

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 24520141153506

厦 门 大 学

硕士学位论文

心肌炎中高密度脂蛋白(HDL-C)异常及对
炎症程度影响的初步探讨

The preliminary study of the High-density Lipoprotein
(HDL - C) changes on Myocarditis and possible mechanism

吴阳

指导教师姓名: 王焱 教授

专业名称: 内科学

论文提交日期: 2017年4月

论文答辩日期: 2017年5月

2017年 月

厦门大学博硕士学位论文摘要库

心肌炎中高密度脂蛋白(HDL-C)异常及对炎症程度影响的初步探讨

吴阳 指导教师 王焱 教授

厦门大学

2.5cm

2.5cm

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

摘要

【目的】心肌炎是指各种原因引起的心肌的炎症性病变，轻症患者无任何症状，而重症患者可发生心力衰竭、心源性休克甚至猝死，目前其发病机制仍未完全明确，临床上也没有特异性的治疗手段。血脂代谢紊乱在动脉硬化性心血管病中的研究较多，但在心肌炎中的作用研究较少。本课题拟对心肌炎中的血脂代谢情况进行初步探讨，并进一步与心肌炎的炎症程度进行相关性分析，为心肌炎诊断和治疗提供新思路。

【方法】本研究分两部分内容：（一）临床研究：选取 2013-2016 年入住我院诊断明确的急性心肌炎患者，对照组选取健康体检患者，分为急性心肌炎组 $n=110$ ，正常对照组 $n=30$ ，对炎症指标 CRP、心肌损伤标志物 CK-MB/cTnT 水平、心衰指标 BNP、心脏彩超和血脂指标进行分析。留取患者血清，进一步应用 bio-plex 蛋白芯片技术对 15 种炎症因子进行同步检测。（二）动物研究：制作 EAM 模型，分析 EAM 大鼠血脂水平的变化，并对 EAM 大鼠血脂水平进行干预，对血脂水平、炎症程度、心肌损伤程度及心肌纤维化水平进行评估，观察 EAM 大鼠中血脂水平变化及干预后的疗效。

【结果】（一）临床研究：与对照组相比，心肌炎病人组 CRP、心肌损伤标志物 CK-MB/cTnT、心衰指标 BNP 明显升高，心脏彩超显示心功能明显降低；约 50% 心肌炎患者表现为以 HDL 降低为主的血脂代谢紊乱，进一步将 HDL 与 cTnT 进行线性回归分析发现，HDL 与 cTnT 呈负性相关，即 HDL 水平越低，cTnT 水平越高；Bio-plex 结果显示心肌炎患者 IL1 β 、IL6、IL17A、IL31、CD40 和 TNF α 显著增高，HDL ≤ 1 MMOL/LTNF α 较高。

（二）动物实验：EAM 大鼠急性期（2w，3w，4w）表现出与心肌炎病人同样的以 HDL 降低为主的血脂代谢紊乱，以 2w 降低较明显；进一步给予升高 HDL 药物非诺贝特治疗后，血清 HDL 水平显著升高，心肌炎炎症程度及心功能得到明显改善，炎症浸润程度及炎症因子分泌明显下降、心肌损伤减轻、心肌纤维化水平降低。

【结论】心肌炎病人和 EAM 大鼠中均发现 HDL 显著降低及炎症因子显著升高，且 HDL 与心肌损伤标志物 cTnT 呈线性相关关系，给予升 HDL 药物非诺贝特可

以明显减轻心肌炎症程度，其机制可能与抑制炎性因子表达有关。

关键词：心肌炎；血脂代谢；高密度脂蛋白

厦门大学博硕士论文摘要库

Abstract

【Objective】 Myocarditis is an inflammatory heart disease that poses many risks to humans. It is progressive, can cause severe heart failure, arrhythmia, shock, and death. The pathogenesis of myocarditis is not clear now and there is no specific treatment for myocarditis. Dyslipidemia plays an important role in the pathogenesis of atherosclerosis and other cardiovascular disease. However, rare research pay attention to dyslipidemia in myocarditis. We make a preliminary study on the dyslipidemia in myocarditis, and analyze the correlation between lipids and myocarditis. In order to find a new way for the diagnosis and treatment of myocarditis

【Methods】 In clinical experiments, we examined basic information included myocardial damage markers CK-MB/cTnT levels, heart function index BNP, echocardiographic index, and blood lipids of 110 myocarditis patients in Xiamen cardiovascular hospital Xiamen university. Then examined 15-inflammation cytokines of plasma with Bio-Plex Suspension Array System. In animal experiments, we making EAM model, then analysis of lipid levels in animal models. Found out lipid levels of rats changed as myocarditis patients. What's more, improve of HDL level improves cardiac functions in rats. Inflammatory factors, myocardial injury factors, fibrosis factors also improved in EAM rats.

