

家族性心房颤动家系携带 NEXN 和 JPH2 基因突变分析

马宗宾 赵永辉 刘倩玲 张智文

(河南大学人民医院 河南省人民医院 华中阜外医院, 河南 郑州 450003)

【摘要】目的 使用全外显子测序技术对收集的 1 例心房颤动患者家系进行致病基因筛查及突变位点分析,初步探索该基因的生物学机制。**方法** 采集此家族成员外周静脉血,提取基因组 DNA,应用全外显子测序技术对先证者进行候选基因突变检测,发现可疑致病位点后,通过 Sanger 测序法在其家系成员和 101 例健康人群中进行验证。并使用 Polyphen2、MutationTaster 和 Provean 三种软件进行突变基因功能检测,利用 Swiss-Model 软件分析致病基因突变前后的蛋白质三维结构模型。**结果** 该家系除先证者外,4 例携带 NEXN c.919C>A(p.P307T)杂合变异,2 例携带 JPH2 c.1088G>A(p.R363H)杂合变异,先证者及其父亲同时携带以上两种突变基因,而 101 例健康人均未携带上述两种突变。两种突变所在区域的氨基酸序列高度保守,三种计算机预测软件预测这两种突变均为致病性突变。**结论** 该家系多位成员携带 NEXN c.919C>A(p.P307T)杂合突变和 JPH2 c.1088G>A(p.R363H)杂合突变,这两种基因变异与该家系成员心房颤动的发生密切相关,该变异可能是该家系心房颤动的致病基因突变位点。

【关键词】 心房颤动;家族性;基因检测;基因突变

【DOI】10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2021.07.021

Mutation Analysis of NEXN and JPH2 Genes in a Family with Familial Atrial Fibrillation

MA Zongbin, ZHAO Yonghui, LIU Qianling, ZHANG Zhiwen

(Central China Fuwai Hospital, Henan Provincial People's Hospital, People's Hospital of Henan University, Zhengzhou 450003, Henan, China)

【Abstract】Objective To screen the pathogenic gene and analyze the mutation sites in a family of patients with atrial fibrillation by full exon sequencing, and to explore the biological mechanism of the gene. **Methods** Genomic DNA was extracted from the peripheral venous blood of the family members, and the candidate gene mutations were detected by full exon sequencing. After the suspicious pathogenic sites were found, Sanger sequencing method was used to verify the results in the family members and 101 healthy people. Polyphen2, MutationTaster and Provean software were used to detect the function of the mutant gene, and Swiss-Model software was used to analyze the three-dimensional structure model of the protein before and after the mutation of the pathogenic gene. **Results** Except for the proband, 4 cases carried the NEXN c.919C>A(p.P307T) heterozygous mutation and 2 cases carried the JPH2 c.1088G>A(p.R363H) heterozygous mutation. The proband and his father carried both the above two mutant gene, while 101 healthy people did not carry the above two mutations. The amino acid sequences of the two mutations were highly conserved, and the three computer prediction software predicted that the two mutations were pathogenic. **Conclusion** Many members of the family carry the NEXN c.919C>A(p.P307T) heterozygous mutation and JPH2 c.1088G>A(p.R363H) heterozygous mutation, which are closely related to the occurrence of atrial fibrillation in the family members, and may be the pathogenic gene mutation site of atrial fibrillation in the family.

