论著

文章编号:1000-5404(2011)21-2260-05

# 尿毒症血液透析患者 Treg/Th17 功能失衡影响血管钙化因子 BMP-2 表达的研究

陈丹燕[1],甘 华[1],沈 清[1],杜晓刚[1],汤为学[2],杨孟雪[1] (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院肾内科[1],重庆医科大学基础医学院病理生理学教研室[2])

[摘要] **目的** 探讨尿毒症血液透析患者 Treg/Th17 细胞功能是否发生失衡及其对血管钙化因子 BMP-2 表达的影响。**方法** 选取 66 例尿毒症血液透析患者(MHD 组)、30 例尿毒症未并发心血管疾病且未透析患者(WHD 组)和 20 例健康志愿者,将 MHD 组患者分为并发心血管疾病(MHD1,$n=36$)和未并发心血管疾病(MHD2,$n=30$)。流式细胞术测单个核细胞中 Treg 和 Th17 细胞比例,实时荧光定量 PCR 测 Foxp3 和 ROR-γt mRNA 表达,ELISA 测单个核细胞上清液中炎症因子 IL-17、IL-10 和血管钙化因子 BMP-2 水平。**结果** 与健康者相比,尿毒症患者出现 Treg/Th17 细胞功能失衡和 BMP-2 分泌异常,主要表现为 Treg 和 Th17 细胞比例、Foxp3 和 ROR-γt 表达、IL-17 和 BMP-2 水平均增高($P<0.05$),而 IL-10 水平减低($P<0.05$),这一失衡亦表现在 WHD 与 MHD 组、MHD1 与 MHD2 组间。透析者 IL-17、BMP-2 水平均与 Treg 细胞比例呈负相关($P<0.05$),而与 Th17 细胞比例呈正相关($P<0.05$),其中 BMP-2 与 IL-17、IL-10 水平分别呈正相关和负相关($P<0.05$)。**结论** 尿毒症血液透析患者 Treg/Th17 细胞失衡使微炎症因子分泌异常,进而加剧血管钙化,导致加速性动脉粥样硬化和心血管疾病发生。

[关键词] 尿毒症;血液透析;Treg;Th17;BMP-2

[中图法分类号] R372.3; R692.5; R459.5 [文献标志码] A

# Effect of Treg/Th17 cells dysfunction on expression of vascular calcification factor BMP-2 in uremia patients with dialysis

Chen Danyan[1], Gan Hua[1], Shen Qing[1], Du Xiaogang[1], Tang Weixue[2], Yang Mengxue[1] ([1]Departments of Nephrology, First Affiliated Hospital, [2]Departments of Pathophysiology, College of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate Treg/Th17 cell dysfunction and their effects on expression of vascular calcification factor BMP-2 in uremia patients with dialysis. **Methods** Sixty-six uremia patients with dialysis (MHD group), 30 uremia patients neither treated by dialysis nor complicated with cardiovascular events (WHD group) and 20 healthy volunteers were enrolled. Patients of the MHD group were divided into two subgroups according to patients with (MHD1 group, $n=36$) or without (MHD2 group, $n=30$) cardiovascular events. Proportion of Treg and Th17 cells in mononuclear cells were measured by flow cytometry. Expression of ROR-γt and Foxp3 mRNA were measured by real-time PCR. Levels of IL-17, IL-10 and BMP-2 in supernatants of mononuclear cells were detected by ELISA. **Results** Uremia patients exhibited a dysfunction of Treg/Th17 and BMP-2 as compared with healthy controls, including a higher Treg/Th17 ratio, higher expression of Foxp3 and ROR-γt and higher concentrations of IL-17 and BMP-2. In contrast, IL-10 was significantly lower in the uremia patients ($P<0.05$) than in the healthy controls. These dysfunctions also exhibited when comparison was performed between the WHD group and MHD group, and between the MHD1 group and MHD2 group, respectively. Concentrations of IL-17 and BMP-2 were negatively correlated with Treg cell proportion, but positively correlated with Th17 cell proportion; BMP-2 concentration was positively correlated with IL-17 concentration, but negatively correlated with IL-10 concentration. **Conclusion** Dysfunction of Treg/Th17 cells in uremia patients with dialysis can induce abnormal secretion of microinflammatory cytokines and aggravation of vascular calcification, leading to accelerated atherosclerosis and cardiovascular disease.