【Results】 Compared with control group, myocarditis group showed increased of inflammation, myocardial injury markers CK-MB/cTnT and cardiac function indexes BNP. The entire echocardiographic index worse than the control group. Lipid levels also have changed, mainly HDL decreased. Further analysis found out that HDL significantly lower than myocarditis group, and have linear correlation with cTnT. The lower HDL levels, the higher cTnT levels. Animal experiments show the same situation in EAM rats. HDL lower than control group. Increase of HDL after treatment with fenofibrate, inflammation, myocardial damage, and myocardial fibrosis index improved significantly.

【Conclusion】 HDL decreased significantly in patients with myocarditis as well as the

increase of inflammation. The HDL have linear correlation with myocardial injury markers cTNT. HDL have a protective role in myocarditis, raise HDL can be reduce myocardial injury. This research improve the prognosis of myocarditis and a potential therapeutic target.

Key words: Myocarditis; HDL; inflammation

厦门大学博硕士论文摘要库

目录

摘要.....	I
Abstract.....	III
第一章 前言	1
1.1 心肌炎简介	1
1.1.1 心肌炎发病机制.....	1
1.1.2 心肌炎病理过程.....	1
1.2 细胞因子在心肌炎中的作用	2
1.2.1 炎症因子在心肌炎中的作用.....	2
1.2.2 纤维化因子在心肌炎中的作用.....	3
1.3 心肌炎诊治进展	4
1.4 实验性自身免疫性心肌炎 EAM 动物模型	6
1.4.1 大鼠自身免疫性心肌炎模型.....	6
1.4.2 小鼠自身免疫性心肌炎模型.....	7
1.5 血脂代谢紊乱	8
1.5.1 血脂代谢.....	8
1.5.2 血脂代谢紊乱与自身免疫性疾病.....	8
1.5.3 血脂代谢紊乱与心肌炎.....	10
1.6 本课题主要研究思路	10
第二章材料及方法	12
2.1 临床研究	12
2.1.1 病例收集.....	12
2.1.2 血清采集.....	12
2.1.3 Bio-plex 实验方法.....	12
2.1.4 琼脂糖凝胶分离血浆脂蛋白定量.....	13
2.1.5 血清 PON 活性测定.....	13

2.2 动物实验	14
2.2.1 实验动物.....	14
2.2.2 动物模型构建及药物治疗.....	14
2.2.3 试剂与仪器.....	15
2.2.4 EAM 动物模型标本收集.....	17
2.2.5 实验方法.....	17
2.3 统计分析	28
第三章实验结果	29
3.1 临床数据统计结果	29
3.1.1 患者基本检测指标.....	29
3.1.2 HDL 与各项指标的相关性分析.....	31
3.1.3 血清 Bio-plex 结果.....	38
3.2 动物实验结果	42
3.2.1 自身免疫性心肌炎大鼠模型建立与检测.....	42
3.2.2 心肌炎大鼠中血脂指标.....	43
3.2.3 升高 HDL 药物非诺贝特治疗效果.....	44
第四章 展望与讨论	53
附录	56
参考文献	57
致谢	62

Contents

Abstract in Chinese	I
Abstract	III
Chapter 1 Introduction	1
1.1 Introduction of myocarditis	1
1.1.1 The pathogenesis of of myocarditis	1
1.1.2 Myocarditis pathological process	1
1.2 Cytokines in myocarditis	2
1.2.1 Inflammation factors in myocarditis.....	2
1.2.2 Fibrosis factors in myocarditis.....	3
1.3 The diagnosis and treatment of myocarditis	4
1.4 Model of experimental autoimmune myocarditis	6
1.4.1 Rat experimental autoimmune myocarditis model	6
1.4.2 Mice experimental autoimmune myocarditis model	7
1.5 Metabolism disorder of blood lipid	8
1.5.1 Lipids metabolism	8
1.5.2 Dyslipidemia and autoimmune disease	8
1.5.3 Dyslipidemia and myocarditis.....	10
1.6 Research design	10
Chapter 2 Materials and methods	12
2.1 Clinical study	12
2.1.1 Case collection	12
2.1.2 Serum collection	12
2.1.3 Methods of bio-plex	12
2.1.4 Plasma lipoprotein quantification.....	13
2.1.5 Determination of serum PON1 activity.....	13

