

[文章编号] 1000- 4718(2005)06- 1046- 05

# 乙型肝炎病毒诱导小鼠抗 $\beta_1$ - 肾上腺素能受体抗体的致心律失常作用机制\*

刘 坤<sup>1</sup>, 廖玉华<sup>1</sup>, 王朝晖<sup>1</sup>, 李淑莉<sup>2</sup>, 王 敏<sup>1</sup>, 曾令兰<sup>2</sup>, 唐 明<sup>3</sup>( <sup>1</sup>华中科技大学同济医学院心血管病研究所、协和医院心内科, <sup>2</sup>感染科, 湖北 武汉 430022;<sup>3</sup>同济医学院生理学系, 湖北 武汉 430030)

**[摘要]** 目的: 探索乙型肝炎病毒诱导的抗  $\beta_1$ - 肾上腺素能受体抗体致病作用及机制。方法: 乙型肝炎病毒 4 次接种小鼠 ( $n=30$ ), 并记录心电图。ELISA 法检测抗体, 光镜下观察心肌和肝脏的病变。免疫荧光显示该抗体与豚鼠心肌细胞能否结合。辛酸提取法提纯小鼠 IgG。膜片钳技术观察抗体对豚鼠心肌细胞电生理特性的影响。结果: 小鼠该抗体的产生与乙型肝炎病毒接种有关。实验小鼠心脏和肝脏未出现明显的组织病理改变, 但 6 只小鼠可出现束支传导阻滞、窦性停搏、室性早搏等心律失常, 其抗体均阳性。免疫荧光显示抗体能与豚鼠心肌细胞结合。该抗体使 APD<sub>20</sub>、APD<sub>50</sub>、APD<sub>90</sub> 分别延长 36.46%、29.63% 和 12.40%, 且使 L 型钙电流峰值增加 (49.67 ± 16.01) %。结论: 乙型肝炎病毒诱导小鼠产生的抗  $\beta_1$ - 肾上腺素能受体抗体可导致多种心律失常的发生, 该抗体介导心肌细胞 L 型钙电流增加可能是其致心律失常的机制之一。

**[关键词]** 抗体; 受体, 肾上腺素能  $\beta$ ; 肝炎病毒, 乙型; 心律失常; 动作电位; L 型钙电流

**[中图分类号]** R363

**[文献标识码]** A

## Mechanism of arrhythmias caused by autoantibodies against $\beta_1$ - adrenoceptors induced by hepatitis B virus in mice

LIU Kun<sup>1</sup>, LIAO Yu-hua<sup>1</sup>, WANG Zhao-hui<sup>1</sup>, LI Shu-li<sup>2</sup>, WANG Ming<sup>1</sup>, ZENG Ling-lan<sup>2</sup>, TANG Ming<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>Department of Cardiology, Institute of Cardiology, <sup>2</sup>Department of Infection, Union Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China; <sup>3</sup>Department of Physiology, Tongji Medical College, Wuhan 430030, China)

**[ABSTRACT]** **AIM:** To investigate the significance of autoantibodies against  $\beta_1$ - adrenoceptors induced by hepatitis B virus in the pathogenesis of hepatitis virus myocarditis. **METHODS:** 30 mice were injected peritoneally with an emulsion of hepatitis B virus and complete Freund's adjuvant every three weeks. The autoantibodies were examined by ELISA, the heart and liver specimens were collected on 56 d for pathological observation and the binding of the autoantibodies to guinea pig cardiac myocytes were examined by immunofluorescence. Using the patch clamp technique, the effects of 1:50 autoantibodies purified by octanoic acid extraction on the action potential and L type Ca<sup>2+</sup> currents of guinea pig cardiac myocytes were also investigated. **RESULTS:** There was a good correlation between the autoantibodies and hepatitis B virus. Without pathological changes in the heart and liver specimens, 6 mice of the test group manifested bundle branch block, sinus arrest and premature ventricular beat etc, which were positive in the autoantibodies. The specific binding of the autoantibodies of the mice to guinea pig cardiac myocytes was observed. 1:50 autoantibodies of the mice prolonged APD<sub>20</sub>, APD<sub>50</sub>, APD<sub>90</sub> by 36.46%, 29.63% and 12.40%, respectively and enhanced L type Ca<sup>2+</sup> currents by (49.67 ± 16.01) % . **CONCLUSIONS:** Autoantibodies against  $\beta_1$ - adrenoceptors of the mice induced by hepatitis B virus result in several arrhythmias, which might be mediated by the enhancement of L type Ca<sup>2+</sup> currents.

