

• 病例报告 •

## PKP2 基因家系突变与致心律失常性右室心肌病表型分析 1 例\*

方旭<sup>1</sup> 程维礼<sup>1</sup> 任重远<sup>1</sup> 张郁青<sup>1</sup> 连晓清<sup>1</sup> 陶琴<sup>1</sup>

**[摘要]** 1 例青年男性患者经相关检查确诊为致心律失常性右室心肌病(ARVC)先证者后,收集先证者家系的临床资料,对先证者及发病家系成员进行全基因组测序,筛选可疑致病基因,并通过 Sanger 测序法进行验证。对该家系筛查发现先证者及其母亲均为 PKP2 基因 c.517C>T 杂合无义突变携带者,余家系成员及对照组均未携带该致病突变。本研究发现 PKP2 基因家系突变可能导致家族性遗传,其表型分析符合典型 ARVC 临床特点并且无左室功能受累。

**[关键词]** 致心律失常性心肌病;致心律失常性右室心肌病;PKP2 基因;基因表型分析

**DOI:**10.13201/j.issn.1001-1439.2024.06.016

**[中图分类号]** R541.7 **[文献标志码]** D

### Family mutation of PKP2 gene and arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy phenotypic analysis: one case report

FANG Xu CHENG Weili REN Zhongyuan ZHANG Yuqing LIAN Xiaqing TAO Qin

(Department of Cardiology, Nanjing Jiangning Hospital, Nanjing, 211199, China)

Corresponding author: TAO Qin, E-mail: 316848152@qq.com

**Abstract** To perform pathogenic gene screening on the family members of a patient with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy(ARVC) and analyze the correlation between their genotype and phenotype. The study focused on a young male admitted with a diagnosis of ventricular arrhythmia. After diagnosing the patient with ARVC, clinical data from both the patient and family members were collected and analyzed using whole genome sequencing. Suspected pathogenic genes were screened and verified through Sanger sequencing. Relevant genetic screening was conducted on other family members and the control group. The patient and his mother were diagnosed as carriers of the c.517C>T heterozygous nonsense variation of the PKP2 gene mutation. This study indicates that a familial PKP2 gene mutation might lead to familial inheritance. The phenotypic analysis was consistent with the typical clinical features of ARVC without involving left ventricular function.

**Key words** arrhythmogenic cardiomyopathy; arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy; plakophilin-2; phenotypic analysis

致心律失常性心肌病指合并心律失常及心功能不全的一类心肌病,可累及左室或(和)右室,常见病因包括遗传、炎症、感染或全身疾病所致的心脏异常(如心脏淀粉样变性、结节病)。致心律失常性右室心肌病(arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy, ARVC)是最常见也是较具特异性的一类遗传性致心律失常性心肌病,其右室正常心肌细胞被纤维脂肪细胞取代,多数合并室性心律失常或发生心源性猝死<sup>[1]</sup>。自 2010 年 ARVC 标准修订以来,随着基因测序技术的发展,证实 ARVC 相关致病基因主要为桥粒蛋白功能缺失性突变,主要为常染色体显性遗传<sup>[2]</sup>。

### 1 病例资料

先证者:患者近 5 年反复发作心悸伴胸闷,约 1 min 左右自行好转,本次因心悸再发入院,心电图提示室性心动过速(图 1),心室率约 220 次/min,予 150 J 同步电复律后转复窦性心律, V<sub>1</sub>~V<sub>4</sub>T 波倒置(图 2)。超声心动图示:右房右室增大,右室流出道内径增宽,右室腔内肌小梁排列紊乱,右室游离壁运动减低(图 3)。心脏磁共振:右室扩大,室壁变薄;左室中远段侧壁心肌水肿伴延迟强化。心脏超声及磁共振均提示 ARVC(图 4)。先证者随后行导管射频消融术治疗(图 5)。

