

[文章编号] 1007-3949(2005)13-01-0073-03

•临床研究•

# 阿托伐他汀及血管紧张素Ⅱ对人体脂肪组织白细胞介素 6 及 iv 型纤溶酶原激活剂抑制物分泌的影响

赵水平<sup>1</sup>, 王小清<sup>2</sup>, 李全忠<sup>1</sup>, 唐汉权<sup>2</sup>

(中南大学湘雅二医院 1. 心内科; 2. 老年病科, 湖南省长沙市 410011)

[关键词] 内科学; 阿托伐他汀; 脂肪组织培养; 白细胞介素 6; iv 型纤溶酶原激活剂抑制物; 血管紧张素Ⅱ; 酶联免疫吸附测定法

[摘要] **目的** 观察不同部位脂肪组织的分泌功能, 以及血管紧张素Ⅱ和他汀类药物对脂肪组织分泌白细胞介素 6 和 iv 型纤溶酶原激活剂抑制物的影响。**方法** 检测体外培养的人内脏及腹部皮下脂肪组织在加用阿托伐他汀及血管紧张素Ⅱ作用前后白细胞介素 6 和 iv 型纤溶酶原激活剂抑制物的分泌水平。**结果** 内脏脂肪组织分泌白细胞介素 6 ( $1\,653 \pm 339$  pg/g 组织) 高于皮下脂肪组织 ( $1\,163 \pm 733$  pg/g 组织,  $P < 0.01$ ), 内脏脂肪组织分泌 iv 型纤溶酶原激活剂抑制物 ( $100 \pm 30$  ng/g 组织) 也高于皮下脂肪组织 ( $68 \pm 14$  ng/g 组织,  $P < 0.01$ )。内脏及皮下脂肪组织分泌的白细胞介素 6 与体质指数呈正相关 ( $r$  分别为 0.85 和 0.69,  $P < 0.01$ )。内脏及皮下脂肪组织分泌的 iv 型纤溶酶原激活剂抑制物与体质指数呈正相关 ( $r$  分别为 0.63 和 0.71,  $P < 0.01$ )。血管紧张素Ⅱ使内脏及皮下脂肪分泌白细胞介素 6 分别增加 19% 和 18%, 使内脏及皮下脂肪分泌 iv 型纤溶酶原激活剂抑制物分别增加 15% 和 14%; 阿托伐他汀使内脏及皮下脂肪分泌白细胞介素 6 分别减少 25% 和 21%, 使内脏及皮下脂肪分泌 iv 型纤溶酶原激活剂抑制物分别减少 17% 和 16%。**结论** 人体不同部位的脂肪组织分泌炎性细胞因子和纤溶物质存在差异, 且与肥胖有关。血管紧张素Ⅱ和阿托伐他汀可刺激和抑制脂肪组织分泌白细胞介素 6 和 iv 型纤溶酶原激活剂抑制物。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

## The Effect of Atorvastatin and Angiotensin Ⅱ on the Release of Interleukin-6 and Type iv-Plasminogen Activator-Inhibitor from Human Adipose Tissue

ZHAO Shu-Ping, WANG Xiao-Qing, LI Quan-Zhong, and TANG Han-Quan

(Department of Cardiology, the Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

[KEY WORDS] Atorvastatin; Adipose Tissue Culture; Interleukin 6; Type iv-Plasminogen Activator-Inhibitor; Angiotensin Ⅱ; Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

[ABSTRACT] **Aim** To detect the secretion of different adipose tissue and observe the effect of angiotensin Ⅱ and statin on release of interleukin 6 (IL-6) and type iv-plasminogen activator-inhibitor (PAI-1) from human adipose tissue.

