

原发性肾病综合征患儿血尿 IFN- γ 、IL-13、TGF- β_1 的变化及黄芪的作用

康国贵 周江瑾 张 琦 陈惠琴 康友群

摘 要 **目的** 探讨原发性肾病综合征(PNS)患儿血、尿 IFN- γ 、IL-13、TGF- β_1 水平的变化及黄芪的干预作用。**方法** 46 例 PNS 患儿随机分为黄芪治疗组(Ⅰ组, $n=24$), PNS 对照组(Ⅱ组, $n=22$), 观察用药前后血清及尿液 IFN- γ 、IL-13、TGF- β_1 水平及临床转归。健康儿童 20 例为正常对照组(Ⅲ组)。**结果** 血清 IFN- γ 、IL-13 水平, 入院时Ⅰ、Ⅱ组均显著高于Ⅲ组(P 均 <0.01); 缓解后其水平均虽显著下降(P 均 <0.01), 但Ⅰ组的下降明显高于Ⅱ组(P 均 <0.01), 与Ⅲ组比较已无显著差异(P 均 >0.05), 而Ⅱ组仍显著高于Ⅲ组(P 均 >0.05)。血清 TGF- β_1 水平入院时Ⅰ、Ⅱ组均显著高于Ⅲ组(P 均 <0.01); 缓解后均显著下降, 与Ⅲ组比均已无显著差别(P 均 >0.05), Ⅰ组与Ⅱ组比较亦无显著差别(P 均 >0.05)。尿液 IFN- γ 、IL-13、TGF- β_1 水平与血清 IFN- γ 、IL-13、TGF- β_1 水平一样用药前后也发生相同的变化。继发感染率和反复或复发率Ⅰ组均显著低于Ⅱ组(分别为 50% 比 81.8% 和 33.3% 比 63.6%, 分别 $\chi^2=5.123, 4.224, P$ 均 <0.05)。感染后治愈天数Ⅰ组显著少于Ⅱ组(5.0 ± 1.6 天比 8.0 ± 2 天, $t=3.066, P<0.005$)。**结论** IFN- γ 、IL-13、TGF- β_1 各细胞因子可能均参与 PNS 的发病; 黄芪对血、尿 IFN- γ 、IL-13 有一定的调节作用。黄芪在佐治 SNS 中具有预防和降低感染、减少和预防反复或复发、避免反复大量应用激素的作用。

关键词 原发性肾病综合征 干扰素- γ 白介素-13 转化生长因子- β_1 黄芪 儿童

Changes of Serum and Urinary IFN- γ , IL-13 and TGF- β_1 in Children with Primary Nephrotic Syndrome and Effect of Astragalus.

Kang Guogui, Zhou Jiangjin, Zhang Qi, et al. Department of Pediatrics, Ningbo Women and Children's Hospital, Zhejiang 315012, China

