

难治性肾病综合征患儿加用他克莫司后的疗效及调节性 T 细胞变化

李志娟, 唐 筠, 张高峰*

西安市儿童医院肾病科, 陕西 西安 710003

摘要: **目的** 探讨使用他克莫司治疗难治性肾病综合征患儿的临床效果以及对患儿体内调节性 T 细胞 (Regulatory T cells, Tregs) 的影响。**方法** 将西安市儿童医院自 2012 年 1 月—2017 年 1 月收治的难治性肾病综合征患儿 120 例作为研究对象, 随机分为研究组 ($n=60$) 和对照组 ($n=60$); 研究组患儿选择他克莫司进行治疗, 对照组采用环磷酰胺治疗, 两组均治疗 6 个月。观察并记录两组患儿的临床疗效和治疗前后 Treg 细胞水平、尿蛋白定量、血清白蛋白、血肌酐、丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、胆固醇、三酰甘油等指标的水平变化情况。**结果** 研究组患儿治疗的临床总有效率为 95.00%, 明显高于对照组的 71.67%, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。与治疗前相比, 两组治疗后 $CD4^+/CD25^+$ 显著上升 ($P<0.05$), 同时研究组显著高于对照组 ($P<0.05$)。治疗后, 研究组和对照组患儿 24 h 尿蛋白定量水平均显著低于治疗前 ($P<0.05$), 且研究组显著低于对照组 ($P<0.05$); 两组治疗后血清白蛋白水平均显著升高 ($P<0.05$), 且研究组显著高于对照组 ($P<0.05$)。但两组治疗前后血肌酐水平比较差异不显著, 两组患儿治疗前后 ALT 和 AST 水平比较差异不显著。治疗后, 研究组和对照组胆固醇、三酰甘油显著低于治疗前 ($P<0.05$), 并且研究组胆固醇、三酰甘油含量显著低于对照组 ($P<0.05$)。**结论** 他克莫司治疗难治性肾病综合征患儿可有效提高患儿体内 Treg 比例, 调节患儿免疫失衡, 改善患儿的肾功能和血脂水平, 安全有效, 具有较好的临床推广使用价值。

关键词: 难治性肾病综合征; 他克莫司; 调节性 T 细胞

中图分类号: R969.4

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2018)09-1689-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.09.025

Efficacy and Treg changes of tacrolimus in children with refractory nephrotic syndrome

LI Zhijuan, TANG Yun, ZHANG Gaofeng

Department of nephropathy, Xi'an children's Hospital, Xi'an 710003, China

Abstract: **Objective** To investigate the clinical efficacy of tacrolimus in the treatment of children with refractory nephrotic syndrome (Regulatory) and its influence on T cells (Tregs) in children. **Methods** the failure of conventional hormone therapy in our hospital from January 2012 to January 2017 were of the refractory nephrotic syndrome with 120 cases as the research object, Were randomly divided into 2 groups: Study Group ($n=60$) and control group ($n=60$), Study Group was chosen for tacrolimus treatment, and control group was treated by cyclophosphamide. Before and after treatment were measured with 24h urine protein, serum albumin, serum creatinine, alanine aminotransferase, aspartate the amino acid amino shift enzyme, the level of cholesterol and triglyceride in the index. **Results** The total effective rate of the treatment group was 95%, which was significantly higher than that of the control group (71.67%, $P<0.01$). Compared with before treatment, the $CD4^+/CD25^+$ of the two groups increased significantly ($P<0.01$), and the study group was significantly higher than the control group ($P<0.05$). After treatment, the study group and the control group with 24 h urinary protein levels were significantly lower than before treatment, and the study group was significantly lower than the control group ($P<0.05$), the serum albumin levels in two group were significantly increased after treatment, and the study group was significantly higher than control group ($P<0.05$). Before and after treatment the level of serum creatinine in two groups was not significant. Before and after treatment in the two groups the level of ALT and AST were not significantly different. After treatment, the study group and the control group of cholesterol, triglyceride was significantly lower than that before treatment ($P<0.05$) and , cholesterol, triglyceride content in study group were significantly lower than control group ($P<0.05$). **Conclusion**

收稿日期: 2018-01-12

第一作者: 李志娟 (1984—), 女, 河南人, 硕士, 主治医师, 研究方向为小儿肾脏。E-mail: lizhijuan_1984@papmedhos.club

*通信作者: 张高峰 (1980—), 男, 山西省运城市人, 硕士, 主治医师, 研究方向为泌尿外科。E-mail: zhanggaofeng_1980@papmedhos.club

tacrolimus in the treatment of refractory nephrotic syndrome in children can effectively improve the proportion of children in children with Treg, regulating immune imbalance, improve renal function and blood lipid levels, is safe and effective, has good clinical application value.