**Methods** The human omental and subcutaneous adipose tissues were cultured. The concentration of IL-6 and PAI-1 in media were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

**Results** IL-6 released from omental adipose tissue ( $1\,653 \pm 339$  pg/g tissue) was higher than that from subcutaneous adipose tissue ( $1\,163 \pm 733$  pg/g tissue,  $P < 0.01$ ), PAI-1 released from omental adipose tissue ( $100 \pm 30$  ng/g tissue) is higher than that from subcutaneous adipose tissue ( $68 \pm 14$  ng/g tissue,  $P < 0.01$ ) too. IL-6 released from omental and subcutaneous adipose tissue was positively associated with BMI. ( $r = 0.85, 0.69$ , respectively, both  $P < 0.01$ ). PAI-1 released from omental and subcutaneous adipose tissue is positively associated with BMI ( $r = 0.63, 0.67$  respectively, both  $P < 0.01$ ). Angiotensin increased the release of IL-6 from omental and subcutaneous tissue by 19% and 18%, and that of PAI-1 by 15% and 14%, respectively. Atorvastatin suppressed IL-6 release from omental and subcutaneous adipose tissue by 25% and 21%, and suppressed PAI-1 release from omental and subcutaneous adipose tissue by 17% and 16% respectively.

**Conclusions** Adipose tissue can secrete some kinds of cytokine and substances which are associated with obesity. The effect can be stimulated by angiotensin and suppressed by atorvastatin.

脂肪组织能分泌白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6) 和 iv 型纤溶酶原激活剂抑制物 (type iv-plas-

minogen activator-inhibitor, PAI-1) 等生物活性物质, 可能介导与肥胖有关的心血管疾病发生。多数研究发现肥胖患者腹腔内脂肪组织较腹部皮下脂肪能产生更多的 IL-6 及 PAI-1。但也有人认为腹腔内脂肪组织产生 PAI-1 并不增加<sup>[1,2]</sup>。IL-6 及 PAI-1 被认为是急性反应蛋白, 可作为炎症标志物。他汀类药物是否直接作用于脂肪组织并降低这些标志物

[收稿日期] 2004-02-08

[修回日期] 2004-12-31

[作者简介] 赵水平, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为血脂代谢异常与动脉粥样硬化研究, 电话为 0731-4895989, E-mail 为 ZhaoSP@medmail.com.cn。王小清, 博士, 副教授, 主要研究方向为老年心血管疾病。

水平,目前未见相关报道。脂肪组织中存在肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS),因此血管紧张素 $\text{Ang} \text{ II}$ 能否引起脂肪组织 IL-6 及 PAF-1 表达的改变值得探讨。为此我们观察了体外培养的人体腹部皮下及腹腔内脂肪组织 IL-6 及 PAF-1 的分泌情况,并选用血管紧张素 $\text{Ang} \text{ II}$ 及阿托伐他汀(atorvastatin)直接作用于脂肪组织,以了解其对脂肪组织分泌 IL-6 及 PAF-1 的影响。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象和取材

选择本院 2002 年 7 月~9 月在我院行择期胆囊结石及肾结石手术的住院患者 30 例。其中男性 18 例,女性 12 例,胆囊结石者 8 例,肾结石者 22 例,平均年龄  $47 \pm 10$  岁(32~62 岁),体质指数(body mass index, BMI)为  $22.05 \pm 2.62 \text{ kg/m}^2$ (16.77~27.24  $\text{kg/m}^2$ ),排除高血压病、急性感染、自身免疫性疾病、慢性肾功能不全及恶性肿瘤疾病患者。在患者进行手术过程中切取腹部皮下及大网膜脂肪组织,置于无菌生理盐水瓶中立即送到实验室进行试验。标本的采取均在患者知情的情况下进行。

