论著

文章编号:1000-5404(2009)09-0860-03

系膜增生性肾小球肾炎患者血清 Th1/Th2 细胞因子表达的变化

程 悦,张静波,李芙蓉,王代红,袁发焕 (第三军医大学新桥医院肾内科,全军肾脏病中心,重庆市肾脏病研究所,重庆 400037)

摘 要:目的 观察系膜增生性肾小球肾炎患者血清 Th1 和 Th2 类细胞因子(INF-γ、IL-4、IL-10)表达变化。**方法** 采用酶联免疫吸附实验(ELISA)测定 10 例正常人和 25 例慢性肾小球疾病患者(轻中度系膜增生性非 IgA 肾小球肾炎)外周静脉血血清 INF-γ、IL-4、IL-10 细胞因子水平。**结果** 系膜增生性肾小球肾炎患者血清 INF-γ 分泌水平较正常人明显增多($P<0.01$),而 IL-10 分泌水平较正常人明显减少($P<0.05$),IL-4 分泌水平则与正常人无显著差异($P>0.05$),系膜增生性肾小球肾炎患者 INF-γ/IL-4、INF-γ/IL-10 值均显著高于正常人($P<0.05$)。**结论** 系膜增生性肾小球肾炎患者在外周血细胞因子水平存在 Th1/Th2 免疫失衡,可能参与了系膜增生性肾小球肾炎的免疫发病机制。

关键词: 系膜增生性肾小球肾炎;INF-γ;IL-4;IL-10

中图法分类号: R392.11; R392.32; R692.31 **文献标识码:** A

Expression of Th1/Th2 cytokines in patients with mesangial proliferative nephritis

CHENG Yue, ZHANG Jing-bo, LI Fu-rong, WANG Dai-hong, YUAN Fa-huan (Department of Nephrology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To investigate the expressions of Th1 and Th2 cytokines including INF-γ, IL-4 and IL-10 in patients with mesangial proliferative nephritis (MsPGN). Methods Twenty-five patients with pathologically diagnosed MsPGN (mild or moderate proliferation) who admitted in our hospital from November 2007 to May 2008 were enrolled in this study. Another 10 healthy individuals served as normal control. Their clinical parameters including ALT, creatine, albumin, WBC and C3 were compared. ELISA was used to determine their serum levels of INF-γ, IL-4 and IL-10. Results The C3 level was significantly lower in MsPGN group than in normal control, but there was no significant difference in other clinical parameters. Serum level of IFN-γ was higher in MsPGN patients than that in normal control ($P<0.01$), and IL-10 levels in MsPGN patients were lower than that in healthy individuals ($P<0.05$). There was no significant difference in IL-4 contents between MsPGN patients and normal control ($P>0.05$). The INF-γ/IL-4 ratio and INF-γ/IL-10 ratio in MsPGN patients were significantly higher than those in healthy donors ($P<0.01$). Conclusion The polarization of Th1 cytokines in MsPGN patients indicates that Th1 cytokines may be involved in the pathogenesis of MsPGN.

Key words: mesangial proliferative nephritis; INF-γ;IL-4;IL-10

细胞因子在调节免疫细胞应答中起关键作用,Mosmann 等[1]将其分为 Th1 和 Th2 型细胞因子。Th1 型细胞因子包括 INF-γ、INF-α、INF-β 和 IL-2 等,主要参与细胞免疫,介导细胞毒 T 细胞和巨噬细胞的活化以及迟发性变态反应;Th2 型细胞因子包括 IL-4、IL-5、IL-6 和 IL-10 等,主要介导体液免疫,辅助 B 细胞分化和抗体形成。大量研究发现 Th1 和 Th2 型细胞因子失衡与多种免疫性疾病的发生、发展密切相关[2-6]。慢性肾小球肾炎的主要病理机制是免疫紊乱造成的肾脏炎症损伤,已有研究报道了慢性肾小球肾炎存在 Th1/Th2 细胞因子失衡[2,3],但结果存在较大分歧。由于不同的免疫应答通过分泌不同类型的细胞因子调节细胞免疫和体液免疫,影响疾病的发生、类型和预后,我们推测不同的病理类型可能影响患者 Th1/Th2 失衡状态。

作者简介:程 悦,女,重庆市人,博士研究生,主治医师,主要从事肾脏疾病免疫发病机制方面的研究,发表论文 10 余篇。电话:(023)68774621,E-mail:chengyue5582@tom.com

