

· 综述 ·

肥大细胞在肾间质纤维化中作用机制的新进展

李华 王保兴

在我国,慢性肾脏病的发病率达到 10.8%,全国慢性肾脏病患者可达 1 亿多人^[1]。探索慢性肾脏病的详细发病机制,寻找治疗靶点,是目前面临的重要任务。几乎各种慢性肾脏疾病进展到终末期肾衰竭的共同途径和主要的病理基础都是肾间质纤维化。近来随着对肥大细胞的深入研究,发现其除参与过敏反应外,其分泌的活性物质生长因子、蛋白酶类、白三烯类、细胞因子和趋化因子等,在肾间质纤维化中起到重要作用。肾脏疾病时,如原发和继发肾小球肾炎、糖尿病肾病^[2]、移植肾脏的排斥反应、马兜铃酸肾病、淀粉样变肾病中^[3]、反流性肾病、多囊肾等,肥大细胞数量明显增加,且与纤维化程度、肾小球滤过率进展性下降以及不良的预后密切相关。

一、肥大细胞

1. 肥大细胞的起源及分型:人类肥大细胞起源于 CD34⁺/c-kit⁺/CD13⁺造血祖细胞,其分化依赖于集落细胞刺激因子和多种细胞因子的协同作用和复杂调节,通过向血管化的外周组织移行达到成熟^[4]。肥大细胞是组织特异性的多功能细胞,在不同种属、不同个体、不同的解剖位置,可以分化成不同的表型,这被称为异质性^[5]。啮齿类动物的肥大细胞可分为黏膜型肥大细胞和结缔组织型肥大细胞;前者主要分布于呼吸道、小肠的黏膜层;后者主要分布于皮肤结缔组织、腹腔浆膜、肌肉、血管及周围神经组织。在人类则分为类胰蛋白酶和类糜蛋白酶双阳性和类胰蛋白酶阳性而类糜蛋白酶阴性两种亚类^[6]。

2. 肾组织肥大细胞的染色及形态:正常的肾脏组织中无或者偶见肥大细胞。肥大细胞通过自身颗粒蛋白聚糖甲苯胺蓝特殊染色而被发现,也可以通过抗类胰蛋白酶和类糜蛋白酶抗体免疫组化鉴别出来。慢性肾小球肾炎时,肥大细胞以纤维化区域较多,主要分布在皮质的肾小管周围间质、部分肾小球及血管周围,少数嵌入到肾小管上皮细胞,有的甚至迁移到肾小管腔内,不会出现在肾小球。肥大细胞基本形态呈圆形或椭圆形,大小不等,胞质内充满阳性颗粒,免疫组化染色呈棕黑色,pH 0.5 或 1.0 的甲苯胺蓝特殊染色为蓝紫色,pH 5.0 的甲苯胺蓝特殊染色为紫红色,胞核淡染或者不着色。用电镜观察可见,肾间质中既有体积较小、核质比大、颗粒少的幼稚肥大细胞,也有胞质内充满大小不等膜包颗粒的成熟肥大细胞和脱颗粒的细胞。肥大细胞脱颗粒时形态变化多样,常见的是不规则的长形,同时伸出伪足,其周围和胞质内可见到高电子密度颗粒,一些颗粒已发生融合,脱颗粒时直接释放出颗粒内的物质,而另一些则以完整的膜包颗粒脱出。还可以观察到肥大细胞脱颗粒是缓慢形式的,而非“全”或“无”的方式进行(速发型过敏反应时肥大细胞的脱颗粒方式)^[7]。

3. 肥大细胞生物学特性:肥大细胞表面有多种受体,FcεR I、Toll 样受体、补体受体、雌激素受体等,相应介质与受体结合后就会诱导肥大细胞脱颗粒,释放各种炎性介质及其他活性物

质,产生相应反应。其中 IgE 介导的免疫学机制是主要的。其表面的特异受体 FcεR I 和 IgE 结合后,过敏原通过和肥大细胞上 IgE 结合而激活肥大细胞,使其脱颗粒释放炎症介质、血管活性物质等。

