

主 编 李相友 夏媛瑜 张 野 金 捷

免疫抑制剂 与肾病



MIANYI YIZHIJI YU SHENBING



人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

免疫抑制剂与肾病

MIANYI YIZHIJI YU SHENBING

主 审 丁国华
主 编 李相友 夏媛瑜 张 野 金 捷
副主编 杨 晓 徐 亮 喻业安 陈禹潭
编 者 (以姓氏笔画为序)
王小琴 王晓慧 王惠明 尹青桥
许传文 李骏峰 李朝芝 吴小燕
陈文莉 罗 丹 赵媛媛 董骏武
熊 飞
协 调 万 胜



人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

北 京

图书在版编目(CIP)数据

免疫抑制剂与肾病/李相友等主编. —北京:人民军医出版社, 2013.10

ISBN 978-7-5091-7079-3

I. ①免… II. ①李… III. ①免疫抑制剂—应用—肾疾病—诊疗 IV. ①R979.5②R692

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 242676 号

策划编辑:张怡泓 管悦 文字编辑:陈鹏 银冰 责任审读:周晓洲

出版发行:人民军医出版社 经销:新华书店

通信地址:北京市 100036 信箱 188 分箱 邮编:100036

质量反馈电话:(010)51927290;(010)51927283

邮购电话:(010)51927252

策划编辑电话:(010)51927285

网址:www.pmmp.com.cn

印、装:北京国马印刷厂

开本:787mm×1092mm 1/16

印张:19.25 字数:460千字

版、印次:2013年10月第1版第1次印刷

印数:0001—2000

定价:80.00元

版权所有 侵权必究

购买本社图书,凡有缺、倒、脱页者,本社负责调换

内容提要

本书由多名国内具有丰富经验的肾病诊疗临床专家编写,全面系统地阐述了免疫抑制剂的基础理论、发展历程、作用机制、临床分类和在各种肾病中的具体应用及最新进展,重点论述了各种常见的免疫抑制剂在肾病中的应用和不良反应及其防治。本书内容新颖,结构紧凑,适合内科医师和肾病医疗、教学、科研人员,以及医学院校师生、肾病患者阅读参考。

前言

肾病的病因众多,发病机制复杂,涉及多种因素、多种机制,其中免疫学异常是其主要致病因素。正是由于复杂的免疫学发病机制导致了肾病临床治疗效果欠佳。近年来,随着研究的不断深入,对肾病免疫学发病机制逐渐得以阐明,发现了各种新的免疫抑制剂,大大促进了肾病治疗的研究进展。

本书根据各种临床指南及专家共识,紧密结合肾病临床及免疫学研究方面的最新进展,全面系统地介绍了免疫学异常在肾病发生发展中所起的作用及各种免疫抑制剂在肾病中的具体应用,结构编排合理,逻辑性强,具有较强的临床指导意义。

全书共五章二十八节,详细介绍了肾病的免疫学发病机制、肾病的药动学及免疫抑制剂的发展,对各种常用免疫抑制剂分别从概述、分子结构与作用机制、药动学和药效学、在肾病中的具体应用、不良反应及其防治措施以及药物间相互作用进行全面的论述,重点介绍了各种常见的免疫抑制剂在肾病中的应用及最新进展。

本书内容新颖,结构紧凑,是目前国内第一部全面系统介绍免疫抑制剂及其在肾病中的应用的书籍。在此,向参与本书编写及出版的所有人员表示诚挚的感谢及崇高的敬意,正是由于他们的辛苦付出才使本书得以顺利出版。希望本书能为提高肾病治疗水平做出一定的贡献,成为广大医师、医学生喜爱的一本参考书。

编者

2013年10月

目 录

第一章 肾病的免疫学发病机制	(1)
第一节 肾病的免疫学发病机制	(1)
一、肾损伤的体液免疫机制	(1)
二、肾损伤的细胞免疫机制	(6)
三、间质损伤的免疫机制	(7)
第二节 肾病相关的免疫学检查	(8)
一、血清免疫球蛋白的测定	(8)
二、血清补体的测定	(10)
三、抗中性粒细胞胞质抗体	(10)
四、血清抗肾抗体	(12)
五、循环免疫复合物的测定	(13)
第二章 免疫抑制剂的发展	(15)
第一节 免疫抑制剂的发展历史	(15)
第二节 免疫抑制剂的分类及作用机制	(18)
一、免疫抑制剂的分类	(18)
二、免疫抑制剂的作用特点与方式	(20)
第三节 影响免疫抑制剂药动学因素	(21)
第三章 常用免疫抑制剂	(24)
第一节 糖皮质激素	(24)
第二节 硫唑嘌呤和巯嘌呤	(31)
第三节 环磷酰胺	(36)
第四节 苯丁酸氮芥	(41)
第五节 甲氨蝶呤	(43)
第六节 神经钙蛋白抑制剂	(47)
一、环孢素	(47)
二、他克莫司	(52)
第七节 霉酚酸酯	(60)
第八节 咪唑立宾	(63)
第九节 来氟米特	(66)
第十节 西罗莫司	(71)
第十一节 蛋白类及其他新型免疫抑制剂	(76)
一、抗 CD3 单克隆抗体(OKT3)	(78)

