

基础研究

DOI:10.3969/j.issn.0253-3626.2012.04.007

当归多糖对电离辐射致小鼠骨髓单个核细胞
凋亡及氧化损伤的影响

何晓莉,关雪晶,吴 宏,姜 蓉

(重庆医科大学基础医学院组织胚胎学教研室,干细胞与组织工程研究室,重庆 400016)

【摘要】目的:探讨当归多糖(Angelica polysaccharides,APS)对电离辐射引起小鼠骨髓单个核细胞(Bone marrow mononuclear cell,BMNC)凋亡及氧化损伤的影响,旨在阐明 APS 对辐射性造血损伤的保护作用。方法:直线加速器 4.0 Gy 一次性全身均匀 X 射线照射 C₅₇BL/6 小鼠,建立小鼠放射损伤动物模型。照射后连续 7 d 腹腔注射不同剂量 APS 或生理盐水(Normal saline,NS),并于照射后第 1、3、7 天处死小鼠,提取 BMNC,流式细胞术检测细胞周期,细胞凋亡率以及免疫细胞化学法检测 P53 的表达;比色法检测其超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase,SOD)活性以及丙二醛(Maleic Dialdehyde,MDA)含量。结果:与正常组相比,NS 组 G₀/G₁期细胞比例及凋亡率升高;SOD 活性明显降低以及 MDA 含量明显升高;P53 有表达。2 mg/kg APS 组和 8 mg/kg APS 组均能降低 G₀/G₁期细胞比例以及细胞凋亡率,降低突变型 P53 的表达,提高 SOD 活性,降低 MDA 含量。结论:APS 可抑制辐射引起的细胞凋亡,还具有抗细胞氧化损伤的作用。

【关键词】当归多糖;电离辐射;骨髓单个核细胞;凋亡;P53;氧化损伤

【中国图书分类法分类号】R146

【文献标志码】A

【收稿日期】2011-09-28

Effects of Angelica polysaccharide on the apoptosis and oxidative damage
in bone marrow mononuclear cells of ionizing radiation injured mice

HE Xiaoli, GUAN Xuejing, WU Hong, JIANG Rong

(Department of Histology and Embryology, Laboratory of Stem Cell and Tissue Engineering,
College of Basic Medicine, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To study the effects of Angelica polysaccharide(APS) on the cell apoptosis and oxidative damage in bone marrow mononuclear cells (BMNC) of ionizing radiation injured mice so as to illuminate the protective effects of APS against radioactive injured haematogenesis. **Methods:** Linear accelerator irradiated C₅₇BL/6 mice with 4.0 Gy X ray one time were used to establish animal radiation injured models. Then the mice were given different dosages of APS or normal saline(NS) for 7 days continuously by intraperitoneal injection. These mice were killed and BMNC was extracted after 1, 3, and 7 days of injection. The cell cycle and apoptosis rate were detected by flow cytometry and the expression of P53 was detected by immunocytochemistry. The activity of superoxide dismutase(SOD) and content of Maleic Dialdehyde(MDA) were detected by the method of colorimetric assay. **Results:** Compared with those in the normal group, the percentage of G₀/G₁ phase, apoptosis rate, the content of MDA and the expression of P53 were increased significantly, while the activity of SOD was obviously decreased in NS group; in both 2 mg/kg APS group and 8 mg/kg APS group, the percentage of G₀/G₁ phase, apoptosis rate, the content of MDA and the expression of P53 were decreased, while the activity of SOD was increased. **Conclusion:** APS can inhibit cell apoptosis caused by radiation and plays an important role in resisting oxidative damage.

