



开放科学  
(资源服务)  
标识码(OSID)

# 咪唑立宾片对紫癜性肾炎患儿外周血单个核细胞 Toll 样受体 4 表达的影响

丁娟娟 宋娜 栾江威

430016 武汉,华中科技大学同济医学院附属武汉儿童医院(武汉市妇幼保健院)肾内科(丁娟娟,栾江威),血液科实验室(宋娜)

**【摘要】** 目的 探讨咪唑立宾片对紫癜性肾炎患儿外周血单个核细胞 Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4)表达的影响。方法 选取 2015 年 1 月至 2018 年 12 月华中科技大学同济医学院附属武汉儿童医院肾脏专科住院及门诊随访资料完整的紫癜性肾炎(Ⅱb 级)患儿,共 47 例。分为糖皮质激素组和咪唑立宾组。检测两组治疗前后 24 h 尿蛋白定量、血清白细胞介素 6、肿瘤坏死因子  $\alpha$  及外周血单个核细胞 TLR4 mRNA 表达情况。结果 与治疗前比较,两组在治疗 6 个月、12 个月时 24 h 尿蛋白定量均显著下降( $P < 0.05$ )。治疗 6 个月时,咪唑立宾组患儿血清白细胞介素 6、肿瘤坏死因子  $\alpha$ 、外周血单个核细胞 TLR4 表达显著下降,与治疗前及糖皮质激素组比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 咪唑立宾对紫癜性肾炎有一定疗效,可抑制紫癜性肾炎患儿 TLR4 的水平。

**【关键词】** Toll 样受体 4;咪唑立宾;紫癜;肾小球肾炎

DOI:10.3969/j.issn.1671-2390.2020.10.012

**Effects of mizoribine tablets on expression of Toll-like receptor 4 in peripheral blood mononuclear cells in children with Henoch-Schönlein purpura nephritis** DING Juan-juan, SONG Na, LUAN Jiang-wei. Department of Nephrology, Wuhan Children's Hospital (Wuhan Maternal and Child Healthcare Hospital), Tongji Medical College, Huazhong University of Science & Technology, Wuhan 430016, China

Corresponding author: DING Juan-juan, Email: dingjuanjuan79@163.com

紫癜性肾炎是儿科常见的继发性肾小球疾病之一,部分患者需要接受免疫抑制剂治疗。Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)在固有免疫系统中扮演重要角色。Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4)信号通路在炎症应答中发挥重要作用,多项报道肾脏受到炎症损伤时可激活 TLR4 信号通路<sup>[1-2]</sup>。免疫抑制剂对 TLR4 信号通路有一定作用<sup>[3]</sup>。本研究旨在观察免疫抑制剂咪唑立宾(mizoribine, MZR)对紫癜性肾炎患儿外周血 TLR4 表达影响,汇报如下。

## 资料与方法

### 一、研究对象

选取 2015 年 1 月至 2018 年 12 月于华中科技

大学同济医学院附属武汉儿童医院肾脏专科住院及门诊随访资料完整的 47 例紫癜性肾炎(Ⅱb 级)。纳入标准:(1)按照中华医学会儿科学分会肾脏学组指南分类<sup>[4]</sup>,临床分型为血尿和蛋白尿型且均为中度蛋白尿(即  $25 \text{ mg/kg} \leq 24 \text{ h 尿蛋白定量} < 50 \text{ mg/kg}$ )的患儿;(2)肾活检明确诊断为紫癜性肾炎 Ⅱb 级,即单纯系膜增生(弥漫性)。排除标准:肝肾功能、血液及消化系统异常的患儿。依据随机数字表分为糖皮质激素组及咪唑立宾组。糖皮质激素组 22 例,咪唑立宾组 25 例。治疗前,两组在性别、发病年龄、病程、肝肾功能及尿蛋白定量等方面差异无统计学意义(表 1)。本研究经过武汉儿童医院伦理委员会批准(批件号:2020R060),参加本研究的患

表 1 两组患儿临床基线指标比较

分组	例数	性别(男/女)	年龄/岁	病程/d	24 h 尿蛋白定量/g	谷丙转氨酶/U·L <sup>-1</sup>	肌酐/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
糖皮质激素组	22	13/9	9.2±2.4	25.3±15.7	1.47±0.4	15.3±2.8	38.2±3.0
咪唑立宾组	25	14/11	8.7±1.9	32.8±10.9	1.46±0.2	14.5±1.2	39.9±2.8

