

临床研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2012.08.016

心肌病变患者自身免疫反应的临床分析

陈素群¹, 张晓刚¹, 邹 麟²

(重庆医科大学附属第一医院 1. 心内科; 2. 检验科, 重庆 400016)

【摘要】目的: 观察抗心肌抗体 (Anti-myocardial antibody, AMA) 在心肌病变者中存在的比例, 探讨自身免疫反应与心肌损伤的病情及病程的关系。方法: 选择有心脏损害患者 192 例, 其中病毒性心肌炎 (Viral myocarditis, VMC) 44 例 (9 例为急性重症型), 扩张型心肌病 (Dilated cardiomyopathy, DCM) 38 例, 风湿性心脏病 (Rheumatic heart disease, RHD) 40 例 (10 例有风湿活动), 系统性红斑狼疮 (Systemic lupus erythematosus, SLE) 30 例, 冠心病 (Coronary heart disease, CHD) 40 例, 采用间接免疫荧光法检测 192 份血清样本的 AMA。结果: VMC、DCM、RHD、SLE、CHD 患者血清中 AMA 阳性率分别为 27.3%、23.7%、17.5%、16.7%、2.5%; 重症 VMC 患者 AMA 阳性率与其他类型 VMC 患者阳性率比较, 差异无统计学意义; 有风湿活动的风心病患者 AMA 阳性率与无风湿活动的风心病患者阳性率比较, 差异无统计学意义。结论: 这几种心肌病变与自身免疫反应密切相关, 检测 AMA 既可了解心肌的损伤情况, 又可以指导临床治疗。

【关键词】心肌病变; 自身免疫; 抗心肌抗体

【中国图书分类法分类号】R542.2

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-03-01

Clinical analysis of autoimmune response in patients with myocardial disease

CHEN Suqun¹, ZHANG Xiaogang¹, ZOU Lin²

(1. Department of Cardiology; 2. Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To calculate the rates of anti-myocardial antibody (AMA) in the patients with myocardial disease and to explore the relationship between autoimmune response and myocardial injury. Methods: Totally 192 cases of cardiac damage were enrolled in the study, including 44 cases of viral myocarditis (VMC), among which 9 cases were severe acute myocarditis, 38 cases of dilated cardiomyopathy (DCM), 40 cases of rheumatic heart disease (RHD), among which 10 cases had active rheumatism, 30 cases of systemic lupus erythematosus (SLE) and 40 cases of coronary heart disease (CHD). Anti-myocardial antibodies of these serum samples were detected by indirect immunofluorescence assay. Results: The positive rates of anti-myocardial antibody in VMC, DCM, RHD, SLE and CHD group were 27.3%, 23.7%, 17.5%, 16.7% and 2.5% respectively. There was no statistical significance between patients with serious acute virus myocarditis and other types of virus myocarditis. There was no significant difference in positive anti-myocardial antibody between RHD patients with active rheumatism and those without active rheumatism. Conclusions: Myocardial diseases are correlated with autoimmune response. Detecting the antimyocardial antibody in serum of patients could not only help to know the degree of myocardial injury but also guide the clinical treatment.

【Key words】myocardial disease; autoimmune; anti-myocardial antibody

越来越多的研究证实, 自身免疫在心肌损伤中扮演了一个很重要的角色, 而自身免疫的重要特征就是自身抗体的检出及其水平的升高^[1]。抗心肌抗体 (Anti-myocardial antibody, AMA) 是一种心脏自身抗体, 我们可以检测患者血清中 AMA 水平来了解患者体内的自身免疫引起的心肌损伤情况, 从而指

导临床治疗。本研究应用间接免疫荧光法检测几种心脏疾病如病毒性心肌炎 (Viral myocarditis, VMC)、扩张型心肌病 (Dilated cardiomyopathy, DCM)、系统性红斑狼疮 (Systemic lupus erythematosus, SLE)、风湿性心脏病 (Rheumatic heart disease, RHD) 及冠心病 (Coronary heart disease, CHD) 患者血清中的 AMA 的水平, 并对结果进行分析, 探讨心肌病变中自身免疫反应的情况。

