

百令胶囊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

李舒敏*, 杨丕坚, 吕以培, 黄中莹, 黄虹

(广西壮族自治区钦州市第二人民医院内分泌科, 广西 钦州 535000)

[摘要] 目的:探讨早期糖尿病肾病(DN)患者血管内皮功能、T淋巴细胞的变化及百令胶囊的免疫干预治疗作用。方法:选择早期糖尿病肾病患者60例,分为常规治疗组、百令胶囊治疗组,每组30例,常规治疗组仅予胰岛素严格控制血糖,百令胶囊治疗组在常规治疗组治疗的基础上加用百令胶囊,5粒/次,3次/日,共服用8周;健康对照组30例,检测DN患者治疗前后及健康受检者外周血T淋巴细胞亚群及血清可溶性细胞间黏附分子-1(sICAM-1)、血内皮素-1(ET-1)水平,同时利用超声检测肱动脉血流介导的内皮依赖性血管舒张功能(FMD)。结果:DN组外周血CD4⁺,CD4/CD8比值,sICAM-1,ET-1均高于健康对照组($P < 0.05$);DN组CD8⁺,CD3⁺T细胞亚群数,FMD低于健康对照组($P < 0.05$);百令胶囊治疗组治疗后外周血CD4⁺,CD4/CD8,sICAM-1,ET-1[CD4⁺(37.5 ± 3.1)%,CD4/CD8(1.56 ± 0.16),sICAM-1(476 ± 94) μg·L⁻¹,ET-1(167 ± 9.9) ng·L⁻¹]较常规治疗组[(41.3 ± 2.8)%,(2.07 ± 0.17),(509 ± 89) μg·L⁻¹,(201 ± 13.7) ng·L⁻¹]下降更明显,且差异有统计学意义($P < 0.05$),CD8⁺,CD3⁺T细胞亚群数。FMD升高更明显[CD8⁺(24.1 ± 2.98)% vs (20.8 ± 1.8)%,CD3⁺(68.4 ± 3.6)% vs (62.1 ± 4.7)%,FMD(9.25 ± 1.18)% vs (7.98 ± 1.24)%],且差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论:百令胶囊能有有效的调节糖尿病肾病患者细胞免疫,并改善血管内皮功能。

[关键词] 糖尿病肾病;内皮功能障碍;T淋巴细胞亚群;百令胶囊

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)11-0258-04

Effect of the Bailing Capsule on T Lymphocyte Subsets and Vascular Endothelial Function in Early Diabetic Nephropathy

LI Shu-min*, YANG Pi-jian, LV Yi-pei, HUANG Zhong-ying, HUANG Hong

(Department of Endocrinology, the Second People's Hospital of Qinzhou, Qinzhou 535000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the changes of T lymphocyte subsets and endothelial function in early diabetic nephropathy and the effect of Bailing capsule on immune intervention. **Method:** Sixty patients with early diabetic nephropathy were selected and randomly divided into 2 groups, routine group ($n = 30$) was treated with insulin; the Bailing capsule group ($n = 30$) was treated with Bailing capsule (54) combined with insulin. Thirty healthy as control group. After 8 weeks of treatment, the endothelium-dependent flow-mediated dilatation (FMD) of brachial artery was determined with ultrasound, and the levels of soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1), endothelin-1 (ET-1) and T lymphocyte subsets were measured respectively before and after treatment. **Result:** All patients with early diabetic nephropathy showed that the CD4⁺T cells, CD4/CD8, sICAM-1, ET-1 was higher than that of the control group ($P < 0.05$), the CD3⁺T cells, CD8⁺T cells and FMD were lower than those of the control group ($P < 0.05$). After treatment the CD4⁺T cells, CD4/CD8, sICAM-1, ET-1 in the Bailing capsule group [CD4⁺(37.5 ± 3.1)%, CD4/CD8(1.56 ± 0.16), sICAM-1(476 ± 94) μg·L⁻¹, ET-1(167 ± 9.9) ng·L⁻¹] was decreased more significantly than routine group [(41.3 ± 2.8)%, (2.07 ± 0.17), (509 ± 89) μg·L⁻¹, (201 ± 13.7) ng·L⁻¹] ($P < 0.05$). After treatment the CD3⁺T cells,

