DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.01.027
60 第22卷第1期 2000年1月 第三军医大学学报 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Vol. 22, No. 1 Jan. 2000

论著

文章编号:1000-5404(2000)01-0060-04

MCP-1在肾小球肾炎中的表达及其意义

涵露,朱妙珍 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所肾内科,重庆 400042)

提 要 目的:探讨肾小球肾炎患者肾组织单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)的表达及其与肾间质中浸润的单核细胞(MC)数、肾小管病理损伤、尿蛋白量之间的关系。方法:用免疫组化技术检测5例正常及31例原发性肾炎肾组织中MCP-1、CD68的表达。结果:正常肾组织有极少量MCP-1表达及MC浸润;膜性肾小球肾炎(MN)组肾小球内未见MCP-1、CD68表达;系膜增生性肾小球肾炎(MsPGN)、膜性增生性肾小球肾炎(MPGN)、局灶节段性肾炎(FSGS)组肾小球及肾炎各组肾小管-间质MCP-1$^+$、CD68$^+$细胞数量显著高于正常对照组($P<0.01$),肾小球、肾小管MCP-1$^+$表达量与肾间质MC浸润数量呈明显正相关($r_1=0.84$, $r_2=0.93$, $P<0.01$),但与24 h尿蛋白定量无相关性($r_1=0.52$, $r_2=0.34$, $P>0.05$),肾小管MCP-1$^+$表达量与病变肾小管数呈正相关($r=0.72$, $P<0.05$)。结论:①MsPGN、MPGN、FSGS肾小球内MCP-1表达增强,提示可能和肾小球内MC浸润有关;②MsPGN、MPGN、FSGS、MN肾小管MCP-1表达增强,提示可能和肾小管-间质MC浸润及肾小管损伤有关。

关键词 单核细胞趋化蛋白-1;单核细胞;肾小球肾炎

中图法分类号 R341.43;R692.31 文献标识码 A

Expression and significance of MCP-1 in patients with glomerulonephritis

DING Han-lu, ZHU Miao-zhen (Department of Nephrology, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042)

Abstract Objective: To study the expression of monocyte Chemoattractant Protein-1(MCP-1) in normal and nephrotic kidneys and its relationship with monocytic infiltration, damage of renal tubules and proteinuria. Methods: Immunohistochemistry was employed to determine the expression of MCP-1 and CD68 cells in 5 normal and 31 nephrotic kidneys. Results: In the normal renal tissues, there was a little MCP-1 expression and monocytic infiltration. No expression of MCP-1 or CD68 was found in the glomeruli of the patients with MN. In the glomeruli of the patients with MsPGN, MPGN and FSGS and in the interstitial tissue of the renal tubules of those with MsPGN, MPGN, FSGS and MN, the expression of MCP-1 and CD68 was significantly higher than that in the normal control ($P<0.01$). Positive expression of MCP-1 in the glomeruli and renal tubules was significantly correlated to the intensity of monocytic infiltration ($r=0.84$ and 0.93, $P<0.01$) but showed no correlation to the quantity of proteinuria ($r=0.52$ and 0.34, $P>0.05$). MCP-1 expression in the renal tubules was correlated to the number of damaged tubules ($r=0.72$, $P<0.05$). Conclusion: Our findings indicate that MCP-1 plays an important role to induce monocytic infiltration and to mediate tubular damages during glomerulonephritis.