2.2 Animal study	14
2.2.1 Experimental animals.....	14
2.2.2 Induce and treatment of EAM rats	14
2.2.3 Reagent and instrument	15
2.2.4 Treatment of samples	17
2.2.5 Methods	17
2.3 Statistical analysis	28
Chapter 3 Results	29
3.1 Results in clinic	29
3.1.1 Basic information.....	29
3.1.2 Correlation analysis of HDL	31
3.1.3 Bio-plex results	38
3.2 Results in animals	42
3.2.1 Induce and exam of EAM rats	42
3.2.2 Lipid in EAM rats	43
3.2.3 Treatment of EAM rats with fenofibrate.....	44
Chapter 4 Discussion	53
Appendix	56
References	57
Acknowledgement	62

第一章 前言

1.1 心肌炎简介

1.1.1 心肌炎发病机制

心肌炎是指心肌的局限性或弥漫性的炎性病变为主要表现的疾病^[3]，各种各样的病毒、立克次体、细菌、原虫等感染均有可能引发心肌炎，文献认为病毒感染是暴发性心肌炎最常见病因^[4]，但并不是所有的心肌炎患者都有前驱感染，特别是病毒感染的证据，可能的发病机制为，疾病初期病毒在心肌细胞内的复制和细胞因子激活，导致心肌细胞损伤和凋亡^[5]。免疫系统在处理凋亡的心肌细胞时，对心肌细胞内相关抗原异常反应，机体免疫系统异常应答，自身的免疫反应引发心肌细胞的进一步破坏，T 细胞活化可释放多种细胞因子，如肿瘤坏死因子，白细胞介素-1、白细胞介素-6^[6]，进一步加重心肌的损伤。诱导更多的炎症细胞浸润心肌组织，进而导致组织水肿和心脏功能异常。持续的炎症损害致使左心室扩张和重构^[7]，收缩功能障碍。甚至出现广泛或局部的心肌细胞或心肌组织坏死，病情严重者会出现心脏泵血功能的严重衰退^[8,9]。心肌炎根据临床表现可分为急性心肌炎和爆发性心肌炎，根据病因可分为感染性、免疫介导性和中毒性心肌炎^[10]，但均以免疫系统异常应答将心肌组织作为“异物”攻击，导致心肌组织炎细胞浸润和心肌细胞损伤，进一步诱发瀑布式免疫应答为主要发病原因。

1.1.2 心肌炎病理过程

心肌炎的病理过程一般可被分为 4 个时期：第一期，各种可能引起心肌炎症的物质，如病毒、细菌、立克次体等，促进心肌细胞坏死，心脏功能紊乱。病毒、细菌、免疫物质等可与心肌细胞表面受体的结合或者内吞，内吞的病毒、细菌等在心肌细胞内进一步复制，进一步引起心肌细胞骨架蛋白的异常，致使心肌收缩功能降低，细胞完整性丧失使细胞膜通透性增加，促进细胞凋亡^[11]。第二期：炎症细胞识别浸润。炎症细胞识别受损的心肌细胞，浸润到心肌组织，引起一系列炎症因子的释放，比如 IFN- γ 、IL-1、IL-2、TNF- α 和弹性蛋白酶，肿瘤坏死因子和白介素激活巨噬细胞、淋巴细胞和内皮细胞，促进病毒等的清除^[12]，炎症因子分泌的增加，促进了心肌细胞的进一步损伤。弹性蛋白酶可以破坏内皮细胞的完

