

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00117

遍在蛋白质-结核 MPT64 融合基因 DNA 疫苗的构建及免疫效应

王庆敏^{1,2}, 孙树汉^{1*}, 康林³

1. 第二军医大学基础部医学遗传学教研室, 上海 200433
2. 海军医学研究所舰艇卫生研究室, 上海 200433
3. 河北医科大学解剖学教研室, 石家庄 050017

[摘要] **目的:**用遍在蛋白质调节结核杆菌单一抗原 DNA 疫苗,以期获得更强的免疫保护。**方法:**构建结核杆菌 MPT64 抗原 DNA 疫苗(pM)和遍在蛋白质基因与 MPT64 抗原基因融合的 DNA 疫苗(pUM)。分别将构建的两种 DNA 疫苗肌肉注射免疫 BALB/c 雌性小鼠,检测小鼠的血清抗体(IgG、IgG₁、IgG_{2a})、细胞因子(IFN- γ 、IL-4)和细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)反应,比较融合基因 DNA 疫苗和单基因 DNA 疫苗诱导的免疫应答强度。**结果:**pM 组小鼠血清 IgG 水平高于 pUM 组($P < 0.01$),但 IgG_{2a}/IgG₁ 比值低于 pUM 组($P < 0.05$)。与 pM 组相比,pUM 组小鼠 IFN- γ 分泌水平增高($P < 0.01$),IL-4 分泌水平下降($P < 0.01$);pUM 组的 CTL 活性高于 pM 组。提示融合基因 DNA 疫苗诱导的抗原特异性体液免疫应答不及单基因 DNA 疫苗,但其能诱导更强的细胞免疫应答。**结论:**遍在蛋白质-MPT64 融合基因 DNA 疫苗对于防治结核病可能比单基因 DNA 疫苗更为有效。

[关键词] 结核分枝杆菌;MPT64 抗原;DNA 疫苗;遍在蛋白质;免疫应答

[中图分类号] R 378.911 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)02-0117-05

Construction of ubiquitin-*Mycobacterium tuberculosis* MPT64 fusion gene DNA vaccine and its cellular immunological efficacy in mice

WANG Qing-min^{1,2}, SUN Shu-han^{1*}, KANG Lin³

1. Department of Medical Genetics, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
2. Warship Health Division, Institute of Naval Medicine Research, Shanghai 200433
3. Department of Anatomy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017

[ABSTRACT] **Objective:** To modify the mono-antigen DNA vaccine of *Mycobacterium tuberculosis* with ubiquitin, so as to obtain more potent immune response. **Methods:** We constructed *Mycobacterium tuberculosis* MPT64 antigen DNA vaccine (pM) and ubiquitin-MPT64 fusion gene DNA vaccine (pUM). The constructed DNA vaccines were intramuscularly inoculated into female BALB/c mice separately. The serum antibodies (including IgG, IgG₁, and IgG_{2a}), cytokines (IFN- γ , IL-4) and cytotoxic T lymphocyte (CTL) response were determined in immunized mice. **Results:** The IgG level in the pM group was higher than that in the pUM group ($P < 0.01$) and the ratio of IgG_{2a}/IgG₁ in the pM group was lower than that in the pUM group ($[2.16 \pm 0.3]$ vs $[4.48 \pm 0.4]$, $P < 0.05$). The IFN- γ level was higher ($P < 0.01$) and the IL-4 level was lower ($P < 0.01$) in the pUM group than those in the pM group. Furthermore, the pUM group had higher CTL activity than the pM group. It was indicated that the fusion gene DNA vaccine induced weaker humoral immune response but stronger cellular immune response compared to single gene DNA vaccine. **Conclusion:** The fusion gene DNA vaccine constructed in the present study might be more effective for prevention against tuberculosis than the single gene DNA vaccine.

[KEY WORDS] *Mycobacterium tuberculosis*; MPT64 antigen; DNA vaccine; ubiquitin; immune response

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(2): 117-121]

结核病是结核分枝杆菌引起的一种传染病。近年来随着人口流动增加、人类免疫缺陷病毒(HIV)与结核杆菌伴发感染以及结核杆菌多重耐药性菌株

的出现,全球结核病的发病率有上升趋势。目前,传统的结核病预防措施仍是注射卡介苗(BCG),但卡介苗免疫效果不稳定,不同地区的人群接种 BCG 后

[收稿日期] 2007-10-19 **[接受日期]** 2007-11-13

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目(30530660). Supported by National Natural Science Foundation of China(30530660).