二、多克隆抗体:ATG 和 ALG	(79)
三、抗 CD25 单克隆抗体	(80)
四、抗 CD20 单克隆抗体	(81)
五、其他新型免疫抑制剂	(82)
第十二节 中药及中成药制剂	(86)
一、雷公藤	(86)
二、火把花根	(103)
三、黄葵胶囊	(111)
第十三节 单味中草药	(120)
一、大黄	(120)
二、冬虫夏草	(131)
第四章 免疫抑制剂在肾病中的应用	(138)
第一节 肾小球疾病	(138)
一、微小病变肾病	(138)
二、局灶节段性肾小球硬化	(144)
三、膜性肾病	(148)
四、膜增生性肾小球肾炎	(161)
五、致密物沉积病	(165)
六、新月体肾炎	(169)
七、IgA 肾病	(175)
八、抗肾小球基底膜疾病	(185)
第二节 自身免疫性疾病的肾损害	(190)
一、狼疮性肾炎	(190)
二、系统性血管炎肾损害	(201)
三、过敏性紫癜性肾炎	(206)
四、血栓性微血管病与肾损害	(210)
五、干燥综合征肾损害	(212)
六、类风湿关节炎和强直性脊柱炎肾损害	(214)
七、其他自身免疫性疾病肾损害	(219)
第三节 糖尿病肾病	(223)
第四节 感染性疾病与肾损害	(230)
一、乙型肝炎病毒相关性肾炎	(230)
二、丙型肝炎病毒相关性肾炎	(234)
三、人类免疫缺陷病毒相关性肾病	(238)
第五节 急性间质性肾炎	(240)
第六节 慢性间质性肾炎	(242)
第七节 肾移植的内科问题	(244)
一、肾移植免疫	(244)
二、肾移植高敏受体的处理	(251)

三、免疫抑制剂在肾移植患者中的应用	(252)
四、肾移植排斥反应及其处理	(263)
五、肾移植术后常见内科并发症的观察和处理	(264)
六、慢性移植肾肾病	(268)
第五章 肾病时的药动学	(276)
第一节 药物在肾的代谢及排泄	(276)
一、药物与肾小球滤过	(276)
二、药物与肾小管分泌	(276)
三、药物与肾小管重吸收	(277)
四、肾的药物代谢	(277)
第二节 肾病对药动学的影响	(277)
一、对药物吸收的影响	(277)
二、对药物分布的影响	(278)
三、对药物代谢的影响	(278)
四、药物对排泄的影响	(278)
第三节 肾替代治疗对药动学的影响	(279)
一、血液透析对药物代谢的影响	(279)
二、腹膜透析对药物代谢的影响	(280)
三、连续性肾替代治疗对药物代谢的影响	(280)
四、透析患者常用药物的使用	(282)

第一章 肾病的免疫学发病机制

第一节 肾病的免疫学发病机制

肾病的病因及发病机制复杂,有多因素参与。自 21 世纪以来,人们逐渐了解到免疫系统可以通过多种途径导致人类肾损害。免疫学发病机制是其主要致病因素。

免疫应答在基础水平上有两个组成部分:①体液免疫,导致产生抗体。②细胞免疫,包括 T 细胞和绝大部分巨噬细胞。多数抗原会引起体液与细胞两种免疫应答,并且两者相互关联。体液与细胞免疫都可引发组织损伤。不过,因为多数免疫性肾小球疾病中有大量抗体沉积并且量化分析细胞介导的免疫更为复杂,所以体液免疫在肾病范围里受到更多关注,因而其作用了解得更清楚。关于细胞免疫在肾病中作用的知识正迅速增加,尤其是细胞免疫在介导新月体肾小球肾炎和肾小管间质性疾病中发挥重要作用。

已知导致肾小球免疫损伤的途径有 5 种,包括抗体沉积和特异性致敏细胞(图 1-1)。

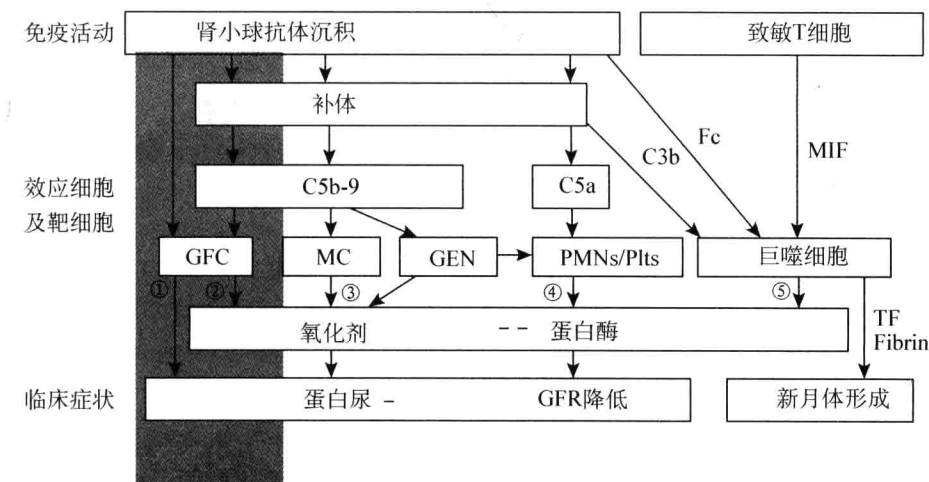


图 1-1 描述 5 种已知导致肾小球免疫损伤的途径

一、肾损伤的体液免疫机制

大多数肾小球肾炎中,体液免疫介导的损伤主要是由于肾小球内不同部位形成免疫复合物沉积,包括免疫球蛋白、补体和其他蛋白。这些免疫复合物的致病性取决于 4 个因素:免疫

