

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00409

罗格列酮对2型糖尿病患者外周血单核细胞CD36表达的影响

徐茂锦¹, 赵琳¹, 韩巧君¹, 张军², 邹大进^{1*}

1. 第二军医大学长海医院内分泌科, 上海 200433

2. 第二军医大学长海医院实验诊断科, 上海 200433

[摘要] **目的:**观察2型糖尿病患者外周血单核细胞CD36的表达及罗格列酮对其表达的影响,探讨其可能的作用机制。**方法:**采用流式细胞仪测定2型糖尿病患者外周血单核细胞CD36的表达,并观察罗格列酮治疗后的变化;分析CD36与2型糖尿病各临床指标间的关系。**结果:**2型糖尿病组患者单核细胞CD36表达明显高于正常对照组(745.9±281.3 vs 406.3±80.2, $P<0.01$);动脉粥样硬化组CD36表达明显高于无动脉粥样硬化组(878.2±296.1 vs 584.2±148.3, $P<0.01$)。罗格列酮治疗后,患者单核细胞CD36表达、空腹血糖(FBG)、餐后血糖(PBG)、HbA1c、空腹胰岛素(FIN)、餐后胰岛素(PIN)、胰岛素抵抗程度(HOMA-IR)均降低,与治疗前、安慰剂组均有统计学差异($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。糖尿病患者单核细胞CD36表达与FBG($r=0.55, P<0.05$)、HbA1c($r=0.62, P<0.01$)、HOMA-IR($r=0.64, P<0.01$)正相关,与PBG、FIN、PIN无明显相关。**结论:**罗格列酮可能通过有效控制血糖、降低胰岛素抵抗等途径来降低2型糖尿病患者外周血单核细胞CD36的表达。

[关键词] CD36; 2型糖尿病; 单核细胞; 动脉粥样硬化; 罗格列酮

[中图分类号] R 587.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)04-0409-04

Effect of rosiglitazone on expression of CD36 in peripheral monocytes in patients with Type 2 diabetes

XU Mao-jin¹, ZHAO Lin¹, HAN Qiao-jun¹, ZHANG Jun², ZOU Da-jin^{1*}

1. Department of Endocrinology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Department of Laboratory Medicine, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433

[ABSTRACT] **Objective:** To observe the expression of CD36 in peripheral monocytes in patients with Type 2 diabetes, and to study the influence of rosiglitazone on CD36 expression and the related the mechanism. **Methods:** The expression of CD36 in the peripheral monocytes of patients with Type 2 diabetes was measured by flow cytometry before and after rosiglitazone treatment; the correlation between monocytes CD36 expression and metabolic index was analyzed. **Results:** Flow cytometry showed that the mean fluorescence intensity (MFI) of monocyte CD36 in Type 2 diabetes was significantly higher than that in the healthy controls(745.9±281.3 vs 406.3±80.2, $P<0.01$). CD36 MFI in patients with Type 2 diabetes atherosclerosis was significantly higher than that in patients with Type 2 diabetes non-atherosclerosis(878.2±296.1 vs 584.2±148.3, $P<0.01$). Besides, we also found that CD36 expression, fasting blood glucose(FBG), post-prandial blood glucose(PBG), hemoglobin A1c(HbA1c), FIN, PIN, and HOMA-IR were all significantly decreased after rosiglitazone intervention compared with those before rosiglitazone intervetion and placebo group($P<0.05$ or $P<0.01$). There was a positive correlation between monocyte CD36 expression with FBG($r=0.55, P<0.05$), HbA1c($r=0.62, P<0.01$), and HOMA-IR($r=0.64, P<0.01$); but the expression was not correlated with PBG, FIN, or PIN. **Conclusion:** The increased expression of CD36 in monocytes of patients with Type 2 diabetes may be one of the mechanisms for accelerated atherosclerosis in diabetic patients. Rosiglitazone can decrease CD36 expression in monocytes through effectively controlling the blood glucose and decreasing insulin resistance.

