

氧化型低密度脂蛋白的致病性及检测方法研究进展

张 鹤 综述, 刘庆平 审校

(辽宁省糖脂代谢研究重点实验室 大连大学生命科学与技术学院, 辽宁省大连市 116600)

[关键词] 氧化型低密度脂蛋白; 氧化衍生物; 脂质代谢紊乱; 致病性; 检测方法

[摘要] 氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)是动脉粥样硬化性心脑血管疾病的独立危险因素,也是2型糖尿病等脂质代谢紊乱性疾病诊断的重要生物标记物。研究证实,ox-LDL广泛存在于上述疾病患者的血清中,并积极参与疾病的发生和发展。结合目前国内外学者对ox-LDL的研究现状,本文将从ox-LDL氧化衍生物、致病性及检测方法进展等方面作一综述。

[中图分类号] R-331

[文献标识码] A

Research Progress on the Pathogenicity and Detecting Methods of Oxidized Low Density Lipoprotein

ZHANG He, and LIU Qing-Ping

(Key Laboratory of Glucolipid Metabolism in Liaoning Province & College of Life Science and Technology, Dalian University, Dalian, Liaoning 116600, China)

[KEY WORDS] Oxidized Low Density Lipoprotein; Oxidation Derivative; Lipid Metabolism Disorder; Pathogenicity; Detecting Method

[ABSTRACT] Oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) is an independent risk factor for atherosclerotic cardiovascular and cerebrovascular disease, and it is also an important biomarker for the diagnosis of lipid metabolism disorders such as type 2 diabetes mellitus. The study confirms that ox-LDL is widely existed in the serum of the patients with the diseases mentioned above, and actively participates in the occurrence and development of the diseases. Combined with the ox-LDL research status of current domestic and foreign scholars, this article will make a summary of the ox-LDL oxidation derivatives, pathogenicity and detecting methods.

低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)氧化为氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)被认为是引发动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)性心血管疾病的独立危险因素, ox-LDL作为致病性“生物标志物”广泛存在于As、心肌梗死、2型糖尿病、非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)、系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)和抗磷脂综合征(antiphospholipid syndrome, APS)、动静脉血栓症患者的疾病病灶及血液中^[1-4]。ox-LDL通过结合特异性受体等方式改变血管的正常生理作用,导致炎性细胞因子和炎性细胞聚集,血管内膜损伤,形成一系列的炎症和纤维化,参与疾病的发生和发展进

程。因此,人血液、血清以及体液等ox-LDL含量的准确检测对心血管疾病及脂代谢障碍性疾病的预防、监测及早期诊断意义重大。而基于ox-LDL氧化衍生物的病理作用和以其为识别靶点的特异性结合是精准检测ox-LDL的关键。

1 低密度脂蛋白的氧化修饰

天然的LDL中含有大量多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA),约占LDL总脂肪酸含量的35%~70%,所以容易发生自身氧化。在体内其主要发生氧化方式为通过活性氧(reactive oxygen species, ROS)、过渡金属、细胞及物理因素等对LDL

[收稿日期] 2016-03-14

[修回日期] 2016-04-18

[基金项目] 国家自然科学基金(30971232)

[作者简介] 张鹤, 硕士研究生, 研究方向为动脉粥样硬化细胞分子生物学, E-mail 为 827455052@qq.com。通讯作者刘庆平, 博士, 教授, 研究方向为动脉粥样硬化细胞分子生物学, E-mail 为 qingpingliu40@126.com。

氧化修饰形成 ox-LDL。

活性氧是机体内由氧形成、含氧且性质活泼的一类物质的总称,最主要的有两种含氧的自由基:氧自由基和羟自由基。糖尿病、高血脂和高血压等因素可诱发机体产生氧化应激反应,导致 LDL 被修饰氧化形成 ox-LDL。高糖被认为是重要的外界诱发因素之一,体内高糖状态下,氧自由基清除能力下降,氧化产物堆积,增加氧化应激反应,从而增强 ox-LDL 对内皮细胞的损伤作用。

