

LOX-1 – en aktør ved hjerte- og karsykdommer?

Sammendrag

Bakgrunn. Blant mange kjente risikofaktorer for hjerte- og karsykdommer har oksidert LDL (oks-LDL) kommet opp som en ny og interessant faktor. «Scavenger-reseptorer» er en gruppe reseptorer på overflaten av ulike cellyper i karveggen, og de har spesiell høy affinitet for oks-LDL. Den kanskje mest betydningsfulle scavenger-reseptoren innen hjerte- og karsykdom er trolig lektinlik oksidert LDL-reseptor, LOX-1.

Materiale og metode. Det gis en generell oversikt over scavenger-reseptorer med spesiell vekt på LOX-1 og dens betydning ved hypertensjon, hjertesvikt, aterosklerotisk hjerte- og karsykdom og diabetes mellitus, basert på egne studier og litteraturstudier.

Resultat og fortolkning. LOX-1 finnes på celler i aterosklerotiske plakk, og reseptoren akkumuleres under utviklingen av slike plakk både hos dyr og mennesker. Videre er denne reseptoren spesielt høyt uttrykt ved hypertensjon, hyperhomocysteinemi og ved diabetes mellitus. Data tyder på at det er et komplekst samspill mellom LOX-1 og en rekke ulike prosesser som proinflammasjon, lipidakkumulering og oksidativt stress. En fremtidig behandling som tar sikte på å redusere nivået av LOX-1, kan få stor betydning for utvikling av hjerte- og karsykdommer på lengre sikt. De hittil mest lovende kandidater i behandlingsøymed er statiner og PPAR γ -agonister, som tiazolidiner.

Engelsk sammendrag finnes i artikkelen på www.tidsskriftet.no

Oppgitte interessekonflikter: Ingen

Trine Ranheim

Avdeling for medisinsk genetik
Rikshospitalet-Radiumhospitalet

Bente Halvorsen

bente.halvorsen@medisin.uio.no
Institutt for indremedisinsk forskning
Universitetet i Oslo
Rikshospitalet-Radiumhospitalet
0027 Oslo

I denne artikkelen gis det en generell oversikt over scavenger-reseptorer med spesiell vekt på LOX-1 og dens betydning ved hypertensjon, hjertesvikt, aterosklerotisk hjerte- og karsykdom og diabetes mellitus. Artikkelen er basert på egne studier og ikke-systematisk gjennomgang av litteratur ved bruk av PubMed (søkeord LOX-1).

Scavenger-reseptorer

Den opprinnelige definisjonen av betegnelsen «scavenger receptor» er reseptorer som medierer opptak av modifiserte proteiner ved hjelp av endocytose. Scavenger-reseptorer er høyt konserverte proteiner som karakteriserer en superfamilie bestående av løselige eller membranbundne reseptorer. Det finnes mange medlemmer av scavenger-reseptorfamilien, og de har vist seg å uttrykke bred ligandspesifisitet (e-tab 1) (1). Reseptorene kan gjenkjenne modifiserte former for LDL, slik som oksidert LDL (oks-LDL), acetylt-LDL og malenylert-LDL, i tillegg til polysakkarider og fosfolipider.

LOX-1 reseptoren

Sawamura og medarbeidere klonet i 1977 en ny scavenger-reseptor for oks-LDL fra vasculære bovine endotelceller (2). Reseptoren er et membranprotein som strukturelt tilhører C-type lektin-familien. Derfor betegnes reseptoren som lektinlik oksidert LDL-reseptor, LOX-1. Reseptoren uttrykkes i stor grad i intima i aorta, placenta, lunger, beinmarg, sentralnervesystemet, testis, nyrer og lever.

LOX-1 fungerer primært som reseptor for oks-LDL, som bindes, internaliseres og som deretter gjennomgår en proteolytisk degradering. I tillegg binder den også delipidisert oks-LDL, noe som betyr at reseptoren gjenkjenner proteindelen av oks-LDL.

Binding av oks-LDL til denne reseptoren induserer mange andre hendelser i cellen, som aktivering av NF- κ B, oppregulering av monocytt kjemoattraktant protein-1, og en

reduksjon av NO. I tillegg til oks-LDL, inkluderes også andre ligander for LOX-1; poly-anione komplekser, aldrende/apoptotiske celler, aktiverte plater, bakterier og AGE-proteiner (1).

