

儿童紫癜性肾炎巨噬细胞移动抑制因子表达及意义

郑雯洁 陈敏广 陈晓英 杨青 林瑞霞

(温州医学院附属育英儿童医院肾内科,浙江 温州 325027)

[摘 要] 目的 探讨巨噬细胞移动抑制因子(MIF)在紫癜性肾炎(HSPN)患儿中的表达变化及意义。方法 应用免疫组织化学法检测不同程度病理损害 HSPN 组 and 对照组(薄基底膜病)肾组织标本中 MIF 的表达,并分析与 24 h 尿蛋白定量的相关关系。结果 对照组肾脏仅有微弱的 MIF 表达,HSPN 组的 MIF 表达增加,且随病理分级的加重而增强。HSPN 病理Ⅲ~Ⅳ级组、Ⅰ~Ⅱ级组的肾活检组织 MIF 阳性强度均较对照组显著增强($P<0.01$); Ⅲ~Ⅳ级组的肾活检组织 MIF 阳性强度较Ⅰ~Ⅱ级组显著增强($P<0.01$)。在伴有新月体、炎性细胞浸润的肾组织中 MIF 表达增加明显。HSPN 肾组织 MIF 表达与 24 h 尿蛋白定量具有显著相关性($P<0.01$)。结论 MIF 在介导 HSPN 肾损害中可能起着重要作用,其表达上调可作为反映 HSPN 肾病理损害程度的指标。

[中国当代儿科杂志,2010,12(2):120-122]

[关键词] 巨噬细胞移动抑制因子;紫癜性肾炎;儿童

[中图分类号] R692.3⁺4 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2010)02-0120-03

Renal expression of macrophage migration inhibitory factor in children with Henoch-Schönlein purpura nephritis

ZHENG Wen-Jie, CHEN Min-Guang, CHEN Xiao-Ying, YANG Qing, LIN Rui-Xia. Department of Nephrology, Yuying Children's Hospital Affiliated to Wenzhou Medical College, Wenzhou, Zhejiang 325027, China (Email:wzjzheng@sina.com)

Abstract: Objective To examine the expression of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in renal tissues obtained from children with Henoch-Schönlein purpura nephritis (HSPN). **Methods** The renal tissue samples were obtained from 11 children with different pathological grades of HSPN and 8 children with thin glomerular basement membrane disease (controls). The MIF expression was measured by immunohistochemistry. The correlation between MIF expression and 24 hrs urinary protein excretions was evaluated using a linear correlation analysis. **Results** MIF expression was seldom found in renal tissues obtained from controls. However, a significantly increased MIF expression was found and was concordant with the increased severity of renal pathology in renal tissues obtained from children with HSPN. The MIF expression in renal tissues of grade Ⅲ-Ⅳ of renal pathology was significantly higher than that in grade Ⅰ-Ⅱ in children with HSPN ($P<0.01$). In children with HSPN, there was an increased MIF expression in renal tissues with crescent formation and inflammatory cell infiltration. Renal MIF expression was significantly positively correlated with 24 hrs urinary protein excretions in children with HSPN ($P<0.01$). **Conclusions** MIF may play an important role in renal injury of HSPN. Up-regulation of MIF expression may reflect the degree of renal lesions in HSPN.

[Chin J Contemp Pediatr, 2010, 12 (2):120-122]

Key words: Macrophage migration inhibitory factor; Henoch-Schonlein purpura nephritis; Child

紫癜性肾炎(Henoch-Schönlein purpura nephritis, HSPN)是儿科常见的继发性肾小球疾病,部分远期预后不良。迄今为止,它的病因和发病机制尚未明确。巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)是一种含 115 个氨基酸的蛋白质,主要来自 T 细胞和单核巨噬细胞。1996 年, Lan 等^[1]首次报道,在实验性抗肾小球基底膜肾