【Key words】angelica polysaccharides; ionizing radiation; bone marrow mononuclear cell; apoptosis; P53; oxidative damage

随着科技的进步和时代的发展,核能在生产和生活中的运用越来越广泛,但这不可避免的给人们增加了辐射污染^[1]。同时,医学放射诊断与治疗也会损伤

正常细胞。国内外大量研究表明,电离辐射不仅可以加速衰老,还可以诱导细胞发生凋亡和氧化损伤^[2~4]。因此,辐射保护剂的开发势在必行。当归多糖(Angelica polysaccharides,APS)是常见中草药—当归的主要活性成分之一,它具有影响造血系统、抗辐射、抗氧化、抗病毒、抗肿瘤和调节免疫等多种功能^[5~7]。本研究主要探讨 APS 对辐射诱导小鼠骨髓

作者介绍:何晓莉(1985-),女,硕士,

研究方向:造血干细胞与中药药理学。

通信作者:吴 宏,女,教授,Email:WuHong6368@163.com。

基金项目:重庆市渝中区科技计划资助项目(编号:20110321)。

单个核细胞(Bone marrow mononuclear cell, BMNC)氧化损伤和凋亡的影响,旨在为 APS 作为辐射保护剂提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物、主要试剂及设备

健康清洁级 C₅₇BL/6 小鼠,雌雄各半,6~8 周龄,体重(20±2)g,购自重庆医科大学实验动物中心。实验过程中对动物的处理符合中华人民共和国科学技术部 2006 年 9 月 30 日颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》标准^[8]。APS(当归产地:甘肃岷县)由重庆医科大学化学教研室分离、提取、纯化(纯度>950 mg/g)。超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)和丙二醛(Maleic dialdehyde, MDA)测试试剂盒(南京建成生物技术有限公司)。人淋巴细胞分离液(TBD 公司)。AnnexinV-FITC/PI 检测试剂盒、BCA 蛋白浓度测定试剂盒、苯甲基磺酰氟(Phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF)、Western blot 及 IP 细胞裂解液(碧云天生物技术研究),抗小鼠 P53 抗体(碧云天生物技术研究进口分装)。免疫染色试剂盒、DAB 显色试剂(北京中山金桥生物技术有限公司)。超净工作台、倒置显微镜、酶标仪、流式细胞仪、UV-7504 紫外分光光度计、冷冻超速离心机 H-80B。

1.2 方法

1.2.1 实验动物的分组及处理 C₅₇BL/6 小鼠随机分为 4 组,正常组(不作任何处理,18 只);生理盐水(Normal saline, NS)组,2 mg/kg APS 组和 8 mg/kg APS 组^[9](后 3 组每组 54 只),共计用小鼠 180 只。后 3 组小鼠采用直线加速器全身均匀照射,总剂量 4.0 Gy^[10],时间 1.25 min, X 射线吸收剂量率为 3.76 Gy/min,焦点-鼠距 100 cm,面积 25 cm×25 cm^[11]。照射后于 3 h 内腹腔分别注射 NS、2 mg/kg APS 和 8 mg/kg APS,根据小鼠体重分别计算出相应注射体积(每天注射前称重)^[12],连续注射 7 d,并于第 1、3、7 天处死小鼠并取其骨髓。

1.2.2 BMNC 的制备 照射给药后第 1、3、7 天将小鼠颈椎脱臼处死,取其双侧股骨、胫骨,去除肌肉及结缔组织后,用 PBS 缓冲液冲洗出骨髓细胞,并经 4 号针头过滤,制成单细胞悬液,1 500 r/min,离心 10 min,弃去上清液,加入 PBS 吹散,形成骨髓细胞悬液。采用 Ficoll-Hypaque 密度梯度离心法获取 BMNC:将骨髓细胞悬液(2 ml)用巴氏管沿离心管壁缓慢加于淋巴细胞分离液(5 ml)上面,2 000 r/min,离心 20 min,沿试管壁边缘吸取白膜层细胞,获得 BMNC 移入另一离心管中,再用 PBS 洗涤 2 次,制成 BMNC 悬液。

