

SLE患者外周血单核细胞CD36水平与血脂紊乱的关系*

凡瞿明^{1,3}, 杜琴^{1,3}, 卢小岚^{1,3}, 王强^{2,3}, 汪光蓉^{2,3}, 王东生^{1,3}, 蔡艳娟¹, 邓仁兵¹, 刘萍⁴, 张国元^{1,3}

(1. 川北医学院附属医院检验科, 四川南充 637000; 2. 川北医学院检验系, 四川南充 637000;

3. 川北医学院转化医学研究中心, 四川南充 637000;

4. 博奥赛斯天津生物科技有限公司, 天津 300300)

摘要:目的 通过检测系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)患者及表观健康自愿者外周血单核细胞CD36的表达及其血清脂蛋白水平,探讨SLE患者单核细胞CD36表达对脂代谢的影响,为临床早期提示SLE并发心血管疾病风险提供依据。**方法** 利用流式细胞仪检测SLE患者30例和健康体检者31例外周血单核细胞CD36强度,采用生化仪测定血清脂蛋白水平,统计分析患者与健康对照组间单核细胞CD36表达平均荧光强度与血清脂蛋白浓度差异性,及SLE患者CD36与脂蛋白间的相关性。**结果** SLE患者单核细胞CD36表达低于健康对照组($|Z|=4.198, P=0.000$), TG, VLDLC和apoB100高于对照组($|Z|=4.603, P=0.000$; $|Z|=3.620, P=0.001$; $|Z|=2.208, P=0.027$), HDLC与apoA1低于对照组($|Z|=3.751, P=0.000$; $|Z|=3.918, P=0.000$),差异均有统计学意义;TC和LDLC在两组间差异无统计学意义($|Z|=0.159, P=0.874$; $|Z|=0.476, P=0.634$)。SLE患者单核细胞CD36表达强度与血清脂蛋白水平无显著相关性($P>0.05$)。**结论** 系统性红斑狼疮患者外周血单核细胞CD36表达相较健康人群降低,其可能是SLE心血管疾病高发的独立风险因素。

关键词: 系统性红斑狼疮;单核细胞;簇分化抗原36;脂蛋白

中图分类号:R593.241;R392.11 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2018)03-050-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2018.03.014

Relationship between CD36 Expression on Peripheral Blood Monocytes and Dyslipidemia in SLE Patients

FAN Qu-ming^{1,3}, DU Qin^{1,3}, LU Xiao-lan^{1,3}, WANG Qiang^{2,3}, WANG Guang-rong^{2,3},
WANG Dong-sheng^{1,3}, CAI Yan-juan¹, DENG Ren-bing¹, LIU Ping⁴, ZHANG Guo-yuan^{1,3}

(1. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College,

Sichuan Nanchong 637000, China; 2. Faculty of Clinical Laboratory, North Sichuan

Medical College, Sichuan Nanchong 637000, China; 3. Translational Medicine Research Center,

North Sichuan Medical College, Sichuan Nanchong 637000, China;

4. Bioscience Biotechnology Co., LTD, Tientsin, Tianjin 300300, China)

Abstract: **Objective** To explore the relationship between expression level of CD36 on peripheral monocytes and dyslipidemia, and evaluate the clinical significance in prediction risk of cardiovascular disease in patients with systemic lupus erythematosus(SLE). **Methods** Monocytes CD36 and serum lipoprotein levels were determined in 30 patients with SLE and 31 cases healthy volunteers. Compared CD36 of monocytes expression intensity and lipoprotein concentration in SLE patients and health controls. Meanwhile, the correlation between CD36 and lipoprotein was analyzed in SLE patients. **Results** The CD36 expression on monocytes in patients with SLE was significantly lower than that in the control group ($|Z|=4.198, P=0.000$). TG, VLDLC and apoB100 levels of SLE patients were significantly higher than the control group ($|Z|=4.603, P=0.000$. $|Z|=3.620, P=0.001$. $|Z|=2.208, P=0.027$). HDLC and apoA1 levels of SLE patients were significantly lower than the control group ($|Z|=3.751, P=0.000$. $|Z|=3.918, P=0.000$). There were no statistically significant difference in TC and LDLC between SLE patients and healthy volunteers ($|Z|=0.159, 0.476, P=0.874, 0.634$). There was no significant correlation between CD36 expression intensity and serum lipoprotein levels in SLE patients ($P>0.05$). **Conclusion** The expression of CD36 on peripheral blood monocytes of patients with SLE was lower than that of healthy people, and the decrease of CD36 expression on monocytes may be an independent risk factor for cardiovascular disease in SLE.

