

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00408

· 论 著 ·

## 富含半胱氨酸的酸性分泌糖蛋白在 IgA 肾病患者血、尿中的含量及肾组织中的表达

邬碧波<sup>1,2</sup>, 张黎明<sup>2</sup>, 梅长林<sup>1\*</sup>, 付莉莉<sup>1</sup>, 王文靖<sup>1</sup>

1. 第二军医大学长征医院肾内科, 解放军肾脏病研究所, 上海 200003

2. 第二军医大学长征医院闸北分院肾内科, 上海 200070

**[摘要]** **目的:**测定富含半胱氨酸的酸性分泌糖蛋白 (SPARC) 在 IgA 肾病患者血液、尿液中的浓度, 并观察其在肾组织中的分布和表达。**方法:**采用夹心 ELISA 法对 IgA 肾病患者和正常人血清和尿液中 SPARC、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 和白细胞介素-6 (IL-6) 进行定量检测; 应用夹心 ELISA 法检测 IL-6 处理后的人肾小球系膜细胞 (HMC) 和人肾小管上皮细胞 (HKC) SPARC 蛋白的分泌水平; 运用免疫组织化学 SP 法检测 SPARC 在 IgA 肾病患者及正常人肾组织中的表达及分布。**结果:** IgA 肾病患者血液及尿液 SPARC、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 的含量均显著高于正常对照组 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ); IgA 肾病患者尿液 SPARC 浓度显著高于血液浓度 ( $P < 0.01$ )。IL-6 (50 pg/ml) 分别作用 HMC、HKC 96 h 后, SPARC 蛋白的表达量明显高于对照组 ( $P < 0.01$ ), 而且 HKC 组 SPARC 蛋白的表达量明显高于 HMC 组 ( $P < 0.01$ )。在正常肾组织中, SPARC 在远端小管细胞仅有极微弱表达, 在 IgA 肾病肾组织小管上皮细胞中 SPARC 蛋白表达较正常肾组织肾小管细胞明显增强。**结论:** IgA 肾病时, 增多的炎症因子可刺激肾小管细胞产生和分泌 SPARC 蛋白增加, 引起血清 SPARC 浓度升高, 可能起到一种保护性反馈抑制系膜细胞增殖的作用。

**[关键词]** 富含半胱氨酸的酸性分泌糖蛋白; IgA 肾病; 血液; 尿液; 肾

**[中图分类号]** R 692 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)04-0408-05

### Concentrations of secreted protein acidic and rich in cysteine in serum and urine and its expression in kidney tissues of patients with IgA nephropathy

WU Bi-bo<sup>1,2</sup>, ZHANG Li-ming<sup>2</sup>, MEI Chang-lin<sup>1\*</sup>, FU Li-li<sup>1</sup>, WANG Wen-jing<sup>1</sup>

1. Department of Nephrology, Changzheng Hospital, Nephrology Institute of PLA, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

2. Department of Nephrology, Zhabei Branch of Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200070

**[ABSTRACT]** **Objective:** To investigate the concentrations of secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) in the serum and urine of patients with IgA nephropathy and its expression in the kidney tissues. **Methods:** The concentrations of SPARC, tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), and interleukin 6 (IL-6) in the serum and urine were measured with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The contents of SPARC protein in the culture medium of human mesangial cell (HMC) and human renal tubular epithelial cell (HKC), which had been treated with IL-6, were determined by ELISA. The expression and distribution of SPARC in IgA nephropathy and normal kidney tissues were observed by immunohistochemistry assay. **Results:** The concentrations of SPARC in serum and urine of IgA nephropathy patients were higher than those of the normal control subjects ( $[2.43 \pm 1.22] \mu\text{g/ml}$  vs  $[0.69 \pm 0.21] \mu\text{g/ml}$ ,  $[7.73 \pm 2.81] \mu\text{g/ml}$  vs  $[1.17 \pm 1.03] \mu\text{g/ml}$ ,  $P < 0.01$ ). The serum levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6 in IgA nephropathy group were significantly higher than those in the control group ( $P < 0.05$ ); the urinary levels of TNF- $\alpha$  and IL-6 in IgA nephropathy group were also higher than those in the controls ( $P < 0.01$ ). SPARC protein secreted by HKC was higher than that by HMC ( $P < 0.01$ ). SPARC was weakly positive in normal distal cortical tubules. SPARC protein expression in tubular epithelial cells of IgA nephropathy patients was obviously higher than that

**[收稿日期]** 2007-07-25 **[接受日期]** 2008-01-23

**[基金项目]** 上海市闸北区医学科研课题基金(2004 重点学科 02). Supported by Medical Science Research Foundation of Shanghai Zhabei District (2004 Key Subject 02).

