# 增殖性肾小球肾炎肾小球内白细胞介素 2受体表达及其意义

闫振成* 朱妙珍 倪 军 王 东 申海鹰 (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:探讨增殖性肾小球肾炎(PGN)肾小球内单个核细胞(MNC)白细胞介素 2受体(IL-2R)表达与细胞外基质积聚的关系。方法:用免疫组织化学方法检测人 PGN肾小球内 T细胞浸润和 MNC IL-2R的表达,同时用 PAS染色方法结合计算机图象分析系统检测系膜区基质增生。结果: PGN肾小球内 T细胞浸润及 IL-2R+ MNC明显增多($P < 0.01$),正常肾组织内无 IL-2R+ MNC; PGN系膜区基质增生明显增加($P < 0.01$),且其与肾小球内 IL-2R+ MNC数目呈显著正相关。结论: PGN肾小球内 IL-2R阳性表达与系膜区基质积聚密切相关,提示局部免疫活化是 PGN的发生发展的重要参与因素。

关键词 白细胞介素 2受体;细胞外基质;增殖性肾小球肾炎
中图法分类号 R692.31

研究表明,肾组织内炎性细胞浸润是增殖性肾小球肾炎(Proliferative glomerulonephritis, PGN)的特点,淋巴细胞、单核巨噬细胞向肾组织趋化,并释放急性致炎因子,如 IL-1、IL-8等。肾脏局部细胞因子的变化与肾组织病变关系的探讨促进肾小球疾病发病机制的研究。已初步揭示,细胞因子如 IL-1、IL-6等在肾小球系膜细胞增殖和细胞外基质(Extracellular martix, ECM)积聚发挥重要的作用。由于肾小球内在细胞也可分泌细胞因子,那么浸润于肾小球内的单个核细胞(Mononuclear cell, MNC)是否处于活化状态,其活化的量与细胞因子的量关系较为密切。现研究认为,白介素 2受体(IL-2R)表达是单个核细胞活化的标志。本实验采用免疫组化检测肾小球内 MNC IL-2R表达及 PAS病理染色半定量分析肾小球系膜区基质增生程度,以期探讨局部肾小球内是否存在活化的 MNC,其与系膜区 ECM积聚的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 一般资料

13例病人男性 8例,女性 5例;均为我科住院病人,经肾活检证实为增殖性肾炎。其中系膜增殖性肾炎 7例,膜增殖性肾炎 6例,平均年龄(34.38±11.26)岁。正常对照组 12例,全部经开放肾活检证实为正常肾组织,均为男性肾移植供肾者。

### 1.2 试剂与方法

抗 Tac单克隆抗体来自于武汉生物制品所, CD3 APAAP试剂盒购于军事医学科学院。肾组织切 1 mm×1 mm×1 mm数块,行冰冻切片,然后以 4%多聚甲醛固定 30 min, -70°C保存,供免疫组化染色用,余肾组织置于 10%中性福尔马林液中固定,供 HE及 PAS染色用。正常肾组织同法处理。

1.2.1 肾组织内 T细胞及 IL-2R+ MNC的检测 经 4%多聚甲醛固定的冰冻切片, PBS漂洗 2次, 0.3% $H_2O_2$甲醇后固定 10 min,依次加入一抗(CD3抗 Tac单抗)室温 60 min,二抗 20μl室温 30 min,三抗(APAAP复合物)室温 30 min,各单抗作用完毕后, PBS漂洗 3次,最后加底物液溶解的坚固红,冲洗后用苏木精复染,以细胞膜或细胞浆明显着染的细胞定为阳性,每张切片观察 6个以上肾小球视野。

1.2.2 HE染色行病理诊断及分类。

1.2.3 PAS染色[1]及系膜区基质面积/肾小球面积比值测定[2] 石蜡切片经烘烤,脱蜡无水,以 1%过碘酸(pH4.0)染色 10 min, $ddH_2O$漂洗 2次,用 Schiff试剂反应 15 min,倾去染液,浸入 0.5% $NaHSO_3$处理 2次,每次 3 min,脱水后封片,在 MAS-1系统下测定肾小球系膜区基质面积/肾小球总面积的百分比值。

### 1.3 统计学分析

数据采用 $\bar{x} \pm s$表示,采用 $t$检验及相关分析处理。

## 2 结果

### 2.1 肾小球内浸润 T细胞及 MNC IL-2R表达

如表 1所示, PGN组肾小球内可见明显浸润的 T细胞, MNC IL-2R表达明显增加($P < 0.01$)。而正常肾组织内仅有少量 T细胞,而无 IL-2R+ MNC。T细胞与 IL-2R+ MNC呈显著正相关($r = 0.66$, $P < 0.05$)。

表 1 增殖性肾炎肾小球内单个核细胞浸润

Tab 1 Intraglomerular infiltration of MNC in biopsies from patients with PGN

| Group | $n$ | T cells | IL-2R+ MNC |
|---|---|---|---|
| Control | 12 | 0.5±0.67 | 0 |
| PGN | 13 | 2.54±1.13** | 2.08±0.95** |

