

REVIEW

IDOL (INDUCIBLE DEGRADER OF LDL RECEPTOR): UN NUOVO PROTAGONISTA NELLA REGOLAZIONE DEL METABOLISMO DEL COLESTEROLO

IDOL (inducible degrader of LDL receptor): a new player in the regulation of cholesterol metabolism

SEBASTIANO CALANDRA¹, PATRIZIA TARUGI²

¹Dipartimento di Scienze Biomediche, Metaboliche e Neuroscienze;

²Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena

SUMMARY

The LDL-receptor (LDL-R) plays a key role in the catabolism of plasma LDL. The number of LDL-Rs, on the cell surface is regulated at both transcriptional and post-transcriptional level, through various pathways which respond to the concentration of free cholesterol in the membrane of the endoplasmic reticulum. IDOL (Inducible Degradator of LDL-R) is a protein whose production is stimulated by the transcription factor LXR, which, in turn, is activated when the intracellular content of free cholesterol increases. IDOL binds to the cytoplasmic tail of the LDL-R and catalyzes the binding of polyubiquitin chains to the LDL-R. This binding is a molecular signal which drives LDL-R to the lysosomal degradation. IDOL-mediated degradation regulates the number of LDL-Rs available on the cell surface thus preventing cell cholesterol overload which may derive from the excessive receptor-mediated uptake of circulating LDL. Genome wide association studies have shown that single nucleotide polymorphisms of IDOL gene locus are associated with variations in plasma total and LDL-cholesterol, thus suggesting a possible role of IDOL in the regulation of plasma LDL concentration. The search for IDOL variants in individuals with extreme values of plasma cholesterol, has led to the identification of a loss of function variant of IDOL in subjects with hypocholesterolemia not linked to known candidate genes. In view of these findings it is reasonable to assume that therapeutic strategies aimed at reducing the function of IDOL would increase the receptor-mediated hepatic uptake of plasma LDL and, consequently, reduce plasma LDL level. This treatment would represent a new tool, in addition to statins and PCSK9 inhibitors, to reach the plasma LDL targets in hypercholesterolemic patients at high risk of cardiovascular diseases.

Keywords: *LDL-receptor (LDL-R); Low density lipoprotein (LDL); Inducible Degradator of LDL-receptor; IDOL/MYLIP gene; Genetic variants of IDOL.*

Indirizzo per la corrispondenza

Sebastiano Calandra

Dipartimento di Scienze Biomediche,
Metaboliche e Neuroscienze,

Università di Modena e Reggio Emilia

Via Campi, 287 - 41125 Modena

E-mail: sebcald@unimore.it

Ruolo del recettore delle LDL nella omeostasi del colesterolo

Il recettore delle LDL (LDL-R) svolge un ruolo fondamentale nella regolazione del metabolismo intracellulare del coleste-

rolo e nel controllo dei livelli del colesterolo plasmatico trasportato dalle lipoproteine a bassa densità (LDL) (1). Questo recettore è espresso sulla membrana plasmatica di tutte le cellule, particolarmente degli epatociti; la sua funzione è quella di catturare selettivamente le LDL, consentendo l'internalizzazione del complesso LDL/LDL-R nel sistema endosomiale e la successiva degradazione delle LDL nei lisosomi. Il LDL-R è quindi riciclato sulla superficie cellulare rendendosi disponibile per un nuovo ciclo di legame ed internalizzazione delle LDL. Nei lisosomi gli esteri del colesterolo (CE) delle LDL sono convertiti in colesterolo libero (FC), che viene rapidamente trasferito dai lisosomi ad altri compartimenti cellulari, tra i quali le membrane del reticolo endoplasmatico. Questo colesterolo riduce la produzione dei LDL-R e la sintesi endogena del colesterolo, evitando un sovraccarico di colesterolo, che avrebbe effetti dannosi per la cellula (1). L'assenza del LDL-R o la sua ridotta funzione, dovuta a mutazioni del gene corrispondente, sono causa della Ipercolesterolemia Familiare (Ipercolesterolemia Autosomica Dominante tipo 1, ADH-1), un disordine monogenico caratterizzato da elevati livelli plasmatici di colesterolo totale e LDL-colesterolo (LDL-C) e predisposizione allo sviluppo di una grave aterosclerosi (1).

I livelli dei LDL-R sulla membrana plasmatica sono sottoposti ad un molteplice e stringente controllo sia a livello trascrizionale che post-trascrizionale, in relazione al contenuto di colesterolo libero presente nelle membrane del reticolo endoplasmatico. Quando i livelli di colesterolo sono ridotti, si attiva l'espressione del gene LDL-R ad opera del fattore trascrizionale SREBP-2 (Sterol Regulatory Element Binding Protein -2). SREBP-2 è una proteina localizzata nella membrana

del reticolo endoplasmatico come componente di un complesso proteico nel quale sono presenti altre due principali proteine denominate SCAP, (SREBP Cleavage-Activating-Protein) e INSIG-1 (Insulin-induced gene 1) (2). Quando il contenuto di colesterolo nelle membrane del reticolo endoplasmatico è ridotto, il complesso SCAP/SREBP-2 si trasferisce all'apparato di Golgi, ove la proteina SREBP-2 subisce un doppio clivaggio proteolitico mediato da due proteasi (SP1 ed SP2). Tale processo libera la porzione ammino-terminale di SREBP-2, che migra nel nucleo ove si lega al promotore del gene del LDL-R, stimolandone la trascrizione. SREBP-2 stimola anche la trascrizione del gene codificante l'enzima HMG-CoA Reduttasi, a cui consegue un'aumentata sintesi endogena del colesterolo. A seguito di questa aumentata trascrizione genica il numero dei LDL-R aumenta, così come la sintesi endogena di colesterolo, consentendo alla cellula di ripristinare il contenuto ottimale di colesterolo (3). Quando il contenuto di colesterolo libero nelle membrane del reticolo endoplasmatico aumenta il complesso SCAP/SREBP-2 non viene trasferito al Golgi e SREBP-2 non viene attivato, con conseguente mancata stimolazione dell'espressione dei geni del LDL-R e della HMG-CoA Reduttasi (1-3) (*Figura 1*).