**[KEY WORDS]** Antibodies; Receptors, adrenergic, beta; Hepatitis B virus; Arrhythmia; Action potentials; L- type Ca<sup>2+</sup> currents

已有研究表明, 乙型肝炎病毒可通过自身免疫 机制对机体造成损害。在乙型肝炎患者血清中可检

[收稿日期] 2003- 11- 14 [修回日期] 2004- 02- 27

\* [基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No. 39970306)

Tel: 027- 86835517; E- mail: liukun0329@ 163. net

测出自身抗体,如抗肝特异性脂蛋白和肝细胞膜抗原的自身抗体<sup>[1,2]</sup>。最近我们发现,抗 $\beta_1$ -肾上腺素能受体抗体(以下简称抗 $\beta_1$ -受体抗体)在肝炎病毒性心肌炎中检出率较高且与临床表现严重程度具有相关性<sup>[3]</sup>。本研究拟通过在体和离体动物实验,探索乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)诱导的抗 $\beta_1$ -肾上腺素能受体抗体在乙型肝炎病毒性心肌炎发生和发展中的作用。

## 材 料 和 方 法

### 1 材料

**1.1 动物** 雄性 BALB/C 小鼠购自湖北省医学科学院,成年豚鼠由同济医学院实验动物中心提供。

**1.2 试剂和溶液配制** 纯化的 HBV 由我院感染科提供。完全弗氏佐剂、辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记羊抗小鼠 IgG、异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)标记羊抗小鼠 IgG 和牛血清白蛋白购自武汉亚法生物技术开发公司。台氏液(mmol/L): NaCl 135, KCl 5.4, MgCl<sub>2</sub> 1.0, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.33, CaCl<sub>2</sub> 1.8, HEPES 10; 葡萄糖 10 (NaOH 调 pH 7.4); 无钙液(mmol/L): 台氏液去掉 CaCl<sub>2</sub>; KB 液: MgCl<sub>2</sub> 5, KCl 40, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 20, 牛磺酸 20, 谷氨酸 50, EGTA 0.5, HEPES 10, 葡萄糖 10 (KOH 调 pH 7.4)。记录动作电位(action potential, AP)电极内液组成(mmol/L): KCl 120, NaCl 10, CaCl<sub>2</sub> 1.0, MgATP 5.0, EGTA 11, HEPES 10 (KOH 调 pH 7.25); 记录 L 型钙电流(L type Ca<sup>2+</sup> currents, I<sub>Ca-L</sub>)电极内液组成(mmol/L): CsCl 115, HEPES 10, EGTA 10, TEA-Cl 20, MgATP 5, Tris-GTP 0.1, 磷酸肌酸 10, CaCl<sub>2</sub> 1 (37 °C CsOH 调 pH 7.05)。以上试剂和 I 型胶原酶、蛋白酶 E 均购自美国 Sigma 公司。

### 2 方法

**2.1 乙型肝炎病毒接种小鼠模型的建立** 60 只 BALB/C 小鼠(体重 16-18 g, 6 周龄)随机分为实验组( $n=30$ )和对照组( $n=30$ )。参照 Yuan 等<sup>[4]</sup>的方法,将 HBV( $8.4 \times 10^{10}$  CPS/L)与等体积(含分支杆菌 6 g/L)混匀成乳化剂,取混合液 100  $\mu$ L,每只小鼠于第 14、28 d 和 42 d 腹腔注射。对照组小鼠( $n=30$ )用生理盐水与等体积的完全弗氏佐剂混匀后按同样的方法假性免疫。于实验第 0、28、35 d 眼内眦静脉取血,第 56 d 摘眼球取血,冻存备用。将小鼠拉颈处死后,留取心脏和肝脏标本,光镜病理检查。两组小鼠经 10% 乌拉坦按 15 mL/kg(ip)麻醉后,于实验第 0、13、27 和 34 d 采用标准 II 导联(走纸速度 50 mm/s,

增益 20 mm/mV)记录心电图。

**2.2 ELISA 法测定抗 $\beta_1$ -受体抗体** 小鼠血清稀释度 1:50-1:200。HRP 标记羊抗小鼠 IgG 1:1 000 稀释。在自动酶标测定仪上 450 nm 波长处测定吸光度(A)值,以大于对照组 A 值与 2.1 倍标准差之和为阳性。

