

## • 临床研究 •

## 贝那普利对高血压并糖尿病肾病抗 AT<sub>1</sub> 受体自身抗体阳性患者肾脏的保护作用

赵林双 罗巧云 向光大 廖玉华 侯洁 乐岭 孙慧伶

**【摘要】** 目的 探讨抗血管紧张素转换酶抑制剂贝那普利对高血压并糖尿病肾病(DN)抗 AT<sub>1</sub> 受体自身抗体阳性患者血压及尿蛋白的影响。方法 以合成的 AT<sub>1</sub> 受体多肽片段为抗原,应用酶联免疫吸附测定技术,检测 71 例高血压并 DN 患者和 51 例糖尿病患者,及正常对照组 40 例血清抗 AT<sub>1</sub> 受体自身抗体。对抗 AT<sub>1</sub> 受体自身抗体阳性和阴性的 DN 患者分别在原胰岛素降糖方案治疗基础给予贝那普利 10mg,口服,1次/d;尼群地平 10mg,口服,3次/d;双氯噻嗪 12.5 mg,口服,1次/d;阿司匹林 100mg,口服,1次/d。观察贝那普利对 AT<sub>1</sub> 受体自身抗体阳性组和阴性组临床降压及尿蛋白的疗效。6个月为一疗程,治疗前后进行 24h 尿微量白蛋白测定。结果 高血压并 DN 组抗 AT<sub>1</sub> 受体自身抗体阳性率(43.7%,31/71)明显高于 2 型糖尿病组(13.7%,7/51)和对照组(10%,4/40)。临床降压疗效总评定,DN 抗 AT<sub>1</sub> 受体自身抗体阳性组和阴性组贝那普利治疗总有效率分别为 85.6%和 45.0%;临床降蛋白尿的疗效总有效率分别为 87.1%(27/31)和 42.5%(17/40),两组比较差异具有显著的统计学意义( $P < 0.01$ )。结论 贝那普利对高血压合并 DN 抗 AT<sub>1</sub> 受体自身抗体阳性组降压和减少蛋白尿的疗效明显优于阴性组,有针对性的治疗具有重要的临床价值。

**【关键词】** 高血压;糖尿病肾病;受体,血管紧张素,1型;自身抗体;贝那普利

## Benazepril in treatment of autoantibodies against AT<sub>1</sub> receptor positive hypertension patients with diabetic nephropathy

ZHAO Linshuang\*, LUO Qiaoyun, XIANG Guangda, et al

\* Department of Endocrinology, Wuhan General Hospital, Guangzhou Military Command, WU Han 430070, China

**【Abstract】** Objective To investigate the effects of benazepril on the blood pressure and urinary protein in AT<sub>1</sub>-adrenergic receptor positive hypertension patients with diabetic nephropathy(DN). Methods The synthesized epitopes of the second extracellular loop of AT<sub>1</sub> receptor (165-191) was used to screen serum autoantibodies from hypertension patients with DN ( $n=71$ ), diabetic mellitus ( $n=51$ ) and from healthy blood donors ( $n=40$ , control) by ELISA. The patients in autoantibodies against AT<sub>1</sub> receptor positive group ( $n=31$ ) and negative group ( $n=40$ ) were given the following drugs respectively: benazepril (10mg/d), aspirin (100mg/d), nitrendipine (10mg/d). The blood pressure reducing effect was compared between the groups. The 24-hour urinary protein were measured before and after treatment for 24 weeks. Results In hypertension patients with DN, the positive rate of the autoantibodies against AT<sub>1</sub> receptor was 43.7% (31/71), and was significantly higher than that in the diabetes mellitus patients (13.7%, 7/51) and healthy blood donors (10%, 4/40,  $P < 0.01$ ). The total efficiency rate of benazepril treatment in reducing blood pressure was significantly higher in autoantibodies against AT<sub>1</sub> receptor positive group than that in negative group (85.6% vs 45.0%,  $P < 0.01$ ). The total efficiency rate of benazepril treatment in reducing urinary protein was significantly higher in autoantibodies against AT<sub>1</sub> receptor positive group than that in negative group (87.1% vs 42.5%,

