用[J]. 免疫学杂志, 2001, 17(3): 845-848.
[2] Munn D H, Sharma M D, Lee J R, *et al*. Potential regulatory function of human dendritic cells expressing indoleamine 2, 3-dioxygenase [J]. Science, 2002, 297(5588): 1867-1870.
[3] HIRAO M, ONAI N, HIROISHI K, *et al*. CC chemokine receptor-7 on dendritic cells is induced after interaction with apoptotic tumor cells: critical role in migration from the tumor site to draining lymph nodes [J]. Cancer Res, 2000, 60(18): 2209-2217.
[4] RIVOLTINI L, CASTELLI C, CARRABBA M, *et al*. Human tumor-derived heat-shock protein 96 mediates *in vitro* activation and *in vivo* expansion of melanoma- and colon carcinoma-specific T cells [J]. J Immunol, 2003, 171(7): 3467-3474.
[5] MAZZAFERRO V, COPPA J, CARRABBA M G, *et al*. Vaccination with autologous tumor-derived heat-shock protein gp96 after liver resection for metastatic colorectal cancer [J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(9): 3235-3245.
[6] KIDD P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease [J]. Altern Med Rev, 2003, 8(3): 223-246.
[7] HU S, YU Y, ZHANG M, *et al*. The involvement of TNF-alpha related apoptosis-inducing ligand in the enhanced cytotoxicity of IFN-beta-stimulated human dendritic cells to tumor cells [J]. J Immunol, 2001, 166(9): 5407-5415.
[8] HSU F J, BENIKE C, FAGNONI F, *et al*. Vaccination of patients with B-cell lymphoma using autologous antigen-pulsed dendritic cells [J]. Nat Med, 1996, 2(1): 52-58.
[9] LAU R, WANG F, JEFFERY G, *et al*. Phase I trial of intravenous peptide-pulsed dendritic cells in patients with metastatic melanoma [J]. J Immunother, 2001, 24(1): 66-78.
[10] HEISER A, COLEMAN D, DANNULL J, *et al*. Autologous dendritic cells transfected with prostate-specific antigen RNA stimulate CTL responses against metastatic prostate tumors [J]. J Clin Invest, 2002, 109(3): 409-417.
[11] MARTEN A, FLIEGER D, RENOTH S, *et al*. Therapeutic vaccination against metastatic renal cell carcinoma by autologous dendritic cells: preclinical results and outcome of a first clinical phase I/II trial [J]. Cancer Immunol Immunother, 2002, 51(11-12): 637-644.
[12] 张 坤, 金佩武, 高明普, 等. 胃癌患者外周血 DCs 细胞表型变化研究[J]. 第三军医大学学报, 2004, 26(13): 1207-1209.
[13] 江 波, 金佩武, 郝 群, 等. 临床用的抗肿瘤树突状细胞疫苗的制备及保存[J]. 第三军医大学学报, 2004, 26(14): 1314-1316.
[14] 赵永忠, 金佩武, 李志民, 等. gp96 多肽复合物树突状细胞疫苗诱导的体外抗胃癌实验研究[J]. 中华普通外科杂志, 2005, 20(12): 786-788.
[15] 雷 晓, 金佩武, 石 彦, 等. 树突状细胞肿瘤疫苗诱导抗胃癌作用的实验研究[J]. 中华胃肠外科杂志, 2002, 5(1): 45-48.
[16] 汪 波, 金佩武, 郝 群, 等. 树突状细胞疫苗对胃癌患者术后免疫功能影响的初步观察[J]. 中华胃肠外科杂志, 2004, 7(4): 301-304.

(编辑 陈聪连)

文章编号:1000-5404(2006)05-0383-01

个案与短篇

慢性马兜铃酸肾病大鼠模型肾组织中差异蛋白质的筛选

孙世仁[1], 宁晓暄[2], 陈 威[1] (第四军医大学西京医院:[1]肾脏内科,[2]老年病科,西安 710032)

马兜铃酸肾病(aristolochic acid nephropathy, AAN)在临床上十分常见,对人们的身体健康带来极大的危害。目前马兜铃酸导致肾损害的分子机制不清楚[1],其早期诊断尚无法解决,更谈不上有效的药物治疗[2]。因此,为了阐明马兜铃酸肾损害的分子机制,我们通过建立慢性马兜铃酸肾病模型,用双向电泳技术筛选和比较模型动物肾组织中马兜铃酸诱导的差异蛋白质分子,为进一步确定马兜铃酸导致肾损害的分子靶点奠定基础。