过渡金属 Cu^{2+} 是 LDL 氧化修饰的前氧化剂 (preoxidant),在 LDL 溶液中,只要存在痕量的 Cu^{2+} 即可诱导 LDL 氧化修饰,已知 LDL 有两个特异性铜结合位点,按每个 LDL 结合两个 Cu^{2+} 这样的比率反应足以达到最大的氧化速率,通过逐级放大的链式反应,产生大量过氧化物, Cu^{2+} 可以使 LDL 氧化修饰至足以被清道夫受体所摄取的程度。金属离子螯合物 (如乙二胺四乙酸等) 可抑制此过程。 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、次氯酸等氧化修饰 ox-LDL 体外模型随着 ox-LDL 致病机制的研究而相继产生,体外氧化模型中, Cu^{2+} 介导氧化修饰形成的 ox-LDL 被认为是最接近 As 巢中 ox-LDL 的免疫生物化学特性,从而成为国内外众多实验室体外建立 ox-LDL 模型的首选方式^[5-6]。

细胞氧化修饰发现,除内皮细胞外,巨噬细胞、血管内膜平滑肌细胞、单核细胞都可以氧化修饰 LDL,又称生物氧化修饰的 LDL。细胞参与 LDL 氧化的机制尚不清楚。有学者认为除了与这些细胞能生成超氧阴离子有关外,细胞内脂氧合酶在 LDL 氧化修饰过程中起重要作用,能催化氧分子掺入 PUFA 链中形成脂质过氧化物 (LOOH)。此外一些物理因素如使用紫外线和钴-60 对 LDL 进行照射,也都可以使 LDL 发生氧化。在上述众多的氧化修饰方式及外界因素的影响下,LDL 氧化修饰形成 ox-LDL 以及产生的氧化衍生物及致病性也复杂多样。

2 ox-LDL 氧化衍生物及病理危害性

LDL 氧化修饰形成 ox-LDL 过程中,许多成份包括磷脂、脂肪酸、胆固醇及载脂蛋白 B (apolipoprotein B, ApoB) 都可在脂质过氧化作用下发生修饰改变,形成新的氧化产物。产生的氧化产物包括:醛类,游离和酯化的过氧化物,游离和酯化的氢氧化物为代表的脂肪酸氧化产物,氧化磷脂、氧固醇代表的脂类衍生物,以及 ApoB 蛋白及表面蛋白的修饰产

物^[7]。在众多氧化衍生物中,氧化磷脂、氧固醇及 ApoB 蛋白修饰后产生的新的抗原表位是 ox-LDL 发挥致病性的关键因素。

2.1 氧化磷脂及致病性

在氧化修饰的过程中,LDL 中的磷脂被氧化生成氧化磷脂酰胆碱 (oxidized phosphatidylcholine, ox-PC), ox-PC 在血小板活化因子乙酰水解酶的作用下,产生溶血磷脂酰胆碱 (lysophosphatidylcholine, LPC)。LPC 是氧化磷脂发挥致病性的主要成份,可激活多种信号途径如蛋白激酶、细胞外信号调控激酶和酪氨酸蛋白激酶等,调节巨噬细胞的迁移和炎症因子的产生。在单核细胞中 LPC 可通过孤儿 G 蛋白偶联受体 2 激活 Rho 信号通路,促进 T 细胞和巨噬细胞的迁移;LPC 还可通过激活磷脂酶 C、钙离子通道促进肌动蛋白重排和细胞骨架改变,导致内皮细胞渗透性增加,引起内皮细胞损伤^[8]。LPC 在氧化应激反应下,还可激活细胞凋亡因子 3 (caspase-3) 产生过氧化物诱导人脐静脉内皮细胞发生凋亡^[9]。

ox-PC 还可作为致病物质引起阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 等退行性神经疾病的发生。最新研究证实,在人神经母细胞瘤细胞 SH-SY5Y 中,ox-PC 可消耗谷胱甘肽和促进鞘磷脂酶的产生从而增加脂肪细胞蓄积和脂筏的形成,激活 β 分泌素 1, 增加细胞内 β 淀粉样蛋白的产生,引起神经细胞增生等系列病理特征的改变^[10]。

