



沈志强,男,1965年生,博士,教授,博士研究生导师.1995年于昆明医科大学获药理学硕士.至今一直在药学院暨云南省天然药物药理重点实验室从事药学、药理学的研究与教学工作.

研究方向:心血管药理学和骨质疏松症药物治疗的基础应用研究.目前是国家自然科学基金项目评审专家、中国教育部及云南省科技项目评审专家、昆明医科大学学术委员会委员.学术兼职:中国药学会理事、中国心血管药理专业委员会委员、云南省药学会理事、云南省植物学会理事、中国科学院昆明植物研究所植物化学与天然药物专业委员会委员,《中国药学报》和《天然产物研究与开发》特约审稿专家、《中国天然药物》、《昆明医科大学学报》编委.云南省中青年学术和技术带头人、云南省药学重点建设学科和云南省天然药物药理学研究省创新团队的药理学学科方向带头人.

科学研究方面:主持2项国家自然科学基金项目、子课题负责人完成了1项国家自然科学基金地区重点项目;主持1项云南省社会发展计划重点项目;主持完成了云南省自然科学基金项目3项、重点项目1项.主持了血塞通软胶囊、络泰(血塞通注射液)、血竭胶囊、天麻醒脑胶囊、灯盏花素、七龙脉通等20余种云南省特色新药的研发工作,均获得国家新药批件.

分别获云南省自然科学二等奖2项、三等奖1项.获国家发明专利5项.在国内外学术刊物发表研究论文80余篇,其中24篇为SCI收录,北大中文核心期刊论文近40篇.

教学方面:承担硕士研究生《临床药理学》、《药理学前沿进展》和本科生《药理学》专业主干课程的教学工作.参加国家高校药学特色专业建设点项目、省级产、学、研一体化药学人才培养模式创新实验区、云南省高校药学本科实验教学示范中心和云南省高校药学重点实验室等专业建设项目.作为副主编和编委分别出版人卫版教材《内科护理技术》和《外科护理技术》.

LOX-1 与动脉粥样硬化

LOX-1 是氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)、细菌、病毒、LPS 等多种内源性和外源性致病因子的受体,是目前关于动脉粥样硬化疾病研究最热门的蛋白.在动脉粥样硬化病程中,LOX-1 在脂质堆积,内皮功能紊乱,斑块形成和破裂以及在此过程中的一系列炎症反应中都存在表达,且在多种细胞如血管内皮细胞,血管平滑肌细胞、巨噬细胞等多种细胞都有表达,是介导 ox-LDL 结合、内吞、降解的特异性受体,是与动脉粥样硬化治疗、预防和康复密切相关的因子,LOX-1 抑制剂已经成为抗动脉粥样硬化药物设计的新方向.本文就 LOX-1 与动脉粥样硬化的研究做系统的综述.

1 LOX-1 的结构特征

凝集素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 (Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor 1) 属于 C 型血凝素家族,是 Sawamura 等^[1]于 1997 年应用分子克隆技术在牛动脉内皮细胞克隆出的一种氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density

lipoprotein, ox-LDL) 型特异性受体,与其它已经发现的清道夫受体没有结构同源性.

人 LOX-1 是单拷贝基因,位于 12 号染色体的 P12.3-P13.2 区,大小约为 15kb,含有 5 个内含子和 6 个外显子. LOX-1 的 5' 端调节区有几个作用很强的顺式调节元件: GATA-2 结合元件、c-ets-1 结合元件、(佛波酯) PMA 反应元件和血液切应力反应元件,所有这些调节元件都能特异性介导 LOX-1 的表达.

LOX-1 的前体蛋白 N 端有一个高甘露糖样的碳水化合物,需要进一步糖基化后才能转变为成熟的 LOX-1,同时被转运到细胞表面;未糖基化的 LOX-1 不能转至细胞表面.人的功能性 LOX-1 是 II 型跨膜蛋白,含 273 个氨基酸,共有 4 个结构域: N 末端胞浆尾链、跨膜域、颈域和长的 C 末端血凝素样域.在 N 末端的胞浆部分的结构域中,有几个磷酸化位点,这些位点的磷酸化可转导生物信号或调节 LOX-1 的功能,决定 LOX-1 在细胞表面的定位和表达;而 C 末端植物血凝素区域是 LOX-1 的配体识别部位,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,