家系成员:先证者为独子,对其父母行常规心电图、超声心动图、动态心电图及心脏磁共振。其父亲辅检均未见明显异常。其母亲心电图示:频发室性期前收缩, V<sub>1</sub>~V<sub>6</sub>T 波倒置(图 6)。超声示右

\*基金项目:南京医科大学科技发展基金项目(No: NMUB20210156)

<sup>1</sup>南京市江宁医院内科(南京,211199)

通信作者:陶琴, E-mail:316848152@qq.com

室心尖部局部心肌变薄,右室流出道内径增宽, PSAX RVOT 约 36 mm ( $\geq 36$  mm), PSAX/BSA ( $\geq 21$  mm/m<sup>2</sup>) (图 7)。动态心电图:窦性心律+异位心律,频发室性期前收缩(6 416 次),部分成对,非持续性室性心动过速。心脏磁共振:右室心尖部稍扩大伴室壁运动不规则,右心功能正常(图 8)。经基因测序证实先证者及母亲均携带 PKP2 基因突变,随后对其母亲兄弟筛查未发现致病基因。

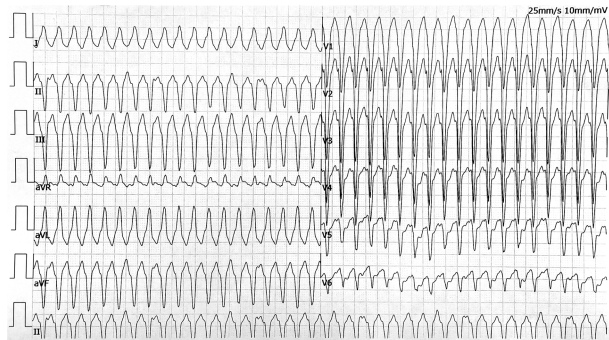


图 1 先证者室性心动过速发作心电图

Figure 1 Ventricular tachycardia of progenitor in ECG

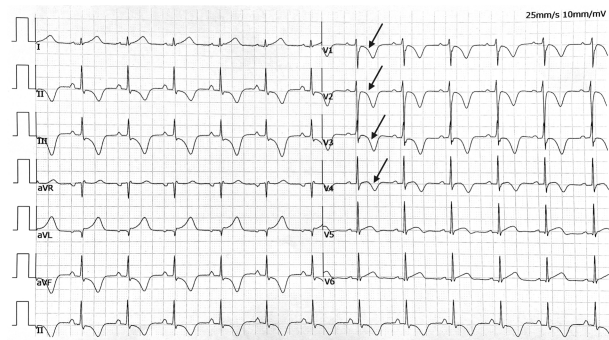
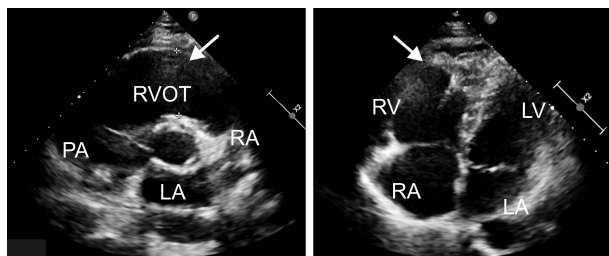


图 2 先证者心电图 V<sub>1</sub>~V<sub>4</sub>T 波倒置

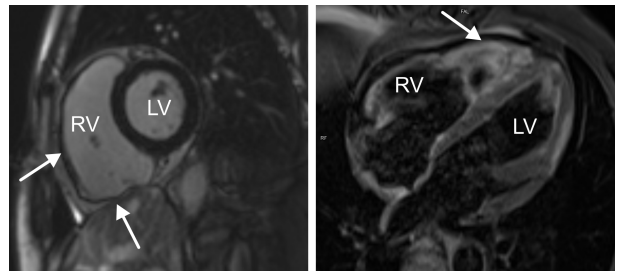
Figure 2 V<sub>1</sub>-V<sub>4</sub>T waves Inversion in progenitor



