



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2021.02.023

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2021.02.023

• 继续教育园地 •

中性粒细胞相关脂质运载蛋白、中性粒细胞相关脂质运载蛋白/基质金属蛋白酶-9 复合物在心血管疾病中的研究进展

熊政 张阳扬 李群星 赵新华 邵杨歌 尹德录

【摘要】 心血管疾病的发病率和死亡率逐年上升,严重危害人类健康。研究表明中性粒细胞相关脂质运载蛋白(NGAL)、NGAL/基质金属蛋白酶(MMP)-9 复合物参与炎症介质调控及血管重构,在心血管疾病的发生发展中起重要作用。本文对 NGAL、NGAL/MMP-9 复合物的生物学特性及其在心血管疾病中的作用及临床意义进行综述,探讨其作为预测心血管疾病有效生物标志物的价值。

【关键词】 中性粒细胞相关脂质运载蛋白; 中性粒细胞相关脂质运载蛋白/基质金属蛋白酶-9 复合物; 心血管疾病

[中图分类号] R541.4

[文献标识码] A

心血管疾病(CVD)是目前公共卫生的一大难题,预计到2030年,约有2300万人死于CVD。在我国,随着经济的发展,人们生活方式的改变,CVD已位居城乡居民总死亡原因的首位。目前,高敏C反应蛋白已被确认为是预测心血管不良事件的有效指标,炎症生物标志物是心血管疾病的预测指标。研究发现,中性粒细胞相关脂质运载蛋白(NGAL)、NGAL/基质金属蛋白酶(MMP)-9复合物作为促炎因子在心血管疾病的发展过程中,尤其在炎症反应、血管重构及斑块易损性中发挥着关键作用,有望成为心血管疾病的新型预测指标。本文对 NGAL、NGAL/MMP-9 复合物的生物学特性及其在心血管疾病中的作用及临床意义进行综述,旨在探讨其作为预测心血管疾病有效生物标志物的价值。

一、NGAL、NGAL/MMP-9 复合物概述

中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(lipocalin)又称 lipocalin-2、24p3、NRL,是细胞外蛋白 lipocalin 家族的成员,是一种25 kDa 糖蛋白,由178个氨基酸残基组成,存在于中性粒细胞的次级颗粒中^[1],并在中性粒细胞活化和脱粒过程中分泌。NGAL在拥有脂质运载蛋白家族成员所具有的结合并转运多种亲脂性小分子作用外,还与中性粒细胞、巨噬细胞和上皮细胞中特异性受体结合^[2],加快促炎因子如白细胞介素(IL)-6、IL-8和单核细胞趋化蛋白(MCP)-1的产生^[3],是促动脉粥样硬化(AS)的有效介质。

MMP-9作为预测易损型斑块的有效指标,是锌-金属蛋白酶家族的一员,在单核-巨噬细胞、内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维

细胞和肿瘤细胞中广泛表达,可降解细胞外基质,促进内皮通透性,破坏AS进展期斑块的稳定性^[4]。同时,NGAL可与重组基质金属蛋白酶前体(pro-MMP)-9以分子间二硫键方式形成具有稳定生物活性的异源二聚体(NGAL/pro-MMP-9),随后与金属蛋白酶组织抑制因子(TIMP-1)结合形成三元、四元复合物^[5]。NGAL/pro-MMP-9被激活后形成分子量约为125 kDa的复合物(NGAL/MMP-9复合物),NGAL/MMP-9复合物作为MMP-9的重要调节剂,使NGAL以剂量依赖性方式防止MMP-9降解并延长其活性,解除TIMP-1对MMP-9的抑制作用,调节粒细胞的炎症和病理生理反应。

NGAL、NGAL/MMP-9复合物在调控炎症反应、介导肿瘤浸润及转移等方面发挥重要作用。有研究证实,糖尿病肾病、肾衰竭等肾损伤患者NGAL、NGAL/MMP-9复合物水平升高,尤其是NGAL作为急性肾损伤(AKI)的重要早期标志物,在肾脏疾病中具有极大的诊断及预测预后价值^[6]。NGAL、NGAL/MMP-9复合物、MMP-9在乳腺癌、肺癌、大肠癌、白血病等恶性肿瘤中高度表达,NGAL/pro-MMP-9复合物水平与肿瘤患者的病情严重程度及存活率显著相关^[7],NGAL/MMP-9复合物已被证实是脑肿瘤分子标志物^[8]。