1.2.3 BMNC 细胞周期的测定 照射给药后第 1、3、7 天收集 BMNC,70%冰乙醇 4℃固定过夜。经 PBS 洗涤 2 次,再加入 100 μl 牛胰核糖核酸酶(1 mg/ml);37℃水浴箱中孵育 30 min,加入碘化丙啶染色液(50 μg/ml),反应 30 min(避光),流式细胞仪检测, Multicycle 软件(日本 PHENIX 公司)分析。

1.2.4 BMNC 凋亡率的检测 照射给药后第 1、3、7 天收集 BMNC,应用 Annexin V-FITC/PI 染色法对 BMNC 染色后,流式细胞仪检测。步骤如下:PBS 缓冲液洗涤细胞 2 次,用 1×binding buffer 调整细胞浓度约为 1×10⁶ 个/ml;取 100 μl 样

品,再加入 5 μl Annexin V-FITC 和 5 μl PI;混匀细胞,25℃暗室孵育 15 min;每份样品加入 1×binding buffer 100 μl;利用 FCM 双参数分析区分出凋亡细胞并计算出凋亡细胞百分率。

1.2.5 BMNC SOD 活性和 MDA 含量的测定 照射给药后第 1、3、7 天收集 BMNC,加入细胞裂解液(600 μl),冰上裂解 30 min;12 000 r/min,4℃离心 5 min。取上清液用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒依据说明书操作,测定蛋白浓度;用 SOD 和 MDA 测定试剂盒,依据说明书操作,测定 SOD 活性和 MDA 含量^[13]。

1.2.6 BMNC P53 蛋白的免疫细胞化学检测 照射给药后第 1、3、7 天收集 BMNC,制成细胞悬液。4%多聚甲醛固定 15 min,PBS 冲洗 3 次×5 min;3% H₂O₂封闭内源性过氧化物,PBS 冲洗 3 次×5 min;山羊血清封闭,37℃15 min,加抗小鼠 P53 抗体于 4℃过夜,PBS 冲洗 3 次×5 min;生物素标记的二抗,37℃15 min,PBS 冲洗 3 次×5 min;辣根酶标记链酶卵白素,37℃15 min,PBS 冲洗 3 次×5 min;DAB 显色,自来水冲洗,中性树胶封片。显微镜下观察,P53 阳性细胞核呈棕褐色,阴性细胞不着色。随机选择 5 个视野(400×),每个视野计数 100 个细胞,计算 P53 阳性率=P53 阳性细胞数/100×100%。

1.3 统计学方法

实验数据以($\bar{x} \pm s$)表示,所有实验数据均经 SPSS 17.0 统计软件处理,采用双因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 照射后小鼠的基本状况观察

小鼠受照射后毛发无光泽,易脱落,活动度降低;食量减少,饮水量增加;易出现稀便、血便。NS 组照射后第 1 天偶有小鼠(1 只,雄性)死亡现象。随着时间推移,到照射后第 3 天,小鼠的活动度,饮食量,毛发生长情况好转,无稀便、血便等。

2.2 APS 对放射损伤小鼠 BMNC 细胞周期的影响

照射后第 1、3、7 天 NS 组 BMNC 停滞于 G₀/G₁期,与正常组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);随时间变化,G₀/G₁期细胞比例呈由高到低的变化,到第 7 天时仍未恢复正常。2 mg/kg APS 组与 NS 组(1、3 d)比较,其 G₀/G₁期比例有所下降,但差异无显著性($P = 0.18$);2 mg/kg APS 组与 NS 组(7 d)比较,G₀/G₁期比例有所下降,差异有显著性($P < 0.05$);8 mg/kg APS 组与 NS 组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)(表 1)。

