

中西医结合治疗对慢性肾衰竭患者免疫紊乱状态的影响研究

——附 25 例临床资料

卫德强

(宜兴市中医医院肾内科,江苏宜兴 214200)

摘要 目的:观察中西医结合治疗对慢性肾衰竭(CRF)患者外周血 CD4⁺ CD25⁺ CD127^{low/-}调节性 T 淋巴细胞及白细胞介素-10(IL-10)表达的影响。方法:将 50 例慢性肾衰竭患者随机分为治疗组与对照组,每组 25 例。对照组予常规治疗,治疗组在常规治疗的基础上予中药汤剂内服和中药灌肠,2 组均以 2 个月为 1 个疗程。观察并比较 2 组患者临床疗效、肾功能改变情况,采用流式细胞术检测患者治疗前后 CD4⁺ CD25⁺ CD127^{low/-}调节性 T 淋巴细胞水平,酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测血浆 IL-10 水平的变化。结果:治疗后治疗组总有效率为 96.0%,明显高于对照组的 68.0%($P<0.05$)。治疗后 2 组患者血肌酐、内生肌酐清除率均较治疗前明显改善($P<0.05$, $P<0.01$),治疗前后差值比较治疗组明显高于对照组($P<0.05$)。2 组患者治疗后 CD4⁺ CD25⁺ CD127^{low/-}调节性 T 淋巴细胞及 IL-10 表达水平均较治疗前明显升高($P<0.05$, $P<0.01$),治疗前后差值比较治疗组明显高于对照组($P<0.01$)。结论:在西医常规治疗的基础上加用中药汤剂口服和中药灌肠可提高临床疗效,改善肾功能,并可能通过升高 CD4⁺ CD25⁺ CD127^{low/-}调节性 T 淋巴细胞及 IL-10 表达水平改善患者的免疫紊乱状态。

关键词 慢性肾衰竭 调节性 T 淋巴细胞 白介素-10 血肌酐 中药复方 直肠投药 中西医结合疗法

中图分类号 R692.505 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X(2017)07-0028-03

免疫功能缺陷是影响慢性肾衰(chronic renal failure, CRF)患者致残率和生存率的重要因素。虽然尿毒症免疫受损亦与其体液免疫的改变有关,但多是细胞免疫改变所致。以往的临床和实验研究表明,调节性 T 细胞(regulatory T cells, Tregs)在 CRF 患者细胞免疫学改变中发挥重要作用^[1-2]。本研究从 CD4⁺ CD25⁺ CD127^{low/-}调节性 T 淋巴细胞和白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)入手,观察在西医常规治疗基础上加用中药汤剂口服和中药灌肠对上述指标的影响,并与单纯使用西医常规治疗者进行对照,现将结果报道如下。

1 临床资料

1.1 一般资料 50 例 CRF 患者来源于宜兴市中医医院肾内科专科门诊,采用随机数字表法分为治疗组与对照组,每组 25 例。治疗组男 15 例,女 10 例;年龄 35~68 岁,平均年龄(42.5±8.8)岁;病程 10~22 年,平均病程(15.5±3.3)年;原发基础病为慢性肾小球肾炎 14 例,糖尿病肾病 11 例。对照组男 17 例,女 8 例;年龄 36~65 岁,平均年龄(41.7±8.5)岁;病程 9~21 年,平均病程(16.1±4.1)年;原发基础病为

慢性肾小球肾炎 17 例,糖尿病肾病 8 例。2 组患者性别、年龄、病程等一般情况比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 诊断标准 诊断分期标准参照改善全球肾脏病预后组织(kidney disease:improving global outcomes, KDIGO)慢性肾脏病临床实践指南(美国,2012 年)^[3]。

1.3 纳入标准 (1)肾功能分期在 3~4 期者;(2)年龄在 18~70 岁之间;(3)感染、酸中毒、电解质紊乱、高血压等得到有效控制;(4)治疗过程中未进行肾脏替代治疗;(5)签署知情同意书。

1.4 排除标准 (1)妊娠或哺乳期患者;(2)合并心、脑、肝以及造血系统等严重原发病者;(3)过敏体质或对多种药物过敏者;(4)无法合作,如精神病患者;(5)病历资料不完整或依从性较差者。

2 治疗方法

2.1 对照组 给予 CRF 的常规治疗,包括注意休息,优质低蛋白低盐饮食,补充必需的氨基酸,维持营养,调节水、电解质与酸碱代谢平衡,纠正贫血状态,控制血压、稳定血糖等对症处理措施。