肥大细胞参与体内多种反应,如过敏反应、炎症、血管生成及组织损伤修复,激活的肥大细胞释放的高活性的生物因子、趋化因子、蛋白酶、组胺、白三烯等物质在其中起着关键作用。同时在先天性免疫中,可以识别病原体,然后将其吞噬、清除,同时释放大量介质。在获得性免疫中,肥大细胞加工及呈递抗原,同时还能通过激活中性粒细胞,趋化 T 细胞等途径调节免疫应答,研究还发现肥大细胞可以加速树突状细胞和 T 细胞的分化和成熟,并能增强其功能^[8]。在自身免疫性疾病中,肥大细胞也起着重要作用,如多发性硬化、自身免疫性关节炎等疾病中,蛋白酶类的物质能加重病情^[9]。冠心病患者的血管粥样硬化、乳腺肿瘤等疾病中,也有肥大细胞的参与。

二、肥大细胞在肾间质纤维化中的作用机制

肥大细胞分泌的活性物质包括生长因子、蛋白酶类、白三烯类、细胞因子和趋化因子^[10],证实这些介质不仅在过敏反应、炎症、血管生成和组织修复中起作用,而且促进纤维化,在纤维化过程中起着关键的作用。

(一)生长因子类

肥大细胞释放的生长因子包括干细胞生长因子(SCF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、血小板源性生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)、集落刺激生长因子、促性腺激素释放激素、颗粒巨细胞等^[10]。

SCF 是肥大细胞增殖、分化、成熟、活化和凋亡的重要调节因子,Li 等^[11]研究发现,在蛋白负荷的肾病大鼠肾间质纤维化模型中,随着模型时间延长,肥大细胞浸润逐渐增加。SCF 与肥大细胞浸润和肾间质纤维化呈正相关。推测 SCF 作为肥大细胞早期的主要趋化因子,将肥大细胞吸引到肾脏。bFGF 起到了促进成纤维细胞增殖的作用,25~50 ng/ml 的 bFGF 可明显增加整合素 β1 在人肾成纤维细胞上的表达,从而证实了 bFGF 导致肾间质纤维化的作用机制可能是通过对整合素 β1 表达的上调来促进成纤维细胞增殖,使 I 型胶原分泌增加,细胞外基质沉积增加。

VEGF 是高度特异性的内皮细胞有丝分裂原,可以营养、活化、促进血管增生。在各种动物的进展性肾病模型中可以保护应激内皮、刺激血管生成、稳定肾功能、延缓组织病变进展。VEGF 是通过改变内皮细胞基因表达,促进间质胶原酶和纤维蛋白的表达,有利于血管新生^[12]。另外还能促进内皮细胞一氧化氮合酶表达,促进一氧化氮的生成,起到有利于维持血管的作用。总之其在肾脏的异常表达,与肾小管周围的毛细血管丢失以及肾间质纤维化的进展有着密切的关系。

PDGF 也主要来源于肥大细胞,可强烈促进肌成纤维细胞和(或)成纤维细胞增殖,促进细胞外基质形成^[13]。在肾纤维化间质成纤维细胞 PDGF-DD 表达明显升高,用了 PDGF-DD 抑制剂

后,小管间质纤维化程度明显减轻^[14]。用转基因方法使足细胞PDGF-DD高表达,可促使早期的增殖性肾小球肾炎发生纤维化和肾功能衰竭。通过基因敲除或特异性抑制PDGF-CC,可减轻单侧输尿管结扎(UUO)模型肾纤维化^[15]。PDGF-AB、PDGF-BB、PDGF-CC可刺激其受体细胞分裂增殖并提高其生存力,同时还对成纤维细胞、平滑肌细胞、巨噬细胞和中性粒细胞具有趋化作用,可刺激巨噬细胞和粒细胞脱颗粒。

(二)蛋白酶类

肥大细胞释放的蛋白酶类物质主要包括类胰蛋白酶和糜蛋白酶,另外还有羧肽酶、组胺和肝素。类胰蛋白酶和糜蛋白酶都能激活胶原酶,刺激胶原原向纤维胶原转化。一些蛋白酶能激活基质金属蛋白酶(MMP)和其他蛋白酶,对于成纤维细胞起到吸引和有丝分裂作用。