[收稿日期] 20111127(002)

[通讯作者] *李舒敏,副主任医师,从事2型糖尿病慢性并发症的发病机制研究,Tel:1351777268

CD8⁺T cells and FMD in the Bailing capsule group was increased more significantly than routine group [CD8⁺ (24.1 ± 2.98)% vs (20.8 ± 1.8)%, CD3⁺ (68.4 ± 3.6)% vs (62.1 ± 4.7)%, FMD (9.25 ± 1.18)% vs (7.98 ± 1.24)%] ($P < 0.05$). **Conclusion:** The Bailing capsule can effectively regulate the patient's cellular immunity and recovery vascular endothelial function with early diabetic nephropathy.

[**Key words**] diabetic nephropathies; endothelial dysfunction; T-lymphocyte subsets; Bailing capsule

糖尿病肾病(DN)是糖尿病主要慢性并发症之一,亦是终末期肾脏疾病最常见的单一病因。其确切的发病机制尚未明确,但随着对糖尿病患者内皮功能障碍研究的深入,越来越多研究表明内皮功能障碍是糖尿病肾病的发病环节之一。同时研究亦表明免疫调节异常可能在2型糖尿病及其并发症的发生、发展起到核心作用^[1]。冬虫夏草是我国传统的名贵药材,研究发现冬虫夏草具有多重药理活性,如免疫调节、降血糖、肝肾保护等^[2]。百令胶囊为发酵冬虫夏草粉(中华被毛孢经液体深层发酵所得菌丝体的干燥粉末)制成的胶囊,与天然虫草基本一致,常作为天然虫草代用品用于临床,具有明显的免疫调节作用。为探讨早期DN患者血管内皮功能、T细胞免疫功能的改变及百令胶囊干预的效果,本次研究着重观察早期糖尿病患者血管内皮功能、T淋巴细胞的变化及百令胶囊的免疫干预治疗,旨在探讨百令胶囊增强细胞免疫作用及其作用机制,为临床治疗提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择2009~2010年在我院住院的2型糖尿病肾病患者60例,均符合1999年WHO糖尿病标准。纳入标准:尿微量白蛋白排泄量(urinary albumin excretion rate, UAER)为20~200 μg·min⁻¹或24 h尿白蛋白总量为30~300 mg。将患者分为常规治疗组[30例,男16例,女14例,年龄(54.30 ± 11.16)岁]和百令胶囊治疗组[30例,男15例,女15例,年龄(55.45 ± 12.09)岁]。另选取同期在我院门诊体检的健康者30例作为健康对照组[男14例,女16例,年龄(51.29 ± 11.12)岁],3组性别、年龄差异无统计学意义。

1.2 排除标准 冠心病、脑卒中、肝病、血液系统疾病、全身或尿路感染、血尿、周围血管疾病、其他原因引起的肾病与肾炎、发热、妊娠、充血性心力衰竭、吸烟以及非DN引起的高血压等。观察前近2周末应用胰岛素增敏剂、调脂药、血管紧张素转化酶抑制剂及内皮功能保护剂等。

2 方法

2.1 治疗方法 常规治疗组仅予胰岛素严格控制

血糖,百令胶囊治疗组在常规治疗组治疗的基础上加用百令胶囊(杭州中美华东制药有限公司生产),5粒/次,3次/日,共服用8周。

2.2 血清可溶性细胞间黏附分子-1(sICAM-1)及血内皮素-1(ET-1)的检测 sICAM-1和ET-1均采用ELISA法检测,sICAM-1检测试剂盒购自上海锐聪科技发展有限公司,ET-1检测试剂盒购自解放军东亚免疫技术研究所,实验步骤按照产品说明书进行。

