

DSP 双基因突变与家族性肥厚型心肌病的相关性分析*

戴贺¹ 陶琴¹ 程维礼¹ 张郁青¹

[摘要] 目的:对导致肥厚型心肌病(HCM)的2种新型桥粒斑蛋白基因(DSP)基因突变进行研究,并初步分析家族性 HCM 基因型与临床表型的关系。方法:纳入1例 HCM 先证者及其家系成员,同时选取100例健康人作为对照。采集先证者及其家系成员的临床资料,对该家系及对照组成员开展基因测序确定致病基因,最后绘制家系图谱进行分析。结果:该家系中,先证者及其父亲确诊为 HCM,基因测序提示2人均携带 DSP c. 6799A>T(p. Thr2267Ser)和 c. 8044C>G(p. Gln2682Glu)两种错义突变,先证者的2个女儿分别携带1种 DSP 错义突变,其余家属及健康对照组无此两种突变。结论:新发现的 DSP 基因突变可能是家族性 HCM 的致病突变,携带多个基因突变的家系成员可能更易患病,确切发病机制还需进一步研究。

[关键词] 肥厚型心肌病;DSP;基因突变;异质性

DOI:10.13201/j.issn.1001-1439.2022.10.013

[中图分类号] R542.2 [文献标志码] A

The relationship between double-gene mutation of DSP and familial hypertrophic cardiomyopathy

DAI He TAO Qin CHENG Weili ZHANG Yuqing

(Department of Cardiology, The Affiliated Jiangning Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, 211100, China)

Corresponding author: ZHANG Yuqing, E-mail: Zyq-zhq@163.com

Abstract Objective: To investigate two novel DSP gene mutations leading to hypertrophic cardiomyopathy (HCM), and elucidate the correlation between genotypes and clinical phenotypes in familiar HCM. **Methods:** One HCM proband and his family members were enrolled while 100 healthy people were selected as the control. Clinical data were collected from the HCM patient's family. Gene sequencing was carried out for the family and controls to identify the pathogenic gene. Finally, the family tree was constructed and the pertinence was performed on genotypes and clinical phenotypes. **Results:** In all of this family, the proband and his father, carried c. 6799A>T missense mutations(p. Thr2267Ser) and c. 8044C>G missense mutations(p. Gln2682Glu) of the DSP gene in the meanwhile, were diagnosed as HCM. The two daughters of the proband carried one missense mutation of the DSP gene separately. The rest of the family members and healthy controls had no such mutations. **Conclusion:** The novel DSP gene mutations may be the pathogenic mutations of familiar HCM. Family members carrying compound mutations are more likely to develop hypertrophic cardiomyopathy, but the exact pathogenesis still needs further study.

Key words hypertrophic cardiomyopathy; DSP; gene mutation; heterogeneity

肥厚型心肌病(hypertrophic cardiomyopathy, HCM)是一种以心肌肥厚尤其是室间隔非对称性肥厚为特征的心肌疾病,美国流行病学研究表明,成年人 HCM 患病率为 0.2%,中国成人 HCM 的发病率约为 0.08%^[1-3]。虽然通过临床干预及治疗, HCM 的年病死率已低于 1%,但 HCM 仍是青少年和运动员猝死的主要原因之一^[4-5]。

大多数 HCM 呈常染色体显性遗传,少数为常染色体隐性遗传和伴 X 染色体遗传^[6]。HCM 常表现为散发性和交替遗传性,散发性和家族性具有

同样的致病基因,60%的 HCM 患者具有明确的致病基因,其中 40%~60%为编码肌小节结构蛋白基因突变^[2]。桥粒斑蛋白基因(desmoplakin, DSP)是最大的桥粒蛋白基因,我国关于 DSP 基因突变致 HCM 的报道较少。本研究通过对 HCM 患者寻求新的突变位点,并描述其在患者家系中的表型情况,从而初步分析该突变基因型和临床表型的相关性。

1 对象与方法

1.1 对象

入选 2017 年 11 月南京医科大学附属江宁医院收治的 HCM 先证者及其家系成员,共 3 代 12 人参与本研究。HCM 的诊断标准为:通过各种影

*基金项目:南京市卫生局课题(No:YKK20195)

¹南京医科大学附属江宁医院心内科(南京,211100)

