysic Acta, 1771*, 700-718.

Schroeder, F., Huang, H., McIntosh, A.L., Atshaves, B.P., Martin, G.G. & Kier, A.B. (2010). Caveolin, sterol carrier protein-2, membrane cholesterol-rich microdomains and intracellular cholesterol trafficking. *Subcellular Biochemistry, 51*, 279-318.

Seedorf, U., Raabe, M., Ellinghanus, P., Kannenberg, F., Fobker, M., Engel, T., Denis, S., Wouters, F., Wirtz, K.W., Wanders, R.J., Maeda, N. & Assmann, G. (1998). Defective peroxisomal catabolism of branched fatty acyl coenzyme A in mice lacking the sterol carrier protein-2/sterol carrier protein-x gene function. *Genes and Development. 12*, 1189-1201.

Simons, K. & Sampaio, J.L. (2011). Membrane Organization and Lipid Rafts. *Cold Spring Harbor Perspective Biology. 3*, 1-17.

Smart, E.J., Ying, Y., Donzell, W.C. & Anderson, R.G. (1996). A role for caveolin in transport of cholesterol from endoplasmic reticulum to plasma membrane. *Journal of Biological Chemistry. 271*, 29427-29435.

Sullivan, D.P., Ohvo-Rekila, H., Baumann, N.A., Beh, C.T. & Menon, A.K. (2006) Sterol trafficking between the endoplasmic reticulum and plasma membrane in yeast. *Biochemical Society transaction. 34*, 356-358.

Takeda, M., Lesser, G.P., Russell, C.J., & Lamb, R.A., (2003). Influenza virus hemagglutin in concentrates in lipid raft microdomains for efficient viral fusion. *Proceedings of the National Academy of Sciences. 17*, 451-462.

von Schwedler, U.K., Stuchell, M., Muller, B., Ward, D.M., Chung, H.Y., Morita, E., Wang, H.E., Davis, T., He, G.P., Cimbora, D.M., Scott, A., Krauslich, H.G., Kaplan, J., Morham, S.G. & Sundquist, W.I. (2003). The protein network of HIV budding. Cell. 144, 701-713.

Yu, H. & Patel, S.B. (2005). Recent insights into the Smith-Lemli-Opitz syndrome, *Clinical Genetic, 68*, 383-391.