收稿日期:2008-07-17

基金项目:湖北省自然科学基金(2002AB116)

作者单位:430070 武汉市,广州军区武汉总医院内分泌科(赵林双、向光大、侯洁、乐岭、孙慧伶);430022 武汉市,华中科技大学同济医学院心血管病研究所(廖玉华);解放军广州 458 医院内分泌科(罗巧云)。Tel:027-62690869,68878411;E-mail:zls7111 @yahoo.com

$P < 0.01$ ). **Conclusion** Benazepril can reduce urinary protein more significantly in hypertension patients with DN and positive autoantibodies against  $AT_1$  receptor than that in those with negative autoantibodies against  $AT_1$  receptor. Benazepril is effective and safe in the treatment of hypertension with DN.

**【Key words】** hypertension; diabetic nephropathy;  $AT_1$  receptors angiotensin; autoantibodies; bennapuril

随着我国经济的腾飞及人口的老龄化,糖尿病发病率逐年增高,已成为危害人类健康的第三大杀手,糖尿病合并高血压十分常见,且降压达标非常困难,糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)不仅是糖尿病最常见的并发症,也是糖尿病致死致残的主要原因之一,因此如何提高降压达标率保护肾功能,是目前内分泌、心血管及老年病医务工作者共同关注的重要课题,贝那普利降压临床虽有报道,但通过  $AT_1$  受体自身抗体检测<sup>[1]</sup>,对 DN 进行靶向治疗尚未见报道。本研究对高血压并 DN 患者,根据自身抗体检测,探讨针对性的治疗途径,提供理论依据,提高降压及减少蛋白尿的临床疗效。

## 1 对象与方法

**1.1 对象** 71例2级以上高血压并 DN 患者来自广州军区武汉总医院内分泌科,平均血压(167±7)/(91±7) mmHg。高血压诊断参照2002年WHO/ISH高血压防治指南<sup>[2]</sup>。糖尿病患者均按照1999年WHO诊断标准确诊,2型糖尿病51例。DN诊断按Mogensen1989年提出的分期标准分为5期<sup>[3]</sup>。对照组40例,来自广州军区武汉总医院健康体检中心,所有对象均为中国汉族人。排除对象:(1)其他继发性肾脏病变;(2)已参加其他临床试验者;(3)近3个月有用激素史者。所有病例记录患者的临床情况及实验室检查资料。采集受检者清晨空腹静脉血5ml,离心取血浆,-40℃贮存备用。

**1.2 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具有抗原决定簇的  $AT_1$  受体细胞外第二环多肽片段,多肽片段序列参考文献<sup>[4]</sup>,分别为: $AT_1$  受体氨基酸残基片段(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),  $AT_1$  受体片段氨基酸序列 ( $AT_1$  受体 165-191 位氨基酸残基)。用高压液相色谱分析合成肽的纯度 >95%。多肽片段序列参考文献<sup>[4]</sup>。

**1.3 酶联免疫吸附法(ELISA)法检测自身抗体** 按照参考文献的方法检测抗  $AT_1$  受体自身抗体<sup>[4]</sup>,实验中设置空白对照和阳性、阴性对照,测 OD 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 OD 值超出对照健康人群 2 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吸光度之比〔(标本 OD 值-空白对照 OD 值)/(阴性对照 OD 值-空白对照 OD 值)〕超过 2.1 倍者判为抗体检测阳性。