肾间质纤维化程度与类胰蛋白酶阳性的细胞数目密切相关,类胰蛋白酶促进间质成纤维细胞的增殖,刺激其合成纤维连接蛋白和I型胶原蛋白,从而导致最终的肾间质纤维化^[16]。实验发现UUO大鼠模型中蛋白酶激活受体2(PAR-2)表达与肾间质相对面积、 α -SMA表达显著正相关性,于肾纤维化早期即表达于肾小管上皮细胞和肾间质,考虑PAR-2可能对于间质成纤维细胞的增殖发挥了潜在的作用^[17]。在系膜增殖性肾小球肾炎中,类胰蛋白酶(+)的肥大细胞与肾间质面积、CD68⁺的细胞相关^[18]。在IgA肾病中SCF、 α -SMA及PAR-2的表达与肾间质损伤程度成正比,同时三者及间质中肥大细胞的数目与肌酐水平也呈显著的正相关^[19],类胰蛋白酶活化的肾脏固有细胞通过表达PAR-2,从而使PAI-1、TGF- β 表达升高,导致细胞外基质增多,显示类胰蛋白酶在IgA肾病中起到了重要的作用。

糜蛋白酶可生成血管紧张素(ANG)II,使TGF- β 和MMP-9活化,还可以使炎症细胞聚集,这些作用在疾病的发生发展中起着重要的作用^[20]。利用肥大细胞缺失的WBB6F1-W/W^v小鼠和同源对照组行UUO手术,术后14d大鼠肾组织中,肥大细胞数量增加,并且表达激活的肾素。用肥大细胞稳定剂甘氨酸钠干预可以减轻纤维化。研究得出结论,浸润的肥大细胞脱颗粒释放肾素进入周围小管间质空隙,产生ANG原,肾素致其裂解,从而使ANG I形成,ANG I进一步分解成ANG II,除了通过ACE介导外,糜蛋白酶也可以介导。实验表明局部ANG II的产生,被肥大细胞脱颗粒触发。通过AT1R的激活,产生多种作用,如血管收缩和成纤维细胞的活化。推测附近成纤维细胞的AT1R激活ANG II,从而促进TGF- β 的产生。ANG II介导的血管收缩导致缺血,也能增加TGF- β 的产生。因此,肥大细胞脱颗粒伴随肾素释放,糜蛋白酶触发局部ANG II产生,从而TGF- β 增加,伴随胶原的沉积增加,这是间质纤维化的重要的机制^[21]。

组胺和肝素是所释放介质里的重要成分,组胺能刺激成纤维细胞增殖和胶原形成,肝素是重要的结缔组织成分之一,对毛细血管内皮细胞有化学动力学作用,能特异性刺激毛细血管内皮细胞迁移,还能促进胶原纤维的成熟,二者共同作用时,还能促进瘢痕组织形成。

(三)细胞因子和趋化因子

在肥大细胞释放的这类物质里面主要包括干扰素、TGF- β 、肿瘤坏死因子(TNF- α)、巨噬细胞移动抑制因子(MIF)、白细胞介素(IL)-1、3、4、5、6、9、10、13、16、CCL2~5等,可以起到促炎和抗炎以及免疫调节作用^[10]。其中在肾间质纤维化中其重要作用的有TGF- β 和TNF- α ,IL类物质、单核细胞趋化因子蛋白-1(MCP-1)也有参与^[22]。

TGF- β 与纤维化密切相关,其至少具有三种亚型,TGF- β 1、

TGF- β 2和TGF- β 3,其中TGF- β 1在纤维化中的作用最强。TGF- β 可以诱导细胞外基质产生、成纤维细胞转化成肌成纤维细胞和细胞凋亡。TGF- β 通过多种途径促进上皮细胞转分化,如Ras、Rho、Src、Smad等,以TGF- β 1最强。转分化后形成肌成纤维细胞,后者是合成细胞外基质I、III型胶原的主要细胞。TGF- β 介导的Smad信号通路是间质纤维化机制的关键因素^[23]。另外TGF- β 可以激活肥大细胞,是肥大细胞最强的趋化因子^[24]。

TNF- α 是一种单核因子,UUO早期就产生,术后3d达到高峰,其后低水平持续存在,可刺激单核巨噬细胞、肾小球内皮细胞、成纤维细胞和肾小管上皮细胞大量产生IL-1、8。TNF- α 也能部分介导炎症细胞浸润和肾小管细胞凋亡,刺激胶原产生和成纤维细胞增殖^[25]。

