大鼠心肌肥厚模型中血清白细胞介素-18及-10的变化

刘子由，吴钟凯*，陈光献，刘 海
（中山大学附属第一医院心脏外科，广东 广州 510080）

摘 要：【目的】观察不同时限大鼠心肌肥厚模型血清中白细胞介素-18(IL-18)、IL-10浓度的变化，探讨IL-18和IL-10在心肌肥厚发生发展中的可能作用。【方法】采用大鼠腹主动脉缩窄心肌肥厚模型，64只F344大鼠分成8组：缩窄时限为2、3、4、8周组和相应对照组，每组8只，使用心脏超声确定心肌肥厚，采用酶联免疫吸附法检测大鼠血清IL-18和IL-10的浓度。【结果】腹主动脉缩窄2～8周后，大鼠心脏超声检查舒张期室间厚度隔(IVSTd)、舒张期左室后壁(PWLVd)明显不同程度的增厚。大鼠血清中IL-18、IL-10浓度明显高于相应对照组。2～8周时IL-18(pg/mL)两组分别为461±387 *vs* 529±394、516±428 *vs* 458±367、816±442 *vs* 470±355、462±343 *vs* 466±424；IL-10(pg/mL)两组分别为926±634 *vs* 717±664、1033±661 *vs* 736±544、1221±568 *vs* 700±601、891±569 *vs* 735±579。实验组随缩窄时限延长而明显增加(2,3,4周时$P<0.05$)，但缩窄8周时增加不明显($P>0.05$)，各对照组之间无明显变化($P>0.05$)。【结论】大鼠心肌肥厚模型血清中IL-18、IL-10水平明显升高，且在一定程度上反映了心肌肥厚病变的严重程度。

关键词：心肌肥厚；白细胞介素18；白细胞介素10；大鼠
中图分类号：R654 **文献标识码**：A **文章编号**：1672-3554(2009)03-0280-04

Changes of Serum Interleukin-18 and Interleukin-10 in Myocardial Hypertrophy Rat Animal Model

LIU Zi-you, WU Zhong-kai*, CHEN Guang-xian, LIU Hai
(Department of Cardiac Surgery, The First Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: 【Objective】 To investigate the changes of interleukin-18 (IL-18) and interleukin-10 (IL-10) in myocardial hypertrophy rat animal model, and to explore their role of them in the development of myocardial hypertrophy. 【Methods】 Using abdominal aorta banding myocardial hypertrophy rat animal model, sixty four F344 rats were arranged into eight groups: post-banding two weeks, post-banding three weeks, post-banding four weeks, post-banding eight weeks and the control groups respectively, every group eight rats. Degree of myocardial hypertrophy was confirmed by ultrasonography. The concentration of serum IL-18 and IL-10 were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). 【Results】 Abdominal aorta banding 2-8 weeks, myocardial hypertrophy rat animal model was confirmed by ultrasound with IVSTd and PWLVd. The concentration of serum IL-18 and IL-10 in the groups of myocardial hypertrophy were higher than those in the control groups. With 2-8 weeks banding IL-18 levels(pg/mL) in the two groups were 461 ± 387 *vs* 529 ± 394, 516 ± 428 *vs* 458 ± 367, 816 ± 442 *vs* 470 ± 355, 462 ± 343 *vs* 466 ± 424; IL-10 levels(pg/mL) in the two groups were 926 ± 634 *vs* 717 ± 664, 1033 ± 661 *vs* 736 ± 544, 1221 ± 568 *vs* 700 ± 601, 891 ± 569 *vs* 735 ± 579, respectively. With prolonged banding, the levels increased significantly (2, 3, and 4 weeks, $P<0.05$), but in 8 weeks no significant difference ($P>0.05$). No significant difference among control groups ($P>0.05$). 【Conclusion】 The levels of serum IL-18 and IL-10 in myocardial hypertrophy rat increased significantly, and to a certain extent, reflect the severity of the illness.

