

论著·临床研究

冠心病患者 CD16⁺ 单核细胞比例与体质量指数之间的相关性研究*

庞 博¹, 张丹丹², 赵 娟¹, 武 婧², 侯雪筠¹, 叶红蕾¹, 谷 春¹, 崔向宁^{2△}, 刘贵建^{1▲}
(中国中医科学院广安门医院: 1. 检验科; 2. 心血管科, 北京 100053)

摘要:目的 体质量指数(BMI)增加是较为公认的冠心病的危险因素之一,单核细胞也与冠心病的发生关系密切。本研究旨在探索冠心病患者中不同亚群单核细胞比例与 BMI 是否存在关联。方法 连续纳入冠心病患者共 48 例,以 BMI=25 kg/m² 将其分为 2 组,体质量正常组 21 例,体质量增高组 27 例。收集患者一般情况、血常规等临床检测指标,利用流式细胞仪检测 CD14、CD16 等指标,用合适的圈门策略分析不同单核细胞亚群占全部单核细胞的比例。将结果用 SPSS 软件进行统计分析。结果 体质量增高组 CD16⁺ 单核细胞比例显著高于体质量正常组[(17.2±8.1)% vs. (12.6±4.8)%, $P=0.025$],其余单核细胞亚群有一定变化趋势但并不显著。其他指标如白细胞总数、中性粒细胞比例、单核细胞比例等差异均无统计学意义($P>0.05$)。相关性分析显示,CD16⁺ 单核细胞比例与 BMI 呈显著正相关($r=0.331$, $P=0.020$)。结论 在冠心病患者中,CD16⁺ 单核细胞比例与 BMI 之间存在显著关联性,研究 BMI、炎症状态以及冠心病三者之间的关系可能为理解冠心病发生发展的分子机制提供帮助。

关键词:冠心病; 单核细胞; 体质量指数; 肥胖

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.24.008

中图法分类号:R541.4

文章编号:1673-4130(2018)24-3019-04

文献标识码:A

Correlation between CD16⁺ monocyte percentage and body mass index in coronary heart disease patients*

PANG Bo¹, ZHANG Dandan², ZHAO Juan¹, WU Jing², HOU Xueyun¹, YE Honglei¹,
GU Chun¹, CUI Xiangning^{2△}, LIU Guijian^{1▲}

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Cardiology, Guang'anmen Hospital,
China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China)

Abstract: **Objective** Body mass index (BMI) is one of the most acknowledged risk factors for coronary artery disease. Monocyte is also involved in the occurrence of coronary artery disease. The purpose of this study is to investigate whether the proportion of monocytes in different subsets was associated with BMI in patients with coronary artery disease. **Methods** A total of 48 consecutive patients with coronary artery disease were enrolled. They were divided into two groups according to BMI (the cutoff value was 25 kg/m²). There were 21 patients in the normal weight group and 27 patients in overweighted or obese group. General information of the patients was collected, as well as the clinical test results including routine blood test results, et al. Cell surface markers of CD14 and CD16 were detected by flow cytometry, and the proportion of different monocyte subsets was analyzed by flow cytometry. The results were statistically analyzed by SPSS software. **Results** The proportion of CD16⁺ monocytes in the overweighted group was significantly higher than that in the normal BMI group [(17.2±8.1)% vs. (12.6±4.8)%, $P=0.025$], and the other monocyte subsets showed a certain change trend but not significant. There was no significant difference in other parameters, such as the total number of white blood cells, the proportion of neutrophils and the proportion of monocytes ($P>0.05$). Correlation analysis showed that the proportion of CD16⁺ monocytes was positively correlated with BMI ($r=0.331$, $P=0.020$). **Conclusion** The difference between CD16⁺ monocyte percentage and BMI in patients with coronary heart disease was significant. Further study of the relationship among BMI, inflammatory state, and coronary artery disease may help to understand the molecular mechanisms of the occurrence and development of coronary artery disease.

* 基金项目: 国家中医药管理局国家中医临床研究基地业务建设科研专项课题(JDZX2015247)。

作者简介: 庞博, 男, 副主任医师, 主要从事生物标志物研究。 △ 通信作者, E-mail: cuixiangning@gamyy.cn; ▲ 共同通信作者, E-mail: liuguijian@gamyy.cn。

本文引用格式: 庞博, 张丹丹, 赵娟, 等. 冠心病患者 CD16⁺ 单核细胞比例与体质量指数之间的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(24): 3019-3022.

