

临床研究

心脏 β_1 肾上腺素能受体和 M_2 乙酰胆碱能受体的自身抗体与肥厚型心肌病的关系研究

刘蓉, 乔树宾, 胡奉环, 袁建松, 杨伟宪

摘要

目的: 探讨心脏 β_1 肾上腺素能受体和 M_2 乙酰胆碱能受体的自身抗体与肥厚型心肌病的相关性。

方法: 以细胞外第二环表位肽段的合成肽作为抗原, 应用酶联免疫吸附技术, 检测 81 例肥厚型心肌病患者(肥厚型心肌病组)和 50 例健康受试者(正常对照组)血清中心脏 β_1 肾上腺素能受体和 M_2 乙酰胆碱能受体的自身抗体。

结果: (1) 肥厚型心肌病组 β_1 受体自身抗体的阳性率为 58.02% (47/81), 明显高于正常对照组 12.00% (6/50), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 肥厚型心肌病组 M_2 乙酰胆碱能受体自身抗体阳性率为 44.44% (36/81), 显著高于正常对照组 10.00% (5/50), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。 (2) 肥厚型心肌病组 β_1 肾上腺素能受体和 M_2 乙酰胆碱能受体的自身抗体的平均几何滴度分别为 1:85 和 1:80, 显著高于正常对照组的 1:36 和 1:35, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。 (3) 肥厚型心肌病组 β_1 肾上腺素能受体自身抗体阳性血清中 43.48% (20/46) 的患者同时具有 M_2 乙酰胆碱能受体的自身抗体。

结论: 肥厚型心肌病患者血清中存在心脏 β_1 肾上腺素能受体和 M_2 乙酰胆碱能受体的自身抗体, 可能与其心肌结构变化和舒张功能下降有关。心脏 β_1 肾上腺素能受体和 M_2 乙酰胆碱能受体的双抗体阳性可能是自身免疫反应的多重性表现, 提示免疫学机制参与肥厚型心肌病的病理生理过程。

关键词 心肌病, 肥厚型; 受体, 肾上腺素能 β ; 受体, 胆碱能

Correlation Study Between Autoantibodies to Myocardium β_1 -adrenergic Receptor, M_2 -muscarinic Receptor and Hypertrophic Cardiomyopathy

LIU Rong, QIAO Shu-bin, HU Feng-huan, YUAN Jian-song, YANG Wei-xian.

Coronary Heart Disease Center, National Center for Cardiovascular Disease and Fuwai Hospital, CAMS and PUMC, Beijing (100037), China

Corresponding Author: YANG Wei-xian, Email: wxyang2009@sina.com

Abstract

Objective: To study the relationship between autoantibodies to myocardium β_1 -adrenergic receptor (β_1 -receptor), M_2 -muscarinic receptor (M_2 -receptor) and hypertrophic cardiomyopathy (HCM) in relevant patients.

Methods: Our research included in 2 groups: HCM group, n=81 patients and Control group, n=50 normal subjects. Synthetic peptides corresponding to amino acid sequence of second extracellular loops of β_1 -receptor and M_2 -receptor were used as antigens, ELISA was conducted to detect serum autoantibodies to β_1 -receptor and M_2 -receptor in both groups.

Results: ① Compared with Control group, HCM group had the higher positive rates of autoantibodies as for β_1 -receptor was 58.02% (47/81) vs 12.00% (6/50) and for M_2 -receptor was 44.44% (36/81) vs 10.00% (5/50), both $P < 0.05$. ② Compared with Control group, HCM group had the higher mean geometric titers of autoantibodies as for β_1 -receptor was 1:85 vs 1:36 and for M_2 -receptor was 1:80 vs 1:35, both $P < 0.05$. ③ In HCM group, 43.48% patients with positive autoantibody to β_1 -receptor meanwhile have autoantibody to M_2 -receptor.

