临床研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001298

LXR在湿性 AMD 患者中的表达及与血脂代谢的相关性分析

丁 琳,宾 玥,刘彦尧,彭 惠

(重庆医科大学附属第一医院眼科、重庆市眼科学重点实验室、重庆市眼科研究所,重庆 410006)

【摘 要】目的:探索肝脏 X 受体(liver X receptor,LXR)在湿性年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration,AMD)患者外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells,PBMCs)的表达及与血脂代谢的相关性分析。**方法**:随机选取本院眼科门诊湿性 AMD 患者 20 例,同时选取健康志愿者 20 例作为对照组。收集年龄、性别等病史资料,通过抽血测定血清总胆固醇(total cholesterol,TC)、甘油三酯(triglyceride,TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol,HDL)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol,LDL)水平。采用荧光定量 PCR(qRT-PCR)的方法检测 LXRα 和 LXRβ 的 mRNA 的表达水平。使用 LXR 激动剂 TO901317 处理,观察 PBMC 中 LXRα 和 LXRβ 的变化。采用 t 检验、非参数检验、Pearson 相关性分析及 ROC 分析进行数据统计分析。**结果**:湿性 AMD 患者中 LXRα,LXRβ 的 mRNA 的表达水平都低于对照组的表达水平(t=3.881,P=0.001;t=5.839,P=0.000)。使用 LXR 激动剂 TO901317 处理后,在 PBMC 中 LXRα 的 mRNA 表达水平升高,LXRβ 表达无差异。Pearson 相关性分析提示 LXRα 与 TG 具有负性相关性,而 LXRα 与 TC、HDL、LDL 及 LXRβ 与 TC、TG、HDL、LDL 均无相关性。ROC 分析得 LXRα 检测结果的曲线下面积(AUC)为 0.824(95%*CI*=0.676~0.973,P=0.001),LXRβ 检测结果的 AUC 为 0.945(95%*CI*=0.873~1.000,P=0.000)。**结论**:LXRα 和 LXRβ 的表达水平下降提示与湿性 AMD 疾病的发生发展密切相关,可能成为诊断和治疗湿性 AMD 的一个新靶点。

【关键词】年龄相关性黄斑变性;外周血单个核细胞;肝脏 X 受体;血脂代谢

【中图分类号】R774 **【文献标志码】**A **【收稿日期】**2017-03-04

作者介绍:丁 琳,Email:1721289390@qq.com,
研究方向:眼底病学。

通信作者:彭 惠,Email:pengh9@sina.com。

基金项目:国家自然科学基金面上资助项目(编号:81670881)。

优先出版:http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20170609.1059.006.html
(2017-06-09)

[6] 胡 北,陈 斌,陈 伟,等. 全髋关节置换后罗哌卡因的镇痛浓度[J]. 中国组织工程研究,2015,19(13):1995-1999.

[7] 李 勇,代春英,陆松虹. 氟比洛芬酯复合曲马多用于骨科下肢手术后静脉镇痛效果观察[J]. 蚌埠医学院学报,2011,36(3):263-269.

[8] Klasen J,Haas M,Graf S,et al. Impact on postoperative pain of long-lasting pre-emptive epidural analgesia before total hip eplacement: a prospective,randomised,double-blind study[J]. Anaesthesia,2005,60(2):118-123.

[9] Singelyn FJ,Ferrant T,Malisse MF,et al. Effects of intravenous patient-controlled analgesia with morphine,continuous epidural analgesia,and continuous femoral nerve sheath block on rehabilitation after unilateral total-hip arthroplasty[J]. Reg Anesth Pain Med,2005,30(5):452-457.

[10] Kaye AD,Baluch A,Kaye AJ,et al. Pharmacology of cyclooxygenase-2 inhibitors and preemptive analgesia in acute pain management[J]. Curr Opin Anaesthesiol,2008,21(4):439-445.

[11] 黄礼兵,崔苏扬. 帕瑞昔布钠在术后镇痛中的应用进展[J]. 重庆医学,2010,39(3):439-445.

[12] Duarte LT,Beraldo PS,Saraiva RA. Effects of epidural analgesia and continuous lumbar plexus block on functional rehabilitation after total hip arthroplasty[J]. Rev Bras Anestesiol,2009,59(5):531-544.

[13] 谢 平,吴志云,王永盛. 腰丛神经阻滞用于老年全髋关节置换术患者的临床观察[J]. 南昌大学学报(医学版),2014,54(11):40-43.