该部位在不同种族间具有高度保守性,尤其是 6 个半胱氨酸残基所在的部位为活性基团,它主要识别 ox-LDL 并与其结合; LOX-1 与配体结合区域是一个由颈域与膜结合域相连的晶体结构,本身是由二硫键组成的二聚体,表面附有线性排列的精氨酸残基^[2]。

2 LOX-1 生物学功能

正常生理状态下, LOX-1 的表达量很小,检测不到,但是在各种促炎和促动脉粥样硬化因子如糖基化终产物及其前体、II 型胶原、肿瘤坏死因子- α 、转化生长因子- β 的刺激下,血管内皮细胞、血管平滑肌细胞、巨噬细胞、血小板等多种细胞大量表达 LOX-1,主要以膜结合性和可溶型 2 种形式存在^[3]。 LOX-1 有多种配体, ox-LDL 是其主要配体,还包括氧化修饰的载体蛋白,磷脂酰丝氨酸,多聚阴离子、血小板和细菌、内毒素等生理性和病理性配体。目前流行病学研究显示 LOX-1 大量表达与心血管疾病有高度相关性,它不仅能介导内皮细胞识别,摄取 ox-LDL,诱导各种血管炎性反应,造成内皮功能障碍,而且可作为信号分子传递生物信号,介导 ox-LDL 上调 LOX-1 表达,起到自身调节作用, LOX-1 本身也可作为内皮粘附分子,促进 ox-LDL 和细胞聚集于血管壁,加剧斑块的炎症反应和不稳定性。活化的 LOX-1 能通过诱导 NF- κ B 活化,而调控 TNF- α 、IL-6 等多种炎症介质的基因表达和细胞增殖,从而加剧动脉粥样硬化斑块局部的炎症反应,促进动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 的发展^[4]。

3 LOX-1 与 AS

AS 是以脂质堆积浸润、内皮功能紊乱、细胞凋亡、斑块形成破裂为特征的慢性炎症代谢性疾病。研究发现,清道夫受体 LOX-1 表达与活化贯穿于 AS 始终,研究发现多种致 AS 病变的因素如高血糖、高血脂、高同型半胱氨酸血症等均能够上调 LOX-1 的表达,从而促进 AS 的发生发展。

3.1 LOX-1 与内皮功能紊乱

内皮功能紊乱被认为是动脉粥样硬化的始动因素。 ox-LDL 结合并激活 LOX-1,通过多种信号转导通路(如: RhoA/Rac1, p38MAPK, PKB, PKC, and ERK1/2)激活 NF- κ B 引起细胞损伤、凋亡。在 AS 早期阶段, LOX-1 不仅在 AS 损伤的

内皮细胞高度表达,而且在非损伤的内皮也有 LOX-1 的聚集,表明 LOX-1 参与了 AS 的发生;在 AS 进展期,血管壁有大量的脂质斑块覆盖, LOX-1 则主要在覆盖于血管内壁的巨噬细胞和平滑肌细胞表达。激活后的 LOX-1 可以上调冠状动脉内皮细胞中能引起 AS 斑块破裂的基质金属蛋白酶的表达,诱导 VEC、VSMC 和巨噬细胞的凋亡,促进斑块不稳定和急性冠脉综合征的发生^[5]。 ox-LDL 与其特异性受 LOX-1 结合,能促进单核细胞粘附分子-1 的表达,激活 p42/44、促分裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路,从而促进单核细胞粘附内皮细胞^[6,7];也可以促 CD40、CD40 配体的表达,从而激活主动脉内皮蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 产生肿瘤坏死因子- α 和 P 选择素^[8];也能直接介导活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的形成和 NO 合成的减少,同时激活 NF- κ B 信号通路,导致机体炎症反应级联放大,持续的生物分之信号传导^[9]。

3.2 LOX-1 与免疫-炎症

LOX-1 的表达是天然免疫与获得免疫中抗原呈递过程中的重要组成部分。在内吞后,外源性抗原被呈递给单核细胞内的 II 型组织相容性免疫复合物而激活 CD4⁺T 细胞,而内源性抗原与巨噬细胞内 I 型组织相容性复合物结合激活 CD8⁺T 细胞;在所有的抗原呈递细胞中,树突细胞是唯一能够同时在 CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞之间传递免疫信息的细胞。免疫反应的发生很大程度上取决于树突细胞对抗原的交叉呈递,这个过程取决于能被受体识别的产生抗原的载体分子,及随后与其结合的经内化和处理的抗原。抗原交叉呈递和受体机制是目前研究的一个热点。 LOX-1 的特异性配体相当广泛,其中包括细菌及代谢产物、凋亡细胞、C 反应蛋白、脂多糖、活化白细胞、血小板和多种热休克蛋白 (heat shock proteins, HSPs) 等。研究显示,与空白载体对照组、dectin-1 构建组比较, CHO-LOX-1 转染细胞能够特异性识别 HSPs,具有饱和性,且能够被 LOX-1 抗体拮抗^[10]。