Conclusion: HCM patients having both autoantibodies to β_1 -receptor and M_2 -receptor might be related to cardiac structure change and diastolic function decreasing. Both positive antibodies implies that immunological mechanism has been

作者单位: 100037 北京市, 中国医学科学院 北京协和医学院 国家心血管病中心 阜外医院 冠心病诊治中心

作者简介: 刘蓉 副主任医师 博士 主要从事冠心病及肥厚型心肌病研究 Email: liurongwj@sina.com 通讯作者: 杨伟宪 Email: wxyang2009@sina.com

中图分类号: R54 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 11-1104-03 doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2017.11.014

involved in pathophysiological process in HCM patients.

Key words Cardiomyopathy, hypertrophic; Receptor, Adrenergic β ; Receptor, Muscarinic M

(Chinese Circulation Journal, 2017,32:1104.)

G-蛋白偶联型 β_1 肾上腺素能受体和 M_2 乙酰胆碱能受体是调节心脏生理活动的重要受体。既往研究显示,收缩功能不全的各类心力衰竭患者血清中存在抗 G-蛋白偶联型 β_1 肾上腺素能受体和 M_2 乙酰胆碱能受体的自身抗体^[1,2]。这些自身抗体与受体结合后可导致心脏结构和功能发生变化。肥厚型心肌病是一种常染色体显性遗传疾病,以心肌非对称性肥厚为特征,以舒张功能不全为主要表现,其血清中是否存在这些受体的自身抗体,目前相关研究较少。本研究主要通过酶联免疫吸附法测定肥厚型心肌病患者血清中 β_1 肾上腺素能受体和 M_2 乙酰胆碱能受体的自身抗体,探讨两种受体的自身抗体与肥厚型心肌病的相关性。

1 资料与方法

1.1 研究资料

研究入选 2011-01 至 2012-01 期间住院或门诊的 81 例肥厚型梗阻性心肌病患者(肥厚型心肌病组),女 24 例,男 57 例,平均年龄(44.89 ± 12.16)岁。入选标准:无收缩功能不全,左心室射血分数 $>50\%$,纽约心脏协会(NYHA)心功能分级 II ~ IV 级。排除自身免疫性疾病及各种内分泌疾病、心脏瓣膜病、先天性心脏病。同时入选健康受试者 50 例为正常对照组,其年龄、性别与肥厚型心肌病组匹配,X 线胸片、超声心动图、心电图、肝肾功能、血尿便常规均正常。

1.2 研究方法

肥厚型心肌病患者及正常对照组患者均采肘静脉血 2 ml,常温下静置 30 min,以 3000 rpm 离心 10 min,分离血清 -70°C 保存备用。

肽段合成方法:抗原肽段由中国科学院生物分子研究所合成相当于人 β_1 肾上腺素能受体和 M_2 乙酰胆碱能受体细胞外第二环氨基酸序列的肽段(β_1 肽段 197~222 位的氨基酸序列:HWWRAESDEARRCYNDPKCCDFVTNRC; M_2 肽段 169~193 位的氨基酸序列:VRTVEDGECYIQFFSNAAVFFGTAIC)

酶联免疫吸附法检测:将 β_1 肾上腺素能受体和 M_2 乙酰胆碱能受体两种氨基酸肽段配成抗原包

被溶液,在微量酶标板的滴定孔上包被,每孔分别加入稀释后人的血清 50 μl ,用磷酸缓冲盐溶液(PBS)-T 洗孔三次,每孔加入 50 μl 亲和纯化的生物素羊抗人 IgG (H+L) 抗体,用 PBS-T 溶液洗板 3 次,每孔加入 50 μl 链酶亲和素-辣根过氧化物酶,用 PBS-T 溶液洗孔 3 次,每孔加 50 μl 2.5 mmol/L H_2O_2 、2 mmol/L ABTS 及柠檬酸缓冲液(PH=5)的混合液,37 $^\circ\text{C}$ 水浴 30 min 后上酶标仪,用波长为 405 nm 的滤光片测光密度值(OD 值)。