[作者简介] 王庆敏,博士,助理研究员。

* 通讯作者(Corresponding author). Tel:021-25070331, E-mail:shsun888@yahoo.com

免疫保护效果差异很大^[1](从0~80%不等),因此发展新型疫苗势在必行。

核酸疫苗是20世纪90年代兴起的新一代疫苗,由于它具备多种优点而在多种感染性疾病和肿瘤的防治中显示出巨大的优势。但就目前的研究报道表明,单一结核抗原DNA疫苗虽然能使实验动物获得一定的保护,但效果并不是非常理想^[2-3]。因此有必要选用一些策略来调节结核DNA疫苗诱导的免疫应答,根据保护性免疫的特点选用一些小分子与抗原融合是常用的策略之一。遍在蛋白质系统是细胞内重要的蛋白质降解途径之一,将遍在蛋白质与蛋白连接可增强蛋白在蛋白酶体中的降解、呈递^[4],最终可以调节抗原诱导的免疫应答。我们根据结核保护性免疫主要依赖于细胞免疫的特点,将遍在蛋白质分子与结核抗原基因融合,从而调节单一抗原基因DNA疫苗诱导的免疫应答,前期研究已经取得一定成效^[5-6]。本研究选用结核杆菌MPT64抗原基因,构建遍在蛋白质基因与MPT64抗原基因融合的DNA疫苗,观察此疫苗在小鼠中的免疫应答,为进一步筛选和构建新型抗结核疫苗提供依据。

1 材料和方法

1.1 菌株、细胞株、质粒和实验动物 结核分枝杆菌从河北省胸科医院结核病患者标本中分离获取;P815细胞株购于中国科学院上海细胞研究所;DH5 α 菌、pcDNA3质粒为Invitrogen公司产品。6~8周龄BALB/c小鼠购于第二军医大学实验动物中心。

1.2 血清和试剂 结核病患者血清由河北省胸科医院提供。限制性内切酶、连接酶均为TaKaRa公司产品;IFN- γ 和IL-4检测试剂盒为晶美公司产品,脂质体(DOSPER Liposomal Transfection Reagent,货号18811169)、小鼠细胞毒性T淋巴细胞(CTL)检测试剂盒为Roche公司产品;HRP-山羊抗小鼠IgG、IgG₁、IgG_{2a}均购自SBA公司,小鼠重组IL-2为Biosource公司产品;HRP-山羊抗人IgG及其他免疫试剂均购于上海华美生物工程有限公司。

1.3 MPT64抗原重组表达质粒的构建

1.3.1 MPT64 DNA疫苗的构建 根据H37Rv基因组的核苷酸序列设计引物,上游5'-gcgc aagctt gac gccacc atg cgc atc aag atc ttc atg c-3'(下划线部分为HindIII酶切位点,框内部分为Kozak序列);下游5'-gc tctaga cta ggc cag cat cga gtc gat cg-3'(下划线部分为XbaI酶切位点)。以结核杆菌基因组^[5]为模板,扩增MPT64基因,然后将PCR产物插入到pcDNA3载体的HindIII和XbaI酶切位点之

间得到重组质粒pM。产物送上海基康公司测序。

1.3.2 遍在蛋白质-MPT64融合基因DNA疫苗的构建 设计并合成遍在蛋白质(UbR)基因的引物,上游引物5'-gcgc aagctt gcc acc atg cag atc ttc gtg aag acc ctg acc g-3'(下划线部分为HindIII酶切位点),下游引物5'-gc ggatcc gcc gcc acc acg gcc acc tct cag gcg aag gac cag-3'(下划线部分为BamHI酶切位点);合成MPT64基因引物,上游引物5'-cg ggatcc ggt ggc ggt ggt tct ggt ggc ggt ggt tct cgc atc aag atc ttc atg ctg gtc-3'(下划线部分为BamHI酶切位点),下游引物5'-gc tctaga cta ggc cag cat cga gtc gat cg-3'(下划线部分为XbaI酶切位点),融合基因之间加入了柔性接头序列(GGGGS)₃,上游引物去除了起始密码子。从小鼠睾丸组织总RNA中扩增遍在蛋白质分子基因,pM质粒中扩增MPT64基因,鉴定正确后,将这两种PCR产物插入到pcDNA3载体的HindIII和XbaI酶切位点之间,得到重组质粒pUM。产物送上海基康公司测序。

