

实验研究报道 ·

白细胞介素6及其受体与病毒性心肌炎关系的实验研究

夏利平, 麦根荣, 李祥民

(武汉大学人民医院儿科, 湖北 武汉 430060)

[摘要] 目的 病毒性心肌炎(VM)目前尚无有效的治疗方法,探讨白细胞介素6(IL-6)、可溶性白细胞介素6受体(SIL-6R)与病毒性心肌炎的关系,并为寻找治疗该病的新方法提供理论依据。方法 通过聚合酶链反应技术选择柯萨奇B病毒性心肌炎患儿31例作为病例组,选择相同例数的同龄健康儿童作为对照组。以酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测实验对象血清中IL-6、SIL-6R α 、SIL-6R β 水平的变化。所测得的实验数据经统计学处理,行 q 检验和相关分析。结果 病毒性心肌炎急性期患儿血清中IL-6、SIL-6R α 、SIL-6R β 浓度均升高($P < 0.01$);病毒性心肌炎恢复期患儿血清中IL-6、SIL-6R α 、SIL-6R β 的水平与正常对照组相比差异无显著性($P > 0.05$);病毒性心肌炎急性期患儿血清中IL-6与SIL-6R α 浓度变化呈正相关($r = 0.771$, $P < 0.01$),SIL-6R β 与IL-6、SIL-6R α 浓度变化均无相关关系。结论 病毒性心肌炎急性期血清中IL-6水平升高,在病毒性心肌炎中发挥炎症防御性作用;SIL-6R α 水平升高,且与IL-6水平变化呈正相关,是IL-6的激动剂,通过扩大IL-6的生物学作用,减少心肌细胞的损害。故血清中IL-6、SIL-6R α 浓度变化可作为VM患者免疫能力监测的指标,并预示IL-6、SIL-6R α 重组分子和激动剂的研制及应用将成为临床上病毒性心肌炎的治疗途径之一。

[中国当代儿科杂志, 2004, 6(2): 149 - 151]

[关键词] 病毒性心肌炎;白细胞介素;受体;细胞因子

[中图分类号] R542.2⁺1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1008 - 8830(2004)02 - 0149 - 03

近年来,病毒性心肌炎(viral myocarditis, VM)的发病率逐年上升,急性病毒感染可引发本病,大多数病人预后良好,但也可因暴发而致猝死,或病后遗留顽固性心律失常、慢性心功能不全、甚则演变为心肌病,严重危害小儿的身心健康。随着对本病研究的不断深入,寻找有效的治疗方法是目前研究的热点。机体免疫失调在本病发生发展中的作用受到普遍关注,白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)是参与免疫调节和炎症反应的重要细胞因子,其复杂的生物学作用是通过白细胞介素6受体(interleukin-6 receptor, IL-6R)介导的^[1]。然而有关IL-6与IL-6R的相关性及后者与VM之间关系的研究尚未见报道。本实验研究检测了31例VM患者血清中IL-6、可溶性IL-6受体(soluble interleukin-6 receptor, SIL-6R)的水平,旨在探讨其变化的相关性及其与病毒性心肌炎的关系,并为治疗本病寻找新的方法提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验对象

病例组:1999年6月至2000年8月我院儿科依据九省市小儿心肌炎协作组拟定的《小儿病毒性心肌炎诊断标准》^[2]收治的病毒性心肌炎63例,经聚合酶链反应技术(检测由本院检验科完成)确诊的柯萨奇B(CoxB)病毒性心肌炎31例作为研究对象,其中男15例,女16例,平均年龄8岁3个月,发病前5~18d均有明确的病毒感染史。临床表现头晕、乏力、精神萎靡、食欲减少、多汗、心慌、心悸、甚至晕倒等。

对照组:31例均系同期本院儿童保健中心健康体检者,排除急、慢性感染性疾病、自身免疫性疾病和心血管疾病的儿童,其中男13例,女18例,平均年龄6岁7个月。

1.2 实验方法及统计学处理

所有患儿分别于入院后24h内和治疗3周后清

[收稿日期] 2003 - 05 - 30; [修回日期] 2003 - 09 - 01

[作者简介] 夏利平(1975 -),女,硕士,住院医师。主攻方向:小儿心血管疾病。

晨空腹抽取肘静脉血 3.5 ml,于 1 h 内以 2 000 r/min,离心 15 min,分离血清置于 - 30 ℃ 冰箱保存,待标本收集齐全,通过双抗夹心 ELISA 法一并检测。

