

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫成果 報告

Pentoxifylline 對實驗性新月型腎小球腎炎進行的療效

Effects of pentoxifylline on the progression of
experimental crescentic glomerulonephritis

計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC 89-2314-B-002-511

執行期間：89/08/01 ~ 90/07/31

計畫主持人：陳永銘

本成果報告包括以下應繳交之附件：

- 赴國外出差或研習心得報告一份
- 赴大陸地區出差或研習心得報告一份
- 出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份
- 國際合作研究計畫國外研究報告書一份

執行單位：國立台灣大學醫學院內科

中華民國 90 年 10 月 31 日

中文題目：Pentoxifylline 對實驗性新月型腎小球腎炎進行的療效

英文題目：Effects of pentoxifylline on the progression of experimental crescentic glomerulonephritis

計劃編號：NSC 89-2314-B-002-511

執行期限：89/08/01 ~ 90/07/31

主持人： 陳永銘 主治醫師 (*e mail*: ymchen@ha.mc.ntu.edu.tw; *fax*: 2322-2955)

執行機關：國立台灣大學醫學院內科

中文摘要

背景：新月型腎小球腎炎包括一群不同免疫機制引起的腎小球腎炎，它們共同的特點就是在臨牀上出現快速進行性腎臟衰竭。Pentoxifylline 是環狀 3',5'-nucleotide phosphodiesterase 抑制劑，可使細胞內 cAMP 濃度升高。近年來在許多體內和體外的研究中，均發現它具有抗發炎、抗增生、和抗纖維化的作用。本研究目的即在於評估 Pentoxifylline 對新月型腎小球腎炎惡化進行的療效（特別是在腎衰竭和新月體的形成方面）。

方法：將大鼠注射 1 ml anti-rat GBM 血清即可誘發新月型腎小球腎炎，對照組則再加上 pentoxifylline 治療 (0.1 g/kg/day over 15 min starting from day 0)。腎炎誘發後三天、一、二、四週分別測量腎功能和蛋白尿，然後將大鼠殺死，進行 H&E 染色、免疫組化染色和北方墨點分析。

結果：經 Pentoxifylline 治療之 anti-GBM 腎炎鼠，其 24-小時尿蛋白排泄量、腎小球內侵潤發炎細胞數目、腎小球新月體數目、以及腎皮質 MCP-1, PDGF-B chain, TGF- β 1, type 1 collagen, 和 fibronectin mRNAs 表現程度均較未治療之 anti-GBM 腎炎鼠低。唯 CCr 除了在第三天治療組比對照組較佳之外，其餘時段均無統計學上有意義的差別。

結論：Pentoxifylline 可改善實驗性新月型腎小球腎炎的嚴重度，但無法完全阻止腎功能的惡化。

英文摘要

Background Crescentic glomerulonephritis (GN) is a heterogeneous clinicopathological entity characterized by rapid loss of renal function within three months and crescent formation in more than 50% of the glomeruli. The cAMP-elevating agent, pentoxifylline, acts by inhibiting cyclic 3',5'-nucleotide phosphodiesterase, has been shown to exert anti-inflammatory, anti-proliferative, and anti-fibrogenic effects both *in vitro* and *in vivo*. The aims of this study is to investigate whether pentoxifylline has beneficial effects on the progression of rat experimental crescentic GN.

Methods Anti-GBM crescentic GN is induced by injecting intravenously 1 ml of anti-rat GBM serum (group A) and pentoxifylline-treated rats (group B) are injected with 1 ml nephrotoxic serum plus daily intravenous infusion of pentoxifylline (0.1 g/kg/day) over 15 min starting from day 0. Animals were killed at various intervals at 3 days, 1 week, 2 weeks, and 4 weeks, respectively, after induction of the nephritis. Creatinine clearance and extent of proteinuria were measured. Renal tissues were subjected to H&E staining, immunohistochemical staining, and northern blot analysis.

Results Pentoxifylline-treated nephritic rats had lower amount of 24-h urinary protein, less glomerular macrophage accumulation, fewer crescentic glomeruli, as well as reduced levels of glomerular MCP-1, PDGF-B chain, TGF- β 1, type 1 collagen, and

fibronectin mRNA, as compared to vehicle-treated nephritic rats. However, except at day 3 when pentoxifylline-treated rats had a better creatinine clearance rate, there was no difference between the two groups at week 1, 2, or 4 of the nephritis.