[**Key words**] Uremia; haemodialysis; Treg; Th17; BMP-2

Supported by the Key Project of Medical Science and Technology of Chongqing Municipal Health Bureau (2010-01-16). Corresponding author: Gan Hua, Tel: 86-23-89012919, E-mail: clioyoyo@163.com

[基金项目] 重庆市卫生局医学科学技术重点研究项目(2011-01-16)

[通信作者] 甘 华,电话:(023)89012919,E-mail: clioyoyo@163.com

尿毒症患者动脉粥样硬化及心血管疾病的发生率高、病死率亦高。血液透析能有效的清除小分子毒素，延长尿毒症患者生存时间，但是经过治疗的尿毒症患者死亡率仍偏高，主要的死亡原因是动脉粥样硬化及其导致的心血管疾病[1-2]。它很难完全用一般人群中常见的心血管疾病危险因素（如高血压、高血脂、吸烟及糖尿病等）来进行解释[3]。前期研究发现，尿毒症血液透析患者 Treg/Th17 细胞失衡参与诱发加速性动脉粥样硬化和心血管疾病[4]，但具体作用方式和机制尚不明确。血管钙化是尿毒症心血管并发症患者死亡的主要病理变化，亦是影响维持性血液透析患者死亡及预后的独立危险因素[5]。Treg/Th17 细胞功能失衡可能通过影响血管钙化，进而诱发加速性动脉粥样硬化和心血管疾病。BMP-2 被认为是诱导成骨活性最强，且是与血管钙化关系最为密切的蛋白。本研究以尿毒症并发与未并发心血管疾病的血液透析患者、尿毒症未并发心血管疾病且未行透析治疗的患者和正常健康志愿者为研究对象初步探讨 Treg/Th17 细胞功能失衡对血管钙化 BMP-2 表达的影响。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选择我院住院部的尿毒症患者 96 例，其中 30 例为未并发心血管疾病且未透析治疗患者（WHD 组），男性 18 例，女性 12 例，年龄（50.33 ± 16.12）岁，原发病：慢性肾小球肾炎者 12 例、高血压肾硬化患者 7 例、糖尿病肾病者 4 例、多囊肾者 2 例、慢性间质性肾炎者 3 例及病因不明者 2 例。66 例血液透析超过 3 个月患者（MHD 组），男性 40 例，女性 26 例，年龄（53.02 ± 12.73）岁，透析（30.28 ± 21.24）个月。原发病：慢性肾小球肾炎者 26 例、高血压肾硬化患者 16 例、糖尿病肾病者 10 例、多囊肾者 4 例、慢性间质性肾炎者 6 例及病因不明者 4 例。根据患者是否并发心血管疾病分为 2 组：36 例并发心血管疾病（MHD1 组），包括不稳定型心绞痛 6 例、左室肥厚 10 例、心律失常 14 例、充血性心衰 6 例，男性 24 例，女性 12 例，年龄（55.70 ± 12.64）岁，透析（30.28 ± 23.04）个月；30 例未并发心血管疾病（MHD2 组），男性 16 例，女性 14 例，年龄（46.85 ± 11.02）岁，透析（30.30 ± 17.20）个月。透析方案：上肢动静脉内瘘进行透析，血流量 200 ~ 250 ml/min，2 ~ 3 次/周，4 ~ 5 h/次；碳酸氢盐透析液，流量 500 ml/min；使用聚砜膜透析器。以 20 例健康自愿者为正常对照组，男性 10 例，女性 10 例，年龄（43.89 ± 8.72）岁。所有尿毒症患者无自身免疫性疾病、恶性肿瘤、进展性肝病，乙型肝炎、丙型肝炎和获得性免疫缺陷病毒检测阴性，无血栓栓塞、弥漫性血管内凝血，无心瓣膜疾病，未使用起搏器，接受透析治疗的患者透析稳定且规则。

### 1.2 血液标本的采集和外周血单个核细胞的分离

患者空腹肘前静脉采血 20 ml 置于肝素抗凝试管中，检测血红蛋白、白蛋白、肾功能、血脂等。Ficoll 淋巴细胞分离液密度梯度离心分离出外周血单个核细胞[6]，完全 1640 培养液制成细胞悬液，调整细胞浓度为 $3 \times 10^6$/ml，用于流式细胞术和 RT-qPCR 检测。细胞上清液 -80 ℃冻存。

