

雷公藤多苷对早期糖尿病肾病患者的血管内皮功能及 T 淋巴细胞亚群的影响

周瑞琴 李小巧 杨艳琴

(河南省漯河市第三人民医院内一科, 漯河, 462000)

摘要 目的:探讨雷公藤多苷对早期糖尿病肾病患者的血管内皮功能的影响,同时观察该药对患者 T 淋巴细胞亚群的干预效应。方法:选取 2010 年 1 月至 2016 年 1 月漯河市第三人民医院内一科住院的早期糖尿病肾病患者 80 例,随机分为对照组和观察组,每组 40 例。2 组患者均接受常规控制血糖、改善肾功能方案,观察组在常规治疗方案基础上加用雷公藤多苷,2 组均接受为期 12 周的治疗,比较 2 组治疗前后血糖、血脂、肾功能指标的变化,同时检测 2 组患者干预前后血管内皮细胞(VEGF)、T 淋巴细胞亚群百分比的变化。结果:1)治疗结束后 2 组患者血糖、血脂、肾功能指标均有明显改善,与对照组比较,观察组改善的幅度更明显,差异有统计学意义($P < 0.05$)。2)治疗后 2 组 VEGF 浓度均较治疗前明显下降,其中观察组下降的趋势更为明显($P < 0.05$)。3)治疗后观察组 Th17/Treg 细胞百分比低于对照组,Th1/Th2 细胞百分比比较对照组明显升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论:雷公藤多苷可明显改善早期糖尿病肾病患者的血管内皮功能,同时可纠正患者 T 淋巴细胞亚群失衡现象。

关键词 糖尿病肾病;血管内皮;T 淋巴细胞亚群;雷公藤多苷

Effect of Tripterygium Glycosides on Vascular Endothelial Function and T Lymphocyte Subsets in Patients with Early Diabetic Nephropathy

Zhou Ruiqin, Li Xiaoqiao, Yang Yanqin

(The Third People's Hospital of Luohe, Luohe 462000, China)

Abstract Objective: To investigate the intervention effect of Tripterygium glycosides on vascular endothelial function and T lymphocyte subsets in patients with early diabetic nephropathy. **Methods:** Eighty cases of early diabetic nephropathy patients hospitalized in Endocrinology Department in the hospital during January 2010 to January 2016 were included and were randomly divided into the control group and the observation group, with 40 cases in each group. Patients in both the two groups accepted routine treatment scheme of diabetes control and renal function improvement, while patients in the observation group combined with Tripterygium glycosides on the basis of conventional treatment. Both the two groups were treated for 12 weeks. The changes of blood glucose, blood lipid and renal function index of the two groups before and after the treatment were compared, and changes in the percentage of vascular endothelial cells (VEGF) and T lymphocyte subsets in the two groups before and after the intervention were detected at the same time. **Results:** 1) Blood glucose, blood lipid, renal function indexes markedly of patients in the two groups improved after the treatment. The improvement range of the observation group was more obviously, compared with the control group, with statistically significant differences ($P < 0.05$). 2) The VEGF concentration decreased significantly in both of the two groups after the treatment; the downward trend in the observation group was more obvious ($P < 0.05$). 3) The percentage of Th 17/Treg cells in the observe group was lower than that of the control group after the treatment, and percentage of the Th1/Th2 cells in the observe group increased significantly compared to that of the control group, which showed statistically significant differences ($P < 0.05$). **Conclusion:** Tripterygium glycosides can significantly improve vascular endothelial function in patients with early diabetic nephropathy and relieve the disorder of T lymphocyte subgroup.

Key Words Diabetic nephropathy; Vascular endothelium; T lymphocyte subpopulation; Tripterygium glycosides