Key words: myocardial hypertrophy; interleukin-18; interleukin-10; rat
[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci),2009,30(3):280-283,298]

收稿日期：2009-02-05
基金项目：国家杰出青年科学基金(NO.30525020)；广东省科技攻关重点引导计划项目(2004B30601012)
作者简介：刘子由，博士生，E-mail：ziyoudoc@126.com；*通讯作者，吴钟凯，教授，导师

在心脏疾病中，各种炎症因子在炎症反应中的角色不尽相同，在发病机制中的确切作用尚不完全清楚。白细胞介素 18(interleukin-18，IL-18)作为前炎症因子能诱导细胞间粘附分子-1、血管细胞粘附分子和 IL-1 的产生，而这些都和心脏功能障碍的发生有关[1]。用抗 IL-18 抗体可减少他们的产生，从而达到抗心脏功能障碍的目的。最近研究结果认为，IL-18/IL-10 值还可作为急性冠脉综合征患者近期冠脉事件的预测因子[2]。白细胞介素 10 (interleukin-10，IL-10)则是主要的抗炎细胞因子，其可以抑制多种细胞因子、生长因子的合成及生物学效应，是近来发现可以降低动脉粥样硬化形成危险的因子[3,4]。心肌肥厚与心脏疾病的关系越来越受到关注。心肌肥厚出现心室颤动阈值明显下调[5]，最终结果是出现心功能衰竭，是心功能恶化及心源性猝死的独立危险因素，心肌肥厚的消退可以降低心血管疾病的危险性[6]。炎症反应及炎症因子的释放和调节在肥厚心肌的发生发展中的作用已经成为心脏疾病研究领域的热点。对于心肌肥厚时机体的炎症反应状态、促炎因子和抗炎因子的动态水平变化，未见文献报道。本研究通过检测不同时限大鼠心肌肥厚模型血清中 IL-18、IL-10 水平的动态变化，以明确不同时限时不同心肌肥厚程度的炎症反应状态，探讨 IL-18 和 IL-10 在心肌肥厚发生发展中的可能作用。

1　材料和方法

1.1　动物模型

64 只，150 ~ 200 g 的 F344 健康雄性大鼠购自上海斯莱克动物中心，饲养于中山大学动物中心。随机分为 8 组：缩窄时限为 2、3、4、8 周组为实验组，设相应对照组，每组 8 只。实验组：浓度(100 g/L)水合氯醛大鼠腹腔注射麻醉(3.5 mL/kg)，在肾动脉的上方将一个 0.8 mm 探针放置腹主动脉左侧，用 10 号手术线绕过腹主动脉和探针一圈，将其扎紧再抽出探针。对照组实行假手术，除不缩窄腹主动脉外其余操作相同。实验组分别在缩窄后 2、3、4、8 周处死取血，各对照组在相应的时间处死取血。留取血 2 mL 放置在干燥管，经 5 000 r/min 离心 15 min 后，留取上层血清并冻存在 -70 ℃低温冰箱备用。

1.2　血清 IL-18、IL-10 的检测

采用酶联免疫吸附法测定，ELISA 检测试剂盒购自美国 RB 公司，酶标仪为 Biocell HT 2 型酶联免疫检测仪，操作严格按试剂盒说明书进行。

1.3　超声心动图检测

分别在缩窄后 2、3、4、8 周处死前对各组大鼠使用超声诊断仪进行监测。水合氯醛腹腔麻醉，胸部备皮后使用 6 ~ 12 MHz 高频线阵探头经胸骨旁左室长轴切面检测室间隔舒张末期厚度(IVSTd)，左室后壁舒张末期厚度(PWLVd)。

1.4　统计分析

统计数据采用 SPSS 11.0 统计软件包，用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示，t 检验分析两组数据间均数的差异，方差分析法分析多组数据的均数差异，$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　大鼠主动脉缩窄心肌肥厚程度结果

在大鼠腹主动脉缩窄的 4 个时限，由高频超声心动图检测心脏舒张期室间隔厚度(IVSTd)、舒张期左室后壁厚度(PWLVd)都有明显的增加，有统计学意义 ($P < 0.05$)，但在缩窄 8 周实验组 PWLVd 较对照组小(表 1，图 1)。