Key words monocyte chemoattractant protein-1; monocyte; glomerulonephritis

在肾小球肾炎的发生发展过程中,外周血单核细胞(Monocyte, MC)浸润于肾间质具有极为重要的意义,但其浸润机制不太明确。单核细胞趋化蛋白-1(Monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)是新近明确的对单核/巨噬细胞有趋化、激活双重作用的趋化因子[1]。动物实验证实[2,3],肾组织细胞MCP-1表达增强与单核细胞浸润相关,但有关人类肾小球肾炎肾组织中MCP-1表达及其与单核细胞浸润、肾小管病理损伤、尿

作者简介:丁涵露(1970.2),女,山东省日照市人,硕士研究生,住院医师,主要从事肾小球肾炎发病机制方面的研究。电话:(023)68757446

收稿日期:1999-06-11;修回日期:1999-10-13

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

蛋白量之间的关系，国内未见报道，据此，本实验采用免疫组织化学方法探讨在正常及不同病理类型的肾小球肾炎肾组织中 MCP-1 表达变化及其与肾间质中浸润的单核细胞数、肾小管病理损伤、尿蛋白量之间的关系，以期明确 MCP-1 在肾小球肾炎发病机制中的作用，为临床治疗肾小球肾炎提供部分实验依据。

1　材料与方法

1.1　病例选择

病人来源于我科 1998 年 3 月至 1999 年 2 月住院治疗并行肾穿刺活检的慢性肾小球肾炎患者 31 例，其中男性 17 例，女性 14 例，平均年龄 34.5(15～57) 岁，均为原发性肾小球肾炎，按 1982 年 WHO 拟订的肾小球疾病形态学分类标准[4] 进行病理诊断分组。病人肾穿刺前无大剂量免疫抑制剂冲击治疗史。慢性肾炎组包括系膜增生性肾小球肾炎 (Mesangial proliferative glomerulonephritis, MsPGN) 17 例；膜性增生性肾小球肾炎 (Membranoproliferative glomerulonephritis, MPGN) 5 例；局灶性节段性肾小球硬化 (Focal segmental glomerular sclerosis, FSGS) 4 例；膜性肾小球肾炎 (Membranous glomerulonephritis, MN) 5 例。正常对照组 5 例，均为肾移植供肾，全部经证实肾功能及尿常规正常。

1.2　观察指标

1.2.1　尿标本　　患者入院后留取 24 h 尿标本，备测 24 h 尿蛋白定量。正常对照组尿标本于取移植肾标本时留取，备测尿常规。

1.2.2　普通病理学观察及病变肾小管百分数的测定　　肾组织切片常规行 HE、PAS、PASM 染色，行病理诊断及分类。病变肾小管百分数的测定为计算肾皮质中 100 个肾小管中出现浊肿、变性、坏死、萎缩的肾小管的百分数。

1.2.3　MCP-1、CD68 免疫细胞化学　　4℃ 丙酮固定的 10～15 μm 冰冻切片行 S-P 法染色，一抗分别为小鼠抗人 MCP-1 单克隆抗体 (Pharmigen 公司 1 ∶500)、小鼠抗人 CD68 抗体 (Santa Cruze 公司 1 ∶50，识别单核细胞)，按照 S-P 试剂盒 (福州迈新公司) 说明书进行操作与测定。阴性对照以 PBS 代替一抗同法操作。

1.2.4　染色细胞的计数[5]　　计算每张切片 6 个以上肾小球横切面内 $MCP\text{-}1^+$、$CD68^+$ 细胞数的平均数，以 $MCP\text{-}1^+$ 细胞数/肾小球横切面、$CD68^+$ 细胞数/肾小球横切面表示；计算每 mm^2 皮质肾小管 $MCP\text{-}1^+$ 小管占总肾小管百分数，以 $MCP\text{-}1^+$ 小管%/mm^2 表示；计算每 mm^2 皮质肾小管间质 $CD68^+$ 细胞数，以 $CD68^+$ 细胞数/mm^2 表示。

1.3　统计学处理

计量资料结果以 $x \pm s$ 表示。肾炎组与正常组之间的细胞数比较用 t 检验或秩和检验。$MCP\text{-}1^+$ 细胞数与 $CD68^+$ 细胞数、病变肾小管百分数的相关分析采用直线相关，$MCP\text{-}1^+$ 细胞数与尿蛋白的相关分析用非参数 Spearman 等级相关分析。

