

· 论 著 ·

## 45 例肾病综合征患者肾组织 c-Jun 和 c-Fos 的表达及意义

乔 丽,余月明,曹礼应,蔡纯青,郭 虹,王柏青,吴永雪

(成都军区昆明总医院肾脏科 650032)

**摘要:**目的 探讨肾病综合征激素抵抗患者肾脏组织中 c-Jun 和 c-Fos 的表达及意义。方法 根据糖皮质激素治疗效果将 45 例原发性肾病综合征患者分为 3 个组:激素敏感组、激素抵抗组、复发后抵抗组,每组 15 例。用免疫组织化学方法检测 45 例原发性肾病综合征患者肾组织中 c-Jun 和 c-Fos 的表达,并用计算机图像分析系统对结果进行分析。结果 复发后抵抗组和激素抵抗组肾组织中 c-Jun 和 c-Fos 含量明显高于激素敏感组( $P < 0.05$ );复发后抵抗组肾组织中 c-Jun 和 c-Fos 与激素抵抗组之间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 肾组织中 c-Jun 和 c-Fos 的升高可能与原发性肾病综合征激素抵抗有关;检测肾组织中 c-Jun 和 c-Fos 表达变化有助于判断预后和调整治疗方案。

**关键词:**肾病综合征;c-Jun;c-Fos;激素抵抗

**中图分类号:**R692;R446.61

**文献标识码:**A

**文章编号:**1671-8348(2010)01-0016-03

### Expression and significance of c-Jun and c-Fos in 45 patients with nephrotic syndrome

QIAO Li, YU Yue-ming, CAO Li-ying, et al.

(Department of Nephology, Kunming General Hospital of Chengdu Military Region, Kunming 650032, China)

**Abstract: Objective** To investigate the role of c-Jun and c-Fos in the occurrence of steroid resistant nephrotic syndrome(NS). **Methods** The 45 patients were divided into 3 groups (steroid sensitive group, steroid resistant group and reoccurent steroid resistant group) according to the response to the treatment with corticosteroids. The expression of c-Jun and c-Fos in renal tissues were tested by immunohistochemistry technique in 45 NS patients before treatment with corticosteroids. **Results** The expression of c-Jun and c-Fos in renal tissues increased markedly in the patients with steroid resistant nephrotic syndrome and reoccurent steroid resistant nephrotic syndrome groups compared with the steroid sensitive group. There was no significant difference of expression of c-Jun and c-Fos in renal tissues between steroid resistant group and recurrent steroid resistant group. The level of c-Jun and c-Fos of recurrent group was significant higher than that of before the recurrent. **Conclusion** The increase of c-Jun and c-Fos level might relate with the steroid resistant in nephrotic syndrome patients, although it is uncertain that change is cause or the result. But the analysis of serum c-Jun and c-Fos might be beneficial to predict the occurrence of steroid resistance in NS patients.

**Key words:** nephrotic syndrome; c-Jun; c-Fos; glucocorticoid resistant

原发性肾病综合征(nephrotic syndrome, NS)是一种免疫炎症性疾病,临床上以糖皮质激素(glucocorticoid, GC)治疗为主,但患者对激素的反应不同。部分患者开始对 GC 敏感,在 GC 减量维持过程中因感染等原因,蛋白尿再次出现,并出现 GC 抵抗,其机制尚不清楚。GC 要与糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor, GR)结合后才能发挥作用。活化蛋白-1(activator protein-1, AP-1)是一类在细胞中发挥重要作用的核转录因子,介导许多与免疫反应有关的细胞因子基因的转录活化过程,促进炎症的发生。AP-1 的组成成员主要包括 c-Jun 和 c-Fos。近年来的研究证实,AP-1 和 GR 相互拮抗,AP-1 的变化影响 GR 的活性。因此 c-Jun 和 c-Fos 的含量可影响机体对 GC 的反应。为此,本研究选取 45 例原发性 NS 患者检测肾脏组织中 c-Jun 和 c-Fos 表达水平,探讨这两种转录因子在激素抵抗型 NS 患者中的作用及其临床意义。

