

## · 综述 ·

## 扩张型心肌病致病基因及基因多态性研究进展

聂宏运 刘小玲 张佳伟 李海涛 曾群

**【摘要】** 扩张型心肌病 (DCM) 是一类以心腔扩大伴心肌收缩障碍为主要特点的原发性心肌疾病。30%~50% 的 DCM 由致病基因突变引起, 其中编码肌节蛋白、细胞骨架蛋白和线粒体相关蛋白的基因突变与家族性 DCM 密切相关。在非家族性遗传病例中, 易感基因在环境因素的作用下可引起散发性 DCM, 这些易感基因的多个单核苷酸多态性位点与 DCM 相关。该文介绍 DCM 常见致病基因的研究进展, 并简述相关基因多态性对 DCM 易感性的影响。

**【关键词】** 扩张型心肌病; 肌联蛋白; 分子机制; 基因多态性

doi: 10.3969/j.issn.1673-6583.2022.03.001

扩张型心肌病 (DCM) 是最常见的原发性心脏病, 其特征是左心室扩张和收缩功能受损。DCM 的病因多种多样, 包括基因变异、感染、自身免疫性疾病、接触化学物质和毒素等。欧洲心脏病学会将 DCM 分为遗传性 (家族性) 和非遗传性 (非家族性), 近年来, 研究发现基因突变约占 DCM 病因的 40%, 已鉴定出 50 个以上的基因与 DCM 有关<sup>[1]</sup>。而由感染、炎症和化疗等引起的部分非遗传性 DCM 可能与个体存在易感基因有关。近期发现了一些散发性 DCM 的新型易感基因, 如白细胞介素-31 基因 (*IL-31*)、锌指和 BTB 结构域蛋白 17 基因 (*ZBTB17*) 等。

### 1 产力障碍相关基因突变对 DCM 发病的影响

肌联蛋白基因 (*TTN*) 编码的 TTN 是肌节中具有高度弹性的大分子蛋白, 由 A 带区域、I 带区域、羧基端 M 线以及氨基端 Z 线等 4 个部分构成, 具有维持心肌紧张度、协调肌肉收缩和传递肌力等重要功能。*TTN* 截断突变 (*TTNtv*) 是 DCM 最常见的遗传学病因, 在 DCM 患者中占 20%, 包括移码突变、无义突变和剪切突变等。另外, *TTN* 错义突变也可能导致 DCM。

*TTNtv* 导致 DCM 的确切机制尚不清楚, 目前已提出多种机制来说明 *TTNtv* 的致病过程: (1) “毒肽”效应。*TTNtv* 使 TTN 蛋白异常缩短, 导致一

些具有重要功能的结构缺失, 进而形成“毒肽”, 最终引起相关功能障碍。例如, A 带是  $\beta$ -肌球蛋白和粗肌丝的连接点, 其与肌肉环指蛋白 2 (*MuRF2*) 的相互作用促进了肌节的形成和成熟。研究表明 A 带区域的 *TTNtv* 导致  $\beta$ -肌球蛋白的结合位点丢失, 从而影响肌节的组装和心肌收缩功能<sup>[2]</sup>。另外, TTN 的 M 线与感知和调节肌节力有关, 而发生在羧基末端的 *TTNtv* 使 TTN 的 M 线被截断, 引起肌力调节障碍, 导致隐性、早发性 DCM。(2) 单倍剂量不足和心脏代谢障碍。与显性负性效应相反, A 带和 I 带区域的 *TTNtv* 可通过无义介导的 mRNA 降解 (NMD), 避免异常 TTN 的产生。随后的研究发现, 细胞中 TTN 数量减少可降低心脏对中链和长链脂肪酸的代谢, 并增加心脏对糖酵解的依赖性, 其分子机制尚不清楚<sup>[3]</sup>。糖酵解中间产物和支链氨基酸的长期升高会导致丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合体 1 (*mTORC1*) 信号通路活化, 进而促进无效蛋白合成和细胞自噬, 引起心肌细胞受损和心脏收缩障碍<sup>[4]</sup>。此外, Adams 等<sup>[5]</sup>发现 *TTNtv* 会影响心脏线粒体呼吸链电子传递, 继而导致活性氧 (ROS) 水平升高和线粒体蛋白泛素化增加。这些因素可通过细胞自噬和线粒体氧化磷酸化障碍等途径, 引起心肌结构破坏和能量供应不足, 最终导致心肌收缩障碍和 DCM 的形成。