炎大鼠肾组织中, MIF 表达上调与肾脏病理损伤和尿蛋白量呈正相关,与肌酐清除率呈负相关。目前国内尚无 MIF 在不同程度病理损伤儿童 HSPN 肾组织中表达的报道,为了探讨 MIF 在 HSPN 发生发展中可能起的作用,本研究采用免疫组化法检测 MIF 在 HSPN 肾组织内的表达情况,报道如下。

[收稿日期]2009-09-11;[修回日期]2009-10-16
[基金项目]温州市科技局一般项目(Y20090085)。
[作者简介]郑雯洁,女,硕士研究生,主治医师。

1 资料与方法

1.1 一般资料

研究病例均来自2006年10月至2008年5月在我院住院经肾活检证实的HSPN患儿,共11例,男4例,女7例,平均年龄 9.1 ± 3.5 岁。病理诊断及分级参照ISKDC分类标准^[2],其中Ⅱa级5例(45%),Ⅱb级1例(9%),Ⅲa级2例(18%),Ⅲb级2例(18%),Ⅳa级1例(9%)。肾穿前一天收集每位患儿的24 h尿进行蛋白定量检测。对照组为8例薄基底膜病患儿,男3例,女5例,年龄6~15岁,平均年龄 8.9 ± 3.2 岁。该组患儿肉眼和光学显微镜下均无肾病理学异常改变,年龄、性别与HSPN组差异无显著性($P > 0.05$)。

1.2 方法

采用免疫组织化学法检测肾活检组织MIF,一抗采用美国Santa Cruz公司的兔抗人MIF多克隆抗体,二抗采用北京中杉公司试剂盒,检测方法按试剂盒说明书进行。取石蜡切片脱蜡、水化,用0.01M PBS(pH 7.4,含0.05%的Tween-20)冲洗3次,切片置柠檬酸缓冲液(pH 6.0)高压修复2~3 min,自然冷却。再次PBS冲洗3次,3% H₂O₂浸泡10 min以消除内源性过氧化物酶。PBS冲洗3次后滴加一抗(1:100),4℃孵育过夜。复温(室温)20 min,PBS冲洗3次后滴加生物素标记的二抗,37℃孵育20 min。

PBS冲洗后DAB显色至显微镜下出现着色清晰、境界明确的棕黄色阳性产物,约1.5~2 min,流水冲洗10 min。苏木素复染1 min,梯度酒精脱水、二甲苯透明、中性树胶封片。封片,自然晾干,尽快观察与摄片。在统一放大倍数(×400)下,随机选取4个视野摄片后,用美国IPP 5.0分析软件行图像分析,测定IOD值进行比较。

1.3 统计学处理

全部数据经SPSS 11.5统计软件进行分析,数据均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组资料间比较采用单因素方差分析,方差齐者采用LSD检验,方差不齐者采用Tamhane's T2检验,各参数间的相关性分析采用Spearman等级相关分析。

2 结果

2.1 肾组织中MIF的表达

对照组仅在个别肾小球、肾小管间质中见到散在点状MIF阳性信号。HSPN患儿肾小球及肾小管间质中可见斑点状分布的MIF阳性信号,随病理损害程度加重阳性信号表达明显增强(图1)。MIF可见于毛细血管内皮细胞、脏层上皮细胞及炎性细胞中,且在新月体中也有MIF的表达。在伴新月体的肾小球中MIF表达明显增加,MIF阳性信号在细胞性新月体强于纤维细胞性新月体。