### 1.3 流式细胞术检测单个核细胞中 Treg 和 Th17 的细胞比例

检测 Th17 时，单个核细胞与 PE 标记抗人 CD4 单抗在 4 ℃环境下培养 20 min，按照说明书进行固定和透化处理后加入 FITC 标记抗人 IL-17 单抗行 Th17 检测。检测 Treg 时，将 PerCP 标记抗 CD4 和 FITC 标记抗 CD25 染色细胞表面后，加入 PE 标记抗 Foxp3 行 Treg 检测，PBS 洗涤后，200 μl PBS 重悬，最后上流式细胞仪分析。同时使用同型对照使其能够有效的补充并确保抗体的特异性。

### 1.4 实时荧光定量 PCR 检测 Foxp3 和 ROR-γt mRNA 的表达

按照产品说明书用 Trizol 提取液（购自 TaKaRa 公司）提取总 RNA，逆转录试剂盒合成 cDNA，人 Foxp3 和 ROR-γt 的引物由上海生工合成。Foxp3 引物：上游：5′-CATCTGTGGCATCATCCGAC-3′，下游：5′-GAGCGTGGCGTAGGTGAAAG-3′，227 bp；ROR-γt 引物：上游：5′-GCCTACAATGCTGACAACCG-3′，下游：5′-GGATGCTTTGGCGATGAGTC-3′，286 bp；β-actin 引物：上游：5′-TGACGTGGACATCCGCAAAG-3′，下游：5′- CTGGAAGGTGGACAGCGAGG-3′，205 bp。荧光定量 PCR 扩增条件为：94 ℃变性 4 min，35 个循环内 94 ℃变性 20 s，60 ℃退火 30 s 和 72 ℃延伸 30 s，72 ℃检测信号。检测结果用相对比值表示，相对比值 = 样本目的基因平均拷贝数/内参平均拷贝数。

### 1.5 ELISA 检测细胞因子 IL-17、IL-10 和 BMP-2 水平

用酶联免疫吸附试剂盒检测单个核细胞上清液中 IL-17、IL-10 和 BMP-2 水平，操作方法按照产品说明书进行（购自 R&D 公司），ELISA 试剂的批内分析和批间分析变异系数分别小于 <10%，所有样本设 3 个复孔。

### 1.6 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件，数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，行 2 个连续变量的 Spearman's 相关性分析及组间比较单因素方差分析。

## 2 结果

### 2.1 尿毒症患者基本情况

MHD1、MHD2 和 WHD 3 组患者的年龄、性别、危险因素（吸烟史、高血糖、高脂血症、高血压）、药物治疗（rHu-EPO 剂、β 受体阻滞剂、他汀类药物）、左室收缩期内径、舒张期内径和心脏射血分数差异无显著性（$P > 0.05$）。WHD 组 BUN、Scr 高于 MHD1 和 MHD2 两组（$P < 0.05$），其中 MHD1 组 BUN、Scr 与 MHD2 组差异无显著性（$P > 0.05$）。WHD 组患者左心室质量指数低于 MHD1 组，而高于 MHD2 组，差异均有显著性（$P < 0.05$），其中 MHD1 组患者左心室质量指数高于 MHD2 组（$P < 0.05$）。WHD 组患者左室短轴缩短率高于 MHD1 组，而低于 MHD2 组，其中 MHD1 组患者左室短轴缩短率低于 MHD2 组（$P < 0.05$）。见表 1。

**表1 尿毒症患者组间临床检测指标结果比较($\bar{x} \pm s$)**

| 指标 | WHD 组($n$=30) | MHD1 组($n$=36) | MHD2 组($n$=30) |
|---|---|---|---|
| 年龄(岁) | 50.33±16.12 | 55.70±12.64 | 46.85±11.02 |
| 血液透析持续时间 | — | 30.28±23.04 | 30.30±17.20 |
| 尿素氮(mmol/L) | 31.16±10.59 | 22.68±8.94[a] | 20.26±8.91[a] |
| 血肌酐(μmol/L) | 997.10±325.25 | 728.54±288.06[a] | 710.88±249.38[a] |
| 左室收缩期内径(mm) | 34.00±4.68 | 34.97±2.58 | 31.77±2.28 |
| 左室舒张期内径(mm) | 43.64±5.06 | 49.70±3.39 | 42.91±4.56 |
| 射血分数(%) | 57.73±4.69 | 57.77±7.68 | 58.95±3.21 |
| 短轴缩短率(%) | 31.72±3.39 | 26.86±1.82[a] | 33.79±2.08[b] |
| 左心室重量指数(g/m$^2$) | 120.05±2.59 | 189.00±35.38[a] | 102.34±11.30[ab] |

