

雷公藤多甙对糖尿病肾病患者尿单核细胞趋化蛋白-1 的影响

宋海翔¹ 龚 静[△] 陈 雯² 王子芬³ 李延国² 左振素¹

摘要 目的 观察糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)患者尿中单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)的变化及雷公藤多甙(triptolide, TL)对其影响,探讨 TL 对 DN 的治疗作用。方法 67 例患者分为两组,治疗组(35 例)采用 TL 和苯那普利联合治疗,对照组(32 例)单用苯那普利治疗,疗程 6 个月,观察治疗前后尿 MCP-1 等指标的变化。结果 DN 患者尿 MCP-1 水平显著高于健康人($P < 0.01$),治疗组治疗后尿 MCP-1 显著下降($P < 0.05$),与对照组比较差异有显著性($P < 0.05$)。结论 TL 使尿中 MCP-1 的排出减少,抑制炎症反应改善肾功能。

关键词 雷公藤多甙;糖尿病肾病;单核细胞趋化蛋白-1

Effect of Triptolide on Urinary Monocyte Chemottractant Protein-1 in Patients with Diabetic Nephropathy
SONG Hai-xiang, GONG Jing, CHEN Wen, et al *Linyi Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Shandong (276002)*

Abstract Objective To observe the change of urinary monocyte chemottractant protein-1(MCP-1) in patients with diabetic nephropathy(DN), and to explore the therapeutic effect and mechanism of triptolide(TL) in treating DN. **Methods** Thirty-five patients in the treated group were treated with TL plus benazepril and thirty two patients in the control group were treated with benazepril alone for six months. The change of urinary MCP-1 was measured before and after treatment. **Results** Level of urinary MCP-1 in DN patients was significantly higher than that in healthy subjects($P < 0.01$), but it could be significantly decreased after TL treatment, showing significant difference as compared with that in the control group($P < 0.05$). **Conclusion** Determination of urinary MCP-1 level is beneficial to know the degree of kidney inflammation in DN patients. TL can inhibit inflammatory reaction to decrease the level of urinary MCP-1, and thus improve the renal function.

Key words triptolide; diabetic nephropathy; monocyte chemottractant protein-1

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病的慢性并发症,也是糖尿病患者死亡的主要原因之一。长期的高血糖引起的代谢紊乱是 DN 发病的根本原因,但其详细的发病机理仍未完全阐明,治疗上尚存在着一些问题和难点。近期的研究结果证实 DN 存在着炎细胞浸润和细胞因子、炎症介质水平升高,炎症可能单独或作为某一环节在 DN 的发病机理中起关键作用,抗炎治疗可能有一定的作用^[1,2]。中药雷公藤多甙(triptolide, TL)是一种新型的免疫抑制剂,有独特的抗炎及免疫抑制作用,在多种自身免疫性疾病及肾移

植排斥反应的治疗中发挥重要作用^[3-6]。结合炎症反应参与 DN 的发生、发展和 TL 抗炎及免疫抑制作用的特点,本研究前瞻性地观察了 TL 对 DN 患者尿单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1 MCP-1)的影响,旨在探讨 TL 对 DN 的治疗作用。

资料与方法

1 临床资料 本研究的对象为作者单位的住院及门诊治疗的 2 型糖尿病肾病临床期患者 67 例,糖尿病的诊断全部符合 1999 年 WHO 关于糖尿病的诊断标准^[1]。选择的临床期肾病患者尿蛋白定量 $\geq 1.0\text{g}/24\text{h}$,血肌酐水平均在正常范围内,排除了尿蛋白增加的其他因素,如急慢性肾小球肾炎、尿路感染等。首先对患者进行糖尿病教育,严格的饮食控制,强化胰岛素治疗,口服苯那普利(5~20 mg,平均 8.5 ± 5.7 mg/d)等

作者单位:1. 山东中医药大学附属临沂市中医医院(山东临沂 276002) 2. 山东省临沂市人民医院 3. 山东省临沂市凯旋医院
通讯作者 宋海翔, Tel 0539-8215221, 6663272
[△]进修医师,临沂市河东区芝麻墩医院

