

sLOX-1: 一个极具研究潜力的心血管疾病诊断生物标志物

孟兆丽, 相宏宇, 谢秋宏

(吉林大学生命科学学院, 吉林省长春市 130012)

[关键词] 可溶性凝集素样氧化型低密度脂蛋白受体 1; 生物标志物; 疾病诊断

[摘要] 凝集素样氧化型低密度脂蛋白受体 1(LOX-1)是血管内皮细胞上氧化型低密度脂蛋白的主要受体,其胞外结构域被降解后释放到血液中,形成可溶性 LOX-1(sLOX-1)。血清 sLOX-1 水平在动脉硬化及血管内皮细胞损伤相关疾病患者中明显升高,是极具研究潜力的生物标志物。本文首次对 sLOX-1 作为心血管等疾病生物标志物的最新研究进展进行了全面综述。

[中图分类号] Q513

[文献标识码] A

sLOX-1: a Potential Biomarker for Cardiovascular Disease Diagnosis

MENG Zhao-Li, XIANG Hong-Yu, and XIE Qiu-Hong

(School of Life Science, Jilin University, Changchun, Jilin 130012, China)

[KEY WORDS] Soluble Lectin-like Oxidized Low Density Lipoprotein Receptor-1; Biomarker; Disease Diagnosis

[ABSTRACT] The lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1 (LOX-1) on the vascular endothelial cell is the main receptor for oxidized low density lipoprotein. The extracellular domain of LOX-1 on the cell surface can undergo proteolysis and be released as soluble LOX-1 (sLOX-1). The level of sLOX-1 in serum elevates for relative disease with atherosclerosis and vascular endothelium injuries, which suggests sLOX-1 is a promising biomarker. In the present paper the cardiovascular related diseases regarding sLOX-1 as biomarker were firstly reviewed in detail.

可溶性凝集素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 (soluble lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1, sLOX-1) 是多种疾病的潜在生物标志物,尤其在急性冠状动脉综合征 (acute coronary syndrome, ACS) 和冠状动脉疾病 (coronary artery disease, CAD) 的预测中,其灵敏度和特异性都优于已知生物标志物,具有临床实际应用价值。本文首次对 sLOX-1 与心血管疾病相关性的研究进展进行了全面综述。

1 凝集素样氧化型低密度脂蛋白的结构特征

1997 年, Sawamura 等^[1]首次在牛主动脉内皮细胞上发现凝集素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 (lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1,

LOX-1)。次年, Yamanaka 等^[2]在人自然杀伤细胞上也发现了 LOX-1, 人 LOX-1 与牛的同源性为 72%。LOX-1 是相对分子量约 40 kDa 的 II 型膜蛋白,属于 C 型凝集素家族。LOX-1 由四个结构域组成,分别为 N-末端胞浆结构域 (N-terminal cytoplasmic domain, CTD)、跨膜结构域 (transmembrane domain, TMD)、连接颈环结构域 (connecting neck domain, NECK) 和 C-末端凝集素样结构域 (C-terminal lectin-like domain, CTLD)^[3]。CTLD 是 LOX-1 结合并内吞其配体的功能结构域, LOX-1 的 260~265 位氨基酸构成了其与配体结合的基本骨架^[3-5]。Xie 等^[5-6]采用包涵体复性方法获得重组人 CTLD 蛋白,并采用免疫共沉淀方法最早发现人 LOX-1 单体通过 Cys140 之间二硫键而形成同源二聚体,是 LOX-1 最小功能单位,随后的结晶结果也证实了此发

[收稿日期] 2014-09-04

[修回日期] 2015-09-14

[基金项目] 国家自然科学基金(81072564);吉林省科学技术厅科技发展计划(20130727036YY 和 20140203001YY)

[作者简介] 孟兆丽,博士研究生,主要研究方向为抗体工程,E-mail 为 mengzhaoli2300@sina.com。相宏宇,博士,副教授,主要研究方向为微生物与蛋白质工学,E-mail 为 hyxiang@jlu.edu.cn。通讯作者谢秋宏,博士,教授,博士研究生导师,主要研究方向为微生物与生化药学,E-mail 为 qhxie@jlu.edu.cn。

