

•基础研究•

巨噬细胞移动抑制因子在狼疮性肾炎中的表达^①陈伟英¹ 尹培达¹ 陈永雄¹ 余学清¹ 梁英杰² 关伟明¹ 蓝辉耀³(中山医科大学 1 附属第一医院肾脏研究; 广州, 510080 2 病理学教研室
3 澳大利亚 Monash 医学中心肾科)

摘要 目的:了解狼疮性肾炎肾组织巨噬细胞移动抑制因子(MIF)的表达及与肾脏病理和功能损害的关系。**方法:**用微波免疫组化染色法,观察正常肾和狼疮肾组织 MIF 表达,以及狼疮肾皮质 MIF 阳性(MIF⁺)细胞数与狼疮肾组织活动指数、肾组织和功能损害的关系。**结果:**狼疮性肾炎肾组织 MIF 表达较正常组明显增多、增强,狼疮组肾组织 MIF⁺细胞数与狼疮肾组织活动指数明显相关,与肾脏病理及功能损害也有一定相关关系。**结论:**MIF 在介导狼疮性肾炎病损中起重要作用,其表达增多或可作为反映狼疮肾活动及进行性肾损害的指标。

关键词 狼疮肾炎/免疫学;巨噬细胞移动抑制因子;免疫组织化学

中图分类号 R 593.242

EXPRESSION OF MACROPHAGE MIGRATION INHIBITORY FACTOR ON HUMAN LUPUS NEPHRITIS

Chen Weiyong¹ Yin Peida¹ Chen Yongxiong¹ Yu Xueqing¹
Liang Yingjie² Guan Weiming¹ Lan Huiyao³

(¹ Renal Research Institute, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510080

² Department of Pathology, Sun Yat-sen University of Medical Sciences

³ Department of Nephrology, Monash Medical Center, Australia)

Abstract Objective: To investigate the renal expression of macrophage migration inhibitory factor(MIF) in lupus nephritis and its correlation with renal injuries. **Methods:** Using a microwave-based immunohistochemistry labelling, to examine the number of MIF⁺ cells in normal and diseased kidneys, and their correlation with renal pathologic and functional changes in lupus nephritis. **Results:** There was marked up-regulation of MIF expression on diseased kidney. The number of cells expressed MIF showed a strong correlation with LN activity, and a moderate correlation with histological and function changes. **Conclusions:** MIF may play an important role in mediation of progressive renal injuries in human lupus nephritis. In addition, the number of cells expressed MIF may be used as a better predictor of LN activity and progressive renal injury.

Subject headings lupus nephritis/immunology; macrophage migration-inhibitory factors; immunohistochemistry

巨噬细胞移动抑制因子(MIF)是一种含 115 个氨基酸的蛋白质,分子质量约 12.5 ku^[1]。垂体前叶及外周的单核巨噬细胞(M ϕ)是产生 MIF 的主要来源^[2~4]。MIF 能抑制 M ϕ 游走,促进 M ϕ 在炎症局部浸润、增生、激活及分泌一些细胞因子, (如 IL-1、TNF α 、NO)^[4~6], 在皮肤的迟发型变态反

应(DTH)及内毒素休克中起重要作用^[2~4]。1996 年, Lan 首次报道 MIF 介导实验性抗肾小球基底膜肾炎的发生、发展^[7]。但有关 MIF 在人类肾小球肾炎中的作用尚未见报道。本研究是国内外首次观察 MIF 在人狼疮性肾炎中肾组织表达及其与肾脏病理损害、肾功能改变之间的关系。

1 材料与方 法

1.1 病例选择

1996年3月~1997年1月在我科住院的28例经临床和肾活检确诊为系统性红斑狼疮(SLE)患者,按WHO病理分型分为Ⅱ型8例、Ⅲ型6例、Ⅳ型14例。病人肾穿前1d收集尿、血标本,测定尿N-乙酰-β-氨基葡萄糖苷酶(NAG)含量、24h尿蛋白定量、尿肌酐(Cr)及血Cr值并计算肌酐清除率(Ccr)。8例在光镜下正常的肾标本为正常肾脏对照组,来自因组织配型不合不宜移植的供体肾,以及肾肿瘤做肾切术但远离肿瘤部位的肾组织。