左图为胸骨旁大动脉短轴切面,提示右室流出道增宽,约 39 mm,右图心尖四腔切面可见右室明显增大,右室游离壁局部膨出。RA:右心房;RV:右心室;LA:左心房;LV:左心室。

图 3 先证者超声心动图

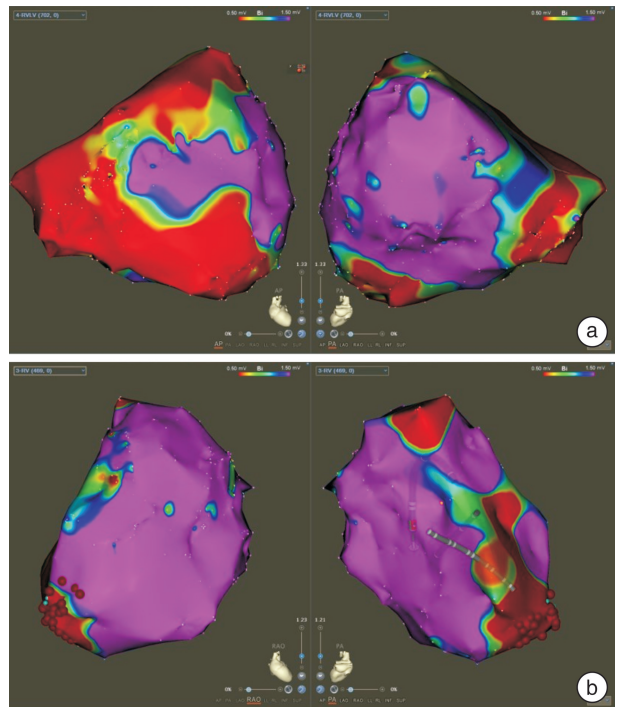
Figure 3 Progenitor echocardiography



左图为心脏短轴位,提示右室增大,右室游离壁明显变薄且凹凸不平。右图为右室心肌被脂肪组织代替,局部可见室壁瘤,右室收缩减低。

图 4 先证者心脏磁共振

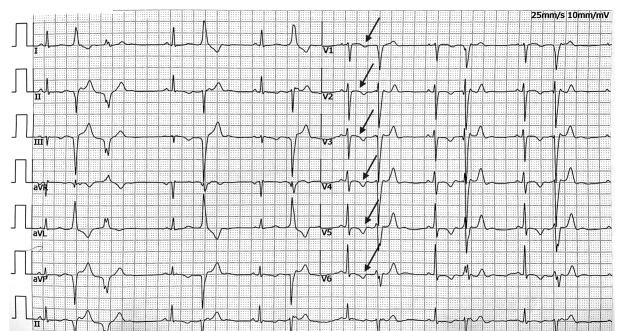
Figure 4 Cardiac magnetic resonance of progenitor



a:心内膜标测可见大片低电压区域出现在心室侧壁心尖处;b:心外膜标测提示低电压区主要出现在心尖处。

图 5 先证者行导管射频消融术

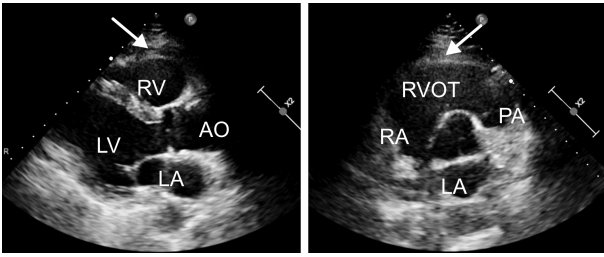
Figure 5 The progenitor underwent radiofrequency catheter ablation



