

二甲双胍对类风湿关节炎患者外周血 CD4⁺ T 淋巴细胞亚群的影响及临床意义

郑巍^{1,2}, 张丽卿^{1,2}, 王建宝³, 李小峰⁴, 高秀林⁵

1. 山西医科大学, 山西 太原 030001; 2. 山西医科大学附属汾阳医院风湿免疫科, 山西 吕梁 032200;
3. 山西医科大学附属汾阳医院神经外科, 山西 吕梁 032200; 4. 山西医科大学第二医院风湿免疫科, 山西 太原 030001;
5. 山西医科大学汾阳学院, 山西 吕梁 032200

摘要: **目的** 研究二甲双胍对类风湿关节炎(RA)患者外周血 CD4⁺T 淋巴细胞亚群的影响,探讨其临床意义。**方法** 采用开放型前瞻性研究方法,收集2018年10月至2020年8月在山西省汾阳医院风湿免疫科就诊的54例疾病活动期RA患者,使用随机数余数分组法分为两组,试验组28例,给予二甲双胍联合或不联合改善病情抗风湿药(DMARDs)治疗;对照组26例,予传统DMARDs治疗。采用流式细胞术分别检测治疗0、3、6月时外周血 CD4⁺T 淋巴细胞亚群,比较治疗前后试验组 CD4⁺T 细胞亚群水平的变化,记录DMARDs使用情况和药物不良反应,评估二甲双胍在RA中的安全性和有效性。**结果** 组内比较,二甲双胍治疗3个月、6个月,试验组外周血调节性T细胞(Treg)较治疗前显著升高($Z=2.733, 2.573, P=0.006, 0.010$);辅助T细胞17(Th17)/Treg较治疗前显著下降($Z=2.619, 2.164, P=0.009, 0.030$);二甲双胍治疗6个月,试验组Th1较治疗前显著升高($Z=3.917, P<0.01$)。治疗6个月,试验组外周血Th1、Th2、Treg显著高于对照组($Z=3.090, 2.242, 3.705, P=0.002, 0.025, P<0.01$),Th17/Treg稍低于对照组但差异无统计学意义($Z=1.724, P=0.085$)。试验组治疗6个月与治疗前比较,28个关节肿胀数(SJC)和28个关节压痛数(TJC)较治疗前明显减少($Z=3.606, 3.998, P<0.01$),28个关节疾病活动评分(DAS28)较治疗前明显下降($Z=3.507, P<0.01$);疼痛视觉模拟评分(VAS)和疾病活动指数(CDAI)均明显下降($Z=3.622, 3.972, P<0.01$)。未出现不可逆的或严重不良反应。**结论** 二甲双胍可促进RA患者外周血 CD4⁺T 淋巴细胞中Treg细胞增长,使Th17/Treg下降并维持平衡,有利于病情缓解且安全性良好。

关键词: 类风湿关节炎; 二甲双胍; CD4⁺T 淋巴细胞; 调节性T细胞; 辅助T细胞17

中图分类号: R593.22 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2021)10-1308-06

Effect of metformin on CD4⁺T lymphocyte subsets in peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis and its clinical significance

ZHENG Wei*, ZHANG Li-qing, WANG Jian-bao, LI Xiao-feng, GAO Xiu-lin

* Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China

Corresponding author: ZHANG Li-qing, E-mail: zhanglq828@sohu.com

Abstract: Objective To investigate the effect and its clinical significance of metformin on CD4⁺T lymphocyte subsets in peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis (RA). **Methods** Using open prospective research method, 54 patients with active RA treated from October 2018 to August 2020 were selected and randomly divided into two groups. The patients treated with metformin combined with or without conventional disease-modifying anti-rheumatic drugs (DMARDs) were selected as experimental group ($n=28$), and the patients treated with conventional DMARDs were served as control group ($n=26$). CD4⁺T lymphocyte subsets in peripheral blood were detected by flow cytometry at 0-, 3- and 6- month, respectively and were compared with those before treatment. The use of DMARDs and adverse drug reactions were observed to evaluate the safety and efficacy of metformin in treating RA. **Results** After 3- and 6-months of treatment in experimental group, the levels of peripheral blood regulatory T cells (Treg) were significantly higher than