2.2　大鼠模型血清 IL-18、IL-10 的浓度比较

大鼠主动脉缩窄心肌肥厚动物模型中，所有

表 1　心脏舒张期室间隔厚度(IVSTd)和左室后壁厚度(PWLVd)结果

Table 1　Results of diastolic phase interventricular septal thickness (IVSTd) and posterior wall of left ventricle (PWLVd)

($\bar{x} \pm s$, mm)

Group	IVSTd				PWLVd			
	2 weeks	3 weeks	4 weeks	8 weeks	2 weeks	3 weeks	4 weeks	8 weeks
Control	1.18 ± 0.25	1.29 ± 0.24	1.41 ± 0.27	1.46 ± 0.25	1.39 ± 0.45	1.43 ± 0.37	1.54 ± 0.58	1.88 ± 0.47
Study	1.65 ± 0.18[1)]	1.72 ± 0.17[1)]	1.61 ± 0.06[1)]	1.60 ± 0.17[1)]	2.06 ± 0.33[1)]	2.12 ± 0.12[1)]	1.99 ± 0.36[1)]	1.76 ± 0.20
P	0.029	0.010	0.037	0.040	0.030	0.010	0.039	0.38

1) Compared with control, $P < 0.05$

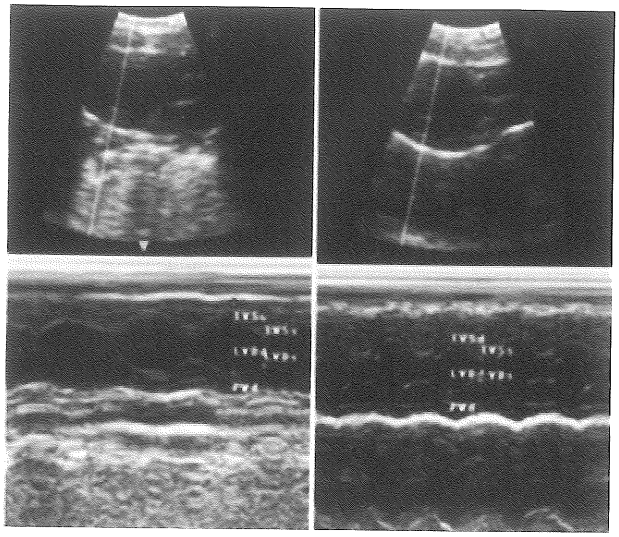


图1 缩窄3周组心脏超声图

Fig.1 Post-banding three weeks control and study groups ultrasonography

Compared with control(left), IVSTd in study group(right) and PWLVd hypertrophed signifiscantly

对照组血清IL-18、IL-10的浓度没有明显的变化，无统计学差异($P > 0.05$)，在缩窄时限2、3、4周组，实验组IL-18、IL-10的浓度分别比相应的对照组明显升高($P < 0.05$)；而在缩窄8周组实验组IL-18、IL-10的浓度升高不明显($P > 0.05$)；并且随着缩窄时限的延长IL-18、IL-10的浓度持续升高，而在缩窄8周后下降(表2)。

3 讨 论

3.1 成功构建大鼠心肌肥厚动物模型

心肌肥厚是心脏长期负荷过度时发生的一种慢性代偿机制。腹主动脉狭窄后，心脏后负荷增加，导致心脏做功与耗氧量增加，心肌内交感神经末梢去甲肾上腺素释放增高，肾素-血管紧张素-醛固酮系统功能活跃，心肌代谢紊乱，左心室重构而最终导致心肌肥厚。高频超声诊断仪在动态监测、诊断心肌肥厚具有无创、早期的优势。

表2 大鼠模型血清中IL-18和IL-10浓度

Table 2 The concentration of serum IL-18 and IL-10 in rat models ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