**[作者简介]** 邬碧波, 硕士, 主任医师. E-mail: bibowu1966@hotmail.com

\* 通讯作者 (Corresponding author). Tel: 021-63610109-73292, E-mail: chlmei@public1.sta.net.cn

of the normal controls. **Conclusion:** The secretion of SPARC by renal tubular epithelial cells is increased in patients with IgA nephropathy, which results in elevation of serum SPARC and may have a protective feedback inhibitory effect on HMC proliferation.

**[KEY WORDS]** secreted protein acidic and rich in cysteine; IgA nephropathy; blood; urine; kidney

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(4): 408-412]

IgA 肾病是一种以系膜细胞增殖和(或)系膜基质增多为特征的慢性肾小球疾病,肾活检免疫病理检查在肾小球系膜区只有 IgA 或以 IgA 为主的颗粒沉积<sup>[1-2]</sup>。富含半胱氨酸酸性分泌糖蛋白(secreted protein, acidic and rich in cysteine, SPARC),是一种小分子细胞外基质蛋白,它可与细胞因子、细胞膜表面蛋白及细胞外基质相互作用,表现出抗增殖等多种生物学活性<sup>[3-4]</sup>。我们曾观察到 SPARC 能够抑制人肾小球系膜细胞(human mesangial cell, HMC)的增殖、诱导凋亡以及减少细胞外基质 mRNA 的表达<sup>[5-6]</sup>。本研究在先前研究的基础上进一步观察 SPARC 在 IgA 肾病患者和正常人血液和尿液中的含量变化、肾组织的分布和表达差异,以及与肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin 1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、白细胞介素-6(interleukin 6, IL-6)的相关性,初步探讨可能的临床及病理意义。

## 1 材料和方法

1.1 肾组织标本 6 例 IgA 肾病肾组织标本取自第二军医大学长征医院肾内科行肾活检术明确诊断为 IgA 肾病的患者,4 例正常肾组织标本取自泌尿外科成人肾癌切除标本的正常肾组织,均为石蜡切片。

1.2 体液标本 收集 46 例 IgA 肾病患者的血液和尿液标本,这些患者为 2005 年 4 月至 2006 年 8 月在上海长征医院肾内科住院行肾活检术明确诊断为 IgA 肾病,其中男性 28 例,女性 18 例,年龄 31~59 岁,平均(45.4 $\pm$ 13.6)岁,未接受免疫抑制剂、透析或肾移植治疗,除外紫癜性肾炎、乙肝相关性肾炎、狼疮性肾炎等继发性系膜区 IgA 沉积的病例,根据肾活检病理 Lee 分级法, I 和 II 级为轻度病变, III 级为中度, IV 和 V 级为重度病变。收集 20 名年龄、性别匹配的健康体检者血液和尿液标本,其中男性 11 例,女性 9 例,年龄 30~55 岁,平均(42.6 $\pm$ 12.4)岁。血液标本为禁食 10 h 后于清晨空腹采集上肢静脉血,尿液标本为清晨中段尿,新鲜血液和尿液均在 4 $^{\circ}$ C、2 000 $\times$ g 离心 15 min,取上清分装后加入蛋白酶抑制剂(Cocktail Set III), -80 $^{\circ}$ C 冻存待检。所有受检对象均知情同意。

1.3 细胞和蛋白 人系膜细胞株(东南大学附属中大医院肾内科刘必成教授惠赠),人肾小管上皮细胞(human renal tubular epithelial cell, HKC)(John