二、NGAL、NGAL/MMP-9 复合物与心血管疾病

1. NGAL、NGAL/MMP-9 复合物与 AS

AS的发病机制主要包括脂质浸润学说、血栓形成学说、炎症反应学说、内皮细胞损伤学说、斑块增殖及新生血管形成等,所有方面均受血管斑块炎症反应的影响。NGAL、NGAL/MMP-9作为促炎介质参与AS形成。

Eilenberg等^[3]在人颈动脉粥样硬化组织中发现巨噬细胞、平滑肌细胞和内皮细胞均能表达NGAL蛋白,有症状的颈动脉狭窄患者AS组织中NGAL mRNA表达水平较无症状的颈动脉

狭窄患者高, NGAL 可创建 AS 的特征性促炎环境。该作者的最新研究提出 NGAL 可作为检测不稳定颈动脉斑块的有效生物标志物, 并指导早期颈动脉内膜切除术或支架植入术的诊断及治疗^[9]。另有研究发现, 滋养细胞参与 AS 形成, 来源于滋养细胞的斑块内新生血管是导致斑块内出血的主要原因, NGAL/MMP-9 复合物可与血红蛋白共定位, 通过 Fe^{2+} 的形式释放铁, 加速诱导氧化应激和慢性炎症, 促进斑块内新生血管形成, 加快 AS 形成^[10]。Boekhorst 等^[11]使用靶向高分辨率 MR 成像在鼠 AS 组织中检测到 NGAL 和 NGAL/MMP-9 复合物, 提示 NGAL、NGAL/MMP-9 复合物有望成为检测高风险斑块的新型成像靶点。

已知他汀类药物可降低循环炎症介质的浓度, 研究显示对易损型斑块患者给予他汀类药物, 他汀药物治疗组患者 NGAL 和 NGAL/MMP-9 复合物水平较非他汀药物治疗组明显降低, 提示在某种程度上, 他汀类药物通过降低循环 NGAL、NGAL/MMP-9 复合物起稳定 AS 斑块的作用^[12]。

2. NGAL、NGAL/MMP-9 复合物与冠心病

(1) 稳定性心绞痛: 到目前为止, 关于 NGAL 与稳定性心绞痛之间关系的研究尚少。Paulsson 等^[13]研究发现, 稳定性心绞痛组患者的 NGAL/MMP-9 复合物水平和刺激中性粒细胞颗粒释放 NGAL 的 IL-8 浓度均高于正常对照组, 提示稳定性心绞痛患者的中性粒细胞处于启动状态, 使细胞在迁移过程中易发生放大反应。Zografos 等^[14]的研究结果显示, 与冠状动脉正常患者比较, 稳定型冠心病患者血清 NGAL 水平明显升高。另有研究分析血浆 NGAL 对冠心病患者(包括不稳定和稳定冠心病患者)的预测作用, 在调整常规心血管危险因素后, 血浆 NGAL 水平与全因死亡率及 CVD 死亡率独立相关, 但在调整肌酐水平后, 血浆 NGAL 不能预测全因死亡率和心血管疾病死亡率^[15]。

(2) 急性冠脉综合征: NGAL 是 ACS 的有效预测因子。一项前瞻性研究纳入初次行经皮冠状动脉介入治疗的 584 例 ST 段抬高型心肌梗死患者, 在术前完善 NGAL 血液样本并进行中位时间为 23 个月的随访, 结果证实较高 NGAL 水平是全因死亡率和主要不良心血管事件(MACE)的独立预测因子, 可独立预测行经皮冠状动脉介入治疗(PCI)的 STEMI 患者的全因死亡率和 MACE^[16]。Cheng 等^[17]的研究旨在探讨 13 种蛋白质类生物标志物对冠心病患者预后的预测价值, 纳入 768 例接受冠状动脉造影的急 ACS 及稳定型心绞痛患者, 结果表明 NGAL/MMP-9 复合物在随访期间与 MACE 独立相关, 将 NGAL/MMP-9 复合物添加到常规风险模型中并未明显提高辨别能力[受试者工作特征(ROC)曲线下面积为 0.73 比 0.67], 但明显改善了风险重分类(净重新分类指数 0.44; 95% CI 0.20 ~ 0.69, $P < 0.001$)。血清 NGAL 水平与病变血管数量相关, 提示 NGAL 水平可能提示疾病的严重程度。Katagiri 等^[18]的研究旨在评估无心力衰竭和慢性肾脏病患者血清 NGAL 水平与 CAD 严重程度之间的关系, 发现高水平 NGAL 是高 SYNTAX 评分的独立危险因素, NGAL 可能是 CAD 严重程度的生物标志物。

