

Die molekulare Basis der intra- und extrazellulären Cholesterin-Homöostase

Die Bedeutung der genetischen Prädisposition als Risikofaktor für eine prämatüre koronare Herzkrankheit

A. R. Miserez

Weltweit haben gemäss Schätzungen im Rahmen der zweiten internationalen WHO-Konferenz über familiäre Hypercholesterinämien, über 250 Millionen Menschen ein stark erhöhtes Risiko, in jungen Jahren schwere kardiovaskuläre Erkrankungen zu erleiden, da sie einen oder mehrere Gendefekte haben, die zu einer ererbten Fettstoffwechselstörung führen [1, 2]. Zu diesen Störungen zählen das familiär-defektive Apolipoprotein B-100 (FDB, in der Schweiz ungefähr 33 000 Betroffene), die familiäre Hypercholesterinämie (FHC, ungefähr 14 000), die familiäre Dysbetalipoproteinämie (FDL, ungefähr 7000), die familiär-kombinierte Hyperlipidämie (FCH, ungefähr 140 000), sowie die polygene Hypercholesterinämie (PHC, ungefähr 210 000). FDB und FHC sind autosomal-dominant vererbte Störungen des Cholesterinstoffwechsels [3]. FDB wird durch einige wenige, wahrscheinlich vor über 6000 Jahren entstandene Mutationen im Apolipoprotein B-100-Gen verursacht [4, 5]. Das Apolipoprotein B-100 ist das Bindungsprotein, das die Partikel niedriger Dichte, die «low-density lipoprotein» (LDL)-Partikel, gürtelförmig umschliesst und die Bindung an den LDL-Rezeptor vermittelt. FDB tritt insbesondere in der Schweiz häufig auf (Prävalenz 1:210 in der Normalbevölkerung) [6]. Bei FDB, im Gegensatz zu FHC, sind die erhöhten Cholesterinkonzentrationen in der Regel erst im Erwachsenenalter nachweisbar [7, 8], weshalb der molekulargenetische Nachweis des FDB heute einen hohen Stellenwert besitzt [9, 10]. FHC wird durch über eintausend verschiedene Mutationen im LDL-Rezeptor-Gen verursacht. Multiple Genregionen, in denen gehäuft Rekombinationen und Mutationen auftreten, die zu FHC führen, sogenannte «hot spots», wurden im LDL-Rezeptor-Gen identifiziert [11]. FHC ist in Kanada, Finnland, Israel, im Libanon und in Südafrika (Prävalenz bis zu 1:60) besonders verbreitet, tritt sonst aber in einer Prävalenz von 1:500 auf [12]. FDL wird autosomal-rezessiv vererbt, ist

deutlich seltener (Prävalenz 1:1000–1:10 000) und wie FDB sehr einfach molekulargenetisch zu bestätigen [7, 9, 10]. Die molekularen Grundlagen von FCH und PHC sind noch nicht vollständig aufgeklärt. FCH ist eine Störung, die nach der ursprünglichen Definition durch einen autosomal-dominant oder autosomal-rezessiv vererbten Gendefekt [13], aller Wahrscheinlichkeit nach aber oft durch eine Kombination verschiedener Gendefekte und Genvarianten verursacht wird [9, 14–16]. PHC ist eine Störung mit wechselndem, stark durch Umweltfaktoren beeinflusstem Phänotyp. Trotz der bereits erzielten Erfolge ist unser Verständnis der molekularen Grundlagen der zahlenmässig wichtigeren polygenetisch determinierten Hyperlipidämien und der Regulation der Cholesterin-Homöostase noch immer ungenügend. Die Erforschung der Regulation der intrazellulären und indirekt auch der extrazellulären Cholesterin-Homöostase trägt dazu bei, komplexe pathophysiologische Abläufe, wie beispielsweise die Entstehung einer Insulinresistenz, verstehen zu können. In naher Zukunft hoffen wir, die molekularen Grundlagen der gemischten Hyperlipidämien bis hin zum metabolischen Syndrom aufklären zu können. Die Erforschung der Cholesterinregulation trägt aber auch dazu bei, den Wirkungsmechanismus von Medikamenten wie den Statinen oder Glitazonen zu erklären. Das individuell unterschiedliche Ansprechen auf Medikamente dürfte in Zukunft ebenfalls besser verstanden werden können (Pharmakogenetik), und die Identifikation von in der Cholesterinregulation wichtigen Proteinen (drug targets) wird Ansatzpunkte für die Entwicklung neuer Medikamente bieten.