中图分类号:R285.6 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.08.029

糖尿病肾病(Diabetic Nephropathy, DN)是目前临床常见的糖尿病并发症,据调查,目前约有 30% 的糖尿病患者因主要是长期高血糖导致微血管病

变,从而出现蛋白尿及肾功能受损,随着疾病的发生发展最终导致终末期肾病及死亡^[1-2]。免疫功能紊乱目前已被证实贯穿于 DN 发展过程中,氧化应激

系统的失调是 DN 的直观体现,导致肾脏固有细胞受损,然而 DN 处于氧化应激状态的主要原因是机体免疫系统功能的紊乱,受破坏的免疫系统导致体内的天然抗氧化剂分泌减少从而无法抵御疾病导致氧化反应,因此我们认为修复机体的免疫系统是治疗 DN 的根本。上世纪中药雷公藤有明显的免疫干预效应被诸多学者认可,临床上随之用于多类肾脏疾病的治疗,可明显降低患者的蛋白尿及修复肾小球足细胞,本团队利用雷公藤多苷对 DN 患者进行干预,亦取得较理想疗效,并对其治疗机制进一步研究,发现该药可一定程度修复 DN 患者的内皮细胞及纠正其紊乱的免疫系统,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2010 年 1 月至 2016 年 1 月漯河市第三人民医院内一科住院的早期糖尿病肾病患者 80 例,随机分为对照组和观察组。每组 40 例,对照组中男 26 例,女 14 例,年龄 41 ~ 75 岁,平均年龄 (58.1 ± 4.9) 岁,发现糖尿病病程 5 ~ 18 年,平均病程 (9.8 ± 3.2) 年。观察组中男 27 例,女 13 例,年龄 40 ~ 74 岁,平均年龄 (57.9 ± 4.7) 岁,发现糖尿病病程 6 ~ 17.5 年,平均病程 (9.6 ± 3.1) 年。2 组患者在年龄、性别、发现糖尿病病程等方面资料比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),具有可比性。所有患者均签署知情同意书。

1.2 诊断标准 所有患者诊断符合我国于 2000 年制定《中国 2 型糖尿病防治指南》中关于糖尿病的诊断标准^[3]。

1.3 纳入标准 1)符合 1.2 诊断标准者;2)糖尿病发病时间 ≥ 5 年者;3)近 3 个月内连续 2 次尿蛋白排泄率 20 ~ 200 $\mu\text{g}/\text{min}$,且 24 h 尿蛋白定量 < 0.5 g。

1.4 排除标准 1)非糖尿病导致的肾功能受损者;2)糖尿病合并严重急性并发症者;3)哺乳期或妊娠期妇女;4)既往服用过雷公藤多苷者;5)不予签署知情同意书者。

1.5 脱落与剔除标准 1)正在参加其他临床试验的患者;2)取得随机号,但未接受全部疗程治疗的患者;3)不符合纳入标准被误入的患者;4)研究过程中出现严重并发症或出现病情恶化,需采取紧急措施者。

1.6 治疗方法 根据患者病情的不同,2 组患者都予内一科常规护理及对症治疗,包括控制饮食,控制血压,降脂,改善循环,维持电解质平衡等,利用口服降糖药或者皮下注射胰岛素进行血糖控制。有合并

高血压者予口服降压药。观察组患者在上述基础治疗上加用雷公藤多苷片(远大医药黄石飞云制药有限公司,国药准字 Z42021212)进行治疗,20 mg/片,口服,每日每千克体重 1 ~ 1.5 mg,分 3 次服用。

1.7 观察指标

1.7.1 血糖、肾功能、血脂等指标 治疗前后用日立 HITACHI7600 型全自动生化仪测定空腹血糖(FBG)、餐后 2 h 血糖(2 hPG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、三酰甘油(TG)、血脂总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白-C(LDL-C)、24 h 尿蛋白定量(UTP)、尿白蛋白排泄率(UAER)、尿 $\beta 2$ 微球蛋白($\beta 2$ -MG)、血肌酐(SCr)水平。

1.7.2 VEGF 水平变化 取治疗前后患者前臂外周血 5 mL 置于肝素钠包被的抗凝管中,用人淋巴细胞分离液分离出外周血单核细胞 200 μL ,加入 100 μL 裂解液进行细胞分裂,放入 4 $^{\circ}\text{C}$ 振荡器中持续震荡 30 min,并将液体用移液枪转移至事先预冷离心管,再次置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心机中以 5 000 r/min 转速进行离心 15 min,用移液枪将上清液抽取至新的离心管中备用。利用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度,并在 100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中进行蛋白变性 7 min,并计算上样量。事先配制好 SDS-PAGE 胶体,用移液枪将蛋白加之胶体中进行电泳,随后将蛋白转移至硝酸纤维膜上,随后用脱脂奶粉进行封闭 2 h,用 PBS 清洗 2 次,10 min/次,加 1:500 稀释的一抗(VEGF)及内参抗体(β -actin,1:3 000)室温孵育 2 h,用 PBS 清洗 2 次,10 min/次,随后加入辣根过氧化物酶 HRP-二抗,室温下轻摇 2 h 取出继续 PBS 清洗 2 次,10 min/次,最后利用 ECL 显影,拍照,统计分析。