[KEY WORDS] CD36; type 2 diabetes mellitus; monocytes; atherosclerosis; rosiglitazone

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(4): 409-412]

CD36是一种细胞表面的单链糖蛋白,属B类清道夫受体,广泛存在于单核细胞、巨噬细胞、内皮细胞、脂肪细胞等细胞表面,是介导形成氧化低密度脂

蛋白(ox-LDL)的主要受体,其表达的变化在动脉粥样硬化中具有重要的作用^[1-2]。动脉粥样硬化在2型糖尿病中发生早、范围广,是2型糖尿病主要死亡

[收稿日期] 2008-10-12 **[接受日期]** 2009-02-21

[作者简介] 徐茂锦, 硕士, 主治医师. E-mail: xumaojin@yahoo.com.cn

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-81873277, E-mail: zwj22@medmail.com.cn

原因之一。流行病学资料^[3]业已证实糖尿病患者长期血糖控制不当会导致心血管病变。罗格列酮属噻唑烷二酮类药物,是过氧化物酶体增植物受体 γ (PPAR γ)特异性激动剂,具有持久控制血糖、降低胰岛素抵抗的作用。PPAR γ 激动剂与9-顺式维甲酸受体形成二聚体可导致巨噬细胞CD36 mRNA表达增多及活性增加,提示PPAR γ 可能具有诱导动脉粥样硬化的作用^[4-6]。因此,迫切需要对噻唑烷二酮类药物的心血管安全性进行全面评估。为此,本研究观察了2型糖尿病患者外周血单核细胞CD36的表达情况,并探讨罗格列酮对其表达的影响。

1 材料和方法

1.1 研究对象 2型糖尿病患者64例,均符合1999年WHO糖尿病诊断标准,其中男28例,女36例,年龄40~70岁,平均(58.2±9.3)岁。所有患者均接受磺脲类和双胍类降血糖药物治疗3个月以上,稳定剂量2个月以上,空腹血糖(FBG)7.5~10 mmol/L、糖化血红蛋白(HbA1c)>7%。选择同期参加体检的正常对照者40例,其中男16例,女24例,年龄40~68岁,平均年龄(57.8±6.5)岁。两组在年龄、性别均匹配。所有患者无冠心病史,排除高血压、心功能衰竭、肝功能不全、肾功能不全、肿瘤、感染、结缔组织病、血液病,无合并酮症酸中毒、高渗性昏迷、甲亢、甲减、皮质醇增多症、肢端肥大症等,无服用噻唑烷二酮类(PPAR γ 激动剂)、糖皮质激素、阿司匹林、 β -羟- β -甲基戊二酰辅酶A(HMG-CoA)还原酶抑制剂等降脂药物,尿微量白蛋白<20 mg/L。所有研究对象均签署知情同意书。本项目通过第二军医大学长海医院医学伦理委员会审核备案。

1.2 研究分组及处理 糖尿病患者在维持原治疗方案不变的基础上按随机、双盲、平行的原则分为治疗组和安慰剂组。治疗组给予盐酸罗格列酮片1片(4 mg),每天早餐前30 min口服,安慰剂组给予安慰剂1片,每天早餐前30 min口服,给药时间为3个月。盐酸罗格列酮片与安慰剂均由上海三维制药有限公司提供,安慰剂外观、颜色、气味、包装与盐酸罗格列酮片一样。

1.3 免疫荧光染色技术检测单核细胞表面CD36的表达 研究对象均隔夜空腹10 h以上,全血直接免疫荧光染色技术(FACACalibur流式细胞仪,美国BD公司)检测单核细胞表面CD36的表达,方法如

下:采集患者外周血,以EDTA抗凝;每管取全血100 μ l,加入FITC鼠抗人CD14和PE鼠抗人CD36抗体(均购自美国BD公司)各10 μ l,充分混匀,室温避光孵育20 min,分别设立空白对照和同型对照;每管加入红细胞裂解液2 ml,室温避光孵育10 min;500 \times g离心5 min,弃上清;每管加入PBS 2 ml,500 \times g离心5 min,弃上清;根据FSC和SSC散点图设门,分析单核细胞上CD36的相对表达量,结果以平均荧光强度(MFI)表示。

1.4 CD36的表达与糖尿病患者临床指标的相关性 2型糖尿病患者同时测定FBG及100 g馒头餐后2 h血糖(PBG,酶法),空腹胰岛素(FIN)及餐后2 h胰岛素(PIN,放射免疫法),HbA1c(HPLC法),血脂(TC、TG、LDL-C、HDL-C酶法),采用稳态模式评估法评价胰岛素抵抗程度(HOMA-IR),即HOMA-IR=FBG \times FIN/22.5。由专人测量血压、身高、体质量,计算体质量指数(BMI)。行颈动脉、下肢动脉彩色超声检查,有动脉内膜增厚毛糙或粥样斑块形成者为动脉粥样硬化组($n=36$),无内膜增厚毛糙或粥样斑块形成者为无动脉粥样硬化组($n=28$)。分析CD36表达与上述临床指标的相关性。