[14] Brull R,McCartney CJ,Chan VW,et al. Neurological complications after regional anesthesia:contemporary estimates of risk[J]. Anesth Analg,2007,104(4):965-974.

[15] Bendtsen TF,Nielsen TD,Rohde CV,et al. Ultrasound guidance improves a continuous popliteal sciatic nerve block when compared with nerve stimulation[J]. Reg Anesth Pain Med,2011,36(2):181-184.

[16] Hernández C,Díaz-Heredia J,Berraquero ML,et al. Pre-operative predictive factors of post-operative pain in patients with hip or knee arthroplasty:a systematic review[J]. Reumatol Clin,2015,11(6):361-380.

(责任编辑:冉明会)

Expression of LXR and their correlation with serum lipid metabolism in exudative age-related macular degeneration patients

Ding Lin, Bin Yue, Liu Yanyao, Peng Hui

(*Department of Ophthalmology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University; Chongqing Key Laboratory of Ophthalmology, Chongqing Eye Institute*)

【Abstract】***Objective***: To investigate expressions of liver X receptor(LXR) in the peripheral blood mononuclear cells(PBMCs) in exudative AMD patients and to investigate their correlation with serum lipid metabolism. ***Methods***: Twenty patients with exudative AMD and 20 age-matched healthy controls were enrolled in this study in Chongqing, China. Age, gender, serum total cholesterol(TC), triglyceride(TG), high density lipoprotein cholesterol(HDL), low density lipoprotein cholesterol(LDL) levels and other medical history were also collected. Transcript levels of LXRs in PBMCs were assessed with real-time PCR between 16 AMD patients and 16 controls. PBMCs from 4 AMD patients and 4 controls were incubated with TO901317, a ligand of LXR, and then the mRNA expression of LXRs were assessed. Data were tested using a Student *t* test, Mann-Whitney test, Pearson correlation analysis and ROC analysis. ***Results***: Expressions of LXRα and LXRβ were significantly decreased in PBMCs of exudative AMD group in comparison to control group(t=3.881, P=0.001; t=5.839, P=0.000). Transcriptional responses of LXRα to the LXR agonist TO901317 was evident in both AMD and control subjects, while LXRβ was not changed. Pearson correlation analysis showed that LXRα was negatively correlated with TG, while LXRα correlated with TC, HDL, LDL, and LXRβ was not correlated with TC, TG, HDL, LDL. The ROC analysis showed that the area under the ROC curve was 0.824 for LXRα(95%*CI*=0.676 to 0.973, P=0.001) and 0.945 for LXRβ(95%*CI*=0.873 to 1.000, P=0.0001), respectively. ***Conclusion***: LXRs in PBMCs discriminated AMD patients from controls which may be nonspecific biomarkers for exudative AMD. Furthermore, LXRs might be a target for developing novel interventions for exudative AMD.

【Key words】age-related macular degeneration; peripheral blood mononuclear cells; liver X receptor; serum lipid metabolism

年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)是 50 岁以上老年人视力不可逆性损害的首要原因，其发病率随年龄增加而增高[1]。在临床上，AMD 分为干性 AMD 和湿性 AMD 两种类型。脉络膜新生血管(choroidal neovascularization, CNV)的形成是湿性 AMD 的特征性改变，是引起视力下降的主要原因。目前湿性 AMD 的治疗主要以抗新生血管药物治疗为主，但部分患者经过抗新生血管治疗后视力并未得到明显改善，因此寻找新的治疗靶点尤为重要。AMD 的病因不明，目前认为与遗传、环境、免疫等多因素相关。近年来研究发现慢性炎症与胆固醇代谢紊乱在 AMD 的发病过程中发挥关键作用，但其机制目前尚不清楚。

肝脏 X 受体(liver X receptor, LXR)是配体激活核转录因子，属于核受体超家族。LXR 主要有LXRα(NR1H3)和 LXRβ(NR1H2)两种亚型[2]。LXRα 主要在肝、肾、巨噬细胞和肠中表达，而 LXRβ 则在全身广泛表达。LXR 的内源性激动剂包括羟固醇或氧化甾醇，如 7-羟胆固醇、7-酮胆固醇、24S-羟胆固醇、25-羟胆固醇及 27-羟胆固醇。而通常用于实验研究的激动剂包括 TO901317 和 GW3965，是一种人工合成配体。LXR 在体内的主要作用是调节胆固醇代谢，但新的研究则证实 LXR 具有抑制炎症反应的作用[3]。研究发现，在由脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)和细菌诱导的炎症反应中，LXR 抑制巨噬细胞的凋亡，负向调节炎症因子基因的表达[4]。其中，ATP 结合盒转运蛋白 A1(ATP-binding cassette transporters A1, ABCA1)作为 LXR 的靶基因之一，是胆固醇逆向转运的关键蛋白，具有平衡体内胆固醇的含量、防止胆固醇的累积、保持人体胆固醇和脂肪酸内稳态的作用。

