

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2796(2006)03-0267-03

抗 AT<sub>1</sub> 和 α<sub>1</sub> 受体自身抗体与高血压病合并肾损害的关系赵林双<sup>1</sup>, 廖玉华<sup>2</sup>, 王敏<sup>2</sup>, 周子华<sup>2</sup>, 向光大<sup>1</sup>, 候洁<sup>1</sup>, 乐岭<sup>1</sup>, 徐琳<sup>1</sup>( <sup>1</sup> 广州军区武汉总医院内分泌科, 湖北 武汉 430070; <sup>2</sup> 华中科技大学同济医学院协和医院心血管病研究所, 湖北 武汉 430022 )Relationship between autoantibodies against AT<sub>1</sub> and α<sub>1</sub> receptors and hypertension with renal failureZHAO Lin-Shuang<sup>1</sup>, LIAO Yu-Hua<sup>2</sup>, WANG Min<sup>2</sup>, ZHOU Zi-Hua<sup>2</sup>, XIANG Guang-Da<sup>1</sup>, HOU Jie<sup>1</sup>, YUE Ling<sup>1</sup>, XU Lin<sup>1</sup><sup>1</sup>Department of Endocrinology, Wuhan General Hospital, Guangzhou Military Area Command, Wuhan 430070, China, <sup>2</sup>Institute of Cardiology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China

**【Abstract】** AIM: To study the role of the autoantibodies against angiotensin II type 1 receptor (AT<sub>1</sub> receptor) and α<sub>1</sub>-adrenergic receptor (α<sub>1</sub> receptor) in the development of hypertension combined with renal failure. **METHODS:** The epitopes of the second extracellular loop of AT<sub>1</sub> receptor (165-191) and α<sub>1</sub> receptor (192-218) were synthesized and used respectively to screen sera autoantibodies from patients with hypertension and renal failure (n=61), patients with hypertension but without renal failure (n=60) and healthy blood donors (n=40, control) by ELISA and to screen the hormones of nerve and endocrine by RIA and by FIA. **RESULTS:** The positive rates of the autoantibodies against AT<sub>1</sub> receptor (59.0%) and α<sub>1</sub> receptor (54.1%) in patients with hypertension and renal failure were higher than those in patients with hypertension but without renal failure (13.3% and 10.0% respectively) (P<0.01) and they were also higher than those of healthy donors (10.0% and 7.5% respectively) (P<0.01). The hormones of nerve and endocrine (PRA, Ang II, ALD, E, NE) in patients with hypertension and renal failure were higher than those of patients with hypertension but without renal failure and they were also higher than those in healthy donors (P<0.05, P<0.01). **CONCLUSION:** Autoantibodies against AT<sub>1</sub> receptor and α<sub>1</sub> receptor may play some important roles in the pathogenesis of the hypertension combined with renal failure and activate accordingly the hormones of nerve and endocrine system in patients with the disease.

**【Keywords】** hypertension/complication; kidney failure; receptors; autoantibodies

收稿日期 2005-05-20; 接受日期 2005-09-27

作者简介: 赵林双, 博士, 副主任医师. Tel (027) 62690869 Email: ZLS7111@yahoo.com.cn

**【摘要】**目的: 探讨抗血管紧张素 II 受体 1 型(AT<sub>1</sub>-受体)和 α<sub>1</sub>-肾上腺素受体(α<sub>1</sub>-受体)自身抗体是否与高血压病合并肾损害有关。方法: 以合成的 AT<sub>1</sub> 和 α<sub>1</sub> 受体多肽片段为抗原, 应用酶联免疫吸附测定(ELISA)技术, 检测 61 例高血压病合并肾损害患者和 60 例高血压病无肾损害患者及 40 例正常人血清中抗 G-蛋白偶联型 AT<sub>1</sub> 受体(165~191)和 α<sub>1</sub> 受体(192~218)自身抗体。用放射免疫法, 测定血浆肾素活性(PRA)、血管紧张素 II(Ang II)和醛固酮(ALD)浓度, 用荧光分析法测定儿茶酚胺: 肾上腺素(E)和去甲肾上腺素(NE)。结果: 高血压病合并肾损害组抗 AT<sub>1</sub> 和 α<sub>1</sub> 受体抗体阳性率分别为 59.0% 和 54.1%, 明显高于高血压组的 13.3% 和 10.0% 及正常对照组 10.0% 和 7.5% (P<0.01)。神经内分泌激素指标(PRA, Ang II, ALD, E, NE), 高血压病合并肾损害组, 明显高于高血压组及正常对照组。结论: 抗 G-蛋白偶联型 AT<sub>1</sub> 和 α<sub>1</sub> 受体自身抗体可能与高血压病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/并发症; 肾功能衰竭; 受体; 自身抗体