通信作者:张郁青,E-mail:Zyq-zhq@163.com

像学检查测量成人室间隔或心室壁厚度 ≥ 15 mm, 或者有明确家族史者厚度 ≥ 13 mm, 并排除引起继发性心肌肥厚的疾病^[7-9]。另选取南京医科大学附属江宁医院体检中心年龄、性别、种族与上述家系成员相匹配的 100 名体检未见异常的健康人作为对照。

本研究经南京医科大学附属江宁医院医学伦理委员会批准实施(批准文号:20180102), 所有入选者均签署了知情同意书。

1.2 临床资料收集

详细询问先证者及其家系成员的临床病史、家族史, 进行体格检查、12 导联心电图(ECG)、二维多普勒超声心动图(UCG)及心脏磁共振检查(CMR)。对患者的病史及检查结果进行分析。

1.3 研究方法

采集入选者的外周血 5 mL 置于含有乙二胺四乙酸(EDTA)的抗凝管中备用。用 DNA 提取试剂盒提取基因组 DNA, 经过琼脂糖电泳鉴定样本 DNA 质量合格后置于 -20°C 的冰箱中保存。采用 SolexaHiSeq 2000 测序仪(Illumina, San Diego, CA, USA)对富集的文库进行二代基因测序, 运用 NCBI 网站 BLAST 中的 bl2seq 程序确定突变位点, 然后利用生物信息学分析来排除基因的多态性。通过 Sanger 法对突变基因的相关区间进行重新测序验证并筛查患者家系成员和 100 例健康人。根据 ACMG 遗传变异分类标准与指南预测遗传变异的致病性, 最后绘制家系图谱。

2 结果

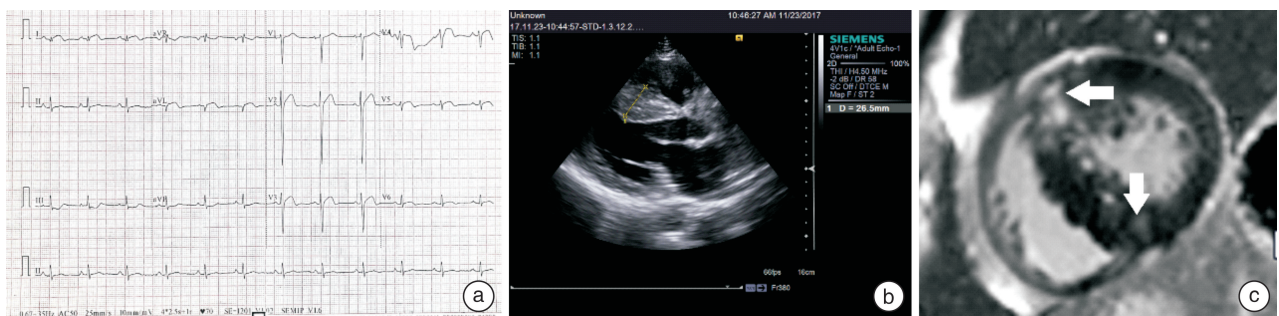
2.1 家系临床资料分析

2.1.1 先证者 先证者(II-5), 46 岁男性, 平时活动后出现胸闷、气喘, 至我院就诊, 诊断为 HCM。ECG: 窦性心律, I、aVL 导联 ST 段异常, 心电图轴右偏; UCG: 室间隔厚度(IVST)26.5 mm, 无左室流出道梗阻; CMR: 室间隔心肌存在延迟强化。见图 1。

2.1.2 家族成员 先证者父亲(I-1)68 岁, 诊断为 HCM, 发病表现为劳累后有胸闷、气喘; ECG: 窦性心动过缓, 左心室高电压, $V_4 \sim V_6$ 导联 T 波倒置; UCG: IVST 19.4 mm, 无左室流出道梗阻; CMR: 心肌存在延迟强化。先证者女儿(III-3)17 岁, ECG: 窦性心律不齐。先证者女儿(III-4)8 岁, ECG: 窦性心律, 心电图轴左偏。其余家系成员临床表现和各项检查均未见异常。先证者父亲及女儿相关资料见图 2、3。