越来越多的研究证明 LXR 与眼部疾病有关。最近的研究发现 LXR 激动剂可以降低视网膜内炎症因子的水平，改善糖尿病视网膜病小鼠的症状[5]。另外，我们实验室早期已证实外源性 LXR 激动剂 TO901317 可有效抑制实验性自身免疫性葡萄膜炎(experimental autoimmune uveitis, EAU)的炎症反应[6]。

目前有关 AMD 与 LXR 相关性的研究还不多见。Sene 等[7]发现随着年龄的增长，小鼠外周血单个核细胞和眼内巨噬细胞中 LXR 表达下降，这可能是导致细胞胆固醇外流障碍的主要原因。且在激光诱导的 CNV 模型中，应用 LXR 激活剂 TO901317 可提高细胞内 LXR 的表达水平，增加胞内胆固醇外流，减少眼内 CNV 的面积及严重程度。作为一种由氧化型固醇激活的核受体，LXR 参与一系列脂质代谢和炎症基因表达的调控，可能成为治疗湿性 AMD的一个新的重要靶点。因此，本文就 LXR 在湿性 AMD

患者的表达作进一步研究。

1 对象与方法

1.1 研究对象

本实验获得重庆医科大学附属第一医院伦理委员会批准(编号:2014-57)。此临床试验均遵守赫尔辛基宣言,所有患者和健康对照者都以书面形式告知并同意参加本实验。所有参与者由经过培训的眼科研究生对参与者进行问卷调查,并抽血测定血脂水平。并详细记录病例组和对照组的以下信息:一般情况(年龄、性别),血脂检查指标有血清总胆固醇(total cholesterol,TC)、甘油三酯(triglyceride,TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol,HDL)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol,LDL),并记录相关的眼科检查指标。

1.1.1 病例组 本研究纳入本院门诊 2015 年 4 月至 2016 年 2 月 20 例湿性 AMD 患者。所有患者进行了一系列眼科检查,包括裂隙灯检查、眼底照相、光学相干断层扫描技术(optical coherence tomography,OCT),眼底荧光造影(fundus fluoresecine angiography,FFA)和吲哚菁绿造影(indo-cyanine green angiography,ICGA)。所有检查均由经规范化培训的医技人员操作,根据 Wisconsin Age-Related Maculopathy Grading System (WARMGS)分类标准来诊断。

纳入标准:根据临床检查及 OCT 及 FFA 荧光造影等辅助检查提示中心凹下或中心凹旁任何类型的 CNV 病变。排除标准:眼部情况:病理性高度近视、特发性息肉样血管改变、眼外伤、脉络膜炎、脉络膜破裂等其他原因引起的黄斑区 CNV;既往曾接受玻璃体腔注射抗 VEGF 药物或曲安奈德及 3 个月内曾接受光动力疗法治疗;曾接受过中心凹下激光光凝或 1 个月内曾接受中心凹旁或中心凹外激光光凝治疗;有外伤史;曾接受过玻璃体切割手术治疗;特发性或自身免疫相关性葡萄膜炎;全身使用抗 VEGF 药物治疗;无法控制的高眼压或青光眼。全身情况:伴有高血压、糖尿病、高脂血症、冠心病及其他免疫相关的疾病,以及近 5 年有癌症病史的患者;正在使用他汀类药物或影响脂代谢的患者。

