

外周血淋巴细胞亚群差异及不同疗法对低危及中高危特发性膜性肾病患者影响

李俊伟 石 伟 蒋莹辉 贾英辉 唐军亭 康锁彬 贺艳光

【摘 要】 目的 观察低危及中高危特发性膜性肾病 (IMN) 患者外周血淋巴细胞亚群间的差异并分析其与 24 h 尿蛋白定量 (24 hUPro) 和血清白蛋白 (Alb) 之间的相关性并接受不同疗法后的变化。方法 将 150 例经临床和肾脏病理确诊为 IMN 的患者,按随机数字表法分为对照组、观察 1 组和观察 2 组,每组 50 例,每组患者再按照其入组时 24 hUPro 和 Alb 基线水平分为低危组 (60/150) 和中高危组 (90/150) 2 亚组。所有患者均给予常规对症治疗,对照组患者采用改良 Ponticelli 方案,观察 1 组患者在对照组治疗基础上同时应用中药肾俞穴敷熨的方法,观察 2 组患者在对照组治疗基础上同时应用中药俞募配穴敷熨的方法。流式细胞仪测外周血淋巴细胞亚群中 CD3⁺/CD45⁺、CD3⁺CD8⁺/CD45⁺、CD3⁺CD4⁺/CD45⁺、CD3⁺CD19⁺/CD45⁺、Treg/CD4⁺及 CD4⁺/CD8⁺,比较 2 亚组间上述指标治疗前差异及与 24 hUPro 和 Alb 的相关性,及不同疗法对其影响。结果 ①治疗前中高危组 IMN 患者较低危组 24 hUPro、CD3⁺CD4⁺/CD45⁺、CD3⁺CD19⁺/CD45⁺和 CD4⁺/CD8⁺明显升高 ($P < 0.05$), Alb、CD3⁺CD8⁺/CD45⁺和 Treg/CD4⁺明显下降 ($P < 0.05$)。且中高危组 IMN 患者 24 hUPro 与 CD3⁺/CD45⁺、CD3⁺CD8⁺/CD45⁺及 Treg/CD4⁺间均呈负相关 ($P < 0.05$),与 CD3⁺CD19⁺/CD45⁺及 CD4⁺/CD8⁺间均呈正相关 ($P < 0.05$) 而 Alb 与 CD3⁺CD19⁺/CD45⁺及 CD4⁺/CD8⁺间均呈负相关 ($P < 0.05$),与 CD3⁺/CD45⁺、CD3⁺CD8⁺/CD45⁺及 Treg/CD4⁺间均呈正相关 ($P < 0.05$)。②2 亚组治疗后在 24 hUPro、CD3⁺CD4⁺/CD45⁺、CD3⁺CD19⁺/CD45⁺和 CD4⁺/CD8⁺下降及 Alb、CD3⁺CD8⁺/CD45⁺和 Treg/CD4⁺提升方面,观察 2 组效果最优 ($P > 0.05$)。结论 ①中高危组 IMN 患者较低危组存在明显的淋巴细胞亚群紊乱,且中高危 IMN 患者淋巴细胞亚群除 CD3⁺CD4⁺/CD45⁺外余者均与 24 hUPro 及 Alb 之间存在明显的相关性,监测外周血淋巴细胞亚群变化可能有助于指导评估中高危 IMN 患者治疗;②中药俞募配穴敷熨联合改良 Ponticelli 方案对淋巴细胞亚群紊乱改善疗效最优。

【关键词】 肾小球肾炎,膜性; 淋巴细胞亚群; T 淋巴细胞,调节性; 24 h 尿蛋白定量

Differences of peripheral blood lymphocyte subsets and the effects of different therapies in patients with low-risk and middle-high risk idiopathic membranous nephropathy Li Junwei*, Shi Wei, Jiang Yinghui, Jia Yinghui, Tang Junting, Kang Suobin, He Yanguang. *Department of Nephrology, Shijiazhuang Kidney Disease Hospital, Hebei 050061, China

【Abstract】 Objective To observe the differences between peripheral blood lymphocyte subsets in patients with low-risk, medium and high-risk idiopathic membranous nephropathy (IMN), and to analyze the correlation between them and 24-hour urinary protein quantification (24 hUPro) and serum albumin (Alb), as well as the changes after receiving different treatments in order to explore its clinical significance. Methods A total of 150 patients diagnosed as IMN by clinical and renal pathology were divided into three groups according to the random number table method, control group, observation group 1 and observation group 2, 50 cases in each group, and each group was further divided into two subgroups, low-risk group (60/150) and middle-high risk group (90/150) according to baseline levels of the 24hUPro and Alb. All patients were on the basis of conventional symptomatic supportive treatment, and the control group was treated with modified Ponticelli. On the basis of the control group, observation group 1 was treated with the method of Traditional Chinese Medicine hot compress the back Shenshu points and observation group 2 were treated with the method of Traditional Chinese Medicine hot compress the back Shenshu and front Jingmen points. Flow cytometry was used to measure CD3⁺/CD45⁺, CD3⁺CD8⁺/CD45⁺, CD3⁺CD4⁺/CD45⁺, CD3⁺CD19⁺/CD45⁺, Treg/CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ in peripheral blood lymphocyte subsets, and the differences of the above indicators before treatment between the two subgroups was compared, and the correlation with 24 hUPro and Alb, and the changes in the above

