

树突状细胞在肾小管间质纤维化中作用及 缬沙坦的干预调节

周 同* 吴开胤 孙桂芝 李 晓 张玉梅 张雁云¹ 张冬青¹ 陈 楠

(上海交通大学医学院附属瑞金医院肾内科,¹上海交通大学医学院上海市免疫学研究所, 上海 200025)

摘要 探讨树突状细胞(DC)在肾纤维化大鼠肾小管间质中分布, 以及缬沙坦对 DC 浸润聚集的干预作用。建立肾大部切除大鼠模型, 随机分为正常组($n=18$), 假手术组($n=18$), 模型组($n=18$), 缬沙坦治疗组($n=18$)。分别于建模 1、4、12 周取肾组织, 采用 HE 和 Masson 染色评定各组肾小管间质纤维化(TIF)程度; 采用免疫双染及荧光图像分析法, 观察 DC-SIGN⁺ DC 在各组大鼠肾组织中分布变化; 采用免疫组化方法, 观察 P-选择素以及 TGF- β 1、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、III 型胶原(Col III)、纤维连接蛋白(FN)在上述肾组织中表达; 以及 RT-PCR 检测 P-选择素、TGF- β 1、 α -SMA、Col III、FN 的 mRNA 水平。结果显示, (1)模型组 DC-SIGN⁺ DC 主要分布于肾小管、肾间质和肾血管, 以肾间质最为明显; 其分布数量于 12 周较 1 和 4 周呈明显增多, 且与慢性肾功能减退呈正相关。(2)12 周时手术组大鼠肾小管间质区 P-选择素、TGF- β 1、 α -SMA、Col III、FN mRNA 转录水平和蛋白质表达均明显增加, 并与 TIF 程度以及 DC-SIGN⁺ DC 分布数量呈正相关。(3)经缬沙坦治疗后, DC-SIGN⁺ DC 分布减少, 以及 P-选择素、TGF- β 1、 α -SMA、Col III、FN mRNA 转录水平和蛋白质表达下降, TIF 程度减轻及肾功能改善。研究结果表明, DC 启动参与了肾小管间质纤维化形成, 并与肾功能损害程度密切相关。缬沙坦对此具有明显的抑制和肾脏保护作用。

关键词 树突状细胞; 肾小管间质纤维化; 肾切除术; 血管紧张素受体拮抗剂

慢性进展性肾病是以肾功能进行性下降为特征的一组多病因肾脏疾病。肾间质纤维化为上述病变的共同病理特征, 且其严重程度与肾功能的减退密切相关。已知炎症细胞浸润在肾病发生与进展中起重要作用, 且研究证明肾间质炎症细胞浸润及数量与肾小管间质病变的严重程度以及肾功能减退密切相关^[1]。一般认为, 由渗出性和增殖的固有细胞所组成肾小管间质炎症浸润, 可在局部产生多种炎症介质如 IL-1、TNF- α 以及肽类致纤维化细胞因子如 TGF- β 1、结缔组织生长因子(CTGF)等, 并能诱导肌成纤维细胞的增殖, 促进其合成细胞外基质 III 型胶原(Col III)和纤维连接蛋白(FN)等, 从而导致纤维化病灶形成及促进疾病发展^[2]。我们研究发现, 树突状细胞(dendritic cell, DC)也参与肾脏炎症浸润, 且主要分布聚集于肾小管间质, 与黏附分子 P-选择素及 DC-SIGN 迁移介导有关, 并与肾小管间质早期损伤及病变程度密切相关^[3-5]。已知 DC 是兼有炎症防御及免疫调控功能最强的抗原递呈细胞, 其炎症组织迁移主要由黏附分子及趋化因子介导, 并在肾脏等炎症性疾病发生发展中起重要作用^[6-8]。在上述过程中, 肾素-血管紧张素

系统(RAS)与 DC 作用密切相关。已发现体外培养人 DC 可表达血管紧张素原、血管紧张素转化酶及血管紧张素 II(AngII)受体(AT1、AT2)^[9], 而 AT1 受体阻断剂能显著抑制 DC 成熟及抗原递呈功能^[10]。为此我们在发现 DC 也是肾炎肾小管间质炎症损伤启动因素基础上^[3-5], 拟通过建立肾大部切除导致的慢性肾间质纤维化大鼠模型, 进一步观察 DC 在大鼠肾小管间质分布与作用, 以及与肾纤维化形成的关系, 此外观察了 AT1 受体阻断剂缬沙坦(valsartan)对 DC 浸润聚集的干预作用。

1 材料与方法

1.1 动物及试剂

雄性 SD 大鼠 72 只, 体重 200~250 g, 购自中国科学院上海实验动物中心。小鼠抗大鼠 OX-62 抗体、兔抗鼠 DC-SIGN 多抗、兔抗大鼠 P-选择素、

