

• 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2000)-04-0308-04

## 甘露聚糖、壳聚糖、 $\alpha$ -酸性糖蛋白和姜黄素对脂蛋白(a)和去唾液酸脂蛋白(a)代谢影响的对比分析

沃兴德, Kostner GM<sup>1</sup>, 洪行球, 赵革平, 唐利华, 李万里

(浙江中医学院分子医学研究所, 浙江省杭州市 310009; 1.

Medical Biochemistry of Graz University, Graz A-8010, Austria)

[主题词] 甘露聚糖; 壳聚糖;  $\alpha$ -酸性糖蛋白; 姜黄素; 脂蛋白(a)

[摘要] 分析多糖和姜黄素对脂蛋白(a)和去唾液酸脂蛋白(a)代谢的影响, 从刺猬腋下静脉注入甘露聚糖、壳聚糖、 $\alpha$ -酸性糖蛋白和姜黄素, 2 min 后注射<sup>125</sup>I-脂蛋白(a)或<sup>125</sup>I-去唾液酸脂蛋白(a), 1 h 后处死动物, 测定血、肝、肾、脾、胆汁和肾上腺的同位素含量。结果发现, 脂蛋白(a)去唾液酸后能大量进入肝脏, 加速在体内的分解代谢, 使血中浓度迅速降低。 $\alpha$ -酸性糖蛋白抑制组织对脂蛋白(a)和去唾液酸脂蛋白(a)的摄取, 使血中脂蛋白(a)和去唾液酸脂蛋白(a)含量显著增高。壳聚糖和姜黄素增加肝脏和肾上腺对脂蛋白(a)的摄取, 使血中脂蛋白(a)含量略降低, 但对去唾液酸脂蛋白(a)代谢无明显影响。甘露聚糖增加脾脏对脂蛋白(a)的摄取, 减少胆囊中脂蛋白(a)含量, 但增加肾脏和胆囊对去唾液酸脂蛋白(a)的摄取, 降低肾上腺对去唾液酸脂蛋白(a)的摄取。结果提示, 脂蛋白(a)去唾液酸后能使脂蛋白(a)分解代谢加快, 脂蛋白(a)分子中的唾液酸在结构稳定中起重要的作用。 $\alpha$ -酸性糖蛋白抑制脂蛋白(a)和去唾液酸脂蛋白(a)代谢, 而壳聚糖和姜黄素则促进脂蛋白(a)代谢。

[中图分类号] Q493.2

[文献标识码] A

### Effects of Mannan, Chitin, Orosomucoid and Cucurmin on the Metabolism of Lipoprotein(a) and Desialylated Lipoprotein(a)

WO Xing-De, Kostner GM, HONG Xing-Qiu, ZHAO Ge-Ping, and TANG Li-Hua

(Molecular Medical Institute, Zhejiang Traditional Chinese Medical College, Hangzhou 310009, China)

MeSH Mannans; Chitin; Orosomucoid; Curcumin; Lipoprotein(a)

**ABSTRACT** **Aim** To study the effects of mannan, chitin, orosomucoid and cucurmin on the metabolism of lipoprotein(a) and desialylated lipoprotein(a). **Methods** Mannan, chitin, orosomucoid and cucurmin was injected into the body of hedgehogs via the ampit vein 2 min before the <sup>125</sup>I-Lp(a) or <sup>125</sup>I-dsLp(a). The animals was put to death in an hour. The radioactivity <sup>125</sup>I-Lp(a) and <sup>125</sup>I-dsLp(a) in the blood, liver, kidney, spleen, gall and adrenal were measured. **Results** The absorption of dsLp(a) in the liver is larger than that of Lp(a). It makes the concentration of dsLp(a) decrease in blood. Orosomucoid is a strong inhibitor of catabolism of Lp(a) and dsLp(a). It can inhibit the absorption of Lp(a) and dsLp(a) by the mentioned tissue and makes the concentration of Lp(a) and dsLp(a) in the blood increase. The effects of chitin and cucurmin are similar. They can increase the absorption of Lp(a) by liver and adrenal and make the concentration of Lp(a) decrease in blood. The effects of chitin and cucurmin can affect the metabolism of Lp(a), but not dsLp(a). The effects of mannan on the metabolism of Lp(a) and dsLp(a) are little. It can increase the absorption of Lp(a) by spleen and reduce the concentration of Lp(a) in the gall. Moreover, it can increase the absorption of dsLp(a) by kidney and gall, reduce the absorption of dsLp(a) by adrenal. **Conclusions** It is the key step of catabolism of Lp(a) that Lp(a) is desialylated. Sialic acid in Lp(a) molecular play an important role in its stability of structure. The experiments show that orosomucoid can inhibit the metabolism of Lp(a) and dsLp(a), chitin and cucurmin can promote the metabolism of Lp(a).