DOI: 10.3969/j.issn.0253-9926.2019.04.005

基金项目 石家庄市科学技术研究与发展指导计划 (71461243)

作者单位 050061 石家庄肾病医院肾内科 李俊伟、蒋莹辉、贾英辉、唐军亭, 中医科 石伟、康锁彬, 检验科 贺艳光

indicators of the two subgroups after received different therapies were analyzed. **Results** ① Compared with the low-risk group, 24 hUPro, CD3⁺CD4⁺/CD45⁺, CD3⁺CD19⁺/CD45⁺ and CD4⁺/CD8⁺ were significantly increased in the middle-high risk group of the IMN patients before treatment ($P<0.05$), Alb, CD3⁺CD8⁺/CD45⁺ and Treg/CD4⁺ decreased significantly ($P<0.05$). And there was a negative correlation between 24 hUPro and CD3⁺/CD45⁺, CD3⁺CD8⁺/CD45⁺ and Treg/CD4⁺ ($P<0.05$), positively correlated with CD3⁺CD19⁺/CD45⁺ and CD4⁺/CD8⁺ ($P<0.05$); But Alb was negatively correlated with CD3⁺CD19⁺/CD45⁺ and CD4⁺/CD8⁺ ($P<0.05$), and CD3⁺/CD45⁺. There was a positive correlation between CD3⁺CD8⁺/CD45⁺ and Treg/CD4⁺ ($P<0.05$). ② In the two subgroups, the observation group 2 has the best effect after treatment in decreasing 24hUPro, CD3⁺CD4⁺/CD45⁺, CD3⁺CD19⁺/CD45⁺ and CD4⁺/CD8⁺, and enhancing Alb, CD3⁺CD8⁺/CD45⁺ and Treg/CD4⁺ ($P>0.05$). **Conclusion** ① The IMN patients in the middle-high risk group had more obvious lymphocyte subgroup disorders than that in the low-risk group, and there was a significant correlation between the lymphocyte subsets with 24 hUPro and Alb except CD3⁺CD4⁺/CD45⁺. Monitoring changes in peripheral blood lymphocyte subsets may be helpful in guiding and evaluating the treatment of middle-high risk IMN patients. ② The Traditional Chinese Medicine hot compress the back Shenshu and front Jingmen points combined with modified Ponticelli therapy has the best effect on the improvement of lymphocyte subset disorder.

【Key words】 Glomerulonephritis, membranous; Lymphocyte subsets; T-lymphocytes, regulatory; 24-hour urinary protein quantification

特发性膜性肾病 (Idiopathic membranous nephropathy, IMN) 多表现为肾病综合征^[1], 目前医学领域的研究结果提示该病属于一种自身免疫病^[2], 发病机制尚不完全明确。而调节性 T 细胞 (T_{reg})、B 细胞以及 CD4⁺/CD8⁺ 等在维持人体免疫平衡方面均具有重要作用^[3], 在某种程度上参与 IMN 的发病及其预后, 虽淋巴细胞亚群的变化在 IMN 发病过程中的作用偶有报道, 但结论不尽相同^[4], 且治疗对其影响更是鲜有报道。本研究旨在观察 IMN 患者外周血淋巴细胞亚群在不同病情状态下的差异及不同疗法对其指标的影响, 来探讨其与临床症状及预后间的联系, 以期为病情判断及临床治疗提供线索。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择 2017 年 1 月至 2018 年 6 月在石家庄肾病医院肾内科进行治疗的, 经临床和肾脏病理确诊为 IMN 患者 150 例, 年龄 18~68 岁, 平均 (43±13) 岁, 本研究获得了石家庄肾病医院医学伦理委员会的批准。

1.2 研究方法

1.2.1 临床资料 记录患者的年龄、性别、病程、中医证候及不良反应发生情况。记录患者入组时基线 (t₀)、治疗 1 个月后 (t₁)、治疗 2 个月后 (t₂)、治疗 3 个月后 (t₃) 及治疗 6 个月后 (t₄) 5 次检测时间点的一般生命体征和实验室检测结果, 如血常规, 尿常规, 血糖, 尿蛋白定量 (4 h), 丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、血清白蛋白 (Alb), 血肌酐, 内生肌酐清除率 (通过 MDRD 公式计算), 甘油三酯 (TG)、总胆固醇 (CHOL), 淋巴