2.3 APS 对放射损伤小鼠 BMNC 凋亡率的影响

照射后第 1、3、7 天 NS 组 BMNC 的凋亡率均较正常组显著增高($P < 0.05$);2 mg/kg APS 组 BMNC 凋亡率较 NS 组在照射后第 1、3 天有所下降,但差异不显著($P = 0.16$);在照射后 7 d 其凋亡率明显下降,差异有统计学意义($P < 0.05$);8 mg/kg APS 组 BMNC 凋亡率较 NS 组同一时间比较均显著下降($P < 0.05$),但仍高于正常组(见表 1)。

2.4 APS 对放射损伤小鼠 BMNC P53 表达阳性率的影响

正常组小鼠 BMNC 不表达 P53,NS 组有 P53 表达;2 mg/kg APS 组与 NS 组同一时间相比,P53 的表达率有所降低,但差异无统计学意义($P = 0.19$);8 mg/kg APS 组与 NS 组同一时间相比,P53 的表达率降低明显,差异有统计学意义

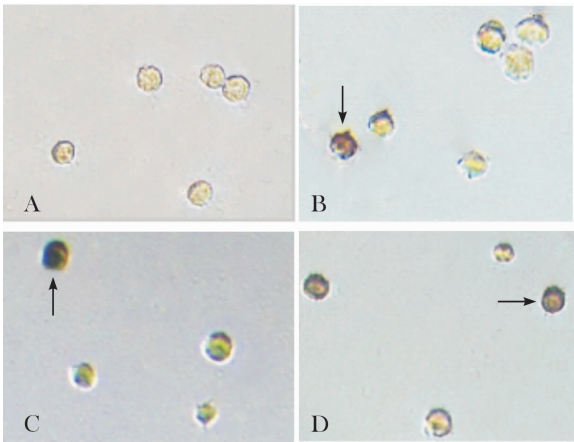
($P < 0.05$) (表 2, 图 1)。

表 1 APS 对放射损伤小鼠 BMNC 细胞周期和凋亡率的影响 ($n = 6, \bar{x} \pm s$)

Tab.1 Effects of angelica polysaccharide on cycle and apoptosis rate in bone marrow mononuclear cells of ionizing radiation injured mice ($n = 6, \bar{x} \pm s$)

组别	照射后时间(d)	G ₀ /G ₁ 期 (%)	凋亡率 (%)
正常组		55.82 ± 2.84	5.53 ± 1.85
	1	78.57 ± 4.71 *	14.56 ± 1.33 *
NS 组	3	80.95 ± 4.86 *	15.63 ± 1.25 *
	7	75.23 ± 10.69 *	12.37 ± 1.26 *
2 mg/kg APS 组	1	75.82 ± 5.02 *	13.49 ± 0.64 *
	3	68.77 ± 3.21 *	11.61 ± 1.36 *
	7	63.17 ± 6.01 *▲	7.25 ± 0.93 *▲
8 mg/kg APS 组	1	71.65 ± 6.19 *▲	8.59 ± 0.84 *▲
	3	64.65 ± 4.17 *▲	8.50 ± 0.55 *▲
	7	64.65 ± 4.17 *▲	6.24 ± 0.79 *▲

注: *, 与正常组比较 $P < 0.05$; ▲, 与 NS 组同时时间点比较 $P < 0.05$



A. 正常组; B. 2 mg/kg 组; C. 8 mg/kg 组;
D. NS 组→所指为 P53 阳性细胞

图 1 BMNC P53 免疫细胞化学图

Fig. 1 P53 immunocytochemistry in BMNC (400 ×)

表 2 APS 对放射损伤小鼠 BMNC P53 表达及 SOD、MDA 的影响 ($n = 6, \bar{x} \pm s$)

Tab.2 Effects of angelica polysaccharide on the expression of P53, SOD and MDA in bone marrow mononuclear cells of ionizing radiation injured mice ($n = 6, \bar{x} \pm s$)

