

电针丰隆穴对高脂血症大鼠巨噬细胞 ICAM-1、MCP-1 含量的影响

乐薇¹, 肖颖¹, 黄浩², 周利², 田佳玉¹, 陈盈芳¹

【摘要】 目的:观察电针丰隆穴对高脂血症大鼠炎症因子细胞间粘附分子(ICAM-1)、单核细胞趋化因子(MCP-1)含量的影响。方法:SD大鼠50只,随机分为空白对照组(A组)、模型对照组(B组)、模型饮控组(C组)、模型电针组(D组)、模型饮控+电针组(E组)各10只。干预60d后,测定血脂含量及ICAM-1、MCP-1的含量。结果:与A组比较,B组大鼠血浆胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL-C)含量明显上升(均 $P<0.01$),高密度脂蛋白(HDL-C)明显下降(均 $P<0.01$);C、D组大鼠血浆TC、LDL-C与B组比较均明显下降($P<0.05, 0.01$),但较A组均明显升高(均 $P<0.01$);E组大鼠血浆中TC、LDL-C含量均较B、C组明显降低(均 $P<0.01$)。除E组外,其余各组大鼠腹腔巨噬细胞及ICAM-1、MCP-1含量与A组比较均明显增加($P<0.05, 0.01$),且B、C组增加更为显著(均 $P<0.01$);与B、C组比较,E组巨噬细胞及ICAM-1、MCP-1含量显著下降(均 $P<0.01$)。结论:电针丰隆穴能够明显下调高脂血症大鼠血浆中的TC、LDL-C、巨噬细胞及ICAM-1、MCP-1的含量,从而达到对高脂血症的治疗作用。

【关键词】 电针;丰隆穴;高脂血症;巨噬细胞;胞间粘附分子-1、单核细胞趋化蛋白-1

【中图分类号】 R49;R543.5 **【DOI】** 10.3870/zgkf.2013.01.001

Effect of electroacupuncture at "Fenglong" (ST40) on ICAM-1 and MCP-1 in macrophages of rats with hyperlipidemia

LE Wei, XIAO Ying, HUANG Hao, et al. College of Acupuncture and Bone Fracture, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China

【Abstract】 Objective: To study the effect of electroacupuncture at the "Fenglong" on inflammatory factors ICAM-1 and MCP-1 of rats with hyperlipemia (HLP). Methods: Fifty health male SD rats were randomly divided into 5 groups: normal control group (A), model control group (B), model + normal diet group (C), model + electroacupuncture group (D), model + normal diet + electroacupuncture group (E) ($n=10$ each group). After intervention for 60 days, blood fat and the expression of ICAM-1 and MCP-1 were detected. Results: As compared with group A, the contents of TC and LDL-C were significantly increased and HDL-C significantly reduced in group B ($P<0.05, 0.01$). The contents of TC and LDL-C were significantly decreased in groups C and D as compared with group B, and those in groups B, C, D were significantly higher than in group A (all $P<0.01$). As compared with groups B and C, the contents of TC and LDL-C were significantly reduced in group E (all $P<0.01$). The number of macrophages, the expression levels of ICAM-1 and MCP-1 in groups B, C, D were obviously increased as compared with group A ($P<0.05, 0.01$), more significantly in groups B and C (all $P<0.01$). The number of macrophages, and the expression levels of ICAM-1 and MCP-1 in group E were obviously decreased as compared with group B and C (all $P<0.01$). Conclusion: Electroacupuncture at "Fenglong" can notably decrease the contents of TC and LDL-C, the number of macrophages, and the expression levels of ICAM-1 and MCP-1, thereby have therapeutical effect on hyperlipemia.

【Key words】 electroacupuncture; Point ST40 (Fenglong); hyperlipemia; macrophages; ICAM-1; MCP-1

高脂血症是指由于机体脂类代谢紊乱而导致血液中一种或几种脂质成分明显异常。能引起血液黏稠度

增加,血液流变学改变,而脂质在血管内皮沉积而引起动脉粥样硬化导致冠心病和周围血管病变,进而对整个个体系统产生严重损害。近年来高脂血症发病率逐年上升。目前临床对高脂血症治疗,主要采用他汀类、贝特类等调血脂类药物,疗效虽得到肯定,但需大剂量、长期服用,且易引起肝功能异常,影响患者治疗依从性,临床运用受到一定限制^[1]。非药物治疗法针刺等

