

血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1

陈 龙 综述, 刘乃丰 审校

(东南大学心血管病研究所 东南大学附属中大医院心内科, 江苏省南京市 210009)

[关键词] 病理学与病理生理学; 血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1; 综述; 氧化型低密度脂蛋白; 动脉粥样硬化

[摘 要] 血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 是一种氧化型低密度脂蛋白的特异性膜受体, 结构上属于 C 类血凝素分子家族, 在多种心血管疾病中发挥重要作用。文章就血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 的分子生物学特性、表达和调节、受体后信号传导机制和与心血管疾病的关系进行了综述。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

氧化型低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein, ox-LDL)和其受体的相互作用是引起动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)等心脑血管疾病的重要因素。ox-LDL 有多种受体, 如 SRA I/II、SRB I、CD36 和 CD68 等。1997 年, Sawamura 等^[1]首先从血管内皮细胞克隆了特异性的 ox-LDL 受体——血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体-1(lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1, LOX-1), 近年来研究发现, LOX-1 与多种病理生理过程密切相关。本文就 LOX-1 的研究进展作一综述。

1 血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 的分子生物学特性

1.1 血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 的分子结构

血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 为 II 型膜蛋白, 结构上属于 C 类血凝素分子家族, 主要表达于血管内皮细胞(颅内血管除外), 也可表达于平滑肌细胞、纤维母细胞、巨噬细胞、活化的小血小板以及心肌细胞等。人 LOX-1 由 273 个氨基酸组成, 分子质量为 30 939 Da, 包括血凝素样域、跨膜域和颈域三部分。血凝素样域是 LOX-1 识别配体的功能域, 其中第 3 个和第 4 个半胱氨酸之间的环状结构以及 C 末端的残基对于与 ox-LDL 的结合至关重要; 该区域氨基酸残基的突变可使 LOX-1 与 ox-LDL 的结合活性完全丧失^[2]。细胞中的某些蛋白酶, 可作用于 LOX-1 的两个部位, 即 Arg86-Ser87 和 Lys89-Ser90, 产生可溶性 LOX-1, 其分子质量约是 35 kDa^[3]。体内可溶性 LOX-1 的测定可能有助于对 As 和血管疾病的评价和预测^[3]。

不同生物的 LOX-1 有一定的同源性。人和牛的 LOX-1 结构在氨基酸序列上有 72% 的同源性; 在血凝素域进一步

保守, 81% 的氨基酸序列同一。兔 LOX-1 的分子质量为 45 kDa, 其结构与人 LOX-1 也高度保守。

1.2 血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 的基因定位

血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 基因是一个单拷贝基因, 位于 12 号染色体的 P12.3-P13.2, 跨度约为 15 kb。编码序列由 6 个外显子组成, 开始的 3 个外显子对应于蛋白的三个不同的功能区, 剩下的 3 个编码糖识别域。5' 端的调控区可能包括几种顺式调节元素, 如 GATA-2 结合元素, C-ets-1 结合元素, 佛波酯(PMA)反应元件和切应力反应元件, 它们可能介导 LOX-1 的诱导表达。LOX-1 的主要转录起始位点在 TATA 盒下游的 29 核苷酸和转录起始密码上游的 61 核苷酸, 辅助起始位点在主位点下游的 5 个碱基对。LOX-1 基因的增强子的大部分活性归因于包含 GC 和 CAAT 盒的区域(-150 到 -90)。

1.3 血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 的配体

血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 不能识别天然 LDL 和乙酰化 LDL(acetylated low density lipoproteins, AcLDL); 除了 ox-LDL 外, LOX-1 还能识别凋亡细胞、细菌、血小板以及晚期糖基化终产物(advanced glycation end-products, AGEs)。糖基化牛血清白蛋白(AGE-BSA)可与中华仓鼠卵巢(Chinese hamster ovary, CHO)细胞表达的牛 LOX-1 发生特异性结合, 并能为抗牛 LOX-1 抗体有效抑制^[4]。