2.3 T淋巴细胞亚群的检测 抽取患者肘静脉血3 mL置于肝素抗凝管中。在6 h内测定T淋巴细胞亚群。采用贝克曼公司Coulter Epics XL流式细胞仪进行检测。CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺抗体购自BD公司。

2.4 肱动脉血流介导的内皮依赖性血管舒张功能(flow mediated vasodilation, FMD)的测定 参照向光大等^[3]所用的方法测定FMD。应用美国GE公司LOGIQ-500彩色超声和7.0线阵探头,探测深度4 cm,同步记录心电图。每次分别测3个心动周期,取其平均值。受试者测试前休息15 min,在测定基础值(D0)后进行反应性充血试验,将血压计袖带置于肘下充气加压200 mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa),4~5 min后迅速将袖带放气减压,放气后90 s内测肱动脉内径(D1)。在整个测试过程中,超声探头始终处于固定位置,每次测量D1均取同一部位。FMD的变化用百分比表示,当FMD < 10%时定义为内皮损害。

$$FMD = (D1 - D0) / D0 \times 100\%$$

2.5 统计学方法 采用SPSS 11.5统计软件处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较用 t 检验;计数资料采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 DN患者常规治疗组治疗前与百令胶囊治疗组治疗前一般指标的比较 两组患者的空腹血糖(FBG)、收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、血尿酸(UA)、胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL)、糖化血红蛋白(HbA1C)比较差异无统计学意义。见表1。

表 1 DN 常规治疗组治疗前与百令胶囊治疗组治疗前一般指标的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 30$)

指标	常规治疗组	百令胶囊治疗组
FBG/mm \cdot L ⁻¹	7.3 \pm 2.1	7.4 \pm 2.1
SBP/mmHg	129.0 \pm 10.0	128.0 \pm 12.0
DBP/mmHg	74.0 \pm 6.0	70.0 \pm 10.0
UA/ μ mol \cdot L ⁻¹	384.2 \pm 46.5	368.9 \pm 45.8
TC/mmol \cdot L ⁻¹	4.7 \pm 1.6	4.7 \pm 1.7
LDL/mmol \cdot L ⁻¹	3.4 \pm 0.8	3.3 \pm 0.8
HbA1C/%	6.9 \pm 1.1	6.8 \pm 1.3

注:与常规治疗组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

3.2 DN 患者治疗前与健康对照组各项指标的比较 DN 组外周血 CD4⁺, CD4/CD8, sICAM-1, ET-1 均高于健康对照组 ($P < 0.05$); DN 组 CD8⁺, CD3⁺T 细胞亚群数、FMD 低于健康对照组 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 DN 组治疗前与正常组各项指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	DN 组 ($n = 60$)	正常组 ($n = 30$)
CD3 ⁺ T 淋巴细胞/%	59.7 \pm 7.3 ¹⁾	71.6 \pm 5.4
CD4 ⁺ T 淋巴细胞/%	46.6 \pm 4.3 ¹⁾	28.9 \pm 3.5
CD8 ⁺ T 淋巴细胞/%	18.7 \pm 2.5 ¹⁾	25.4 \pm 4.2
CD4/CD8	2.23 \pm 0.30 ¹⁾	1.17 \pm 0.32
sICAM-1/ μ g \cdot L ⁻¹	590.0 \pm 117.0 ¹⁾	357.0 \pm 29.0
ET-1/ng \cdot L ⁻¹	219.6 \pm 10.8 ¹⁾	64.9 \pm 8.1
FMD/%	7.5 \pm 1.4 ¹⁾	11.9 \pm 1.3

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

3.3 DN 患者常规治疗组治疗前与百令胶囊治疗组治疗前各项指标的比较 T 细胞亚群, sICAM-1, ET-1, FMD 差异无统计学意义, 见表 3。

表 3 DN 常规治疗组治疗前与百令胶囊治疗组治疗前各项指标的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 30$)