1.5 统计学处理 所有数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间差异分析应用 t 检验,服药前后差异分析应用配对资料 t 检验,数据的相关性分析应用直线相关分析。

2 结果

2.1 2型糖尿病组患者单核细胞CD36表达 结果表明:2型糖尿病组患者单核细胞CD36表达的MFI明显高于正常对照组(745.9±281.3 vs 406.3±80.2, $P<0.01$);动脉粥样硬化组CD36表达明显高于无动脉粥样硬化组(878.2±296.1 vs 584.2±148.3, $P<0.01$)。

2.2 罗格列酮对单核细胞CD36表达及其他临床指标的影响 罗格列酮治疗后,患者单核细胞CD36表达、FBG、PBG、HbA1c、FIN、PIN、HOMA-IR均降低,与治疗前、安慰剂组比较均有统计学差异($P<0.05$ 或 $P<0.01$);干预治疗前后血脂、BMI无统计学差异(表1)。

2.3 单核细胞CD36表达与临床指标的相关性 结果表明:2型糖尿病组患者单核细胞CD36表达与FBG($r=0.55$, $P<0.05$)、HbA1c($r=0.62$, $P<0.01$)、HOMA-IR($r=0.64$, $P<0.01$)正相关,与PBG、FIN、PIN无明显相关($P<0.05$)。

表1 罗格列酮治疗前后单核细胞CD36表达及相关临床指标的变化

Tab 1 Results of monocyte CD36 expression and laboratory measurements before and after treatment with rosiglitazone
($n=64, \bar{x} \pm s$)

Index	Rosiglitazone group		Placebo group	
	Before treatment	After treatment	Before treatment	After treatment
CD36 MFI	752.7±246.2	605.4±231.6** $\Delta\Delta$	741.9±261.3	745.2±277.8
FBG $c_B/(mmol \cdot L^{-1})$	10.4±1.7	8.4±1.9** Δ	9.8±1.6	9.6±2.1
PBG $c_B/(mmol \cdot L^{-1})$	16.3±2.6	13.3±2.2** Δ	15.9±2.8	15.6±2.4
FIN $\varepsilon_B/(mU \cdot ml^{-1})$	43.0±3.6	30.1±4.1** $\Delta\Delta$	42.6±3.4	42.9±3.8
PIN $\varepsilon_B/(mIU \cdot ml^{-1})$	89.2±7.6	70.4±5.1** $\Delta\Delta$	90.4±8.2	91.0±7.6
HbA1c(%)	9.2±1.3	7.6±1.4** $\Delta\Delta$	9.1±1.4	9.2±1.5
HOMA-IR	22.1±4.3	11.9±2.7** $\Delta\Delta$	21.4±4.6	21.0±5.5

** $P<0.01$ vs before treatment group; $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$ vs placebo groups. MFI: Mean fluorescence intensity; FBG: Fasting blood glucose; PBG: Post-prandial blood glucose; FIN: Fasting insulin; PIN: Post-prandial insulin; HbA1c: Hemoglobin A1c; HOMA-IR: Homeostasis model assessment of insulin resistance

3 讨论

本研究采用流式细胞术测定2型糖尿病患者外周血单核细胞CD36的表达,结果发现:2型糖尿病组患者单核细胞CD36的表达明显高于正常对照组,有动脉粥样硬化的2型糖尿病患者单核细胞CD36的表达明显高于无动脉粥样硬化的2型糖尿病患者;2型糖尿病患者单核细胞CD36表达与FBG、HbA1c水平、HOMA-IR呈正相关。Griffin等^[7]研究发现巨噬细胞在体外高糖环境下CD36 mRNA翻译增加,CD36的表达显著增高。糖基化终末产物(AGEs)是长期高糖环境下非酶糖化的产物,参与了各种血管并发症的发生。CD36可能是AGEs的受体^[8],AGEs修饰的牛血清白蛋白可通过CD36被脂肪细胞内吞,这一过程可被抗CD36抗体有效阻断^[9]。本研究发现2型糖尿病患者单核细胞CD36表达与FBG、HbA1c水平呈正相关,其机制可能与此有关。