2 血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 基因表达及其调节

血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 基因的表达过程尚未完全清楚。研究表明, LOX-1 首先合成了一个 40 kDa 前体蛋白, 在随后的 40 分钟内进一步糖基化并形成 50 kDa 的成熟形式^[3]; 糖基化抑制剂氨基葡萄糖可抑制这一过程。LOX-1 的表达受多种因素的调节。

2.1 血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 表达的自身调节

研究表明, ox-LDL 与 LOX-1 结合后, 以剂量和时间依赖方式上调 LOX-1 自身的表达, 该调节可能发生在转录水平, 可被抗 LOX-1 抗体和反义 LOX-1 阻断。ox-LDL 通过体内粥

[收稿日期] 2003-03-27 **[修回日期]** 2003-07-30

[作者简介] 陈龙, 男, 1976 年出生, 江苏省南通市人, 心内科在读硕士研究生, 研究方向为动脉粥样硬化的发生机制, 联系电话: 025-3200084, E-mail: longchen368@hotmail.com。刘乃丰, 男, 1960 年出生, 浙江省湖州市人, 博士, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 从事动脉粥样硬化的发生机制的研究, 联系电话: 025-3272001

样组织中的 LOX-1 而被摄入,使得 LOX-1 的表达上调,这将进一步增加 ox-LDL 摄入,活化内皮细胞,引发和促进内皮功能不全;该效应可被他汀类药物和钙通道阻断剂(Nifedipine)抑制^[5,6]。

2.2 炎症因子对血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 表达的调节

Minami 等^[7]发现,转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$)可在转录水平诱导牛主动脉内皮细胞和平滑肌细胞 LOX-1 mRNA 和蛋白的表达,呈剂量和时间依赖性。此外,TGF- $\beta 1$ 也上调巨噬细胞 LOX-1 的表达;但同时下调其 CD36 和 A 类清道夫受体(class A scavenger receptor, SRA)的表达。在 TGF- $\beta 1$ 的作用下,巨噬细胞摄入 ox-LDL 的总量是显著下降的,有利于减少泡沫细胞的形成,从而可以预防和减缓 As 的发生;同时 TGF- $\beta 1$ 能够促进细胞外基质的沉积,因而对于增加斑块的稳定性也具有重要意义。组胺通过 H2 受体介导的环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)信号转导途径调节 LOX-1 基因的转录,上调单核细胞的 LOX-1 表达;该作用在细胞分化为巨噬细胞后减弱^[8]。肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)不仅能促进内皮细胞表达粘附分子,增加白细胞和内皮细胞的粘附^[9],而且可在转录水平上调单核细胞 LOX-1 的表达。弗司扣林和双丁酰环磷酸苷(Bz2-cAMP)也能增加单核细胞的 LOX-1 表达,并且在细胞分化为巨噬细胞后仍能上调其蛋白表达^[8]。

2.3 其它因素对血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 表达的调节

去甲肾上腺素和内皮素 1(endothelin-1),可诱导新生大鼠原代心肌细胞 LOX-1 的大量表达。内皮素 1 还可经内皮素受体 B 诱导人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)的 LOX-1 的 mRNA 和蛋白表达,促进 ox-LDL 的摄入^[10]。

晚期糖基化终产物能够诱导巨噬细胞 LOX-1 基因的表达,从而增加 ox-LDL 的摄入,促进泡沫细胞的形成,在糖尿病(diabetes mellitus, DM)病人加速的 As 损害中起重要作用。研究发现:DM 大鼠血清和 AGE-BSA 可诱导主动脉内皮细胞 LOX-1 的表达^[11]。

