

急性冠脉综合征患者血单核细胞 CD36 水平研究

李小婷, 吕 宁, 尹小龙

(昆明医科大学附属延安医院心内科, 云南 昆明 650051)

[摘要] **目的** 观察急性冠脉综合征患者血 CD36+ 阳性率及变化, 研究它与 ACS 的相关性, 探讨 ACS 易损斑块发生发展可能的机制. **方法** 收集 ACS 患者 52 例 (急性心肌梗死 27 例, 不稳定性心绞痛 25 例); 稳定性心绞痛 (SA) 患者 22 例; 正常对照 22 例. 采取静脉血, 应用流式细胞术测定研究 3 组对象 CD36+ 阳性率. **结果** (1) ACS 组患者 CD36+ 阳性率均显著高于 SA 组和对照组 ($P < 0.05$); SA 组 1 患者血 CD36+ 阳性率均高于对照组 ($P < 0.05$); (2) 以血 CD36+ 阳性率作为诊断 ACS 的指标, 其对应的 ROC 曲线下面积为 0.986, 诊断 ACS 的最佳临界值为 76.835%, 所对应的灵敏度为 95.5%, 特异度为 97.1%. **结论** (1) ACS 患者血 CD36+ 阳性率水平显著升高; (2) CD36+ 阳性率可作为判断 ACS 较好的临床血清学指标.

[关键词] 急性冠脉综合征; 单核细胞; CD36

[中图分类号] R541.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003 - 4706 (2013) 02 - 0075 - 04

The Levels of CD36 in Blood Monocytes of Patients with Acute Coronary Syndrome

LI Xiao - ting, LV Ning, YIN Xiao - long

(Dept. of Cardiology, The Affiliated Yan'an Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650051, China)

[Abstract] **Objective** To observe the changes and positive ratio of CD36 in blood of the patients with acute coronary syndrome (ACS), explore the correlation between it and ACS, then discuss the possible mechanisms of the occurrence and development of vulnerable plaque. **Methods** We collected 52 cases of ACS (27 cases of AMI and 25 cases of UA), 22 cases of SA and 22 cases of control. Flow cytometry was used to detect the positive ratio of CD36 of patients in three groups. **Results** (1) In ACS group, the positive ratio of CD36 was higher than SA group and control group ($P < 0.05$). The positive ratio of CD36 in SA group was quite higher than control group ($P < 0.05$). (2) When the positive ratio of CD36 was considered as the diagnostic marker, the area under ROC curve was 0.986, the cut off value for the diagnosis of ACS was 76.835%, the sensitivity was 95.5% and the specificity was 97.1%. **Conclusions** (1) The positive ratio of CD36 in the patients with ACS rises significantly. (2) The positive ratio of CD36 can be used as the good clinical serological index for the early diagnosis of ACS.

[Key words] Acute coronary syndrome; Monocytes; CD36

CD36 属于清道夫受体 (scavenger receptor, SR) 家族成员之一, 与动脉粥样硬化疾病发生紧密相关. 清道夫受体是一种主要存在于巨噬细胞膜表面的糖蛋白, 能特异性结合并摄取 oxLDL (氧化后低密度脂蛋白胆固醇) 等多种配体从而介导脂类代谢^[1]. CD36 抗原为 B 族清道夫受体, 其结

构与经典的清道夫受体 A (SRA) 不同. 它广泛存在于单核 / 巨噬细胞、血小板、内皮细胞、视网膜色素上皮细胞和脂肪细胞中, 能与多种配体高效结合, 如血栓反应蛋白、髓过氧化物酶修饰脂蛋白、I 型和 II 型胶原、长链脂肪酸、氧化和乙酰化的 LDL 等, 而且, 其与乙酰化的 LDL 结合可不

[基金项目] 云南省教育厅科研基金资助项目 (08C0130)

[作者简介] 李小婷 (1983 ~), 女, 湖北黄石市人, 医学硕士, 主治医师, 主要从事心血管内科临床工作.