1.7.3 T 淋巴细胞亚群检测 取治疗前后患者前臂外周血 5 mL 置于肝素钠包被的抗凝管中,用人淋巴细胞分离液分离出外周血单核细胞 200 μL ,保持细胞浓度在 1×10^6 个/mL,将提取的单核细胞置于 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中进行培养,24 h 后予培养瓶加入事先配制的工作液进行细胞刺激,并置于 37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 环境中进行培养 4 ~ 6 h,培养结束后予培养瓶中置入 PBS 冲洗,后进行细胞收集,再加入相应的荧光素进行细胞标记,随后将细胞置于流式细胞仪中检测 Th1、Th、Th17 细胞、Treg 细胞比例,并计算 Th1/Th2、Th17/Treg 比值。

1.8 统计学方法 采用 SPSS 17.0 进行相关数据的统计分析,组内比较采用配对 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验,计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 2 组糖尿病肾病患者血糖、血脂代谢比较($\bar{x} \pm s$)

组别	FPG(mmol/L)	2 hPG(mmol/L)	HbA1c(%)	TG(mmol/L)	TC(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)
对照组(<i>n</i> = 40)						
治疗前	9.42 ± 2.32	12.63 ± 2.72	10.73 ± 1.37	3.48 ± 0.86	7.34 ± 1.53	3.10 ± 0.57
治疗后	7.22 ± 2.13 *	8.52 ± 2.35 *	6.75 ± 1.28 *	2.62 ± 0.53 *	6.38 ± 1.18 *	2.34 ± 0.22 *
观察组(<i>n</i> = 40)						
治疗前	9.40 ± 2.43	12.43 ± 2.78	10.83 ± 1.38	3.52 ± 0.89	7.36 ± 1.61	3.22 ± 0.59
治疗后	6.36 ± 1.64 * [△]	8.11 ± 2.135 * [△]	6.24 ± 1.05 * [△]	1.33 ± 0.41 * [△]	4.13 ± 1.14 * [△]	1.87 ± 0.17 * [△]

注:组内治疗前后比较, * *P* < 0.05;组间比较, [△] *P* < 0.05

表 2 2 组糖尿病肾病患者肾功能各指标变化比较($\bar{x} \pm s$)

组别	UTP(g/24 h)	UAER(mg/24 h)	β ₂ -MG(mg/L)	SCr(mmol/L)
对照组(<i>n</i> = 40)				
治疗前	2.46 ± 0.18	326.23 ± 67.98	0.61 ± 0.21	88.85 ± 13.22
治疗后	1.75 ± 0.10 *	174.87 ± 37.39 *	0.50 ± 0.21 *	82.19 ± 11.63 *
观察组(<i>n</i> = 40)				
治疗前	2.47 ± 0.21	331.81 ± 65.85	0.60 ± 0.24	89.04 ± 13.38
治疗后	1.32 ± 0.09 * [△]	101.95 ± 29.44 * [△]	0.30 ± 0.14 * [△]	79.22 ± 10.29 * [△]

注:组内治疗前后比较, * *P* < 0.05;组间比较, [△] *P* < 0.05

2 结果

2.1 血糖、肾功能、血脂等指标变化 治疗结束后 2 组患者血糖、血脂、肾功能指标均有明显改善,与对照组比较,观察组改善的幅度更明显,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 1、表 2。

2.2 2 组治疗前后 VEGF 水平变化 治疗后 2 组 VEGF 浓度均较治疗前明显下降,其中观察组下降的趋势更为明显(*P* < 0.05)。见图 1。

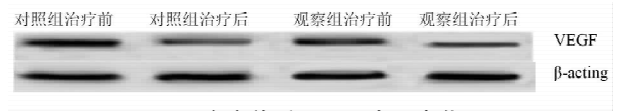


图 1 治疗前后 VEGF 水平变化图

2.3 2 组治疗前后 T 淋巴细胞亚群水平的检测 治疗后观察组 Th17/Treg 细胞百分比低于对照组, Th1/Th2 细胞百分比比较对照组明显升高,差异均有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 2、图 2。