1.4 稳定表达MPT64抗原的P815细胞株的建立 将pM和pcDNA3质粒用脂质体转染P815,转染中所用重组质粒为5 μ g,脂质体为15 μ l,具体转染方法参见Roche公司说明书。分别用ELISA和免疫组化的方法筛选^[7],所用一抗为结核病患者血清,二抗为HRP-山羊抗人IgG。

1.5 DNA免疫接种 碱裂解法大量制备质粒pcDNA3、pM、pUM,TritonX100去除内毒素,溶于PBS中,并调质量浓度为1 μ g/ μ l。将36只雌性6~8周龄的BALB/c小鼠随机分为3组:空载体组、pM组、pUM组。首先分别向每侧股四头肌注射25%的蔗糖50 μ l,15 min后分别注射质粒DNA 50 μ g,共免疫3次,间隔2周。其中一半小鼠用于检测体液免疫,另一半用于检测细胞免疫($n=6$)。

1.6 免疫应答的检测

1.6.1 ELISA检测血清中的抗体水平 在首次注射后0、2、4、6、8、10周经眶后静脉取血,分离血清保存于-20 $^{\circ}$ C,间接ELISA检测IgG、IgG_{2a}、IgG₁,计算IgG_{2a}/IgG₁比值,包被抗原为在大肠杆菌中表达纯化的MPT64蛋白^[8],包被量为每孔1 μ g。小鼠血清从1:50开始倍比稀释,所用二抗滴度为1:8000,以TMB/H₂O₂显色,P/N \geq 2.1确定为阳性。

1.6.2 细胞因子水平检测 末次免疫后4周,将小鼠拉颈处死,无菌取脾脏,用淋巴细胞分离液分离单个脾细胞并调整至5 \times 10⁶/ml,取1 ml加入到24孔细胞培养板中,加入终浓度为5 μ g/ml的MPT64抗原蛋白^[8],在37 $^{\circ}$ C、体积分数5%CO₂、饱和湿度的

培养箱培养 72 h, 离心后收集上清, 以 0.22 μm 的微孔滤膜过滤, -80℃ 中保存待用。用细胞因子检测试剂盒检测收获上清中的 IFN-γ 及 IL-4 的水平, 具体步骤参照厂家试剂盒说明书。

1.6.3 CTL 活性的检测 将已转染 MPT64 基因的 P815 细胞用 50 μg/ml 丝裂霉素 C 预处理 1 h, 洗涤 3 次。吸取分离的脾淋巴细胞悬液 1×10⁷/ml 1 ml 于 6 孔板中, 加入上述 P815 细胞, 以 20 : 1 的比例混合; 再加入 20 U/ml 小鼠重组 IL-2, 10 μg/ml ConA, 总体积为 5 ml。共孵育 2.5 d 后, 换液, 用 20 U/ml 的小鼠重组 IL-2 再刺激 2.5 d。将刺激后的脾细胞和靶细胞分别用检测培养基 (Assay Medium, AM, 含 1% 小牛血清的培养基) 洗涤 3 次, 均以 AM 重悬, 然后将效应细胞和靶细胞按不同比例加入到 96 孔培养板中, 效靶细胞各 100 μl, 均设 3 复孔, 同时设靶细胞最大释放量 (100 μl 靶细胞 + 100 μl AM, 2% TritonX-100)、自

发释放量 (100 μl 靶细胞 + 100 μl AM)、自然背底 (200 μl AM)、效应细胞释放量。250×g 离心 5 min, 于 37℃、体积分数 5% CO₂、饱和湿度的培养箱培养 4 h, 250×g 离心 5 min, 吸取 100 μl 上清至另一 96 孔板中, 加入检测 LDH 含量的反应液, 18~25℃ 避光 30 min, 测 492 nm 波长的光密度 (D) 值, 按公式计算 CTL 对靶细胞的杀伤活性: (效应细胞对靶细胞的杀伤活性 - 自发释放量) / (最大释放量 - 自发释放量) × 100%。

1.7 统计学处理 数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SAS 统计软件对数据进行方差分析和 *t* 检验。