1.1.2 对照组 纳入 20 例与病例组患者年龄相匹配的不患有 AMD 的健康志愿者作为对照组。纳入标准:年龄大于 50 岁以上;无影响眼底检查的屈光介质混浊,矫正视力在 0.6以上;不伴有其他自身免疫性疾病或影响眼底的全身性疾病(如高血压、糖尿病、高脂血症、冠心病及类风湿关节炎等)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞分离及培养条件 2 组均使用 EDTA 采血管采取空腹外周静脉血 10 mL。采取的新鲜血液在 2 h 内使用磷酸盐缓冲液(phosphate buffersolution,PBS)1:1 稀释。分装后加入淋巴细胞分离液(天津灏洋公司),经 Ficoll-Hypaque 密度梯度离心,分离 PBMCs。取 6×10^6 个/mL 细胞于 Trizol(美国 Invitrogen 公司)裂解,冻存于-80 ℃备用。使用 RPMI1640 完全培养基(10%胎牛血清、100 U/mL 青霉素、100 U/mL 链霉素)培养细胞,取 1×10^6 个/mL 细胞分组种于 24 孔培养板,然后分别使用 LXR 激动剂 TO901317(1 μmol/L,Abcam-ab142808,USA)及 DMSO 处理 48 h。其中采用湿性 AMD 患者及对照组 16 例进行 real-time PCR(qRT-PCR)试验,采用 4 例湿性 AMD 患者及 4 例对照组进行 TO901317 处理。

1.2.2 PCR 检测 细胞总 RNA 使用 TRIzol 提取液(美国 Invitrogen 公司)按照说明书提取,检测 RNA 浓度及纯度后取等量 1μgRNA 模板加样,使用反转录试剂盒(中国 Takara 公司)反转录 mRNA 为 cDNA,总反应体积为 20 μL。采用 ABI Prism 7500 机器进行 RT-PCR 检测,反应条件如下:95 ℃预变性 10 min,循环 1 次;95 ℃变性 15 s,60 ℃预变性退火、延伸 1 min,循环 40 次。所有基因均使用人 β-actin 基因作为内参。通过 $2^{-\Delta\Delta Q}$ 法计算基因的相对表达量。LXRα、LXRβ 及 β-actin 的引物序列由上海生工公司合成,详见表 1。

表 1 LXRα、LXRβ 及 β-actin 的引物序列

Tab.1 Sequences of primers for real-time RT-PCR

引物名称	引物系列(5'-3')
LXRα-F	AAGCCCTGCATGCCTACGT
LXRα-R	TGCAGACGCAGTGCAAACA
LXRβ-F	CTCCTGAAGGCATCCACTATCG
LXRβ-R	GGTGGAAGTCGTCCTTGCTGTA
β-actin-F	CGAGAAGATGACCCAGATCATG
β-actin-R	CAGAGGCGTACAGGGATAGCA

1.3 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析,计数资料采用卡方检验,计量资料采用 t 检验和非参数统计分析。其中正态分布数据以均数 ± 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,病例组和对照组的差异分析采用 t 检验;非正态分布数据用中位数表示,采用非参数统计,2 组之间比较采用 Mann-Whitney U 检验。采用 Pearson 相关性分析 LXRα、LXRβ 与脂代谢水平的相关性。ROC 曲线以灵敏度为纵轴,代表真阳性率,以(1-特异度)为横轴,代表假阳性率。计算曲线下面积(area under the curve,AUC)。检验水准 $\alpha=0.05$。

2 结 果

2.1 一般情况

本研究纳入 20 例湿性 AMD 患者和年龄匹配的健康志愿者。其中病例组中男性 14 例(70%),女性 6 例(30%),平均年龄(70.95 ± 8.80)岁;对照组中男性 9 例(45%),女性 11 例(55%),平均年龄(66.20 ± 8.26)岁,性别使用确切概率法计算得 $P=0.200$,因此病例组和对照组在年龄均具有可比性,且差异无统计学意义($t=1.760$,$P=0.086$)。此外,TC 的水平在病例组和对照组中分别为(4.354 ± 0.828)、(4.746 ± 0.575),t 检验分析两者间差异无统计学意义($t=-1.552$,$P=0.131$)。TG 的水平在病例组和对照组中分别为(1.660 ± 0.800)、(1.381 ± 0.470),非参数检验分析两者间差异无统计学意义($Z=0.754$,$P=0.451$)。HDL 的水平在病例组和对照组中分别为(1.310 ± 0.317)、(1.440 ± 0.310),t 检验分析两者间差异无统计学意义($t=-1.168$,$P=0.252$)。LDL 的水平在病例组和对照组中分别为(2.726 ± 0.822)、(2.821 ± 0.495),t 检验分析两者间差异无统计学意义($t=-0.393$,$P=0.697$)。结果详见表 2。