先证者母亲心电图为频发室性期前收缩, V<sub>1</sub>~V<sub>6</sub>T 波倒置。

图 6 先证者母亲

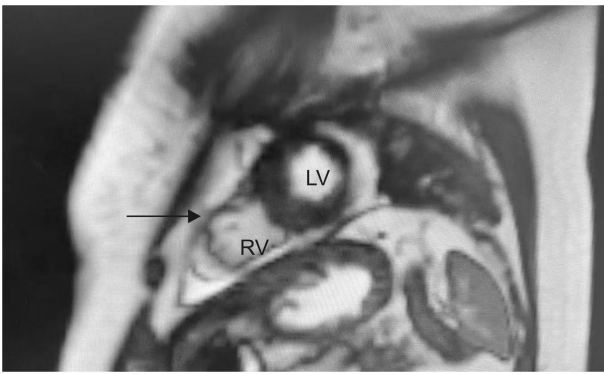
Figure 6 The mother of progenitor



先证者母亲超声心动图左图为胸骨旁左室长轴切面可见右室稍增大,右图为胸骨旁大动脉短轴切面可见右室流出道稍增宽。

图 7 先证者母亲超声心动图

Figure 7 Ultrasound cardiogram of progenitor's mother



先证者母亲磁共振心脏短轴位箭头处为右室心尖部稍扩大,局部室壁运动不规则。

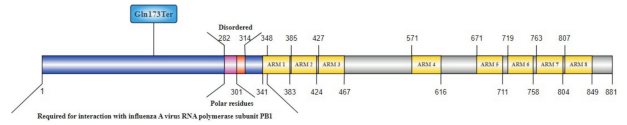
图 8 先证者母亲磁共振

Figure 8 Magnetic resonance of progenitor's mother

基因测序:本研究使用目标区域序列捕获及第 2 代高通量测序技术对 ARVC 相关基因的全部外显子及侧翼区进行测序。所有测序结果均使用 BWA 软件(Version:0.7.12-r1039)映射至人类参考基因组序列(GRCh37/hg19)。通过质量评价,结果合格的测序数据进入分析流程。使用 pipeline 平台,通过 ANNOVAR 软件筛选致病的候选突变。利用已知突变数据库(如 dbSNP142、ESP6500 及 1000 Genome 等)去除在数据库中出现频率较高的突变,并将剩下的突变注释到基因组上的各个基因区间,标记突变对蛋白质编码的改变情况(如错义突变、无义突变或移码突变);通过疾病数据库(OMIM、HGMD 和 ClinVar 等)将部分已知突变与疾病表型联系起来,并利用常用预测软件(SIFT、Polyphen 等)对突变进行有害性和保守性预测,最终鉴定导致疾病发生的相关基因及突变。所有测得的罕见变异及已知变异,均经 Sanger 法测序进行验证。收集携带罕见变异及已知变异的家族,经 Sanger 法测序验证是否携带相同变异。

蛋白结构模拟:蛋白结构域参考 uniprot 页面的 Family & Domains 部分使用 IBS2.0 进行绘图及添加标签(图 9)。下载 swiss model 下的 PKP2

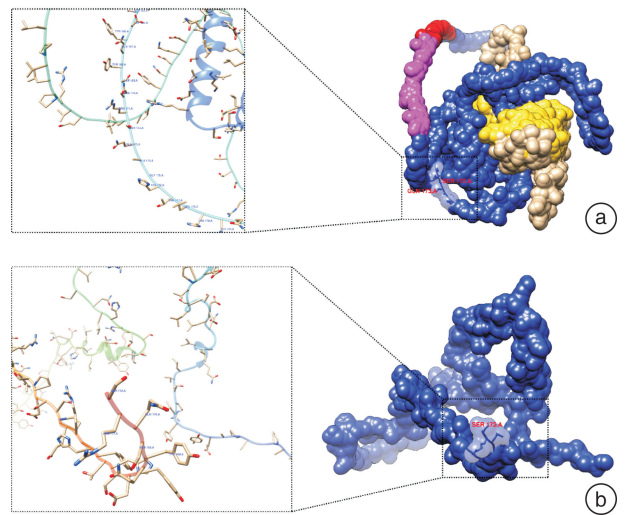
的蛋白三维结构使用 chimera 软件对相应的结构域进行着色,并放大发生变异的位点附近。根据变异情况获取变异后的氨基酸序列,下载预测模型,使用 chimera 软件对相应的结构域进行着色,并放大发生变异的位点附近,进行展示(图 10)。