儿监护人均了解治疗全过程,并签署知情同意书。

二、方法

1. 治疗方案 糖皮质激素组(参考 KDIGO 指南建议<sup>[5]</sup>):泼尼松片 0.8~1 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,治疗 2 个月后逐渐减量,总疗程 6 个月。咪唑立宾组:咪唑立宾片 2.5~3 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,一日两次,口服(最大剂量不超过 150 mg/d),治疗 3 个月后逐渐减量,总疗程 9~12 个月。两组均给予福辛普利片,0.3 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>(最高不超过 10 mg/d),一日一次,口服。

2. 观察项目 治疗 1 个月、3 个月、6 个月、12 个月时检测患儿血常规、尿常规、24 h 尿蛋白定量、肝肾功能等指标。治疗前和治疗 6 个月时检测患儿血清白细胞介素(interleukin, IL)-6、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )及外周血单个核细胞 TLR4 mRNA 表达。

3. 疗效判断标准 完全缓解:治疗后 24 h 尿蛋白定量<150 mg,血尿完全消失;显效:治疗后尿蛋白定量减少 50%以上,仅有镜下血尿;有效:尿蛋白较治疗前减少达 30%以上,但小于 50%,有不同程度血尿;无效:未达上述标准者。

三、统计学方法

应用 SPSS 22.0 统计软件对数据进行分析。正态分布的定量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,非正态分布的定量资料经对数转换后,采用方差分析或 *t* 检验进行组间比较,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

结 果

一、临床疗效

两组在治疗 6 个月及 12 个月时的临床疗效见表 2,两组治疗 6 个月时总有效率比较,差异无统计

学意义( $P > 0.05$ ),两组治疗 12 个月时总有效率比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 2 糖皮质激素组和咪唑立宾组临床疗效比较

分组	时间	完全缓解/例	显效/例	有效/例	无效/例	总有效率/%
糖皮质激素组	治疗 6 个月	0	2	10	10	54.5
	治疗 12 个月	2	3	10	7	68.1
咪唑立宾组	治疗 6 个月	2	4	10	9	64.0
	治疗 12 个月	6	9	5	5	80.0

二、实验室检查结果

两组实验室指标见表 3。与治疗前比较,两组在治疗 6 个月、12 个月时 24 h 尿蛋白定量显著降低( $P < 0.05$ );治疗 12 个月时,咪唑立宾组患儿的 24 h 尿蛋白定量水平显著低于糖皮质激素组( $P < 0.05$ )。两组治疗前后血清谷丙转氨酶、肌酐水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

三、两组外周血 IL-6、TNF- $\alpha$  和 TLR4 mRNA 水平比较

两组细胞因子及 TLR4 表达见表 4。治疗前,外周血 IL-6、TNF- $\alpha$  及 TLR4 mRNA 表达水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。治疗 6 个月,咪唑立宾组 IL-6、TNF- $\alpha$  及 TLR4 mRNA 表达水平下降,与治疗前比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),与糖皮质激素组比较差异亦有统计学意义( $P < 0.05$ )。

讨 论

过敏性紫癜是儿童最常见的系统性血管炎<sup>[6]</sup>,肾脏受累是影响过敏性紫癜预后的一个因素<sup>[7]</sup>。咪唑立宾是一种免疫抑制剂,有报道用于儿童紫癜性肾炎治疗<sup>[8-9]</sup>,本研究结果显示治疗 12 个月时,咪唑立宾组 24 h 尿蛋白定量较治疗前下降有统计学意

表 3 紫癜性肾炎患儿治疗前后实验室检查各项指标变化

分组	24 h 尿蛋白定量/g			谷丙转氨酶/U·L <sup>-1</sup>			肌酐/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$		
	治疗前	治疗 6 个月	治疗 12 个月	治疗前	治疗 6 个月	治疗 12 个月	治疗前	治疗 6 个月	治疗 12 个月
糖皮质激素组	1.47±0.45	0.85±0.26 <sup>a</sup>	0.57±0.13 <sup>a</sup>	15.3±2.8	14.7±3.0	13.6±1.7	38.2±3.0	41.1±3.1	39.9±4.8
咪唑立宾组	1.46±0.22	0.69±0.41 <sup>a</sup>	0.32±0.12 <sup>ab</sup>	14.5±1.2	14.3±3.0	14.6±1.5	39.9±2.8	40.1±4.7	38.9±2.2