复合物形成的机制、沉积的部位、免疫复合物的性质和数量。免疫复合物的形成,反映了抗原和抗体之间相互作用的动态过程,在血液循环中或组织内会不断发生变化。此外,抗体直接介导的免疫反应在肾小球肾炎的发生中也起重要作用。

(一)原位免疫复合物的形成

原位免疫复合物是指血液循环中,游离抗体与肾小球固有抗原或已种植于肾小球的外源性抗原相结合,在肾局部形成免疫复合物。原位免疫复合物的形成部位,取决于肾小球抗原的表达部位或者植入抗原的种植部位,可以在上皮侧、内皮下或者系膜区。与肾小球疾病密切相关的抗原详见表 1-1。

表 1-1 抗原与相关肾小球疾病

抗 原	肾小球疾病
固有抗原	
Ⅳ型胶原(α3 链)	抗肾小球基底膜疾病
中性内肽酶	膜性肾病
中性粒细胞蛋白酶 3,髓过氧化物酶	寡免疫性新月体性肾炎、Wegener 肉芽肿
种植抗原	
药物	膜性肾病
肿瘤抗原	膜性肾病
微生物抗原	
链球菌抗原	内皮系膜增生性肾小球肾炎
梅毒螺旋体	膜性肾病
曼氏血吸虫	膜增生性肾小球肾炎
乙型肝炎和丙型肝炎病毒	膜性肾病,膜增生性肾小球肾炎
人类免疫缺陷病毒	局灶节段性肾小球硬化
脱氧核糖核酸(DNA)	狼疮性肾炎
免疫球蛋白	原发性冷球蛋白血症性肾炎

1. 肾小球固有抗原

(1)足细胞相关抗原:在人类足细胞表面发现的第一个致病性靶抗原是中性内肽酶(neutral endopeptidase, NEP),与一种罕见的新生儿膜性肾病相关。NEP 是一种含锌的金属肽酶,广泛存在于哺乳动物的细胞表面,在肾和肺组织中含量最丰富,在肾中主要存在于近端肾小管刷状缘。抗 NEP 抗体引起新生儿膜性肾病的机制:患儿母亲由于编码 NEP 的基因发生突变,体内缺乏 NEP。如果该母亲孕育了一个正常健康的胎儿,在妊娠过程中,母体将产生针对胎儿的抗 NEP 抗体,并通过胎盘进入胎儿体内。抗 NEP 抗体与胎儿足细胞上的 NEP 抗原发生反应,在上皮侧形成原位免疫复合物,从而发生新生儿膜性肾病。更多的足细胞相关抗原有待进一步的研究发现。

(2)系膜细胞抗原:由抗系膜细胞抗原的抗体形成原位免疫复合物介导的免疫损伤比较少见。实验证明,人类系膜细胞中确实存在一些具有抗原性的蛋白质,系膜细胞的细胞核和细胞质中的自身抗原成分,例如组蛋白可参与内身免疫病的致病过程。在系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)患者中,系膜细胞的核糖体 P 蛋白可与抗 dsDNA 抗体发生交叉反应。另外,系膜细胞的固有蛋白,如 α -肌动蛋白、凋亡相关蛋白及磷脂类成分等也可成为抗原,参与自身免疫病。

(3)基底膜抗原:Ⅳ型胶原是基底膜的主要结构蛋白,其完整性对基底膜的滤过功能具有重要意义。现已证实,Ⅳ胶原 $\alpha 3$ 链的非胶原区 $\alpha 3(\text{IV})\text{NC1}$,是引起抗肾小球基底膜(glomerular basement membrane, GBM)抗体的主要靶抗原。正常情况下,GBM 抗原决定簇隐藏于Ⅳ胶原 $\alpha 3$ 链中,在环境改变或其他因素作用下,如吸烟、感染、有机溶剂、活性氧等影响下,Ⅳ型胶原的立体网状结构发生改变,六聚体发生解离,从而使 $\alpha 3$ 链 NC1 区域的抗原决定簇暴露,刺激机体产生抗体。另外,某些细菌、病毒等可能与 GBM 有共同抗原性,可为抗原刺激机体产生的抗体,与 GBM 起交叉反应。抗 GBM 抗体与 GBM 的结合所引起的免疫损伤是人类 Goodpasture 病的主要发病机制。

(4)肾小球内皮细胞抗原:由于肾小球内皮细胞可直接与循环中的免疫细胞接触,因此,可成为免疫损伤的主要靶胞。很多种内皮细胞成分均可作为抗原,触发免疫反应,产生抗内皮细胞的抗体。这些抗原的分子量分布在 25 000~200 000,包括心磷脂和其他磷脂成分,细胞外基质成分,如Ⅱ型胶原及层粘连蛋白,内皮细胞的 DNA 成分,内皮细胞表面的 HLA I 类、Ⅱ类分子等。