Departement Forschung,
Departement Innere Medizin
Universitätskliniken,
Basel

Korrespondenz:
PD Dr. med. A. R. Miserez
Forschungsgruppenleiter
Genetik des Lipidmetabolismus
& Atherosklerose und
Koordinator, Human Molecular
Genetics Groups,
Departement Forschung
Leiter Lipidsprechstunde,
Departement Innere Medizin,
Universitätskliniken,
Hebelstrasse 20, CH-4031 Basel

andre-r.miserez@unibas.ch

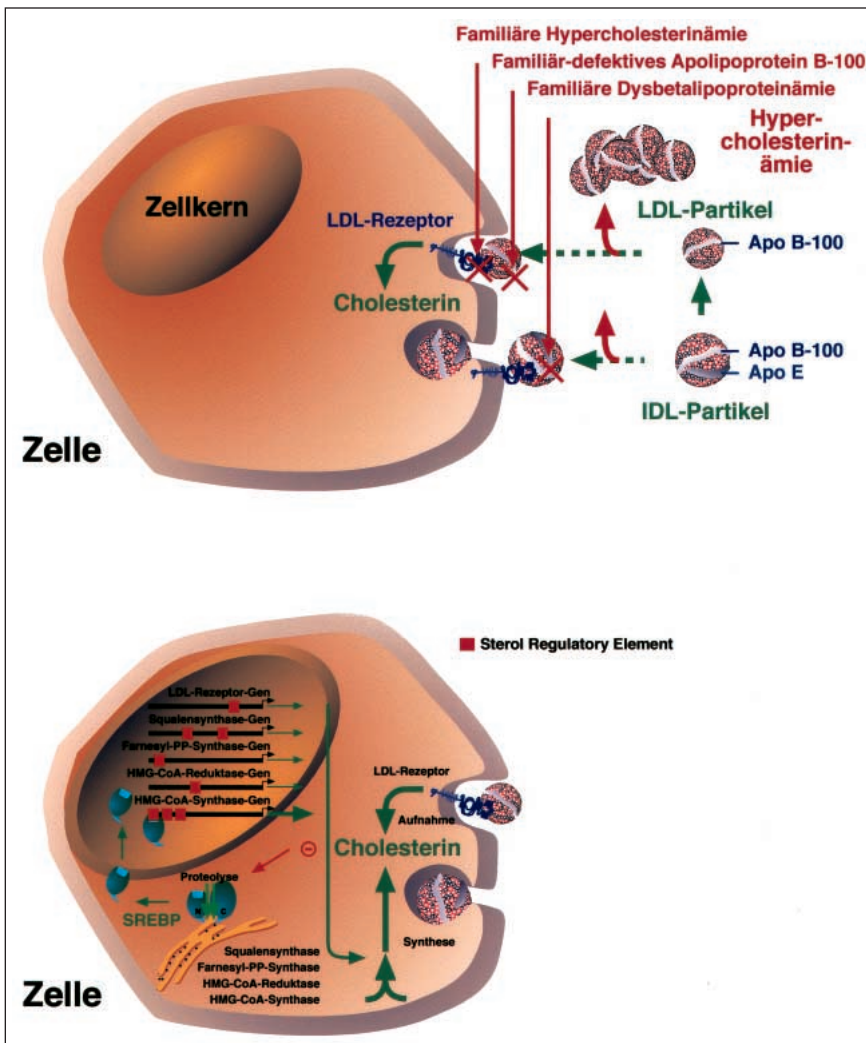


Abbildung 1. Regulation der extrazellulären Cholesterinkonzentration (obere Bildhälfte). Aufnahme von cholesterinhaltigen LDL- und IDL-Partikeln aus dem Plasma mit Hilfe von LDL-Rezeptoren. Defekte im LDL-Rezeptor oder seinen beiden hauptsächlichigen Liganden, Apolipoprotein B-100 und Apolipoprotein E, führen zur Hypercholesterinämie. Regulation der intrazellulären Cholesterinkonzentration durch die Transkriptionsfaktoren SREBP-1c/ADD-1 und SREBP-2 (untere Bildhälfte).