2.2 治疗组 在对照组治疗的基础上,给予内服中药汤剂:生黄芪 30g、制大黄 10g、白术 12g、党参 12g、薏苡仁 30g、山药 30g、莪术 10g、三棱 10g、白花蛇舌草 30g、石韦 20g、六月雪 30g、丹参 20g、土茯苓 30g、杜仲 15g、续断 15g。每日 1 剂,分早晚 2 次服用。同时给予中药灌肠,方药组成:生大黄 30g、六月雪 30g、牡蛎 30g、苦参 30g、土茯苓 30g、生甘草 15g,保留灌肠,每日 1 剂。

2 组均以 2 个月为 1 个疗程。

3 疗效观察

3.1 观察指标

3.1.1 症状体征 观察治疗期间 2 组患者头晕、乏力、食欲减退、恶心呕吐、腰酸、尿量及大便情况等症状体征,每周记录 1 次。

3.1.2 肾功能 治疗前后检测肾功能指标包括血肌酐(Scr)、内生肌酐清除率(Ccr)。

3.1.3 $CD4^+$ $CD25^+$ $CD127^{low/-}$ 调节性 T 淋巴细胞检测 治疗前后各检测 1 次。采用流式细胞术,患者于早晨空腹时采集静脉血 3mL,乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K2)抗凝,6h 内完成检测。各样品管取 100 μ L 全血,依次加入 20 μ L $CD4$ 抗体、20 μ L $CD25$ 抗体、10 μ L $CD127$ 抗体(均购自美国 BD 公司),振荡混匀,避光温育 15min,加入 1mL 红细胞裂解液,振荡混匀,避光温育 15min,用 Epics-XL 流式细胞仪(美国 BC 公司)检测分析 $CD4^+$ $CD25^+$ $CD127^{low/-}$ 的比例。

3.1.4 血浆 IL-10 检测 治疗前后各检测 1 次。采用酶联免疫吸附测定法(enzyme linked immunosorbent assay,ELISA)试剂盒检测。将抗凝全血离心 10min,3000r/min,1h 内分离血浆,放入-85℃超低温冰箱待检。试剂盒均购自 R&D 公司(规格:48T+96T),由专业技术人员严格按照试剂盒说明书进行操作。

3.2 疗效标准 采用 1997 年全国中医肾脏病学术会议制定的疗效标准^[5]。显效:自觉症状显著改善,主要症状消失,Scr 下降 $\geq 30\%$;有效:临床症状明显改善,Scr 下降 15%~30%;改善:Scr 下降未达 15%,临床症状改善;无效:Scr 以及临床症状无改善或加重。

3.3 统计学方法 采用 SPSS 16.0 统计软件,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,先进行资料正态性检验和方差齐性检验,组间差异比较采用独立样本 t 检验,治疗前后比较采用配对 t 检验,等级资料采用秩和检验,相关性分析采用 Pearson 线性相关分析,以 $P < 0.05$ 为

差异有统计学意义。

3.4 治疗结果

3.4.1 2 组患者临床疗效比较 见表 1。

表 1 治疗组与对照组临床疗效比较 例(%)

组别	例数	显效	有效	改善	无效	总有效率(%)
治疗组	25	15(60.0)	6(24.0)	3(12.0)	1(4.0)	96.0 [*]
对照组	25	10(40.0)	4(16.0)	3(12.0)	8(32.0)	68.0

注:与对照组比较, $P < 0.05$ 。

3.4.2 2 组患者治疗前后肾功能指标比较 见表 2。

3.4.3 2 组患者治疗前后 $CD4^+$ $CD25^+$ $CD127^{low/-}$ 调节性 T 淋巴细胞、IL-10 含量比较 见表 3。

表 2 治疗组与对照组治疗前后肾功能指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	Ccr(mL/min)			Scr(μ mol/L)		
		治疗前	治疗后	差值	治疗前	治疗后	差值
治疗组	25	27.5 $\pm$ 8.3	35.5 $\pm$ 7.4 [#]	11.5 $\pm$ 2.6 [*]	361.5 $\pm$ 44.1	233.6 $\pm$ 38.3 [#]	173.1 $\pm$ 25.6 [*]
对照组	25	28.6 $\pm$ 9.1	31.7 $\pm$ 5.3 [#]	9.1 $\pm$ 2.3	340.5 $\pm$ 51.6	276.2 $\pm$ 40.8 [#]	145.5 $\pm$ 27.4