胰岛素抵抗是2型糖尿病重要的病理生理基础,是糖尿病动脉粥样硬化直接相关、独立于高血糖之外的危险因素^[10]。Handberg等^[11]分别测定了2型糖尿病患者与肥胖、消瘦对照者以及2型糖尿病患者与肥胖糖尿病一级亲属、肥胖对照者血浆可溶性CD36(sCD36)水平,并用正葡萄糖高胰岛素钳夹试验评估胰岛素抵抗,结果发现sCD36水平与胰岛素抵抗明显相关,这可能是胰岛素抵抗引起单核细胞、巨噬细胞表面CD36的表达增加所致。本研究采用HOMA稳态模式评估法评估胰岛素抵抗程度,发现糖尿病患者单核细胞CD36表达与HOMA-IR正相关,提示胰岛素抵抗可能是促进单核细胞表面CD36表达的因素之一。

CD36的表达可通过PPAR γ 调节,无PPAR γ

存在时CD36不表达^[12],ox-LDL可上调巨噬细胞PPAR γ 的表达,PPAR γ 反过来又促进CD36表达^[4],导致巨噬细胞ox-LDL的摄取增加,促进泡沫细胞的形成,提示PPAR γ 可能具有促进动脉粥样硬化的作用。罗格列酮是近年来广泛应用于临床的噻唑烷二酮类药物,为PPAR γ 特异性激动剂。本研究按随机、双盲、平行、对照的原则将口服磺脲类和双胍类两种降糖药物血糖仍未达标的2型糖尿病患者分为2组,在维持原治疗方案的基础上分别给予盐酸罗格列酮和安慰剂口服3个月。结果发现:罗格列酮组治疗后单核细胞CD36表达、FBG、PBG、FIN、PIN、HbA1c、HOMA-IR降低,与治疗前、安慰剂组比较均相差显著($P<0.05$ 或 $P<0.01$);单核细胞CD36表达与FBG、HbA1c、HOMA-IR正相关,提示罗格列酮有效地降低2型糖尿病患者的空腹和餐后血糖、HbA1c的同时,减少了空腹和餐后胰岛素的分泌,从而降低了胰岛素抵抗,HOMA-IR显著降低。罗格列酮在有效地降低2型糖尿病患者单核细胞CD36表达的机制可能在于其有效地降低了血糖和胰岛素抵抗,当然也有可能与其抑制炎症反应的作用有关^[13-15],具体机制仍有待于进一步研究。

[参考文献]

- [1] Podrez E A, Febbraio M, Sheibani N, Schmitt D, Silverstein R L, Hajjar D P, et al. Macrophage scavenger receptor CD36 is the major receptor for LDL modified by monocyte-generated reactive nitrogen species[J]. J Clin Invest, 2000, 105: 1095-1108.
- [2] Adachi H, Tsujimoto M. Endothelial scavenger receptors[J]. Prog Lipid Res, 2006, 45: 379-404.
- [3] Wei M, Gaskill S P, Haffner S M, Stern M P. Effect of diabetes and level of glycemia on all-cause and cardiovascular mortality[J]. Diabetes Care, 1998, 21: 1167-1172.