尽管 *TTNtv* 与 DCM 密切相关, 但是在 2%~3% 的无症状人群中也可能存在 *TTNtv*, 这可能与 *TTN* 发生突变的区域有关。研究发现, I 带区域 *TTNtv* 的外

基金项目: 湖南省自然科学基金 (2020JJ5479, 2020JJ5391); 湖南省教育厅一般项目 (19C1604); 湖南省大学生创新训练项目 (S202010555135)

作者单位: 421000 衡阳, 南华大学衡阳医学院生物化学与分子生物学教研室

通信作者: 曾群, E-mail: zengqun2017@163.com

显子受选择性剪切控制,可以从转录本中移除而不会导致移码;另外,TTN 内部启动子(cronos)上调可以弥补 I 带启动子附近截断突变的影响,因此,TTNtv 未使健康人群产生 DCM 表型<sup>[6]</sup>。这些研究表明 TTNtv 的致病潜力主要取决于外显子的变异位置,对 TTNtv 突变区域的研究有助于评估 TTNtv 导致疾病的风险。

## 2 线粒体功能障碍相关基因突变对 DCM 发病的影响

### 2.1 线粒体 DNA

线粒体是细胞中生产能量的细胞器,对维持细胞各项生命活动至关重要。目前已经发现线粒体 DNA(mtDNA)中多个基因突变与 DCM 相关,如编码线粒体 tRNA(mt-tRNA)的基因、酰基辅酶 A 脱氢酶 9 基因(*ACAD9*)、脯氨酰 tRNA 合成酶 2 基因(*PARS2*)、Ts 翻译延伸因子基因(*TSMF*)、Tu 翻译延伸因子基因(*TUFM*)等<sup>[7]</sup>。mt-tRNA 在线粒体蛋白质的合成中起重要作用。mt-tRNA 基因多个位点的点突变都可导致 DCM,特别是 mt-tRNA 亮氨酸基因 *MT-TL1*, mt-tRNA 赖氨酸基因 *MT-TK* 和 mt-tRNA 异亮氨酸基因 *MT-TI* 的突变。近来发现 *MT-TI* m.4318-4322delc 的突变,使其转录的 tRNA T 环和 T 臂区域的 5 个连续胞嘧啶缺失,造成 tRNA 二级结构破坏,导致 tRNA 氨基酰化、半衰期缩短和 tRNA 前体缺陷,从而引起 tRNA 水平降低和蛋白质合成障碍,最终导致线粒体功能障碍和 DCM<sup>[8]</sup>。因此,目前认为 *MT-TI* m.4318-4322delc 基因突变可作为 DCM 的遗传学基础。

*ACAD9* 是酰基辅酶 A 脱氢酶家族成员,是组装线粒体呼吸链复合体 I 所必需的酶。*ACAD9* 突变可引起呼吸链复合体 I 缺陷,从而抑制线粒体氧化磷酸化和 ATP 生成,造成能量合成不足和毒性代谢产物蓄积,最终导致心肌受损和 DCM 形成。另外,Dewulf 等<sup>[9]</sup>研究显示,*ACAD9* 突变引起的 DCM 通常伴有乳酸酸中毒,这更加重了对心肌细胞的损害。

### 2.2 线粒体蛋白基因

研究发现,核基因突变也与 DCM 的形成密切相关。线粒体转录因子 A(TFAM)是一种核编码蛋白,在 mtDNA 转录中起重要作用。Li 等<sup>[10]</sup>发现小鼠 *TFAM* 基因突变可导致 DCM 的发生,且 DCM 伴有严重的房室传导阻滞。目前认为其发病机制可能是 *TFAM* 突变抑制了多种氧化磷酸化所需酶