1.2 组织学

1.2.1 HE染色及PAS染色 检查每例活检标本所有的肾小球横切面(glomerular cross section, gcs),计算平均每个肾小球横切面毛细血管袢中细胞总数,按下面标准进行肾小球细胞增多的半定量评分,以细胞/肾小球横切面(gcs⁻¹)表示:0分(正常,<60 gcs⁻¹);1分(轻度增多,60~90 gcs⁻¹);2分(中度增多,90~120 gcs⁻¹);3分(重度增多,>120 gcs⁻¹)。计算狼疮肾组织活动指数:活动指数包括重度细胞增多、毛细血管壁破坏、细胞性新月体、白金耳、苏木素小体、纤维素沉积、微血栓形成、

间质细胞浸润、小管坏死、小动脉纤维坏死。以上各项按轻、中、重分别评为1、2、3分相加得总分。计算肾皮质出现病理损害的肾小管百分数。

1.2.2 MIF免疫组织化学染色 MIF抗体为小鼠抗人MIF IgM抗体,由澳大利亚Monash医学中心提供。计算平均每个肾小球横切面中MIF⁺细胞数目 $n_g(\text{MIF}^+ \text{ cell, gcs}^{-1})$ 及每mm²皮质间质中MIF⁺细胞数目 $n_t(\text{MIF}^+ \text{ cell, mm}^2)$,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

1.3 统计处理

狼疮组与正常组之间的细胞数比较用t'检验。MIF阳性细胞数与组织学指标相关分析用非参数Spearman等级相关分析;与肾功能指标(蛋白尿、尿NAG及Ccr)相关分析采用直线相关分析。

2 结 果

2.1 MIF在肾组织中的表达

正常肾组织,仅有小部分的肾小球壁层上皮细胞及系膜细胞,以及小于10%肾小管上皮细胞表达弱的MIF,而在狼疮性肾炎肾组织,约50%~60%肾小球细胞及70%~80%的肾小管表达高水平的MIF,尤以Ⅳ型狼疮性肾炎显著(表1)。

表1 肾组织细胞MIF的表达

Table 1 The expression of MIF in renal tissue

	N	Glomerulus		Tubulointerstitium
		$n_g(\text{total cell, gcs}^{-1})$	$n_g(\text{MIF}^+ \text{ cell, gcs}^{-1})$	$n_t(\text{MIF}^+ \text{ cell, mm}^{-2})$
Normal	8	46.7±19.2	2.5±1.3	6.2±3.6
LN	28	113.6±28.5 ($t'_{\bar{z}}=7.78$) ²⁾	62.8±12.6 ($t'_{\bar{z}}=14.10$) ²⁾	70.8±23.4 ($t'_{\bar{z}}=14.04$) ²⁾
type II	8	90.1±18.6 ($t'_{\bar{r}}=4.59$) ²⁾	46.3±20.2 ($t'_{\bar{r}}=6.13$) ²⁾	61.7±18.9 ($t'_{\bar{r}}=8.16$) ²⁾
type III	6	88.9±21.4 ($t'_{\bar{r}}=3.82$) ¹⁾	38.8±23.7 ($t'_{\bar{r}}=3.74$) ¹⁾	69.6±21.3 ($t'_{\bar{r}}=7.29$) ²⁾
type IV	14	128.6±36.5 ($t'_{\bar{r}}=6.86$) ²⁾	82.1±28.9 ($t'_{\bar{r}}=10.29$) ²⁾	87.2±35.2 ($t'_{\bar{r}}=8.54$) ²⁾

LN=lupus nephritis. Each lupus nephritis group was compared with normal group: 1) $P < 0.005$, 2) $P < 0.001$

2.2 MIF表达与肾组织学指标、肾功能相关分析

肾组织MIF表达与肾小球细胞增多、狼疮肾组织活动指数、肾小管间质损害、蛋白尿程度、尿

NAG水平呈正相关系,与肌酐清除率呈负相关系,见表2。

表 2 MIF⁺细胞与肾组织学及肾功能指标的相关
Table 2 Correlation analysis of MIF⁺ cell with histological damage and renal injury $r / \{r\} \cdot [1]$

	Glomerular hypercellularity ⁽⁰⁻³⁾	LN histologic activity index	Tubular lesions	Proteinuria (g/24 h)	Urine NAG (U/mmol)	Ccr (mL/min)
n_g (MIF ⁺ cell, gcs ⁻¹)	0.69 ²⁾	0.72 ¹⁾	—	0.53 ²⁾	0.23 ³⁾	-0.38 ³⁾
n_t (MIF ⁺ cell, mm ⁻²)	—	0.31 ³⁾	0.58 ²⁾	0.41 ²⁾	0.58 ²⁾	-0.43 ²⁾