[基金项目] 浙江省教委科研基金资助(项目编号 94172)

[作者简介] 沃兴德, 男, 1952 年生于上海, 研究员, 硕士研究生导师。现任浙江中医学院分子医学研究所所长和生命科学系主任。主要从事脂与脂蛋白代谢研究、中医药降血脂抗动脉粥样硬化研究和中西医结合防治心脑血管病的研究。曾获浙江省政府科技进步二等奖 1 项, 三等奖 2 项, 在国内外杂志发表学术论文 90 余篇。

脂蛋白(a) [lipoprotein(a), Lp(a)] 与低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL) 被认为是冠心病和脑梗死独立的危险因子<sup>[1]</sup>。脂蛋白(a) 与 LDL 理化性质和结构组成相似, 但有两个差异, 一是脂蛋白(a) 分子中糖类含量比 LDL 高数倍, 特别是唾液酸含量

比 LDL 高 6 倍; 二是脂蛋白 (a) 除含有载脂蛋白 B (apolipoprotein B, apoB) 外, 还含有载脂蛋白 (a) [apolipoprotein (a), apo(a)]。脂蛋白 (a) 在致动脉粥样硬化过程中参与了脂质沉积和血栓形成两个过程<sup>[2, 3]</sup>。

虽然目前对脂蛋白 (a) 的结构分析比较清楚, 但对它的代谢途径了解甚少, 因此阐明脂蛋白 (a) 的分解代谢途径对降血脂和抗动脉粥样硬化研究十分重要。我们选择三个多糖和姜黄素对<sup>125</sup>I 标记的脂蛋白 (a) 和去唾液酸脂蛋白 (a) [desialylated lipoprotein (a), dsLp(a)] 在刺猬体内不同组织中分布的影响进行研究, 从而探讨脂蛋白 (a) 分解代谢可能涉及的途径。

## 1 材料与方法

### 1.1 脂蛋白分离纯化

富含脂蛋白 (a) 的抗凝血经离心后得到血浆, 通过序列超速离心获得  $d = 1.060 \sim 1.12$  g/L 部分, 经 Sepharose 6B 凝胶过滤后获得纯化的脂蛋白 (a), 经免疫双扩散和免疫印迹试验证实后, 于  $-37^{\circ}\text{C}$  保存备用<sup>[8]</sup>。

### 1.2 <sup>125</sup>I 标记脂蛋白

纯化的脂蛋白 (a) 与神经氨酸酶孵育后, 经 Sephadex G25 柱除去游离的唾液酸得到 dsLp(a)。根据 Pittman 等<sup>[9]</sup>方法用<sup>125</sup>I- 纤维素二糖酐标记脂蛋白 (a) 和 dsLp(a)。纤维素二糖酐 (40 mmol/L) 与 Na<sup>125</sup>I (1 mCi) 室温反应 30 min, 2 mg 脂蛋白与被激活的放射性碘纤维素二糖酐混合, 室温反应 30 min。被标记的脂蛋白过 10 mL Sephadex G25 柱, 对抗 NaCl- EDTA,  $4^{\circ}\text{C}$  透析过夜, 最后经 0.15 mol/L NaCl 透析除去 EDTA, 用 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤去除微生物, 用  $\gamma$ - 计数器测定标记物的放射性。

