

高脂血症患者脂代谢紊乱对补体表达及活化的影响

杨京港, 刘永铭, 刘艳英, 严 祥

(兰州大学第一医院老年病科, 甘肃省兰州市 730000)

[关键词] 内科学; 动脉粥样硬化; 酶联免疫夹心法; 高脂血症; 补体 C3; 可溶性终末补体复合物; 炎症因子

[摘要] 目的 探讨脂代谢紊乱对补体表达及其活化的影响。方法 选择高脂血症患者并根据合并症分为单纯高脂血症组和高脂血症合并心脑血管病变组, 同期设立正常对照组, 分别测定并分析各组血清补体成分 C3、C4、P 因子、可溶性终末补体复合物及炎症因子肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素 6 水平。结果 单纯高脂血症组及合并心脑血管病变组血清补体 C3 水平均显著高于对照组 (1.57 ± 0.41 g/L、 1.60 ± 0.40 g/L 比 1.30 ± 0.27 g/L, $P < 0.05$), 单纯高脂血症组血清 P 因子水平较对照组显著升高 (0.46 ± 0.08 g/L 比 0.38 ± 0.07 g/L, $P < 0.01$); 合并心脑血管病变组可溶性终末补体复合物水平显著高于单纯高脂血症组和对照组 (298 ± 110 mg/L 比 233 ± 101 mg/L、 228 ± 84 mg/L, $P < 0.05$); 合并心脑血管病变组肿瘤坏死因子 α 水平显著高于单纯高脂血症组和对照组 (5.66 ± 1.54 g/L 比 4.45 ± 1.47 g/L、 4.42 ± 1.07 g/L, $P < 0.01$), 单纯高脂血症组、合并心脑血管病变组白细胞介素 6 水平较对照组升高 (0.139 ± 0.017 g/L、 0.143 ± 0.024 g/L 比 0.120 ± 0.025 g/L, $P < 0.05$, $P < 0.01$)。相关分析显示, 血清 C3、C4、P 因子与总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇和高密度脂蛋白胆固醇呈正相关 (P 因子与甘油三酯除外); 可溶性终末补体复合物与收缩压、舒张压和肿瘤坏死因子 α 呈正相关, 与血脂水平无相关; 肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 6 与血脂水平无相关。结论 高脂血症患者外周循环血中补体成分明显升高, 其浓度与血脂水平呈正相关; 可溶性终末补体复合物与血脂无相关, 但与动脉病变有关。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

The Effect of Lipid Disorders on the Expression and Activation of Complement in Patients with Hyperlipemia

YANG Jing-Gang, LIU Yong-Ming, LIU Yan-Ying, and LIU Xiang

(Department of Gerontology, First Affiliated Hospital, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

[KEY WORDS] Atherosclerosis; Hyperlipemia; C3; Plasma Complement Terminal Complex; Tumor Necrosis Factor α ; Interleukin 6

[ABSTRACT] **Aim** To explore the effect of lipid disorders on the expression and activation of complement. **Methods**

41 patients with dyslipidemia were distributed into hyperlipemic group (HLP) and hyperlipemia combined with vascular diseases group (HLPC) according to clinical complications. HLP included 17 subjects with dyslipidemia, HLPC included 24 subjects suffered from dyslipidemia combined with cardiovascular diseases, cerebral vascular or peripheral vascular diseases, 17 healthy subjects with similar age and gender served as controls. The serum complement components C3, C4, properdin, the plasma complement terminal complex (sC5b-9) and inflammatory markers tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin 6 (IL-6) were examined.

Results The concentration of C3 was higher in HLP (1.57 ± 0.41 g/L) and HLPC (1.60 ± 0.40 g/L) than in the control group (1.30 ± 0.27 g/L) (both $P < 0.05$); the properdin level was increased in HLP compared with control group (0.46 ± 0.08 g/L vs 0.38 ± 0.07 g/L) ($P < 0.01$). The concentration of sC5b-9 in HLPC (298 ± 110 mg/L) was increased than in HLP (233 ± 101 mg/L) and control group (228 ± 84 mg/L) (both $P < 0.05$). The concentration of TNF- α was also elevated in HLPC than in HLP and controls, there is a significant increase of IL-6 in HLP and HLPC compared with controls. Univariate analysis showed serum C3, C4, Pf were positively correlated with TC, TG, LDLC, HDLC (except Pf with TG), sC5b-9 was positively correlated with SBP, DBP and TNF- α , but no correlation was found between sC5b-9 and lipids.

Conclusions The complement components were significantly increased in serum of patients with dyslipidemia, which were positively correlated with lipidemic indexes. No correlation was found between sC5b-9 and lipids, but sC5b-9 was increased in patients with cardiovascular diseases.