各检测数据均以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,各指标在进行组间比较时,不具方差齐性,故所有数据经对数转换后,VM 急性期、恢复期指标变化与正常对照组指标变化的两两比较用 q 检验,VM 急性期 IL-6 与其可溶性受体 α 及 β 链的相关关系采用相关分析,用 SPSS 软件进行处理。

2 结果

VM 急性期血清中 IL-6、SIL-6R α 、SIL-6R β 浓度较正常组均升高,差异有显著性 ($P < 0.01$);VM 恢复期血清中 IL-6、SIL-6R α 、SIL-6R β 浓度较正常组无明显差别 ($P > 0.05$)。见表 1。VM 急性期血清中 IL-6、SIL-6R α 浓度呈正相关 ($r = 0.771, P < 0.01$),IL-6、SIL-6R α 浓度与 SIL-6R β 浓度无相关关系。

表 1 受检者血清中 IL-6、SIL-6R α 、SIL-6R β 的变化

组别	例数	IL-6 (ng/L)	SIL-6R α (ng/L)	SIL-6R β (μ g/L)
正常对照组	31	10.5 ± 7.6	112.3 ± 50.9	133.0 ± 52.3
VM 急性期	31	259.3 ± 142.9 ^a	233.5 ± 91.9 ^a	376.3 ± 102.5 ^a
VM 恢复期	31	15.9 ± 12.7	123.0 ± 45.6	142.5 ± 80.6

注: a 与 VM 恢复期和正常对照组比较均 $P < 0.01$

3 讨论

病毒性心肌炎发病的第 1 周主要以病毒感染后在心肌细胞内大量复制所造成的直接损伤为主;第 2 周开始以病毒感染后引起的细胞免疫、体液免疫反应介导的心肌细胞的损害为主要致病过程,表现为更广泛的心肌坏死和间质单核细胞浸润。众多的临床及实验研究均已证实,无论在本病的急性期、慢性期甚至在扩张型心肌病的晚期均存在病毒的持续感染。

IL-6 是一种多效型细胞因子,可调节多种组织细胞的生长与分化,不仅在机体的免疫反应、防御机能及造血调控中起重要作用,而且与临床诸多疾病的病理变化密切相关。

在通常情况下,正常人血清中含有的微量 IL-6,认为是内皮细胞持续分泌的结果。在炎症、感染和患有某些肿瘤等情况下,血清中 IL-6 的含量会有不同程度上升。动物实验和流行病学调查均表明,

在病毒感染的急性期,特别是病毒血症期,由于病毒成分的刺激和诱导,造成单核巨噬细胞为主的免疫活性细胞产生大量 IL-6,并释放到血循环中,致血清中 IL-6 含量显著升高。

作为机体的保护机制,血清中 IL-6 的水平升高对机体感染病毒的清除起重要作用^[3]。Lane 等^[4]研究发现用 CoxB₃ 感染抗心肌炎小鼠可产生轻度心肌炎,给予 TNF- α 或 IL-1 后小鼠死亡率和心肌病变明显增加,预后较差。IL-6 能抑制 TNF- α 、IL-1 及 TNF 受体的作用而产生治疗效果。刘亚黎等^[5]动物实验显示:VM 急性期内 IL-6 mRNA 的表达及蛋白定量均明显升高,投入抗 IL-6 抗体后,导致患病小鼠的心肌组织内病毒滴度明显增加,炎症细胞浸润与坏死扩大,生存率有所下降。本实验结果表明,VM 急性期血清中 IL-6 水平显著升高,恢复期渐降至正常水平,进一步证实了 IL-6 在 VM 中的炎症防御性作用。