**1.4 尿蛋白测定** 于取血前一日清晨 7:00 开始收集 24h 尿,加苯甲酸防腐,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。

**1.5 给药方法** 高血压并 DN 抗  $AT_1$  受体自身抗体阳性的 31 例为治疗组,抗  $AT_1$  受体自身抗体阴性的 40 例为对照组。两组均给予贝那普利 10mg,口服,1 次/d;尼群地平 10mg,口服,3 次/d;阿司匹林 100mg,口服,1 次/d;双氯噻嗪 12.5mg,口服,1 次/d。血压观测:入选病例,除胰岛素治疗外,停用所有药物。收缩压 >200 mmHg,舒张压 >120 mmHg 者剔除。所有血压测量在患者坐位 10min 后,采用标准袖带,水银柱血压计测量 2 次。受试患者晨起 7:00 及 22:00,每日测量 2 次,记录收缩压及舒张压。治疗期间,患者可行一般日常活动及正常工作,避免剧烈运动。

**1.6 降压疗效评定** 参照 1979 年 4 月,全国心血管会议修订的药物疗效判定标准。显效:舒张压下降 ≥10 mmHg 并降至正常或下降 20 mmHg 以上。有效:舒张压下降虽未达 10 mmHg,但收缩压已降至正常。如收缩期高血压,收缩压下降 ≥30 mmHg 者也属有效。无效:血压下降未达上述标准。

**1.7 临床尿蛋白疗效评定**  $AT_1$  受体自身抗体阳性组尿蛋白完全缓解:尿蛋白减少至 0.3g/24 h;部分缓解:尿蛋白从基线水平减少至 50% 以上;部分有效:尿蛋白减少至基线水平的 30%~50%;无效:尿蛋白减少少于基线水平的 30%。

**1.8 统计学分析** 数据表示为  $\bar{x} \pm s$ ,用 SPSS 10.0 软件进行统计处理,计量资料用  $t$  检验,计数资料用  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 一般临床资料特征** 高血压并 DN 组与 2 型糖尿病组和正常对照组比较,血压及肾功能参数

的差异有统计学意义,余无统计学意义(表1)。

**2.2 高血压并DN患者抗AT<sub>1</sub>受体自身抗体阳性率与2型糖尿病组和正常对照组比较** 高血压并DN组抗AT<sub>1</sub>受体自身抗体阳性率与2型糖尿病组和正常对照组比较差异具有统计学意义,2型糖尿病组和正常对照组比较差异无统计学意义,进一步表明AT<sub>1</sub>受体自身抗体阳性与DN肾损害有关(表2)。

**2.3 高血压并DN抗AT<sub>1</sub>受体阳性组和抗AT<sub>1</sub>受体阴性组贝那普利降压作用疗效比较** 将高血压并DN组中71例中31例抗AT<sub>1</sub>受体阳性患者为治疗组,40例阴性者为对照组,两组在原胰岛素治疗基础上均加用贝那普利,结果阳性组治疗后降压疗效明显优于对照组,两组比较差异具有统计学意义(表3)。

**2.4 高血压并DN抗AT<sub>1</sub>受体自身抗体阳性组与阴性组临床疗效评定** 治疗组总有效率为85.6%〔显效、有效、无效率分别为63.4%(17/31)、22%(11/31)、12.2%(3/31)〕,明显优于对照组的45.0%〔显效、有效、无效率分别为20%(7/40)、13.3%(11/40)、

66.7%(22/40)〕,两组比较具有统计学意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ;  $\chi^2$  值及  $P$  值分别为17.271, 0.0171、11.321, 0.00471、7.719, 0.051、16.711, 0.0121)。

**2.5 高血压并DN抗AT<sub>1</sub>受体自身抗体阳性组与阴性组减少蛋白尿临床疗效评定** AT<sub>1</sub>受体自身抗体阳性组尿蛋白完全缓解为54.8%(17/31),部分缓解为22.6%(7/31),部分有效6.5%(2/31),无效为12.9%(4/31),总有效率为87.1%(27/31)。AT<sub>1</sub>受体自身抗体阴性组分别为7.5%(3/40)、12.5%(5/40)、22.5%(9/40)、57.5%(23/40),总有效率为42.5%(17/40)。两组比较差异具有统计学意义( $\chi^2$  值及  $P$  值分别为21.267, 0.0172)。