[收稿日期] 2005-04-04

[修回日期] 2005-11-30

[作者简介] 杨京港, 硕士, 从事动脉粥样硬化研究, 联系电话为 0931-3905843, E-mail 为 yjg@tom.com。刘艳英, 硕士, 从事动脉粥样硬化研究, 联系电话为 0931-6152021, E-mail 为 haozhang312@126.com。通讯作者刘永铭, 硕士, 主任医师, 硕士研究生导师, E-mail 为 cardtom@263.net。

动脉粥样硬化是一种特殊的慢性炎症性疾病, 补体作为非特异性炎症因子参与动脉粥样硬化的病理过程^[1,2]。脂代谢紊乱是动脉粥样硬化最重要的危险因素之一, 国外研究发现, 高脂血症患者血清补体 C3 升高^[3], 但对补体表达升高的原因以及由此引

起的病理生理改变目前仍不清楚。本文通过观察高脂血症患者补体 C3、C4、P 因子、补体活化产物 (sC5b-9) 以及炎症因子肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白细胞介素 6 (interleukin 6, IL-6) 的改变, 探讨补体系统在动脉粥样硬化中的作用。

1 对象和方法

1.1 研究对象

选择 2004 年 6 月至 12 月我院门诊及住院高脂血症患者 41 例, 其中男 21 例, 女 20 例, 年龄 68 ± 8 岁, 入选标准参照 1997 年我国制订的血脂异常防治建议, 血清总胆固醇 (total cholesterol, TC) > 5.20 mmol/L (和) 或甘油三酯 (triglyceride, TG) ≥ 1.70 mmol/L, 排除肝肾疾病以及甲状腺功能低下等引起的继发性高脂血症, 排除自身免疫性疾病、近期 (< 1 月) 有严重感染、手术外伤史及半年内有急性心脑血管事件发生者。结合症状、体征及入院后血压、血脂、ECG、颈动脉及外周动脉超声、脑 CT 和冠状动脉造影等检查结果, 根据合并症情况将 41 例患者分为 2 组: 单纯高脂血症组 (简称 HLP 组) 为单纯高脂血症患者 17 例, 无冠心病、短暂脑缺血发作及脑梗死病史, 临床检查亦未发现其他明显动脉粥样硬化性疾病; 高脂血症合并心脑血管病变组 (简称 HLPC 组) 为高脂血症合并心脑血管病变者 24 例, 血脂异常, 有高血压、冠心病或脑梗死史及相关症状, 有特异心电图改变, 或经颈动脉及外周动脉超声、冠状动脉造影证实有动脉狭窄 (管腔狭窄 $> 50\%$)。同期体检正常人 17 例作为对照组。观察各入选对象身高、体重、腰围、臀围和血压情况, 并测定血脂、血清补体 C3、C4、P 因子、补体活化产物 (sC5b-9) 及 TNF- α 、IL-6 水平。

1.2 方法

所有观察对象空腹 12 h 以上, 于清晨取肘静脉血 6 mL, 其中 2 mL 分离血清, 4 h 内测定血脂, 其余置于含 3.8% 枸橼酸钠的真空采血器和真空速凝管中, 分离血浆、血清, 置 -80°C 超低温冰箱, 备用。

血脂测定采用酶法, 使用 Beckman 公司 CX4 型全自动生物化学分析仪; 补体成分 C3、C4 及 P 因子测定采用免疫散射比浊法, 取待测血清 200 μL 加样, 使用美国 Beckman Array 360 免疫化学分析系统及配套试剂自动分析完成, C3、C4 和 P 因子单抗批号分别为: T306092/T106083/403023, 批内变异系数均 $< 10\%$; 血浆 sC5b-9 浓度测定采用酶联免疫夹心法 (ELISA 法), 在 sC5b-9 抗体包被微孔中加入 1:5

倍稀释待测血浆及标准品 100 μL , 另设等量空白对照、高/低质控, 各孔加入稀释液 100 μL , $15 \sim 30^\circ\text{C}$ 温育 60 ± 1 min, 洗涤微孔后加结剂再次温育 60 ± 1 min, 再次洗涤后加底物溶液, 温育 30 ± 1 min, 加终止液后 15 min 内多功能免疫分析仪 405 nm 下读 OD 值, 据所得标准曲线计算待测样本浓度, 试剂盒购自美国 Quidel 公司, 批号为 901359, 批内变异系数为 6.33%; TNF- α 和 IL-6 测定采用放射免疫法, 试剂盒购自北京北方生物技术研究所, 批内变异系数分别为 4.35% 和 3.81%。

1.3 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组均数间比较采用方差分析中的 LSD 法 (方差齐性时) 或 Dunnett' T3 法 (方差不齐时), 指标间关系用直线相关分析, 以 $P < 0.05$ 为有统计学意义, 采用 SPSS10.0 软件分析。