2. 种植抗原 肾内“种植”的抗原或抗体则多因非免疫因素结合到肾。GBM 中含有带有负电荷的硫酸肝素为主要成分的蛋白聚糖。带有阳性电荷的蛋白,如阳离子化的牛血清白蛋白可通过电荷吸引种植于 GBM,导致原位免疫复合物的形成,产生类似人类膜性肾病的病理改变和临床症状。此外,细菌、病毒、寄生虫等感染产物和某些药物也可能与肾小球内的某些成分结合而形成植入抗原。例如乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)和幽门螺杆菌抗原等,均可在肾小球足细胞下种植,形成上皮下的免疫复合物沉积。大多数由植入抗原引起的肾小球肾炎,免疫荧光检查可见免疫复合物在肾小球内沿毛细血管襻呈不连续的颗粒状分布。除了电荷因素外,某些物质与肾小球滤过膜具有特殊亲和性,也可作为种植抗原,形成免疫复合物的沉积,例如 SLE。凋亡细胞产生的 DNA 可种植于 GBM 上,抗 DNA(或组蛋白)抗体和已沉积在肾小球的 DNA(或组蛋白)形成免疫复合物,这可能参与一些狼疮性肾炎(如 V 型)的发病过程。

(二)循环免疫复合物的沉积

循环免疫复合物又称可溶性免疫复合物,是由于某些外源性抗原或内源性抗原刺激机体产生相应抗体,所产生的抗体与抗原在血液循环中形成免疫复合物。CIC 则在特定的条件下为肾所捕捉,在肾小球沉积的 CIC 激活炎性介导系统后,可导致肾炎的发生。

循环免疫复合物本身的生化特征决定了这些免疫复合物在组织中的沉积能力和介导炎性的不同作用。当抗原的表位较少或抗原分子过多时,所形成的免疫复合物通常较小而且可溶,活化补体的能力较弱。当抗原抗体的比例接近等价时,抗原与抗体之间形成的交联最多,所形成的免疫复合物分子量较大,溶解度显著降低,易形成沉淀。这些大分子的复合物活化补体的能力虽很强,但与 Fc 受体的亲和力亦较高,易被巨噬细胞从循环中清除,不易沉积于肾小球。

当抗体明显过量时,与多价抗原之间可形成中等大小的复合物。这些中等大小的免疫复合物溶解于循环中,而且不能被机体的巨噬细胞和网状内皮系统有效地清除,容易在肾小球组织中沉积。这些沉积的免疫复合物能活化补体,从而启动对肾小球的组织损伤。

循环免疫复合物主要沉积在肾小球系膜区、内皮下或者上皮侧。循环中已形成的免疫复合物由于体积较大不能通过毛细血管壁,但是在某些情况下,内皮下沉积的免疫复合物可以解离,游离的抗原和抗体可以穿过 GBM 层,在上皮侧重新形成免疫复合物,如低亲和力的抗体形成的循环免疫复合物可在内皮下解聚,穿过基底膜在上皮侧再次聚合。

此外,循环免疫复合物所携带的电荷对其在肾组织的沉积也有很大影响。含大量阳离子的复合物,可穿过基底膜,沉积于上皮侧。含大量阴离子的复合物不易通过基底膜,主要沉积于内皮下而电荷中性的复合物主要沉积于系膜区。带不同电荷的免疫复合物,活化补体的能力也不一样,包含阳离子抗原的免疫复合物更容易活化补体,诱导炎症反应的能力更强。

(三) 抗体沉积造成的组织损伤

1. 抗体单独造成损伤 早在 20 世纪 60 年代就发现,非补体、非白细胞依赖的抗体可造成肾损伤,大剂量的肾毒血清可造成大鼠蛋白尿,但并不活化补体系统。随后,Couser 通过应用抗 GBM 抗体体外灌注大鼠肾造成蛋白尿证实,抗体可直接造成肾损伤。部分单克隆抗体和多克隆抗体均可引起肾的即刻损伤,即肾小球通透性增加,产生大量蛋白尿而不伴随补体的活化和炎症反应的发生。该类抗体的靶抗原主要位于 GBM、肾小管上皮细胞的刷状缘和肾小球足细胞等。

但是,并非所有与肾小球 GBM 细胞外基质成分或细胞表面蛋白结合的抗体都可以引起肾损伤。例如针对不同细胞外基质,某些细胞膜蛋白,如 podocalyxin 等以及其他一些为人所熟知的抗原的抗体均不能引起肾小球滤过膜结构和功能的改变。

2. 活化补体系统造成损伤

(1) 补体的活化过程:肾小球内原位免疫复合物或者循环免疫复合物沉积后,均可以活化补体系统,释放很多炎性介质,从而导致肾小球的组织损伤。

补体激活过程依据起始顺序的不同,分为 3 条途径:①由抗原-抗体复合物结合 C1q 启动激活的途径,称为经典途径。②凝集素途径:通过甘露糖结合凝集素(mannose-binding lectin, MBL)、IgA、病原体表面的糖类等启动凝集素途径。③旁路途径:不经 C1、C4、C2 途径,而由 C3、B 因子、D 因子参与的激活过程,某些细菌的内毒素、酵母菌多糖、葡聚糖、聚集的 IgA 和 IgG4 等,可不通过 C1q 的活化,直接活化旁路途径。

3 条补体活化途径通过共同的末端通路,在细胞膜表面形成膜攻击复合物(membrane attack complex, MAC),介导溶细胞效应,是机体抵抗微生物感染的重要防御机制。在某些病理情况下,补体系统可引起宿主细胞溶解,并导致组织损伤与疾病。

