

Myomesin 基因家族及其相关疾病的研究进展

杭成文 崔鸣

(北京大学第三医院心内科, 北京 100191)

【摘要】 随着近年来对横纹肌肌原纤维 M 带的研究深入, 人们发现 M 带异常也是导致肌肉疾病发生的重要原因。其中肌间蛋白(Myomesin)基因家族(主要包括 MYOM1、MYOM2 和 MYOM3)编码的蛋白是目前已知的心肌和骨骼肌肌原纤维 M 带中央部 M 线的主要组成成分。现对其分子组成、生理功能以及与疾病的关联进行综述, 突出其重要性, 从而引起研究者的重视。

【关键词】 M 带; Myomesin 基因家族; 肌病; 心肌病; 肌节

【DOI】 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2021.04.007

Myomesin Gene Family and Related Diseases

HANG Chengwen, CUI Ming

(Department of Cardiology, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China)

【Abstract】 With the in-depth research on the M-band of striated muscle myofibrils in recent years, it has been found that abnormalities in the M-band are also an important cause of myopathies. The proteins encoded by Myomesin gene family (mainly including MYOM1, MYOM2 and MYOM3) are currently known as one of the main structural components of the M-line, locating in the central part of the M-band in myocardium and skeletal muscle. This article will review its molecular composition, biological function and its association with diseases, so as to highlight its importance and get researchers' attention to this gene family.

【Key words】 M-band; Myomesin gene family; Myopathy; Cardiomyopathy; Sarcomere

肌原纤维是肌肉细胞的基本收缩单位, 而肌节是横纹肌(心肌和骨骼肌)肌原纤维的基本结构单位。它是由位于两端的 Z 盘和正中央的 M 带将细肌丝(肌动蛋白、肌钙蛋白和原肌球蛋白)和粗肌丝(肌球蛋白)有序地排列在一起所形成的明暗相间的横纹结构, 并通过粗细肌丝之间的相互滑行来实现肌肉收缩。其中 M 带是由反向平行排列的肌球蛋白杆状部交叠形成, 而相邻的肌球蛋白杆状部则通过肌间蛋白(Myomesin)相互交联, 形成 M 线。目前在脊椎动物发现的 Myomesin 基因家族有 MYOM1、MYOM2 和 MYOM3 三个成员, 分别编码 Myomesin/Myomesin-1、Myomesin-2/M-protein 和 Myomesin-3 蛋白^[1]。其中 Myomesin-1 几乎在所有横纹肌都表达, 而其他两个蛋白则会因为发育阶段、肌肉种类不同而差异表达。Myomesin 家族作为 M 带主要的结构连接器, 参与肌原纤维的组装, 它的异常往往与肌营养不良、肥厚型心肌病(hypertrophic cardiomyopathy, HCM)和扩张型心肌

病(dilated cardiomyopathy, DCM)等疾病密切相关, 并且在相关疾病的临床患者或动物模型中都能检测到 Myomesin 基因家族表达的异常。

1 Myomesin 基因家族结构及表达

MYOM1 基因由 Grove 等^[1]发现, 位于人 18 号染色体短臂(18p11.31), 由 38 个外显子和 37 个内含子组成, 编码相对分子质量约为 1.85×10^5 的肌间蛋白 1(Myomesin/Myomesin-1/Skelemin)。EH-Myomesin 是该基因最为重要的一个变异剪接体, 它是在 MYOM1 基因的第 17 号和第 18 号外显子之间额外增加一个“外显子 17a”, 由其编码一段具有弹性的 EH 片段, 插入到 Myomesin-1 的中央形成 EH-Myomesin^[2]。1974 年发现了 MYOM2 基因^[3], 位于人 8 号染色体短臂(8p23.3), 编码相对分子质量约为 1.65×10^5 的肌间蛋白 2(Myomesin-2/M-protein)。Myomesin-1 与 Myomesin-2 共享 50% 的序列同一性, 二者存在高度的相似性和同源性。MYOM3 基因位于人 1 号染色体短臂(1p36.11), 编

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82070272); 北京市自然科学基金面上项目(7202225)

通信作者: 崔鸣, E-mail: mingcui@bjmu.edu.cn

码相对分子质量约为 1.6×10^5 的 Myomesin-3^[4]。该基因家族编码的三个蛋白在结构上高度相似,都是由 1 个独特的 N 端(NH2),紧随其后的 2 个 Ig 样、5 个 Fn 样以及另外 5 个 Ig 样结构域组成,但三者在肌肉组织中的表达存在着明显差异^[5](见表 1)。Myomesin-1 几乎在所