基金项目:武汉市卫生局科研项目[武卫(2011)99号]

收稿日期:2012-10-31

作者单位:1. 湖北中医药大学针灸骨伤学院,武汉 430065;2. 武汉市中西医结合医院,武汉 430022

作者简介:乐薇(1981-),女,博士研究生,主要从事针灸穴位效应的基础研究。

治疗血脂异常疗效较为显著,显示出独特的优势^[2]。本研究通过电针丰隆穴治疗高脂血症模型大鼠,通过观察各组大鼠血脂水平及其腹腔巨噬细胞(macrophages, M ϕ)内细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion factor-1, ICAM-1)、单核细胞趋化因子(monocyte achemoattractant protein-1, MCP-1)的含量,明确电针在治疗高脂血症中的调控作用。

1 材料与方法

1.1 材料 ①实验动物:SPF级健康雄性SD大鼠50只,体质量(200±50)g[由湖北省动物实验中心提供,SCXK(鄂)2008-0004]。②仪器与试剂:Epics Altra II型流式分析仪(美国Beckman Coulter公司,Expo32v1.2分析软件),B4i/BR41型台式高速离心机(德国Heraeus公司),Thermo Scientific Series 8000型CO₂培养箱(美国Thermo Fisher Scientific公司),抗CD11b抗体(美国eBioscience公司)、ICAM-1抗体(英国ABCAM公司),MCP-1抗体(英国ABCAM公司),1640培养液、固定/破膜缓冲液、HANS-200型韩氏穴位神经刺激仪(南京济生医疗科技有限公司),健卫士牌不锈钢针灸针(中美合作泰成科技发展有限公司)。

1.2 方法 适应性喂养1周后,根据随机数字表将50只大鼠随机分为5组各10只。①空白对照组(A组),普通饲料喂养60d,期间不予任何治疗;②模型对照组(B组),高脂饲料喂养30d造模成功后^[3-4],再继续高脂饲料喂养30d,期间不予任何治疗;③模型饮控组(C组),造模成功后,改用普通饲料喂养30d,期间不予任何治疗;④模型电针组(D组),造模成功后,再继续高脂饲料喂养30d并同时给予针刺治疗,取穴参照《实验针灸学》^[5],选取双侧丰隆穴,模拟人体经穴定位,在大鼠膝关节外侧后三里下1mm,腓骨小头下约5mm处,用32号1cm针灸针直刺7mm,快速捻转后接韩式穴位神经刺激仪,等幅疏密波,频率2~100Hz,电流强度2mA,以动物肢体微颤为度,30min,每天1次,连续治疗30d;⑤模型饮控+电针组(E组),造模成功后,改用普通饲料喂养30d并同时给予针刺治疗,针刺方法及时间同D组。

1.3 检测指标 ①血脂水平:干预第61天,5组大鼠均禁食12h,不禁水。经颈动脉采血4~5ml,采用OLYMPUS AU2700型全自动生化分析仪,检测血浆中胆固醇(cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)的含量。②腹腔巨噬细胞(mac-

rophages, M ϕ)内炎症因子ICAM-1、MCP-1的含量:参照兰青等^[6]的方法提取大鼠腹腔巨噬细胞,将分离后的巨噬细胞液加至96孔U型板,0.2ml,加入PMA(5ng/ml)、ionomycin(500ng/ml)和莫能霉素(Monensin)(终浓度为2 μ M)置37℃、5%CO₂孵箱培养4h后收集细胞,PBS洗1次,调整细胞浓度1×10⁷/mL,50ul细胞加入抗CD11b抗体,4℃孵育30min,PBS洗2次,4%多聚甲醛固定4℃,30min。PBS洗2次,第2次用含0.1%的皂苷,0.1%BSA的PBS洗细胞,调整细胞浓度1×10⁷/mL,50ul细胞加入ICAM-1和MCP-1抗体,4℃孵育30min,PBS洗2次,PBS重悬细胞至0.3ml,流式细胞仪检测。

1.4 统计学方法 采用SPSS 17.0软件进行统计学处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,单因素方差分析(one-way-ANOVA),LSD检验,P<0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

