

负荷内源性高甘油三酯血症患者血清极低密度和低密度脂蛋白对 HepG2 细胞载脂蛋白 C_Ⅱ受体功能的影响

刘 皓, 刘秉文

(四川大学华西基础医学与法医学院载脂蛋白研究室, 四川省成都市 610041)

[关键词] 生物化学; 载脂蛋白 C_Ⅱ受体; HepG2 细胞; 内源性高甘油三酯血症; 脂蛋白, 低密度
目的 探讨载脂蛋白 C_Ⅱ受体在内源性高甘油三酯血症发病机制中的作用。

材料与方法 人肝癌细胞系 HepG2(本室保种); RPMF-1640 培养基 (GIBCO); L-谷氨酰胺 (EMK 进口分装); 新生小牛血清 (成都华西生化制品厂); 青霉素 G 钠、硫酸链霉素 (华北制药厂); 胰蛋白酶 (1: 250, Difco 进口分装); Na¹²⁵I (Amersham); 纯化人载脂蛋白 C_Ⅱ由本室傅强博士制备; 低温乙醇法制备人血浆白蛋白组份 F_Ⅲ + F_Ⅳ由成都蜀阳制药厂提供; 甘油三酯试剂盒和胆固醇试剂盒均购自北京中生公司; 人血清白蛋白 (Takara); 血浆密度标准缓冲液 (PDB, 含 0. 9% NaCl, 0. 01% NaN₃, 10 mmol/L Tris-HCl 及 1 mmol/L EDTA, pH 7. 4); 其它试剂均为国产分析纯。人肝癌细胞系 HepG2 细胞按常规方法培养。取高甘油三酯血症患者 [甘油三酯 $\geq 5. 93$ mmol/L (350 mg/dL), 总胆固醇 $\leq 6. 74$ mmol/L (260 mg/dL)] 及血脂正常者 [甘油三酯 $\leq 1. 7$ mmol/L (150 mg/dL), 总胆固醇 $\leq 6. 74$ mmol/L (260 mg/dL)] 空腹血清各 20 mL (均为多人的混合血清), 按略加修改的张林华和刘秉文等的一次性密度梯度超速离心法操作。甘油三酯和胆固醇含量用北京中生公司酶法试剂盒测定; 受体分析以 ¹²⁵I 标记的人载脂蛋白 C_Ⅱ为配体, 利用放射性配体结合分析法, 分别观察负荷高甘油三酯血症患者血清和低密度脂蛋白后 HepG2 细胞载脂蛋白 C_Ⅱ受体功能的变化; 5. 数据统计: 各组间载脂蛋白 C_Ⅱ受体 Kd 值和 Bmax 值之间的比较采用样本均数的 t 检验。结果 负荷高甘油三酯血症—极低密度脂蛋白后, HepG2 细胞载脂蛋白 C_Ⅱ受体特异结合 ¹²⁵I 载脂蛋白 C_Ⅱ的能力 (即 kd 值) 明显增强 ($4. 16 \pm 0. 23 \times 10^{-9}$ mol/L 比 $8. 57 \pm 0. 45 \times 10^{-9}$ mol/L, $P < 0. 001$), 但受体的结合容量 (即 Bmax 值) 无明显改变; 负荷高甘油三酯血症—低密度脂蛋白对 HepG2 细胞载脂蛋白 C_Ⅱ受体特异结合 ¹²⁵I 载脂蛋白 C_Ⅱ的能力及其结合容量均无影响。结论 高甘油三酯血症—极低密度脂蛋白分子中 TG 和载脂蛋白 C_Ⅱ水平的升高, 可能是导致载脂蛋白 C_Ⅱ受体亲和力显著增加的主要因素。

(此文编辑 胡必利)