Modern Practical Medicine, January 2024, Vol. 36, No. 1

·临床研究·

基于 TGF-β1/Smad 信号通路探讨度拉糖肽联合达格列净治疗早期糖尿病肾病的研究

陈黎明，王洋洋，张静漪

【摘要】目的　探讨度拉糖肽联合达格列净治疗早期糖尿病肾病的疗效及其对 TGF-β/Smad 信号通路的调控作用。方法　本研究为前瞻性研究，选取 2022 年 5 月至 2023 年 4 月温州市第七人民医院收治的 108 例早期糖尿病肾病（DN）患者，依据随机数字表法分为对照组和研究组，各 54 例。对照组采用达格列净治疗，研究组在对照组基础上联合度拉糖肽治疗。观察两组治疗前后血脂指标[总胆固醇（TC）、三酰甘油（TG）、高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）、低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）]、血糖、糖化血红蛋白（HbA1c）、肾功能指标[血尿素、血肌酐、肾小球滤过率（GFR）、尿微量白蛋白（mAlb）]、肾纤维化指标 [血管内皮生长因子（VEGF）、转化生长因子β1（TGF-β1）、Smad 同源蛋白（Smad1、Smad2、Smad3、Smad4）]和炎症指标[白细胞介素-6（IL-6）、肿瘤坏死因子-α（TNF-α）和超敏 C-反应蛋白（hs-CRP）]变化，采用转录组测序揭示两组患者外周血细胞差异基因谱。结果　治疗后，研究组血尿素、血肌酐、mAlb、TC、TG、HbAlc、空腹血糖和 LDL-C 均低于对照组，而 HDL-C 和 GFR 均高于对照组（均 $P < 0.05$）。研究组炎症因子（IL-6、hs-CRP、TNF-α）表达水平均低于对照组（均 $P < 0.05$）；肾纤维化指标（TGF-β1、Smad2、Smad3、VEGF）均低于对照组（均 $P < 0.05$）。转录组测序表明 TGF-β1/Smad 为度拉糖肽联合达格列净的特异性调控信号通路。两组不良反应发生率差异无统计学意义（$P > 0.05$）。结论　度拉糖肽联合达格列净能够通过调控 TGF-β1/Smad 信号通路改善早期糖尿病肾病患者的临床症状，对阻滞疾病向终末期进展具有积极作用。

【关键词】　度拉糖肽；达格列净；TGF-β1/Smad 信号通路；糖尿病肾病

doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.01.007

【中图分类号】　R587.2　【文献标志码】　A　【文章编号】　1671-0800(2024)01-0028-04

随着我国人口老龄化的进一步加剧，糖尿病患病率将持续升高，糖尿病肾病（diabetic nephropathy，DN）占尿毒症发病的三分之一，是糖尿病最严重的并发症之一[1]。DN 主要症状为血压升高、蛋白尿、肢体水肿等，甚至可诱发肾衰竭，严重威胁患者生命健康和安全[2]。达格列净是一种抑制钠-葡萄糖协同转运蛋白 2 的新型降糖药物，不仅具有较好的降血糖效果，还具有优良的肾脏保护作用[3]。度拉糖肽是胰高血糖素样肽-1 受体激动剂，能够作用于糖尿病发生发展的多个环节，改善胰岛素抵抗、促进胰岛细胞的增殖、改善胰岛形态及抑制肝脏葡萄糖输出；此外，其对改善糖尿病患者肾功能也具有显著疗效[4]。转化生长因子-β1（transforming growth factor-β1，TGF-β1）在肾脏纤维化过程中起着关键作用，其下游信号转导蛋白 Smads 将 TGF-β1 介导的信号从细胞膜转导到细胞核内，Smad2、Smad3 与 Smad4 激活后形成三聚体，转入核内，诱导分化关联基因高度活化，最终导致细胞组织纤维化的发生[5]。本研究从 TGF-β1/Smad 信号通路出发，探讨度拉糖肽联合达格列净治疗早期 DN 的疗效和机制，现报道如下。

1　对象与方法

1.1　研究对象　选择 2022 年 5 月至 2023 年 4 月温州市第七人民医院收治的 108 例早期 DN 患者为研究对象。纳入标准：（1）符合早期 DN 诊断标准[6]，糖化血红蛋白（hemoglobinA1c，HbA1c）在 7%～ 9%，24 h 尿微量白蛋白 30 ～ 300 mg，每分钟尿白蛋白排泄率 20 ～ 200 μg；（2）初次确诊；（3）近期未接受其他药物治疗。排除标准：（1）合并慢性肾小球肾炎、急性肾盂肾炎等肾病者，短期内肾功能迅速下降、内尿蛋白迅速增加，超声检查肾脏异常，顽固性高血压，尿沉渣显示活动性血尿者，治疗前及治疗期间未接受过肾毒性药物治疗；（2）恶性肿瘤及重要脏器功