组别	照射后时间(d)	P53 表达阳性率 (%)	SOD (U/ml)	MDA (nmol/mgprot)
正常组		0.00	1.11 ± 0.14	2.20 ± 1.14
	1	25.12 ± 2.14 *	0.68 ± 0.04 *	9.66 ± 3.24 *
NS 组	3	27.04 ± 5.18 *	0.65 ± 0.12 *	10.13 ± 2.99 *
	7	23.39 ± 4.34 *	0.82 ± 0.12 *	8.16 ± 1.41 *
2 mg/kg APS 组	1	24.15 ± 2.98 *	0.71 ± 0.04 *	9.56 ± 5.28 *
	3	23.21 ± 5.28 *	0.74 ± 0.07 *	8.75 ± 2.25 *
	7	20.45 ± 4.27 *	0.88 ± 0.08 *	7.67 ± 1.32 *
8 mg/kg APS 组	1	20.35 ± 2.12 *▲	0.77 ± 0.07 *▲	6.84 ± 0.96 *▲
	3	15.39 ± 3.07 *▲	0.87 ± 0.09 *▲	5.86 ± 0.43 *▲
	7	8.57 ± 1.97 *▲	0.93 ± 0.11 *▲	2.75 ± 0.32 *▲

★: 与正常组比较 $P < 0.05$; ▲: 与 NS 组同时时间点比较 $P < 0.05$

2.5 APS 对放射损伤小鼠 BMNC 氧化损伤的影响

照射后第 1、3、7 天 NS 组 BMNC 的 SOD 活性较正常组显著降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。2 mg/kg APS 组和 NS 组同一时间比较, SOD 活性增加, 但差异无统计学意义 ($P = 0.21$); 8 mg/kg APS 组 BMNC 的 SOD 活性较 NS 组同一时间比较, 均显著增加 ($P < 0.05$), 但仍低于正常组。照射后第 1、3、7 天 NS 组 BMNC 的 MDA 含量较正常组升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 2 mg/kg APS 组和 NS 组同一时间比较, MDA 含量增加, 但差异无统计学意义 ($P = 0.21$); 8 mg/kg APS 组 BMNC 的 MDA 含量较 NS 组同一时间比较, 均显著增加 ($P < 0.05$), 但仍高于正常组 (表 2)。

3 讨论

本实验结果显示 NS 组小鼠 BMNC G₀/G₁ 期百分比、凋亡率与正常组比较均升高, 说明电离辐射可诱导细胞发生周期阻滞及细胞凋亡。APS 有明显的抗辐射作用^[5-7,14], 表现在机体造血功能恢复, 血细胞增加等方面。但其机制并不十分清楚。本实验结果显示: 2 mg/kg APS 组与 NS 组相比, G₀/G₁ 期百分比、凋亡率均降低; 但在照射后第 1、3 天, 与 NS 组比较没有显著差异, 可能是由于药物作用剂量及时间均不够所致; 而至照射后第 7 天, 与 NS 组比较差异有统计学意义。8 mg/kg APS 组与 NS 组相比 G₀/G₁ 期百分比、凋亡率均显著降低。说明 APS 有明显的抗辐射作用, 且 8 mg/kg APS 比 2 mg/kg APS 降低 G₀/G₁ 期百分比及凋亡率效果更显著。

P53 基因是细胞辐射敏感性的决定基因^[15], 正常状态下 P53 为野生型, 半衰期短, 免疫细胞化学法无法检测其表达。它可以抑制细胞分裂, 使细胞停留在 G₁ 期, 导致细胞周期停滞; P53 还能激活 bax 基因的启动子, 上调 bax 的表达, 转移胞质内 bax 到线粒体外

膜上,诱导线粒体释放促凋亡蛋白,同时下调 Bcl-2 的表达,形成 bax/bax 同源二聚体,导致细胞凋亡,因此与细胞凋亡发生密切相关^[16~18]。电离辐射能诱发正常细胞 P53 基因发生突变,使辐射后的细胞有 P53 的表达。本研究免疫细胞化学实验结果显示:正常组无 P53 表达,NS 组有 P53 表达,2 mg/kg APS 组 P53 表达阳性率较 NS 组有所降低,而 8 mg/kg APS 组 P53 表达阳性率则明显降低;说明 APS 能降低突变型 P53 表达阳性率,且 8 mg/kg APS 比 2 mg/kg APS 效果更佳。