Key words:coronary artery disease; monocyte; body mass index; adiposity

肥胖被认为是冠心病(CAD)的危险因素之一^[1],心肌梗死患者中有 2/3 的人体质量指数(BMI) > 25 kg/m²^[2]。大部分情况下,升高的 BMI 与肥胖直接关联,而肥胖可通过多种机制促进 CAD 的发生发展,包括降低胰岛素的敏感性,增加游离脂肪酸,促进交感神经紧张和系统性炎症状态等。此外,肥胖还与 CAD 的多种其他危险因素伴行,如糖尿病、高脂血症、高血压等。

在局部缺血和炎症的作用下,单核细胞参与了冠状动脉斑块内的新生血管形成的过程。单核细胞表面可以表达血管内皮生长因子受体,并可在激活后合成大量炎症相关分子。单核细胞也在组织损伤与修复过程中发挥了非常重要的作用,这些过程的失衡会影响斑块发展和稳定性,造成不良结局。通过细胞表面的标志物,可将其分为不同的亚群,它们具有不同的特征,对动脉粥样硬化发展过程可发挥重要作用。脂多糖受体 CD14 和 FcγⅢ受体是目前在单核细胞方面研究较多的 2 个标志物,单核细胞可依照其表达不同分为不同亚群,CD16⁺单核细胞占全部单核细胞比例为 10%~20%,与经典型的 CD14⁺CD16⁻单核细胞不同,这群细胞被认为属于非经典型单核细胞,具有“前炎症细胞”的作用^[3-4]。

有文献报道,CD16⁺单核细胞与冠心病的关联十分密切。同时也有报道称,CD16⁺单核细胞在肥胖人群中也会增高^[5],因此,本文旨在分析冠心病患者 BMI 与单核细胞亚群比例是否存在关联,为进一步探索 CD16⁺单核细胞、体质量指数增高、冠心病三者之间的关系打下基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料 根据纳入与排除标准,入组 2015 年 12 月至 2016 年 7 月就诊于本院心内科的冠心病患者 48 例,其中男 17 例,女 31 例。年龄 40~88 岁,平均年龄为 (67.2 ± 11.0) 岁,其中无体质量偏瘦者 (BMI < 18.5 kg/m²)。以 BMI = 25 kg/m² 为界将其分为 2 组,体质量正常组 21 例 (18.5 kg/m² < BMI ≤ 25 kg/m²),体质量增高组 27 例 (BMI > 25 kg/m²)。收集患者一般情况、常规临床检测指标等信息,采集 EDTA 抗凝血进行流式细胞检测。

1.2 方法

1.2.1 诊断标准 冠心病稳定性心绞痛诊断参照“慢性稳定性心绞痛诊疗指南”以及《缺血性心脏病的命名及诊断》标准制定,且既往有陈旧心肌梗死病史或经冠状动脉造影检查证实至少有 1 支冠状动脉病变狭窄程度 ≥ 50% 者。

1.2.2 纳入与排除标准 符合上述冠心病稳定性心绞痛且能签署知情同意书者纳入。排除标准:(1)近 1 个月内有感染、发热、创伤、烧伤、手术史;(2)近 1 个

月内行冠心病介入手术或计划住院期间行介入手术者;(3)严重心力衰竭,EF < 35% 者;(4)恶性肿瘤、血液病、精神病等必须治疗的疾病;(5)妊娠或哺乳期妇女。

1.2.3 试剂与仪器 检测单核细胞亚群所用抗体及同型对照均购自四正柏公司,包括有抗 CD14-PE、抗 CD16-APC、对应的小鼠同型对照 IgG1-PE、同型对照 IgG1-APC。按照实际说明书提供的方案进行染色、孵育、裂解红细胞、洗涤等步骤,随后用 Navios(Beckman 公司)流式细胞仪进行检测。

1.2.4 流式细胞检测圈门策略 利用前向散射光(FSC)和侧向散射光(SSC)二维散点图初步显示外周血主要细胞群,圈定单核细胞群,随后利用 CD14-PE 和 CD16-APC 抗体,通过 FL2 和 FL6 荧光通道收集信号,将其所对应的同型抗体信号作为阴性区并调好补偿,设定相应的直方图和散点图。按照文献中经典的 CD14、CD16 分群法,划分为 3 群单核细胞,CD14⁺CD16⁻定义为 Mon1,CD14⁺CD16⁺定义为 Mon2,CD14⁻CD16⁺定义为 Mon3,见图 1,记录各群比例进行数据分析。