基金项目：　温州市科技计划项目（Y20220332）

作者单位：　325006 浙江省温州，温州市第七人民医院

通信作者：　陈黎明，Email：angel13676799783@163.com

能损伤者；(3)对药物过敏者；(4)同时服用高血压和高血脂症等慢性病治疗药物者；(5)精神疾病，无法正常沟通者。依据随机数字表法分为研究组和对照组，各 54 例。 两组基线资料差异无统计学意义(P ＞ 0.05)，见表 1。所有患者均知情同意，且签署同意书。本研究经温州市第七人民医院伦理委员会审批通过(批件号：温七医伦审 2023 研第 03 号)。

1.2　治疗方案　两组DN患者均接受常规治疗，包括适时调整饮食、适量合理的运动、胰岛素治疗和口服降糖药物。对照组患者口服达格列净片(美国阿斯利康制药有限公司，国药准字 J20170040，5 mg/片)，10 mg/次，1 次/d，若血压控制不理想，将剂量提升至 80 mg/次。治疗组在达格列净片基础上给予度拉糖肽(德国礼来制药有限公司，国药准字 S20190022，1.5 mg∶0.5 ml)皮下注射，每周 1.5 mg。两组疗程均为 3 个月。

1.3　观察指标　观察两组患者治疗前后肾功能 [血尿素、血肌酐、肾小球滤过率（glomerular filtration rate，GFR）和尿微量白蛋白（microalbuminuria，mAlb)]、HbA1c、血糖水平、血脂指标[三酰甘油(triglyceride，TG)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol，LDL-C)、总胆固醇(total cholesterol，TC)和高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol，HDL-C)]、血清肾脏纤维化指标[TGF-β1、Smad2、Smad3、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor，VEGF)]和炎症因子指标[白细胞介素-6(Interleukin 6，IL-6)、肿瘤坏死因子-α(tumour necrosis factor-α，TNF-α)和超敏 C-反应蛋白(hypersensitive C-reactive protein，hs-CRP)]水平。每组随机选取 5 例患者，采集治疗 3 个月后患者空腹外周静脉血 4 ml，裂红后收集外周血细胞，进行转录组测序，特异性分析转录组测序数据中炎症信号因子[Toll 样受体(Toll-like receptor 4，TLR4)，核因子κB (nuclear factor kappa-B，NF-κB)、IL-1β、IL-8、IL-6、TNF-α]和 TGF-β1/Smad 信号通路因子[TGF-β1、Smad 家族因子(Smad1、Smad2、Smad3、Smad4、Smad7)]。转录组测序由浙江普罗亭健康科技有限公司完成。并且记录患者腹泻、恶心呕吐等不良反应发生情况。

1.4　统计方法　应用 SPSS 23.0 统计软件进行分析，计数资料用百分数表示，采用 χ^2 检验；计量资料以均数±标准差表示，采用 t 检验。转录组测序取得基因表达矩阵后采用 R 软件的“Limma”包对 count 矩阵进行差异表达分析，差异 RNA 的筛选标准为差异倍数＞ 2 且 P ＜ 0.05，采用 KEGG 和 GO 对差异基因进行富集分析。P ＜ 0.05 表示差异有统计学意义。

表 1　两组患者基线资料

组别	例数	年龄（岁）	BMI（kg/m²）	糖尿病病程（年）	DN 病程（个月）	男性（例）
对照组	54	61.2±6.4	26.32±2.78	13.34±3.08	6.78±1.36	29
研究组	54	61.9±7.2	26.73±3.13	12.99±3.42	6.52±2.01	27

注：BMI 为体质量指数，DN 为糖尿病肾病

2　结果

2.1　肾功能比较　治疗前，两组各项肾功能指标差异均无统计学意义(均P ＞ 0.05)；治疗后，研究组血尿素、血肌酐和 mAlb 均低于对照组，而 GFR 高于对照组(均 P ＜ 0.05)，见表 2。

2.2　血糖和血脂指标比较　治疗前，两组 HbAlc、空腹血糖和各项血脂指标差异均无统计学意义（均 P ＞ 0.05)；治疗后，研究组 HDL-C 高于对照组，而 HbAlc、空腹血糖、TC、TG 和 LDL-C 均低于对照组(均 P ＜ 0.05)，见表 3。

