

饮食抗原对 IgA 肾病产生的影响*

郑智华** 叶任高 姜 悦 尹培达 李幼姬 关伟明 何惠娟

(中山医科大学肾脏研究所;广州,510080)

提 要 本研究探讨抗原刺激粘膜免疫及封闭网状内皮系统与 IgA 于肾小球系膜沉积的关系。实验用 8~10 周 BALB/c 雌性小鼠 60 只,分别口服饮食抗原(麦胶蛋白和牛- γ 球蛋白),并于实验开始后前 3 周用或不用印度墨水尾静脉注射。实验第 14 周后杀检,作肾组织病理检查。结果表明,单纯口服饮食抗原组,免疫荧光显示,肾小球系膜 IgA 阳性率为(58%~67%);口服抗原加网状内皮系统封闭组,则为(73%~83%),IgA 荧光稍强于 IgG。光镜和电镜结果均提示肾小球系膜区增生;网状内皮系统功能在 14 周明显减弱。24h 尿蛋白无异常。第 14 周静注同类抗原后部分有一过性血尿。结果提示:口服饮食抗原,可导致 IgA 在肾小球系膜区沉积;如封闭网状内皮系统,则可减慢 IgA 的排泄速度,进一步促进 IgA 在肾小球系膜区沉积。

关键词 麦胶蛋白; γ 球蛋白; 网状内皮系统; IgA 肾病

中图分类号 R692

IgA 肾病是众多因素引起的一族肾小球疾病。有关 IgA 肾病的发病机理目前有多种学说:如循环 IgA 免疫复合物形成,细胞免疫异常,机体自身免疫状态缺陷及系膜功能缺陷等几种观点。不少学者认为粘膜异常免疫反应和网状内皮系统功能(RES)缺陷,可能是 IgA 肾病的 2 个重要发病因素。一些临床和实验研究也提示 IgA 肾病与粘膜免疫和 RES 功能有关^[1,2]。本研究的目的在于探讨饮食抗原刺激粘膜引起免疫及 RES 封闭与 IgA 肾小球系膜沉积的关系。

1 材料和方法

1.1 材料与分组

8~10 周大小雌性 BALB/c 小鼠(中山医科大学动物中心提供);麦胶蛋白(gliadin)、牛- γ 球蛋白(BGG)、FITC-羊抗小鼠 IgA、IgG 抗体(Sigma 公司提供);In-

dian lnk(广州化学试剂公司提供)。

60 只 BALB/c 小鼠观察 1 周后随机分成 5 组:

1.1.1 对照组 隔日喂 6 mmol/L HCL 酸化水。

1.1.2 Gliadin 组 将 Gliadin 加入 6mmol/L HCl 酸化饮用水中,浓度 0.1%,隔日喂。持续口服至 14 周末后用 1mg Gliadin 加入 0.01mmol/L, pH7.4, 的 PBS 液中尾静脉注射,每天 1 次,连续 3 次注射后开始分批杀检。

1.1.3 Gliadin+印度墨水组 实验开始前 3 周尾静脉注射印度墨水(4mg/100g 体重),每周 1 次。Gliadin 服用同前,14 周末测 RES 功能和分批杀检。

1.1.4 BGG 口服组 将 BGG 配成 0.1% 浓度的 6mmol/L 酸化水中隔日饮用,方法同 Gliadin 组。

1.1.5 BGG+印度墨水组 口服 BGG 加静注印度墨水,方法同第 3 组。

* 广东省科委科研基金资助课题

** 第一作者,29 岁,男,医师,硕士生

1.2 观察与测定

1.2.1 24h 尿蛋白定量测定 用代谢笼收集24h 排尿量,(每2只小鼠一组,用考马斯亮蓝比色法测尿蛋白量),每4周测1次,从实验第一周开始。

1.2.2 血尿观察 第8周后每周观察3次晨尿,膀胱区压迫取尿,涂片光镜下观察血尿情况。

1.2.3 RES 功能测定 在实验第14周和第18周测定,主要步骤为,取对照组和封闭组动物,以16mg/100g 体重的印度墨水加入0.01mol/l pH 7.4的PBS 液中,作尾静脉注射,在第4、8、16、32min 从眼眶内侧下缘取血,用721分光光度计在波长(λ)为650nm 下比色测出动物稀释血的吸光度,绘出曲线并与对照组比较。

