

益肾活血颗粒对气虚血瘀型早期糖尿病肾病 患者尿 CTGF 影响的临床研究

蓝健姿 潘 奇 陶 庆 施 欣 程晓东 张春燕

(上海市东方医院中医科,上海,200120)

摘要 目的:探讨益肾活血颗粒对气虚血瘀型早期糖尿病肾病患者纤维化的影响及其对结缔组织生长因子(Connective Tissue Growth Factor,CTGF)的作用。方法:将90例气虚血瘀型2型糖尿病肾病(Diabetic Nephropathy, DN)患者采用随机信封方式分为常规组和治疗组,每组各45例,另将同期45例健康体检者设为对照组,其中2组DN患者均接受积极控制血糖,治疗高血压,调节脂质代谢异常等治疗,治疗组则在该基础上加用益肾活血颗粒。2组均以12周为1个疗程,于治疗前及治疗12周后检测3组蛋白尿排泄率(uAER)、糖化血红蛋白(HbA1c)、空腹血糖(FGC)、餐后2h血糖(2hBG)、I、III型胶原(PI NP、P III NP)以及尿结缔组织生长因子(CTGF)的变化。结果:1)2组患者治疗前24h蛋白尿排泄率、HbA1c、FGC、2hBG比较差异无统计学意义($P>0.05$),2组治疗后24h蛋白尿排泄率、FPG、OGTT均较治疗前降低,与常规组比较,治疗组降低的程度较为明显($P<0.05$);治疗组的临床有效率明显高于对照组($P<0.05$)。2)治疗前相比,治疗12周后治疗组和常规治疗组患者uAER、I、III型胶原以及CTGF水平均有明显下降($P<0.01$),其中治疗组上述指标均显著低于常规治疗组($P<0.05$)。3)利用Spearman法进行相关参数相关性分析后可知CTGF与PI NP、P III NP均具有正相关性($P<0.05$)。结论:益肾活血颗粒可以显著降低尿CTGF水平,该效应可能是益肾活血颗粒防治气虚血瘀型早期糖尿病肾病纤维化的作用机制之一。

关键词 糖尿病肾病;纤维化;尿蛋白排泄率;结缔组织生长因子;益肾活血颗粒

The Clinical Study of Yishenhuoxue Granules on Urinary CTGF of Patients with Qi Deficiency and Blood Stasis Type of Early Diabetic Nephropathy

Lan Jianzi, Pan Qi, Tao Qing, Shi Xing, Cheng Xiaodong, Zhang Chunyan

(Traditional Chinese Medicine Department of Shanghai Eastern Hepatobiliary Hospital, Shanghai 200120, China)

Abstract Objective: To investigate the impact of Yishenhuoxue granules on fibrosis of patients with qi deficiency and blood stasis type of early diabetic nephropathy and its effect on CTGF. **Methods:** 90 cases of patients with qi deficiency and blood stasis type of type 2 diabetic nephropathy (DN) were divided into normal group and observation group by using random envelope, 45 cases in each group, 45 cases of healthy physical examination in the corresponding period as healthy control group, both of the two groups of patients with DN accepted the treatment such as positive control of blood glucose, high blood pressure treatment, adjusted abnormal lipids metabolism, the observation group added Yishenhuoxue granules based on the treatment. Both of the two groups according to 12 weeks for a period of treatment, tested the changes of three sets of albuminuria excretion rate (uAER) and collagen type I, III (PI NP, P III NP), and connective tissue growth factor (CTGF) of the urine before and after 12 weeks of treatment. **Results:** 1) 24 h before the treatment, urine protein excretion rate, HbA1c, FGC, 2 h BG of the two groups of patients were with no statistical differences ($P>0.05$), 24 h after the treatment, urine protein excretion rate, FPG, OGTT of the two groups reduced compared to before the treatment, and the comparison with the conventional group, the observation group reduced the more obvious extent ($P<0.05$); The clinical effectiveness of observation group was obviously higher than that of control group ($P<0.05$). 2) Compared with before treatment, uAER, collagen type I, III and CTGF levels in patients of observation group and conventional therapy group were significantly decreased after 12 weeks ($P<0.01$), the indexes above of the observation group were significantly lower than that of conventional treatment group ($P<0.05$). 3) After related parameters correlation analysis by using of Spearman method, it showed CTGF and PI NP, P III NP had positive correlation ($P<0.05$). **Conclusion:** Yishenhuoxue granules can significantly reduce urinary CTGF level, this effect may be one of the mechanism of Yishenhuoxue granules prevent and treat qi deficiency and blood stasis type of early diabetic nephropathy fibrosis.

