

依帕司他对早期糖尿病肾病患者尿足细胞相关蛋白 nephrin 表达的影响

高 召 秦永芳 袁 海

摘 要 **目的** 研究依帕司他对早期 2 型糖尿病肾病尿足细胞相关蛋白 nephrin 表达的影响。**方法** 将 52 例 2 型早期糖尿病肾病患者随机分为对照组和治疗组,对照组给予常规治疗,治疗组在对照组的基础上口服依帕司他胶囊(50mg,3 次/日),疗程 12 周。在治疗前后测患者血压、血糖、血脂、糖化血红蛋白、血清肌酐及尿白蛋白排泄率(UAER)。采用酶联免疫吸附法测定两组患者尿液中 TGF- β 1 和尿 nephrin 表达。**结果** 依帕司他治疗前后患者血糖、血脂、血压、血清肌酐变化,差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗后两组患者 UAER 与治疗前相比差异有统计学意义($P<0.05$),且治疗组 UAER 与对照组相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。与对照组相比,治疗组 TGF- β 1 和 nephrin 差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 依帕司他可减少早期糖尿病肾病患者尿 nephrin 表达,该途径可能是通过抑制 TGF- β 1 的表达实现的。

关键词 依帕司他 糖尿病肾病 足细胞 nephrin 转化生长因子(TGF- β 1)

中图分类号 R453

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.09.036

Effect and Mechanism of Epalrestat on Urinary Podocyte Related Protein Nephrin Expression in Early Type 2 Diabetic Nephropathy Patients.

Gao Zhao, Qin Yongfang, Yuan Hai. Department of Nephrology, Xiangyang Central Hospital, Hospital Affiliated to Hubei University of Arts and Science, Hubei 441021, China

Abstract **Objective** To observe the effect and mechanism of epalrestat on urinary podocyte related protein nephrin expression in early diabetic nephropathy patients. **Methods** Fifty two type 2 diabetic nephropathy patients were divided into control group and treatment group (epalrestat 50mg 3 times a day for 12 weeks). Before and after the treatment, Blood pressure, blood glucose, blood lipid, glycosylated hemoglobin, serum creatinine and urinary albumin excretion rate (UAER) were measure in both groups. Meanwhile, urinary TGF- β 1 and nephrin were determined by ELISA assay. **Results** After treatment, blood glucose, blood lipid, blood pressure, glycosylated hemoglobin and serum creatinine remained stable($P>0.05$), and a significant decrease in UAER was observed in epalrestat group after treatment ($P<0.05$). Compared with the control group, the levels of TGF- β 1 and nephrin were obviously descended after administration of epalrestat. **Conclusion** Epalrestat could reduce the expression of urinary nephrin in early type 2 diabetic nephropathy patients, which might be through inhibiting the expression of TGF- β 1.

Key words Epalrestat; Diabetic nephropathy; Podocyte; Nephrin; Transforming growth factor(TGF- β 1)

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病最常见的微血管并发症之一,大约其中 1/3 的糖尿病患者会发展为 DN^[1]。目前 DN 的发病机制尚不完全清楚,一旦 DN 患者出现大量蛋白尿,若病情得不到控制,很快进展到肾衰竭,因此针对 DN 的治疗面临巨大挑战。研究发现 DN 患者肾脏病理改变主要为肾小球基膜增厚及系膜增生,但这些病理改变并不能完全解释 DN 患者蛋白尿形成的原因。近年来越来越多的研究发现肾小球足细胞损伤参与 DN 蛋白尿

发生,并认为足细胞在 DN 蛋白尿发生与发展中起重要作用^[2]。足细胞是肾小球滤过膜的重要组成部分,在肾小球基膜外侧形成足突,其足突交错连接形成裂隙膜,与内皮细胞和基膜共同构成滤过屏障。nephrin 为足细胞裂孔膜上的跨膜糖蛋白,在裂孔膜上特异表达,是肾小球滤过屏障选择性功能的关键蛋白之一^[3]。

依帕司他是醛糖还原酶抑制剂,通过抑制多元醇代谢途径可减少氧化应激和炎症反应,大量研究发现依帕司他可以减轻 DN 蛋白尿,保护肾功能^[4,5]。目前有关依帕司他对 DN 足细胞影响的报道较少,本研究观察依帕司他对的糖尿病肾病患者尿足细胞相关蛋白 nephrin 表达的影响,探讨依帕司他对糖尿病肾