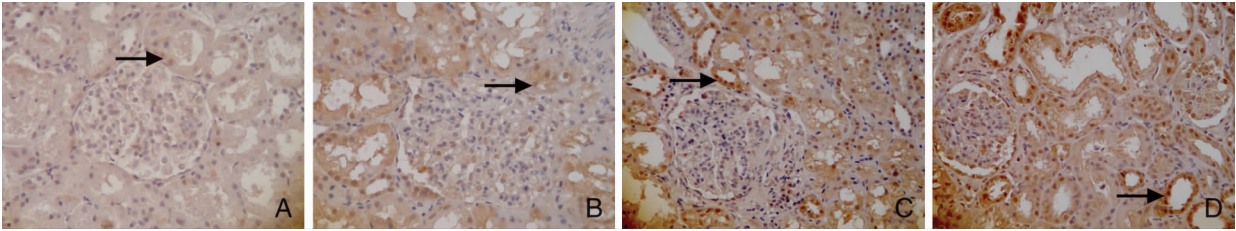


图1 肾组织中MIF的表达(×400) A:对照组仅个别肾小球、肾小管间质中见到散在点状MIF阳性信号;B:HSPN病理Ⅱ级的肾小球、肾小管间质中可见斑点状分布的MIF阳性信号;C:HSPN病理Ⅲ级MIF阳性信号增强;D:HSPN病理Ⅳ级MIF阳性信号明显增强。箭头所指为肾活检组织MIF阳性表达。

2.2 肾组织MIF表达与ISKDC肾病理分级的关系

随病理分级增加,肾小球和肾小管间质区域的MIF阳性信号明显增多,HSPN病理Ⅲ~Ⅳ级组、Ⅰ~Ⅱ级组的肾活检组织MIF阳性强度较对照组显著增强(均 $P < 0.01$);Ⅲ~Ⅳ级组的肾活检组织MIF阳性强度较Ⅰ~Ⅱ级组显著增强($P < 0.01$)。见表1。

表1 肾组织MIF的表达 ($\bar{x} \pm s$)			
组别	例数	肾小球区 IOD ($\times 10^3$)	肾小管间质区 IOD ($\times 10^3$)
对照组	8	137.9 ± 30.2	111.3 ± 12.8
ISKDC Ⅰ~Ⅱ级组	6	242.7 ± 41.4 ^a	238.4 ± 26.7 ^a
ISKDC Ⅲ~Ⅳ级组	5	468.6 ± 92.0 ^{a,b}	421.8 ± 63.8 ^{a,b}

a:与对照组比较, $P < 0.01$;b:与Ⅰ~Ⅱ级组比较, $P < 0.01$

2.3 HSPN 肾组织 MIF 表达与 24 h 尿蛋白定量的 相关关系

HSPN 组患儿 24 h 尿蛋白定量与肾小球 MIF 表达呈显著正相关($r = 0.95$, $P < 0.01$), 与肾小管 MIF 表达亦呈显著正相关($r = 0.91$, $P < 0.01$)。

3 讨论

MIF 是一种强有力的炎症前细胞因子, 是免疫和炎症反应中的关键成分^[3]。它主要通过吸引巨噬细胞在炎症局部的浸润, 抑制其移动, 使其增生、活化、分泌细胞因子如肿瘤坏死因子- α 、白介素-1 及一氧化氮, 导致肾脏损伤^[4], 而活化的巨噬细胞可自分泌 MIF, 加重肾组织炎症反应, 形成恶性循环。

研究显示, 在非增殖性肾炎(如微小病变、膜性肾病)中, 肾组织 MIF 表达无明显变化, 巨噬细胞和 T 淋巴细胞浸润也不明显; 而在增殖性肾炎(如狼疮性肾炎、新月体肾炎、系膜毛细血管性肾炎、IgA 肾病)中, 无论肾小球还是肾小管的 MIF 表达均显著增加^[5-6]。本研究结果发现随 HSPN 的病理损害程度的加重, 肾脏病理分级的增加, 肾小球和肾小管间质内 MIF 的表达明显增多, 且在病变越严重的部位 MIF 表达水平也越明显增多, 提示肾组织 MIF 表达与紫癜性肾炎肾脏局部病理损害和病变严重程度有关。同时本研究还发现伴新月体的肾小球中 MIF 表达明显增加, 细胞性新月体阳性信号强于纤维细胞性新月体, 提示 MIF 可能通过巨噬细胞在 HSPN 肾组织内的积聚参与了新月体的形成。Yang 等^[7]报道, 在新月体肾炎大鼠模型使用抗 MIF 中和抗体治疗的大鼠, 可明显减少蛋白尿, 使肾组织病理损害减轻(包括新月体形成), 证明了 MIF 在新月体形成中发挥关键作用。