2.2 氧化固醇及致病性

固醇类在氧化修饰过程中形成氧化固醇,氧化固醇在动脉硬化性疾病中发挥重要作用。与正常组织相比,硬化斑块部位的氧化固醇的表达量显著升高。Kobayashi 等^[11]在划分 ox-LDL 脂类成份时,分离出一种能与 β_2 -糖蛋白 I (β_2 -glycoprotein I, β_2 -GPI) 结合的特异性配体,分析其成分为 7-酮基胆固醇-9-羧基壬烷 (7-ketocholesteryl-9-carboxynonanoate, oxLig-1)。APS 小鼠模型中,在加入 β_2 -GPI、抗 β_2 -GPI 抗体后,小鼠巨噬细胞经由特异性配体 oxLig-1 吞噬 ox-LDL 的量可增加 10 倍以上,揭示在 APS 中,ox-LDL/ β_2 -GPI 复合物可参与自身免疫和动脉硬化的形成^[11]。Matsuura 等^[12]在对 ox-LDL 脂类化合物成份解析时发现,7-酮基胆固醇酯类的 ω 羧基是介导 ox-LDL 与 β_2 -GPI 特异性结合的关键活性中心。Huang 等^[13]成功化学合成了 β_2 -GPI 特异性配体 oxLig-1,并揭示在小鼠腹腔巨噬细胞中,oxLig-1 可使 κB 抑制蛋白 α ($\text{IkB}\alpha$) 磷酸化后激活核因子

κB(nuclear factor-kappa B,NF-κB)迁移入核与 DNA 结合,上调包括细胞间黏附分子 1 在内的下游基因的表达,在基因水平上调节炎症因子的产生,发挥致 As 的作用。Li 等^[14]证实,ox-LDL 的氧化衍生物 9-过氧化亚油酸、13-过氧化亚油酸作为核内过氧化体增殖物激活型受体 γ(peroxisome proliferator activated receptor-γ,PPARγ)的配体,在小鼠单核巨噬细胞 J774A-1 中,ox-LDL 的氧化衍生物 oxLig-1 可与 PPARγ 受体结合后激活该受体,上调 CD36 基因的转录及表达,促进巨噬细胞吞噬摄取 ox-LDL,从而加速巨噬细胞泡沫化进程,加速 As 的病程发展。Chi 等^[15]研究显示,ox-LDL 中的固醇类物质 oxLig-1 作为 PPARγ 一种新的激动剂,在靠拢人外周血单核细胞 THP-1 中,可激活 PPARγ-CD36-ATP 结合盒转运体 A 1(ATP binding cassette transporter A1,ABCA1)信号途径,上调 CD36 和 ABCA1 的表达。

2.3 修饰的载脂蛋白 B 及致病性

载脂蛋白 B 可以和 PUFA 氧化产生的大量醛类物质如丙二醛、4 羟烯酸等发生交联共价结合,此时 ApoB 中原来由赖氨酸、精氨酸、组氨酸共同组成的 LDL 受体的正电荷区域变成富集负电荷的 ox-LDL 受体识别域^[16]。

在巨噬细胞内,A 型清道夫受体(type A scavenger receptor,SR-A)、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)可介导 ox-LDL 激活辅酶 II 氧化酶等催化产生 ROS,通过丝列原活化蛋白激酶等信号途径激活核转录因子,促进血管细胞黏附分子 1 表达,从而促进单核细胞转化为巨噬细胞及泡沫化进程。Bieghs 等^[17]提出,ox-LDL 参与 NAFLD 的发生发展过程,并发挥着重要作用。Veerle 等^[18]研究指出,在肝脏细胞中,通过失活途径降低 CD36、SR-A 的表达可明显降低 NAFLD 中肝脏发生炎症的程度,肝巨噬细胞表面的 SR-A、CD36 与氧化脂质的结合吞噬,在肝脏炎症产生中发挥重要作用。也有研究指出,在肝窦内皮细胞内,ox-LDL 可通过结合 LOX-1 受体激活 ROS、NF-κB、p65 等核转录因子调控炎症反应的发生^[19]。