Inflammatoriske cytokiner, så vel som forbolester, angiotensin II (ang-II), oks-LDL og dens aterogene fettinnhold, samt skjærekrefter, kan oppregulere uttrykket av reseptoren. Oks-LDL-opptak via denne reseptoren, kan være involvert i aktivering av endotelet og dermed bidra til en dysfunksjon i aterogenesen (e-tab 2).

Patofysiologisk betydning av LOX-1

LOX-1 er uttrykt på endotelceller som dekker tidlige aterosklerotiske lesjoner og på makrofager og glatte muskelceller som har hopet seg opp i intima i avanserte aterosklerotiske plakk. Dette indikerer reseptorens viktige rolle både som en initiator og som en akselerator for danning av aterosklerotiske lesjoner.

Hypertensjon

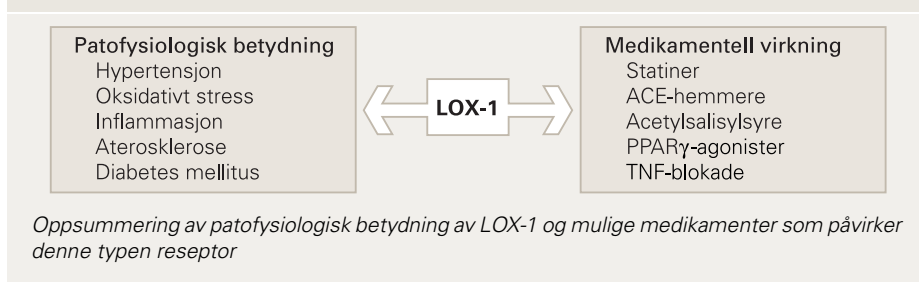
Hypertensjon har lenge vært kjent som en risikofaktor for utvikling av aterosklerose, men sykdomsmekanismen er ennå ikke kartlagt. Det er allment kjent at hypertensjon skyldes en endotelial dysfunksjon hvor endotelial *vasodilatasjon* – *vasokontraksjon* er i ubalanse (3). Uttrykket av LOX-1 er sterkt korrelert til sykdommer assosiert med hypertensjon (4). Det er funnet økt uttrykk av LOX-1 i blodkar fra hypertensive dyr og mennesker, noe som tyder på en kobling mellom denne reseptoren og hypertensjon (5). Angiotensiner, og spesielt ang-II, er sammen med oks-LDL involvert i ateroskloseutvikling (6). Det er vist at pasienter med forhøyede serumverdier av ang-II, og



Hovedbudskap

- LOX-1 kan være et diagnostisk verktøy for påvisning av aterosklerose
- LOX-1 er en overflatereseptor primært for opptak av oks-LDL
- LOX-1 induserer endotelial dysfunksjon og danning av skumceller
- Oks-LDL og oksidativt stress er nøkkel-faktorer i ateroskloseutviklingen

Figur 1



som samtidig har autoantistoffer mot oks-LDL, har økt risiko for akutt hjerteinfarkt (7). I tillegg er det rapportert at høye verdier av serum-lipider, spesielt LDL, øker angiotensin-1 (AT1)-reseptoren, og en aktivering av AT1 er forbundet med utvikling av aterosklerose i karveggen. Blokking av AT1-reseptoren er dokumentert å redusere risiko for akutt hjerteinfarkt.

Oksidativt stress – LOX-1-syklus

LOX-1-stimulering (oks-LDL) har vist å generere frie radikaler (8). Homocystein er en aterogen substans hos mennesker. Man mener den kan virke gjennom oksidativt stress, og den er funnet positivt korrelert med forekomst av prematur kardiovaskulær sykdom (9). I pasienter med hyperhomocysteinemi fant vi nylig signifikant høyere uttrykk av LOX-1 i perifere mononukleære celler fra blod (PBMC) sammenliknet med matchede kontroller (10). Nagase og medarbeidere viste også i endotelceller in vitro en konsentrasjonsavhengig økning av LOX-1-uttrykket etter homocysteinestimulering (5).

