

- [8] Murray K, Lledo PM. Adult neural stem cells: fate and function [J]. *Pathol Biol (Paris)* 2006, 54(5): 266–269.
- [9] Zhao C, Deng W, Gage FH. Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis [J]. *Cell* 2008, 132(4): 645–660.
- [10] 闵峰, 郝飞, 刘冰, 等. 树鼩肝细胞的分离和培养 [J]. *世界华人消化杂志* 2001, 9(6): 627–630.
- [11] 龚敏, 李树清, 李凡. 树鼩脑星形胶质细胞的体外培养及纯化 [J]. *生理学报* 2011, 63(1): 89–92.
- [12] 赵宇, 谢鹏, 朱晓峰. 大鼠神经干细胞中 P13-K/AKT 信号转导通路的研究 [J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2009, 29(10): 1191–1195.
- [13] 高亮, 曹莉, 苏志达, 等. 体外培养的嗅上皮神经干
细胞具有多潜能性 [J]. *第二军医大学学报* 2009, 30(9): 985–989.
- [14] 柴勇, 杨成, 石增立, 等. 胚胎大鼠脊髓神经干细胞的培养及鉴定 [J]. *神经解剖学杂志* 2009, 25(3): 339–342.
- [15] 李明新, 阙世廉, 张建国. 无血清条件下体外分离培养鼠胚胎脑组织神经干细胞 [J]. *中国组织工程研究与临床康复* 2009, 13(14): 2696–2700.
- [16] Ourednik V, Ourednik J, Park KI, et al. Neural stem cells – a versatile tool for cell replacement and gene therapy in the central nervous system [J]. *Clin Genet* 1999, 56(4): 267–278.

(收稿日期: 2012-01-20 修回日期: 2012-02-07)

田七注射液对 2~4 期慢性肾脏病患者微炎症状态及免疫功能的影响[▲]

吴金玉¹ 黄仁发² 史伟¹ 黄雪霞¹ 覃祚莲¹

(1 广西中医学院第一附属医院肾内科, 南宁市 530023, E-mail: wujinyu0109@sina.com;

2 广西中医学院附属瑞康医院肾内科, 南宁市 530011)

【摘要】 目的 探讨田七注射液对 2~4 期慢性肾脏病(CKD)患者微炎症状态及细胞免疫功能的影响。方法 71 例 2~4 期 CKD 患者根据住院号按照 Doll's 临床病例随机表法分为治疗组(36 例)和对照组(35 例)。对照组给予护肾、排毒、降压、纠正贫血、维持水电解质酸碱平衡等治疗, 治疗组在对照组的基础上给予田七注射液(100 ml/d)。两组均治疗 1 个月为 1 个疗程, 2 个疗程后观察两组患者治疗前后血清白介素-8(IL-8)、白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、TC、TG、LDL、HDL、树突状细胞(DC)和 CD4⁺/CD8⁺比值的改变。结果 治疗后与对照组相比较, 治疗组的血清 IL-8、IL-6、TNF- α 、TC、TG、LDL 水平均降低, HDL 升高, DC 数量增加, CD4⁺/CD8⁺比值增高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 田七注射液能减轻 CKD 炎症反应, 其机制可能与调节脂质代谢和改善细胞免疫功能有关。

【关键词】 慢性肾脏病; 田七注射液; 微炎症状态; 细胞免疫

【中图分类号】 R 692; R 282 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 0253-4304(2012)03-0260-04

Effect of Tianqi Injection on the Micro-inflammation and Cellular Immunity in Patients With Chronic Kidney Disease at the II – IV Stage

WU Jin-yu¹ HUANG Ren-fa² SHI Wei¹ HUANG Xue-xia¹ QIN Zuo-lian¹

(1 Department of Nephrology, the First Affiliated Hospital of Guangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530023, China;

2 Department of Nephrology, the Affiliated Ruikang Hospital of Guangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530011, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the effect of Tianqi injection on the micro-inflammation and cellular immunity in patients with chronic kidney disease(CKD) at the II – IV stage. **Methods** Seventy-one patients with CKD were randomly divided into treatment group($n=36$) and the control group($n=35$) according to the method of Doll's clinical case. The patients in the two groups were treated by protecting kidney, excreting poisonous, reducing blood pressure, correcting metabolic acidosis and anemia. Besides, the patients in the treatment group treated by intravenous Tianqi