**2.3 抗体纯化** 参照文献<sup>[5]</sup>的方法,抗 $\beta_1$ -受体抗体采用辛酸提取法加以纯化, IgG 约占 90%。

**2.4 单个豚鼠心肌细胞的制备** 250-300 g 豚鼠,雌雄不拘,人工呼吸开胸后,主动脉插管,通过 Langendorff 37 °C 恒温灌流装置逆行灌流心脏,灌注压 70 cmH<sub>2</sub>O。即先用台氏液冲洗 1 min,改用无钙液灌流 5 min,再用含有 0.25 g/L I 型胶原酶, 0.20 g/L 蛋白酶 E, 0.25 g/L 牛血清白蛋白的酶液循环灌流 5 min,最后用 KB 液冲洗 3 min,剪碎心室肌,放入 KB 液温孵,反复倾出上清液,静置 1 h 备用。

**2.5 抗体结合实验** 采用间接免疫荧光法。小鼠血清 1:8 稀释, FITC 标记的羊抗小鼠 IgG 1:16 稀释。

**2.6 全细胞膜片钳记录** 心肌细胞台氏液复钙后采用标准细胞贴附式方法,将充以细胞内液的玻璃微电极(2-5 M $\Omega$ )压在细胞表面,稍施负压(-15-20 cmH<sub>2</sub>O)即可形成高阻抗封接,破膜后形成全细胞记录模式记录 AP 和 I<sub>Ca-L</sub>。应用膜片钳放大器(Axopatch 200-A, 美国)发放刺激冲动。数据采集及分析处理由 ISO2 软件(德国 MFK 公司)完成。

### 3 统计学处理

采用 SPSS 11.5 统计软件包,计量资料数均以均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,并进行  $t$  检验,计数资料进行  $\chi^2$  检验。

## 结 果

### 1 抗 $\beta_1$ -受体抗体的产生

表 1 显示,乙型肝炎病毒接种小鼠血清不同稀释度抗 $\beta_1$ -受体抗体检出率不同。实验不同时间,抗 $\beta_1$ -受体抗体检出率也不同。实验第 35 d,稀释度 1:100 时,实验组假阳性率和假阴性率最低。我们选择实验第 35 d,稀释度 1:100 进行分析,结果显示抗 $\beta_1$ -受体抗体产生与乙型肝炎病毒接种具有相关性( $r=0.294, P<0.05$ )。

### 2 抗 $\beta_1$ -受体抗体对心肌的作用

乙型肝炎病毒接种小鼠处死后病理结果显示:心脏和肝脏未出现明显的组织病理改变(心肌细胞变性坏死,淋巴细胞、单核细胞等炎性细胞浸润)。实验还发现,乙型肝炎病毒接种小鼠第 34 d 可出现