Data tyder på at LOX-1 oppreguleres av stimuli assosiert med oksidativt stress (11, 12). Oksidativt stress er ofte en bakenforliggende årsak til – og en pådriver av – en rekke ulike patologiske prosesser. En «*oksidativt stress-syklus*» er foreslått når det gjelder LOX-1; oksidativt stress øker LOX-1-nivået og en stimulering av LOX-1-reseptoren resulterer i et ytterligere økt oksidativt stress. Dette vil igjen forårsake en progrediering av sykdom i eksempelvis karvegg. Denne type syklus underbygges av immunfarging av aterosklerotisk plakk som viser en betydelig kolokalisering av LOX-1-reseptoren og dens lipoproteinderiverte ligander. Videre har Cominacini og medarbeidere blant annet vist at ved binding av oks-LDL til LOX-1 reseptoren, blir transkripsjonsfaktoren NF-κB aktivert samtidig som intracellulære reaktive oksygenforbindelser (ROS) øker (9).

Inflammasjon

CD40/40L-signalering spiller en sentral rolle i ateroskleroseutviklingen ved at den aktiverer ulike proinflammatoriske veier. Nylig ble det vist at oks-LDL via LOX-1 gav en oppregulering av CD40/CD40L-signalering i endotelcellekulturer. Denne LOX-1-me-

dierte effekten på CD40/40L ble videre funnet å være avhengig av proteinkinase-Cα (PKCα). Det er også klare data som viser at TNF-α øker nivået av LOX-1 (13). TNF-α er en inflammatorisk signalsubstans som er underlagt den redoks-sensitive transkripsjonsfaktoren NF-κB på gennivå og er i tillegg selv en aktivator av NF-κB (14). Med andre ord, vil en inflammasjon muliggjøre en potensering av LOX-1-uttrykket i karveggen. I tråd med dette viser immunhistokjemiske analyser av aterosklerotisk materiale at TNF-α og LOX-1-uttrykkene korresponderer (15).

Vi har nylig vist at oksidativt stress-markøren, 8-isoprostan, gav en kraftig utskilling av det proinflammatoriske kjemokinin IL-8 og en økt MMP-aktivitet i makrofager, uten at LOX-1- gen- eller proteinuttrykket ble endret (16, 17). I motsetning, har vi i en annen cellemodell funnet at 8-isoprostan både øker genuttrykket og aktiviteten av LOX-1-reseptoren, trolig via en mekanisme som involverer NF-κB signalveien (12). Anti-inflammatoriske signalstoffer er kjent for å dempe virkningen av proinflammatoriske stimuli. LOX-1 synes derimot ikke å bli påvirket av antiinflammatoriske cytokiner slik som IL-10 etter oks-LDL-stimulering av humane makrofager (18).

Nye studier viser også at LOX-1 er et adhesjonsmolekyl som binder opp leukocytter i sirkulasjon. En slik egenskap kan tyde på at LOX-1 også er involvert i leukocyttrakkering i blant annet karvegg ved tidlig inflammasjon. LOX-1 kan dermed være en viktig initiator i en aterosklerotisk prosess.

Aterosklerose

Aterosklerose er en multifaktoriell prosess hvor lipider og inflammasjon spiller en vesentlig rolle. Ett av de første tidlige trinn i en slik utvikling, ved siden av inflammatorisk reaksjon i karveggen, er lipiddeponering i karvegg og en transformasjon av makrofager til såkalte skumceller. Reseptorer involvert i et slikt lipidopptak er scavenger-reseptorer, som inkluderer LOX-1. Immunfarging fra aterosklerotisk materiale, både fra dyr og mennesker, viser at LOX-1 uttrykkes i et karakteristisk mønster. I tidlige lesjoner viser endotelet en betydelig farging, noe som kan tolkes som at LOX-1 er en viktig faktor tidlig i en patologisk transformasjon av kar-

veggen. Samtidig viser modne plakk en opphopning av reseptoren i ulike celletyper (glatte muskelceller, makrofager, skumceller). Dette kan tyde på at LOX-1 kan være innblandet i aterosklerotiske komplikasjoner slik som plakkruptur og trombose. Videre finner man sterke uttrykk av LOX-1 i deler av arterier som utsettes for betydelige skjærekrefter, slik som i arterielle forgreninger. Sammen med data som viser at ang-II øker LOX-1-uttrykket, tyder dette på at LOX-1 klart er underlagt en hemodynamisk kobling (4).