2.2 基因测序结果

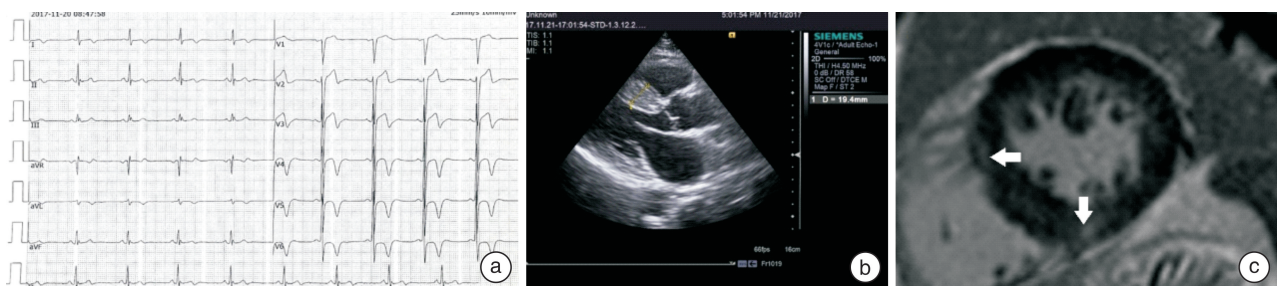
2.2.1 先证者 先证者(II-5)携带 DSP c. 6799A>T 和 c. 8044C>G 两个基因的错义突变(图 4)。DSP 基因核苷酸编码序列第 6799 位碱基由 A 变为 T, 该变异导致第 2267 号氨基酸由苏氨酸(Thr)变为丝氨酸(Ser); 第 8044 位碱基由 C 变为 G, 导致第 2682 位氨基酸由谷氨酰胺(Gln)变为谷氨酸(Glu)。本次研究检出的两种 DSP 基因突变均为首次报道。



a: ECG; b: UCG; c: CMR.

图 1 先证者临床资料

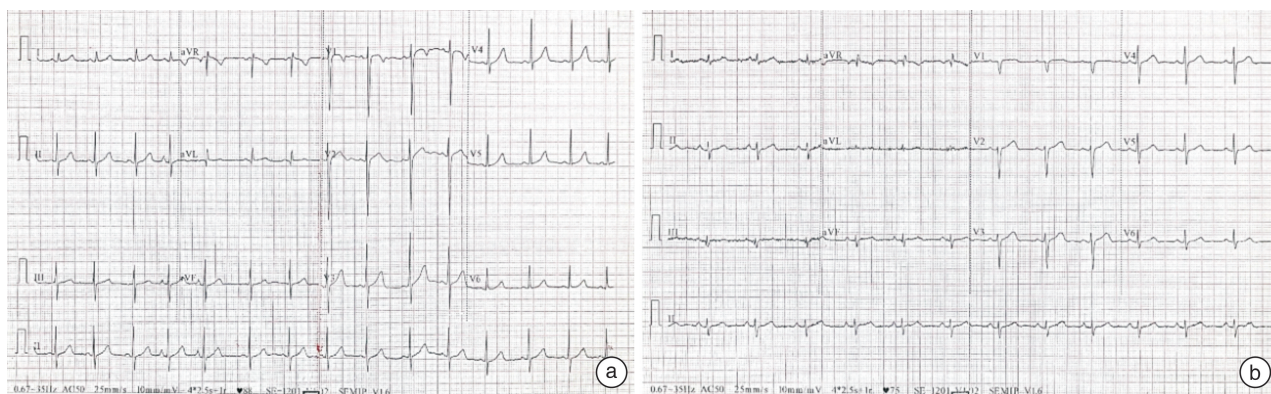
Figure 1 Clinical data of the proband



a: ECG; b: UCG; c: CMR.