1.2.4 肾脏病理学检查 在实验14周后分批杀检,每2周1次,作肾皮质病理学检查:①免疫荧光(IF):用直接法观察荧光强度,荧光

分级:(-)无荧光,(±)荧光很弱,(+)荧光较弱但清晰,(++)荧光明亮。本实验结果以荧光强度(+)为阳性结果计入统计。②光镜:取肾皮质作 HE,PAS,PASM,和 M-ason 染色,观察系膜区、系膜细胞等改变。③电镜:取肾皮质作透射电镜、观察系膜区细胞及电子致密物沉积情况。

2 结 果

2.1 肾皮质病理学检查

对照组免疫荧光(IF)IgA、IgG 均为阴性。单纯口服 gliadin 和 BGG 组免疫荧光 IgA 阳性率为67%和58%,荧光强度 Ig 与 IgG 相近。在口服 gliadin 和 BGG 并加用印度墨水封闭组,IgA 免疫荧光阳性率分别为83%和73%,且 IgA 荧光强度稍强于单纯口服组。光镜和电镜结果也提示实验组有不同程度的系膜区扩张,系膜细胞增多等(表1)。

附表 免疫荧光结果 (阳性 IF>+)

	IgA					IgG				
	-	±	+	++	阳性率(%)	-	±	+	++	阳性率(%)
G1	12	-	-	-	-	12	-	-	-	-
G2	-	4	8	0	67	0	4	7	1	67
G3	-	2	9	1	83	0	4	8	0	67
G4	-	5	7	0	58	0	3	7	2	75
G5	-	3	8	0	73	4	6	0	55	

2.2 血尿观察

从第8周开始观察血尿,在14周末,glidin 和 BGG 组在静脉注射相同抗原后有60%出现一过性血尿(镜下血尿)。其它时期则未观察到血尿。

2.3 24h 尿蛋白测定

在实验前及实验后每4周测1次尿蛋白,结果各时期、各组之间均无统计学差异。

2.4 RES 功能测定

第14周末测对照组和 RES 封闭组印度墨水排泄率,结果以吸光度表示($\bar{x} \pm s$),RES 封闭组印度墨水排泄情况明显低于正常的排

泄速率。

3 讨 论

3.1 关于 IgA 肾病与粘膜免疫异常的关系

国内外学者已作过大量研究。许多临床资料和实验研究提示 IgA 肾病与粘膜免疫有关:①IgA 肾病患者肉眼血尿的发作常与呼吸道感染或胃肠粘膜功能紊乱有关。②许多胃肠道粘膜病变易继发 IgA 肾病。③在一些 IgA 肾病患者肾活检中发现有麦胶蛋白,胶原蛋白,呼吸道病毒和肠道菌丛等抗体。④

血尿的产生与多聚体 IgA 产生有关等。某些环境抗原和饮食蛋白可以刺激粘膜分泌异常的 IgA, 而使之在系膜沉积, 如长期服用牛奶、谷蛋白及白蛋白等饮食。Emancipator^[6]用卵蛋白等单纯口服14周, 免疫荧光提示系膜 IgA 明显沉积, 但无血尿和蛋白尿。在另一临床研究中, 给 IgA 肾病患者长期服用去谷蛋白饮食, 可使疾病逐渐得到缓解。某些 IgA 肾病患者肾活检中, 常可查到部分抗病毒和饮食抗原的抗体成份。

3.2 关于饮食抗原可诱发 IgA 肾病的问题

本实验中, 口服 gliadin 和牛- γ 球蛋白 (BGG) 组14周至18周系膜 IgA 沉积显著高于对照组, 这说明饮食抗原可以诱发 IgA 肾病。一般认为, 由于 IgA 的免疫无耐受性, 随着口服免疫时间的延长, IgG 和 IgM 由于免疫耐受而逐渐减少, IgA 则逐渐增多。Coppo^[7] 等人在口服谷蛋白的实验性小鼠诱发 IgA 肾病动物模型中, 口服免疫时间30周左右而引起 IgA 肾病。因此, 免疫时间长短与 IgA 肾病发病率也有一定的关系。本实验14周末, 静脉注射同种免疫原后部分动物产生一过性血尿。血尿的发生一般认为与 IgA 沉积本身并无关而与 IgG、IgM 共同沉积并激活补体途径有关。Emancipator^[6] 在口服免疫等6周注射免疫原, 结果注射同种免疫原组, 多发生血尿; 而注射异种免疫原组, 则无血尿发生。

