

· 短篇论著 ·

抗 α_1 和 M_2 受体自身抗体和神经内分泌激素与高血压合并肾损害的关系

Relationship between autoantibodies against α_1 and M_2 receptor, neuroendocrine hormone and hypertensive renal damage

赵林双^{1*}, 廖玉华², 王敏², 向光大¹, 侯洁¹, 乐岭¹

(1. 广州军区武汉总医院内分泌科, 武汉 430070; 2. 华中科技大学同济医学院协和医院、心血管病研究所, 武汉 430070)

[摘要] 目的:探讨抗 α_1 受体和 M_2 受体自身抗体与高血压病合并肾损害关系。方法:以合成的 α_1 和 M_2 受体多肽片段为抗原,应用 ELISA 技术,检测 61 例高血压并肾损害患者和 60 例高血压无肾损害患者及 40 例正常人血清中抗 α_1 和 M_2 受体自身抗体。同时用放射免疫法测定血浆肾素活性(PRA)、血管紧张素(A)、醛固酮(ALD)浓度,用荧光分析法测定肾上腺素(E)、去甲肾上腺素(NE)水平。结果:高血压病并肾损害组抗 α_1 和 M_2 受体抗体阳性率分别为 62.2% 和 49.2% 明显高于高血压无肾损害组的 11.3% 和 11.7% 及正常对照组的 15% 和 10% ($P < 0.01$, $P < 0.001$),高血压病并肾损害组血浆中神经内分泌激素水平(PRA、ALD、CA、E、NE)明显高于高血压组及正常对照 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论:血清抗 α_1 和 M_2 受体自身抗体可能与高血压合并肾损害发病有关,同时伴有神经内分泌激活。

[关键词] 高血压合并肾损害;受体;自身抗体;神经内分泌激素

[中图分类号] R 544.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2006)10-1150-03

近来研究发现,在难治性高血压患者血清中,检出抗 α_1 和 M_2 受体自身抗体者合并肾损害频率明显增高^[1]。本研究拟检测高血压病合并肾损害患者 α_1 肾上腺素受体 (α_1 受体)和 M_2 胆碱能受体 (M_2 受体)自身抗体及神经内分泌因子,探讨高血压合并肾损害与免疫反应之间的关系。

1 对象和方法

1.1 研究对象 2002 年 1 月至 2003 年 11 月本院住院及门诊高血压患者 121 例。其中高血压合并肾损害患者 61 例(男 38 例,女 23 例);高血压患者 60 例(男 31 例,女 29 例)。对照组 40 例(男 22 例,女 18 例),来自本院体检中心健康体检者,胸部正侧位片、心电图、生化检查;肝肾功能、血清电解质、心肌酶及血常规、尿常规等检查均未见异常。以上 3 组均排除内分泌及自身免疫性疾病,采集血标本前避免服用免疫抑制剂和 α_1 受体阻滞剂。采集受检者清晨空腹静脉血 5 ml,离心取血清后 -40℃ 贮存备用。高血压诊断均参照中国高血压防治指南^[2]。高血压合并肾损害诊断标准^[3]:(1)为原发性高血压;(2)出现蛋白尿前已有 5 年以上的持续性高血压(程度一般大于 150/100 mmHg,1 mmHg = 0.133 kPa);(3)有持续性蛋白尿(一般为轻至中度),镜检有形成成分少;(4)有视网膜动脉硬化或动脉硬化性视网膜改变;(5)除外各种原发性肾脏疾病;(6)除外其他继发性肾脏疾病。

1.2 方法

1.2.1 多肽合成 采用多肽自动合成仪(SHIMADZU PSSM-8)用固相多肽合成法合成 α_1 和 M_2 受体自身抗体多肽片段序列参考文献^[4,5](α_1 和 M_2 受体):分别合成了相当于 α_1 与 M_2 受体细胞外第 2 环氨基酸序列的肽段 α_1 肽段为 197~222 位的氨基酸序列: H-W-W-R-A-E-S-D-E-A-R-R-C-Y-N-D-P-K-C-F-V-T-N-R-C; M_2 肽段为 169~193 位的氨基酸序列: V-R-T-V-E-D-G-E-C-Y-F-Q-F-F-S-N-A-A-V-F-G-T-A-F-C)。高压液相色谱分析合成肽的纯度在 95% 以上。

1.2.2 ELISA 法检测抗 α_1 和 M_2 受体自身抗体 按照本实验室建立的方法^[4],检测检测抗 α_1 和 M_2 受体自身抗体。实验中设置空白对照和阳性、阴性对照,测 D 值时以空白对照调零,以保证检测结果可靠性。以健康人群为参考血清,取 D 值超出对照健康人群两倍标准差的患者血清标本为阳性对照血清。研究血清与阴性血清的光密度之比($[$ 标本 D 值 - 空白对照 D 值] $/ [$ 阴性对照 D 值 - 空白对照 D 值])超过 2.1 倍者判为抗体检测阳性。