those before treatment ($Z=2.733, P=0.006; Z=2.573, P=0.010$), and T helper 17 cells (Th17) / Treg levels were significantly lower than those before treatment ($Z=2.619, P=0.009; Z=2.164, P=0.030$). After 6 months of treatment, Th1 level in experimental group was significantly higher than that before treatment ($Z=3.917, P<0.01$). The levels of Th1 ($Z=3.090, P=0.002$), Th2 ($Z=2.242, P=0.025$) and Treg ($Z=3.705, P<0.01$) were significantly higher in experimental group than those in control group after 6 months of treatment. Th17/Treg was slightly lower than that in control group, but there was no statistical difference in it between two groups ($Z=1.724, P=0.085$). Compared with those before treatment, the number of swollen joint count (SJC, $Z=3.606$) and tender joint count (TJC, $Z=3.998$), the 28-joint disease activity score (DAS28, $Z=3.507$), pain visual analogue scale (VAS, $Z=3.622$) and clinical disease activity index (CDAI, $Z=3.972$) significantly decreased after 6 months of treatment in experimental group ($P<0.01$). There were no irreversible or serious adverse reactions in two groups. **Conclusion** Metformin could promote the proliferation of CD4⁺Treg cells in peripheral blood and maintain Th17/Treg balance, which is conducive to disease remission with good safety in RA patients.

Keywords: Rheumatoid Arthritis; Metformin; CD4⁺T lymphocyte subsets; Regulatory T cells; T helper 17 cells

Fund program: Key Projects of Science and Technology in Lvliang City of Shanxi Province (2018shfz65-7); Key Projects of Science and Technology Development of Fenyang College of Shanxi Medical University (2019C07)

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种以多关节慢性炎症为主的自身免疫病。其发病机制目前尚无定论, 免疫紊乱是其发病机制之一^[1]。CD4⁺T 淋巴细胞是 RA 的效应细胞, 其中辅助 T 细胞 (Th) 17 过表达或调节性 T 细胞 (Tregs) 数量减少及功能障碍, 以及 Th17/Treg 失衡在 RA 发生、发展中有重要作用^[2], 因此, 恢复 Th17/Treg 平衡是 RA 治疗的新靶点。临床工作中, 笔者发现部分患者对改善病情的抗风湿药 (DMARDs) 不应答, 目前虽已经进入生物制剂时代, 但价格相对昂贵, 限制了其临床使用。近年研究发现, 二甲双胍除了具有降糖作用外, 还可以通过激活单核苷酸依赖的蛋白激酶 (AMPK)-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 通路抑制 CD4⁺T 淋巴细胞向 Th17 分化, 促进 Treg 增殖, 恢复 Th17/Treg 平衡, 在多种自身免疫病中发挥免疫调节作用^[3]。现收集并分析二甲双胍联合 DMARDs 治疗后 RA 患者的外周血 CD4⁺T 淋巴细胞亚群的变化, 记录 DMARDs 使用情况, 观察药物不良反应, 客观评价二甲双胍对 RA 的疗效及安全性, 报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 采用开放型前瞻性研究方法, 选取 2018 年 10 月至 2020 年 8 月在山西省汾阳医院风湿免疫科就诊的 RA 患者 54 例, 使用随机数余数分组法分为两组。试验组 28 例, 男 8 例, 女 20 例, 年龄 (47.32 ± 15.77) 岁, 病程 0.12~10.50 年, 给予二甲双胍联合或不联合传统 DMARDs 治疗; 对照组 26 例, 男 7 例, 女 19 例, 年龄 (47.32 ± 15.77) 岁, 病程 2.16~

10.62 年, 给予传统 DMARDs 治疗。入组时均在疾病活动期, 28 个关节疾病活动评分 (DAS28) 为 2.66~5.03 (3.75 ± 0.64) 分, 试验组和对照组中 $2.6\leq DAS28\leq 3.2$ 分的患者分别为 10 例和 6 例, 试验组和对照组中 $3.2<DAS28\leq 5.1$ 的患者分别为 18 例和 20 例。两组研究对象性别、年龄、DAS28 评分差异无统计学意义 ($P>0.05$)。研究经医院医学伦理委员会审核通过。