现^[4]。Ohki 等^[4]于 2005 年发表了 CTLD 的晶体结构、LOX-1 的结构模型和 LOX-1 与配体氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 结合的模型, LOX-1 以寡聚体形式聚集成簇, 结合并内吞 ox-LDL。只有当各种刺激因素上调 LOX-1 表达超过阈值后, LOX-1 才以寡聚体形式发挥配体结合功能^[7-8]。

2 LOX-1 的生理功能

LOX-1 结合并内吞 ox-LDL, 介导内皮细胞激活、损伤和功能紊乱, 并诱发血管平滑肌细胞增殖、迁移到内皮使内皮变厚^[9-11]。LOX-1 能够介导 ox-LDL 诱导血管平滑肌细胞凋亡, 提高炎症趋化因子和黏附分子如单核细胞趋化蛋白 1、E-和 P-选择蛋白、血管细胞黏附分子 1 以及细胞内黏附分子 1 在上皮细胞的表达量^[12]。作为清道夫受体, LOX-1 通过结合、内吞 ox-LDL 而导致平滑肌细胞、单核细胞和巨噬细胞泡沫化^[13], 泡沫细胞堆积从而形成动脉硬化斑块。LOX-1 介导的 ox-LDL 也能刺激基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 释放, 降低基质金属蛋白酶抑制剂对其的作用^[12,14]。MMP 的表达可促进斑块胶原纤维的分解, 从而导致斑块破裂^[15], 造成多种并发症发生。

3 sLOX-1

Murase 等^[16]于 2000 年发现 LOX-1 胞外结构域由苯甲基磺酰氟敏感性未知蛋白酶水解, 释放到血液中形成 sLOX-1。牛 LOX-1 胞外结构域有两个蛋白酶切位点, 分别位于 Arg86-Ser87 和 Lys89-Ser90 之间。2013 年 Biocca 等^[17]发现人 sLOX-1 的水解位点在 Arg88-Gln89 之间。sLOX-1 的释放机制目前尚不完全明确。血清 sLOX-1 与多种血管内皮细胞损伤疾病具有相关性, 其临床实际应用价值巨大。

4 sLOX-1 是多种疾病的生物标志物

4.1 sLOX-1 是 ACS 的生物标志物

ACS 是由于动脉硬化斑块破裂导致血栓致使心肌严重缺血的疾病, 是心脏病性死亡的主要原因, ACS 的早期诊断、危险分层和及时治疗具有重要意义^[18]。动脉硬化斑块主要由富含脂质的巨噬细胞和被激活的平滑肌细胞组成^[19-20]。LOX-1 大

量表达在斑块表面, 并诱导平滑肌细胞凋亡和血管内皮细胞产生 MMP; LOX-1 可导致斑块不稳定并促使其破裂。内皮细胞分泌的 MMP 还可提高 LOX-1 的表达量, 从而进一步促进动脉硬化斑块发展, 加剧 ACS 的恶化^[13]。