注:与同组治疗前比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ,与糖皮质激素组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

表 4 紫癜性肾炎患儿细胞因子及 TLR4 治疗前后变化

分组	IL-6/pg·mL <sup>-1</sup>		TNF- $\alpha$ /pg·mL <sup>-1</sup>		TLR4 mRNA	
	治疗前	治疗 6 个月	治疗前	治疗 6 个月	治疗前	治疗 6 个月
糖皮质激素组	30.8±5.6	20.9±6.3	6.76±0.13	4.32±0.48	2.60±0.43	2.23±0.16
咪唑立宾组	32.5±6.1	15.5±4.7 <sup>ab</sup>	7.01±0.29	2.45±0.12 <sup>ab</sup>	2.51±0.52	1.55±0.16 <sup>ab</sup>

注:IL-6 为白细胞介素 6;TNF- $\alpha$  为肿瘤坏死因子 $\alpha$ ;TLR4 mRNA 为 Toll 样受体 4 mRNA。与同组治疗前比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与糖皮质激素组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

义,总有效率高于糖皮质激素组,提示咪唑立宾对儿童紫癜性肾炎(Ⅱb级)有一定疗效。

TLRs 在获得性免疫中具有识别作用及对免疫应答类型具有调控作用。TLR4 在组织中分布较广泛,不仅表达于各种免疫细胞,还大量表达于各种上皮和内皮细胞等天然免疫的第一道防线,同时在肾小球系膜细胞、肾小管上皮细胞等都有表达<sup>[10]</sup>。

TLR4 活化的经典途径为 TLR4 发出的信号通过围绕细胞内衔接子分子髓样分化因子 88 和含 TIR 域的衔接子蛋白诱导干扰素- $\beta$  的近端复合物的组装触发信号传导途径。TLR4 重要的下游靶标是 MAPK/JNK/AP-1 途径和  $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$  激酶,导致促炎性趋化因子的 NF- $\kappa\text{B}$  依赖性转录激活<sup>[11]</sup>。过度激活的 TLR 信号会引起炎症细胞浸润,从而产生细胞因子和自身抗体,如 TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6、IL-8 等炎症因子的大量表达,形成一系列炎症反应,从而诱发肾脏损伤<sup>[12]</sup>。目前越来越多的证据支持 TLRs 参与肾脏免疫炎症反应<sup>[13-14]</sup>。

Donadio 等<sup>[15]</sup>发现过敏性紫癜患儿外周血单个核细胞中 TLR4 mRNA 水平上调,提示 TLRs 过表达所致的炎症细胞因子/趋化因子可能参与过敏性紫癜免疫发病机制。Chang 等<sup>[16]</sup>研究发现,紫癜性肾炎患儿蛋白尿水平与血清 TLR4 表达呈正相关,提示 TLR4 信号的激活与儿童紫癜性肾炎有关,TLR4 的异常激活可能引起儿童过敏性紫癜的肾脏损害。Zhang 等<sup>[17]</sup>动物模型研究发现单核细胞 TLR4 信号通路在小鼠肾缺血/再灌注损伤早期阶段起重要作用,但免疫抑制剂吗替麦考酚酯可以抑制 TLR4 信号并改善肾脏功能。咪唑立宾对 T、B 淋巴细胞的增殖有特异性抑制作用,与吗替麦考酚酯类似,但目前尚未见咪唑立宾对 TLR4 信号影响的报道。本研究中,治疗前糖皮质激素组和咪唑立宾组患儿外周血 IL-6、TNF- $\alpha$  及 TLR4 mRNA 表达水平比较,差异无统计学意义;治疗 6 个月时,咪唑立宾组患儿 IL-6、TNF- $\alpha$  及 TLR4 mRNA 表达水平较治疗前显著下降( $P < 0.05$ ),与糖皮质激素组治疗后比较,差异亦有统计学意义( $P < 0.05$ ),提示咪唑立宾对紫癜性肾炎患儿 TLR4 的异常活化有抑制作用。治疗后患儿细胞因子变化,可能与咪唑立宾抑制 TLR4 有关。但本研究为单中心研究、规模小,尚需更大规模研究进一步验证。

## 参 考 文 献

[1] Gluba A, Banach M, Hannam S, et al. The role of Toll-like re-

ceptors in renal diseases[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2010, 6(4): 224-235. DOI: 10.1038/nrneph.2010.16.