**【中图分类号】** R544.1 **【文献标识码】** A

## 0 引言

Fu 等<sup>[1]</sup>发现恶性高血压患者中存在 α<sub>1</sub>-肾上腺素受体(α<sub>1</sub>-受体)自身抗体, 抗体与受体结合, 产生不随时间而脱敏感的受体激动剂样活性; Wallukat 等<sup>[2]</sup>发现在妊娠高血压综合征先兆子痫患者血清中可产生具有受体激动剂样活性的抗血管紧张素 II 受体 1 型(AT<sub>1</sub>-受体)自身抗体, 自身抗体成为独立于儿茶酚胺和 Ang II 的另一种受体激动因子, 在高血压病及其并发症的发病中可能具有重要意义。我们旨在探讨高血压病合并肾损害患者血清中抗 AT<sub>1</sub>-受体和 α<sub>1</sub>-受体自身抗体检出率, 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 对象** 2002-01/2003-11 本院住院及门诊高血压患者 121 例。其中高血压病合并肾损害患者 61(男 38, 女 23)例; 高血压病无靶器官受损患者 60(男 41, 女 19)例。健康对照组 40(男 22, 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。以上三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 $\beta_1$ 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 $-40^{\circ}\text{C}$ 贮存备用。高血压病诊断均参照<中国高血压防治指南><sup>[3]</sup>。高血压病合并肾损害诊断标准<sup>[4]</sup>。①为原发性高血压;②出现蛋白尿前已有 5 a 以上的持续性高血压(150/100 mmHg,1 mmHg=0.133 kPa);③有持续性蛋白尿(一般为轻至中度),镜检有形成份少;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 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 $\text{AT}_1$ 和 $\alpha_1$ -受体多肽,合成具有抗原决定簇的 $\text{AT}_1$ 和 $\alpha_1$ 受体细胞外第二环多肽片段。多肽片段序列参照文献[5],分别为: $\text{AT}_1$ 受体 165~191 位氨基酸残基片段(氨基酸残基序列为 I-H-R-N-V-F-F-I-E-N-T-N-I-T-V-C-A-F-H-Y-E-S-Q-N-S-T-L)。 $\alpha_1$ -受体 192~218 位氨基酸残基片段(氨基酸残基序列为 G-W-K-E-P-V-P-P-D-E-R-F-C-G-I-T-E-E-A-G-Q-A-V-F-S-S-V)。高压液相色谱分析合成肽的纯度在 95% 以上。

1.2.2  $\text{AT}_1$ 和 $\alpha_1$ 受体自身抗体的检测 ELISA 法检测自身抗体按照本实验室建立的方法<sup>[5]</sup>检测 $\text{AT}_1$ 和 $\alpha_1$ 受体自身抗体。实验中设置空白对照和阳性、

阴性对照,测 A 值时以空白对照调零,以保证检测结果的可靠性。以健康人群为参考血清,取 A 值超出对照健康人群两倍标准差的患者的血清标本为阳性对照血清。研究血清与阴性血清的吸光度之比[(标本 A 值-空白对照 A 值)/(阴性对照 A 值-空白对照 A 值)]超过 2.1 倍者判为抗体检测阳性。

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

1.2.4 UAER 的测定方法 UAER 测定于取血前一日清晨 07:00 开始收集 24 h 尿,加甲苯酸防腐混匀后记录总量,用 ELISA 测定技术进行检测(上海波佳生物技术有限公司提供药盒)。

统计学处理:数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,率及构成比的比较采用 $\chi^2$ 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