a: $P<0.05$,与 WHD 组比较;b: $P<0.05$, 与 MHD1 组比较

## 2.2 Treg 和 Th17 细胞比例分析

虽然健康者 Treg 和 Th17 细胞比例均低于尿毒症患者,但健康者 Treg/Th17 较尿毒症患者高($P<0.05$)。WHD 组 Treg 细胞比例高于 MHD1 组但低于 MHD2 组($P>0.05$),而 Th17 细胞比例显著低于 MHD1 组但高于 MHD2 组,Treg/Th1 高于 MHD1 组但低于 MHD2 组,其中 WHD 组 Th17 细胞比例和 Treg/Th17 与 MHD1 组的差异无显著性($P>0.05$),而与 MHD2 组的差异有显著性($P<0.05$)。在 MHD 组患者中,MHD2 组 Treg 细胞比例高于 MHD1 组,($P>0.05$),而 Th17 细胞比例和 Treg/Th17 分别低于和高于 MHD1 组($P<0.05$)。见表2。

**表2 各组间 Treg、Th17 细胞比例和 Treg/Th17 的比较($\bar{x} \pm s$,%)**

| 组别 | $n$ | Treg 细胞比例 | Th17 细胞比例 | Treg/Th17 |
|---|---|---|---|---|
| MHD1 组 | 36 | 5.05±2.38[a] | 36.27±9.62[a] | 14.43±8.28[a] |
| MHD2 组 | 30 | 6.06±1.79[a] | 19.64±5.97[abc] | 21.21±10.28[abc] |
| WHD 组 | 30 | 5.92±3.29[a] | 35.98±8.85[a] | 15.35±4.86[a] |
| 正常对照组 | 20 | 0.32±0.44 | 1.12±1.52 | 26.31±2.26 |

a: $P<0.05$, 与正常对照组比较; b: $P<0.05$,与 WHD 组比较; c: $P<0.05$,与 MHD1 组比较

## 2.3 Foxp3 和 ROR-γt 的 mRNA 表达

尿毒症患者 Foxp3 和 ROR-γt mRNA 表达均高于健康者,其中健康者 Foxp3 表达与 WHD 组患者的差异无显著性($P>0.05$)外,余组间两指标的差异均有显著性($P<0.05$)。但尿毒症患者 Foxp3/ROR-γt mRNA 显著低于健康者($P<0.05$)。虽然 WHD 组 Foxp3 表达低于 MHD1 和 MHD2 两组,但 ROR-γt 表达低于 MHD1 组而高于 MHD2 组,差异均有显著性($P<0.05$)。WHD 组 Foxp3/ROR-γt mRNA 低于 MHD1 和 MHD2 两组,其中 WHD 组与 MHD1 组的差异无显著性($P>0.05$),而与 MHD2 组的差异有显著性($P<0.05$)。在 MHD 患者中,MHD2 组患者 Foxp3 表达和 Foxp3/ROR-γt mRNA 均高于 MHD1 组,而 ROR-γt 表达低于 MHD1 组($P<0.05$)。见表3。

**表3 各组间 Foxp3、ROR-γt mRNA 表达和 Foxp3/ROR-γt mRNA 表达的比较($\bar{x} \pm s$)**

| 组别 | $n$ | Foxp3 | ROR-γt | Foxp3/ROR-γt |
|---|---|---|---|---|
| MHD1 组 | 36 | 3.30±0.15[ab] | 15.37±3.18[ab] | 0.22±0.05[a] |
| MHD2 组 | 30 | 6.60±0.69[abc] | 1.83±0.19[abc] | 3.65±0.71[bc] |
| WHD 组 | 30 | 1.37±0.03 | 6.39±1.21[a] | 0.22±0.04[a] |
| 正常对照组 | 20 | 1.16±0.07 | 0.27±0.01 | 4.27±0.37 |

a: $P<0.05$, 与正常对照组比较; b: $P<0.05$,与 WHD 组比较; c: $P<0.05$,与 MHD1 组比较

## 2.4 IL-17,IL-10 和 BMP-2 水平

与健康者相比,尿毒症患者 IL-17、BMP-2 水平均增高,而 IL-10 水平减低($P<0.05$)。尿毒症患者中,WHD 组 IL-17、BMP-2 水平均低于 MHD1 组($P>0.05$),而高于 MHD2 组($P<0.05$);WHD 组 IL-10 水平高于 MHD1 组($P>0.05$),而低于 MHD2 组($P<0.05$)。其中 MHD2 组 IL-17、BMP-2 水平均低于 MHD1 组,而 IL-10 水平高于 MHD1 组($P<0.05$)。见表4。