作者介绍: 陈素群 (1971-), 女, 副主任医师, 硕士,

研究方向: 心肌疾病。

通信作者: 张晓刚, 男, 教授, Email: chsq113@163.com。

1 对象与方法

1.1 研究对象

随机抽取重庆医科大学附属第一医院 2011 年 1 月至 12 月的住院病人 192 例,入选标准:心脏病诊断依据包括心脏超声和心肌酶谱异常或冠状动脉造影异常。每种疾病均符合相应的诊断标准。VMC 44 例,均符合 1999 年成人 VMC 诊断参考标准^[1],其中急性重症 VMC 9 例;DCM 38 例,均符合中华医学会心血管病学分会 2007 年心肌病诊断与治疗建议诊断标准^[2];RHD 40 例,均符合 1992 年的 Jones 修订标准^[3],其中风湿活动诊断标准加上反复心脏超声检查二尖瓣口面积 3 年内有缩小者,有风湿活动者 10 例;SLE 30 例,均符合美国风湿病学会 1997 年修订的 SLE 诊断标准^[4],CHD 患者 40 例,均为过去或本次经冠状动脉造影明确诊断者。排除标准:除外患有上述 5 种疾病中的 1 种外,还患有其他心脏病的患者。

1.2 检测标本采集

用分离胶真空采集管采集所有观察者及对照者早晨空腹静脉血 4 ml,3 000 r/min 离心 10 min,分离血清,置于-80℃冰箱备检。

1.3 检测试剂盒

AMA 检测试剂:抗原为猴心肌组织切片、荧光二抗为 FITC 标记的抗人球蛋白 IgG (德国欧蒙医学实验诊断有限公司)。

1.4 实验方法

采用间接免疫荧光法,检测过程严格按试剂说明书操作,具体方法:将血清标本 1:100 稀释,阴性、阳性对照血清直接使用(每板做阴性、阳性对照),加 25 μ l 稀释血清至加样板上,避免产生气泡,将载片覆有生物薄片的一面朝下,盖至加样板的凹槽里,室温(18℃~25℃)温育 30 min,用烧杯盛 PBS-Tween 缓冲液流水冲洗生物薄片载片 1 s,然后立即将其浸入烧杯中浸洗 5 min;加 20 μ l FITC 标记的抗人球蛋白(荧光二抗)至洁净加样板的反应区,从缓冲液中取出生物薄片,5 s 内用吸水纸擦干背面和边缘的水分后,立即盖在加样板的凹槽里,避免阳光直射,室温(18℃~25℃)温育 30 min,清洗的方法同上,最后将盖玻片直接放在泡沫板的凹槽里,滴加甘油至盖玻片,每反应区约 10 μ l,从缓冲液中取出生物薄片,5 s 内用吸水纸擦干背面和边缘的水分后,将载片覆有生物薄片的一面朝下放在已准备好的盖玻片上。在荧光显微镜下(德国进口 Leica)观察,呈现亮绿色荧光者为 AMA 阳性。

1.5 统计学分析

用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,计数资料采用 χ^2 检验(本文根据数据行校正 χ^2 检验或 χ^2 检验),年龄以 $\bar{x} \pm s$ 表示,因部分组年龄不符合正态分布,年龄比较采用秩和检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 入选患者一般情况及检测结果

入选患者的性别、年龄特征见表 1,对各病种性别、年龄进行显著性检验(均为 $P < 0.05$),差异均有统计学意义。其中男性比例最大为 DCM 组,女性比例最大的是 SLE 组;平均年龄最小为 VMC 组,平均年龄最大为 CHD 组,与每种疾病的发病特点相符合。VMC、DCM、RHD、SLE、CHD 患者血清中 AMA 阳性率分别为 27.3%、23.7%、17.5%、16.7%、2.5% (表 1)。

表 1 各组患者一般情况及检测结果

病种	病例数 (例)	性别(例)		年龄(岁)		AMA	
		男	女	范围	平均	阳性 (例)	阳性率 (%)
VMC	44	18	26	18~47	31.18 $\pm$ 11.28	12	27.3
DCM	38	29	9	32~75	60.47 $\pm$ 10.44	9	23.7
RHD	40	14	26	29~75	46.43 $\pm$ 13.57	7	17.5
SLE	30	6	24	22~67	35.75 $\pm$ 12.29	5	16.7
CHD	40	23	17	46~84	67.65 $\pm$ 12.98	1	2.5