纳入标准: (1) 符合 2010 ACR/EULAR 的 RA 诊断标准者; (2) 自愿参加本研究并签署同意书者。排除标准: (1) 合并其他自身免疫病; (2) 合并糖尿病; (3) 合并感染、恶性肿瘤、严重肝肾功能不全等疾病。

1.2 治疗方法和观察 试验组予以二甲双胍片 0.25 g 口服, 2 次/d, 不联合或联合 1 种 DMARDs; 对照组予以 1 种或 1 种以上 DMARDs, 本研究 DMARDs 包括甲氨蝶呤 (MTX)、来氟米特 (LEF)、羟氯喹 (HCQ) 和柳氮磺吡啶 (SASP), 持续用药 6 个月。分别于治疗 0、3、6 个月清晨起空腹外周静脉血检测常规实验室指标及 CD4⁺T 淋巴细胞亚群, 并记录 28 个关节肿胀数 (SJC)、28 个关节压痛数 (TJC)、疾病活动指数 (CDAI)、DMARDs 使用情况, 观察药物不良反应, 研究二甲双胍对 CD4⁺T 淋巴细胞亚群的影响。随访期间观察有无脱发、骨髓抑制、低血糖等不良反应。两组急性期治疗原则相同: 非甾体抗炎药 (NSAIDs) 口服和 (或) 联合糖皮质激素 (GC, ≤ 10 mg/d 或相当量泼尼松), 疗程 ≤ 1 个月; 随访期间关节疼痛、肿胀症状反复时以 NSAIDs 为主, 允许联合 GC (剂量同急性期) 治疗, 疗程 < 1 周。

1.3 观察指标 DAS28 评分: 是目前临床评估 RA

疾病活动最常使用的评分指标,根据 SJC、TJC 及红细胞沉降率(ESR)值计算得出,≤2.6 分为疾病缓解、>2.6 分~3.2 分为低度活动、>3.2 分~5.1 分为中度活动、>5.1 分为高度活动^[4]。VAS 评分:是常用的疼痛评分标准,医生通过 100 mm 视觉模拟尺对患者进行疼痛视觉模拟评分,20 mm 以下表示无痛,20~40 mm 代表轻度疼痛,50~70 mm 代表中度疼痛,80~90 mm 代表重度疼痛,100 mm 表示剧痛。CDAI:该指数能准确反映治疗效果和定义缓解,根据 SJC、TJC、患者总体评价(PGA)及医生总体评价(MDGA)计算得出,分数范围为 0~76 分,≤2.8 分为疾病缓解,>2.8~10 分为低度活动,>10~22 分为中度活动,>22 分为高度活动^[4]。

1.4 实验室检测 CD4⁺T 淋巴细胞亚群检测:紫色抗凝管收集所有研究对象静脉血,将样本进行分层梯度离心,分离出外周血单个核细胞(PBMCs),使用抗 APC-CD25、FITC-CD4 抗体进行染色固定,破膜后分别加入 IL-4-PE 抗体、IFN-γ-APC、IL-17-PE 抗体、Foxp3 抗体进行封闭、孵育,采用 FACS Calibur 流式细胞仪检测 CD4⁺T 淋巴细胞亚群水平。

1.5 统计学方法 应用 SPSS 26.0 软件对数据进行统计分析。对不符合正态性的计量资料采用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用两独立样本秩和检验,试验

组治疗前后比较采用配对样本秩和检验;计数资料采用例(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 试验组与对照组治疗前后 CD4⁺T 淋巴细胞亚群水平比较 试验组治疗前外周血 Th1、Th2、Th1/Th2、Th17、Treg、Th17/Treg 水平与对照组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。试验组治疗后外周血 Th1、Th2、Treg 水平均显著高于对照组($P < 0.01, P < 0.05$), Th1/Th2 和 Th17 水平稍高于对照组、Th17/Treg 水平稍低于对照组,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 试验组治疗前后 CD4⁺T 淋巴细胞亚群变化 试验组 RA 患者 Treg 治疗 3 个月较治疗前明显升高($P < 0.01$), Th17/Treg 明显下降($P < 0.01$), Th1、Th2、Th17 稍高, Th1/Th2 稍低,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。Th1、Treg、Th1/Th2 治疗 6 个月较治疗前明显升高($P < 0.01, P < 0.05$), Th17/Treg 下降($P < 0.05$), Th2、Th17 稍高,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。Th1、Th17、Treg、Th1/Th2 治疗 6 个月较治疗 3 个月稍高, Th2、Th17/Treg 稍低,但差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 1 治疗前、治疗 6 个月试验组与对照组 CD4⁺T 淋巴细胞水平比较 [$M(P_{25}, P_{75})$]

