

[文章编号] 1007-3949(2002)10-05-0405-03

• 实验研究 •

红细胞免疫与动脉粥样硬化相关性的实验研究

黎莉, 张运, 马晓, 朱清, 张薇

(山东大学齐鲁医院心内科, 山东省济南市 250012)

[主题词] 红细胞; 免疫; 动脉粥样硬化; 高脂血症

[摘要] 本研究旨在探讨红细胞免疫粘附功能与动脉粥样硬化的关系。选取雄性家兔 20 只, 高脂饲养 12 周, 测定高脂饮食前后红细胞 C₃b 受体花环形成率、红细胞免疫复合物花环形成率、循环免疫复合物和血脂水平; 采用超声技术测量高脂饮食前后兔腹主动脉内膜-中层厚度。结果发现, 与实验前比较, 高脂饮食后血脂明显升高 ($P < 0.01$), 内膜-中层厚度增厚 (0.32 ± 0.02 mm 比 0.89 ± 0.19 mm, $P < 0.01$), 红细胞 C₃b 受体花环形成率降低 ($10.36\% \pm 2.14\%$ 比 $6.44\% \pm 1.95\%$, $P < 0.01$), 红细胞免疫复合物花环形成率升高 ($13.25\% \pm 2.97\%$ 比 $20.27\% \pm 3.02\%$, $P < 0.01$), 循环免疫复合物升高 (156.60 ± 40.27 μ g 比 537.55 ± 141.95 μ g)。循环免疫复合物与内膜-中层厚度呈正相关 ($r = 0.63$, $P < 0.01$), 与红细胞 C₃b 受体花环形成率呈负相关 ($r = -0.69$, $P < 0.01$), 与红细胞免疫复合物花环形成率呈正相关 ($r = 0.86$, $P < 0.001$)。结果提示, 红细胞免疫功能降低可能是动脉粥样硬化的一个重要危险因素。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Assessment on the Relationship of the Red Cell Immune and Atherosclerosis

LI Li, ZHANG Yun, MA Xiao, ZHU Qing, and ZHANG Wei

(Department of Cardiology, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan, Shandong 250012, China)

[MeSH] Erythrocytes; Immunity; Atherosclerosis; Hyperlipidemia

[ABSTRACT] **Aim** To evaluate the relationship of the erythrocytes immunity and atherosclerosis. **Methods** Twenty five male rabbits were fed with a high fatty diet for 12 weeks. Serum lipid profile, rosette rate of red blood cell C₃b (RBC-C₃bRR), the rosette rate of red blood cell immune complexes (RBC-ICR), and circulating immune complexes (CIC) were measured before and after high fatty diet. The intima-media thickness (IMT) of abdominal aorta were measured by echocardiography at the same time. **Results** Serum lipid level were elevated, and RBC-ICR, CIC, IMT were increased ($13.25\% \pm 2.97\%$ vs $20.27\% \pm 3.02\%$, $P < 0.01$; 156.60 ± 40.27 μ g vs 537.55 ± 141.95 μ g, $P < 0.01$; 0.32 ± 0.02 mm vs 0.89 ± 0.19 mm, $P < 0.01$), and RBC-C₃bRR were decreased ($10.36\% \pm 2.14\%$ vs $6.44\% \pm 1.95\%$, $P < 0.01$) significantly after 12 weeks high fatty diet compared with base line. Linear correlation analysis demonstrated that CIC has a positive relation with IMT ($r = 0.63$, $P < 0.01$) and RBC-ICR ($r = 0.86$, $P < 0.001$). RBC-C₃bRR has a negative relation with CIC ($r = 0.69$, $P < 0.01$). **Conclusion** The decreasing of erythrocytes immune adhesive ability may be an important risk factor of the atherosclerosis.

动脉粥样硬化是一多因素协同作用所致的病理过程, 病因尚未完全明了, 近年来免疫机制在动脉粥样硬化中的作用受到重视。本研究检测兔高脂饮食前后红细胞免疫粘附功能、血脂水平和腹主动脉内膜-中层厚度(intima-media thickness, IMT), 旨在探讨红细胞免疫功能与动脉粥样硬化的关系。

1 材料与方 法

1.1 实验动物

[收稿日期] 2002-06-06 [修回日期] 2002-09-25

[作者简介] 黎莉, 女, 1954 年出生, 江苏人, 内科学心血管病专业, 教授。张运, 男, 1952 年出生, 山东人, 内科学心血管病专业, 教授, 中国工程院院士。马晓, 女, 1967 年出生, 山东人, 内科学心血管病专业, 主治医师。