Von der Aufrechterhaltung des Cholesteringehaltes der Zelle bis zur Entstehung der Insulinresistenz

Cholesterin ist für tierische und menschliche Zellen lebensnotwendig; die Aufrechterhaltung der intrazellulären Cholesterinkonzentration wird deshalb exakt kontrolliert. Die Zellen regulieren ihren Cholesteringehalt sowohl über die Aufnahme von extrazellulärem Cholesterin, das in den LDL-Partikeln enthalten ist, als auch über die intrazelluläre Synthese von Cholesterin [17, 18]. Die Bedeutung der rezeptorvermittelten Aufnahme von extrazellulärem Cholesterin aus den LDL-Partikeln wurde durch die Identifikation von Defekten in den Genen, welche die an diesem Prozess beteiligten Proteine kodieren, eindrücklich demonstriert [12]. Defekte im LDL-Rezeptor (FHC) und Defekte in seinen zwei Liganden, dem Apolipoprotein B-100 (FDB) und dem Apolipoprotein E (FDL) führen zu einer Akkumulation von cholesterinreichen

Partikeln im Plasma, was, wie eingangs erwähnt, mit einer ausgeprägten Zunahme des Risikos für kardiovaskuläre Erkrankungen vergesellschaftet ist [2] (Abb. 1).

Die für die Genaktivierung notwendige, dem Gen vorgeschaltete DNA-Sequenz ist der Promotor. Der Promotor des LDL-Rezeptor-Gens und der meisten Gene, die in der Cholesterinbiosynthese eine Rolle spielen (z.B. Hydroxymethyl-Glutaryl-Coenzym A (HMG-CoA)-Synthase, HMG-CoA-Reduktase, Farnesyl-Pyrophosphat (PP)-Synthase, Squalen-Synthase), enthalten spezifische DNA-Sequenzen, sogenannte «sterol-regulatory elements» (SRE) [18]. Zwei Proteine, die «sterol-regulatory element-binding proteins» (SREBP)-1 und -2, lagern sich in ihrer reifen Form an die Promotoren dieser Gene an und erhöhen deren Aktivität [18–20]. Eine derartige Aktivierung durch SREBP führt zu einer vermehrten Synthese von RNA (Transkription) und somit zu einer grösseren Menge des durch das Gen kodierten Proteins. Die an die Promotoren bindenden und die Transkription aktivierenden SREBP werden deshalb auch als Transkriptionsfaktoren bezeichnet.

Bei einem intrazellulären Mangel an Sterolen (z.B. Cholesterin) werden die SREBP-Vorläufer, die in die Membranen des endoplasmatischen Retikulums eingebettet sind, auseinandergeschnitten (Proteolyse). Zunächst geschieht dies durch einen sterolsensitiven proteolytischen Schritt, der durch die «site-1 protease» (S1P) ermöglicht wird. Diese erkennt eine spezifische Aminoäuresequenz in der hydrophilen Schlaufe (site-1) des SREBP-Vorläuferproteins [21]. Durch diesen ersten, sterolabhängigen proteolytischen Schritt, der durch das sogenannte «SREBP cleavage-activating protein» (SCAP) bei einem intrazellulären Cholesterinmangel eingeleitet wird, werden die NH₂- und COOH-terminalen Teile des SREBP-Vorläuferproteins voneinander getrennt [18, 22, 23]. Der verbleibende, membrangebundene NH₂-terminale Teil wird durch den zweiten, sterolunabhängigen proteolytischen Schritt vollständig von der Membran des endoplasmatischen Retikulums abgelöst [22]. Dieser zweite Schritt an der site-2 des SREBP-Vorläuferproteins, innerhalb der membrandurchspannenden Region, wird durch die «site-2 protease» (S2P) ermöglicht [24, 25].

Die zwei proteolytischen Schritte führen zu einer Freisetzung eines kleineren, aktiven NH₂-terminalen Teils, dem sogenannten reifen SREBP. Dieser kann nun in den Zellkern eindringen und sich an die Promotorelemente der Gene für den LDL-Rezeptor und die an der Cholesterinbiosynthese beteiligten Enzyme binden [17]. Die Aktivierung der Proteolyse des SREBP resultiert somit in einer Steigerung der LDL-Rezeptor-vermittelten Cholesterinaufnahme in die Zelle [26, 27] und in einer Steigerung der

Cholesterinbiosynthese. Über beide Mechanismen wird eine parallele Zunahme der intrazellulären Cholesterinkonzentration erreicht [28–30].