特异而敏感的生物标志物对于 ACS 的早期诊断至关重要。众多研究表明 sLOX-1 是 ACS 的一个具有潜在应用价值的生物标志物。Hayashida 等^[21]发现, 根据患者血清 sLOX-1 水平就能够将 ACS 患者与其他疾病患者区分开来, 且灵敏度和特异性分别达到 91% 和 83%。目前 ACS 的血清生物标志物主要有高敏肌钙蛋白 T (troponin T, TnT)、肌酸激酶-MB、肌红蛋白、高敏心型脂肪酸结合蛋白 (heart fatty acid binding protein, H-FABP) 和高敏 C 反应蛋白 (high sensitivity C-reactive protein, hs-CRP)^[22]。虽然 TnT 和 H-FABP 在 ACS 患者血清中的含量都很高, 但研究表明其灵敏度和特异性都远不如 sLOX-1。Kume 等^[23]测定了 18 名 ACS 患者和 89 名非 ACS 患者血清 sLOX-1、TnT 和 H-FABP 水平, 受试者工作特征曲线 (receiver operating characteristic curve, ROC) 分析结果表明, sLOX-1、TnT 和 H-FABP 的曲线下面积 (area under curve, AUC) 分别为 0.948、0.704 和 0.691, sLOX-1 的 AUC 值最高且接近 1; 即使在 TnT 检测结果显示为阴性的实验组中, sLOX-1 的 AUC 值也可达到 0.848, 远高于 H-FABP 的 0.476。此研究结果揭示了 sLOX-1 是一个较 TnT 和 H-FABP 更灵敏的 ACS 生物标志物。Hayashida 等^[21]发现, ACS 患者血清 sLOX-1 峰值的出现早于 TnT, 说明 sLOX-1 具有更早检测出 ACS 的潜力。由此可见, sLOX-1 无论在灵敏度、特异性, 还是早期预测方面都是一个极具潜力的 ACS 生物标志物。

不同阶段 ACS 斑块的复杂程度和易损程度不同。随着病情恶化, 斑块的复杂程度和易损程度也随之提高。具有破裂倾向的斑块一旦破裂就会导致相应并发症的发生, 如脑梗死、心肌梗死、中风和血栓等, 严重的并发症可导致猝死或终身残疾。因此, 斑块危险分层对于掌握和稳定病情十分重要。研究表明血清 sLOX-1 水平还能反映 ACS 动脉硬化斑块的复杂程度。Kobayashi 等^[24]以 128 名 ACS 患者为研究对象, 测定其血清 sLOX-1、hs-CRP 和高敏 TnT 水平; 根据光学相干断层成像结果, 将其中的 75 名 ACS 患者划分为具有斑块破裂组和无斑块破裂组, 以无斑块破裂的稳定型心绞痛患者作为阴性对照组。实验结果表明, ACS 组血清 sLOX-1、hs-CRP 和高敏 TnT 水平明显高于阴性对照组; 区分斑

块破裂组和无斑块破裂组的 ROC 分析结果显示, sLOX-1、hs-CRP 和高敏 TnT 的 AUC 值分别为 0.782、0.531 和 0.643,证实了 sLOX-1 的灵敏度高于 hs-CRP 和高敏 TnT。此外,斑块破裂组 sLOX-1 水平明显高于无斑块破裂组,而两组 hs-CRP 和 TnT 水平相当;区分 ACS 中有无破裂动脉硬化斑块的 ROC 分析结果显示, sLOX-1、hs-CRP 和高敏 TnT 的 AUC 值分别为 0.718、0.506 和 0.524,表明 sLOX-1 能够区别斑块的复杂程度及易损程度,而 hs-CRP 和高敏 TnT 则不能。sLOX-1 对动脉硬化斑块复杂程度的区分,是其他 ACS 生物标志物所无法替代的,因此它有潜力成为动脉硬化斑块临床分层的重要参考指标。

4.2 sLOX-1 是 CAD 的生物标志物

冠状动脉是输送血液及氧气到心脏的血管。CAD 是指冠状动脉狭窄或阻塞,导致心肌缺氧所造成的缺血性心脏病,严重威胁着人类的健康和生命。CAD 的临床症状主要有心绞痛、心律失常、心力衰竭、心肌梗死和猝死。CAD 生物标志物的研究一直是科学家关注的热点。Lubrano 等^[25]测定了 60 名 CAD 患者与健康人血清 sLOX-1,发现 CAD 患者血清 sLOX-1 水平明显高于健康对照组。Hayashida 等^[21]研究也获得了相似结果。