**: $P < 0.01$ vs control

### 2.2 肾小球系膜区基质增生程度

如表 2所示,正常对照组肾小球系膜区基质面积/肾小球总面积百分比为 14.10±0.84, PGN组显著高于正常对照组

* 闫振成,男,32岁,主治医师,硕士

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

($P < 0.01$)。

表 2 增殖性肾炎肾小球系膜区基质增生程度

**Tab 2 The percentage of accumulation of ECM in PGN**

| Group | *n* | Matrix area(%) |
|---|---|---|
| Control | 12 | 14.1± 0.84 |
| PGN | 13 | 26.82± 2.15** |

** : $P < 0.01$ *vs* control

2.3 相关分析

PGN组肾小球系膜基质面积/肾小球总面积百分比与肾小球内 IL-2R+ MNC呈显著相关($r = 0.79$, $P < 0.01$),而与 T细胞浸润无显著相关($P > 0.05$)。

## 3 讨论

增殖性肾小球肾炎的特征性病变是系膜病变,即系膜细胞增殖及系膜区细胞外基质积聚,它是肾小球毁损、硬化过程中的病理基础[3,4]。另外,增殖性肾炎肾组织内炎性细胞浸润是一普遍的现象。现研究认为 IL-1、IL-6、PDGF等对系膜细胞增殖有重要作用。除单核巨噬细胞、T细胞外,肾小球固有细胞也可分泌这些因子,参与系膜病变。因而有必要明确肾组织内细胞因子主要依赖于肾小球固有细胞,还是依赖于浸润的炎性细胞。Tipping[5]等对抗基底膜肾炎进行研究,结果表明,肾小球内 IL-1产生主要依赖于巨噬细胞。那么增殖性肾炎肾小球内浸润细胞的程度,是否处于活化状态,其与系膜病变形成有何关系,值得研究。

本实验利用免疫组化技术对肾小球内炎性细胞进行研究。结果发现,PGN肾小球内 T细胞浸润较明显。进一步研究发现,肾小球内 IL-2R+ MNC明显增多,而正常肾组织内无 IL-2R+ 细胞。相关研究发现,PGN肾小球内 T细胞与 IL-2R+ MNC呈显著正相关,即 IL-2R+ 细胞中有部分为 T细胞。由于 IL-2R不表达于静止的细胞,只表达于活化的 T细胞和单核巨噬细胞等,IL-2/IL-2R的作用是 T细胞激活的关键。IL-2R表达于单核巨噬细胞的意义尚在研究中,IL-2与单核巨噬细胞表面的 IL-2R的作用可能大大促进 IL-1产生[6]。本研究表明,肾小球内 IL-2R+ MNC反映 T细胞或单核巨噬细胞免疫活化,直接或间接地参与系膜病变的发生发展。

为了阐明 PGN肾小球内 T细胞及 IL-2R+ MNC的意义。我们利用图象分析测定肾小球系膜区 ECM,结果发现,PGN肾小球系膜区基质增生明显;相关分析表明,肾小球系膜区增生的基质面积百分比主要与 IL-2R+ MNC呈显著正相关,而与 T细胞无显著相关。因此,PGN系膜区 ECM积聚与活化的炎性细胞密切相关。ECM积聚是由系膜细胞异常增殖所致,在 ECM积聚过程中,常有其它刺激系膜细胞增殖的细胞因子介入。利用一些细胞因子拮抗剂可抑制系膜增殖性肾炎模型肾小球硬化的发生,说明细胞因子与 ECM积聚关系极为密切。因此炎性细胞尤其是活化的炎性细胞可产生大量细胞因子[7],IL-2/IL-2R的结合是 T细胞和巨噬细胞 IL-1产生的诱导剂。局部肾组织内 IL-1、TNF等的增多,可促进系膜细胞的增殖和 ECM产生增加,持续作用导致肾小球硬化、肾小球毁损,因而如何抑制炎性细胞浸润及活化可阻止系膜病变的发生发展[8]。

## 参考文献


1 邹万忠 主编.肾脏病理与临床.长沙:湖南科技出版社,1993.46~50

2 Gesuldo L, Pinzani M, Floriano J J, *et al*. Platelet-derived growth factor expression in mesangial proliferative glomerulonephritis. Lab Invest, 1991, 65(2): 160

3 Fogo A. Internephron heterogeneity of growth factor and sclerosis. Kidney Int, 1994, 45(Supp145): S24

4 Rosenblum N D. The mesangial matrix in the normal and sclerotic glomerulus. Kindey Int, 1994, 45(suppl): 73

5 Peter G T, Melinda G L, Stephen R H. Glomerular interleukin 1 production is dependent on macrophage infiltration in anti-GBM glomerulonephritis. Kidney Int, 1991, 39(1): 103