Wenn sich Cholesterin in der Zelle anhäuft, wird der erste, cholesterinsensitive Schritt blockiert, reife SREBP-Moleküle wandern nicht mehr in den Zellkern, was zu einer fehlenden Aktivierung sowohl der rezeptorvermittelten Aufnahme von LDL-Partikeln als auch der Cholesterinbiosynthese führt und eine Überfüllung der Zelle mit Cholesterin verhindert [27, 31, 32].

Die Struktur der Gene, die SREBP-1 und SREBP-2 kodieren, wurde kürzlich aufgeklärt [33, 34]. Ebenso wurden die Promotoren der zwei natürlich vorkommenden Formen des SREBP-1 (SREBP-1a und -1c) und des SREBP-2 charakterisiert [34].

SREBP-1 (und hier insbesondere die natürlich vorwiegend vorkommende Form SREBP-1c) erfüllt neben der Regulation der intrazellulären Cholesterinhomöostase [18] weitere Aufgaben. Einerseits ist SREBP-1c, das auch als «adipocyte determination and differentiation factor»(ADD)-1 bezeichnet wird, wichtig in der Ausdifferenzierung von Vorläuferformen zu reifen Adipozyten. SREBP-1c/ADD-1 stimuliert somit indirekt die Fettsäure- und Triglyzeridsynthese. SREBP-1c/ADD-1 stimuliert die Fettsäure- und Triglyzeridsynthese aber auch direkt über die Aktivierung des Fettsäuresynthase-Gens [35–37] und steuert zudem die Aufnahme von Fettsäuren in der Peripherie über die Aktivierung des Lipoproteinlipase-Gens [38]. Auch die Hungerregulation über die Leptin-Plasmakonzentration, wird durch SREBP-1c/ADD-1 beeinflusst [38, 39]. SREBP-1c/ADD-1 steuert darüber hinaus die Glukokinase und Enzyme der Glykolyse [36] sowie weitere intrazelluläre Proteine, so z.B. den «peroxisome proliferator-activated receptor»(PPAR)- γ [40]. Die durch SREBP-1c/ADD-1 vermittelte Aktivierung von PPAR- γ führt zur vermehrten Bildung von Proteinen, die für die Übertragung des Insulinsignals vom Insulinrezeptor auf insulinabhängige intrazelluläre Proteine verantwortlich sind. SREBP-1c/ADD-1 hat somit einen breit gefächerten Insulin-imitierenden Effekt [36, 41] und wird selbst ebenfalls durch Insulin reguliert [41–43].

Chronischer Hyperinsulinismus hingegen inhibiert eine wichtige Komponente der Insulinsignalkaskade, das «insulin receptor substrate»(IRS)-2, und führt somit zur pathologischen Insulinresistenz [44]. Falls SREBP-1c/ADD-1 jedoch unverändert weiter produziert wird, was mit einer stetigen Aktivierung der Differenzierung von Adipozyten und der Fettsäure- und Triglyzeridsynthese assoziiert ist, bewirkt diese ungünstige Konstellation eine zunehmende Hyperglykämie, Hyperinsulin-

ämie, periphere Insulinresistenz und führt zur Adipositas [44]. Pharmakologische Aktivatoren von PPAR- γ , die sogenannten Glitazone (Troglitazon, Rosiglitazon, Pioglitazon, Isaglitazon, u.a.), sind in der Lage, die Funktion der Insulinsignalkaskade wiederherzustellen, die Glukosesensitivität zu verbessern und die Glukoseaufnahme in die Zelle zu stimulieren. Glitazone werden deshalb bereits erfolgreich zur Behandlung des Typ-2-Diabetes eingesetzt.