Il secondo meccanismo di controllo del numero dei LDL-R è di tipo post-trascrizionale ed è mediato dalla proteina PCSK9 (Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin type 9) (4). PCSK9 è una proteina secreta dagli epatociti che, sulla membrana plasmatica, si lega direttamente alla porzione extracellulare del LDL-R, modificandone la stabilità, promuovendone la degradazione a livello lisosomiale ed interferendo così sulla sua capacità di riciclare dagli endosomi alla membrana plasmatica (5-7). I livelli intracellulari di PCSK9 sono

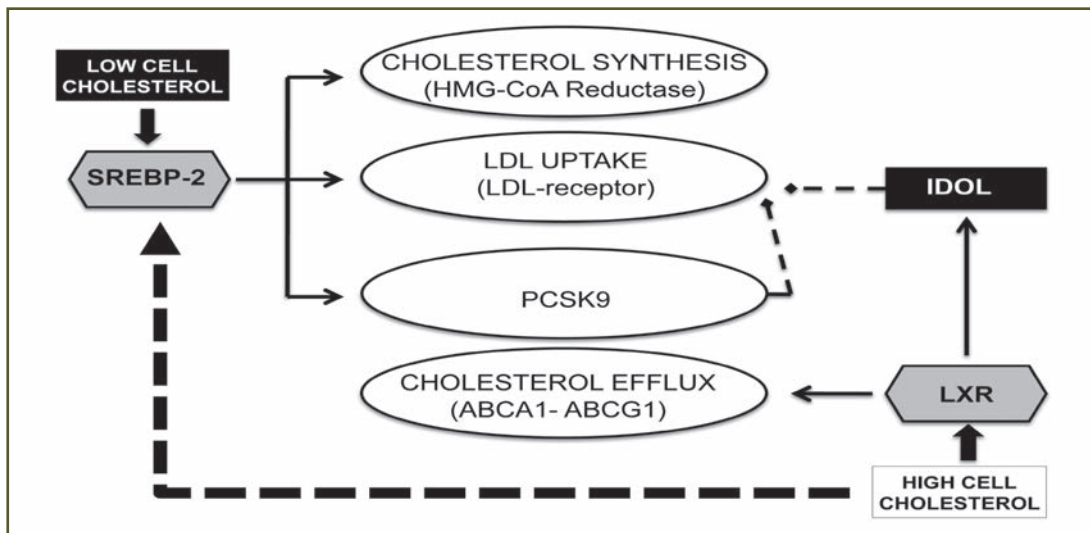


Figura 1 - Regolazione trascrizionale e post-trascrizionale del recettore delle LDL. Quando il livello di colesterolo libero nelle membrane del reticolo endoplasmatico si riduce (low cell cholesterol), si attiva il fattore trascrizionale SREBP-2, che stimola l'espressione di geni coinvolti nella sintesi endogena di colesterolo (es. il gene codificante l'enzima HMG-CoA Reduttasi) e del gene codificante il recettore delle LDL. In questo modo la cellula è nelle condizioni di aumentare il contenuto intracellulare di colesterolo. Nel contempo SREBP-2 stimola l'espressione del gene codificante la proteina PCSK9 che promuove la degradazione del recettore delle LDL nei lisosomi, evitando un'eccessiva disponibilità di recettori LDL sulla membrana plasmatica ed un'eccessiva cattura di LDL plasmatiche, con il conseguente sovraccarico di colesterolo nella cellula. Quando il livello di colesterolo intracellulare è elevato (high cell cholesterol), viene bloccata l'attivazione di SREBP-2, mentre si attiva il fattore trascrizionale LXR. LXR stimola l'espressione di geni codificanti trasportatori di membrana coinvolti nell'efflusso del colesterolo dalla cellula (trasportatori ABCA1 ed ABCG1) e l'espressione del gene MYLIP/IDOL codificante la proteina IDOL (Inducible Degradator of LDL receptor). L'aumentata disponibilità dei trasportatori ABCA1 ed ABCG1 promuove l'eliminazione di colesterolo dalla cellula, mentre la maggiore disponibilità di IDOL aumenta la degradazione del recettore LDL, riducendo la cattura di LDL ed evitando in tal modo un ulteriore incremento del livello di colesterolo intracellulare. La linea continua indica una stimolazione; la linea tratteggiata un'inibizione.

controllati indirettamente dal contenuto intracellulare di colesterolo libero nelle membrane del reticolo endoplasmatico. Il fattore trascrizionale SREBP-2, che abbiamo visto essere attivato in condizioni di basso contenuto intracellulare di colesterolo (*Figura 1*), stimola l'espressione del gene PCSK9, come meccanismo di controllo post-traduzionale del numero dei LDL-R, finalizzato ad evitare un'eccessiva disponibilità di LDL-R e quindi un'eccessiva cattura ed internalizzazione di LDL plasmatiche (4). Il ruolo fisiologico di PCSK9 è dimostrato dall'effetto

di mutazioni del gene corrispondente identificate nell'uomo e da studi condotti sui modelli animali. Mutazioni del gene PCSK9 che determinano un guadagno di funzione della proteina PCSK9 (Gain of Function, GOF) provocano un'aumentata degradazione dei LDL-R, che porta ad una ridotta cattura di LDL plasmatiche da parte del fegato, con conseguente aumento dei livelli di LDL nel plasma (Ipercolesterolemia Autosomica Dominante di tipo 3, ADH-3). Mutazioni del gene PCSK9 che determinano una perdita di funzione della proteina PCSK9 (Loss of Function, LOF)

comportano una minore degradazione dei LDL-R, quindi una maggiore cattura delle LDL plasmatiche da parte del fegato, a cui consegue una riduzione dei livelli plasmatici di LDL (Ipocolesterolemia o Ipo-betaipoproteinemia a trasmissione dominante, Familial Hypobetalipoproteinemia, FHBL) (8).