**表4 各组间 IL-17, IL-10 和 BMP-2 水平的比较($\bar{x} \pm s$,pg/ml)**

| 组别 | $n$ | IL-17 | IL-10 | BMP-2 |
|---|---|---|---|---|
| MHD1 组 | 36 | 71.87±3.16[a] | 9.53±2.47[a] | 56.28±2.58[a] |
| MHD2 组 | 30 | 41.11±3.28[abc] | 17.39±1.46[abc] | 33.46±2.58[abc] |
| WHD 组 | 30 | 71.81±5.14[a] | 10.40±2.03[a] | 56.72±4.40[a] |
| 正常对照组 | 20 | 15.95±2.69 | 25.31±1.77 | 13.20±2.85 |

a: $P<0.05$, 与正常对照组比较; b: $P<0.05$, 与 WHD 组比较; c: $P<0.05$,与 MHD1 组比较

## 2.5 Spearman's 相关分析结果

MHD 组患者血清中 IL-17、BMP-2 水平均与 Treg 细胞比例($r=-0.922$,$P<0.05$;$r=-0.764$,$P<0.05$)呈负相关,而与 Th17 细胞比例($r=0.827$,$P<0.05$;$r=0.936$,$P<0.05$)呈正相关,其中 BMP-2 与 IL-17 水平($r=0.878$,$P<0.05$)呈正相关;IL-10 水平与 Treg 细胞比例($r=0.998$,$P<0.05$)呈正相关,而与 Th17 细胞比例($r=-0.712$,$P<0.05$)呈负相关,其中 BMP-2 与 IL-10 水平($r=-0.764$,$P<0.05$)呈负相关。

# 3 讨论

尿毒症患者经过血液透析治疗后能有效的延长生存时间,但死亡率仍偏高,循证医学数据表明,居于首位的死因是动脉粥样硬化及其导致的心血管疾病。目前尿毒症患者血液透析治疗后仍然高发心血管并发症的发病机制和影响因素尚未明确。研究发现,动脉粥样硬化的本质是多种免疫细胞,特别是 T 淋巴细胞参与的,由自身免疫反应介导的动脉内层慢性炎症性疾病[2-3]。调节性 T 细胞(the regulate T cell, Treg)和 Th17 细胞是两类不同于 Th1 和 Th2 的 $CD4^+$T 细胞亚群,均由同一前体细胞分化产生,但其分化方式和功能是相互拮抗的[7]。Treg 细胞特异性表达蛋白 Foxp3,主要通过细胞直接接触或分泌 IL-10 和 TGF-β1 发挥抗炎和维持免疫耐受作用[8]。将活化的 Treg 细胞输入动脉粥样硬化遗传易感大鼠体内可使动脉粥样硬化斑块的体积缩小[9]。而 Th17 细胞是一种具有强大促炎作用的 T 细胞,主要通过分泌 IL-17 促进自身免疫性疾病和变态反应发生[10]。动脉粥样硬化病灶中 IL-17 的表达水平与动脉粥样硬化程度是呈正相关的[11-12]。因此,Treg/Th17 细胞平衡功能失调与动脉粥样硬化的发生密切相关[13]。

我们的实验结果证实了这一观点,与健康者相比,尿毒症患者表现出明显 Treg/Th17 细胞功能失衡和炎症因子分泌异常的免疫系统功能障碍。比较尿毒症未

透析的WHD组与透析的MHD组、尿毒症并发心血管疾病的MHD1组与未并发心血管疾病的MHD2组组间Treg/Th17细胞功能失衡和炎症因子分泌异常的差异,发现组间差异的程度是不同的。虽然WHD组患者Treg细胞转录因子Foxp3 mRNA表达与Treg细胞比例均低于MHD1和MHD2两组,ROR-γt mRNA表达与Th17细胞比例均低于MHD1组而高于MHD2组,但是WHD组患者Treg/Th17高于MHD1组而低于MHD2组,而Foxp3/ROR-γt mRNA低于MHD1和MHD2两组。WHD组患者Th17细胞相关因子IL-17水平低于MHD1组而高于MHD2组,而Treg细胞相关因子IL-10水平高于MHD1组而低于MHD2组。其中MHD1组患者的Th17细胞比例、ROR-γt mRNA表达和IL-17水平均高于MHD2组,而Treg细胞比例Treg/Th17、Foxp3 mRNA表达、Foxp3/ROR-γt mRNA和IL-10水平低于MHD2组。进一步行相关分析,结果提示透析者IL-17水平与Treg细胞比例呈负相关,而与Th17细胞比例呈正相关;IL-10水平与Treg细胞比例呈正相关,而与Th17细胞比例呈负相关。提示血液透析能减轻尿毒症患者微炎症状态,且疗效优于未透析者。尿毒症患者Treg细胞与Th17细胞功能是相互拮抗的。Treg/Th17细胞失衡促进微炎症细胞因子分泌,那么该失衡如何进一步诱发尿毒症患者并发心血管疾病的呢?