### 1.2 脂肪组织的培养

脂肪组织块被清除皮肤和血管,剪成数块,大小约 100 mg,称重,冷 PBS 液清洗 3 次后,分别置于 EP 管内剪碎。按 100 mg 脂肪组织加 1 mL 培养基比例置于培养板内,培养基为 DMEM/F12,其中含有 10% 热灭活小牛血清、青霉素(200 ku/L)、链霉素(50 mg/L)和庆大霉素(200 mg/L)。对 19 例脂肪组织培养进行了干预,其中男性 12 例,女性 7 例,胆囊结石 8 例,肾结石 11 例,平均年龄为  $47 \pm 11$  岁(32~61 岁),体质指数为  $23.10 \pm 2.64 \text{ kg/m}^2$ (19.31~27.24  $\text{kg/m}^2$ );其培养基中分别加入阿托伐他汀及血管紧张素 $\text{Ang} \text{ II}$ 浓度均为  $10^{-6} \text{ mol/L}$  干预,置于 5%  $\text{CO}_2$  培养箱中,培养 6 h 后吸取培养基至 EP 管内,  $-70^\circ\text{C}$  冰箱保存待测。

### 1.3 酶联免疫吸附测定法

采用夹心酶联免疫吸附测定法测定白细胞介素 6,浓度单位为 pg/L,批内和批间变化系数均 < 10%。采用酶联免疫吸附法测定 iv 型纤溶酶原激活剂抑制物,结果以 pg/L 表示,批内及批间变异系数 < 10%。

### 1.4 统计学处理

应用 SPSS 8.0 统计软件进行统计分析,数值以

$\bar{x} \pm s$  表示,相关性采用相关分析和线性回归分析,组间分析采用方差分析及成组  $t$  检验,采用双侧  $P < 0.05$  为差异有显著性。

## 2 结果

### 2.1 基础状态白细胞介素 6 及 iv 型纤溶酶原激活剂抑制物分泌情况

腹腔内脂肪组织产生 IL-6( $1\ 653 \pm 339 \text{ pg/L}$ )及 PAF-1( $100 \pm 30 \text{ pg/L}$ )明显高于腹部皮下脂肪组织(分别为  $1\ 163 \pm 733 \text{ pg/L}$ 、 $68 \pm 14 \text{ pg/L}$ ) ( $P$  均 < 0.01)。皮下脂肪组织产生 IL-6 和 PAF-1 与体质指数呈正相关( $r$  分别为 0.69 和 0.71,  $P$  均 < 0.01)。内脏脂肪组织产生 IL-6 和 PAF-1 与体质指数呈正相关( $r$  分别为 0.85 和 0.63,  $P$  均 < 0.01)。

### 2.2 血管紧张素 $\text{Ang} \text{ II}$ 及阿托伐他汀对白细胞介素 6 与 iv 型纤溶酶原激活剂抑制物分泌的影响

血管紧张素 $\text{Ang} \text{ II}$ 可使内脏及皮下脂肪组织分泌 IL-6 分别增加 19% 和 18%,使内脏及皮下脂肪组织分泌 PAF-1 分别增加 15% 和 14%。阿托伐他汀可使内脏及皮下脂肪组织分泌 IL-6 分别降低 25% 和 21%,使内脏及皮下脂肪组织分泌 PAF-1 分别下降 17% 和 16% ( $P < 0.05$ ) (表 1, Table 1)。

表 1. 血管紧张素 $\text{Ang} \text{ II}$ 及阿托伐他汀对脂肪组织分泌白细胞介素 6 与 iv 型纤溶酶原激活剂抑制物的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 19$ )

Table 1. The effect of atorvastatin and angiotensin $\text{Ang} \text{ II}$  on the release of interleukin-6 and type iv-plasminogen-activator-inhibitor from human adipose tissue