Analogamente, i topi nei quali è stata indotta una sovra-espressione di PCSK9 presentano un ridotto numero di LDL-R ed una condizione di ipercolesterolemia, mentre i topi in cui il gene PCSK9 è stato inattivato presentano un aumentato numero di recettori ed una condizione di ipocolesterolemia (9).

Il fattore trascrizionale LXR nella regolazione della omeostasi del colesterolo

È noto da tempo che i due fattori trascrizionali LXR α ed LXR β (Liver X Receptor α e Liver X Receptor β , indicati collettivamente come LXR) partecipano al controllo della omeostasi del colesterolo, attivandosi quando il contenuto intracellulare di colesterolo libero aumenta.

In questa condizione si formano nella cellula derivati ossidati del colesterolo (genericamente indicati come ossi-steroli) che si legano selettivamente a LXR. Il legame degli ossisteroli (particolarmente il 24(S), 25-epoxicolesterolo e 22 (R)-idrossicolesterolo) attiva LXR che a sua volta induce l'espressione di alcuni geni coinvolti nel mediare l'efflusso di colesterolo dalla membrana plasmatica ad accettori extracellulari.

Fra questi, di particolare importanza, sono i geni che codificano per due trasportatori di membrana: ABCA1 (ATP-binding Cassette Transporter 1) e ABCG1 (ATP-Binding Cassette Transporter G1)

(10-11). Quindi in condizioni di eccesso di colesterolo nella cellula si realizzano due eventi, finalizzati a contrastare il sovraccarico di colesterolo:

- 1) la mancata attivazione di SREBP-2, con conseguente obliterazione della produzione dei LDL-R e blocco della sintesi endogena di colesterolo (vedi sopra);
- 2) l'attivazione di LXR con conseguente aumentata eliminazione di colesterolo dalla cellula (*Figura 1*).

Nel 2009 Tontonoz et al. (12) dimostrarono che LXR esercita un'influenza anche sulla cattura ed internalizzazione delle LDL mediata dai LDL-R. Trattando cellule in coltura, quali macrofagi ed epatociti, con attivatori farmacologici (agonisti) di LXR (es. GW3965 e T0901317) essi osservarono una marcata inibizione della cattura e dell'internalizzazione delle LDL plasmatiche, dovuta ad una rapida riduzione del numero di LDL-R sulla superficie cellulare. Poiché tale riduzione non si associava ad una diminuzione del mRNA del LDL-R, essi hanno ipotizzato che l'attivazione di LXR inducesse la produzione di qualche proteina che, come PCSK9, promuovesse la degradazione dei LDL-R. Una serie di studi molecolari hanno portato all'identificazione di questa proteina indotta da LXR, che fu denominata "Inducible Degradator of LDL-Receptor" (IDOL) (12).

Si tratta una proteina originariamente identificata in cellule neuronali ed indicata con il nome di MYLIP (Myosin regulatory Light chain Interacting Protein), ora ride-nominata IDOL (13). Il gene codificante IDOL nell'uomo è localizzato sul cromosoma 6 (p23-p22.3) e viene indicato con l'acronimo MYLIP (13). La produzione di IDOL indotta dagli agonisti di LXR è stata dimostrata non solo in vari tipi cellulari in vitro ma anche in modelli animali in vivo, anche se l'espressione varia nei diversi

tessuti. Quindi come raffigurato nella *figura 1*, in condizioni di sovraccarico di colesterolo LXR non solo interviene nell'eliminazione del colesterolo dalla cellula, ma anche nella riduzione della disponibilità di LDL-R, bloccando in tal modo l'ingresso di nuovo colesterolo trasportato dalle LDL plasmatiche (12-14). IDOL esercita un'azione di controllo anche su altri recettori della famiglia del LDL-R, come il recettore per le VLDL (15).

Funzione di IDOL

La funzione di IDOL è stata dimostrata in diversi modelli sperimentali in vitro ed in vivo. Nelle cellule nelle quali è stata indotta una sovra-espressione di IDOL, vi è una marcata degradazione dei LDL-R. Analogamente, la sovra-espressione di IDOL, indotta nel fegato di topo da vettori

virali, riduce la quantità dei LDL-R, e si associa ad un aumento dei livelli plasmatici di LDL-C. La inattivazione del gene IDOL in cellule in coltura, si associa ad un aumento dei LDL-R ed ad un'augmentata cattura ed internalizzazione di LDL (16-19). IDOL è una proteina di 445 amminoacidi, distribuiti su due domini molecolari: un dominio ammino-terminale indicato con FERM ed un dominio carbossi-terminale indicato con l'acronimo RING (*Figura 2*).