窦性停搏、室性早搏和明显束支传导阻滞, 共计 6 只, 图 1 所见。6 只抗  $\beta_1$ - 受体抗体均阳性。实验结

果提示抗  $\beta_1$ - 受体抗体产生与心律失常发生具有相关性( $n=30, r=0.906, P<0.01$ )。

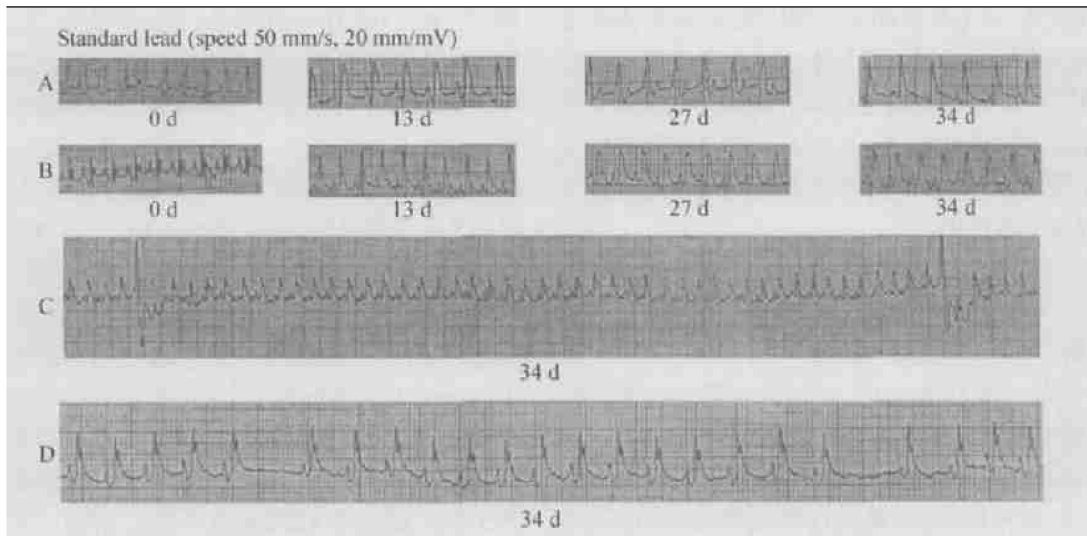


Fig 1 ECG changes of the mice before and after the inoculations. A: ECG changes of one mouse of the sham immunizations were not obvious on 0 d, 13 d, 27 d and 34 d; B: ECG changes of one mouse inoculated with HBV showed that bundle branch block was observed on 27 d and more serious on 34 d; C: one mouse inoculated with HBV manifested premature ventricular beat; D: one mouse inoculated with HBV manifested sinus arrest.

图 1 接种乙型肝炎病毒前后小鼠心电图变化

### 3 抗 $\beta_1$ - 受体抗体与豚鼠心肌细胞的结合

免疫荧光结果显示, ELISA 法检测抗  $\beta_1$ - 受体抗体阳性的小鼠血清, 滴加于细胞涂片上可见杆状心肌细胞荧光标记物 FITC 激发出的绿色荧光, 而抗  $\beta_1$ - 受体抗体阴性(乙型肝炎病毒接种和假性免疫)的小鼠血清观察不到绿色荧光, 见图 2。



Fig 2 Specific binding of mouse anti- $\beta_1$ -receptors autoantibodies to guinea pig cardiac myocytes (Immunofluorescence,  $\times 200$ ).

图 2 小鼠抗  $\beta_1$ - 受体抗体与豚鼠心肌细胞的特异性结合

## 4 抗 $\beta_1$ - 受体抗体对豚鼠心肌细胞电生理特性的影响

### 4.1 抗 $\beta_1$ - 受体抗体对豚鼠心肌细胞 AP 的影响

在电流钳模式下, 给予 6 ms 1 nA 0.2 Hz 的外向电流引出并记录单细胞动作电位。1:50 抗  $\beta_1$ - 受体抗体对豚鼠心肌细胞 AP 的静息膜电位( $V_m$ )、超射(AP-amplitude)无显著影响, 但 AP 平台明显升高, 动作电位时程(action potential duration, APD)也随之显著延长, 分别使 APD<sub>20</sub>、APD<sub>50</sub>、APD<sub>90</sub> 延长 36.46%、29.63% 和 12.40% (表 2 和图 3), 故抗  $\beta_1$ - 受体抗体主要影响 AP 平台期电流。

表 1 乙型肝炎病毒接种小鼠血清不同稀释度抗  $\beta_1$ - 受体抗体检出率

Tab 1 Detecting rates of anti- $\beta_1$ - receptors autoantibodies in mice inoculated with HBV at various dilutions ( $n=30$ )

	1: 50		1: 100		1: 200	
	Test	Control	Test	Control	Test	Control
0 d	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30
28 d	10/30	1/30	3/30	0/30	0/30	0/30
35 d	16/30	2/30	7/30	1/30	2/30	0/30
56 d	14/29*	2/30	6/29*	1/30	1/29*	0/30

\* one mouse positive in anti- $\beta_1$ - receptors autoantibodies manifesting sinus arrest died suddenly on 38 d.