作者单位:441201 襄阳市中心医院肾内科(湖北文理学院附属医院)

通讯作者:高召,电子信箱:gaozhao1648@163.com

病肾脏保护作用及机制。

资料与方法

1. 病例选择:选择 2012 年 3 月~2014 年 3 月于笔者医院肾科住院的 2 型糖尿病肾病患者 52 例为研究对象,男性 29 例,女性 23 例,患者年龄 34~62 岁,平均年龄 46.2±9.7 岁,病程 8~26 年,诊断符合 WHO 诊断标准和 Mogenson 糖尿病肾病分期Ⅲ期患者,同时排除原发性肾脏疾病,糖尿病急性并发症、泌尿系感染、心功能不全、肿瘤等因素及非糖尿病引起的肾脏疾病。将入选患者随机分为对照组和治疗组。对照组 26 例,男性 14 例,女性 12 例;治疗组 26 例,男性 15 例,女性 11 例。两组在年龄、性别、降血脂药、抗血小板、降压药使用情况等因素均衡,差异无统计学意义($P>0.05$)。体检中心招募 20 名健康自愿者尿样作为对照,其中男性 11 例,女性 9 例,患者年龄 36~68 岁,平均年龄 48.6±11.2 岁。本研究经医院道德伦理委员会批准,并有知情同意书。

2. 治疗方法:对照组给予常规治疗包括降脂、控制血糖、抗血小板等治疗,治疗组在常规治疗的基础上开始每日口服依帕司他胶囊(中国扬子江药业集团,批号:12022603)50mg,3

次/日,疗程 12 周。

3. 观察指标:两组患者分别于治疗前后检测血压、血糖、血脂、糖化血红蛋白、血清肌酐及尿白蛋白排泄率(UAER)。酶联免疫吸附法测定两组患者治疗前后尿液中 TGF-β1 和 nephrin 表达,试剂盒购自美国 R&D 公司,严格按照说明操作,同时测尿肌酐校正。

4. 统计学方法:应用 SPSS 13.0 统计软件包分析处理数据。实验数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组之间的比较采用 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 两组患者生化指标:治疗前后两组患者空腹血糖(FPG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、收缩压(SBP)、舒张压(DBP)和血清肌酐(Scr)没有显著的变化。对照组 UAER 与治疗前相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗组 UAER 与治疗前和对照组相比,差异有统计学意义($P<0.05$),详见表 1。

表 1 治疗前后生化指标变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	FPG (mmol/L)	HbA1c (%)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	SBP (mmHg)	DBP (mmHg)	Scr (μmol/L)	UAER (μg/min)
治疗组									
治疗前	26	8.9±1.4	8.3±1.2	5.8±0.7	1.7±0.5	141.2±28.3	84.2±15.7	85.5±29.4	124.7±22.3
治疗后	26	8.8±1.3	8.4±1.3	5.7±0.6	1.6±0.6	137.6±26.5	81.7±13.5	81.3±27.3	76.4±23.6*#
对照组									
治疗前	26	9.1±1.5	8.2±1.6	6.1±1.1	1.8±0.7	138.1±31.2	82.4±14.6	84.2±26.4	122.5±24.8
治疗后	26	8.9±1.4	8.3±1.7	5.9±0.9	1.7±0.6	136.4±28.5	79.4±12.8	78.9±23.2	98.6±21.3*

与治疗前比较,* $P<0.05$;与对照组比较,# $P<0.05$

2. 尿 TGF-β1 和 nephrin 表达水平:两组患者尿 TGF-β1 和 nephrin 水平与正常对照组显著升高。两组患者尿 TGF-β1 和 nephrin 水平较治疗前相比,

差异有统计学意义($P<0.05$)。与对照组相比,治疗组尿 TGF-β1 和 nephrin 水平,差异有统计学意义($P<0.05$),详见表 2。

表 2 治疗前后尿 TGF-β1 和 nephrin 表达水平变化 ($\bar{x} \pm s$)