[▲]基金项目: 国家自然科学基金(81060292); 广西自然科学基金(桂科自 0640147); 广西中医学院重点课题(ZD2005005)

injection for one month. One month was defined as a course of treatment in the two groups. The changes of interleukin-8 (IL-8), interleukin-6 (IL-6), tumor necrotizing factor- α (TNF- α), serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low density lipoprotein (LDL), high density lipoprotein (HDL), the numbers of dendritic cell (DC) and the ratio of CD4⁺ to CD8⁺ were observed after two courses of treatment. **Results** Compared with the controls, the level of serum IL-8, IL-6, TNF- α , TC, TG and LDL in the treatment group after treatment decreased significantly, while the level of HDL, the numbers of DC and the ratio of CD4⁺ to CD8⁺ increased significantly. There was significant difference between the two groups ($P < 0.05$). **Conclusion** Tianqi injection can imariolate the micro-inflammatory in the patients with CKD, which was correlated with regulation of lipid metabolism and improvement of cellular immunity.

【Key words】 Chronic kidney disease; Tianqi injection; Micro-inflammation; Cellular immunity

慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)患者因血脂代谢异常、营养不良和感染等,体内存在轻微的、低浓度的炎症反应状态,即微炎症状态(micro-inflammation)^[1]。微炎症状态是 CKD 患者发生心脑血管事件的独立危险因素^[2]。因此研究如何干预 CKD 患者的微炎症状态,具有重要的临床意义。笔者的前期研究表明,田七注射液具有调脂、改善肾功能、延缓肾衰竭进程的作用,但具体作用机制仍未明确^[3]。本文以 CKD 微炎症状态及细胞免疫功能为切入点,探讨田七注射液延缓肾衰竭进程的作用机制,为其广泛临床应用提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料 71 例 2~4 期 CKD 患者均为 2009 年 5 月至 2010 年 12 月在广西中医学院第一附属医院肾内科住院病人。根据住院号按照 Doll's 临床病例随机表法将患者随机分为治疗组和对照组,其中治疗组 36 例,男 16 例,女 20 例,年龄(43.8 ± 12.5)岁,病程(4.12 ± 1.52)年。CKD 2 期 11 例,CKD 3 期 18 例,CKD 4 期 7 例;慢性肾小球肾炎 20 例,糖尿病肾病 8 例,高血压肾动脉硬化 4 例,慢性肾盂肾炎 1 例,慢性间质性肾炎 1 例,痛风性肾病 2 例。对照组 35 例,男 18 例,女 17 例,年龄(44.6 ± 16.2)岁,病程(5.12 ± 1.83)年。CKD 2 期 10 例,CKD 3 期 16 例,CKD 4 期 9 例;慢性肾小球肾炎 21 例,糖尿病肾病 6 例,高血压肾动脉硬化 3 例,慢性肾盂肾炎 2 例,慢性间质性肾炎 1 例,痛风性肾病 2 例。两组在年龄、性别、病程、CKD 分期及原发疾病构成差异无统计学意义(P 均 > 0.05),具有可比性。

1.2 病例纳入与排除标准 病例纳入标准:(1)符合《中药新药研究指导原则》^[4]的慢性肾衰竭诊断及分期标准,按照 CKD 的分级标准进行分级;(2)有明显的慢性肾衰竭临床症状;(3)患者签署知情同意

书。病例排除标准:(1)其他脏器严重病变者;(2)年龄 < 18 岁或 > 65 岁者;(3)因肾小球病变引起的一过性肾功能损害者;(4)感染未控制者;(5)治疗前后采用血液净化疗法者;(6)未满足规定的观察期而中断治疗者及资料不全者。

1.3 试剂及仪器 人 IL-8 ELISA kit(武汉博士德生物公司,批号 20100102)、人 IL-6 ELISA kit(武汉博士德生物公司,批号 20100315)、TNF- α ELISA kit(武汉博士德生物公司,批号 20090118)、RPMI1640(美国 GIBCO 公司)、Percoll 分离液(Pharmacia 公司)、兔抗人 S-100 蛋白(武汉博士德生物公司)、流式细胞仪(美国 Beckman coulter 公司)、全自动生化分析仪(日立 7170A)、EL \times 800 酶标仪(美国 BIO-TEK instruments 公司)。