指标	常规治疗组	百令胶囊治疗组
CD3 ⁺ T 淋巴细胞/%	58.6 \pm 6.2	60.1 \pm 4.4
CD4 ⁺ T 淋巴细胞/%	47.5 \pm 3.2	45.8 \pm 4.2
CD8 ⁺ T 淋巴细胞/%	18.1 \pm 2.3	19.3 \pm 3.8
CD4/CD8	2.1 \pm 0.2	2.5 \pm 0.2
sICAM-1/ μ g \cdot L ⁻¹	576.0 \pm 104.0	601.0 \pm 87.0
ET-1/ng \cdot L ⁻¹	212.0 \pm 16.4	226.0 \pm 9.5
FMD/%	7.1 \pm 1.3	7.6 \pm 1.3

注:与常规治疗组比较¹⁾ $P < 0.05$ (表 4 同)。

3.4 DN 患者常规治疗组治疗后与百令胶囊治疗组治疗后各项指标的比较 百令胶囊治疗组治疗后

外周血 CD4⁺, CD4/CD8, sICAM-1, ET-1 较常规治疗组下降更明显, 且差异有统计学意义 ($P < 0.05$); CD8⁺, CD3⁺T 细胞亚群数, FMD 升高更明显, 且差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 DN 常规治疗组治疗后与百令胶囊治疗组治疗后各项指标的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 30$)

指标	常规治疗组	百令胶囊治疗组
CD3 ⁺ T 淋巴细胞/%	62.1 \pm 4.7	68.4 \pm 3.6 ¹⁾
CD4 ⁺ T 淋巴细胞/%	41.3 \pm 2.8	37.5 \pm 3.1 ¹⁾
CD8 ⁺ T 淋巴细胞/%	20.8 \pm 1.8	24.1 \pm 3.0 ¹⁾
CD4/CD8	2.1 \pm 0.2	1.6 \pm 0.2 ¹⁾
sICAM-1/ μ g \cdot L ⁻¹	509.0 \pm 89.0	476.0 \pm 94.0 ¹⁾
ET-1/ng \cdot L ⁻¹	201.0 \pm 13.7	167.0 \pm 9.9 ¹⁾
FMD/%	8.0 \pm 1.2	9.3 \pm 1.2 ¹⁾

4 讨论

DN 的发生是多因素参与、相互作用的结果, 其发病机制至今尚未完全阐明。近年来越来越多的研究表明 2 型糖尿病存在着明显的细胞免疫和体液免疫异常, 对 DN 患者肾活检也发现, 在肾小球、肾小管、肾间质和毛细血管有免疫物质 IgA, IgG, C3, C4 和人纤维连接素相关抗原的沉积^[4], 因此免疫因素可能是 DN 发生的一个重要原因。同时研究亦表明在 DN 发病的不同阶段, 存在着不同的 Th1 和 Th2 优劣势^[5]。机体免疫系统的激活产生的炎症因子可导致血管内皮的损伤, 进而促进血管并发症的发生、发展。

本研究表明, 与健康者比较, DN 患者外周血 T 淋巴细胞总数偏低, CD4⁺T 淋巴细胞计数升高, CD8⁺T 淋巴细胞计数减少, CD4/CD8 比值升高, 提示 DN 患者存在着明显的细胞免疫功能异常。同时亦发现在 DN 患者血清 sICAM-1 显著升高, ICAM-1 是免疫球蛋白超家族的一种单链跨膜黏糖蛋白, 可以与白细胞表面的淋巴细胞相关抗原-1 (LFA-1) 互为配体, 调节和介导多种免疫反应。血清中 sICAM-1 水平和细胞表面的 ICAM-1 分子数量呈正比^[6], 测定血清 sICAM-1 水平可间接反应内皮细胞表面 ICAM-1 的表达量, 从而反映出炎症的程度。在高糖状态下, 活化的血管内皮细胞表达大量淋巴细胞功能相关抗原配体 ICAM-1, 可增强 T 淋巴细胞和内皮细胞间形成强大的黏附力, 加速内皮细胞的炎症损伤^[7]。而内皮细胞的损伤是 ET-1 增高的重要机制之一, 血浆中 ET-1 水平增高反映出血管内皮损伤或功能失调^[8], 本研究亦表明 DN 患者血清 ET-1 水平