SOD 是一种广泛存在于动植物、微生物中的金属酶,它可以催化超氧阴离子自由基发生歧化反应^[19],从而清除,保护受损细胞;同时对机体的氧化和抗氧化平衡起着至关重要的作用。MDA 是过氧化脂质的降解产物,通过检测 MDA 的含量可以判断脂质过氧化反应的程度,间接反应细胞损伤程度。本研究结果表明:NS 组与正常组比较,小鼠 BMNC 的 SOD 活性降低,MDA 含量增加,提示细胞有氧化损伤;而 APS 组与 NS 组相比,SOD 活性增加,MDA 含量降低,说明 APS 对电离辐射引起的氧化损伤有保护作用。但直至照射后第 7 天,APS 组小鼠 BMNC 的 SOD 活性及 MDA 含量仍未恢复到正常水平,这可能是观测时间不够所致。

本文就凋亡和氧化损伤对 APS 抗辐射损伤的机制进行了初步探讨。为 APS 抗辐射机制的更深层次的研究奠定了基础,同时也阐明了辐射所致凋亡的信号通路,为后续的研究指明了方向。

参 考 文 献

- [1] 孙元林,顾小红,李德远,等. 当归多糖对亚急性辐射损伤小鼠的防护作用研究[J]. 食品科学,2007,28(2):305-308.
- [2] Richard B, Richardson. Ionizing radiation and aging: rejuvenating an old idea[J]. AGING,2009,17,1(11):887-902.
- [3] 孙世龙,付士波,刘 扬,等. 电离辐射对 EL-4 细胞 Caspase-3 蛋白表达的影响[J]. 中华放射医学与防护杂志,2006,26(3):244-245.
- [4] 余志坚,陈 俊,袁亚维,等. X 射线诱导细胞凋亡的机制[J]. 第一军医大学分校学报,2002,25(1):68-71.
- [5] 王 燕,单体中. 当归多糖的生物学功能研究进展[J]. 中国饲料,2006(9):18-21.
- [6] Wang Y, Shan T Z. Advances in study on biological function of angelica polysaccharides[J]. Feed of China,2006(9):18-21.

