

黄芪当归合剂对肾病综合征大鼠脂蛋白脂酶和卵磷脂胆固醇酰基转移酶的影响*

李宁军 李惊子 辛 岗 许 远 洪健美 王海燕

内容提要 目的:探讨黄芪当归合剂(合剂)调节脂代谢紊乱的可能机理。方法:在肾病综合征(NS)高脂血症及高胆固醇血症大鼠,观察合剂对血清白蛋白、血脂及脂质降解的两个关键酶脂蛋白脂酶(LPL)和卵磷脂胆固醇酰基转移酶(LCAT)活性的影响。结果:NS大鼠出现明显低白蛋白、高脂血症,同时 LPL 活性降低,LCAT 活性相对不足;在 NS 大鼠应用合剂治疗后,不仅血清白蛋白明显升高、血脂明显下降,LPL 及 LCAT 活性亦明显增加;高胆固醇血症时 LPL 及 LCAT 活性无明显改变,合剂对其活性亦无影响。结论:NS 大鼠 LPL 活性降低,LCAT 活性相对不足是其高脂血症发生机理之一。合剂通过增加 LPL 和 LCAT 活性,促进循环中含载脂蛋白 B(apoB)、富甘油三酯及富胆固醇脂蛋白的降解起调脂作用。

关键词 黄芪当归合剂 肾病综合征 脂蛋白脂酶 卵磷脂胆固醇酰基转移酶 高脂血症

Effect of Astragalus Angelica Mixture on Lipoprotein Lipase and Lecithin Cholesterol Acyltransferase of Nephrotic Rats Li Ningjun, Li Jingzi, Xin Gang, et al *Institute of Nephrology, Beijing Medical University, Beijing (100034)*

Objective: To investigate the mechanism of Astragalus Angelica Mixture (AAM) effect of regulating lipid metabolism disturbance in nephrotic rats. **Methods:** To examine the effects of AAM on serum albumin, lipid levels, and activities of lipoprotein lipase (LPL) and lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT), which are key enzymes for catabolism of lipid, in immune-induced nephrotic hyperlipidemia rats and exogenous hyperlipidemia rats. **Results:** Serum albumin was reduced, lipid increased significantly, LPL activity decreased significantly and the LCAT activity was relatively insufficient in nephrotic rats. Activities of LPL and LCAT increased significantly in AAM treated nephrotic rats. There were no change of activities of LPL and LCAT in exogenous hyperlipidemia rats and AAM showed no effect on the activities of these two enzymes. **Conclusion:** The effect of AAM in regulating lipid metabolism might be due to enhancing the clearance of triglyceride and cholesterol-rich lipoprotein by improving the activities of LPL and LCAT.

Key words Astragalus Angelica mixture, nephrotic syndrome, lipoprotein lipase, lecithin-cholesterol acyltransferase, hyperlipidemia

许多肾脏疾病存在脂质代谢紊乱,特别是肾病综合征(nephrotic syndrome, NS),高脂血症为主要临床表现之一,其发生机理尚未完全了解,可能由脂质合成增加和(或)降解减少所致。高脂血症不但增加心血管病变,而且可导致和加重肾损伤。我们以往证实黄芪当归合剂可改善 NS 低白蛋白血症、高脂血症^[1]和促肝细胞脂蛋白脂酶(LDL)受体 mRNA 表达上调。本实验旨在观察脂质降解过程中两主要酶即 LPL 和卵磷脂胆固醇酰基转移酶(LCAT)活性变化,及合剂对两酶活性的影响,探讨合剂调脂的可能机理。

材料与方法

1 动物 雄性 SD 大鼠由北京医科大学动物中心提供,体重(150±13)g。

2 药物及试剂 黄芪当归合剂成分:黄芪、当归。产地:内蒙。制备方法:将黄芪、当归按传统方法制成水煎剂,浓度为含生药各 0.7g/ml 备用。LCAT 试剂盒:上海联阳生物技术实业有限公司生产,批号 980225。HDL₂、HDL₃ 试剂盒:上海荣盛生物试剂厂生产,批号 971101。