Keywords: refractory nephrotic syndrome; tacrolimus; regulatory T cells

肾病综合征(nephrotic syndrome, NS)是由多种病因引起的肾小球基膜通透性增加,临床主要表现为大量蛋白尿、低蛋白血症、高度水肿等为特征的一组临床症候群,难治性肾病综合征是指在足量激素治疗8~12周以上患者以上病情仍未缓解的肾病综合征,病情迁延难愈后会诱发严重的感染、急性肾功能衰竭、血栓栓塞等致命的并发症,最终发展为慢性肾衰竭,为患者造成极大的身体负担甚至威胁生命^[1-2]。儿童难治性肾病综合征是目前临床治疗的难点。他克莫司(Tacrolimus)是大环内脂类新型免疫抑制剂,具有较强的治疗作用,同时不良反应较少,逐渐应用于临床治疗肾病。本研究将西安市儿童医院近5年收治的60例难治性肾病综合征患儿作为研究对象,使用他克莫司进行治疗,取得了一定的治疗效果,并探讨了药物作用的可能机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料

将西安市儿童医院自2012年1月—2017年1月间收治的难治性肾病综合征患儿120例作为研究对象,随机分为2组,对照组和研究组,每组各60例。研究组中男性36例,女性24例,年龄3~15岁,平均年龄(8.62 ± 2.19)岁,有24例微小病变型肾病,32例系膜增生性肾小球肾炎,24例局灶节段性肾小球硬化。对照组中男性31例,女性29例;年龄2~15岁,平均年龄(7.69 ± 3.01)岁;20例微小病变型肾病,33例系膜增生性肾小球肾炎,27例局灶节段性肾小球硬化。

1.2 纳入和排除标准

纳入标准:所有患儿临床诊断符合中华医学会儿科分会肾脏病学组2000年珠海会议中指定的难治性肾病综合征诊断标准,同时符合《激素敏感、复发、依赖肾病综合征诊治循证指南(试行)》中指定的标准^[3]。

排除标准:将合并有严重心、肝、肾功能障碍,对大环内酯类药物过敏,严重感染和使用过免疫抑制剂进行治疗的患儿排除研究范围之内。

1.3 方法

研究组:患儿入院接收诊断后给予他克莫司胶囊(商品名为普乐可复, Astellas Ireland Co, Ltd 生

产,国药准字J2090142,规格1 mg),0.1~0.15 mg/(kg·d),分两次服用,在服药期间要密切监测患者的血药浓度,维持在5~10 ng/mL,如果超出范围可减少20%~30%使用剂量,将他可莫司的血药浓度调整到有效浓度后减少激素的使用量。

对照组:采用注射液环磷酰胺(浙江海正药业股份有限公司生产,国药准字H20084627,规格100 mg,生产批号:20110718)静脉注射10 mg/kg,加生理盐水20 mL稀释后缓慢注射,2次/月。

两组均治疗6个月。

1.4 观察指标

两组患儿治疗前后于清晨空腹状态下采集静脉血5 mL,加入红细胞裂解液裂解后用1 500 r/min离心机离心15 min弃去上清液,将沉淀物用PBS缓冲液反复洗涤2次,最后细胞沉淀中加入0.5 mL PBS混匀,按照试剂盒说明书分别加入APC-CD4、FITC-FOXP3和PE-CD25抗体10 μ L,30 min后以CD4阳性细胞设置A门,使用美国B-D公司生产的FACSCalibur流式细胞仪检测A门区内FOXP3和CD25双阳性的调节性T细胞(Treg)。

检测患儿治疗前后24 h尿蛋白定量、血肌酐、血清白蛋白、丙氨酸氨基转移酶天门冬氨酸氨基转移酶、胆固醇、三酰甘油等指标的临床变化。同时观察患儿治疗过程中不良反应发生情况。

1.5 疗效判定

治疗后患儿临床症状完全消失,检测尿蛋白、血常规等各项指标水平处于正常水平判为完全缓解;治疗后24 h尿蛋白定量减少超过50%,血清白蛋白水平 >30 g/L判为部分缓解;治疗后24 h尿蛋白定量减少 $<50\%$,判为无效。

总有效率=(完全缓解+部分缓解)/本组例数

1.6 统计学方法

使用统计软件SPSS19.0对数据进行分析处理,计数资料以百分率表示,组间比较使用 χ^2 检验,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较使用 t 检验。