1.2.3 血浆肾素活性(PRA)、血管紧张素(A)、醛固酮(ALD)浓度、肾上腺素(E)和去甲肾上腺素(NE)的检测 用放射免疫法测定 PRA、A、ALD 浓度,用荧光分析法测定 E、NE 水平。用北京北方生化研究所肾素、血管紧张素、ALD 放免检测试剂盒。

1.2.4 UAER 的测定方法 UAER 测定于取血前 1 d 清晨 7:00,开始收集 24 h 尿,加甲苯酸防腐混匀后记录总量,检测,用 ELISA 测定技术,上海波佳生物技术有限公司提供药盒。

1.3 统计学处理 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 χ^2 检验,多组均数间的比较用单因素方差分析,方差不齐组间的比较用非参数检验。所有数据用 SPSS 10.0 软件进行统计处理。

2 结果

2.1 3 组患者临床资料 高血压病合并肾损害组与高血压病组血压水平没有显著差别,高血压合并肾损害组肾功能参数明显高于高血压组。肾功能损害主要与高血压病有关。见表 1。

[作者简介] 赵林双,博士,副主任医师。

* Corresponding author. E-mail: zls7111@yahoo.com.cn

表 1 三组患者临床资料

组别	n	性别 (男/女)	年龄 (岁)	病程 (年)	SBP ($\mu\text{B}/\text{mmHg}$)	DBP ($\mu\text{B}/\text{mmHg}$)	Bun ($\mu\text{B}/\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Scr ($\mu\text{B}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	UAER ($\text{mg}/24\text{h}$)
对照组	40	21/19	61.8 \pm 9.4	-	112.0 \pm 7.1	71.0 \pm 8.1 *	5.2 \pm 1.0	44.9 \pm 18.2	10.1 \pm 1.6
高血压合并肾损害组	61	38/23	62.1 \pm 11.6	11.5 \pm 6.1	168.0 \pm 13.8 *	97.0 \pm 6.6	15.6 \pm 4.9	235.6 \pm 165.1	501.6 \pm 32.2
高血压组	60	39/21	59.6 \pm 10.9	9.9 \pm 5.8 *	159.0 \pm 11.1 *	96.0 \pm 9.8	5.5 \pm 1.2	69.4 \pm 23.1	11.2 \pm 3.6

1 mmHg = 0.133 kPa; * $P < 0.05$ 与对照组比较; $P < 0.05$ 与高血压合并肾损害组

2.2 3 组抗 α_1 和 M_2 受体自身抗体的检出频率 表 2 显示, 高血压病合并肾损害组患者血清抗 α_1 和 M_2 受体自身抗体阳性率明显高于高血压无肾损害组及对照组, 比较有极显著性差异 ($P < 0.01$), 说明抗 α_1 和 M_2 受体自身抗体的产生可能与高血压病合并肾损害有关。

2.3 3 组神经内分泌激素 高血压病合并肾损害组患者神经内分泌激素明显高于高血压无肾损害组及对照组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 高血压合并肾损害常伴有神经内分泌激素激活(表 3)。

表 2 3 组受体自身抗体阳性率检测结果比较

组别	N	α_1 受体	M_2 受体
对照组	40	6(15.0)	4(10.0)
高血压合并肾损害组	61	38(62.2)	30(49.2)
高血压组	60	8(13.3) **	7(11.7) *

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 与对照组比较

表 3 3 组神经内分泌激素检测结果

组别	n	肾素 ($\mu\text{B}/\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	血管紧张素 ($\mu\text{B}/\text{pmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	醛固酮 ($\mu\text{B}/\text{pmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	去甲肾上腺素 ($\mu\text{B}/\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	肾上腺素 ($\mu\text{B}/\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)
对照组	40	0.31 \pm 0.22	43.91 \pm 9.31	0.31 \pm 0.02	1.46 \pm 0.51	1.76 \pm 1.23
高血压合并肾损害组	61	0.91 \pm 0.61	81.11 \pm 16.22	0.49 \pm 0.31	1.91 \pm 0.76	2.67 \pm 1.08
高血压组	60	0.39 \pm 0.31 **	47.92 \pm 12.61 **	0.33 \pm 0.11 *	1.49 \pm 0.61 *	1.79 \pm 1.31 *