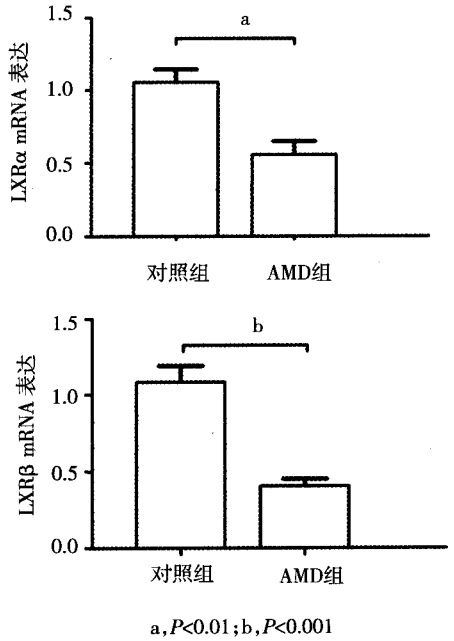
表 2 2 组在年龄、性别及血脂水平等方面的比较

Tab.2 Characteristics of the two study populations in age, gender and lipid level

分组	年龄（岁）	性别（男/女）	TC（mmol/L）	TG（mmol/L）	HDL（mmol/L）	LDL（mmol/L）
病例组	70.95 ± 8.80	14/6	4.354 ± 0.828	1.660 ± 0.800	1.310 ± 0.317	2.726 ± 0.822
对照组	66.20 ± 8.26	9/11	4.746 ± 0.575	1.381 ± 0.470	1.440 ± 0.310	2.821 ± 0.495
t 值	1.760	-	-1.552	-0.754	-1.168	-0.393
P 值	0.086	0.200	0.131	0.451	0.252	0.697

2.2 在湿性 AMD 患者 PBMC 中 LXRα 及 LXRβ mRNA 的表达水平

qRT-PCR 结果显示，在湿性 AMD 病例组和对照组的 PBMC 细胞中 LXRα mRNA 相对表达量分别为 1.054 ± 0.362、0.555 ± 0.365，统计学分析证实两者表达量有统计学差异（t=3.881，P=0.001）。LXRβ mRNA 在湿性 AMD 病例组与对照组的 PBMC 细胞中相对表达量分别为（1.084 ± 0.425）、（0.403 ± 0.191），两者有统计学差异（t=5.839，P=0.000）。因此，相对于对照组，湿性 AMD 患者 PBMC 中 LXRα，LXRβ 的 mRNA 表达水平均显著降低，结果如图 1 所示。ROC 曲线是反映敏感性和特异性连续变量的综合指标，可用于判断实验因子对疾病识别能力，ROC 曲线越凸或阈值越接近 1，表明其诊断价值越大。ROC 分析可知：LXRα 检测结果的 AUC 为 0.824（95%CI=0.676~0.973，P=0.001），LXRβ 检测结果的 AUC 为 0.945（95%CI=0.873~1.000，P=0.000）。结果表明 LXRβ 检测准确性较高，可能成为湿性 AMD 的一个检测新靶点。结果如图 2 所示。



a，P<0.01；b，P<0.001

图 1 RT-PCR 检测 LXRα 和 LXRβ 在湿性 AMD 组和健康对照组的 PBMC 中的表达（n=16）

Fig.1 Expression of LXRα and LXRβ in PBMCs of exudative AMD patients when compared with the control individuals by RT-PCR（n=16）

