

血脂平冲剂对 HLP 大鼠补体调节蛋白 CD55、CD59 表达的影响 *

刘锋¹ 张红² 齐斌武¹ 许爱英²

(1 陕西中医学院 2008 级硕士研究生 咸阳 712046; 2 陕西中医学院 咸阳 712046)

摘要:目的:揭示血脂平冲剂对实验性高脂血症大鼠 CD55、CD59 表达的影响。方法:将 60 只昆明种雄性 SD 大鼠随机分为六组:空白对照组、病理模型组、西药组、血脂平冲剂大剂量组、血脂平冲剂中剂量组、血脂平冲剂小剂量组。测定各组大鼠血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的水平,流式细胞仪测定各组大鼠白细胞 CD55、CD59 表达的变化。结果:血脂平冲剂组大鼠 TC、TG、LDL-C 水平明显低于模型组($P<0.05$),白细胞 CD55、CD59 的表达明显上调,且具有明显的量效关系。结论:血脂平冲剂具有明显的降脂作用,其机制可能与其促进 CD55、CD59 的表达上调有关。

关键词:血脂平冲剂;高脂血症;补体调节蛋白;CD55;CD59

Abstract:Objective:To reveal XueZhiPing granules on HLP experimental rat CD55, CD59 expression. Methods:60 male SD Kunming rats were divided into six groups, control group, model group, comparison group, XueZhiPing granules high-dose group, XueZhiPing granules middle-dose group, XueZhiPing granules low-dose group. Measured serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) levels. Rats CD55, CD59 expression changes measured by flow cytometry leukocyte. Results:XueZhiPing granules groups TC, TG, LDL-C levels were significantly lower than model group ($P<0.05$), leukocyte CD55, CD59 is upregulated, and has significant dose-effect relationship. Conclusion:XueZhiPing granules have obvious lipid-lowering effect and the mechanism may be related to the promotion of CD55, CD59 upregulation.

Key words:XueZhiPing granules; hyperlipidemia; complement regulatory protein; CD55; CD59

中图分类号:R 285.5

文献标识码:B

doi:10.3969/j.issn.1671-4040.2010.03.002

心脑血管病是现代社会对人类健康危害较大的疾病之一,尤其是冠心病(CHD)居所有疾病的死亡率之首。而 CHD 则由动脉粥样硬化(AS)引起为最常见。大规模、多中心的临床流行病学及实验研究证实,高脂血症(HLP)是 AS 的首要危险因素,参与了 AS 的发生、发展及病变恶化的全过程^[1],与 CHD、脑血管疾病(CVD)的发病率有直接关系。所以,HLP 治疗成为解决此类病变的研究重点,颇受医学界关注,已日益引起广大学者的高度重视。血脂平冲剂^[2]由蒲黄、泽泻、山楂、何首乌、白术、决明子等中药组成,经多年的临床观察有较好的降脂效果,该方具有化痰祛瘀、健脾益肾的功效。本文旨在通过对血脂平冲剂作用机理的探讨,为心脑血管病预防与治疗的新药开发应用提供科学的理论依据。

1 实验材料

1.1 试剂 总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)测定试剂盒由南京建成生物制品研究所提供;单克隆抗体 CD55-PE、CD59-FITC 试剂盒由美国 caltag 公司提供。

1.2 药物 辛伐他汀片,浙江海正药业股份有限公司生产;血脂平冲剂,陕西中医学院门诊部提供。

1.3 实验动物 昆明种雄性 SD 大鼠 60 只,体重 180~220g,西安交通大学医学院实验动物中心提供。

1.4 仪器与设备 流式细胞仪(型号:C3K、3KVA),全自动生化分析仪,台式高速离心机等。

2 实验方法

2.1 实验分组 随机分为六组,每组 10 只:A 组(空白对照组)、B 组(高脂病理模型组)、C 组(辛伐他汀组)、D 组(血脂平冲剂大剂量组)、E 组(血脂平冲剂中剂量组)、F 组(血脂平冲剂小剂量组)。

2.2 饲料配方 普通饲料:由西安交通大学医学院实验动物中心提供。脂肪乳剂:参考高脂饲料配方^[3],并略加改进:胆固醇 2%、猪油 10%、丙基硫氧嘧啶 0.2%、吐温 80.2%,加防腐剂、水制成乳剂。