### 1.3 实验分组

健康成年刺猬, 购于浙江余杭县, 体重  $295.5 \pm 63.6$  g, 分成 10 组, 每组 3 只。动物在乙醚麻醉下, 暴露腋下静脉, 脂蛋白 (a) 组注射脂蛋白 (a) 0.3 mL/只 (85183 Bq/只); 脂蛋白 (a) + 姜黄素组先注射姜黄素 0.5 mg/只, 2 min 后再给脂蛋白 (a) 0.3 mL/只; 脂蛋白 (a) + 甘露聚糖组先注射甘露聚糖 25 mg/只, 2 min 后再给脂蛋白 (a) 0.3 mL/只; 脂蛋白 (a) + 壳聚糖组先注射壳聚糖 7.5 mg/只, 2 min 后再给脂蛋白 (a) 0.3 mL/只; 脂蛋白 (a) +  $\alpha$ - 酸性糖蛋白组先注射  $\alpha$ - 酸性糖蛋白 25 mg/只, 2 min 后再给脂蛋白 (a) 0.3 mL/只。dsLp(a) 组注射 dsLp(a)

0.3 mL/只 (85183 Bq/只); dsLp(a) + 姜黄素组先注射姜黄素 0.5 mg/只, 2 min 后再给 dsLp(a) 0.3 mL/只; dsLp(a) + 甘露聚糖组先注射甘露聚糖 25 mg/只, 2 min 后再给 dsLp(a) 0.3 mL/只; dsLp(a) + 壳聚糖组先注射壳聚糖 7.5 mg/只, 2 min 后再给 dsLp(a) 0.3 mL/只; dsLp(a) +  $\alpha$ - 酸性糖蛋白组先注射  $\alpha$ - 酸性糖蛋白 25 mg/只, 2 min 后再给 dsLp(a) 0.3 mL/只。注射 1 h 后处死动物 (处死前 1 min 腋下静脉注射 0.2% 肝素 1 mL, 便于组织灌洗), 断颈取血, 切除肝、肾、脾、胆囊和肾上腺, 用含 0.002% 肝素的生理盐水灌洗, 滤纸吸干称重,  $\gamma$ - 计数器测定组织放射性同位素含量。

## 2 结果

### 2.1 脂蛋白 (a) 和去唾液酸脂蛋白 (a) 代谢比较

从表 1 (Table 1) 可见, 肝脏摄入 dsLp(a) 的量增加, 是肝脏摄入脂蛋白 (a) 量的 11 倍之多, 而 dsLp(a) 在血中的浓度降低, 比血中脂蛋白 (a) 浓度降低 54.26%。肾脏对 dsLp(a) 的摄取亦降低 24.39%。脾、肾上腺和胆囊对脂蛋白 (a) 和 dsLp(a) 的摄取差别不大。

表 1 脂蛋白 (a) 和去唾液酸脂蛋白 (a) 在各组织中的代谢比较

Table 1 The comparison of the metabolism of Lp(a) and desialylated Lp(a) (Bq/organ,  $n = 3$ )

Organs	Lp(a) (a)	dsLp(a) (b)	(b-a)/a $\times 100$ (%)
Liver	2 711	32 938	1 114.98
Spleen	213	187	- 12.21
Kidney	1 763	1 333	- 24.39
Adrenal	46	49	6.52
Gall	1 664	1 629	- 2.10
Blood	39 933	18 267	- 54.26