图 2 先证者父亲临床资料

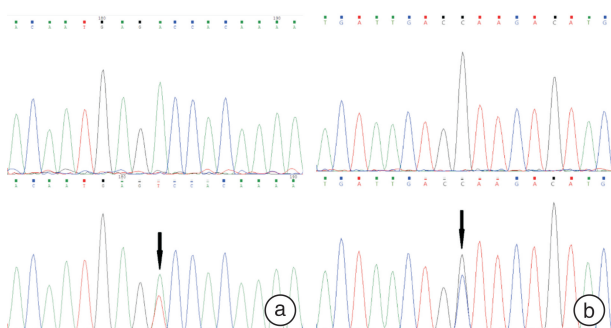
Figure 2 Clinical data of the proband's father



a: III -3; b: III -4。

图 3 先证者女儿 ECG

Figure 3 ECG of the proband's daughters



a: DSP_24 c. 6799A > T (p. Thr2267Ser); b: DSP_24 c. 8044C > G (p. Gln2682Glu)。

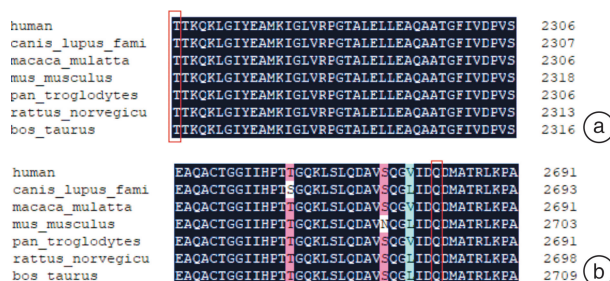
图 4 基因突变序列图

Figure 4 Gene sequencing map

2.2.2 家系成员及健康人 Sanger 测序验证后对其家系成员进行突变筛查, I-1 携带的 DSP c. 6799A > T 和 c. 8044C > G 两个基因突变位点与先证者一致, III-3 存在 DSP c. 8044C > G 错义突变, III-4 携带 DSP c. 6799A > T 错义突变, 其他家系成员及健康对照者中均未发现上述两种突变。

2.2.3 生物信息学分析 在 UniProt (<https://www.uniprot.org>) 上下载不同物种属的 DSP 基因编码的氨基酸序列, 包括人、犬、黑猩猩、鼠、牛等, 通过 DNAMAN 分析发现 DSP 基因第 2267 和 2682 位氨基酸残基在不同物种之间具有高度保守性(图 5)。使用 Mutation Taster 预测软件 (<https://www.mutationtaster.org>) 预测这两种突变均为有害性突变。

2.2.4 先证者家系基因型和表型的关系 先证者家系图谱见图 6。该家系中 2 人明确诊断为 HCM, 患病年龄均为壮年, 但先证者 IVST 明显大于 I-1, 且症状更为明显。该家系中携带双基因突变者已诊断为 HCM, 携带单基因突变者仅有 ECG 异常, 未携带致病基因者临床表现正常, 这提示基因突变的数量可能与发病率、发病时间相关。



a: DSP 2267T; b: DSP 2682Q。

图 5 不同种属氨基酸序列对比

Figure 5 Multiple alignments among different species

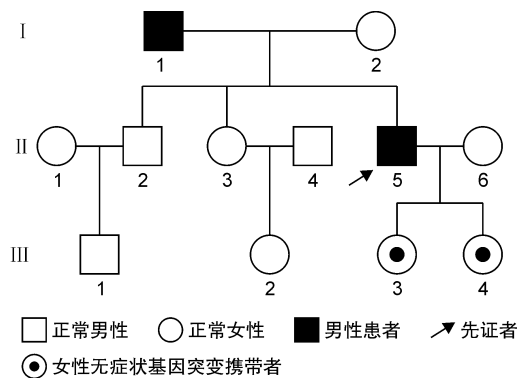


图 6 HCM 家系图

Figure 6 The pedigree of HCM

3 讨论

HCM 患者的自然病程存在明显的异质性, 无症状者可与常人无异, 典型症状包括胸痛、劳力性呼吸困难等, 首发表现也可为心脏性猝死, 这使 HCM 与癌症等其他遗传学疾病相比风险是不同的^[10]。由于修饰基因和环境因素的影响, HCM 具有典型的不完全表达率和可变外显率^[11-12]。即使在同一家系中, 同一基因型的表型表达也可能存在差异^[13]。本研究中的先证者及其父亲经检测发现携带相同的 DSP 双基因突变, 诊断为 HCM, 患病