干预60d后,与A组比较,B组大鼠血浆TC、LDL-C含量明显上升(P<0.01),HDL-C含量明显下降(P<0.01),而TG含量2组间比较差异无统计学意义;C、D组大鼠血浆TC、LDL-C含量与B组比较均明显下降(P<0.05, 0.01),但较A组均明显升高(P<0.01);E组大鼠血浆中TC、LDL-C分别与B、C组比较均明显降低(P<0.01),血浆TG和HDL-C比较均差异无统计学意义。见表1。

干预60d后,除E组外,其余各组大鼠腹腔巨噬细胞含量与A组比较,均有明显增加(P<0.05, 0.01),且B、C组增加更显著(P<0.01);与B组比较,D、E组巨噬细胞含量均明显下降(P<0.05, 0.01),且E组最低(P<0.01);E组大鼠巨噬细胞含量与C组比较,明显下降(P<0.01)。除E组外,其余各组大鼠腹腔巨噬细胞内ICAM-1、MCP-1与A组比较,均有明显升高(P<0.01, 0.05);与B组比较,C、D、E组ICAM、MCP-1含量均下降(P<0.05, 0.01),且E组下降更显著(P<0.01);与C组比较,E组ICAM、MCP-1含量均有显著下降(P<0.01)。见表2。

表1 5组大鼠血脂各项指标含量比较 mmol/L, $\bar{x} \pm s$

组别	n	TC	TG	HDL-C	LDL-C
A组	10	1.56±0.33	0.58±0.25	0.90±0.22	0.39±0.10
B组	10	11.03±3.02 ^b	0.66±0.23	0.64±0.13 ^b	5.50±1.12 ^b
C组	10	6.84±1.11 ^{bc}	0.63±0.17	0.67±0.15 ^a	3.58±0.76 ^{bc}
D组	10	4.99±0.65 ^{bdf}	0.64±0.19	0.68±0.19 ^a	1.29±0.44 ^{bdf}
E组	10	3.04±0.48 ^{bdf}	0.61±0.20	0.71±0.16	0.82±0.51 ^{df}

与A组比较,^aP<0.05,^bP<0.01;与B组比较,^cP<0.05,^dP<0.01;与C组比较,^eP<0.05,^fP<0.01

表2 5组大鼠巨噬细胞含量及巨噬细胞内 ICAM-1、MCP-1 含量比较 $\mu\text{g/g}$, $\bar{x} \pm s$

组别	n	CD11b	ICAM-1	MCP-1
A组	10	38.72±14.99	8.92±2.73	3.83±1.59
B组	10	71.85±19.74 ^b	60.01±4.82 ^b	28.66±11.37 ^b
C组	10	68.65±25.15 ^b	47.21±17.37 ^{bc}	20.01±5.79 ^{bc}
D组	10	52.99±11.43 ^{ac}	13.19±3.95 ^{ad}	17.41±5.51 ^{bc}
E组	10	47.25±18.37 ^{dc}	11.09±1.99 ^{df}	6.18±3.24 ^{df}

与A组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与B组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$;与C组比较,^e $P < 0.05$,^f $P < 0.01$

3 讨论

高脂血症属于中医学“痰浊”、“血瘀”等范畴。丰隆穴为足阳明胃经的络穴,别走足太阴脾经,是健脾和胃化痰的要穴。脾胃运行正常则痰无所生,所以本穴是治痰要穴。因“百病皆由痰作祟”、“脾为生痰之源”,故凡与痰有关的病证,均宜选用本穴。充分说明丰隆善治痰证的特点。

TC是人体生命活动中不可缺少的重要物质,它参与胆酸的形成,是构成细胞膜、合成激素的重要成分。但是若体内总TC的含量超过正常需要时,多余的脂质则会沉积在血管内皮下的巨噬细胞中,引起内膜变形,进而导致血小板在血管壁集聚、管腔变窄,引起动脉粥样硬化。LDL-C把TC从肝脏运送到全身组织,而HDL-C将各组织的TC送回肝脏代谢。当LDL-C,尤其是氧化修饰的LDL-C过量时,携带的TC便积存在动脉壁上,易引起动脉硬化。因此LDL-C被称为“坏的TC”^[7]。本研究结果显示经过30d后,C组的TC、LDL-C与B组比较均明显下降,同时E组大鼠血浆中TC、LDL-C与D组比较均明显降低,这符合“饮食控制是高脂血症治疗的基础”这一观点^[8],而与B组比较,D、E组的TC、LDL-C数值均有显著下降,说明电针对高脂血症的治疗具有明确效果。