Key Words Diabetic nephropathy; Fibrosis; Connective tissue growth factor; Yishenhuoxue granules

中图分类号: R255.4 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2016.01.019

基金项目:上海市卫生和计划生育委员会中医药科研基金课题任务(编号:2014LP033B);2014年浦东新区中医领军人才项目(编号:PDZYXK-4-2014005)

作者简介:蓝健姿(1971.10—),女,硕士,副主任医师,研究方向:中医内科,中西医结合肾病,E-mail:weidhj34@163.com

随着现代生活方式及饮食结构的不断改变,2型糖尿病逐渐成为临床常见的疾病,糖尿病所致的大血管并发症及微血管病变是威胁人类生命安全的主要疾病,其中DN是2型糖尿病最为常见的慢性并发症之一,也是导致终末期肾病的主要原因。研究人员进行的一项多中心大样本调查显示^[1]:2型糖尿病是导致尿毒症的独立危险因素,其危险系数仅低于慢性肾炎。因此我们认为科学合理的治疗糖尿病可部分逆转肾损害。90年代末美国科学家Mason率先报道肾脏细胞可表达CTGF,越来越多的文献^[2-5]认为CTGF可作为新型的促纤维化因子,其不但可以促进成纤维细胞的增殖,抑制其凋亡,还可以通过抑制金属蛋白酶的分泌而发挥促胶原分泌的作用。通过对文献的大量学习,我们认为现代医学对DN诊断依据中尿白蛋白属于中医学“精微”“肾精”“精气”,尿白蛋白持续漏出即精微下注的病证,故DN的病机本为脾肾不足而致气虚血瘀,临床实践中我们利用具有活血化瘀效应的益肾活血颗粒可明显改善患者尿蛋白排泄率,因此我们设想:益肾活血颗粒治疗DN是否通过改善其纤维化实现?而此过程是否通过CTGF进行桥接?于是我们进行一系列临床研究,具体情况如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将2014年7月至2015年5月同济大学附属东方医院中医科和内分泌科住院的90例糖尿病肾病患者纳入本研究,其中男性51例,女性39例,年龄32~61岁,平均 (42.8 ± 4.2) 岁,病程2.5~18年,平均 (27.8 ± 10.2) 个月。90例患者采用随机信封方式分为常规组(45例)和治疗组(45例)。另将同期45例健康体检者设为对照组,其中男性25例,女性20例,年龄35~68岁,平均 (43.7 ± 4.6) 岁。3组患者在年龄、性别等一般情况方面差异无统计学意义(P 均 >0.05)。具有均衡性和可比性。本研究方案经过医院伦理学委员会审查批准,所有患者均签署知情同意书。

1.2 纳入标准 符合早期糖尿病肾病(Mogensen分期III期)诊断标准的患者;其他如感染、酸中毒、电解质紊乱、高血压等得到有效控制者;知情同意,并能配合治疗者。

1.3 排除标准 近1个月内有糖尿病酮症、酮症酸中毒以及感染者;1型糖尿病,妊娠糖尿病、甲亢或肝炎等其他疾病所致的高血糖患者;伴有精神病、老年性痴呆等不能配合者;严重的心、脑、肝等并发症或并发严重原发性疾病者;妊娠期及哺乳期妇女;其

