

# 冠心病患者外周血淋巴细胞表面 CD1 分子的表达及其与血脂的相关性分析\*

张帅<sup>1</sup> 钱航<sup>1</sup> 李东锋<sup>1</sup> 陈俊<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的:探讨冠状动脉(冠脉)粥样硬化性心脏病(CHD)患者外周血淋巴细胞表面 CD1 分子的表达特点及其与血脂的相关性。方法:收集 2017-11—2018-02 于湖北医药学院附属东风医院心内科行冠脉造影检查的患者 117 例,根据冠脉造影检查发现冠脉狭窄是否 $\geq 50\%$ 分为 CHD 组(64 例)和对照组(53 例)。采用流式细胞术检测 2 组患者外周血淋巴细胞表面 CD1 分子的表达情况,并对 2 组患者的 CD1 分子、血脂水平进行分析。结果:CHD 患者外周血淋巴细胞表面 CD1b 的表达显著高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );CD1b 及 CD1d 分子的表达与三酰甘油水平呈显著负相关( $r = -0.241, P = 0.010$ ;  $r = -0.204, P = 0.030$ )。结论:CD1 分子的高表达可能提示其参与了 CHD 的发病过程,这一机制可能与 CD1b 的分子结构及其参与的炎症反应相关,且与 CD1 分子识别并呈递脂质抗原密切相关。

**[关键词]** CD1 分子;冠心病;动脉粥样硬化;自身免疫性疾病

doi:10.13201/j.issn.1001-1439.2019.03.013

[中图分类号] R541.4 [文献标志码] A

## Expression characteristics of CD1 molecules on peripheral blood lymphocytes in patients with coronary heart disease and their correlation with blood lipid

ZHANG Shuai QIAN Hang LI Dongfeng CHEN Jun

(Department of Cardiology, Affiliated Dongfeng Hospital, Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei, 442000, China)

Corresponding author: LI Dongfeng, E-mail: Lidongfeng@126.com

**Abstract Objective:** To investigate the expression characteristics of CD1 molecules on the peripheral blood lymphocytes in patients with coronary atherosclerotic heart disease(CHD)and explore the possible mechanisms of CD1 molecules participating in the pathogenesis of CHD. **Method:** A total of 117 cases were collected who had received coronary angiography examination in the Department of Cardiology,affiliated Dongfeng Hospital, Hubei University of Medicine, from November 2017 to February 2018. According to the results of coronary angiography, cases were divided into CHD group (64 cases) and control group (53 cases) by whether the coronary artery stenosis was great than 50%. The expression of CD1 molecule on peripheral blood lymphocyte surface was detected by flow cytometry and the levels of CD1 molecule and blood lipid were analyzed. **Result:** The expression of CD1b on peripheral blood lymphocyte surface in patients with coronary artery disease is significantly higher than that in the control group ( $P < 0.05$ ). The expression of CD1b and CD1d is negatively correlated with triglyceride level ( $r = -0.241, P = 0.010$ ;  $r = -0.204, P = 0.030$ ). **Conclusion:** The high expression of CD1b molecule may indicate that this molecule participates in the pathogenesis of CHD and underlying mechanism may include that the molecular structure of CD1b and its involvement in the inflammatory responses, as well as the recognition and presentation of lipid antigen by CD1 molecule.

**Key words** CD1 molecules; coronary heart diseases; atherosclerosis; autoimmune disease

冠状动脉(冠脉)粥样硬化性心脏病(coronary atherosclerotic heart disease, CHD)20 世纪以来被视为威胁人类生命健康的主要疾病,其有效防治一直是整个社会关注的重点和难点。CHD 的发病机

制至今尚不明了,成为妨碍其治疗进展的主要难题。目前对 CHD 发病机制的研究比较深入和广泛,许多研究证实自身免疫性疾病患者存在明显的 CHD 好发及早发倾向<sup>[1-3]</sup>。CD1 分子具有广泛的免疫调节作用,根据序列同源性分为第 I 类(CD1a、CD1b 和 CD1c)和第 II 类(CD1d)。由于动物实验只表达 II 类 CD1 分子(CD1d)<sup>[4]</sup>,故目前对 I 类 CD1 分子(CD1a、CD1b、CD1c)的生物学特性及其与疾病的相关研究甚少。本文通过检测