研究发现SCF、IL-3、IL-9是调节肥大细胞生长、分化的最重要的因子^[4],IL-4经过体外实验证明,能刺激成纤维细胞合成I、III型胶原和纤维黏连蛋白,在纤维化中起作用。肥大细胞释放IL-6,同时其他因子激活的成纤维细胞也能分泌IL-6,进一步趋化肥大细胞,使肥大细胞存活,虽然作用弱于SCF,但是形成了闭合的循环途径^[26],促进纤维化。MIF能活化巨噬细胞,抑制其游走,增强黏附、吞噬作用,调节白细胞活性和成纤维细胞增殖。MCP-1可由肥大细胞释放,主要是由巨噬细胞和上皮细胞分泌,它是单核-巨噬细胞的趋化因子,同时也能趋化肥大细胞。若体内封闭MCP-1基因,间质纤维化会减轻^[27]。

(四)白三烯类

白三烯C4、B4、血小板激活因子、前列腺素D2、E2,这些都属于由肥大细胞释放的白三烯类物质。这类物质可以改变血管通透性,趋化嗜酸粒细胞和中性粒细胞,在肾脏纤维化中,可以起到一定的作用,通过对白细胞的趋化,影响血管内皮选择素和黏附分子的表达^[10]。

三、肥大细胞与各细胞相互作用

TGF- β 和bFGF是肥大细胞最强的趋化因子,而肥大细胞又能释放二者;SCF是肥大细胞的分化和激活因子,肥大细胞释放介质里也有SCF;PDGF可由肥大细胞分泌,同时它又能趋化激活巨噬细胞和粒细胞;巨噬细胞趋化蛋白-1可以趋化单核-巨噬细胞,但同时也能募集肥大细胞;间质中肥大细胞和T淋巴细胞、粒细胞及巨噬细胞是呈正相关的;这些细胞和炎性介质又作用于肾脏固有细胞,如肌成纤维细胞、成纤维细胞以及小管上皮细胞等,这些都说明肥大细胞分泌启动炎症和纤维化的正反馈的细胞因子和趋化因子以及生长因子,其释放的炎性介质作用于其他细胞,从而肥大细胞和单核-巨噬细胞、粒细胞及T细胞构成可互相促进互相激活的纤维化网络,这是一个自身循环自身加强的促纤维化的网络体系。

四、总结展望

总之,肥大细胞致肾间质纤维化是通过脱颗粒释放多种细胞因子和趋化因子起作用,这些生物活性介质可以作用于肾脏组织中的固有细胞,如上皮细胞、成纤维细胞,也可以作用于其他再循环细胞如粒细胞、单核-巨噬细胞、淋巴细胞等,同时这些细胞也会释放肥大细胞激活所需因子,从而形成了一个具有放大效应和推进作用的网状途径。但是其具体机制错综复杂,有待于更进一步的研究。肥大细胞的激活、脱颗粒及释放的各种因子,同时与其他炎症细胞之间的相互作用,可能为延缓肾间质纤维化的进展提供了新的治疗靶点和新思路。

参 考 文 献

- [1] Zhang L, Wang F, Wang L, et al. Prevalence of chronic kidney disease in China: a cross-sectional survey. *Lancet*, 2012, 379: 815-822.