IL-6R 由两种亚基 α 、 β 链构成,且两种亚基均具有膜结合性和水溶性两种形式。 α 链为特异性配体结合链。 β 链是分子量为 130 KD 的糖蛋白,故又称 gP130,在机体组织中广泛分布,是 IL-6、IL-11 等多种细胞因子的共同信号转导链。近年的研究发现,临床某些疾病往往伴有 IL-6R 系统的表达异常如恶性肿瘤、自身免疫性疾病、骨质病变、心肌病变等。

SIL-6R 是 IL-6R 的一种特殊形式,其产生机制有两种:膜受体脱落。膜受体脱落是形成可溶性细胞因子受体的主要途径,是淋巴细胞活化的表现并受各种因素的调节;mRNA 的不同剪接。通过受体 mRNA 的不同剪接,产生可溶性受体的 mRNA,经转录合成蛋白质后直接分泌到胞外^[6]。本实验结果表明,在 VM 急性期患者血清中 SIL-6R α 、SIL-6R β 浓度均有显著性升高,表明在 VM 急性期,肝细胞、活化的 B 细胞、巨噬细胞、CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞等 IL-6R 阳性细胞在病毒抗原的刺激下,IL-6R 的表达和裂解增加致血清中 SIL-6R 浓度增高。可溶性受体一般具有能有效地拮抗因子的作用,但对于 IL-6、IL-1 等白细胞介素而言,因其配体结合链不具有信号转导功能,与其它细胞因子受体相比,它只掌握了激动剂的部分,故其可溶性受体只能作为因子的激动剂^[7]。

IL-6 在病毒性心肌炎急性期中的作用有赖于其受体来实现。有学者认为,IL-6 必须先与 IL-6R α 结合,形成 IL-6/IL-6R α 复合物后,其构型的改变及纤维结合素型结构的作用,再与 IL-6R β 结合,形成高亲和力复合物,从而发挥信号传导^[8],并通过

两种途径传递生物学信号: JAK 激酶途径;
RAS/ MAP 途径。

一般情况下,血清中 IL-6 活性与 SIL-6R α 水平呈正相关,国外研究表明,SIL-6R α 具有刺激人成纤维细胞合成 IL-6 的能力,且可与内源性或外源性 IL-6 形成复合物,显著上调 IL-6 的合成^[9]。近期,有报告^[10,11]将 IL-6 与其可溶性受体 SIL-6R α 通过基因操作连接起来,得到的融合蛋白,其活性是 IL-6 与 SIL-6R α 协同作用的 100 ~ 1 000 倍,能激活膜 IL-6R β 的信号转导,增强 IL-6 的生物学效应^[13]。

Claudia 等^[10]研究发现,在一些细胞中,IL-6 具有刺激转录因子、急性期反应因子快速激活的作用。为研究 IL-6R α 的生物学作用,将 IL-6R α 转染到 MDCK(Madin-darby canine kidney,MDCK)细胞,发现转染了 IL-6R α 的细胞内急性相蛋白反应因子(APRF)有活性,对照组细胞内 APRF 则无活性,表明了 IL-6R α 能介导 IL-6 的早期反应。研究还发现,gp130 在心肌组织中广泛存在,但 IL-6R α 的含量甚微,SIL-6R α 的存在,使得原来对 IL-6 不敏感的心肌组织成为 IL-6 发挥生物学作用的靶组织^[12],且 SIL-6R α 可作为 IL-6 的载体蛋白,将其转运至有关部位增加局部浓度,从而更加有利于 IL-6 在局部发挥作用并提高 IL-6 在局部的生物学效应。此外,SIL-6R α 与 IL-6 结合可以稳定 IL-6,减慢其衰变,以延长 IL-6 的生物学活性^[13]。

有人^[10]应用 RNA 转印杂交方法研究 mRNA 转录水平内毒素、HrIL-1 β 、HrIL-6 和糖皮质激素对 IL-6R 表达的调节作用,发现在体外培养的肝细胞 HrIL-6 能诱导 IL-6R mRNA 的转录。此外,IL-6R 的独特之处还表现在许多细胞因子受体因其细胞因子的存在而半衰期均有不同程度的缩短,而 IL-6R 不因 IL-6 的存在而发生半衰期的改变。本实验结果发现,在 VM 急性期患者血清中 SIL-6R α 与 IL-6 水平均升高,且浓度变化呈正相关($r = 0.771$),是炎症刺激下启动 IL-6 - SIL-6R 分泌环所致,而血清中 IL-6R β 的水平变化与 IL-6、SIL-6R α 均无相关关系,可能其是多个细胞因子的共同信号转导链,其浓度变化受多种因素影响所致,本研究成果目前国内尚无报道。