明显升高,FMD 值明显下降,进一步印证上述理论。

虫草真菌可对机体的免疫系统进行不同层次的调节^[9],实验研究亦表明虫草真菌有较强的免疫抑制作用,能抑制绵羊红细胞免疫所致的特异性抗体的产生,能抑制网状内皮系统的吞噬作用,具有抗炎及免疫调节作用而无激素样副作用^[10]。百令胶囊是冬虫夏草菌种经低温发酵研制而成的纯中药制剂。主要成分是人工虫草菌粉,与天然虫草主要成分一致。主要含有D-甘露醇、虫草酸、虫草多糖、载体生物碱、多种氨基酸、多种维生素及微量元素等成分。研究表明,百令胶囊具有提高免疫及抗炎作用,通过抑制炎症因子IL-10,IL-6,增加sICAM-1表达,从抑制淋巴细胞增殖,同时百令胶囊的双向免疫调节与调控sICAM-1作用与剂量相关^[11]。本研究结果显示百令胶囊能使DN患者外周血CD4⁺T淋巴细胞计数降低,CD8⁺T淋巴细胞计数升高,CD4/CD8下降(与常规治疗组比较 $P < 0.05$),使血清sICAM-1,ET-1水平明显下降(与常规治疗组比较 $P < 0.05$),进一步证实百令胶囊具有调节免疫及抗炎作用,进而起到治疗作用。

总之,细胞免疫功能不但参与了糖尿病的发生、发展,还参与了微血管并发症的发生、发展。百令胶囊可以作为DN的一种有效辅助治疗药物,对于改善DN的预后具有重要意义,为临床治疗DN提供出新的理论依据。

[参考文献]

[1] Pickup J C. Inflammation and activated innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes [J]. *Diabetes Care*,2004,27(3):813.

- [2] 姜微哲,渠凯,朱海波. 冬虫夏草提取物调血脂与抗氧化活性[J]. *中国实验方剂学杂志*,2011,17(12):127.
- [3] Guangda X,Linshuang Z,Jie H,et al. Apo E4 allele is associated with endothelium-dependent arterial dilation in women with type 2 diabetes [J]. *Diabetes Res Clin Pract*,2006,72(2):155.
- [4] 邱明才. 糖尿病的多器官免疫损伤[J]. *国际内分泌代谢杂志*,2006,26(3):215.
- [5] 吴晓燕,汤旭磊,高林,等. 外周血Th1/Th2淋巴细胞失衡与2型糖尿病肾病的关系[J]. *兰州大学学报:医学版*,2007,33(1):30.
- [6] Leeuwenberg J F,Smeets E F,Neeffjes J J,et al. E-selectin and intercellular adhesion molecule-1 are released by activated human endothelial cells *in vitro* [J]. *Immunology*,1992,77(4):543.
- [7] 刘强,邓华聪,冯正平,等. 高糖状态下内脂素对血管内皮细胞单核细胞趋化蛋白1及细胞间黏附分子1表达的影响[J]. *解放军医学杂志*,2010,35(4):402.
- [8] 杨丕坚,吕以培,李舒敏,等. 不同时期糖尿病肾病患者血浆ET-1和CGRP含量变化及其临床意义[J]. *重庆医学*,2011,40(5):462.
- [9] 丁宝金,邱相君. 虫草真菌对机体的免疫调节作用[J]. *中国临床药理学与治疗学*,2004,9(1):17.
- [10] 徐寒松,谢晓云,赵胜,等. 百令胶囊对Graves病自身抗体的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*,2011,17(16):253.
- [11] 王苏娅,孟雪芹,陈江华,等. 人工培养冬虫夏草(百令胶囊)免疫抑制作用细胞因子及可溶性细胞间黏附因子-1调控机制探讨[J]. *中国中西医结合杂志*,2001,21(6):152.

[责任编辑 聂淑琴]