

病毒性心肌炎猝死相关机制研究进展

刘明 王慧君(综述)

【关键词】 心肌炎,病毒性; 猝死; 研究进展

猝死(sudden death)是指貌似健康或症状不明或病情稳定的人,由于体内潜在的器质性病变或器官功能突然改变而发生意料不到的突然自然死亡,是临床及法医尸检中常见的现象,心脏性猝死为其中重要的一种。据新近统计,美国 35 岁以上因心脏病死亡的患者中约有 63% 属于心脏性猝死^[1]。在英国一项全国调查中,16~64 岁成人因心脏及某些不明原因猝死发生率已达 11/10 万^[2]。在澳大利亚,35 岁以下的青壮年心脏性猝死约占总死亡率的 6.5%^[3]。

病毒性心肌炎(viral myocarditis, VMC)是由病毒感染引起的心脏病,近年来显示在儿童和青少年中的发病率呈逐年上升趋势,已逐步成为儿童和青少年猝死的一个重要原因,据国外统计,已占青少年猝死的 10%~44%^[4-5]。目前关于 VMC 及其猝死的确切机制仍不十分明确,但大量研究表明,发生心脏性猝死的机制主要为致死性心律失常,包括室性心动过速(室速)、心室纤颤(室颤)、严重房室传导阻滞等。这些心律失常通常以组织及心电结构异常为病理基础,并由某些因素导致的心脏功能异常所触发。多数认为 VMC 病变累及心肌和传导系统,引起重度房室传导阻滞、严重室性心律失常以及心脏自主神经功能极度紊乱可能是其猝死的主要原因。这是一个复杂的心电异常过程,伴随着大量蛋白质分子和基因的异常表达及相关信号转导异常^[6]。因此,对 VMC 猝死,特别是其相关机制的研究已引起了人们极大的关注。现就近年来该方面国内外研究进展进行综述。

1 VMC 猝死的相关分子病理学机制

众多研究表明,病毒侵入心肌细胞

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30370588)

作者单位:510515 广州,南方医科大学附属南方医院病理科

作者简介:刘明(1980-),男(汉族),湖北省十堰市人,博士研究生。

后会直接损害心肌,导致心肌细胞膜损伤,通透性增加,引起细胞死亡。另外,病毒感染心肌后不久,巨噬细胞、自然杀伤细胞(NK 细胞)、T 细胞等也相继侵入,它们一方面发挥抗病毒作用,另一方面介导细胞免疫和自身免疫,对心脏结构和功能造成一定的损害。这些免疫细胞或心肌细胞分泌大量因子,诱导相关基因的改变,引起信号转导的异常,从而参与猝死的发生。

1.1 诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)过表达:研究表明,在 VMC 病程中,伴有 iNOS 和一氧化氮(NO)的异常表达,其过表达可能在 VMC 及其猝死发病中起着重要的作用。Glück 等^[7]研究了 iNOS 在小鼠柯萨奇病毒 B3(CVB3)-VMC 模型中表达的变化以及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 α (IL-1 α)、 γ -干扰素(IFN- γ)、转化生长因子- β (TGF- β)的表达。结果表明,iNOS 在所有观察时间段均显著表达,其中 4~28 d 表达最为明显,同时 NO 水平在 7~28 d 升高;TNF- α 、IL-1 α 、IFN- γ 分别在感染后的 1、4、7 d 开始出现;TGF- β 表达与 iNOS 同步;原位杂交和免疫组化显示,在炎症局部,血管内皮细胞、平滑肌细胞、心肌细胞和几乎整个心肌纤维间质均有 iNOS 的表达。Reiss 等^[8]发现 NO 能在早期抑制病毒复制,防止病毒传播,促进机体康复。还有学者认为,iNOS 是免疫系统中一种作用迅速、有活性的非特异性成分,能抑制病原体的生长,从而在小鼠 CVB 心肌炎中起保护作用^[9]。然而,大量研究又发现,通过抑制 iNOS 合成 NO 来调节炎症反应,可降低 VMC 小鼠死亡率,减少心肌细胞坏死程度,认为 VMC 时,iNOS 诱导的 NO 能损伤心肌细胞。Mungrue 等^[10]对 iNOS 心肌特异性过表达转基因 iNOS+/ α MtTA+小鼠的研究表明, iNOS+/ α MtTA+小鼠存在明显的 P 波延迟和 PR 间期延长,房室结组织学检查显示炎性细胞浸润,坏死、纤维化、钙化并不明显,然而乙

