

益气养阴化浊通络方对早期糖尿病肾病患者 CTGF, IV型胶原及Cys C表达的影响

蔡文^{1*}, 吕芹², 韩迪²

(1. 南阳市中医院, 河南 南阳 473060; 2. 南阳医学高等专科学校, 河南 南阳 473061)

[摘要] 目的:探讨益气养阴化浊通络方对早期糖尿病肾病(DN)患者血清结缔组织生长因子(CTGF)、IV型胶原及胱抑素(Cys C)表达水平的影响。方法:63例早期DN患者随机分组,对照组(31例)采用DN常规治疗,治疗组(32例)在常规治疗基础上加用益气养阴化浊通络方,疗程2个月。采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定两组患者治疗前后血清CTGF、IV型胶原蛋白含量,颗粒增强透射免疫比浊法(PETIA)测定Cys C水平,同时观察空腹血糖、尿微量白蛋白排泄率(UAER)的变化。结果:与治疗前比较,2组患者治疗后CTGF、IV型胶原水平下降($P < 0.05$, $P < 0.01$), Cys C, UAER, 空腹血糖指标改善($P < 0.05$, $P < 0.01$)。同时治疗组治疗后CTGF、IV型胶原, Cys C水平改善优于对照组($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论:益气养阴化浊通络方可通过降低DN患者CTGF、IV型胶原水平而延缓DN的发展。

[关键词] 早期糖尿病肾病; 益气养阴化浊通络方; 结缔组织生长因子; IV型胶原; 胱抑素

[中图分类号] R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)14-0266-03

Effect of Yiqi Yangyin Huazhuo Tongluo Recipe on Plasma CTGF, Type IV Collagen and Cys C in Patients with Early Diabetic Nephropathy

CAI Wen^{1*}, LV Qin², HAN Di²

(1. Nanyang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanyang 473060, China;

2. Nanyang Medical College, Nanyang 473061, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Yiqi Yangyin Huazhuo Tongluo recipe (YQYYHZTLr) on plasma connective tissue growth factor (CTGF), type IV collagen and Cystatin C (Cys C) in patients with early diabetic nephropathy (DN). **Method:** Six-three patients with DN were randomly divided into the control group ($n = 31$) and the treatment group ($n = 32$). The control group was applied DN regular treatment and the treatment group was added to YQYYHZTLr on the basis of regular treatment. Both of them were treated for two months. Plasma CTGF and type IV collagen were determined with ELISA in two groups both before and after treatment. Plasma Cys C was determined with particle-enhanced turbidimetric immunoassay (PETIA). Fasting blood glucose and urinary albumin excretion rate (UAER) were also examined. **Result:** Plasma levels of CTGF and type IV collagen between the two groups were significantly lower than those of pretreatment ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and favorable changes of levels of other parameters (Cys C, UAER and fasting blood glucose) were also demonstrated ($P < 0.05$, $P < 0.01$). At the same time, plasma levels of CTGF, type IV collagen and Cys C were different significantly in the treatment group after treatment compared with the control group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** YQYYHZTLr could delay the development of early DN by decreasing the levels of CTGF and type IV collagen.

[Key words] Yiqi Yangyin Huazhuo Tongluo recipe; early diabetic nephropathy; connective tissue growth factor; type IV collagen; cystatin C

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病常见严重并发症之一,是导致终末期肾病的主要原因,其发生率呈逐年上升趋势。笔者根据早期 DN 病因病机特点,确立了益气养阴化浊通络方治疗早期 DN,临床疗效满意。本研究旨在观察益气养阴化浊通络方对早期 DN 患者血清结缔组织生长因子(connective tissue growth factor,CTGF)、IV 型胶原、胱抑素(Cystatin C, Cys C)表达的影响,进一步探讨益气养阴化浊通络方治疗早期 DN 的作用机制。

1 材料与方法

1.1 一般资料 收集 2010 年 6 月—2011 年 7 月南阳市中医院、南阳医学高等专科学校附属第二医院符合纳入标准的 DN 患者。根据随机数字表,共 66 例按 1:1 比例随机分成对照组和治疗组,因放弃治疗或治疗变动等退出 3 例,最终共有 63 例完成治疗。对照组 31 例,男 19 例,女 12 例;年龄 18~60 岁,平均(41.26±11.02)岁;病程 3~11 年,平均(7.96±2.87)年。治疗组 32 例,男 21 例,女性 11 例;年龄 19~60 岁,平均(42.03±13.05)岁;病程 3.5~12 年,平均(7.15±3.06)年。两组性别、年龄、病程、疾病活动性等经统计学处理,差异无显著性意义,具有可比性。