1.4 治疗方法 对照组给予低盐低磷优质低蛋白饮食、护肾、排毒、降压、纠正贫血、维持水电解质酸碱平衡等治疗,如血清肌酐水平 $< 265 \mu\text{mol/L}$,则给予血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)治疗。治疗期间如发现其他并发症,均给予对症处理,避免应用肾毒性、免疫抑制剂、抗感染药物。治疗组在对照组基础上加田七注射液 100 ml(广西中医学院第一附属医院制剂室生产,生产批号:20090224)静脉滴注,1 次/d。1 个月为 1 疗程,两组均治疗 2 个疗程。两组患者在治疗前后抽取静脉血 10 ml,1500 rpm/min 离心后取上清液 -20°C 保存备测相关指标。

1.5 外周血树突状细胞(DC)的分离、培养 患者均于治疗第 1 天及治疗结束当天晨起 1 h 内抽肘正中静脉血 20 ml,肝素 50 U 抗凝,用 Fico ll-Hypaque 分离外周单核细胞,取少量细胞涂片备用(用于 T 细胞亚群检测),其余用不连续的 Per coll 密度梯度分离,收集 35%~50% 界面细胞,培养 36 h,取非黏附细胞用 IgG 包被,panning 法纯化,再收集非黏附细胞并作第 1 次计数后涂片备用免疫细胞染色。

1.6 观察指标 (1) 两组患者治疗前后血清白介素-8 (IL-8)、白介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 含量,采用双抗体夹心酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测,具体步骤按照试剂盒说明进行。(2) 两组患者治疗前后 TC、TG、LDL、HDL 指标,采用全自动生化分析仪检测。(3) 树突状细胞免疫细胞化学染色及流式细胞仪检测 T 细胞亚群,涂片按 ABC 法进行 S-100 蛋白染色,一抗为 1:200 兔抗人 S-100 蛋白,二抗用 1:200 生物素化羊抗兔 IgG,ABC 复合物 1:100,各依次 37℃ 孵育 30 min, DAB 显色、苏木素复染,油镜观察 DC 形态,并作第 2 次计数。流式细胞仪检测 T 细胞亚群,按厂家具体说明进行。

表 1 两组治疗前后血清 IL-8、IL-6、TNF- α 含量比较 ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{g/ml}$)

组别	n	IL-8			IL-6			TNF- α		
		治疗前 (A)	治疗后 (B)	A-B	治疗前 (C)	治疗后 (D)	C-D	治疗前 (E)	治疗后 (F)	E-F
治疗组	36	189.0 \pm 72.20	125.9 \pm 55.20	62.54 \pm 30.43	123.21 \pm 63.32	88.56 \pm 21.35	38.21 \pm 18.75	130.46 \pm 18.15	108.16 \pm 13.32	24.59 \pm 8.36
对照组	35	187.15 \pm 68.46	153.75 \pm 42.26	37.46 \pm 23.95	126.61 \pm 45.08	108.21 \pm 26.23	17.64 \pm 10.28	134.28 \pm 17.56	122.31 \pm 14.25	14.78 \pm 6.95

注: A-B: $t=5.203$ $P=0.000$; C-D: $t=4.283$ $P=0.000$; E-F: $t=4.526$ $P=0.000$ 。

2.2 两组患者治疗前后血脂含量比较 与治疗前相比 LDL 水平虽均降低,但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。治疗组患者治疗后血清 TC、TG、LDL 水平均降低,见 2。差异有统计学意义 ($P<0.05$) ,对照组血清 TC、TG、

表 2 两组治疗前后血脂含量比较 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

组别	n	TC			TG			LDL-C		
		治疗前 (A)	治疗后 (B)	A-B	治疗前 (C)	治疗后 (D)	C-D	治疗前 (E)	治疗后 (F)	E-F
治疗组	36	7.58 \pm 1.47	4.68 \pm 1.05	3.08 \pm 0.681	2.79 \pm 0.48	1.72 \pm 0.15	1.103 \pm 0.28	4.43 \pm 0.56	2.83 \pm 0.15	1.58 \pm 0.08
对照组	35	7.96 \pm 1.56	7.63 \pm 1.11	0.334 \pm 0.058	2.83 \pm 0.46	2.54 \pm 0.39	0.36 \pm 0.07	4.83 \pm 0.40	3.91 \pm 0.38	0.16 \pm 0.06