Abstract **Objective** To investigate the changes of interferon- γ (IFN- γ), interleukin-13 (IL-13) and transforming growth factor beta 1 (TGF- β_1) in serum and urinary in children with primary nephrotic syndrome (PNS) and study the effect of astragalus. **Methods** Forty-six children with PNS were randomly divided into two groups: astragalus granula treatment group (Ⅰ group, $n=24$) and prednison control group (Ⅱ group, $n=22$). In addition, 20 healthy children were normal control group (Ⅲ group). The treatment protocol of prednison used for 6 months was administered in two groups, while 15g (1 bag) astragalus granula orally twice a day was added to children in Ⅰ group for 3 to 6 months. The levels of IFN- γ , IL-13 and TGF- β_1 in the serum and urin of 46 children with PNS were assayed on admission and after alleviation respectively by ELISA. The rates of remission within 8 weeks, complicated infection, and relapse within 3 months and the recovery time of infection were observed in Ⅰ group and Ⅱ group. **Results** The levels of serum IFN- γ and IL-13 in Ⅰ group and Ⅱ group were significantly higher than those in Ⅲ group ($P<0.01$ for all) on admission, and dropped markedly. There was no significant difference between group Ⅰ and group Ⅲ ($P<0.01$ for all). But they were still significantly higher in Ⅱ group than in Ⅲ group ($P<0.01$ for all) and obviously lower in Ⅰ group than in Ⅱ group ($P<0.01$ for all) after alleviation. The serum TGF- β_1 in Ⅰ group and Ⅱ group were markedly increased and dropped ($P<0.01$ all) on admission and after alleviation respectively, and were not significant different ($P>0.05$ for all) as compared to Ⅲ group after alleviation. The levels of urinary IFN- γ , IL-13 and TGF- β_1 were same changes with their serum values in 3 groups. The rates of complicated infection and relapse within 3 months were all significantly lower in Ⅰ group than those in Ⅱ group (50% vs 81.9% and 33.3% vs 83.6%, $\chi^2=5.123, 4.224$, respectively, $P<0.05$). The recovery time of complicated infection was obviously shortened in Ⅰ group comparing to Ⅱ group (5.0 ± 1.6 d vs 8.0 ± 2.0 d, $t=3.066, P<0.05$). **Conclusion** IFN- γ , IL-13, TGF- β_1 may be involved in the pathogenesis of PNS. Astragalus could decrease the levels of serum and urinary IFN- γ and IL-13 and may be helpful for protecting from and decreasing infection, diminishing relapse and reduling steroid dosage using in children with PNS.

Key words Primary nephritic syndrome (PNS); Interferon- γ (IFN- γ); Interleukin-13 (IL-13); Transforming growth factor beta 1 (TGF- β_1); Astragalus children

原发性肾病综合征(primary nephrotic syndrome, PNS)是儿科常见多发病,其发病机制迄今尚未清楚。近年来发现,PNS 患儿辅助性 T 淋巴细胞(Th)分泌的 Th1、Th2、Th3 细胞因子存在着异常,并参与 PNS 的发病^[1,2]。为了进一步地了解 PNS 的发病机制,本研究通过观察 PNS 患儿血液及尿液干扰素- γ (Interferon- γ , IFN- γ)、白介素-13(interleukin-13, IL-13)及转化生长因子- β_1 (transforming growth factor beta 1, TGF- β_1)水平的变化及中药黄芪对它们的影响,探讨它们在 PNS 中的作用及黄芪的干预机制。

对象与方法

1. 对象:笔者医院 2007 年 3 月~2008 年 12 月收治的 PNS 患儿 46 例,其中初治病例 34 例,复治病例 12 例,均为单纯性肾病综合征,对激素均敏感。46 例随机分两组,即黄芪治疗组(I 组)24 例,男性 13 例,女性 11 例,年龄 1.5~6 岁,平均 3.6 ± 1.8 岁;泼尼松对照组(II 组)22 例,男性 13 例,女性 9 例,年龄 1.8~7 岁,平均 3.7 ± 2.1 岁。所有病例均符合有关 PNS 的诊断标准^[3]。采用数字表分组法随机抽取在笔者医院进行健康体检的 20 例作为健康对照组(III 组),其中男性 12 例,女性 8 例,年龄 2.0~6.2(4.1 ± 2.5)岁,均排除了肾脏病及有肾脏病家族史者,且 4 周内无感染性疾病和免疫抑制剂应用史。三组研究者的性别、年龄的差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2. 治疗方法:I、II 组均按全国儿科肾脏病科研协作组制定的中长程方案,即泼尼松 $1.5 \sim 2\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$,分 3 次口服,并定期、规律减量,疗程 6~9 个月;低分子右旋糖酐扩容、氢氯噻嗪及螺内酯利尿、双密达莫抗凝及阿洛西林抗感染等对症支持治疗。I 组在此基础上给予黄芪颗粒(四川百利制药厂产品,规格 4.0×12), <3 岁每次 1/2 包, >3 岁每次 1 包,1 日 2 次,疗程 2~3 个月。

