

论著 · 实验研究

白细胞介素-6在多柔比星肾病大鼠模型中的表达及意义

王丽敏 迟瑛娇 王丽娜 聂磊 邹艳红 赵塔娜 李春玉 陈梅 霍明霞

(佳木斯大学附属第一医院儿科,黑龙江 佳木斯 154003)

[摘要] **目的** 微小病变型肾病(MCNS)的发病机制目前尚不明确,故对其机制的研究显得尤为重要,该研究旨在探讨白细胞介素-6(IL-6)在多柔比星肾病大鼠模型中的表达和意义。**方法** 雄性Wistar大鼠83只随机分为正常组(32只)、肾病组(51只)。肾病组一次性尾静脉注射多柔比星5 mg/kg,建立多柔比星肾病模型,正常组注射等量生理盐水,于注射多柔比星后第7、14、28、42天检测各组大鼠24 h尿蛋白定量,并分批处死大鼠,采用酶联免疫吸附(ELISA)法检测各组大鼠不同时期尿液及肾组织中IL-6的表达。**结果** 肾病组大鼠尿蛋白排泄量随着注射后时间的延长逐渐增加,第7、14、28、42天与正常组比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。第7、14、28、42天肾病组大鼠肾组织及尿液中IL-6表达明显增加,与正常组比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。肾病组尿及肾组织中IL-6的表达与24 h尿蛋白的排泄量呈正相关($r = 0.794, P < 0.01; r = 0.870, P < 0.01$)。肾组织及尿液中IL-6的表达呈正相关($r = 0.739, P < 0.01$)。**结论** IL-6在MCNS大鼠尿液及肾脏组织中存在异常表达。IL-6可能在MCNS的发生发展中起重要作用。**[中国当代儿科杂志,2010,12(11):912-914]**

[关键词] 多柔比星肾病;白细胞介素-6;蛋白尿;大鼠
[中图分类号] R-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2010)11-0912-03

Expression of interleukin-6 in rat model of doxorubicin-induced nephropathy

WANG Li-Min, CHI Ying-Jiao, WANG Li-Na, NIE Lei, ZOU Yan-Hong, ZHAO Ta-Na, LI Chun-Yu, CHEN Mei, HUO Ming-Xia. Department of Pediatrics, First Hospital Affiliated to Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154003, China (Email: wanglimin6518@163.com)

Abstract: Objective The pathogenesis of minimal change nephrotic syndrome (MCNS) remains unclear. This study aimed to investigate the expression of interleukin-6 (IL-6) in rats with doxorubicin-induced nephropathy and its possible roles in the pathogenesis of MCNS. **Methods** Eighty-three male Wistar rats were randomly assigned into a control group ($n = 32$) and a nephropathy group ($n = 51$). Nephropathy was induced by a single tail vein injection of doxorubicin (5 mg/kg). The control group was injected with normal saline. Twenty-four-hour urinary protein excretion was measured 7, 14, 28 and 42 days after doxorubicin injection. IL-6 expression in urine and renal tissues was determined using ELISA 7, 14, 28 and 42 days after doxorubicin injection. **Results** The urinary protein excretion increased significantly in the nephropathy group 7, 14, 28 and 42 days after doxorubicin injection compared with that in the control group ($P < 0.01$). IL-6 expression in urine and renal tissues increased significantly 7, 14, 28 and 42 days after doxorubicin injection compared with that in the control group ($P < 0.01$). IL-6 expression in urine and renal tissues was positively correlated with 24-hour urinary protein excretion in the nephropathy group ($r = 0.794, P < 0.01; r = 0.870, P < 0.01$). IL-6 expression in urine was positively correlated with that in renal tissues ($r = 0.739, P < 0.01$). **Conclusions** IL-6 expression in the urine and renal tissues is increased in MCNS rats. IL-6 might play an important role in the pathogenesis of MCNS.

[Chin J Contemp Pediatr, 2010, 12 (11):912-914]

Key words: Doxorubicin-induced nephropathy; Interleukin-6; Proteinuria; Rats

微小病变型肾病综合征(minimal change nephrotic syndrome, MCNS)是肾病综合征常见的病理类型。肾病综合征的特点是大量蛋白尿、低蛋白血症、水肿及高脂血症,其中大量蛋白尿是主要特点,持续大量的蛋白尿会导致肾小球硬化和肾功能恶化,但其病因及发病机制尚未完全明了。白细胞介素-6(IL-6)被称为功能细胞因子,是参与免疫调节和炎症反应的重要细胞因子之一^[1]。现已证实,肾