2.2 VMC 组内检测情况

9 例急性重症型 VMC 中,有 5 例阳性,阳性率为 55.5%。在其他类型 VMC 35 例中,有 7 例阳性,阳性率为 20.0%,急性重症 VMC 阳性率与其他类型 VMC 的阳性率比较,有增高趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。荧光显微镜下观察 AMA 阳性表达时,呈现亮绿色荧光(图 1)。

表 2 AMA 在 VMC 中的表达

结果	VMC	
	重症型	其他型
阳性(例)	5	7
阴性(例)	4	28
χ^2 值	2.946	
P 值	0.086	

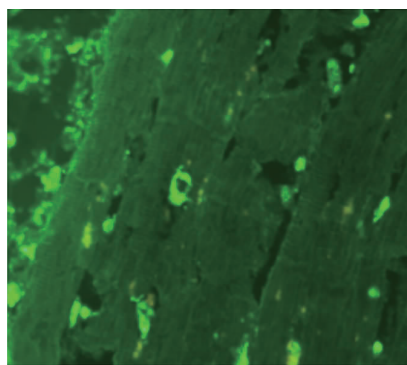


图 1 1 名重症 VMC 患者 AMA 阳性荧光模式

Fig.1 Positive fluorescence model of a patient with severe VMC

2.3 RHD 组内检测结果

在 10 例有风湿活动的 RHD 中,有 4 例阳性,阳性率为 40.0%,无风湿活动的 30 例患者中,有 3 例阳性,阳性率 10.0%,低于有风湿活动的 RHD,但差异没有统计学意义($P>0.05$),见表 3。

表 3 AMA 在 RHD 中的表达

Tab.3 Expressions of AMA in patients with RHD

结果	RHD	
	有风湿活动	无风湿活动
阳性(例)	4	3
阴性(例)	6	27
χ^2 值	2.828	
P 值	0.093	

3 讨 论

本实验所用抗原为猴心肌组织切片,既可以检测抗心肌细胞结构蛋白抗体,也可以检测心肌间质组织蛋白抗体。因为本实验样本量少,没有将自身抗体作更进一步的分类,无论细胞还是间质有相应的抗体,都能在荧光显微镜下呈现亮绿色的荧光聚集。

本研究发现 VMC 患者中 AMA 总阳性率为 27.3%,说明病毒诱导机体发生了针对心肌组织的自身免疫反应。张淑芹等^[6]用小鼠心尖心肌组织作为抗原,用免疫组化法检测 VMC 患者血清中 AMA 阳性率为 36.2%~38.1%,且随着病程的延长,阳性率逐渐升高,提示通过对 AMA 的检测不仅可以了解心肌损伤情况,而且可以监测病程,指导临床治疗。有报道^[7]表明在 AMA 持续阳性的 VMC 患者中有 36.4% 转化为 DCM。说明 AMA 可以造成心肌的损伤。因此在临床上监测 VMC 患者血清 AMA 可以了解心肌损伤,给予相应的治疗,有助于防止心肌炎向 DCM 转化,对其预后有着重要的意义。本研究还发现在急性重症 VMC 中阳性率高达 55.5%,与其他类型 VMC 的阳性率比较,有增高趋势,但二者没有统计学差异($P>0.05$),其原因可能与本实验病例数少有关,需再加大样本量,进一步研究,也可能与本实验对急性重症 VMC 采血过早(均在发病后 1 周内采血),没有做动态监测有关,所以还需要对 AMA 水平做动态监测研究。