补体活化过程可以产生多种具有炎性介质作用的活性片段,如 C3a、C4a 和 C5a 等介导组织的损伤。C3a、C5a 除有过敏毒素的作用外,还有趋化因子的作用,能使中性粒细胞、单核巨噬细胞向病变肾小球聚集加重组织损伤。

(2) 补体活化的清除作用:补体可通过与 Ig 的 Fc 片段结合清除免疫复合物,一方面改变 Ig 的空间构象,抑制其结合新的抗原表位,抑制新的免疫复合物形成;另一方面,补体可插入免疫复合物的网格结构,在空间上干扰 Fc 片段之间的相互作用,溶解已沉积的免疫复合物。如果免疫复合物不能被有效清除,那么补体持续活化,导致炎症反应。

另外,体内存在的多种补体成分,如 C1q、C3b 可识别和结合凋亡细胞,然后与吞噬细胞表面的相应受体结合,清除凋亡细胞。当过多的自身抗原,不能被机体有效清除时,不成熟的树突细胞可摄取这些自身抗原并发育成熟为抗原递呈细胞,然后将自身抗原递呈给 T 细胞,促进 T 细胞的活化,这些活化的 T 细胞可促进自身反应性 B 细胞的成熟并产生自身抗体。一些补体成分缺陷可影响机体内环境的稳定使自身免疫性疾病的发病率增高,例如 C1q 缺陷患者中,90%会发生 SLE。

(3)补体 C5b-9 介导的损伤:1990 年前发现去除补体后 Heymann 肾炎模型的蛋白尿消失。以后应用 C6 缺失的动物实验证实,肾小球滤过膜通透性的增加是由未达到细胞溶解剂量的补体活化终末产物 MAC C5b-9 所致。针对肾小球系膜细胞和内皮细胞膜蛋白的抗体所造成肾炎性病变多有 MAC 的参与。除膜性肾病外,其他人类肾小球疾病,如 IgA 肾病、膜增生性肾小球肾炎和狼疮肾炎均可在肾沉积物中发现 C5b-9。

C5b-9 对肾小球足细胞的损伤作用:C5b-9 复合物在肾小球足细胞表面形成后,可导致足细胞 DNA 损伤,引起足细胞凋亡。C5b-9 诱导足细胞内前列腺素和多种炎性介质,例如花生四烯酸、前列腺素 E2 和血栓素等的合成。C5b-9 亦能诱导足细胞内烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化还原酶的大量合成,在局部产生大量的活性氧和脂质过氧化物,导致 GBM 的降解。C5b-9 还可激活磷酸酶 A2,诱导足细胞的磷脂水解、破坏内质网膜的完整性。此外,C5b-9 可导致足细胞骨架蛋白的结构改变,肌动蛋白的微丝断裂,使足细胞的足突融合。

C5b-9 对内皮细胞的损伤作用:内皮下沉积的免疫复合物活化补体后,可在内皮细胞表面形成 C5b-9 复合物。一方面可直接诱导内皮细胞凋亡;另一方面使内皮细胞表面 P 选择素(P-selectin)和 E 选择素(E-selectin)的表达明显增加,增强内皮细胞与循环中的中性粒细胞、血小板和单核细胞的黏附作用,导致内皮细胞的凋亡和脱落。因此,内皮下的免疫复合物在介导内皮细胞损伤和脱落的同时,可伴有凝血途径的激活、纤维蛋白的沉积和炎性渗出。

C5b-9 对系膜细胞的损伤作用:补体活化产生的 C5b-9 对系膜细胞可产生多种活化效应,方可激活系膜细胞、促进系膜细胞合成前列腺素、血栓素、血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor,PDGF)和 TGF- β 等炎性介质,促进系膜细胞内活性氧的代谢,使 O^- 及 H_2O_2 合成增加,导致系膜细胞的损伤。另一方面,C5b-9 复合物可刺激系膜细胞产生 IL-6、IL-8、TNF、IV 型胶原和纤维粘连蛋白(fibronectin)等,促进系膜细胞增生和系膜基质增加。

3. C5a-中性粒细胞,血小板 这种机制是抗体诱导肾损伤的首要因素,在抗-GBM 抗体诱导动物肾小球肾炎(肾毒性肾炎)模型中确定。在此模型中,肾损伤可由于清除中性粒细胞或补体而消除。虽无直接证据表明 C5a 使补体系统和中性粒细胞浸润有关,但其伴随的许多其他趋化因子非常重要。除了调节中性粒细胞与巨噬细胞在肾小球中定位的趋化因子与细胞因子外,与白细胞黏附因子的相互作用是这个过程中的关键。机体对细胞因子应答导致的肾小球内皮细胞上的白细胞黏附因子上调。

当沉积形成出现于接近毛细血管腔特别是内皮下区域时,因补体来源的趋化因子和白细胞黏附因子只能与循环中未接触抗原的炎性细胞相互作用。这种机制在抗 GBM 疾病和以内皮下免疫复合物沉积为特征性疾病,如感染后肾小球肾炎、过敏性紫癜、膜增生性肾小球肾炎、狼疮性肾炎的形成过程中作用非常显著。肾小球内中性粒细胞和血小板间的相互作用是一些系统中中性粒细胞介导损伤的必要条件。