巨噬细胞作为炎症阶段的主要吞噬细胞,它一方面造成脂质在血管壁中的堆积,导致斑块形成;另一方面巨噬细胞释放大量的炎症介质,加剧斑块形成及其后的斑块破裂^[9]。ICAM-1参与了炎症反应等许多重要的生理和病理反应,与高脂血症的发生、发展密切相关。血管内皮细胞分泌的ICAM-1可介导血液中的单核细胞黏附到激活的血管内皮细胞;损伤的血管内皮细胞还可分泌MCP-1,促使黏附的单核细胞进入血管壁并分化为巨噬细胞并分泌炎症细胞因子^[10],增加炎症细胞浸润,引起脂质在血管壁沉着,形成泡沫细胞及动脉粥样硬化斑块,造成动脉粥样硬化^[11-12]。MCP-1还可调节单核巨噬细胞表面黏附分子的表达和细胞因子的产生,通过调节单核巨噬细胞膜表面黏附分子

CD11/CD18表达,使其黏附性增强而加重组织损伤^[13]。

本研究结果显示,B组大鼠腹腔巨噬细胞及其内ICAM-1、MCP-1含量较A组显著升高,提示高脂血症大鼠处于炎症状态。从C组与B组的比较中可以看出,ICAM-1、MCP-1含量有所下降,但相对于E组的显著下降,说明单纯的饮食控制有其局限性,配合针刺疗效显著,而A组巨噬细胞及其内ICAM-1、MCP-1含量与E组比较差异无统计学意义,提示高脂血症大鼠在进行饮食控制和针刺治疗后体内炎症因子表达水平可发生逆转,与“单纯性脂肪性肝病和脂肪性肝炎可以逆转乃至完全恢复”观点一致^[7]。针刺治疗能抑制大鼠腹腔巨噬细胞促炎因子ICAM-1和MCP-1的释放,分析可能与抑制促炎因子的基因表达有关,也可能作用于促炎因子间的调节途径,达到降低上述炎症因子的含量,从而减轻炎症反应。

【参考文献】

- [1] Aronow WS. Management of hyperlipidemia with statins in the older patient[J]. Clin Interv Aging, 2006, 1(4): 433-438.
- [2] 张唐法, 王文俊, 张红星, 等. 电针丰隆穴治疗高脂血症的多中心观察[J]. 中国临床康复, 2006, 10(9): 17-19.
- [3] 吕建敏, 应华忠, 徐孝平, 等. 高脂血症动物模型研究进展[J]. 浙江中医学院学报, 2005, 29(4): 87-89.
- [4] 王琼, 乐薇, 覃鹏飞, 等. 三种高脂血症实验性大鼠模型比较[J]. 中国康复, 2010, 25(5): 330-331.
- [5] 邓春雷, 殷克敬. 实验针灸学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998, 147-148.
- [6] 兰青, 尹美珍, 李世普. 大鼠腹腔巨噬细胞的分离培养与鉴定[J]. 武汉理工大学学报, 2009, 31(9): 41-42.
- [7] 陆再英, 钟南山. 内科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008, 267-274, 435-436.
- [8] 胡荣, 吴学思, 贾士杰, 等. 饮食控制对高脂血症的治疗[J]. 心肺血管病杂志, 1998, 19(4): 18-20.
- [9] Stoll G, Bendszus M. Inflammation and atherosclerosis: novel insights into plaque formation and destabilization[J]. Stroke, 2006, 37(7): 1923-1932.
- [10] 王庆, 凌文华. C-反应蛋白与动脉粥样硬化不稳定性斑块[J]. 中山大学学报: 医学科学版, 2004, 25(1): 384-386.
- [11] Kher N, Marsh JD. Pathobiology of atherosclerosis a brief review[J]. Semin Thromb Hemost, 2004, 30(6): 665-672.
- [12] Apostolakis S, Papadakis EG, Krambovtties E, et al. Chemokines in vascular pathology[J]. Int J Mol Med, 2006, 17(5): 691-701.
- [13] Sneller MC, Fauci AS. Pathogenesis of vasculitis vasculitis syndromes[J]. Adv Rheumatol, 1997, 81(1): 221-242.