2 结果

2.1 患儿治疗效果

研究组患儿治疗的临床总有效率为95.00%,显著高于对照组的71.67%($P<0.05$),见表1。

表1 两组患儿治疗效果比较

Table 1 Comparison on treatment effect between two groups of children

组别	n/例	完全缓解/例	部分缓解/例	无效/例	总有效率/%
对照	60	23	20	17	71.67
研究	60	44	13	3	95.00*

与对照组比较: * $P < 0.05$ * $P < 0.05$ vs control group

2.2 两组患儿 Treg 水平变化情况

治疗前, 两组 $CD4^+/CD25^+$ 水平无明显差异。与治疗前相比, 两组治疗后 $CD4^+/CD25^+$ 显著上升 ($P < 0.05$), 同时研究组显著高于对照组 ($P < 0.05$) 详见表 2。

2.3 患儿治疗前后肾功能各项指标水平变化情况

治疗前, 两组肾功能指标无明显差异。治疗后, 研究组和对照组患儿 24 h 尿蛋白定量水平均显著低于治疗前 ($P < 0.05$), 且研究组显著低于对照组 ($P < 0.05$); 两组治疗后血清白蛋白水平均显著升高, 且研究组显著高于对照组 ($P < 0.05$)。但两组治疗前后血肌酐水平比较差异不显著, 详见表 3。

2.4 两组患儿肝功能和血脂等指标水平变化情况

两组患儿治疗前后 ALT 和 AST 水平比较差异不显著。治疗后, 研究组和对照组胆固醇、三酰甘油显著低于治疗前 ($P < 0.05$), 并且研究组胆固醇、三酰甘油水平显著低于对照组 ($P < 0.05$)。见表 4。

表2 两组患儿 Treg 水平变化情况

Table 2 Comparison on Treg level between two groups

组别	n/例	$CD4^+/CD25^+$	
		治疗前	治疗后
对照	60	1.93±0.47	4.04±1.07*
研究	60	1.89±0.55	6.11±1.25*#

与同组治疗前比较: * $P < 0.05$; 与对照组治疗后比较: # $P < 0.05$ * $P < 0.05$ vs same group before treatment; # $P < 0.05$ vs control group after treatment

表3 两组患儿治疗前后肾功能指标水平变化情况比较

Table 3 Comparison on renal function indexes before and after treatment between two groups

组别	n/例	时间	24 h 尿蛋白定量/ (mg·kg ⁻¹)	血清白蛋白/ (g·L ⁻¹)	血肌酐/ (μmol·L ⁻¹)
对照	60	治疗前	115.03±22.14	20.09±2.05	38.54±12.88
		治疗后	33.26±6.35*	23.64±3.86*	36.07±11.97
研究	60	治疗前	113.58±21.34	19.22±2.35	37.54±13.22
		治疗后	14.13±5.89*#	35.08±4.75*#	35.12±12.71

与同组治疗前比较: * $P < 0.05$; 与对照组治疗后比较: # $P < 0.05$ * $P < 0.05$ vs same group before treatment; # $P < 0.05$ vs control group after treatment

表4 患儿肝功能和血脂等指标水平变化情况比较

Table 4 Comparison on liver function and blood lipid levels between two groups

组别	n/例	时间	肝功能指标		血脂水平	
			ALT/ (U·L ⁻¹)	AST/ (U·L ⁻¹)	胆固醇/ (mmol·L ⁻¹)	三酰甘油/ (mmol·L ⁻¹)
对照	60	治疗前	32.44±9.84	34.83±10.08	13.08±3.79	6.03±1.31
		治疗后	35.67±9.96	38.89±10.15	8.64±2.41*	4.65±1.01*
观察	60	治疗前	32.98±10.86	35.76±10.25	12.15±2.33	5.86±1.22
		治疗后	33.03±10.79	36.01±10.13	4.35±1.12*#	2.74±0.68*#

与同组治疗前比较: * $P < 0.05$; 与对照组治疗后比较: # $P < 0.05$ * $P < 0.05$ vs same group before treatment; # $P < 0.05$ vs control group after treatment

3 讨论

肾病综合征属于免疫损伤性疾病, 调节性 T 细

胞是研究发现的新型 $CD4^+$ 效应性 T 细胞亚群, 主要维持机体内的免疫平衡状态, 近年来越来越多的研

究证实,肾病综合征患者体内 Treg 表达紊乱,其特征表达的 FOXP3 和 CD25 两种蛋白,使用流式细胞仪双染色法可检测 Treg 亚群的水平^[4-5]。本研究检测结果显示,与治疗前相比,两组治疗后 CD4⁺/CD25⁺显著上升 ($P<0.01$),同时研究组明显高于对照组 ($P<0.05$),由此可见,Treg 在患儿难治性肾病综合征病程进展过程中发挥着一定的作用。