收稿日期: 2006-05-20 接受日期: 2007-05-10

国家自然科学基金(No.30770999, No.30570865)和上海市科委基金(No.02ZB14041, No.034119916)资助项目

* 通讯作者。Tel: 021-64370045, E-mail: zhoutong_cn@hotmail.com

TGF- β 1、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、Col III、FN 多抗,均购自 Stanta Cruz 生物技术公司;抗兔 IgG-FITC 和抗鼠 IgG-RPE,均购自 Jackson 公司;En Vision 试剂盒购自 DAKO 公司;缬沙坦由诺华制药有限公司惠赠;PCR 引物由上海生物技术工程公司合成。

1.2 模型建立及分组

将大鼠适应性饲养后,随机取 36 只分成正常组(Normal, $n=18$)和假手术组(Sham, $n=18$)两组。正常组不作任何手术处理,假手术组仅行乙醚吸入麻醉及暴露并剥离肾包膜,不做肾切除。余 36 只大鼠在同样麻醉下并切除左侧肾脏,一周后切除右肾上下极各 1/3,建立残肾模型^[11]。建模一周后再随机分为:模型组(SNx, $n=18$),术后予自由饮水和进食,不予药物干预;缬沙坦治疗组(SNxV, $n=18$),予每天 30 mg/kg 灌胃。于实验第 1、4、12 周分别处死大鼠,处死前称重,测血压,代谢笼留取 24 h 尿液,腹腔麻醉经腹主动脉采血,此外剥离肾包膜取出新鲜肾组织,置 10% 中性福尔马林固定待用。

1.3 血、尿生化检测

采用 Beckman 自动生化仪测定尿总蛋白(UP)、血尿素氮(BUN)和肌酐(SCr)水平及计算内生肌酐清除率(Ccr)。

1.4 肾脏病理检查

按常规方法,将肾脏组织固定、脱水、石蜡包埋,切片厚 2 μ m,行 HE 和 Masson 染色,最后光镜观察。根据肾小管间质纤维化(TIF)程度分为 4 级,0 级:正常;1 级:间质轻度增宽,病变范围 < 25%;2 级:间质中度增宽,病变范围 26%~50%;3 级:间质重度增宽,病变范围 > 50%。

1.5 免疫组化检测

采用 En Vision 法检测肾组织中 P-选择素、TGF- β 1、 α -SMA、Col III、FN 表达,并用半定量盲法分析上述指标^[12]。结果判断根据光镜下肾小管间质染色分布分为 0~3 分,即 0 分:无染色;1 分:局灶染色;2 分:轻度-中度弥漫染色;3 分:重度弥漫染色。 α -SMA 阳性细胞计数:显微镜 400 倍下盲法

观察 20 个皮质视野,计数肾小管间质中单位面积内(mm^2) α -SMA 阳性的细胞个数。

1.6 免疫双染及荧光图像分析

采用免疫荧光双标记染色与图像分析法检测肾组织中 DC-SIGN⁺ DC^[13]。将石蜡切片经系列酒精脱蜡至水,BSA 封闭 20 min,分别滴加一抗 1:100 的小鼠抗大鼠 OX-62 抗体和兔抗鼠 DC-SIGN 多抗,4 $^{\circ}\text{C}$ 共温育过夜;翌日分别滴加荧光二抗 1:200 的抗兔 IgG-FITC 和抗鼠 IgG-RPE,37 $^{\circ}\text{C}$ 共温育 1 h, PBS 漂洗后擦干封片。另采用 PBS 代替一抗作阴性对照。对上述样本分析,使用德国 Zeiss 公司的 Axioplan 2 imaging 多功能全自动显微镜及 AxioCam 数码相机(分辨率 3 900 $\times$ 3 090 像素),并选用上述公司的三色荧光激发滤色片对样本进行观察。OX-62 阳性染色以红色荧光为主,DC-SIGN 阳性染色以绿色荧光为主,二者双标记共定位染色阳性为黄色荧光,即为所测的 DC-SIGN⁺ DC。检测时,每份切片观察 4~5 个需求画面,输入 KS400 图像分析处理系统和软件(Ver3.0),测量单位面积内(mm^2)共定位阳性染色 DC-SIGN⁺ DC 的数量,将测量结果转换成 Excel 数据文件,作进一步分析处理。

1.7 RT-PCR 检测

常规抽提 12 周各组大鼠肾皮质组织总 RNA,取 2 μ g RNA,在 M-MLV 逆转录酶作用下,合成 cDNA,取 3 μ l cDNA,经 Taq DNA 聚合酶作用,扩增目标基因,检测 P-选择素、TGF- β 1、 α -SMA、Col III 和 FN mRNA 转录水平(引物序列见表 1)。PCR 反应产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳(含 0.5 μ g/ml 溴乙锭),3~5 V/cm 电压下电泳约 30 min 后,于紫外灯下观察并扫描。图像经计算机光密度扫描分析,以 GAPDH 光密度值进行校正。