项目	试验组(n=28)	对照组(n=26)	Z 值	P 值
治疗前				
Th1(个/ μ l)	73.03(44.18, 155.11)	72.25(23.42, 130.46)	0.649	0.516
Th2(个/ μ l)	6.07(4.66, 8.86)	4.88(3.30, 7.75)	1.376	0.169
Th1/Th2	14.15(6.61, 27.11)	14.61(7.10, 27.39)	0.052	0.959
Th17(个/ μ l)	4.80(3.19, 11.28)	5.21(3.45, 7.69)	0.147	0.883
Treg(个/ μ l)	21.43(21.43, 36.17)	19.92(14.86, 29.31)	0.199	0.842
Th17/Treg	0.28(0.14, 0.37)	0.35(0.29, 0.40)	1.922	0.055
治疗 6 个月				
Th1(个/ μ l)	166.84(123.99, 213.32)	97.51(46.80, 141.67)	3.090	0.002
Th2(个/ μ l)	7.60(6.01, 11.58)	5.02(4.29, 8.30)	2.242	0.025
Th1/Th2	19.68(13.29, 30.13)	15.32(10.24, 20.52)	1.567	0.117
Th17(个/ μ l)	5.77(3.71, 9.20)	4.50(2.90, 7.26)	1.056	0.291
Treg(个/ μ l)	34.50(20.49, 44.26)	18.04(13.03, 28.53)	3.705	<0.001
Th17/Treg	0.19(0.11, 0.35)	0.26(0.18, 0.38)	1.724	0.085

表 2 试验组 RA 患者治疗前后 CD4⁺T 淋巴细胞水平比较 [$n=28, M(P_{25}, P_{75})$]

时间	Th1(个/ μ l)	Th2(个/ μ l)	Th1/Th2	Th17(个/ μ l)	Treg(个/ μ l)	Th17/Treg
治疗前	73.03(44.18, 155.11)	6.07(4.66, 8.86)	14.15(6.61, 27.11)	4.80(3.19, 11.28)	21.43(12.81, 36.17)	0.28(0.14, 0.37)
治疗 3 月	118.29(57.65, 193.46)	8.15(4.86, 13.14)	14.04(6.02, 25.77)	5.35(3.44, 8.00)	28.76(23.07, 47.29)	0.20(0.09, 0.29)
治疗 6 月	166.84(123.99, 213.32)	7.60(6.01, 11.58)	19.68(13.29, 30.13)	5.76(3.71, 9.20)	34.49(20.49, 44.26)	0.19(0.11, 0.35)
Z_1/P_1 值	1.753/0.080	1.958/0.050	0.455/0.649	1.207/0.227	2.733/0.006	2.619/0.009
Z_2/P_2 值	3.917/<0.001	1.844/0.065	2.300/0.021	0.808/0.419	2.573/0.010	2.164/0.030
Z_3/P_3 值	1.548/0.122	0.615/0.539	1.275/0.202	0.649/0.516	0.182/0.855	0.024/0.981

注: Z_1/P_1 值为治疗 3 月与治疗前比较; Z_2/P_2 值为治疗 6 月与治疗前比较; Z_3/P_3 值为治疗 6 月与治疗 3 月比较。

2.3 试验组治疗后常规实验室指标变化 治疗后, 试验组 RA 患者白细胞、血红蛋白较治疗前稍升高、血小板较治疗前稍下降, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 淋巴细胞较治疗前显著升高 ($P < 0.05$), 但仍在正常范围, 无明显异常指标出现。见表 3。观察随访期间仅有 1 例出现白细胞减少, 予以升白治疗后好转, 少数患者出现脱发, 考虑 DMARDs 副作用, 减量及停用后好转。