分 组	白细胞介素 6 (pg/g)		PAF-1 (pg/g)	
	内脏	皮下	内脏	皮下
对照组	$2\ 043 \pm 586$	$1\ 390 \pm 293$	$102 \pm 37$	$71 \pm 15$
Ang $\text{Ang} \text{ II}$ 组	$2\ 435 \pm 700^a$	$1\ 647 \pm 338$	$117 \pm 50^a$	$80 \pm 18^a$
阿托伐他汀组	$1\ 526 \pm 398^a$	$1\ 093 \pm 294$	$84 \pm 29^a$	$59 \pm 16^a$

a:  $P < 0.05$ , 与对照组比较。

### 2.3 白细胞介素 6 与 iv 型纤溶酶原激活剂抑制物的关系

腹腔内脂肪组织分泌 IL-6 与 PAF-1 呈正相关( $r = 0.89$ ,  $P < 0.01$ )。皮下脂肪组织分泌 IL-6 与 PAF-1 不相关( $r = 0.39$ ,  $P > 0.05$ )。

## 3 讨论

白细胞介素 6 是一种具有多种生物学活性的细

胞因子,它由单核细胞、内皮细胞和心肌细胞等多种细胞产生<sup>[3-5]</sup>,近年来认为脂肪组织也能分泌和表达 IL-6。本研究表明,IL-6 可由人体脂肪组织分泌,并证实腹腔内脂肪组织产生 IL-6 高于皮下脂肪组织,与 Fried 等<sup>[1]</sup>研究结果一致。本研究还发现脂肪组织 IL-6 的产生量与 BMI 呈正相关,支持 IL-6 分泌与肥胖有关。有临床研究亦表明血浆 IL-6 浓度与 BMI 呈正相关。

iv 型纤溶酶原激活剂抑制物是内源性纤溶系统的主要调节剂,近来研究表明 PAI-1 合成和释放来源于脂肪组织,PAI-1 的增加与肥胖相关,因此对肥胖与动脉血栓性疾病来说,PAI-1 升高可能有重要的病原学意义。本研究发现内脏及皮下脂肪组织可分泌 PAI-1,且腹腔内脂肪组织分泌 PAI-1 的量亦高于皮下脂肪组织。提示人体脂肪组织特别是内脏脂肪组织是腹型肥胖患者血浆 PAI-1 增高的重要来源。近来研究发现减肥后 PAI-1 水平下降与体重减轻程度较甘油三酯或胰岛素变化更相关<sup>[6,7]</sup>。脂肪组织产生 PAI-1 的准确来源还不太清楚。本研究还表明,除腹腔内脂肪组织分泌高于皮下脂肪外,PAI-1 的分泌与 BMI 呈正相关,提示血浆 PAI-1 水平增高可能与人体脂肪组织总量相关。

本文观察到内脏脂肪组织中 PAI-1 的分泌与 IL-6 呈正相关,但皮下脂肪 PAI-1 分泌与 IL-6 不相关,说明 IL-6 可能对内脏脂肪 PAI-1 的产生有刺激作用。体外研究表明 TNF $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  可引起 PAI-1 分泌增加,且有剂量和时间依赖性,但未见 IL-6 对 PAI-1 产生明显作用。Mohamed Ali 等<sup>[4]</sup>认为可能脂肪组织没有 IL-6 受体的存在,因此 IL-6 与 PAI-1 的关系有待于进一步研究。

本研究发现血管紧张素 Ⅱ作用于不同部位脂肪组织后均引起 IL-6 及 PAI-1 的升高,其作用机理尚不完全明了。Phillips 等<sup>[8]</sup>认为 Ang Ⅱ可刺激核因子 kappa B, Braiser 等<sup>[9]</sup>认为 Ang Ⅱ除刺激 NF-KB 外尚下调 PPAR $\alpha$  和 PPAR $\gamma$ ,降低 PPAR 抗炎的潜能,影响 IL-6 基因的表达。而脂肪组织中有核因子 KB 及 PPARs 的表达,因此加入 Ang Ⅱ后可能通过刺激此类成份使脂肪组织 IL-6 分泌增加。Skurk 等<sup>[10]</sup>亦发现 Ang Ⅱ及其代谢产物 Ang Ⅳ和 Ang Ⅴ能通过脂肪细胞 AT1 受体引起脂肪组织 PAI-1 的分泌增加,单用 AT1 受体阻滞剂缬沙坦可以消除 Ang Ⅱ及其代谢产物的作用。在 HEART 研究中加入雷米普利引起 PAI-1 水平明显下降,进一步支持