整性，炎症因子可通过受损的血管内皮，诱发进一步的损伤，内皮的损伤又会使血管进一步收缩和通透性增加，而这一切都加重了心肌组织周围中性粒细胞的渗出，弹性蛋白酶的释放及细胞的坏死^[13]。除了细胞因子外，NO 等小信号分子也在心肌炎的病理过程中也起到很重要的保护作用，特别是患者免疫功能不良时，NO 信号通路受损会使细菌感染风险增加，心肌损伤更严重^[14]。第三期：炎症因子进一步激活细胞免疫，诱导免疫细胞进一步聚集。以辅助性 T 细胞和细胞毒性 T 细胞为主的抗原提呈细胞，在细胞因子的诱导下，为清除病毒等物质，进一步聚集到病灶处；部分有活性的 T 细胞在清除坏死的心肌细胞过程中，提呈心肌相关抗原，而这部分抗原与正常心肌细胞表面抗原相类似，可能导致免疫系统的错误认识；同时由活化的 B 细胞在产生的自身抗体过程中，可能会根据活化 T 淋巴细胞的错误提呈，产生针对正常心肌细胞的抗体，研究发现，钙离子的超载对这一过程的作用起促进作用^[15]。第四期：炎症的转归。若炎症早期能得到控制，由于其自限性，则可痊愈，否则，则转化为慢性心肌炎、心肌纤维化、持续的心室收缩功能障碍、扩张型心肌病至终末期心衰^[16]。

1.2 细胞因子在心肌炎中的作用

1.2.1 炎症因子在心肌炎中的作用

心肌炎的发病机制与免疫细胞分泌的炎性因子失衡密切相关，免疫应答是心肌炎的重要阶段^[17]，细胞介导的免疫反应在心肌炎的发展中发挥重要的作用。心肌炎早期，主要的浸润细胞为单核细胞、巨噬细胞和 T 淋巴细胞。浸润的淋巴细胞可以分泌大量细胞因子，诱导心肌细胞的损伤和凋亡。主要的细胞因子包括 Th1、Th2、Th17 细胞因子，其中 Th1 辅助细胞主要通过执行细胞分别为分泌 IgG 的 B 细胞、CD8⁺T 细胞、分泌 IFN γ 的 CD4⁺ T 细胞和巨噬细胞等，Th1 免疫反应所对应的是第四型自体免疫疾病^[18]，Th1 过分激活将会产生巨噬细胞性自体免疫疾病^[19]。在疾病过程中起主要作用的细胞因子是伽马干扰素（IFN- γ ）、肿瘤坏死因子（TNF- α 、 β ）、白细胞介素 2（IL-2）等。例如 IFN- γ 可以通过活化并增强巨噬细胞其杀伤病原体，同时 IFN- γ 还可以促进生成 IgG；而 TNF- α 本质是由激活的巨噬细胞分泌产生的一种细胞因子，在炎症反应中常常可以测得其表达增加，可以直接杀伤肿瘤细胞并且对正常细胞无明显毒性^[20]。

Th2 辅助细胞在免疫调节当中可以分泌如 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-19、IL-20、IL-22、IL-24、IL-26 等诸多细胞因子^[18]。其中细胞因子 IL-4 由 T 淋巴细胞分泌，对 B 细胞的生长起到促进作用，增强 B 细胞抗原递呈的能力，因此 IL-4 也曾被称为 B 细胞刺激因子，同时还可以促进 IgG、IgE 的分泌、增强巨噬细胞表达 MHCII、增强 G-CSF、M-CSF、EPO 以及 IL-3 等的促克隆形成作用；其次 IL-4 可以通过诱导内皮细胞表达血管细胞粘附分子-1，因此对淋巴细胞的迁移也具有一定的意义^[21]。由于 IL-4 可以抑制巨噬细胞分泌 TNF、IL-1 和 PG-E2，提示它具有抗炎作用，所以在临床中 IL-4 常被当做抗炎因子而对机体的炎症反应起到提示作用。而细胞因子 IL-6 的重要作用主要有以下几点^[22]：可以诱导 B 细胞分化；诱导单核细胞分化；诱导 IL-2 和 IL-2 受体表达。IL-6 可以与 IL-1、TNF α 一起协同促进 T 细胞的增殖，这可能与 T 细胞 IL-2 受体的上调有关；IL-6 还可以诱导机体合成急性期蛋白，其中以 C-反应蛋白以及淀粉状蛋白 A 增加最为明显，参与炎症反应，在人体中某些肿瘤细胞，常常通过分泌 IL-6 作为自身生长因子来刺激自身的生长。一般在生理浓度下，IL-6 对免疫细胞的自分泌作用相对比较弱，这提示了 IL-6 主要是通过加强其他细胞因子来达到自身的免疫学功能。