通信作者:袁发焕,电话:(023)68774321,E-mail:yuanfh@mail.tmmu.com.cn

收稿日期:2008-11-20;修回日期:2008-12-18

系膜增生性肾小球肾炎是最为常见的慢性肾小球肾炎病理类型,其免疫发生机制尚不清楚。本实验拟从临床角度,以单一的系膜增生性肾小球肾炎为观察对象,观察患者外周血细胞因子水平是否存在 Th1/Th2 失衡,以期进一步探讨系膜增生性肾小球肾炎的免疫发病机制,为寻找新的治疗方法奠定基础。

1　对象与方法

1.1　研究对象

选取 2007 年 11 月至 2008 年 5 月在我科住院的系膜增生性肾小球肾炎患者 25 例为肾炎组。纳入标准: ①肾活检病理报告明确为原发性慢性肾小球疾病(轻中度系膜增生性非 IgA 肾小球肾炎); ②18 ~ 75 岁; ③无系统性全身感染;④无肿瘤; ⑤无严重肝脏疾病。⑥已签署知情同意书。排除标准: ①合并其他自身免疫性疾病的患者; ②严重心(心功能 3 ~ 4 级)、肝功能(> 正常 1.5 倍)不全; ③造血功能障碍、出血倾向及出血性疾病患者;④晚期肿瘤;⑤免疫功能缺陷者;⑥有吸毒、酗酒史者;⑦正在使用免疫抑制剂的患者;⑧合并严重的胃肠道症状;⑨孕妇及哺乳期妇女。另选 10 例健康志愿者作为正常对照组。两组年龄、性别无统计学差异($P > 0.05$)。

1.2　方法

1.2.1　临床指标检测　　检测尿常规、肝功、肾功、血常规、免疫球蛋白、补体 C_3。其中血液生化指标检测采用 Olympus AU270 全自动生化分析仪测定;血常规采用 Coulter 血细胞分析仪测定。

1.2.2　ELISA 实验　　采集清晨空腹静脉血 3 ml,迅速分离血清后置 -70 ℃冰箱保存待检,分别检测 IL-4、IL-10 和 IFN-γ 水平,参照试剂盒(深圳晶美生物公司)说明操作,采用双抗体夹心 ELISA 法测定,每例每个指标设 3 个复孔。

1.3　统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 11.0 统计软件进行独立样本 t 检验,首先检验方差是否具有齐性,方差齐时采用方差齐性 t 检验,方差不齐采用方差不齐 t 检验。

2　结果

2.1　临床指标

系膜增生性肾小球肾炎组与正常对照组间谷丙转氨酶(ALT)、血肌酐(Scr)、血白细胞(WBC)、血浆白蛋白无明显差异($P > 0.05$)。系膜增生性肾小球肾炎患者补体 C_3 水平显著低于正常人($P < 0.05$)。见表 1。

表 1　2 组临床指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	年龄(岁)	ALT(U/L)	肌酐(μmol/L)	白蛋白(g/L)	WBC($\times 10^9$)	C_3(g/L)
肾炎组	25	35 ± 16	23.44 ± 16.05	67.00 ± 19.77	40.70 ± 3.88	6.30 ± 1.86	0.95 ± 1.86[a]
正常对照组	10	30 ± 2	16.10 ± 6.26	61.43 ± 13.11	39.26 ± 2.16	5.91 ± 1.21	1.14 ± 0.15

a:$P < 0.05$, 与正常对照组比较

2.2　血清 IL-4、IL-10 和 IFN-γ 浓度

系膜增生性肾小球肾炎患者血清 IFN-γ 水平明显高于正常对照组($P < 0.01$),而 IL-10 水平明显低于正常对照组($P < 0.01$),2 组血清 IL-4 分泌水平无显著差异($P > 0.05$),系膜增生性肾小球肾炎患者 INF-γ/IL-4、INF-γ/IL-10 值均显著高于正常对照组($P < 0.01$)。见表 2。