Diabetes mellitus

Diabetes mellitus er karakterisert som en tilstand av oksidativt stress, endotelial dysfunksjon og oppregulering av adhesjonsmolekyler i inflammatoriske celler (13). Tilstanden er en betydelig risikofaktor for utvikling av aterosklerose, og kardiovaskulær sykdom er den største komplikasjonen og den viktigste årsaken til død av diabetes. Chen og medarbeidere fant at oks-LDL binder seg til, og deretter induserer LOX-1-uttrykket, i endotelcellekulturer (19). Dette tyder på en autoregulering av LOX-1-uttrykket via positive feedbackmekanismer. I diabetiske rotter øker både sirkulerende oks-LDL og uttrykket av LOX-1 i endotelceller, sammenliknet med normale rotter. Dermed kan den autoregulatoriske mekanismen bidra til oppregulering av LOX-1 også in vivo. En økt samhandling mellom LOX-1 og dens ligand kan være involvert i oppreguleringen av reseptoruttrykket ved diabetes, og likedan ved hyperlipidemisk aterosklerose.

Postprandial plasma-glukose er blitt foreslått som en uavhengig risikofaktor for kardiovaskulær sykdom. I dyrkede endotelceller fra aorta inkubert med AGE-produkter, viser det seg at LOX-1-uttrykket ble induisert (13). Li og medarbeidere fant at ved å tilsette økende konsentrasjoner av glukose til humane endotelceller fra aorta, øker både LOX-1 genuttrykket og proteinet på en doseavhengig måte (20). I tillegg viste forfatterne at inkubering med høy glukosekonsentrasjon øker monocytadhesjon til endotelet via en LOX-1-avhengig signalmekanisme. Ovenstående data tyder altså på at LOX-1 og dens ligander er involvert i vaskulære komplikasjoner som forekommer ved diabetes.

Medikamentell virkning

Hittil er mye av forskningen rundt LOX-1 utført i eksperimentelle systemer, slik som cellekulturer og dyremodeller. Ut ifra disse studiene kan det synes at LOX-1 har moduleringspotensial også in vivo. Blant annet er innholdet av løselig LOX-1 funnet økt i plasma hos pasienter med koronar hjertesykdom, og spesielt hos pasienter med akutt koronarsyndrom (21). Foreløpig er det uklart om løselig LOX-1 er en prediktiv markør for ustabil hjerte- og karsykdom.

Statiner

Statiner er rapportert å ha gunstige effekt også på LOX-1-uttrykket, men den eksakte mekanismen kjenner man foreløpig ikke (22). Data tyder imidlertid på at statiner reduserer aktiviteten av den redoks-sensitive transkripsjonsfaktoren NF- κ B som igjen påvirker angereguleringen av LOX-1. Men statiner angriper også en annen side av LOX-1-reseptoren, nemlig dens ligand. Det er vel dokumentert at statiner reduserer nivået av oks-LDL in vivo (23). Videre er det også vist at statiner hemmer oks-LDL-indusert oppregulering av ACE (angiotensin converting enzyme). Alle disse egenskapene gjør at statiner er et lovende behandlingsalternativ i en mulig fremtidig modulering av LOX-1 in vivo.

ACE-hemmere

Data viser at ang-II oppreguler uttrykket av LOX-1 på vaskulære glatte muskelceller og endotelceller (24). Studier med bruk av ACE-hemmere viser en blokkering av ang-II-mediert effekt på LOX-1 i endotelcellekulturer (24). Videre er det funnet i hyperkolesterolemiske kaniner en markant nedregulering av LOX-1 etter administrering av ACE-hemmere. Disse dataene tyder på at ACE-hemmere, i tillegg til en positiv effekt på blodtrykk, har en gunstig effekt på LOX-1, som også kan ha betydning hos mennesker.