2 结果

2.1 各组一般情况及血脂水平的比较

单纯高脂血症组患者性别、年龄、体质指数 (body mass index, BMI) 与对照组相似, 腰臀比、收缩压 (SBP) 和舒张压 (DBP) 较对照组升高。HLP 组患者年龄、BMI、腰臀比、SBP 及 DBP 高于对照组, 与 HLP 组间差异无显著性。三组血脂资料比较显示, HLP 组所有血脂指标均显著高于对照组。HLPC 组总胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇显著高于对照组, 但与 HLP 组比较, 总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇和高密度脂蛋白胆固醇明显降低, 差异有统计学意义 (表 1)。

表 1. 各组一般情况及血脂水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

指 标	对照组	HLP 组	HLPC 组
n	17	17	24
男/女	8/9	7/10	14/10
年龄	64 ± 7	65 ± 8	70 ± 7^a
BMI (kg/m^2)	22.05 ± 2.18	22.70 ± 2.17	23.92 ± 2.16^a
腰/臀	0.81 ± 0.05	0.87 ± 0.06^b	0.88 ± 0.06^b
SBP (mm Hg)	118.0 ± 8.5	130.5 ± 13.5^a	137.8 ± 17.8^b
DBP (mm Hg)	72.1 ± 7.7	78.4 ± 4.8^a	80.0 ± 12.6^a
TC (mmol/L)	4.40 ± 0.65	6.67 ± 0.89^b	5.57 ± 1.10^{bd}
TG (mmol/L)	1.12 ± 0.44	1.96 ± 1.05^a	2.35 ± 1.57^b
LDLC (mmol/L)	2.93 ± 0.79	4.70 ± 0.68^b	3.80 ± 0.92^{bd}
HDLc (mmol/L)	1.22 ± 0.23	1.58 ± 0.35^b	1.33 ± 0.27^d

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; c 为 $P < 0.05$, d 为 $P < 0.01$, 与 HLP 组比较。

2.2 各组补体与炎症因子水平的比较

单纯高脂血症组和 HLPC 组血清补体 C3、C4 水平较对照组升高, 但仅 C3 差异有显著意义, HLP 组 P 因子较对照组显著升高; HLPC 组血浆 sC5b-9 水平显著高于对照组和 HLP 组, 而对照组与 HLP 组间

sC5b-9 水平差异无显著性; TNF- α 水平 HLPC 组高于 HLP 组及对照组, HLP 组与对照组水平接近, 而 IL-6 水平在 HLP、HLPC 两组均显著高于对照组, 这种差异在 HLPC 组更为明显(表 2)。

表 2. 各组补体 C3、C4、P 因子、可溶性终末补体复合物及炎症因子的表达($\bar{x} \pm s$)

分 组	C3(g/L)	C4(g/L)	P 因子(g/L)	sC5b-9(mg/L)	TNF- α (pmol/L)	IL-6(μ g/L)
对照组	1.30 \pm 0.27	0.32 \pm 0.11	0.38 \pm 0.07	228 \pm 84	4.42 \pm 1.07	0.120 \pm 0.025
HLP 组	1.57 \pm 0.41 ^a	0.41 \pm 0.10	0.46 \pm 0.08 ^b	233 \pm 101	4.45 \pm 1.47	0.139 \pm 0.017 ^a
HLPC 组	1.60 \pm 0.40 ^a	0.42 \pm 0.16	0.44 \pm 0.11	298 \pm 110 ^{ac}	5.66 \pm 1.54 ^{bd}	0.143 \pm 0.024 ^b

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; c 为 $P < 0.05$, d 为 $P < 0.01$, 与 HLP 组比较。

2.3 相关性分析

血清 C3 与 TC、TG、LDLC、HDL C 和 BMI 呈正相关; C4 与 TC、TG、LDLC、HDL C 和 SBP 呈正相关; P 因子与 TC、LDLC、HDL C 和 BMI 呈正相关; sC5b-9 与 SBP、DBP 和 TNF- α 呈正相关, 与血脂水平无相关(表

3)。C3、C4、P 因子之间也存在良好的相关性, C3 与 C4、P 因子相关系数分别为 $r = 0.635$ 、 $r = 0.606$, P 均 < 0.01 , C4 与 P 因子相关系数为 $r = 0.471$, $P < 0.01$; 而 TNF- α 、IL-6 与血脂水平无相关。

表 3. 补体 C3、C4、P 因子、可溶性终末补体复合物与血脂及炎症因子的相关关系(相关系数 r)

	TC	TG	LDLC	HDL C	BMI	腰/臀	SBP	DBP	TNF- α	IL-6
C3	0.427 ^b	0.451 ^b	0.333 ^a	0.311 ^a	0.293 ^a	0.030	0.184	0.205	0.066	-0.021
C4	0.424 ^b	0.415 ^b	0.380 ^b	0.291 ^a	-0.024	-0.054	0.293 ^a	0.095	-0.013	0.067
P 因子	0.431 ^b	0.085	0.402 ^b	0.288 ^a	0.277 ^a	0.047	0.118	0.119	-0.028	0.033
sC5b-9	0.095	0.224	-0.002	0.127	0.187	-0.167	0.328 ^a	0.390 ^b	0.263 ^a	0.095