Toll 样受体-4 (toll-like receptor 4, TLR4) 为介导免疫和炎症反应的主要模式识别受体,在冠状动脉粥样硬化斑块的内皮细胞、VSMC 和巨噬细胞中均可见 TLR4 表达^[11]。也能识别 HSPs 并与其结合,通过细胞内信号传导作用,最终导致 NF- κ B 活化,诱导炎症因子的转录,且 TLR4 与 NF- κ B 之间存在双向调节机制^[12,13]。因此 TLR4 和

LOX-1 在动脉粥样硬化过程中关系密切。ox-LDL 作为致炎、促动脉粥样硬化的脂蛋白,可诱导 VEC、VSMC 及巨噬细胞 TLR4 表达上调^[14],而 TLR4 的激动又能上调 LOX-1 的表达^[15],这些证据表明 LOX-1/TLR4 通路在高脂血症诱发的 AS 中具有重要作用。

3.3 LOX-1 与细胞凋亡

细胞凋亡是 AS 的独立危险因素,动脉粥样斑块中细胞的过度凋亡,在促进不稳定斑块形成中起着重要的作用。AS 中存在多种的凋亡与坏死,如:主动脉内皮细胞,血管平滑肌细胞、巨噬细胞等,动脉粥样斑块的稳定取决于细胞凋亡与生长的平衡。ox-LDL 主要通过诱导凋亡蛋白如 c-IAP-1 和 Bcl-2 下调^[16],细胞色素 C、促凋亡因子 caspase-9 和 caspase-3 的释放而最终导致细胞凋亡^[17],此外,有研究表明,ox-LDL 通过氨基末端激酶泛素化改变线粒体的氧化还原状态,使超氧化物歧化酶表达下降而导致凋亡。ox-LDL 诱导 caspase-3 活化能够被氨基末端激酶抑制剂抑制,而被超氧化物歧化酶抑制剂增强^[18]。此外,超氧化物歧化酶过活化能够消除 ox-LDL 诱导的 caspase-3 激活,此过程与 LOX-1 关系还不明确^[19]。体外培养入脐静脉内皮细胞 (HUVECs) 证实 LOX-1 参与死亡蛋白 (FAS) 介导的细胞凋亡的调节。ox-LDL 还可通过 LOX-1 减少抗休克蛋白 Bcl-2 和抑制性细胞凋亡蛋白 -1 的表达,从而激活细胞凋亡信号转导途径,诱导细胞凋亡^[20,21]。

3.4 LOX-1 与基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMPs)

平滑肌细胞合成的间质胶原纤维是构成动脉粥样硬化斑块纤维骨架的主要成分,而 MMPs 以降解间质胶原,使血管产生扩张性重塑,纤维帽变薄,促进 As 斑块的破裂。体外培养人 HCAECs,发现 ox-LDL 可通过 LOX-1 激活 PKC, PKC- β 亚型可促进冠状动脉内皮细胞表达 MMP-1 和 MMP-3^[22];也可通过促 MAPK p38 通路,诱导 MMPs 的表达与活化,使细胞外基质重塑和降解,斑块纤维帽变薄,斑块不稳定或破裂致心脑血管意外^[23,24]。

3.5 LOX-1 与心血管疾病

研究表明,除了膜结合性 LOX-1 外,在牛主动脉内皮中发现一种 35kDa 的蛋白,能够被 LOX-1 抗体识别,被证明是 LOX-1 的另一种形式,即可溶性 LOX-1^[25]。在冠心病尤其急性冠状动脉综合症的病人血清中,LOX-1 的水平明显高于对照组可溶性 LOX-1 在区分急性冠脉综合症与其