### 4.2 抗 $\beta_1$ - 受体抗体对豚鼠心肌细胞 $I_{Ca-L}$ 及 I-V 曲线的影响

保持电位 - 80 mV, 先给予 100 ms、- 40 mV 的去极化脉冲灭活钠通道和 T 型钙通道, 再给予阶跃 10 mV, - 40- + 60 mV 系列去极化脉冲, 可记录不同钳制电压下的  $I_{Ca-L}$ , 图 4 显示。在所有

钳制电压水平下, 1: 50抗  $\beta_1$ - 受体抗体均能增加  $I_{Ca-L}$  的峰值, 且 I- V 曲线的形状未发生明显改变, 最大电流电位出现在 0 mV。给予 300 ms .0 mV 的去极化脉冲可记录到  $I_{Ca-L}$ ,  $I_{Ca-L}$  峰值增加 (49.67 ± 16.01) % (  $n= 5, P < 0.01$  ), 见图 5。

表 2 1: 50 抗  $\beta_1$ - 受体抗体对豚鼠心肌细胞 APD 的影响

Tab 2 Effects of anti-  $\beta_1$ - receptor autoantibodies diluted at 1: 50 on APD of guinea pig cardiac myocytes ( $\bar{x} \pm s, n= 5$ )

	Control	Anti- $\beta_1$ - receptors autoantibodies
$V_m$ (mV)	- 80.4 ± 1.1	- 80.8 ± 1.6
AP- amplitude(mV)	129.4 ± 2.0	131.3 ± 2.0
APD <sub>20</sub> (mV)	67.2 ± 3.8	91.7 ± 7.2*
APD <sub>50</sub> (mV)	147.8 ± 11.6	191.6 ± 12.1*
APD <sub>90</sub> (mV)	194.2 ± 17.0	218.3 ± 21.2*

\*  $P < 0.01$  vs control.

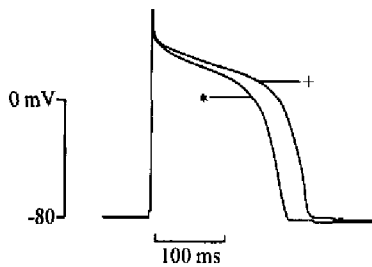


Fig 3 Effect of anti-  $\beta_1$ - receptors autoantibodies on APD of guinea pig cardiac myocytes.

\* : represents AP before superfusion with 1: 50 anti-  $\beta_1$ - receptors autoantibodies; + : represents AP after superfusion with 1: 50 anti-  $\beta_1$ - receptors autoantibodies.

图 3 抗  $\beta_1$ - 受体抗体对豚鼠心肌细胞动作电位的影响

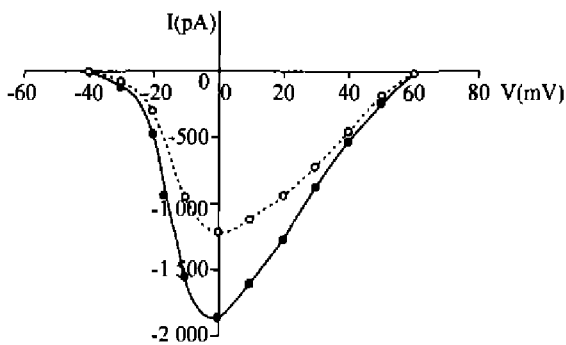


Fig 4 Effect of anti-  $\beta_1$ - receptors autoantibodies on I- V relation for  $I_{Ca-L}$  of guinea pig cardiac myocytes.

The dashed line represents I- V relation for  $I_{Ca-L}$  before superfusion with 1: 50 anti-  $\beta_1$ - receptors autoantibodies, the real line represents AP after superfusion with 1: 50 anti-  $\beta_1$ - receptors autoantibodies.

图 4 抗  $\beta_1$ - 受体抗体对豚鼠心肌细胞 L 型钙电流 I- V 曲线的影响

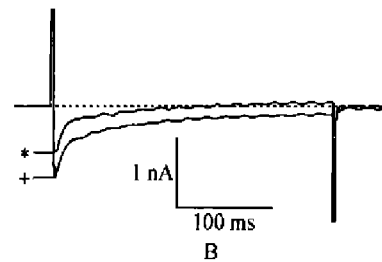
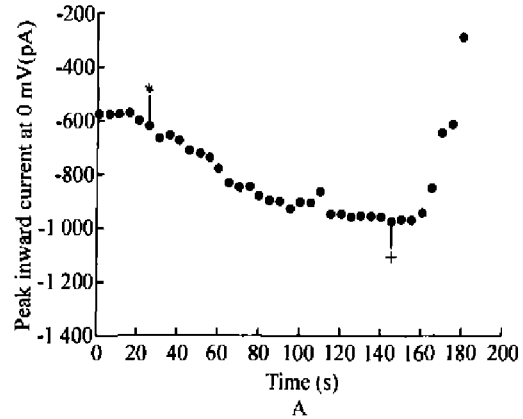


Fig 5 Effect of anti-  $\beta_1$ - receptors autoantibodies on the peak current amplitude of  $I_{Ca-L}$  of guinea pig cardiac myocytes.