Il dominio FERM è preposto all'interazione fra IDOL ed il LDL-R, attraverso il coinvolgimento di specifici amminoacidi presenti nella coda citoplasmatica del LDL-R. Il dominio RING conferisce ad IDOL la funzione di E3 ubiquitina ligasi, cioè la capacità di legare ubiquitina alla coda del LDL-R (vedi Box 1). Questo ha suggerito che la degradazione dei LDL-R indotta da IDOL, fosse mediata da una ubiquitinazione del LDL-R (proteina-ber-

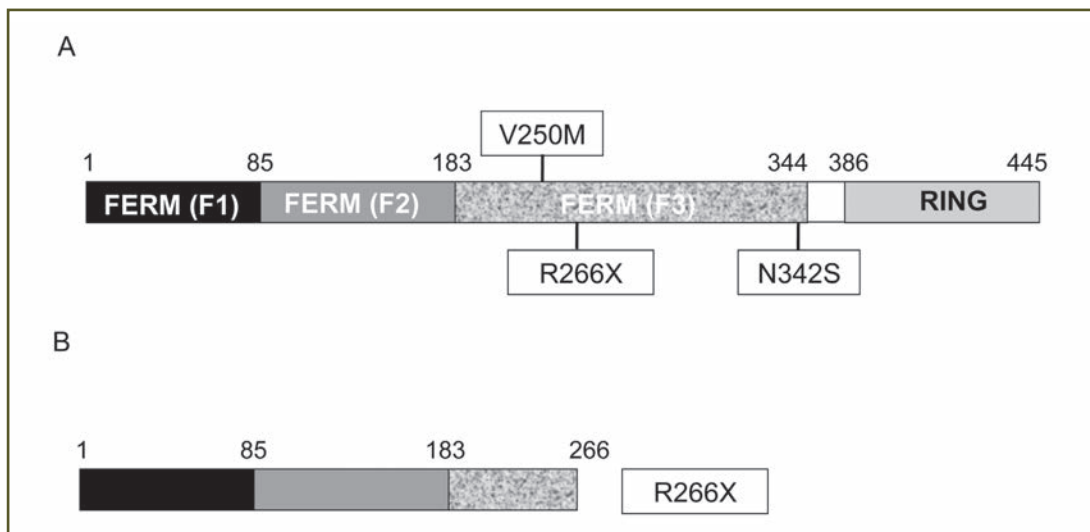


Figura 2 - Struttura della proteina IDOL. Il pannello A mostra la struttura della proteina IDOL ed i principali domini molecolari. Il dominio FERM 3 (F3) è quello coinvolto nell'interazione con la coda citoplasmatica del recettore delle LDL. Il dominio RING ha un'attività enzimatica di E3 ubiquitina ligasi e promuove il legame fra ubiquitina e la coda del recettore delle LDL. Nei riquadri sono indicate alcune varianti genetiche, identificate in studi di popolazione, che possono avere un impatto sulla funzione di IDOL. Il pannello B mostra la struttura della proteina IDOL trunca generata dalla variante R266X riscontrata in individui con ipocoloesterolemia. Questa variante tronca è priva di funzione.

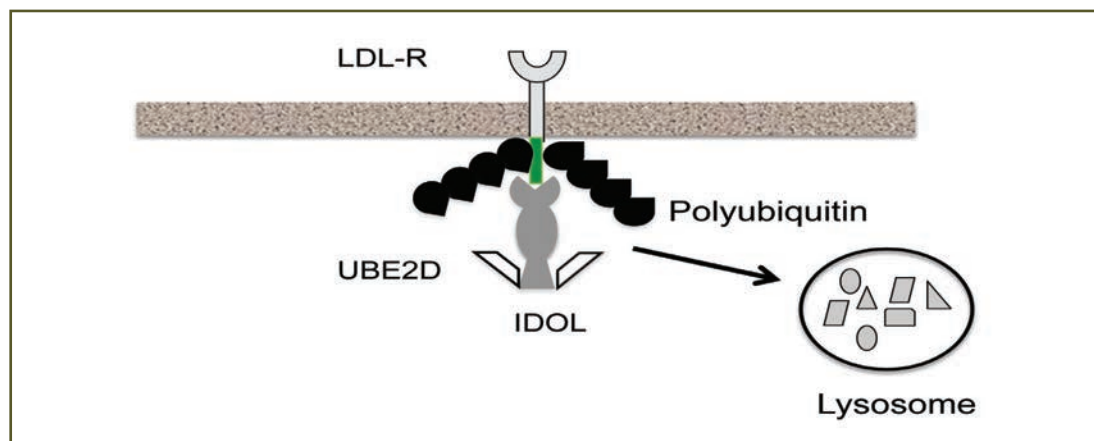


Figura 3 - Interazione fra IDOL ed il recettore delle LDL (LDL-R). IDOL interagisce con la coda citoplasmatica del recettore delle LDL, quando questo si trova localizzato sulla membrana plasmatica. Questa interazione consente il legame con una catena di poliubiquitina (prodotta dall'intervento dell'enzima coniugante UBE2D). Il legame con l'ubiquitina costituisce un segnale molecolare che indirizza il complesso LDL-R/ubiquitina alla degradazione lisosomiale.

saggio), un processo che “marca il LDL-R con un segnale molecolare” e lo predispone alla degradazione (vedi Box 1).

Di fatto la sovra-espressione di IDOL nelle cellule in coltura si associa ad una maggiore ubiquitinazione dei LDL-R. Inoltre una specifica mutazione del dominio RING (Cys 387 Ala, C387A) inattiva la funzione di E3 ubiquitina ligasi di IDOL, annullandone l'effetto degradativo sui LDL-R. L'interazione fra IDOL e la coda citoplasmatica del LDL-R avviene quando il LDL-R si trova inserito nella membrana plasmatica, anche se non si esclude che in parte essa possa avvenire durante il percorso intracellulare del recettore dalla sede di sintesi alla membrana plasmatica. La ubiquitinazione del LDL-R da parte di IDOL porta ad una aumentata degradazione lisosomiale del recettore (16-19) (*Figura 3*).

La serie di reazioni che attraverso l'attivazione di LXR induce l'espressione di IDOL ed alla conseguente aumentata degradazione del LDL-R, è stata definita come “LXR-IDOL-LDL-R axis” (20).