注: A-B: $t=5.321$ $P=0.000$; C-D: $t=3.547$ $P=0.000$; E-F: $t=4.029$ $P=0.000$ 。

2.3 外周血 DC 的形态及计数 油镜下可见两组 DC 呈簇状生长,形态均不规则,胞体伸出突起,但对照组 DC 细胞突起减少,突起长度变短,而治疗组突起增多,突起伸长。细胞计数结果表明,与治疗前相比较, ($P<0.05$)。见 3。

表 3 两者治疗前后血 DC 计数及 CD4⁺/CD8⁺ 计数的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	DC 细胞数 ($1 \times 10^7/\text{L}$)			CD4 ⁺ /CD8 ⁺		
		治疗前 (A)	治疗后 (B)	A-B	治疗前 (C)	治疗后 (D)	C-D
治疗组	36	2.02 \pm 0.58	4.56 \pm 0.25	2.63 \pm 0.24	0.83 \pm 0.21	1.31 \pm 0.45	0.58 \pm 0.14
对照组	35	2.11 \pm 0.46	3.75 \pm 0.47	1.68 \pm 0.13	0.89 \pm 0.32	1.08 \pm 0.25	0.25 \pm 0.04

注: A-B: $t=2.271$ $P=0.000$; C-D: $t=2.145$ $P=0.010$ 。

3 讨论

目前,CKD 进展的机制尚未完全清楚。随着肾功能的进行性下降,患者机体出现一种微炎症状态,主要表现为血清 TNF- α 、IL-2、IL-6 等单核细胞分泌的前炎症因子以及 C-反应蛋白水平增高^[5-6]。目前有学者认为微炎症状态的产生可能与患者体内长期存在的高浓度毒素、高容量负荷刺激炎症细胞(如单核巨噬细胞)活化有关^[7]。血脂异常是 CRF 患者炎症持

续存在的原因之一^[8],动脉粥样硬化的本质是炎症,血脂不仅通过氧化低密度脂蛋白刺激 TNF- α 的分泌^[9],促进动脉粥样硬化的产生,而且还可刺激系膜细胞分泌 IL-6 等炎症因子,介导炎症级联反应的触发,促使 CKD 患者产生微炎症。大量的研究表明^[10-11],微炎症状态不仅是 CKD 患者营养不良、心血管事件、动脉粥样硬化等并发症的独立危险因素,而且能形成一恶性循环,促使肾功能进一步恶化。ACEI、他汀类等药物通过改善胰岛素抵抗和调脂等作

2 结果

2.1 两组患者治疗前后血清 IL-8、IL-6、TNF- α 含量比较 与治疗前相比较,两组患者治疗后血清 IL-8、IL-6、TNF- α 均有不同程度的降低,差异有统计学意义 ($P<0.05$) ;与对照组比较,治疗后治疗组血清 IL-8、IL-6、TNF- α 均有不同程度的降低,差异有统计学意义 ($P<0.05$) 。见表 1。

用减轻炎症状态,延缓肾衰竭的进展^[12]。因此,将微炎症状态作为临床治疗 CKD 的靶点具有重要的意义。

DC 在人体分布十分广泛,但数量较少,外周血 DC 主要来源于骨髓中 CD34⁺造血祖细胞及外周血 CD14⁺单核细胞的转化。DC 的主要作用是抗原提呈,为 T 细胞进行各种免疫反应提供一个稳定的微环境,能反映机体的免疫功能状态^[13]。DC 是反应 CKD 免疫状态的敏感指标^[14]。研究表明,CKD 时 DC 数量减少,导致 T 淋巴细胞亚群的 CD4⁺/CD8⁺比值下降,细胞免疫和体液免疫功能缺陷,不能清除机体致炎物质,导致患者易于感染,处于持续炎症状态^[15]。

CKD 归属于中医“癃闭”“关格”等范畴,属于本虚标实,血瘀始终存在于 CKD 的发生和发展过程中^[16]。田七具有化瘀、止血、消肿、止痛等功效,并且具有“止血不留瘀,化瘀不伤正”的特点^[17]。因此,在本研究中笔者观察了田七注射液对 2~4 期 CKD 患者微炎症状态及细胞免疫功能的影响。笔者研究发现,田七注射液能有效降低 2~4 期 CKD 患者的血清 IL-6、IL-8 和 TNF- α 水平,与对照组比较差异有统计学意义,表明田七注射液能改善 CKD 的微炎症状态;经田七注射液治疗后,CKD 患者的血 TC、TG、LDL 水平降低, HDL 水平增高,DC 数量和 CD4⁺/CD8⁺比值增加,提示田七注射液改善微炎症状态的机制可能与改善 CKD 患者的脂质代谢紊乱,增加血 DC 细胞数量,改善细胞免疫功能有关。