球亚群, T 辅助/T 抑制 (CD4⁺/CD8⁺) 等, 检测窗口期为 1 周。

1.2.2 纳入及排除标准 入组标准为经临床和肾脏病理确诊的年龄 ≥ 18 岁 IMN 患者, 血肌酐 < 133 μmol/L, 中医辨证均以肾虚血瘀^[5] 为主, 经血管紧张素转化酶抑制剂 (ACEI) 类药物治疗 ≥ 3 个月后尿蛋白定量 (4 h) 仍 ≥ 3.5 g 且患者愿意进一步治疗者, 近 3 个月内未使用过激素及免疫抑制剂, 入组前均签署知情同意书。排除标准为中医辨证非肾虚血瘀为主者 继发性膜性肾病者 并有自身免疫病、神经系统、精神疾病患者 并有严重的感染、血栓栓塞、肺肝功能不全、消化道溃疡、出血者 高血压三级及以上者 对所用药物过敏者。

1.2.3 实验室检测 入组患者血清样本均使用德国罗氏 Cobas8000 全自动生化免疫模块分析仪及其配套试剂盒对指标进行测定 淋巴细胞亚群测定使用美国 BD FACSCanto II 六色流式细胞仪及其配套的淋巴细胞亚群检测试剂 (流式细胞仪法-6 色) 和 BD Trucount 绝对计数管进行检测。所有过程严格按照操作说明书进行。

1.2.4 分组及相应的处理方法 将 150 例经临床和肾脏病理确诊为 IMN 的患者按治疗方案的不同采用随机数字表方法分为对照组、观察 1 组和观察 2 组, 每组 50 例, 每组患者再按照其入组时尿蛋白定量 (4 h) (4 hUPro) 和血清白蛋白 (Alb) 基线水平, 据 KDIGO 指南^[6] 和 Cattran 等^[7] 危险分级分为低危 (4 hUPro < 4 g 且 Alb > 20 g/L) 和中高危 (4 hUPro ≥ 4 g, 或 Alb ≤ 20 g/L) 2 亚组。所有患者均给予常规对症支持治疗, 对照组患者采用改良 Ponticelli 方案^[8], 即第 1、3、5 个月静脉滴注甲泼尼龙

国药集团容生制药有限公司,按 $C_{22}H_{30}O_5$ 计 40 mg) 0.5 g/d×3 d 后口服泼尼松 浙江仙琚制药股份有限公司,每片 5 mg) 0.4 mg·kg⁻¹·d⁻¹×27 d,第 2、4、6 个月停用,改口服环磷酰胺 100 mg×30 d。观察 1 组患者在对照组治疗基础上同时应用中药敷熨双肾俞穴的方法,观察 2 组患者在对照组治疗基础上同时应用中药敷熨双肾俞穴及京门穴的方法。3 组的总疗程均为 6 个月。

中药的组方及用法:黄精 30 g,桑寄生 30 g,红景天 20 g,川芎 30 g,鸡血藤 20 g,赤芍 20 g,徐长卿 20 g,威灵仙 30 g,秦艽 20 g,香附 20 g,羌活 20 g,独活 30 g,水煎取汁约 200 mL,浸入纱布垫蒸热后,敷熨于肾俞穴和(或)京门穴区域,每日 2 次,每次 30 min。1 个月为 1 个疗程,连用 6 个疗程。其中,患者于本人治疗程序的第 1、3、5 个月月初来院住院治疗至少 3 d,其余时间按其各自的治

疗方案院外随访治疗,中药煎剂每月来院领取或邮寄。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析处理。计量资料结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料以 % 表示。正态分布且方差齐的两组数据比较采用独立样本 *t* 检验,非正态分布两组数据比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。多组数据间比较采用单因素方差分析,不同时间的点的计量资料数据比较采用重复测量方差分析。一般计数数据比较采用 χ^2 检验,等级资料比较采用秩和检验。两变量相关性采用 Spearman 相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 3 组患者的低危及中高危及人数占比、性别、年龄、病程比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 1。

表 1 3 组患者一般临床资料比较

组别	例数	危险分级		性别		年龄 岁, $\bar{x} \pm s$)	病程 月, $\bar{x} \pm s$)
		低危	中高危及	男	女		
对照组	50	21	29	36	14	42±12	16±7
观察 1 组	50	22	28	35	15	44±14	15±7
观察 2 组	50	17	33	34	16	42±13	14±6

2.2 2 亚组治疗前相关指标结果比较:治疗前 IMN 患者中高危及组较低危及组 24 hUPro、CD3⁺CD4⁺/CD45⁺、CD3⁺CD19⁺/CD45⁺和 CD4⁺/CD8⁺明显升高

($P < 0.05$), Alb、CD3⁺CD8⁺/CD45⁺和 Treg/CD4⁺明显下降 ($P < 0.05$), Scr 和 CD3⁺/CD45⁺差异无统计学意义,见表 2。