IDOL e metabolismo del colesterolo nell'uomo

Come già avvenuto per PCSK9, si può assumere che varianti genetiche di IDOL possano conferire a questa proteina un guadagno o una perdita di funzione. Il guadagno di funzione dovrebbe tradursi in un accelerato catabolismo dei LDL-R, con conseguente ridotta cattura di LDL da parte del fegato, e quindi in una ipercolesterolemia. L'opposto si potrebbe verificare nel caso di varianti di IDOL con perdita di funzione (*Figura 4*). Recenti studi di associazione genome-wide (Genome Wide Association Study, GWAS) hanno identificato singoli polimorfismi del gene IDOL/MYLIP associati a variazioni di colesterolo totale e LDL-C. Inoltre altri polimorfismi di IDOL/MYLIP sono stati associati a ridotti livelli di LDL ed ad una maggiore risposta al trattamento con statine (21-23).

Alcuni studi recenti hanno investigato l'effetto di varianti del gene IDOL/MYLIP, in coorti di popolazione. Il primo studio ha indagato l'impatto della variante di IDOL

che si traduce in una sostituzione amminoacidica (Asn 342 Ser, N342S) frequente nella popolazione. Tale variante coinvolge un amminoacido localizzato nella regione FERM di IDOL (*Figura 2*) che partecipa alla interazione con il LDL-R. L'allele N342 è, in vitro, più attivo nell'indurre la degradazione di LDL-R rispetto all'allele S342. Quindi l'allele N342 conferirebbe un parziale guadagno di funzione, mentre l'allele S342 conferirebbe una parziale perdita di funzione. In una coorte di pazienti iperlipidemicici Messicani, gli individui omozigoti per l'allele S342 avevano livelli di colesterolo plasmatico più bassi (-7%) rispetto agli individui omozigoti per l'allele N342, ad indicare una ridotta funzione di questo allele (24).

Tuttavia questo risultato non è stato confermato in un campione della popolazione Brasiliana, nella quale il polimorfismo N342S aveva una frequenza simile a quella riscontrata nella popolazione Messicana (25).

Anche nella popolazione Olandese (vedi oltre) la frequenza di questo polimorfismo è risultata essere simile fra individui ipercolesterolemici ed ipocolesterolemici (26). Quindi l'effettivo impatto di questo polimorfismo sui livelli di colesterolo totale e LDL-C rimane da definire. Un altro studio è stato condotto su due gruppi di individui appartenenti alla popolazione Olandese, con valori estremi di LDL-C (valori presenti nelle code di distribuzione dei livelli di LDL-C nella popolazione) (26).

Sono stati analizzati 670 individui ipercolesterolemici (con livelli di colesterolo plasmatico >95° percentile e risultati non portatori di mutazioni nei geni candidati per Ipercolesterolemia Dominante Autosomica: LDL-R, PCSK9 ed APOB) e 560 individui ipocolesterolemici (colesterolo totale <20° percentile della popolazione). La sequenza del gene IDOL/MYLIP ha

evidenziato 14 varianti nella sequenza codificante di questo gene. Di queste, 5 erano varianti silenti (cioè non determinavano sostituzioni di amminoacidi, ma solo sostituzioni nucleotidiche), 8 erano varianti "missenso" (cioè determinavano la sostituzione di un singolo amminoacido), mentre una sola variante è risultata "nonsenso" (cioè determinava l'inserimento di un codone di stop prematuro, con formazione di una proteina tronca, Arg266X) (*Figura 2*).

Alcune di queste varianti erano presenti in uguale frequenza nei due gruppi, mentre altre erano presenti in uno solo dei due gruppi.

Per esempio, la variante codificante della proteina IDOL tronca (Arg266X) è stata identificata solo nel gruppo dei soggetti ipocolesterolemici (LDL-C=2.13±0.67 mmol/L), mentre la variante missenso Val 250 Met (V250M) è stata trovata solo nel gruppo di soggetti con ipercolesterolemia (LDL-C=5.51±1.44 mmol/L). L'impatto funzionale in vitro di alcune di queste varianti (misurato come capacità di indurre la degradazione dei LDL-R in cellule che esprimevano queste varianti) ha dimostrato che solo la variante Arg266X (codificante per la proteina IDOL tronca) aveva un dimostrabile effetto biologico.

Questa variante determinava una perdita di funzione completa di IDOL; in altri termini questa proteina tronca si è dimostrata (in vitro) incapace di interagire con il LDL-R e di indurre la ubiquitinazione e la successiva degradazione nei lisosomi (*Figura 2*). È quindi da considerarsi a tutti gli effetti una variante LOF (26). Questo studio indica che anche nell'uomo varianti LOF di IDOL (così come le varianti LOF di PCSK9) sono in grado, anche in condizione di eterozigosi, di indurre una riduzione dei livelli plasmatici di LDL-C, grazie ad una ridotta capacità di promuovere la degradazione dei LDL-R (*Figura 4*).