Hopkins 大学医学院 Racusen 博士惠赠),人源性 SPARC 全长蛋白(美国 Haematech 公司)。

1.4 主要试剂和仪器 DMEM/F12(1:1)培养液(美国 Gibco 公司),新生小牛血清(杭州四季青公司),蛋白酶抑制剂(Cocktail Set III, EMD Biosciences 公司),牛血清白蛋白(BSA,华美公司),SP 超敏试剂盒、二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒(福州迈新公司),羊抗人 SPARC 多克隆抗体、鼠抗人 SPARC 单克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司),辣根过氧化物酶(HRP)标记的兔抗羊 IgG(北京中山公司),TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 ELISA 试剂盒(上海森雄科技实业有限公司),其他试剂均为 Sigma 公司产品及进口分析纯。仪器有 CO<sub>2</sub> 细胞培养箱(Thermo Forma371)、超净工作台(Class II Type A/B3 Baker Company)、病理切片机(Leica RM2135)、倒置显微镜(Olympus CK2)、高速台式冷冻离心机(BECKMAN GS-15R)、超滤离心管(Millipro corporation)、酶标仪(Labsystems MK3)、计算机生物图像分析系统(LabWorks 软件和 IDA-2000 图文分析软件)。

1.5 IgA 肾病患者和正常人体液中 SPARC 浓度的定量检测 采用夹心 ELISA 法,按照 ELISA 试剂盒说明书进行测定。用鼠抗人 SPARC 单克隆抗体(抗体稀释度 1:500)包被 96 孔板,4 $^{\circ}$ C 过夜。加入 100  $\mu$ l 1% BSA 封闭液,37 $^{\circ}$ C 放置 1 h。用 PBST 充分洗涤后,分别加入 100  $\mu$ l 标准 SPARC 蛋白、血液、尿液,37 $^{\circ}$ C 放置 1 h。用 PBST 充分洗涤后,每孔依次加入 100  $\mu$ l 第一抗体羊抗人 SPARC 多克隆抗体(抗体稀释度 1:200),阴性对照为等体积的抗体稀释液 100  $\mu$ l,37 $^{\circ}$ C 放置 1 h。用 PBST 充分洗涤后,每孔依次加入 100  $\mu$ l 第二抗体兔抗羊 IgG(抗体稀释度 1:2 500),37 $^{\circ}$ C 放置 1 h。用 PBST 充分洗涤后,加入酶底物 OPD 避光 37 $^{\circ}$ C 放置 10 min,然后加终止液,在 492 nm 处测 D 值,SPARC 浓度与 D 值成正比,通过绘制标准曲线求出标本中 SPARC 的浓度。实验重复 3 次。

1.6 IgA 肾病患者和正常人体液中细胞因子(TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6)含量的检测 采用双抗体夹心 ABC-ELISA 法,按照 ELISA 试剂盒说明书进行测定。分别用抗人 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 单抗包被于酶标板上,标准品和样品中的 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 分别与单抗结合,加入生物素化的抗人 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-

6 抗体,形成免疫复合物连接在板上,辣根过氧化物酶标记的 Streptavidin 与生物素结合,加入酶底物 OPD,出现黄色,加终止液硫酸,颜色变深,在 492 nm 处测 D 值,TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 浓度与 D 值成正比,通过绘制各自的标准曲线分别求出标本中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 的浓度。实验重复 3 次。

1.7 细胞因子 IL-6 对 HMC 和 HKC 分泌 SPARC 蛋白的影响 采用夹心 ELISA 法,按照 ELISA 试剂盒说明书进行测定。取对数生长期的 HMC、HKC 分别接种于 50 ml 培养瓶( $3 \times 10^5$ /瓶),用含 10% 小牛血清 DMEM/F12 培养液孵育 48 h(37 $^{\circ}$ C, 体积分数为 5% CO<sub>2</sub>)后,换无血清 DMEM 培养液同步 24 h,弃上清,分别用含 50 pg/ml IL-6 的无血清 DMEM/F12 培养液作用 96 h(实验组),以正常培养的 HMC、HKC 作为空白对照组。从 4 个培养瓶中各收集 4 ml 培养液,用超滤离心法浓缩培养上清,然后用夹心 ELISA 法检测 SPARC 的浓度,每组设 3 个复孔,具体操作步骤同前。