1 材料与方法

1.1 慢性马兜铃酸肾病动物模型的建立

20~24周龄 Wistar 雌性大鼠 35 只,体质量 190~210 g,由第四军医大学实验动物中心提供。将大鼠分为马兜铃酸组($n=30$);每天腹腔注射马兜铃酸 5 mg/kg 体重。对照组($n=5$),每天大鼠腹腔内注射生理盐水 2 ml[3]。

1.2 蛋白质样品的准备

在用药开始后第12周处死大鼠,取其肾脏,制备蛋白样品。

1.3 双向电泳(2-D PAGE)

首先进行等电聚焦,然后进行 SDS-PAGE 电泳,最后用硝酸银染色方法对凝胶染色。凝胶通过 Imagescanner 扫描仪以及 LabScan 扫描软件进行扫描获取图像,利用 PDQUEST 图像分析软件对电泳结果进行分析。

2 结果

2.1 慢性马兜铃酸肾病模型的建立

马兜铃酸组用药后8周,肾小球、肾小管-间质、肾血管均未见损害;用药后12周,肾小球未见改变,部分肾小管上皮细胞发生空泡变性;用药后16周,肾脏近曲小管上皮细胞明显肿

(下转386页)

基金项目:西京医院科技创新基金资助课题(XJCX05M04)
Supported by the Research Foundation for Sci & Tech Innovation of Xijing Hospital(XJCX05M04)
作者简介:孙世仁(1971-),男,甘肃省静宁县人,硕士,主治医师,讲师,主要从事肾小管-间质疾病的临床与基础方面的研究,发表论文10余篇。电话:(029)84775197,E-mail:ningsun@fmmu.edu.cn
收稿日期:2005-03-17;修回日期:2005-09-12

表达降低，其自然分泌的 IL-12 不能有效拮抗其微环境中 IL-4 和 IL-10 的作用，致使 Th1 的发育受到一定的阻碍。

将 rhseIL-12 基因转染 DCs 后，实验结果显示，DCs 表面分子的表达明显提高，从而在免疫突触局部放大初始免疫信号；IL-12 的分泌量明显提高，表明 rhseIL-12 基因转染 DCs 后能更加有效地激活 T 细胞。在混合淋巴细胞反应中，rhseDC 组 T 细胞分泌的 Th1 型细胞因子 IFN-γ 的水平明显上升，Th2 型细胞因子 IL-4 显著下降，提示 IL-12 转染的 DCs 可向着有利于 Th1 细胞分化的方向发育，抑制向 Th2 分化，从而启动细胞性免疫应答。由于大多数肿瘤患者的 Th1 反应明显降低，因此 rhseIL-12 转染 DCs 可纠正上述偏移[7]。实验结果表明 IL-12 基因转染 DCs 的生物佐剂效应较单纯 DCs 更强，在其装载肿瘤相关的抗原后，可能成为一种值得探索的抗肿瘤治疗性疫苗。

参考文献：

[1] SNIJDERS A, KALINSKI P, HILKENS C M, *et al*. High-level IL-12 production by human dendritic cells requires two signals [J]. Int Immunol, 1998, 10(11): 1593-1598.

[2] SAMBROOK J, FRITSCH E F, MINIATIS T. Molecular cloning: a laboratory manual [M]. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989.

[3] WILLETT B J, CANNON C A, HOSIE M J, *et al*. Up-regulation of surface feline CXCR4 expression following ectopic expression of CCR5: implications for studies of the cell tropism of feline immunodeficiency virus [J]. J Virol, 1995, 76(18): 9242-9252.

[4] SOIFER H, HIGO C, LOGG C R, *et al*. A novel, helper-dependent, adenovirus-retrovirus hybrid vector: stable transduction by a two-stage mechanism [J]. Mol Ther, 2002, 5(5 Pt 1): 599-608.

[5] MAZZOLINI G, ALFARO C, SANGRO B, *et al*. Intratumoral injection of dendritic cells engineered to secrete interleukin-12 by recombinant adenovirus in patients with metastatic gastrointestinal carcinomas [J]. J Clin Oncol, 2005, 23(5): 999-1010.