的生成,直接影响呼吸链电子传递,从而使 ROS 大量产生<sup>[11]</sup>。ROS 的累积可触发心肌细胞生理周期的停滞<sup>[12]</sup>。Zhang 等<sup>[11]</sup>的研究表明,对心肌细胞周期的抑制可能是心肌收缩障碍和线粒体介导的 DCM 产生的重要促进因素。

超氧化物歧化酶 2(SOD2)是一种线粒体基质蛋白,具有清除线粒体中过度产生的氧自由基的功能。研究表明,*SOD2* 基因的突变可导致致命性 DCM<sup>[13]</sup>。其机制可能是 *SOD2* 基因突变使线粒体中 ROS 增多,特别是超氧化物自由基  $O_2^-$ 。*SOD2* 依赖性 ROS 生成会触发线粒体内 4-羟基壬烯醛(4-HNE)大量产生,随后 4-HNE 对 NADH 脱氢酶铁硫蛋白 2(*NDUFS2*)、琥珀酸脱氢酶复合体亚基 A(*SDHA*)、ATP 合酶 F1 结构域  $\beta$  亚基(*ATP5B*)和二氢硫辛酰胺脱氢酶(*DLD*)等呼吸链和三羧酸循环中的部分蛋白进行基团修饰,导致严重的线粒体氧化磷酸化障碍和能量生成不足,从而引起 DCM 快速进展和致死性心力衰竭<sup>[14]</sup>。

热休克蛋白(HSP)D1 是 HSP 家族 D 组成员,可作为生物活动的保护系统,预防应激引起的蛋白质损伤。*HSPD1* 也是一种线粒体伴侣蛋白,控制线粒体蛋白质的运输和维持,协助 mt-tRNA 的复制。近期研究发现,*HSPD1* 基因的点突变可导致线粒体功能障碍,促进心力衰竭和 DCM 的形成<sup>[15]</sup>,其导致 DCM 的机制可能是 *HSPD1* 基因的点突变抑制了线粒体呼吸链复合体 IV 的活性,导致 ROS 水平增加。ROS 诱导线粒体中出现大量自噬体样结构,过度自噬导致线粒体能量供应不足和肌纤维结构紊乱,从而引起心肌收缩减弱和 DCM。

## 3 相关基因多态性对 DCM 易感性的影响

Kimura 等<sup>[16]</sup>根据遗传基础和环境因素对 DCM 影响的大小,将 DCM 分为多因素型和单一基因型。当遗传因素和环境因素的共同作用达到疾病阈值时,才导致 DCM 的发生。单一基因型 DCM 的发病主要与家族遗传相关,由前文所述常见致病基因突变引起多因素型 DCM 患者中存在一些易感基因,这些基因与外界环境(如感染、化疗)的共同作用可使罹患 DCM 的风险增加,同时也影响 DCM 的结局和转归。目前,已发现部分易感基因的单核苷酸多态性(SNP)与 DCM 相关,易感基因的筛选可为 DCM 的基因诊断和早期干预提供理论基础。

### 3.1 *IL-12B*和*IL-10*基因

Frade-Barros 等<sup>[17]</sup>在感染克氏锥虫的人群中发现, 30% 的感染者会发展为炎症反应相关 DCM, 同时也显现出家族聚集性, 表明遗传因素参与了疾病的进展。相关文献报道, 在感染克氏锥虫后的此类 DCM 患者中, *IL-12B* 和 *IL-10* 水平明显升高, *IL-12B* 和 *IL-10* 基因改变可能在 DCM 的形成中发挥作用<sup>[18]</sup>。研究发现, 在 *IL-12B* 基因区域中, 2 个 SNP (rs2546893G/A、rs919766A/C) 与 DCM 的形成有关; *IL-10* 基因 3'UTR 区域的 SNP rs3024496 多态性和启动子区域的 SNP rs1800896 多态性也显示出与 DCM 易感性相关的趋势, rs3024496C 和 rs1800896G 等位基因在 DCM 患者中更为常见<sup>[17]</sup>。推测致病机制可能是 *IL-12B* 和 *IL-10* 在 T 辅助细胞 1 (Th1) 分化和  $\gamma$  干扰素 (IFN- $\gamma$ ) 生成中发挥作用, 而 DCM 患者外周血和心脏组织中 IFN- $\gamma$  和 Th1 细胞数量明显增加。IFN- $\gamma$  是 DCM 心肌中表达最高的细胞因子, 产生这种细胞因子的单核细胞也在 DCM 心脏中大量存在, 细胞因子之间的不平衡促进了 DCM 的发展。在 DCM 心脏组织中, *IL-10* 和其他 Th1 拮抗因子的 mRNA 表达较低或检测不到, 表明 DCM 心肌中的 Th1 浸润基本不受细胞因子的调节, 无法调节 Th1 反应和 IFN- $\gamma$  生成可能是 DCM 患者的免疫缺陷<sup>[18]</sup>。

