维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2003)06－0769－02

生长因子在实验性尿酸盐肉芽肿形成和转归中的作用

徐　曼[1]，孙铭柱[2]

(1.重庆医科大学基础医学院病理教研室;2.解放军二炮总医院病理科,重庆　400016)

【摘　要】目的:探讨转化生长因子－β_1(TGF－β_1)与尿酸盐肉芽肿形成和转归之间的关系。方法:采用免疫组化及原位杂交法观察 30 例尿酸性肾病大鼠肾小管周围肉芽肿形成过程中 TGF－β_1、PCNA、α－SMA 及Ⅲ型胶原在不同时段的表达情况。结果:肉芽肿形成的整个过程中受损伤的肾小管上皮细胞及肉芽肿内单核细胞均有 TGF－β_1mRNA 及 TGF－β_1 蛋白和 PCNA 的表达。且 TGF－β_1 的表达与肉芽肿内Ⅲ型胶原沉积程度一致。结论:TGF－β_1 可能通过自分泌和旁分泌刺激尿酸盐结晶周围单核细胞原位增殖而促进异物肉芽肿形成,且在肉芽肿纤维化过程中发挥了重要作用。

【关键词】转化生长因子－β_1(TGF－β_1);肉芽肿

【中国图书分类法分类号】R392.11　　【文献标识码】A　　【收稿日期】2002－11－12

Growth factor plays a role in the forming and progressing process of experimental uric acid granulomas

XU Man, et al

(*Department of Pathology, College of Basic Medical Sciences, Chongqing Medic al Universityal*)

【Abstract】*Objective*: To study the relationship between the expression of TGF－β_1 and the formation and progression of experimental uric acid granulomas in rats. *Methods*: The formation and progression of granulomas in 30 cases of uric acid nephropathy, the expressions of protein and mRNA of TGF－β_1, moreover PCNA, α－SMA and collagen Ⅲ were investigated with ABC immunohistochemical staining and in situ hybridization techniques. *Results*: The mononuclear cells in granulomas and the injured renal tubular cells expressed TGF－β_1mRNA, and synthesized protein of TGF－β_1 and PCNA. In the late stage, the degree of the expression of TGF β_1 and the deposition of collagen Ⅲ were in coincidence in granulomas. *Conclusion*: TGF－β_1 promotes the forming of granulomas by stimulating the proliferation in situ of mononuclear cells through autocrine and paracrine, and plays important roles in fibrosis of granulomas.

【Key words】Transform growth factor－β_1(TGF－β_1);Granuloma

在尿酸性肾病大鼠模型的研究中,我们观察到大鼠肾组织内有大量尿酸盐肉芽肿形成[1]。以往文献多认为肉芽肿的形成是通过淋巴因子趋化血中单核细胞在病灶聚集而成。近期 Hui 氏报道是由于 ED1＋血源性单核细胞渗透到病灶局部增殖而形成肉芽肿,但导致单核细胞增殖的原因仍不清楚。本文采用免疫组织化学染色及原位杂交法观察 TGF－β_1 在尿酸盐肉芽肿内的表达,从而探讨生长因子在肉芽肿形成和转归中的作用。

1　材料与方法

1.1　大鼠尿酸性肾病模型的建立

大鼠 36 只,雌性,重 150～180g,随机分组,每组 6 只。按 0.3g/100g 体重/日剂量,将腺嘌呤混悬于 2% 淀粉溶液灌胃,每日 1 次,连续 5 周,对照组等体积 2% 淀粉溶液灌胃。每周取实验组 6 只,对照组 1 只取双侧肾经 10% 多聚甲醛固定,石蜡包埋,4μm 切片行 HE、免疫组化和原位杂交染色。

1.2　免疫组化

ABC 法染色。一抗:兔抗人(TGF－β_1),鼠抗人 PCNA(DAKO),兔抗人Ⅲ型胶原(上海医科大学病理系),兔抗人 α－SMA(福建迈新公司);二抗:猪抗兔、兔抗鼠;三抗:ABC 复合物(DAKO)。以 TBS 缓冲液代替一抗作为阴性对照。

1.3　原位杂交

以 TGF－β_1 质粒 Bluescript Ⅱ KS＋(美国 NIH 钱苏文教授惠赠)作模板,体外转录法制备生物素标记的 TGFβ_1cRNA 探针。按常规原位杂交法进行 TGF－β_1mRNA 杂交,DAB 显色。以不加探针或不加生物素抗体为阴性对

作者介绍:徐　曼(1964－　),女,副教授,硕士,主要研究方向:肿瘤病理和实验病理。

维普资讯 http://www.cqvip.com

照。

2 结 果

2.1 模型病变特点

模型第 1 周,尿酸盐主要沉积于肾皮髓质交界区。在尿酸盐沉积的肾小管上皮萎缩或消失,周围间质可见中性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞浸润;第 2 周开始尿酸盐结晶周围逐渐形成由大量单核细胞和个别多核巨细胞构成的微小肉芽肿;模型第 3 至 5 周,结晶分布更加广泛,大量肉芽肿形成,且肉芽肿周边随病程逐渐出现纤维化。