2.4 试验组治疗前后疾病活动指标变化 试验组 RA 患者 SJC、TJC、DAS28、VAS、CDAI 评分治疗 3 个月较治疗前下降, 治疗 6 个月较治疗前下降 ($P < 0.01$), TJC、VAS、CDAI 评分治疗 6 个月较治疗 3 个月下降 ($P < 0.05$), 差异均有统计学意义。见表 4。

2.5 试验组和对照组治疗前后 DMARDs 使用情况 试验组 28 例, 治疗开始时接受 DMARDs 治疗的患者 21 例 (75.00%) 均为单药治疗, 治疗 3 个月和 6 个月时使用 DMARDs 单药治疗患者均较前减少, 分别为

15 例 (53.57%)、9 例 (32.14%), DMARDs 使用率显著下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 见表 5。提示, 二甲双胍有利于 RA 患者 DMARDs 减量。对照组治疗前、治疗 3 个月和 6 个月时 DMARDs 使用率均为 100.00%, 治疗 3 个月和 6 个月时 DMARDs 联合使用率下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 见表 6。提示, 常规 DMARDs 治疗 RA, 疗程中可根据病情改善情况减少联合用药。DMARDs 总使用率试验组与对照组治疗前 (75.00% vs 100.00%, $\chi^2 = 5.417, P = 0.020$)、3 个月时 (53.57% vs 100.00%, $\chi^2 = 15.899, P < 0.01$)、6 个月时 (32.14% vs 100.00%, $\chi^2 = 27.220, P < 0.01$) 比较, 差异均有统计学意义。

2.6 试验组与对照组治疗后不同疾病活动期情况比较 两组治疗后, 试验组 RA 患者不同疾病活动期构成状况稍优于对照组, 即试验组处于疾病缓解期的患者比例较高, 处于低度或中度疾病活动期的患者比例较低, 但差异无统计学意义 ($\chi^2 = 2.723, P = 0.256$)。见表 7。

表 3 试验组 RA 患者治疗前后常规实验室指标比较 [n=28, M(P₂₅, P₇₅)]

时间	白细胞 (×10 ⁹ /L)	血红蛋白 (g/L)	血小板 (×10 ⁹ /L)	淋巴细胞 (×10 ⁹ /L)
治疗前	6.95(5.28, 9.85)	121.50(113.25, 134.75)	257.00(153.50, 338.50)	1.86(1.45, 2.35)
治疗 3 月	7.90(5.49, 10.05)	122.50(116.25, 133.50)	246.00(170.80, 291.00)	2.22(1.74, 2.55)
治疗 6 月	7.25(5.80, 9.70)	126.00(117.50, 133.50)	239.50(158.25, 302.25)	2.17(1.99, 2.46)
Z ₁ /P ₁ 值	1.499/0.134	0.915/0.360	1.021/0.307	1.502/0.133
Z ₂ /P ₂ 值	0.467/0.641	0.794/0.427	0.273/0.785	2.004/0.045
Z ₃ /P ₃ 值	1.037/0.300	0.579/0.562	1.139/0.255	0.000/1.000

注: Z₁/P₁ 值为治疗 3 月与治疗前比较; Z₂/P₂ 值为治疗 6 月与治疗前比较; Z₃/P₃ 值为治疗 6 月与治疗 3 月比较。

表 4 试验组治疗前后疾病活动指标比较 [n=28, M(P₂₅, P₇₅)]