1.8 统计学处理

所有数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,应用 SPSS 11.0 统计软件包进行分析。各组间指标比较用 t 检验,相关分析用 Spearman 等级相关检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 大鼠 P-选择素、TGF- β 1、 α -SMA、Col III、FN 和 GAPDH 引物序列

	上游	下游
P-选择素(348 bp)	5'-TGTATCCAGCCTCTTGGGCATTCC-3'	5'-TGGGACAGGAAGTGATGTTACACC-3'
TGF- β 1(294 bp)	5'-GGACTACTACGCCAAGAAG-3'	5'-TCAAAAGACAGCCACTCAGG-3'
α -SMA(288 bp)	5'-GATCACCATCGGGAATGAACGC-3'	5'-CTTAGAAGCATTTGCGGTGGAC-3'
COL III (560 bp)	5'-CTGGACCAAAAGGTGATGCTG-3'	5'-TGCCAGGGAATCCTCGATGTC-3'
FN (295 bp)	5'-TTATGACGATGGGAAGACCTA-3'	5'-GTGGGGCTGGAAAGATTACTC-3'
GAPDH (500 bp)	5'-GACAAGATGGTGAAGGTCGG-3'	5'-CAC GGA AGG CCA TGC CAG TGA-3'

2 结果

2.1 大鼠血压、尿蛋白及肾功能变化

术后大鼠血压(BP)升高,蛋白尿增加,BUN和SCr增高,Ccr下降,均 $P<0.01$ 。缬沙坦治疗组大鼠血压降低,蛋白尿减少,肾功能改善,均 $P<0.05$ (表2)。

2.2 大鼠肾小管间质病理改变

正常和假手术组大鼠肾脏表面光滑,色泽红润,大小形态正常;模型组残留肾组织包膜尚完整,但已失去正常肾脏形态,此外残余肾体积明显增大。正常和假手术组肾小管及间质无明显改变;模型组肾小管间质出现了明显病变,可见肾小管呈局灶扩张或萎缩,部分肾小管基底膜增厚,肾间质增宽,炎症细胞浸润增多,间质纤维化程度显著增加。缬沙坦治疗组则肾小管间质病变明显减轻,间质纤维化程度也得以改善。

2.3 免疫组化检测结果

正常和假手术组的肾小管及肾间质中几乎未见 α -SMA表达,仅见TGF- β 1、Col III和FN少量表达。在模型组,P-选择素以肾小管上皮细胞为主在肾小管间质中表达上调;TGF- β 1在肾小管间质表达明显增加,主要分布于肾小管上皮细胞、间质成纤维细胞以及肾小球系膜区; α -SMA主要表达于间质肌成纤维细胞和部分肾小管上皮细胞,其部位与肾小管间质受损区域相一致;Col III和FN表达明显增加,主要

集中于肾小管间质病变区域及肾小球, $P<0.05\sim P<0.01$ 。此外经相关分析显示,上述指标表达与TIF程度均呈明显相关, $P<0.05\sim P<0.001$ 。缬沙坦治疗组则P-选择素以及TGF- β 1等纤维化指标在肾小管间质的表达均明显下调,均 $P<0.05$ (图1,表3、表4)。

2.4 RT-PCR 检测结果

12周模型组大鼠肾组织中P-选择素、TGF- β 1、 α -SMA、COL III和FN mRNA表达均较假手术组明显上调(均 $P<0.05$),而缬沙坦组上述指标mRNA表达均较模型组显著下降(均 $P<0.05$)(图2、图3)。

2.5 DC 荧光图像分析结果

正常和假手术组肾组织中基本未见DC-SIGN⁺ DC分布。在模型组,DC-SIGN⁺ DC主要分布于肾小管、肾间质和肾血管,以肾间质分布最多,而肾小球基本未见分布,并随肾小管间质病变程度加重而明显增多,均 $P<0.01$;此外,DC-SIGN⁺ DC于12周分布数量较之1、4周模型组显著增多,均 $P<0.01$;其分布数量与大鼠的TGF- β 1、CTGF、 α -SMA、Col III、FN等在肾小管间质区的表达以及TIF程度呈正相关,也与BUN、SCr、Ccr水平明显相关, $P<0.05\sim P<0.001$ 。缬沙坦治疗组大鼠肾组织DC-SIGN⁺ DC分布数量较模型组明显减少,均 $P<0.01$ (图4,表5、表6)。

表2 各组大鼠BP、UP、BUN、SCr、Ccr的变化($\bar{x}\pm s$)