- [2] Fan H, Zhao Y, Zhu JH. S-nitrosoglutathione protects lipopolysaccharide-induced acute kidney injury by inhibiting toll-like receptor 4-nuclear factor- $\kappa\text{B}$  signal pathway[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2019, 71(8): 1255-1261. DOI: 10.1111/jphp.13103.
- [3] Khemili D, Laraba-Djebari F, Hammoudi-Triki D. Involvement of toll-like receptor 4 in neutrophil-mediated inflammation, oxidative stress and tissue damage induced by scorpion venom[J]. *Inflammation*, 2020, 43(1): 155-167. DOI: 10.1007/s10753-019-01105-y.
- [4] 中华医学会儿科学分会肾脏学组. 紫癜性肾炎诊治循证指南(2016)[J]. *中华儿科杂志*, 2017, 55(9): 647-651. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2017.09.003.
- [5] Anon. Chapter 11: Henoch-Schönlein purpura nephritis[J]. *Kidney Int Suppl*, 2012, 2(2): 218-220. DOI: 10.1038/kisup.2012.24.
- [6] Trnka P. Henoch-Schönlein purpura in children[J]. *J Paediatr Child Heal*, 2013, 49(12): 995-1003. DOI: 10.1111/jpc.12403.
- [7] Punnoose AR, Lynn C, Golub RM. Henoch-schönlein purpura[J]. *JAMA*, 2012, 307(7): 742. DOI: 10.1001/jama.2012.81.
- [8] Ichiyama S, Matayoshi T, Kaneko T, et al. Successful multitar-get therapy using prednisolone, mizoribine and tacrolimus for Henoch-Schönlein purpura nephritis in children[J]. *J Dermatol*, 2017, 44(4): e56-e57. DOI: 10.1111/1346-8138.13614.
- [9] 丁娟娟, 梁江威, 戚畅, 等. 咪唑立宾治疗儿童紫癜性肾炎的临床观察[J]. *临床肾脏病杂志*, 2019, 19(3): 208-210. DOI: 10.3969/j.issn.1671-2390.2019.03.011.
- [10] Wang Z, Dong B, Feng Z, et al. A study on immunomodulatory mechanism of Polysaccharopeptide mediated by TLR4 signaling pathway[J]. *BMC Immunol*, 2015, 16: 34. DOI: 10.1186/s12865-015-0100-5.
- [11] Barton GM, Kagan JC. A cell biological view of Toll-like receptor function; regulation through compartmentalization[J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(8): 535-542. DOI: 10.1038/nri2587.
- [12] Knauf F, Brewer JR, Flavell RA. Immunity, microbiota and kidney disease[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2019, 15(5): 263-274. DOI: 10.1038/s41581-019-0118-7.
- [13] Gholampour F, Roozbeh J, Janfeshan S, et al. Remote ischemic per-conditioning protects against renal ischemia-reperfusion injury via suppressing gene expression of TLR4 and TNF- $\alpha$  in rat model[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2019, 97(2): 112-119. DOI: 10.1139/cjpp-2018-0543.
- [14] Anderberg SB, Luther T, Frithiof R. Physiological aspects of Toll-like receptor 4 activation in sepsis-induced acute kidney injury[J]. *Acta Physiol(Oxf)*, 2017, 219(3): 573-588. DOI: 10.1111/apha.12798.
- [15] Donadio ME, Loiacono E, Peruzzi L, et al. Toll-like receptors, immunoproteasome and regulatory T cells in children with Henoch-Schönlein purpura and primary IgA nephropathy[J]. *Pediatr Nephrol*, 2014, 29(9): 1545-1551. DOI: 10.1007/s00467-014-2807-6.
- [16] Chang H, Yu DS, Liu XQ, et al. Clinical significance of TLR3 and TLR4 in peripheral blood mononuclear cells from children with Henoch-Schönlein purpura nephritis[J]. *Exp Ther Med*, 2014, 7(6): 1703-1707. DOI: 10.3892/etm.2014.1638.
- [17] Zhang YX, Zhang JR, Wang ZG. Mycophenolate mofetil affects monocyte Toll-like receptor 4 signaling during mouse renal ischemia/reperfusion injury[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2013, 126(7): 1224-1229.