[通讯作者] 尹小龙. E-mail: yinxl001@gmail.com

受负反馈抑制。CD36 是 oxLDL 的高亲和力受体，它能识别和内吞 OX-LDL，OX-LDL 通过其脂部分黏附于巨噬细胞 CD36 的表面，参与泡沫细胞的形成，促进稳定型心绞痛 (stable angina, SA) 斑块的形成^[2]。国内外对急性冠脉综合征 (acute coronary syndrome, ACS) 患者血单核细胞表面受体 CD36+ 的表达还鲜有研究。实验采集 ACS 患者血，应用流式细胞术测定 CD36+ 单核细胞占血总单核细胞比率，探求 CD36+ 与 ACS 的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

采集昆明市延安医院心血管内科收治急性冠脉综合征患者 52 例，其中急性心肌梗死 27 例，不稳定性心绞痛 25 例；稳定型心绞痛患者 22 例；冠状动脉造影阴性的对照组 22 例。年龄不限。剔除：合并脑卒中、严重的肝肾功能不全者；重度心功能不全者；肺源性心脏病者；先天性心脏病患者；周围血管疾病或周围血管栓塞性疾病者；恶性肿瘤患者和风湿性疾病患者；感染性疾病等。分为急性冠脉综合征 (ACS) 组，稳定型心绞痛 (SA) 组，对照组。所有入选对象均于入院次日清晨空腹在无菌操作下，用 EDTA 抗凝管抽取肘中静脉血 2 mL。在采集后 4 h 内采用流式细胞术测定。

1.2 方法

流式细胞仪分析血 CD36+ 单核细胞阳性率：本实验采用全血双色荧光标记技术。待测标本加入荧光标记单克隆抗体 CD36-PE，标记出单核细胞，

再加入红细胞裂解液，红细胞裂解后尽快用流式细胞仪检测。常规采用荧光微球 Flow Check 和同型阴性对照试剂对仪器进行质量监测与调控。根据前向角散射光和侧向角散射光对单核细胞群进行设门。每次获取设门内 5 000 个细胞以上，荧光激发光波长为 488 nm。PE 和 FITC 荧光滤光片波长分别为 575 nm 和 525 nm。各荧光素之间补偿调至标准值范围内。测试后在计算机上用 Cell Quest Plot 软件分析数据，根据对照管的荧光强度为背景界定单核细胞群的荧光阈值，并界定为单核细胞，结果以阳性细胞的阳性率表示。

1.3 统计学方法

实验数据应用 SPSS 统计软件进行分析，计量资料采用 ($\bar{x} \pm s$) 表示，多组间均数比较，如为正态分布且方差齐时采用方差分析，两两比较时应用 LSD 及 SNK 检验；如非正态分布或方差不齐时应用非参数秩和 (Kruskal-Wallis H) 检验。两因素间的相关性研究应用直线相关分析。用 ROC 曲线来判断不同变量的诊断价值的大小，并据此得出一个最佳的诊断临界值，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

入选研究对象 3 组间年龄、性别比、吸烟、患高血压率、糖尿病率等一般情况资料差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，见表 1。3 组间一般临床检测资料：CHOL、TRIG、HDL、LDL 等差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；高敏 C 反应蛋白有统计学意义，见表 2。

表 1 3 组间一般情况比较 (n)

Tab. 1 Comparison of the general condition among the three groups (n)

组别	n	男/女	年龄 (岁)	吸烟	高血压	糖尿病
ACS 组	52	38/14	60.73 ± 11.17	19	8	5
SA 组	22	14/8	62.28 ± 8.26	11	4	2
对照组	22	13/9	53.39 ± 13.98	9	3	2

表 2 3 组间一般临床检测资料 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of the clinical data of patients among the three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	总胆固醇 CHOL (mg/dL)	甘油三酯 TRIG (mg/dL)	高密度脂蛋白胆固醇 HDL-C (mg/dL)	低密度脂蛋白胆固醇 LDL-C (mg/dL)	高敏 c 反应蛋白 hs-CRP (mg/L)
ACS 组	4.81 ± 1.29	1.87 ± 0.92	1.18 ± 0.23	2.97 ± 1.19	8.74 ± 6.22**
SA 组	5.19 ± 0.79	2.10 ± 2.87	1.30 ± 0.25	3.19 ± 0.70	2.37 ± 1.07
对照组	5.19 ± 0.79	1.75 ± 0.72	1.27 ± 0.25	2.77 ± 0.59	0.75 ± 0.26

与对照组比较，** $P < 0.01$ ；与 SA 组比较，# $P < 0.05$ 。

2.2 CD36+ 单核细胞阳性率

ACS 组和 SA 组的 CD36+ 单核细胞阳性率比对照组显著升高 ($P < 0.05$); 与 SA 组比较, ACS 组血的 CD36+ 单核细胞阳性率显著升高 ($P < 0.05$), 见表 3.