年龄均为壮年,有趣的是先证者 IVST 明显大于 I-1,且症状更为明显,这正验证了同一家系中同一基因型临床表现具有异质性。

传统认为 HCM 是最常见的单基因遗传病,近年来研究发现少数 HCM 患者存在多基因或复合突变^[14-15]。本研究发现的 HCM 家系正好携带 DSP 双突变,二者皆为杂合突变,均考虑为常染色体显性遗传。根据孟德尔遗传连锁互换定律,先证者的两个杂合突变分别遗传到 III-3、III-4。携带单基因突变的 III-3、III-4 非 HCM,这提示疾病外显率可能与突变数量有关,但亦不排除先证者女儿年龄小, HCM 发病时间晚的可能。有研究表明,基因突变的位点和数量与 HCM 患病率相关,而与临床表型无关^[16]。但也有研究表明,多个基因突变具有累积效应,表现为 HCM 患者发病较早、表型较重、预后较差。目前还没有足够的证据证明由单个基因上的两个突变和两个致病基因的突变所引起的 HCM 临床表型表达存在差异^[6,17]。值得注意的是,多数调查的 HCM 患者中男性比女性更为多见,男性约占 60%,且女性发病年龄相对较大,但患病后预后较差^[18-22]。本研究中两个携带 DSP 双基因突变的患者均为男性,两个未患病的单基因突变携带者均为女性,考虑到致病基因外显率可能存在性别差异,该家系携带单基因突变的两位女性更应长期随访。关于基因型和临床表型的关系需要更多的临床数据来验证。

DSP 基因位于 6 号染色体(6p24.3),该基因编码的桥粒斑蛋白是桥粒的主要组成部分。桥粒是细胞间的连接点,桥粒黏附异常可导致皮肤和毛发异常、心肌细胞分离和死亡^[23]。DSP 主要包括 N 端、Rod 区域和 C 端 3 个结构域,有 3 种同工型:长型(DSP-I)、中间型(DSP-Ia)和短型(DSP-II),三者通过可变剪接形成,具有相同的 N 端和 C 端。DSP-I 是主要的心脏亚型,DSP-II 主要表达于皮肤,左心系统也存在 DSP-II 转录物,但表达水平远低于 DSP-I^[24]。DSP 在维持心肌细胞之间结构和功能的完整性方面发挥重要作用^[25]。有研究发现 DSP 表达受损会导致 Wnt/ β -catenin 信号通路减少 2 倍,导致心脏异常纤维基因和脂肪基因的表达增加^[23-24]。DSP 基因突变在西方的检出率为 16%~20%,突变位点较为分散,缺乏“热点”突变位点^[26]。其最初在 Carvajal 综合征中检测出,表现为心脏扩大伴有皮肤和毛发的改变,之后发现其与致心律失常性右室心肌病(ARVC)及扩张型心肌病均有关^[27-30]。

本研究发现的 DSP c. 6799A>T 和 c. 8044C>G 两种错义突变均位于 DSP 基因的 24 号外显子(E24)上,患者均表现为 HCM,无皮肤及毛发改变。E24 编码的蛋白区域位于 DSP 的 C 端,错义突变可以通过改变编码蛋白的氨基酸组成来改变蛋白质的结构和功能^[6]。国内关于这种桥粒改变

与 HCM 直接联系报道迄今较少。国外一项关于 HCM 基因突变分析的研究发现,41 例原发性 HCM 患者中,14% 的患者携带至少 1 种 DSP 基因突变^[31]。大多数 DSP 基因突变的患者也存在编码肌节蛋白的基因突变,这使得其致病作用难以确定^[32-33]。近年来有学者通过临床对照试验表明,罕见 DSP 基因突变可能是 HCM 的发病原因^[34]。Martherus 等^[35]在关于慢性耐力运动如何促进 DSP 基因突变致 ARVC 发病的小鼠模型中发现,在没有运动的小鼠中,与对照组相比,携带 DSP (R2834H)基因突变的小鼠在 16 周龄时表现出室间隔的增厚;无论有无运动,16 周龄的突变小鼠组均出现心脏重量与体重比例的显著增加。这表明该突变可能会引起心肌的病理性肥大,而 DSP 基因突变导致 HCM 发病的具体机制仍需深入探讨。