综合治疗 2 个月,此后采用抽签法随机分成两组,治疗组 35 例,男 21 例,女 14 例,年龄 38~67 岁,平均(50.1±10.5)岁,糖尿病病程 6.5~20.0 年,平均(8.9±5.3)年,合并高血压 12 例,冠心病 6 例,视网膜病变 35 例,脑中风 3 例,周围神经病变 5 例。对照组 32 例,男 22 例,女 10 例,年龄 36~76 岁,平均(53.1±11.3)岁,糖尿病病程 6.0~18.5 年,平均(10.6±5.8)年,合并高血压 13 例,冠心病 4 例,视网膜病变 32 例,脑中风 2 例,周围神经病变 5 例。两组临床资料经统计学处理,差异无显著性($P>0.05$),有可比性。同时选择年龄、性别相匹配的 40 名健康者作健康人组,男 26 名,女 14 名,年龄 35~65 岁,平均(52.7±13.5)岁。

2 治疗方法 治疗组在原治疗的基础上口服 TL(10mg/片,上海复旦复华药业有限公司生产),1~2mg/(kg·d) 4 周后采用停 2 周服 2 周的顿挫方法,疗程为 6 个月,对照组维持原治疗方法不变,疗程相同。治疗初每周复诊 1 次,1 个月后每 0.5 个月复诊 1 次,指导药物治疗及可能出现的不良反应,复查项目包括血糖、血、尿常规,肝肾功能等。

3 观察指标及检测方法

3.1 尿 MCP-1 的检测 DN 患者于确诊时、TL 治疗前后,采用双抗体夹心 ELISA 法检测,试剂盒由美国 Santa Cruz 公司提供,为了消除尿量及尿液浓缩、稀释对检测结果的影响,用尿肌酐浓度对结果进行校正。

3.2 其他观察指标及检测 血清白蛋白(ALB)、血肌酐(SCr)、空腹血糖(FBS)、胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)均采用全自动生化分析仪;尿蛋白定量采用双缩脲法;糖化血红蛋白(HBA_{1c})采用亲和层析微柱法;尿 β₂-微球蛋白(β₂-MG)采用放射免疫法;尿 N-乙酰-β-D 葡萄糖苷酶(NAG)采用对硝基酚比色法。内生肌酐清除率(CCr)计算公式:CCr=[(140-年龄×体重(kg))/72×肌酐(mg/dl)],如为女性则再乘以 0.85。

4 统计学处理 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验。

结 果

1 各组治疗前后尿 MCP-1 的变化

表 2 两组治疗前后其他指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别例数	时间	尿蛋白 (g/24h)	血清 ALB (g/L)	尿 NAG (μg·Cr)	尿 β ₂ -MG (ng/24h)	CCr (ml/min)	SCr (μmol/L)	FBS (mmol/L)	HBA _{1c} (%)	TC	TG	LDL-C	HDL-C
治疗 35	治前	1.63±0.51	33.21±5.17	38.75±15.83	2.63±0.89	86.12±21.57	83.15±20.55	7.93±2.37	7.40±1.37	7.02±3.15	2.11±0.41	3.80±1.23	1.30±0.32
	治后	0.88±0.31 ^{*△}	37.91±6.03 ^{*△}	26.93±12.11 ^{**△}	1.71±0.53 ^{**△}	103.56±24.61 ^{*△}	70.56±17.31	7.71±2.66	7.22±1.34	6.64±2.93	2.30±0.33	3.56±1.01	1.41±0.30
对照 32	治前	1.65±0.62	33.55±5.93	39.11±14.93	2.60±0.85	82.58±23.11	85.77±19.99	8.02±2.51	7.50±1.33	6.81±3.02	2.22±0.61	3.64±1.41	1.43±0.45
	治后	1.23±0.53	34.98±6.01	35.65±14.24	2.07±0.81	87.15±22.98	88.15±17.12	8.17±2.80	7.34±1.52	6.93±2.81	2.11±0.34	3.80±1.22	1.38±0.36

注:与本组治疗前比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与对照组治疗前比较,[△] $P<0.05$

诊时尿 MCP-1 的含量为(198.4±73.6)pg/μmol·Cr,显著高于健康人组[(44.3±23.9)pg/μmol·Cr, $P<0.01$],经综合治疗 2 个月后尿 MCP-1 显著下降[(150.9±53.8)pg/μmol·Cr, $P<0.05$],但仍显著高于健康人组($P<0.01$)。治疗组加用 TL 治疗后 6 个月尿 MCP-1 含量进一步下降($P<0.05$),而对照组变化不显著($P>0.05$),治疗后两组间比较差异有显著性($P<0.05$),见表 1。