实验用 4~5 个月龄雄性家兔 20 只, 体重 2.0~2.5 kg, 由山东省实验动物中心提供。

1.2 实验材料与仪器

基础颗粒饲料由山东省实验动物中心提供, 高脂饲料由普通颗粒饲料掺加 1% 胆固醇、6% 猪油和 1% 食盐制成。聚乙二醇: 分子质量 6 kDa, 由广州医药站化学试剂分公司分装。酵母试剂由上海第二军医大学长海医院免疫室提供, 致敏酵母采用 1:12 小鼠血清致敏。采用日本产日立 7170A 型全自动生物化学分析仪测定血脂。腹主动脉检测使用美国 HP-5500 型多普勒超声诊断仪, 周围血管探头频率 7.5 MHz。

1.3 实验过程

动物单笼饲养, 饮水不限, 每日每只进食 150 g

饲料。喂饲基础饲料适应性饲养 2 周, 稳定血脂和代谢水平。空腹股静脉采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, HDLC)、红细胞 C₃b 受体花环形成率 (red blood cell C₃b rosette rate, RBC-C₃bRR)、红细胞免疫复合物花环形成率 (red blood cell immune complex rosette rate, RBC-ICR) 及循环免疫复合物 (circulating immune complex, CIC) 含量, 并应用超声心动图周围血管探头测量兔腹主动脉 IMT。然后给予高脂饮食喂饲 12 周, 重复测定上述各项指标。

1.4 血样测定

所有血样均于清晨空腹采集股静脉血并在 4 h 内完成检测。TC、TG 和 HDLC 的测定采用酶法。以 RBC-C₃bRR 表示红细胞 C₃b 受体活性, 以 RBC-ICR 表示红细胞粘附免疫复合物含量, RBC-C₃bRR 和 RBC-ICR 的测定采用郭峰等^[1]介绍的红细胞 C₃b 受体花环法和红细胞免疫复合物花环法。CIC 的测定

表 1. 血脂水平变化。

Table 1. Serum lipid level ($\bar{x} \pm s$, $n=20$).

Condition	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDLC (mmol/L)	LDLC (mmol/L)
Baseline	1.46 ± 0.13	1.08 ± 0.12	0.37 ± 0.05	0.63 ± 0.07
Post fatty diet	22.66 ± 2.56 ^a	2.18 ± 0.20 ^a	0.33 ± 0.07	21.35 ± 2.56 ^a

a: $P < 0.001$, compared with baseline group.

2.2 红细胞免疫粘附功能及循环免疫复合物含量测定结果

与基础状态比较, 高脂饮食后 RBC-C₃bRR 下降, RBC-ICR 和 CIC 明显升高, 见表 2 (Table 2)。相关分析表明, 高脂饮食后 CIC 与 RBC-C₃bRR 呈负相关 ($r = -0.69$, $P < 0.01$), 与 RBC-ICR 呈正相关 ($r = 0.86$, $P < 0.001$), 与 LDLC 呈正相关 ($r = 0.75$, $P < 0.001$)。

表 2. 红细胞免疫粘附功能及循环免疫复合物含量变化。

Table 2. Red cell immune adhesive function and circulating immune complex ($\bar{x} \pm s$, $n=20$).

Condition	RBC-C ₃ bRR (%)	RBC-ICR (%)	CIC (μg)
Baseline	10.36 ± 2.14	13.25 ± 2.97	156.60 ± 40.27
Post fatty diet	6.44 ± 1.95 ^a	20.27 ± 3.02 ^a	537.55 ± 141.95 ^a

a: $P < 0.001$, compared with baseline group.

2.3 腹主动脉内膜一中层厚度测量结果

基础状态下兔腹主动脉内膜、中层和外膜呈典

采用周金黄等^[2]介绍的聚乙二醇沉淀法。

1.5 腹主动脉内膜一中层厚度的测量

实验兔仰卧位, 四肢固定于检查台上, 腹部备皮, 将兔腹主动脉自剑突下至左右髂动脉分叉处平均分为近心段、中段及远心段, 于高脂饮食前后应用血管探头检测腹主动脉各段, 分别测量每段 IMT 的最大值。

1.6 统计学处理

实验数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两均数间比较用 t 检验, 变量间相互关系采用直线相关分析。

2 结果

2.1 血脂含量测定结果

高脂饮食 12 周后与基础状态比较, TC、TG、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDLC) 均明显升高, HDLC 无显著性差异, 见表 1 (Table 1)。

型的“双线征”^[3], 高脂饮食后腹主动脉近、中、远各段 IMT 均较实验前明显增厚, 且以近段变化尤为明显, 见表 3 (Table 3)。高脂饮食后腹主动脉近段 IMT 与 TC 呈正相关 ($r = 0.78$, $P < 0.001$), 与 HDLC 呈负相关 ($r = -0.60$, $P < 0.01$), 与 LDLC 呈正相关 ($r = 0.79$, $P < 0.001$)。CIC 含量与 IMT 呈正相关 ($r = 0.63$, $P < 0.01$)。

表 3. 各段内膜一中层厚度超声测定值变化。

Table 3. Intimal-medial thickness of abdominal aorta ($\bar{x} \pm s$, $n=20$).