他心血管疾病方面具有高度敏感性和特异性,可能成为诊断早期急性冠脉综合症的重要标志^[26]。

3.6 LOX-1 与抗 AS 药物

目前治疗动脉粥样硬化的药物有一种药物单用,也有多种药物联合应用。主要 1,3 二羟甲戊二酰辅酶 A 还原酶抑制剂如他汀类,钙通道阻滞剂,过氧化物酶增殖体 γ 及其激活剂,水杨酸类、醛固酮系统抑制剂、 β -受体阻滞剂等。

研究表明,这些药物的共同特征都通过不同的信号途径抑制 AS 不同进展期 LOX-1 蛋白的表达与活化。研究发现辛伐他汀可以抑制 NF- κ B 的产生,减弱单核细胞趋化蛋白 1 (type 1 monocyte chemoattractant protein, MCP-1) 表达从而降低 ox-LDL 诱导的 LOX-1 的表达,抑制黏附分子的形成,另有研究发现他汀类药物在产生大幅度降低胆固醇的作用以前就可使 LOX-1 的表达减少,同时抑制血小板的活化,减少 LOX-1 与血小板的黏附,起到抗血栓抗 AS 的作用^[27]。钙离子通道阻滞剂可抑制氧化应激水平,从基因水平下调内皮细胞表达 LOX-1,抑制细胞凋亡,同时可抑制 Ang II 诱导的 LOX-1 的表达,改善内皮细胞功能^[28]。PPAR γ 配体可以抑制 IL-1 和 TNF- α 介导的 LOX-1 的表达上调,抑制单核细胞的黏附聚集。PPAR 激活剂匹格列酮过抑制 ROS 的大量产生,抑制 LOX-1 的表达,延缓 AS 的发展^[29]。而阿司匹林可通过 p38MAPK 信号转导途径,抑制 ox-LDL 介导的 LOX-1 的表达,同时能够抑制 MMPs 的活性,促进斑块的稳定,此发现为阿司匹林在 AS 疾病中的进一步广泛应用提供依据^[30]。Eplerenone 为一种新型的醛固酮拮抗剂,能够通过下调 LOX-1 表达及 PKC、MAPK、p90RSK 磷酸化来实现抗 AS 的作用,为临床抗 AS 提供新的方向^[31,32]。

LOX-1 作为 ox-LDL 在血管内皮细胞、平滑肌细胞、巨噬细胞上的主要受体,介导了 AS 的多种病理过程,为笔者研究 AS 发病机制提供了崭新的思路。目前对 LOX-1 功能与作用机制的研究尚不系统。首先,绝大多数研究还限于离体细胞培养和动物试验,且采用的多为单因素干预,距离人体复杂的生理环境还有很大差距;其次,LOX-1 的致病机理复杂,不仅局限于心脑血管疾病,在促进糖尿病、肺病、胃肠疾病以及肿瘤的发生发展起着重要作用,因此研究 LOX-1 在心脑血管疾病与其他类型疾病的传变也至关重要。最后,LOX-1 在基因水平上的研究还有待深入如其基因多态性与 AS、肿瘤等。随着医学界对现代生命科学的深入研究,以及转基因动物、基因敲除动物

模型与人体内环境模拟的结合应用,对 LOX-1 与 AS 关系的研究将逐步完善。

[参考文献]