A: shows time- course changes of the peak current amplitude of  $I_{Ca-L}$  before and after superfusion with 1: 50 anti-  $\beta_1$ - receptors autoantibodies; B: shows current- time recording of  $I_{Ca-L}$ . \* : represents the peak current amplitude of  $I_{Ca-L}$  before superfusion with 1: 50 anti-  $\beta_1$ - receptors autoantibodies; + : represents the peak current amplitude of  $I_{Ca-L}$  after superfusion with 1: 50 anti-  $\beta_1$ - receptors autoantibodies.

图 5 抗  $\beta_1$ - 受体抗体对豚鼠心肌细胞  $I_{Ca-L}$  峰值的影响

## 讨 论

据报道, 小鼠肝炎病毒与人心肌细胞受体之间具有相同的抗原决定簇<sup>[6]</sup>。根据分子模仿理论, 肝炎病毒感染后有可能激活机体免疫系统, 产生抗  $\beta_1$ - 受体抗体, 而后者是公认的 4 种抗心肌抗体之一。最近我们发现, 肝炎病毒性心肌炎患者的抗  $\beta_1$ - 受体的阳性率较高, 且与肝炎病毒抗体具有相关性<sup>[3]</sup>。实验结果显示, 乙型肝炎病毒接种小鼠后可以产生抗  $\beta_1$ - 受体抗体, 该抗体产生与乙型肝炎病毒接种有关。

由于乙型肝炎病毒有严格的宿主性, 目前所知仅能感染黑猩猩和人类, 小鼠等动物不易感染。尽管我们将乙型肝炎病毒作为一种外来抗原免疫 BALB/C 小鼠并增加了免疫次数, 但抗  $\beta_1$ - 受体抗体的阳性率依然很低(阳性率仅能达到 23%)。有文献

报道,在动物实验中抗  $\alpha$  胰岛细胞的自身抗体检出率也较低<sup>[7]</sup>。

据 Wallukat 等<sup>[8]</sup>和廖玉华等<sup>[9]</sup>研究发现,成年大鼠和猪的心室肌中肾上腺素能受体多肽分子能被心肌炎和扩张型心肌病的患者血清中的抗  $\beta_1$ - 受体抗体所识别,提示哺乳动物的  $\beta_1$ - 受体具有相同的抗原决定簇。且该抗原决定簇氨基酸序列业已被测定<sup>[10]</sup>。我们的实验表明,经 ELISA 法用该氨基酸序列测定的小鼠抗  $\beta_1$ - 受体抗体能与豚鼠心肌细胞特异性结合。

以往对抗  $\beta_1$ - 受体抗体的研究主要集中于该抗体对心肌的损害作用。据报道,扩张型心肌病患者的抗  $\beta_1$ - 受体抗体可以对培养的新生大鼠心肌细胞产生正性变时作用且无减敏现象发生,从而增加心肌细胞的代谢率<sup>[11]</sup>。抗  $\beta_1$ - 受体亦可通过受体门控机制,引起心肌细胞内钙超负荷导致心肌损伤<sup>[12]</sup>。本实验 56 d 观察,仅发现接种乙型肝炎病毒的小鼠发生心律失常,且心律失常的发生与抗  $\beta_1$ - 受体抗体的产生有关,与小鼠心肌组织病理变化无关,小鼠心律失常发生可能与抗  $\beta_1$ - 受体抗体介导的心肌细胞电生理效应有关。Yvonne 等<sup>[13]</sup>推测抗  $\beta_1$ - 受体抗体的病理生理意义可能局限于心肌电生理的改变。

我们通过膜片钳实验发现,经乙型肝炎病毒诱导的小鼠抗  $\beta_1$ - 受体抗体能明显延长心肌细胞动作电位的平台期,且能明显增强 L 型钙电流。而 L 型钙电流的增强与一些快速心律失常的发生密切相关。例如,我们在实验中所观察到的室性早搏、因心率增快而导致的束支传导阻滞等。我们在实验中还可观察到窦性停搏等传导障碍。但抗  $\beta_1$ - 受体抗体对心肌细胞动作电位的静息膜电位、0 极除极相却无明显的改变。MDC 临床研究结果提示抗  $\beta_1$ - 受体可能具有  $\beta$ - 受体阻滞剂的阻滞作用<sup>[14]</sup>。有文献报道,抗  $\beta_1$ - 受体抗体检出率较高的扩张型心肌病患者,可伴发室性心律失常和传导障碍等<sup>[15]</sup>。