3 动物模型及分组 (1)肾病综合征动物模型:采用大鼠加速肾毒血清肾炎模型。选用尿蛋白阴性大鼠,用兔 IgG 3mg 多点皮下注射,5 天后尾静脉注射兔

*国家自然科学基金资助项目(No.39670909)

北京医科大学第一医院肾内科 北京医科大学肾脏病研究所(北京 100034)

表 1 肾病综合征各组血浆白蛋白、血脂及 HDL₂/HDL₃、LCAT 和 PL 活性的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	Alb (g/L)	CHO	TG (mmol/L)	VLDL	HDL ₂ /HDL ₃	LCAT($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)		LPL ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)
							FER	MER	
C	7	38.29 ± 1.93	1.86 ± 0.17	1.27 ± 0.42	0.57 ± 0.19	1.53 ± 0.63	0.51 ± 0.14	22.9 ± 8.0	17.7 ± 3.6
NS	7	31.00 ± 2.42*	5.70 ± 1.15**	7.41 ± 3.77**	3.37 ± 1.71*	0.39 ± 0.19**	0.35 ± 0.12*	39.6 ± 15.0*	10.9 ± 4.8*
NS加A	6	35.32 ± 2.33 [△]	3.25 ± 2.07 [△]	3.11 ± 2.63 [△]	1.41 ± 1.19 [△]	0.81 ± 0.42* [△]	0.74 ± 0.11 ^{△△}	84.5 ± 21.9 ^{△△}	16.6 ± 4.3 [△]

注:与 C 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 NS 组比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$

表 2 高胆固醇血症各组 TG、CHO、VLDL 及 HDL₂/HDL₃ 的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	TG	CHO (mmol/L)	VLDL	HDL ₂ /HDL ₃
C	3	0.93 ± 0.44	1.83 ± 0.29	0.43 ± 0.21	0.85 ± 0.34
A	7	0.72 ± 0.15	1.98 ± 0.47	0.32 ± 0.07	0.89 ± 0.34
CHO	5	1.07 ± 0.29	2.74 ± 0.55*	0.48 ± 0.13	0.64 ± 0.43
CHO加A	6	1.51 ± 0.48	2.81 ± 0.40*	0.68 ± 0.21	1.01 ± 0.30

注:与 C 组比较, * $P < 0.01$

抗鼠肾毒血清 0.4ml/100gBW(抗血清效价 1:64), 72h 后尿蛋白 > 150mg/24h, 表示模型成功。随机分组: 正常对照(C, $n = 7$)、实验对照(NS, $n = 7$)和实验用药(NS加A, $n = 6$)。NS加A组: 每天 3ml 合剂灌胃; C 组和 NS 组: 每天 3ml 水灌胃; NS 组给富蛋白饮食, 实验全程 5 周。富蛋白饲料: 含蛋白质 38.3%, 其中酪蛋白 14.3%。(2)高胆固醇血症模型: 喂高胆固醇饲料, 含胆固醇 5% (胆固醇购自北京化学试剂公司)。随机分组: 正常对照组(C, $n = 3$)、正常用药组(A, $n = 7$)、高胆固醇血症组(CHO, $n = 5$)和高胆固醇血症用药组(CHO加A, $n = 6$)。实验周期 5 周。

4 观察指标及方法

4.1 24h 尿蛋白定量 采用丽春红法⁽²⁾。

4.2 血清白蛋白(Alb)、甘油三酯(TG)、胆固醇(CHO)、极低密度脂蛋白(VLDL)用自动生化分析仪测定。高密度脂蛋白 2/高密度脂蛋白 3(HDL₂/HDL₃) 酶法测定。