虽然 HCM 无法治愈,但早期筛查和诊断有助于早期采取措施减缓疾病进展、降低猝死风险,还可以同辅助生殖技术相结合来指导优生优育,从根源上防治 HCM^[36]。本研究对一个 HCM 先证者的家系进行高通量基因测序,发现了两个可能致病的 DSP 基因突变位点,丰富了 HCM 的致病基因库,为后续临床干预及精准治疗提供了理论依据。通过对该家系临床资料的分析验证了 HCM 基因突变临床表型具有异质性,推测疾病外显率可能受突变数量及性别影响。但本研究存在一定局限性,由于样本量少,对于基因型和临床表现型的因果关系需要更多的临床数据及基础实验去验证,DSP 基因突变导致 HCM 的机制亟需进一步验证。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Semsarian C, Ingles J, Maron MS, et al. New perspectives on the prevalence of hypertrophic cardiomyopathy[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2015, 65(12):1249-1254.
- [2] McKenna WJ, Judge DP. Epidemiology of the inherited cardiomyopathies[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2021, 18(1):22-36.
- [3] Gao G, Liu G, Chen W, et al. A novel nonsense mutation in TNNT2 in a Chinese pedigree with hypertrophic cardiomyopathy: A case report[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(34):e21843.
- [4] Ommen SR, Mital S, Burke MA, et al. 2020 AHA/ACC Guideline for the Diagnosis and Treatment of Patients With Hypertrophic Cardiomyopathy: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines[J]. *Circulation*, 2020, 142(25):e558-e631.
- [5] Elliott P. Sudden cardiac death in hypertrophic cardiomyopathy: time to change the narrative[J]. *Eur Heart J*, 2021, 42(38):3945-3947.
- [6] Marian AJ, Braunwald E. Hypertrophic Cardiomyopathy: Genetics, Pathogenesis, Clinical Manifestations, Diagnosis, and Therapy[J]. *Circ Res*, 2017, 121(7):749-770.