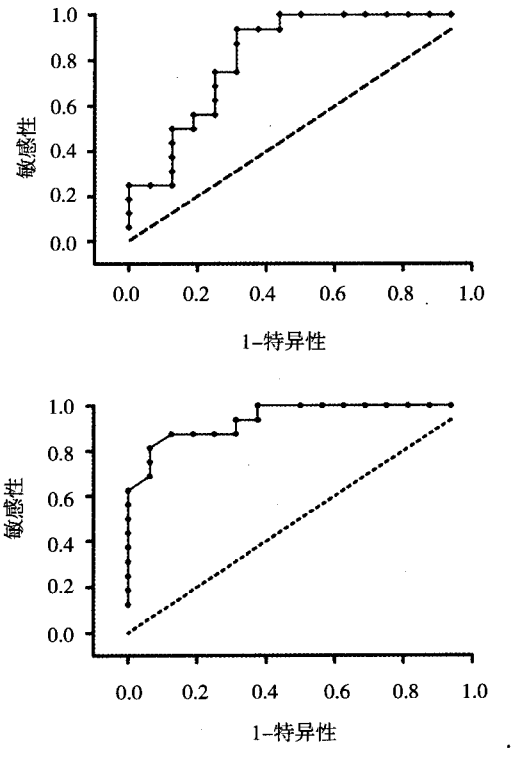
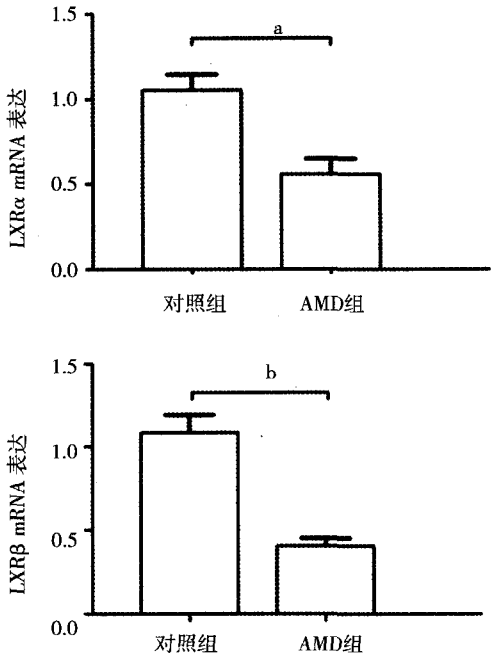


图 2 ROC 分析 LXRα 和 LXRβ

Fig.2 LXRα and LXRβ with ROC analysis

2.3 在 AMD 患者 PBMC 中 LXR 激动剂 TO901317 可激活 LXRα 的表达

LXR 激动剂可分为内源性激动剂（如甾体类化合物）和外源性激动剂（如 TO901317 和 GW3965）。对于 LXR 激动剂的作用在湿性 AMD 患者 PBMC 中尚未研究过。LXRα mRNA 在对照组和 AMD 组中表达水平分别为 1.250 ± 0.263，3.347 ± 1.271（t=-4.119，P=0.026）；0.8791 ± 0.526，3.076±1.001（t=-4.700，P=0.018）。LXRβ mRNA 在对照组和 AMD 组中表达水平分别为 1.032 ± 0.4063，1.302 ± 0.325（t=-2.648，P=0.077）；0.964 ± 0.524，1.470 ± 0.132（t=-2.176，P=0.118）。因此，较用药前相比，LXRα 在正常人组和湿性 AMD 组中表达水平均升高，而 LXRβ 表达未见明显差异。结果如图 3 所示。结果表明 TO901317 可激活 PBMC 中 LXRα 的表达，不仅在正常人中，而且 AMD 患者中也有升高，两者之间增加的倍数相近，这表明 LXR 可作为治疗 AMD 的新靶点。



a:P<0.01;b:P<0.001

图 3 RT-PCR 检测 LXRα 和 LXRβ 在湿性 AMD 组和健康对照组的 PBMC 中的表达（n=16）

Fig.3 Expression of LXRα and LXRβ in PBMCs of exudative AMD patients when compared with the control individuals by RT-PCR（n=16）

2.4 LXRα 及 LXRβ 与血脂水平的相关性分析

收集湿性 AMD 病例组和对照组空腹血脂水平，采用 Pearson 相关性分析法分别分析 LXRα、LXRβ 与血脂水平各指标的相关性。统计分析得 LXRα 与 TC、TG、HDL、LDL 的相关性分别为 r=0.315，P=0.079；r=−0.453，P=0.009；r=0.201，P=0.270；r=0.281，P=0.119；LXRβ 与 TC、TG、HDL、LDL 的相关性分别为 r=0.290，P=0.107；r=−0.200，P=0.271；r=0.131，P=0.473；r=0.254，P=0.160。在检验水准为 0.05 的条件下，LXRα 与 TG 的含量呈负性相关，说明 LXRα 可影响血浆中甘油三酯的含量。结果见表 3 及表 4。

表 3 LXRα 与各测量指标的相关性分析

Tab.3 Pearson correlation analysis on the relative factors for LXRα

	TC	TG	HDL	LDL
r 值	0.315	−0.453	0.201	0.281
P 值	0.079	0.009	0.270	0.119

表 4 LXRβ 与各测量指标的相关性分析

Tab.4 Pearson correlation analysis on the relative factors for LXRβ

	TC	TG	HDL	LDL
r 值	0.290	−0.200	0.131	0.254
P 值	0.107	0.271	0.473	0.160

3 讨 论

目前 AMD 的病因不清，近年来研究发现慢性炎症与胆固醇代谢紊乱在 AMD 的发病过程中发挥关键作用，但其机制目前尚不清楚。由于 LXR 的主要作用是调节脂质代谢和炎症反应，因此，本研究猜测 LXR 可能是湿性 AMD 中调节脂代谢与炎症反应的中心枢纽。