时间	SJC(个)	TJC(个)	ESR(mm/h)	DAS28	VAS	CDAI
治疗前	2.00(1.00, 3.00)	2.00(1.00, 3.00)	19.50(11.25, 45.50)	3.44(3.09, 4.30)	20.00(10.00, 30.00)	7.00(5.00, 12.50)
治疗 3 月	1.00(0.00, 1.75)	0.00(0.00, 1.75)	18.00(15.00, 38.00)	2.93(2.22, 3.71)	10.00(1.25, 18.75)	3.00(1.25, 6.75)
治疗 6 月	0.00(0.00, 1.00)	0.00(0.00, 1.00)	18.00(7.00, 30.75)	2.56(1.68, 3.34)	5.00(0.00, 10.00)	1.00(0.00, 3.75)
Z ₁ /P ₁ 值	3.893/<0.001	4.081/<0.001	1.286/0.198	3.871/<0.001	2.813/0.005	3.821/<0.001
Z ₂ /P ₂ 值	3.606/<0.001	3.998/<0.001	1.777/0.076	3.507/<0.001	3.622/<0.001	3.972/<0.001
Z ₃ /P ₃ 值	1.255/0.210	2.179/0.029	0.889/0.374	1.454/0.146	2.486/0.013	2.347/0.019

注: Z₁/P₁ 值为治疗 3 月与治疗前比较; Z₂/P₂ 值为治疗 6 月与治疗前比较; Z₃/P₃ 值为治疗 6 月与治疗 3 月比较。

表 5 试验组 28 例患者治疗前后 DMARDs 使用情况 [例(%)]

时间	例数	MTX	LEF	HCQ	SASP	合计
治疗前	28	4(14.29)	8(28.57)	6(21.43)	3(10.71)	21(75.00)
治疗 3 个月	28	3(10.71)	7(25.00)	4(14.29)	1(3.57)	15(53.57)
治疗 6 个月	28	1(3.57)	5(17.86)	3(10.71)	0	9(32.14)
χ ² 值						10.338
P 值						0.006

表 6 对照组 26 例患者治疗前后 DMARDs 具体使用情况 [例(%)]

时间	例数	MTX	LEF	HCQ	MTX+HCQ	MTX+SASP	LEF+HCQ
治疗前	26	8(30.77)	6(23.08)	1(3.85)	6(23.08)	2(7.69)	3(11.54)
治疗 3 个月	26	9(34.61)	6(23.08)	5(19.23)	4(15.38)	1(3.85)	1(3.85)
治疗 6 个月	26	10(38.46)	7(26.92)	8(30.77)	0	0	1(3.85)

表7 试验组与对照组 RA 患者治疗 6 个月后
不同疾病活动期构成状况比较 [例(%)]

组别	例数	疾病缓解	低度活动	中度活动
试验组	28	18(64.29)	6(21.42)	4(14.29)
对照组	26	11(42.31)	8(30.77)	7(26.92)
χ^2 值			2.723	
P 值			0.256	

3 讨论

RA 是一种慢性自身免疫性疾病,其病理基础为滑膜炎,在我国的患病率及致畸致残率高。CD4⁺T 淋巴细胞比例失衡可能是其免疫功能紊乱的关键原因^[1],其中 Th1/Th2 失衡是其中之一,但该理论还存在不足。目前,Th17/Treg 比例失衡是与 RA 发生、发展密切相关的免疫紊乱机制被广泛认同^[1-4]。Th17 细胞可刺激滑膜成纤维细胞生成,促进炎症因子趋化、聚集,从而诱发关节炎,最终导致骨破坏和关节畸形^[5-7]。Treg 细胞通过分泌炎症抑制因子或以细胞接触依赖的方式在诱导免疫耐受和维持免疫平衡中发挥抑制免疫反应和炎症的作用^[8-9]。研究表明,二甲双胍可通过 AMPK-mTOR 轴调节 Treg/Th17 平衡来改善 RA 模型小鼠关节症状^[10]。在其他自身免疫病中,笔者也观察到二甲双胍可通过调节 Treg/Th17 平衡改善系统性硬化小鼠神经系统症状以及硬皮病小鼠组织纤维化,降低炎症反应指标,减轻白塞病患者的临床症状^[11-13]。

本研究结果显示,经二甲双胍联合治疗后,试验组 Th1、Treg 细胞水平较治疗前明显升高,仍在正常范围内,且高于对照组;Th17/Treg 较治疗前明显下降后仍在正常范围内,且低于对照组。同时,经治疗后对照组 Th1、Th2 细胞也呈上升趋势,表明二甲双胍在 RA 中主要通过抑制 Th17 细胞生成、促进 Treg 细胞增殖,恢复 Th17/Treg 平衡来发挥免疫调节作用。此外,本研究还发现,二甲双胍治疗 3 个月后由于 Th2 细胞升高幅度大于 Th1 细胞,Th1/Th2 比值出现下降,但这种效应并不持久,在二甲双胍治疗 6 个月后却升高,进一步提示二甲双胍可能仅参与 RA 中 Th17、Treg 细胞的变化,Th1、Th2 细胞增加的机制还需更深层次的研究和探索。