注:与本组治疗前比较, $\#P < 0.05$;与对照组比较, $*P < 0.05$ 。

表 3 治疗组与对照组治疗前后 $CD4^+$ $CD25^+$ $CD127^{low/-}$ 调节性 T 淋巴细胞、IL-10 含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	$CD4^+$ $CD25^+$ $CD127^{low/-}$ 调节性 T 淋巴细胞(%)			IL-10(pg/mL)		
		治疗前	治疗后	差值	治疗前	治疗后	差值
治疗组	25	3.41 $\pm$ 0.08	6.44 $\pm$ 0.39 ^{###}	3.03 $\pm$ 0.41 ^{**}	85.3 $\pm$ 8.47	124.6 $\pm$ 12.7 ^{###}	38.7 $\pm$ 3.91 ^{**}
对照组	25	3.37 $\pm$ 0.15	5.15 $\pm$ 0.50 ^{###}	1.78 $\pm$ 0.15	85.6 $\pm$ 7.52	101.7 $\pm$ 10.5 ^{###}	15.2 $\pm$ 1.95

注:与本组治疗前比较,### $P < 0.05$;与对照组比较,** $P < 0.01$ 。

3.5 $CD4^+$ $CD25^+$ $CD127^{low/-}$ 调节性 T 淋巴细胞与 IL-10 的相关性分析 治疗前 $CD4^+$ $CD25^+$ $CD127^{low/-}$ 调节性 T 淋巴细胞与 IL-10 相关性:采用 Pearson 线性相关分析,计算出 $r = 0.782$, $P < 0.01$ 。治疗后 $CD4^+$ $CD25^+$ $CD127^{low/-}$ 调节性 T 淋巴细胞与 IL-10 相关性: $r = 0.805$, $P < 0.01$ 。表明 $CD4^+$ $CD25^+$ $CD127^{low/-}$ 调节性 T 淋巴细胞的表达水平与血浆 IL-10 的表达水平呈明显正相关,差异有统计学意义。

4 讨论

调节性 T 细胞的概念是 Sakaguchi 等于 1995 年首次提出的,多年的研究表明其与许多疾病的发生发展密切相关,如心肺疾病、糖尿病肾病、慢性肾功能不全、风湿系统疾病以及多种肿瘤^[4]。调节性 T 细胞其主要功能为抑制自身反应性 T 细胞免疫反应,抑制传统 T 细胞活化,调节 Th1 和 Th2 细胞平衡及促进相关细胞因子的分泌,在维持机体内环境稳定中发挥重要作用^[5]。研究表明,调节性 T 细胞主要通过细胞和细胞间接触的方式起到免疫抑制作用,也可通过分泌或诱导细胞因子,如 IL-10、转化生长因子 β (TGF- β)等介导^[6],强有力地抑制效应性 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ T 细胞的活化增殖。

调节性 T 细胞的表面标志有 $CD4$ 、 $CD25$ 和叉头状/翅状螺旋转录因子(forkhead/winged helix,

FoxP3)等,以往将 FoxP3 作为调控调节性 T 细胞分化、发育的标志性转录因子。新近研究表明,CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-}调节性 T 淋巴细胞的表达与 CD4⁺、CD25⁺、FoxP3⁺调节性 T 细胞表达呈正相关,可更确切地反映人体调节性 T 细胞的真实表达水平,且具有良好的免疫抑制作用^[7]。CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-}调节性 T 淋巴细胞在临床研究中应用越来越广泛,如钟锐等^[8]报道 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-}调节性 T 淋巴细胞在晚期胃癌患者外周血中表达增加。张彦红等^[9]发现系统性红斑狼疮(SLE)患者外周血中 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-}调节性 T 淋巴细胞水平也增加。因此本研究从 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-}调节性 T 淋巴细胞的角度来研究中西医结合治疗对 CRF 患者机体免疫状况的影响。

前期的临床研究结果表明,中药内服+中药灌肠+常规西药治疗能更好地改善肾功能不全患者临床症状、肾功能,显著降低血清高血清同型半胱氨酸(Hcy)、IL-6 及层黏蛋白(LN)的水平^[10]。本研究显示,中西医结合治疗在改善 CRF 患者临床症状、降低血肌酐(Scr)、提高内生肌酐清除率(Ccr)方面效果明显优于单纯使用西医常规疗法的对照组;对 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-}调节性 T 淋巴细胞和 IL-10 的检测结果也表明,加用中药汤剂内服和中药灌肠可显著提高上述指标表达水平,而这两者发挥着免疫调节剂的作用。其中 IL-10 是由效应 T 细胞产生的免疫调节因子,具有免疫抑制作用,而 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-}调节性 T 淋巴细胞可能是 IL-10 分泌的主要来源^[11]。以上结果表明,中药内服+中药灌肠+常规西药治疗从调节性 T 细胞这个层面纠正了 CRF 患者内在的免疫功能紊乱状态。