### 2.2 甘露聚糖、壳聚糖、 $\alpha$ - 酸性糖蛋白和姜黄素对脂蛋白 (a) 代谢的影响

从表 2 (Table 2) 可见, 壳聚糖和姜黄素增加肝脏对脂蛋白 (a) 的摄取, 分别增加 150.95% 和 34.72%; 也增加肾上腺对脂蛋白 (a) 的摄取, 分别增加 97.34% 和 43.09%; 降低血中脂蛋白 (a) 含量, 分别降低 13.8% 和 19.2%。壳聚糖促进脂蛋白 (a) 在胆囊中的排泄, 而姜黄素抑制肾脏对脂蛋白 (a) 的摄取。 $\alpha$ - 酸性糖蛋白抑制脂蛋白 (a) 进入肝、肾、肾上腺和胆囊组织, 使脂蛋白 (a) 进入上述组织分别降低 35.88%、24.63%、22.69% 和 91.79%; 但使血中

脂蛋白(a)含量增加,比脂蛋白(a)组增加49.51%。 $\alpha$ -酸性糖蛋白使脾脏对脂蛋白(a)的摄入增加,比脂蛋白(a)组增加57.50%。甘露聚糖增加脾和肾上

腺对脂蛋白(a)的摄取,分别增加46.18%和25.07%,抑制脂蛋白(a)进入胆囊,使脂蛋白(a)进入胆囊降低22.5%。

表2 多糖和姜黄素对脂蛋白(a)代谢的影响

Table 2 The effect of several polysaccharide and curcumin on the metabolism of Lp(a) (Bq/organ,  $n=3$ )

Organs	Lp(a)	Lp(a) + mannan	Lp(a) + chitin	Lp(a) + orosomucoid	Lp(a) + curcumin
Liver	2 711	3 165	6 804	1 738	3 653
Spleen	213	312	230	336	255
Kidney	1 763	2 147	1 973	1 328	1 148
Adrenal	46	57	91	36	66
Gall	1 664	1 289	2 201	137	1 551
Blood	39 933	39 623	34 422	59 702	32 266

### 2.3 甘露聚糖、壳聚糖、 $\alpha$ -酸性糖蛋白和姜黄素对去唾液酸脂蛋白(a)代谢的影响

从表3(Table 3)可见,壳聚糖和姜黄素对dsLp(a)在组织中分布的影响不大,除壳聚糖使dsLp(a)进入胆囊的含量降低68.59%外,对其它组织均无显著影响。 $\alpha$ -酸性糖蛋白抑制dsLp(a)进入肝、肾和肾上腺组织,比dsLp(a)组分别减少91.0%、33.

79%和97.35%;而使血中dsLp(a)含量明显增高,比dsLp(a)组增加1.73倍。 $\alpha$ -酸性糖蛋白促进脾脏对dsLp(a)的摄取,比dsLp(a)组增加55.93%。甘露聚糖增加肾脏和胆囊对dsLp(a)的摄取,比dsLp(a)组分别增加33.39%和290.34%,甘露聚糖明显降低肾上腺对dsLp(a)的摄取,比dsLp(a)组降低36.65%。

表3 多糖和姜黄素对去唾液酸脂蛋白(a)代谢的影响

Table 3 The effect of several polysaccharide and curcumin on the metabolism of dsLp(a) (Bq/organ,  $n=3$ )

Organs	dsLp(a)	dsLp(a) + mannan	dsLp(a) + chitin	dsLp(a) + orosomucoid	dsLp(a) + curcumin
Liver	32 938	36 360	29 136	2 964	33 081
Spleen	187	181	184	291	222
Kidney	1 333	1 778	1 324	882	1 309
Adrenal	49	31	51	54	64
Gall	1 629	6 359	512	43	1 457
Blood	18 267	20 261	17 417	50 022	20 982

## 3 讨论

脂蛋白(a)与LDL相比,其分子中多糖的含量比LDL高,其中己糖和氨基己糖均比LDL高3倍,唾液酸含量高6倍之多<sup>[2]</sup>。根据结构与功能之间的关系,脂蛋白中的多糖在脂蛋白代谢中可能起重要的作用。研究报导,在动脉粥样硬化血管壁上不仅发现氧化的LDL,而且发现大量去唾液酸LDL,去唾液酸LDL在致动脉粥样硬化中扮演着重要作用<sup>[10,11]</sup>。实验发现,当脂蛋白(a)去唾液酸后,在肝脏中摄入的量明显增高,比脂蛋白(a)高11倍之多,而在血中的浓度却降低了54.26%,可见脂蛋白(a)去唾液酸后在体内的分解代谢明显加快。dsLDL也能促进肝脏对LDL的摄入,但远比dsLp(a)的作用