表 3 2 组治疗前后外周血中 Th17/Treg 细胞比例($\bar{x} \pm s$)

组别	Th17(%)	Treg(%)	Th17/Treg 比值
对照组(<i>n</i> = 40)			
治疗前	2.33 ± 0.26	7.43 ± 0.83	0.37 ± 0.05
治疗后	2.24 ± 0.23 *	7.79 ± 0.82 *	0.32 ± 0.05 *
观察组(<i>n</i> = 40)			
治疗前	2.35 ± 0.28	7.41 ± 0.86	0.36 ± 0.06
治疗后	2.11 ± 0.23 * [△]	8.18 ± 0.89 * [△]	0.24 ± 0.04 * [△]

注:与治疗前比较, * *P* < 0.05;与对照组治疗后比较, [△] *P* < 0.05

3 讨论

糖尿病肾病属于中医学“消渴”“水肿”“关格”等范畴,发病机制较为复杂,古代医贤认为先天禀赋不足,加之后天饮食不节,嗜食肥甘厚腻而导致脾失

健运,水湿代谢异常,从而湿邪内聚,聚湿化热,邪热如络伤及肾元,而发为此病。正如《圣济总录》一书中所描述:“消渴日久,肾气受伤,肾主水,肾气虚衰,气化失常,开阖不利,水液聚于体内而发为水肿”,由此可见,脾肾亏虚致湿热夹杂是 DN 的主要病机^[4-7]。

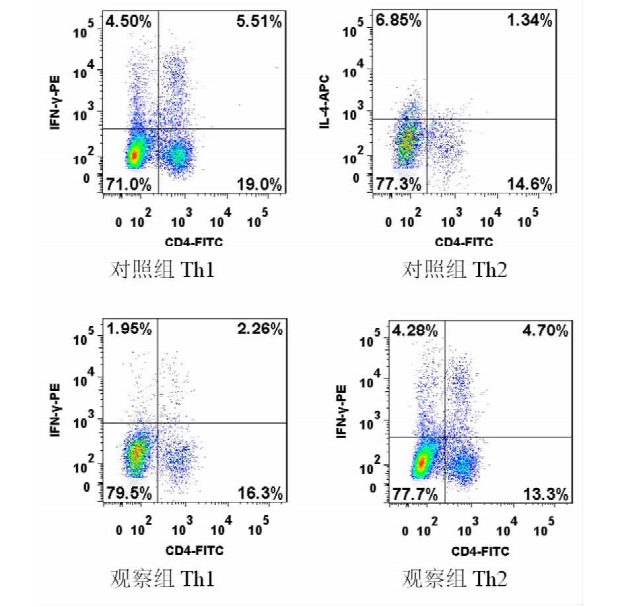


图 2 治疗前后 T 淋巴细胞亚群水平分布图

雷公藤是卫矛科雷公藤属植物雷公藤的根部,味苦、辛,大毒。归肝、肾经。具有祛风除湿、通络止痛、消肿止痛、解毒杀虫之功效。雷公藤多苷^[8-10]是雷公藤经过现代工艺加工后的提取物,含有雷公藤生物碱及二萜内酯等有效成分,其不良反应较中药小,且能最大程度保存疗效。我们对 2 组 DN 患者

进行常规内科处理,结果 2 组患者的 24 h 尿蛋白定量、BUN、SCr 均较治疗前均得有明显降低 ($P < 0.05$),但观察组与对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$);在治疗后 2 组患者 ALB 均明显升高,与治疗前比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),说明雷公藤多苷在对 DN 具有理想的治疗效果,可明显改善患者肾功能。在研究中我们对 2 组患者外周血清 VEGF 的浓度进行检测,结果显示 DN 发病时外周血 VEGF 浓度明显升高,治疗后浓度逐渐下降,其中增加雷公藤多苷干预的观察组下降的趋势更为明显。VEGF 是血管内皮细胞的丝裂原,当机体缺血、缺氧或者高糖状态时其浓度均可受到影响,在正常状态下 VEGF 处于低浓度水平,仅可维持血管密度的生理稳定性,DN 患者的高血糖状态激活了 VEGF 及其下游基因的表达,从而上调了 VEGF 的浓度,改变了 DN 患者血管内皮细胞的结构及功能,增加了肾小球的通透性,从而加剧蛋白尿等症状的发生,促进病情进一步恶化。研究结果显示雷公藤多苷下调了 DN 患者的 VEGF,基于此,我们认为雷公藤多苷对 DN 血管内皮有一定保护作用。