以上观点是有一定文献支持的。研究的基因多态性研究证实与 AMD 疾病进展相关的易感基因包括胆固醇酯转移酶 CETP 基因，载脂蛋白 APOE 基因，肝脂酶 LIPC 基因，ATP 结合盒转运子 1（ACBA1）基因等[8]。虽然遗传研究没有显示 LXR 及靶基因 ABCA1 与 AMD 有直接关联，但却在疾病发病中起重要作用[9-10]。研究发现，CNV 动物模型中，高胆固醇喂养小鼠，可增加眼内 CNV 的面积。在LDL 受体敲除的小鼠中，Brush 膜上有脂质的沉积，且可以升高新生血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）的表达[11-12]。其机制可能是视网膜中累积的胆固醇被氧化，氧化型胆固醇具有细胞毒性，激活氧化应激反应和炎症反应，促进 AMD 的发展[13]。

关于慢性炎症在 AMD 中的作用，现有证据指出有不同免疫细胞，炎性细胞因子及炎性信号通路的参与病理过程[14]。免疫细胞介导的 IL-6、IL-8 等多种炎症因子的异常表达是湿性 AMD 发生发展过程中的重要环节因素。LXR 作为具有强大炎症抑制作用的核转录因子，广泛表达于成纤维细胞，单核细胞及巨噬细胞和淋巴细胞，可能通过减少细胞因子 NF-κB 活化进而抑制炎症因子[15]。最新的研究也发现调节 LXR 及其靶基因 ABCA1 的表达对实验性自身免疫性葡萄膜炎，糖尿病视网膜病变和视网膜炎症等动物模型的疾病预后都具有改善作用[6]。我们实验室前期发现在 ARPE-19 细胞中，LXR 激动剂可有效通过激活 LXRα 抑制 β 淀粉样蛋白诱导的炎症及细胞衰老的反应。上述研究，充分说明了 LXR 在 AMD 中发挥作用。

此外，在本研究中未发现血脂水平在病例组与对照组之间有差异，这与一些文献结果相悖。Reynolds 等[16]在 318 例晚期 AMD 患者与 140 例对照组中发现 AMD 患者的血清中 LDL 的表达水平升高，而 HDL 的表达水平降低。Paun 等[8]发现 AMD 患者血清中 HDL 和 APO-A1 水平较正常人的高，同时血清中

TG 的表达水平较正常人低。此外，在相关性分析里发现 LXRα 与 TG 具有负性相关性，其机制或许与甾醇反应原件结合蛋白（SREBP1-c）的减少有关，SREBP1-c 主要参与脂肪的合成与转运，故导致 TG 的合成增加，但是由于本研究样本量少而存在的局限性，不能完全说明脂代谢与 AMD 无关。针对现有的相关文献，比佛-达姆眼科实验室研究人员曾指出，不同人群、不同的报告及不同的测量方法及校正因子等因素均会影响研究结果。总之，现老年人中血脂普遍异常，高胆固醇血症是AMD 疾病的高危因素。在细胞和动物模型中证实他汀类药物可以减少炎性细胞因子 IL-6 的表达，下调VEGF 的表达在肿瘤坏死因子-α 诱导的视网膜血管模型[17]，并减少 CNV 的大小在激光诱导的 CNV 小鼠模型[18]，这些均表明降低胆固醇的含量对 AMD 的进展有抑制作用，其潜在机制可能是通过减少局部和全身胆固醇的含量，防止胆固醇的积累，增加巨噬细胞和 RPE 细胞的清除能力，从而降低氧化损伤预防 RPE 变性。

在最近研究报道中，BMS-852927 是最新用于临床试验的 LXRβ 靶向合成物，在临床试验中发现 LXRβ 靶向合成物可在 2 h 内最有效激活健康志愿者外周血中 LXRβ 及靶基因 ABCA1 的表达，这些研究为代谢类疾病的治疗提供了重要依据。但其药物的安全性、药物动力学以及在眼部疾病中的应用仍需进一步探讨。

总之，本研究首次证实在湿性 AMD 患者中发现 LXRα 及 LXRβ 的表达降低。由于 LXR 具有调节脂代谢和炎症反应的作用和 AMD 的病理过程与外周血胆固醇的代谢和慢性炎症反应密切相关，因此，LXR 可能是湿性 AMD 中调节脂代谢与炎症反应的中心枢纽。进而 LXR 激动剂可在外周血中有应答，LXR 激动剂可能成为治疗 AMD 的一类新的治疗药物。

参 考 文 献

[1] You QS, Xu L, Yang H, et al. Five-year incidence of age-related macular degeneration: the Beijing Eye Study[J]. Ophthalmology, 2012, 119(12): 2519-2525.