弱。因此推测脂蛋白(a)去唾液酸是脂蛋白(a)分解代谢的一个关键步骤,脂蛋白(a)分子中的唾液酸在结构稳定中起非常重要的作用。

目前对脂蛋白(a)的分解代谢有四种不同的观点: ①由于脂蛋白(a)结构中含有载脂蛋白B100,因此认为脂蛋白(a)经LDL受体途径代谢<sup>[4]</sup>; ②脂蛋白(a)是LDL受体的不良配体,只有当脂蛋白(a)分子中的二硫键被打开后,暴露了分子中的载脂蛋白B100,使其能与LDL受体结合后经LDL受体代谢<sup>[5]</sup>; ③脂蛋白(a)可能经巨噬细胞的清道夫受体途径代谢,尤其是经氧化修饰后的脂蛋白(a)<sup>[6]</sup>; ④目前越来越多的研究发现脂蛋白(a)可能经特异的受体途径代谢,但此受体尚未被证实<sup>[7]</sup>。我们前期用LDL受体抑制剂对<sup>125</sup>I标记的LDL和脂蛋白(a)在

刺猬体内代谢分布的影响进行研究,发现 LDL 受体抑制剂能抑制 LDL 受体的活性,使 LDL 进入肝、肾、脾、胆囊和肾上腺中的含量明显降低,分别降低 15%~86%;而使脂蛋白(a)进入各组织的含量增加 40%~126%<sup>[7]</sup>。进一步测定猴肝细胞膜上的受体发现,分别存在 LDL、plasminogen 和脂蛋白(a)特异的受体<sup>[12]</sup>。因此虽然脂蛋白(a)与 LDL 结构相似,但其代谢途径却截然相反。

脂蛋白(a)代谢还可能与何种途径有关?我们设想脂蛋白(a)分解代谢可能与脂蛋白中多糖链中的末端糖有关,因此选用甘露聚糖、壳聚糖和 $\alpha$ -酸性糖蛋白对注入刺猬体内的脂蛋白(a)和 dsLp(a)在组织中的分布情况进行研究。实验发现,壳聚糖增加脂蛋白(a)进入肝脏和促进脂蛋白(a)从胆囊中排出,使血中脂蛋白(a)浓度降低;与此相反, $\alpha$ -酸性糖蛋白则抑制脂蛋白(a)进入肝、肾和肾上腺,而且几乎完全抑制脂蛋白(a)从胆囊中排出,使血中脂蛋白(a)含量明显增高。显然脂蛋白(a)的代谢与糖受体有关,此受体能被壳聚糖激活和被 $\alpha$ -酸性糖蛋白抑制,而甘露聚糖对脂蛋白(a)代谢影响不大。 $\alpha$ -酸性糖蛋白对 dsLp(a)代谢的影响与对脂蛋白(a)代谢的影响完全相同,说明脂蛋白(a)是否去除糖链末端的唾液酸并不影响 $\alpha$ -酸性糖蛋白作用。相反,壳聚糖对 dsLp(a)代谢的影响与对脂蛋白(a)代谢的影响不同,壳聚糖能促进脂蛋白(a)代谢,但抑制 dsLp(a)的代谢。这可能由于脂蛋白(a)去唾液酸后暴露了糖链末端的己糖和氨基己糖,壳聚糖的结构与己糖和氨基己糖的结构相似,因此对去唾液酸的脂蛋白(a)引起竞争性抑制。 $\alpha$ -酸性糖蛋白能促进脂蛋白(a)和 dsLp(a)进入脾脏,因此它可能对巨噬细胞清道夫受体有激活作用。 $\alpha$ -酸性糖蛋白抑制肝、肾、肾上腺和胆囊对脂蛋白(a)和 dsLp(a)的摄取,促进脾脏对脂蛋白(a)和 dsLp(a)的摄取有待进一步研究。