Keywords: systemic lupus erythematosus(SLE); monocyte; cluster of differentiation(CD36); lipoprotein

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是以全身性免疫性炎症为表现的自身免

* 基金项目:国家科技支撑计划项目,编号:2015BAK45B01。

作者简介:凡瞿明(1971—),男,学士,副教授,研究方向:临床免疫学检验与应用开发, E-mail: fanquming@126.com。

通讯作者:张国元(1965—),男,学士,教授, E-mail:13508099826@163.com。

疫性疾病,患者常有不同程度血脂异常^[1]。簇分化抗原 36(cluster of differentiation, CD36)亦称清道夫受体,是多种组织细胞上的跨膜糖蛋白,血液中主要表达于单核细胞及血小板。而单核巨噬细胞上的 CD36 是吞噬摄取氧化修饰低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein, oxLDL)的主要受体^[2],是促进巨噬细胞泡沫化和动脉粥样硬化发生发展的重要因素。早期有学者研究发现 SLE 患者血清可显著增加体外培养的 THP-1 单核细胞株 CD36 的表达水平^[3],提示 CD36 可能与 SLE 脂代谢异常及动脉粥样硬化有关。而患者体内是否也存类似变化鲜有研究,本研究拟通过 SLE 患者外周血单核细胞 CD36 表达强度与其血脂浓度水平变化的相关性分析,探明 SLE 患者外周血单核细胞 CD36 表达强弱与血清脂蛋白的关系及与体内脂代谢的内在联系。

1 材料与方法

1.1 研究对象 SLE 患者组病例均来自本院风湿科、皮肤科、肾内科等就诊自愿患者,符合美国风湿病协会(ACR)2009 年修订的 SLE 分类诊断标准并排除高血压、糖尿病、甲状腺功能减退、肝胆疾病等可引起脂代谢紊乱的其它疾病。随机选取病例 30 例,其中男性 3 例,女性 27 例,平均年龄 35.7 岁,平均病程 25.4 个月。表观健康对照组随机抽取本院健康管理中心表观健康体检自愿者 31 例,其中男性 6 例,女性 25 例,平均年龄 34.28 岁。本研究组均履行研究对象知情同意义务,所采集资料不涉及个人隐私,标本仅限本研究使用,遵守本单位伦理规范。

1.2 试剂和仪器 CD36 检测所用仪器为美国 BD 公司生产的 FACS Calibur 流式细胞分析仪及 CELLQUEST 分析软件,采用 FITC 标记鼠抗人 CD36 单克隆抗体(CD36-FITC),购自 BECKMAN COULTER,克隆号:FA6.152,产品号:IM0766U;标记 PE 的鼠抗人 CD14 单克隆抗体(CD14-PE),购自 BD 公司,克隆号:MΦP9,产品号:347497;配套破膜剂。血脂检测:三酰甘油(triglyceride, TG)与总胆固醇(cholesterol, TC)检测采用酶偶联法,高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)检测采用直接法,低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)检测采用选择性清除法,极低密度脂蛋白胆固醇(very low density lipoprotein cholesterol, VLDLC)采用计算法,载脂蛋白 A1(apolipoprotein A1, apoA1)及载脂蛋白 B100(apolipoprotein B100, apoB100)使用免疫比浊法,所用仪器为日立 HITACHI 7600,试剂为该机型配套试剂。