- [6] 孟慧玲. 当归多糖的药理学研究新进展[J]. 甘肃中医,2007,20(1):44-46.
- [7] Meng H L. Advances in study on pharmacology of angelica polysaccharides[J]. Gansu Journal of Traditional Chinese Medicine,2007,20(1):44-46.
- [8] 聂小燕,陈 青,李 祝,等. 当归多糖药理活性研究新进展[J]. 现代农业科学,2008,15(10):36-37.
- [9] Nie X Y, Chen Q, Li Z, et al. Advances in study on pharmacological activities of angelica polysaccharides[J]. Modern Agricultural Sciences, 2008,15(10):36-37.
- [10] 中华人民共和国科学技术部. 关于善待实验动物的指导性意见[EB/OL]. (2006-09-13) [2011-09-20]. <http://www. busy. edu. cn/dwsyzx/zc/gjzcfg/30367. shtml>.
- [11] Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. On the care and use of laboratory animal's guidance[EB/OL]. (2006-09-13) [2011-09-20]. <http://www. busy. edu. cn/dwsyzx/zc/gjzcfg/30367. shtml>.
- [12] 张 雁,关雪晶,吴 宏,等. 当归多糖对放射损伤小鼠骨髓单个核细胞黏附分子表达及细胞周期的影响[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志,2010,19(6):588-592.
- [13] Zhang Y, Guan X J, Wu H, et al. The effects of angelica polysaccharides pretreated on the expression of adhesion molecules and the cell cycle in bone marrow mononuclear cells of radiation injured mice[J]. China Histochemistry and Cytochemistry Magazine,2010,19(6):588-592.
- [14] Wong S H, Lowes K N, Bertonecello L, et al. Evaluation of Scl-1 and c-kit as selectivemarkers for muscle remodeling by nonhemopoietic bone marrow cells[J]. Stem cells,2007,25(6):1364-1374.
- [15] 张 雁,吴 宏,关雪晶,等. 当归多糖对放射损伤小鼠骨髓单个核细胞黏附分子表达及细胞周期的影响[J]. 中国生物制品学杂志,2010,23(6):1-6.
- [16] Zhang Y, Wu H, Guan X J, et al. The effects of angelica polysaccharides pretreated on the expression of adhesion molecules and the cell cycle in bone marrow mononuclear cells of radiation injured mice[J]. Chin J Biologicals, 2010,23(6):1-6.
- [17] 胡 晶,吴 宏. 当归多糖对小鼠外周血造血干细胞动员作用的研究[J]. 中草药,2006,37(12):1835-1838.
- [18] Hu J, Wu H. Mobilization of angelica polysaccharides on peripheral blood hematopoietic stem cell in mice[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs,2006,37(12):1835-1838.
- [19] 肖雪峰,唐仁军. 镭对小鼠卵巢颗粒细胞 DNA 损伤及 MDA/SOD 的初步研究[J]. 济宁医学院学报,2010,33(2):89-91.
- [20] Xiao X F, Tang R J. Preliminary study effects of cadmium on DNA damage and MDA, SOD of ovaries granule cells in mouse[J]. Journal of Jining Medical University,2010,33(2):89-91.
- [21] 李宗山,邱世翠,韩兆东,等. 当归对 X 线辐射小鼠骨髓细胞增殖抗体产生的影响[J]. 中国中医药科技,2005,12(2):118.
- [22] Li Z S, Qiu S C, Han Z D, et al. Effects of angelica polysaccharides on X-ray radiation in mouse bone marrow cell proliferation and antibody production in mice[J]. Chinese Medicine Science and Technology, 2005,12(2):118.
- [23] 李 伟. 细胞辐射敏感性相关基因的研究进展[J]. 放射免疫学杂志,2009,22(2):131-133.
- [24] Li W. Advances in study on cellular radiation sensitivity related genes[J]. J of Radioimmnology,2009,22(2):131-133.
- [25] Fumagalli S, Thomas G. The role of p53 in ribosomopathies[J]. Semin Hematol,2011,48(2):7-105.

基础研究

DOI:10.3969/j.issn.0253-3626.2012.04.008

湿性老年性黄斑变性患者血浆脂联素水平的研究

王 隽,彭 惠,毛丹娜,付 鹏,银娟萍,雷 博

(重庆医科大学附属第一医院眼科、重庆市眼科学重点实验室,重庆 400016)

【摘要】目的:观察湿性老年性黄斑变性(Age-related macular degeneration,AMD)患者的血浆脂联素(Adiponectin,APN)水平及外周血单个核细胞的APN受体1、受体2的表达水平。方法:15个患者[平均年龄(69.07 ± 6.71)岁]和15个健康对照[平均年龄(64.2 ± 7.46)岁]纳入本研究。所有人都不患有糖尿病、高脂血症、肾脏疾病、冠心病、心脏功能衰竭、肾脏功能衰竭等疾病。血浆APN水平由ELISA测定。外周血单个核细胞的APN受体表达水平由Real-time PCR测定。采用Pearson相关分析处理两变量相关性分析,包括血浆APN分别与临床指标、APN受体表达水平、内环境稳态模型评估的胰岛素抵抗指数(Homoeostasis model assessment insulin resistance,HOMA-IR)。结果:病例组血浆APN水平明显低于对照组,分别是(1.18 ± 0.65) $\mu\text{g/ml}$ 和(2.00 ± 0.63) $\mu\text{g/ml}$, $P=0.002$ 。还发现病例组的血糖水平明显高于对照组,分别是(5.42 ± 0.64) mmol/L 和(4.79 ± 0.39) mmol/L , $P=0.003$ 。但是,2组的外周血单个核细胞的APN受体的mRNA表达水平差异无统计学意义($P>0.05$)。结论:血浆APN浓度在湿性AMD患者中是降低的,提示与APN相关的胰岛素抵抗可能存在于湿性AMD的病理性血管新生过程中。