表 2 2 亚组患者治疗前相关指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	24 hUPro (g)	Alb (g/L)	Scr (μmol/L)	CD3 ⁺ /CD45 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD8 ⁺ / CD45 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ / CD45 ⁺	CD3 ⁺ CD19 ⁺ / CD45 ⁺	Treg/CD4 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
低危及组	60	3.66±0.15	24.1±2.3	66±22	66.2±1.6	18.3±0.7	47.9±1.2	22.6±1.6	3.81±0.27	2.63±0.10
中高危及组	90	6.57±2.41	20.0±4.0	71±23	65.4±1.9	16.8±1.6	48.5±1.6	25.7±3.5	3.04±1.12	2.92±0.33
<i>Z</i> 值		-7.966	-6.274	-1.734	-1.667	-6.305	-4.287	-5.480	-3.178	-6.510
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01	0.083	0.096	<0.01	<0.01	<0.01	0.001	<0.01

2.3 相关性分析 IMN 患者低危及组治疗前 24 hUPro 及 Alb 与淋巴细胞亚群各项指标间均无相关性 ($P > 0.05$)。IMN 患者高危及组治疗前 24 hUPro 及 Alb 除与 CD3⁺CD4⁺/CD45⁺间无相关性外 ($P > 0.05$), 24 hUPro 与 CD3⁺/CD45⁺、CD3⁺CD8⁺/CD45⁺及 Treg/CD4⁺间均呈负相关 ($P < 0.05$), 与 CD3⁺CD19⁺/CD45⁺及 CD4⁺/CD8⁺间均呈正相关 ($P < 0.05$); Alb 与 CD3⁺CD19⁺/CD45⁺及 CD4⁺/CD8⁺间均呈负相关 ($P < 0.05$), 与 CD3⁺/CD45⁺、CD3⁺CD8⁺/CD45⁺及 Treg/CD4⁺间均呈正相关 ($P < 0.05$), 见表 3。

2.4 2 亚组采取不同疗法治疗前后相关指标比较:

低危及组患者接受不同治疗后的相关指标比较 见表 4。中高危及组患者接受不同治疗后的相关指标比较 见表 5。

3 讨论

本研究显示中高危及组 IMN 患者较低危及组存在明显的淋巴细胞亚群紊乱,其中 Treg/CD4⁺明显下降,与国内学者研究 IMN 与健康对照组的结果相似,但与其研究的大量蛋白尿组与非大量蛋白尿组的结论不同^[1],与杨莉等^[4]研究的 IMN 患者外周血 Treg 细胞数量较健康人增多结果也不同;本研究显示 CD4⁺/CD8⁺明显升高与 Cagnoli 等^[6]早在 1982

表 3 2 亚组患者治疗前外周血淋巴细胞亚群与尿蛋白定量 (4 h) 及血清白蛋白间的相关性

组别	例数	CD3 ⁺ /CD45 ⁺				CD3 ⁺ CD8 ⁺ /CD45 ⁺				CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD45 ⁺			
		24 hUPro		Alb		24 hUPro		Alb		24 hUPro		Alb	
		r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
IMN 低危组	60	-0.180	0.168	-0.127	0.334	-0.022	0.870	-0.105	0.425	-0.252	0.053	-0.110	0.403
IMN 中高危组	90	-0.525	0.000	0.432	0.000	-0.728	0.000	0.370	0.000	0.058	0.585	0.005	0.963

组别	例数	CD3 ⁺ CD19 ⁺ /CD45 ⁺				Treg/CD4 ⁺				CD4 ⁺ /CD8 ⁺			
		24 hUPro		Alb		24 hUPro		Alb		24 hUPro		Alb	
		r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
IMN 低危组	60	0.169	0.196	0.076	0.565	0.079	0.547	0.037	0.776	-0.150	0.253	0.009	0.946
IMN 中高危组	90	0.683	0.000	-0.454	0.000	-0.442	0.000	0.435	0.000	0.705	0.000	-0.373	0.000

表 4 低危组患者接受不同治疗后的相关指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	24 hUPro (g)					Alb (g/L)				
		T0	T1	T2	T3	T4	T0	T1	T2	T3	T4
对照组	21	3.66±0.14	1.87±1.56	1.41±1.18	0.99±0.66	0.86±0.68	23.6±1.8	31.8±4.7	33.0±4.6	34.5±4.7	34.5±4.0
观察 1 组	22	3.67±0.14	1.06±0.83 ¹⁾	1.13±0.67	0.79±0.58	0.56±0.49	24.5±2.9	31.6±3.7	33.0±4.2	35.8±4.6	38.0±6.0 ¹⁾
观察 2 组	17	3.65±0.17	0.86±0.67 ¹⁾	0.64±0.54 ¹⁾	0.39±0.28 ¹⁾	0.20±0.14 ¹⁾	24.1±2.0	34.0±3.8	37.5±6.0 ¹⁾	38.2±5.3 ¹⁾	41.7±5.0 ¹⁾