综上所述,田七注射液能改善 CKD 炎症反应,其机制可能与调节脂质代谢和改善细胞免疫功能有关,田七注射液治疗 2~4 期慢性肾脏病的方法值得临床推广应用。

参 考 文 献

- [1] Stenvinkel P. Inflammatory and atherosclerotic interactions in the depleted uremic patient [J]. *Blood Purif*, 2001, 19 (1): 53-61.
- [2] Santoro A, Mancini E. Cardiac effects of chronic inflammation in dialysis patients [J]. *Nephrol Dial Transplant* 2002, 17 (Suppl 8): 10-15.
- [3] 吴金玉,史伟,黄雪霞,等. 田七注射液延缓慢性肾功能衰竭肾纤维化临床研究 [J]. *辽宁中医杂志*, 2006, 33 (10): 1277-1279.
- [4] 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: 163-167.
- [5] 刘璿娜,尹良红. 慢性肾功能不全与炎症反应 [J]. *中国综合临床* 2005, 21 (11): 1054-1056.
- [6] 谢恺庆,史伟,夏运风,等. 微炎症与慢性肾脏病进展的关系 [J]. *山东医药* 2010, 50 (17): 62-63.
- [7] Stenvinkel P. Inflammation in end-stage renal failure: could it be treated? [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2002, 17 (Suppl 8): 33-38.
- [8] 钟春梅,陈明. 慢性肾衰竭肾功能衰竭期患者微炎症状态与血脂关系探讨 [J]. *泸州医学院学报*, 2005, 28 (4): 354-355.
- [9] 徐红,李学旺,李航. 脂质、炎症与肾脏病进展 [J]. *国外医学(移植与血液净化分册)* 2005, 3 (1): 5-8.
- [10] 彭道有. 慢性肾脏病的心血管并发症危险因素及其防治进展 [J]. *医学综述* 2010, 16 (13): 2035-2038.
- [11] 李学旺,李航. 炎症是脂质异常介导的动脉粥样硬化和肾脏损害的中心环节 [J]. *中华肾脏病杂志*, 2005, 21 (9): 499-501.
- [12] 陈秀益,刘必成,尹莲芳. 微炎症反应状态与终末期肾病 [J]. *临床荟萃* 2005, 20 (12): 712-715.
- [13] Cella M, Sallusto F, Lanzavecchia A. Origin, maturation and antigen presenting function of dendritic cells [J]. *Curr Opin Immunol*, 1997, 9 (1): 10-16.
- [14] Reid SD, Penna G, Adorini L. The control of T cell responses by dendritic cell subsets [J]. *Curr Opin Immunol* 2000, 12 (1): 114-121.
- [15] 卢娟娟,刘骏达,张锦堃,等. 黄芪对慢性肾功能衰竭血树突状细胞的影响 [J]. *中国康复* 2001, 16 (4): 204-205.
- [16] 张博,赵树华,崔贞姬,等. 活血化瘀法在辨治慢性肾功能衰竭中的应用 [J]. *中国医学杂志*, 2004, 2 (6): 295-297.
- [17] 张玉军. 三七总皂苷的药理研究进展 [J]. *广西医学*, 2009, 31 (4): 589-591.

(收稿日期: 2012-01-05 修回日期: 2012-02-06)

● 全区 2012 年医改重点工作培训会在南宁召开

2 月 23 日,全区 2012 年医改重点工作培训会在南宁召开。自治区卫生厅尤剑鹏副厅长就公立医院改革、国家基本药物制度实施的推进和中医药民族医药发展做了题为《全面动员、重点突破、突出特点、强力推进我区公立医院改革及中医药民族医药发展》的培训发言;梁远副厅长就推进基本公共卫生服务项目做了题为《加强领导、明确责任、推进我区基本公共卫生服务项目持续发展》,并就如何做好社区卫生工作提出了要求。