1.3 统计学处理 应用 SPSS18.0 软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组比较,符合正态分布采用 *t* 检验,不符合正态分布采用校正 *t* 检验或秩和检验。计数资料以百分比表示,2 组间比较采用 χ^2 检验,利用 Pearson 相关系数进行相关分析,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般临床资料的比较 体质量正常组和体质量增高组冠心病患者的性别比例、年龄大小等一般临床资料比较差异均无统计学意义(*P* > 0.05)。两组间白细胞总数(WBC)、单核细胞(MON)、中性粒细胞(NEU)、淋巴细胞(LYM)比例、总胆固醇(CHOL)浓度差异均无统计学意义(*P* > 0.05),体质量增高组三酰甘油(TG)浓度高于体质量正常组,但差异均无统计学意义(*P* > 0.05),见表 1。

表 1 两组患者一般临床资料的比较			
指标	体质量正常组	体质量增高组	<i>P</i>
例数(<i>n</i>)	21	27	—
女性[<i>n</i> (%)]	7(33.3)	10(37.0)	0.94
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	69.9 ± 11.0	65.1 ± 10.9	0.14
BMI(kg/m ² , $\bar{x} \pm s$)	23.0 ± 1.7	27.3 ± 1.8	<0.01
WBC(×10 ⁹ /L, $\bar{x} \pm s$)	6.36 ± 1.46	6.03 ± 1.45	0.442
NEU(% , $\bar{x} \pm s$)	64.0 ± 9.2	62.2 ± 7.5	0.437
LYM(% , $\bar{x} \pm s$)	26.9 ± 8.5	28.0 ± 7.9	0.637
MON(% , $\bar{x} \pm s$)	6.5 ± 1.8	6.4 ± 1.6	0.877
TG(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	1.53 ± 0.63	2.04 ± 1.16	0.056
CHOL(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	4.28 ± 0.79	3.97 ± 0.94	0.240

注:—表示无数据

3.2 单核细胞亚群比例的分析 体质量增高组冠心

病患者 Mon2、Mon3 两群非经典单核细胞亚群的比例高于体质量正常组,但差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 2。体质量增高组冠心病患者 CD16⁺单核细胞比例则显著高于体质量正常组冠心病患者 [(17.2±8.1)% vs. (12.6±4.8)%, $P=0.025$]。

表 2 单核细胞亚群比例分析(%, $\bar{x}\pm s$)			
组别	Mon1	Mon2	Mon3
体质量正常组	87.1±4.3	4.2±2.2	5.6±3.2
体质量增高组	84.6±5.1	4.7±2.6	7.3±3.3
<i>P</i>	0.381	0.244	0.288

通过 FSC 和 SSC 双参数选取单核细胞群,再分

别以 CD14、CD16 为横纵坐标绘出单核细胞散点图(图 1-A),按照文献中较经典的方式选取 MON1、MON2、MON3 三群细胞(图 1-B、图 1-C),包括较代表性的 BMI 正常 CAD 患者(图 1-B),和 BMI 增高的 CAD 患者(图 1-C)。

2.3 CD16⁺单核细胞比例与 BMI 的相关性分析
正态分布检验发现 BMI 和 CD16⁺单核细胞比例两个变量都呈正态分布(BMI $P=0.357$,CD16⁺单核细胞比例 $P=0.988$),利用 Pearson 相关系数进行相关分析,BMI 和 CD16⁺单核细胞比例呈显著正相关($r=0.331$, $P=0.02$),见图 2。