表 2　2 组血清 IL-4、IL-10 和 IFN-γ 浓度比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-4(pg/ml)	IL-10(pg/ml)	IFN-γ(pg/ml)	IFN-γ/IL-4	IFN-γ/IL-10
肾炎组	25	2.45 ± 0.50	5.30 ± 0.80[a]	7.22 ± 1.10[b]	3.05 ± 0.72[a]	1.38 ± 0.23[a]
正常对照组	10	2.75 ± 0.32	8.30 ± 3.57	5.96 ± 0.39	2.19 ± 0.28	0.81 ± 0.24

a:$P < 0.05$, b:$P < 0.01$, 与正常对照组比较

3　讨论

在慢性肾小球疾病的炎症反应中,T 细胞在对肾脏免疫性损伤中发挥主导作用[7]。1986 年,Mosmman 等[1]根据分泌的细胞因子的差别将 $CD4^+$ T 细胞分为 Th1 和 Th2 细胞,Th1 和 Th2 细胞效应及其平衡与慢性肾小球疾病的发生、发展密切相关。而 Th1 和 Th2 细胞效应主要通过所分泌的不同的细胞因子发挥,因此,通过检测原发性慢性肾小球疾病患者血清中 Th1 和 Th2 类细胞因子水平有助于我们判断原发性慢性肾小球疾病患者是否存在 Th1 和 Th2 失衡,进而明确 Th1 和 Th2 失衡是否参与原发性慢性肾小球疾病的发生、发展。

不同的免疫应答通过分泌不同类型的细胞因子调节细胞免疫和体液免疫,影响疾病的发生、类型和预后。因此不同病理类型的慢性肾小球疾病很可能伴随有不同的 Th1 和 Th2 类细胞因子水平。本实验选取较常见的轻中度系膜增生性非 IgA 肾小球肾炎作为观察对象。结果发现这类患者血清 IFN-γ 水平明显高于正常对照组,而 IL-10 水平明显低于正常对照组,两组血清 IL-4 分泌水平无显著差异。IFN-γ 属于 Th1 型细胞因子,参与细胞免疫,介导细胞毒 T 细胞和巨噬细胞的活化以及迟发性变态反应[8]。本实验发现患者血清 IFN-γ 水平明显增高,可能是活化的 T 淋巴细胞通过分泌过多的 IFN-γ 参与了系膜增生性肾小球肾炎的肾脏免疫性损伤过程,说明 IFN-γ 在系膜增生性肾小球肾炎的发生、发展中具有重要作用,这与国内的研究报道相符[9]。IL-10 是在体外培养条件下发现的 Th2 细胞分泌的一种能抑制 Th1 细胞功能的细胞因子,故又被称为细胞因子合成抑制因子(cytokine synthesis inhibitory factor, CSIF)[10]。IL-10 可以抑制 Th1 介导的细胞免疫而促进 Th2 介导的体液免疫。本实验检测到患者血清 IL-10 水平显著低于正常人,这将有利于患者体内 Th1 细胞反应、激活巨噬细胞,促进肾脏的免疫损伤。国内研究对肾炎患者 IL-10 水平的报道不

一,可能与所选病例的病理类型、病情活动程度不同有关[9,11]。由于本实验选取的均为轻中度系膜增生性非IgA肾小球肾炎,病情相对较轻且均为初发病,IL-10水平的降低可能为一种内源性的下降,随着疾病的进展,IL-10水平将发生如何的变化有待进一步研究。IL-4是由Th2细胞产生的另一种细胞因子,主要作用于B细胞,能增强IgE介导的体液免疫和杀伤细胞的杀伤能力,抑制Th1细胞产生细胞因子的能力。IL-4和IL-10都属于Th2型细胞因子。本实验发现患者血清IL-4水平与正常人无显著差异,这说明本实验选取的这组患者的疾病发生与IL-4无明确相关,但随着疾病的进展IL-4将发挥怎样的作用仍需进一步研究。