3. NGAL、NGAL/MMP-9 复合物与心力衰竭

既往多项研究已经表明 NGAL 在急性肾脏疾病早期诊断

中的作用。由于肾功能不全对急性失代偿性心力衰竭和慢性心力衰竭的发病率及死亡率有显著影响, NGAL 除了作为肾脏损伤的生物标志物外, 在心力衰竭过程中还参与炎症反应^[19], 被认为是心力衰竭的生物标志物^[20]。Pronschinske 等^[21]研究发现, 与对照组比较, 心力衰竭患者的 NGAL 水平明显升高, 而其接受心室辅助装置(VAD)植入后的 NGAL 水平较前下降, NGAL 水平与 VAD 植入后心力衰竭严重程度及血液动力学改变有关, NGAL 可作为心力衰竭患者病情严重程度和预后的标志物。一项关于 NGAL 对慢性心力衰竭患者预后预测价值的前瞻性研究通过监测 NGAL 水平并进行平均 10.6 个月的随访, 主要终点事件为心血管死亡、心力衰竭住院或因心力衰竭急诊就诊, 结果显示, NGAL 水平与肌酐、白蛋白尿、肾小球滤过率显著相关, ROC 曲线分析结果显示, NGAL 预测主要终点事件的最佳截断值为 179 ng/ml, NGAL 高于此临界值患者的无事件生存率较低, 且 NGAL、男性与主要终点事件独立相关^[22]。Siasos 等^[23]研究发现心力衰竭患者中 NGAL 水平明显升高, 并与炎症及心脏重塑的生物标志物[肌酐、肿瘤坏死因子(TNF)- α 、脑钠肽(BNP)、MMP-9]呈正相关, 与左心室射血分数呈负相关, 进一步提示了心力衰竭过程中可能存在肾功能不全、炎症及心脏功能障碍的共同发病机制。另有研究发现抑郁症患者 NGAL 水平升高, 合并慢性心力衰竭患者的 NGAL 水平明显升高, 与抑郁评分相关^[24]。在严重心力衰竭的猪心肌细胞胞质中观察到 NGAL/MMP-9 复合物, 提示在心力衰竭进展期间, NGAL/MMP-9 复合物在细胞外基质重塑中的作用^[25]。

4. NGAL、NGAL/MMP-9 复合物与心脏手术后肾损伤

NGAL 是儿科心脏手术后常用的肾脏损伤标志物。研究发现心脏手术后并发急性肾损伤患者尿液和血浆 NGAL 水平明显升高。在成年人的研究中也类似发现^[26], 心脏手术后发生 AKI 的患者术后 24 h 内尿液 NGAL 水平达到峰值, 但血清 NGAL 水平未见明显升高。有研究结果表明, 尿液 NGAL 在诊断和预测 AKI 方面优于血浆 NGAL。一项旨在探讨 NGAL 水平与急性心功能不全的先天性心脏病新生儿急性肾损伤与临床结局关系的研究纳入年龄 < 30 d 并接受心脏手术进行体外循环的新生患儿, 发现 NGAL 水平在体外循环 12 h 时达到峰值, 较术前水平增加 1 倍, 并与 AKI、长时间机械通气、住院时间相关。Buelow 等^[27]的研究也验证了 NGAL 是预测肺动脉瓣置换术后发生 AKI 的有效生物标志物。Pesonen 等^[28]的研究旨在探讨儿科心脏手术前应用甲强龙对血浆 NGAL 水平的影响, 结果发现, 与对照组比较, 甲强龙组患儿术后 6 h 血浆 NGAL 水平明显降低, 提示 NGAL 源于活化的中性粒细胞, 甲强龙可明显降低 NGAL 水平。同时 NGAL 也是预测造影剂肾病的有效指标。

5. NGAL、NGAL/MMP-9 复合物与其他心血管疾病

NGAL、NGAL/MMP-9 复合物与心律失常、感染性心包炎、心脏瓣膜病等关系的研究尚少。一项旨在探讨 NGAL 是否可作为经皮二尖瓣修补术患者死亡率指标的研究收集了 120 例行二尖瓣修补术患者术前的血浆和尿液 NGAL, 术后进行 12 个月的随访, 结果显示, 随访期间死亡患者尿液 NGAL 水平相对