1.3 方法 采集研究对象静脉血约 4 ml,分装一份 1.5 ml 经 EDTA-K₃ 抗凝,另一份 2.5 ml 注入无添加剂试管中制备血清备用。外周血单核细胞 CD36 表达强度检测,取 CD36-FITC 和 CD14-PE 试剂各 20 μl 于流式细胞专用分析试管底部,再取 EDTA-K₃ 抗凝全血 50 μl 注于前述试剂液滴中勿附着于试管壁,微量振荡器轻振数秒混匀,室温避光静置 15 min。加 1 ml 经 1:10 预稀释的破膜剂振荡混匀室温静置 5 min 后离心去上清液,用 PBS 液 1 ml 洗涤两次,每次均离心去上清液。加 500 μl PBS 制成细胞混悬液,流式细胞仪分析单核细胞 CD36 荧光强度。具体方法:以 F1 荧光通道侧向散射光(SSC)、前向散射光(FSC)特性 GATE 出有核细胞群,通过有核细胞群 CD14 与 CD36 双阳性细胞群选定单核细胞群, GATE 出该群细胞分析其 CD36 表达荧光强度以平均荧光强度指数(MFI)记录结果。血脂蛋白浓度检测均在仪器及质控良好的情况下自动检测。

1.4 统计学分析 用 STATA14.0 软件进行数据统计分析,计量数据采用中位数±四分位数(M±Q)表示。两组间比较用 Wilcoxon ranksum 秩和检验,指标间相关性分析采用 Spearman 相关分析。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SLE 患者组与表观健康对照组外周血单核细胞 CD36 表达强度与血清脂蛋白水平比较 见表 1。

表 1 SLE 组与对照组外周血单核细胞 CD36 强度与脂蛋白水平比较(M±Q)

项 目	SLE 患者组 (n=30)	表观健康对照组 (n=31)	Z	P
CD36(MFI)	360.79±67.30	488.23±45.14	4.198	0.000
TG(mmol/L)	3.32±1.96	0.81±0.44	4.603	0.000
TC(mmol/L)	4.42±1.24	4.35±0.53	0.159	0.874
HDLC(mmol/L)	1.05±0.36	1.46±0.23	3.571	0.000
LDLC(mmol/L)	2.32±0.66	2.15±0.50	0.476	0.634
VLDLC(mmol/L)	0.86±0.39	0.53±0.14	3.620	0.001
apoA1(g/L)	0.91±0.21	1.33±0.12	3.918	0.000
apoB100(g/L)	0.83±0.30	0.62±0.15	2.208	0.027

SLE 患者外周血单核细胞 CD36 表达低于对照组,组间差异有统计学意义(|Z|=4.198, P<0.01)。血脂变化:SLE 患者血清 TG, VLDLC, apoB100 较对照组高(|Z|=4.603, 3.620, 2.28, 均 P<0.01), HDLC(|Z|=3.571, P<0.05)和 apoA1(|Z|=3.918, P<0.05)低于对照组,组间差异有统计学意义;TC, LDLC 组间差异无统计学意义(|Z|=0.159, 0.476, 均 P>0.05)。