炎症和炎性细胞因子在启动血管钙化过程中起着非常重要的作用,但是钙化并非单纯被动地由炎症促发,炎症过程可主动诱发钙化和炎症的正反馈循环,从而加剧钙化进展和动脉粥样硬化发生[14-15]。尿毒症心血管并发症患者死亡的主要病理变化是血管钙化[16]。值得注意的是血管钙化是终末期肾病的早期严重事件,亦是影响维持性血液透析患者死亡及预后的独立危险因素[5,17]。流行病学研究亦表明,54%~100%(平均83%)的慢性肾功能衰竭患者有不同程度的血管钙化,血管钙化程度越严重,病死率越高[18]。因此,我们推断尿毒症患者Treg/Th17细胞功能失衡可能通过促进微炎症细胞因子分泌,进而加剧血管钙化,导致加速性动脉粥样硬化和心血管疾病发生。

骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)属于TGF-β超家族成员,具有诱导骨生长和骨细胞分化增殖的特性。除骨组织以外,发育中的主动脉和钙化的动脉粥样硬化损伤的内皮细胞中均有BMPs表达[19-20]。BMP-2被称为血管钙化的促动剂,是与血管钙化关系最为密切蛋白。将BMP-2注入肌肉组织可引起该部位的异位钙化。研究表明,BMP-2能增加体外培养钙化细胞的钙化程度和骨性分化,亦能抵消内皮细胞抑制体外钙化细胞形成钙化结节的作用。因此,BMP-2是反映血管钙化程度的可靠指标,我们以此为切入点,初步探讨Treg/Th17细胞功能失衡、微炎症和血管钙化三者之间的差异。结果示,尿毒症患者BMP-2水平显著高于健康者,但WHD组患者BMP-2水平显著低于MHD1组而高于MHD2组,其中MHD1组BMP-2水平显著高于MHD2组。透析患者BMP-2水平与Treg细胞比例和IL-10水平分别呈负相关,而与Th17细胞比例和IL-6水平分别呈正相关,这就证实了我们的推断。

Hruska等[21]研究报道,BMP-2与细胞表面具有高亲和性的BMPR-Ⅰ连接形成复合体,并通过BMPR-Ⅰ结合胞质中游离的BMPR-Ⅱ共同形成异聚体后才进行信号转导,信号转导途径根据与BMP-2结合的受体而变化[22]。BMP-2主要通过BMP-2-cbfα1-ERK信号通路[23]、BMP-2-MSX2信号通路[24]和与基质Gla蛋白等抑制因子结合的方式[25]促进血管钙化。因此,后续研究我们将探讨尿毒症维持性血液透析患者Treg/Th17细胞功能失衡对桡动脉、头静脉钙化的影响,并分析血液透析患者Treg/Th17细胞功能失衡促进血管钙化的最密切通路,以期为尿毒症血液透析患者并发心血管疾病的机制研究提供新思路。

## 参考文献:

[1] 郭旭武, 陈楚鹏, 王奕忠, 等. 血浆N-末端脑利钠肽在慢性肾脏病非透析患者合并心力衰竭中的临床意义[J]. 河北医学, 2009, 15(9): 1015-1018.

[2] Sherer Y, Shoenfeld Y. Mechanisms of disease: atherosclerosis in autoimmune diseases[J]. Nat Clin Pract Rheumatol, 2006, 2(2): 99-106.

[3] Blasi C. The autoimmune origin of atherosclerosis[J]. Atherosclerosis, 2008, 201(1): 17-32.

[4] Zhang J, Hua G, Zhang X, *et al*. Regulatory T cells/T-helper cell 17 functional imbalance in uraemic patients on maintenance haemodialysis: a pivotal link between microinflammation and adverse cardiovascular events[J]. Nephrology Carlton, 2010, 15(1): 33-41.

[5] DeLoach S S, Townsend R R. Vascular stiffness: its measurement and significance for epidemiologic and outcome studies[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2008, 3(1): 184-192.