2 结果

2.1 pM 和 pUM 重组质粒的构建 筛选出来的 pM 和 pUM 重组质粒经相应的酶切鉴定表明是正确的 (图 1), DNA 测序证明所有扩增的片段与 GenBank 中登录的序列完全一致。

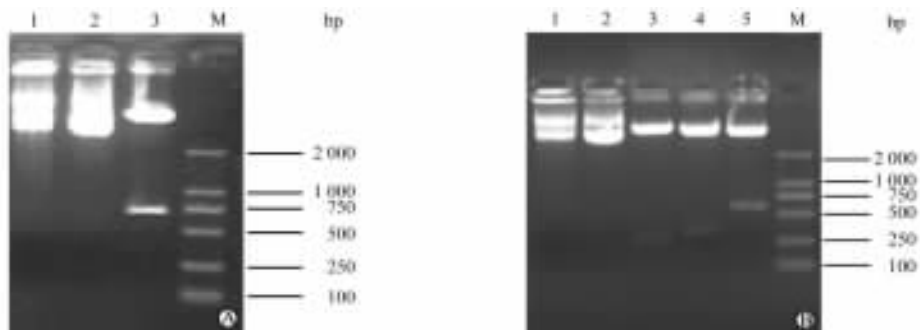


图 1 重组质粒 pM 和 pUM 的酶切鉴定

Fig 1 Recombinant plasmids pM and pUM digested by endonuclease

A: pM (1: pcDNA3 plasmid; 2: pM recombinant plasmid; 3: pM digested by *Hind*III/*Xba*I; M: DL2000 marker); B: pUM (1: pcDNA3 plasmid; 2: pUM recombinant plasmid; 3-5: pUM digested by *Hind*III/*Bam*HI, *Bam*HI/*Xba*I or *Hind*III/*Xba*I; M: DL2000 marker)

2.2 免疫小鼠血清中抗体水平的检测 间接 ELISA 检测结果显示, pM DNA 疫苗诱发了特异的 IgG, pUM 组抗体水平比 pM 组明显降低 ($P < 0.01$, 图 2), 但 pUM 组 IgG_{2a}/IgG₁ 比值 (4.48 ± 0.4) 比 pM 组 (2.16 ± 0.3) 提高 ($P < 0.05$)。表明遍在蛋白质融合的 DNA 疫苗可诱导更强的 Th₁ 型免疫应答。

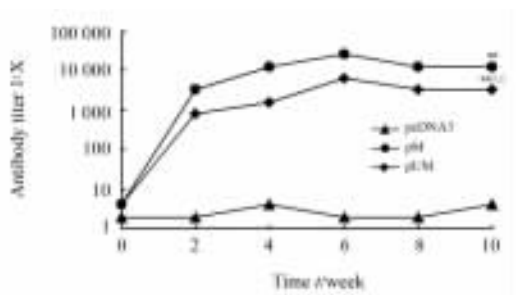


图 2 免疫小鼠血清中的 IgG 抗体滴度

Fig 2 IgG titer in mouse sera after DNA vaccine immunization

** $P < 0.01$ vs pcDNA3 group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs pM group; $n = 6$

2.3 免疫小鼠脾细胞分泌的细胞因子的检测 免疫小鼠的脾细胞经特异抗原刺激 72 h 后, pUM 组与 pM 相比, 明显增高了 IFN-γ 的分泌水平, 降低了 IL-4 的分泌水平 ($P < 0.01$, 图 3)。

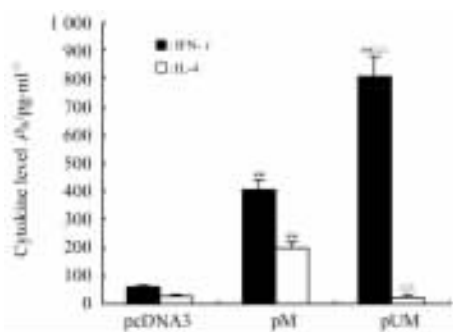


图 3 免疫小鼠脾细胞分泌的细胞因子水平

Fig 3 Cytokines released by splenocytes of immunized mice

** $P < 0.01$ vs pcDNA3 group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs pM group; $n = 6, \bar{x} \pm s$

2.4 遍在蛋白质分子对抗原特异的 CTL 活性的调节 来源于 MPT64 DNA 疫苗组的脾细胞可以对相应的靶细胞产生杀伤活性,与 pcDNA3 空载体组相比有显著差异($P < 0.01$);与 pM 组相比,pUM 组脾细胞对抗原特异靶细胞的杀伤活性增强($P < 0.05$,图 4),自然释放率小于 10%。