缺血再灌注(ischemia-reperfusion, I/R)损伤可使心肌细胞的 LOX-1 表达增加^[12],此外,血管紧张素 II(angiotensin II, Ang II)、细菌内毒素、过氧化物酶体增生物激活受体(PPAR) α 的配体(非诺贝特和 WY14643)、切应力以及脑卒中等均可上调 LOX-1 mRNA 和蛋白的表达。

3 血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 的细胞内信号传导机制及作用

血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 的活化可引起细胞凋亡、粘附分子表达增加等,其确切的信号传导机制尚无定论;目前认为,LOX-1 通过多种途径发挥生物学效应。

3.1 蛋白激酶途径

Iwai-Kanai 等^[13]发现,心肌细胞 LOX-1 的活化可诱导心

肌细胞内 P38 丝裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)的激活;P38 MAPK 特异性抑制剂 FR167 653,几乎可完全阻断 LOX-1 激活诱导的细胞凋亡。此外,反义 LOX-1 能够完全抑制 ox-LDL 诱导的 MAPK 的活化;提示 LOX-1 引起的心肌细胞凋亡需要 P38 MAPK 这一氧化应激敏感的信号转导分子的参与。

血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1(LOX-1)与 ox-LDL 结合后,可引起主动脉内皮细胞蛋白激酶 C- β 亚型(protein kinase C- β isoform, PKC- β)活化,基质金属蛋白酶(MMP-1 和 MMP-3)的表达增加;抗 LOX-1 单克隆抗体和 PKC- β 抑制剂可抑制该效应^[14]。

研究发现,ox-LDL 通过与 LOX-1 的结合,减少了蛋白激酶 B(protein kinase B, PKB)的磷酸化;细胞内信号 PKB 与原生型一氧化氮合酶(constitutive nitric oxide synthase, cNOS)的调节有关^[15]。羟甲基戊二酰辅酶 A(HMG CoA)还原酶抑制剂可上调 PKB 的活性,抑制 LOX-1 mRNA 和蛋白的表达,减少 ox-LDL 的摄入,且呈剂量依赖关系^[15]。

3.2 活性氧簇途径

血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1(LOX-1)与配体 ox-LDL 和血小板结合后,可诱导细胞内活性氧簇(O₂)的产生,呈时间和剂量依赖方式,进而使一氧化氮(NO)浓度降低^[16];同时核因子 κB (NF- κB)活化,使 E-选择素、P 选择素、细胞间粘附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)、血管细胞粘附分子 1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)等表达增加^[5],引起内皮功能不全。抗 LOX-1 单抗可抑制这些生物效应;另外,反义 LOX-1 可完全抑制 ox-LDL 介导的 NF- κB 的激活,咖啡酸苯乙基酯(NF- κB 抑制剂)也可抑制 ox-LDL 介导的人冠状动脉内皮细胞(HCAECs)的凋亡。

4 血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 与心血管疾病

4.1 血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 与动脉粥样硬化

单核细胞粘附到血管内皮细胞是 As 形成的第一步,而 LOX-1 可促进这一过程的进行。Hayashida 等^[17]的研究表明:在静止条件下,表达 LOX-1 的 CHO-K1 细胞(以及 BAEC)和外周血单核细胞的粘附较对照更为显著,且呈温度依赖模式;而 ox-LDL、抗 LOX-1 的单克隆抗体可显著阻断这种粘附。流动条件下,当流动相中的细胞经过静止相中表达有 LOX-1 的 CHO-K1 细胞时,细胞的流速降低;且与未转染 LOX-1 的 CHO-K1 相比,流动相中降低速度的细胞数量增多,提示 LOX-1 可促进细胞间的粘附作用^[17]。

内皮细胞表面的 LOX-1 可识别血小板表面的处于激活态的阴性磷脂,从而促进血小板和内皮细胞的结合,增加内皮内皮素 1 的释放;LOX-1 还介导 ox-LDL 引起的内皮细胞损伤,导致内皮功能不全,同时促进 SMC 增殖,内膜增厚,并通过心肌梗死和中风直接影响 As 的预后。