2.2 免疫组化

正常大鼠 TGF-β_1 在皮髓质交界处肾小管上皮少量表达。偶见肾小管上皮 PCNA 阳性。肾间质内存在微量Ⅲ型胶原。模型第 1 周,尿酸盐结晶沉积区肾小管上皮表达 TGF-β_1 开始增强。随后尿酸盐在肾小管内沉积逐渐增多,TGF-β_1 在损伤的肾小管上皮内持续表达,在尿酸肉芽肿内单核细胞也广泛表达(图 1),且 TGF-β_1 表达程度随病程逐渐增强,模型第 2 至 5 周其阳性表达率分别为 67.5%、72.3%、78.4%、83.2%,同时肉芽肿内见大量增殖细胞核抗原 PCNA 阳性细胞,阳性率分别为 71.5%、73%、73.5% 和 74.6%。模型第 3 至 5 周,肉芽肿内出现了逐渐增多的 α-SMA 阳性的肌纤维母细胞,同时,Ⅲ型胶原的沉积也逐渐增多。

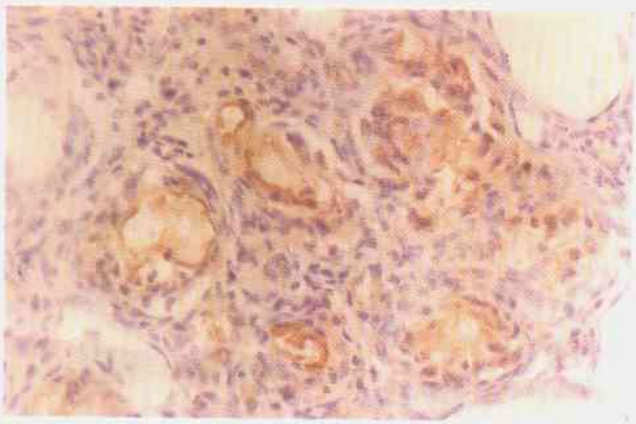


图 1 大鼠尿酸性肾病模型第 5 周,TGF-β_1 在肉芽肿单核细胞和成纤维细胞表达 DAB 显色 × 200 倍

2.3 原位杂交

TGF-β_1mRNA 在肉芽肿内单核细胞及病变区肾小管上皮胞浆内呈蓝黑色阳性表达。

3 讨 论

腺嘌呤致大鼠肾内尿酸盐沉积形成肉芽肿是依据腺嘌呤经大鼠消化道吸收入血,在肝内代谢形成 2,8 二羟基腺嘌呤,经肾小球滤过、在肾小管内浓缩形成结晶阻塞、压迫肾小管上皮,使之逐渐萎缩消失,单核细胞在结晶周围聚集形成肉芽肿。

在模型第 1 周,尿酸盐结晶沉积区肾小管上皮表达 TGF-β_1 开始增强,随后结晶周围有肉芽肿形成,且肉芽肿内单核细胞也表达 TGF-β_1,单核细胞 PCNA 的阳性率也持续维持在较高水平。在我们研究中还发现 b-FGF 和 IGF-1 在肉芽肿形成和纤维化过程中表达。提示 TGF-β_1、b-FGF 和 IGF-1 可能通过自分泌和旁分泌途径趋化和刺激单核细胞原位增殖形成肉芽肿。文献也证实 TGF-β_1 和 b-FGF 具有趋化单核巨噬细胞的功能[2],且体外培养的取自损伤部位的巨噬细胞也能合成 TGF-β_1 和 IGF-1[3]。在肉芽肿逐渐纤维化的过程中,单核细胞浆内 TGF-β_1 和 b-FGF 表达持续增加,同时肉芽肿内出现 α-SMA 阳性的肌纤维母细胞,Ⅲ型胶原的沉积也逐渐增多,提示 TGF-β_1 和 b-FGF 在肉芽肿纤维化过程中既能促进单核细胞向肌纤维母细胞转化,同时也促进其胶原的合成。文献也报道成纤维细胞和肌纤维母细胞在异物肉芽肿的纤维化包裹过程中发挥了重要作用[4],而肉芽肿内的成纤维细胞既可表达纤维生长因子同时也能合成前胶原[5],TGF-β_1 可通过以下几条途径促进纤维化的发生:1)趋化单核巨噬细胞和成纤维细胞,并可通过刺激 b-FGF 分泌而介导成纤维细胞增生;2)促进成纤维细胞合成胶原;3)通过抑制胶原酶等抑制细胞外基质降解[6,7]。

总之,在尿酸性肾病肉芽肿形成过程中,生长因子通过旁分泌和自分泌发挥了重要作用。在肉芽肿形成早期,IGF-1、TGF-β_1 和 b-FGF 可能趋化单核细胞并促其原位增殖;而在肉芽肿纤维化包裹的过程中,TGF-β_1 和 b-FGF 在促单核细胞向肌纤维母细胞及成纤维细胞转化和刺激胶原合成过程中发挥了重要作用。

参 考 文 献

[1] 徐 旻,孙锁柱,邹万忠. 尿酸性肾病胰岛素样生长因子和成纤维细胞生长因子的表达[J]. 中华肾脏病杂志,1999;15(5):281-283.

