

渔区年轻人主动脉 蛋白聚糖和嗜苏丹病变的定量分析*

缪明泉 贾杭若 王爱忠 张英珊^① 杨瑞彪^② 张振声^②

(解放军第113医院病理科, 宁波 315040)

Proteoglycan Analysis and Morphometric Study on the Sudanophilic Lesions of Arterial Intima in Young Adults in Fishing Zone

MIAO Ming-Quan, JIA Hang-Ruo, WANG Ai-Zhong, ZHANG Ying-Shan, YANG Rui-Biao and ZHANG Zhen-Sheng

(Department of Pathology, No 113 Hospital of PLA, Ningbo 315040, China)

ABSTRACT Proteoglycan analysis and morphometric study on the sudanophilic lesion of the aortas (anatomizing in 24 hours) have been performed in 36 young adults who died unexpected in fishing zone. The results were compared with that of Nanning and Peijing. The result shows that: (1) The total proteoglycan: $2\,114 \pm 584$; heparan sulfate-proteoglycan: 481 ± 127 (23.1%); chondroitin sulfate-proteoglycan: $1\,004 \pm 386$ (46.7%); Dermatan sulfate-chondroitin sulfate-proteoglycan: 628 ± 195 (30.2%). (2) The sudanophilic lesion of the aortic intima were obviously lighter than Nanning's and Peijing's.

KEY WORDS Fishing zone; Aortics; Proteoglycan; Sudanophilic lesions; Morphometry.

摘要 本文对渔区36例意外死亡的年轻人(15~39岁)新鲜(死后24h内)主动脉进行了蛋白聚糖和嗜苏丹病变定量分析,同时与以往报道的南宁和北京人

主动脉的蛋白聚糖和嗜苏丹病变测定结果进行比较。结果是:①蛋白聚糖总量 $2\,114 \pm 584$ (μg 糖醛酸/g 内中膜湿重,下同);硫酸乙酰肝素-蛋白聚糖 481 ± 127 , 占蛋白聚糖总量的23.1%;硫酸软骨素-蛋白聚糖 $1\,004 \pm 386$, 占46.7%;硫酸皮肤素-硫酸软骨素-蛋白聚糖 628 ± 195 , 占30.2%;②主动脉内膜嗜苏丹病变测试结果明显好于南宁,更好于北京。

关键词 渔区; 主动脉; 蛋白聚糖; 嗜苏丹病变; 定量分析

早在七十年代就有人注意到进食多鱼膳食的爱斯基摩人的动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)发病率低。八十年代初,对我国19个大中城市As发病情况普查发现^[1],As发病率北方高于南方。在我国10组人群心血管病及危险因素对比研究中也发现:渔区居民As发病率最低。为探讨和研究渔区居民As发病率低的原因,我们用与以往完全相同的方法^[2,3]对渔区年轻人意外死亡者的主动脉蛋白聚糖(proteoglycan, PG)和嗜苏丹病变(sudanophilic lesions, SL)进行了定量分析。

1 材料和方法

1.1 试剂

盐酸胍(超纯, Bethesda Research Laboratories, Inc)、Triton X-100(纯, CarL Roth)、卡啉(99+%, Aldrich)、DEAE-Sephacel、Sephacel (Pharmacia)、浓硫酸(MOS、北京化工厂)。其余试剂均为北京化工厂生产, AR级。

$4\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸胍提取液(pH 4.5)内含 $0.1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-氨基己酸, $50\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA Na_2 , $50\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸钠(NaAc), $4\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸胍。

1.2 主动脉样品制备

* 本文为国家“八五”攻关经费资助课题的一部分

①北京阜外医院生化研究室

②北京军事医学科学院图像分析中心

取渔区年龄为 15~39 岁正常意外死亡 24 h 内的主动脉。自第一肋间动脉开口上缘至髂总动脉分叉处整条取出,剪去主动脉外膜多余的脂肪及小血管,沿背侧纵行剖开,左半平展,置于 10% 福尔马林液中固定,备苏丹 IV 染色。右半主动脉用蒸馏水冲洗干净,滤纸吸干,取胸主动脉的第 1~6 肋间动脉开口处的一段,剥去外膜,称重后剪碎(~1 mm×2 mm)放入小瓶内,加 3 ml 4 mol·L⁻¹ 盐酸胍提取液,密封置-30℃ 保存。共 30 例(男 20、女 10),留作 PG 的提取分析。

1.3 PG 的提取及分离^[3]

将-30℃ 保存的样品迅速解冻,再补加一定量 4 mol·L⁻¹ 盐酸胍提取液[样品:提取液=1(g):15(ml)],搅拌提取 72 h(4℃),离心,取上清液透析后,用一定量(8 ml)先后经 DEAE-Sephacel 离子交换柱及 Sepharose 凝胶过滤柱层析,收集各 PG 峰,测醛酸含量。

1.4 主动脉内膜嗜苏丹病变测量^[2]

从 10% 福尔马林液中取出左半主动脉,流水冲洗 24 h,按 Holman 法行苏丹 IV 染色,复印胶片描绘 SL 区。将描绘图置图像分析仪(Quantimet-970)大体摄像仪下,将主动脉壁沿长轴均分成后壁、侧壁、前壁三等分,继以肋间动脉,腰动脉开口水平均分主动脉 42 个