- [1] SAWAMURA T, MORIWAKI H, KUME N, et al. A novel endothelial receptor for oxidized low density lipoprotein[J]. *Nature*, 1997, 386(6620): 73 - 77.
- [2] YOSHIMOTO R Y O, FUJITA Y S K, KAKINO K M, et al. The discovery of LOX-1, its ligands and clinical significance[J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2011, 25(5): 379 - 391.
- [3] CHEN K C, HSIEH C, HSI E D, et al. Negative feedback regulation between microRNA let-7g and the ox-LDL receptor LOX-1 [J]. *J Cell Sci*, 2011, 5 (124): 4 115 - 4 124.
- [4] MURASE T, KUME N, KATAOKA H, et al. Identification of soluble forms of lectin-like oxidized LDL receptor-1[J]. *Arterioscler Thromb Vase Biol*, 2000, 20(3): 715 - 720.
- [5] DABEK J, KULACH A, GASIOR Z. Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- κ B): a new potential therapeutic target in atherosclerosis[J]. *Pharmacol Rep*, 2010, 62(5): 778 - 783.
- [6] LI D, MEHTA J L. Upregulation of endothelial receptor for oxidized LDL (LOX-1) by oxidized LDL and implications in apoptosis of human coronary artery endothelial cells: evidence from use of antisense LOX-1 mRNA and chemical inhibitors [J]. *Arterioscler Thromb Vase Biol*, 2000, 20: 1 116 - 1 122.
- [7] LI D Y, CHEN H J, STAPLES E D, et al. Oxidized low-density lipoprotein receptor LOX-1 and apoptosis in human atherosclerotic lesions [J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2002, 7: 147 - 153.
- [8] LI D, LIU L, CHEN H, et al. LOX-1, an oxidized LDL endothelial receptor, induces CD40/CD40L signaling in human coronary artery endothelial cells [J]. *Arterioscler Thromb Vase Biol*, 2003, 23: 816 - 821.
- [9] PANICKER S R, KARTHA C C. Curcumin attenuates glucose-induced monocyte chemoattractant protein-1 synthesis in aortic endothelial cells by modulating the nuclear factor-kappa B pathway[J]. *Pharmacology*, 2010, 85(1): 18 - 26.
- [10] XIE J, ZHU H, GUO L, et al. Lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1 delivers heat shock protein 60-fused antigen into the MHC class I presentation pathway [J]. *J Immunol*, 2010, 185: 2 306 - 2 313.
- [11] GENG H, WANG A, RONG G, et al. The effects of ox-LDL in human atherosclerosis may be mediated in part via the toll-like receptor 4 pathway [J]. *Mol Cell Biochem*, 2010, 342(1-2): 201 - 206.
- [12] HOLLESTELLE S C, DE VRIES M R, VAN KEULEN J K, et al. Toll-like receptor 4 is involved in outward arterial remodeling[J]. *Circulation*, 2004, 109(3): 393 - 398.
- [13] BIELECKA-DABROWA A, BARYLSKI M, MIKHAILIDIS D P, et al. HSP 70 and atherosclerosis-protector or activator [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2009, 13(3): 307 - 317.
- [14] CHEN C Y, LEE C M, HSU H C, et al. Proteomic approach to study the effects of various oxidatively modified low-density lipoprotein on regulation of protein expression in human umbilical vein endothelial cell [J]. *Life Sci*, 2007, 80(26): 2 469 - 2 480.
- [15] 王虹艳, 曲鹏, 姜华, 等. TLR4激动上调内皮细胞氧化低密度脂蛋白受体 LOX-1 表达 [J]. *高血压杂志*, 2005, 13(7): 422 - 426.
- [16] LI D, WILLIAMS V, LIU L, et al. Expression of lectin-like oxidized low density lipoprotein receptors during ischemia-reperfusion and its role in determination of apoptosis and left ventricular dysfunction[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2003, 41: 1 048 - 1 055.
- [17] FRALEY A E, SCHWARTZ G G, OLSSON A G, et al. Relationship of oxidized phospholipids and biomarkers of oxidized low-density lipoprotein with cardiovascular risk factors, inflammatory biomarkers, and effect of statin therapy in patients with acute coronary syndromes: results from the MIRACL trial[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 53: 2 186 - 2 196.
- [18] TAKANABE-MORI R, ONO K, SOWA N, et al. LOX-1 is required for the adipose tissue expression of proinflammatory cytokines in high-fat diet-induced obese mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 398: 576 - 580.
- [19] LU J, MITRA S, WANG X, et al. Oxidative stress and lectin-like ox-LDL-receptor: LOX-1 in atherogenesis and tumorigenesis [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 15(8): 2 301 - 2 333.
- [20] VANNINI N, PFEFFER U, LORUSSO G, et al. Endothelial cell aging and apoptosis in prevention and disease: E-selectin expression and modulation as a model [J]. *Curr Pharm Des*, 2008, 14: 221 - 225.
- [21] KHAIDAKOV M, WANG X, MEHTA J L. Potential involvement of lox-1 in functional consequences of endothelial senescence[J]. *PLoS One*, 2011, 6(6): 20 964.
- [22] LI D, LIU L, CHEN H, 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.
- [23] OGURA S, KAKINO A, SATO Y, et al. LOX-1: the multifunctional receptor underlying cardiovascular dysfunction [J]. *Circ J*, 2009, 73: 1 993 - 1 999.
- [24] ISHINO S, MUKAI T, KUME N, et al. Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) expression is associated with

(下转第 27 页)