综上所述可以得知,ox-LDL 的氧化衍生物如 ox-PC、醛类物质和修饰的载脂蛋白是其发挥致病性的关键因素,也是血清 ox-LDL 含量检测的重要依据。基于抗 ox-LDL 氧化衍生物抗体,建立了循环血中 ox-LDL 含量的酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)方法。

3 循环血中 ox-LDL 的 ELISA 检测

ox-LDL 可在循环血和病灶间流动,被认为更有可能在动脉硬化巢中形成,进入血液后很快被肝脏清除,血液中很难检测到。以往的延迟时间、硫代巴比妥酸等实验只能间接证明 ox-LDL 的存在,直到 ELISA 的出现才实现了血清 ox-LDL 的定量检测。许多实验室应用不同抗体建立的 ELISA 法实现了对血清 ox-LDL 含量的测定(表 1)。应用这些 ELISA 检测方法发现,在 2 型糖尿病^[20]、冠心病^[21]、SLE^[22]、急性心肌梗死^[23]等患者血液中存在大量的 ox-LDL。在不同氧化修饰方式及疾病不同阶段的影响下,ox-LDL 的氧化衍生物也不完全相同,明确检测方法所使用抗体识别的氧化衍生物类型,对疾病的诊断和疾病特异性的 ox-LDL 检测具有重要意义。

表 1. ox-LDL 抗体种类及结合位点
Table 1. Species and binding sites of ox-LDL antibody

抗体名称	识别位点	参考文献
识别氧化脂质产物		
FOH1a、DLH3	ox-PC	[24]
E06	磷脂胆碱	[25]
5F6	丙烯醛赖氨酸加合物	[24]
82D	烯基-赖氨酸加合物	[39]
DLH2	交联蛋白	[24]
MDA-lys	丙二醛-赖氨酸加合物	[25]
MDA-2	丙二醛	[24]
识别 ApoB 片段		
4E6/MB47、MB24	至少 ApoB 60 个赖氨酸残基被醛基取代后的 ApoB 蛋白一部分	[21,27-30]
识别 ox-LDL 结合的蛋白质		
WB-CAL-1	β ₂ -GPI	[1,21,32-33]

3.1 特异性识别氧化磷脂类抗体的 ELISA 法

单克隆抗体 FOH1a 和 DLH3 是 Itabe^[24]通过人 As 组织匀浆免疫杂交瘤细胞得到的抗 ox-LDL 抗体,这种单克隆抗体对 ox-LDL 具有较强的结合能力,并不识别结合天然 LDL、醛类修饰的 LDL 和乙酰化的 LDL,这种抗体主要识别 ox-LDL 表面氧化磷脂酰胆碱类、醛类修饰的多肽类或这些物质的混合物,溶血磷脂胆碱骨架、亲水 Sn-2 酰基链和一个短或直的 Sn-2 链是此类抗体识别氧化磷脂酰胆碱类的必须结构^[24]。这种单克隆抗体具有广泛的特异性识别的特点,识别物质多样性,至今仍被应用于血清 ox-LDL 含量的检测中。单克隆抗体 E06 来源

于敲除了载脂蛋白 E 小鼠的 B 细胞,该抗体仅识别氧化磷脂酰胆碱抗原表位亲水的一部分^[25]。以此类抗体为代表的 ELISA 法,一种是 Itabe's 利用单独分离出来的血浆 LDL 颗粒进行 ELISA 检测,最后结果以“ng ox-LDL/ μ g LDL”的形式表示血浆 ox-LDL 的含量,检测结果并不具有直观性,且兼有操作复杂、反应时间较长的缺点;另一种是日本 Kyowa Medex 的 ELISA 试剂盒,该试剂盒以稀释的血清为检测目的物,减少了检测的操作时间及操作误差,很大程度上增加了检测的准确性。