1.2 诊断标准 糖尿病(DM)按 1999 年 WHO 制定的标准诊断。DN 诊断按照国际公认的 Mogensen 分期标准,早期 DN 即 Mogensen 分期的 III 期^[1]。中医气阴两虚、浊瘀阻络型辨证标准参照 2002 年《中药新药临床研究指导原则(试行)》^[2]和中华中医药学会肾病分会制定的“糖尿病肾病诊断、辨证分型及疗效评定标准”(试行方案)^[3]。

1.3 纳入标准 ①符合 DM 诊断标准;②符合早期 DN 诊断标准;③符合中医气阴两虚、浊瘀阻络型辨证标准;④年龄 18~60 岁;⑤停用中药治疗至少 1 月。

1.4 排除标准 ①年龄 <18 岁或 >60 岁者;②经确诊为 1 型糖尿病,其他类型糖尿病及妊娠糖尿病患者;③同时患有其他疾病或合并症者,如充血性心力衰竭、原发性高血压或合并其他严重原发性疾病。④近 1 个月内有糖尿病酮症酸中毒及泌尿系感染者。⑤妊娠或哺乳期的女性患者。

1.5 治疗

1.5.1 对照组 在 DM 教育、优质低蛋白饮食的基础上,根据空腹血糖(fasting blood glucose,FBG)及尿糖变化,给予口服降糖药,不适应口服降糖药者,

皮下注射胰岛素控制血糖在理想水平(空腹 <7.0 mmol·L⁻¹,餐后 <9.0 mmol·L⁻¹);合并高血压者,加用降压药使血压控制在正常范围(130/80 mmHg,1 mmHg=0.133 kPa);常规口服盐酸贝那普利片,每次 10 mg,1 次/d。

1.5.2 治疗组 在对照组治疗的基础上加服益气养阴化浊通络方,处方:黄芪、太子参、葛根、薏苡仁各 30 g,生地黄、丹参各 20 g,鬼箭羽 15 g,丝瓜络、白芥子、穿山甲各 10 g 等。每天 1 剂,水煎分早晚各 1 次服。均连续治疗 2 个月。

1.6 观察指标及检测方法 血清 CTGF,IV 型胶原蛋白运用酶联免疫吸附试验(ELISA)方法使用酶标仪测定,试剂盒分别购自武汉博士德生物有限公司和大连中山生物制剂有限公司。血清胱抑素(Cys C)采用颗粒增强透射免疫比浊法(PETIA)在 Olympus AU640 型自动生化分析仪上进行测定。尿微量白蛋白排泄率(UAER)采用放射免疫分析法测定,试剂盒由中国北方免疫试剂研究所提供。严格按试剂盒说明书操作。

1.7 统计学方法 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,均数比较用 *t* 检验。采用 SPSS 16.0 for windows 软件统计分析。

2 结果

2.1 两组治疗前后血清 CTGF,IV 胶原水平比较 见表 1。治疗后两组血清 CTGF,IV 胶原水平均较治疗前显著降低($P < 0.05, P < 0.01$),且治疗组 CTGF,IV 胶原水平变化更为显著($P < 0.05, P < 0.01$)。

表 1 两组治疗前后血清 CTGF,IV 胶原水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	<i>n</i>	CTGF/pg·L ⁻¹	IV 胶原/μg·L ⁻¹
对照	治疗前	31	219.67±28.61	198.36±36.16
	治疗后	31	170.74±36.21 ¹⁾	156.71±29.39 ¹⁾
治疗	治疗前	32	221.91±30.72	188.69±31.27
	治疗后	32	137.35±28.12 ^{2,3)}	101.29±25.68 ^{2,4)}

注:与本组治疗前比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与对照治疗后比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

2.2 两组治疗前后 FBG,UAER,Cys C 水平比较 见表 2。2 组治疗后 FBG,UAER,Cys C 含量均较治疗前明显下降($P < 0.05, P < 0.01$)。治疗后 2 组比较,Cys C 含量差异也有显著性意义($P < 0.05$)。

3 讨论

DN 的早期病理特征是肾小球肥大、基底膜增厚和系膜基质扩张,晚期则表现为肾小球硬化和间质纤维化。近年研究表明,CTGF 作为一种新的促纤维化生长因子,在 DN 的发生中占有重要地位。Liu BC 等研究表明,肾小球 CTGF 的表达和肥大的

表 2 两组治疗前后 FBG,UAER,Cys C 变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	n	FBG/mmol·L ⁻¹	UAER/ μ g·min ⁻¹	Cys C/mg·L ⁻¹
对照	治疗前	31	7.74 ± 1.03	158.19 ± 89.80	2.08 ± 0.41
	治疗后	31	6.68 ± 1.25 ¹⁾	137.87 ± 79.27 ¹⁾	1.47 ± 0.27 ²⁾
治疗	治疗前	32	7.65 ± 1.36	161.06 ± 86.13	2.16 ± 0.38
	治疗后	32	6.12 ± 1.19 ¹⁾	125.32 ± 81.36 ¹⁾	1.05 ± 0.31 ^{2,3)}