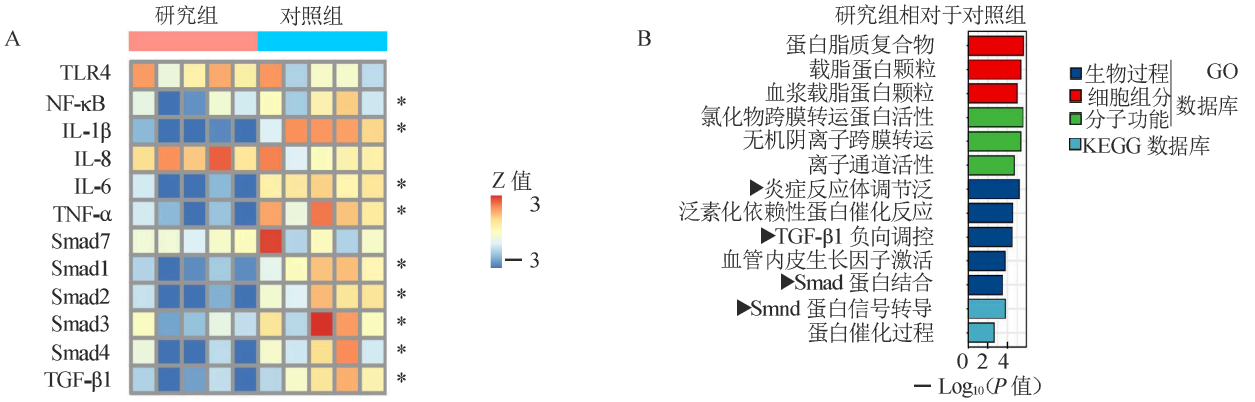
2.3　炎症因子比较　治疗前，两组血清炎症指标差异均无统计学意义(均P ＞ 0.05)；治疗后，研究组血清 TNF-α、IL-6 和 hs-CRP 表达水平均低于对照组(均 P ＜ 0.05)，见表 4。

2.4　肾脏纤维化指标比较　治疗前，两组血清 TGF-β1、VEGF、Smad2 和 Smad3 表达水平差异均无统计学意义(均 P ＞ 0.05)；治疗后，研究组 VEGF、TGF-β1、Smad2 和 Smad3 均低于对照组(均P ＜ 0.05)，见表 5。

表 2　两组患者肾功能指标比较

组别	例数	血尿素(mmol/L)		血肌酐(μmol/L)		GFR(ml・min⁻¹・1.73m⁻²)		mAlb(mg/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	54	6.87±1.36	5.38±0.97	85.73±19.35	78.38±15.39	78.89±8.67	86.53±9.27	317.05±34.78	178.23±15.69
研究组	54	6.57±1.76	4.67±1.21	86.14±18.79	71.25±14.78	78.56±9.01	93.64±8.65	325.19±36.98	156.12±17.13
t 值		0.991	3.364	0.112	2.455	0.194	4.077	1.178	6.990
P 值		＞ 0.05	＜ 0.05	＞ 0.05	＜ 0.05	＞ 0.05	＜ 0.05	＞ 0.05	＜ 0.05

注：GFR 为肾小球滤过率，mAlb 为尿微量白蛋白



注：A 为差异 mRNA 热图，B 为 GO 和 KEGG 富集分析。TLR4 为 Toll 样受体，NF-κB 为核因子κB，IL 为白细胞介素，TNF-α为肿瘤坏死因子-α，TGF-β1 为转化生长因子β1，与对照组对比：*P < 0.05

图 1　转录组测序分析

表 3　两组患者 HbAlc、空腹血糖和血脂水平比较

组别	例数	HbAlc（%）		空腹血糖（mmol/L）		TG（mmol/L）		TC（mmol/L）		HDL-C（mmol/L）		LDL-C（mmol/L）	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	54	7.65±1.78	6.38±0.76	9.38±1.29	7.31±1.01	1.92±0.32	1.79±0.56	4.33±0.73	3.98±0.64	1.33±0.45	1.54±0.56	2.37±0.37	2.03±0.27
研究组	54	7.67±1.54	5.66±1.23	9.27±1.34	6.54±1.56	1.96±0.47	1.63±0.12	4.29±0.69	3.45±0.59	1.39±0.53	1.73±0.39	2.29±0.19	1.79±0.52
t 值		0.062	3.659	0.435	3.045	0.517	2.053	0.293	4.138	0.634	2.046	1.410	3.010
P 值		> 0.05	< 0.05	> 0.05	< 0.05	> 0.05	< 0.05	> 0.05	< 0.05	> 0.05	< 0.05	> 0.05	< 0.05