二、肾损伤的细胞免疫机制

近年来细胞免疫机制在肾病中的作用得到了重视。一系列研究发现,抗原特异性细胞免疫机制在严重肾小球损伤中起作用,特别是在无抗体沉积情况下,新月体形成过程中发挥重要的作用。一方面,免疫复合物的形成离不开抗体的参与,而抗体的产生离不开 T 细胞的辅助作用;另一方面,许多肾小球疾病并没有明显的体液免疫反应的表现,如微小病变型肾病、局灶节段性肾小球硬化(FSGS),肾小球中浸润的细胞毒性 T 细胞可直接攻击肾小球固有细胞,CD4⁺ T 细胞可通过分泌大量的炎性因子,加重肾小球的组织损伤。在小管间隙中,细胞免疫的作用持续时间更长,并且细胞免疫机制在肾小球外占主导作用。

(一) TH1 和(或) TH2 细胞与肾小球肾炎

T 细胞根据表面标志分为两群细胞,即 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞。CD4⁺ T 细胞识别抗原递呈细胞表面的 MHC II 分子递呈的抗原。辅助 B 细胞产生抗体,参与抗体的亲和力成熟和同型转换,并直接参与抗原特异的、细胞介导的免疫应答。CD8⁺ T 细胞通常识别 MHC I 类分子递呈的抗原,参与细胞介导的细胞毒性作用。T 辅助细胞不同亚类的活化可造成不同类型的组织损伤。因此,细胞免疫中 TH1 和 TH2 亚类活化的不同比例可能与不同类型的肾小球肾炎相关。

CD4⁺ TH 细胞根据产生的细胞因子和效应机制可以分为 TH1、TH2 和 TH17 亚群。TH1 或 TH2 占主导作用的免疫应答与肾小球肾炎的不同病理类型密切相关。伴细胞增生和新月体形成的肾小球肾炎主要是由于 TH1 占主导的免疫反应。伴细胞增生性肾小球肾炎可见 IL-2 和 IFN- γ 的水平以及 IFN- γ 和(或)IL-10 的比例显著升高,而且 IFN- γ 和(或)IL-10 的比例与这些患者的肾功能显著相关。IgA 肾病中,主要以 TH1 细胞为主的效应机制介导肾小球的组织损伤,增高的 IFN- γ 和(或)IL-10 mRNA 比例与肾功能的损伤和肾小球的硬化程度相关。

TH1 或 TH2 细胞诱导的不同亚类抗体,也与肾小球肾炎的不同病理类型密切相关。在狼疮性肾炎中,TH2 细胞诱导的抗体亚类上要在以膜性病变为主的狼疮性肾炎中出现。在抗 GBM 肾炎和膜增生性肾小球肾炎中,主要是 TH1 细胞诱导的 IgG 亚类(IgG1 和 IgG3)导致的组织损伤。在抗中性粒细胞胞质抗体(antineutrophil cytoplasmic antibody, ANCA)相关的肾小球肾炎中,IgG3 抗体是疾病起始时的主要亚类,与肾小球肾炎的活动度和严重性密切相关。膜性肾病患者主要以 TH2 细胞诱导的抗体类型的沉积为主。

TH17 细胞是一类产生 IL-17 的 TH 细胞亚群。IL-17 属于促炎因子,与许多炎症反应和自身免疫性疾病的发生和发展有关。例如在类风湿关节炎、多发性硬化症、哮喘、SLE 以及在移植排斥反应中 IL-17 的表达均增加。因此,TH17 细胞很可能在自身免疫反应的发生和发展中起关键作用。

(二) 调节性 T 细胞与肾小球肾炎

正常情况下 TH1 和 TH2 细胞的功能及其分泌的细胞因子的水平处于平衡状态。机体的免疫调节主要依赖机制:① TH1 和 TH2 细胞之间的相互调节,TH1 细胞分泌的 IFN- γ 可抑制 TH2 细胞的功能,TH2 细胞分泌的 IL-4 和 IL-13 可抑制 TH1 细胞的功能。② 调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg)可参与调节机体的免疫平衡。

根据细胞来源、特性和作用机制可以将调节性 T 细胞大致分为两类:① 来源于胸腺的

CD4⁺CD25⁺Treg;②外周淋巴器官中诱导产生的具有抑制免疫应答作用的 CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞,包括 CD4⁺CD25⁺Treg,主要分泌 IL-10 的 I 型 Treg,主要分泌 TGF- β 的 TH3 细胞以及部分 CD8⁺抑制性 T 细胞(CD8⁺ suppressor T cells, Ts)等。

Treg 细胞能抑制树突细胞与初始 T 细胞的接触,抑制初始 T 细胞的活化和向 TH1、TH2 细胞转化。在免疫应答的早期,即可发挥重要的调节作用。CD4⁺CD25⁺Treg 可通过细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原-4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4,CTLA-4)以及糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体(tumor necrosing factor receptor,TNFR)等与 TH 细胞表面的相应受体或配体结合,抑制 TH 细胞的增生,抑制自身反应性 T 细胞的活化,阻止自身免疫应答的发生;也可通过分泌的 TGF- β 和 IL-10 与 TH 细胞表面的受体结合,抑制 TH 细胞的增生与活化。外周循环中,Treg 细胞的数量降低和功能减弱会导致机体的免疫调节功能减弱与一些自身免疫性疾病,如 SLE 的发生和疾病的活动度密切相关。