	组数	BP (mmHg)	UP (mg/24 h)	BUN (mmol/L)	SCr (μmol/L)	Ccr (ml·min ⁻¹ ·kg ⁻¹)
正常组	6	114.7 ± 5.19	9.40 ± 3.16	6.63 ± 1.05	31.67 ± 5.39	4.01 ± 1.02
假手术组	6	127.5 ± 5.35	10.39 ± 4.84	6.87 ± 1.11	34.0 ± 5.63	5.08 ± 1.71
模型组	6	195.5 ± 12.24*	101.95 ± 47.45*	26.46 ± 12.74*	97.0 ± 34.05*	1.59 ± 0.41*
缬沙坦治疗组	6	126.2 ± 13.04 [△]	54.65 ± 26.81 [△]	15.74 ± 5.48 [△]	59.2 ± 22.35 [△]	3.29 ± 1.08 [△]

与假手术组比较,* $P<0.01$;与手术组比较, $\Delta P<0.05$ 。

表3 12周各组大鼠P-选择素和纤维化指标的变化($\bar{x}\pm s$)

	组数	P- 选择素	TGF-β1	α-SMA	Col III	FN
正常组	6	0.07 ± 0.03	0.24 ± 0.10	0.05 ± 0.02	0.83 ± 0.41	0.67 ± 0.41
假手术组	6	0.09 ± 0.05	0.27 ± 0.15	0.07 ± 0.04	0.95 ± 0.62	0.83 ± 0.52
模型组	6	2.65 ± 0.12*	1.62 ± 0.45*	132.57 ± 26.74**	2.14 ± 0.56*	1.79 ± 0.49*
缬沙坦治疗组	6	1.32 ± 0.09 [△]	1.10 ± 0.32 [△]	83.00 ± 15.24 [△]	1.35 ± 0.34 [△]	1.15 ± 0.24 [△]

与假手术组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与手术组比较, $\Delta P<0.05$ 。

表4 P-选择素和纤维化指标与肾间质纤维化程度的相关性(r)

	P-选择素	TGF- β 1	α -SMA	Col III	FN
肾小管间质纤维化程度(r 值)	0.667**	0.824***	0.364*	0.636**	0.516**