注：HbA1c 为糖化血红蛋白，TG 三酰甘油，TC 为总胆固醇，HDL-C 为高密度脂蛋白胆固醇，LDL-C 为低密度脂蛋白胆固醇

表 4　两组患者炎症因子水平比较

组别	例数	TNF-α（pg/ml）		IL-6（pg/ml）		hs-CRP（mg/L）	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	54	25.24±3.68	16.32±2.74	17.79±1.39	12.56±1.04	14.78±1.56	10.19±1.59
研究组	54	24.89±4.01	14.89±2.51	17.59±1.78	11.13±1.12	14.89±1.54	9.61±1.01
t 值		0.473	2.830	0.991	6.875	0.369	2.263
P 值		> 0.05	< 0.05	> 0.05	< 0.05	> 0.05	< 0.05

注：TNF-α为肿瘤坏死因子-α，IL-6 为白细胞介素-6，hs-CRP 为超敏 C-反应蛋白

表 5　两组患者血清肾脏纤维化指标表达水平比较

组别	例数	TGF-β1（pg/ml）		VEGF（pg/ml）		Smad2（ng/L）		Smad3（ng/L）	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	54	191.58±20.96	169.72±19.30	421.79±30.05	389.16±25.04	1 256.89±79.38	1 109.23±60.04	908.17±30.38	807.19±20.69
研究组	54	189.10±21.78	159.34±15.89	419.68±31.79	369.14±26.38	1 267.01±64.23	1 067.39±58.19	912.58±31.89	793.14±21.54
t 值		0.603	2.621	0.354	4.045	0.728	3.680	0.736	3.457
P 值		> 0.05	< 0.05	> 0.05	< 0.05	> 0.05	< 0.05	> 0.05	< 0.05

注：TGF-β1 为转化生长因子-β1，VEGF 为血管内皮生长因子

2.5　转录组测序分析　相对于对照组，研究组患者炎性因子（TNF-α、IL-6、NF-κB）和 TGF-β1/Smad 信号通路因子（TGF-β1、Smad1、Smad2、Smad3、Smad4）均下调，见图 1A。GO 和 KEGG 基因富集分析显示“炎症反应体调节”、“TGF-β1 负向调控”、“Smad 蛋白结合”和“Smad 蛋白信号转导”为显著富集通路，见图 1B。

2.6　不良反应发生率比较　两组不良反应发生率差异无统计学意义（11.11% *vs* 7.41%，χ^2=0.441，P > 0.05），见表 6。

表 6　两组患者不良反应情况比较

组别	例数	腹泻	上腹痛	恶心呕吐	低血压	低血糖
对照组	54	1	1	1	2	1
研究组	54	1	1	0	1	1

3　讨论

DN 是老年糖尿病患者的主要致死原因之一[7]。度拉糖肽是一种新型降血糖药物，其通过激活胰高血糖素样肽-1 受体促进胰岛素分泌，减少胰高糖素的分泌，最终达到降血糖的目的[8]。达格列净最开始以降糖药面世，后期大量基础和临床研究表明其能

够为糖尿病患者心肾方面带来双重获益[9]。本研究中，研究组治疗后血尿素、血肌酐、mAlb、HbAlc、空腹血糖、血脂指标（TC、TG 和 LDL-C）均低于对照组，HDL-C 和 GFR 高于对照组，且两组不良反应发生率差异无统计学意义。大量临床实验揭示 DN 患者全身处于微炎症状态，炎症因子的释放导致肾脏局部发生炎症反应。本研究中研究组 IL-6、hs-CRP 和 TNF-α表达水平均低于对照组。这表明度拉糖肽联合达格列净可改善患者血糖、血脂、肾功能和炎症状态，给 DN 患者带来更好的治疗效果。

TGF-β1 是公认的致肾小球纤维化关键因子，Smads 蛋白与 TGF-β1 共同构成信号转导通路，TGF-β1/Smad 能够调控氧化应激性反应参与基底膜组织的破坏，促进足突细胞形态发生改变[10]。在 DN 患者和动物模型的血液、尿液和肾脏中，TGF-β1 水平显著增加；另外，TGF-β1 是 DN 的遗传易感基因，其表达水平对于 DN 高危人群的早期筛查具有重要意义。Smad 蛋白在 DN 患者肾脏纤维化过程中起着双向调节作用，其中 Smad1，2，3，5，8 被激活，介导细胞内信号的转导。Wang 等[11]研究揭示度拉糖肽可以通过抑制 TGF-β/Smad2 信号通路抑制炎症反应和上皮-间充质转化。Mohamad 等[12]研究表明度拉糖肽通过抑制 GSK-3β/TGF-β1/Smad3 信号通路介导的上皮-间充质转化减轻大鼠高膳食果糖诱导的肾纤维化。Zeng 等[13]则发现达格列净通过抑制 TGF-β1/MAPK 介导的线粒体损伤减轻小鼠肾纤维化。度拉糖肽联合达格列净是否能够调节 TGF-β1/Smad 信号通路治疗早期 DN 尚不清楚。本研究中研究组 VEGF、TGF-β1、Smad2 和 Smad3 均低于对照组（均 $P < 0.05$）。有研究表明 VEGF 在肾脏晚期纤维化中异常升高，其浓度异常升高会造成肾损害[14]。转录组测序结果显示 TGF-β1/Smad 和炎症反应为度拉糖肽联合达格列净特异性调节信号通路，故度拉糖肽联合达格列净可能通过调控 TGF-β1/Smad 信号通路发挥抗肾脏纤维化作用。