在本研究中我们还对 2 组患者的 T 淋巴细胞亚群百分比进行检测,结果显示治疗后观察组 Th17/Treg 细胞百分比低于对照组,Th1/Th2 细胞百分比比较对照组明显升高,这说明雷公藤可纠正 DN 患者紊乱的免疫系统。正常机体状态下 T 淋巴细胞各类细胞因子组成一个调解网络,并处于动态平衡状态。在查阅大量文献中我们可知处于 DN 患者机体靶细胞聚集大量 Th2 细胞,并因此导致其相关细胞因子大量分泌^[11-13]。我们在研究亦证实这一现象的确存在于 DN 患者中,该疾病患者 Th1/Th2 比例明显低于健康人群,Th17/Treg 细胞百分比明显增高,雷公藤多苷可校正上述纠正这一失衡,从而改善肾小球基膜的滤过率从而阻止蛋白的滤出,其疗效与糖皮质激素类似,并具有一定的特异性。因此我们确信雷公藤多苷能显著减少肾病患者的蛋白尿,

能有效拮抗免疫介导所导致的肾小球足细胞损伤,从而减轻足细胞损伤的原因与其可校正患者 T 淋巴细胞分布失衡有关。

综上所述,雷公藤多苷可明显改善早期糖尿病肾病患者肾功能,并具有一定的血管内皮修复效应,同时可纠正患者 T 淋巴细胞亚群失衡现象,临床建议推广运用。

参考文献

- [1] Ahn JH, Yu JH, Ko SH, et al. Prevalence and determinants of diabetic nephropathy in Korea: Korea national health and nutrition examination survey[J]. Diabetes Metab J, 2014, 38(2): 109-119.
- [2] Mima A. Inflammation and oxidative stress in diabetic nephropathy: new insights on its inhibition as new therapeutic targets[J]. J Diabetes Res, 2013, 2013(3): 248563.
- [3] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南[M]. 北京:北京大学出版社, 2011: 42-43.
- [4] 于敏, 史耀勋, 田溢, 等. 黄葵胶囊治疗糖尿病肾病机制探讨[J]. 吉林中医药, 2012, 32(8): 829-831.
- [5] 李爽, 刘畅, 张弘. 2 型糖尿病早期肾损伤危险因素分析[J]. 医药世界, 2009, 11(8): 387.
- [6] 林子桐, 张超, 沈雪梅. 糖尿病肾病发病机制研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2014, 28(5): 765-773.
- [7] 王晓光, 谭婷婷, 任迪. 补脾益肾活血法对糖尿病肾病患者氧化应激水平及炎症因子的影响? [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2015(12): 1063-1067.
- [8] 林绥, 阙慧卿, 彭华毅, 等. 雷公藤中二萜内酯类成分的研究(II)[J]. 药学报, 2011, 46(8): 942-945.
- [9] 孔岩. Th 细胞平衡在雷公藤多苷预防和治疗 2 型糖尿病肾病中的机制研究[D]. 天津: 天津医科大学, 2013.
- [10] 凌俐, 魏革, 陈丽, 等. 雷公藤多苷联合缬沙坦治疗特发性膜性肾病的临床观察[J]. 中国药房, 2015, 26(35): 4997-4999.
- [11] 刘加洪, 王英年, 赵云峰, 等. Th1-Th2 平衡失调与人类疾病关系及其相关治疗研究现状[J]. 青岛大学医学院学报, 2002, 38(4): 366-368.
- [12] 姚金晶, 陈宜涛. Th1/Th2 平衡调节与疾病发生的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(13): 2597-2600.
- [13] 徐孝平, 潘永明, 刘瑞敏, 等. 亚健康状态大鼠的神经-免疫-内分泌机制的研究[J]. 中国比较医学杂志, 2012, 22(8): 33-39.

(2017-06-05 收稿 责任编辑: 王明)