3. 观察项目及检测方法:(1)血清及尿液 IFN- γ 测定:用药前及用药后 1 个月后各静脉采血 2ml,分离血清于 -20°C 冰箱贮存;各收集尿液 10ml 于 -20°C 冰箱贮存。标本收毕后,由专人一次性测定。采用 ELISA 法按试剂说明书操作。试剂

盒由法国 Diaclone 公司提供。(2)血清及尿液 IL-13 测定:用药前及用药后 1 个月后各静脉采血 2ml,分离血清于 -20°C 冰箱贮存;各收集尿液 10ml 于 -20°C 冰箱贮存。标本收毕后,由专人一次性测定。采用 ELISA 法按试剂说明书操作。试剂盒由法国 Diaclone 公司提供。(3)血清及尿液 TGF- β_1 测定:用药前及用药后 1 个月后各静脉采血 2ml 分离血清于 -20°C 冰箱贮存备测;各收集尿液 10ml, 4°C 2000r/min 离心 5min,取上清液用 1mmol/L 盐酸酸化,将 TGF- β_1 活化,在 PBS 中透析 48h,冻干备用,检测前用 PBS 稀释至 $200\mu\text{l}$,反复离心,取 $100\mu\text{l}$ 尿液样本检测。TGF- β_1 测定采用双抗体夹心 ELISA 法,操作按说明书进行。TGF- β_1 试剂盒由德国 DRG 公司提供。(4)黄芪不良反应观察:观察用黄芪后的消化道症状。(5)临床效果观察:观察 I 组和 II 组水肿消退时间、尿蛋白转阴时间及入院时、住院 1 个月时的血浆清蛋白及胆固醇的变化;观察 I 组和 II 组 8 周内缓解率(8 周内水肿消失、尿蛋白转阴为肾病缓解)、3 个月内感染率、感染后控制天数、3 个月反复或复发率。

4. 统计学方法:数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。计量资料采用 t 检验、方分析及 q 检验。计数资料采用 χ^2 检验。

结 果

1. 各组治疗前后血清 IFN- γ 、IL-13、TGF- β_1 水平的变化:见表 1。血清 IFN- γ 、IL-13、TGF- β_1 水平,在用药前 I 组和 II 组与正常组比较均显著增高(分别 $q = 24.323, 32.334, 22.925, P$ 均 < 0.01)。用药后均显著下降, I 组与正常组比较已无差异(分别 $q = 0.112, 0.286, 0.619, P$ 均 > 0.05), II 组血清 IFN- γ 、IL-13 水平虽有显著下降,但与正常组比较仍在较高水平(分别 $q = 9.074, 7.000, P$ 均 < 0.01),而血 TGF- β_1 水平与正常组比较无显著差异($q = 0.581, P > 0.05$)。各组血清 IFN- γ 、IL-13、TGF- β_1 水平用药前后自身比较,均显著下降(I 组分别 $q = 23.432, 31.576, 27.672$, II 组分别 $q = 13.682, 20.833, 10.156, P < 0.01$)。

表 1 各组血清 IFN- γ 、IL-13、TGF- β_1 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IFN- γ			IL-13			TGF- β_1		
		用药前	用药 2 个月后	q	用药前	用药 2 个月后	q	用药前	用药 2 个月后	q
I	24	896 $\pm$ 209*	268 $\pm$ 54	23.47*	9.7 $\pm$ 1.3*	3.0 $\pm$ 0.4	31.57*	806 $\pm$ 217*	271 $\pm$ 61	27.21*
II	22	956 $\pm$ 159*	511 $\pm$ 72*	13.69*	9.5 $\pm$ 1.2*	4.5 $\pm$ 0.8*	20.83*	859 $\pm$ 189*	289 $\pm$ 96	10.34*
III	20	245 $\pm$ 61			2.9 $\pm$ 0.7			263 $\pm$ 84		
F			20.530*			258.099*			14.155*	

* $P < 0.05$; * $P < 0.01$

2. 各组治疗前后尿液 IFN- γ 、IL-13、TGF- β_1 水平的变化:见表 2。尿液 IFN- γ 、IL-13、TGF- β_1 水平,在用药前 I 组和 II 组与正常组比较均显著增高