2　结果

2.1　MCP-1、CD68 在肾组织中的表达

免疫组化显示，正常肾组织仅有极小部分的肾小球细胞和肾小管上皮细胞表达极弱的 MCP-1，肾小球球内系膜区和肾小管间质区可见极少量 CD68 表达，呈弱阳性染色。MsPGN、MPGN、FSGS 组肾小球和肾小管-间质的 $MCP\text{-}1^+$、$CD68^+$ 表达量以及 MN 组肾小管-间质的 $MCP\text{-}1^+$、$CD68^+$ 表达量明显高于正常对照组 ($P<0.01$)。MN 组未见肾小球表达 MCP-1 和 CD68，MPGN 组肾小球 $MCP\text{-}1^+$ 细胞数显著高于 MsPGN 组 ($P<0.01$)，同时 MPGN、MsPGN 和 FSGS 组肾小球 $MCP\text{-}1^+$、$CD68^+$ 细胞数亦显著高于 MN 组 ($P<0.01$)，MsPGN 与 FSGS 组，MPGN 与 FSGS 组肾小球阳性细胞数相比较差异不显著，肾炎各组之间 $MCP\text{-}1^+$ 肾小管数、小管间质 $CD68^+$ 细胞数相比较差异不显著，见表 1。MCP-1 阳性染色物质主要沉积于肾小球球内系膜区，此外在 Bowman's 囊壁、肾血管内皮细胞、肾小管上皮细胞的基底侧以及部分间质小血管壁亦可见 MCP-1 表达，在球内系膜区及小管间质区可见 CD68 阳性染色，见图 1～4。

表 1　肾组织 MCP-1、CD68 表达情况

Tab 1　Expression of MCP-1, CD68 in kidney

Group	n	Glomerular		Renal tubule	
		$MCP\text{-}1^+$ (cell/gcs)	$CD68^+$ (cell/gcs)	$MCP\text{-}1^+$ (rt%/mm^2)	$CD68^+$ (cell/mm^2)
Control	5	2.3±1.2	0.72±0.4	5.1±2.1	7.2±0.3
MsPGN	17	38.4±5.8**	18.3±4.2**	40.3±5.3**	215.0±7.1**
MPGN	5	61.5±5.0**△	24.5±2.1**	44.0±5.7**	236.5±12.8**
FSGS	4	47.2±4.1**	20.1±3.7**	51.3±5.1**	246.7±15.3**
MN	5	0	0	59.7±5.5**	301.0±9.0**

gcs: glomerular crosssection; rt: renal tubule; ** : $P<0.01$ *vs* control; △: $P<0.01$ *vs* MsPGN