- [2] Jones SE, Gilbert RE, Kelly DJ. Tranilast reduces mesenteric vascular collagen deposition and chymase-positive mast cells in experimental diabetes. *J Diabetes Complications*, 2004, 18:309-315.
- [3] Wu Y, Liu Z, Hu W, Li L. Mast cell infiltration associated with tubulointerstitial fibrosis in chronic Aristolochic Acid Nephropathy. *Hum Exp Toxicol*, 2005, 24:41-47.
- [4] Jamur MC, Oliver C. Origin, maturation and recruitment of mast cell precursors. *Front Biosci (Schol Ed)*, 2011, 3:1390-1406.
- [5] Marshall JS. Mast-cell responses to pathogens. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4:787-799.
- [6] 韩聚强,任永强,曹建彪.肥大细胞与肝炎病毒相关肝病研究进展[J/CD]. *中华临床医师杂志:电子版*, 2011, 5:5410-5411.
- [7] 刘雪梅,朱红艳,甄珺晖,等.肾组织肥大细胞的形态学特点及染色方法. *临床与实验病理学杂志*, 2004, 20:216-219.
- [8] Sayed BA, Brown MA. Mast cells as modulators of T-cell responses. *Immunol Rev*, 2007, 217:53-64.
- [9] Magnusson SE, Pejler G, Kleinau S, et al. Mast cell chymase contributes to the antibody response and the severity of autoimmune arthritis. *FASEB J*, 2009, 23:875-882.
- [10] Holdsworth SR, Summers SA. Role of mast cells in progressive renal diseases. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19:2254-2261.
- [11] Li Y, Zhou L, Liu F, et al. Mast cell infiltration is involved in renal interstitial fibrosis in a rat model of protein-overload nephropathy. *Kidney Blood Press Res*, 2010, 33:240-248.
- [12] Kang DH, Johnson RJ. Vascular endothelial growth factor: a new player in the pathogenesis of renal fibrosis. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2003, 12:43-49.
- [13] Boor P, Konieczny A, Villa L, et al. Complement C5 mediates experimental tubulointerstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol*, 2007, 18:1508-1515.
- [14] Boor P, Konieczny A, Villa L, et al. PDGF-D inhibition by CR002 ameliorates tubulointerstitial fibrosis following experimental glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant*, 2007, 22:1323-1331.
- [15] Eitner F, Bucher E, van RC, et al. PDGF-C is a proinflammatory cytokine that mediates renal interstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19:281-289.
- [16] Summers SA, Gan PY, Dewage L, et al. Mast cell activation and degranulation promotes renal fibrosis in experimental unilateral ureteric obstruction. *Kidney Int*, 2012, 82:676-685.
- [17] 朱忠华,刘建社,张进祥.蛋白酶激活受体2在小鼠肾间质纤维化中的表达及其意义. *中华肾脏病杂志*, 2004(6):50-53.
- [18] Danilewicz M, Wagrowska-Danilewicz M. Immunohistochemical analysis of the interstitial mast cells in rebiopsied patients with idiopathic mesangial proliferative glomerulonephritis. *Pol J Pathol*, 2005, 56:63-68.
- [19] Liu H, Liu F, Peng Y, et al. Role of mast cells, stem cell factor and protease-activated receptor-2 in tubulointerstitial lesions in IgA nephropathy. *Inflamm Res*, 2010, 59:551-559.
- [20] Takai S, Jin D, Miyazaki M. Multiple mechanisms for the action of chymase inhibitors. *J Pharmacol Sci*, 2012, 118:311-316.
- [21] Veerappan A, Reid AC, O'Connor N, et al. Mast cells are required for the development of renal fibrosis in the rodent unilateral ureteral obstruction model. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2012, 302:F192-204.
- [22] Peters H, Unger T. Mast cells and the power of local RAS activation. *Nephrol Dial Transplant*, 2007, 22:40-42.
- [23] Wang W, Koka V, Lan HY. Transforming growth factor-beta and Smad signalling in kidney diseases. *Nephrology (Carlton)*, 2005, 10:48-56.
- [24] Li MO, Wan YY, Sanjabi S, et al. Transforming growth factor-beta regulation of immune responses. *Annu Rev Immunol*, 2006, 24:99-146.
- [25] Metcalfe PD, Leslie JA, Campbell MT, et al. Testosterone exacerbates obstructive renal injury by stimulating TNF-alpha production and increasing proapoptotic and profibrotic signaling. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2008, 294:E435-443.
- [26] Montier Y, Lorentz A, Kramer S, et al. Central role of IL-6 and MMP-1 for cross talk between human intestinal mast cells and human intestinal fibroblasts. *Immunobiology*, 2012, 217:912-919.
- [27] Wada T, Furuichi K, Sakai N, et al. Gene therapy via blockade of monocyte chemoattractant protein-1 for renal fibrosis. *J Am Soc Nephrol*, 2004, 15:940-948.

(收稿日期:2013-01-05)

(本文编辑:张志巍)

李华,王保兴.肥大细胞在肾间质纤维化中作用机制的新进展[J/CD]. *中华临床医师杂志:电子版*, 2013, 7(10):4436-4438.