- [7] 中华医学会心血管病学分会中国成人肥厚型心肌病诊断与治疗指南编写组, 中华心血管病杂志编辑委员会. 中国成人肥厚型心肌病诊断与治疗指南[J]. 中华心血管病杂志, 2017, 45(12): 1015-1032.
- [8] Authors/Task Force members, Elliott PM, Anastakis A, et al. 2014 ESC Guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy: the Task Force for the Diagnosis and Management of Hypertrophic Cardiomyopathy of the European Society of Cardiology (ESC) [J]. *Eur Heart J*, 2014, 35(39): 2733-2779.
- [9] 中华医学会超声医学分会超声心动图学组, 中国超声医学工程学会超声心动图专业委员会. 肥厚型心肌病超声心动图检查规范专家共识[J/OL]. 中华医学超声杂志(电子版), 2020, 17(5): 394-408.
- [10] Maron BJ, Maron MS. Hypertrophic cardiomyopathy [J]. *Lancet*, 2013, 381(9862): 242-255.
- [11] Semsarian C, Semsarian CR. Variable Penetrance in Hypertrophic Cardiomyopathy: In Search of the Holy Grail[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 76(5): 560-562.
- [12] Bonaventura J, Polakova E, Vejtasova V, et al. Genetic Testing in Patients with Hypertrophic Cardiomyopathy[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(19).
- [13] Rowin EJ, Maron BJ, Maron MS. The Hypertrophic Cardiomyopathy Phenotype Viewed Through the Prism of Multimodality Imaging: Clinical and Etiologic Implications[J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2020, 13(9): 2002-2016.
- [14] 梁希晨, 崔畅, 王子盾, 等. MYH7 和 MYBPC3 基因双突变致肥厚型心肌病并心房颤动伴血栓一例[J]. 中华心律失常学杂志, 2020, 24(5): 493-495.
- [15] Ren MB, Chai XR, Li L, et al. Potential digenic inheritance of familial hypertrophic cardiomyopathy identified by whole-exome sequencing [J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2020, 8(3): e1150.
- [16] Viswanathan SK, Sanders HK, McNamara JW, et al. Hypertrophic cardiomyopathy clinical phenotype is independent of gene mutation and mutation dosage[J]. *PLoS One*, 2017, 12(11): e0187948.
- [17] Fourey D, Care M, Siminovitch KA, et al. Prevalence and Clinical Implication of Double Mutations in Hypertrophic Cardiomyopathy: Revisiting the Gene-Dose Effect[J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2017, 10(2).
- [18] Siontis KC, Ommen SR, Geske JB. Sex, Survival, and Cardiomyopathy: Differences Between Men and Women With Hypertrophic Cardiomyopathy [J]. *J Am Heart Assoc*, 2019, 8(21): e014448.
- [19] Veselka J, Faber L, Liebrechts M, et al. Sex-Related Differences in Outcomes of Alcohol Septal Ablation for Hypertrophic Obstructive Cardiomyopathy [J]. *JACC Cardiovasc Interv*, 2021, 14(12): 1390-1392.
- [20] Pydah SC, Mauck K, Shultis C, et al. Screening for hypertrophic cardiomyopathy [J]. *JAAPA*, 2021, 34(10): 23-27.
- [21] Lorenzini M, Anastasiou Z, O'Mahony C, et al. Mortality Among Referral Patients With Hypertrophic Cardiomyopathy vs the General European Population[J]. *JAMA Cardiol*, 2020, 5(1): 73-80.
- [22] Marian AJ. Molecular Genetic Basis of Hypertrophic Cardiomyopathy[J]. *Circ Res*, 2021, 128(10): 1533-1553.
- [23] Garrod D, Chidgey M. Desmosome structure, composition and function[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1778(3): 572-587.
- [24] Yuan ZY, Cheng LT, Wang ZF, et al. Desmoplakin and clinical manifestations of desmoplakin cardiomyopathy [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2021, 134(15): 1771-1779.
- [25] Green KJ, Jaiganesh A, Broussard JA. Desmosomes: Essential contributors to an integrated intercellular junction network[J]. *F1000Res*, 2019, 8.
- [26] 张黔桓, 邓春玉, 黄峻, 等. 致心律失常性右室心肌病 DSP 基因突变与表现型的关系[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2013, 34(5): 727-733.
- [27] Ramoğlu MG, Uçar T, Ceylaner S, et al. A novel mutation in the desmoplakin gene in two female siblings with a rare form of dilated cardiomyopathy: Carvajal syndrome[J]. *Anatol J Cardiol*, 2017, 18(6): 435-436.
- [28] Heliö K, Kangas-Kontio T, Weckström S, et al. DSP p. (Thr2104Glnfs * 12) variant presents variably with early onset severe arrhythmias and left ventricular cardiomyopathy[J]. *BMC Med Genet*, 2020, 21(1): 19.
- [29] 姜澍谓, 王健怡, 肖婷婷, 等. DSP 复合杂合基因突变与扩张型心肌病的发生有关[J]. 内科理论与实践, 2020, 15(2): 94-98.
- [30] 马慧慧, 戴霞飞, 李小平. 致心律失常性右室心肌病的遗传学研究进展[J]. 临床心血管病杂志, 2019, 35(02): 104-108.
- [31] Bottillo I, D'Angelantonio D, Caputo V, et al. Molecular analysis of sarcomeric and non-sarcomeric genes in patients with hypertrophic cardiomyopathy[J]. *Gene*, 2016, 577(2): 227-235.
- [32] De Bortoli M, Calore C, Lorenzon A, et al. Co-inheritance of mutations associated with arrhythmogenic cardiomyopathy and hypertrophic cardiomyopathy [J]. *Eur J Hum Genet*, 2017, 25(10): 1165-1169.
- [33] Lopes LR, Zekavati A, Syrris P, et al. Genetic complexity in hypertrophic cardiomyopathy revealed by high-throughput sequencing[J]. *J Med Genet*, 2013, 50(4): 228-239.
- [34] Wu G, Liu J, Ruan J, et al. Deleterious Rare Desmosomal Variants Contribute to Hypertrophic Cardiomyopathy and Are Associated With Distinctive Clinical Features[J]. *Can J Cardiol*, 2022, 38(1): 41-48.
- [35] Martherus R, Jain R, Takagi K, et al. Accelerated cardiac remodeling in desmoplakin transgenic mice in response to endurance exercise is associated with perturbed Wnt/ β -catenin signaling [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2016, 310(2): H174-187.
- [36] Ho CY. Genetics and clinical destiny: improving care in hypertrophic cardiomyopathy[J]. *Circulation*, 2010, 122(23): 2430-2440.