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

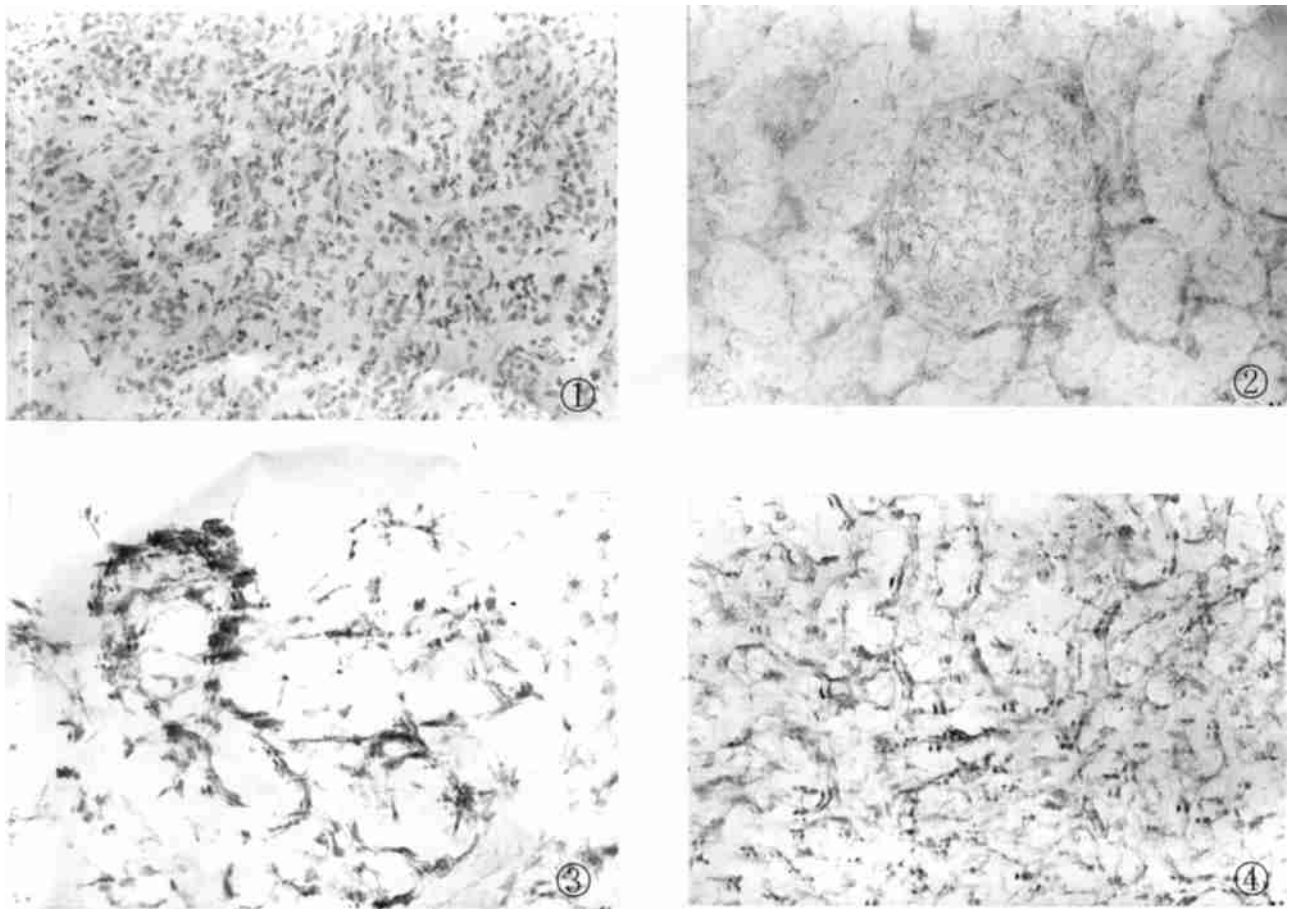


图 1 MsPGN 中 CD68 在肾小管间质强阳性表达 (S-P×200)

Fig 1 Strong postitive expression of CD68 in tubulointerstitial tissue in MsPGN (S-P×200)

图 2 MPGN 中肾小球细胞、肾小管上皮细胞强阳性表达 MCP-1 (S-P×200)

Fig 2 Strong positive expression of MCP1 in glomerulus and tubular epithelial cell in MPGN (S-P×200)

图 3 FSGS 中肾小球细胞强阳性表达 CD68 (S-P×400)

Fig 3 Strong positive expression of MCP-1 in glomerulus in FSGS (S-P×400)

图 4 MN 中肾小管上皮细胞强阳性表达 MCP-1 (S-P×200)

Fig 4 Strong positive expression of MCP-1 in tubular epithelial cell in MN (S-P×200)

2.2 MCP-1 表达与肾小球、小管间质巨噬细胞浸润的关系

肾炎组 (除外 MN 组) 中肾小球内 MCP-1$^+$细胞数与肾小球 CD68$^+$细胞数呈明显正相关 (r=0.84, P<0.01), 同时 MCP-1$^+$肾小管数与小管间质中 CD68$^+$细胞数亦呈明显正相关 (r=0.93, P<0.01), 在 MCP-1 表达的部位, 有明显的单核细胞浸润, 而无 MCP-1 表达的部位, 单核细胞浸润明显减少。