Th17 辅助细胞则是在 IL-6、IL-23 等刺激下分化成的辅助 T 细胞，可以分泌 IL-17A、IL-17F、IL-22 等促炎细胞因子^[23]，在许多炎症反应及自身免疫性疾病中具有重要的作用。IL-6、IL-23 和 β 转化生长因子(TGF β)都可以促进 Th17 细胞的分化形成，而 IL-2、IL-4、IFN- γ 等细胞因子则会一直 Th17 细胞的分化^[24]。其中 IL-17 细胞因子可以起到强大的招募中性粒细胞的作用，并介导中性粒细胞动员，由于其能够促进许多细胞释放相应的炎症因子来放大炎症反应，因此常被认为是前炎性细胞因子，可以促进 T 细胞的激活以及刺激内皮细胞、成纤维细胞、上皮细胞等分泌多种细胞因子，如粒细胞-巨噬细胞刺激因子、IL-6、IL-8 等，从而导致炎症的产生。

1.2.2 纤维化因子在心肌炎中的作用

心肌炎后期可进展为扩张型心肌病，主要的机制可能为，前期心肌细胞损伤和凋亡，为了填补坏死的心肌组织，成纤维细胞进入损伤区域，分泌胶原纤维。胶原组织弹性较差，不能很好的实现泵血功能，回缩能力弱，心脏逐步扩大。与心肌纤维化相关的炎症因子有很多，除了前叙的炎症因子外，最重要的对心肌纤

维化作用最大的炎症因子为 TGF β ，它介导的 TGF β 信号通路，在心肌炎后期纤维化中起重要作用^[25]，有研究表明，下调 TGF β 水平，可以有效抑制自身免疫性心肌小鼠纤维化水平，TGF β -smad 信号通路来实现对心肌纤维化的抑制^[26]。活化的 TGF- β 1 能使 Smad 2/3 磷酸化，并进入细胞核，诱导心肌成纤维细胞分化成为有纤维分泌功能的细胞，研究表明，TGF- β 介导的 Smad 磷酸化主要由 NADPH 参与。在病理状态下，Smads 与 MAPK 通路、核转录因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B) 通路相均有密切关系，能通过改变上述信号通路的磷酸化水平，影响下游表达序列，进一步改变细胞病理功能^[27]。Smad 2/3 对 TGF- β 的表达还有反向负性调节。总之，TGF β 在心肌纤维化中的作用已得到认可，但不同药物对 TGF β 的作用及相应的作用机制还有待进一步研究。

TGF β 作为心肌纤维化上游因子，在激活后，可以进一步促进胶原纤维的分泌，目前应用较多的纤维化细胞因子有：金属金属蛋白酶组织抑制因子(TIMP)、心肌纤连蛋白(FN)、半乳糖凝素-3 (Galectin-3)，特别是半乳糖凝素-3^[28]，近年来，被认为是心肌纤维化的新型标志物，在心肌梗死、高血压病等心血管疾病导致的心肌纤维化中，都发挥重要作用。

1.3 心肌炎诊治进展

2013 年欧洲心脏病年会 (ESC) 提出临床诊断心肌炎的标准^[29]：(1) 临床表现：①急性的胸痛，②数天至 3 个月新出现的心衰或心衰症状，③心悸，无明显诱因而出现的心律失常、心源性猝死或晕厥，④不能解释的心源性休克；(2) 辅助检查：①心电图的改变：ST-T 的改变、异常 Q 波、房室传导阻滞、室上性心动过速等，②心肌损伤标志物升高：肌钙蛋白 I 或 T 的升高，③影像学检查(超声心动图或心脏磁共振)显示，心脏结构和功能出现异常，④心脏核磁共振证实，心肌组织学的炎症特征：T2WI 示心肌水肿和 (或) 心肌延迟强化扫描呈强化信号。疑似的心肌炎的诊断标准：有大于等于 1 个临床表现，并有辅助检查大于等于 1 项辅助检查异常者；若无临床症状，则需符合至少 2 项项辅助检查异常者；但同时均应排除其他疾病^[30]。

TnI 和 CKMB 是临床上常用的表示心肌损伤的血清学指标，长期以来，也作为诊断暴发性心肌炎的诊断指标，文献报道，心肌炎中出现 TnI 峰值，表明有

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士学位论文摘要库