他原因致尿蛋白增多。

1.4 气虚血瘀证诊断标准 根据国家中医药管理局2002版《中药新药临床研究指导原则》。气虚主要症状:倦怠乏力,口干,腰腿酸软或面色晄白,自汗畏风。气虚次症:少气懒言,心悸气短,舌淡,苔薄白,脉细。具备主症2项,次症1项即可辨证为气虚证。血瘀主要症状:手足麻木,胸痛,腰痛,入夜尤甚。次症:面部瘀斑,口唇暗,失眠健忘,舌暗甚至有瘀斑,舌下脉络青紫迂曲,脉沉涩。具备主症2项,次症1项即可辨证为血瘀证。同时具备气虚证和血瘀证诊断标准者为气虚血瘀证。

1.5 治疗方法 2组患者均接受糖尿病教育、糖尿病饮食,内科口服降糖药物或者皮下注射胰岛素治疗(剂量依照患者血糖水平而设定);合并高血压者加用硝苯地平缓释片(国药准字H32026198),10~20mg,2次/d;合并高脂血症者加服辛伐他汀(京必舒新批准文号:国药准字H20000009),20mg/d。治疗组在上述治疗方案基础上加用益肾活血颗粒(广东一方制药有限公司国药准字Z44020657),组方:山茱萸15g,杜仲15g,桑螵蛸10g,山药15g,女贞子15g,黄芪30g,党参30g,桃仁15g,赤芍15g,路路通15g,川芎10g,丹参15g,白花蛇舌草15g。用法:1次/d,开水冲服。2组均以12周为1个疗程。

1.6 观察指标

1.6.1 糖化血红蛋白、空腹血糖、餐后2h血糖、蛋白尿排泄率 留取常规组及治疗组患者治疗前及治疗12周后24h尿液,加入二甲苯进行防腐,采用放射免疫法对尿蛋白Alb进行测定,然后根据尿液的容积和所得Alb数值计算出蛋白尿排泄率(uAER)。糖化血红蛋白(HbA1c)、空腹血糖(FGC)、餐后2h血糖(2hBG)的变化。

1.6.2 尿CTGF、PI NP、PⅢ NP检测 收集对照组,常规组及治疗组患者治疗前及治疗12周后连续24h尿液,在4℃,14 000 rpm条件下离心5 min,用高压枪头吸取离心后的上清液,使用酶联免疫吸附试验(ELISA)进行检测,操作步骤严格按照说明书进行,试剂盒由广州达安基因股份有限公司提供,显色后采用492 nm波长,TMB反应产物检测需要450 nm波长。检测时一定要首先进行空白孔系统调零,用测定标本孔的吸收值与一组阴性标本测定孔平均值的比值(P/N)表示。以空白对照孔调零后测各孔OD值,若大于规定的阴性对照OD值的2.1倍,即为阳性。

1.7 疗效判定标准 根据2002年国家中医药管理局组织制定的《中药新药临床研究指导原则》显效:尿微量白蛋白排泄率减低 $\geq 50\%$,或恢复正常。有效:尿微量白蛋白排泄率减低 $\geq 30\%$,但不足 50% 。无效:未达上述有效标准者。临床有效率=(显效例数+有效例数)/总例数 $\times 100\%$ 。

1.8 统计学方法 计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,且均符合正态性。采用SPSS软件统计分析。两独立样本均数间比较采用 t 检验,随机分组设计资料采用单因素方差分析,方差分析前使用Levene检验方差齐

性, $P < 0.05$ 时具有统计学意义。

2 结果

2.1 2组24h蛋白尿排泄率、HbA1c、FGC、2hBG以及临床疗效的比较 2组患者治疗前24h蛋白尿排泄率、HbA1c、FGC、2hBG比较无统计学差异($P > 0.05$),2组治疗后24h蛋白尿排泄率、FPG、OGTT均较治疗前降低,与常规组比较,治疗组降低的程度较为明显($P < 0.05$);治疗组的临床有效率明显高于对照组($P < 0.05$),具体见表1、表2。