表 1 两组治疗前后尿 MCP-1 的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	MCP-1(pg/μmol·Cr)	
		治疗前	治疗后
治疗	35	148.5±53.1	83.5±33.4 ^{*△}
对照	32	154.9±49.7	139.7±40.6

注:与本组治疗前比较,* $P<0.05$;与对照组治疗前比较,[△] $P<0.05$

2 两组治疗前后其他治疗指标的变化 见表 2。治疗后,治疗组尿蛋白定量、NAG、β₂-MG 显著下降,血清 ALB、CCr 显著升高($P<0.05$, $P<0.01$);而对照组无明显变化。

讨 论

MCP-1 是趋化性因子 C-C 亚家族的成员之一,其主要功能是趋化和激活单核/巨噬细胞。细胞表达 MCP-1 依赖核因子-κB(NF-κB)与转录活化蛋白-1(AP-1)的协调作用。正常肾组织中多种细胞如系膜细胞、肾小管上皮细胞、肾小球内皮细胞等均可分泌微量的 MCP-1,炎症状态时上述细胞表达 MCP-1 明显增加。研究发现炎细胞如单核/巨噬细胞在肾脏的广泛浸润是 DN 发生、发展的重要因素之一,DN 患者及糖尿病鼠的肾组织中 MCP-1 基因及蛋白的表达明显增高^[8,9],其机理可能是(1)高血糖有直接刺激 MCP-1 mRNA 表达及蛋白含量增高的作用,可能由蛋白激酶 C(PKC)介导。(2)DN 患者 IL-6、TNF-α、血小板衍生生长因子(PDGF)等细胞因子增高,刺激肾脏内皮细胞、系膜细胞 MCP-1 的高表达。(3)DN 患者升高的 LDL-C 及其氧化产物 OX-LDL 均可刺激系膜细胞 MCP-1 mRNA 表达增强。(4)局部的血管紧张素 II(Ang II)通过 NF-κB 影响 MCP-1 的合成。由于尿中 MCP-1 是肾脏局部产生,尿中 MCP-1 的含量反映肾脏中 MCP-1 的表达,尿中 MCP-1 水平升高与尿蛋

白及肾脏病变的严重程度呈正相关^[10,11] ,因此 ,检测尿中 MCP-1 含量的变化也能反映药物治疗的效果。本研究结果表明 临床期 DN 患者尿中 MCP-1 的含量显著高于健康人 ,且经综合治疗 2 个月后仍显著高于健康人。

TL 对细胞及体液免疫均有抑制作用 ,对细胞周期多个阶段可抑制 T 细胞增生 ,抑制肾小球系膜细胞增生 ,并改善肾小球基底膜的电荷状态而阻止蛋白的滤出 ,抑制脂多糖诱导 IL-6、IL-8 的产生 ,使趋化粒细胞、单核/巨噬细胞受影响而发挥抗炎作用 ,抑制 IL-2 的产生及其受体效应 ,抑制 NF-κB 的活性 ,抑制肾小管上皮细胞的 MCP-1 合成^[12,13]。正因为 TL 有多方面免疫抑制效应 ,因此 ,在肾脏病治疗中广泛应用。

本研究结果表明治疗组患者服用 TL 后尿 MCP-1 显著下降 ,同时尿蛋白定量、NAG、β₂-MG 均显著下降 ,血清 ALB、CCr 显著升高 ,而对照组改变不明显 ,且治疗后组间比较差异也有显著性 ,说明 TL 能减轻肾组织炎症反应 ,改善肾功能 ,减少尿蛋白的排出 ,提高血清 ALB 的水平。TL 减少 DN 患者尿 MCP-1 排出的机理可能是 (1) TL 通过抑制 IL-6、IL-1、IL-2、TNF-α、PDGF、血管内皮生长因子(VEGF)等细胞因子活性 ,降低肾小球内皮细胞、系膜细胞、肾小管上皮细胞 MCP-1 的表达。(2) 抑制 NF-κB 的活性 ,使高糖刺激多种细胞合成和分泌 MCP-1 减少。