**3 讨论**

本研究发现,高血压并DN患者中血清抗AT<sub>1</sub>受体自身抗体阳性率明显高于糖尿病无肾损害组及正常对照组,表明AT<sub>1</sub>受体自身抗体可能与DN损害有关,抗AT<sub>1</sub>受体自身抗体可能参与DN肾损害的发病过程,由此推测抗AT<sub>1</sub>受体自身抗体可能与DN有关。其机制有待进一步探讨。

表1 一般临床资料特征(x±s)

组别	例数 (男/女)	年龄 (岁)	病程 (年)	收缩压/舒张压 (mmHg)	心率 (次/min)	BUN (mmol/L)	Cr (μmol/L)	尿蛋白 (mg/24h)
高血压并DN	71(41/30)	66±6	12±5	167±7/101±6*	89±6	7.1±0.7	171.1±11.7*	571±11*
2型糖尿病	51(31/20)	61±5	11±4	142±11/89.±8	87±7	6.1±0.6	71.7±7.1	11±6
正常对照	40(21/19)	63±5	—	121±6/71±6	71±7	5.1±0.3	51.1±3.7	5±2

注:高血压并DN组与2型糖尿病组和正常对照组比较,\* $P < 0.05$

表2 3组抗AT<sub>1</sub>受体自身抗体检测结果阳性率比较(n,%)

组别	例数	AT <sub>1</sub> 受体阳性数	阳性率%	阴性数	阴性率(%)
高血压并DN	71	31	43.7*	40	56.3*
2型糖尿病	51	7	13.7	44	86.3
正常对照	40	4	10.0	36	90.0

注:高血压并DN组与2型糖尿病和正常对照组比较,\* $P < 0.01$

表3 高血压并DN抗AT<sub>1</sub>受体自身抗体阳性组加用贝那普利降压疗效与对照组比较(mmHg;x±s)

组别	例数	收缩压/舒张压			
		治疗前	治疗1周后	2周后	6周后
治疗组	31	167±7/101±6	159±5/96±5	137±6/83±5*	121±3/71±3*
对照组	40	166±6/102±5	161±10/99±5	159±5/91±5	147±5/89±5 <sup>△</sup>

注:两组比较,\* $P < 0.05$ ,\* $P < 0.01$ ;与治疗前自身比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$

本研究临床结果发现:(1)高血压并 DN 患者抗 AT<sub>1</sub> 受体阳性组,用贝那普利治疗降压疗效明显优于 AT<sub>1</sub> 受体阴性组,两组比较具有统计学意义。(2)高血压并 DN 阳性组对减少蛋白尿疗效同样明显优于阴性组,已达显著统计学意义。非常值得关注的是为什么 AT<sub>1</sub> 受体自身抗体阳性组其临床疗效明显优于阴性组呢?笔者认为贝那普利通过特异性阻断血管紧张素Ⅱ与 AT<sub>1</sub> 受体在这个部位的结合发挥作用,最大限度阻断肾素-血管紧张素系统,更有效得消除血管紧张素Ⅱ对肾功能的影响。此外,还可封闭受体,使抗 AT<sub>1</sub> 受体自身抗体的激动作用同时阻断<sup>[5~8]</sup>有关。因此不仅降压疗效明显,还可大大减少蛋白尿,这对延缓肾功能不全恶化进展值得关注。