三、间质损伤的免疫机制

肾小管间质的典型定义为非肾小球区域,包括管状肾单位、管内空间、血管和引流性淋巴管等,在肾功能中发挥作用。这些区域构成了大部分肾实质性结构,并参与处理溶液、水、肽段介质、药物、氧化剂、激素等物质,转运来自循环系统的免疫细胞。肾小管间质是一大体积细胞团,可随年龄增长而纤维化,也可由于损伤或肾移植加速纤维化。肾衰竭经常伴随肾小管间质性肾炎,而肾小管间质损伤是终末性疾病的最后共同途径。那些引起肾小球损害的类似的发病机制,也能引起小管间质的炎性反应。由于肾小管细胞能够产生针对 T 细胞的自身抗原,故细胞免疫机制也起了主要的作用。

(一)间质性疾病的细胞介质

间质性肾炎的损伤,肾小管间质性疾病的特点,通常包括免疫性 T 细胞、树突状细胞和巨噬细胞。这些细胞与贴近肾小管上皮细胞的成胶原细胞共同聚集在肾小管间的间隙内。肾小管上皮细胞形成的功能单位易于被损坏,表现为坏死、凋亡或转化为成纤维细胞。各种损伤的生化基础还不清楚,但毫无疑问都包含有介质的信号传导。

原发间质性肾炎中的间质性浸润可能由局部抗原导致,起初并不累及肾小球。这些局部抗原或者是丧失了免疫屏障作用,失去了对肾实质的自身免疫耐受的自身抗原,或者是肾小管再生而得的新肽段,或肾小管表达来自病毒的潜伏抗原,如疱疹病毒或慢病毒的抗原。免疫系统早期活化产生趋化因子与细胞因子池并通过血管迁移吸引更多淋巴细胞和巨噬细胞进入局部微环境。在淋巴细胞识别抗原呈递细胞或靶上皮细胞过程中,辅助性 T 细胞或细胞毒性杀伤性 T 细胞的活化作用包括主要组织相容性复合体与协同作用分子的相互作用。这些相互作用是间质性损伤的标志。它们的存在与密度决定了肾小管间质性疾病的进程和可逆性。

值得关注的是,如果肾小球损伤呈进行性或持续性,常可继发间质性肾炎。虽然有文献描述肾小球内和间质区域存在共同肾小球抗原,但似乎事实并不是这样,在这些特定区域内的独特蛋白谱无疑是不相同的。最近提出另一假设,即在肾小管再生过程中,严重蛋白尿及其伴随的细胞因子、活化补体、趋化因子和形态因子标志着间质区域附近淋巴细胞的侵入与活化。一旦这些细胞存在并发挥作用,随之发生的炎症与原发性间质性疾病是无差别的。

(二)间质性疾病的体液介质

除被吸引到肾小管间质中的淋巴细胞有时可直接与树突状细胞和肾小管上皮细胞接触,

并产生更多的免疫反应,对潜伏蛋白的表达、肽段的呈递、受体活化和肾小管滤过中的细胞因子产生反应的间质区域内或附近的肾实质细胞是协调和促进继发性炎症反应的体液介质的重要来源。这些体细胞包括内皮细胞、树突状细胞和上皮细胞。它们合成新蛋白和分子的能力对炎症的进一步发展至关重要。体液介质,如内皮素、NO、前列腺素和白三烯、补体、蛋白水解酶和氧化剂和生长因子与细胞因子,都是使肾小管间质结构改变与重建的重要效应因子。这些因子的相对平衡和它们选择性的相互作用对损伤的持久性与广度产生巨大影响。介质的持续存在是导致永久丧失上皮单位与肾单位完整性的重要因素。由炎症向纤维化转变是介质持续存在的一个标志,并且可导致急性间质性肾炎在损伤 12 周后变为慢性间质性肾炎。

总之,肾病多有免疫因素参与,但其病因及发病机制多种多样。肾病的免疫发病机制往往存在多种机制,而且其间也相互关联。对免疫发病机制的理解越深入,才能更为有效地进行预防、干预和治疗。

参 考 文 献

[1] 何维.医学免疫学[M].4 版.北京:人民卫生出版社,2005.
[2] 黎磊石,刘志红.中国肾脏病学[M].北京:人民军医出版社,2008.
[3] 王海燕.肾脏病学[M].3 版.北京:人民卫生出版社,2008.
[4] IMMUNOLOGIC RENAL DISEASES, 2/E, Eric G. et al. AI Copyright 2001 by LIPPINCOTT WILKINS & WILKINS Couser WG[J]. Glomerulonephritis. Lancer, 1999, 353: 1509-1515.
[5] Neilson EG. Interstitial nephritis: another kissing disease? [J]. J Clin Invest, 1999, 104: 1671-1672.
[6] Couser WG. Pathogenesis of glomerular damage in glomerulonephritis[J]. Nephrol Dial Transplant, 1998, 13: 10-15.
[7] Okada H, Strutz F, Danoff TM, et al. Possible Pathogenesis of interstitial fibrosis[J]. Kidney Int, 1996, 54: 537-538.