\* 基金项目:国家自然科学基金(No: 81400288);湖北省自然科学基金(No: 2016CFB529)

<sup>1</sup>湖北医药学院附属东风医院心血管内科(湖北十堰, 442000)

通信作者:李东锋, E-mail: Lidongfeng@126.com

CHD 患者外周血 CD1 分子表达的特点,探讨 CHD 发病与 CD1 分子的表达有无关联,明确 CD1 分子在 CHD 中发挥的免疫学效应,进一步阐明冠脉粥样硬化可能的自身免疫机制。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

收集 2017-11—2018-02 在湖北医药学院附属东风医院心内科行冠脉造影检查的 117 例患者,其中男 60 例,女 57 例;年龄 33~86(中位年龄 62)岁。所有患者均行冠脉造影,根据冠脉狭窄程度分为 CHD(狭窄 $\geq 50\%$ )组(64 例)和对照(狭窄 $< 50\%$ )组(53 例)。详细询问患者的年龄、病史、CHD 的危险因素,如高血压、糖尿病、血脂异常等。排除标准:NYHA 心功能 III~IV 级、1 型或 2 型糖尿病、糖耐量异常、心脏瓣膜病及心肌病、先天性心脏病、严重感染、肝胆系统疾病、血液系统疾病、肾功能不全、恶性肿瘤、自身免疫系统疾病及结缔组织疾病、甲状腺功能亢进或低下、亚临床甲状腺功能减退。

### 1.2 方法

**1.2.1 一般检测** 所有患者均检测血常规、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)等,以上所有生化指标均由我院检验科检测完成(正常值:TC $< 5.18$  mmol/L;TG $< 1.70$  mmol/L;LDL-C $< 3.1$  mmol/L;HDL-C 1.29~1.55 mmol/L)。

**1.2.2 流式细胞术检测** 取患者外周血,用人淋巴细胞分离液分离出淋巴细胞,分别加入荧光标记的小鼠抗人单克隆抗体 CD1a-Percp/cy5.5、CD1b-

FTTC、CD1c-PE 和 CD1d-APC,抗体均购自于 BD 公司,上机检测并记录淋巴细胞表面 CD1 表达的百分数。

**1.2.3 Gensini 评分** 所有患者在行冠脉造影后根据 CHD 的严重程度用 Gensini 评分系统进行评估<sup>[5]</sup>。依据管腔直径狭窄程度的评分(狭窄 1%~25%、26%~50%、51%~75%、76%~90%、91%~99%和 100%的评分分别为 1、2、4、8、16 和 32 分)乘以不同病变部位的评分(左主干病变为 5 分;左前降支近段、回旋支近段病变为 2.5 分;左前降支中段病变为 1.5 分;左前降支远段、第 1 对角支、回旋支中远段、钝缘支、右冠状动脉和右冠后降支评为 1 分;第 2 对角支、右冠后侧支以及其他小分支病变评为 0.5 分)。CHD 的严重程度用患者所有血管病变评分的总和来表示。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS16 软件进行统计学分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示;两均数间比较采用 T 检验;相关性分析采用 Spearman 相关检验;以  $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 一般资料比较

2 组间年龄、白细胞数、中性粒细胞数、单核细胞数、HDL-C、Gensini 评分差异均有统计学意义。经组间比较发现,CHD 组患者年龄较大( $P = 0.002$ ),且白细胞数、中性粒细胞数、单核细胞数均较对照组高( $P < 0.05$ )。2 组间 Gensini 评分有显著性差异( $P = 0.000$ )。见表 1。