1.8 IgA 肾病患者和正常人肾组织中 SPARC 蛋白的表达 运用免疫组织化学 SP 法,按照 SP 试剂盒说明书进行检测。肾组织切片常规脱腊至水,3% 过氧化氢室温孵育 10 min 以去除内源性过氧化物酶,柠檬酸缓冲液微波修复抗原,加入非免疫的正常兔血清封闭 10 min,加第一抗体(羊抗人 SPARC 多克隆抗体,抗体稀释度 1:400),4 $^{\circ}$ C 过夜。用 PBST 充分洗涤后加入生物素标记的第二抗体(兔抗羊 IgG,抗体稀释度 1:1000)室温孵育 20 min,再用 PBST 充分清洗后加入链酶卵白素标记的 HRP 室温孵育 20 min,二氨基联苯胺(DAB)显色,苏木素复染,脱水、透明、封片。以 PBS 替代一抗作阴性对照,细胞质着棕黄色为阳性。光学显微镜下观察、摄片、IDA-2000 软件分析细胞的平均 D 值。实验重复 3 次。

1.9 统计学处理 所有数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,数据分析采用 SPSS 10.0 软件进行 t 检验及单因素方差分析。

## 2 结果

2.1 IgA 肾病患者和正常人的体液中 SPARC 的定量检测 夹心 ELISA 法定量检测的结果显示,IgA 肾病患者血液中的 SPARC 浓度为( $2.43 \pm 1.22$ )  $\mu$ g/ml 显著高于正常对照组( $0.69 \pm 0.21$ )  $\mu$ g/ml,IgA 肾病患者尿液中的 SPARC 浓度为( $7.73 \pm 2.81$ )  $\mu$ g/ml 显著高于正常对照组( $1.17 \pm 1.03$ )  $\mu$ g/ml,组间差异显著( $P < 0.01$ );IgA 肾病患者尿液中的 SPARC 浓度显著高于血液中的浓度( $P < 0.01$ )。

将 IgA 肾病患者肾活检病理根据 Lee 分级,随着肾脏病理的逐渐加重,血液和尿液中的 SPARC 浓度也逐渐升高,但各组间比较均无显著性差异。结果见表 1。

表 1 IgA 肾病病理 Lee 分级与各组患者体液中 SPARC 含量的相关性分析

Tab 1 Correlation between SPARC concentration and Lee grade of IgA nephropathy

[ $n=3, \bar{x} \pm s, \rho_B / (\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1})$ ]

Pathological grade	n	Concentration of SPARC	
		Serum	Urine
Mild	22	$2.12 \pm 0.91$	$6.89 \pm 1.97$
Moderate	16	$2.53 \pm 0.85$	$6.97 \pm 1.57$
Severe	8	$3.09 \pm 0.56$	$7.56 \pm 2.98$

2.2 IgA 肾病患者和正常人体液中细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 的定量检测 夹心 ELISA 法定量检测结果显示,IgA 肾病患者血液中的炎性细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 的含量均显著高于正常人,二者有显著性差异( $P < 0.05$ );IgA 肾病患者尿液中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 的含量亦显著高于正常人,二者有显著性差异( $P < 0.01$ )。同时发现,IgA 肾病患者尿液中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 含量显著高于血液中的含量。结果见表 2。

表 2 正常对照组和 IgA 肾病患者体液中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 含量的比较

Tab 2 Concentrations of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6 in serum and urine of IgA nephropathy and control group

[ $n=3, \bar{x} \pm s, \rho_B / (\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1})$ ]

Group	Concentration of cytokine		
	TNF- $\alpha$	IL-1 $\beta$	IL-6
Serum			
Control	$21.37 \pm 2.36$	$22.24 \pm 4.83$	$17.87 \pm 6.32$
IgA nephropathy	$24.42 \pm 3.49^*$	$27.52 \pm 5.07^*$	$25.73 \pm 7.01^*$
Urine			
Control	$18.04 \pm 13.72$	$18.48 \pm 3.61$	$28.66 \pm 11.65$
IgA nephropathy	$64.28 \pm 11.12^{**}$	$21.66 \pm 6.57$	$85.19 \pm 19.27^{**}$