指标		健康自愿者(<i>n</i> =20)	对照组(<i>n</i> =26)	治疗组(<i>n</i> =26)
尿 TGF-β1/尿肌酐 [ng/(mmol·cr)]	治疗前	19.8±13.0	58.4±16.9	61.2±14.5
	治疗后	-	46.7±15.3*	35.8±11.6*#
尿 nephrin/尿肌酐 [(pg/(ng·cr)]	治疗前	0	38.5±6.4	41.2±7.2
	治疗后	-	32.7±5.3*	26.2±5.6*#

与治疗前比较,* $P<0.05$;与对照组比较,# $P<0.05$

讨 论

DN 的发生率随糖尿病的病程延长而增高,其主要临床特征为逐渐增多的蛋白尿和进行性肾功能损害。DN 的病理生理学特点为早期肾小球肥大,肾血流量增加,毛细血管球内压增高,肾小球滤过率明显

增高,中晚期为尿蛋白逐渐增多,肾小球滤过率下降,肾功能逐渐恶化^[6]。

研究发现高糖环境下肾小球细胞内葡萄糖多元醇代谢通路激活被激活,使葡萄糖在醛糖还原酶作用下转化为山梨醇,引起细胞渗透性损伤;同时导致细

胞内谷胱甘肽和肌醇水平下降,促使晚期糖基化终末产物及纤维连接蛋白增加,加剧肾小球硬化和肾小管间质纤维化发展过程^[7]。依帕司他是一种新型的醛糖还原酶抑制剂,可减少山梨醇生成,同时抑制蛋白激酶 C 的激活及转移生长因子- $\beta 1$ (transforming growth factor, TGF- $\beta 1$)生成,抑制肾小球基膜增厚、电荷丢失和系膜扩张,发挥肾脏保护作用^[8]。

导致 DN 足细胞损伤原因可由多种因素引发,包括机械应力、炎症反应、肾素-血管紧张素系统 (renin angiotensin system, RAS) 的激活、糖基化产物蓄积、氧化应激及 TGF- $\beta 1$ 等因素。TGF- $\beta 1$ 是一种多功能细胞因子,可调节大部分细胞的生长、分化和凋亡。在 DN 状态下,TGF- $\beta 1$ 可促使足细胞凋亡及肾小球硬化。足细胞裂隙膜特异性蛋白 nephrin, 属免疫球蛋白超家族,具有结合带负电荷的糖基化产物能力,形成肾小球滤过膜的电荷屏障。足细胞 nephrin 表达可因各种炎症和非炎症损伤出现异常,引起细胞信号转导发生障碍,导致足细胞骨架蛋白排列紊乱,从基膜剥离、脱落,肾小球滤过屏障受损,最终导致蛋白尿的产生。

本研究中观察醛糖还原酶抑制剂依帕司他对 DN 患者足细胞相关蛋白 nephrin 表达的影响。在依帕司他治疗下,DN 患者尿白蛋白排泄率显著下降,发挥肾脏保护作用,与先前研究一致^[4,5]。为了解依帕司他对尿足细胞损伤的影响,测定其特异性蛋白 nephrin 表达水平。实验中观察到依帕司他可减少 DN 患者尿 nephrin 表达,减轻肾小球损伤。nephrin 蛋白从足细胞脱落入尿液中形成尿 nephrin 蛋白。DN 早期足细胞 nephrin 蛋白表达代偿性增加,足细胞骨架蛋

白重新分布,nephrin 蛋白与足细胞骨架蛋白解离从足细胞脱落随尿液排出体外^[3]。TGF- $\beta 1$ 对细胞外基质具有强大促纤维化作用,同时能抑制多种肾脏细胞增殖诱导细胞肥大,可能是糖尿病肾小球硬化的一个重要因素。研究中观察到 DN 患者尿 TGF- $\beta 1$ 表达显著增加,依帕司他干预后其表达水平显著下降。依帕司他治疗 DN 患者,可同时显著减少尿 nephrin 和 TGF- $\beta 1$ 的表达。其机制可能为依帕司他抑制 TGF- $\beta 1$ 生成,减少炎症反应,足细胞损伤减轻,nephrin 蛋白从足细胞脱落入尿液减少,尿 nephrin 和 TGF- $\beta 1$ 检测指标下降^[8]。