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,肾功能参数有显著差异性( $P < 0.05$ ),肾功能损害主要与高血压病有关(表 1)。

表 1 三组临床及实验室检查资料

组别	n	性别 (男/女)	年龄 (岁)	病程 (年)	SBP (mmHg)	DBP (mmHg)	Bun (mmol/L)	Scr ( $\mu\text{mol/L}$ )	UAER (mg/24 h)
正常对照	40	22/18	62 $\pm$ 9	—	112 $\pm$ 7	71 $\pm$ 8	5.2 $\pm$ 1.0 <sup>a</sup>	45 $\pm$ 18 <sup>a</sup>	10 $\pm$ 6 <sup>a</sup>
高血压病合并肾损害	61	38/23	62 $\pm$ 12	12 $\pm$ 6	168 $\pm$ 14 <sup>c</sup>	97 $\pm$ 7 <sup>c</sup>	15.6 $\pm$ 4.9	236 $\pm$ 165	502 $\pm$ 32 <sup>c</sup>
高血压病	60	41/19	60 $\pm$ 11	10 $\pm$ 6	159 $\pm$ 11 <sup>c</sup>	96 $\pm$ 10 <sup>c</sup>	5.5 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>	69 $\pm$ 23 <sup>a</sup>	11 $\pm$ 6 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 高血压病合并肾损害组;<sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 正常对照组。SBP:收缩压;DBP:舒张压;Bun:血尿素;Scr:血清肌酐;UAER:尿蛋白排泄率。

三组抗- $\text{AT}_1$ 受体和抗- $\alpha_1$ 受体自身抗体的检出频率用已知 1:20,1:40,1:80,1:160 稀释度的 $\text{AT}_1$ 及 $\alpha_1$ 受体及抗体阳性和阴性的血清作为参考血清。患者血清在稀释度 1:40 和 1:80 时阳性率较为稳定,我们选择了 1:80 作为常规稀释度。高血压病合并肾损害组患者血清抗 $\text{AT}_1$ -受体和抗 $\alpha_1$ -受体自身抗体阳性率明显高于高血压病无肾损害组及对照组( $P < 0.01$ ),高血压病无肾损害组稍高于对照组( $P > 0.05$ ,表 2)。说明抗 $\text{AT}_1$ -受体和抗 $\alpha_1$ -受体自身抗体的产生可能与高血压病合并肾损害有关。

表 2 三组受体自身抗体阳性率比较 [ $n(\%)$ , $\bar{x} \pm s$ ]

组别	n	$\text{AT}_1$ -受体	$\alpha_1$ -受体
正常对照	40	4(10.0)	3(7.5)
高血压病合并肾损害	61	36(59.0) <sup>b</sup>	33(54.1) <sup>b</sup>
高血压病	60	8(13.3)	6(10.0)

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 正常对照组和高血压病组。

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病无肾损害组( $P < 0.05$ )及对照组( $P < 0.01$ ),高血压病合并肾损害常伴有神经内分泌激素激活(表 3)。

表3 三组神经内分泌激素检测

( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	肾素 (nmol/L)	血管紧张素 II (pmol/L)	醛固酮 (pmol/L)	去甲肾上腺素 (nmol/L)	肾上腺素 (nmol/L)
正常对照	40	0.31 ± 0.22	44 ± 19	0.31 ± 0.02	1.5 ± 0.5	1.8 ± 1.2
高血压病合并肾损害	61	0.91 ± 0.61 <sup>b</sup>	81 ± 61 <sup>b</sup>	0.49 ± 0.31 <sup>a</sup>	1.9 ± 0.8 <sup>a</sup>	2.7 ± 1.1 <sup>a</sup>
高血压病	60	0.39 ± 0.31	48 ± 22	0.33 ± 0.11	1.5 ± 0.6	1.8 ± 1.3

