

## 2 型糖尿病患者 CD11b/CD18 的表达及 活血化瘀药对其的影响<sup>\*</sup>

黄 琦<sup>1</sup> 倪海祥<sup>1</sup> 邵国民<sup>1</sup> 夏大静<sup>2</sup>

**摘要** 目的 探讨在 2 型糖尿病(DM)患者中多形核白细胞粘附分子 CD11b/CD18 的表达及活血化瘀药预防血管病变的可能机制。方法 49 例无高血压、无临床肾病的 2 型 DM 患者随机分成中药治疗组(26 例)和常规治疗组(23 例),治疗 3 个月。治疗前后观察尿白蛋白排泄率、CD11b/CD18 的表达及肿瘤坏死因子- $\alpha$  浓度等指标。结果 与健康对照组比较 2 型 DM 患者的 CD11b/CD18 表达增高,肿瘤坏死因子- $\alpha$  浓度也明显增高( $P < 0.01$ )。与常规治疗组比较,活血化瘀中药治疗 3 个月后 2 型 DM 患者的 CD11b/CD18 表达,尿白蛋白排泄率和肿瘤坏死因子- $\alpha$  明显降低( $P < 0.01$ ),而常规治疗组无类似的变化。相关性分析提示,尿白蛋白排泄率下降与肿瘤坏死因子- $\alpha$  浓度降低和多形核白细胞粘附分子 CD11b/CD18 表达的下降呈正相关( $r = 0.56, P < 0.01, r = 0.64, P < 0.01$ )。结论 2 型 DM 患者的多形核白细胞粘附分子 CD11b/CD18 表达增高,活血化瘀法预防血管病变的机制可能与其抑制 CD11b/CD18 表达有关。

**关键词** 2 型糖尿病 CD11b/CD18 活血化瘀药

**Effect of Chinese Herbal Medicine for Activating Blood Circulation to Remove Stasis on CD11b/CD18 Expression in Patients with Diabetes Mellitus Type 2** HUANG Qi, NI Hai-xiang, SHAO Guo-min, et al *Zhejiang Provincial TCM Hospital, Hangzhou (310006)*

**Objective:** To explore the expression of polymorphonuclear leucocyte adhesive molecules CD11b/CD18 and to study the possible mechanism of Chinese herbal medicine (TCM) for activating blood circulation to remove stasis in preventing vascular diseases. **Methods:** Forty-nine patients with diabetes mellitus (DM) but with no complications of hypertension and nephropathy were randomly divided into the treated group (26 patients treated by TCM) and the control group (23 patients treated by conventional treatment). They were treated for 3 months. The changes of urinary albumin excretion rate (UAER), CD11b/CD18 expression and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) concentration before and after treatment were observed. **Results:** The CD11b/CD18 expression and TNF- $\alpha$  concentration in DM patients were higher than those of normal range ( $P < 0.01$ ). After treatment, the UAER, CD11b/CD18 expression and TNF- $\alpha$  concentration lowered significantly in the treated group ( $P < 0.01$ ), but unchanged in the control group. Correlation analysis showed that the lowering of UAER was positively correlated with decreasing of CD11b/CD18 ( $r = 0.64, P < 0.01$ ) and TNF- $\alpha$  ( $r = 0.56, P < 0.01$ ). **Conclusion:** Expression of CD11b/CD18 increases in patients with DM type 2. The mechanism of Chinese herbal medicine for activating blood circulation to remove stasis in preventing vascular disease is possibly related with its effect in inhibiting CD11b/CD18 expression.

**Key words** diabetes mellitus type 2, CD11b/CD18 expression, Chinese herbal medicine for activating blood circulation to remove stasis

<sup>\*</sup> 浙江省教育厅科研基金资助 (No. 2000031)

1. 浙江省中医院(杭州 310006) 2. 浙江大学医学院免疫研究所

通讯作者:黄 琦, Tel: 0571-87068001 转 3072, E-mail: hq3072@

hotmail.com

万方数据

已有研究表明,炎症反应在 2 型糖尿病(DM)血管病变中起重要的作用<sup>[1]</sup>。炎症反应是多种炎性细胞、递质、细胞因子共同作用的结果。白细胞在主导炎症反应的同时,作为组织损伤的介导者,参与动脉粥样硬化的发病过程也日益引起人们的关注。白细胞跨内皮迁移至血管壁间隙是组织损伤和炎症反应的必要步