我们的观察结果。

本研究首次发现阿托伐他汀可使脂肪组织分泌 IL-6 及 PAI-1 水平下降。他汀类药物抗炎的可能机理是激活 PPAR $\alpha$ ,后者可影响核因子 KB 和 AP-1 信号途径抑制炎症反应基因的活性,引起炎症因子水平下降。有研究表明<sup>[11]</sup>普伐他汀使内皮细胞 PPAR $\gamma$  的活性增加并抑制核因子 KB 表达。而阿托伐他汀抑制 PAI-1 的产生,可能是通过抑制某些蛋白的信号途径。Swiatkowska 等<sup>[12]</sup>通过体外试验发现西立伐他汀作用于内皮细胞可以下调信号牛儿醇致 PAI-1 分泌减少,他汀类药物通过脂肪组织抑制 IL-6 和 PAI-1 分泌是否通过这些途径发挥作用,有待进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissue of obese subjects release interleukin 6: Depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998, **88**: 2343-349
- [2] Alessi MC, Pieretti F, Morange P, Henry M, Nalbone G, Juhanvague I. Production of plasminogen activator inhibitor-1 by human adipose tissue. Possible link between visceral fat accumulation and vascular disease. *Diabetes*, 1997, **46**: 860-867
- [3] 张红霞,刘剑刚,马鲁波,史大年. 高血脂血瘀模型白细胞粘附活化和白细胞介素 2、6 和 8 的变化. *中国动脉硬化杂志*, 2003, **11** (2): 99-102
- [4] Mohamed Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Katz R, Miles JM, Yudkin JS, et al. Subcutaneous adipose tissue release Interleukin 6, but not tumor necrosis factor- $\alpha$ , in vivo. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, **82**: 4196-200
- [5] Vaughan DE, Declercq PJ, Van Houtte E. Reactivated recombinant plasminogen activator inhibitor (rPAI-1) effectively prevents thrombolysis in vivo. *Thromb Haemostas*, 1992, **68**: 60-63
- [6] Janand-Delenne B, Chagnand C, Raccach D. Visceral fat as a main determinant of plasminogen activator inhibitor-1 level in women. *Int J Obes*, 1998, **22**: 312-317
- [7] Morange P, Alessi MC, Ventura N, Lacroix O, Grino M. PAI-1 antigen production by human adipose tissue is correlated with that of TNF $\alpha$ . *Eighth International congress on obesity*, 1998, **22** [Suppl 3]: P31
- [8] Phillips MI, Kagiymas. Angiotensin Ⅱ as a proinflammatory mediator. *Curr Opin Investig Drug*, 2002, **3** (4): 649-677
- [9] Brasier AR, Recinos A 3rd, Eledrisi MS. Vascular inflammation and the renin-angiotensin system. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, **22** (8): 1257-266
- [10] Skurk T, Lee YM, Allner H. Angiotensin Ⅱ and its metabolites stimulate PAI-1 protein release from human adipocytes in primary culture. *Hypertension*, 2001, **37**: 1336-340
- [11] Zelyte I, Dominaitiene R, Crisby M. Modulation of inflammatory mediators and PPAR gamma and NF kappa B expression by pravastatin in response to lipoproteins in human monocytes in vitro. *Pharmacol Res*, 2002, Feb; **45** (2): 147-154
- [12] Swiatkowska M, Pawlowska Z, Szmajda J, Drzewoski J, Watala C, Cierniewski CS. Cerivastatin, a HMG-CoA reductase inhibitor, reduces plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) expression in endothelial cells by downregulation of cellular signaling and the inhibition of PAI-1 promoter activity. *Jpn J pharmacol*, 2002, **90** (4): 337-344

(此文编辑 朱雯霞)