表1 2组uAER、HbA1c、FGC、2hBG比较 $(\bar{x} \pm s)$

组别	常规组		治疗组	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
uAER ($\mu\text{g}/\text{min}$)	147.37 \pm 30.28	115.27 \pm 19.28*	148.28 \pm 28.88	62.19 \pm 11.37* Δ
HbA1c (%)	8.74 \pm 2.37	7.25 \pm 2.27*	8.76 \pm 2.41	6.53 \pm 1.85* Δ
FGC (mmol/L)	9.44 \pm 4.15	7.28 \pm 3.34*	9.47 \pm 4.32	6.26 \pm 2.35* Δ
2hBG (mmol/L)	14.34 \pm 5.46	11.36 \pm 1.42*	14.32 \pm 5.71	9.24 \pm 1.32* Δ

注:与治疗前相比,* $P < 0.05$,与常规组相比, $\Delta P < 0.05$ 。

表2 2组临床疗效比较(例,%)

组别	常规组	治疗组
显效	11	18
有效	20	22
无效	14	5
临床总有效率	68.89	88.89

注: $\chi^2 = 3.19, P = 0.02 < 0.05$ 。

2.2 3组CTGF、PI NP、P III NP浓度比较 对不同治疗组患者24h尿液中CTGF、PI NP、P III NP进行ELISA检测结果显示:2组DN患者治疗前尿液中CTGF、PI NP、P III N表达无明显差异,但与对照组相比,治疗组患者治疗前的CTGF[(43.20 \pm 8.89) pg/mL vs (16.81 \pm 3.01) pg/mL, | t | = 5.24, $P = 0.0024 < 0.05$]、PI NP[(102.99 \pm 20.39) pg/mL vs (42.91 \pm 6.49) pg/mL, | t | = 4.67, $P = 0.0011 < 0.05$]、PI NP[(757.8 \pm 167.3) pg/mL vs (158.55 \pm 40.49) pg/mL, | t | = 4.07, $P = 0.0015 < 0.05$]表达均明显增加;经过益肾活血颗粒治疗后治疗组的CTGF[(25.59 \pm 4.79) pg/mL vs (43.20 \pm 8.89) pg/mL, | t | = 8.92, $P = 0.0009 < 0.001$]、PI NP[(49.33 \pm 9.67) pg/mL vs (102.99 \pm 20.39) pg/mL, | t | = 6.67, $P = 0.0008 < 0.001$]、P III N[(384.8 \pm 83.11) pg/mL vs (757.8 \pm 167.3) pg/mL, | t | = 5.07, $P = 0.0008 < 0.001$]表达显著低于治疗前,也低于常规组治疗后($P < 0.05$)见图1-3。