[参 考 文 献]

[1] Kakumu S, Arakawa Y, Goji H, et al. Occurrence and significance of antibody to liver-specific membrane lipoprotein by double-antibody immunoprecipitation method in sera of patients with acute and chronic liver diseases[J]. *Gastroenterology*, 1979, 76(4): 665- 672.

[2] Frazer IH, Mackay IR. Antibodies to liver cell membrane antigens in chronic active hepatitis (CAH). III. Partial characterization of the liver cell membrane antigens and comparison

of reactivities in sera from patients with various liver diseases [J]. *Clin Exp Immunol*, 1984, 57(2): 429- 437.

[3] Wang ZhH, Liao YH, Michael Fu. The frequency of occurrence of autoantibodies against  $\beta_1$ - adrenoceptors and its clinical relevance in patients with hepatitis virus myocarditis[J]. *Autoimmunity*, 2001, 34(4): 241- 245.

[4] Yuan HT, Liao YH, Wang Z, et al. Prevention of myosin-induced autoimmune myocarditis in mice by anti- L3T4 monoclonal antibody[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2003, 81(2): 84- 88.

[5] 沈关心. 抗体的制备技术: 抗体的纯化[A]. 见: 沈关心,周汝麟 主编. 现代免疫学实验技术[M]. 第 1 版. 武汉: 湖北科学技术出版社, 1998. 33- 34.

[6] Hoebeke J. Structural basis of autoimmunity against G protein coupled membrane receptors[J]. *Inter J Cardiol*, 1996, 54(2): 103- 111.

[7] Halpern MS, Mason WS, Coates L, et al. Humoral immune responsiveness in duck hepatitis B virus - infected ducks[J]. *J Virol*, 1987, 61(3): 916- 920.

[8] Wallukat G, Morwinski M, Kowal K, et al. Autoantibodies against the  $\beta$ - adrenergic receptor in human myocarditis and dilated cardiomyopathy:  $\beta$ - adrenergic agonism without desensitization[J]. *Eur Heart J*, 1991, 12(Suppl D): 178- 181.

[9] 廖玉华,李淑莉. 免疫转印法检测扩张型心肌病患者抗  $\beta_1$ - 受体抗体的探讨[J]. *临床心血管病杂志*, 1994, 10(4): 212- 213.

[10] Wallukat G, Wollenberger A, Morwinski R, et al. Anti- beta 1- adrenoceptor autoantibodies with chronotropic activity from the serum of patients with dilated cardiomyopathy: mapping of epitopes in the first and second extracellular loops[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1995, 27(1): 397- 406.

[11] Magnusson Y, Wallukat G, Waagstein F, et al. Autoimmunity in idiopathic dilated cardiomyopathy. Characterization of antibodies against the  $\beta$ - adrenoceptor with positive chronotropic effect[J]. *Circulation*, 1994, 89(6): 2760- 2766.

[12] Liao YH, Cheng LX, Tu Y, et al. Mechanism of anti-  $\beta$ - adrenoceptor antibody mediated myocardial damage in dilated cardiomyopathy[J]. *J Tongji Medical University*, 1997, 17(1): 5- 8.

[13] Yvonne M, Ake H, Johnan H.  $\beta_1$ - adrenoceptor autoimmunity in cardiomyopathy[J]. *Inter J Cardiol*, 1996, 54(2): 137- 141.

[14] Waagstein F, Bristow MR, Swedberg K, et al. Beneficial effects of metoprolol in idiopathic dilated cardiomyopathy. Metoprolol in dilated cardiomyopathy (MDC) trial study group[J]. *Lancet*, 1993, 342(8885): 1441- 1446.

[15] Chiale PA, Rosenbaum MB, Elizari MV, et al. High prevalence of antibodies against  $\beta_1$ - and  $\beta_2$ - adrenergic receptors in patients with primary electrical cardiac abnormalities[J]. *J Am Coll Cardiol*, 1995, 26(4): 864- 869.