本研究还观察到 DN 患者在服用苯那普利等综合治疗 2 个月后尿 MCP-1 含量显著下降 ,与血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)抑制 Ang II ,下调 DN 肾组织内 MCP-1 的表达使尿中 MCP-1 含量下降相符合。从苯那普利和 TL 作用机理来看 ,两药联合应用 ,抑制肾组织内 MCP-1 的表达起协同作用 ,这也可能是治疗 DN 的有效方法之一。本研究的结果也证实了这一点。由于本研究样本小 ,观察时间短 ,仅限于肾功能较好 ,且尿蛋白量较多的患者 ,治疗的范围及确切疗效有待于进一步观察。

参 考 文 献

- 1 袁江姿 ,倪兆慧. 炎症与糖尿病肾病的新认识. 国外医学泌尿系统分册 2003 23(5):532—534.
Yuan JZ, Ni ZH. New findings about inflammation and diabetic nephropathy. Foreign Med Sci :Urologic System 2003 ; 23(5):532—534.
- 2 李 静 ,李荣山. 霉酚酸酯对糖尿病肾病的实验研究进展. 国外医学泌尿系统分册 2003 23(5):535—537.
Li J, Li RS. Experimental progress in mycophenolate mofetil on diabetic nephropathy. Foreign Med Sci : Urologic

- System 2003 23(5):535—537.
- 3 黎磊石 ,刘志红. 雷公藤在肾脏病领域应用的前景. 肾脏病与透析肾移植杂志 1997 3(3):203—204.
Li LS, Liu ZH. Advantage of Tripterygium wilfordii on kidney diseases. Chin J Nephrol Dial Transplantation 1997 ;6(3):203—204.
- 4 杨俊伟 ,樊忠明 ,戴春笋 ,等. 雷公藤内酯醇抗同种异体移植急性排斥反应的实验研究. 肾脏病与透析肾移植杂志 1997 3(3):214—220.
Yang JW, Fan ZM, Dai CS, et al. Anti-renal allograft rejection effects of Triptolide in rats. Chin J Nephrol Dial Transplantation 1997 3(3):214—220.
- 5 刘 浩 ,刘志红 ,章 精 ,等. 雷公藤内酯醇降低 T 淋巴细胞核因子-κB 的活性. 肾脏病与透析肾移植杂志 1998 ;7(4):312—315.
Liu H, Liu ZH, Zhang J, et al. Triptolide inhibits the activity of NF-κB in human T lymphocyte. Chin J Nephrol Dial Transplantation 1998 ;7(4):312—315.
- 6 徐明中 ,胡伟新 ,刘志红 ,等. 雷公藤多甙联合苯那普利和大黄素治疗 IgA 肾病的前瞻性临床研究. 肾脏病与透析肾移植杂志 2004 ;13(1):19—24.
Xu MZ, Hu WX, Liu ZH, et al. Prospective clinical study of a combined regime of tripterygium wilfordii plus benazepril and emodin in treatment of IgA nephropathy. Chin J Nephrol Dial Transplantation 2004 ;13(1):19—24.
- 7 叶任高 ,陆再英主编. 内科学. 第 6 版. 北京 :人民卫生出版社 2004:787—809.
Ye RG, Lu ZY, editors. Internal Medicine. 6th ed. Beijing : People's Medical Publishing House, 2004:787—809.
- 8 Mezzano S, Droguett A, Burgos ME, et al. Renin-angiotensin system activation and interstitial inflammation in human diabetic nephropathy. Kidney Int Suppl 2003 ;86(1):64—70.
- 9 Sassy-Prigent C, Heudes D, Mandet C, et al. Early glomerular macrophage recruitment in streptozotocin-induced diabetic rats. Diabetes 2000 ;49(3):466—475.
- 10 Saitoh A, Sekizuka K, Hayashi T, et al. Detection of urinary MCP-1 in patients with diabetic nephropathy. Nephron 1998 ;80(1):99.
- 11 Rovin BH, Doe N, Tan LC. Monocyte chemoattractant protein-1 levels in patients with glomerular disease. Am J Kidney Dis 1996 27(5):640—646.
- 12 Hu KB, Liu ZH, Guo XH, et al. Triptolide inhibits vascular endothelial growth factor expression and production in endothelial cells. Acta Pharmacol Sin 2001 22(7):651—656.
- 13 Li H, Liu ZH, Dai CS, et al. Triptolide downregulates tumor necrosis factor-α and interferon-induced over-expression of monocyte chemoattractant protein-1 in human proximal tubular epithelial cells. J Hong Kong Nephrol 2002 ;4(1):33—38.

(收稿 2004-11-12 修回 2005-01-25)