判断标准:以阳性血清与阴性血清的吸光度之比即 P/N 比值来判断,P/N >2.1 为阳性(P/N=标本 A 值-空白对照 A 值/阴性对照 A 值-空白对照 A 值)。抗体滴度的判定,将标本从 1:20~1:160 依次倍比稀释,以出现 P/N >2.1 的最高稀释度作为该标本的滴度。

1.3 统计学方法

应用 SPSS10.0 统计软件。两样本阳性率比较采用 χ^2 检验,几何均数表示抗体滴度的平均值,采用 t 检验比较两几何均数间差异。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 β_1 肾上腺素能受体和 M_2 乙酰胆碱能受体的自身抗体阳性率比较

肥厚型心肌病组患者的 β_1 肾上腺素能受体的自身抗体阳性率为 58.02% (47/81),正常对照组为 12.00% (6/50),差异有统计学意义($P<0.05$)。肥厚型心肌病组 M_2 乙酰胆碱能受体的自身抗体阳性率为 44.44% (36/81),正常对照组为 10.00% (5/50),差异有统计学意义($P<0.05$)。 β_1 肾上腺素能受体的自身抗体阳性患者血清中有 20 例 (43.48%) 同时具有 M_2 乙酰胆碱能受体的自身抗体。

2.2 两组中自身抗体阳性患者的血清中平均几何滴度比较

肥厚型心肌病组 β_1 肾上腺素能受体的自身抗体的平均几何滴度为 1:85 ($\lg 1.93 \pm 0.31$),正常对照组为 1:36 ($\lg 1.55 \pm 0.23$),差异有统计学意义($P<0.05$)。肥厚型心肌病组 M_2 乙酰胆碱能受体的自身抗体的平均几何滴度为 1:80 ($\lg 1.90 \pm 0.36$),正常对照组为 1:35

($\lg 1.54 \pm 0.24$), 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

本研究表明肥厚型心肌病患者的血清中存在 β_1 肾上腺素能受体和 M_2 乙酰胆碱能受体的自身抗体。心脏 β_1 肾上腺素能受体和 M_2 乙酰胆碱能受体是调节心脏活动的重要受体。儿茶酚胺激动心肌细胞膜上的 β_1 肾上腺素能受体, 通过修饰激动性 G-蛋白, 激活腺苷酸环化酶, 从而增加作为第二信使的腺苷-3',5'-环化-磷酸(CAMP)的生成, 使心率加快, 心肌收缩性增强, 心排量增加^[3]。相反乙酰胆碱能激动心肌细胞上的乙酰胆碱能受体, 通过修饰抑制性 G-蛋白, 抑制腺苷酸环化酶, 减少第二信使 CAMP 的生成, 使心率减慢、心肌收缩性下降, 心排量减少, 这两种受体在动态平衡中维持着心脏的正常功能^[4]。当心脏发生病理变化时, 这两种受体之间的动态平衡失调, 并产生受体的自身抗体。

1990 年, β_1 肾上腺素能受体自身抗体首先在扩张型心肌病患者血清中发现, 随后研究发现 β_1 肾上腺素能受体自身抗体广泛存在于各类心脏收缩功能不全患者血清中^[1,2]。 β_1 肾上腺素能受体的自身抗体可以与 β_1 受体结合发挥肾上腺素能激素的作用, 同时增强心脏 β_1 肾上腺素能受体对肾上腺素能激素的敏感性。但 β_1 肾上腺素能受体的自身抗体长期过度刺激则导致心肌 β_1 肾上腺素能受体的密度下调^[5], 加速心肌细胞凋亡, 导致心脏结构和功能发生变化, 加速心功能的恶化。

既往研究表明收缩性心力衰竭患者血清中存在各种受体的自身抗体^[1,2], 而肥厚型心肌病患者血清中是否存在这些抗体相关研究较少。本研究显示肥厚型心肌病血清中 β_1 肾上腺素能受体、 M_2 乙酰胆碱能受体自身抗体阳性率及平均几何滴度均显著高于正常对照组。肥厚型心肌病主要以心脏舒张功能不全为主要表现, 入选患者均无收缩功能不全, 这也提示 β_1 肾上腺素能受体的自身抗体对于舒张功能不全的心力衰竭患者同样有病理生理意义。