【Key words】 Atrial fibrillation; Family; Gene detection; Gene mutation

心房颤动(房颤)是临床常见的一种心律失常,人群中房颤的发生率约为 0.4%,房颤的患病率及发病率均随年龄增长而逐步增加,中国房颤患者年龄<60 岁男女患病率分别为 0.43%和 0.44%,年龄>60 岁男女患病率分别增长至 1.83%和 1.92%^[1]。房颤患者

发生缺血性脑卒中的风险是非房颤患者的 4~5 倍,因此阐明房颤发生的分子生物学机制是目前治疗房颤的关键。房颤的发生通常与心脏病理有关,这些病理包括高血压心脏病、心肌病、瓣膜病或动脉粥样硬化等,但它也可在无先前心脏病理或任何已知危险因素

基金项目:国家自然科学基金(U1504802)

通信作者:赵永辉, E-mail: qq617422@163.com

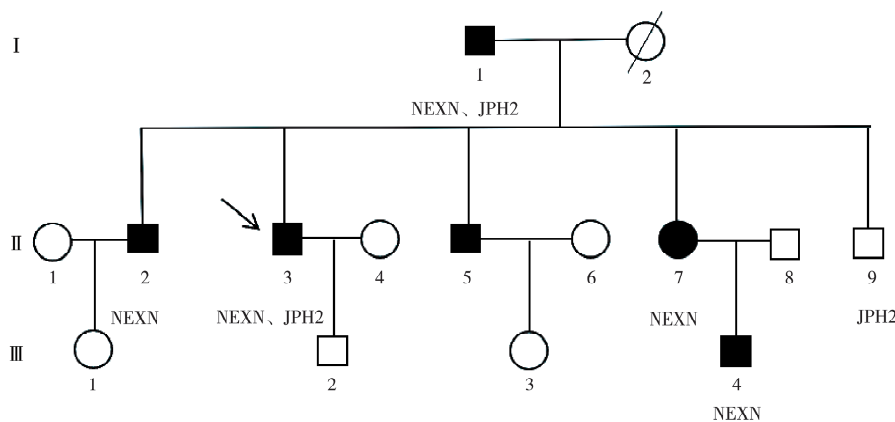
的情况下出现^[2],这类情况下的房颤通常被称为孤立性房颤。孤立性房颤中有家族史者称为家族性房颤,家族性房颤与基因变异密切相关。本研究应用全外显子测序技术结合 Sanger 测序法对 1 例房颤患者及其家系成员进行基因筛查,确定该家族房颤相关致病基因及变异类型,进一步阐述了房颤发病的分子生物学机制,对房颤的早期诊断、遗传干预以及对房颤的基因组学研究具有重要的临床指导意义。

1 对象及方法

1.1 研究对象

本研究共纳入研究对象 111 例,其中先证者及其家系三代成员 10 例(男性 7 例,女性 3 例),健康组共 101 例(男性 60 例,女性 41 例)。房颤诊断标准符合《2019 AHA/ACC/HRS 房颤患者管理指南》。先证者是 1 例 55 岁男性患者(Ⅱ-3)(见图 1),间断心悸和胸

闷 4 年,多于活动后发生,当地医院诊断为“阵发性房颤、高血压”,每日口服美托洛尔缓释片 47.5 mg,效果不佳,心电图显示:心律失常、快速性房颤。于河南省人民医院行“经心导管射频消融术”,术后未再发房颤。先证者父亲(Ⅰ-1)间断胸闷和心悸,最初心电图检查显示“频发房性期前收缩,短阵房性心动过速”,后发展为阵发性房颤。先证者哥哥(Ⅱ-2)4 年前同样因间断心悸就诊于当地医院,心电图显示“快速性房颤”,2 年前于本院行射频导管消融术后恢复窦性心律,未再复发。先证者的弟弟(Ⅱ-5)和妹妹(Ⅱ-7)近 2 年来存在活动后心慌等症状,就诊于本院,心电图均显示“持续性房颤”,房颤持续 2 年余,口服药物治疗,均未行射频导管消融术。先证者外甥(Ⅲ-4)有晨起突发胸闷不适,初次就诊时心电图未见明显异常,但 6 个月的随访后,其动态心电图呈阵发性房颤发作。