组别	例数	Scr (μmol/L)					CD3 ⁺ /CD45 ⁺				
		T0	T1	T2	T3	T4	T0	T1	T2	T3	T4
对照组	21	61.3±17.8	63.6±18.3	66.2±17.0	63.1±16.1	67.0±19.7	66.6±2.1	66.7±0.8	66.6±0.7	66.4±0.7	67.3±1.1
观察 1 组	22	68.7±21.7	72.8±20.4	70.1±18.7	73.1±15.6	72.3±21.7	65.8±1.4	66.7±0.6	66.5±0.5	66.5±0.5	67.3±2.7
观察 2 组	17	66.9±25.9	67.3±18.1	67.0±18.3	68.0±18.7	64.5±19.7	66.1±1.2	66.6±0.7	66.4±0.4	66.5±0.6	67.8±0.7

组别	例数	CD3 ⁺ CD8 ⁺ /CD45 ⁺					CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD45 ⁺				
		T0	T1	T2	T3	T4	T0	T1	T2	T3	T4
对照组	21	18.44±0.69	21.02±1.91 ¹⁾	21.35±1.36	21.73±0.56	22.23±0.55	48.15±1.48	45.69±1.50	45.23±1.02	44.72±0.70	45.73±1.61
观察 1 组	22	18.14±0.80	21.86±0.49	21.72±0.36	21.91±0.45	22.38±0.96	47.71±1.11	44.85±0.81 ¹⁾	44.79±0.70	44.55±0.61	45.53±1.90
观察 2 组	17	18.22±0.55	21.98±0.48 ¹⁾	22.06±0.41 ¹⁾	22.07±0.44 ¹⁾	22.80±0.52 ¹⁾	47.96±1.10	44.63±0.66 ¹⁾	44.34±0.48 ¹⁾	44.29±0.22 ¹⁾	44.41±1.01 ¹⁾

组别	例数	CD3 ⁺ CD19 ⁺ /CD45 ⁺					Treg/CD4 ⁺				
		T0	T1	T2	T3	T4	T0	T1	T2	T3	T4
对照组	21	22.2±2.1	18.8±2.9	18.4±2.2	17.4±0.7	16.1±0.8	3.81±0.31	6.57±1.46	6.86±1.08	7.23±0.64	7.69±0.43
观察 1 组	22	23.0±1.4	17.6±1.0 ¹⁾	17.7±0.7	17.2±0.8	16.2±0.8	3.75±0.26	7.21±0.74 ¹⁾	7.26±0.58 ¹⁾	7.57±0.50 ¹⁾	7.81±0.36
观察 2 组	17	22.8±0.8	17.3±0.8 ¹⁾	17.2±0.7 ¹⁾	16.9±0.5 ¹⁾	15.6±0.5 ¹⁾	3.91±0.22	7.41±0.62 ¹⁾	7.61±0.49	7.78±0.35 ¹⁾	8.02±0.27 ¹⁾

组别	例数	CD4 ⁺ /CD8 ⁺				
		T0	T1	T2	T3	T4
对照组	21	2.61±0.06	2.20±0.32	2.13±0.21	2.06±0.07	2.00±0.15
观察 1 组	22	2.64±0.13	2.05±0.08 ¹⁾	2.06±0.06	2.03±0.06	2.00±0.05 ¹⁾
观察 2 组	17	2.63±0.10	2.03±0.06 ¹⁾	2.01±0.05 ¹⁾	2.01±0.05 ¹⁾	1.93±0.02 ¹⁾

1) 与对照组比较 $P < 0.05$ 。2) 与观察 1 组比较 $P < 0.05$ 。

年结论相同,与王波等^[4]及廉琳等^[1]的结论不同;本研究显示 CD3⁺CD19⁺/CD45⁺明显升高与王波等^[4]的结论相同,与崔岭等^[2]的研究结论不同。此外,本研究还发现 CD3⁺CD4⁺/CD45⁺明显升高,CD3⁺CD8⁺/CD45⁺明显下降,虽与国内学者最终研究结果不同,

但与国内学者研究数据表现出来的趋势相同^[4,11]。上述淋巴细胞亚群的最终结论间的差异,考虑与 IMN 患者所处的疾病状态不同、分组标准不同以及检测方法不同有关。总之,本研究通过检测不同疾病状态下的 IMN 患者外周血淋巴细胞亚群的表