sLOX-1 水平与 CAD 患者的动脉硬化斑块复杂程度也具有相关性。研究结果表明 CAD 患者的斑块越复杂,其血清 sLOX-1 水平也越高。Zhao 等^[26]结合患者血管造影和血清 sLOX-1 检测结果发现,具有复杂斑块的 CAD 患者 sLOX-1 平均水平明显高于具有简单斑块的 CAD 患者,而 ACS 患者的 sLOX-1 平均水平则明显高于以上 CAD 患者的平均水平。稳定型 CAD 患者的血管重建是一种有效的康复手段,经皮冠状动脉介入治疗是其中常用方法,但具有相当的手术风险。Balin 等^[27]研究发现, sLOX-1 水平与经皮冠状动脉介入治疗相关的围术期心肌梗死具有相关性,根据 sLOX-1 水平可预测围术期的心肌坏死;尤其重要的是, sLOX-1 还可用于鉴定 CAD 患者经皮冠状动脉介入治疗相关的围术期心肌梗死风险程度,预先对手术风险进行评估。由此可见, sLOX-1 不仅是 CAD 的生物标志物,而且还可反映 CAD 患者动脉硬化斑块的复杂程度。

4.3 sLOX-1 是 2 型糖尿病的生物标志物

糖尿病是以氧化压力、炎症和内皮损伤为特征的一种常见代谢疾病,是心血管疾病的高风险因子。随着病情恶化,患者会承受多种并发症如心脏缺血、肾病、神经病、视网膜病和伤口无法愈合等。

糖尿病的发病原因是多重的,它与氧化压力和炎症息息相关。而 LOX-1 参与多重信号转导通路的氧化压力和炎症的发展。最新研究表明 LOX-1 在糖尿病发展进程中具有重要作用,并参与糖尿病并发症的形成,但潜在机制尚不明确。Tan 等^[28]发现 2 型糖尿病患者的血清 sLOX-1 水平明显升高,较健康对照组高 9%;LOX-1 表达显著受葡萄糖影响,降低葡萄糖可减少 sLOX-1。

sLOX-1 在糖尿病患者的血管动脉硬化疾病中也具有重要作用。踝臂指数(ankle brachial index, ABI)是评价外周动脉疾病简单而重要的指标,是预测心血管事件的重要因子。Michiaki 等^[29]对 410 名患有糖尿病外周动脉疾病患者血清 sLOX-1 水平和 ABI 进行了测定。逐级回归结果表明,血清 sLOX-1 与 ABI 具有相关性;多重逻辑回归分析揭示,血清 sLOX-1 与糖尿病外周动脉疾病也具有相关性。以上结果说明了 sLOX-1 的血清水平与 2 型糖尿病显著相关,是 2 型糖尿病的一个潜在生物标志物。这一发现为 2 型糖尿病的发病机制和诊断研究提供了新思路。

4.4 sLOX-1 是其他疾病的潜在生物标志物

sLOX-1 与其他疾病的相关性逐渐成为新热点。研究表明 sLOX-1 不仅与 ACS、CAD 和 2 型糖尿病相关,而且还与膝骨关节炎^[30]、勃起功能障碍^[31]、代谢综合征^[32]、妊娠高血压^[33]和神经性退变^[34]等具有显著相关性。

Yang 等^[30]采用 ELISA 测定了 216 名膝骨关节炎患者和 83 名健康人膝盖滑液中的 sLOX-1 水平后发现,伴随着膝骨关节炎严重程度的增加, sLOX-1 的水平也随之明显升高。sLOX-1 在勃起功能障碍患者血清中的水平也明显升高^[31]。在接受调查的患者中,如果以 sLOX-1 > 75 ng/L 作为预测勃起功能障碍疾病的标准,其灵敏度和的特异性分别为 26.8% 和 96%。Civelek 等^[32]在研究代谢综合征和 sLOX-1 相关性的实验中发现, sLOX-1 水平还可作为代谢综合征早期内皮损伤的预测指标,它能精确地反映出代谢综合征患者内皮损伤的程度。

5 展望

血清 sLOX-1 具有多种疾病的预测能力。尤其对于 ACS 和 CAD 两种疾病, sLOX-1 拥有较其他血清生物标志物更精确的诊断能力,并具有判断动脉硬化斑块复杂程度和易损程度的潜力。未来, sLOX-1 可能会成为新型相关疾病临床诊断的高效生物标志物。