### 3.2 *IL-27*基因

*IL-27* 是异二聚体炎症因子, 属于 *IL-6/IL-12* 家族, 具有较强的抗炎作用, 还可促进 *IL-1*、*IL-12* 和 *IL-18* 等炎症因子的释放。Chen 等<sup>[19]</sup>首次报道了中国汉族人群位于 *IL-27* 基因启动子区的 SNP rs153109 与 DCM 易感性存在关联, 其中 rs153109 的 AG 基因型与 DCM 风险增加有关。*IL-27* 基因的 SNP rs153109 可增加外周血单核细胞中 *IL-27* 的表达, 原因可能是启动子区域的多态性可以直接或间接地影响转录和翻译活动的稳定性, 从而影响蛋白生成。炎症细胞和 *IL-27* 等炎症因子对心肌细胞的长期浸润, 最终促使 DCM 形成。

### 3.3 *IL-31*基因

*IL-31* 基因位于染色体 12q24.31 上, 编码的 *IL-31* 可诱导多种细胞 (如上皮细胞、巨噬细胞和嗜酸性粒细胞) 释放促炎症反应介质 (如 *IL-6*)。Song 等<sup>[20]</sup>首次揭示了 *IL-31* 基因与中国汉族人 DCM 易感性相关。他们发现, DCM 患者 *IL-31* 基

因 SNP rs4758680 位点的 C 等位基因频率升高, 而 A 等位基因频率下降, C 等位基因频率与 *IL-31* 水平呈正相关。这表明 C 等位基因是 DCM 主要的诱发因素, A 等位基因 (CA/AA 基因型) 对 DCM 有保护作用。Kaplan-Meier 曲线和 Cox 比例风险模型显示, *IL-31* 基因 SNP rs4758680 的 CC 基因型频率也与 DCM 预后较差相关。另有研究表明, DCM 患者血清中 *IL-31* 水平明显升高<sup>[21]</sup>。*IL-31* 的致病机制可能是: (1) *IL-31* 通过 *IL-31* 受体 A (*IL-31RA*) 复合物起作用, *IL-31RA* 介导心脏中心肌营养素 -1 (CT-1) 下降, 导致心脏成纤维细胞功能受损; (2) 嗜酸性粒细胞中 *IL-31* 主要通过抑瘤素 M 受体 (OSMR) 介导钙内流, 提示 *IL-31* 可能影响心肌收缩<sup>[21]</sup>。

### 3.4 *ZBTB17*基因

*ZBTB17* 基因编码的 myc 相互作用锌指蛋白 -1 (MIZ-1) 属于转录因子, 可与 *c-myc* 原癌基因相互作用, 激活或抑制其靶基因的转录。Li 等<sup>[22]</sup>首次证明 *ZBTB17* 基因的 SNP rs10927875 是中国人 DCM 易感性的危险因素, 其分子机制尚不清楚, 可能与 MIZ-1 不能正常筛查前 T 细胞有关。MIZ-1 正常功能的缺失将引起免疫功能失调和细胞凋亡, 最终导致 DCM 的发生<sup>[23]</sup>。