(下转第 774 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

HOMA－IR 的回归方程中，TG 的回归系数为正数，且标准化回归系数最大，提示 TG 的增加对 IR 加重有正效应，且作用最强。在 HOMA－β cell 的回归方程中显示 TG 的增加使胰岛 β 细胞分泌胰岛素的功能代偿性增强。高 TG 血症引起 IR 的机制可能是：游离脂肪酸(FFA)是合成 TG 的原料，TG 升高可以反映血浆 FFA 水平的升高。高水平的 FFA 一方面通过葡萄糖—脂肪酸循环干扰肌肉对胰岛素的敏感性，另一方面又通过其在肝脏 β 氧化途径刺激糖异生，诱导肝糖输出，并降低肝脏对胰岛素的灭活能力，同时 FFA 可直接刺激胰岛 β 细胞分泌胰岛素，从而形成 IR 和高胰岛素血症。因此 TG 水平升高可以看作是 IR 的早期表现。

另外，本研究中高血压组的 HOMA－IR、HOMA－β cell 显著高于正常血压组，其中，舒张压进入 HOMA－IR、HOMA－β cell 回归方程，提示血压高低同样可以影响 IR 和胰岛 β 细胞分泌功能。众多研究显示原发性高血压人群有明显的 IR，其葡萄糖的摄取和利用明显减少，并认为 IR 是高血压的发病基础。IR 引起胰岛素分泌代偿性增加，产生高胰岛素血症。高胰岛素血症和 IR 可以通过改变细胞内游离钙的浓度，促进远端肾小管重吸收钠，增强交感神经活性及促进小动脉平滑肌增生等导致血压进一步升高。

IR 是肥胖、高血压和血脂紊乱等疾病发病的共同基础，这些患病人群的糖耐量可以正常，但是其中伴有 IR 的个体以后患 IGT 或 2 型 DM 的危险性加大。大庆 430 例 NGT、IGT6 年前瞻性研究结果显示，胰岛素敏感性差的 NGT 者，6 年随访中糖耐量恶化为 IGT 或 DM 者约占 1/3，而胰岛素敏感者恶化为 DM 者仅约占 1/8。多因素逐步回归分析显示，基线值年龄、性别、BMI、OGTT2h 血糖水平、胰岛素敏感性及胰岛素分泌诸自变量中，仅有胰岛素敏感性进入方程且与糖耐量恶化呈显著负相关[5]。2 型 DM 发病可分为三阶段，第一阶段有 IR 但血糖正常，第二阶段为 IGT 阶段，第三阶段才是 DM 阶段。一级预防是降低 2 型 DM 发病率最有效的措施，因此在 NGT 人群中对伴有 IR 的肥胖、高血压和血脂紊乱等疾病者应进行早期干预，减轻其 IR，保护胰岛 β 细胞功能，从而避免或延缓 2 型 DM 的发生。

参 考 文 献

[1] Haffner SM, Kennedy E, Gonzalez C, et al. A prospective analysis of the HOMA Model. The Mexico City diabetes study [J]. Diabetes Care, 1996; 19(10): 1138－1141.

[2] 1999 World Health Organization－International Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension. Guidelines Subcommittee[J]. J Hypertens, 1999; 17(2): 151－183.

[3] 中华心血管病杂志编委会血脂防治对策专题组. 血脂异常防治建议[J]. 中华心血管病杂志, 1997; 25(3): 169－175.

[4] 项坤三，贾伟平，陆俊茜，等. 中国上海地区 40 岁以上成人中肥胖与代谢综合征的关系[J]. 中华内科杂志, 2000; 39(4): 224－228.

[5] 李光伟，王金平，陈 川，等. 成人糖尿病发病模式的探讨[J]. 中华医学杂志, 2001, 81(15): 914－917.

(上接第 770 页)

[2] Ono I. Roles of cytokines in wound healing processes[J]. Nippon Geka GaKKai ZaShi, 1999; 100(9): 522－528.

[3] Rappolee DA, Mark D, Banda MJ, et al. Wound macrophages express TGF－alpha and other growth factors in vivo: analysis by mRNA phenotyping [J]. Science, 1988; 24 (4866): 708－712.

[4] Khouw IM, van Wachem PB, Plantinga JA, et al. TGF－beta and bFGF affect the differentiation of proliferation porcine fibroblast into myofibroblast in vitro[J]. Biomaterials, 1999; 20 (19): 1815－1822.

[5] Katou F, Ohtani H, Nagura H, et al. Procollagen－positive fibroblasts predominantly express fibrogenic growth factors and their receptors in human encapsulation process against foreign body[J]. J Pothol, 1998; 186(2): 201－208.

[6] Strutz F, Zeisberg M, Renziehausen A, et al. TGF－beta 1 induces proliferation in human renal fibroblasts via induction of basic fibroblast growth factor(FGF－2)[J]. Kidney Int, 2001; 59(2): 579－592.

[7] Allison A, Eddy. Molecuar insights into renal intestinal fibrosis[J]. J Am Soc Nephron, 1996; 7: 2495－2508.