MIF⁺ cell was compared with parameter using Spearman's rank or line correlation coefficient. 1) hypercorrelation; 2) moderate correlation; 3) mild correlation

3 讨论

1996年, Lan^[7~9]等人首次报道了实验性大鼠抗肾小球基底膜肾炎的肾组织细胞及 M ϕ MIF 表达与肾组织病理损害, 尿蛋白排量呈正相关, 与肌酐清除率呈负相关, 用抗 MIF 中和抗体治疗可明显减少 M ϕ 在肾组织中的浸润及肾脏病理损害, 提示 MIF 可介导抗 GBM 肾炎的发生、发展。

本实验结果显示, 正常人肾组织可有小部分的肾小球上皮细胞和小管上皮细胞表达弱的 MIF, 这与其他学者的报道基本一致^[7]。与正常肾组织相比, 本实验中狼疮性肾炎肾组织的肾小球细胞数目明显增多, 约 60% 肾小球细胞和 80% 肾小管表达 MIF, 病变最严重的 IV 型狼疮性肾炎最显著。在肾脏病理损害严重部位 (如新月体、肾小球节段性病变、局灶性小管间质病变) MIF 呈强表达, 而在组织结构相对完整的部位呈弱表达或不表达。提示 MIF 表达与肾脏疾病严重程度、肾脏局部病理损害有关。目前关于 MIF 介导肾脏疾病发生、发展的机理尚不清楚, 可能与吸引 M ϕ 在局部浸润, 并刺激 M ϕ 增生、活化及分泌 TNF α 、IL-1、NO 等细胞因子, 从而引起肾脏的组织学损害有关^[4~6]。

结果还显示, 肾组织 MIF 阳性细胞数与肾小球细胞增多, 狼疮肾组织活动指数、蛋白尿程度存在相关关系, 特别是肾小球 MIF 阳性细胞数与狼疮肾组织活动指数高度相关。提示肾组织 MIF 表达, 可反映狼疮性肾炎肾组织病理损害程度。由于狼疮肾组织活动指数升高常常提示狼疮肾炎处于活动期, 是积极治疗的指征。因此, 肾小球 MIF 表达增多可作为临床积极使用激素及其他免疫抑制剂治疗的指标。

不少的研究证明肾小管间质损害比肾小球损害更能预测肾功能恶化的速度。本结果肾小管间质 MIF 表达与肾小管间质损害、肌酐清除率、尿 NAG 排量中度相关, 提示肾小管间质中 MIF 表达可反映狼疮性肾炎肾功能损害程度, MIF⁺ 细胞数目或可作为预测肾功能损害进展的一个指标。

参 考 文 献

- 1 Sun H W, Bernhagen J, Bueala R, *et al*. Crystal structure at 2.6 Å resolution of human macrophage migration inhibitory factor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(11): 5191
- 2 Bucala R. MIF, a previously unrecognized pituitary hormone and macrophage cytokine, is a pivotal mediator in endotoxic shock. *Circulatory Shock*, 1994, 44(1): 35
- 3 Bernhagen J, Calandra T, Mitchell R A, *et al*. MIF is a pituitary-derived cytokine that potentiates lethal endotoxemia. *Nature*, 1993, 365(6448): 756
- 4 Bernhagen J, Bacher M, Calandra T, *et al*. An essential role for macrophage migration inhibitory factor in the tuberculin delayed-type hypersensitivity reaction. *J Exp Med*, 1996, 183(1): 277
- 5 Calandra T, Bernhagen J, Mitchell R A, *et al*. The macrophage is an important and previously unrecognized source of macrophage migration inhibitory factor. *J Exp Med*, 1994, 179(6): 1895
- 6 Celada A, Nathan C. Macrophage activation revisited. *Immunol Today*, 1994, 15(3): 100
- 7 Lan H Y, Mu W, Yang N S, *et al*. *De novo* expression of macrophage migration inhibitory factor during the development of rat crescentic glomerulonephritis. *Am J Pathol*, 1996, 149(4): 1119
- 8 Lan H Y, Bacher M, Yang N S, *et al*. The pathogenic role of MIF in immunologically induced kidney disease in the rat. *J Exp Med*, 1997, 185(8): 1
- 9 Lan H Y, Bacher M, Mu W, *et al*. Blockage of macrophage migration inhibitory factor (MIF) inhibits rat crescentic glomerulonephritis. *J Am Soc Neph*, 1996, 17(9): 1707

(1997-09-12 收稿 1998-04-30 修回)