【关键词】脂联素;胰岛素抵抗;脉络膜新生血管;湿性老年性黄斑变性

【中国图书分类法分类号】R774.5

【文献标志码】A

【收稿日期】2011-12-30

Plasma adiponectin level in patients with wet age-related macular degeneration

WANG Jun, PENG Hui, MAO Danna, FU Peng, YIN Juanping, LEI Bo

(Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University;

Key Laboratory of Ophthalmology in Chongqing)

【Abstract】Objective: To observe the level of plasma adiponectin (APN) in patients with wet age-related macular degeneration (wet AMD) as well as the expression levels of the APN receptors (AdipoR1 and AdipoR2) in peripheral blood mononuclear cells (PBMC). **Methods:** Fifteen patients with an average age of (69.07 ± 6.71) year-old (excluding patients with diabetes mellitus, hypertension, hyperlipidaemia, nephropathy, coronary heart disease, heart failure and renal failure) were enrolled as the case group while 15 healthy subjects with an average age of (64.2 ± 7.46) year-old were enrolled as the control group. The level of plasma APN was assessed by enzyme-linked immunosorbent assay and the expression levels of APN receptors in PBMC were examined by real-time quantitative PCR. The correlations between plasma APN and clinical indicators, the expression levels of APN receptors, homeostasis model assessment indexes of insulin resistance (HOMA-IR) were analyzed by Pearson's correlation. **Results:** APN concentrations in the case group were significantly lower than those in the control group [$(1.18 \pm 0.65) \mu\text{g/ml}$ vs. $(2.00 \pm 0.63) \mu\text{g/ml}$, $P=0.002$]. Blood glucose was significantly higher in the case group compared with those in the control group [$(5.42 \pm 0.64) \text{mmol/L}$ vs. $(4.79 \pm 0.39) \text{mmol/L}$, $P=0.003$]. However, there was no significant difference in mRNA levels of AdipoR1 and AdipoR2 in PBMC between the two groups ($P>0.05$). **Conclusion:** Plasma APN concentration is lower in patients with wet AMD, indicating that APN-related insulin resistance

作者介绍:王 隽(1985-),男,硕士,

研究方向:眼底病,眼外伤。

通信作者:彭 惠,女,教授,Email:pengh9@yahoo.com.cn。

基金项目:重庆市卫生局资助项目(编号:2010-02-073)。

[17] 徐丽丽,高世勇.细胞凋亡相关蛋白的研究进展[J].齐齐哈尔医学院学报,2008,29(11):1361-1362.

Xu L L, Gao S Y. Advances in study on cell apoptosis related protein[J]. Journal of Qiqihar Medical School, 2008, 29(11):1361-1362.

[18] 何子毅,孟庆勇.电离辐射与细胞凋亡[J].国外医学·放射医学核医学分册,2004,28(2):90-93.

He Z Y, Meng Q Y. Ionizing radiation and cell apoptosis[J]. Foreign Medi-

cal Sciences. Section of Radiation Medicine and nuclear Medicine, 2004, 28(2):90-93.

[19] Hai C X. Investigation of synergistic action of antioxidants and the traditional Chinese medicine[A]. In: National foundation committee CSTA Life Science and Biotechnology[M]. Beijing: Beijing publishing Co. of CS- TA, 1998:324-327.

(责任编辑:唐秋姗)