2.2 SLE 组单核细胞表面 CD36 表达强度与血脂水平的相关性 见图 1。SLE 组单核细胞表面

CD36 表达荧光强度与血脂蛋白指标 TG, LDLC, VLDLC, HDLC, apoA1, apoB100 经 Spearman 相

关性分析, 均 $P > 0.05$, 差异无统计学意义。

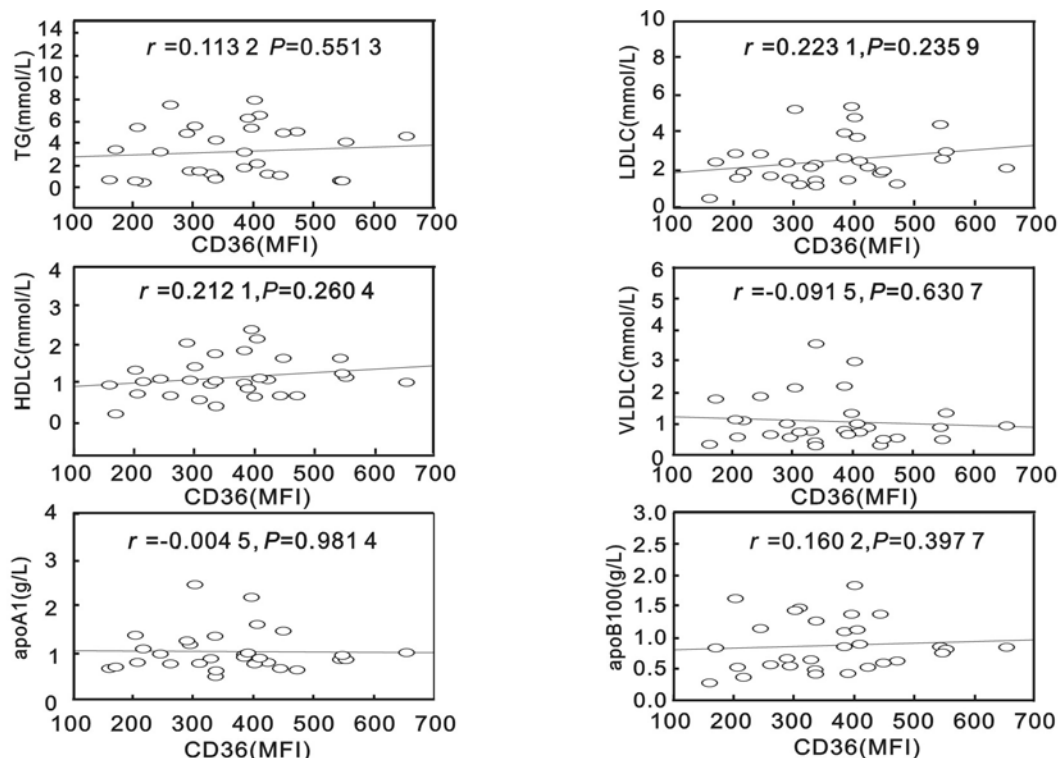


图1 SLE组单核细胞表面CD36表达强度与血脂水平的相关性分析

3 讨论 SLE患者体内脂代谢异常增加患者发生心脑血管疾病的风险, 调控患者血脂水平是SLE治疗过程中预防继发心脑血管病变的重要手段, 探明SLE患者血脂异常的特点及其潜在的影响因素, 将为防控SLE患者发生心脑血管事件提供理论基础。Yuan等^[4]学者研究发现SLE患者较对照组TG显著增高, 而HDLC, apoA1显著降低, 得出结果与本研究相似, 本研究同时发现SLE患者组较表观健康对照组。VLDLC和apoB100增高, 而TC和LDLC组间无显著性差异。从本研究数据可见, SLE患者血清中有害脂蛋白TG, VLDLC和apoB100增高, 而有利于脂肪代谢的脂蛋白HDLC, apoA1水平则降低, 这一不利于SLE患者脂肪代谢表达模式可能是发引患者心血管疾病风险升高的重要因素之一。

Sajjad等^[5]在狼疮肾炎(LN)患者中发现, 近50%患者伴有高胆固醇血症和高三酰甘油血症, 近三分之一的LN患者具有高水平的低密度脂蛋白, 并且脂蛋白水平与蛋白尿的程度有显著相关性, SLE患者脂蛋白异常可能还伴随肾脏功能减退。Skaggs等^[6]研究认为SLE患者动脉粥样硬化与糖皮质激素治疗累积剂量和病程有关, 累积剂量越高、病程越长发生心脑血管疾病的风险也就越高。Sinicato等^[7]学者综述前人研究认为SLE患者血脂异常是糖皮质激素治疗过程中, 因糖皮质激素对