2.3 MCP-1 表达与尿蛋白定量、病变肾小管数的关系

MsPGN、MPGN、FSGS、MN 组 24 h 尿蛋白定量 (g/24 h) 分别为: 4.38±2.37、3.99±0.75, 3.53±1.01 和 5.25±1.70, 相关分析表明, 肾炎组 (除外 MN 组) 肾小球 MCP-1$^+$细胞数与尿蛋白量无相关性 (r=0.52, P>0.05), 同时, 肾炎组 MCP-1$^+$肾小管数与尿蛋白量亦无相关性 (r=0.34, P>0.05), MsPGN、MPGN、FSGS、MN 肾组织均有不同程度的皮质肾小管病理损伤, 包括浊肿、变性、坏死、萎缩, MsPGN、MPGN、FSGS、MN 病变肾小管的百分数分别为: 50.0±5.7、53.7±4.5、58.3±8.9 和 63.7±5.3。肾小管 MCP-1$^+$表达量在小管病变轻的肾组织较低, 在小管病变重的肾组织增高, 肾炎组肾小管 MCP-1$^+$小管数与患者肾小管病变百分数呈正相关 (r=0.72, P<0.05)。

3 讨论

本实验结果显示, 正常肾组织可见极少量MCP-1表达及单核细胞浸润, 可能与维持其正常的生理功能

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

有关。与正常肾组织比较，MsPGN、MPGN 和 FSGS 组肾小球内 MCP-1$^+$、CD68$^+$细胞数增加非常显著（$P<0.01$），相关分析发现肾小球内 MCP-1$^+$细胞数与 CD68$^+$细胞数呈明显正相关（$r=0.84$, $P<0.01$）。以上结果说明，肾小球内 MCP-1 过度表达及其可能引起的单核细胞的炎性浸润参与了肾小球肾炎的病理损害过程。MN 组未见肾小球内 MCP-1 阳性表达及单核细胞的浸润，这与 Brad 等[3]的报道一致，提示 MCP-1、CD68 未参与 MN 肾小球病理损害或 MN 肾小球的病理损害存在其他因素的损害机制。MsPGN、MPGN、FSGS、MN 肾炎患者常伴有比较严重的肾小管－间质病变，其往往是肾脏病变进展及肾功能进一步恶化的重要因素，目前认为单核细胞在其发生发展上起了重要作用。而单核细胞的浸润，常需要有 MCP-1 的存在[6]。本实验结果显示，肾炎组织中，MCP-1$^+$肾小管数和浸润于小管间质的单核细胞数呈明显正相关（$r=0.93$, $P<0.01$）。MCP-1 表达增强的肾小管周围有较多的单核细胞浸润，而无 MCP-1 表达的肾小管周围，则仅有少量单核细胞的浸润。Robert 等[7]亦报道人类 MN、MPGN、FSGS 在 MCP-1 表达阳性的近端肾小管周围有大量的单核细胞浸润，与本结果一致，本实验另外发现 MsPGN 在 MCP-1 表达增强的肾小管周围也有较多的单核细胞浸润，说明肾小管 MCP-1 高表达可能是单核细胞在局部浸润的重要原因，同时相关分析发现，肾小管 MCP-1$^+$细胞数与病变肾小管数呈正相关（$r=0.72$, $P<0.05$），MCP-1 表达量在小管病变轻的肾组织较低，在小管病变重的肾组织较高，说明肾小管 MCP-1 表达增加，可能是导致肾小管病理损害的一个重要原因。动物实验发现，肾小球内异常浸润的单核细胞和尿蛋白之间有相关性；体外实验发现，高浓度白蛋白，转铁蛋白等可使培养的肾小管上皮细胞分泌 MCP-1[8]，本实验肾炎患者的尿蛋白量与肾小球、肾小管 MCP-1 表达量均无相关性（$r_1=0.52$, $r_2=0.34$, $P>0.05$），提示免疫因素[9]等原因介导肾组织损伤的作用可能更为重要，在体内 MCP-1 与尿蛋白的关系需要进一步研究。