3.2 特异性识别 ApoB 片段类抗体的 ELISA 法

此类抗体特异性的识别修饰后的 ApoB 脂蛋白,单克隆抗体 4E6 是经典代表抗体。使用铜离子氧化产生的 ox-LDL 免疫小鼠,得到单克隆抗体 4E6。ox-LDL 氧化修饰过程中,ApoB100 表面至少 60 多种赖氨酸残基被醛类物质取代,4E6 抗体则直接识别被取代的这一部分 ApoB 蛋白。该抗体结合 ox-LDL 的能力是结合天然 LDL 的 1000 多倍,具有强结合力的特点^[26]。使用 4E6 单一抗体建立了一种竞争性 ELISA 检测 ox-LDL 的方法,虽然仅有一种抗体参与反应,但能直接反应血清 ox-LDL 的含量,因其操作简便和结果直观而被广泛的推广和使用^[27-30]。

3.3 特异性识别醛类-蛋白质复合物类抗体

单克隆抗体 5F6 是通过丙烯醛处理过的血蓝蛋白免疫小鼠,免疫后的小鼠脾细胞与 P3/U1 小鼠的骨髓瘤细胞融合,之后在含有次黄嘌呤/氨甲喋呤/胸苷的选择培养基中培养、筛选得到的单克隆抗体。5F6 单克隆抗体具有能够特异性识别丙烯醛修饰的牛血清白蛋白、丙烯醛-蛋白质加合物及含有羧基-二磷酸果糖-赖氨酸特征物质的能力。免疫组织化学实验显示,丙烯醛-蛋白质加合物在诱导巨噬细胞泡沫化、脂质沉积和纹状斑块形成中发挥重要作用^[31]。这类抗体主要以醛类物质修饰 ApoB 蛋白后形成的醛类-蛋白质加合物为特异性的识别位点。基于此类抗体的 ELISA 检测曾被应用于 1980 年代早期关于 ox-LDL 引起 As 巨噬细胞聚积、泡沫化机制的研究中,不过,至今并没有形成以此类抗体为基础的成熟的 ELISA 检测方法。

3.4 特异性识别氧固醇类物质的 ELISA 法

Matsuura 等^[12]研究显示,oxLig-1 作为 β_2 -GPI 的特异性配体,可以介导 ox-LDL 与 β_2 -GPI 的结合。oxLig-1 介导形成的 ox-LDL/ β_2 -GPI 二元复合物在 As、APS、SLE 疾病状态下,促进巨噬细胞对 ox-LDL

的吞噬和泡沫化细胞的形成^[12]。通过 WB-CAL-1 这种抗体的 ELISA 法证实,上述疾病患者的血清中,存在大量的 ox-LDL/ β_2 -GPI 复合物^[32-33]。

Li 等^[14]通过酵母表达体系重组表达了 β_2 -GPI 的第五结构域($P.r\beta_2$ -GPI-DV)并以此重组蛋白为特异性识别配体物建立了一种新的 ELISA 检测方法^[34]。以往研究证实, β_2 -GPI 可以通过其第五结构域在 oxLig-1 介导下与 ox-LDL 特异性的结合。ox-LDL 的固醇类物质 oxLig-1 可以作为核转录因子的配体,上调下游基因的表达,调节体内胆固醇的转运和肿瘤坏死因子等前炎症因子的产生参与 As 的病程^[13-15]。Li 等^[14]的研究指出,在使用以 $P.r\beta_2$ -GPI-DV 建立的 ELISA 法检测 50 例 APS、SLE 患者血清 ox-LDL 含量时,结果显示是正常人血清中该物质含量的 2 倍以上。这一结果与同时应用 WB-CAL-1 的 ELISA 法检测到的 ox-LDL/ β_2 -GPI 复合物含量的增长趋势一致。因此揭示,基于 $P.r\beta_2$ -GPI-DV 建立的以 oxLig-1 为特异性识别位点的 ELISA 法,是一种对于 As、自身免疫性疾病及脂代谢紊乱性疾病中的致病 ox-LDL 具有精准检测特性的 ELISA 检测方法,将更好的为疾病的预防、监测、治疗服务。