肾小球体积呈正相关,与糖尿病早期肾脏肥大密切相关^[4]。CTGF 可以上调肾小球系膜细胞中纤粘连蛋白、I 型及 IV 型胶原蛋白等细胞外基质 (ECM) 的表达,此过程是转化生长因子- β (TGF- β) 依赖和非依赖的^[5-6]。体外研究发现,在肾间质细胞中,CTGF 不仅诱导 ECM 合成,而且能介导 TGF- β 刺激的蛋白酶抑制剂的产生,从而导致 ECM 合成增加和降解减少^[7]。由此看来,CTGF 与 DN 肾小球硬化密切相关。近期的临床研究证实,尿和血 CTGF 浓度与 DN 的严重程度 (尿白蛋白排泄量) 和肾小球滤过率呈正比^[8-9],因此尿或血中 CTGF 含量被认为是 DN 的预测因子。故特异性阻断 CTGF 的表达与合成,或阻断其受体及受体后效应,将为临床防治 DN 提供新的治疗途径,从而延缓 DN 的病程进展^[10]。

DN 属中医学“消渴”、“水肿”“消瘿”等范畴,笔者认为糖尿病肾病早期病机特点是气阴两虚、浊瘀阻络。益气养阴化浊通络方中黄芪补肺健脾益气,生地黄养阴生津,故重用为君药。太子参补气健脾、生津润肺,助君药益气养阴;丹参、鬼箭羽活血化瘀;薏苡仁健脾利湿,共达去除浊邪之目的,俱为臣药。穿山甲行善走窜,内达脏腑,外达经络,活血消癥;白芥子善散“皮里膜外”之痰;丝瓜络活血通络,三药通经达络是属佐使之用。诸药相伍,共奏益气养阴、化浊通络之功效。本研究观察了早期糖尿病肾病患者在服用益气养阴化浊通络方治疗前后血中 CTGF,IV 型胶原水平的变化,结果显示,益气养阴化浊通络方能明显降低 CTGF,IV 型胶原水平,从而发挥其抗纤维化作用。

血清 Cys C 是一种理想的反映 GFR 变化的内源性标志物,能敏感、准确的反映肾功能早期损害的指标^[11]。研究发现,益气养阴化浊通络方能明显降低 DN 患者 UAER,Cys C,结果表明益气养阴化浊通络方能保护早期 DN 患者肾脏功能,这可能与抑制 CTGF 和 IV 型胶原的表达,进而减少 ECM 生成、延缓肾间质纤维化的发展有关,有待进一步研究。

[参考文献]

[1] Mogensen C E. Early glomerular hyperfiltration in

insulin-dependent diabetics and late nephropathy [J]. Scand J Clin Lab Invest, 1986, 46(3):201.

[2] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则 (试行) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002:233.

[3] 中华中医药学会肾病分会. 糖尿病肾病诊断、辨证分型及疗效评定标准 (试行方案) [J]. 上海中医药杂志, 2007, 41(7):7.

[4] Liu B C, Chen Q, Luo D D, et al. Mechanisms of irbesartan in prevention of renal lesion in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Acta Pharmacol Sin, 2003, 24(1):67.

[5] Weston B S, Wahab N A, Mason R M. CTGF mediate TGF-beta induced fibronectin matrix deposition by upregulating active alpha5beta1 integrin in human mesangial cells [J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14(3):601.

[6] Mason R M. Connective tissue growth factor (CCN2), a pathogenic factor in diabetic nephropathy. What does it do? How does it do it? [J]. J Cell Commun Signal, 2009, 3(2):95.

[7] Lee C I, Guh J Y, Chen H C, et al. Advanced glycation end-product-induced mitogenesis and collagen production are dependent on angiotensin II and connective tissue growth factor in NRK-49F cells [J]. J Cell Biochem, 2005, 95(2):281.

[8] Riser B L, Najmabadi F, Perbal B, et al. CCN3/CCN2 regulation and the fibrosis of diabetic renal disease [J]. J Cell Commun Signal, 2010, 4(1):34.

[9] Nguyen T Q, Tarnow L, Andersen S, et al. Urinary connective tissue growth factor excretion correlates with clinical markers of renal disease in a large population of type 1 diabetic patients with diabetic nephropathy [J]. Diabetes Care, 2006, 29(1):83.

[10] Guha M, Xu Z G, Tung D, et al. Specific down-regulation of connective tissue growth factor attenuates progression of nephropathy mouse models of type 1 and type 2 diabetes [J]. FASEB J, 2007, 21(12):3355.

[11] Hojs R, Bevc S, Ekart R, et al. Serum cystatin C as an endogenous marker of renal function in patients with mild to moderate impairment of kidney function [J]. Nephrol Dial Transplant, 2006, 21(7):1855.

[责任编辑 邹晓翠]