* $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$ 。

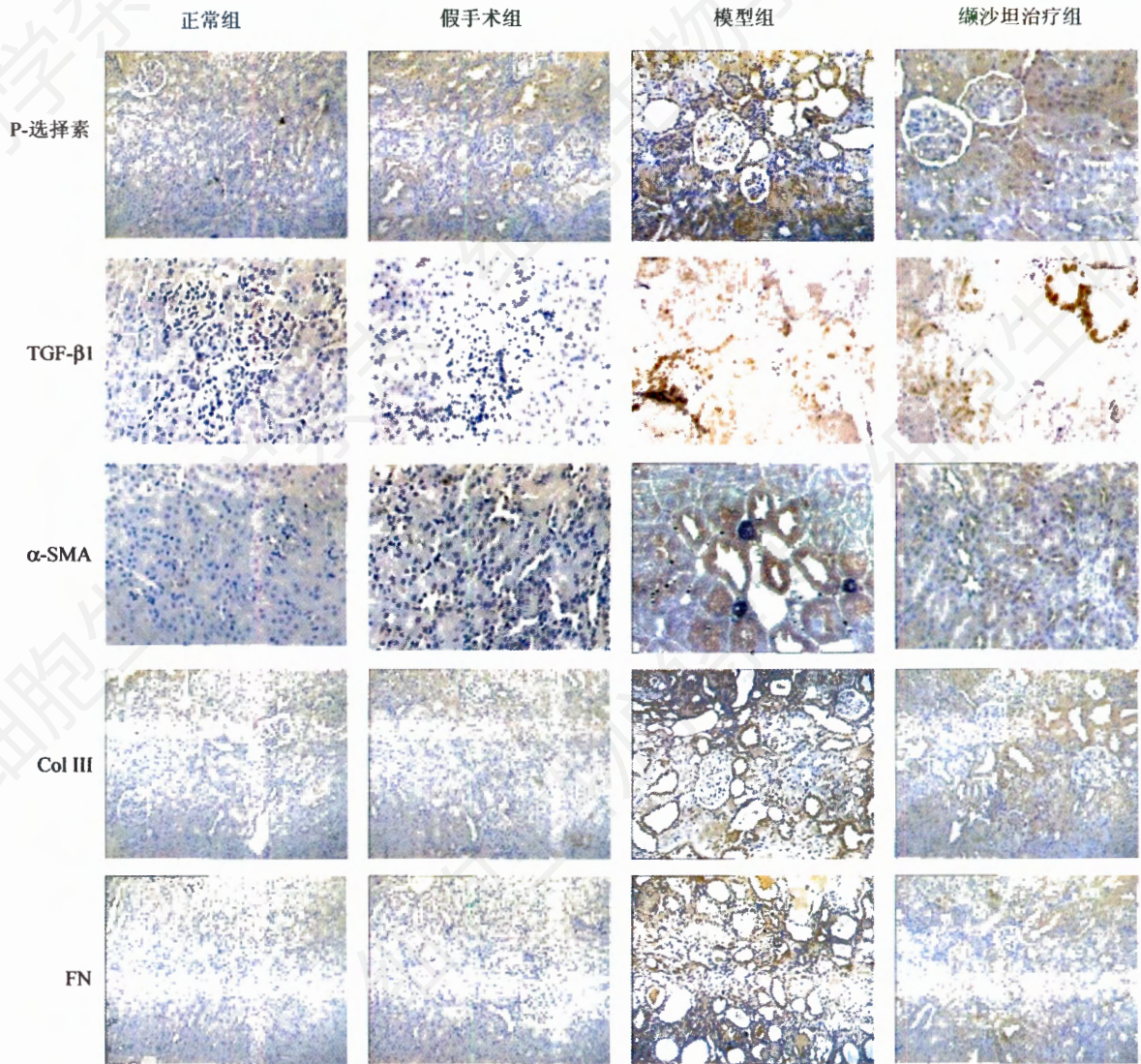


图 1 免疫组化检测 12 周各组大鼠肾组织中 P- 选择素、TGF-β1、α-SMA、COL III、FN 表达结果(200×)

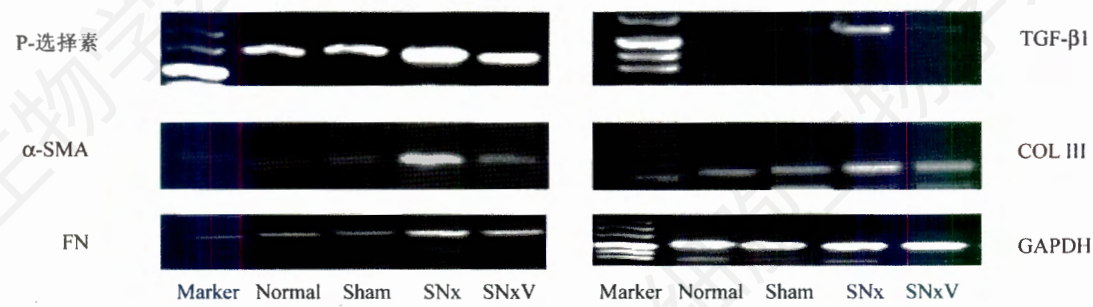


图 2 RT-PCR 检测 12 周各组大鼠肾组织 P- 选择素、TGF-β1、α-SMA、COL III、FN mRNA 表达结果

3 讨论

目前认为, 损伤因素刺激下的肾间质炎细胞浸润及肾小管间质炎症免疫反应, 是促进肾小管间质炎症病变及纤维化形成的主要原因^[1,2,8]。我们和国外学

者已先后发现, P- 选择素及 DC-SIGN 介导 DC 肾间质浸润聚集, 也是启动肾小管间质早期损伤的重要因素^[3-5,14]。已知 DC 是一类形态、结构和功能异质性的专职抗原递呈细胞, 能够启动和维持组织器官的免

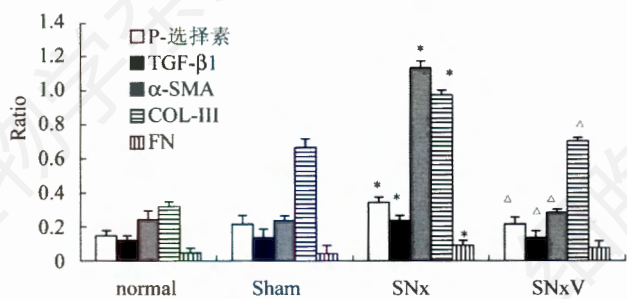


图3 12周各组大鼠肾组织P-选择素、TGF-β1、α-SMA、COL III、FN mRNA 转录水平
与假手术组比较, * $P<0.05$; 与模型组比较, $\Delta P<0.05$ 。

疫炎症反应,是免疫应答强有力的启动和参与者^[6],与炎症性疾病、自身免疫病、移植排斥及肿瘤等密切相关。近年对DC在肾脏等炎症性疾病中作用已引起重视^[7,8]。而对于DC炎症组织溢出/迁移中伴随着由未成熟向成熟细胞分化,拟或由炎症细胞向抗原递呈细胞转化等机制,以及对之的干预和调抑拟用于免疫炎症性疾病的防治,也已引起人们关注^[8,15,16]。作为RAS中的重要成分,AngII除具有血液动力学调节作用,还参与机体其他一些生物反应如血管重塑、细胞凋亡和炎症免疫反应等^[9,10]。有报道,AngII对