(分别 $q = 38.021, 30.397, 32.452, P$ 均 < 0.01)。用药后均显著下降, I 组与正常组比较已无差异(分别 $q = 3.056, 0.278, 0.997, P$ 均 > 0.05), II 组尿液

表 2 各组尿液 IFN- γ 、IL-13、TGF- β_1 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IFN- γ			IL-13			TGF- β_1		
		用药前	用药 2 个月后	q	用药前	用药 2 个月后	q	用药前	用药 2 个月后	q
I	24	978 $\pm$ 122 *	303 $\pm$ 60	33.901 *	9.20 $\pm$ 1.01 *	2.32 $\pm$ 0.89	22.97 *	891 $\pm$ 136 *	286 $\pm$ 79	30.53 *
II	22	960 $\pm$ 125 *	434 $\pm$ 87 *	26.384 *	9.62 $\pm$ 1.87 *	4.79 $\pm$ 1.82 *	19.23 *	827 $\pm$ 211 *	261 $\pm$ 79	28.11 *
III	20	244 $\pm$ 49			2.71 $\pm$ 0.94			259 $\pm$ 72		
F			339.955 *			242.165 *			327.53 *	

与正常组比较, * $P < 0.05$, * $P < 0.01$

IFN- γ 、IL-13 水平虽有显著下降,但与正常组比较仍在较高水平(分别 $q = 4.073, 6.194, P$ 均 < 0.01),而尿 TGF- β_1 水平与正常组比较无显著差异($q = 0.251, P > 0.05$)。各组尿液 IFN- γ 、IL-13、TGF- β_1 水平用药前后自身比较,均显著下降(I 组分别 $q = 33.901, 22.967, 30.530$, II 组分别 $q = 6.382, 19.233, 28.128, P$ 均 < 0.01)。

3. 黄芪颗粒的不良反应:应用黄芪颗粒未发现明显的不良反应,各研究对象均能完成研究。

4. 临床效果: I 组和 II 组水肿消失时间(13.5 ± 5.2 天 vs 14.6 ± 6.7 天)、尿蛋白转阴时间(19.7 ± 5.8 天 vs 21.2 ± 7.5 天)均无显著差别($t = 0.618, 0.754, P$ 均 > 0.05)。治疗 1 个月后血浆清蛋白(38.5 ± 5.9 g/L vs 36.7 ± 6.7 g/L)、胆固醇(3.7 ± 1.2 mmol/L vs 4.2 ± 1.9 mmol/L)均无显著差别(分别 $t = 0.964, 1.057, P$ 均 > 0.05)。8 周内缓解率 I 组和 II 组间无显著差别(0.95 vs $0.92, \chi^2 = 0.740, P > 0.05$)。3 个月内感染率 I 组为 50% (12/24), II 组为 81.8% (18/22),前者明显低于后者($\chi^2 = 5.123, P < 0.05$)。反复或复发率 I 组为 33.3% (8/24), II 组为 63.6% (14/22),前者亦明显低于后者($\chi^2 = 4.224, P < 0.05$)。两组感染病种间无显著性差异,依次为呼吸道、泌尿道、肠道及其他感染。I 组感染控制时间(5.0 ± 1.6 天)明显少于 II 组(8.0 ± 2.0 天),差异显著($t = 3.066, P < 0.05$)。

讨 论

IFN- γ 是促炎性因子,由 Th1 细胞分泌,能增强细胞毒性 T 细胞及自然杀伤细胞的活性,增加黏附分子在内皮细胞表面的表达,促进中性粒细胞的黏附、渗出与活化,是造成内皮细胞损伤、毛细血管通透性增加的因素之一;具有促进 Th0 细胞分化为 Th1 细胞并抑制 Th2 细胞等多种功能。文献报道,PNS 患儿急性期血 IFN- γ 增高,恢复期下降至正常,其血 IFN- γ 水平与 PNS 患儿 24h 尿蛋白定量呈正相关,认为 IFN- γ 参与 PNS 的发病^[2]。本研究发现,PNS 患儿