表 5 中高危组患者接受不同治疗后的相关指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	24 hUPro (μ)					Alb (g/L)				
		T0	T1	T2	T3	T4	T0	T1	T2	T3	T4
对照组	29	6.5 $\pm$ 2.6	3.4 $\pm$ 2.5	2.7 $\pm$ 2.0	2.3 $\pm$ 1.6	1.8 $\pm$ 1.4	20 $\pm$ 5	25 $\pm$ 7	26 $\pm$ 7	28 $\pm$ 7	29 $\pm$ 7
观察 1 组	28	6.8 $\pm$ 2.6	3.1 $\pm$ 1.8	2.4 $\pm$ 1.5	2.0 $\pm$ 1.2	1.7 $\pm$ 1.2	19 $\pm$ 3	28 $\pm$ 5 ¹⁾	30 $\pm$ 6 ¹⁾	32 $\pm$ 7 ¹⁾	32 $\pm$ 8
观察 2 组	33	6.4 $\pm$ 2.0	3.0 $\pm$ 2.1	1.8 $\pm$ 1.1 ¹⁾	1.2 $\pm$ 0.9 ¹⁾²⁾	0.7 $\pm$ 0.6 ¹⁾²⁾	21 $\pm$ 4	31 $\pm$ 4 ¹⁾²⁾	32 $\pm$ 6 ¹⁾	34 $\pm$ 6 ¹⁾	36 $\pm$ 7 ¹⁾²⁾
组别	例数	Scr (μ mol/L)					CD3 ⁺ /CD45 ⁺				
		T0	T1	T2	T3	T4	T0	T1	T2	T3	T4
对照组	29	68 $\pm$ 19	76 $\pm$ 18	78 $\pm$ 16	75 $\pm$ 19	78 $\pm$ 23	65.5 $\pm$ 1.8	66.2 $\pm$ 1.0	65.2 $\pm$ 0.8	66.2 $\pm$ 0.7	67.1 $\pm$ 1.6
观察 1 组	28	71 $\pm$ 21	73 $\pm$ 22	70 $\pm$ 18	76 $\pm$ 22	80 $\pm$ 25	64.9 $\pm$ 1.6	66.0 $\pm$ 0.9	66.2 $\pm$ 0.7	66.3 $\pm$ 0.9	67.5 $\pm$ 1.3
观察 2 组	33	74 $\pm$ 27	73 $\pm$ 20	70 $\pm$ 17	71 $\pm$ 17	69 $\pm$ 15	65.9 $\pm$ 2.1	66.1 $\pm$ 0.8	66.4 $\pm$ 0.6	66.4 $\pm$ 0.4	67.7 $\pm$ 0.8
组别	例数	CD3 ⁺ CD8 ⁺ /CD45 ⁺					CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD45 ⁺				
		T0	T1	T2	T3	T4	T0	T1	T2	T3	T4
对照组	29	16.8 $\pm$ 1.6	19.4 $\pm$ 2.8	19.5 $\pm$ 2.7	20.3 $\pm$ 1.9	22.0 $\pm$ 0.7	48.7 $\pm$ 0.9	46.9 $\pm$ 2.1	46.4 $\pm$ 2.0	45.8 $\pm$ 1.4	48.4 $\pm$ 3.2
观察 1 组	28	16.2 $\pm$ 1.6	20.5 $\pm$ 7.1	20.2 $\pm$ 2.1	20.8 $\pm$ 1.5	22.0 $\pm$ 0.6	48.5 $\pm$ 0.9	45.5 $\pm$ 6.8	45.9 $\pm$ 1.5	45.5 $\pm$ 1.0	48.1 $\pm$ 2.8
观察 2 组	33	17.0 $\pm$ 1.4	19.6 $\pm$ 2.6	21.3 $\pm$ 1.0 ¹⁾²⁾	21.6 $\pm$ 0.6 ¹⁾²⁾	22.3 $\pm$ 0.4 ¹⁾²⁾	48.3 $\pm$ 2.4	46.5 $\pm$ 2.0	45.2 $\pm$ 0.8 ¹⁾	44.8 $\pm$ 0.7 ¹⁾²⁾	45.6 $\pm$ 1.2 ¹⁾²⁾
组别	例数	CD3 ⁺ CD19 ⁺ /CD45 ⁺					Treg/CD4 ⁺				
		T0	T1	T2	T3	T4	T0	T1	T2	T3	T4
对照组	29	25.9 $\pm$ 4.4	21.7 $\pm$ 4.4	21.1 $\pm$ 4.2	20.0 $\pm$ 3.1	16.2 $\pm$ 0.5	2.9 $\pm$ 1.2	5.4 $\pm$ 2.0	5.7 $\pm$ 2.0	6.2 $\pm$ 1.4	6.7 $\pm$ 1.1
观察 1 组	28	26.5 $\pm$ 2.6	21.6 $\pm$ 3.9	20.2 $\pm$ 3.3	19.1 $\pm$ 2.2	16.0 $\pm$ 0.6	2.8 $\pm$ 0.9	5.4 $\pm$ 1.7	6.0 $\pm$ 1.5	6.5 $\pm$ 1.0	6.9 $\pm$ 1.0
观察 2 组	33	24.9 $\pm$ 3.2	21.2 $\pm$ 4.1	18.7 $\pm$ 1.7 ¹⁾	17.8 $\pm$ 1.3 ¹⁾²⁾	15.6 $\pm$ 0.7 ¹⁾²⁾	3.3 $\pm$ 1.1	5.6 $\pm$ 1.9	6.7 $\pm$ 0.9 ¹⁾	6.9 $\pm$ 1.4 ¹⁾	7.7 $\pm$ 0.4 ¹⁾²⁾
组别	例数	CD4 ⁺ /CD8 ⁺									
		T0	T1	T2	T3	T4					
对照组	29	2.92 $\pm$ 0.29	2.49 $\pm$ 0.48	2.44 $\pm$ 0.45	2.28 $\pm$ 0.30	2.13 $\pm$ 0.13					
观察 1 组	28	3.02 $\pm$ 0.35	2.41 $\pm$ 0.62	2.30 $\pm$ 0.33	2.20 $\pm$ 0.21	2.13 $\pm$ 0.11					
观察 2 组	33	2.88 $\pm$ 0.29	2.43 $\pm$ 0.46	2.13 $\pm$ 0.14 ¹⁾²⁾	2.08 $\pm$ 0.09 ¹⁾²⁾	2.03 $\pm$ 0.05 ¹⁾²⁾					