注:○表示为女性,■●表示为发病者,□表示为男性,/表示为已死亡,▲表示为先证者。

图 1 患者基因突变家系谱图

1.2 方法

收集先证者及其家系的临床资料,包括病史采集和体格检查,采集 12 导联心电图和超声心动图,绘制家系图谱(见图 1)。所有研究对象签署知情同意后,采集其外周血标本,提取送检样本的基因组 DNA,经片段化、连接接头、扩增纯化后,使用杂交捕获方法制备 DNA 文库,然后采用高通量测序平台检测人类全外显子组中 20 099 个基因的外显子区域及旁侧内含子区域(20 bp)。将测序数据与人类基因组 hg19 (GRCh37)参考序列进行比对,并对目标区域的覆盖度和测序质量进行评估(受检者参数见表 1)。

表 1 受检者目标区域的覆盖度和测序质量

测序深度	目标基因 CDs 覆盖度
1×以上	99.4%
10×以上	99.2%
20×以上	99.0%

参照 2015 年版美国医学遗传学与基因组学学会

(ACMG)指南对变异的致病性评估,当检出的致病或可能致病变异存在于常染色体隐性基因中时,实验室通过高通量测序以及 Sanger 测序法确保该基因编码序列的覆盖率为 100%。确定致病基因后对先证者家系其余成员进行相同位点检测,通过与患者妻子及 100 例健康人相应基因位点对照得出结论。最后使用 Polyphen2、MutationTaster 和 Proven 三种软件进行突变基因功能检测,利用 Swiss-Model 软件分析突变前后的蛋白质三维结构模型。

2 结果

通过对先证者进行基因测序发现先证者存在 NEXN 基因杂合变异 c.919C>A (p.P307T) 和 JPH2 基因杂合变异 c.1088G>A (p.R363H)。

NEXN 基因杂合变异导致核苷酸编码的序列第 919 位碱基由 C 变为 A,导致编码的 307 位氨基酸由脯氨酸突变为苏氨酸(p.P307T)(图 2)。JPH2 基因杂合变异导致核苷酸编码的序列第 1 088 位碱基由 G 变为 A,导致编码的 363 位氨基酸由精氨酸突变为组氨

蛋白,其功能是保护心脏 Z 盘免受肌节内产生的力, Nexilin 突变使心脏 Z 盘不稳定,导致扩张型心肌病^[5]。有研究证实 NEXN 是中国汉族人群中一种新型的冠状动脉疾病易感基因^[6]。目前证实 NEXN 基因相关疾病为扩张型心肌病 1CC 型和肥厚型心肌病 20 型,是常染色体显性遗传。临床表现主要为心脏扩大、左心室肥大、室间隔增厚、房颤、降低的左室收缩功能和左室舒张功能等^[7]。NEXN 基因的 p.P307T 变异未在相关临床病例中被报道过。依据美国 ACMG 变异分类指南^[8],这个变异为“3 类-意义未明”,结合患者的临床表现,推断 NEXN 基因的 p.P307T 变异为房颤致病基因变异位点。

JPH2 基因编码 Junctophilin-2 蛋白(JPH2 蛋白), JPH2 蛋白主要分布在心肌组织,是存在于心肌细胞膜 L 型钙通道与肌质网 RyR2(心肌细胞释放钙离子的通道)间的膜偶联复合物,是可兴奋细胞和参与细胞内钙信号转导的重要亚细胞结构^[9],对细胞内钙稳态调控发挥重要作用。JPH2 基因的改变会导致胞内钙信号传导异常,继而引起心力衰竭、心肌病和心律失常等一系列疾病。有研究^[10]发现 JPH2 基因在房颤时明显下调,这表明房颤使 JPH2 蛋白功能下调,心房肌兴奋收缩脱耦联,兴奋收缩耦联效率降低,细胞内钙调节紊乱,进而影响心房肌的收缩功能。Sabater-Molina 等^[11]研究发现 JPH2 基因突变可导致扩张型心肌病。Beavers 等^[12]研究证实 JPH2 基因中的 E169K 突变会导致 RyR2 稳定性受损,导致房颤。目前 JPH2 基因的 p.R363H 变异未在相关临床病例中被报道过。依据美国 ACMG 变异分类指南^[8],这个变异为“3 类-意义未明”。结合患者的临床表现,笔者推断 JPH2 基因的 p.R363H 变异为房颤致病基因变异位点。