活动期血、尿 IFN- γ 水平均显著增高,缓解期均显著下降,与上述文献报道结果一致。IL-13 主要由活化的 Th2 细胞产生的抗炎因子,通过下调致炎因子的 mRNA 表达,增加 IL-1 受体拮抗剂(IL-1ra)合成及上调 IL-1ra mRNA 表达,从而阻断 IL-1、IL-6、IL-8 等多种致炎因子生物学活性而发挥作用的。PNS 患者 T 细胞能自发地产生 IL-13,促使 B 细胞表达 IL-13 受体,诱导 IgE 及 IgG4 的产生^[4]。PNS 患者急性期外周血 T 细胞 IL-13mRNA 表达高于正常对照和缓解期,同时 T 细胞自发产生 IL-13 增多, B 细胞也持续表达 IL-13 受体,后者再表达于单核细胞、NK 细胞;由于 PNS 患者产生 IL-13 增多,故血清水平增高,增高的 IL-13 可通过肾小球滤过,尿中 IL-13 水平相应增高;IL-13 作用于单核细胞产生血管通透因子,后者再与肾小球内皮细胞血管通透因子受体结合,增加血管通透性,增加黏附分子和细胞外基质的产生,可能由此导致蛋白尿形成^[5]。本研究发现 PNS 患儿极期其血、尿 IL-13 水平均显著增高,缓解期下降,再次说明 IL-13 参与 PNS 发病。

TGF- β_1 是一种能调节细胞生长分化、促进肾小球硬化的主要细胞因子,不仅能促进细胞外基质分泌增加,而且能诱导纤溶酶原激活物抑制物的产生,从而抑制细胞外基质的降解,导致肾小球硬化的发生;无论是肾炎型还是单纯型肾病综合征,其外周单个核细胞培养上清中 TGF- β_1 蛋白及 mRNA 表达水平均增高,缓解期均显著下降,但仍显著高于正常对照组,证实 TGF- β_1 参与 PNS 的发病^[1]。本研究发现, PNS 患儿血、尿 TGF- β_1 水平在极期均显著高于正常对照组,缓解期均显著下降,与正常对照组无显著差别,与上述文献报道结果相似。至于本研究在 PNS 缓解期血、尿 TGF- β_1 均降至正常,可能与本研究病例均为单纯型肾病,其病理为微小病变,而肾小管尚未受到损害且对激素敏感,病理损害易于恢复有关^[6]。

黄芪颗粒为单味中药黄芪制剂,其主要成分为黄

芪皂苷、黄芪多糖、黄酮、氨基酸、微量元素,它们可作用于多种免疫活性细胞,对机体免疫功能具有明显的调节作用,如可抑制 Th2 类细胞因子 IL-4 的产生,减少 Th2 类细胞因子对 Th1 细胞的诱导作用,使 Th1 细胞相对增多,并诱导体内 Th1 类细胞因子 IL-2 的表达;能选择性地提高 Th1 细胞数量及活性,使 Th1 细胞处于优势状态;在体液免疫方面,黄芪能增强 B 细胞功能,使免疫球蛋白产生增加,促进 IgG 的转化等^[7,8]。在治疗肾脏疾病方面也有较广泛的应用,该药能明显改善肾病综合征的高凝状态、促使肾小球基膜修复、降低肾脏病患者尿蛋白含量、改善 PNS 患者的低清蛋白血症、延缓肾脏病的慢性进展、提高 PNS 患儿血浆免疫球蛋白等。本研究应用黄芪后,PNS 患儿的血、尿 IFN- γ 、IL-13 水平均显著下降,与未用黄芪组有显著差别,表明黄芪具有调整 PNS 患儿 Th1、Th2 细胞功能的作用。黄芪降低 PNS 患儿血、尿 IFN- γ 、IL-13 水平的机制远未清楚,推测可能通过上调或协同 Th1 细胞相关转录因子的表达,影响 Th0 细胞分化过程中的某个环节或几个环节,阻断 Th2 细胞优势活化,促使 Th0 细胞向 Th1 方向分化,Th1 细胞数量增加;黄芪促进机体淋巴系统中 IL-2 mRNA 和 IL-2R mRNA 表达,降低抑制性 T 细胞对淋巴细胞 IL-2mRNA 和 IL-2RmRNA 的抑制,从而对 IL-2 产生明确的诱生作用,使 PNS 患儿血、尿 IFN- γ 、IL-13 水平得于下降。至于应用黄芪后,PNS 患儿血、尿 TGF- β_1 水平无显著改变,其原因同 II 组。本研究还发现,应用黄芪后,PNS 患儿的水肿消退时间、