DCM 的发病机制迄今未明,临床和实验研究证明,病毒持续感染、免疫应答异常和遗传因素与

DCM 的发生密切相关,尤其近年来一系列抗心肌自身抗体在该病患者体内的发现及其作用机制的研究,充分证明自身免疫机制在其发病中起重要作用。这些抗心肌自身抗体是体液免疫的血清学标志,主要包括抗线粒体 ADP/ATP 载体抗体、抗 $\beta 1$ -肾上腺素能受体抗体、抗 M_2 -胆碱能受体抗体和抗肌球蛋白抗体等^[8]。在本研究中检测到 DCM 患者血清中 AMA 阳性率达 23.7%,提示 DCM 患者体内存在自身免疫反应。林玲等^[9]采取酶联免疫吸附测定检测 DCM 患者血清中存在抗心肌线粒体 ADP/ATP 载体抗体、抗 $\beta 1$ -肾上腺素受体抗体,并根据所含 AMA 不同,给予相应的免疫学治疗,收到了很好的效果。也证明了自身免疫是 DCM 的主要致病因素。近年来,针对 DCM 抗心肌自身抗体的免疫相关疗法如免疫吸附、免疫抑制、血浆置换等已发挥了有效的作用。因此在临床上检测 AMA,给予相应的治疗,可以尽早改善 DCM 患者的心脏功能及预后,提高其生活质量。

RHD 为免疫性疾病,有研究^[10]用酶免疫斑点法检测风心病患者血清中的 AMA,其阳性率高达 65.7%,提示自身免疫介导了 RHD 患者的心肌损伤,并提出 AMA 对诊断 RHD 有一定的意义。本研究用间接免疫荧光检测 RHD 患者血清中 AMA 阳性率为 17.5%,提示 RHD 患者除瓣膜病变外,还存在自身免疫有关的心肌损伤。有研究^[11]发现检测抗心肌自身抗体中的抗心肌球蛋白抗体,风湿活动组明显高于静止组,提出抗心肌球蛋白抗体可用于协助判断风湿活跃。本实验发现有风湿活动者血清 AMA 阳性率 40.0%,数值上高于无风湿活动患者 AMA 阳性率(10.0%),但二者之间没有统计学差异,不排除与本实验样本量太少有关。AMA 能否作为判断风湿活动的指标,需要加大样本量再做进一步的研究。

SLE 是一种多系统受损的自身免疫性疾病,在已经存在心脏损害的 SLE 患者中,AMA 的检出率为 16.7%,提示在 SLE 的心脏损害中除了有心包、瓣膜损害以外,部分还存在免疫介导的心肌损害。王梅英等^[12]通过对 SLE 患者 AMA 与心脏病变的相关性研究,发现 AMA 阳性组心脏损害发生率明显高于 AMA 阴性组,并且发现少数 AMA 阳性且有心脏病变的 SLE 患者,经 cTx 冲击治疗后心脏病变基本恢复正常,提示 cTx 可能通过抑制 AMA 生成,减轻本病对患者心脏功能的影响。所以在临床上检测 AMA

对判断 SLE 患者是否合并心肌损害有益,同时也指导临床的免疫抑制治疗。

40 例 CHD 患者中,有 1 例阳性,为心肌梗塞后的患者,是否为受损心肌组织导致的自身免疫反应,还有待进一步研究。李凤妹^[13]用同样的方法发现 CHD 患者血清中 AMA 阳性率达 14.3%,提示 CHD 的心脏损害中存在自身免疫反应。

