

低密度脂蛋白对动脉壁内皮细胞膜 血栓调节蛋白功能的影响

经建中 周凤鑫 黄桂秋 胡燕琴 刘 玮 李慧丽 张 健 张依宁 徐也鲁 葛志英^①

(上海第二医科大学病理生理学教研室,上海血液学研究所基础实验室,^① 上海中医药大学生物化学教研室,上海 200025)

血脂增高是发生动脉粥样硬化(As)的重要因素之一。在有关脂质导致 As 的机制中,血液凝固性的变化,尤其是血管壁局部抗凝功能改变的重要性亦已逐渐被关注。为了探讨 As 发生机制中脂质与抗凝变化之间的相互联系。本实验采用新生小牛主动脉内皮细胞(EC)体外培养,用各种浓度的纯化人血清低密度脂蛋白(LDL)(3~100 mg·L⁻¹)经不同时间孵育,移去 LDL 后,加入凝血酶和纯化的牛蛋白 C,用发色底物 S-2238 检测各种培养条件下 TM 辅助激活产生活化蛋白 C(APC)的量,以此观察这些单层 EC 的膜上血栓调节蛋白(TM)功能的变化。

结果显示,(1)LDL 浓度对 EC 的 TM 活性有影响。正常培养 EC 的一分钟和五分钟 APC 生成量分别为 39.95 ± 7.77 和 65.67 ± 5.86 nmol/10⁴Cells,与 LDL 浓度很低(3 mg·L⁻¹)时的 35.93 ± 9.83 和 62.67 ± 8.0 nmol/10⁴Cells 相比较,虽后者数量有所减少,但无统计意义($P > 0.05$);LDL 6 mg·L⁻¹时分别为 32.45 ± 10.88 和 57.8 ± 8.5 nmol/10⁴Cells,与正常相比明显降低($P < 0.05$);LDL 浓度 ≥ 12 mg·L⁻¹时,分别 $\leq 26.94 \pm 7.1$ 和 52.45 ± 9.47 nmol/10⁴Cells,与正常相比降低甚著($P < 0.001$),并且 LDL 浓度与 TM 活性呈良好的负相关关系($r = -0.85, n = 175, P < 0.001$)。

(2)LDL 孵育时间对 TM 活性有影响。如当 LDL 浓度在 100 mg·L⁻¹时,作用 2、4、6 h 后,1 min APC 生成量分别为 20.71 ± 4.7 、 13.6 ± 5.05 、 12.25 ± 6.22 nmol/10⁴Cells,其中 2 h 组分别与 4、6 h 组之间有显著差异($P < 0.$

01)。LDL 浓度较高时($50 \sim 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),作用时间与 TM 活性受抑也呈负相关($r = -0.58, n = 25, P < 0.005$)。而当 LDL 浓度降至 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下时,这种相关性消失。

(3) LDL 浓度对 APC 生成的反应过程有影响。每个样本的 1、3、5 min APC 生成量与 10 min APC 生成量之比为 APC 生成率, LDL 浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 1、3、5 min APC 生成率分别为 35.41%、56.6%、77.82%, 而正常为 55.4%、73.14%、92.04%, 两者差异显著;其中以 1 min 时最著,仅为正常的 63.7% ($P < 0.001$),可见 LDL 对 APC 生成反应过程的早期影响较为明显。另外 APC 生成率与 LDL 浓度之间呈现良好的负相关($r = -0.64, n = 175, P < 0.001$),当 LDL 为 100、50、 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 1 min APC 生成率分别仅为正常组的 64%、70% 和 75%。这种负相关关系表明 LDL 的浓度对 APC 生成的反应动力学可能也有影响。

以上结果表明:①高浓度 LDL 能影响 EC 膜上 TM 的功能,随着作用时间延长和浓度增高, TM 受抑越显著,故 LDL 很可能抑制 TM 表达;②LDL 对 APC 生成反应过程的早期影响较大,并且与浓度相关,故 LDL 可能存在其他影响 TM 功能的机制。由于 EC 膜上低密度脂蛋白受体与 TM 这两种膜蛋白具有一定的蛋白结构相似性,当在膜表面局部发挥作用时可能有内在的功能联系。其中是否存在膜局部同源“受体集落”的作用因素等有关机制尚须进一步研究。总之,提示高脂可以通过抑制血管壁局部抗凝功能促使 As 发生发展。