[6] Kalady M F, Onaitis M W, Emani S, *et al*. Sequential delivery of maturation stimuli increases human dendritic cell IL-12 production and enhances tumor antigen-specific immunogenicity [J]. J Surg Res, 2004, 116(1): 24-31.

[7] SUZUKI T, FUKUHARA T, TANAKA M, *et al*. Vaccination of dendritic cells loaded with interleukin-12-secreting cancer cells augments *in vivo* antitumor immunity: characteristics of syngeneic and allogeneic antigen-presenting cell-cancer hybrid cells [J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(1): 58-66.

（编辑 陈聪连）

（上接383页）

胀，管腔缩小，并伴有部分肾小管上皮细胞坏死及凋亡；20 周时肿胀的小管上皮细胞逐渐缩小，部分远曲小管出现扩张，个别肾小管萎缩，但未见间质出现纤维化；24 周时可见较多肾小管出现萎缩，肾间质出现多灶性纤维化。

2.2 马兜铃酸诱导的大鼠肾组织中蛋白质差异表达

根据马兜铃酸处理大鼠不同时间肾组织病理改变的结果提示，12 周开始肾脏出现早期的病变，因此本研究取 12 周时的肾组织进行双向电泳，得到了 2-DE 图谱，并对图谱上的蛋白斑点进行定性和定量分析。分析结果显示正常组和马兜铃酸肾病模型组的匹配率为 83.4%，有大量蛋白质点相对含量增加或降低，或新出现，其中 87 个蛋白质点在模型组比正常组上调 2 倍，18 个蛋白质点上调 5 倍以上，73 个蛋白质点下调 2 倍。部分表达差异的蛋白点中蛋白质点 1 271、1 823 和 2 621 在正常组弱表达，而在模型组高表达；蛋白质点 1 567 和 1 789 在正常组中无表达，而在模型组出现表达；蛋白质点 1 398 在模型组中表达低于正常组。

3 讨论

马兜铃酸肾病是我国慢性肾小管-间质疾病的常见病因[4]，由于目前尚无有效的治疗方法，病人很快或逐渐进入终末期肾衰[5]，因此，如何寻找出马兜铃酸导致肾脏损害的始动分子，进而早期诊断和早期治疗（在蛋白质或基因水平进行干预和阻断）将是解决马兜铃酸肾损害的关键，也正是我们的研究目标。

在本研究中利用双向电泳系统，对马兜铃酸诱导肾间质纤维化早期（12 周）大鼠模型的肾组织和正常大鼠肾组织进行蛋白差异展示，并用分析软件进行分析，结果显示双向电泳图谱的匹配率可达 83.4%，同时可见一些明显差异的蛋白质点，提示这些差异表达的蛋白质可能参与马兜铃酸致肾损害早期过程的毒性作用，可能成为马兜铃酸导致肾纤维化的始动分子。我们还需对这些差异蛋白质分子进行质谱鉴定及进一步的功能研究，才能寻找出真正介导马兜铃酸毒性作用的蛋白质分子。

关键词：马兜铃酸；肾脏；双向聚丙烯酰胺凝胶电泳；差异蛋白质

中图法分类号：R692.02 **文献标识码**：B

参考文献：

[1] 高艳丽，谌贻璞，董鸿瑞，等. 慢性马兜铃酸肾病肾间质纤维化发病机制的初步探讨[J]. 中华肾脏病杂志，2005，21(1)：31-35.

[2] 刘志红，黎磊石. 马兜铃酸肾病：一个虽被认识但未解决的问题[J]. 2003，12(6)：501-503.

[3] 郑法雷，张晓明，黄庆元，等. 慢性马兜铃酸肾病动物模型的建立及其意义[J]. 中华医学杂志，2001，81(18)：1095-1100.

[4] 吴 杰，陈香美，师锁柱. 急慢性马兜铃酸肾病的临床病理特点及其病理机制[J]. 中华检验医学杂志，2005，28(6)：587-590.

[5] 陈 文，谌贻璞，李 安，等. 马兜铃酸肾病的临床与病理表现[J]. 中华医学杂志，2001，81(18)：1101-1105.

（编辑 汪勤俭）