酰胆碱酯酶(AChE)活性和心肌细胞缝隙连接蛋白 Connexin(Cx)40 的表达与对照组差异有显著性,表明 Cx40 表达降低可能有助于 iNOS+/ α MtTA+小鼠的心电紊乱。同时,房室结炎性细胞浸润,ONOO⁻和 O₂⁻产物增加也可能促进心电紊乱的发生,而这种心电传导紊乱与 iNOS 过表达导致的猝死直接相关^[10]。推测 iNOS 的过表达可能是心脏性猝死的关键事件。

总之,大部分学者认为,在 VMC 早期 NO 可能通过抑制病毒复制而阻止病毒的播散,促进宿主康复。随后,一些细胞因子(如 IFN、TNF、IL-1 等)以及细菌脂多糖(LPS)等诱导 iNOS 的产生,从而生成大量 NO,NO 可能通过以下机制损伤心肌细胞,影响心脏功能,导致猝死:①直接抑制心肌收缩力;②影响心肌交感和副交感神经作用的反应;③促进心肌细胞的凋亡;④抑制细胞呼吸;⑤作为信号分子,影响基因转录 mRNA 翻译和蛋白质翻译后的加工;⑥导致离子通道异常;⑦心电传导紊乱等^[11]。

1.2 心电传导异常:主要包括病变引起的心肌传导系统异常以及细胞间缝隙连接异常等。近年来对 Cx 的研究提示,Cx 表达异常很可能是 VMC 猝死中的关键事件。国内朱有法等^[12]对 VMC 时心肌 Cx43 表达情况进行了相关研究,结果表明,在心肌坏死区域,Cx43 呈阴性表达;在心肌坏死灶周围及炎症细胞浸润灶附近,Cx43 表达明显减弱。国外 Gutstein 等^[13]通过特异性敲除小鼠 Cx43 基因发现,这些小鼠具有正常的心脏结构和收缩功能,然而在 2 个月内全部因自发性室性心律失常而猝死,并且这些小鼠的心室传导速率明显减慢,认为 Cx43 的表达异常可能在心律失常和猝死中起关键作用。

1.3 离子流的异常:离子流的异常是引起恶性心律失常从而导致猝死的重要机制之一,其中包括 Na⁺、K⁺、Ca²⁺等离子通道的异常以及通道调节的异常等,其

中钙离子流的异常显得尤为关键^[11]。近年来,大量研究开始关注与 Ca^{2+} 的调节、贮存、释放、转运相关蛋白等与心脏性猝死的关系。例如,钙网蛋白(calreticulin, CRT)的过表达导致 Ca^{2+} 内流的明显减少,心肌 Cx43 和 Cx40 的表达明显降低,从而影响窦房结和房室结的去极化延迟,传导减慢,引发心电产生及传导紊乱,最终导致传导阻滞和猝死的发生^[15]。心脏钙释放通道基因(ryanodine receptor, RyR2)突变可导致室性心动过速和猝死^[16];贮钙蛋白(calsequestrin, CASQ2)基因的突变也与心脏性猝死有关系^[17]。

1.4 其他相关蛋白、基因的表达异常: Taylor 等^[18]运用 cDNA 微阵列、原位杂交等方法对 CVB3 感染的心肌细胞进行分析,结果显示,在早期病毒复制阶段,编码聚合酶 A 结合蛋白、异种核蛋白(hnRNP)、泛醌特异蛋白酶(UBP11)、无机焦磷酸盐的基因表达上调,磷酸转移酶 N-转甲基酶表达下调,在宿主防御阶段,发现编码溶血磷脂酶和磷酸转移酶 N-转甲基酶的基因下调。Yang 等^[19]在 CVB3 感染的 A/J 小鼠中筛选出 5 个候选基因,表现为编码 β 球蛋白、cAMP 反应结合蛋白(CBP)以及 Nip21 基因的下调,编码诱导型三磷酸鸟苷(IGTP)酶、尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸脱氢酶 1 基因的上调。这些基因的异常表达可能会导致心肌细胞表达异常的蛋白,从而引起功能的异常,另外还有一些研究也发现,Sox6 基因的突变、线粒体 DNA(mtDNA)突变都可能与 VMC 猝死相关。