有横纹肌细胞中都表达,但在胚胎期以其变异剪接体 EH-Myomesin 占优势。Myomesin-2 只在成熟的心肌细胞及快肌纤维(ⅡB)中表达,Myomesin-3 在人成熟心肌和骨骼肌细胞中都表达,但是其在鼠的心脏中不表达,只在快肌纤维(ⅡA)中表达。

表 1 Myomesin 家族在鼠和人类不同横纹肌中的表达

		骨骼肌		心肌	
		慢肌纤维(Ⅰ)	快肌纤维(Ⅱ)	胚胎期	成年期
Myomesin-1		(+)	(+)	(+)	(++)
EH-Myomesin		(+)	(-)	(++)	(-)
Myomesin-2		(-)	ⅡA(-) ⅡB(+)	(-)	(+)
Myomesin-3	鼠	(±)	ⅡA(+) ⅡB(-)	(-)	(-)
	人	(±)	(+)	(-)	(+)

2 Myomesin 基因生物学功能

2.1 MYOM1 的生物学功能

2.1.1 肌原纤维组装

Myomesin-1 是把肌球蛋白(myosin)、肌联蛋白(titin)、obscurin 家族蛋白(obscurin、obscurin-like-1)靶向至 M 带的交联剂。Myomesin-1 的 NH2 末端锚定在 myosin 上,而 C 端的第 13 号(My13)结构域相互间进行二聚体化,形成反向平行的二聚体^[6-7]。同时位于第四号(My4)和第五号(My5)结构域之间的连接子会整合到 titin、obscurin 或 obscurin-like-1 上^[8],形成稳定的蛋白复合物。obscurin 家族作为桥梁可以将肌节 M 线与肌质网进行连接,参与调控肌质网 Ca^{2+} 释放,影响肌肉收缩过程中的钙稳态。使用 siRNA 抑制乳鼠心肌细胞 MYOM1 的表达,导致 obscurin 定位紊乱,M 带形成失败,最终引起肌原纤维解体^[9]。据此可以推测 Myomesin-1 之于 M 带的作用非常类似于 α -actinin 之于 Z 盘,它们在肌原纤维的组装和维护中都是至关重要的,但进一步的功能研究仍有待于基因敲除模型的建立。

2.1.2 分子弹簧

Schoenauer 等^[10]提出 Myomesin 是一种类似于 titin 的分子弹簧,其弹性成分主要是来自相互串联的 Fn/Ig 结构域或变异剪接的 EH 片段。肌肉在松弛状态下,Myomesin-1 二聚体处于压缩状态,而当肌肉收缩时,M 线处肌球蛋白发生微小错位,触发 Fn/Ig 结构域或 EH 片段的延伸。之后的研究也证明当 Myomesin-1 受到低分子力拉伸时,会可逆地伸展为其原始长度的 2.5 倍^[11]。以上研究说明紧密折叠的 Fn/Ig 结构域可以作为“减震器”,保护 M 带免受外力的震荡损伤。

2.1.3 其他

研究表明新生幼犬的心肌细胞核中也存在

MYOM1 表达,并且导致其他基因的差异表达^[12],之后在新生大鼠心室肌细胞核中也检测到 MYOM1 的表达^[13]。研究显示转录因子肌细胞增强因子 2C 能结合 Myomesin-1,直接调控其转录翻译^[14],以上研究提示作为胞质结构蛋白的 Myomesin-1,在心脏发育过程中可能还具有潜在转录因子的功能。尤其近年来越来越多的胞质结构基因被发现可以进入胞核行使转录因子的功能,因此这一发现值得进一步的研究。Kravchenko 等^[15]发现,从受损肌肉中释放的 Myomesin-1、titin 或其片段可以刺激胰岛素样生长因子 1 的表达,促进成肌细胞增殖并抑制细胞凋亡,启动肌肉修复过程,而这一过程与钙/钙调蛋白依赖的蛋白激酶和腺苷酸环化酶-环磷腺苷-蛋白激酶 A 通路密切相关^[16],说明 Myomesin-1 很可能是肌肉损伤修复通路上的重要环节。由此可见,Myomesin-1 除了最经典的参与肌节组装和肌肉舒缩的功能外,尚有很多未被发现或深入研究的潜在功能。