截断突变 PKP2 基因 NM\_004572.4: c.517C > T p. Gln173Ter 位于 Required for interaction with influenza A virus RNA polymerase subunit PB1 区域。

图 9 基因突变

Figure 9 Genetic mutations



a:野生型蛋白三维结构图;b:模拟突变型蛋白三维结构图。

图 10 蛋白三维结构图

Figure 10 Three-dimensional structure of protein

结果:本文中先证者为青年男性,以室性心律失常为首发症状,经超声、磁共振等检查诊断为 ARVC,经电生理标测心内膜广泛低电压区,符合 ARVC 右室心肌被纤维脂肪细胞取代的特点,在常规病变区域予射频消融术治疗后并对其制定随访计划,后期有生育需求再行遗传咨询。通过基因家系筛查发现其母亲携带同样突变基因,且心电图也提示有频发室性期前收缩、非持续性室性心动过速,予抗心律失常类药物口服同样制定随访计划,指导运动限制<sup>[3]</sup>,鼓励其家族成员尽早完善基因筛查<sup>[4]</sup>。

## 2 讨论

ARVC 在我国暂无流行病学统计数据,在国外为 35 岁以下发生心源性猝死的重要病因<sup>[5]</sup>。其致病基因突变主要为编码桥粒蛋白的相关基因,部分

编码非桥粒蛋白的基因突变亦表现 ARVC 表型,通常认为此类突变编码的蛋白也与桥粒蛋白功能及结构密切联系。致病基因最常见的为桥粒斑菲素蛋白 2 基因(Plakophilin-2, PKP2),其次为编码桥粒芯糖蛋白-2(desmoglein-2, DSG2)、桥粒斑蛋白(desmoplakin, DSP)基因<sup>[6-7]</sup>。

在大型队列研究中证实 PKP2 是与 ARVC 发病相关最常见的致病基因,发病年龄(35±18)岁,经过 6 年随访其相较其他常见致病基因(DSP、DSG2、DSC2 等)发生左室功能障碍可能性最低,男性患者发生心律失常率要更高<sup>[8]</sup>。同样发现 ARVC 男性患者更易发生持续性室性心律失常,虽 PKP2 基因致病更为常见,但其基因突变携带者发生持续性室性心律失常的重点事件(室速、猝死等)与 DSG2 无显著差异,且终末期心力衰竭事件(死亡、心脏移植)发生率较低<sup>[9]</sup>。