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$ 。

3 讨论

本研究发现, 高脂血症患者 C3 水平升高, 这与国外多个研究结果一致^[3,4], 高脂血症患者补体水平升高的确切原因目前还不清楚。体外实验发现脂肪细胞可分泌 C3^[5], 本研究中 C3 与体质指数 BMI 呈正相关, BMI 反映人体肥胖程度, 与人体脂肪含量有关, 提示体内脂肪组织可能是高脂血症患者 C3 来源之一。Ylitalo 等^[6]发现, 家族性混合性高脂血症患者 C3 升高, 而且 C3 具有家族相关性, 提示有遗传因素影响补体的表达。

高脂血症患者 P 因子水平也明显升高, P 因子与 C3、C4 间有良好的正相关, 表明补体系统的改变是多方面的。脂肪细胞是否分泌备解素目前尚无肯定结论, 因此高脂血症患者补体的变化可能还存在其它机制。

本研究发现, 单纯高脂血症及高脂血症合并血管病变者血清 IL-6 水平均升高, 这与国内外许多研

究结果一致。基础研究发现, IL-6 可刺激肝细胞分泌 C3。动脉粥样硬化是一种炎性病变, 本研究结果发现, 高脂血症患者合并动脉病变组炎症因子 IL-6 和 TNF- α 水平均明显高于对照组, 虽然血脂水平明显低于单纯高脂血症组, 但补体水平与单纯高脂血症组相似。因此除血脂外, 动脉粥样硬化本身的病理生理变化可能影响补体的表达。

C5b-9 也称为膜攻击复合物(membrane attack complex, MAC), 是补体经典和旁路激活途径共同终末产物。免疫组织化学证实 C5b-9 存在于所有增厚的动脉内膜及纤维斑块中^[7], 不稳定型心绞痛和急性心肌梗死患者循环血中 sC5b-9 水平亦明显升高, 体外实验发现它具有刺激血管内皮细胞表达粘附分子和组织因子、诱导血管平滑肌细胞迁移增殖、促进平滑肌细胞、泡沫细胞凋亡、溶解等作用。另外, C5b-9 形成过程中产生的中间产物 C3a 和 C5a 等炎症介质也会对血管产生不良影响。我们的研究显示, 单纯高脂血症患者 sC5b-9 水平与正常人差异无

显著性, 高脂血症合并心脑血管病变患者 sC5b-9 水平明显高于单纯高脂血症患者与正常人, sC5b-9 水平与炎症因子 TNF 正相关, 与血脂水平无关, 表明 sC5b-9 与系统性炎症及动脉粥样硬化病变有关联, 它可能是一个反映动脉损伤的指标。

综上所述, 高脂血症和动脉粥样硬化患者存在明显的补体系统异常, 其机制可能与脂肪细胞、遗传背景和炎症状态等因素有关, 补体活化终末产物 sC5b-9 可能是反映动脉粥样硬化血管损伤的指标, 它与心血管事件之间的关系有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Seifert PS, Kazatchkine MD. The complement system in atherosclerosis[J]. *Atherosclerosis*, 1988, **73** (2-3): 91-104

- [2] Niculescu F, Rus H. Complement activation and atherosclerosis[J]. *Mol Immunol*, 1999, **36** (13-14): 949-955
- [3] Ylitalo K, Porkka KV, Meri S, Nuotio I, Suurinkeroinen L, Vakkilainen J, et al. Serum complement and familial combined hyperlipidemia[J]. *Atherosclerosis*, 1997, **129** (2): 271-277
- [4] Meijssen S, van Dijk H, Verseyden C, Erkelens DW, Cabezas MC. Delayed and exaggerated postprandial complement component 3 response in familial combined hyperlipidemia[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, **22** (5): 811-816
- [5] Choy LN, Rosen BS, Spiegelman BM. Adipsin and an endogenous pathway of complement from adipose cell[J]. *J Biol Chem*, 1992, **267** (18): 12 736-741
- [6] Ylitalo K, Pajukanta P, Meri S, Cantor RM, Mero-Matikainen N, Vakkilainen J, et al. Serum C3 but not plasma acylation stimulating protein is elevated in Finnish patients with familial combined hyperlipidemia[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, **21** (5): 838-843
- [7] Rus HG, Niculescu F, Vlaicu R. Co-localization of terminal C5b-9 complement complexes and macrophages in human atherosclerotic arterial walls[J]. *Immunol Lett*, 1988, **19** (1): 27-32

(此文编辑 朱雯霞)