研究发现这些细胞因子在原发性慢性肾小球疾病中起着双向的作用,其之间存在复杂的相互调节关系,既相互诱导,又相互抑制。各亚群Th细胞因子诱导Th0细胞向各自的细胞亚群分化并促进各自Th细胞亚群活化。如IFN-γ诱导Th0细胞向Th1细胞亚群分化,IL-4诱导Th0细胞向Th2细胞亚群分化。但同时各类Th细胞因子对另一类细胞亚群的活化及细胞因子的产生又具有抑制作用。如IL-4及IL-10都是IFN-γ的强力抑制剂,而IFN-γ亦反过来能抑制IL-10的产生[8,12]。通常情况下,Th1和Th2细胞效应保持着相对平衡,当机体免疫功能异常时,Th0细胞分化的Th1和Th2亚群比例及功能失衡,出现相应的Th1和Th2漂移性疾病。国外有学者报道在弥漫增殖性肾小球肾炎及新月体性肾小球肾炎中存在Th1优势应答,血清Th1相关细胞因子IFN-γ、IL-2水平升高[2,3]。有学者在利用Th1相关细胞因子IFN-γ、IL-2治疗类风湿性关节炎和恶性肿瘤时,发现患者会发生新月体性肾炎和(或)重度增殖性肾炎[4-6],从而更进一步证实Th1相关细胞因子与新月体性肾炎和(或)重度增殖性肾炎的发生有关。经过对31例儿童狼疮患者血清IgG抗体亚类以及细胞因子水平的分析,Kawasaki等[13]发现严重的增殖性肾炎表现为Th1为主的免疫反应,与Ⅴ型狼疮以及小球病变轻微的狼疮患者相比,Ⅳ型狼疮患儿外周血T细胞IFN-γ/IL-4值升高,肾脏中$CD3^+$细胞、巨噬细胞和IFN-γ^+细胞都增多。而在膜性肾病中则存在Th2优势应答[14,15]。本实验观察到这些轻中度系膜增生性非IgA肾小球肾炎患者IFN-γ高表达,IL-10低表达,INF-γ/IL-4、INF-γ/IL-10值均显著高于正常对照组,说明在这类患者中存在Th1偏移的趋势,可能参与了系膜增生性肾小球肾炎的免疫发病机制。

参考文献:

[1] Mosmann T R, Cherwinski H, Bond M W, *et al*. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins[J]. J Imunol, 1986,136(7): 2348-2357.

[2] Tipping P G, Holdsworth S R. Cytokines in glomerulonephritis[J]. Semin Nephrol, 2007, 27(3): 275-285.

[3] Tipping P G, Kitching A R. Glomerulonephritis, Th1 and Th2: what's new[J]. Clin Exp Immunol, 2005,142(2): 207-215.

[4] Graninger W B, Hassfeld W, Pesau B B, *et al*. Induction of systemic lupus erythematosus by interferon-gamma in a patient with rheumatoid arthritis[J]. J Rheumatol, 1991, 18(10): 1621-1622.

[5] Machold K P, Smolen J S. Interferon-gamma induced exacerbation of systemic lupus erythematosus[J]. J Rheumatol, 1990, 17(6): 831-832.

[6] Parker M G, Atkins M B, Ucci A A, *et al*. Rapidly progressive glomerulonephritis after immunotherapy for cancer[J]. J Am Soc Nephrol, 1995, 5(10): 1740-1744.

[7] Kurts C, Heymann F, Lukacs-Kornek V, *et al*. Role of T cells and dendritic cells in glomerular immunopathology[J]. Semin Immunopathol, 2007, 29(4): 317-335.

[8] Feuerer M, Eulenburg K, Loddenkemper C, *et al*. Self-limitation of Th1-mediated inflammation by IFN-gamma[J]. J Immunol, 2006, 176(5): 2857-2863.

[9] 向 莉, 高小夏, 潘家荣. 慢性肾小球肾炎患者血清IFN-γ、IL-10的变化及意义[J]. 中国临床医学, 2006,13(2): 269-270,272.

[10] Couper K N, Blount D G, Riley E M. IL-10: the master regulator of immunity to infection[J]. J Immunol, 2008,180(9): 5771-5777.

[11] 周燕斌, 李幼姬, 吴玉红. 狼疮肾炎患者血清及外周血单个核细胞中IL-10和γ干扰素的表达及意义[J]. 中国现代医学杂志, 2006, 16(4): 529-532.

[12] Liberman A C, Refojo D, Arzt E. Cytokine signaling/transcription factor cross-talk in T cell activation and Th1-Th2 differentiation[J]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2003, 51(6): 351-365.

[13] Kawasaki Y, Suzuki J, Sakai N, *et al*. Evaluation of T helper-1/-2 balance on the basis of IgG subclasses and serum cytokines in children with glomerulonephritis[J]. Am J Kidney Dis, 2004, 44(1): 42-49.

[14] Haas M. IgG subclass deposits in glomeruli of lupus and nonlupus membranous nephropathies[J]. Am J Kidney Dis, 1994, 23(3): 358-364.

[15] 姚 磊,向 阳,康 玲,等. 肾病综合征患者血清Ig和补体C_3的测定及临床意义探讨[J]. 重庆医学,2006,35(18):1656-1657.

(编辑 龙 亮)