他克莫司属于大环内酯类抗生素,是从链霉素发酵产物中分离出的新型强力免疫抑制剂,能够抑制 IL-2 基因转录发挥免疫抑制的作用,可抑制 T 细胞的活化^[6]。本研究中对难治性肾病综合征患儿使用他克莫司进行治疗,结果显示,研究组患儿治疗的临床总有效率为 95.00% (57/60),明显高于对照组 (71.67%, $P<0.01$)。进一步研究发现,治疗后,研究组和对照组患儿 24 h 尿蛋白定量水平均明显低于治疗前,且研究组明显低于对照组 ($P<0.05$),两组治疗后血清白蛋白水平均明显升高,且研究组显著高于对照组 ($P<0.05$)。但两组治疗前后血肌酐水平比较差异不显著。同时治疗后,研究组和对照组胆固醇、三酰甘油明显低于治疗前 ($P<0.05$),并且研究组胆固醇、三酰甘油水平显著低于对照组 ($P<0.05$),提示他克莫司治疗后,患儿的肾功能各项指标、血脂各项指标均得到了明显的改善。由此可见,他克莫司是治疗儿童难治性肾病综合征的有效药物,他克莫司的利用与细胞性蛋白质 (FKBP12) 相结合后形成的复合物会专一性地结合以及抑制 calcinurin,其会抑制 T 细胞中所产生钙离子依赖型讯息传导路径作用,因此防止不连续性淋巴因子基因的转录^[7-8];本药是具有高度免疫抑制的药物,抑制 T 细胞的活化作用以及 T 辅助细胞依赖 B 细胞的增生作用,也会抑制如白介素-2、白介素-3 及 γ -干扰素等淋巴因子的生成与白介素-2 受体的表达,其活性在体外及体内实验中都被证实^[9-12]。

在本研究中,两组患儿治疗前后 ALT 和 AST 水平比较差异不显著,提示他克莫司对患儿肝功能影响不大,因此他克莫司治疗属于安全有效的治疗方法。

综上所述,他克莫司治疗难治性肾病综合征患儿可有效提高患儿体内 Treg 比例,调节患儿免疫失

衡,改善患儿的肾功能和血脂水平,安全有效,具有较好的临床推广使用价值。

参考文献

- [1] 周优丽,沈增晖,姚云,等. 他克莫司联合激素对儿童激素耐药难治性肾病综合征的疗效研究 [J]. 儿科学杂志, 2016(3): 21-23.
- [2] 王晓亮. 他克莫司治疗难治性肾病综合征的临床疗效观察 [J]. 中国医学工程, 2015(1): 56-57.
- [3] 蓝红娟. 他克莫司联合糖皮质激素治疗难治性肾病综合征的临床疗效观察 [J]. 现代诊断与治疗, 2016, 27(24): 4613-4615.
- [4] Yang E M, Sang T L, Choi H J, et al. Tacrolimus for children with refractory nephrotic syndrome: a one-year prospective, multicenter, and open-label study of Tacrobell, a generic formula [J]. World J Pediatr, 2016, 12(1): 60-65.
- [5] 于大川. 他克莫司联合糖皮质激素治疗难治性肾病综合征患者的疗效观察和安全性分析 [J]. 中国民康医学, 2016, 28(12): 32-33.
- [6] 杨雪梅. 他克莫司与糖皮质激素在难治性肾病综合征治疗中的疗效观察 [J]. 中国实用医药, 2016, 11(11): 131-132.
- [7] 王宝丹, 张兰华. 他克莫司联合激素对激素耐药难治性肾病综合征患儿调节性 T 细胞的影响及其临床疗效观察 [J]. 中国社区医师, 2016, 32(19): 51-51.
- [8] Chen W, Liu Q, Liao Y, et al. Outcomes of tacrolimus therapy in adults with refractory membranous nephrotic syndrome: a prospective, multicenter clinical trial [J]. Am J Med Sci, 2013, 345(2): 81-87.
- [9] 高丹, 吴歌. 他克莫司和来氟米特治疗难治性肾病综合征的疗效比较 [J]. 现代药物与临床, 2017, 32(4): 675-677.
- [10] Li X, Xu N, Li H, et al. Tacrolimus as rescue therapy for adult-onset refractory minimal change nephrotic syndrome with reversible acute renal failure [J]. Nephrol Dial Transplant, 2013, 28(9): 2306-2312.
- [11] 王凯. 他克莫司联合糖皮质激素治疗难治性肾病综合征的临床分析 [J]. 中国现代药物应用, 2016, 10(9): 139-140.
- [12] 张宏文, 肖慧捷, 姚勇. 他克莫司治疗小儿肾病综合征致急性肾衰竭 3 例报告 [J]. 临床儿科杂志, 2017, 35(6): 409-411.