此外, 发现有些 IgA 肾病患者的 IgA 和 IgA 免疫复合物 (IgAIC) 的增多不是由于合成异常, 而是由于“清除”异常所致。如含 IgA-Fc 受体的吞噬细胞数量减少, IgG 包裹的自身红细胞清除减慢。在实验性肝硬化、胆管结扎、酒精中毒和肝大部分切除等研究中, 均发现有继发性的肾小球系膜 IgA 沉积。在本实验中, 口服 gliadin 和 BGG 并加用印度墨水封闭组, 其 IgA 沉积的阳性率分别为83%

和73%, 均明显高于单纯口服组。这可能与网状内皮系统功能封闭有关。Sato 曾口服乳白蛋白和注射胶性碳而诱发 IgA 沉积, 这些实验均说明了 RES 对 IgA 的清除功能在 IgA 肾病中起着重要的作用。

由于 IgA 肾病的病因、发病机理复杂, 病理类型也较多, 另外, 还可能有许多其它因素亦参与了发病过程。从本实验结果表明, 饮食抗原可以刺激粘膜免疫系统, 持续分泌 IgA 而导致肾小球系膜 IgA 的过度沉积; 而网状内皮系统功能的缺损, 使 IgA 的清除减缓, 进一步加重了肾小球系膜 IgA 沉积, 从而诱发了 IgA 肾病。

参 考 文 献

- 1 Emancipator SN, Lamm ME. IgA Nephropathy: pathogenesis of the most common form of glomerulonephritis. *Lab Invest*, 1989, 60(2): 168
- 2 叶任高, 沈清瑞. 现代肾脏病学. 北京: 人民卫生出版社, 1986. 240~241
- 3 Tomino Y, Sakai H, Miura M. Detection of polymeric IgA in glomeruli from patients with IgA nephropathy. *Clin Exp Immunol*, 1982, 49: 419
- 4 Sato M, Ideura T, Koshikawa S. Experimental IgA nephropathy in mice. *Lab Invest*, 1986, 54: 377
- 5 Rifal A. Experimental models for IgA associated nephritis. *Kidney Int*, 1987, 31: 1
- 6 Emancipator SN, Gullo GR, Lamm ME. Experimental IgA nephropathy induced by oral immunization. *J Exp Med*, 1983, 157: 572
- 7 Coppo R, Emancipator SN. Gluten induced experimental IgA glomerulopathy. *Lab Invest*, 1989, 60(4): 499

(1992-11-21收稿 1993-07-31修回)

THE EFFECT OF DIET ANTIGEN ON IgA NEPHROPATHY IN MICE

Zheng Zhihua Ye Rengao Jiang Dang
Yin Peida Li Youji Guan Weimin He Huijuan

(Kidney Research Institute, First Affiliated Hospital
Sun Yat-Sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510080)

In this experiment, the relation between mucosa immunity and reticuloendothelial system (RES) function with mesangial IgA deposit was studied. Sixty female BALB/c mice were randomly assigned to five groups; oral alternately, gliadin and γ -BGG, addition of india ink by administration on the basis of oral antigens and control. The renal tissue were taken for immunofluorescence (IF), light microscopy (LM) and electron microscopy (EM) at the end of 14th week. As a result, the positive rate of mesangial deposits of IgA was between 58% and 83% in IF staining in experimental groups, but naught in control group. LM and EM demonstrate also mesangial matrix proliferation and electrondense deposits in mesangial district. The intense of IgA-LF is stronger in oral antigen with RES blocked group than in only oral antigen groups. RES function was reduced after administration of india ink. Proteinuria and hematuria appeared no significant difference between experimental group. These results suggest that mucosa immunity and RES function might play an important role in the mechanisms of IgA nephropathy.

Key words gliadin; gamma globulin; reticuloendothelia system; IgA nephropathy