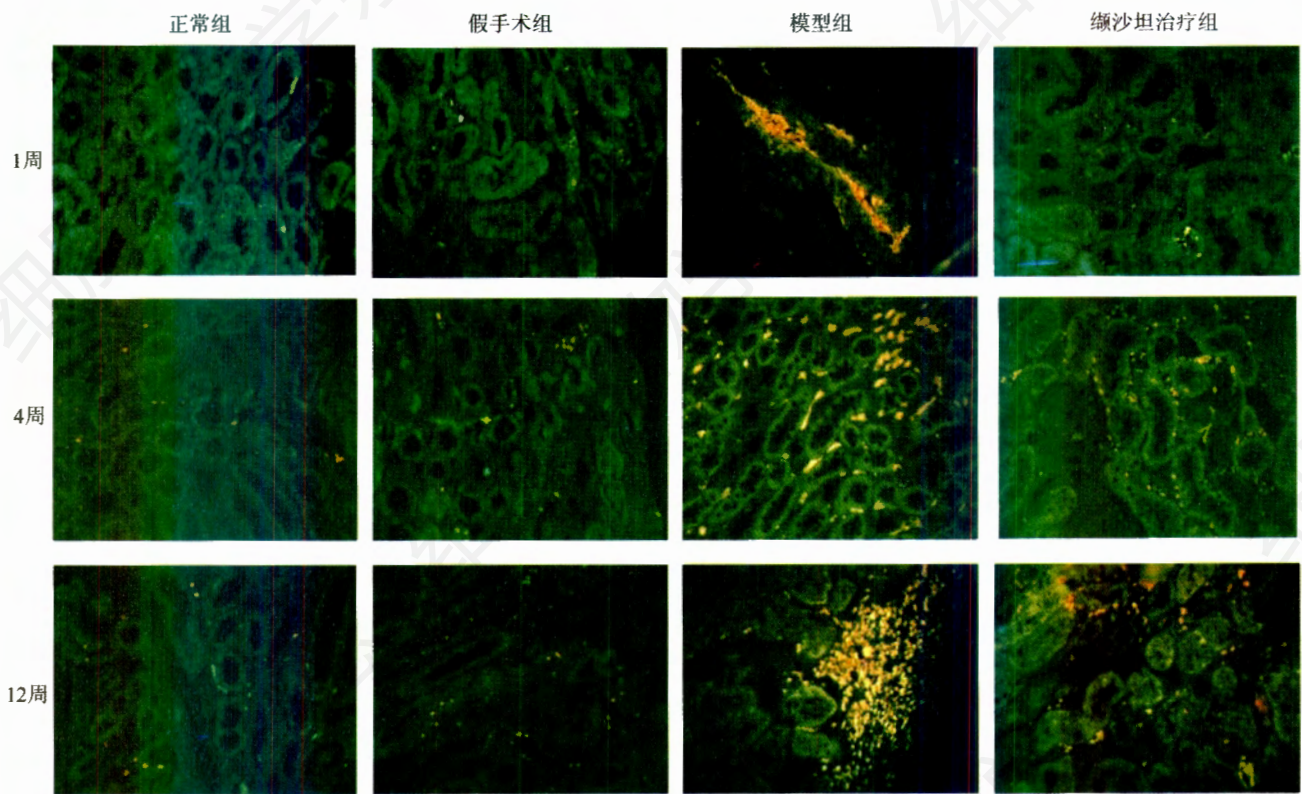


图4 各组大鼠肾组织中DC分布(1 200×)

表5 各组大鼠不同时间段肾组织中DC的分布(个/mm², $\bar{x} \pm s$)

组数		1周	4周	12周
正常组	6	399.5 ± 150.5	434.5 ± 161.9	425.1 ± 157.8
假手术组	6	435.1 ± 175.5	527.7 ± 291.4	550.3 ± 224.0
模型组	6	1 868.5 ± 837.5*	2 435.8 ± 1 218.1*	3 807.2 ± 1 742.1* [△]
缬沙坦治疗组	6	753.4 ± 270.8 [▲]	1 253.2 ± 596.7 [▲]	1 720.6 ± 916.2 [▲]

与假手术组比较, * $P<0.01$; 与1、4周手术组比较, $\Delta P<0.01$; 与手术组比较, $\Delta P<0.01$ 。

表6 DC 肾内分布与UP、BUN、Scr、Ccr、P-选择素及纤维化指标相关关系(r)

	BUN	Scr	Ccr	P-选择素	TGF-β1	α-SMA	Col III	FN	TIF
DC 数量 (r 值)	0.254*	0.263*	-0.367**	0.566**	0.477**	0.288*	0.408**	0.495**	0.823***

* $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

DC 的分化及功能均有很强的调节作用, 而 AT1 受体阻断剂不仅能抑制 AngII 诱导的非成熟 DC 转化为成熟 DC, 还可抑制 DC 抗原递呈作用^[10], 故 AngII 已成为免疫调节中新的作用靶点^[17]。然而迄今对 DC 与肾小管间质病变及肾纤维化关系, 以及 AngII 对 DC 肾内迁移浸润的作用仍尚不清楚, 我们拟在前期工作基础上^[3-5]作进一步研究。