3.5 特异性识别部分 ox-LDL 或 ox-LDL 配体的 ELISA 法

Miyuki 等^[35]通过确认人 ox-LDL 的部分成份或配体成份,建立了多样种类单链片段抗体库,并通过原核表达载体 BL21 成功表达了其中的两种类型片段($\gamma+\kappa$ 和 $\mu+\lambda$),其中 $\gamma\kappa 5$ 展现出具有高特异性、高灵敏度结合 ox-LDL 的能力。使用原核表达的 $\gamma\kappa 5$ 单链抗体和 LOX-1 识别配体建立了一种 ox-LDL 检测的新型 ELISA 方法;此方法具有灵敏度高的特性,为未来研究中 LDL 相关抗体的制备提供了新的方法^[35]。

3.6 血清 ox-LDL 新的检测方法

随着检测技术的发展,色谱、超敏 ELISA 等新技术不断被应用到血清内容物的检测中,荧光探针、化学发光免疫分析等新技术也已广泛应用到临床诊断中。荧光探针技术是借助探针分子通过对物质本身的荧光或标记物的荧光变化对生物分子进行定量检测或研究生物体内结构变化。Akira 等^[36]利用荧光探针技术,应用异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)对赖、色、酪、赖、天冬、谷、天冬氨基酸七肽的 N 端赖氨酸进行荧光标记,形成了高特异性结合 ox-LDL 的 (FITC) KP6 和

(FITC-AC) KP6 两个 ε -氨基酸对,实现了人、小鼠体内 ox-LDL 的定位检测。化学发光免疫分析是由化学发光剂或酶进行生物活性标记,对抗原或者抗体进行标记的免疫测定方法。研究者采用化学发光免疫分析在应用中有较高的检出阳性率和较高的敏感性^[37-39]。荧光探针定量准确性高,化学发光免疫分析灵敏度高,这些技术或将是血清 ox-LDL 检测未来的发展方向。

4 结 语

ox-LDL 从第一次发现距今的 30 多年时间里,血液 ox-LDL 的含量尤其是氧化衍生物与心血管疾病和代谢性疾病紊乱的关系越来越密切。ELISA 法通过 ox-LDL 氧化衍生物识别位点实现了 ox-LDL 的高灵敏度定量检测,随着检测方法的研究进展,荧光探针、化学发光免疫分析等特异性强、准确度高的检测方法可能将是 ox-LDL 定量检测的发展方向。如今,ELISA 作为一种经典和成熟的检测方法,在血清 ox-LDL 定量检测中依然占据重要的地位。体内 ox-LDL 是不均一性的氧化蛋白,内部的氧化衍生物是其发挥致病作用的关键因素。因此,研发具有特异性结合致病位点和疾病针对性的检测方法,实现 ox-LDL 精准检测、精准治疗意义重大。

[参考文献]