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 与对照组比较

3 讨论

本研究结果显示, 在高血压合并肾损害患者中测出较高滴度的 α_1 和 M_2 受体自身抗体, 明显高于高血压无肾损害组及正常对照组。在高血压合并肾损害患者 α_1 和 M_2 受体自身抗体明显升高。我们推断抗 α_1 和 M_2 受体自身抗体可能参与了高血压合并肾损害患者的发病, 自身免疫机制参与可能是引起高血压合并肾损害的重要因素之一。G 蛋白偶联受体在受到刺激后, 通过内化、降解、融合、转移、递呈给相应的免疫细胞, 反复的受体刺激是促进其内化、降解进而诱发自身免疫的重要机制。机体组织损伤导致隐蔽抗原的暴露是自身抗体产生的另一途径^[6]。

本研究还观测到在高血压合并肾损害患者血浆中神经内分泌激素 PRA、Ang、ALD、E、NE 水平明显高于高血压组及对照组, 表明高血压合并肾损害常常伴有神经内分泌激素激活, 进一步激活局部肾素血管紧张素系统(RAS), 引起的 Ang 水平增加必然会引起或加重高血压肾损害进展。这里特别提出的是 Ang 优先收缩肾小球出球小动脉致肾小球跨膜增加, 加上其对系膜细胞收缩作用可降低肾小球滤过屏障, 降低肾小球滤过膜的滤过系数(Kf), 增加滤过屏障的筛选系数(SC), 相应地使滤过屏障较大孔径开放, 滤过膜大小选择性异常。此外, Ang 可增加肾小球滤过屏障负电荷硫酸肝素糖蛋白转运率, 降低滤过屏障负电荷, 使滤过屏障电荷选择性异常, 下调内皮细胞功能, 增加其通透性, 所有这一切结果是增加蛋白尿。另外, 由于持续的高血压不仅对

全身血管造成损害, 且直接对肾小球内膜及该处毛细血管造成内膜及血管壁损害, 最终导致肾小球破坏。由于血管抗原暴露, 在部分易感人群诱导机体自身免疫应答, 产生抗血管受体抗体。

有研究发现约 1/3 的扩张型心肌病患者中存在针对 G 蛋白偶联受体胞外第 2 个环肽的抗 α_1 和 M_2 受体自身抗体, 并且发现抗 M_2 受体自身抗体可通过 M_2 受体对新生鼠心肌细胞产生持久的剂量依赖性负性频率作用, 表现为不随时间而失敏感的毒蕈碱受体激动活性^[5,7]。抗 α_1 受体自身抗体也具有 α_1 受体激动活性, 并可导致心肌细胞钙超负荷而引起心肌损害。抗 α_1 和 M_2 受体自身抗体的存在及其病理样激动活性可能是扩张型心肌病发病的重要机制^[8]。本研究在高血压合并肾损害患者测出了高度抗 α_1 和 M_2 受体自身抗体, 推测这一抗体可能与该受体特异性结合, 产生受体激动样活性, 导致肾组织细胞钙超负荷, 而引起肾组织损伤, 自身抗体通过相应受体所引起病理效应可能是高血压合并肾损害发生发展的重要因素, 该受体自身抗体的存在及其病理性激动活性可能是高血压合并肾损害发病的重要机制, 由此推测抗高血压合并肾损害可能与 α_1 和 M_2 受体自身抗体参与有关。

[参考文献]

[1] Liao YH, Wei YM, Wang M, et al. Autoantibodies against $A\text{T}_1$ -receptor and α_1 -adrenergicreceptor in patients with hypertension[J]. Hypertens Res, 2002, 25:641-644.
 [2] 中国高血压防治指南起草委员会. 中国高血压联盟高血压指南(试行本)[J]. 高血压杂志, 2000, 8(1-2):94-112.

[3] 许贤文,潘缙圣. 高血压肾损害//王海燕. 肾脏病学[M]. 北京:人民卫生出版,1998:1144-1151.

[4] 苑海涛,廖玉华,王敏,等. 系列抗心肌多肽抗体对扩张型心肌病的诊断价值[J]. 临床心血管病杂志,2000,16:313.

[5] 赵林双,廖玉华,王敏,等. 糖尿病心肌病与抗心肌 α_1 和 M_2 受体自身抗体的关系[J]. 中华糖尿病杂志,2005,13:111-113.

[6] Fu ML, Herlitz H, Schulze W, et al. Autoantibodies against the angiotensin receptor (AT1) in patients with hypertension [J]. J Hypertens, 2000, 18:945-953.

[7] Wallukat G, Muller J, Hetzer R. Specific removal of α_1 -adrenergic autoantibodies from patients with idiopathic dilated cardiomyopathy[J]. J N Engl J Med, 2002, 347:1806-1807.

[8] Iwata M, Yoshikawa T, Baba A, et al. Autoimmunity against the second extracellular loop of α_1 -adrenergic receptors induces α_1 -adrenergic receptor desensitization and myocardial hypertrophy *in vivo*[J]. Circ Res, 2001,88:578-586.