综上所述,本研究利用二代测序技术在 1 个中国房颤家系中发现了 NEXN 基因 c.919C>A(p.P307T) 杂合突变和 JPH2 基因 c.1088G>A(p.R363H) 杂合突变,该突变位点在中国未见报道。该家系三代成员 10 人中有 6 人为房颤患者,2 人同时携带上述两种突变,而 101 例健康人均不存在上述突变,该突变位点可能是该家系房颤的致病基因。利用二代测序技术对房

颤患者家系进行检测,有助于明确房颤患者及其家系成员遗传易感性,筛查家族性房颤的突变基因,对房颤家系成员的早期诊断具有明确价值,对突变携带者进行早期干预及治疗具有重要的指导意义^[13]。但本研究尚存在一定局限性,本研究中该家系存在 NEXN 和 JPH2 基因变异,这种变异与患者家系成员发生房颤密切相关,但目前未能进一步进行相关动物实验证实此类基因变异导致房颤发生的具体机制。

参 考 文 献

- [1] Zhang S. Atrial fibrillation in mainland China: epidemiology and current management[J]. *Heart*, 2009, 95(13): 1052-1055.
- [2] Schnabel RB, Yin X, Gona P, et al. 50 year trends in atrial fibrillation prevalence, incidence, risk factors, and mortality in the Framingham Heart Study: a cohort study[J]. *Lancet*, 2015, 386(9989): 154-162.
- [3] Lubitz SA, Yin X, Fontes JD, et al. Association between familial atrial fibrillation and risk of new-onset atrial fibrillation[J]. *JAMA*, 2010, 304(20): 2263-2269.
- [4] 黄从新, 张澍, 黄德嘉, 等. 心房颤动: 目前的认识和治疗建议——2015[J]. *中国心脏起搏与心电生理杂志*, 2015, 29(5): 377-434.
- [5] Hassel D, Dahme T, Erdmann J, et al. Nexilin mutations destabilize cardiac Z-disks and lead to dilated cardiomyopathy[J]. *Nat Med*, 2009, 15(11): 1281-1288.
- [6] Wu C, Yan H, Sun JZ, et al. NEXN is a novel susceptibility gene for coronary artery disease in Han Chinese[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e82135.
- [7] Wang H, Li ZH, Wang JZ, et al. Mutations in NEXN, a Z-disc gene, are associated with hypertrophic cardiomyopathy[J]. *Am J Hum Genet*, 2010, 87(5): 687-693.
- [8] Richards S, Aziz N, Bale SJ, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology[J]. *Genet Med*, 2015, 17(5): 405-424.
- [9] Nishi M, Mizushima A, Nakagawara K, et al. Characterization of human junctophilin subtype genes[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 273(10): 920-927.
- [10] 李妙龄, 欧贤红, 李涛, 等. 慢性心房颤动降低 Junctophilin 在心房中的表达研究[J]. *重庆医学*, 2016, 45(22): 3046-3048.
- [11] Sabater-Molina M, Navarro M, García-Molina S, et al. Mutation in JPH2 cause dilated cardiomyopathy[J]. *Clin Genet*, 2016, 90(5): 468-469.
- [12] Beavers DL, Wang W, Ather S, et al. Mutation E169K in junctophilin-2 causes atrial fibrillation due to impaired RyR2 stabilization[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 62(21): 2010-2019.
- [13] 张智文, 王山岭, 刘静静, 等. 家族性血脂异常 LPL 基因新突变位点分析[J]. *临床心血管病杂志*, 2020, 36(8): 752-754.

收稿日期: 2020-12-03