2.2 MYOM2 的生物学功能

Myomesin-2 同样可以剂量依赖性地结合 myosin 和 titin,但其与 myosin 的结合位点在 2~3 或 9~13 号结构域^[17],而且目前尚未发现 Myomesin-2 与 obscurin 家族存在结合位点。此外,Myomesin-2 的 C 端(My13)结构域不能二聚体化^[5],这一点有别于其他两个家族成员。目前研究认为 MYOM2 在肌原纤维形成时没有像 MYOM1 那样必不可少,但在肌肉需要承受更大应力时,Myomesin-2 的表达有助于维持肌节的稳定性^[9,18]。另有研究发现不成熟的人胚胎干细胞或诱导多潜能干细胞来源的心肌细胞,在电镜下无明显的 M 带,且 Myomesin-2 表达量极低,而随着心肌细胞的逐渐成熟,M 带出现并伴随着 Myomesin-2 表达的明显升高^[19],说明 Myomesin-2 可能是体外培养的心肌细胞

成熟度的评价指标,但目前尚无更多关于 MYOM2 基因敲低或敲除的研究来阐释其生物学功能。

2.3 MYOM3 的生物学功能

Myomesin-3 作为家族成员之一,是三者中研究相对较少的,它也可以与 myosin 和 titin 结合,协助 Myomesin-1 将 myosin 和 titin 蛋白进行有序定位,同时它还能将细胞骨架的中间丝连接到 M 带。研究表明在斑马鱼胚胎中特异性敲低 Myomesin-3,对肌原纤维 M 带、Z 盘等结构无明显影响,提示 Myomesin-3 对肌节组装是非必须的^[20]。但该模型只在基础状态下进行结构检测,未进行功能学研究或应激干预,还需要进一步深入研究。

3 Myomesin 基因家族与疾病关联

3.1 Myomesin 基因家族与肌营养不良

在肌肉疾病中,转录组学和蛋白组学分析表明 MYOM1 及其剪接体表达的改变是机体对外界压力的反应^[21]。Koebis 等^[22]对强直性肌营养不良 1 型的患者进行全外显子微阵列分析,发现患者骨骼肌中存在 EH-Myomesin 的选择性剪切与表达上调,而这将会进一步损害受损肌肉承受压力和产生力量的能力。当在小鼠胚胎期全身敲除 titin 与 Myomesin-1 结合部位的基因,小鼠在胚胎期就会死亡,而在心脏中的特异性敲除会导致肌原纤维的紊乱解体,心肌收缩力下降,进而出现心脏萎缩表型^[23],虽然小鼠可以存活,但在 40 d 左右也会全部死亡。Flix 等^[24]发现进行性肌营养不良症的关键蛋白 dysferlin 能与 Myomesin-2 直接相互作用,参与维持肌膜的完整性,提示 Myomesin-2 参与肌营养不良疾病发生的可能性。Hathout 等^[25]检测两种肌营养不良蛋白缺陷小鼠血清中的生物学标志物,发现血清中 Myomesin-3 水平异常升高。随后的研究也证实肢带型肌营养不良 2D 型动物及患者血清中同样可以检测出高水平的 Myomesin-3 片段,并且随着疾病好转而恢复到正常水平^[26]。由此可见,Myomesin 基因家族参与肌营养不良疾病的发生发展,并可能成为该病检测、评估和监测治疗效果的潜在标志物。

3.2 Myomesin 基因家族与 DCM

Schoenauer 等^[27]对 DCM 小鼠和临床患者的研究发现,EH-Myomesin 在 DCM 疾病早期就开始上调,其表达水平与心室扩张程度成正相关,与心室射血功能成负相关,进而提出 EH-Myomesin 是 DCM 的生物标志物。Rbm20 是 DCM 最常见的致病基因之一,研究者在携带 Rbm20 基因突变患者的诱导多潜能干细胞分化而来的心肌细胞中同样检测到 EH-Myomesin 的异常表达^[28]。然而也有研究显示在围产期 DCM 的患者中并未检测到 EH-Myomesin 的表达异常^[29],因而对

其生物标志物的准确性仍然存在争议,同时也并不清楚 EH-Myomesin 在 DCM 疾病中发挥的是正性或是负性作用。不过目前比较明确的一点是,当胚胎型 EH-Myomesin 出现在成年肌肉细胞时,往往意味着肌肉疾病的发生。Shakeel 等^[30]对数例 DCM 患者进行全外显子测序,发现其中 2 例患者存在 MYOM3 基因的截短突变(rs143187236)或错义突变(rs149105212),并且杂合突变患者因单倍体剂量不足,导致蛋白表达水平降低,进而造成左心室功能不全,提示 MYOM3 是 DCM 的候选基因。此外,他们还发现其中截短突变的等位基因频率在南亚人群中很高,可用于 DCM 患者的风险评估和精确治疗。