综上所述，度拉糖肽联合达格列净治疗早期 DN 效果良好且安全性高，其相关机制可能与抑制 TGF-β1/Smad 信号转导相关。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 陈黎明：直接参与酝酿和设计实验、实施研究、采集数据、分析和解释数据、文章撰写；王洋洋：实验操作、数据整理、统计学分析；张静漪：指导项目设计、实施、评估病情、监测不良反应、数据整理、统计学分析、研究指导、论文修改

参 考 文 献

[1] 高原,张雪盟,杨孟雪,等.2 型糖尿病肾病患者无创晶状体晚期糖基化终末产物与不同肾损伤评价体系的关系研究 [J]. 中国实用内科杂志,2023,43(5):396-400,406.

[2] 商海涛,朱清,庞欣欣,等.血塞通软胶囊对 2 型糖尿病性肾病患者补体-炎症受体系统的影响[J].中国药房,2022,33(1):84-89.

[3] 连明珠,赵莹,康静,等.达格列净对早期 2 型糖尿病肾病患者肾小球和肾小管功能的影响[J].中国现代医学杂志,2021,31(2):13-18.

[4] NIAN S, MI Y J, REN K, et al. The inhibitory effects of Dulaglutide on cellular senescence against high glucose in human retinal endothelial cells[J] .Hum Cell,2022,35(4):995-1004.

[5] WU H M, XU F, HUANG X L, et al. Lupenone improves type 2 diabetic nephropathy by regulating NF-κB pathway-mediated inflammation and TGF-β1/Smad/CTGF-associated fibrosis [J]. Phytomedicine,2023,118:154959.

[6] 中华医学会糖尿病学分会微血管并发症学组. 糖尿病肾病防治专家共识(2014 年版)[J].中华糖尿病杂志,2014,6(11):792-801.

[7] 邢建东,姚艳琴,王静茹,等.度拉糖肽联合达格列净对早期糖尿病肾病尿蛋白排泄率及血清炎性因子的影响[J].疑难病杂志,2022,21(11):1158-1162,1168.

[8] 王薇,张婷婷,贾冰,等.达格列净片对糖尿病肾病患者尿蛋白的影响[J].中国临床药理学杂志,2019,35(10):946-949.

[9] 韩晓芳.TGF-β_1 基因多态性与 2 型糖尿病肾病易感性研究[D].福州:福建医科大学,2005.

[10] 潘保朝,李函舟,张辉,等.中医药调控 TGF-β_1/Smad 信号通路治疗糖尿病肾病的研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2022,28(23):237-249.

[11] WANG Y F, WANG Y X, WU Y, et al. Dulaglutide ameliorates intrauterine adhesion by suppressing inflammation and epithelial-mesenchymal transition via inhibiting the TGF-β/smad2 signaling pathway[J].Pharmaceuticals (Basel),2023,16(7):964.

[12] MOHAMAD H E, ABDELHADY M A, ABDEL A S M, et al. Dulaglutide mitigates high dietary fructose-induced renal fibrosis in rats through suppressing epithelial-mesenchymal transition mediated by GSK-3β/TGF-β1/Smad3 signaling pathways[J].Life Sci, 2022, 309:120999.

[13] ZENG J H, HUANG H, ZHANG Y, et al. Dapagliflozin alleviates renal fibrosis in a mouse model of adenine-induced renal injury by inhibiting TGF-β1/MAPK mediated mitochondrial damage[J]. Front Pharmacol,2023,14:1095487.

[14] 袁宇航. 加味栝楼瞿麦汤对糖尿病肾病脾肾阳虚证患者血清 APN、VEGF 的影响[D].长沙:湖南中医药大学,2023.

收稿日期：2023-08-30

（本文编辑：孙海儿）