同时,血清 sLOX-1 水平的检测将可能成为常规体检的重要参考指标。虽然 sLOX-1 在临床应用中具有无限潜力,但是诸多问题如血清 sLOX-1 高效检测试剂的研发、高通量快速检测方法的建立、不同疾病的 sLOX-1 诊断水平确定、动脉硬化斑块危险分层的 sLOX-1 水平范围划分等仍亟需解决。希望通过 sLOX-1 治病机制及其与疾病相关性的进一步研究使其早日应用于临床,为患者带来福音。

[参考文献]

- [1] Sawamura T, Kume N, Aoyama T, et al. An endothelial receptor for oxidized low-density lipoprotein[J]. *Nature*, 1997, 386 (6620): 73-77.
- [2] Yamanaka S, Zhang XY, Miura K, et al. The human gene encoding the lectin-type oxidized ldl receptor (OLR1) is a novel member of the natural killer gene complex with a unique expression profile[J]. *Genomics*, 1998, 54 (2): 191-199.
- [3] Chen M, Narumiya S, Masaki T, et al. Conserved C-terminal residues within the lectin-like domain of LOX-1 are essential for oxidized low-density-lipoprotein binding[J]. *Biochem J*, 2001, 355 (2): 289-296.
- [4] Ohki I, Ishigaki T, Oyama T, et al. Crystal structure of human lectin-like, oxidized low-density lipoprotein receptor 1 ligand binding domain and its ligand recognition mode to oxLDL[J]. *Structure*, 2005, 13 (6): 905-917.
- [5] Xie Q, Matsunaga S, Shi X, et al. Refolding and characterization of the functional ligand-binding domain of human lectin-like oxidized LDL receptor[J]. *Protein Expr Purif*, 2003, 32 (1): 68-74.
- [6] Xie QH, Matsunaga S, Niimi S, et al. Human lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 functions as a dimer in living cells[J]. *DNA Cell Biol*, 2004, 23 (2): 111-117.
- [7] Matsunaga S, Xie Q, Kumano M, et al. Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor (LOX-1) functions as an oligomer and oligomerization is dependent on receptor density[J]. *Exp Cell Res*, 2007, 313 (6): 1 203-214.
- [8] Ohki I, Amida H, Yamada R, et al. Surface plasmon resonance study on functional significance of clustered organization of lectin-like oxidized LDL receptor (LOX-1)[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1814 (2): 345-354.
- [9] Ando K, Fujita T. Role of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (LOX-1) in the development of hypertensive organ damage[J]. *Clin Exp Nephrol*, 2004, 8 (3): 178-182.
- [10] Kenney WL, Cannon JG, Alexander LM. Cutaneous microvascular dysfunction correlates serum LDL and sLOX-1 receptor concentrations[J]. *Microvasc Res*, 2013, 85: 112-117.
- [11] Chen XP, Zhang TT, Du GH. LOX-1—a new promising target for the therapy of atherosclerosis [J]? *Cardiovasc Drug Rev*, 2007, 25 (2): 146-161.
- [12] Dunn S, Vohra RS, Murphy JE, et al. The lectin-like oxidized low-density-lipoprotein receptor: a pro-inflammatory factor in vascular disease[J]. *Biochem J*, 2008, 409 (2): 349-355.
- [13] Ding Z, Liu S, Wang X, et al. LOX-1, oxidant stress, mtDNA damage, autophagy, and immune response in atherosclerosis [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2014, 92 (7): 524-530.
- [14] Li DY, Liu L, Chen HJ, et al. LOX-1 mediates oxidized low-density lipoprotein-induced expression of matrix metalloproteinases in human coronary artery endothelial cells [J]. *Circulation*, 2003, 107 (4): 612-617.
- [15] 霍煜, 梁卓, 韩雅玲, 等. 冠心舒通胶囊对 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化斑块内 MMP-9 和 TIMP-1 表达的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22 (5): 463-466.
- [16] Murase T, Kume N, Kataoka H, et al. Identification of soluble forms of lectin-like oxidized LDL receptor-1[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20 (3): 715-720.
- [17] Biocca S, Arcangeli T, Tagliaferri E, et al. Simulative and experimental investigation on the cleavage site that generates the soluble human LOX-1[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2013, 540 (1-2): 9-18.
- [18] 李婉, 白小涓. 代谢综合征与冠状动脉狭窄程度及心血管危险评分的关系[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2012, 20 (12): 1 133-136.
- [19] 阳巍. 姜黄素抗动脉粥样硬化研究进展[J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2012, 32 (1): 55-58.
- [20] Van der Wal AC, Becker AE. Atherosclerotic plaque rupture-pathologic basis of plaque stability and instability [J]. *Cardiovasc Res*, 1999, 41 (2): 334-344.
- [21] Hayashida K, Kume N, Murase T, et al. Serum soluble lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 levels are elevated in acute coronary syndrome: a novel marker for early diagnosis [J]. *Circulation*, 2005, 112 (6): 812-818.
- [22] 何文凤, 倪海燕. 超敏 C 反应蛋白与冠心病相关性研究进展 [J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2013, 33 (5): 437-441.
- [23] Kume N, Mitsuoka H, Hayashida K, et al. Soluble lectin-like oxidized LDL receptor-1 (sLOX-1) as a sensitive and specific biomarker for acute coronary syndrome-comparison with other biomarkers [J]. *J Cardiol*, 2010, 56 (2): 159-165.
- [24] Kobayashi N, Takano M, Hata N, et al. Soluble lectin-