Conclusions These data indicate that pentoxifylline ameliorates the severity of experimental crescentic glomerulonephritis in rats, but did not reverse the impaired renal function.

計劃緣由

新月型腎小球腎炎包括一群不同免疫機制引起的腎小球腎炎，它們共同的特點就是在臨牀上出現快速進行性腎臟衰竭，而在組織病理下腎小球有新月體形成。腎小球新月體的形成是十分複雜的步驟，牽涉到發炎細胞激素、包氏囊壁細胞、T 細胞、巨噬細胞、及纖維母細胞。這些因子之間的交互作用導致細胞外基質的製造增加，並沈積於組織間，因而逐漸引起纖維性新月體及腎間質纖維化。直到目前為止，steroids 和 cyclophosphamide 這類強效免疫抑制劑仍是治療新月型腎小球腎炎病人的第一線藥物 [1, 2]。但是這些藥物有些嚴重副作用，例如消化道出血或伺機性感染症，會限制它們的廣泛使用。因此，發展作用機轉不同於前述免疫抑制劑的新藥來治療新月型腎小球腎炎確實有其需要性。理論上，能夠同時對抗腎小球腎炎過程中異常升高的細胞免疫和纖維化活性的藥物可能是理想的選擇。Pentoxifylline 是環狀 3',5'-nucleotide phosphodiesterase 抑制劑，可使細胞內 cAMP 濃度升高 [3]。近年來在許多細胞培養研究中，包括皮膚纖維母細胞、肝臟星狀細胞、腎小球間質支持細胞、單核球、淋巴球、和主動脈平滑肌細胞等，均發現 pentoxifylline 具有抗發炎、抗增生、和抗纖維化的作用 [4-9]。類似的效果也在若干動物實驗中被證實，包括豬的黃磷誘發肝纖維病變、小鼠的狼瘡性腎小球腎炎、及大鼠的 aminonucleoside 腎病變 [10-12]。最近，我們也發表 pentoxifylline 減輕大鼠的 anti-Thy1 腎小球腎炎的蛋白尿和腎小球硬化程度。同時在腎炎過程中，腎小球內 monocyte chemoattractant protein-1, intercellular adhesion molecule-1，及許多細胞外基質等基因的表現也受到顯著的抑制 [13]。總體而言，這些資料顯示 pentoxifylline 對治療較輕度的免疫性腎小球腎炎，可能具有至少是輔助性的角色。然而 pentoxifylline 對重度壞死性腎小球腎炎是否也具有同樣的效果則尚未有研究。

目的

評估 pentoxifylline 對重度壞死性腎小球腎炎惡化進行的療效（特別是在腎衰竭和新月體的形成方面）。

結果

經 Pentoxifylline 治療之 anti-GBM 腎炎鼠較其對照組有以下差別：(1) 24-小時尿蛋白排泄量減少 (anti-GBM 腎炎組 vs 對照腎炎組：baseline, 10.2 ± 1.2 vs 9.3 ± 1.4 ; day 3, 272.9 ± 106.0 vs 552.8 ± 91.9 ; week 1, 390.6 ± 81.8 vs 670.2 ± 76.4 ; week 2, 379.1 ± 99.9 vs 863.3 ± 98.7 ; week 4, 155.5 ± 103.6 vs 598.4 ± 168.1 , P values < 0.05); (2) (免疫組化染色)每顆腎小球內侵潤發炎細胞數目 (ED-1 陽性) 較少：baseline, 0.5 ± 0.0 vs 0.6 ± 0.0 ; day 3, 3.3 ± 0.4 vs 14.7 ± 0.8 ; week 1, 6.0 ± 0.6 vs 14.5 ± 0.7 ; week 2, 6.3 ± 0.5 vs 16.0 ± 0.8 ; week 4, 4.9 ± 0.5 vs 9.0 ± 0.5 , P values < 0.01);

(3) (H&E 染色)每 100 顆腎小球中有新月體之比例較少：day 3, 3±1 vs 0±0%; week 1, 4±1 vs 0±0%; week 2, 17±2 vs 5±3%; week 4, 42±10 vs 4±1%, P values < 0.05; (4) (北方墨點分析)腎皮質 MCP-1, PDGF-B chain, TGF- β 1, type I collagen, 和 fibronectin mRNAs 表現程度較低。不過在腎功能上 (CCr)，除了在第三天 pentoxifylline 治療腎炎組比對照腎炎組較佳之外 (anti-GBM 腎炎組 vs 對照腎炎組 : 0.66±0.08 vs 1.08±0.04 ml/min, P<0.05)，其餘時段則無統計學上有意義的差別。