4.3 血清 LPL、LCAT 活性 LPL 活性测定方法⁽³⁻⁵⁾: 测定静脉注射肝素后血浆对 TG 的水解能力, 计算 LPL 活性, 以单位时间分解 TG 所产生游离脂肪酸量表示; LCAT 测定方法⁽⁶⁾: 酶法测定血浆游离胆固醇浓度, 计算 LCAT 活性。分别以酯化分数(fractional esterification rate, FER, 胆固醇酯化的相对百分比)和摩尔酯化率(MER, molar ER, 单位时间胆固醇酯化的摩尔数)表示酶活性。

5 统计学方法 实验数据以($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间比较用 F 检验; 两组间比较用 q 检验。

结 果

1 肾病综合征模型组 实验大鼠呈典型肾病综合征。(1)肾病综合征 NS 组尿蛋白[(454.3 ± 187.8)

mg/24h] 明显高于 C 组[(43.9 ± 23.2)mg/24h], NS 加 A 组尿蛋白[(288.0 ± 219.1)mg/24h]有下降趋势, 但与 NS 组比较无统计学意义。(2)肾病综合征 NS 组有明显低白蛋白、高脂血症, HDL₂/HDL₃ 下降和血浆 LPL 活性明显下降。虽然 LCAT 摩尔酯化率高于正常组, 但酯化分数仍低于正常鼠, NS 加 A 组低白蛋白血症和高脂血症明显改善, HDL₂/HDL₃ 比值也有所回升, 同时 LPL 及 LCAT 两酶活性明显恢复。见表 1。

2 高胆固醇血症模型组 CHO 组血浆胆固醇较 C 组明显增加, HDL₂/HDL₃ 有降低趋势; CHO 加 A 组对血浆胆固醇无影响; 合剂本身不影响血脂, 见表 2。各组间 LPL、LCAT(FER 与 MER)活性无显著性差异($P > 0.05$)。

讨 论

肾病综合征脂代谢紊乱除血浆脂质、脂蛋白浓度增加, 还有脂蛋白组成变化。虽然确切机理尚未明, 但脂蛋白降解过程中两个关键酶 LPL 和 LCAR 的作用一直受到重视^(7,8)。LPL 是一种脂解酶, 主要分解乳糜微粒和 VLDL 中的 TG, 并在脂蛋白之间转移胆固醇、磷脂和载脂蛋白。该酶在脂肪、心肌、乳腺等组织的实质细胞中合成, 易位至血管内皮细胞表面, 肝素可使其释放入血。酶活性受诸多因素调节, 其中 apoC II 是它的激活剂。本实验显示 NS 大鼠 LPL 活性明显下降, 可能与酶激活剂随大量尿蛋白丢失有关⁽⁹⁾。由于 LPL 活性下降使 TG 水解减少, VLDL 转化受阻导致 VLDL 水平明显上升。

脂代谢过程中另一个重要酶是 LCAT 酶, 它由肝脏合成并分泌至血浆, 其选择性底物是新生盘状或小球状 HDL 亚型, 该酶通过催化卵磷脂 Sn-2 位上的酯

酰基转移至胆固醇的 3-位羟基,形成溶血卵磷脂和胆固醇酯,后者不断转入 HDL 内核使其成为 HDL₂。脂质转运蛋白在 HDL₂ 和富含 TG 脂蛋白间进行胆固醇酯与 TG 互换,此过程引起胆固醇逆转运和血浆胆固醇下降。本实验 NS 大鼠呈明显高胆固醇血症,为 LCAT 酶提供大量作用底物,因而酶活性高于正常大鼠,但仍不能将明显升高的胆固醇充分酯化,显示 LCAT 酶相对不足,由于胆固醇酯化受阻,致 HDL₂/HDL₃ 下降。