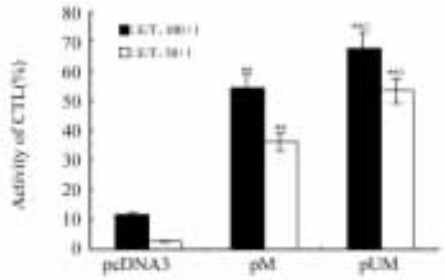


图 4 免疫小鼠脾细胞的 CTL 活性检测

Fig 4 Cytotoxicity of splenocytes in mice immunized with DNA vaccines

** $P < 0.01$ vs pcDNA3 group; $\Delta P < 0.05$ vs pM group; $n = 6, \bar{x} \pm s$

3 讨论

结核病的保护性免疫依赖于多种因素,细胞免疫是其主要的免疫途径。除巨噬细胞外,T 细胞在防治结核杆菌的感染中也起着重要作用,包括 $CD4^+$ T 和 $CD8^+$ T 细胞及相关细胞因子。 Th_1 型细胞因子有利于控制结核病,而 Th_2 型细胞因子则促进结核病的发展。 Th_1 型免疫应答诱导产生的 $IFN-\gamma$ 是控制结核杆菌在体内生长繁殖的重要因素^[9-10]。

本研究将遍在蛋白质分子与结核抗原基因融合,通过改变目的抗原在体内的加工过程来调节抗原特异的免疫应答。遍在蛋白质通过调整抗原的降解率调节免疫应答,目前有两种策略^[11]来实现这一过程。一种是产生稳定的遍在蛋白质-抗原蛋白(即 UbAAg,把遍在蛋白质分子的最后一个氨基酸用 A 来替代原来的 G),这种稳定的体系很容易被多聚遍在蛋白质化,从而增强蛋白的降解率;另一种是将遍在蛋白质分子的 C 末端增加一个精氨酸(R),然后与抗原连接,即 UbGRAg,这种形式的连接适合 N 末端原则,可以被遍在蛋白质系统的某些分子识别从而增强抗原的周转率。本研究选用的是第二种策略。

本研究观察了所构建的疫苗在 BALB/c 小鼠体内诱导免疫应答的变化情况,结果发现,与 MPT64 单独免疫组相比,遍在蛋白质-抗原融合的 DNA 疫苗组降低了抗原特异的抗体水平,增强了 Th_1 型免疫应答及 CTL 的活性,这种免疫应答的改变对于结核病的防治是非常有利的。Rodriguez 等^[12]将 UbA 与淋巴细胞脉络丛病毒的 NP 蛋白融合,发现其能

增强抗原特异的 CTL 免疫应答和抗病毒感染的能力,但抗体水平却完全消失。本研究中遍在蛋白质融合组的抗体水平没有完全消失,这可能与选用的策略及遍在蛋白质的蛋白依赖性有关。本研究虽然没有直接在体外检测加入遍在蛋白质分子后的抗原周转率的变化,但通过小鼠体内免疫实验,发现遍在蛋白质融合 MPT64 DNA 疫苗后,小鼠体内 IgG_{2a}/IgG_1 比值及脾细胞分泌的 $IFN-\gamma$ 的水平增高,同时增强了 CTL 细胞毒性。这间接提示 UbR-抗原嵌合体进入小鼠体细胞表达后,蛋白水解酶将遍在蛋白质分子(UbG)的部分降解,留下了 R-抗原部分,该部分因为 N 端带有一个很不稳定的氨基酸,符合 N 末端原则^[11],提高目的抗原在蛋白酶体中的降解率,从而使与 B 细胞发生反应的完整蛋白的数量减少,最终导致内源性抗原呈递的增强及细胞免疫应答的提高,使抗原特异的体液免疫应答减弱。

[参考文献]