[收稿日期]2010-03-06;[修回日期]2010-04-06
[作者简介]王丽敏,女,硕士,主任医师,教授。

脏系膜细胞、上皮细胞和肾小管上皮细胞都可分泌 IL-6,IL-6 能通过旁分泌或自分泌形式与肾小球系膜细胞上的 IL-6 受体结合,促进肾脏系膜细胞增多和基质增生,使肾小球滤过膜增厚^[2-3],最终导致肾小球硬化^[4]。IL-6 也可诱导血管内皮细胞表达粘附因子和促凝血因子,粘附炎症细胞,促进血管内血栓形成,增加毛细血管通透性^[5],引起肾小球微血管改变,从而增加肾小球滤过率,增加尿蛋白排泄量。本研究通过制备大鼠多柔比星肾病模型,模拟人类 MCNS 检测 IL-6 在 MCNS 大鼠中的异常表达和分布,探讨其在 MCNS 特别是蛋白尿发生中的可能作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

雄性 Wistar 大鼠 83 只,由佳木斯大学动物实验中心提供,体重 90 ~ 120 g。随机分为正常组(32 只)、肾病组(51 只)。参照王峥等^[6]方法予肾病组尾静脉单次注射多柔比星 5 mg/kg,收集大鼠 24 h 尿液,进行 24 h 尿蛋白定量检测,并在处死大鼠前采血检测血清白蛋白及胆固醇,经肾组织切片苏木精-伊红染色证实,且 24 h 尿蛋白 >30 mg 为模型成功。不符合者 5 只予以剔除,实验过程中死亡 2 只。正常组尾静脉单次注射等量生理盐水。于注射多柔比星后 7、14、28、42 d 分别留取大鼠尿液进行 24 h 尿蛋白检测,收集一部分尿液离心取上清液冻存以

备做 IL-6 的检测,分批处死大鼠。留取左肾,进行组织学病理观察。右肾进行组织匀浆,离心取上清液以备做 IL-6 的检测。

1.2 方法

1.2.1 24 h 尿蛋白及血生化测定 采用全自动生化分析仪检测 24 h 尿蛋白量及血清白蛋白及胆固醇水平。

1.2.2 肾组织及尿中 IL-6 检测 采用 ELISA 法检测。试剂盒购于武汉博士德生物有限公司,由专人严格按试剂盒说明书操作,冷冻尿及肾组织匀浆标本均于常温下再次以 2 000 r/min 离心 10 min 后使用,选取 7 个标准孔,另加空白对照和质控,在 450 nm 波长用空白对照管校零读取吸光值,绘制标准曲线,计算尿及肾组织中 IL-6 的浓度,结果以 pg/mL 表示。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计学软件进行统计学分析,结果以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间差异采用 *t* 检验,两变量间关系采用相关分析,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 24 h 尿蛋白定量及尿液中 IL-6 表达的比较

肾病组大鼠尿蛋白及尿中 IL-6 的排泄量随时间推移逐渐增加,且与正常组相比差异具有统计学意义(*P* < 0.01)。见表 1。

表 1 正常组和肾病组大鼠不同时期尿蛋白、尿 IL-6 的定量 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	24 h 尿蛋白定量(mg)				尿 IL-6 (pg/mL)			
		7 d	14 d	28 d	42 d	7 d	14 d	28 d	42 d
正常组	8	6.3 ± 1.3	6.1 ± 1.2	6.3 ± 1.2	6.5 ± 1.2	11.4 ± 2.0	11.8 ± 1.8	12.0 ± 2.2	11.6 ± 1.8
肾病组	11	42.1 ± 5.1	121.8 ± 8.3	202.8 ± 12.1	265.6 ± 17.7	21.3 ± 4.4	27.7 ± 5.1	37.3 ± 4.5	48.6 ± 4.4
<i>t</i> 值		6.3	5.4	5.2	5.2	12.1	10.1	8.7	7.6
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

2.2 不同时期肾组织中 IL-6 含量的比较

肾病组大鼠不同时期肾组织 IL-6 的表达较正常组相比均明显增加,差异有统计学意义,*P* < 0.01。见表 2。

表 2 肾组织中 IL-6 表达的比较 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	鼠数	7 d	14 d	28 d	42 d
正常组	8	90 ± 10	89 ± 10	91 ± 9	90 ± 10
肾病组	11	125 ± 10	186 ± 14	234 ± 15	293 ± 17
<i>t</i> 值		13.6	12.4	10.3	8.7
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

2.3 相关分析

肾病组尿蛋白排泄量与尿及肾组织中 IL-6 呈正相关(*r* = 0.794, *r* = 0.870, *P* < 0.01);肾组织及尿中 IL-6 的表达呈正相关(*r* = 0.739, *P* < 0.01)。