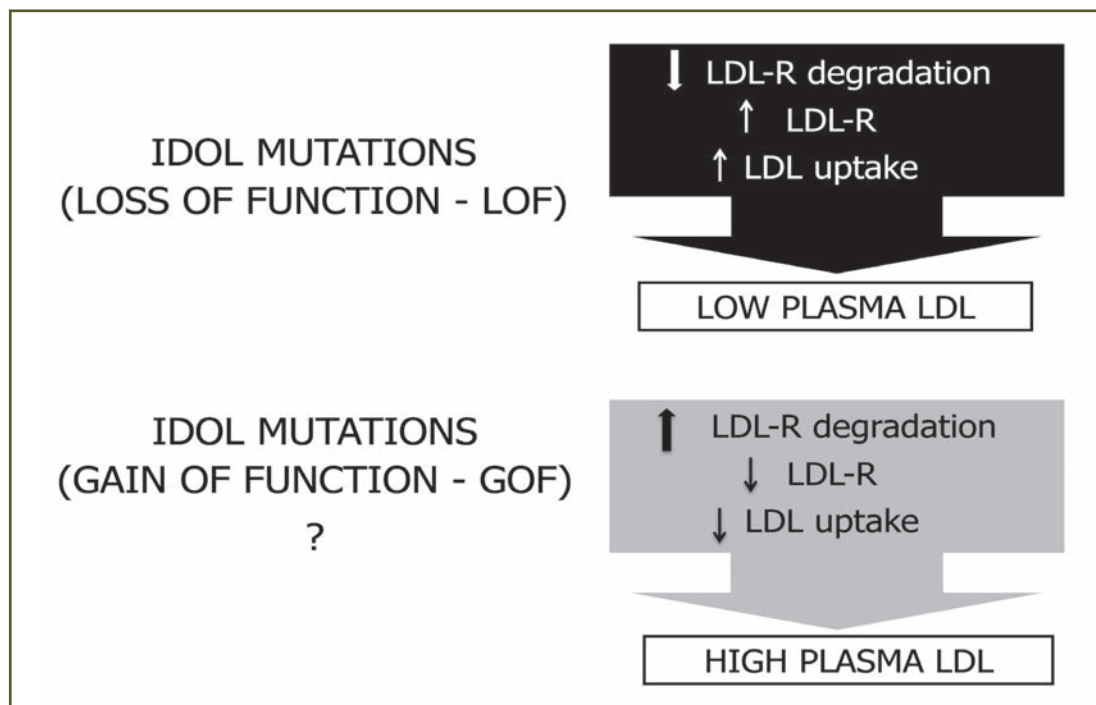


Figura 4 - Varianti di IDOL e livelli di LDL nel plasma. Studi di popolazione hanno identificato alcune varianti di IDOL che si traducono in perdita di funzione (varianti LOF). Queste varianti sono associate ad una minore degradazione dei recettori LDL (LDL-R), ad una maggiore cattura di LDL, e quindi ad una riduzione dei livelli di LDL nel plasma. È verosimile, ma non ancora documentato, che esistano varianti di IDOL con guadagno di funzione (varianti GOF). Queste varianti indurrebbero una maggiore degradazione dei recettori LDL, determinando una minore cattura di LDL, a cui conseguirebbe un aumento delle LDL plasmatiche.

IDOL E PCSK9: due sistemi indipendenti di controllo del recettore LDL

IDOL e PCSK9 rappresentano due fattori coinvolti nel controllo del numero dei LDL-R nelle cellule e, indirettamente, nel controllo dei livelli plasmatici delle LDL. Si tratta di due sistemi di regolazione indipendenti per le seguenti ragioni:

1) la produzione di PCSK9 è indotta dal fattore di trascrizione SREBP-2 in risposta a ridotti livelli intracellulari di colesterolo. La produzione di IDOL è indotta dal fattore trascrizionale LXR in risposta ad un aumentato contenuto intracellulare di colesterolo;

2) PCSK9 si lega alla porzione extracellulare del LDL-R e impedisce il riciclo del LDL-R inducendone la degradazione nei lisosomi. IDOL si lega alla coda citoplasmatica del LDL-R ed, agendo come una E3 ubiquitina ligasi, induce la ubiquitinazione del LDL-R, a cui segue la degradazione nei lisosomi;

3) in epatociti in vitro le statine inducono una riduzione del mRNA di IDOL, un effetto che potenzia la disponibilità dei LDL-R, la cui produzione è indotta dalle statine.

Viceversa le statine inducono la produzione di PCSK9 come fattore di controllo del numero di LDL-R indotti dalle statine stesse;

4) PCSK9 induce la degradazione dei LDL-R anche in cellule che non esprimono IDOL (18).

Queste osservazioni indicano IDOL come un nuovo bersaglio terapeutico. Infatti è ragionevole assumere che strategie

terapeutiche finalizzate a ridurre la funzione di IDOL potrebbero affiancarsi alle statine o agli inibitori di PCSK9 per contribuire ad abbassare i livelli plasmatici delle LDL nei pazienti ipercolesterolemici che non raggiungono i target terapeutici desiderabili (27).

RIASSUNTO

Il recettore delle LDL (LDL-R) svolge un ruolo essenziale nel catabolismo delle LDL circolanti. Il numero dei recettori LDL, presenti sulla membrana plasmatica delle cellule, è regolato sia a livello trascrizionale che post-trascrizionale, attraverso vie metaboliche che rispondono alla concentrazione di colesterolo presente nelle membrane del reticolo endoplasmatico. IDOL (Inducible Degradator of LDL receptor) è una proteina la cui produzione è indotta dal fattore trascrizionale LXR, che si attiva quando il contenuto intracellulare di colesterolo aumenta. IDOL si lega alla coda citoplasmatica del LDL-R e determina il legame fra il recettore e le catene di ubiquitina. Questo legame rappresenta un segnale di riconoscimento per la degradazione lisosomiale del recettore stesso. Quindi IDOL controlla il numero di recettori LDL disponibili sulla membrana cellulare, evitando, in condizioni di sovraccarico cellulare di colesterolo, l'eccessiva cattura ed internalizzazione di LDL circolanti, che potrebbe indurre un ulteriore aumento del contenuto di colesterolo nella cellula. Studi di associazione genomica hanno mostrato che polimorfismi del gene IDOL sono associati a variazioni dei livelli plasmatici di colesterolo totale e di LDL-colesterolo, suggerendo un possibile ruolo di IDOL nella regolazione dei livelli plasmatici di LDL nell'uomo. La ricerca di varianti genetiche di IDOL in individui con livelli di colesterolo agli estremi della distribuzione nella popolazione ha portato all'identificazione di una variante con perdita di funzione di IDOL in individui con ipocolesterolemia. Su queste basi è ragionevole assumere che strategie terapeutiche finalizzate a ridurre la funzione di IDOL, determinando un incremento del numero di recettori LDL, potrebbero affiancarsi alle statine o agli inibitori di PCSK9 per contribuire ad abbassare i livelli plasmatici delle LDL nei pazienti ipercolesterolemici che non raggiungono i target terapeutici desiderabili.