[6] Sharma U K, Song H F, Willingham F F, *et al*. Diagnosis of human immunodeficiency virus infection using citrated whole blood[J]. Clin Diagn Lab Immunol, 1997, 4(3): 261-263.

[7] Mucida D, Park Y, Kim G, *et al*. Reciprocal Th17 and regulatory T cell differentiation mediated by retinoic acid[J]. Science, 2007, 317(5835): 256-260.

[8] Sakaguchi S, Ono M, Setoguchi R, *et al*. Foxp3$^+$ CD25$^+$ CD4$^+$ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease[J]. Immunol Rev, 2006, 212: 8-27.

[9] Mor A, Planer D, Luboshits G, *et al*. Role of naturally occurring CD4$^+$ CD25$^+$ regulatory T cells in experimental atherosclerosis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2007, 27(4): 893-900.

[10] Abdulahad W H, Stegeman C A, Limburg P C, *et al*. Skewed distribution of Th17 lymphocytes in patients with Wegener's granulomatosis in remission[J]. Arthritis Rheum, 2008, 58(7): 2196-2205.

[11] de-Boer O J, van-deR-Meer J J, Teeling P, *et al*. Differential expression of interleukin-17 family cytokines in intact and complicated human atherosclerotic plaques[J]. J Pathol, 2010, 220(4): 499 - 508.
[12] Chen S, Crother T R, Arditi M. Emerging role of IL-17 in atherosclerosis[J]. J Innate Immun, 2010, 2(4): 325 - 333.
[13] Cheng X, Yu X, Ding Y J, *et al*. The Th17/Treg imbalance in patients with acute coronary syndrome[J]. Clin Immunol, 2008, 127(1): 89 - 97.
[14] 冯菁, 彭侃夫, 吴雄飞. 尿毒症患者早期小动静脉纤维化的变化[J] 第三军医大学学报, 2009, 31(19): 1884 - 1886.
[15] Koleganova N, Piecha G, Ritz E, *et al*. Arterial calcification in patients with chronic kidney disease[J]. Nephrol Dial Transplant, 2009, 24(8): 2488 - 2496.
[16] Toussaint N D, Lau K K, Strauss B J, *et al*. Associations between vascular calcification, arterial stiffness and bone mineral density in chronic kidney disease[J]. Nephrol Dial Transplant, 2008, 23(2): 586 - 593.
[17] Covic A, Kanbay M, Voroneanu L, *et al*. Vascular calcification in chronic kidney disease[J]. Clin Sci (Lond), 2010, 119(3): 111 - 121.
[18] Negri A L. Vascular calcifications in chronic kidney disease: are these new treatments? [J]. Curr Vasc Pharmacol, 2005, 3(2): 181 - 184.
[19] Csiszar A, Smith K E, Koller A, *et al*. Regulation of bone morphogenetic protein-2 expression in endothelial cells: role of nuclear factoR-kappaB activation by tumor necrosis factoR-alpha, H2O2, and high intravascular pressure[J]. Circulation, 2005, 111(18): 2364 - 2372.
[20] 韦皓, 陈沅, 沈彪, 等. BMP-13 在 $C_3H10T_{1/2}$ 干细胞向心肌样细胞分化过程中的作用[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(8): 813 - 817.
[21] Hruska K A, Mathew S, Saab G. Bone morphogenetic proteins in vascular calcification[J]. Circ Res, 2005, 97(2): 105 - 114.
[22] Hauburger A, von-Einem S, Schwaerzer G K, *et al*. The pro-form of BMP-2 interferes with BMP-2 signalling by competing with BMP-2 for IA receptor binding[J]. FEBS J, 2009, 276(21): 6386 - 6398.
[23] Liao X B, Zhou X M, Li J M, *et al*. Taurine inhibits osteoblastic differentiation of vascular smooth muscle cells via the ERK pathway[J]. Amino Acids, 2008, 34(4): 525 - 530.
[24] AL-Aly Z, Shao J S, Lai C F, *et al*. Aortic Msx2-Wnt calcification cascade is regulated by TNF-alpha-dependent signals in diabetic LdlR-/- mice[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2007, 27(12): 2589 - 2596.
[25] Ishimura E, Shioi A. Mechanism of arterial calcification with regards to atherosclerotic calcification and medial artery calcification[J]. Clin Calcium, 2005, 15(7): 137 - 142.