2.3 模型建立及给药 60 只 SD 大鼠普通饲料于 20~24℃、湿度 40%~60%动物留观室内适应喂养 7d。实验开始继续普通饲料喂养,除 A 组大鼠灌胃等体积的生理盐水外,其余五组灌胃脂肪乳剂 5mL/kg。造模 4 周后,除 A、B 组给予等体积生理盐水灌胃外,其余各组每天上午灌胃给药,C 组给予辛伐他汀灌胃,D、E、F 组分别给予血脂平冲剂大、中、小剂量灌胃,剂量分别为 C 组 0.625g/kg,D 组 10mL/kg,E 组 4mL/kg,F 组 2mL/kg,灌胃 6 周后停药,用戊巴比妥钠麻醉,腹主动脉、静脉采血。

2.4 检测方法 用酶法检测血清中 TC、TG、HDL-C、LDL-C;用流式细胞仪测白细胞 CD55、CD59 的表达,即以荧光标记细胞平均强度(MFI)来反映 CD 分子的表达。

2.5 统计学处理 实验数据用 SPSS12.0 软件包进行统计学处理,统计结果用均数±标准差($\bar{X} \pm S$)表示,并用 t 检验比较组间差异性。

* 基金项目:陕西省教育厅科研项目(08jk269)

3 结果与分析

3.1 血脂平冲剂对 HLP 大鼠血脂水平的影响 从表 1 可以看出, 高脂病理模型组大鼠 TC、TG 和 LDL-C 含量较空白对照组均显著升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), HDL-C 略有降低 ($P<0.05$), 表明本次实验造模成功。实验结果表明, 血脂平冲剂具有显著的调脂效果, 并且大剂量组效果最好。

表 1 血脂平冲剂对 HLP 大鼠血脂水平的影响 ($\bar{X}\pm S$) mmol/L					
组别	n	剂量	TC	TG	LDL-C
A	10	—	1.81± 0.29	0.39± 0.08	0.52± 0.09
B	10	—	2.21± 0.25 [▲]	0.70± 0.18 [▲]	0.39± 0.08 ^{▲▲}
C	10	0.625g/kg	1.82± 0.29 ^{△△}	0.48± 0.09 ^{△△}	0.51± 0.08 ^{△△}
D	10	10mL/kg	1.83± 0.29 ^{△△}	0.42± 0.09 [△]	0.53± 0.05 [△]
E	10	4mL/kg	1.88± 0.26 ^{△△}	0.49± 0.09 ^{△△}	0.52± 0.08 ^{△△}
F	10	2mL/kg	2.15± 0.28	0.51± 0.10 ^{△△}	0.41± 0.08

注: 与空白组比较, [▲] $P<0.01$, ^{▲▲} $P<0.05$; 与模型组比较, [△] $P<0.01$, ^{△△} $P<0.05$ 。

3.2 血脂平冲剂对 HLP 大鼠 CD55、CD59 表达的影响 从表 2 可见, 与高脂病理模型组相比, 血脂平冲剂能使 HLP 大鼠白细胞 CD55、CD59 的表达明显上调, 且呈现出明显的量效正相关关系。

表 2 血脂平冲剂对 HLP 大鼠 CD55、CD59 的影响 ($\bar{X}\pm S$)					
	A	B	C	D	E
CD55	2.40± 0.25	1.81± 0.12 [▲]	2.47± 0.39 [△]	2.34± 0.20 [△]	2.20± 0.15 [△]
CD59	2.39± 0.21	2.00± 0.09 [▲]	2.78± 0.19 [△]	2.76± 0.12 [△]	2.69± 0.39 [△]

注: 与空白组比较, [▲] $P<0.01$; 与模型组比较, [△] $P<0.01$, ^{△△} $P<0.05$ 。

4 讨论

补体是机体免疫系统的重要组成部分, 补体系统的过度激活则会直接或间接地导致机体自身正常组织的损伤。补体调节蛋白是调节补体功能的补体抑制因子, 能够抑制补体的过度激活, 保护宿主细胞免受补体介导的免疫损伤^[4]。TC、TG 增高是 HLP 的显著标志, 以往治疗该病均以调节 TC、TG 为主。随着分子免疫学的发展, 大量研究证实 HLP 中补体参与非常活跃, 补体激活在 AS 的发生发展中起重要作用^[5], 实验报道也证实补体活化可促进 AS 的进展和不稳定斑块的形成^[6]。国内研究发现, HLP 患者血清 C3、C4 升高并与血脂水平相关, 表明高脂血症患者存在补体生成升高, 提示补体系统功能活跃, 这与国外研究结果相一致^[7]。唐氏等^[8]认为补体 C3 参与肾脏疾病患儿血脂代谢的调节。补体调节蛋白可抑制补体的活性, 尤其是 CD55、CD59。CD55 又称衰变加速因子 (DAF), 具有促进 C3、C4 转化酶衰变的活性, 可阻止补体 C3、C4 转化酶的形成, 并且可使已形成的 C3、C4 转化酶失去其稳定 (上接第 2 页)