- like oxidized LDL receptor-1 (sLOX-1) as a valuable diagnostic marker for rupture of thin-cap fibroatheroma: verification by optical coherence tomography[J]. *Int J Cardiol*, 2013, 168 (4): 3 217-223.
- [25] Lubrano V, Del Turco S, Nicolini G, et al. Circulating levels of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 are associated with inflammatory markers[J]. *Lipids*, 2008, 43 (10): 945-950.
- [26] Zhao ZW, Zhu XL, Luo YK, et al. Circulating soluble lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 levels are associated with angiographic coronary lesion complexity in patients with coronary artery disease[J]. *Clin Cardiol*, 2011, 34 (3): 172-177.
- [27] Balin M, Celik A, Kobat MA, et al. Circulating soluble lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 levels predict percutaneous coronary intervention-related periprocedural myocardial infarction in stable patients undergoing elective native single-vessel PCI[J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2012, 34 (4): 483-490.
- [28] Tan KC, Shiu SW, Wong Y, et al. Soluble lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1 in type 2 diabetes mellitus[J]. *J Lipid Res*, 2008, 49 (7): 1 438-444.
- [29] Michiaki F, Muhei T, Takafumi S, et al. LOX-1 is a novel marker for peripheral artery disease in patients with type 2 diabetes [J]. *Metabolism*, 2013, 62 (7): 935-938.
- [30] Yang CZ, Zhang YY, Zheng M. Soluble lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 levels in synovial fluid are correlated with disease severity of knee osteoarthritis[J]. *Clin Biochem*, 2011, 44 (13): 1 094-096.
- [31] Kobat MA, Firdolas F, Balin M, et al. Circulating soluble lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 levels are associated with erectile dysfunction in patients without known coronary artery disease[J]. *J Sex Med*, 2013, 10 (11): 2 782-789.
- [32] Civelek S, Kutnu M, Uzun H, et al. Soluble lectin-like oxidized ldl receptor 1 as a possible mediator of endothelial dysfunction in patients with metabolic syndrome[J]. *J Clin Lab Anal*, 2014, 29 (3): 184-190.
- [33] Tuten A, Erman H, Korkmaz GG, et al. Comparison of maternal and umbilical cord blood soluble lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor 1 levels in early- and late-onset preeclampsia[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2014, 290 (5): 1 007-020.
- [34] Liu J. LOX-1 and neurodegeneration[J]. *Neurosci Lett*, 2014, 580: 179-181.

(此文编辑 文玉珊)