(收稿:2011-07-08;修回:2011-08-23)
(编辑 龙 亮)

(上接2255页)

母细胞瘤的一种少见的亚型[1],发生率不足脑内肿瘤的1%及胶质母细胞瘤5%[2],其临床及影像特点与胶质母细胞瘤均有所差别。病变好发于中老年人,但比多形性胶质母细胞瘤年龄更轻,平均发病年龄42岁[3]。其预后较胶质母细胞瘤更好[4],但如果肿瘤靠近脑室,易沿着脑脊液播散转移[5]。组织起源之前存在较大争议,1970年WHO分类中对本瘤命名采取折中办法,采用了2个名称,即巨细胞型胶质母细胞瘤和怪细胞肉瘤,前者被认为起源于胶质细胞,后者被认为起源于血管。光镜下巨细胞型胶质母细胞瘤由巨大畸形的瘤细胞、小圆形及梭形瘤细胞组成,巨大瘤细胞占优势,直径 > 500μm,核大及核分裂,巨细胞核常为角状,含有明显的核仁。瘤内可见缺血性坏死,瘤内血管丰富,血管内皮增生。免疫组化染色GFAP(+)。

本例患者年龄41岁,与该病发病年龄相符,临床上病程短,进展较快。目前,国内关于巨细胞型胶质母细胞瘤影像诊断报道较少,缺乏较多的诊断经验。本例患者MRI表现为:① 发生于丘脑,与侧脑室关系密切;② 肿瘤呈囊实性,可见较大囊变区,且以囊性为主,信号欠均匀,$T_1$WI呈等、稍低信号,$T_2$WI呈等、稍高信号;③ SWI像肿块内可见异常增生血管团;增强扫描壁结节、囊壁及实性部分较均匀明显强化;肿瘤境界清楚,周围水肿较轻。本病例肿瘤位置较深且靠近侧脑室,易误诊为脑室起源的肿瘤,但仔细观察病变,侧脑室为受压改变,且与文献报道的肿瘤可发生于临近脑室的部位一致[5],但也有报道称该病好发于颞叶及顶叶皮层下[2],因此有待大综病例报道予以总结。另外,病变亦表现为体积较大、界限清楚的肿块,特别是病变周围水肿较轻,与文献报道相符。本例加作SWI序列发现有多发增生血管,此种表现可能提示本病为高级别肿瘤。本病需要与以下疾病鉴别:多形性胶质母细胞瘤及间变型星形细胞瘤,它们发病年龄偏大,病灶周边水肿较明显,预后更差;转移瘤,绝大部分具有原发病灶,以灰白质交界处好发,病灶周围水肿明显,增强扫描呈均匀结节样或环状强化;室管膜瘤,常发生于1~5岁及30岁左右年青人,儿童好发于四脑室,成人常发生于侧脑室,增强扫描呈不均匀强化;血管母细胞瘤,病灶常发生于幕下小脑半球,囊壁一般不发生强化,壁结节强化明显且较均匀。本病的临床及影像学有一定的特征,如患者为中老年人,病程较短,脑内发现信号不均匀肿块影,境界清楚,水肿较轻,肿块内见大范围囊变区,增强扫描囊壁、壁结节及实质部分呈均匀明显强化,SWI像见增生血管影,应考虑到巨细胞型胶质母细胞瘤的可能。

## 参考文献:

[1] Kozak K R, Moody J S. Giant cell glioblastoma: a glioblastoma subtype with distinct epidemiology and superior prognosis[J]. Neuro Oncol, 2009, 11(6): 833 - 841.
[2] Jaiswal S, Vij M, Pandey R, *et al*. Cytomorphology of giant cell glioblastoma: Report of a case and brief review of literature[J]. Diagn Cytopathol, 2011 Feb 13. doi: 10.1002/dc.21648. [Epub ahead of print].
[3] Kepes J J, Louis D N, Giannini C, *et al*. Pleomorphic xanthoastrocytoma[M]//Kleihues P, Cavenne W K. Pathology and genetics of tumors of the nervous system. Lyon: IARC Press, 2000: 52 - 54.
[4] Naydenov E, Bussarsky V, Nachev S, *et al*. Long - Term Survival of a Patient with Giant Cell Glioblastoma: Case Report and Review of the Literature[J]. Case Rep Oncol, 2009, 2(2): 103 - 110.
[5] Ammerman J M, Kerr P B, Roberti F. Acute tetraplegia and cardiac arrest following high cervical leptomeningeal metastasis of giant cell glioblastoma[J]. J Clin Neurosci, 2011, 18(8): 1133 - 1135.

(收稿:2011-07-15;修回:2011-08-15)
(编辑 汪勤俭)