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs control group

2.3 细胞因子 IL-6 对 HMC 和 HKC 分泌 SPARC 蛋白的影响 夹心 ELISA 法定量检测的结果显示,用 50 pg/ml IL-6 分别作用 HMC、HKC 96 h 后,实验组 $[(0.24 \pm 0.23) \text{ vs } (1.46 \pm 1.15) \mu\text{g/ml}]$ 和对照组 $[(0.16 \pm 0.15) \text{ vs } (0.23 \pm 0.14) \mu\text{g/ml}]$ 培养液中均检测出 SPARC 蛋白的表达,但实验组的表达量明显高于对照组( $P < 0.01$ ),而且 HKC 实验组 SPARC 蛋白的表达量明显高于 HMC 实验组( $P < 0.05$ )。

2.4 IgA 肾病肾组织和正常肾组织中 SPARC 蛋白的表达 免疫组化结果显示,细胞质呈棕黄色为阳性。在正常肾组织中,SPARC 仅在远端肾小管有微弱表达。在 IgA 肾病肾组织小管上皮细胞中 SPARC 蛋白表达较正常肾组织肾小管细胞明显增强,胞质中呈强染色。经 IDA-2000 软件分析,正常组 SPARC 平均光密度为 $(0.47 \pm 0.04)$ ,IgA 肾病组 SPARC 平均光密度为 $(0.73 \pm 0.03)$ ,二者差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。结果见图 1。

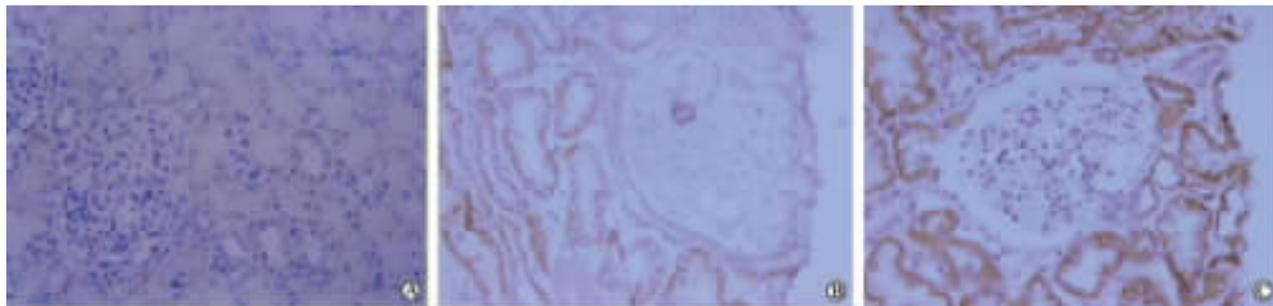


图 1 SPARC 在正常肾和 IgA 肾病肾组织中的表达

Fig 1 Immunohistochemistry assay of SPARC distribution and its expression in renal tissues

A:Control; B:Normal renal tissues; C:Renal tissues of IgA nephropathy. SPARC was weakly expressed in the normal cortical distal tubules (B). In renal tissues of patients with IgA nephropathy,SPARC was mainly localized in tubular epithelial cells,and presented strongly positive staining in the cytoplasm(C). Original magnification:  $\times 400$

### 3 讨论

IgA 肾病是一种病理诊断,指光镜下主要表现为系膜增殖性肾小球肾炎,免疫荧光可见在肾小球系膜区有以 IgA 为主的免疫球蛋白沉积<sup>[1]</sup>。自 1968 年 Berger 提出 IgA 肾病以来,目前已成为一种常见的肾小球疾病,近年研究表明约 40% IgA 肾病患者于诊断 20 年内发展为慢性肾衰竭<sup>[1-2]</sup>,但由于 IgA 肾病的发病机制尚未完全明了、缺乏有效的治疗药物,所以对 IgA 肾病发病机制及治疗的研究是肾脏病学界的热点。