- [1] 王 静,印中鹏,张春妮. β_2 -糖蛋白 I 与氧化脂蛋白复合物的研究进展[J]. 标记免疫分析与临床, 2015, 22(7): 701-705.
- [2] 王智樱,陈 刚. 阿尔茨海默病认知损害程度的相关影响因素分析[J]. 中国临床神经科学, 2009, 23(6): 276-279.
- [3] Bieghs V, Walenbergh SMA, Hendriks T, et al. Trapping of oxidized LDL in lysosomes of kupffer cells is a trigger for hepatic inflammation[J]. Liver Int, 2013, 33(7): 1056-061.
- [4] Walenbergh SM, Koek GH, Bieghs V, et al. Non-alcoholic steatohepatitis: the role of oxidized low-density lipoproteins[J]. J Hepatol, 2014, 58(8): 1-10.
- [5] Koichi. Effect of glycemic control on plasma oxidized low density lipoprotein levels in diabetics[J]. Sci J Clin Med, 2014, 3(5): 91-97.
- [6] Gustavo CM, Ehg YK, Magnus G, et al. Specific lable-free and real-time detection of oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) using an immunosensor with three monoclonal antibodies[J]. J Mater Chem, 2014, 2(4): 477-484.
- [7] Jiang X, Yang Z, Chandrakala AN, et al. Oxidized low density lipoproteins--do we know enough about them? [J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2011, 25(5): 367-377.
- [8] Ahmad H, Bagheri S, Khosrobeigi A, et al. Effects of oliveleaves extract on LDL oxidation induced-CuSO₄ in vitro [J]. Pak J Pharm Sci, 2012, 25(3): 571-575.
- [9] Park S, Kin JA, Choi S, et al. Superoxide is a potential culprit of caspase-3 dependent endothelia cell death induced by lysophosphatidylcholine[J]. J Physiol Pharmacol, 2010, 61(4): 375-381.
- [10] Dias IHK, Mistry J, Fell S, et al. Oxidized LDL lipids increase β -amyloid production by SH-SY5Y cells through glutathione depletion and lipid raft formation [J]. Free Radic Biol Med, 2014, 75(4): 48-59.
- [11] Kobayashi K, Matsuura E, Liu Q, et al. A specific ligand for beta 2-glycoprotein I mediates autoantibody-dependent uptake of oxidized low density lipoprotein by macrophages [J]. J Lipid Res, 2001, 42(5): 697-709.
- [12] Matsuura E, Kobayashi K, Koikeb T, et al. Atherogenic autoantigen; oxidized LDL complexes with beta 2-glycoprotein I[J]. Immunobiology, 2003, 207(1): 17-22.
- [13] Huang Z, Li W, Wang R, et al. 7-ketocholesteryl-9-carboxynonanoate induced nuclear factor-kappa B activation in J774A.1 macrophage[J]. Life Sci, 2010, 20, 87(19-22): 651-657.
- [14] Li W, Wang D, Chi Y, et al. 7-Ketocholesteryl-9-carboxynonanoate enhances the expression of ATP-binding cassette transporter A1 via CD36 [J]. Atherosclerosis, 2013, 226(1): 102-109.
- [15] Chi Y, Wang L, Liu Y, et al. 7-ketocholesteryl-9-carboxynonanoate enhances ATP binding cassette transporter A1 expression mediated by PPAR γ in THP-macrophages [J]. Atherosclerosis, 2014, 234(2): 461-468.
- [16] Parthasarathy S, Raghavamenon A, Garelnabi MO, et al. Oxidized low-density lipoprotein [J]. Methods Mol Bio, 2010, 610: 403-417.
- [17] Bieghs V, van Gorp PJ, Walenbergh SMA, et al. Specific immunization strategies against oxidized low-density lipoprotein: a novel way to reduce nonalcoholic steatohepatitis in mice[J]. Hepatology, 2012, 56(3): 894-903.
- [18] Veerle B, Kristiaan W. Role of scavenger receptor A and CD36 in diet-induced nonalcoholic steatohepatitis in hyperlipidemic mice[J]. Gastroenterology, 2010, 138(7): 2477-486.
- [19] Zhang Q, Liu J, Liu J, et al. ox-LDL induces injury and defenestration of human liver sinusoidal endothelial cells via LOX-1 [J]. J Mol Endocrinol, 2014, 53(2): 281-293.
- [20] Maria JN, Jorge BP, Alice SS, et al. Oxidized low-density lipoprotein, and C-reactive protein levels in lean