综上所述,依帕司他可减轻早期 DN 患者尿白蛋白排泄率,减少尿 nephrin 表达,该途径可能是通过抑制 TGF- $\beta 1$ 的表达实现的。

参考文献

- Farag YM, Al Wakeel JS. Diabetic nephropathy in the Arab Gulf countries[J]. *Nephron Cl in Pract*, 2011, 119(4):c317-c322
- Lin CL, Wang FS, Hsu YC, *et al*. Modulation of Notch-1 signaling alleviates VEGF-mediated diabetic nephropathy[J]. *Diabetes*, 2010, 59(8):1915-1925
- Welsh GI, Saleem MA. Nephrin-signature molecule of the glomerular podocyte[J]. *J Pathol*, 2010, 220(3):328-337
- 万青松, 欧继红, 谢红萍, 等. 依帕司他对早期 2 型糖尿病肾病的保护作用[J]. *广东药学院学报*, 2009, 25(1):94-96
- 王虹, 王海霞. 依帕司他治疗糖尿病肾病的临床观察[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2011, 12(9):808-809
- 刘力涛. 糖尿病肾病的治疗进展[J]. *医学理论与实践*, 2014, 27(6):726-728
- Lewko B, Latawiec E, Maryn A, *et al*. Osmolarity and glucose differentially regulate aldose reductase activity in cultured mouse podocytes[J]. *Exp Diabetes Res*, 2011, 2011:278963
- 李海珍. 醛糖还原酶在糖尿病肾病发病中的作用机制[J]. *医学综述*, 2011, 17(8):1190-1192

(收稿日期:2015-01-05)

(修回日期:2015-01-19)

(上接第 174 页)

- Jamshidiha M, Habibollahi P, Ostad SN, *et al*. Primary WWOX phosphorylation and JNK activation during etoposide induces cytotoxicity in HEK293 cells[J]. *Daru*, 2010, 18(2):141-145
- Gomes CC, Diniz MG, Oliveira CS, *et al*. Impact of WWOX alterations on p73, $\Delta Np73$, p53, cell proliferation and DNA ploidy in salivary gland neoplasms[J]. *Oral Dis*, 2011, 17(6):564-571
- 王晓天, 宋永胜, 崔军, 等. 膀胱移行细胞癌组织与尿沉渣细胞 WWOX 基因启动子甲基化相关性研究[J]. *重庆医学*, 2013, 42(14):1564-1567
- Matteucci E, Maroni P, Luzzati A, *et al*. Bone metastatic process of breast cancer involves methylation state affecting E-cadherin expression through TAZ and WWOX nuclear effectors[J]. *Eur J Cancer*, 2013, 49(1):231-244
- Yang W, Cui S, Ma J, *et al*. Cigarette smoking extract causes hypermethylation and inactivation of WWOX gene in T-24 human bladder cancer cells[J]. *Neoplasia*, 2012, 59(2):216-223
- 李甲振, 徐宗潮, 张岩, 等. 胍苯哒嗪对人骨肉瘤细胞的生长抑制

及对 WWOX 基因的调控作用研究[J]. *中华骨科杂志*, 2014, 34(5):593-597

- Tsai CW, Lai FJ, Sheu HM, *et al*. WWOX suppresses autophagy for inducing apoptosis in methotrexate-treated human squamous cell carcinoma[J]. *Cell Death Dis*, 2013, 5(4):e792
- Pimenta FJ, Gomes DA, Perdigão PF, *et al*. Characterization of the tumor suppressor gene WWOX in primary human oral squamous cell carcinomas[J]. *Int J Cancer*, 2006, 118(5):1154-1158
- 补蔚萍, 杨清宇, 石静, 等. 牙龈鳞癌中 WWOX 基因的表达及其临床意义[J]. *临床医药实践*, 2012, 21(3):168-170
- Amaral FR, Diniz MG, Bernardes VF, *et al*. WWOX expression in giant cell lesions of the jaws[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 2013, 116(2):210-213
- Diniz MG, Borges ER, Pimenta FJ, *et al*. Evidence of molecular alterations in the tumour suppressor gene WWOX in benign and malignant bone related lesions of the jaws[J]. *Oncol Rep*, 2011, 25(2):499-502

(收稿日期:2015-01-17)

(修回日期:2015-01-28)