#### 1 临床资料

**1.1 一般资料** 入选病例为 2006 年 1 月至 2006 年 5 月在第三军医大学附属新桥医院肾内科的原发性 NS 患者,肾活检为微小病变或轻度系膜增生性肾小球肾炎患者。均符合 1992 年中华肾脏病学会制定的原发性肾小球疾病分类标准。各种继发性肾小球肾炎患者、合并其他器官慢性炎症(如:肝硬化、支气管哮喘、动脉粥样硬化等)患者不进入本实验。

**1.2 实验分组** 根据 GC 效果将原发性 NS 患者分为 3 个组:激素抵抗组,指泼尼松足量( $1\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )治疗 12 周后,

尿蛋白仍无明显减少者,15 例,其中男 13 例,女 2 例,年龄 14~60 岁;激素敏感组,指泼尼松足量治疗 8 周内尿蛋白转阴的患者,减量后尿蛋白仍然阴性,15 例,其中男 9 例,女 6 例,年龄 18~59 岁;复发后抵抗组,指泼尼松足量治疗 8 周内尿蛋白转阴,在激素减量过程中于数周或数月后尿蛋白再次出现而再入院,增加激素用量仍不敏感的患者,15 例,其中男 13 例,女 2 例,年龄 14~60 岁。

#### 1.3 检测方法

**1.3.1 标本的收集** 45 例患者均于治疗前行肾活检术。其他指标按常规方法收集标本。

**1.3.2 c-Jun 和 c-Fos 免疫组织化学检测** 采用 SP 法进行(试剂盒购自深圳晶美生物工程有限公司,兔抗人 c-Jun 和 c-Fos 多克隆抗体分别购自 Santa Cruz 公司和福建迈新公司)。所用玻片经多聚赖氨酸预处理。将肾活检组织常规石蜡包埋、切片( $3\mu\text{m}$ )、脱蜡、脱水、微波修复、过氧化氢阻断、山羊血清封闭、加兔抗人 c-Jun (1:50)或 c-Fos 抗体(工作原液), $4^\circ\text{C}$  过夜、PBS 冲洗后,滴加生物素标记的羊抗兔二抗和辣根过氧化物酶标记的链霉卵白素,于  $37^\circ\text{C}$  分别孵育 20min, DAB 显色,苏木素复染,封片。阴性对照采用 PBS 代替一抗。

**1.3.3 图像分析** 对免疫组织化学检测结果进行显微数码摄影,注意摄影参数及输入图像背景灰度值一致。用 Qwin 图像分析软件(leica)分析照片中肾脏组织的染色情况,所测定的肾脏组织灰度值表示肾脏组织的免疫组织化学染色强度。

表 1 各组患者血液生化和血白细胞检测结果比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	肌酐( $\mu\text{mol/L}$ )	白蛋白(g/L)	24h 尿蛋白(g/d)	白细胞( $\times 10^9/\text{L}$ )
激素敏感组	15	71.27 $\pm$ 6.08	20.17 $\pm$ 3.57	3.83 $\pm$ 0.28	8.18 $\pm$ 1.74
激素抵抗组	15	82.50 $\pm$ 17.39	19.91 $\pm$ 3.95	3.86 $\pm$ 0.27	9.01 $\pm$ 1.33
复发后抵抗组	15	72.07 $\pm$ 24.23	20.28 $\pm$ 5.49	3.91 $\pm$ 0.29	9.84 $\pm$ 3.36

该软件平均灰值越高则切片上免疫组织化学阳性反应呈现的颜色越浅,平均灰度值越低表明切片上免疫组织化学阳性反应呈现的颜色越深。

1.4 统计学方法 所有数据均采用  $\bar{x} \pm s$  表示,用 SPSS 13.0 统计软件处理,采用单因素方差分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床指标 各组间年龄、性别差异无统计学意义( $P > 0.05$ );各组间肾功能、血浆白蛋白、血白细胞和 24h 尿蛋白定量差异亦无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。