Acetylsalisylsyre

Studier viser at denne syklooksigenase (COX)-hemmeren har flere ulike funksjoner som platehemmer og vasobeskyttende egenskaper (bedre vasodilatasjon). Det er rapportert at acetylsalisylsyre, også på en doseavhengig måte, reduserer LOX-1-uttrykket i endotelcellekulturer parallelt med en reduksjon i MMP-1-nivået. Samtidig ble det i samme arbeid vist at acetylsalisylsyre reduserer fosforilyeringen av viktige intracellulære signaler (p38 MAPK) og endotelderivert generering av frie radikaler (superoksider). Disse dataene tyder på at acetylsalisylsyre er multifunksjonell med flere gunstige effekter på karveggen (25), og flere av disse effektene kan være mulige angrepspunkter i fremtidig behandling av LOX-1 in vivo.

PPAR gamma (γ)-agonister

PPAR γ -agonistene, tiazolidiner, er i dag et preparat som benyttes i behandling ved bl.a. metabolsk syndrom. Tiazolidiner er vist å redusere TNF- α -indusert uttrykk av LOX-1 i endotelcellekulturer. Videre er også en annen PPAR γ -antagonist, 15d-PGJ2, funnet å inhibere IL-1 β -indusert oppregulering av LOX-1 i vaskulære glatte muskelceller (15), og tiazolidiner er rapportert å hindre både oks-LDL-, ang-II- og TNF- α -mediert oppregulering av LOX-1 i vaskulære endotelcellekulturer (26). Derfor kan PPAR γ -agonister være en potensiell interessant behandlingsstrategi med tanke på regulering av LOX-1 også in vivo.

TNF-blokade

TNF-blokade er en type behandling som i dag er i klinisk bruk, men som også har vært mye omdiskutert (27). Den aterosklerotiske prosessen er karakterisert ved en kronisk inflammatorisk respons i karveggen og blir ofte fulgt av økte verdier av inflammatoriske cytokiner i sirkulasjon, for eksempel TNF- α . En helt sentral transkripsjonsfaktor i kronisk inflammatorisk sykdom er NF- κ B (14). Data tyder på at LOX-1 oppreguleres transkripsjonelt av en rekke proinflammatoriske signalmolekyler (IL-1 β , TGF- β), inkludert TNF- α . Hvorvidt en direkte TNF-blokade er hensiktsmessig i fremtidig terapi, eller en indirekte modulering av for eksempel transkripsjonsfaktoren NF- κ B, er ennå usikkert.

Konklusjon

LOX-1 er en scavenger-reseptor som synes å være involvert i ulike prosesser assosiert med hjerte- og karsykdommer (fig 1). Data tyder på at LOX-1, via opptak av oks-LDL, er involvert i lipidakkumulering, inflammasjon og oksidativt stress. Dette er prosesser som er med på å drive en aterosklerotisk sykdomsutvikling fremover. Reguleringen av LOX-1 er underlagt en selvforsterkende «*oksidativt stress-LOX-1*»-syklus. LOX-1 er dessuten en reseptor som kan påvirkes av medikamentell behandling, og de hittil mest lovende behandlingsalternativene er trolig statiner og tiazolidiner. Selv om mye forskning gjenstår for helt å forstå ulike reguleringsmekanismer av LOX-1 i en patofysiologisk sammenheng, er allikevel denne reseptoren svært interessant og vil kunne få klinisk betydning innenfor behandling og forebygging av aterosklerotiske hjerte- og karsykdommer i fremtiden.

Manuskriptet ble godkjent 20.1. 2006.

e-tab 1 og e-tab 2 finnes i artikkelen på www.tidsskriftet.no

Litteratur

- Horiuchi S, Sakamoto Y, Sakai M. Scavenger receptors for oxidized and glycated proteins. *Amino Acids* 2003; 25: 283–92.
- Sawamura T, Kume N, Aoyama T et al. An endothelial receptor for oxidized low-density lipoprotein. *Nature* 1997; 386: 73–7.
- Smith CJ, Sun D, Hoegler C et al. Reduced gene expression of vascular endothelial NO synthase and cyclooxygenase-1 in heart failure. *Circ Res* 1996; 78: 58–64.
- Chen M, Masaki T, Sawamura T. LOX-1, the receptor for oxidized low-density lipoprotein identified from endothelial cells: implications in endothelial dysfunction and atherosclerosis. *Pharmacol Ther* 2002; 95: 89–100.
- Nagase M, Ando K, Nagase T et al. Redox-sensitive regulation of lox-1 gene expression in vascular endothelium. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 281: 720–5.
- Mehta JL. The role of LOX-1, a novel lectin-like receptor for oxidized low density lipoprotein, in atherosclerosis. *Can J Cardiol* 2004; 20 (suppl B): 32B-36B.
- Singh BM, Mehta JL. Interactions between the renin-angiotensin system and dyslipidemia: relevance in the therapy of hypertension and coronary heart disease. *Arch Intern Med* 2003; 163: 1296–304.