另外,血小板经活化后可表达 LOX-1,而 LOX-1 又能识别活化的血小板并与之结合,故血小板表面 LOX-1 的表达可促进血栓的形成^[18];在急性冠状动脉综合征可能起重要作用

用。在不稳定性心绞痛(UAP)病人,As 斑块处的免疫组化显示,LOX-1 蛋白在血栓处积聚^[18]。

氧化型低密度脂蛋白通过 LOX-1 的活化,以时间和浓度依赖方式,上调转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) 受体的表达,减少活性 TGF- $\beta 1$ 的合成,调节粘附分子和趋化因子的表达以及细胞间的粘附^[19];ox-LDL 还诱导血管 SMC 的 LOX-1 表达增加,增强摄入 ox-LDL 的活性,日益改变血管 SMC 的功能,从而加速 As 的发生和发展。

4.2 血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 与其它心血管病

在 I/R 中,损伤区 MMP-1 和粘附分子(P 选择素、VCAM-1 和 ICAM-1)的表达显著增加,白细胞聚集;而 LOX-1 抗体可显著抑制该效应,并缩小梗死面积;提示 LOX-1 的活化与缺血再灌注损伤的程度密切相关^[12,20]。

由于家族性高血压的遗传位点已被发现位于与 LOX-1 相重叠的区域,同时自发性高血压大鼠(SHR)主动脉 LOX-1 的表达显著上调,因此 LOX-1 可能是家族性高血压的基因。另有实验发现,LOX-1 可诱导心肌细胞的凋亡,而衰竭大鼠心脏的心肌细胞和血管壁 LOX-1 的表达均上调,提示 LOX-1 与心衰的发生发展密切相关^[13]。

细胞表面的 LOX-1 可支持革兰氏阳性和阴性细菌的粘附^[21]。金葡菌和埃希氏大肠杆菌都可和 LOX-1 发生粘附,且不需要二价阳离子和血清因子;因而在感染性心内膜炎等细菌性感染过程中,LOX-1 可能发挥着重要作用^[21]。

5 结语

心血管疾病是当前世界上严重危害人类生命和健康的最主要疾病之一,其发病率和死亡率均居各种疾病前列。LOX-1 在心血管疾病发生发展中的作用,正日益为人们认识和重视。对 LOX-1 的作用、表达调节、细胞内信号转导等方面认识的加深,将可能给我们对心血管疾病的诊断和治疗带来新的途径。

【参考文献】

- [1] Sawamura T, Kume N, Aoyama T, Moriaki H, Hoshikawa H, Aiba Y, et al. An endothelial receptor for oxidized low-density lipoprotein. *Nature*, 1997, **386** (6620): 73-77
- [2] Chen M, Narumiya S, Masaki T, Sawamura T. Conserved C-terminal residues within the lectin-like domain of LOX-1 are essential for oxidized low-density-lipoprotein binding. *Biochem J*, 2001, **355** (Pt 2): 289-296
- [3] Kume N, Kita T. Roles of lectin-like oxidized LDL receptor-1 and its soluble forms in atherogenesis. *Curr Opin Lipidol*, 2001, **12** (4): 419-423
- [4] Jono T, Miyazaki A, Nagai R, Sawamura T, Kitamura T, Horiuchi S. Lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1 (LOX-1) serves as an endothelial receptor for advanced glycation end products (AGE). *FEBS Lett*, 2002, **511** (1-3): 170-174
- [5] Li D, Chen H, Romeo F, Sawamura T, Saldeen T, Mehta JL. Statins modulate