[2] Jakobsson T, Treuter E, Gustafsson JA, et al. Liver X receptor biology and pharmacology: newpathways, challenges and opportunities[J]. Trends Pharmacol Sci, 2012, 33(7): 394-404.

[3] Castrillo A, Tontonoz P. Nuclear receptors in macrophage biology: at the crossroads of lipid metabolism and inflammation[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2004, 20: 455-480.

[4] Waddington KE, Jury EC, Pineda-Torral. Liver X receptors in immune cell function in humans[J]. BiochemSoc Trans, 2015, 43(4): 752-757.

[5] Hazra S, Rasheed A, Bhatwadekar A, et al. Liver X receptor modulates diabetic retinopathy outcome in a mouse model of streptozotocin-induced diabetes[J]. Diabetes, 2012, 61(12): 3270-3279.

[6] Yang H, Zheng S, Qiu Y, et al. Activation of liver X receptor alleviates ocular inflammation in experimental autoimmune uveitis[J]. Invest OphthalmolVis Sci, 2014, 55(4): 2795-2804.

[7] Sene A, Apte RS. Eyeballing cholesterol efflux and macrophage function in disease pathogenesis[J]. Trends Endocrinol Metab, 2014, 25(3): 107-114.

[8] Paun CC, Ersoy L, Schick T, et al. Geneticvariants and systemic complement activation levels are associated with serum lipoprotein levels in age-related macular degeneration[J]. Invest OphthalmolVis Sci, 2015, 56(13): 7766-7773.

[9] Sene A, Khan AA, Cox D, et al. Impaired cholesterol efflux in senescent macrophages promotes age-related macular degeneration[J]. Cell Metab, 2013, 17(4): 549-561.

[10] Ananth S, Gnana-Prakasam JP, Bhutia YD, et al. Regulation of the cholesterol efflux transporters ABCA1 and ABCG1 in retina in hemochromatosis and by the endogenous siderophore 2,5-dihydroxybenzoic acid[J]. BiochimBiophys Acta, 2014, 1842(4): 603-612.

[11] Zarrouk A, Vejux A, Mackrill J, et al. Involvement of oxysterols in age-related diseases and ageing processes[J]. Ageing Res Rev, 2014, 18: 148-162.

[12] Rudolf M, Winkler B, Aherrahou Z, et al. Increased expression of vascular endothelial growth factor associated with accumulation of lipids in Bruch's membrane of LDL receptor knockout mice[J]. Br J Ophthalmol, 2005, 89(12): 1627-1630.

[13] Sorci-Thomas MG, Thomas MJ. High density lipoprotein biogenesis, cholesterol efflux, and immune cell function[J]. ArterioscIerThrombVasc Biol, 2012, 32(11): 2561-2565.

[14] Ambati J, Atkinson JP, Gelfand BD. Immunology of age-related macular degeneration[J]. Nat Rev Immunol, 2013, 13(6): 438-451.

[15] Torocsik D, Barath M, Benko S, et al. Activation of liver X receptor sensitizes human dendritic cells to inflammatory stimuli[J]. J Immunol, 2010, 184(10): 5456-5465.

[16] Reynolds R, Rosner B, Seddon JM. Serum lipid biomarkers and hepatic lipase gene associations with age-related macular degeneration [J]. Ophthalmology, 2010, 117(10): 1989-1995.

[17] Robinson R, Ho CE, Tan QS, et al. Fluvastatin downregulates VEGF-A expression in TNF-alpha-induced retinal vessel tortuosity[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011, 52(10): 7423-7431.

[18] Yamada K, Sakurai E, Itaya M, et al. Inhibition of laser-induced choroidal neovascularization by atorvastatin by downregulation of monocyte chemotactic protein-1 synthesis in mice[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2007, 48(4): 1839-1843.

（责任编辑：张辉洁）