1.5 辅助 T 细胞(Th)失衡及细胞因子的作用:研究证实,在 VMC 及其猝死时,Th 失衡和大量细胞因子异常表达起着较为关键的作用。日本的 Fuse 等^[20]通过研究发现,Th 亚群平衡可能在急性 VMC 发病及发展中起重要作用。Th1 主要在急性炎症阶段起作用,此阶段肌酸激酶(CK)水平增高;而 Th2 主要在恢复阶段起作用,此期伴有 CK 活性下降。Huber 等^[21]用基因敲除和抗体封闭方法研究了 C57BL/6 小鼠和 Bl. Tg. Ea 小鼠对 CVB3 介导心肌炎的易感性。其结果表明:V γ 1⁺T 细胞抑制其易感性,而 V γ 4⁺T 细胞增强其易感性;进一步的 Th 细胞亚型分类显示,V γ 1⁺T 细胞主要使 CD4⁺T 偏向 Th2 反应,而 V γ 4⁺T

细胞使 CD4⁺T 偏向 Th1 反应。CVB3 通过影响 CD4⁺T 和 CD8⁺T 介导的免疫反应而决定其致病性,V γ 4⁺T 细胞通过 IFN- γ 和 CD1 依赖的机制增加 CD4 Th1 细胞的活性,而 CD4 Th1 细胞有助于 CD8⁺ $\alpha\beta$ TCR⁺的激活。

TNF 被证明是 VMC 发病机制中致心肌损伤的重要因素之一,它可以在体内外直接或间接损伤心肌细胞,其机制可能是通过破坏心肌细胞内钙稳态而导致细胞死亡或功能下降而起作用^[22]。Wessely 等^[23]研究发现,IFN-1 信号在防止 CV 导致的 129SvJ 小鼠早期死亡中是必需的,并认为 IFN 系统能够调节病毒的致病性和组织取向。Lim 等^[24]直接在患 VMC 小鼠的体内注射质粒载体表达 IL-1 受体拮抗剂(hIL-1Ra)。结果显示:hIL-1Ra 在心脏的表达能够调节 VMC 免疫反应损害,hIL-1Ra 过表达可以提高存活率,减少炎症反应,抑制病毒复制并预防纤维化的发生,认为 IL-1 和 IL-1Ra 在体内平衡是决定宿主对感染的重要因素,IL-1 β 可能是通过 iNOS 诱导过量的 NO 而起到负性肌力和细胞毒作用,同时可能通过激活纤维原细胞从而参与心肌损伤后的重塑。外源性注入 IL-2 对 VMC 进行治疗能明显加重心肌的损害,而用重组 IL-10 对 VMC 进行治疗能较好地提高生存率,推测可能是 IL-10 抑制了淋巴细胞释放 IL-2。Fairweather^[25]的研究则显示,IL-12R β 1 和 TLR4 加剧了 CVB3 的感染,而 IFN- γ 则抑制病毒的复制;IL-12R β 1 和 TLR4 作用明显相似,表明它们可能拥有相同的下游通道,影响 IL-1 β 和 IL-18 的表达。

2 VMC 猝死的相关触发机制

2.1 神经体液因素:近年来的研究表明,自主神经系统与致命性心律失常密切相关。实验发现心肌炎猝死者心律变异性下降,心脏自主神经功能出现紊乱,导致室颤阈值和心肌电生理稳定性下降,触发心律失常及心脏性猝死。高交感、低迷走神经张力可导致室颤而触发猝死。体液因素主要是体内儿茶酚胺分泌增加,使室颤阈值降低,浦肯野纤维自主性增高,心肌纤维复极不一致,形成折返激动而发生室颤致猝死。最近有研究认为 β 2 受体在此过程中发挥着重要作用。Lowe 等^[26]发现, β 2 受体激动剂在人类心肌具有重要的电生理作用,认为儿

茶酚胺可能通过激动 β 2 受体来提高心肌复极离散度,触发心律失常导致猝死。

2.2 心肌的急性炎症及纤维化瘢痕: Aviles 等^[27]研究认为,炎症是导致心房颤动的危险因素,从而可能引发猝死。Hoffman 等^[28]研究急性炎症的心律失常,并首次证明在去极后早期中性粒细胞的激活起着极其关键作用,这个结果显示了急性炎症和电生理现象的直接联系,提示这可能是触发心律失常的机制之一。纤维化是已知引起心电传导减慢的主要因素,导致产生心律失常的物质再进入循环,随后使心室去同步化,触发猝死^[29]。

2.3 其他因素:很多药物可能会通过改变神经冲动传导及其负性心肌变时性等机制触发恶性心律失常的发生,从而导致猝死^[30]。同时,运动、妊娠等均可能触发 VMC 猝死。