表 1 2 组一般资料的比较

项目	Table 1 General data		$\bar{x} \pm s$ P 值
	对照组(53 例)	CHD 组(64 例)	
年龄/岁	57.96 $\pm$ 10.41	64.23 $\pm$ 11.25	0.002
白细胞数/( $\times 10^9 \cdot L^{-1}$ )	5.67 $\pm$ 1.58	6.64 $\pm$ 2.07	0.006
中性粒细胞数/( $\times 10^9 \cdot L^{-1}$ )	3.68 $\pm$ 1.36	4.46 $\pm$ 2.04	0.019
淋巴细胞数/( $\times 10^9 \cdot L^{-1}$ )	1.56 $\pm$ 0.43	1.67 $\pm$ 0.51	0.220
单核细胞数/( $\times 10^9 \cdot L^{-1}$ )	0.33 $\pm$ 0.13	0.40 $\pm$ 0.13	0.006
TC/(mmol $\cdot L^{-1}$ )	4.53 $\pm$ 0.83	4.22 $\pm$ 1.24	0.123
TG/(mmol $\cdot L^{-1}$ )	1.51 $\pm$ 1.10	1.45 $\pm$ 1.46	0.807
HDL-C/(mmol $\cdot L^{-1}$ )	1.22 $\pm$ 0.26	1.06 $\pm$ 0.27	0.002
LDL-C/(mmol $\cdot L^{-1}$ )	2.52 $\pm$ 0.67	2.31 $\pm$ 0.90	0.162
Gensini 评分	2.925 $\pm$ 3.424	48.422 $\pm$ 38.349	0.0009

### 2.2 CD1 分子表达的细胞百分数比较

经分析发现,CHD 组淋巴细胞表面的 CD1b 表达高于对照组( $P = 0.042$ ),而 2 组间 CD1a、CD1c、CD1d 的表达差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 2。

### 2.3 CD1 分子表达与血脂之间的相关性分析

本研究发现,CD1b 及 CD1d 分子的表达与 TG 水平呈负相关( $P < 0.05$ ),其中 CD1b 分子的表达与 TG 水平呈显著负相关( $P = 0.01$ ),而 CD1a 及 CD1c 分子的表达与 TG 水平间无明显相关性( $P > 0.05$ )。见表 3。

表 2 2 组 CD1 表达的百分数

Table 2 Percentage of CD1 expression between two groups

项目	对照组(53 例)	CHD 组(64 例)	$\bar{x} \pm s$ P 值
CD1a	3.029±3.082	2.366±1.614	0.138
CD1b	3.821±2.886	5.176±4.201	0.042
CD1c	10.593±3.831	11.099±4.017	0.490
CD1d	11.691±8.903	13.907±9.767	0.206

表 3 CD1 分子与血脂的相关性分析

Table 3 Correlation analysis between CD1 molecules and blood lipids

项目	r 值	P 值
CD1a		
TC	-0.014	0.885
TG	-0.029	0.757
HDL-C	0.113	0.235
LDL-C	-0.013	0.888
CD1b		
TC	-0.075	0.428
TG	-0.241	0.010
HDL-C	-0.025	0.795
LDL-C	0.020	0.831
CD1c		
TC	-0.034	0.718
TG	-0.106	0.263
HDL-C	0.051	0.590
LDL-C	-0.015	0.871
CD1d		
TC	-0.102	0.284
TG	-0.204	0.030
HDL-C	-0.060	0.527
LDL-C	-0.016	0.868

2.4 CD1 分子表达与 TG 的相关性分析

依据 117 例患者的 TG 平均值(Mean=1.480)

将患者分为 TG≥1.480 组(39 例)和 TG<1.480 组(78 例)。比较 2 组间 CD1 分子表达的百分数, CD1b 分子的表达差异有统计学意义(P=0.0002)。见表 4。

3 讨论

CHD 是多种病因造成的始发于动脉壁内膜的一系列复杂分子和细胞改变的总结果,诸多危险因素(如血脂异常、吸烟、糖尿病、高血压等)都与 CHD 有关,炎症和免疫是内在和外在的危险因素,是导致 CHD 发病的中介和中心环节<sup>[6-7]</sup>。研究发现,自身免疫作用在心血管疾病的发病机制中扮演着重要角色,抗心肌抗体在很多心脏疾病的患者循环中能够被检测到,其中包括动脉硬化性疾病<sup>[8-9]</sup>。