2.4 血生化结果

肾病组各个时间点血清白蛋白较正常组明显降低、血清胆固醇明显增高,差异具有统计学意义(*P* < 0.01)。

2.5 肾组织切片苏木精-伊红染色

正常组肾小球结构正常,毛细血管腔开放,细胞

外基质无明显增多,系膜细胞无增生,肾小管腔内未见蛋白管型;肾病组肾小球毛细血管腔扩张,有充血,细胞外基质明显增多,基底膜增厚,系膜细胞增生,肾小管腔内可见蛋白管型。见图1。

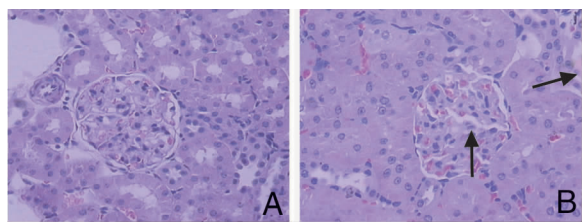


图1 肾组织切片苏木精-伊红染色结果(×200) A为正常组,正常肾组织结构;B为肾病组,肾小管腔内可见蛋白管型(箭头所指)。

3 讨论

IL-6 是体内许多细胞产生的一种具有多种生物学活性的刺激因子,其作为机体复杂的细胞因子网络中的重要成员,在一些疾病的发生发展中起着关键作用^[7]。徐佳等^[8]的研究表明 IL-6 在病理模型组中主要表达在肾小管上皮细胞和细胞核,而在肾小球内亦可见阳性的表达。本实验结果显示在注射多柔比星 7 d 后肾病组大鼠尿蛋白及尿中 IL-6 的排泄量均增加,14 ~ 28 d 持续上升,42 d 达到高峰;24 h 尿蛋白量在各时期的表达量均明显高于正常组,尿液中及肾组织中 IL-6 的浓度与 24 h 尿蛋白量均呈正相关,且尿液中 IL-6 的表达与肾组织中 IL-6 的表达也呈正相关。这就表明,尿液中 IL-6 的表达与肾脏的损害程度密切相关。已有研究证实,肾脏许多固有细胞如系膜细胞、肾小球上皮细胞和间质细胞等均可产生 IL-6,且 IL-6 在肾脏局部又能刺激系膜细胞增殖并分泌其他细胞因子和胶原等并进而影响疾病进展^[9],在病理情况下,这些细胞 IL-6 的

产生增多,参与肾脏病理生理过程,并从尿中排出。这也解释了在尿 IL-6 增高的 MCNS 患者中,大量蛋白尿的发生率较高,肾脏病理改变也较严重的原因。这与本实验研究结果相一致。

本研究建立的动物模型较好地模拟了人类 MCNS,并发现了 IL-6 表达的动态变化规律及其与蛋白尿的关系。本实验发现尿液及肾组织中 IL-6 与 24 h 蛋白尿呈正相关,尿中与肾组织中 IL-6 的表达呈正相关,故尿中 IL-6 的水平能反映出肾组织中 IL-6 的水平,不失为监测 MCNS 病情变化的新的、有效的指标。

[参 考 文 献]

[1] 田彬,范伏元. 健脾益肾颗粒剂对脾肾阳虚型慢性肾炎患者尿 IL-6 水平的影响[J]. 湖南中医药大学学报,2008,28(4):50-52.

[2] 余咏文,张强英. 原发性肾病综合征患儿足量激素治疗前后血、尿白细胞介素-6 检测的意义[J]. 实用儿科临床杂志,2006,21(5):286-287.

[3] Mora C, Navarro JF. Inflammation and diabetic nephropathy[J]. Curr Diab Rep, 2006, 6(6):463-468.

[4] Moura IC, Benhamou M, Launay P, Vrtovsnik F, Blank U, Monteiro RC. The glomerular response to IgA deposition in IgA nephropathy[J]. Semin Nephrol, 2008, 28(1):88-95.

[5] Mantovani A, Bussolino F, Intrano M. Cytokine regulation of endothelial cell function: from molecular level to the bedside[J]. Immunol Today, 1997, 18(5):231-240.

[6] 王峥,王增贵,刘震,谭永淑. 多柔比星诱发大鼠肾病模型的实验研究[J]. 华西医科大学学报,1990, 21(4):430-432.

[7] 张亚丽,董琳,陈小芳. TNF- α -308G/A 和 IL-6-174G/C 基因多态性与呼吸道合胞病毒毛细支气管炎的相关性[J]. 中国当代儿科杂志,2009,11(10):821-824.

[8] 徐佳,崔蕊. IgA-I 号治疗 IgA 肾病肾组织 IL-1 β ,IL-6 检测分析[J]. 黑龙江医学,2008,9(32):663-664.

[9] 杨森,陈双峰,刘伟,耿迎春,孙新中. T 细胞亚群、IL-6 在 IgA 肾病患者扁桃体摘除术后的应用价值[J]. 医学检验与临床,2007, 18(2):53-54.

(本文编辑:王霞)