- overweight, and obese Portuguese patients with type 2 diabetes[J]. *ISRN Obesity*, 2013, 17(6): 2 013-097.
- [21] Sbasotti A, Fabbi P, Fedele M, et al. Role of advanced oxidation protein products and thiol ratio in patients with acute coronary syndromes[J]. *Clin Biochem*, 2011, 44(8): 605-611.
- [22] Nowak B, Szymrka-Kaczmarek M, Durazińska A, et al. Anti-ox-LDL antibodies and anti-ox-LDL- β_2 GPI antibodies in patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Adv Clin Exp Med*, 2012, 21(3): 331-335.
- [23] Kurdoglu M, Yildirim M, Kurdoglu Z, et al. Cardiovascular risk assessment with oxidized LDL measurement in postmenopausal women receiving intranasal estrogen replacement therapy [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2011, 27(8): 551-557.
- [24] Itabe H. Oxidized low-density lipoprotein as a biomarker of in vivo oxidative stress: from atherosclerosis to periodontitis[J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2012, 51(1): 1-8.
- [25] Penny WF, Benyehuda O, Kuroe K, et al. Improvement of coronary artery endothelial dysfunction with lipid-lowering therapy: Heterogeneity of segmental response and correlation with plasma oxidized low density lipoprotein [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2001, 37(4): 766-774.
- [26] Holvoet P, Macy E, Landeloos M, et al. Analytical performance and diagnostic accuracy of immunometric assays for the measurement of circulating oxidized LDL [J]. *Clin Chem*, 2006, 52(8): 760-764.
- [27] Liu L, Liu ZZ, Chen H, et al. Oxidized low-density lipoprotein and β -glycerophosphate synergistically induce endothelial progenitor cell ossification [J]. *Acta Pharmacol*, 2011, 32(12): 1 491-497.
- [28] Sozer V, Himmetoglu S, Korkmaz GG. Paraonase, oxidized low-density lipoprotein, monocyte chemoattractant protein-1 and adhesion molecules are associated with macrovascular complications in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Minerva Med*, 2014, 105(3): 237-244.
- [29] Azam G, Sara Y, Mohammad EG, et al. Increased serum oxidized low-density lipoprotein levels in pregnancies complicated by gestational diabetes mellitus[J]. *Iran J Reprod Med*, 2015, 13(7): 421-424.
- [30] Chandrakala AN, Dmitry L, Bhaswati S, et al. Increased presence of oxidized low-density lipoprotein in the left ventricular blood of subjects with cardiovascular disease [J]. *Physiol Rep*, 2016, 4(6): 1-12.
- [31] Uchida K, Kanematsu M, Sakai K, et al. Protein-bound acrolein: potential markers for oxidative stress [J]. *Proc Natl Acad*, 1988, 95(5): 4 882-887.
- [32] Zhang C, Luo Y, Huang Z, et al. Elevated serum beta (2)-GPI-Lp (a) complexes levels in children with nephrotic syndrome[J]. *Clin Chim Act*, 2012, 413(19-20): 1 657-660.
- [33] 张春妮, 訾瑞峰, 汪俊军. 2 型糖尿病患者血清 beta2-GPI/ox-LDL 复合物水平[J]. *临床检验杂志*, 2011, 29(2): 100-102.
- [34] Li JD, Chi Y, Liu SQ, et al. Recombinant domain V of β_2 -glycoprotein I inhibits the formation of atherogenic ox-LDL/ β_2 -glycoprotein I complexes [J]. *J Clin Immuno*, 2014, 34(6): 669-676.
- [35] Miyuki KK, Takashi F, Shiro K, et al. Screening, expression, and characterization of an anti-human oxidized low-density lipoprotein single chain variable fragment[J]. *J Biosci Bioeng*, 2016, 1(1): 1-7.
- [36] Akira S, Hikaru Y, Keitaro O, et al. Highly stable, fluorescence-labeled heptapeptides substituted with a D-amino acid for the specific detection of oxidized low-density lipoprotein in plasma [J]. *Chem Bio Drug Des*, 2015, 85(6): 348-355.
- [37] 刘洪玲. 临床检验中化学发光免疫分析的应用效果评价[J]. *中国医药指南*, 2015, 6(36): 57-58.
- [38] 张 丽, 于冬楠. 化学发光酶免疫分析法及 ELISA 检测抗-HCV 的结果比较[J]. *检验医学与临床*, 2016, 13(1): 18-20.
- [39] Chang MK, Binder CJ, Torzenwski M, et al. C-reactive protein binds to both oxidized LDL and apoptotic cells through recognition of a common ligand: phosphocholine of oxidized phospholipids[J]. *Proc Natl Acad*, 2002, 99(10): 13 043-048.

(此文编辑 曾学清)