- Wu R, Nityanand S, Berglund L et al. Antibodies against cardioplin and oxidatively modified LDL in 50-year-old men predict myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 3159–63.
- Cominacini L, Pasini AF, Garbin U et al. Oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) binding to ox-LDL receptor-1 in endothelial cells induces the activation of NF- κ B through an increased production of intracellular reactive oxygen species. *J Biol Chem* 2000; 275: 12633–8.
- Holven KB, Scholz H, Halvorsen B et al. Hyperhomocysteinemic subjects have enhanced expression of lectin-like oxidized LDL receptor-1 in mononuclear cells. *J Nutr* 2003; 133: 3588–91.
- Weiss N. Mechanisms of increased vascular oxidant stress in hyperhomocysteinemia and its impact on endothelial function. *Curr Drug Metab* 2005; 6: 27–36.
- Halvorsen B, Staff AC, Henriksen T et al. 8-isoprostaglandin F(2alpha) increases expression of LOX-1 in JAR cells. *Hypertension* 2001; 37: 1184–90.
- Mehta JL, Li D. Identification, regulation and function of a novel lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 1429–35.
- Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor- κ B: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med* 1997; 336: 1066–71.
- Hofnagel O, Luechtenborg B, Stolle K et al. Proinflammatory cytokines regulate LOX-1 expression in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1789–95.
- Scholz H, Yndestad A, Damas JK et al. 8-isoprostane increases expression of interleukin-8 in human macrophages through activation of mitogen-activated protein kinases. *Cardiovasc Res* 2003; 59: 945–54.
- Scholz H, Aukrust P, Damas JK et al. 8-isoprostane increases scavenger receptor A and matrix metalloproteinase activity in THP-1 macrophages, resulting in long-lived foam cells. *Eur J Clin Invest* 2004; 34: 451–8.
- Halvorsen B, Waehre T, Scholz H et al. Interleukin-10 enhances the oxidized LDL-induced foam cell formation of macrophages by antiapoptotic mechanisms. *J Lipid Res* 2005; 46: 211–9.
- Chen N, Nagase M, Fujita T et al. 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: 962–8.
- Li L, Sawamura T, Renier G. Glucose enhances endothelial LOX-1 expression: role for LOX-1 in glucose-induced human monocyte adhesion to endothelium. *Diabetes* 2003; 52: 1843–50.
- Kume N, Kita T. Apoptosis of vascular cells by oxidized LDL: involvement of caspases and LOX-1 and its implication in atherosclerotic plaque rupture. *Circ Res* 2004; 94: 269–70.
- Rosenson RS, Brown AS. Statin use in acute coronary syndromes: cellular mechanisms and clinical evidence. *Curr Opin Lipidol* 2002; 13: 625–30.
- Schonbeck U, Libby P. Inflammation, immunity, and HMG-CoA reductase inhibitors: statins as antiinflammatory agents? *Circulation* 2004; 109: I118-I126.
- Morawietz H, Rueckschloss U, Niemann B et al. Angiotensin II induces LOX-1, the human endothelial receptor for oxidized low-density lipoprotein. *Circulation* 1999; 100: 899–902.
- Mehta JL. Aspirin for the primary prevention of coronary events. *N Engl J Med* 2002; 347: 948.
- Mehta JL, Hu B, Chen J et al. Pioglitazone inhibits LOX-1 expression in human coronary artery endothelial cells by reducing intracellular superoxide radical generation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 2203–8.
- Khanna D, McMahon M, Furst DE. Anti-tumor necrosis factor alpha therapy and heart failure: what have we learned and where do we go from here? *Arthritis Rheum* 2004; 50: 1040–50.