Group	IL-18				IL-10			
	2 weeks	3 weeks	4 weeks	8 weeks	2 weeks	3 weeks	4 weeks	8 weeks
Control	461 ± 387	458 ± 367	470 ± 355	466 ± 424	716 ± 664	736 ± 544	700 ± 601	735 ± 579
Study	529 ± 394[1)]	516 ± 428[1)]	816 ± 442[1)]	462 ± 343	926 ± 634[1)]	1 033 ± 661[1)]	1 221 ± 568[1)]	891 ± 569
P	0.041	0.027	0.010	0.185	0.035	0.013	0.010	0.058

1) Compared with control, $P < 0.05$

本研究中根据超声诊断仪动态监测发现大鼠腹主动脉缩窄二周室壁开始增厚，随缩窄时限的延长而肥厚明显增加，但达8周时室壁增厚不明显，心室腔扩大，成功构建压力型心肌肥厚模型。这与胡咏梅等[7]研究提示给予大鼠腹主动脉不同时限的缩窄可以模拟高血压心室肥厚致心衰的病理全过程基本一致，随缩窄时限的延长心肌肥厚程度增加，但8周左右开始出现向心性心肌肥厚到扩张性心肌肥厚转变。

3.2 心肌肥厚大鼠血清中IL-18的水平的变化及意义

本研究通过检测不同时期的心肌肥厚大鼠血清中IL-18、IL-10的水平以反映心肌肥厚时的炎症反应状态，并探讨炎症及IL-18、IL-10在心肌肥厚的发病机制中的可能作用。本组资料显示，肥厚心肌组大鼠血清中IL-18、IL-10浓度明显高于对照组，并随不同时限腹主动脉缩窄致心肌肥厚不同程度而升高，但缩窄8周后心室腔扩大，心肌肥厚不明显而IL-18、IL-10浓度升高并不明显。结果表明，大鼠心肌肥厚程度越严重，大鼠血清中的炎症系统失调越严重，进一步揭示了炎症与心肌肥厚的发生发展密切相关。

IL-18是近年来被发现的一个重要的多效能炎症细胞因子，有研究证实IL-18在心肌肥厚中的作用。在心肌肥厚的病人血清中IL-18的浓度缓慢的增加[8]；在IL-18基因敲除小鼠表现出不能适应因为压力负荷而产生的心肌肥厚的变化[9]。本研究结果显示，不同时限心肌肥厚组大鼠血清IL-18水平明显高于对照组，与以往的文献报道相似，随着缩窄时限的延长，IL-18的浓度升高，提示了IL-18随心肌肥厚病变的严重程度而升高，在一定程度上可反映心肌肥厚病变的严重性。IL-18

作为促肥厚细胞因子，可上调左室心肌细胞的心房利尿钠肽的信使 RNA 水平和合成[10]。心房利尿钠肽和脑钠素在胚胎发育和婴儿早期保持较高水平,在健康成年时不存在。肥厚刺激因子明显增加心房利尿钠肽和脑钠素的表达，并且心房利尿钠肽和脑钠素在心肌的主要功能是阻断对肥厚刺激因子的反应[11]。敲除心房利尿钠肽的小鼠在肥厚时增加细胞外基质蛋白表达，表明心房利尿钠肽可以通过阻断细胞外基质的沉积而下降心肌肥厚的重塑[12]。持续的心肌肥厚,尤其是左室心肌的肥厚最终导致心脏功能衰竭，进一步的研究阻断 IL-18 的作用可能不但下调心肌的炎症反应,同时也能减轻心脏功能衰竭。

3.3　心肌肥厚大鼠血清中 IL-10 的水平的变化及意义

与 IL-18 不同,IL-10 则是主要的抗炎细胞因子，本研究还观察到心肌肥厚大鼠血清中 IL-10 水平明显高于对照组，与国内外其他心脏疾病时的浓度的研究结果不一致，在例如冠心病时的浓度下降[2];但是也有研究发现通过应用 IL-10 和白介素-1 受体拮抗剂来抑制炎症反应对心力衰竭动物的治疗有效[13]。