第二节 肾病相关的免疫学检查

一、血清免疫球蛋白的测定

免疫球蛋白是一组由浆细胞合成和分泌的,主要存在于机体血液、组织液和外分泌液中,具有抗体活性的蛋白质。免疫球蛋白分子单体的基本结构由四条肽链组成,即两条相同的分子量较小的轻链和两条相同的分子量较大的重链,轻链与重链由二硫键连接。根据重链抗原性的差异可将其分为 5 类: μ 链、 γ 链、 α 链、 δ 链和 ϵ 链,不同的重链和轻链(κ 或 λ) 组成完整的 Ig 分子,分别成为 IgM、IgG、IgA、IgD 和 IgE; 其中,人 IgG 有 4 个亚类: IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4, IgA 有 IgA1 和 IgA2 两个亚类。

(一) IgG、IgA、IgM、IgD、IgE 的测定

目前对 IgG、IgA、IgM 的测定如下。

1. 琼脂单向扩散法 简单、不需要特殊的仪器,但耗时较长。其原理是在含有 Ig 血清的琼脂板小孔中加入样品,样品中的相应 Ig 向孔四周充分扩散,与琼脂板中的抗体形成肉眼可见的沉淀环。沉淀环的直径或面积与孔中相应的 Ig 含量呈正比。根据不同浓度 Ig 参考血清

用同法测定所得结果绘制的标准曲线,求出标本中 Ig 含量。

2. 火箭免疫电泳法 是通过电泳加速受检 Ig 在含 Ig 的琼脂板中扩散,当抗原抗体反应在合适比例时,就产生“火箭”峰形的沉淀区。在恒定的抗体浓度下,沉淀峰的高低与抗原浓度呈正比,测量峰顶到孔中的距离,查对标准曲线可推算标本中的 Ig 含量。

3. 其他 包括免疫透射浊度法、终点散射比浊法等。

IgD 和 IgE 在血清中含量很低,需要应用敏感性很高的方法来测定。

(1)放射免疫技术:在单向免疫扩散法的基础上,加入放射性核素标记的第二抗体,能使肉眼看不到的沉淀环借助放射自显影而呈现,继而按单向免疫扩散试验的要求量取沉淀环直径,做标准曲线,求出样品中 Ig 含量。

(2)酶联免疫吸附法(ELISA):其中 IgD 的测定常用间接混合夹心法,IgE 的测定用双抗体夹心 ELISA 法。如需检测免疫球蛋白的亚类,则需要用高特异性的单克隆抗体及敏感性高的方法,如 ELISA。

(二)M 蛋白的测定

M 蛋白是淋巴细胞或浆细胞单克隆增殖,产生大量在类别、亚类、型、亚型、基因型和独特型均相同的均一 Ig,这种蛋白由单克隆产生多见于多发性骨髓瘤等,故命名为 M 蛋白。

1. 醋酸纤维膜电泳 M 蛋白在 α_2 和 γ 区形成浓密区带,用吸光度计可画出基底较窄、高而尖的蛋白峰,其标准是蛋白峰的高与宽之比。在 γ 区应 $>2:1$,在 β 区和 α_2 区应 $>1:1$ 。

2. 免疫电泳 M 蛋白由单一种类(亚型)重链和单一型别轻链构成。当它与相应抗重链血清、抗轻链血清进行免疫电泳时,可形成迁移范围十分局限的浓密沉淀弧。

尿本周蛋白的测定可用 3 种方法。

(1)对苯磺酸沉淀法:取新鲜透明尿 2ml,加对苯磺酸试剂(冰醋酸 100ml 中含对苯磺 12g)1ml,轻摇试管,5min 内出现沉淀时为阳性。

(2)热沉淀再溶解法:取尿或浓缩尿(用 PEG 浓缩 10~20 倍)1ml,加 0.1mol/L 乙酸缓冲液 3ml(pH4.9),混匀后置 56℃ 水浴 15min。浑浊者煮沸 5min,转清者为阳性。

(3)免疫电泳法分型:将患者血清和尿用抗 κ 和抗 λ 轻链血清及各类抗 Ig 血清做免疫电泳,若受检样品与抗 κ 、抗 λ 血清之间在 β 、 γ 之间产生一条明显沉淀弧,根据出现轻链的型别报告单一型或兼有两型。

(三)检测意义

血清中免疫球蛋白异常,主要可分为 3 类。

1. Ig 水平普遍增加 主要见于感染、肿瘤、自身免疫性疾病、慢性活动性肝炎、肝硬化及淋巴瘤等。自身免疫性疾病中,如 SLE 以 IgG、IgA、IgM 升高多见,类风湿关节炎以 IgG、IgM 升高多见。

2. 单一成分 Ig 水平增加 主要见于多发性骨髓瘤和巨球蛋白血症。

(1)多发性骨髓瘤(multiple myeloma):表现为仅某一种 Ig 异常增高,而其他 Ig 明显降低或正常。其中以 IgG 型多发性骨髓瘤最为常见,血清中 IgG 含量可高达 70g/L, IgA 型次之, IgD 型较少见, IgE 型最为罕见。

(2)巨球蛋白血症:是产生 IgM 的浆细胞恶性增生所致,血清中 IgM 可高达 20g/L 以上。

3. Ig 水平降低 可分为原发性或继发性,原发性属于遗传性,如瑞士丙种球蛋白缺乏症、选择性 IgA、IgM 缺乏症等;继发性见于网状淋巴系统的恶性疾病、慢性淋巴细胞性白血病、肾