3.3 Myomesin 基因家族与 HCM

Siebert 等^[31]在家族遗传性 HCM 家系中筛查到 MYOM1 基因的错义突变 V1490I,该突变位于 12 号结构域(My12),导致 Myomesin-1 蛋白 13 号(My13)结构域的二聚体化亲和力和热稳定性下降。虽然具体致病机制不明,但很可能是因为突变的 Myomesin-1 影响 M 线上相邻肌球蛋白的交联,从而导致 HCM 的发生。其后,研究表明在新生大鼠心肌细胞中,肌纤维形成调节因子 1 可以通过调控 Myomesin-1 的类泛素化修饰,导致肌节组织过度组装,进而诱导心肌肥厚^[13]。由此可见肌节组装的异常不仅是 HCM 的重要病理表现,更可能是 HCM 发生的始动因素。

4 总结与展望

Myomesin 家族成员是横纹肌肌原纤维 M 线的主要成分,将 myosin、titin 和 obscurin 蛋白交联在一起,共同参与肌原纤维的组装和机械力量传导,但是其参与肌节组装的过程和传导机械力量的方式都不明确。该家族三个成员都是由 13 个结构域组成,但它们在表达模式上存在很大差异,提示其生物学功能上的潜在差异,仍需进一步的研究来证明这种差异并且阐明造成差异的原因。此外研究表明 Myomesin 家族与 DCM、HCM 和肌营养不良等多种肌肉疾病相关联,但尚无病因学和病理学的研究。相比于近年来研究火热的 M 带处另一个弹性蛋白 titin,该家族的研究在很大程度上被忽视,甚至迄今为止无任何关于该基因家族的敲除研究。综上,Myomesin 基因家族在生物体内发挥着不可忽视的作用,具有很大的研究价值,应该引起研究者的重新重视。相信随着基因编辑、重编程和下一代测序技术的发展,未来将会在该基因家族中识别出更多突变位点,开发出多种敲除、突变或过表达模型,用于生物学功能和基因型-表型关联的研究。