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 正常对照组和高血压病组。

### 3 讨论

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<sup>[6]</sup>。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。本研究结果显示,在高血压病合并肾损害患者中却测出出现较高滴度的AT<sub>1</sub>和 $\alpha_1$ 受体自身抗体,明显高于高血压病无肾损害组及正常对照组。廖玉华等<sup>[7]</sup>研究发现,在难治性高血压病患者血清中检出抗AT<sub>1</sub>和 $\alpha_1$ 受体自身抗体,这些患者合并肾损害频率明显增高,与本研究结果一致。据此推断,抗AT<sub>1</sub>和 $\alpha_1$ 受体自身抗体可能参与了高血压病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病合并肾损害的重要因素之一。

我们在高血压病合并肾损害患者测出了高滴度抗AT<sub>1</sub>和抗 $\alpha_1$ 受体自身抗体,推测这一抗体可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,引起肾组织损伤。自身抗体通过相应受体所引起的病理效应可能是高血压病合并肾损害发生发展的重要因素。抗AT<sub>1</sub>和抗 $\alpha_1$ 受体自身抗体的存在及其病理性激动剂样活性可能是高血压病合并肾损害产生的重要机制。由此认为,抗G-蛋白偶联受体自身抗体可能与高血压病合并肾损害有关。这种自身抗体可以与鼠心室肌细胞膜蛋白结合,与哌唑嗪竞争 $\alpha_1$ 受体结合位点,显著增强培养新生大鼠心室肌细胞的收缩频率,具有 $\alpha_1$ 受体激动剂样活性<sup>[6-9]</sup>。本实验检测结果证实了高血压病合并肾损害患者神经内分泌激素明显高于高血压病组及对照组,表明高

血压病合并肾损害常常伴有神经内分泌激素激活。

研究证实,血管紧张素转化酶抑制剂(ACEI)及AT<sub>1</sub>受体拮抗剂可以阻滞肾脏结构和功能的改变,减少蛋白尿的产生,对肾脏有保护作用,减轻肾脏病理和功能改变。检测上述神经内分泌—免疫因子,选择降压药物可能更有利于高血压病合并肾损害患者靶器官长期保护作用。

### 【参考文献】

- [1] Fu ML, Herlitz H, Schulze W, et al. Autoantibodies against the angiotensin receptor (AT<sub>1</sub>) in patients with hypertension [J]. *Hypertens Res*, 2000, 18(7): 945-953.
- [2] Wallukat G, Homuth V, Fischer T, et al. Patients with preeclampsia develop agonistic autoantibodies against the angiotensin AT<sub>1</sub> receptor [J]. *J Clin Invest*, 1999, 103(7): 945-952.
- [3] 中国高血压防治指南起草委员会. 中国高血压防治指南(试订本) [J]. *高血压杂志*, 2000, 8(1-2): 94-112.
- [4] 许贤文, 潘缙圣. 高血压肾损害 [A]. 王海燕. 肾脏病学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 1144-1151.
- [5] Liao YH, Wei YM, Wang M, et al. Autoantibodies against AT<sub>1</sub>-receptor and  $\alpha_1$ -adrenergic receptor in patients with hypertension [J]. *Hypertens Res* 2002, 25: 641-644.
- [6] Dechend R, Homuth V, Wallukat G, et al. AT<sub>1</sub> receptor agonistic antibodies from preeclamptic patients cause vascular cells to express tissue factors [J]. *Circulation*, 2000, 101(20): 2382-2387.
- [7] 廖玉华, 魏宇森, 王敏, 等. 血清抗AT<sub>1</sub>-受体自身抗体在难治性高血压患者中的病理作用及临床干预研究 [J]. *中国冶金工业医学杂志*, 2001, 2: 65-69.
- [8] Wallukat G, Muller J, Hetzer R. Specific removal of  $\beta_1$ -adrenergic autoantibodies from patients with idiopathic dilated cardiomyopathy [J]. *N Engl J Med*, 2002, 347(22): 1806-1811.
- [9] Iwata M, Yoshikawa T, Baba A, et al. Autoimmunity against the second extracellular loop of  $\beta(1)$ -adrenergic receptors induces  $\beta$ -adrenergic receptor desensitization and myocardial hypertrophy *in vivo* [J]. *Circ Res*, 2001, 88(6): 578-586.

编辑 甄志强