黄芪当归合剂能改善 NS 患者和实验动物蛋白质代谢紊乱,其作用机理已为我科对该合剂的系列研究阐明^(1,10,11),它的降脂效果也在以往的实验中证实,但作用机理未明。在本实验中合剂具有明显升高 NS 大鼠 LPL 和 LCAT 活性,根据以往研究合剂没有明显减少尿蛋白作用⁽¹⁰⁾,但能在基因转录水平上促进肝脏白蛋白合成⁽¹¹⁾,因此,可能也促进脂代谢调节物及 LCAT 的合成,脂酶辅助因子合成增加可弥补尿中丢失,从而提高 LPL 活性。这与血浆 VLDL 及 TG 下降一致。LCAT 酶活性增加,促进 HDL 成熟和转运,合剂治疗组显示 HDL₂/HDL₃ 的升高。进一步的实验发现合剂不影响正常和外源性高脂血症大鼠上述两酶活性,提示该合剂对两酶无直接作用,支持合剂的降脂作用可能是通过促进肝脏合成酶辅助因子和 LCAT,在 NS 脂代谢紊乱中起调脂作用,其确切机理有待更多实验证实。

参 考 文 献

1. 鲁 盈,李惊子,郑 欣,等.黄芪、当归合剂对肾病综合征血清脂谱和肾小球硬化的影响.中国中西医结合杂志

- 1997;17(8):478—480.
2. 魏明竟主编.临床检验学.第 2 版.北京:科学技术文献出版社,1994:152.
3. Krans RM, Levy RI, Fredrickson DS, et al. Selective measurement of two different triglyceride lipase activities in rat postheparin plasma. J Lipid Research 1973;14:286—295.
4. 吴翠贞,蔡海江,李子行,等.注射肝素后血浆两种脂酶活性与血清高密度脂蛋白的变化.中华心血管病杂志 1984;12(2):144—146.
5. 上海市医学化验所主编.临床生化检验技术(上).上海:上海科学技术出版社,1979:168—170.
6. 张小英,崔若兰,李 霖,等.改良的 LCAT 测定及其在肾脏疾病中的临床意义.肾脏病与透析肾移植 1995;4:18.
7. Hitrano T, Ebara T, Furekawa S, et al. Mechanism of hypertriglyceridemia in Dahl Salt-sensitive rats, an animal model of spontaneous nephrotic syndrome. Metabolism 1994; 43 : 248—256.
8. Subbaiah PV and Rodby RA. Abnormal acyltransferase activities and accelerated cholesteryl ester transfer in patients with nephrotic syndrome. Metabolism 1994;43:1126—1133.
9. Wheeler DV, Bernard DB. Lipid abnormalities in the nephrotic syndrome: causes, consequences, and treatment. AJKD 1994; 23:331—346.
10. 王海燕,李惊子,于 宏,等.雷公藤及黄芪当归对微小病变肾病鼠小球滤过膜通透性的影响.中华医学杂志 1988;68(9):513—515.
11. Liying LI, Menghua Chen, Tanjun Tong, et al. The molecular basis of Chinese herbs (Astragali and Angelica) on increasing serum albumin synthesis in nephrotic rats. Nephrology 1998;4:1—6.

(收稿:1998-08-07 修回:1998-10-30)

类风湿病治疗培训学校

北京朝阳区劲松医院类风湿病治疗培训学校,是经北京成人教育局批准成立的风湿类疾病治疗技术培训专科学校。该校自 1994 年成立已举办 28 期。办学目的是通过讲授常见风湿病的理论知识及新进展,使学员在短时间内掌握风湿病中西医结合的治疗方法,并介绍太原市类风湿病医院 10 余年来运用侯氏疗法的临床经验,以提高风湿病的诊治水平。学校的教学形式为理论与实践相结合。由我国知名的风湿病专家,太原市类风湿病医院院长侯丽萍及其他教授主讲。办学时间为 9、10、11 月份的 10~20 日,9 日报到。从即日起来函(电话)报名,请写明姓名、单位、地址、邮政编码。校方接到来函后发入学通知。来信请寄:北京朝阳区劲松南路东口华泰饭店 709 室,高立红收。邮政编码:100021。电话:(010)67716688 转 709。