参考文献

[1]Cox NJ,Subbarao K.Global epidemiology of influenza:past and present[J].Annu Rev Med,2000,51:407-421
[2]Nichol,Son KG,Wood JM,et al.Influenza [J].Lancet,2003,362:1 733-1 745
[3]贝政平,蔡映云.内科疾病诊断标准[M].北京:科学出版社,2001. 380,411
[4]郑筱萸.中药新药临床研究指导原则[M].北京:中国医药科技出版社,2002.158
[5]唐雪春,彭胜利.呼吸道感染与湿的相关性研究[J].中国中医药信息杂志,2000,7(10): 39

性,避免补体对自身组织细胞的溶解、破裂^[9];CD59 又称保护素, 可阻碍补体 C7、C8 与相应受体的结合,抑制膜攻击复合体 (MAC) 的形成,使自身正常组织细胞免受补体损伤^[10,11]。

本研究结果显示病理模型组 CD55、CD59 平均荧光强度明显降低,随着 CD55、CD59 表达的上调, 血脂含量明显下降,表明血脂水平与补体调节蛋白 CD55、CD59 具有相关性, 并且具有显著的量效关系。血脂平冲剂降脂、调脂作用可能是通过促进 CD55、CD59 高表达实现的, 其详细机理还需要更为深入的基础研究。HLP 患者 CD55 表达下调,降低了机体对补体活化的抑制作用, 有利于 AS 的形成^[12]。而血脂平冲剂可促进 CD55、CD59 的表达上调,则说明血脂平冲剂可抑制补体的活性,可直接干预 AS 的发生。

参考文献

[1]陆宗良,项志敏.血脂异常的治疗[M].第 2 版.北京:人民卫生出版社,2008.1
[2]许爱英.血脂平冲剂对大鼠高脂血症的影响[J].陕西中医学院学报, 2007,30 (2): 42-43
[3]许爱英.血脂平冲剂对大鼠高脂血症 CAM3、NO 的影响[J].陕西中医学院学报,2006,29 (2): 52-53
[4]Ballard LL,Bora NS,Yu GH,et al.Biochemical characterization of membrane cofactor protein of the complement system [J]. Immunology,1988,141 (11):3 923
[5]刘永铭,严祥,刘艳英.补体与动脉粥样硬化[J].中华心血管病杂志, 2005,33 (9): 866-869
[6]Niculescu F,Rus H.Complement activation and atherosclerosis [J]. Mol Immunol,1999,36:949-955
[7]Meijssen S, Van Dijk H,Verseyden C,et al.Delaye and exaggerated postprandial complement component 3 response in familial combined hyperlipidemia[J].Arterioscler Thromb Vasc Biol,2002,22 (5):811-816
[8]唐锦辉,温宇.肾脏疾病儿童血浆促酰化蛋白水平测定的意义[J].实用儿科临床杂志,2008,23 (5): 337-339
[9]Weller AN,Wang CE. Structure and function of decay acceleration factor CD55P[J].Lab Clin Med,1994,123(4):485
[10]Tada T,Okada H, Okada N,et al. Membrane attack complex of complement and 20 kda homologous restriction factor (CD59) in myocardial infarction[J].Virchows Arch,1997,430(4):327
[11]Rooney IA,Morgan BP. Protection of human amniotic epithelial cells (HAEC) from complement-mediated lysis: expression on the cells of three complement inhibitory membrane proteins [J]. Immunology,1990,71:308-311
[12]刘艳英,刘永铭.高脂血症患者补体调节蛋白 CD55、CD59 表达与脂肪细胞因子的关系研究 [J]. 中国老年学杂志,2009,29 (7): 1 622-1 624

(收稿日期: 2010-01-18)

[6]莫日根,韩雪梅,新燕.蒿芩清胆汤抗流感病毒的实验研究[J].中医研究, 2005,18(5): 16
[7]卢志刚.蒿芩清胆汤解热抗炎作用的实验研究[J].中医药学刊, 2005, 23 (3): 454
[8]李鹏.蒿芩清胆汤的免疫作用研究[J].中医研究, 2004, 17 (5): 22
[9]王建华,张永祥.中药药理与临床研究进展[M].北京:军事医学科学出版社, 2006.608
[10]樊万虎,张成文.肿瘤坏死因子与病毒性疾病[J].中华实验临床免疫学杂志,1993,5(3): 47-49
[11]黄祯祥.医学病毒学基础及实验技术 [M]. 北京: 科学出版社, 1990.56-58

(收稿日期: 2010-01-19)