- [1] Andersen P, Doherty T M. The success and failure of BCG—implications for a novel tuberculosis vaccine[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2005, 3: 656-662.
- [2] Sereinig S, Stukova M, Zabolotnyh N, Ferko B, Kittel C, Romanova J, et al. Influenza virus NS vectors expressing the mycobacterium tuberculosis ESAT-6 protein induce $CD4^+$ Th_1 immune response and protect animals against tuberculosis challenge[J]. *Clin Vaccine Immunol*, 2006, 13: 898-904.
- [3] Sugawara I, Udagawa T, Taniyama T. Protective efficacy of recombinant (Ag85A) BCG Tokyo with Ag85A peptide boosting against *Mycobacterium tuberculosis*-infected guinea pigs in comparison with that of DNA vaccine encoding Ag85A[J]. *Tuberculosis (Edinb)*, 2007, 87: 94-101.
- [4] Baldwin S L, D'Souza C, Roberts A D, Kelly B P, Frank A A, Lui M A, et al. Evaluation of new vaccines in the mouse and guinea pig model of tuberculosis[J]. *Infect Immun*, 1998, 66: 2951-2959.
- [5] 王庆敏, 胡振林, 孙树汉. 结核杆菌保护性抗原-遍在蛋白质系统的建立[J]. 第二军医大学学报, 2003, 24: 61-63.
- [6] 王庆敏, 殷明, 章建程, 胡家庆, 何颖, 孙树汉. 泛素-结核抗原融合基因 DNA 疫苗诱导小鼠较强的免疫应答[J]. 第二军医大学学报, 2007, 28: 261-265.
- [7] 康林, 王庆敏, 胡振林, 周凤娟, 王磊, 孙树汉. 稳定表达结核分枝杆菌 38 抗原的 EL-4 细胞株的建立及鉴定[J]. 第二军医大学学报, 2003, 24: 1253-1255.
- [8] 王庆敏, 胡振林, 周凤娟, 殷明, 章建程, 孙树汉. 结核杆菌抗原 MPT64 基因在大肠杆菌中的表达及纯化[J]. 第二军医大学学报, 2004, 25: 1146-1147.
- [9] Cardona P J, Cooper A, Luquin M, Ariza A, Filipo F, Orme I M, et al. The intravenous model of murine tuberculosis is less pathogenic than the aerogenic model owing to a more rapid induction of systemic immunity[J]. *Scand J Immunol*, 1999, 49: 362-366.
- [10] Yi Z, Fu Y, Yang C, Li J, Luo X, Chen Q, et al. Recombinant *M. smegmatis* vaccine targeted delivering IL-12/GLS into macrophages can induce specific cellular immunity against *M. tuberculosis* in BALB/c mice[J]. *Vaccine*, 2007, 25: 638-680.
- [11] Varshavsky A. The N-end rule: Function, mysteries, uses[J].

Pro Natl Acad Sci USA,1996,93:12142-12149.

tion[J]. J Virol,1997,71:8497-8503.

[12] Rodriguez F,Zhang J,Whitton J L. DNA immunization;ubiquitination of a viral protein enhances cytotoxic T-lymphocyte induction and antiviral protection but abrogates antibody induc-

[本文编辑] 孙 岩

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00121

• 病例报告 •

纤维肌性发育不良性肾动脉狭窄致高血压误诊 1 例报告

Fibromuscular dysplasia of renal artery presenting with stroke suggestive of coronary artery disease:a case report