胰岛素产生抵抗而导致的血脂异常, 即血脂代谢异常是糖皮质激素治疗的临床副作用。而Pego-Reigosa等^[8]通过大样本不同人种研究发现使用糖皮质激素保守治疗SLE有助于预防患者血脂异常等并发症的发生。由此可见目前SLE患者发生血脂异常的机制尚不完全明确, 诱因尚存争议, 虽然糖皮质激素与SLE患者脂代谢密切相关得到众多学者认可, 但其作用是诱导或是预防血脂异常, 还有待更多临床研究证实。本研究因未就糖皮质激素治疗情况分组探讨, 无法得出SLE患者血脂异常与临床糖皮质激素使用有关的研究证据。但研究数据表明SLE血脂成份的改变朝不利于患者体内脂代谢方向发展, 血脂异常应是SLE患者继发心脑血管疾病的风险因素之一。Gaal等^[9]研究认为全身炎症引起SLE患者体内脂蛋白结构和功能属性改变, 致使SLE患者脂蛋白在体内和体外均具有较高的氧化能力, 导致抗动脉粥样硬化能力降低, 加速了SLE患者动脉粥样硬化。动脉粥样硬化过程中oxLDL是主要风险脂蛋白之一, 其CD36是oxLDL在单核细胞表面的主要受体, 本研究数据表明SLE患者单核细胞表面CD36表达降低, 其清运oxLDL能力将受影响。

Kato等^[10]学者从基因学和生物学方面研究发现, 单核细胞清道夫受体CD36的表达与磷脂综

合征和 SLE 患者血栓形成有关, Silverstein 等^[11]研究认为巨噬细胞 CD36 是通过结合 oxLDL 或细胞膜微粒启动动脉粥样硬化形成。Boyer 等^[12]认为在慢性炎症疾病中, 肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α) 通过激活过氧化物酶增殖物活化受体, 从而下调单核细胞膜 CD36 及 CD36 mRNA 的表达。本研究发现 SLE 患者外周血单核细胞表面 CD36 相较于表观健康人群呈低表达, 与 Febbraio 等^[13]小鼠动物体内实验结果相似, 体内低水平的 CD36 可能与 SLE 长期慢性炎症性反应有关。亦有研究从动脉粥样硬化发生机理证实, 单核细胞 CD36 在动脉粥样硬化发展过程中参与泡沫细胞的形成^[14], 是心血管疾病的风险因素^[15]。SLE 患者心血管疾病风险增高可能与单核细胞 CD36 低表达密切相关, 是 SLE 患者易发心血管意外的因素之一。Febbraio 等^[13, 16]通过动物试验证实, 敲除小鼠 CD36 基因, 会致使小鼠模型血浆胆固醇、三酰甘油和脂肪酸水平显著升高, 因而 CD36 在体内脂肪代谢、炎症、动脉粥样硬化、血栓形成中扮演了重要调节作用。但本研究数据显示 SLE 患者外周血单核细胞 CD36 水平与血清脂蛋白浓度均无相关性, 外周血单核细胞 CD36 表达强度可能并非造成 SLE 患者血脂代谢异常的唯一因素, SLE 患者血脂紊乱的机理应更加复杂多样, 但这并不影响外周血单核细胞 CD36 作为 SLE 患者心血管疾病风险评判的独立生物标志。

综上所述, 系统性红斑狼疮患者外周血单核细胞 CD36 表达较表观健康人群降低, 单核细胞 CD36 表达水平与血清脂蛋白一样可作为 SLE 患者心血管疾病的独立风险标志。但其是否是影响 SLE 患者血脂代谢因素, 本研究尚无法提供有效证据, 有待扩大研究规模, 寻求更多实证。

参考文献:

- [1] Atta AM, Silva JPCG, Santiago MB, et al. Clinical and laboratory aspects of dyslipidemia in Brazilian women with systemic lupus erythematosus[J]. Clin Rheumatol, 2018 Mar 8. doi: 100. 1007/s10067-018-4051-0 (Epub ahead of print).
- [2] Choromańska B1, Mysliwiec P, Choromańska K, et al. The role of CD36 receptor in the pathogenesis of atherosclerosis[J]. Adv Clin Exp Med, 2017, 26(4): 717-722.
- [3] Reiss AB, Wan DW, Anwar K, et al. Enhanced CD36 scavenger receptor expression in THP-1 human monocytes in the presence of lupus plasma: linking autoimmunity and atherosclerosis[J]. Experimental Biology and Medicine, 2009, 234(3): 354-360.
- [4] Yuan JS, Li L, Wang ZY, et al. Dyslipidemia in patients with systemic lupus erythematosus: Association with disease activity and B-type natriuretic peptide levels[J]. Biomedical Reports, 2016, 4(1): 68-72.
- [5] Sajjad S, Farman S, Saeed MA, et al. Frequency of dyslipidemia in patients with lupus nephritis[J]. Pakistan Journal of Medical Sciences, 2017, 33(2): 358-362.
- [6] Skaggs BJ, Hahn BH, McMahon M. Accelerated atherosclerosis in patients with SLE-mechanisms and management [J]. Nature Reviews Rheumatology, 2012, 8(4): 214-223.
- [7] Sinicato NA, da Silva Cardoso PA, Appenzeller S. Risk factors in cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus[J]. Current Cardiology Reviews, 2013, 9(1): 15-19.
- [8] Pego-Reigosa JM, Rua-Figueroa I, Lopez-Longo FJ, et al. Analysis of disease activity and response to treatment in a large Spanish cohort of patients with systemic lupus erythematosus[J]. Lupus, 2015, 24(7): 720-729.
- [9] Gaal K, Tarr T, Lorincz H, et al. High-density lipoprotein antioxidant capacity, subpopulation distribution and paraoxonase-1 activity in patients with systemic lupus erythematosus[J]. Lipids in Health and Disease, 2016, 15(1): 60.
- [10] Kato M, Atsumi T, Oku K, et al. The involvement of CD36 in monocyte activation by antiphospholipid antibodies[J]. Lupus, 2013, 22(8): 761-771.
- [11] Silverstein RL, Li W, Park YM, et al. Mechanisms of cell signaling by the scavenger receptor CD36: implications in atherosclerosis and thrombosis[J]. Transactions of the American Clinical and Climatological Association, 2010, 121(121): 206-220.
- [12] Boyer JF, Balard P, Authier H, et al. Tumor necrosis factor alpha and adalimumab differentially regulate CD36 expression in human monocytes[J]. Arthritis Res Ther, 2007, 9(2): R22.
- [13] Febbraio M, Abumrad NA, Hajjar DP, et al. A null mutation in murine CD36 reveals an important role in fatty acid and lipoprotein metabolism[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1999, 274(27): 19055-19062.
- [14] Moreira ME, Barcinski MA. Apoptotic cell and phagocyte interplay: recognition and consequences in different cell systems[J]. Anais da Academia Brasileira de Ciencias, 2004, 76(1): 93-115.
- [15] Ramos-Arellano LE, Munoz-Valle JF, De la Cruz-Mosso U, et al. Circulating CD36 and oxLDL levels are associated with cardiovascular risk factors in young subjects[J]. BMC Cardiovascular Disorders, 2014, 14(1): 54.
- [16] Febbraio M, Podrez EA, Smith JD, et al. Targeted disruption of the class B scavenger receptor CD36 protects against atherosclerotic lesion development in mice[J]. The Journal of Clinical Investigation, 2000, 105(8): 1049-1056.

收稿日期: 2018-02-28

修回日期: 2018-03-20