自身抗体产生与药物干预的可能机制:G 蛋白偶联受体在受到刺激后通过内化机制进入胞浆,内化的受体在溶酶体内发生降解,再与相应的特异性表达 MHC-Ⅱ 分子的内体融合后,转移到细胞表面,进而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>[5,6]</sup>。DN 受肾小球内许多组织成分的影响,进一步激活局部肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAS),最终导致肾小球破坏。因此由于血管抗原暴露,在部分易感人群可以诱导机体自身免疫应答,产生抗血管受体抗体,可能是自身抗体产生的主要途径。Magnusson 等<sup>[7]</sup>发现抗 β<sub>1</sub> 受体自身抗体也具有 β<sub>1</sub> 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 β<sub>1</sub> 受体自身抗体的存在及其病理性激动剂样活性可能是扩张型心肌病发病及心力衰竭的产生的重要机制<sup>[7]</sup>,本研究在高血压并 DN 患者测出了高度抗 AT<sub>1</sub> 受体自身抗体,这一抗体是否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并 DN 肾损害的重要因素之一。血管紧张素转化酶抑制剂(ACEI)是保护肾脏有效的药物,可延缓肾损害进展,特别是高组织亲和力 ACEI 贝那普利可能更有效增加缓激肽和 NO(提高 NO 的生物利用度),高组织亲和力的 ACEI 比其他 RAS 阻断剂有更好的血管效应,抑制血管收缩,抑制基质形成,抑制醛固酮分泌,改善内皮功能,高组织亲和力 ACEI(贝那普利,雷米普利)优于亲和力低的 ACEI(卡托普利,依那普利)有效减少蛋白尿的生成,有效保护心脑血管靶器官损害,改善预后。另外该类药物还能

通过血流动力学效应及非血流动力学效应两种途径延缓肾损害进展。其肾脏保护作用包括:(1)改善肾脏血流动力学;(2)降低蛋白尿;(3)抑制细胞外基质沉积,延缓肾小球硬化;(4)维持肾脏调节水钠平衡的功能;(5)改善胰岛素敏感性;(6)改善脂代谢异常;(7)恢复非调节型高血压患者肾血管的反应性;(8)抗氧化应激。特别是有针对性的进行靶向治疗,给予受体拮抗剂,从受体水平进行干预,对糖尿病肾功能保护,可起到事半功倍的效果。

从肾脏保护角度出发,笔者建议:(1)高血压并 DN 患者尤其是老年患者,往往合并多脏器疾病,因此,提高降压及降低蛋白尿的疗效均应检测抗 AT<sub>1</sub> 受体自身抗体,避免盲目性治疗,从受体水平探讨其致病机制<sup>[9]</sup>,应该有针对性地合理选择其疗效确切的药物进行靶向治疗,免除临床滥用降压药物,对提高降压达标率,明显降低蛋白尿,具有重要的临床意义。(2)选择 ACEI 类药物时尽量注意选用对肾组织渗透力高的药物,如贝那普利及雷米普利,有效地抑制肾脏局部组织肾素-血管紧张素系统,发挥最大治疗效益<sup>[10,11]</sup>。(3)从受体水平探讨致病机制,给予受体拮抗剂,从受体水平进行干预,尤其是对老年高血压并 DN 患者多脏器的保护更为重要。

#### 参考文献

- [1] Liao YH, Wei YM, Wang M, et al. Autoantibodies against AT<sub>1</sub>-receptor and alpha<sub>1</sub>-adrenergic receptor in patients with hypertension. *Hypertens Res*, 2002, 25: 641-644.
- [2] 张维忠, 高血压, 叶任高, 主编. 内科学. 第 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2006. 247-262.
- [3] 林善敏. 糖尿病肾病. 见: 朱禧星, 主编. 现代糖尿病学. 上海: 复旦大学出版社, 2001. 311-327.
- [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. *临床心血管病杂志*, 2000, 16: 313.
- [5] Fu ML, Herlitz H, Schulze W, et al. Autoantibodies against the angiotensin receptor (AT<sub>1</sub>) in patients with hypertension. *Hypertensim*, 2000, 18: 945-953.
- [6] Hoebeke J. Structural basis of autoimmunity against G protein coupled membrane receptors. *Int J Cardiol*, 1996, 54: 103-111.
- [7] Magnusson Y, Wallukat G, Waagstein F, et al. Autoimmunity in idiopathic dilated cardiomyopathy. Characterization of antibodies against the β<sub>1</sub>-adrenoceptor with positive chronotropic effect. *Circulation*, 1994, 89: 2760-2767.