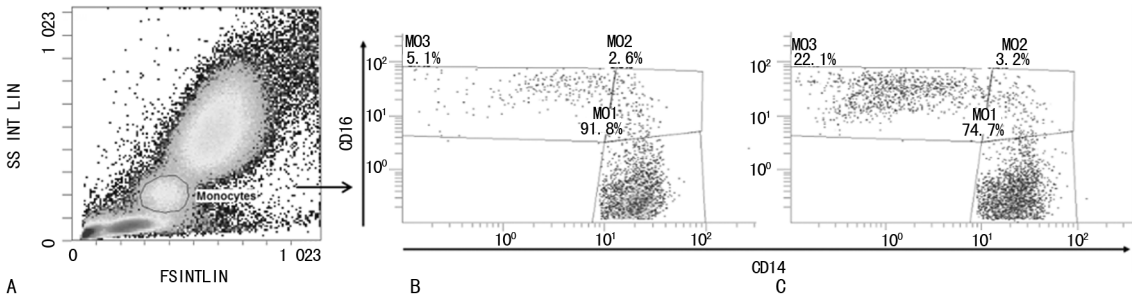


图 1 直方图和散点图

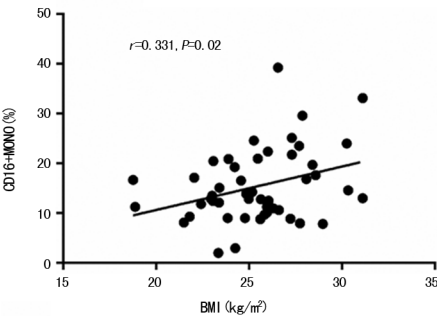


图 2 BMI 与 CD16⁺单核细胞比例的相关分析

3 讨论

研究发现,单核细胞可依据 CD14 与 CD16 的表达情况分为 3 群,CD14⁺CD16⁻是经典型单核细胞,CD14⁺CD16⁺为中间型单核细胞,CD14⁻CD16⁺则为非经典型单核细胞。经典型单核细胞在急性炎症的早期富集并发挥作用^[6],它们可以表达 CCR2,摄取吞噬天然低密度脂蛋白,产生活性氧,并在脂多糖刺激下分泌细胞因子,中间型单核细胞表达 CCR2 和 Tie2 等标志物,它们不产生活性氧,但可以在 LPS 的刺激下分泌肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-1 β ;非经典型单核细胞可成为一类较弱的巨噬细胞,吞噬氧化型的 LDL,同时可以通过 Toll 样受体激活的方式分泌一些炎性细胞因子,如肿瘤坏死因子 TNF- α 、IL-1 β 以及 CCL3 等^[7-9]。OZAKI 等^[10]报道,CD14⁺CD16⁺单核细胞群比例与稳定性心绞痛患者的严重程度呈显著正相关。以往也有报道指出,CD16⁺单核细胞比例的增加与冠心病的发生、动脉粥

样斑块易损性及纤维帽厚度均呈正相关^[11-13]。

CD16⁺单核细胞与艾滋病、脓毒症、Crohn 病、类风湿性关节炎等炎症性疾病均有密切关系^[14-18]。CD16⁺单核细胞可分泌大量炎性细胞因子,但却很少分泌抗炎因子。此外,CD16⁺单核细胞表面多表达大量 CX3CR1、CCR5、VLA-4 和 CD11c 等细胞因子受体和黏附因子。CD16⁺单核细胞可通过 CX3CR1 依赖的方式归巢至内皮激活的位置,并分泌基质金属蛋白酶-9、趋化因子-2、IL-6 等,富集 T 淋巴细胞和其他单核细胞,加重血管损伤^[19]。鼠类与 CD16⁺单核细胞相对应的细胞会沿内皮巡游,并在炎症刺激下快速外渗。有研究者认为,这类特性的细胞可能是针对动脉粥样硬化等疾病的治疗靶点。

流行病学研究显示,肥胖是较为公认的 CAD 危险因素。肥胖导致的胰岛素敏感性下降、游离脂肪酸增加、系统性炎症增加等都是导致 CAD 发生发展的机制,而且肥胖也多合并糖尿病、高血脂、高血压等其他 CAD 危险因素。本研究发现,在 CAD 患者中,CD16⁺单核细胞比例与 BMI 存在显著相关性,与 BMI 正常组相比,BMI 更高的 CAD 患者 CD16⁺单核细胞比例也显著更高。该结果提示,CD16⁺单核细胞比例可能与肥胖的炎症状态相关,这与 ROGACEV 等^[3]的研究报道一致。有趣的是,经 Roux-en-Y 胃旁路手术后的患者,其 CD16⁺单核细胞比例和数量均出现了显著降低,并同时可能改善亚临床的动脉粥样硬化状态^[20]。因此,CD16⁺单核细胞可能成为一个较为实用的反映 BMI 或与之相关的炎症状态的良好指

标,在 CAD 患者中可能同样适用。

本研究的局限性在于,纳入的体质量增加冠心病患者多为轻度 BMI 增高的超重患者,未来应纳入更多的肥胖冠心病患者进行分析;样本例数较少,不利于统计学分析,应利用更大样本患者对本研究结果进行验证;此外,如增加其他单核细胞标志物则可能有利于更准确地圈门及其他功能分析。

4 结 论

本研究在冠心病患者中证实了 CD16⁺ 单核细胞比例与 BMI 存在密切联系,这对于研究 BMI、炎症状态及冠心病三者之间的关系可能有重要的应用价值,其分子机制值得深入分析。