Condition	Proximal IMT (mm)	Middle IMT (mm)	Distal IMT (mm)
Baseline	0.32 ± 0.02	0.31 ± 0.01	0.31 ± 0.02
Post fatty diet	0.89 ± 0.19 ^a	0.72 ± 0.21 ^{ab}	0.50 ± 0.09 ^{ac}

a: $P < 0.001$, compared with baseline group; b: $P < 0.05$, c: $P < 0.01$, compared with proximal abdominal aorta.

3 讨论

IMT 增厚是动脉粥样硬化的典型病理特征, 应

用超声技术测量动脉 IMT 的准确性已得到证实^[3]。本研究结果显示,高脂饮食后兔腹主动脉 IMT 明显增厚,且血脂水平与 IMT 增厚具有高度相关性,在活体动物模型上证实了高脂血症与动脉粥样硬化的关系。

动脉粥样硬化是一多因素协同作用所致的病理过程,近年来动脉粥样硬化发生的免疫机制受到重视,其中 CIC 沉积于血管壁造成免疫病理损伤被认为是动脉粥样硬化的重要危险因素之一。体内的 CIC 主要由红细胞清除,红细胞免疫粘附功能下降,可致 CIC 在体内大量堆积并沉积在血管壁上^[4],与血管内皮细胞受体结合后,在蛋白水解酶和巨噬细胞的共同作用下,对内皮产生免疫性损伤^[5]。此外红细胞免疫粘附功能低下还可致机体对细菌、病毒等抗原清除作用下降,众多研究已表明动脉粥样硬化发生发展与肺炎衣原体、巨细胞病毒等感染密切相关,同时细菌和病毒感染也是造成血管内皮细胞损伤的重要危险因素^[6]。本研究结果显示,家兔喂饲高脂饮食后,红细胞免疫功能出现异常,表现为 RBC-C₃bRR 明显下降,RBC-ICR 及 CIC 含量则显著升高,说明高脂饮食后,兔红细胞膜上 C₃b 受体活性下降或数量降低,C₃b 受体携带的免疫复合物含量增加。随着血脂的升高,腹主动脉各段 IMT 均较实验前明显增厚,相关分析发现 CIC 与腹主动脉 IMT 呈正相关。上述结果提示,红细胞免疫功能异常和 CIC 在体内的大量堆积,是动脉粥样硬化的重要危险因素之一。

高脂饮食后 RBC-C₃bRR 下降及 RBC-ICR、CIC 升高的原因可能与下列因素有关:高脂饮食后脂蛋白增加,刺激机体产生特异性抗体,形成大量 CIC,后者粘附在红细胞膜表面,占据 C₃b 受体位置

使其受体数目减少,活性降低^[7]。本研究结果显示 CIC 与 RBC-C₃bRR 呈负相关,与 RBC-ICR 呈正相关,支持这一观点。④血浆脂质成分改变可影响红细胞膜脂质成分,使膜上饱和脂肪酸氧化生成过氧化物,损伤红细胞的免疫粘附功能,使红细胞释放及降解免疫复合物功能减低^[8]。④增加的脂蛋白作为一种自身抗原,可刺激机体免疫系统产生抗体,生成大量免疫复合物。本研究结果也证实 LDLC 与 CIC 呈正相关,同时红细胞免疫粘附功能的低下致 CIC 被转运和清除减少,导致血中 CIC 浓度增高。

综上所述,红细胞免疫机制很可能参与了动脉粥样硬化的发生,并促进了动脉粥样硬化的发展。红细胞免疫介导动脉粥样硬化的病理过程复杂,其内在关系、免疫反应的顺序和结果等尚有待揭示,深入这方面的研究,将为探讨动脉粥样硬化的发生机制和防治开辟新的途径。

[参考文献]

- [1] 郭峰. 红细胞免疫及其调节功能测定方法. 免疫学杂志, 1990, 6: 60-65
- [2] 周金黄. 免疫药理学进展·基础与临床. 北京: 中国科技出版社, 1993, 549
- [3] Wong M, Edelstein J, Wollman J, et al. Ultrasonic-pathological comparison of the human arterial wall: verification of intimal-medial thickness. *Arterioscler Thromb*, 1993, 13: 482-486
- [4] Siegle I, Lui TL, Gleicher N. The red cell immune system. *Lancet*, 1981, 12: 552-556
- [5] Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: perspective for the 1990s. *Nature*, 1993, 362: 801-809
- [6] Albert NM. Inflammation and infection in acute coronary syndrome. *J Cardiovasc Nurs*, 2000, 15: 13-16
- [7] Jepsen HH, Teisner B, Rasmussen JM, et al. Reduced erythrocyte CR1 (CD35) receptor function and complement opsonization in factor D-deficient patients is restored by plasma infusion. *Scand J Immunol*, 1989, 29: 247-255
- [8] Kutryk MJ, Maddaford TG, Ramjiawan B, et al. Oxidation of membrane cholesterol alters and passive transsarcolemmal calcium movement. *Circ Res*, 1991, 68: 18-26

(此文编辑 曾学清)