IL-10 是抗炎细胞因子，在最近的研究中显示,IL-10 能够明显下调心肌梗死时心肌的促炎因子,下调炎症反应,改善左室功能,纠正心肌梗死后的心肌重塑[14]。目前认为 IL-10 是由多种细胞产生的炎症抑制因子，在下调炎症反应中发挥关键作用。下调趋化因子和炎症因子对平滑肌细胞增殖的刺激作用，防止心肌缺血、缺血再灌注损伤，保护心肌，因此在心肌肥厚的发生发展过程中可能发挥重要作用。本研究的这种结果提示可能 IL-10 在心肌肥厚的进展上有重要作用。炎症因子的过度表达或将伴随抗炎因子的过度表达可促进心肌肥厚最终心脏功能衰竭的发生发展。炎症因子调控网络极其复杂,细胞因子间相互作用、相互拮抗，促炎因子和抗炎因子在适当水平上的平衡，有助于控制炎症，维持机体稳态；然而促炎因子和抗炎因子在高水平上平衡，不是真正的稳态，也对组织细胞造成严重损伤。在冠心病的研究中发现 IL-18/IL-10 比值与心绞痛和心肌梗死复发正相关，是冠心病患者不利事件的一个独立的预测因子,IL-10 与促炎细胞因子一定水平上的平衡，有助于粥样硬化斑块稳定，则外源性补充 IL-10 可为防治粥样硬化开辟一条新的途径[15]。因此，如何补充或者拮抗 IL-10 以促进抗炎细胞因子和促炎细胞因子之间适当的平衡，从而达到治疗作用,还需进一步的研究。

总之,本研究采用大鼠腹主动脉缩窄,成功的构建了心肌肥厚的模型，并应用高频超声诊断仪证实随着缩窄时限的延长心肌肥厚的程度增加，但到 8 周开始心室由向心性肥厚向扩张性肥厚转变。同时发现大鼠心肌肥厚模型血清中 IL-18、IL-10 水平明显升高，且在一定程度上反映了心肌肥厚病变的严重程度，从而揭示了炎症与心肌肥厚的发生发展密切相关。

参考文献:

[1] Wang M, Markel TA, Meldrum DR. Interleukin 18 in the heart [J]. Shock, 2008,30(1):3-10.

[2] Chalikias GK, Tziakas DN, Kaski JC, et al. Interleukin-18/interleukin-10 ratio is an independent predictor of recurrent coronary events during a 1-year follow-up in patients with acute coronary syndrome [J]. Int J Cardiol, 2007,117(3):333-399.

[3] Anguera I, Mirandar-Guardiola F, Bosch X, et al. Elevation of serum levels of the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 and decreased risk of coronary events in patients with unstable angina [J]. Am Heart J, 2002,144(5):811-817.

[4] 陈　燕,常志文. 冠心病患者血中白介素-6、白介素-10 浓度的变化-附 46 例检测报告 [J]. 新医学, 2004,35(7):413-414.

[5] 黄至斌,伍　卫,韦育林,等. 自发高血压大鼠心肌肥厚与心室颤动阈值的关系 [J]. 中山大学学报:医学科学版, 2006,27(1):76-79.

[6] Indolfi C, Di Lorenzo E, Perrino C, et al. Hydroxymethylglutaryl coenzyme a reductase inhibitor simvastatin prevents cardiac hypertrophy induced by pressure overload and inhibits P21 activaction [J]. Circulation, 2002,106(16):2118-2124.

[7] 胡咏梅,李法琦,罗羽慧,等. 腹主动脉缩窄大鼠模型制作及临床意义 [J]. 重庆医科大学学报, 2004,29(3):322-324.

[8] Seta Y, Kanda T, Tanaka T, et al. Interleukin-18 in patients with congestive heart failure: induction of atrial natriuretic peptide gene expression[J]. Res Commun Mol Pathol Pharmacol, 2000,108 (1-2):87-95.

[9] Colston JT, Boylston WH, Feldman MD, et al.

(下转第 298 页　to page 298)