3 问题与展望

VMC 猝死已成为儿童和青少年死亡的一个不可忽视的因素,特别是其症状隐匿、发病突然、诊断困难等特点加重了其危害性。因此,加快对 VMC 猝死的临床及基础研究就显得尤为迫切。然而,目前仍有大量的关键问题亟待解决,比如:寻找 VMC 猝死更加准确、有效的诊断预测指标;建立统一的诊断标准;如何预测 VMC 向猝死发展;查明猝死发生及触发的确切机制;猝死过程中伴随哪些基因、蛋白的改变,各起什么样的作用等。新近的研究已表明:iNOS、Cx、CRT、RyR2 等异常表达可导致心脏性猝死的发生,推测这可能也是 VMC 猝死中的一个关键事件,分别以此为中心探索其上下游分子及相关基因的表达,总结它们的相互作用及相关信号转导通路,可能会为揭示 VMC 猝死的分子机制提供一些新思路,为防治心肌炎猝死提供一些新的分子靶点。同时,随着生物学技术的发展,运用基因芯片对 VMC 猝死及 VMC 心肌细胞及传导组织进行 mRNA 差异性分析,鉴定其下游蛋白及其表达情况,筛选 VMC 猝死的有意义基因、蛋白,运用蛋白质组学筛选鉴定差异表达蛋白并进行验证,以此探讨其在 VMC 猝死中的作用,将有可能从分子水平全面揭示 VMC 猝死的相关机制^[31]。

参考文献:

- 1 Zheng Z J, Croft J B, Giles W H, et al.