6 Hermann F, Gebuer G, Lindemann A, *et al*. Interleukin-2 and interferon-Gamma recruit different subsets of human peripheral blood and monocytes to secrete interleukin-1 beta and tumour necrosis factor-alpha. Clin Exp Immunol, 1989, 77(1): 97

7 Irene L N, Cornelia K, Konrad A, *et al*. *In situ* production of TNF-α, IL-1 and IL-2R in ANCA-positive glomerulonephritis. Kidney Int, 1993, 43(3): 682

8 杨 斌,谌贻璞,马利军,等.细胞因子对人肾小球系膜细胞表达粘附分子的调控.中华医学杂志,1996,76(6):416


(收稿: 1998-12-30;修回: 1999-05-14)

(编辑 冷怀明)

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

# Expression and significance of intraglomerular interleukin-2 receptor in proliferative glomerulonephritis

Yan Zhencheng, Zhu Miaozhen, Ni Jun, Wang Dong, Shen Haiying (Department of Nephrology, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042)

**Abstract** Objective: To investigate the relationship between the accumulation of extracellular matrix (ECM) and the expression of interleukin-2 receptor (IL-2R) of intraglomerular mononuclear cells (MNC) in proliferative glomerulonephritis (PGN). Methods: Expression of IL-2R and T-cell infiltration were studied with immunohistochemistry. Accumulation of ECM was measured with PAS staining and then analyzed with computer image analysis system. Results: The number of IL-2R positive MNCs and T-cells was significantly increased in PGN ($P < 0.01$ *vs* the normal) and no IL-2R positive NMC was found in normal kidneys. The accumulation of ECM was higher in PGN than in the control and was positively correlated to the number of IL-2R positive MNC ($P < 0.05$) in PGN. Conclusion: Our findings suggest that the expression of IL-2R was involved in the accumulation of ECM in PGN, which implies the involvement of the activation of local cellular immunity in the pathogenesis of PGN.

**Key words** interleukin-2 receptor; extracellular matrix; proliferative glomerulonephritis

# 40例糖尿病视网膜病变的临床分析

# Clinical analysis of 40 cases of diabetic retinopathy

黄小勇* 刘 翔 贺翔鸽** 蒋伦珍 安世铭***
(第三军医大学附属新桥医院眼科) 重庆, 400037

糖尿病视网膜病变 (Diabetic retinopathy, DR)成为眼科主要致盲眼病之一[1]。早期诊断,并探讨发病的危险因素,对糖尿病视网膜病变的早期防治和降低其致盲率有重要意义[2]。为此我们对II 型糖尿病患者进行了眼底荧光血管造影检查及系统的全身和眼部检查,对影响糖尿病视网膜病变的全身危险因素进行了一些探讨。

## 1 一般资料

### 1.1 研究对象

根据临床症状、血糖、尿糖定量检查,根据 WHO 诊断标准,确诊为II 型糖尿病,曾用过胰岛素、抗糖尿病药物和饮食控制的,正在我院内科住院或门诊随访观察的患者 40例。在排除严重心、肝、肾疾患,过敏体质及多种药物过敏史后,进行眼底荧光血管造影。40例中,男性 23例,女性 17例;最小年龄 26岁,最大年龄 74岁,平均 54岁;病程最短者 1月,最长者 13年,平均 4.9年。

### 1.2 药物

20% 荧光素钠注射剂 5 ml

### 1.3 仪器

日本 Topcon TRC-WT3型眼底摄像机。胶卷:国产乐凯牌负片。

### 1.4 方法

充分散大瞳孔,先拍摄眼底黑白普通照片,然后按常规进行眼底荧光血管造影。造影的底片于 X线观片灯下用放大镜对比观察,并全部扩印成 2寸照片对比观察。

## 2 结果

所有糖尿病视网膜病变的诊断均按我国 1984年制订的糖尿病视网膜病变临床分期标准[3]。其中 33眼为I 型, 5眼为II 型, 11眼III型, 2眼为V 型。

II 型糖尿病病程少于 5年有 23例, 5~ 10年有 6例, 10年以上有 11例。II 型糖尿病患者年龄小于 40岁 2人, 40岁以上者 38人。

与高血压的关系: 2例高血压患者均发生 DR, 38例非高血压患者有 28人患有 DR。

与糖尿病肾病的关系 (有 19例检查了肾功、肾图、尿蛋白定量、$\beta_2$-mG): 13例 DN患者有 9例发生 DR, 6例非 DN患者有 5例发生 DR。

## 3 讨论

早期诊断是对糖尿病视网膜病变进行有效防治的前提。眼底荧光血管造影能够动态地观察视网膜血液循环状态和血管改变,并能揭示检眼镜下"正常"眼的早期糖尿病视网膜病变[4]。这表明眼底荧光血管造影检查是诊断早期糖尿病视网膜病变的较好方法[5]。

* 黄小勇,男,26岁,住院医师,硕士研究生
** 附属大坪医院野战外科研究所眼科 重庆, 400042
*** 附属新桥医院内分泌科 重庆, 400037

(下转 562页)

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