SPARC 又名骨结合素或 BM-40,相对分子质量约 32 000,该蛋白可由多种细胞分泌,尤其是增殖明显的细胞,是一种调节细胞外基质和细胞相互作用的蛋白,可与细胞因子、细胞膜表面蛋白及其他细胞外基质蛋白相互作用而表现出抗增殖等多种生物活性<sup>[3-4]</sup>,SPARC 与系膜增生性肾小球肾炎和糖尿病肾病等多种肾脏疾病有关,它参与了肾小球损伤后的修复和重塑<sup>[4,7]</sup>。有文献<sup>[8]</sup>报道,SPARC 在正常肾脏远端肾小管细胞弱表达,在集合管、尿路上皮、动脉壁平滑肌及某些间质细胞均有分布,但含量低;在胚胎肾未成熟的肾小球中,主要存在于脏层上皮

细胞与毛细血管基底膜;在发生慢性移植排斥反应的肾脏中,SPARC 主要分布在新生的动脉平滑肌细胞,炎症浸润细胞及间质纤维化区的肌成纤维细胞;在肾透明细胞癌的基质细胞、成纤维细胞及肾肉瘤瘤细胞中高表达,但有关 SPARC 在人类 IgA 肾病肾组织中的分布尚未见报道。

本研究应用免疫组织化学检测 SPARC 在 IgA 肾病患者及正常人肾组织中的表达及分布,结果显示,在正常肾组织中,SPARC 仅在远端肾小管有微弱表达;在 IgA 肾病肾组织小管上皮细胞中 SPARC 蛋白表达较正常肾组织肾小管细胞明显增强,且二者差异有统计学意义。

近年来研究表明,各种原发性和继发性肾脏病均存在机体免疫功能的异常,自始至终都伴随着炎症因子的异常表达,主要表现为炎性细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 的表达上调<sup>[9-10]</sup>。目前认为在 IgA 肾病的发生发展中,主要是免疫介导性炎症。免疫反应为始动因素,由其介导炎症反应而致病,系膜细胞受刺激后分泌多种炎症因子,而炎症因子又反过来促进系膜细胞异常分泌其他炎症介质、细胞因子和生长因子,加重炎症反应<sup>[11]</sup>。本研究应用夹心 ELISA 法对 IgA 肾病患者和正常人血液、尿液中

的炎性细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 进行定量检测,结果显示,IgA 肾病患者血液中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 的含量均显著高于正常人,IgA 肾病患者尿液中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 的含量亦显著高于正常人。同时发现,IgA 肾病患者尿液中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 含量显著高于血液中的含量。

同时,我们采用夹心 ELISA 法检测了 SPARC 在 IgA 肾病患者和正常人血液、尿液中的表达水平。结果显示,IgA 肾病患者血液、尿液中的 SPARC 含量均显著高于正常人,二者有显著性差异。同时发现,IgA 肾病患者尿液中 SPARC 含量显著高于血液中的含量。统计学分析发现,IgA 肾病患者血液中的 SPARC 含量与 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 的含量呈正相关( $r=0.296、0.305、0.312$ ,均  $P<0.05$ )。

分析上述研究结果,我们认为,IgA 肾病患者的炎性细胞因子的活化,表现为 IgA 肾病患者体内血液中的 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 始终维持着高浓度状态。血液和尿液中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 的水平同时升高,提示 TNF- $\alpha$ 、IL-6 从全身和局部两方面发挥其生物学作用,TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 的相对分子质量分别为 17 000、15 000、23 000,理论上可以从肾小球基底膜滤过,导致尿液中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 的含量也升高。尿液中的炎症因子刺激肾小管上皮细胞分泌 SPARC 增多,继而通过毛细血管释放到血循环,最终抑制系膜细胞增殖,因而 IgA 肾病患者血液的 SPARC 的含量也增高。为了证实此推测,我们通过体外细胞培养实验,运用夹心 ELISA 法检测了 IL-6 对 HMC 和 HKC 分泌 SPARC 蛋白的影响,结果显示,IL-6 作用 HMC、HKC 96 h 后,SPARC 蛋白的表达量明显高于对照组,并且 HKC 组 SPARC 蛋白的表达量明显高于 HMC 组,二者有显著性差异。有研究表明,SPARC 对肾小球细胞的主要作用是通过调节细胞因子分泌来完成的,在病理状态下,SPARC 代偿性产生增多,通过灭活过多产生的细胞因子来抑制系膜细胞的增殖,但其具体作用机制还不清楚<sup>[12]</sup>。