- Sudden cardiac death in the United States, 1989 to 1998 [J]. *Circulation*, 2001, 104: 2158.
- 2 Bowker T J, Wood D A, Davies M J, et al. Sudden, unexpected cardiac or unexplained death in England: a national survey Q [J]. *J Med*, 2003, 96: 269 - 279.
 - 3 Doolan A, Langlois N, Semsarian C. Causes of sudden cardiac death in young Australians [J]. *Med J Aust*, 2004, 180: 110 - 112.
 - 4 Basso C, Calabrese F, Corrado D, et al. Postmortem diagnosis in sudden cardiac death victims: macroscopic, microscopic and molecular findings [J]. *Cardiovasc Res*, 2001, 50: 290 - 300.
 - 5 Basso C, Calabrese F, Corrado D, et al. Myocarditis: an underestimated cause of sudden cardiac death. In: Aliot E, Clementy J, Prystowsky E N. *Fighting sudden death: a worldwide challenge* [M]. Armonk; NY Futura, 2000. 477 - 485.
 - 6 Spooner P M, Albert C, Benjamin E J, et al. Sudden cardiac death, genes, and arrhythmogenesis: consideration of new population and mechanistic approaches from a national heart, lung, and blood institute workshop: part I [J]. *Circulation*, 2001, 103: 2447 - 2452.
 - 7 Glück B, Merkle I, Dornberger G, et al. Expression of inducible nitric oxide synthase in experimental viral myocarditis [J]. *HERZ*, 2000, 25: 255 - 260.
 - 8 Reiss C S, Komatsu T. Does nitric oxide play a critical role in viral infections [J]? *J Virol*, 1998, 72: 4547 - 4551.
 - 9 Zaragoza C, Ocampo C, Saura M, et al. The role of inducible nitric oxide synthase in the host response to coxsackievirus myocarditis [J]. *Immunology*, 1998, 95: 2469 - 2474.
 - 10 Mungrue I N, Gros R, You Xiaomang, et al. Cardiomyocyte overexpression of iNOS in mice results in peroxynitrite generation, heart block, and sudden death [J]. *J Clin Invest*, 2002, 109: 735 - 743.
 - 11 Massion P B, Feron O, Dessy C, et al. Nitric oxide and cardiac function: ten years after, and continuing [J]. *Circ Res*, 2003, 93: 388 - 398.
 - 12 朱有法, 毛峥嵘. 实验性病毒性心肌炎时穿孔素和连接蛋白 43 表达的相关性 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2002, 18: 531 - 533.
 - 13 Gutstein D E, Morley G E, Tamaddon H, et al. Conduction slowing and sudden arrhythmic death in mice with cardiac - restricted inactivation of connexin43 [J]. *Circ Res*, 2001, 88: 333 - 339.
 - 14 刘琼, 陈建斌, 饶邦复, 等. 大剂量维生素 C 对病毒性心肌炎心肌腺苷酸酶活性和钠钙代谢的影响 [J]. *中国危重病急救医学*, 2002, 14: 612 - 614.
 - 15 Nakamura K, Robertson M, Liu G. Complete heart block and sudden death in mice overexpressing calreticulin [J]. *J Clin Invest*, 2001, 107: 1245 - 1253.
 - 16 Jiang D W, Xiao B L, Zhang L. Enhanced basal activity of a cardiac Ca²⁺ release channel (ryanodine receptor) mutant associated with ventricular tachycardia and sudden death [J]. *Circ Res*, 2002, 91: 218.
 - 17 Viatchenko - Karpinski S, Terentyev D, Györke I, et al. Abnormal calcium signaling and sudden cardiac death associated with mutation of calsequestrin [J]. *Circ Res*, 2004, 94: 471.
 - 18 Taylor L A, Carthy C M, Yang D C. Host gene regulation during coxsackievirus B3 infection in mice [J]. *Circ Res*, 2000, 87: 328.
 - 19 Yang D C, Yu J, Luo Z S, et al. Viral myocarditis identification of five differentially expressed genes in coxsackievirus B3 - infected mouse heart [J]. *Circ Res*, 1999, 84: 704 - 712.
 - 20 Fuse K, Kodama M, Aizawa Y, et al. Th1/Th2 balance alteration in the clinical course of a patient with acute viral myocarditis [J]. *Jpn Circ J*, 2001, 65: 1082 - 1084.
 - 21 Huber S A, Graveline D, Newell M K, et al. VY1⁺ T cells suppress and VY4⁺ T cells promote susceptibility to coxsackievirus B3 - induced myocarditis in mice [J]. *J Immunol*, 2000, 165: 4174 - 4181.
 - 22 Mann D L. Tumor necrosis factor and viral myocarditis: the fine line between innate and inappropriate immune responses in the heart [J]. *Circulation*, 2001, 103: 626.
 - 23 Wessely R, Klingel K, Knowlton K U, et al. Cardiospecific infection with coxsackievirus B3 requires intact type 1 interferon signaling [J]. *Circulation*, 2001, 103: 756.
 - 24 Lim B K, Choe S C, Shin J O, et al. Local expression of interleukin - 1 receptor antagonist by plasmid DNA improves mortality and decreases myocardial inflammation in experimental coxsackievirus myocarditis [J]. *Circulation*, 2002, 105: 1278.
 - 25 Fairweather D, Yusung S, Frisancho S, et al. IL - 12 receptor $\beta 1$ and Toll - like receptor 4 increase IL - 1 β and IL - 18 associated myocarditis and coxsackievirus replication [J]. *J Immunol*, 2003, 170: 4731 - 4737.
 - 26 Lowe M D, Rowland E, Brown M J, et al. Adrenergic receptors mediate important electrophysiological effects in human ventricular myocardium [J]. *Heart*, 2001, 86: 45 - 51.
 - 27 Aviles R J, Martin D O, Apperson - Hansen C. Inflammation as a risk factor for atrial fibrillation [J]. *Circulation*, 2003, 108: 3006 - 3010.
 - 28 Hoffman B F, Feinmark S J, Guo S D. Electrophysiologic effects of interactions between activated canine neutrophils and cardiac myocytes [J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 1997, 8: 679 - 687.
 - 29 Fontaine G, Fornes P, Fontaliran F, et al. Myocarditis as a cause of sudden death [J]. *Circulation*, 2001, 103: e12.
 - 30 潘伟民, 杨国栋. 抗心律失常药与猝死 [J]. *中国危重病急救医学*, 1994, 6: 377 - 379.
 - 31 Arking D E, Chugh S S, Chakravarti A, et al. Genomics in sudden cardiac death [J]. *Circ Res*, 2004, 94: 712 - 723.

(收稿日期: 2004 - 12 - 10
 修回日期: 2005 - 05 - 21)
 (本文编辑: 李银平)

• 广告目次 •

- ① 珠海丽珠: 丽珠血液灌流器 (封二)
- ② 廊坊爱尔: 炭肾 (插页)
- ③ 北京四环医药: 苏诺 (插页)
- ④ 珠海弘升: 血液净化 (插页)
- ⑤ 恩华药业: 力月西 (插页)
- ⑥ 南京欣华恒: ICU 床头终端系统 (封三)
- ⑦ 索诺声有限公司: 便携式彩超 (封底)