朱 超,章建梁*

第二军医大学长海医院心血管内科,上海 200433

[关键词] 纤维肌性发育不良;肾动脉狭窄;高血压;误诊

[中图分类号] R 544.1 [文献标志码] B [文章编号] 0258-879X(2008)02-0121-01

1 临床资料 患者,女,47岁,因“头昏 20 余年,加重 4 个月”于 2007 年 7 月入院。患者 26 岁妊娠时出现头昏,在外院就诊,测血压波动于 140~160/90~100 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa),诊断为“妊娠高血压”,产后血压仍高,外院诊断为“原发性高血压”,长期服降压药,近 5 年服硝苯地平控释片、酒石酸美托洛尔、珍菊降压片控制治疗,血压波动于 130~150/90~100 mmHg。2007 年 3 月无明显诱因出现头昏加重,伴恶心、呕吐、四肢乏力,来我院行急诊头颅 CT 检查,显示左侧侧脑室旁脑梗死,双侧基底节区、半卵圆中心及右侧小脑半球多发性腔隙性脑梗死。患者有时劳累后感胸闷伴心悸,休息后缓解,持续数分钟。7 月 7 日门诊以“高血压原因待查、冠心病”收住入院。查体:血压 180/110 mmHg,心率 80 次/min,律齐;腹部未闻及血管杂音。辅助检查:血、尿常规正常,肝肾功能、血脂正常。心电图:窦性心律,左心室肥大伴劳损。胸片:心脏稍向左扩大,肺、膈未见明显异常。心脏彩超:心脏各房室大小正常,二、三尖瓣少量反流,左室收缩功能正常。肾动脉彩超:右肾动脉狭窄。头颅 CT 血管成像未见异常。入院后给予硝苯地平控释片 30 mg/d;复方利血平片(每片含利血平 0.031 25 mg,双肼屈嗪 3.125 mg、氢氯噻嗪 3.125 mg、氯化钾 30 mg)4 片/d;酒石酸美托洛尔 50 mg/d,福辛普利 10 mg/d 治疗,血压在 170~180/100~110 mmHg。7 月 12 日行冠状动脉+肾动脉造影检查显示:左冠状动脉左主干、回旋支及右冠状动脉未见明显狭窄,左冠状动脉前降支近中段狭窄 10%~30%,第一对角支开口狭窄 90%;右肾动脉开口未见狭窄,近中段呈串珠样改变,最大狭窄 90%(图 1A),左肾动脉未见狭窄。遂对右肾动脉狭窄处行支架置入术,置入 Cordis 6 mm×18 mm 和 7 mm×23 mm 支架各一枚,肾动脉狭窄消失(图 1B)。术后服硝苯地平控释片 30 mg/d,酒石酸美托洛尔 50 mg/d,血压降至 140/90 mmHg 左右。出院诊断:纤维肌性发育不良性肾动脉狭窄,高血压;冠心病,心绞痛。9 月 25 日门

诊复查,头昏缓解,劳累后仍感胸闷伴心悸,休息后缓解;血压 120/70 mmHg。

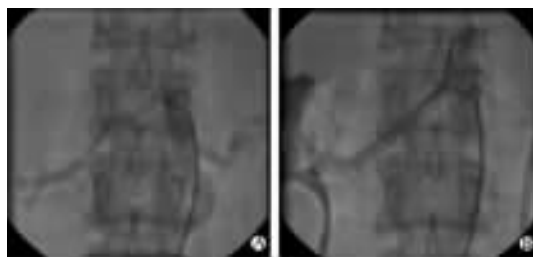


图 1 肾动脉造影检查和治疗结果

A:治疗前右肾动脉狭窄呈串珠样改变;B:肾动脉支架置入术后狭窄消失

2 讨论 纤维肌性发育不良(FMD)是肾血管性高血压病因之一,发生率约占肾血管性高血压的 30%~35%;发病年龄多在 30~50 岁,可见于新生儿,有一定的家族遗传性。本病肾动脉造影特点:单侧或双侧肾动脉主干或分支狭窄和扩张呈串珠样。本例患者肾动脉纤维肌性发育不良的诊断明确。分析本例患者长期误诊的原因,可能是患者符合妊娠高血压产妇产后残留持久性高血压的发病过程,导致临床医师忽视了其血压严重升高,而药物治疗效果差的特点。因此,妊娠高血压患者,如果产后血压严重升高,药物治疗效果差,均要进行继发性高血压的鉴别诊断。冠心病合并动脉粥样硬化性肾动脉狭窄报道较多,但像本例纤维肌性发育不良性肾动脉狭窄合并冠心病少见报道。患者无糖尿病、高血脂、吸烟、冠心病家族史等冠心病危险因素,冠心病可能是长期高血压的结果。本例患者右肾动脉狭窄处置入支架后,狭窄消失,在降压药物减量后,血压恢复正常。提示对纤维肌性发育不良性肾动脉狭窄患者行肾动脉介入治疗是有效的方法。

[本文编辑] 邓晓群

[收稿日期] 2007-11-05

[接受日期] 2008-01-08

[作者简介] 朱 超,2004 级临床医学五年制本科学员。E-mail:m_i_c_k_e_y@163.com

* 通讯作者(Corresponding author)。Tel:021-25074710,E-mail:zhang-jianl@sina.com