步骤,白细胞与血管内皮的粘附是此过程中早期重要的一步。多形核白细胞〔Polymorphonuclear (PMN) leukocytes〕的粘附分子 CD11b/CD18 介导此全过程<sup>[2]</sup>。近年来,国内已有较多的研究证实,传统中医疗法——活血化瘀法对血管病变的防治作用,但其分子机制仍不明<sup>[3]</sup>。为此,我们通过对 2 型 DM 患者 PMN 粘附分子 CD11b/CD18 的表达及活血化瘀法对其影响的观察,旨在探讨活血化瘀法对血管病变防治作用的可能机制。

## 资料和方法

1 临床资料 按 1997 年美国糖尿病协会 (ADA) 的 2 型 DM 诊断标准<sup>[4]</sup>, 2 型 DM 患者 49 例,无肾病及高血压病史。采用抽签法随机分为两组:常规治疗组 23 例,其中男 10 例,女 13 例,年龄 50~69 岁,平均  $(52.8 \pm 9.8)$  岁,病程 1~18 年,平均  $(9.7 \pm 3.1)$  年。中药治疗组 26 例,其中男 12 例,女 14 例,年龄 49~67 岁,平均  $(53.4 \pm 10.2)$  岁,病程 2~18 年,平均  $(9.7 \pm 3.1)$  年。另设健康对照组 18 例,男 7 例,女 11 例,为本院健康体检者。空腹血糖正常,无心、肝、肾及高血压病史。经统计学处理,各组资料的性别、年龄、病程等差异无显著性 ( $P > 0.05$ ),具有可比性。

2 治疗方法 入选的 2 型 DM 患者进行糖尿病知识教育和饮食治疗后,根据病情予以口服降糖药物(磺脲类、双胍类及  $\alpha$ -糖苷酶抑制剂)和皮下注射胰岛素治疗,代谢控制稳定后,中药治疗组用活血化瘀药辅助治疗,基本方药为:大生地 18g 赤芍 12g 川芎 12g 当归 12g 丹参 30g 红花 15g 山萸肉 9g 山药 30g 山楂 15g 桑椹子 15g 黄芪 13g 太子参 15g 葛根 15g。根据病情酌情加减。如瘀血甚者,加益母草 15g,莪术 15g;口干明显、舌红脉细弦之肺胃燥热者,去黄芪、川芎,加黄连 3g、石膏 15g;口干不多饮、夜尿多、腰酸乏力、舌淡脉沉细者,加用菟丝子 12g、仙灵脾 12g、锁阳 12g。在试验期间原降糖药物用法和剂量不变,不用其他降糖、降脂及改善微循环、抗氧化、ACEI 制剂。治疗 3 个月。治疗前后观察空腹血糖、餐后 2h 血糖,糖化血红蛋白 (HbA1c),尿白蛋白排泄率、CD11b/CD18 的表达及肿瘤坏死因子- $\alpha$  浓度等指标。

健康对照组不予药物,仅做正常值测定。

## 3 检测方法

3.1 临床及生化指标 用葡萄糖氧化酶法检测空腹血糖 (FBS) 和餐后 2h 血糖 (PBS),血胆固醇 (CH)

和甘油三酯 (TG) 采用酶法,由 Backman 全自动生化仪完成,试剂配套提供。HbA1c 用亲和层析微柱法测定,试剂由 Bio-Rad 公司提供。

3.2 尿白蛋白排泄率 (UAER) 测定 收集 24h 尿,用放射免疫法测定 (药盒由中国原子能研究所提供)。

3.3 肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 的测定 采用 SN-682 型放射免疫仪按肿瘤坏死因子试剂盒 (解放军总医院东亚免疫技术所) 提供的说明书进行放免法直接测定。