### 3.5 其他

研究表明, 具有易感基因的个体患有心肌炎时容易发展为 DCM。Jain 等<sup>[24]</sup>发现在成人和儿童患有心肌炎时, 核纤层蛋白基因 (*LMNA*)、肌球蛋白重链 7 基因 (*MYH7*)、肌球蛋白重链 6 基因 (*MYH6*) 和 Bcl-2 相关抗凋亡基因 (*BAG*) 相关位点的多态性变异可使抗肌萎缩蛋白 (Dys)、BAG3、心肌肌钙蛋白 I3 (TNNI3) 等出现结构破坏和功能紊乱, 从而促进 DCM 的发病。另外, 研究发现病毒蛋白可通过影响人类白细胞抗原 (HLA) 的表达, 增加 DCM 的易感性<sup>[25]</sup>。例如, 丙型肝炎病毒感染者常伴有超声心动图异常, 表现为左室扩张、肥大以及收缩功能紊乱, 其 N 末端脑钠肽前体 (NT-proBNP) 水平也高于乙型肝炎病毒感染者或健康对照者<sup>[16]</sup>。

## 4 展望

遗传因素在 DCM 的发展中起关键作用, 已经证实编码肌节蛋白、核膜蛋白、细胞骨架和线粒体蛋白的多种基因是主要的致病基因。近年来的研究表明环境因素对于 DCM 的发展同样不可忽视, 其中包括炎症反应、病毒感染、药物和化疗



等。易感基因会在某种环境因素的作用下发生突变,这也解释了为什么柯萨奇病毒感染的人群中仅极少数人患有 DCM。与没有携带易感基因的个体相比,携带易感基因的个体在较低的化疗(如蒽环类药物)剂量下,发生 DCM 的风险大大增加。*IL-12B*、*IL-10*、*IL-31*、*IL-27* 和 *ZBTB17* 等基因的 SNP 位点被证明与 DCM 易感性相关,这些易感基因的发现进一步完善了 DCM 诊疗的基因数据库,*IL-12B*、*IL-10*、*IL-31*、*IL-27* 等炎症因子也成为鉴别 DCM 高危人群以及判断疾病预后的细胞因子。发现更多致病基因以及易感基因多态性,同时阐明这些基因在 DCM 发病中的作用机制,对 DCM 的预防、诊断、治疗和预后有重要意义。