Verglichen mit SREBP-1c/ADD-1 ist SREBP-2 in der Aufrechterhaltung der intrazellulären Cholesterinhomöostase effektiver [18, 45, 46]. SREBP-2 erfüllt nach heutigem Wissen ausschliesslich Aufgaben im Rahmen der Cholesterinregulation. SREBP-2 und nicht SREBP-1c/ADD-1 ist beispielsweise weitgehend dafür verantwortlich, dass eine Blockierung der endogenen Cholesterinbiosynthese durch HMG-CoA-Reduktase-Hemmer (auch Statine genannt) zur Aktivierung des LDL-Rezeptor-Gens führt. Die pharmakologische Hemmung der endogenen Cholesterinsynthese zwingt die Zelle aufgrund des entstehenden intrazellulären Cholesterinmangels dazu, SREBP-2 zu aktivieren mit dem Ziel, vermehrt extrazelluläres Cholesterin über den LDL-Rezeptor in die Zelle aufnehmen zu können. Der cholesterinsenkende Effekt der Statine beruht somit auf einer SREBP-2-vermittelten Aufregulation der Zahl der LDL-Rezeptor-Moleküle, was die Zellen vermehrt dazu befähigt, das Blutplasma von überschüssigen, cholesterinhaltigen LDL-Partikeln zu befreien.

Ausblick

In Anbetracht der Fortschritte hinsichtlich der Entschlüsselung des menschlichen Genoms sowie des zunehmenden Verständnisses der Bedeutung genetischer Faktoren in der Pathophysiologie zahlreicher Krankheiten stellt sich die Frage, ob diese Erkenntnisse nicht auch direkt zum Nutzen von Personen eingesetzt werden sollen, bei denen Störungen in diesen Genen vermutet werden. Eine fehlende Umsetzung dieser Erkenntnisse könnte im medizinischen Alltag eine verpasste Chance bedeuten, eine Krankheit frühzeitig zu behandeln und deren möglicherweise gravierenden Folgen zu verhindern. Voraussetzung ist die frühzeitige, oft molekulargenetische Diagnosestellung vor dem Auftreten von Komplikationen sowie die Möglichkeit einer effizienten Therapie. Familiäre Hypercholesterinämien sind ein ideales Modell für dieses Konzept. Sie sind deshalb die ersten genetischen Störungen, bei denen von der WHO unterstützte, weltweite Familienabklärungsprogramme, wie das Make Early Diagnosis – Prevent Early Death (MED PED)-Programm, ins Leben gerufen wurden.