据本实验免疫组化结果，可知 MCP-1 在肾组织的表达，主要集中在肾小球球系膜区和肾小管上皮细胞基底侧，而肾小球系膜区和肾小管间质区正是单核细胞浸润的主要部位，体外细胞培养已证实，人肾小球系膜细胞、肾小管上皮细胞在细胞因子作用下，可表达分泌 MCP-1，并对单核细胞有趋化作用[7,10]，以上结果提示肾小球系膜细胞和肾小管上皮细胞在体内可能表达 MCP-1，当然本实验也不排除浸润于系膜区的单核细胞表达 MCP-1 的可能。此外在 Bowman's 囊壁，肾小球血管内皮细胞中也可见 MCP-1 阳性表达，细胞培养证实，在细胞因子作用下，肾小球上皮细胞可表达 MCP-1[11]，另外在抗胸腺细胞抗体诱导的肾炎动物模型[2]，用免疫组化方法发现肾小球内皮细胞表达 MCP-1，提示肾小球上皮细胞、内皮细胞在体内可能表达 MCP-1。

据本实验，我们认为 MCP-1 可能在肾小球肾炎患者的单核细胞浸润过程中起重要作用，这就为临床治疗肾小球肾炎提出了一条新思路，即在进一步探索如何降低 MCP-1 在肾组织中的表达从而降低单核细胞在肾间质的浸润现象方面具有重要价值。

参考文献

[1] Nikolic-Paterson D J, Lan H Y, Hill P A, *et al*. Macrophages in renal injury[J]. Kidney Int, 1994, 45(Suppl 4.5): S79－S82.

[2] Stahl Ral, Thaiss F, Disser M, *et al*. Increased expression of monocyte chemoattractant protein-1 in anti-thymocyte antibody induced glomerulonephritis[J]. Kidney Int, 1993, 44(2): 1 036－1 047.

[3] Brad H, Mark Rumancik, Laura Tan, *et al*. Glomerular expression of monocyte chemoattractant protein-1 in experimental and human glomerulonephritis[J]. Lab Invest, 1994, 71(1): 536－542.

[4] 邹万忠 . 肾脏病理与临床[M]. 长沙：湖南科学技术出版社，1993. 41－46.

[5] 陈伟英，尹培达，余学清 . 巨噬细胞移动抑制因子在狼疮性肾炎中的作用[J]. 中华肾脏病杂志，1998, 14(1): 15－18.

[6] Boucher A, Droz D, Adafer E, *et al*. Characterization of mononuclear cell subsets in renal interstitial infiltrates[J]. Kidey Int, 1986, 29(2): 1 043－1 049.

[7] Robert L, Schmouder D, Robert M, *et al*. Interferon regulation of human renal cortical epithelial cell-derived monocyte chemoattractant peptide-1[J]. Kidney Int, 1993, 44(1): 43－49.

[8] Wang Y P, Chuan J C, Chen L G, *et al*. Induction of monocyte chemoattractant protein-1 in proximal tubule cells by urinary protein[J]. J Am Soc Nephrol, 1997, 8(3): 1 537－1 542.

[9] Lan H Y, Nikdic-Paterson D J, Atkins R C. Involvement of activated periglomerular leukocytes in the rupture of Bowman's capsule and glomerular crescent progression in experimental glomerulonephritis[J]. Lab Invest, 1992, 67(1): 743－747.

[10] Byad Rovin, Teizo Yoshiumura, Laura Tan, *et al*. Cytokineinduced production of monocyte chemoattractant protein-1 by cultured human mesangial cells[J]. J Immunol, 1992, 148(4): 2 148－2 153.

[11] Nator Y, Sekiguchi M, Natori Y, *et al*. Gene expression of monocyte chemoattractant protein-1 by cytokine-treated glomerular epithelial cells(abstract)[J]. J Am Soc Nephrol, 1993, 4(2): 623－629.

（编辑　冷怀明）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net