照组明显升高($P < 0.001$)^[29]。既往研究结果显示,NGAL 是一种盐皮质激素受体(MR)响应基因,经醛固酮处理后,MR 直接与 NGAL 启动子结合并控制转录,而转录时可被 MR 拮抗剂如螺内酯阻断。既往研究结果显示,在恶性肿瘤患者中醛固酮处于高水平状态,诱导 NGAL 表达,提示 NGAL 可辅助恶性肿瘤后心脏功能障碍和心力衰竭的诊断,给予螺内酯治疗后可显著改善心脏功能^[30]。

三、总结及展望

综上所述,NGAL、NGAL/MMP-9 复合物与心血管疾病发生、发展关系密切,主要作用机制为促进炎症反应、加快血管内皮功能障碍和内膜增厚、加快斑块破裂出血及促进新生血管形成等。目前关于 NGAL、NGAL/MMP-9 复合物的临床研究较少,其在 C 反应蛋白、BNP、肌钙蛋白等传统指标面前,预测心血管疾病尚未显现出优势,因此,需要 NGAL/MMP-9 复合物、NGAL、MMP-9 等多个标志物联合使用。另外,由于 NGAL、NGAL/MMP-9 复合物是在活动性炎症部分分泌,血液及尿液的采样时间仍未解决,其在心血管疾病的发病机制、作为新的治疗靶点及不良事件的预测价值等方面需要更多的临床研究进行论证。