[收稿日期] 2006-01-09 [修回日期] 2006-04-21
[本文编辑] 曹静

·短篇论著·

来氟米特联合激素治疗乙型肝炎病毒相关性肾炎的临床观察

Leflunomide combined with steroid hormone in treatment of hepatitis B virus associated glomerulonephritis

张志勇,周春华,李明旭,余永武,杨君,雷霞
(海军总医院肾内科,北京 100037)

[摘要] 目的:观察来氟米特联合激素治疗乙型肝炎病毒相关性肾炎的临床疗效及安全性。方法:选择我科自2002年10月至2005年12月间的住院患者18例,经我科肾活检病理诊断为乙型肝炎病毒相关性肾炎(早期膜性肾病或膜增殖性肾病),全部病例均口服来氟米特40 mg/d,共3 d,继以20 mg/d维持,同时口服泼尼松龙30~40 mg/d。观察时间12~18个月。结果:18例患者接受来氟米特治疗9~12个月,有3例完全缓解、7例部分缓解、8例无效;18个月时8例患者中又有2例完全缓解、6例部分缓解,最终共有5例完全缓解、13例部分缓解、0例无效。平均显效时间为用药后第8~16周,总有效率为100%。无患者出现ALT、AST升高;1例于用药4周出现轻度腹泻,而后自行缓解。合并有急性肾功能不全的患者肾功能恢复;合并有牛皮癣的1例患者皮肤症状也达到临床缓解。结论:来氟米特联合激素治疗乙型肝炎病毒相关性肾炎在9~18个月内安全有效。

[关键词] 来氟米特;乙型肝炎病毒相关性肾炎

[中图分类号] R 512.62 [文献标识码] B [文章编号] 0258-879X(2006)10-1152-02

乙型肝炎病毒相关性肾小球肾炎(HBV associated glomerulonephritis, HBV-GN)是乙型肝炎病毒感染引起的肾小球肾炎。1989年10月中华内科杂志编委会在北京召开乙型肝炎病毒相关性肾炎座谈会,将本病统一命名为乙型肝炎病毒相关性肾炎。本病的主要临床特征是起病隐匿、血尿及蛋白尿,相当一部分病例可表现为肾病综合征,少数可伴肾功能损害甚至肾功能衰竭。现将我科采用来氟米特联合激素治疗18例乙型肝炎病毒相关性肾炎的经验总结如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料 18例乙型肝炎相关性肾炎患者均来自自我科2002年10月~2005年12月收治住院患者。其中男12例,女6例,年龄14~71岁,平均54.2±12.6岁,病程0.5~49个月,平均11个月。18例患者全部经过肾穿刺活检,病理诊断为膜性肾病或系膜增殖性肾炎,血清HBsAg阳性,其中有13例符合肾病综合征的诊断条件,有2例新发患者并发有轻度的急性肾功能不全,有1例患者合并患有牛皮癣,另有7例已确诊多年(2~4年),曾用过多种免疫抑制剂(包括环磷酰胺、霉酚酸酯)治疗后复发的患者予以再次重新治疗。

1.2 治疗方法 全部病例均口服来氟米特40 mg/d,共3 d,继以20 mg/d维持,同时口服泼尼松龙30~40 mg/d。来氟

米特治疗6~8周后激素开始逐渐减量直至完全停止服用泼尼松龙。观察时间9~12个月,观察期间停用其他免疫抑制剂及细胞毒药物。观察治疗前后患者的24 h尿蛋白定量(urine protein, UP)、血清白蛋白(ALB)、血肌酐(Scr)、血尿素氮(BUN)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、 γ -转氨酶(γ -GT)等指标,以及用药期间所有不良反应。患者在治疗前后分别进行HBV-DNA定量、前S蛋白检测。

1.3 疗效判定 完全缓解(CR):指临床症状消失,UP<0.4 g/d,ALB>30 g/L,Scr正常;部分缓解(PR):指临床症状消失,UP 0.4~2 g/d且尿蛋白下降超过原有基础值的50%,ALB较前有所升高但仍<30 g/L,Scr正常;无效(NR)指临床症状无改善,仍为肾病综合征或24 h尿蛋白定量下降未达到治疗前的一半;血清白蛋白<30 g/L;或Scr、ALT、AST之一项或几项升高,或因其他不良反应需放弃治疗。

2 结果

18例患者接受来氟米特治疗9~18个月,无1例退出治疗。治疗9~12个月,有3例完全缓解、7例部分缓解、8例无效;18个月时8例患者中又有2例完全缓解、6例部分缓

[作者简介] 张志勇,硕士生,主治医师。
E-mail: zhangzhiyong2005@tom.com