在关节症状、疾病活动和安全性方面,经二甲双胍治疗后 RA 患者的 SJC、TJC 明显减少,DAS28 评分、VAS 评分、CDAI 等疾病活动指标明显改善。两组均未发现严重不良反应发生,表明二甲双胍联合治疗安全、有效。目前已证实,越早达到临床缓解的 RA 患者预后越好,可以更好地延缓影像学进展,降

低心血管事件的发生风险^[14]。本研究终点,基于 DAS28 评分,试验组和对照组达到临床缓解或低疾病活动度的患者百分比分别为 85.71%、73.08%,但其中治疗 6 个月疾病缓解率试验组(64.29%)较对照组(42.31%)有所提高,提示二甲双胍联合治疗在病情缓解方面可能具有一定优势。值得关注的是,RA 的病程长,且病情易反复,DMARDs 作为抗风湿的一线用药,起效时间较慢,常需 1~2 个月或以上,且 DMARDs 有血细胞减少、肝肾功能损伤、脱发等不良反应,导致部分患者不能有效配合治疗。因此,缩短 DMARDs 使用时间,减少其用量对 RA 患者有重要意义。本研究发现,随着治疗时间延长,试验组疾病活动明显改善,在减少 DMARDs 使用方面有优于对照组的趋势,提示部分 RA 疾病活动明显改善后或许可用二甲双胍替代 DMARDs,将治疗方向由免疫抑制转变为免疫调节,达到疾病长期缓解的目的。

GC 具有抗炎、抗免疫作用,是 RA 治疗的常用药物,但 GC 相关脂代谢紊乱、肥胖、糖尿病等副作用明显^[15],而二甲双胍不仅可调节糖脂代谢,在控制体重方面的作用也不容小觑^[16]。同时,持续使用二甲双胍的糖尿病患者 RA 的发生率低^[17],还可减少合并糖尿病的 RA 患者住院率^[18]。由此可见,使用 GC 的 RA 患者联合二甲双胍治疗益处良多。

越来越多的证据表明,肠道菌群紊乱可影响 Th17 和 Treg 细胞的正常分化^[19],二甲双胍或可通过 AMPK-mTOR 轴^[20]调节 Th17/Treg 平衡这一机制,实现 RA 肠道免疫功能恢复。未来笔者将进行 RA 肠道微生态方面的相关研究。此外,二甲双胍在降解中性粒细胞胞外诱捕网(NETs)、趋动巨噬细胞向抗炎 M2 型转化、促进血清类风湿因子(RF)有效下降方面有重要作用^[5,21-22],可能对延缓 RA 关节破坏,改善患者生存质量有重要意义。

综上所述,二甲双胍可通过促进 Treg 增长,调节 Th17/Treg 并维持平衡,治疗 RA 安全有效。同时,鉴于二甲双胍还可通过多途径和机制治疗 RA,值得进一步探讨。

参考文献

- [1] Weyand CM, Goronzy JJ. Immunometabolism in the development of rheumatoid arthritis[J]. Immunol Rev, 2020, 294(1): 177-187.
- [2] do Prado AD, Bisi MC, Piovesan DM, et al. Ultrasound inflammatory parameters and Treg/Th17 cell profiles in established rheumatoid arthritis[J]. Adv Rheumatol, 2019, 59(1): 26.
- [3] Salvatore T, Pafundi PC, Galiero R, et al. Metformin: A potential therapeutic tool for rheumatologists [J]. Pharmaceuticals (Basel),