討論

Pentoxifylline 過去已被報告能減緩若干較輕型的實驗性腎小球疾病，包括 anti-Thy1、lupus 鼠、和 puromycin aminonucleoside 模式 [11-13]。本研究則進一步證實它對於更嚴重的腎小球腎炎，anti-GBM 腎炎模式，也同樣有效。不但蛋白尿嚴重度和發炎細胞的侵潤數目減少，腎小球新月體的形成也大為降低，顯示 pentoxifylline 以及它所代表的類型藥物 phosphodiesterase inhibitors 可能具有治療重度腎小球腎炎的潛力。不過由於在本研究中，治療組的腎小球功能只有在第三天優於對照組 (並且仍然是遠低於正常鼠之肌酸干廓清率)，因此我們認為 pentoxifylline 並不能完全取代傳統藥物如 corticosteroids 或 cytotoxic agents 的角色。然而由於傳統藥物存在著副作用的問題，我們以為若能夠將本藥導入腎小球腎炎的治療，配合現存的傳統藥物，使其劑量得以降低進而減少嚴重副作用的發生，不失為本藥未來可以努力的方向之一。

計劃成果自評

本研究結果可提供將來 pentoxifylline 乃至於 phosphodiesterase inhibitors 應用於治療人類重度壞死性腎小球腎炎的理論基礎。

參考文獻

1. Glasscock RJ: Crescentic glomerulonephritis. In *Treatment of Primary glomerulonephritis*, Ponticelli C and Glasscock RJ (eds). Oxford University Press, Oxford, 1997. pp. 237-254.
2. Jindal KK: Management of idiopathic crescentic and diffuse proliferative glomerulonephritis: evidence-based recommendations. *Kidney Int* 1999;55(suppl 70):33-40.
3. Ward A, Clissold SP: Pentoxifylline, a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and its therapeutic efficacy. *Drugs* 1987;34:50-97.
4. Peterson TC, Isbrucker RA, Hooper ML: In vitro effect of platelet-derived growth factor on fibroproliferation and effect of cytokine antagonists. *Immunopharmacol* 1994;28:259-270.
5. Duncan MR, Hasan A, Berman B: Pentoxifylline, pentifylline, and interferons decrease type I and type III procollagen mRNA levels in dermal fibroblasts: evidence for mediation by nuclear factor 1 down-regulation. *J Invest Dermatol* 1995;104:282-28.
6. Tsai T-J, Lin R-H, Chang C-C, Chen Y-M, Chen C-F, et al: Vasodilator agents modulate rat glomerular mesangial cell growth and collagen synthesis. *Nephron* 1995;70:91-99.

7. Neuner P, Klosner G, Pourmojib M, Knobler R, Schwarz T: Pentoxifylline in vivo and in vitro down-regulates the expression of the intercellular adhesion molecule-1 in monocytes. *Immunology* 1997;90:435-439.
8. Krakauer T: Induction of CC chemokines in human peripheral blood mononuclear cells by staphylococcal exotoxins and its prevention by pentoxifylline. *J Leukoc Biol* 1999;66:158-164.
9. Chen Y-M, Wu K-D, T-J, Hsieh B-S: Pentoxifylline inhibits PDGF-induced proliferation of and TGF- β -stimulated collagen synthesis by vascular smooth muscle cells. *J Mol Cell Cardiol* 1999;31:773-783.
10. Peterson TC: Pentoxifylline prevents fibrosis in an animal model and inhibits platelet-derived growth factor-driven proliferation of fibroblasts. *Hepatology* 1993;17:486-493.
11. Hecht M, Muller M, Lohmann-Matthes M-L, Emmendorffer A: In vitro and in vivo effects of pentoxifylline on macrophages and lymphocytes derived from autoimmune MRL-*lpr/lpr* mice. *J Leukoc Biol* 1995;57:242-249.
12. Berens KL, Verani RR, Luke DR: Role of neutrophils and macrophages in experimental nephrosis of the rat. *Renal Fail* 1998;20:53-63.
13. Chen Y-M, Chien C-T, Hu-Tsai M-I, Wu K-D, Tsai C-C, Wu M-S, Tsai T-J: Pentoxifylline attenuates experimental mesangial proliferative glomerulonephritis. *Kidney Int* 1999;56: 932-943.