参 考 文 献

- [1] Kjeldsen L, Johnsen AH, Sengel ϕ H, et al. Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase [J]. J Biol Chem, 1993, 268(14): 10425-10432.
- [2] Helanova K, Spinar J, Parenica J. Diagnostic and prognostic utility of neutrophil gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) in Patients with Cardiovascular Diseases-Review[J]. Kidney Blood Press Res, 2014, 39(6): 623-629.
- [3] Eilenberg W, Stojkovic S, Piechota-Polanczyk A, et al. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) is Associated with Symptomatic Carotid Atherosclerosis and Drives Pro-inflammatory State In Vitro[J]. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2016, 51(5): 623-631.
- [4] Cruz DN, Gaiao S, Maisel A, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of cardiovascular disease: a systematic review [J]. Clin Chem Lab Med, 2012, 50(9): 1533-1545.
- [5] Coles M, Diercks T, Muehlenweg B, et al. The solution structure and dynamics of human neutrophil gelatinase-associated lipocalin[J]. J Mol Biol, 1999, 289(1): 139-157.
- [6] Kashani K, Cheungpasitporn W, Ronco C. Biomarkers of acute kidney injury: the pathway from discovery to clinical adoption[J]. Clin Chem Lab Med, 2017, 55(8): 1074-1089.
- [7] Bouchet S, Bauvois B. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL), Pro-Matrix Metalloproteinase-9 (pro-MMP-9) and Their Complex Pro-MMP-9/NGAL in Leukaemias[J]. Cancers (Basel), 2014, 6(2): 796-812.
- [8] Liu MF, Hu YY, Jin T, et al. Matrix Metalloproteinase-9/Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Complex Activity in Human Glioma Samples Predicts Tumor Presence and Clinical Prognosis[J]. Dis Markers, 2015, 2015: 138974.
- [9] Eilenberg W, Stojkovic S, Kaider A, et al. Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin (NGAL) for Identification of Unstable Plaques in Patients with Asymptomatic Carotid Stenosis[J]. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2019, 57(6): 768-777.
- [10] Leclercq A, Houard X, Philippe M, et al. Involvement of intraplaque hemorrhage in atherothrombosis evolution via neutrophil protease enrichment [J]. J Leukoc Biol, 2007, 82(6): 1420-1429.
- [11] te Boekhorst BC, Bovens SM, Hellings WE, et al. Molecular MRI of murine atherosclerotic plaque targeting NGAL: a protein associated with unstable human plaque characteristics [J]. Cardiovasc Res, 2011, 89(3): 680-688.
- [12] Eilenberg W, Stojkovic S, Kaider A, et al. NGAL and MMP-9/NGAL as biomarkers of plaque vulnerability and targets of statins in patients with carotid atherosclerosis[J]. Clin Chem Lab Med, 2017, 56(1): 147-156.
- [13] Paulsson J, Dadfar E, Held C, et al. Activation of peripheral and in vivo transmigrated neutrophils in patients with stable coronary artery disease [J]. Atherosclerosis, 2007, 192(2): 328-334.
- [14] Zografos T, Haliassos A, Korovesis S, et al. Association of neutrophil gelatinase-associated lipocalin with the severity of coronary artery disease[J]. Am J Cardiol, 2009, 104(7): 917-920.
- [15] Woitas RP, Scharnagl H, Kleber ME, et al. Neutrophil gelatinase-Associated lipocalin levels are U-shaped in the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) study-Impact for mortality [J]. PLoS One, 2017, 12(2): e0171574.
- [16] Lindberg S, Pedersen SH, Mogelvang R, et al. Prognostic utility of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in predicting mortality and cardiovascular events in patients with ST-segment elevation myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention[J]. J Am Coll Cardiol, 2012, 60(4): 339-345.
- [17] Cheng JM, Akkerhuis KM, Meilhae O, et al. Circulating osteoglycin and NGAL/MMP9 complex concentrations predict 1-year major adverse cardiovascular events after coronary angiography [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2014, 34(5): 1078-1084.
- [18] Katagiri M, Takahashi M, Doi K, et al. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin concentration reflects severity of coronary artery disease in patients without heart failure and chronic kidney disease [J]. Heart Vessels, 2016, 31(10): 1595-1602.
- [19] Helanova K, Spinar J, Parenica J. Diagnostic and prognostic utility of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in patients with cardiovascular diseases-review [J]. Kidney Blood Press Res, 2014, 39(6): 623-629.
- [20] Maisel AS, Wettersten N, van Veldhuisen DJ, et al. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin for Acute Kidney Injury During Acute Heart Failure Hospitalizations: The AKINESIS Study [J]. J Am Coll Cardiol, 2016, 68(13): 1420-1431.
- [21] Pronschinske KB, Qiu S, Wu C, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin and cystatin C for the prediction of clinical events in patients with advanced heart failure and after ventricular assist device placement [J]. J Heart Lung Transplant, 2014, 33(12): 1215-1222.
- [22] Villacorta H, Santos RA, Marroig MA, et al. Prognostic value of plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin in patients with heart failure [J]. Rev Port Cardiol, 2015, 34(7-8): 473-478.
- [23] Siasos G, Tousoulis D, Michalea S, et al. Novel biomarkers assessing renal function in heart failure: relation to inflammatory status and cardiac remodelling[J]. Curr Med Chem, 2014, 21(34): 3976-3983.
- [24] Gouwelleuw L, Naudé PJ, Rots M, et al. The role of neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) as biological constituent linking depression and cardiovascular disease[J]. Brain Behav Immun, 2015, 46: 23-32.
- [25] Kiczak L, Tomaszek A, Bania J, et al. Matrix metalloproteinase 9/neutrophil gelatinase associated lipocalin/tissue inhibitor of metalloproteinases type 1 complexes are localized within cardiomyocytes and serve as a reservoir of active metalloproteinase in porcine female myocardium[J]. J Physiol Pharmacol, 2014, 65(3): 365-375.
- [26] Chen X, Xiao YL, Chen Y, et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin and interleukin-18 predict acute kidney injury after cardiac surgery[J]. Ren Fail, 2008, 30(9): 904-913.
- [27] Buelow MW, Dall A, Regner K, et al. Urinary interleukin-18 and urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin predict acute kidney injury following pulmonary valve replacement prior to serum creatinine [J]. Congenit Heart Dis, 2012, 7(5): 441-447.
- [28] Pesonen EJ, Suominen PK, Keski-Nisula J, et al. The Effect of Methylprednisolone on Plasma Concentrations of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin in Pediatric Heart Surgery[J]. Pediatr Crit Care Med, 2016, 17(2): 121-127.
- [29] Dörr O, Walther C, Liebetrau C, et al. Evaluation of cystatin C and neutrophil gelatinase-associated lipocalin as predictors of mortality in patients undergoing percutaneous mitral valve repair (MitraClip) [J]. Clin Cardiol, 2018, 41(11): 1474-1479.
- [30] Musolino V, Palus S, Latouche C, et al. Cardiac expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in a model of cancer cachexia-induced cardiomyopathy[J]. ESC Heart Fail, 2019, 6(1): 89-97.

(收稿日期: 2019-10-28)

(本文编辑: 周三凤)