Literatur

- 1 Defesche JC, Stephenson S, Kostner GM, Hegele RA, Gaudet D, Freiburger T, et al. Second WHO consultation and report on familial hypercholesterolemia. Geneva: World Health Organisation; 1999. http://whqlibdoc.who.int/hq/1999/WHO_HGN_FH_CONS_99.2.pdf.
- 2 Scientific Steering Committee. Risk of fatal coronary heart disease in familial hypercholesterolaemia. *Br Med J* 1991;303:893-6.
- 3 Miserez AR, Keller U. Prävention der koronaren Herzkrankheit bei familiären Hypercholesterinämien. *Ther Umsch* 1994;51:671-6.
- 4 Myant NB, Forbes SA, Day INM, Gallagher J. Estimation of the age of the ancestral arginine³⁵⁰⁰-glutamine mutation in human apo B-100. *Genomics* 1997;45:78-87.
- 5 Miserez AR, Muller PY. Familial defective apolipoprotein B-100: a mutation emerged in the mesolithic ancestors of Celtic peoples? *Atherosclerosis* 2000;148:433-6.
- 6 Miserez AR, Laager R, Chiodetti N, Keller U. High prevalence of familial defective apolipoprotein B-100 in Switzerland. *J Lipid Res* 1994;35:574-83.
- 7 Miserez AR, Keller U. Differences in the phenotypic characteristics of subjects with familial defective apolipoprotein B-100 and familial hypercholesterolemia. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1995;15:1719-29.
- 8 Pimstone SN, Defesche JC, Clee SM, Bakker HD, Hayden MR, Kastelein JJP. Differences in the phenotype between children with familial defective apolipoprotein B-100 and familial hypercholesterolemia. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1997;17:826-33.
- 9 Miserez AR, Braun JR. Anwendung genetischer Prinzipien zur Ursachenabklärung der Atherosklerose. *Ther Umsch* 1995;52:835-43.
- 10 Miserez AR. Present and future significance of molecular genetic testing in familial forms of hypercholesterolemia. In: Defesche JC, Stephenson S, Kostner GM, Hegele RA, Gaudet D, Freiburger T, et al., eds. Second WHO consultation and report on familial hypercholesterolemia. Geneva: World Health Organisation; 1999. pp. A14-A16. http://whqlibdoc.who.int/hq/1999/WHO_HGN_FH_CONS_99.2.pdf
- 11 Miserez AR, Schuster H, Chiodetti N, Keller U. Polymorphic haplotypes and recombination rates at the LDL receptor gene locus in subjects with and without familial hypercholesterolemia who are from different populations. *Am J Hum Genet* 1993;52:808-26.
- 12 Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986;232:34-47.
- 13 Goldstein JL, Schrott HG, Hazzard WR, Bierman EL, Motulsky AG, Campbell ED, et al. Genetic analysis of lipid levels in 176 families and delineation of a new inherited disorder, combined hyperlipidemia. *J Clin Invest* 1973;52:1544-68.
- 14 Yang WS, Nevin DN, Peng R, Brunzell JD, Deeb SS. A mutation in the promoter of the lipoprotein lipase (LPL) gene in a patient with familial combined hyperlipidemia and low LPL activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:4462-6.
- 15 Wojciechowski AP, Farrall M, Cullen P, Wilson TME, Bayliss JD, Farnen B, et al. Familial combined hyperlipidaemia linked to the apolipoprotein AI-CIII-AIV gene cluster on chromosome 11q23-q24. *Nature* 1991;349:161-4.
- 16 Xu CF, Talmud P, Schuster H, Houlston R, Miller G, Humphries S. Association between genetic variation at the APO AI- CIII- AIV gene cluster and familial combined hyperlipidaemia. *Clin Genet* 1994;46:385-97.
- 17 Wang X, Sato R, Brown MS, Hua X, Goldstein JL. SREBP-1, a membrane-bound transcription factor released by sterol-regulated proteolysis. *Cell* 1994;77:53-62.
- 18 Brown MS, Goldstein JL. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell* 1997;89:331-40.
- 19 Yokoyama C, Wang X, Briggs MR, Admon A, Wu J, Hua X, et al. SREBP-1, a basic-helix-loop-helix-leucine zipper protein that controls transcription of the low density lipoprotein receptor gene. *Cell* 1993;75:187-97.
- 20 Hua X, Yokoyama C, Wu J, Briggs MR, Brown MS, Goldstein JL, et al. SREBP-2, a second basic-helix-loop-helix-leucine zipper protein that stimulates transcription by binding to a sterol regulatory element. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:11603-7.
- 21 Sakai J, Rawson RB, Espenshade PJ, Cheng D, Seegmiller AC, Goldstein JL, et al. Molecular identification of the sterol-regulated luminal protease that cleaves SREBPs and controls lipid composition of animal cells. *Mol Cell* 1998;2:505-14.
- 22 Sakai J, Duncan EA, Rawson RB, Hua X, Brown MS, Goldstein JL. Sterol-regulated release of SREBP-2 from cell membranes requires two sequential cleavages, one within a transmembrane segment. *Cell* 1996;85:1037-46.
- 23 Sakai J, Nohturfft A, Goldstein JL, Brown MS. Cleavage of sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs) at site-1 requires interaction with SREBP cleavage-activating protein. (Evidence from *in vivo* competition studies). *J Biol Chem* 1998;273:5785-93.
- 24 Duncan EA, Davé UP, Sakai J, Goldstein JL, Brown MS. Second-site cleavage in sterol regulatory element-binding protein occurs at transmembrane junction as determined by cysteine panning. *J Biol Chem* 1998;273:17801-9.
- 25 Rawson RB, Zelenski NG, Nijhawan D, Ye J, Sakai J, Hasan MT, et al. Complementation cloning of S2P, a gene encoding a putative metalloprotease required for intramembrane cleavage of SREBPs. *Mol Cell* 1997;1:47-57.
- 26 Sidhof TC, Russell DW, Brown MS, Goldstein JL. 42 bp element from LDL receptor gene confers end-product repression by sterols when inserted into viral TK promoter. *Cell* 1987;48:1061-9.
- 27 Smith JR, Osborne TF, Goldstein JL, Brown MS. Identification of nucleotides responsible for enhancer activity of sterol regulatory element in low density lipoprotein receptor gene. *J Biol Chem* 1990;265:2306-10.
- 28 Smith JR, Osborne TF, Brown MS, Goldstein JL, Gil G. Multiple sterol regulatory elements in promoter for hamster 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A synthase. *J Biol Chem* 1988;263:18480-7.
- 29 Ericsson J, Jackson SM, Lee BC, Edwards PA. Sterol regulatory element binding protein binds to a cis element in the promoter of the farnesyl diphosphate synthase gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:945-50.
- 30 Horton JD, Shimomura I. Sterol regulatory element-binding proteins: activators of cholesterol and fatty acid biosynthesis. *Curr Opin Lipidol* 1999;10:143-50.
- 31 Brown MS, Goldstein JL. A proteolytic pathway that controls the cholesterol content of membranes, cells, and blood. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:11041-8.
- 32 Brown MS, Ye J, Rawson RB, Goldstein JL. Regulated intramembrane proteolysis: a control mechanism conserved from bacteria to humans. *Cell* 2000;100:391-8.
- 33 Hua X, Wu J, Goldstein JL, Brown MS, Hobbs HH. Structure of the human gene encoding sterol regulatory element binding protein-1 (SREBF1) and localization of SREBF1 and SREBF2 to chromosomes 17p11.2 and 22q13. *Genomics* 1995;25:667-73.
- 34 Miserez AR, Cao G, Probst LC, Hobbs HH. Structure of the human gene encoding sterol regulatory element binding protein 2 (SREBF2). *Genomics* 1997;40:31-40.
- 35 Bennett MK, Lopez JM, Sanchez HB, Osborne TF. Sterol regulation of fatty acid synthase promoter: Coordinate feedback regulation of two major lipid pathways. *J Biol Chem* 1995;270:25578-83.