- oxidized low-density lipoprotein-mediated adhesion molecule expression in human coronary artery endothelial cells: role of LOX-1. *J Pharmacol Exp Ther*, 2002, **302** (2): 601-605
- [6] Sugano M, Tsuchida K, Makino N. Nifedipine prevents apoptosis of endothelial cells induced by oxidized low-density lipoproteins. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2002, **40** (1): 146-152
- [7] Minami M, Kume N, Kataoka H, Morimoto M, Hayashida K, Sawamura T, et al. Transforming growth factor-beta(1) increases the expression of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, **272** (2): 357-361
- [8] Tanimoto A, Murata Y, Nonaguchi M, Kimura S, Arima N, Xu H, et al. Histamine increases the expression of LOX-1 via H2 receptor in human monocytic THP-1 cells. *FEBS Lett*, 2001, **508** (3): 345-349
- [9] 熊燕. 二甲亚砜抑制肿瘤坏死因子刺激内皮细胞粘附分子的表达. 中国动脉硬化杂志, 1999, **7** (4): 299-302
- [10] Morawietz H, Duerschmidt N, Niemann B, Galle J, Sawamura T, Holtz J. Augmented endothelial uptake of oxidized low-density lipoprotein in response to endothelin-1. *Clin Sci (Lond)*, 2002, **103** (Suppl 48): 9S-12S
- [11] Chen M, Nagase M, Fujita T, Narumiya S, Masaki T, Sawamura T. Diabetes enhances lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) expression in the vascular endothelium; possible role of LOX-1 ligand and AGE. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, **287** (4): 962-968
- [12] Kataoka K, Hasegawa K, Sawamura T, Fujita M, Yanazume T, Iwai-Kanai E, et al. LOX-1 pathway affects the extent of myocardial ischemia-reperfusion injury. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, **300** (3): 656-660
- [13] Iwai-Kanai E, Hasegawa K, Sawamura T, Fujita M, Yanazume T, Toyokuni S, et al. Activation of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 induces apoptosis in cultured neonatal rat cardiac myocytes. *Circulation*, 2001, **104** (24): 2948-954
- [14] Li D, Liu L, Chen H, Sawamura T, Ranganathan S, Mehta JL. LOX-1 mediates oxidized low-density lipoprotein-induced expression of matrix metalloproteinases in human coronary artery endothelial cells. *Circulation*, 2003, **107** (4): 612-617
- [15] Li DY, Chen HJ, Mehta JL. Statins inhibit oxidized-LDL-mediated LOX-1 expression, uptake of oxidized-LDL and reduction in PKB phosphorylation. *Cardiovasc Res*, 2001, **52** (1): 130-135
- [16] Cominacini L, Fratta Pasini A, Garbin U, Pastorino A, Rigoni A, Nava C, et al. The platelet-endothelium interaction mediated by lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 reduces the intracellular concentration of nitric oxide in endothelial cells. *J Am Coll Cardiol*, 2003, **41** (3): 499-507
- [17] Hayashida K, Kume N, Minami M, Kita T. Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) supports adhesion of mononuclear leukocytes and a monocyte-like cell line THP-1 cells under static and flow conditions. *FEBS Lett*, 2002, **511** (1-3): 133-138
- [18] Chen M, Kakutani M, Naruko T, Ueda M, Narumiya S, Masaki T, et al. Activation-dependent surface expression of LOX-1 in human platelets. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, **282** (1): 153-158
- [19] Chen H, Li D, Saldeen T, Mehta JL. Transforming growth factor-beta(1) modulates oxidatively modified LDL-induced expression of adhesion molecules: role of LOX-1. *Circ Res*, 2001, **89** (12): 1155-1160
- [20] Li D, Williams V, Liu L, Chen H, Sawamura T, Antakli T, et al. LOX-1 inhibition in myocardial ischemia-reperfusion injury: modulation of MMP-1 and inflammation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2002, **283** (5): H1795-H1801
- [21] Shimaoka T, Kume N, Minami M, Hayashida K, Sawamura T, Kita T, et al. LOX-1 supports adhesion of Gram-positive and Gram-negative bacteria. *J Immunol*, 2001, **166** (8): 5108-114

(此文编辑 朱雯霞,胡必利)