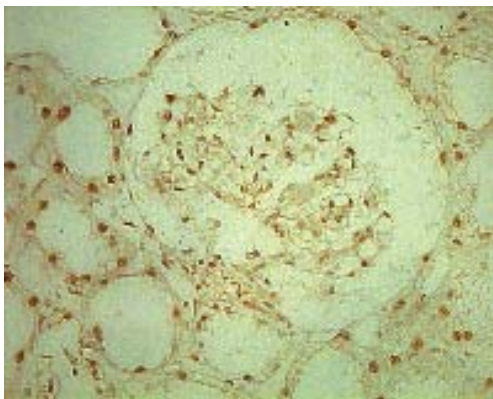


图 1 c-Jun 在激素敏感组中的表达( $\times 400$ )

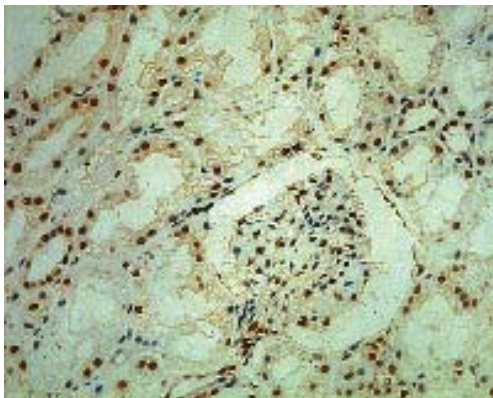


图 2 c-Jun 在激素抵抗组中的表达( $\times 400$ )

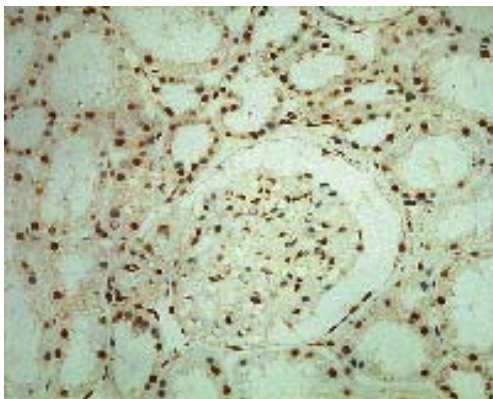


图 3 c-Jun 在复发抵抗组中的表达( $\times 400$ )

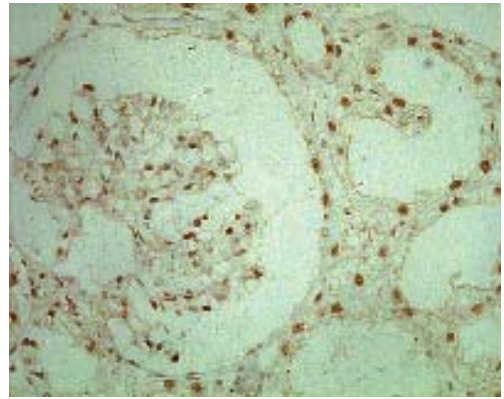


图 4 c-Fos 在激素敏感组中的表达( $\times 400$ )

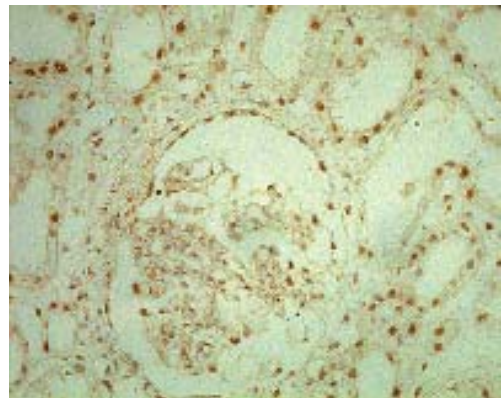


图 5 c-Fos 在激素抵抗组中的表达( $\times 400$ )