1) 与对照组比较 $P < 0.05$ 。2) 与观察 1 组比较 $P < 0.05$ 。

达差异,表明中高危 IMN 患者较低危患者体内确实存在淋巴细胞异常表达,且中高危组除 CD3⁺CD4⁺/CD45⁺外,均与 24 hUPro 及 Alb 间均存在明显的相关性,尤其是在 Treg/CD4⁺ [3] 和 CD3⁺CD19⁺/CD45⁺ [4] 与 24 hUPro 及 Alb 间的相关性与文献报道一致,此外本研究还发现中高危组 CD3⁺CD4⁺/CD45⁺、CD3⁺CD8⁺/CD45⁺ 及 CD4⁺/CD8⁺ 也与 24 hUPro 及 Alb 间存在相关性,综合现有的临床和实验研究均表明免疫反应参与着 IMN 的发病 [4],同时 24 hUPro 及 Alb 仍然是指导 IMN 治疗及判断预后的主要标准 [4,15],这些信息提示临床监测外周血淋巴细胞亚群变化可能更有助于指导评估中高危 IMN 患者治疗。

关于 IMN 患者的治疗采用糖皮质激素联合细胞毒药物的周期性治疗可以诱导缓解并长期保存肾功能,2012 年 KDIGO 指南推荐的 Ponticelli 方

案应用于 IMN 的治疗,出于中国人种族特点,改良 Ponticelli 方案被应用于临床,然其有效率仍欠满意 [4],且对淋巴细胞亚群紊乱的改善并不理想,虽联合中医治疗在一定程度上可提高疗效,减少并发症,但考虑到口服中药的胃肠道不良反应及潜在的肝肾毒性,本研究采用了中药外用疗法俞募配穴敷熨联合改良 Ponticelli 方案治疗 IMN,源于中医辨证、经穴外治原理。其中,中药组方立足于肾虚血瘀之肾病的基本病机,根据中医辨证特点及风药增效论,本组方以益肾活血,祛风通络立法,以黄精、桑寄生为君药,补肾益气,祛风除湿 红景天、川芎、鸡血藤、赤芍共为臣药,活血祛瘀,祛风通络 徐长卿、威灵仙、秦艽、香附共为佐药,祛风利湿,行气通络,辅助君臣加强补肾活血之作用,羌活、独活两者合用,深入肾与膀胱经祛风散寒,共为使药,引领诸药入肾与膀胱经发挥益肾活血,祛风通络的作用;

且黄精、红景天、赤芍、徐长卿、香附、独活、威灵仙、秦艽、桑寄生等均具有调节机体免疫的功效。

俞募配穴的具体运用最早见于《灵枢·背俞》、《难经·六十七难》及《太平圣惠方》中也均对募穴与背俞穴配合应用治疗脏腑疾患有所提及,其中,募穴”是脏腑之气汇聚于胸腹部的腧穴,多用以诊断和治疗本脏腑病证,常与背俞穴配合使用;背俞穴”是五脏六腑之气输注于背部的腧穴,多用于治疗相应脏腑病症,常与募穴配伍。国内学者通过俞募配穴灸法对慢性肾炎膜性大鼠动物实验^[6]证明了该疗法的有效性和安全性,目前俞募配穴治疗脏腑疾患已经广泛运用于临床,且研究报告其有效率皆在 90%以上^[7]。然肾的募穴是京门,肾的背俞穴是肾俞,故本研究在中药双肾区肾俞穴热敷治疗肾脏疾病的基础上^[8],选取的穴位是肾之背俞穴肾俞和腹募穴京门进行的俞募配穴联合的中药组方煎剂进行敷熨,同时联合改良 Ponticelli 方案,在临床上均取得了较好的治疗效果且对淋巴细胞亚群紊乱改善效果最优。然而,本研究为单中心研究,且仅治疗观察了 6 个月,周期短,仍需进一步进行多中心、较长周期的研究验证。