Parole chiave: Recettore delle LDL (LDL-R); Lipoproteine a bassa densità (LDL); Inducible Degradator of LDL receptor (IDOL); Gene IDOL/MYLIP; Varianti genetiche di IDOL.

Box

Ubiquitinazione delle proteine

Prima di essere degradate da proteasi intracellulari, diverse proteine destinate alla degradazione (proteine-bersaglio) (es. LDL-R), vengono legate ad una proteina appartenente al gruppo delle Heat Shock Proteins (HSP), denominata Ubiquitina. Si tratta di una proteina di 76 kDa, ubiquitaria ed altamente conservata nell'evoluzione, che, una volta legata alla proteina-bersaglio, rappresenta un segnale per la degradazione proteolitica di proteine a emivita breve, o di proteine strutturalmente anomale. La ubiquitina si lega alla proteina-bersaglio formando lunghe catene polimeriche (poliubiquitina) che funzionano come "codici di riconoscimento" finalizzati ad indirizzare la proteina-bersaglio alla degradazione o a livello di proteosoma o a livello di altre strutture, come i lisosomi. L'ubiquitina si lega in modo covalente ai residui di lisina della proteina-bersaglio, attraverso un processo a cascata, altamente organizzato, che consiste in tre fasi catalizzate da diversi enzimi. La prima fase è l'attivazione dei monomeri di ubiquitina da parte dell'enzima E1, attraverso la formazione di un legame tio-estere tra il dominio C-terminale della ubiquitina e l'enzima E1. La seconda fase consiste nel trasferimento dell'ubiquitina all'enzima E2 che catalizza la coniugazione dei monomeri di ubiquitina. Nella terza fase l'intervento di un'altra famiglia di enzimi (enzimi E3 o ubiquitina ligasi) consente il trasferimento dell'ubiquitina da E2 ai residui di lisina della proteina-bersaglio (28).

Glossario

ABCA1 = ATP-Binding Cassette Transporter 1 (trasportatore di membrana che media l'efflusso di colesterolo dalla membrana plasmatica ad accettori extracellulari, quali l'apolipoproteina A-I).

ABCG1 = ATP- Binding Cassette Transporter G1 (trasportatore di membrana che media l'efflusso di colesterolo dalla membrana plasmatica alle HDL nascenti presenti nello spazio extracellulare).

ADH-1 = Autosomal Dominant Hypercholesterolemia type 1 (dovuta a mutazioni con perdita di funzione del LDL-R).

ADH-3 = Autosomal Dominant Hypercholesterolemia type 3 (dovuta a mutazioni con guadagno funzione di PCSK9).

GOF = Gain of Function (o guadagno di funzione; si applica a varianti genetiche che determinano l'aumento di funzione di una specifica proteina).

IDOL = Inducible Degradator of LDL-R (proteina che, interagendo con il LDL-R, ne induce la degradazione lisosomiale).

LOF = Loss of Function (o perdita di funzione; si applica a varianti genetiche che determi-

nano la perdita di funzione di una specifica proteina).

LXR = Liver X Receptor (termine usato per indicare due fattori trascrizionali, LXR α e LXR β , che sono attivati dal legame con derivati ossidati del colesterolo, denominati ossisteroli. LXR attivato stimola la trascrizione di alcuni geni coinvolti nel metabolismo del colesterolo come ABCA1, ABCG1 ed IDOL/MYLIP).

MYLIP = Myosin regulatory Light chain Interactin Protein (nome originario di IDOL).

PCSK9 = Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin type 9 (proteina, che interagendo con il LDL-R, ne impedisce il riciclo sulla membrana plasmatica promuovendone la degradazione lisosomiale).

SCAP = SREBP-2 Cleavage-Activating Protein (fattore associato a SREBP-2 che ne permette il trasferimento dalla membrana del reticolo endoplasmatico all'apparato di Golgi e la successiva attivazione proteolitica).

SREBP-2 = Sterol Regulatory Element Binding Protein-2 (fattore trascrizionale che stimola l'espressione del gene codificante il LDL-R ed il gene codificante l'enzima HMG-CoA reduttasi, in condizioni di ridotto contenuto intracellulare di colesterolo).

Bibliografia

1. Goldstein JL, Brown MS. The LDL Receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009; 29: 431-438.
2. Brown MS, Goldstein JL. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of membrane-bound transcription factor. *Cell.* 1997; 89: 331-340.
3. Radhakrishnan A, Goldstein JL, McDonald JG, Brown MS. Switch-like control of SREBP-2 transport triggered by small changes in ER cholesterol: a delicate balance. *Cell Metab.* 2008; 8: 512-521.
4. Lambert G, Sjouke B, Choque B, Kastelein JJ, Hovingh GK. The PCSK9 decade. *J Lipid Res.* 2012; 53: 2515-2524.
5. Zhang DW, Lagace TA, Garuti R, Zhao Z, McDonald M, Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH. Binding of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 to epidermal growth factor-like repeat A of low density lipoprotein receptor decreases receptor recycling and increases degradation *J Biol Chem.* 2007; 289: 18602-18612.
6. Zhang DW, Garuti R, Tang WJ, Cohen JC, Hobbs HH. Structural requirements for PCSK9-mediated degradation of the low density lipoprotein receptor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008; 105: 13045-13050.
7. Kwon HJ, Lagace TA, McNutt MC, Horton JD, Deisenhofer J. Molecular basis for LDL receptor recognition by PCSK9. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008; 105: 1820-1825.
8. Abifadel M, Rabès JP, Devillers M, Munnich A, Erlich D, Junien C, Varret M, Boileau C. Mutations and polymorphisms in the proprotein convertase subtilisin kexin 9 (PCSK9) gene in cholesterol metabolism and disease. *Hum Mutat.* 2009; 30: 520-529.