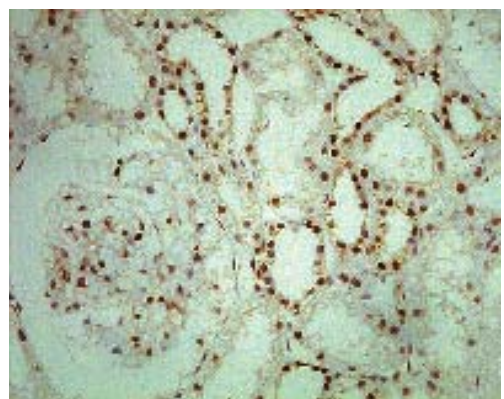


图 6 c-Fos 在复发抵抗组中的表达( $\times 400$ )

表 2 各组 C-jun 和 C-fos 表达强度(灰度值)的比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	c-Jun	c-Fos
激素敏感组	15	183.07 $\pm$ 4.28	180.13 $\pm$ 7.21
激素抵抗组	15	160.27 $\pm$ 6.62	162.24 $\pm$ 7.31
复发后抵抗组	15	158.90 $\pm$ 5.66	162.96 $\pm$ 8.97

2.2 c-Jun 和 c-Fos 的表达 c-Jun 和 c-Fos 在各组患者的肾

小球和肾小管的胞核内均有表达,呈强弱不等的棕黄色(图 1~6)。复发后抵抗组和激素抵抗组肾组织中 c-Jun 和 c-Fos 表达明显高于激素敏感组( $P < 0.05$ );复发后抵抗组与激素抵抗组之间 c-Jun 和 c-Fos 表达差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 2。

### 3 讨 论

GC 与 GR 结合是 GC 发挥抗炎和免疫抑制作用的前提条件,说明 GR 在调节 GC 疗效方面具有极其重要的功能。GR 作为一种转录因子,当与胞浆中的 GC 结合后,形成 GC-GR 复合物迅速转移进细胞核与糖皮质激素反应元件(glucocorticoid response element, GRE)结合调控靶基因转录,从而发挥 GC 的作用<sup>[1]</sup>。AP-1 是一类在细胞中发挥重要作用的核转录因子,其组成成员主要包括 c-Jun 和 c-Fos 家族。AP-1 能与 DNA 结合,并可与其他的转录因子家族以及细胞核激素受体结合。生理情况下,AP-1 分子的构成以 c-Jun 同源二聚体为主,具有微弱的 DNA 结合和基因转录活性。当细胞受到刺激(如生长因子、细胞因子、神经介质和细胞外应激等)时,AP-1 迅速转变为以 c-Jun 和 c-Fos 异源二聚体为主的形式,其与 DNA 结合位点的结合能力及促进基因转录的活性显著增强,从而促进炎症反应的发生<sup>[2]</sup>。AP-1 能干扰 GC-GR 复合体与 GRE 结合,降低 GC 生物学作用<sup>[3]</sup>。

本研究发现,各组原发性 NS 患者肾小球和肾小管的胞核内 c-Jun 与 c-Fos 均有表达,激素抵抗组和复发后抵抗组肾组织中 c-Jun 与 c-Fos 的表达均高于激素敏感组。提示激素抵抗型 NS 患者肾脏组织中过表达的 c-Jun 和 c-Fos 可能影响 GR 功能,影响 GC 效应的发挥,从而导致激素抵抗。同时也提示了 c-Jun 和 c-Fos 含量越高对激素的疗效越差,越低疗效越敏感。究竟是 c-Jun 还是 c-Fos 影响了 GR,目前说法并不一致。有许多实验证实了 c-Fos 的增加会影响 GR 的水平, Lane 等<sup>[4]</sup>检测了激素抵抗型哮喘患者外周血单核细胞 c-Fos 的 mRNA 水平及蛋白含量,发现激素抵抗组核酸及蛋白水平均高于正常对照组和激素敏感组,但在地塞米松孵育的外周血单核细胞中加入 c-Fos 的反义寡核苷酸后,GR 与 GRE 的结合明显增加。但是也有实验证实 c-Jun 也会影响 GR,程晓刚等<sup>[5]</sup>研究表明 c-Jun 蛋白表达水平对 GR 的表达和转录激活活性有影响,抑制 c-Jun 蛋白表达,一定程度上可促进 GR 表达并增强其转录激活功能。而本研究发现在激素抵抗时 c-Jun 与 c-Fos 都升高。