CD1 是一类非多态性抗原呈递分子,其编码基因位于 MHC 基因位点之外<sup>[10]</sup>,根据序列同源性分为第 I 类(CD1a、CD1b 和 CD1c)和第 II 类(CD1d)。脂质抗原经抗原提呈细胞捕获后,内质网中的 CD1 分子立即与之结合,随后 CD1-脂质抗原复合物迁移至细胞膜表面<sup>[11]</sup>,由 CD1 限制性 T 细胞识别并被快速激活,从而进一步发挥免疫学效应。CD1 糖蛋白的晶体结构表明,它们都是由入口的 A'口袋和 F'口袋组成的狭窄、深长且具有疏水特性的抗原结合槽<sup>[12]</sup>,CD1b 结合槽的结构与 CD1a、CD1c 和 CD1d 相比,在进化上更精细,三级结构除了 A'口袋和 F'口袋,还有 C'口袋和 T'口袋<sup>[13]</sup>,CD1b 的超大容量结合槽使其能够容纳较长的烃链,最长可以结合总链长为 C80 的脂质<sup>[14]</sup>。2005 年,Elzen 等<sup>[15]</sup>详细阐明了载脂蛋白介导的脂质抗原呈递途径,载脂蛋白 E(ApoE)特异性地增强了 CD1 呈递的脂质抗原的 T 细胞应答,进一步表明 ApoE 参与脂质抗原呈递,并且, ApoE 参与了诸如多发性硬化或动脉粥样硬化等炎症性疾病的发病过程<sup>[16-17]</sup>。而且,由载脂蛋白介导的外源性脂质抗原呈递途径对微生物

表 4 CD1 分子与 TG 的相关性分析

Table 4 Correlation analysis between CD1 molecule and TG

项目	TG≥1.480 组(39 例)	TG<1.480 组(78 例)	P 值	$\bar{x} \pm s$ 95% CI
CD1a	2.157±1.401	2.866±2.757	0.153	(-0.268~1.686)
CD1b	3.065±2.033	5.281±4.141	0.0002	(1.064~3.369)
CD1c	10.095±3.214	10.935±3.831	0.261	(-0.633~2.312)
CD1d	11.295±9.289	13.257±8.876	0.286	(-1.668~5.592)

免疫、自身免疫和动脉粥样硬化具有重要意义<sup>[17]</sup>。

CD1 分子与脂质抗原提呈密切相关,且脂质抗原参与了 CHD 的发展<sup>[15]</sup>。研究表明,CD1 分子参与了许多炎症反应及自身免疫性疾病的发展过程, Tupin 等<sup>[17]</sup>的研究表明,CD1d 分子通过激活 NKT 细胞促进动脉粥样硬化;Zeng 等<sup>[18]</sup>发现,系统性红斑狼疮(SLE)动物模型 NZB/NZW 小鼠 20%的脾

B 细胞高度表达 CD1,用抗 CD1 的抗体能够减缓 SLE 的进展;Gras 等<sup>[19]</sup>研究发现,CD1b 与结核分枝杆菌感染相关,也进一步证实 CD1b 参与了炎症发生的过程;Bagchi 等<sup>[20]</sup>的研究显示,CD1b-自身反应性 T 细胞参与了血脂异常诱导的小鼠皮肤炎症,并证实了人 CD1b 在体内炎症性疾病中发挥了特定作用;该研究还发现,在含有多克隆 CD1b 和

CD1c 限制性 T 细胞 hCD1Tg Apoe<sup>-/-</sup> 小鼠中检测到产生 IL-17 的 T 细胞含量增加,并证实血脂异常促进了 CD1b 阳性树突状细胞(DCs)分泌 IL-6,以及 IL-17 含量的增加<sup>[20]</sup>,而 IL-17 在 CHD 的形成过程中发挥重要作用<sup>[21]</sup>。

本研究通过流式细胞术检测 CHD 患者外周血细胞 CD1 分子表达情况,结合血常规、血脂等指标进行分析,发现 CHD 组患者 CD1b 的表达明显高于对照组,这可能是 CD1b 阳性 DCs 分泌产生 IL-6,以促进更多的 IL-17 生成,进一步促进 CHD 的形成;进一步分析发现,TG 的含量与 CD1b 分子的表达呈负相关,即 CD1b 分子的表达越高,TG 含量越低,进一步证明了 ApoE 特异性增强了 CD1 呈递脂质抗原的 T 细胞应答。

综上,CD1b 分子在 CHD 患者外周血的高表达提示其有可能参与了 CHD 的发病过程,为今后 CHD 的诊断与治疗提供了可能的新方向。但 CD1b 在 CHD 的发病过程中如何发挥其炎症反应,以及 CD1b 与 TG 之间的相关性与 ApoE 的功能及 CD1b 的分子结构是否相关,尚有待远期实验进一步证实。