文献[13~16]报导壳聚糖和姜黄素具有降脂、减肥和抗动脉粥样硬化作用,这些作用可能是通过促进脂蛋白代谢所引起。我们发现壳聚糖和姜黄素均能不同程度促进肝和肾上腺对脂蛋白(a)的摄取,同时使血中脂蛋白(a)含量降低,所不同的是姜黄素抑制脂蛋白(a)进入肾脏。而壳聚糖与姜黄素一样,对

dsLp(a)代谢没有明显的影响。

#### 参考文献

- [1] Dahlen GH, Guyton JR, Attar M, et al. Association of levels of lipoprotein (a), plasma lipid, and other lipoproteins with coronary artery disease documented by angiography [J]. *Circulation*, 1986, **74**: 765-785
- [2] Fless GM, Zum Mallen ME, Scanu AM. Isolation of apolipoprotein (a) from lipoprotein (a) [J]. *J Lipid Res*, 1985, **26**: 1224-1229
- [3] Gaubatz JW, Heideman C, Gotto AM, et al. Human plasma lipoprotein (a), structural properties [J]. *J Biol Chem*, 1983, **258**: 4582-4589
- [4] Utemann G, Hoppichler F, Dieplinger H, et al. Defects in the LDL-receptor gene affect Lp(a) levels [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, **86**: 4171-4174
- [5] Fless GM. Cellular binding and degradation of lipoprotein (a) [J]. *J Atheroscler Thromb*, 1995, **2** (1): 1-6
- [6] de Rijke YB, Jorgens G, Hessels EM, et al. In vivo fate and scavenger receptor recognition of oxidized Lp(a) isoforms in rats [J]. *J Lipid Res*, 1992, **33** (9): 1315-1319
- [7] 沃兴德, Kostner GM, 洪行球, 等. 低密度脂蛋白受体抑制剂对低密度脂蛋白和脂蛋白(a)代谢的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 1996, **4** (2): 108-111
- [8] 沃兴德, Kostner GM, 洪行球, 等. 刺猬体内低密度脂蛋白和脂蛋白(a)代谢途径的比较 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 1996, **4** (1): 35-39
- [9] Pittman RC, Thomas EC, Christopher K, et al. A radioiodinated intracellularly trapped ligand for determining the site of plasma protein degradation in vivo [J]. *Biochem J*, 1983, **212**: 791-800
- [10] Tertov VV, Orekhov AN, Sobenin IA, et al. Carbohydrate composition of protein and lipid components in sialic acid rich and poor low density lipoprotein from subjects with and without coronary artery disease [J]. *J Lipid Res*, 1993, **34**: 365-375
- [11] Goldstein JL, Brown MS, Eronson RGW, et al. Receptor mediated endocytosis [J]. *Cell Biol*, 1995, **1**: 1-39
- [12] 李白桦, 刘德文, 沃兴德. 脂蛋白(a)受体的研究 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 1996, **4** (4): 288-290
- [13] 吴加罗, 来伟旗, 王茵, 等. 壳聚糖对大鼠血脂水平的影响 [J]. *营养学报*, 1994, **16** (2): 197-199
- [14] 彭亚贞, 史玉俊. 由匙羹藤提取粉和壳聚糖组成的减肥药 [J]. *国外医药·植物药分册*, 1996, **11** (2): 96-97
- [15] 薛春生. 姜黄抗动脉粥样硬化作用的初步实验研究 [J]. *新医药学杂志*, 1978, **9**: 59-62
- [16] 贺禄谊. 姜黄治疗高脂血症 90 例疗效观察 [J]. *人民军医*, 1980, **9**: 42-43

(此文 2000-04-10 收到, 2000-10-24 修回)

(此文编辑 文玉珊)