根据 Lee 分级标准对 46 例 IgA 肾病病理组织进行分级,结果显示,随着肾脏病理的加重,患者血液和尿液中的 SPARC 浓度也逐渐升高,但各组间比较均无显著性差异。IgA 肾病患者体液中的 SPARC 水平与肾脏病理的病变程度之间到底有无相关性,需要更大样本的统计和更深入的研究来证明。

由于 SPARC 在 IgA 肾病患者体液和肾组织中

的高表达,推测这可能是机体的一种保护性反馈抑制作用,但其具体作用和机制尚有待进一步研究。我们的研究为 SPARC 蛋白用于治疗 IgA 肾病提供了新的线索。

## [参考文献]

- [1] Yano N, Endoh M, Nomoto Y, Sakai H, Fadden K, Rifai A. Phenotypic characterization of cytokine expression in patients with IgA nephropathy[J]. *J Clin Immunol*, 1997, 17: 396-403.
- [2] Li L S, Liu Z H. Epidemiologic data of renal diseases from a single unit in China; analysis based on 13 519 renal biopsies [J]. *Kidney Int*, 2004, 66: 920-923.
- [3] Yan Q, Sage E H. SPARC, a matricellular glycoprotein with important biological functions [J]. *J Histochem Cytochem*, 1999, 47: 1495-1506.
- [4] Pichler R H, Bassuk J A, Hugo C, Reed M J, Eng E, Gordon K L, et al. SPARC is expressed by mesangial cells in experimental mesangial proliferative nephritis and inhibits platelet derived growth factor mediated mesangial cell proliferation *in vitro* [J]. *Am J Pathol*, 1996, 148: 1153-1167.
- [5] 邹碧波, 张黎明, 付莉莉, 王文靖, 梅长林. 富含半胱氨酸酸性分泌糖蛋白及其肽段对人系膜细胞增殖和凋亡的作用[J]. *中华肾脏病杂志*, 2006, 22: 215-220.
- [6] 张黎明, 邹碧波, 梅长林, 付莉莉, 王文靖. 富含半胱氨酸的酸性分泌型糖蛋白 2.1 肽段对体外培养人系膜细胞超微结构及其分泌细胞外基质的影响[J]. *第二军医大学学报*, 2007, 28: 36-39.
- [7] Bradshaw A D, Sage E H. SPARC, a matricellular protein that functions in cellular differentiation and tissue response to injury [J]. *J Clin Invest*, 2001, 107: 1049-1054.
- [8] Alpers C E, Hudkins K L, Segerer S, Sage E H, Pichler R, Couser W G, et al. Localization of SPARC in developing, mature, and chronically injured human allograft kidneys [J]. *Kidney Int*, 2002, 62: 2073-2086.
- [9] Schomig M, Eisenhandt A, Ritz E. The microinflammatory state of uremia [J]. *Blood Purif*, 2000, 18: 327-332.
- [10] Chan L Y Y, Leung J C K, Tsang A W L, Tang S C W. Activation of tubular epithelial cells by mesangial-derived TNF- $\alpha$ : glomerulotubular communication in IgA nephropathy [J]. *Kidney Int*, 2005, 67: 602-612.
- [11] Pozzi C, Andrucci S, Del Vecchio L, Helis P, Fogazzi G B, Altieri P, et al. Corticosteroid effectiveness in IgA nephropathy: long-term results of a randomized controlled trial [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2004, 15: 157-163.
- [12] Francki A, Sage E H. SPARC and the kidney glomerulus; matricellular proteins exhibit diverse functions under normal and pathological conditions [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2001, 11: 32-37.

[本文编辑] 尹 茶