9. Lagace TA, Curtis DE, Garuti R, McNutt MC, Park SW, Prather HB, Anderson NN, Ho YK, Hammer RE, Horton JD. Secreted PCSK9 decreases the number of LDL receptors in hepatocytes and liver of parabiotic mice. *J Clin Invest.* 2006; 116: 2995-3005.
10. Venkateswaran A, Laffitte BA, Joseph SB, Mak PA, Wilpitz DC, Edwards PA, Tontonoz P. Control of cellular cholesterol efflux by the nuclear oxysterol receptor LXR alpha. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000; 97: 12097-12102.
11. Tontonoz P. Transcriptional and posttranscriptional control of cholesterol homeostasis by liver X receptors. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 2011; 76: 129-137.
12. Zelcer N, Hong C, Boyadjian R, Tontonoz P. LXR regulates cholesterol uptake through idol-dependent ubiquitination of the LDL receptor. *Science.* 2009; 325: 100-104.
13. Olsson P-A, Borhauser BC, Korhonen L, Lindholm D. Neuronal expression of the ERM-like protein MIR in rat brain and its localization to human chromosome 6. *Biochim Biophys Res Commun.* 2000; 279: 879-883.
14. Lindholm D., Bornhauser BC, Korhonen L. Mylip makes an Idol turn into regulation of LDL receptor. *Cell Mol Life Sci.* 2009; 66: 3399-3402.
15. Hong C, Duit S, Jalonen P, Out R, Scheer L, Sorrentino V, Boyadjian R, Rodenburg KW, Foley E, Korhonen L, Lindholm D, Nimpf J, van Berkel TJ, Tontonoz P, Zelcer N. The E3 ubiquitin ligase IDOL induces the degradation of the low density lipoprotein receptor family members VLDLR and ApoER2. *J Biol Chem.* 2010; 285: 19720-19726.
16. Sorrentino V, Scheer L, Santos A, Reits E, Bleijlevens B, Zelcer N. Distinct functional domains contribute to degradation of the low density lipoprotein receptor (LDLR) by the E3 ubiquitin ligase inducible Degradator of the LDLR (IDOL). *J Biol Chem.* 2011; 286: 30190-30199.
17. Calkin AC, Goult BT, Zhang L, Fairall L, Hong C, Schwabe JW, Tontonoz P. FERM-dependent E3 ligase recognition is a conserved mechanism for targeted degradation of lipoprotein receptors. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011; 108: 20107-20112.
18. Scotti E, Hong C, Yoshinaga Y, Tu Y, Hu Y, Zelcer N, Boyadjian R, de Jong PJ, Young SG, Fong LG, Tontonoz P. Targeted disruption of the Idol gene alters cellular regulation of the low density lipoprotein receptor by sterols and liver X receptor agonists. *Mol Cell Biol.* 2011; 31: 1885-1893.
19. Zhang L, Fairall L, Goult BT, Calkin AC, Hong C, Millard CJ, Tontonoz P, Schwabe JW. The IDOL-EBE2D complex mediates sterol-dependent degradation of the LDL receptor. *Genes Dev.* 2011; 25: 1262-1274.
20. Zhang L, Reue K, Fong LG, Young SG, Tontonoz P. Feedback regulation of cholesterol uptake by the LXR-IDOL-LDLR axis. *Arterioscler. Thromb Vasc Biol.* 2012; 32: 2541-2546.
21. Teslovich TM, Musunuru K, Smith AV et al. Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids. *Nature.* 2010; 466: 707-713.
22. Chasman DI, Paré G, Mora S, Hopewell JC, Peloso G, Clarke R, Cupples LA, Hamsten A, Kathiresan S, Mälarstig A, Ordovas JM, Ripatti S, Parker AN, Miletich JP, Ridker PM. Forty-three loci associated with plasma lipoprotein size, concentration, and cholesterol content in genome-wide analysis. *PLoS Genet.* 2009; 5: e1000730.
23. Waterworth DM, Ricketts SL, Song K, Chen L, Zhao JH et al. Genetic variants influencing circulating lipid levels and risk of coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010; 30: 2264-2276.
24. Weissglas-Volkov D, Calkin AC, Tusie-Luna T, Sinsheimer JS, Zelcer N, Riba L, Vargas Tino AM, Ordoñez-Sánchez ML, Cruz-Bautista I, Aguilar-Salinas CA, Tontonoz P, Paiukanta P. The N342S MYLIP polymorphism is associated with high total cholesterol and increased LDL receptor degradation in humans. *J Clin Invest.* 2011; 121: 3062-3071.
25. Santos PC, Oliveira TG, Lemos PA, Mill JG, Krieger JE, Pereira AC. MYLIP p.N342S polymorphism is not associated with lipid profile in the Brazilian population. *Lipids Health Dis.* 2012; 11: 83.
26. Sorrentino V, Fouchier SW, Motazacher MM, Nelson JK, Defesche JC, Dallinga-Thie GM, Kastelein JJP, Hovingh GK, Zelcer N.

Identification of a loss-of-function inducible degrader of the low density lipoprotein receptor variant in individuals with low circulating low-density lipoprotein. *Eur Heart J*. 2013; 34: 1292-1297.

27. Sorrentino V, Zelcer N. Post-transcriptional

regulation of lipoprotein receptors by E3-ubiquitin ligase inducible degrader of the low density lipoprotein receptor. *Curr Opin Lipidol*. 2012; 23: 213-219.

28. Pickart CM. Mechanisms underlying ubiquitination. *Ann Rev Biochem*. 2001; 70: 503-533.