综上所述,中高危组 IMN 患者较低危组存在明显的淋巴细胞亚群紊乱,且中高危 IMN 患者淋巴细胞亚群除 CD3⁺CD4⁺/CD45⁺外余者均与 24 hUPro 及 Alb 之间存在明显的相关性,且经过中药俞募配穴敷熨联合改良 Ponticelli 方案治疗后淋巴细胞亚群紊乱状态改善最优,监测外周血淋巴细胞亚群变化可能有助于指导评估中高危 IMN 患者治疗。

参考文献

- [1] Cattran D, Brenchley P. Membranous nephropathy: thinking through the therapeutic options [J]. Nephrol Dial Transplant, 2017, 32 (suppl 1): i22-i29.
- [2] Cattran DC, Brenchley PE. Membranous nephropathy: integrating basic science into improved clinical management [J]. Kidney Int, 2017, 91 (5): 566-574.
- [3] Artinger K, Kirsch AH, Aringer I, et al. Innate and adaptive immunity in experimental glomerulonephritis: a pathfinder tale [J]. Pediatr Nephrol, 2017, 32 (6): 943-947.
- [4] 王波, 刘志红, 吴燕, 等. 特发性膜性肾病患者调节性 T 细胞和 B 淋巴细胞的变化及其临床意义 [J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2009, 18 (4): 322-328.
- [5] 张大宁, 沈伟梁, 张勉之, 等. 肾虚血瘀·湿热论”与港、澳地区慢性肾炎发病关系的研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2003, 9 (6): 1-3.
- [6] 吴滢, 陈咏琦, 黄文彦. 特发性膜性肾病 KDIGO 临床实践指南解读 [J]. 国际儿科学杂志, 2013, 40 (1): 197-200.
- [7] Cattran DC, Pei Y, Greenwood CM, et al. Validation of a predictive model of idiopathic membranous nephropathy: its clinical and research implications [J]. Kidney Int, 1997, 51 (5): 901-907.
- [8] 夏薇青, 裴华颖, 李绍梅, 等. 改良 Ponticelli 方案治疗特发性膜性肾病的临床研究 [J]. 中华内科杂志, 2016, 55 (1): 181-185.
- [9] 杨莉, 田庚, 卢雪红, 等. 86 例膜性肾病回顾性分析及对 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞的初步研究 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2009, 10 (2): 1063-1065.
- [10] Cagnoli L, Tabacchi P, Pasquali S, et al. T cell subset alterations in idiopathic glomerulonephritis [J]. Clin Exp Immunol, 1982, 50 (1): 70-76.
- [11] 廉琳, 马东红, 郭明好, 等. 原发性膜性肾病患者外周血及肾组织 Th17、Treg 的变化及其意义 [J]. 中国免疫学杂志, 2016, 32 (11): 1667-1671.
- [12] 崔岭, 高海燕, 焦亚莉. 百令胶囊联合厄贝沙坦片治疗膜性肾病 38 例临床观察及对免疫功能的影响 [J]. 河北中医, 2013, 35 (10): 1543-1544, 1559.
- [13] 龙泉, 朱淳, 龙飞, 等. 成人特发性膜性肾病患者外周血中调节性 T 细胞和辅助性 T 细胞 17 的比例变化研究 [J]. 世界临床药物, 2015, 38 (1): 450-456.
- [14] Pereira Wde F, Brito-Melo GE, Guimarães FT, et al. The role of the immune system in idiopathic nephrotic syndrome: a review of clinical and experimental studies [J]. Inflamm Res, 2014, 63 (1): 1-12.
- [15] 中国成人肾病综合征免疫抑制治疗专家组. 中国成人肾病综合征免疫抑制治疗专家共识 [J]. 中华肾脏病杂志, 2014, 30 (6): 467-474.
- [16] 吴红, 向迪乐, 杨宇, 等. 俞募配穴灸法对慢性肾炎大鼠肝细胞生长因子 (HGF) 影响的实验研究 [J]. 贵阳医学院学报, 2013, 35 (1): 26-28.
- [17] 潘艳霞, 刘志顺. 俞募配穴的临床特点分析 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26 (4): 656-659.
- [18] 刘建民, 薛闪, 王瑞平, 等. 滋阴益气中药口服联合双肾俞穴外敷减少肾病综合征复发 [J]. 临床医药文献杂志, 2018, 5 (18): 52-53.

收稿日期 2018-10-29