- 2020, 13(9):234.
- [4] Smolen JS, Aletaha D, McInnes I. Rheumatoid arthritis [J]. *Lancet*, 2016, 388(10055):2023-2038.
- [5] Azizi G, Jadidi-Niaragh F, Mirshafiey A. Th17 Cells in Immunopathogenesis and treatment of rheumatoid arthritis [J]. *Int J Rheum Dis*, 2013, 16(3):243-253.
- [6] Yang P, Qian FY, Zhang MF, et al. Th17 cell pathogenicity and plasticity in rheumatoid arthritis [J]. *J Leukoc Biol*, 2019, 106(6):1233-1240.
- [7] Kugyelka R, Kohl Z, Olasz K, et al. Enigma of IL-17 and Th17 cells in rheumatoid arthritis and in autoimmune animal models of arthritis [J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016:6145810.
- [8] Son HJ, Lee J, Lee SY, et al. Metformin attenuates experimental autoimmune arthritis through reciprocal regulation of Th17/Treg balance and osteoclastogenesis [J]. *Mediators Inflamm*, 2014, 2014:973986.
- [9] Boissier MC, Assier E, Falgarone G, et al. Shifting the imbalance from Th1/Th2 to Th17/Treg: the changing rheumatoid arthritis paradigm [J]. *Joint Bone Spine*, 2008, 75(4):373-375.
- [10] Kang KY, Kim YK, Yi H, et al. Metformin downregulates Th17 cells differentiation and attenuates murine autoimmune arthritis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2013, 16(1):85-92.
- [11] Negrotto L, Farez MF, Correale J. Immunologic effects of metformin and pioglitazone treatment on metabolic syndrome and multiple sclerosis [J]. *JAMA Neurol*, 2016, 73(5):520-528.
- [12] Wang Y, Zhang S, Liang Z, et al. Metformin attenuates bleomycin-induced Scleroderma by regulating the balance of Treg/Teff cells and reducing spleen germinal center formation [J]. *Mol Immunol*, 2019, 114:72-80.
- [13] Yong C, Dan L, Chenhong L, et al. Efficacy and safety of metformin for Behcet's disease and its effect on Treg/Th17 balance: a single-blinded, before-after study [J]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 2019, 39(2):127-133.
- [14] 谢文慧, 张卓莉. 类风湿关节炎成功治疗的核心理念和发展 [J]. *中国医学前沿杂志(电子版)*, 2020, 12(11):前插1, 1-3.
- [15] 冯秀媛, 张芬燕, 常志芳, 等. 类风湿关节炎患者骨质疏松与免疫调节性细胞因子的关系 [J]. *中国临床研究*, 2020, 33(2):154-157.
- [16] Baptista T, Rangel N, Fernández V, et al. Metformin as an adjunctive treatment to control body weight and metabolic dysfunction during olanzapine administration: a multicentric, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Schizophr Res*, 2007, 93(1/2/3):99-108.
- [17] Naffaa ME, Rosenberg V, Watad A, et al. Adherence to metformin and the onset of rheumatoid arthritis: a population-based cohort study [J]. *Scand J Rheumatol*, 2020, 49(3):173-180.
- [18] Lu CH, Chung CH, Lee CH, et al. Combination of COX-2 inhibitor and metformin attenuates rate of admission in patients with rheumatoid arthritis and diabetes in Taiwan [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(41):e17371.
- [19] Zhong D, Wu C, Zeng X, et al. The role of gut microbiota in the pathogenesis of rheumatic diseases [J]. *Clin Rheumatol*, 2018, 37(1):25-34.
- [20] 李青, 贾俊楠, 安军, 等. 二甲双胍对肺结核合并2型糖尿病患者辅助治疗的横断面研究 [J]. *中国热带医学*, 2018, 18(6):609-613.
- [21] Menegazzo L, Scattolini V, Cappellari R, et al. The antidiabetic drug metformin blunts NETosis in vitro and reduces circulating NETosis biomarkers in vivo [J]. *Acta Diabetol*, 2018, 55(6):593-601.
- [22] Park SY, Lee SW, Lee SY, et al. SIRT1/adenosine monophosphate-activated protein kinase α signaling enhances macrophage polarization to an anti-inflammatory phenotype in rheumatoid arthritis [J]. *Front Immunol*, 2017, 8:1135.

收稿日期:2021-04-06 修回日期:2021-05-16 编辑:石嘉莹