3.4 多形核白细胞粘附分子 CD11b/CD18 的表达 采用流式细胞仪直接免疫荧光法测定。肘静脉采血 2ml,肝素抗凝,加入 2ml 冰冷的红细胞破碎液破除红细胞,然后用 4℃ 的 PBS 缓冲液洗 2 次,调节细胞数至  $1 \times 10^8/\text{ml}$ ,将终浓度的抗 CD11b/FITC 的单抗 (Immunocch 公司)  $10\mu\text{l}$  加入  $100\mu\text{l}$  标准液中,冰浴孵育 30min 进行荧光抗体标记,再加 1g/L 多聚甲醛固定,待流式细胞仪 (EPICS, Coulter 公司产品) 分析,每个细胞 CD11b/CD18 的表达以结合抗 CD11b/FTTC 单抗的平均荧光密度表示。

4 统计学处理 采用 SSPS 6.0 软件作统计学处理。组间、组内资料比较用  $t$  检验和方差分析。相关性用直线相关分析进行统计分析。

## 结 果

1 两组治疗前后 UAER、TNF- $\alpha$  浓度、CD11b/CD18 的表达比较 见表 1。治疗 3 个月后,与治疗前比较,中药治疗组 UAER、TNF- $\alpha$  浓度、CD11b/CD18 的表达均有明显降低 ( $P < 0.01$ ),而常规治疗组无类似的变化。

2 相关性分析 通过直线相关分析表明,26 例 DM 患者经活血化瘀中药治疗后尿白蛋白排泄率降低和血清 TNF- $\alpha$  浓度降低及多形核白细胞粘附分子 CD11b/CD18 的表达减少呈显著的正相关 ( $r = 0.56$ ,  $P < 0.01$  和  $r = 0.64$ ,  $P < 0.01$ )。

3 两组治疗前后血糖、血脂等代谢的影响 见表 1。与治疗前比较,中药组治疗后,DM 患者 FBS、PBS、HbA1c 均无显著变化,但 TG、CH 有改善 ( $P < 0.05$ )。

## 讨 论

CD11b/CD18 也称为 CR3 或 Mac-1,属于白细胞粘附分子整合素  $\beta_2$  亚家族成员,为  $\alpha\beta$  异二聚体结构。是巨噬细胞表面含量最多的  $\beta_2$  整合素。CD11b/CD18

表 1 两组治疗前后 FBS、PBS、HbA1c、TG、CH、UAER、TNF-α 及 CD11b/CD18 比较 (  $\bar{x} \pm s$  )

| 组别   | 例数 |    | FBS       | PBS      | HbA1c   | TG         | CH         | UAER        | TNF-α        | CD11b/CD18  |
|------|----|----|-----------|----------|---------|------------|------------|-------------|--------------|-------------|
|      |    |    | (mmol/L)  | (mmol/L) | (%)     | (mmol/L)   | (mmol/L)   | (μg/min)    | (μg/L)       |             |
| 中药治疗 | 26 | 治前 | 7.6±1.4 * | 10.5±1.6 | 6.7±0.3 | 2.41±0.24  | 5.23±0.29  | 16.2±1.6    | 1.79±0.43 *  | 61.2±6.9 *  |
|      |    | 治后 | 7.8±1.6   | 10.9±2.0 | 6.8±0.7 | 1.34±0.26△ | 4.07±0.37△ | 15.1±1.8△△▲ | 1.52±0.37△△▲ | 55.6±5.8△△▲ |
| 常规治疗 | 23 | 治前 | 7.7±1.3 * | 10.7±1.5 | 6.9±0.6 | 2.24±0.25  | 5.30±0.68  | 16.7±1.9    | 1.78±0.38 *  | 62.8±7.2 *  |
|      |    | 治后 | 7.9±1.5   | 10.8±2.1 | 7.0±1.1 | 2.39±0.31  | 5.27±0.82  | 16.9±1.7    | 1.82±0.41    | 63.5±6.8    |
| 健康对照 | 18 |    | 4.6±0.7   | —        | —       | —          | —          | —           | 1.32±0.41    | 50.9±6.7    |

注 :与健康对照组比较 ,\*  $P<0.01$  ;与本组治疗前比较 ,<sup>△</sup>  $P<0.05$  ,<sup>△△</sup>  $P<0.01$  ;与常规治疗组治疗后比较 ,<sup>▲</sup>  $P<0.01$