(下转第 432 页)

血供再次下降,从而再次出现与静息显像相同的放射性分布稀疏或缺损,形成反向再分布。这一机制在微血管性心绞痛即心脏 X 综合征的心肌显像中已得到了证实<sup>[7]</sup>。

“固定性缺损”往往提示心肌梗死或瘢痕组织的存在,然而在心肌细胞活力完全丧失时同样有此表现。本案第 3 例患者正是由于心肌炎导致心肌细胞严重受损,其摄取、保留和排泄核素的能力丧失,从而形成固定性缺损。而在冠脉大血管病变即冠心病患者中,冠脉狭窄部位在负荷显像时由于“冠脉窃血”效应而出现放射性分布稀疏或缺损,但于静息或延迟显像时充填增加或恢复正常,即所谓“可逆性缺损”或“再分布(redistribution)”。

因此,结合本案 2 种不同显像特点以及冠心病的显像特征,笔者认为双嘧达莫负荷心肌<sup>201</sup>Tl PECT 显像能很好地判断冠脉大小血管病变和心肌细胞活力;正如“可逆性缺损”提示冠脉大血管狭窄、“固定性缺损”提示心肌梗死或瘢痕组织或局部心肌细胞活力完全丧失<sup>[8]</sup>一样,“反向再分布”则更能反映心脏微血管病变和(或)功能障碍。同时急性病例的显像特点对于轻症或慢性病例的诊断亦具有一定的参考价值。但由于本案病例数过少,可能仅仅反映问题的一个方面,因此其进一步的应用价值,尚待大样本观察证实。

参 考 文 献

[1] 中华心血管病杂志编辑委员会心肌炎心肌病对策专题

组.关于成人急性病毒性心肌炎诊断参考标准和采纳世界卫生组织及国际心脏病学会联合会工作组关于心肌病定义和分类的意见.中华心血管病杂志,1999,27:405-407.

[2] 杨英珍.病毒性心脏病.上海:科学技术出版社,2001.27-44.

[3] Liu P,Burns RJ. Easy come, easy go; time to pause and put thallium reverse redistribution in perspective. J Nucl Med, 1993,34:1692-1694.

[4] Roclants VA, Vanoverschelde JL, Vander Borghet TM, et al. Reverse redistribution on exercise-redistribution<sup>201</sup>Tl SPECT in chronic ischemic dysfunction: predictive of functional outcome after revascularization? J Nucl Med, 2002,43:628-631.

[5] Wieneke H, Zander C, Eising EG, et al. Non-invasive characterization of cardiac microvascular disease by nuclear medicine using single-photon emission tomography. Herz,1999,24:515-521.

[6] Xiang DC, Yin JL, He JX, et al. Resting chest pain, negative treadmill exercise electrocardiogram, and reverse redistribution in dipyridamole myocardial perfusion scintigraphy might be the features of coronary artery aspsasm. Clin Cardiol,2007,30:522-526.

[7] 蒋锦琪,陈良,谢文辉,等.心脏 X 综合征双嘧达莫负荷心肌<sup>201</sup>Tl SPECT 显像的分析.中华核医学杂志,2008,6:375-376.

[8] 陈灏珠.实用心脏病学.第 4 版.上海:科学技术出版社,2007.294.

(上接第 428 页)

[8] AbdAlla S, Lother H, Massieri A, et al. Increased AT<sub>1</sub> receptor heterodimers in preeclampsia mediate enhanced angiotensin II responsiveness. Nat Med, 2001, 7:1003-1009.

[9] 赵林双,廖玉华,向光大,等.2 型糖尿病合并难治性高血压血清中抗 β<sub>1</sub> 和 M2 受体自身抗体的临床初步研究.中华心血管杂志,2006,34407-34410.

[10] Dzau VJ, Bemstein K, Clermajer D, et al. The relevance of tissue angiotensin-converting enzyme: manifestations in mechanistic and endpoint data. Am J Cardiol, 2001, 88 (Suppl);S1-S20.

[11] Hou FF, Zhang X, Zhang GH, et al. Efficacy and safety of benazepril for advanced chronic renal insufficiency. N Engl J Med, 2006, 354: 131-140.