本研究以肾大部切除建立慢性肾间质纤维化大鼠模型^[11]。该模型可导致残余肾单位在结构和功能上出现高灌注、高滤过和高压等一列代偿性改变。在此过程中, 肾脏发生诸多病理变化, 细胞外基质明显积聚, 以致肾小管间质纤维化及肾小球硬化, 随之肾功能从代偿期发展到失代偿期, 最终进入终末期肾衰。本研究发现, 建模后大鼠血压升高, 尿蛋白排泄量增加, 血尿素氮和肌酐增高, 以及肌酐清除率显著降低。此外大鼠肾小管间质出现了明显病变, 可见肾小管呈局灶扩张或萎缩, 部分肾小管基底膜增厚, 肾间质增宽, 炎症细胞浸润增多, 间质纤维化程度明显增加, 与上述模型肾脏病理改变相符^[11]。进一步发现, 较之正常肾组织, 自大鼠肾大部切除第 1 周起, 伴随着 P- 选择素以肾小管上皮细胞为主表达上调, DC-SIGN⁺ DC 即在以肾间质为主的肾小管、肾间质及肾血管中聚集, 并随时间推移而增加, 于第 12 周达峰。同时在 DC-SIGN⁺ DC 分布的扩张或萎缩的肾小管周围以及间质纤维化区域, 分别可见 α -SMA、TGF- β 1 在部分受损肾小管的上皮细胞和间质肌成纤维细胞明显表达, 以及细胞外基质成分 Col III 和 FN 在纤维化区域的明显沉积, 且 P- 选择素及 TGF- β 1 等上述纤维化相关指标的 mRNA 转录水平亦相应增加, 这些均与 DC-SIGN⁺ DC 分布数量密切相关, 后者浸润程度又与间质纤维化程度及肾功能减退密切相关。这与我们已发现的 DC 在不同病理类型肾炎组织中以肾小管间质部位为主分布聚集明显增多, 并与肾小管间质病变的严重程度密切相关相符合^[3-5]。进一步表明, DC 可在黏附分子介导迁移下, 启动和参与了肾小管间质损伤及纤维化的发生发展, 以及晚期肾组织形态的重塑。故分析推测, 自肾小管间质病变初期, 局部炎症反应可使 DC 和成纤维细胞等聚集并活化, 分泌 TGF- β 1 增多, 后者可进一步刺激肾小管上皮细胞和间质成纤维细胞转分化, 并合成大量细胞外基质如 FN 和 Col III 等, 最终导致肾间质纤维化形成。鉴于目前认为肾小管间质损害系由炎症介导或引发, 且细胞免疫是引起肾小管间质病变及

纤维化的主要机制^[7,8]。故本研究进一步推测, DC 不仅作为炎症细胞参与了肾小管间质的炎症启动, 且其成熟后上调黏附共刺激分子并作为抗原递呈细胞, 在激发随后的特异性免疫应答, 以及调节肾小管间质免疫损伤中可能发挥更重要作用。由此表明, DC 可能也是肾脏炎症免疫反应和免疫调节机制失调和紊乱的关键因素^[7,8]。

本研究进一步发现, 经 AT1 受体阻断剂缬沙坦治疗后, 伴随着大鼠血压下降, 蛋白尿减少, P- 选择素以及 TGF- β 1 等纤维化指标下调、肾小管间质纤维化程度减轻, 以至肾功能改善。大鼠肾小管间质中 DC 分布及浸润程度也明显受到抑制, 这可能与 DC 可表达肾素-血管紧张素及其受体, 与 RAS 存在紧密联系, 以及 RAS 拮抗剂对其有抑制作用有关^[9,10]。分析推测自肾大部切除后的肾小管间质病变初期, 由于肾小球内高滤过、高压的存在, 可导致肾内 AngII 的分泌量显著增强, 后者可通过旁分泌和自分泌机制, 于组织或局部对 DC 作用与免疫反应等有重要调节作用^[9,10]。其可上调黏附分子、趋化因子等多种炎症介质的表达分泌, 趋化和介导循环中非成熟 DC 迁移进入肾间质炎症反应部位^[17,19], 后者积极捕获并递呈抗原, 刺激静息 T 淋巴细胞的能力增强, 从而启动免疫反应; 另一方面, DC 通过受体识别 AngII 后, 由此可非特异性上调或下调一些基因的表达, 而这些基因在完整的细胞生物反应网络中起着重要作用, 如增强细胞新陈代谢、细胞骨架重构以及抗原递呈等方面。此外, AngII 可促进肾小管上皮细胞和间质成纤维细胞的活化及转分化, 导致致纤维化因子 TGF- β 1 过度分泌, 后者又可通过自分泌和旁分泌方式促进肾间质细胞增生, 并合成大量细胞外基质如 FN 和 Col III 等, 最终导致肾间质纤维化形成。在此基础上, 推测缬沙坦通过抑制 AngII 与受体结合及其相应作用, 可减低黏附分子表达, 阻抑血循环 DC 迁移浸润及相应致炎或致纤维化因子的分泌, 进一步调抑了炎症免疫反应和进行性肾损伤^[20,21], 这有待进一步观察。