猝死是肥厚型心肌病患者的主要死亡原因之一, 而有研究发现 β_1 受体自身抗体有促发恶性心律失常的作用, 它可诱导早期后除极和动作电位时程显著延长, 减少钾离子通道密度^[5-7]。一项研究分析了 104 例扩张性心肌病患者, 结果显示 β_1 肾上腺素能受体自身抗体阳性的患者多源性室性早搏和室性心

动过速(室速)的发生率高于 β_1 受体自身抗体阴性的患者。多因素分析 β_1 肾上腺素能受体自身抗体阳性和左心室射血分数 $< 30\%$ 是室速的独立预测因子, 同时也是猝死的独立预测因子^[8]。另一项研究入选了 2062 例心力衰竭患者和 824 例正常对照, 测定受试者血清中 β_1 肾上腺素能和 M_2 乙酰胆碱能受体的自身抗体, 并随访 36 个月, 研究发现 β_1 肾上腺素能受体抗体与心力衰竭死亡率显著相关, 它是预测扩张性心肌病和缺血性心肌病猝死的独立预测因子^[9]。 β_1 肾上腺素能受体自身抗体是否对于肥厚型心肌病患者的猝死有一定的预测作用尚须进一步研究。

本研究显示肥厚型心肌病患者 β_1 肾上腺素能受体的自身抗体和 M_2 乙酰胆碱能受体的自身抗体阳性率及平均几何滴度都显著高于正常对照组, β_1 肾上腺素能受体抗体阳性的患者中 43% 同时 M_2 乙酰胆碱能受体抗体阳性, 这可能是免疫反应多重性的表现, 提示免疫机制参与了肥厚型心肌病的病理生理过程。

参考文献

- [1] Nussinovitch U, Shoenfeld Y. The diagnostic and clinical significance of anti-muscarinic receptor autoantibodies. Clin Rev Allergy Immunol, 2012, 42: 298-308.
- [2] Herda LR, Felix SB, Boege F. Drug-like actions of autoantibodies against receptors of the autonomic nervous system and their impact on human heart function. Br J Pharmacol, 2012, 166: 847-857.
- [3] Nikolaev VO, Boivin V, Störk S, et al. A novel fluorescence method for the rapid detection of functional beta1-adrenergic receptor autoantibodies in heart failure. J Am Coll Cardiol, 2007, 50: 423-431.
- [4] Stavrakis S, Kem DC, Patterson E, et al. Opposing cardiac effect of autoantibody activation of β -adrenergic and M_2 muscarinic receptors in cardiac-related diseases. Int J Cardiol, 2011, 148: 331-336.
- [5] Chiaie PA, Ferrari I, Mahler E, et al. Differential profile and biochemical effects of antiautonomic membrane receptor antibodies in ventricular arrhythmias and sinus node dysfunction. Circulation, 2001, 103: 1765-1771.
- [6] Fukuda Y, Miyoshi S, Tanimoto K, et al. Autoimmunity against the second extracellular loop of beta(1)-adrenergic receptors induces early afterdepolarization and decreases in K-channel density in rabbits. J Am Coll Cardiol, 2004, 43: 1090-1100.
- [7] Nussinovitch U, Shoenfeld Y. The clinical significance of anti-beta-1 adrenergic receptor autoantibodies in cardiac disease. Clin Rev Allergy Immunol, 2013, 44: 75-83.
- [8] Iwata M, Yoshikawa T, Baba A, et al. Autoantibodies against the second extracellular loop of beta1-adrenergic receptors predict ventricular tachycardia and sudden death in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. J Am Coll Cardiol, 2001, 37: 418-424.
- [9] Pei J, Li N, Chen J, et al. The predictive values of beta1-adrenergic and M_2 muscarinic receptor autoantibodies for sudden cardiac death in patients with chronic heart failure. Eur J Heart Fail, 2012, 14: 887-894.

(收稿日期: 2016-12-08)

(编辑: 许菁)