尿蛋白转阴时间、血浆清蛋白水平、总胆固醇水平及 8 周内缓解率与对照组比较均没有显著差别,但感染率、反复或复发率,以及感染后得到控制的时间明显低于或少于未用黄芪组,表明黄芪在控制 PNS 缓解不起作用,但在预防和降低感染、减少和预防复发可能具有一定的作用。

参考文献

- 1 邵晓珊,靳蓉,蒋新辉,等. 转化生长因子- β_1 和碱性成纤维生长因子与儿童原发性肾小球疾病的相关性研究[J]. 临床儿科杂志, 2008,26(9):788-791
- 2 王惠萍,杨长虹,毛云英. 原发性肾病综合征患儿白细胞介素-4、 γ -干扰素与激素疗效的关系[J]. 西安交通大学学报(医学版),2006,27(5):483-485
- 3 沈晓明,王伟平. 儿科学[M]. 7 版,北京:人民卫生出版社,2008:318-319
- 4 李宇颖,刘素雁,刘晓刚. 原发性肾病综合征患者血清 IL-2、IL-13 的研究. 哈尔滨医科大学学报,2005,39:190-193
- 5 邹敏书,余健,聂国明,等. 原发性肾病综合征患儿尿 TGF- β_1 检测的临床意义[J]. 医学临床研究,2005,22(6):759-761
- 6 牛广华,孙旭,张春明,等. 黄芪复合对重症肌无力患者淋巴细胞亚群、免疫球蛋白及补体的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2009,(4)29:306-308
- 7 璩竹玲,董河,王世端. 黄芪注射液对体外循环下心肌瓣膜置换术后患者肾功能的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2009,29(4):313-316
- 8 陈静,陈师群. 黄芪颗粒预防儿童肾病综合征感染的临床观察[J]. 中国中西医结合杂志,2008,28(5):67-469

(收稿:2010-06-16)

(修回:2010-12-22)

重症手足口病危险因素及临床特点分析

慎 强 胡爱荣 施凯舜 李红山

摘 要 目的 了解重症手足口病的危险因素及临床特点,为完善临床治疗提供科学依据。**方法** 回顾性分析 2009 年 4 月~2010 年 5 月在笔者医院住院的 244 例手足口病患儿的临床资料。分为普通型手足口病组(普通组)和重症手足口病组(重症组),比较两组患者的临床特点,通过多因素分析筛选出重症手足口病的危险因素。**结果** 244 例患儿中,重症手足口病 58 例,发生率 23.7%;多因素分析显示:年龄<3 岁、意识障碍、抽搐、精神差、颈抵抗、神经反射异常、体温 39℃ 及以上>3 天、外周血白细胞 $>12 \times 10^9/L$ 以及血糖 $>9\text{mmol/L}$ 是重症手足口病的危险因素($P<0.05$)。年龄、精神差、神经反射异常、体温 39℃>3 天以及血糖 $>9\text{mmol/L}$ 等 5 项指标是手足口病重症化的独立性相关因素,具有早期预警作用。**结论** 对于年龄<3 岁且有精神、神经系统症状的高热手足口病患者需重视其病情,及早发现及正确治疗干预对提高治愈率尤为重要。

作者单位:315016 宁波市传染病医院

通讯作者:胡爱荣,电子信箱:har1224@126.com