所以这几种心肌病变与自身免疫反应密切相关,检测 AMA 既可了解心肌的损伤情况,又可以指导临床治疗。

参 考 文 献

- [1] Caforio A L, Mahon N J, Tona F, et al. Circulating cardiac autoantibodies in dilated cardiomyopathy and myocarditis: pathogenetic and clinical significance[J]. Eur J Heart Fail, 2002, 4(4):411-417.
- [2] 中华心血管病杂志编辑委员会心肌病心肌炎对策专题组. 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[J]. 中国循环杂志, 2001, 16(4):307-308.
- Cardiomyopathy and Myocarditis Countermeasure Special Subject Group of Editorial Board of Chinese Journal of Cardiology. About diagnostic reference standard in adult viral myocarditis and adopting the definition and classification advice of cardiomyopathy of the World Health Organization and the International Federation of Society of Cardiology Working Group[J]. Chinese Circulation Journal, 2001, 16(4):307-308.
- [3] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会, 中国心肌病诊断与治疗建议工作组. 心肌病诊断与治疗建议[J]. 中华心血管病杂志, 2007, 35(1):5-16.
- Chinese Society of Cardiology, Editorial Board of Chinese Journal of Cardiology, China Cardiomyopathy Diagnosis and Treatment Working Group. Recommendation on diagnosis and treatment of cardiomyopathies[J]. Chinese Journal of Cardiology, 2007, 35(1):5-16.
- [4] No author listed. Guidelines for the diagnosis of rheumatic fever. Jones criteria, 1992 update. special writing group of the committee on rheumatic fever, endocarditis, and kawasaki disease of the council on cardiovascular disease in the young of the American Heart Association[J]. JAMA, 1992, 268(15):2069-2073.
- [5] Hochberg M C. Updating the American college of rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus[J]. Arthritis Rheum, 1997, 40(9):1725-1730.
- [6] 张淑芹, 孙 非, 刘志屹, 等. 病毒抗体、心肌抗体、心肌酶三种检测指标在病毒性心肌炎诊断中的应用[J]. 吉林医学, 2003, 24(6):505-506.
- Zhang S Q, Sun F, Liu Z Y, et al. Coxsackie B viruses IgM, myocardium-mantibody and cardiac enzyme used for viral myocarditis[J]. Jilin Medical Journal, 2003, 24(6):505-506.
- [7] 程 翔, 廖玉华, 苑海涛. 抗心肌抗体消长与病毒性心脏病转化关系探讨[J]. 临床心血管病杂志, 2002, 18(10):494.
- Cheng X, Liao Y H, Yuan H T. Relationship between the rise and fall of antibodies against myocardium and the transformation of viral heart disease[J]. Journal of Clinical Cardiology, 2002, 18(10):494.
- [8] 王 飞. 扩张型心肌病的免疫机制及治疗进展[J]. 甘肃科技, 2011, 27(10):145-147.
- Wang F. Immunologic mechanism and therapy progress in dilated cardiomyopathy [J]. Gansu Science and Technology, 2011, 27(10):145-147.
- [9] 林 玲, 彭晓燕, 乌若丹, 等. 扩张型心肌病抗心肌抗体的临床观察及其针对性治疗[J]. 临床心血管病杂志, 2009, 25(1):12-14.
- Lin L, Peng X Y, Wu R D, et al. Investigation of anti-heart antibodies in patients with dilated cardiomyopathy and targeted therapy[J]. Clinical Journal of Cardiovascular Disease, 2009, 25(1):12-14.
- [10] 周汉建, 程 颖, 陈国庆, 等. 酶免疫斑点法检测心肌抗体结合吸附试验对风湿性心脏病的诊断意义[J]. 中华风湿病学志, 2000, 4(1):47-48.
- Zhou H J, Cheng Y, Chen G Q, et al. Diagnosis significance of adsorption test of myocardial antibody combined with enzyme immune blot assay in rheumatic heart disease[J]. Chinese Journal of Rheumatol, 2000, 4(1):47-48.
- [11] 江 杰, 杨作成, 旷寿金, 等. 抗心肌球蛋白抗体在风湿性心脏病患儿血清中的变化[J]. 中国现代医学杂志, 2003, 13(18):34-35.
- Jiang J, Yang Z C, Kuang S J, et al. Changes of serum anti-myocardial globulin antibody in children with rheumatic heart disease[J]. China Journal of Modern Medicine, 2003, 13(18):34-35.
- [12] 王梅英, 张源潮, 张 维, 等. 系统性红斑狼疮患者抗心肌抗体与心脏病变相关性研究[J]. 中国实用内科杂志, 2007, 27(11):855-856.
- Wang M Y, Zhang Y C, Zhang W, et al. Correlational studies between anti-myocardial antibody and heart disease in patients with systemic lupus erythematosus[J]. Chinese Journal of Practical Internal Medicine, 2007, 27(11):855-856.
- [13] 李凤妹. 间接荧光法测 185 例各种心脏病病人的心肌抗体结果的分析[J]. 实用医技杂志, 2005, 12(1):195.
- Li F M. Analysis of anti-myocardial antibodies in 185 patients with heart diseases detected by indirect immunofluorescence assay[J]. Journal of Practical Medical Techniques, 2005, 12(1):195.

(责任编辑:唐秋姗)