#### 参考文献

- [1] Kiani AN, Vogel-Claussen J, Arbab-Zadeh A, et al. Semiquantified noncalcified coronary plaque in systemic lupus erythematosus [J]. *J Rheumatol*, 2012, 39(12):2286-2293.
- [2] Vierboom M, Breedveld E, Hart BA. New drug discovery strategies for rheumatoid arthritis: a niche for nonhuman primate models to address systemic complications in inflammatory arthritis [J]. *Expert Opin Drug Disc*, 2012, 7(4):315-325.
- [3] Mineo C. Inhibition of nitric oxide and antiphospholipid antibody-mediated thrombosis [J]. *Curr Rheumatol Rep*, 2013, 15(5):324-336.
- [4] McEwen-Smith RM, Salio M, Cerundolo V. CD1d-dependent endogenous and exogenous lipid antigen presentation [J]. *Curr Opin Immunol*, 2015, 34(5):116-125.
- [5] Gensini GG. Gensini GGA more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease *Am J Cardiol* 51:606 [J]. *American Journal of Cardiology*, 1983, 51(3):606-606.
- [6] Yang Q, Xu J, Ma Q, et al. PRKAA1/AMPK $\alpha$ 1-driven glycolysis in endothelial cells exposed to disturbed flow protects against atherosclerosis [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):4667.
- [7] Wang KC, Yeh YT, Nguyen P, et al. Flow-dependent YAP/TAZ activities regulate endothelial phenotypes and atherosclerosis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(41):11525-11530.
- [8] 徐晓艳,唐啸. HMGB1 通过糖基化终末产物受体在动脉粥样硬化发病中的作用 [J]. *临床心血管病杂志*, 2018, 34(9):861-865.
- [9] 王洪如,何培菲,吴豫. 心肌肌钙蛋白 I 自身抗体和心血管系统疾病 [J]. *临床心血管病杂志*, 2017, 33(7):625-628.
- [10] Kasmar AG, van Rhijn I, Cheng TY, et al. CD1b tetramers bind  $\alpha\beta$  T cell receptors to identify a mycobacterial glycolipid-reactive T cell repertoire in humans [J]. *J Exp Med*, 2011, 208(9):1741-1747.
- [11] Brigl M, Brenner MB. CD1: antigen presentation and T cell function [J]. *Annu Rev Immunol*, 2004, 22(1):817-890.
- [12] Le Nours J, Shahine A, Gras S. Molecular features of lipid-based antigen presentation by group 1 CD1 molecules [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2017, 11(11):2-10.
- [13] Gadola SD, Zaccari NR, Harlos K, et al. Structure of human CD1b with bound ligands at 2.3 Å, a maze for alkyl chains [J]. *Nat Immunol*, 2002, 3(8):721-726.
- [14] Cheng TY, Rellosa M, Van Rhijn I, et al. Role of lipid trimming and CD1 groove size in cellular antigen presentation [J]. *EMBO J*, 2006, 25(13):2989-2999.
- [15] Elzen PVD, Garg S, León L, et al. Apolipoprotein-mediated pathways of lipid antigen presentation [J]. *Nature*, 2005, 437(7060):906-910.
- [16] 朱雁洲, 缪海雄, 叶椿香, 等. 糖基化高密度脂蛋白对 ApoE(-/-) 小鼠颈动脉粥样硬化斑块稳定性的影响 [J]. *临床心血管病杂志*, 2018, 34(9):928-932.
- [17] Tupin E, Nicoletti A, Elhage R, et al. CD1d-dependent activation of NKT cells aggravates atherosclerosis [J]. *J Exp Med*, 2004, 199(3):417-422.
- [18] Zeng D, Lee MK, Tung J, et al. Cutting edge: a role for CD1 in the pathogenesis of lupus in NZB/NZW mice [J]. *J Immunol*, 2000, 164(10):5000-5004.
- [19] Gras S, Van Rhijn I, Shahine A, et al. T cell receptor recognition of CD1b presenting a mycobacterial glycolipid [J]. *Nat Commun*, 2016, 7(7):13257-13269.
- [20] Bagchi S, He Y, Zhang H, et al. CD1b-autoreactive T cells contribute to hyperlipidemia-induced skin inflammation in mice [J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(6):2339-2352.
- [21] Taleb S, Tedgui A, Mallat Z. IL-17 and Th17 cells in atherosclerosis: subtle and contextual roles [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(2):258-264.

(收稿日期:2018-11-02;修回日期:2018-12-14)