综上所述, 由黏附分子介导的 DC 肾间质浸润, 与肾小管间质病变及肾纤维化的形成与进展密切相关。缬沙坦可通过抑制 AngII 及干预肾脏局部 RAS 激活, 阻抑 DC 肾内迁移成熟, 抑制致纤维化细胞因子的合成分泌, 以此可减轻肾脏免疫病理损伤。这可能也是 RAS 拮抗剂延缓肾小管间质纤维化及保护肾功能又一作用机制, 有待进一步研究。

参考文献(References)

- [1] Yang N *et al.* *Nephrol Dial Transplant*, 1998, **13**: 1967
[2] Yamate J *et al.* *Vet Pathol*, 2002, **39**: 322
[3] 周 同等。肾脏病与透析移植杂志, 2004, **13**: 530
[4] 周 同等。中华肾脏病杂志, 2006, **22**: 605
[5] 周 同等。细胞生物学杂志, 2006, **28**: 752
[6] Banchereau J *et al.* *Annu Rev Immunol*, 2000, **18**: 767
[7] 孙桂芝等。现代免疫学, 2003, **23**: 425
[8] 蔡敏超等。细胞生物学杂志, 2007, **29**: 312
[9] Lapteva N *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, **285**: 1059
[10] Lapteva N *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, **296**: 194
[11] Brenner BM. *Am J Physiol*, 1985, **249**: F324
[12] 赵 青等。肾脏病与透析移植杂志, 2002, **11**: 21
[13] 胡庆沈等。诊断学理论与实践, 2003, **2**: 271
[14] Kruger T *et al.* *J Am Soc Nephro*, 2004, **15**: 613
[15] Pendl GG *et al.* *Blood*, 2002, **99**: 946
[16] 刘 巍等。生命科学, 2002, **14**: 379
[17] Dinh DT *et al.* *Clin Sci (Lond)*, 2001, **100**: 481
[18] Muller DN *et al.* *Am J Pathol*, 2002, **161**: 1679
[19] Yoshida K *et al.* *J Cardiovasc Pharmacol*, 2002, **40**: 533
[20] Nahmod KA *et al.* *FASEB J*, 2003, **17**: 491
[21] Ruiz-Ortega M *et al.* *Kidney Int Suppl*, 2002, **82**: 12

The Effect of Dendritic Cells on Rat Tubulointerstitial Fibrosis and Valsartan Inhibition of Dendritic Cells

Tong Zhou*, Kai-Yin Wu, Gui-Zhi Sun, Xiao Li, Yu-Mei Zhang, Yan-Yun Zhang¹,

Dong-Qing Zhang¹, Nan Chen

(Department of Nephrology, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China;

¹Shanghai Institute of Immunology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

Abstract To observe the accumulation of dendritic cells (DCs) in rat remnant kidney and its contribution to tubulointerstitial fibrosis, as well as to investigate the role of valsartan on DCs. Rat remnant kidney model was established by subtotal nephrectomy. Four groups were included, normal ($n=18$), sham ($n=18$), model group (SNx, $n=18$) and treated group with valsartan (SNxV, $n=18$). Groups of rats were killed at 1 week, 4 weeks, and 12 weeks, respectively. DC-SIGN⁺ DCs were observed by double immunostaining method and the images were analyzed with axioplan 2 microscopy; The expression of P-selectin, TGF- β 1, α -SMA, collagen III and fibronectin were analyzed by immunohistochemistry or RT-PCR semiquantitatively, and the level of tubulointerstitial fibrosis (TIF) was scored. DC-SIGN⁺ DCs was gradually increased among renal tubules, interstitium and vessels, especially in interstitium, and the number of DCs in model group at 12 weeks was much more than model groups at 1 week or 4 weeks. The expression of P-selectin, TGF- β 1, α -SMA, collagen III and fibronectin in tubulointerstitial areas and the degree of TIF were increased substantially in model group at 12 weeks. The accumulation of DCs in interstitium was well associated with the loss of renal function and the progression of tubulointerstitial fibrosis. Valsartan treatment inhibited the local accumulation of DCs and attenuated renal tubulointerstitial damage. The local DCs accumulation was related to tubulointerstitial fibrosis and renal dysfunction following renal ablation. Blockade to angiotensin II might be a potent way to attenuate renal immuno-inflammatory injury.

Key words dendritic cells; tubulointerstitial fibrosis; nephrectomy; angiotensin receptor antagonist

Received: May 20, 2006 Accepted: May 10, 2007

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30770999, No.30570865) and the Shanghai Municipal Science & Technology Commission (No.02ZB14041, No.034119916)

*Corresponding author. Tel: 86-21-64370045, E-mail: zhoutong_cn@hotmail.com