许多传统中药通过对调节性 T 细胞的影响发挥免疫调节作用,其机制主要有调整调节性 T 细胞的数量和功能,以及调控转录因子 Foxp3 和细胞因子 IL-10、TGF-β 等的表达^[12]。一些补肾健脾中药的研究提示其可提高外周血调节性 T 细胞数。CRF 的病因很多,病理生理过程也很复杂,很多因素都可以影响调节性 T 细胞的表达,不同的治疗方式也可影响调节性 T 细胞水平。如有报道称,终末期肾脏病患者血液透析治疗明显打乱了激活 T 细胞和调节性 T 细胞之间的平衡,缺少调节性 T 细胞的动员和慢性刺激导致这些病人的免疫功能不足^[13]。而 CRF 很难以单一的疗法取效,往往需要综合治疗。中医药治疗 CRF 有很好的效果,从调节性 T 细胞这个切入点探讨中医药对 CRF 免疫功能的影响具有一定的研究价值。在以后的研究中,应进一步探讨 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-}调节性 T 淋巴细胞在免疫调

节网络中发挥的作用及其作用机制,筛选更加有效的治疗方药开展针对性的治疗,从而进一步提高临床疗效。

参考文献

- [1] WANG Y M,ZHANG G Y,WANG Y,et al.Foxp3-transduced polyclonal regulatory T cells protect against chronic renal injury from adriamycin[J].J Am Soc Nephrol,2006,17(3):697.
- [2] HENDRIKX T K,VAN GURP E A,MOL W M,et al.Endstage renal failure and regulatory activities of CD4⁺CD25^{bright} FoxP3⁺ T-cells[J].Nephrol Dial Transplant,2009,24(6):1969.
- [3] ANDRASSY K M.Comments on 'KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease'[J].Kidney Int,2013,84(3):622.
- [4] 张卫平.中医药的疾病干预与调节性 T 细胞关联性的研究进展[J].中国免疫学杂志,2011,27(11):1045.
- [5] 王丽,郭宏,王曦,等.不同分期老年 2 型糖尿病肾病患者外周血调节性和辅助性 T 细胞的表达[J].中国老年学杂志,2014,34(18):5142.
- [6] 邓明华,谢林伸.雷公藤多甙联合糖皮质激素对肾病综合征调节性 T 细胞的影响和临床疗效分析[J].现代医药卫生,2014,30(20):3051.
- [7] 郑盛.慢性乙型肝炎病毒感染患者外周血 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-}调节性 T 淋巴细胞表达水平及其与肝脏病理关系[J].西部医学,2014,26(9):1137.
- [8] 钟锐,冯龙,兰琼玉,等.CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-}调节性 T 细胞在晚期胃癌中的表达及意义[J].重庆医学,2016,45(15):2065.
- [9] 张彦红,胡丽萍,林向阳,等.SLE 患者外周血中 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-}调节性 T 细胞水平分析[J].临床检验杂志,2013,31(1):48.
- [10] 卫德强.中药保守治疗对肾功能不全患者血清 Hcy、IL-6 及 LN 的影响[J].中国中医急症,2011,20(10):1697.
- [11] COSTA D L,CARDOSO T M,QUEIROZ A,et al.Tr-1-like CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} FoxP3⁺ cells are the main source of interleukin 10 in patients with cutaneous leishmaniasis due to Leishmania braziliensis[J].J Infect Dis,2015,211(5):708.
- [12] 苑伟,杨慧,傅颖璐.中药对调节性 T 细胞免疫调节功能的研究进展[J].中成药,2014,36(5):1041.
- [13] LISOWSKA KA,DEBSKA-ŚLIZIEŃ A,JASIULEWICZ A,et al.Influence of hemodialysis on circulating CD4⁺(low)CD25⁺(high) regulatory T cells in end-stage renal disease patients[J].Inflamm Res,2014,63(2):99.

第一作者:卫德强(1972—),男,医学硕士,副主任中医师,研究方向为中西医结合治疗慢性肾脏病。fengyun141@163.com

收稿日期:2017-03-06

编辑:吴宁