2.3 血 CD36+ 单核细胞阳性率对 ACS 的诊断价值

CD36+ 单核细胞阳性率作为诊断 ACS 的指标, 其对应的 ROC 曲线下面积为 0.986, 诊断 ACS 的最佳临界值为 76.835%, 所对应的灵敏度为 95.5%, 特异度为 97.1% (见表 4、图 1).

表 3 3 组间血 CD36+ 单核细胞阳性率 $[(\bar{x} \pm s), \%$

Tab. 3 Comparison of the positive ratio of CD36 in blood among the three groups $[(\bar{x} \pm s), \%$

组 别	CD36+
ACS 组	81.22 ± 11.80**
SA 组	69.04 ± 13.06*
对照组	44.26 ± 19.99

与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 SA 组比较, ** $P < 0.05$.

表 4 CD36+ 单核细胞阳性率诊断 ACS 的 ROC 曲线分析结果

Tab. 4 The analysis of the ROC curve in ACS diagnosis result of positive ratio of CD36+

CD36+ 单核	细胞阳性率	曲线下面积	诊断 ACS 的最佳临界值	灵敏度 (%)
细胞阳性率	0.986	76.835	95.5	97.1

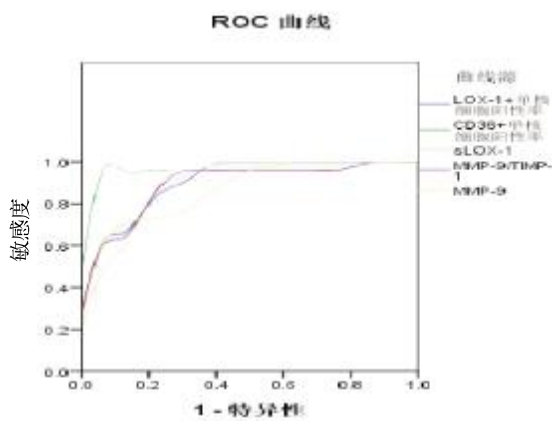


图 1 CD36+ 单核细胞阳性率诊断 ACS 的 ROC 曲线

Fig. 1 The ROC curve of ACS diagnosis in positive ratio of CD36

3 讨论

目前发现 A、B、C 3 类对脂蛋白 oxLDL 结合的受体, 其中 A 类包括乙酰化低密度受体 (AcLDL), 并且 AcLDL 受体分别能与 oxLDL、AcLDL 和一些多聚阴离子配体结合. C 类受体与 A 类基本相似, 但几乎仅在果蝇胚胎巨噬细胞中发现^[1]. Endeman 等和 Acton 等采用 COS7 细胞表达克隆鉴定出一类对 oxLDL 高密度亲和的受体, 归属于 B 类, 包括 CD36 和 SR-B1. 类似 A 和 C 类受体, B 类受体能与 oxLDL 和 AcLDL 高度亲和, 但与 A 和 B 类不同的是能与负性的磷脂反应. oxLDL 一旦与 CD36 结合后, 迅速被 CD36 蛋白内卷 (internalization). 此外, 人类的巨噬细胞的 CD36

既能与修饰的 LDL (oxLDL 和 AcLDL), 还与尚未修饰的磷蛋白 (LDL, HDL 和 VLDL) 高度亲和^[4]. CD36 基因敲除的巨噬细胞对 oxLDL 的结合和内包以及降解能力显著减弱, 因此细胞胆固醇脂类的沉积也明显降低^[5]. 这些结果说明, CD36 是主要的 oxLDL 受体并且对脂肪的沉积和代谢起着重要的调节作用.

CD36 生理功能主要有两大类: 其一为促进特异的脂质摄取, 包括长链脂肪酸和修饰的低密度脂蛋白如 ox-LDL 和乙酰化 -LDL; 其次为黏附多种带负电荷的生物大分子引发相应的炎症、噬菌、内吞等作用. SR 对 ox-LDL 的摄取是 AS 进程中的一个重要环节, 近期研究发现 CD36 是摄取 ox-LDL 的主要 SR. Febbraio 等^[6]采用致死照射和干细胞移植术, 用载脂蛋白 E 基因敲除 (apoE-/-) 的 AS 模型鼠建立其巨噬细胞表达或不表达 CD36 的鼠模型, 结果显示, apoE-/- 基因敲除鼠仅其巨噬细胞缺乏 CD36 就显著地减少主动脉粥样硬化面积, 说明 CD36 是促进 AS 的重要受体.