很多研究都试图探讨基因表型的相关性,PKP2 基因相较其他基因突变更具有典型的 ARVC 临床表现、室性心律失常及孤立性右室受累特性,心电图 V<sub>1</sub>~V<sub>3</sub> 的 T 波倒置多见且患者发病年龄更早<sup>[10-11]</sup>。欧洲一项大型多中心临床研究显示约 92.5% 的 ARVC 患者存在 LBBB 型室性心动过速,而 PKP2 基因突变者在其中占主导地位(65.2%)<sup>[12]</sup>。本研究先证者自 25 岁开始间断发作心慌,结合病史分析室性心律失常可能,符合既往临床研究该基因突变临床表型特点。其母亲临床表型与其基本一致,两人同样携带了 PKP2 基因 c. 517C>T 杂合无义变异,其使第 173 位氨基酸处提前出现终止密码子,可能会使蛋白截短表达、无义变异或下游的移码。经预测工具模拟蛋白质四级结构的三维空间结果可见野生型及突变型的差异,从分子水平可视化分析基因突变对蛋白质结果的影响。在心肌细胞中,PKP2 在夹层盘内的桥粒结构中发现,桥粒作用为细胞锚并连接中间丝。心脏桥粒细胞间部分由钙粘着蛋白、桥粒芯糖蛋白-2(DS2G)和桥粒芯胶蛋白-2(DSC2)通过异源方式结合。连接盘状球蛋白(JuP)和桥粒斑菲素蛋白-2(PKP2)和桥粒斑蛋白(DSP)连接结蛋白与桥粒。当 DS2G 与 DSC2 结合时,桥粒的超粘着状态依赖于钙离子的存在。桥粒主要蛋白即 PKP2 已经显示出不仅仅是细胞连接的组分,而且作为各种信号通路的多功能支架,可以更全面地调节多种细胞活动<sup>[13-14]</sup>。PKP2 基因的表达浓度或者结构功能的改变,能够通过影响心肌细胞间缝隙连接的数量及桥接蛋白的电生理活性,引起传导速度减慢而发生折返性心律失常的倾向增加,导致心室壁起源的恶性心律失常的发生<sup>[15-16]</sup>。运动相关猝死既往认为多系心脏结构异常,如遗传性心肌病,最近研究提出年轻人水源性猝死(sudden cardiac death, SCD)

主因为恶性心律失常,因此早期识别及发现可以减少 SCD 发生<sup>[17-18]</sup>。多年来尽管依据 2010 年特别工作组制定的诊断标准对 ARVC 进行规范化诊疗,但仍存在部分假阳性如特发性流出道室性心动过速,可以通过总结典型病例的室速形态、超声心动图、磁共振等继续细化诊断标准,并且在基因测序技术发展下可以协助明确诊断,同时筛查家系成员的潜在风险。这些阳性致病基因家系成员多能做到良好的随访,动态评估病程进展,提前获得规范的医疗方案<sup>[19-20]</sup>。

本文先证者家族成员少,先证者母亲及其家系成员长期居住外地,无法获取更多临床数据来建立较完整的家系资料,先证者及其母亲均表现高危室性心律失常,与之前研究 PKP2 基因突变表型相符,进一步证实表型识别的重要性,对于青年发生室性心律失常需尽早在有经验的心脏疾病中心入院筛查以防止漏诊<sup>[21]</sup>,如明确携带致病基因可以在符合伦理前提下于生育中心选择无致病基因的后代。曾建立 PKP2 缺乏小鼠模型观察到 PKP2 缺陷情况下运动诱导或儿茶酚胺性危及生命的心律失常的致心律失常机制<sup>[22]</sup>。本研究后续旨在动物模型中总结典型 ARVC 发生室性心律失常机制,及不同致病基因所致表型特征,有望指导临床医生更早辨别高危心肌病人群,减少 SCD 发生。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Goff ZD, Calkins H. Sudden death related cardiomyopathies-Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy, arrhythmogenic cardiomyopathy, and exercise-induced cardiomyopathy [J]. Prog Cardiovasc Dis, 2019, 62(3): 217-226.
- [2] Marcus FI, McKenna WJ, Sherrill D, et al. Diagnosis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: proposed modification of the Task Force Criteria [J]. Eur Heart J, 2010, 31(7): 806-814.
- [3] Wang W, Tichnell C, Murray BA, et al. Exercise restriction is protective for genotype-positive family members of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy patients [J]. Europace, 2020, 22(8): 1270-1278.
- [4] Bosman LP, Te Riele A. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: a focused update on diagnosis and risk stratification [J]. Heart, 2022, 108(2): 90-97.
- [5] Protonotarios A, Bariani R, Cappelletto C, et al. Importance of genotype for risk stratification in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy using the 2019 ARVC risk calculator [J]. Eur Heart J, 2022, 43(32): 3053-3067.
- [6] Gandjbakhch E, Redheuil A, Pousset F, et al. Clinical Diagnosis, Imaging, and Genetics of Arrhythmogenic