#### 参 考 文 献

- [1] Ito M, Nomura S. Cardiomyopathy with LMNA mutation[J]. Int Heart J, 2018, 59(3):462-464.
- [2] Chopra A, Kutys ML, Zhang K, et al. Force generation via  $\beta$ -cardiac myosin, titin, and  $\alpha$ -actinin drives cardiac sarcomere assembly from cell-matrix adhesions[J]. Dev Cell, 2018, 44(1):87-96.
- [3] Tharp CA, Haywood ME, Sbaizero O, et al. The giant protein titin's role in cardiomyopathy: genetic, transcriptional, and post-translational modifications of TTN and their contribution to cardiac disease[J]. Front Physiol, 2019, 10:1436.
- [4] Ramos FJ, Chen SC, Garelick MG, et al. Rapamycin reverses elevated mTORC1 signaling in lamin A/C-deficient mice, rescues cardiac and skeletal muscle function, and extends survival[J]. Sci Transl Med, 2012, 4(144):144ra103.
- [5] Adams M, Fleming JR, Riehle E, et al. Scalable, non-denaturing purification of phosphoproteins using  $Ga^{3+}$ -IMAC: N2A and M1M2 titin components as study case[J]. Protein J, 2019, 38(2):181-189.
- [6] Kellermayer D, Smith JE, Granzier H. Titin mutations and muscle disease[J]. Pflugers Arch, 2019, 471(5):673-682.
- [7] Govindaraj P, Rani B, Sundaravadeivel P, et al. Mitochondrial genome variations in idiopathic dilated cardiomyopathy[J]. Mitochondrion, 2019, 48(4):51-59.
- [8] Alila-Fersi O, Tabeji M, Maalej M, et al. First description of a novel mitochondrial mutation in the MT-TI gene associated with multiple mitochondrial DNA deletion and depletion in family with severe dilated mitochondrial cardiomyopathy[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 497(4):1049-1054.
- [9] Dewulf JP, Barrea C, Vincent MF, et al. Evidence of a wide spectrum of cardiac involvement due to ACAD9 mutations: report on nine patients[J]. Mol Genet Metab, 2016, 118(3):185-189.
- [10] Li H, Wang J, Wilhelmsson H, et al. Genetic modification of survival in tissue-specific knockout mice with mitochondrial cardiomyopathy[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97(7):3467-3472.
- [11] Zhang D, Li Y, Heims-Waldron D, et al. Mitochondrial cardiomyopathy caused by elevated reactive oxygen species and impaired cardiomyocyte proliferation[J]. Circ Res, 2018, 122(1):74-87.
- [12] Puente BN, Kimura W, Muralidhar SA, et al. The oxygen-rich postnatal environment induces cardiomyocyte cell-cycle arrest through DNA damage response[J]. Cell, 2014, 157(3):565-579.
- [13] Almomani R, Herkert JC, Posafalvi A, et al. Homozygous damaging SOD2 variant causes lethal neonatal dilated cardiomyopathy[J]. J Med Genet, 2020, 57(1):23-30.
- [14] Sharma S, Bhattarai S, Ara H, et al. SOD2 deficiency in cardiomyocytes defines defective mitochondrial bioenergetics as a cause of lethal dilated cardiomyopathy[J]. Redox Biol, 2020, 37(7):101740.
- [15] Enomoto H, Mittal N, Inomata T, et al. Dilated cardiomyopathy-linked heat shock protein family D member 1 mutations cause up-regulation of reactive oxygen species and autophagy through mitochondrial dysfunction[J]. Cardiovasc Res, 2021, 117(4):1118-1131.
- [16] Kimura A. Contribution of genetic factors to the pathogenesis of dilated cardiomyopathy: the cause of dilated cardiomyopathy: genetic or acquired? (genetic-side)[J]. Circ J, 2011, 75(7):1756-1765.
- [17] Frade-Barros AF, Ianni BM, Cabantous S, et al. Polymorphisms in genes affecting interferon- $\gamma$  production and Th1 T cell differentiation are associated with progression to Chagas disease cardiomyopathy[J]. Front Immunol, 2020, 11(9):1386.
- [18] Nogueira LG, Santos RH, Fiorelli AI, et al. Myocardial gene expression of T-bet, GATA-3, Ror- $\gamma$  t, FoxP3, and hallmark cytokines in chronic Chagas disease cardiomyopathy: an essentially unopposed TH1-type response[J]. Mediators Inflamm, 2014, 2014:914326.
- [19] Chen Y, Zhang R, Zeng L, et al. IL-27 genetic variation and susceptibility of dilated cardiomyopathy in Chinese Han population[J]. Per Med, 2017, 14(5):401-408.
- [20] Song H, Peng Y, Zhou B, et al. Associations between interleukin-31 gene polymorphisms and dilated cardiomyopathy in a Chinese population[J]. Dis Markers, 2017, 2017:4191365.
- [21] Kunsleben N, Rüdrieh U, Gehring M, et al. IL-31 induces chemotaxis, calcium mobilization, release of reactive oxygen species, and CCL26 in eosinophils, which are capable to release IL-31[J]. J Invest Dermatol, 2015, 135(7):1908-1911.
- [22] Li X, Luo R, Mo X, et al. Polymorphism of ZBTB17 gene is associated with idiopathic dilated cardiomyopathy: a case control study in a Han Chinese population[J]. Eur J Med Res, 2013, 18(1):10.

(下转第 140 页)

- (上接第 132 页)

- [23] Saba I, Kosan C, Vassen L, et al. Miz-1 is required to coordinate the expression of TCR $\beta$  and p53 effector genes at the pre-TCR " $\beta$ -selection" checkpoint[J]. J Immunol, 2011, 187(6):2982-2992.
- [24] Jain A, Norton N, Bruno KA, et al. Sex differences, genetic and environmental influences on dilated cardiomyopathy[J]. J Clin Med, 2021, 10(11):2289.
- [25] Schultheiss HP, Fairweather D, Caforio A, et al. Dilated cardiomyopathy[J]. Nat Rev Dis Primers, 2019, 5(1):32.
- (收稿:2021-08-30 修回:2022-02-23)
- (本文编辑:胡晓静)