参考文献

- [1] JR S S, BLAIR S N, BONOW R O, et al. AHA/ACC guidelines for preventing heart attack and death in patients with atherosclerotic cardiovascular disease: 2001 update; a statement for healthcare professionals from the American Heart Association and the American College of Cardiology 333[J]. J Am Coll Cardiol, 2001, 38(5): 1581.
- [2] ROMEROCORRAL A, MONTORI V M, SOMERS V K, et al. Association of bodyweight with total mortality and with cardiovascular events in coronary artery disease: a systematic review of cohort studies. [J]. Lancet, 2006, 368(9536): 666-678.
- [3] ROGACEV K S, CBLOMER U. Monocyte heterogeneity in obesity and subclinical atherosclerosis[J]. Eur Heart J, 2010, 31(3): 369-376.
- [4] ROGACEV K S, SEILER S, ZAWADA A M, et al. CD14⁺ CD16⁺ monocytes and cardiovascular outcome in patients with chronic kidney disease[J]. Eur Heart J, 2011, 32(1): 84-92.
- [5] DEVVRE E F, RENOVATOMARTINS M, CLÖMENT K, et al. Profiling of the three circulating monocyte subpopulations in human obesity. [J]. J Immunol, 2015, 194(8): 3917-3923.
- [6] GHATTAS A, GRIFFITHS H R, DEVITT A, et al. Monocytes in coronary artery disease and atherosclerosis: where are we now[J]. J Am Coll Cardiol, 2013, 62(17): 1541.
- [7] MOSIG S, RENNERT K S, KZHYSHKOWSKA J, et al. Different functions of monocyte subsets in familial hypercholesterolemia: potential function of CD14⁺ CD16⁺ monocytes in detoxification of oxidized LDL [J]. Faseb J, 2009, 23(3): 866-874.
- [8] BELGE K U, DAYYANI F, HORELT A, et al. The proinflammatory CD14⁺ CD16⁺ DR⁺⁺ monocytes are a major source of TNF[J]. J Immunol, 2002, 168(7): 3536.
- [9] CROS J, CAGNARD N, WOOLLARD K, et al. Human CD14dim Monocytes Patrol and Sense Nucleic Acids and Viruses via TLR7 and TLR8 Receptors[J]. Immunity, 2010, 33(3): 375.
- [10] OZAKI Y, IMANISHI T, TARUYA A, et al. Circulating CD14⁺ CD16⁺ monocyte subsets as biomarkers of the severity of coronary artery disease in patients with stable angina pectoris[J]. Circ J, 2012, 76(10): 2412.
- [11] SCHLITT A, HEINE G H, BLANKENBERG S, et al. CD14⁺ CD16⁺ monocytes in coronary artery disease and their relationship to serum TNF-alpha levels[J]. Thromb Haemost, 2004, 91(8): 419-424.
- [12] KASHIWAGI M, IMANISHI T, TSUJIOKA H, et al. Association of monocyte subsets with vulnerability characteristics of coronary plaques as assessed by 64-slice multidetector computed tomography in patients with stable angina pectoris[J]. Atherosclerosis, 2010, 212(1): 171-176.
- [13] IMANISHI T, IKEJIMA H, TSUJIOKA H, et al. Association of monocyte subset counts with coronary fibrous cap thickness in patients with unstable angina pectoris [J]. Atherosclerosis, 2010, 212(2): 628-635.
- [14] FINGERLE G, PFORTE A, PASSLICK B, et al. The novel subset of CD14⁺/CD16⁺ blood monocytes is expanded in sepsis patients[J]. Blood, 1993, 82: 3170-3176.
- [15] GRIP O, BREDBERG A, LINDGREN S, et al. Increased subpopulations of CD16(+) and CD56(+) blood monocytes in patients with active Crohn's disease[J]. Inflamm Bowel Dis, 2007, 13: 566-572.
- [16] HORELT A, BELGE K U, STEPPICH B, et al. The CD14⁺ CD16⁺ monocytes in erysipelas are expanded and show reduced cytokine production [J]. Eur J Immunol, 2002, 32: 1319-1327.
- [17] KAWANAKA N, YAMAMURA M, AITA T, et al. CD14⁺, CD16⁺ blood monocytes and joint inflammation in rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2002, 46: 2578-2586.
- [18] THIEBLEMONT N, WEISS L, SADEGHI H M, et al. CD14lowCD16high: a cytokine-producing monocyte subset which expands during human immunodeficiency virus infection[J]. Eur J Immunol, 1995, 25: 3418-3424.
- [19] AUFFRAY C, FOGG D, GARFA M, et al. Monitoring of blood vessels and tissues by a population of monocytes with patrolling behavior[J]. Science, 2007, 317: 666-670.
- [20] POITOU C, DALMAS E, RENOVATO M, et al. CD14dimCD16⁺ and CD14⁺ CD16⁺ monocytes in obesity and during weight loss relationships with fat mass and subclinical atherosclerosis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011, 31(10): 2322-2330.

(收稿日期: 2018-05-22 修回日期: 2018-08-28)