视场(胸主动脉 27 个,腹主动脉 15 个),分别测试每一视场中 SL 面积百分比,形成 SL 发生概率图。整个过程用仪器的 quips 软件编程,人机对话方式下测定。

1.5 统计学处理^[2,3]

1.5.1 PG 以均数±标准误差表示,用 *t* 检验决定组间差异的显著性。

1.5.2 嗜苏丹病变处理 将测得数据用 SPSS-PC 软件进行统计学处理。

2 结果

2.1 渔区年轻人胸主动脉蛋白聚糖含量

渔区年轻人胸主动脉蛋白聚糖总含量为 2 114±584(μg 糖醛酸/g 内中膜湿重,下同)硫酸乙酰肝素-蛋白聚糖(heparan sulfate PG, HS-PG)481±127,占 PG 总量的 23.1%;硫酸软骨素-蛋白聚糖(chondroitin sulfate PG, CS-PG)1 004±386,占 46.7%;硫酸皮肤素-硫酸软骨素-蛋白聚糖(dermatan sulfate chondroitin sulfate PG, DS-CS-PG)628±196,占 30.2%。

2.2 渔区年轻人主动脉嗜苏丹病变面积百分比区数(块)见 Table。

Table. The Sudanophilic lesion areas % of the aortas in fishing zone young adults.

Sex	cases	sudanophilic lesion areas %								total
		~5	~10	~15	~20	~25	~30	~35	~100	
male	25	13	10	11	7	1	0	0	0	42
female	11	1	16	15	9	1	0	0	0	42
total	36	12	8	14	7	1	0	0	0	42

3 讨论

PG 主要为糖胺聚糖与蛋白质(核心蛋白)共价连接所组成的复杂生物大分子。在人的动脉壁中至少有三种 PG,即 HS-PG、CS-PG、DS-CS PG,它们与血管壁功能、平滑肌细胞增殖,以及脂质沉积均有重要关系。内皮细胞表面的 HS-PG 与血浆中的抗凝血酶结合后可使后者变构,使之易与凝血酶结合而加强抗凝作用,从而在内膜腔面形成抗凝表面,防止凝血或血栓形成^[4]。以往研究发现^[3],人胸主动脉早期 As 病变处 CS-PG 含量减少,DS-CS PG 含量增

多。已知 CS-PG 可与透明质酸形成聚合体,后者与基质中其它成份结合成网状结构,故 CS-PG 减少可导致动脉壁通透性增加。另外,HS-PG 本身又有抗平滑肌细胞增殖作用,故而 HS-PG 和 CS-PG 具有抗 As 病变形成作用,为 PG 中有利成份。而 DS-CS-PG 与低密度脂蛋白的亲合力较高,DS-CS-PG 增加可促进脂质沉积,为 PG 中不利成份。这已被以往的研究结果所证实^[5]。

与文献[5]相比较,渔区年轻人胸主动脉 PG 总量比南宁和北京都低($P<0.01$, $P<0.05$);HS-PG 绝对含量比南宁人低($P<0.01$),

与北京人无差异($P>0.05$),而相对百分含量却高于北京人($P<0.01$);CS-PG 和 DS-CS-PG 的绝对含量都低于北京人和南宁人(P 均 <0.05)。与文献[2]相比较,渔区年轻人主动脉内膜嗜苏丹病变比南宁人轻($P<0.05$),更比北京人轻($P<0.01$)。

南京和渔区同为 As 低发区,但渔区人胸主动脉壁中不利于 As 形成的 PG 成份多于南宁,SL 病变也明显轻于南宁,提示该结果主要是由于两地膳食结构的差异的所致,即渔区人多进食海鱼为 As 低发的主要因素。有报道^[6]鱼油可显著降低血脂水平、抑制血小板聚集、抑制主动脉粥样硬化早期病变形成。尚未见到鱼油与动脉壁 PG 关系的报道。本研究揭示的渔区与南宁主动脉 PG 含量及 SL 病变的差异,充分表明鱼油除本身对动脉壁有保护作用外,对 PG 含量也有一定影响。鱼油和 PG 对 As 病变的影响是协同还是相互作用有待进一步探讨。

致谢 本文得到北京阜外医院病理科赵培真教授指导。

参考文献

- 1 动脉粥样硬化病理普查组. 7 159 例冠状动脉和 2 044 主动脉粥样硬化病理普查总结. 中华病理学杂志, 1983, 12(2):81~86.
- 2 杨瑞彪,张振声,刘 彤, et al. 用图象分析仪对人主动脉内膜嗜苏丹病变及横纹结构的形态定量定位研究. 中华物理医学杂志, 1993, 15(1):2~4.
- 3 张英珊,丛祥凤,张春玲, et al. 主动脉蛋白聚糖. 生物化学与生物物理学报, 1987, 19:261~268.
- 4 Guido David. Integral membrane heparan sulfate proteoglycans. J FASEB, 1993, 7:1 023~1 030.
- 5 张春玲,张英珊,赵培真, et al. 南宁、北京人胸主动脉中蛋白聚糖. 生物化学与生物物理学报, 1991, 18:448~452.
- 6 倪幼松,吴家祥,肖纫秋, et al. 复方鱼油对糖尿病大鼠主动脉粥样硬化早期病变的影响. 中华病理学杂志, 1994, 23(1):31~33.

(本文 1994-10-06 收到)