- Right Ventricular Cardiomyopathy/Dysplasia: JACC State-of-the-Art Review[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 72(7):784-804.
- [7] 中华医学会心血管病学分会精准心血管病学学组, 中国医疗保健国际交流促进会, 精准心血管病分会, 等. 单基因遗传性心血管疾病基因诊断指南[J]. *中华心血管病杂志*, 2019, 47(3):175-195.
- [8] Bhonsale A, Groeneweg JA, James CA, et al. Impact of genotype on clinical course in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy-associated mutation carriers[J]. *Eur Heart J*, 2015, 36(14):847-855.
- [9] Hermida A, Fressart V, Hidden-Lucet F, et al. High risk of heart failure associated with desmoglein-2 mutations compared to plakophilin-2 mutations in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia[J]. *Eur J Heart Fail*, 2019, 21(6):792-800.
- [10] Biernacka EK, Borowiec K, Franaszczyk M, et al. Pathogenic variants in plakophilin-2 gene (PKP2) are associated with better survival in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy[J]. *J Appl Genet*, 2021, 62(4):613-620.
- [11] Bhonsale A, Groeneweg JA, James CA, et al. Impact of genotype on clinical course in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy-associated mutation carriers[J]. *Eur Heart J*, 2015, 36(14):847-855.
- [12] Belhassen B, Laredo M, Roudijk RW, et al. The prevalence of left and right bundle branch block morphology ventricular tachycardia amongst patients with arrhythmogenic cardiomyopathy and sustained ventricular tachycardia: insights from the European Survey on Arrhythmogenic Cardiomyopathy [J]. *Europace*, 2022, 24(2):285-295.
- [13] Austin KM, Trembley MA, Chandler SF, et al. Molecular mechanisms of arrhythmogenic cardiomyopathy [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2019, 16(9):519-537.
- [14] van Opbergen CJ, Delmar M, van Veen TA. Potential new mechanisms of pro-arrhythmia in arrhythmogenic cardiomyopathy: focus on calcium sensitive pathways [J]. *Neth Heart J*, 2017, 25(3):157-169.
- [15] Cerrone M, Montnach J, Lin X, et al. Plakophilin-2 is required for transcription of genes that control calcium cycling and cardiac rhythm [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1):106.
- [16] Franklin BA, Thompson PD, Al-Zaiti SS, et al. Exercise-related acute cardiovascular events and potential deleterious adaptations following long-term exercise training: placing the risks into perspective—an update: a scientific statement from the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2020, 141(13):e705-e736.
- [17] 中国医药卫生文化协会心血管健康与科学运动分会. 运动相关心血管事件风险的评估与监测中国专家共识[J]. *中国循环杂志*, 2022, 37(7):659-668.
- [18] Bosman LP, Cadrin-Tourigny J, Bourfiss M, et al. Diagnosing arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy by 2010 Task Force Criteria: clinical performance and simplified practical implementation [J]. *Europace*, 2020, 22(5):787-796.
- [19] Andrews CM, Srinivasan NT, Rosmini S, et al. Electrical and Structural Substrate of Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy Determined Using Noninvasive Electrocardiographic Imaging and Late Gadolinium Magnetic Resonance Imaging [J]. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2017, 10(10):110.
- [20] 梁晴, 陶琴. JPH2 基因 p. R616C 突变与家族性扩张型心肌病的相关性分析 [J]. *临床心血管病杂志*, 2023, 39(4):303-307.
- [21] van Opbergen C, Bagwan N, Maurya SR, et al. Exercise causes arrhythmogenic remodeling of intracellular calcium dynamics in plakophilin-2-deficient hearts [J]. *Circulation*, 2022, 145(19):1480-1496.
- [22] Cadrin-Tourigny J, Bosman LP, Nozza A, et al. A new prediction model for ventricular arrhythmias in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy [J]. *Eur Heart J*, 2022, 43(32):e1-e9.

(收稿日期:2023-08-02)