脂质在单核 / 巨噬细胞中的大量积聚主要由清道夫受体 CD36 介导. 尸检发现的胸主动脉 AS 斑块、脂质条纹、泡沫细胞都有 CD36 表达; CD36 和 SRA 在 AS 斑块的不同部位表达不同, CD36 阳性巨噬细胞 - 泡沫细胞主要分布在粥样硬化斑块核^[7]. 研究显示^[8], oxLDL 通过胞膜 CD36 等清道夫受体被细胞摄取, 经过溶酶体、高尔基体和内质网等细胞内代谢过程后, 超出细胞利用能力之外的那部分胆固醇酯则被脂肪分化相关蛋白 (ADRP) 包裹,

形成细胞内的脂质池—脂滴。随着细胞内脂滴的融合和蓄积,当胆固醇酯/总胆固醇比值超过 50% 这一临界值即成为泡沫细胞。

实验结果显示,ACS 组和 SA 组血 CD36+ 单核细胞阳性率均比对照组显著升高 ($P < 0.05$); ACS 组血 CD36+ 单核细胞阳性率比 SA 组升高 ($P < 0.05$)。本实验结果表明,血 CD36+ 单核细胞参与了 ACS 的发生、发展,可能主要通过影响易损斑块不稳定发展的进程导致 ACS。

以血 CD36+ 单核细胞阳性率作为诊断指标来判断 ACS,其对应的 ROC 曲线下面积为 0.986,其诊断 ACS 的最佳临界值为 76.835%,所对应的灵敏度为 95.5%,特异度为 97.1%。本实验得出的最佳临界值及所对应的灵敏度及特异度与有关文献报道有所差别。

综上可得出血 CD36+ 单核细胞阳性率可作为判断 ACS 易损斑块稳定性的临床血清学指标。鉴于 CD36 的功能多样性和对心血管疾病发生的紧密相关性,进一步开展对 CD36 的结构和功能以及与其他细胞因子的偶联作用以及抗氧化因子的开发研究对于有效深入了解心血管相关疾病的发生发展机理和制定有效治疗方法有着重要意义。

[参考文献]

- [1] DHALI WAL B S, STEINBRECHER U P. Scavenger receptors and oxidized low density lipoproteins [J]. Clin Chim Acta, 1999, 286(1-2): 191 - 205.
- [2] 许玉香, 陈德伟. CD36 与动脉粥样硬化的研究进展 [J]. 中国社区医师(医学专业), 2011, 10(2): 9 - 11.
- [3] YAMADA Y, DOI T, HAMAKUBO T, et al. Scavenger receptor family proteins: roles for atherosclerosis, host defence and disorders of the central nervous system [J]. Cell Mol Life Sci, 1998, 54(7): 628 - 640.
- [4] ACTON S L, SCHERER P E, LODISH H F, et al. Expression cloning of SR-BI, a CD36-related class B scavenger receptor [J]. Biol Chem, 1994, 269(5): 21 003 - 21 009.
- [5] FEBBRAIO M, ABUMRAD N A, HAJJAR D P, et al. Annull mutation in murine CD36 reveals an important role in fatty acid and lipoprotein metabolism [J]. Biol Chem, 1999, 274(3): 19 055 - 19 062.
- [6] FEBBRAIO M, GUY E. Stem cell transplantation reveals that absence of macrophage CD36 is protective against atherosclerosis [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2004, 24(4): 2 333 - 2 338.
- [7] HENSKENS YMC, VEERMAN ECI. Cystatins in health and disease [J]. Biol Chem Hoppe Seyler, 1996, 377(2): 71 - 86.
- [8] CHANG B H, LI L, PAUL A, et al. Protection against fatty liver but normal adipogenesis in mice lacking adipose differentiation-related protein [J]. Mol Cell Bio, 2006, 26(5): 1 063 - 1 076.

(2012 - 12 - 05 收稿)