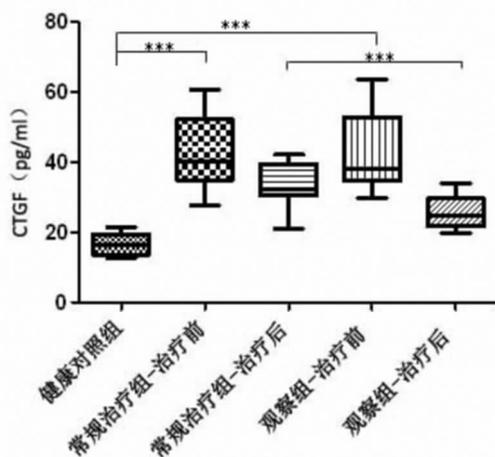


图1 各组CTGF浓度变化

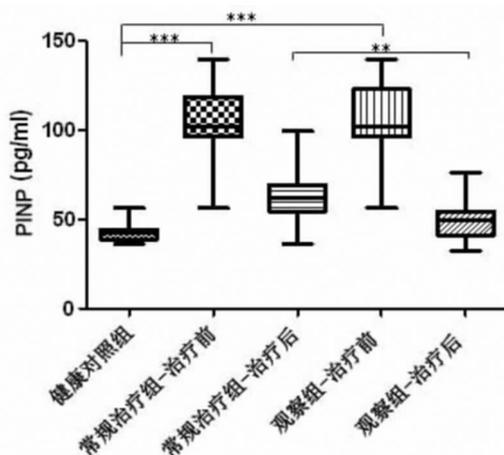


图2 各组PI NP浓度变化

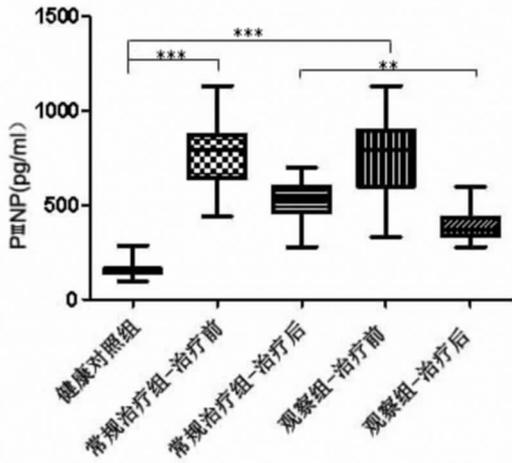


图3 各组 PⅢN 浓度变化

2.3 CTGF 与 PI NP、PⅢNP 的相关性研究 CTGF 与 PI NP、PⅢNP 数据呈非正态分布,使用 Spearman 法进行相关参数相关性分析,结果发现 CTGF 与 PI NP、PⅢNP 的表达均存在正相关性,具体见表 3。

表 3 相关性分析

CTGF	PI NP	PⅢNP
<i>r</i>	0.416	0.378
<i>P</i>	0.022	0.014

3 讨论

2 型糖尿病导致的肾损伤是一类进展性的疾病,在疾病早期肾脏体积逐渐增大,导致肾小球滤过率增加,呈高滤过状态,以后逐渐出现间隙蛋白尿或微量白蛋白尿,随着疾病的日益恶化患者逐渐出现持续蛋白尿、水肿、高血压等临床症状,进而出现肾功能不全、尿毒症,最终导致死亡。有资料显示^[6]:约有 30% 的 2 型糖尿病患者将出现 DN,其中接近一半患者肾功能损伤在一定程度上具有可逆性,因此我们认为早期干预糖尿病肾病患者具有重要临床意义。

CTGF 在机体多个脏器均有表达,其中肾脏的表达量是最高的。成纤维细胞、血管内皮细胞以及肾小球系膜细胞等均是机体合成 CTGF 的主要场所,在正常的生理状态下,CTGF 在血浆呈低表达,以低量的表达维持多种生物学功能,病理学状态下 CTGF 浓度上调,则导致肾脏纤维化、肺纤维化等纤维化疾病的发生,有研究证实 CTGF 可通过抑制视网膜母细胞瘤敏感基因蛋白(Rb)的磷酸化程度,抑制细胞从 G1 期进入 S 期,导致细胞周期持续停顿与 G 期,从而出现系膜细胞肥大并逐渐想肌成纤维细胞转换^[7-10]。有本研究结果可以看出,2 组 DN 患者尿液中 CTGF 的浓度明显高于对照组,并在介入

干预治疗后尿 CTGF 浓度均出现降低,其中治疗组降低的趋势更为明显,且 PI NP、PⅢNP 的浓度表达具有一致性。PI NP、PⅢNP 是肾脏 EcM 的主要胶原成分,在肾脏纤维化进程中具有重要作用,随着 2 型糖尿病肾病的进展,肾固有细胞受损,因此激活细胞外基质,导致成纤维细胞(FB)、细胞外基质(ECM)及细胞因子等相互调节失衡,导致系膜区细胞外基质(EcM)重构,主要表现为成纤维大量增殖,细胞外基质过度沉积及细胞因子分泌失常,胶原超常合成沉积与降解减少,随着病情的逐渐发展,在 DN 后期肾小球及肾间质出现纤维化,最后导致肾小球的硬化。CTGF 是具有丝裂原性和趋化性的因子之一,可诱导成纤维增殖及刺激 ECM 的分泌,从而加剧了上述肾脏病变过程的恶化^[11-12]。因此我们认为 CTGF 是导致 DN 肾脏纤维化的始动因子,它的过表达导致了 PI NP、PⅢNP 的释放,加速了成纤维细胞的增殖过程从而形成肾纤维化。