的表达和活性受多种趋化因子调节 ,可与多种配体相互作用 ,在细胞间粘附和炎症反应中发挥生物学作用。正常情况下 ,CD11b/CD18 仅在单核细胞和中性粒细胞膜上呈低水平表达。当病理情况下 ,其表达增加 ,通过与其配体——内皮细胞表达的细胞间粘附分子 1( ICAM-1 ,CD54 )相互作用而介导白细胞与内皮细胞粘附 ,此为炎症的早期反应 ,是血管损伤的关键步骤。另外 ,有研究发现 ,动脉粥样硬化斑块局部的巨噬细胞、血液中的单核细胞、中性粒细胞都能合成细胞因子类炎症介质 TNF-α ,它又可以迅速上调 ICAM-1、CD11b/CD18 ,使内皮细胞、白细胞进入活性状态。已有研究发现糖尿病时 CD11b/CD18( Mac-1 )过度表达 ,而且证实这种过度表达不仅与血糖水平 ,而且与高糖引起的细胞内反应性氧化物( ROS )增加和氧化还原电子改变 ,对脂蛋白进行化学修饰而形成的氧化低密度脂蛋白高度相关<sup>[5,6]</sup>。我们的研究也证实 2 型 DM 患者细胞因子类炎症介质 TNF-α 浓度升高 ,而且 CD11b/CD18( Mac-1 )过度表达。

心血管病变仍是 DM 最主要的致死和致残的原因。然而 ,迄今为止 ,对其发生、发展的原因及其可能机制尚未完全阐明。中医学认为 ,糖尿病系由肾阴耗损 ,肺胃津亏 ,燥热内生所致。阴虚燥热日久 ,灼伤脉络 ,血溢脉外 ,使循环发生障碍 ,白细胞、内皮细胞过度粘附 ,从而产生瘀血症 ,采用活血化瘀药进行辅助治疗 ,瘀血得祛、邪浊得消、血行通畅。对于血瘀证 ,以往常常从血液流变学的角度进行研究<sup>[7]</sup>。近年来 ,众多的研究证实 ,动脉硬化过程是炎症反应参与的结果 ,抑制慢性炎症 ,可以预防血管病变<sup>[1]</sup>。我们的研究结果显示 ,对 2 型 DM 患者运用中药活血化瘀药治疗后 ,降低了炎症反应的细胞因子 TNF-α ,抑制了多形核白细胞粘附分子 CD11b/CD18 的表达 ,并且 UAER 的减少

与 TNF-α 降低及粘附分子 CD11b/CD18 的表达下降呈正相关(二者相关性比较均  $P<0.01$  )。因而 ,活血化瘀药作用可能是通过抑制患者的炎症反应 ,抑制白细胞的粘附而发挥预防血管病变作用。同时 ,我们的研究还提示该方法对糖尿病患者脂质代谢有部分影响 ,但对糖代谢无明显影响。

由于各方面条件的限制 ,本研究病例数尚少 ,时间较短 ,因此 ,要肯定中医活血化瘀法保护血管并发症的作用是通过抑制多形核白细胞粘附分子 CD11b/CD18 表达还需要随访期更长 ,病例数更多的研究。

参 考 文 献

1 Ross R. Atherosclerosis——an inflammatory disease. New Eng J Med 1998 ;82:1746—1756.

2 Deservi S, Mazzone A, Ricevuti G, et al. Clinical and angiographic correlates of leukocyte activation in unstable angina. Am Coll Cardiol 1995 ;26:1146—1150.

3 李 晓,姜 萍. 血管内皮细胞损伤与血瘀证. 中国中西医结合杂志 2000 ;20(2):154—156.

4 American Diabetes Association, Committee Report. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 1997 ;20(7):1183—1197.

5 Kunt T, Forst T, Fruh B, et al. Binding of monocytes from normolipidemic patients with type 1 diabetes to endothelial cells is increased in vivo. Exp Clin Endocrinol Diabetes 1999 ;107:252—256.

6 Desfaits AC, Serrio O, Renier G. Normalization of plasma lipid peroxides, monocyte adhesion, and tumor necrosis factor-alpha production in NIDDM patients after gliclazide treatment. Diabetes Care 1998 ;21(4):487—493.

7 陈可冀,马晓昌. 关于传统血瘀证的现代分类. 中国中西医结合杂志 2000 ;20(7):487.

( 收稿 2002-12-30 修回 2003-03-10 )