- [4] Nagy L, Tontonoz P, Alvarez J G, Chen H, Evans R M. Oxidized LDL regulates macrophage gene expression through ligand activation of PPAR γ [J]. *Cell*, 1998, 93: 229-240.
- [5] Huh H Y, Pearce S F, Yesner L M, Schindler J L, Silverstein R L. Regulated expression of CD36 during monocyte-to-macrophage differentiation; potential role of CD36 in foam cell formation[J]. *Blood*, 1996, 87: 2020-2028.
- [6] Febbraio M, Abumrad N A, Hajjar D P, Sharma K, Cheng W, Pearce S F, et al. A null mutation in murine CD36 reveals an important role in fatty acid and lipoprotein metabolism[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274: 19055-19062.
- [7] Griffin E, Re A, Hamel N, Fu C, Bush H, McCaffrey T, et al. A link between diabetes and atherosclerosis: Glucose regulates expression of CD36 at the level of translation[J]. *Nat Med*, 2001, 7: 840-846.
- [8] Ohgami N, Nagai R, Ikemoto M, Arai H, Miyazaki A, Hakamata H, et al. CD36, serves as a receptor for advanced glycation endproducts (AGE) [J]. *J Diabetes Compl*, 2002, 16: 56-59.
- [9] Kuniyasu A, Ohgami N, Hayashi S, Miyazaki A, Horiuchi S, Nakayama H. CD36-mediated endocytic uptake of advanced glycation end products (AGE) in mouse 3T3-L1 and human subcutaneous adipocytes[J]. *FEBS Lett*, 2003, 537 (1-3): 85-90.
- [10] Reilly M P, Wolfe M L, Rhodes T, Girman C, Mehta N, Rader D J. Measures of insulin resistance add incremental value to the clinical diagnosis of metabolic syndrome in association with coronary atherosclerosis[J]. *Circulation*, 2004, 110: 803-809.
- [11] Handberg A, Levin K, Højlund K, Beck-Nielsen H. Identification of the oxidized low-density lipoprotein scavenger receptor CD36 in plasma: a novel marker of insulin resistance[J]. *Circulation*, 2006, 114: 1169-1176.
- [12] Moore K J, Rosen E D, Fitzgerald M L, Rando F, Anderson L P, Altshuler D, et al. The role of PPAR- γ in macrophage differentiation and cholesterol uptake[J]. *Nat Med*, 2001, 7: 41-47.
- [13] Pasceri V, Wu H D, Willerson J T, Yeh E T. Modulation of vascular inflammation *in vitro* and *in vivo* by peroxisome proliferator-activated receptor- γ activators[J]. *Circulation*, 2000, 101: 235-238.
- [14] Li A C, Brown K K, Silvestre M J, Willson T M, Palinski W, Glass C K. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands inhibit development of atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice[J]. *J Clin Invest*, 2000, 106: 523-531.
- [15] Alessi M C, Bastelica D, Mavri A, Morange P, Berthet B, Grino M, et al. Plasma PAI-1 levels are more strongly related to liver steatosis than to adipose tissue accumulation[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23: 1262-1268.

[本文编辑] 贾泽军

• 读者 作者 编者 •

“十二烷基硫酸钠”与“十二烷基磺酸钠”

“十二烷基硫酸钠”与“十二烷基磺酸钠”在医学论文中经常出现。两者因为英文缩写相同(均为 SDS), 易被混淆, 常见的错误是将本应是“十二烷基硫酸钠”的写成“十二烷基磺酸钠”。虽然两者均为阴离子表面活性剂, 但十二烷基硫酸钠是常用的生化和免疫实验用试剂; 而十二烷基磺酸钠因其制造及性能上的缺点(如制备较难、价格较高且难以提纯等), 几乎没有在医学、生物学实验室使用, 我国的《化学试剂国内外标准手册》以及国外著名试剂公司如 Sigma、Fluka 等的产品目录中也均未收载。

十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)属硫酸酯盐, 分子式为 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{Na}$; 相对分子质量为 288.38。十二烷基磺酸钠(sodium dodecyl sulfonate, SDS)属磺酸盐, 分子式为 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na}$; 相对分子质量为 272.38。十二烷基硫酸钠是(主链或支链)烷烃与-O-S键相连, 而十二烷基磺酸钠是(主链或支链)烷烃直接与-S键相连接。十二烷基磺酸钠与硫酸钠盐都可以作为离子对试剂, 在选择十二烷基链及其他碳链离子对试剂时, 应注意看产品的分子式是含有 3 个还是 4 个氧原子(分别对应磺酸钠和硫酸钠盐)。

英、美等国对于羧酸常用其俗名, 如: 乙酸称醋酸, 十六烷酸称软脂酸或棕榈酸, 十八烷酸称硬脂酸等等。十二烷酸又称月桂酸, 故十二烷基硫酸钠(SDS)又称月桂基硫酸钠(sodium lauryl sulfate, SLS)。通常习惯上在有机物中会把 $-\text{SO}_3\text{H}$ 这个官能团称作“磺酸基”, 而不称“硫酸基”。十二烷基硫酸钠与十二烷基磺酸钠两者混用, 也许与此有关。

需强调的是, 在生化、免疫检验方面作为试剂使用的 SDS, 一般都是指十二烷基硫酸钠。