由于各类西药都可能产生不同程度的不良反应,糖尿病肾病患者较难耐受,因此本研究对根据 DN 中医病机予益肾活血颗粒进行治疗。中医学认为 DN 的本为脾肾不足,健脾益肾是根本,大多数 DN 病程较久,必然元气大伤,气虚则运血无力,血行艰涩而成久病及肾,久病入络之血瘀证候。方中党参、黄芪、山药补气健脾,山茱萸补益肝肾,合党参、山药共奏滋补肾阴的功效,桑螵蛸有温肾补阳固摄之疗效,女贞子可发挥益精填髓的目的,血瘀是贯穿于糖尿病肾病疾病全过程,本方加用桃仁、赤芍、路路通、川芎、丹参以活血化瘀通络,白花蛇舌草清热解毒,使得整个方子补而不腻,温而不化火^[13-15]。研究中我们发现加用益肾活血颗粒的治疗组患者在降低 uAER、PI NP、PⅢNP 以及 CTGF 方面均明显优于对照组,因此我们认为益肾活血颗粒可与常规药物产生协同效应。

总之,PI NP、PⅢNP 以及 CTGF 与早期糖尿病肾病纤维化具有密切关系,对 CTGF 水平的检测可以评估 DN 肾纤维化,益肾活血颗粒可以显著降低尿 CTGF 水平,该效应可能是益肾活血颗粒防治气虚血瘀型早期糖尿病肾病纤维化的作用机制之一。但由于本研究随访时间较短、样本量较少,以期在下阶段增大样本量、延长随访时间,进一步证实益肾活血颗粒改善 DN 预后的明确机制,以指导临床用药。

(下接第 85 页)

散,而达到治疗瘰疬、乳岩、瘰疬、乳癖的目的。现代药理研究发现小金胶囊具有抗炎作用,能抑制肉芽组织增生,缓解小鼠足痛和化学热刺激所致小鼠腹痛,从而起到镇痛的作用。同时可改善微循环,增加毛细血管开放,有活血化瘀之效^[11]。

小金胶囊治疗甲状腺结节,可避免长期服用优甲乐带来的不良反应,减少了老年患者心脏病及甲亢的发生率。部分患者服用小金胶囊可有恶心、呕吐等不适,一般可自行缓解,增加了患者长期服药的依从性,提高了甲状腺结节的治愈率。小金胶囊对体内甲状腺素及促甲状腺素没有明显影响,不影响机体甲状腺的正常生理功能,避免了机体激素的分泌异常。本研究结果显示小金胶囊总有效率明显高于优甲乐,且不良反应少,安全性好,值得临床上广泛应用。

参考文献

- [1] 向红丁. 内分泌学[M]. 北京:人民军医出版社,2011:418-424.
- [2] 王吉耀. 内科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:877-879.
- [3] 赵咏桔. 良性非毒性甲状腺结节的内科治疗[J]. 中国实用外科

杂志,2010,30(10):852-854.