- 36 Foretz M, Guichard C, Ferré P, Foulfelle F. Sterol regulatory element binding protein-1c is a major mediator of insulin action on the hepatic expression of glucokinase and lipogenesis-related genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:12737-42.
- 37 Magana MM, Koo SH, Towle HC, Osborne TF. Different sterol regulatory element-binding protein-1 isoforms utilize distinct co-regulatory factors to activate the promoter for fatty acid synthase. *J Biol Chem* 2000;275:4726-33.
- 38 Shimomura I, Hammer RE, Richardson JA, Ikemoto S, Bashmakov Y, Goldstein JL, et al. Insulin resistance and diabetes mellitus in transgenic mice expressing nuclear SREBP-1c in adipose tissue: model for congenital generalized lipodystrophy. *Genes Dev* 1998;12:3182-94.
- 39 Shimomura I, Hammer RE, Ikemoto S, Brown MS, Goldstein JL. Leptin reverses insulin resistance and diabetes mellitus in mice with congenital lipodystrophy. *Nature* 1999;401:73-6.
- 40 Kersten S, Desvergne B, Wahli W. Roles of PPARs in health and disease. *Nature* 2000;405:421-4.
- 41 Flier JS, Hollenberg AN. ADD-1 provides major new insight into the mechanism of insulin action. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:14191-2.
- 42 Streicher R, Kotzka J, Müller-Wieland D, Siemeister G, Munck M, Avci H, et al. SREBP-1 mediates activation of the low density lipoprotein receptor promoter by insulin and insulin-like growth factor-I. *J Biol Chem* 1996;271:7128-33.
- 43 Shimomura I, Bashmakov Y, Ikemoto S, Horton JD, Brown MS, Goldstein JL. Insulin selectively increases SREBP-1c mRNA in the livers of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:13656-61.
- 44 Shimomura I, Matsuda M, Hammer RE, Bashmakov Y, Brown MS, Goldstein JL. Decreased IRS-2 and increased SREBP-1c lead to mixed insulin resistance and sensitivity in livers of lipodystrophic and ob/ob mice. *Mol Cell* 2000;6:77-86.
- 45 Shimano H, Horton JD, Shimomura I, Hammer RE, Brown MS, Goldstein JL. Isoform 1c of sterol regulatory element binding protein is less active than isoform 1a in livers of transgenic mice and in cultured cells. *J Clin Invest* 1997;99:846-54.
- 46 Horton JD, Shimomura I, Brown MS, Hammer RE, Goldstein JL, Shimano H. Activation of cholesterol synthesis in preference to fatty acid synthesis in liver and adipose tissue of transgenic mice overproducing sterol regulatory element-binding protein-2. *J Clin Invest* 1998;101:2331-9.