HSPN 患儿肾组织内 MIF 表达上调的机制尚不清楚。在对病理上与 HSPN 极为相似的 IgA 肾病研究中发现^[8], IgA 聚合物可诱导人肾小球系膜细胞产生 MIF, 抗 MIF 治疗则可有效改善 IgA 肾病动物模型的肾损害, 故推测多聚 IgA 可能是导致 HSPN 肾组织内 MIF 表达增加的重要原因。此外研究显示用干扰素- γ 可刺激肾组织内固有细胞显著增加 MIF 的表达水平, 在 HSPN 患者血清中干扰素- γ 显著升高, 可能是 HSPN 中 MIF 高表达的另一重要原因^[9]。

蛋白尿是肾脏疾病最常见的病理生理改变, 不仅是肾小球滤过屏障受损的重要标志, 且作为一个独立因素参与肾脏病变过程。持续性蛋白尿会造成慢性肾脏病的进展, 且蛋白尿水平与慢性肾衰竭进展速度密切相关^[10]。本研究结果发现 HSPN 患儿肾 MIF 表达与尿蛋白定量显著相关, 更进一步提示肾 MIF 可作为判断病情的一项指标。

综上所述, MIF 在介导 HSPN 肾损害中可能起着重要作用, 其上调表达可作为反映 HSPN 肾损害程度的指标。

[参 考 文 献]

[1] Lan HY, Mu W, Yang N, Meinhardt A, Nikolic-Paterson DJ, Ng YY, et al. De novo renal expression of macrophage migration inhibitory factor during the development of rat crescentic glomerulonephritis[J]. Am J Pathol, 1996, 149(4):1119-1127.

[2] 中华医学会儿科学分会肾脏病学组. 紫癜性肾炎的诊断与治疗(草案)[J]. 中国实用儿科杂志, 2003, 18(3):189-189.

[3] Matsumoto K, Maruyama N, Maruyama T, Ohnishi Y, Nonaka S, Inoshita A, et al. Elevated macrophage migration inhibitory factor (MIF) levels in the urine of patients with focal glomerular sclerosis[J]. Clin Exp Immunol, 2005, 139(2):338-347.

[4] Bozza M, Satoskar AR, Lin G, Lu B, Humbles AA, Gerard C, et al. Targeted disruption of migration inhibitory factor gene reveals its critical role in sepsis[J]. J Exp Med, 1999, 189(2):341-346.

[5] Lan HY, Yang N, Nikolic-Paterson DJ, Yu XQ, Mu W, Isbel NM, et al. Expression of macrophage migration inhibitory factor in human glomerulonephritis[J]. Kidney Int, 2000, 57(2):499-509.

[6] 张雪光, 师锁柱, 陈香美, 尹忠, 李建军. 巨噬细胞移动抑制因子在 IgA 肾病中的表达及意义[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2006, 15(3):313-318.

[7] Yang N, Nikolic-Paterson DJ, Ng YY, Mu W, Metz C, Bacher M, et al. Reversal of established rat crescentic glomerulonephritis by blockade of macrophage migration inhibitory factor(MIF): potential role of MIF in regulating glucocorticoid production[J]. Mol Med, 1998, 4(6):413-424.

[8] Leung JC, Tang SC, Chan LY, Tsang AW, Lan HY, Lai KN. Polymeric IgA increases the synthesis of macrophage migration inhibitory factor by human mesangial cells in IgA nephropathy[J]. Nephrol Dial Transplant, 2003, 18(1):36-45.

[9] Tesch GH, Nikolic-Paterson DJ, Metz CN, Mu W, Bacher M, Bucala R, et al. Rat mesangial cells express macrophage migration inhibitory factor in vitro and in vivo[J]. J Am Soc Nephrol, 1998, 9(3):417-424.

[10] Jafar TH, Stark PC, Schmid CH, Landa M, Maschio G, Marcantonio C, et al. Proteinuria as a modifiable risk factor for the progression of non-diabetic renal disease[J]. Kidney Int, 2001, 60(3):1131-1140.

(本文编辑:黄 榕)