- [4] 白耀. 甲状腺病学[M]. 北京:科学技术文献出版社,2003:326-330.
- [5] 中华人民共和国卫生部. 中药新药临床研究指导原则[S]. 北京:中国医药科技出版社,2002:228-229.
- [6] 武晓泓,陆晓婕,刘超,等. 甲状腺偶发结节的筛查及随访[J]. 中国实用内科杂志,2005,25(8):823-824.
- [7] 刘元君,黄菲,王旭. 良性甲状腺结节的中西医研究进展[J]. 临床与病理杂志,2015,35(3):444-448.
- [8] Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, et al. Revised American Thyroid Association Management Guidelines for Patients With Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer[J]. Thyroid, 2009, 19(11):1167-1214.
- [9] 阴慧清,卢东晖,詹晓蓉,等. 左旋甲状腺素治疗单纯性甲状腺肿的临床观察[J]. 中国地方病学杂志,2001,20(2):211.
- [10] 朱学明,邓星城,石润杰. 小剂量左旋甲状腺素治疗结节性甲状腺肿中的作用[J]. 苏州大学学报,2004,24(6):931.
- [11] 蔡军波,张强,方芳,等. 小剂量优甲乐联合小金胶囊治疗结节性甲状腺肿的临床疗效及对甲状腺功能的影响[J]. 实用药物与临床,2014,17(6):711-714.

(2015-10-21 收稿 责任编辑:徐颖)

(上接第82页)

参考文献

- [1] 薄虹,黄颂敏,吴蔚华,等. 糖尿病肾病的现状及对策[J]. 中华肾脏病杂志,2011,27(6):464-465.
- [2] 马兴杰,杨丽霞,董岸莺. 糖尿病肾病蛋白尿形成机制[J]. 重庆医学,2011,40(20):2064-2067.
- [3] 程岚,王秋月. 结缔组织生长因子在糖尿病肾病诊断中的意义[J]. 中国医科大学学报,2008,37(4):526-528.
- [4] 宋盼爱,詹明,Kanwar Ys,等. 生物标志物在糖尿病肾病临床研究中的进展[J]. 中华肾脏病杂志,2012,28(2):155-158.
- [5] singal R, Gupta P, Dwivedi s, et al. An unforgettable concurrence: Successfully managed gallstone ileus accompanied by diabetic nephropathy[J]. J Res Med sci,2012,17(4):412-415.
- [6] Ellina, chatzigeorgiou A, Kouyanou s, et al. Extracellular matrix-associated (GAGs, CTGF), angiogenic (VEGF) and inflammatory factors (MCP-1) in type 1 diabetes mellitus nephropathy[J]. Clin chem Lab Med,2012,50(1):167-174.
- [7] 梁屹. 血清结缔组织生长因子与胱抑素c测定在糖尿病肾病早期诊断中的意义[J]. 中国综合临床,2009,25(11):1164-1166.
- [8] 郭群华. 尿β-MG、NAG测定对2型糖尿病肾功能损害的早期诊

断[J]. 医学检验与临床,2010,21(2):69-70.

- [9] 邵伟,任伟,张素华,等. 2型糖尿病家系成员尿白蛋白排泄率与糖尿病视网膜病变的关系[J]. 解放军医学杂志,2009,33(10):1246.
- [10] 朱建锋,瞿亚红,陈佳英. 尿微量白蛋白和血清胱抑素C检测对糖尿病肾病早期诊断的意义[J]. 中国基层医药,2010,17(4):491.
- [11] 杨丕坚,吕以培,李舒敏,等. 不同时期糖尿病肾病者血浆ET-1和CGRP含量变化及其临床意义[J]. 重庆医学,2011,40(5):122-126.
- [12] 全浩平,林云华,斯一夫. 糖尿病患者白蛋白渗透压比值与微量白蛋白尿的关系[J]. 中国基层医药,2010,17(10):1373.
- [13] 张婷,高彦彬. 中医药治疗糖尿病肾病研究进展[J]. 世界中医药,2014,9(5):679-683.
- [14] 陈延强,黄玉茵. 活血化瘀法治疗糖尿病肾病的近况[J]. 云南中医中药杂志,2009,30(2):54-55.
- [15] 朴春丽,杨叔禹. 解毒通络保肾法抑制糖尿病肾病炎症发病机制的研究[J]. 实用中西医结合临床,2009,9(3):1-5.

(2015-07-16 收稿 责任编辑:王明)