实验研究发现,随着炎症消退,病变的心肌组织被吸收,血清中 IL-6、SIL-6R 水平渐降至正常,说明 IL-6 及其受体只在 VM 早期干预其发生发展。

有鉴于此,早期应用 IL-6 及 SIL-6R α 的重组分子能迅速有效清除血循环中及进入心肌细胞内的病

毒,减少其对心肌的直接损害。此外,因病毒快速有效的清除,可避免或减轻病毒相关抗原所引起的体液免疫和细胞免疫反应而导致的心肌损害。预示其重组分子及激动剂的研究应用,将成为 VM 有前途的治疗方法。

[参 考 文 献]

- [1] Salvati AL, Lahm A, Paonessa G, Ciliberto G, Toniatti C, et al. Interleukin6 antagonism by soluble IL-6 receptor α mutated in the predicted gp130-binding interface [J]. J Biol Chem, 1995, 270(20): 12242 - 12249.
- [2] 李家宜. 小儿病毒性心肌炎诊断标准 [J]. 中级医刊, 1994, 39(1): 60.
- [3] 龚非力. 基础免疫学 [M]. 武汉:湖北科学技术出版社, 1998, 116 - 156.
- [4] Lane JR, Neumam DA, Lafond-walker A, Herskowitz A, Rose NR. InterLeukin 1 or tumor necrosis factor can promote Coxsackie B3-induced myocarditis in resistant B10 A mice [J]. J Exp Med, 1992, 175(4): 1123 - 1129.
- [5] 刘亚黎,尾内善四郎. 白细胞介素 6 在病毒性心肌炎发病中的作用 [J]. 中华儿科杂志, 1999, 37(2): 101 - 103.
- [6] L ürgen M ülberg, Heidi Schooltnik, Janja Stoyan. The soluble interleukin6 receptor is generated by shedding [J]. Eur J Immunol, 1993, 23(2): 473 - 480.
- [7] Montero-julian FA, Liautard J, Flavatta S, Romagne F, Gaillard JP, Brochier J, et al. Immunoassay for functional human soluble interleukin6 receptor in plasma based on ligand/ receptor interactions [J]. J Immunol Methods, 1994, 169(1): 111 - 121.
- [8] 刘俊恒,张学光. 白细胞介素 6 受体研究进展 [J]. 国外医学免疫学分册, 1999, 22(2): 108 - 109.
- [9] Peters M, Odenthal M, Schirmacher P, Blessing M, Fattori E, Ciliberto G. soluble interleukin6 receptor leads to a paracrine modulation of the IL-6-induced hepatic acute phase response in double transgenic mice [J]. J Immunol, 1997, 159(3): 1474 - 1481.
- [10] Gerhartz C, Dittich E, Stoyan T, Rose-John S, Yasukawa K, Heinrich PC, et al. Biosynthesis and half-life of the interleukin6 receptor and its signal transducer gp130 [J]. Eur J Biochem, 1994, 233(1): 265 - 274.
- [11] 段聚宝,王嘉玺. 白细胞介素及其受体研究概况 [J]. 国外医学分子生物学分册, 1999, 27(1): 35 - 39.
- [12] Gaillard JP, Bataille R, Brailly H, Zuber C, Yasukawa K, Attal M. Increased and highly stable levels of functional soluble interleukin6 receptor in sera of patients with monoclonal gammopathy [J]. Eur J Immunol, 1993, 23(4): 820 - 824.
- [13] Peters M, Jacobs S, Ehlers M, Vollmer P, Mullberg J, Wolf E, et al. The function of the soluble interleukin6 (IL-6) receptor in vivo: sensitization of human soluble IL-6 receptor transgenic mice towards IL-6 and prolongation of the plasma half-life of IL-6 [J]. J Exp Med, 1996, 183: 1399 - 1406.

(本文编辑:吉耕中)