参考文献

- [1] Grove BK, Kurer V, Lehner C, et al. A new 185,000-dalton skeletal muscle

- protein detected by monoclonal antibodies [J]. *J Cell Biol*, 1984, 98(2):518-524.
- [2] Agarkova I, Auerbach D, Ehler E, et al. A novel marker for vertebrate embryonic heart, the EH-myomesin isoform [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(14):10256-10264.
- [3] Masaki T, Takaiti O. M-protein [J]. *J Biochem*, 1974, 75(2):367-380.
- [4] Schoenauer R, Lange S, Hirschy A, et al. Myomesin 3, a novel structural component of the M-band in striated muscle [J]. *J Mol Biol*, 2008, 376(2):338-351.
- [5] Lange S, Pinotsis N, Agarkova I, et al. The M-band; the underestimated part of the sarcomere [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2020, 1867(3):118440.
- [6] Lange S, Himmel M, Auerbach D, et al. Dimerisation of myomesin; implications for the structure of the sarcomeric M-band [J]. *J Mol Biol*, 2005, 345(2):289-298.
- [7] Pinotsis N, Lange S, Perriard JC, et al. Molecular basis of the C-terminal tail-to-tail assembly of the sarcomeric filament protein myomesin [J]. *EMBO J*, 2008, 27(1):253-264.
- [8] Pernigo S, Fukuzawa A, Beedle AEM, et al. Binding of myomesin to obscurin-like-1 at the muscle M-band provides a strategy for isoform-specific mechanical protection [J]. *Structure*, 2017, 25(1):107-120.
- [9] Fukuzawa A, Lange S, Holt M, et al. Interactions with titin and myomesin target obscurin and obscurin-like 1 to the M-band; implications for hereditary myopathies [J]. *J Cell Sci*, 2008, 121(11):1841-1851.
- [10] Schoenauer R, Bertoncini P, Machaidze G, et al. Myomesin is a molecular spring with adaptable elasticity [J]. *J Mol Biol*, 2005, 349(2):367-379.
- [11] Pinotsis N, Chatziefthimiou SD, Berkemeier F, et al. Superhelical architecture of the myosin filament-linking protein myomesin with unusual elastic properties [J]. *PLoS Biol*, 2012, 10(2):e1001261.
- [12] Reddy KB, Fox JE, Price MG, et al. Nuclear localization of Myomesin-1: possible functions [J]. *J Muscle Res Cell Motil*, 2008, 29(1):1-8.
- [13] Wang X, Liu X, Wang S, et al. Myofibrillogenesis regulator 1 induces hypertrophy by promoting sarcomere organization in neonatal rat cardiomyocytes [J]. *Hypertens Res*, 2012, 35(6):597-603.
- [14] Rullman E, Fernandez-Gonzalo R, Mekjavić IB, et al. MEF2 as upstream regulator of the transcriptome signature in human skeletal muscle during unloading [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2018, 315(4):R799-R809.
- [15] Kravchenko IV, Furalyov VA, Chatziefthimiou S, et al. Induction of insulin-like growth factor 1 splice forms by subfragments of myofibrillar proteins [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 399:69-77.
- [16] Kravchenko IV, Furalyov VA, Popov VO. Specific titin and myomesin domains stimulate myoblast proliferation [J]. *Biochem Biophys Res*, 2017, 9:226-231.
- [17] Obermann WM, van der Ven PF, Steiner F, et al. Mapping of a myosin-binding domain and a regulatory phosphorylation site in M-protein, a structural protein of the sarcomeric M band [J]. *Mol Biol Cell*, 1998, 9(4):829-840.
- [18] van der Ven PF, Furst DO. Assembly of titin, myomesin and M-protein into the sarcomeric M band in differentiating human skeletal muscle cells in vitro [J]. *Cell Struct Funct*, 1997, 22(1):163-171.
- [19] Zuppinger C, Gibbons G, Dutta-Passecker P, et al. Characterization of cytoskeleton features and maturation status of cultured human iPSC-derived cardiomyocytes [J]. *Eur J Histochem*, 2017, 61(2):2763.
- [20] Xu J, Gao J, Li J, et al. Functional analysis of slow myosin heavy chain 1 and myomesin-3 in sarcomere organization in zebrafish embryonic slow muscles [J]. *J Genet Genomics*, 2012, 39(2):69-80.
- [21] Murphy S, Brinkmeier H, Krautwald M, et al. Proteomic profiling of the dystrophin complex and membrane fraction from dystrophic mdx muscle reveals decreases in the cytolinker desmoglein and increases in the extracellular matrix stabilizers biglycan and fibronectin [J]. *J Muscle Res Cell Motil*, 2017, 38(2):251-268.
- [22] Koebis M, Ohsawa N, Kino Y, et al. Alternative splicing of myomesin 1 gene is aberrantly regulated in myotonic dystrophy type 1 [J]. *Genes Cells*, 2011, 16(9):961-972.
- [23] Radke MH, Polack C, Methawasin M, et al. Deleting full length titin versus the titin M-band region leads to differential mechanosignaling and cardiac phenotypes [J]. *Circulation*, 2019, 139(15):1813-1827.
- [24] Flix B, de la Torre C, Castillo J, et al. Dysferlin interacts with calsequestrin-1, myomesin-2 and dynein in human skeletal muscle [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(8):1927-1938.
- [25] Hathout Y, Marathi RL, Rayavarapu S, et al. Discovery of serum protein biomarkers in the mdx mouse model and cross-species comparison to Duchenne muscular dystrophy patients [J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(24):6458-6469.
- [26] Rouillon J, Poupiot J, Zocovic A, et al. Serum proteomic profiling reveals fragments of MYOM3 as potential biomarkers for monitoring the outcome of therapeutic interventions in muscular dystrophies [J]. *Hum Mol Genet*, 2015, 24(17):4916-4932.
- [27] Schoenauer R, Emmert MY, Felley A, et al. EH-myomesin splice isoform is a novel marker for dilated cardiomyopathy [J]. *Basic Res Cardiol*, 2011, 106(2):233-247.
- [28] Streckfuss-Bömeke K, Tiburcy M, Fomin A, et al. Severe DCM phenotype of patient harboring RBM20 mutation S635A can be modeled by patient-specific induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2017, 113:9-21.
- [29] Bollen IAE, Ehler E, Fleischanderl K, et al. Myofilament remodeling and function is more impaired in peripartum cardiomyopathy compared with dilated cardiomyopathy and ischemic heart disease [J]. *Am J Pathol*, 2017, 187(12):2645-2658.
- [30] Shakeel M, Irfan M, Khan IA. Rare genetic mutations in Pakistani patients with dilated cardiomyopathy [J]. *Gene*, 2018, 673:134-139.
- [31] Siegert R, Perrot A, Keller S, et al. A myomesin mutation associated with hypertrophic cardiomyopathy deteriorates dimerisation properties [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 405(3):473-479.

收稿日期:2020-08-29