激素抵抗的机制现在仍不清楚,作者前期的实验研究发现激素抵抗组和复发后抵抗组患者血清中 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  明显高于激素敏感组<sup>[6]</sup>。已有的研究发现,IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  可使 AP-1 的活性升高,是否 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  通过影响 AP-1 活性继而影响糖皮质激素受体活性而发生激素抵抗,还有待进一步研究。但是本试验说明 AP-1 的高表达可能在激素抵抗的发生

机制中起重要作用,与文献报道相符<sup>[7-9]</sup>。但是 AP-1 的高表达是通过干扰 GC-GR 与 GRE 结合而导致激素抵抗,还是直接与 GR 结合使 GR 减少而导致激素抵抗,还需进一步研究。

总之,肾组织中 c-Jun 和 c-Fos 的表达变化与原发 NS 患者激素抵抗密切相关;检测肾组织中 c-Jun 和 c-Fos 的表达,有助于原发性 NS 患者预后判断和指导治疗方案的调整。

### 参考文献:

- [1] Horwitz KB, Jackson TA, Bain DL, et al. Nuclear receptor coactivator and corepressor [J]. *Mol Endocrinol*, 1996, 10(10):1167.
- [2] Jennifer R, Timoshanko A, Richard K, et al. Leukocyte-derived interleukin-1 $\beta$  interacts with renal interleukin-1 receptor I to promote renal tumor necrosis factor and glomerular injury in murine crescentic glomerulonephritis [J]. *AM J Pathol*, 2004, 164(6):1967.
- [3] Martens C, Bilodeu S, Maira M, et al. Protein-protein interactions and transcriptional antagonism between the subfamily of NGFI-B/Nur77 orphan nuclear receptors and glucocorticoid receptor [J]. *Mol Endocrinol*, 2005, 19(4):885.
- [4] Lane SJ, Adcock IM, Richards D, et al. Corticosteroid-resistant bronchial asthma is associated with increased c-fos expression in monocytes and T lymphocytes [J]. *J Clin Invest*, 1998, 102(12):2156.
- [5] 程晓刚, 粟永萍, 罗成基, 等. C-Jun 蛋白对糖皮质激素受体表达及转录激活能力的影响 [J]. *免疫学杂志*, 2005, 21(3):107.
- [6] 乔丽, 张耀全, 袁发焕, 等. 激素抵抗肾病综合征患者血清 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  的变化及意义 [J]. *重庆医学*, 2006, 35(23):2148.
- [7] Bladh LG, Lidén J, Dahlman-Wright K, et al. Identification of endogenous glucocorticoid repressed genes differentially regulated by a glucocorticoid receptor mutant able to separate between nuclear factor-kappaB and activator protein-1 repression [J]. *Mol Pharmacol*, 2005, 67(3):815.
- [8] Adeok IM, Lane SJ, Brown CR, et al. glucocorticoid receptor-activator protein 1 interaction in steroid-resistant asthma [J]. *Exp Med*, 1995, 182(6):1951.
- [9] Cabral AL, Hays AN, Housley PR, et al. Repression of glucocorticoid receptor gene transcription by c-Jun [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2001, 175(122):67279.

(收稿日期:2009-07-28 修回日期:2009-07-30)

## 启 事

《重庆医学》拟开设博士生专栏,此专栏专为各院(校)博士生服务,本刊将开设绿色通道。欢迎全国医学院校博士生投稿。本刊收稿网址: <http://cqyx.journalserv.com>, 投稿后注明:博士生专栏文章。

《重庆医学》编辑部