

TTN 基因突变致儿童扩张型心肌病的研究进展

郑奎^{1,2} 姜美娜^{1,2} 综述 张英谦¹ 审校

(1. 河北省儿童医院内科/河北省小儿心血管重点实验室, 河北石家庄 050031;

2. 河北医科大学研究生学院, 河北石家庄 050017)

[摘要] 编码肌联蛋白 (titin) 的 *TTN* 基因突变是扩张型心肌病 (dilated cardiomyopathy, DCM) 遗传病因中最常见的突变类型。该文就当前国内外对 *TTN* 基因突变导致儿童 DCM 可能的分子发病机制 (转录、翻译后修饰等)、临床表型及基因治疗等研究做一总结, 以期今后精准治疗 *TTN* 基因突变导致的儿童 DCM 提供参考。

[中国当代儿科杂志, 2023, 25 (2): 217-222]

[关键词] 扩张型心肌病; *TTN* 基因; 肌联蛋白; 治疗; 儿童

Recent studies on dilated cardiomyopathy caused by *TTN* mutations in children

ZHENG Kui, LOU Mei-Na, ZHANG Ying-Qian. Department of Cardiology, Hebei Children's Hospital/Hebei Provincial Key Laboratory of Pediatric Cardiovascular Disease, Shijiazhuang 050031, China (Zhang Y-Q, Email: zhangyingqian666@163.com)

Abstract: The mutations of *TTN* gene that encodes titin are the most common mutation type among the genetic causes of dilated cardiomyopathy (DCM). This article reviews the worldwide studies on potential molecular pathogenesis (transcription, post-translational modification, etc.), clinical phenotypes, and gene therapies of pediatric DCM caused by *TTN* mutations, with the hope of providing a reference for the precision treatment of pediatric DCM caused by *TTN* mutations.

[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2023, 25(2): 217-222]

Key words: Dilated cardiomyopathy; *TTN* gene; Titin; Treatment; Child

扩张型心肌病 (dilated cardiomyopathy, DCM) 是儿童心肌病中最常见的类型, 占 50%~60%。儿童 DCM 的病因复杂, 常导致患儿心力衰竭或心源性猝死, 其显著的特点是进展快和病死率高^[1-2]。其中遗传病因在儿童 DCM 中占有重要地位, 30%~40% 的患儿与遗传相关^[1-2]。编码肌联蛋白 (titin) 的 *TTN* 基因截断突变 (*TTN*-truncating variant, *TTN*_{tr}) 是成人 DCM 最常见的遗传突变, 在家族性 DCM 中约占 25%, 散发性 DCM 病例中约占 18%^[3]。由于成人 DCM 发病率高, 关于成人 DCM 的遗传研究已取得了一定的进展^[4], 但关于儿童的 DCM 遗传研究比较落后, 其治疗也多借鉴于成人 DCM 的治疗方案。多项研究报道 *TTN*_{tr} 导致的成人 DCM

预后良好, 对治疗有良好的反应, 但对于儿童患者来说多数预后不良, 而且容易发生恶性心律失常和心源性猝死^[1, 5]。当前已有基因治疗用于杜氏肌营养不良症^[6]。本文总结了 *TTN* 基因突变与儿童 DCM 发病的关系、基因型-表型关系及相关治疗研究进展, 为 DCM 患儿的预后评估、个体化管理和精准治疗, 包括未来基因治疗的研究, 提供参考。

1 肌联蛋白与肌节

肌联蛋白由 *TTN* 基因编码, 位于 2 号染色体 q31 区段, 包含 364 个外显子, 广泛的 mRNA 剪接可产生多种肌联蛋白亚型, 与心脏相关的亚型主

[收稿日期] 2022-08-26; **[接受日期]** 2022-12-15

[基金项目] 河北省医学科学研究课题 (20220714)。

[作者简介] 郑奎, 男, 硕士研究生。

[通信作者] 张英谦, 女, 主任医师。Email: zhangyingqian666@163.com。

要为N2B (3 MDa) 和N2BA (3.2~3.8 MDa)^[4]。此外,还包括少量 novex-3 亚型,以及最近新发现的C-端 Cronos 亚型^[7-8]。肌节是横纹肌收缩的最基本单位。肌联蛋白是肌节的重要组成部分,主要由4个亚基组成,分别对应肌节的4个结构域:Z盘、I带、A带和M线,从Z盘到M线纵向横跨半个肌节,对肌节的组装、机械感应和信号传递发挥着重要作用,同时决定着肌原纤维的延伸性和被动张力^[9]。肌联蛋白的末端被T-cap3锚定在Z盘N端区域,为肌节的机械传感发挥着重要作用^[10]。I带区域毗邻Z盘,具有高度弹性特征,提供类似“弹簧样”功能,主要由免疫球蛋白样结构域、PEVK区(富含脯氨酸、谷氨酸、缬氨酸和赖氨酸残基)和N2B独特序列(N2B-us)组成^[10]。A带区域内主要由相对稳定的纤维连接蛋白3型和免疫球蛋白样超重复序列组成,主要参与调节粗肌丝的长度。A带区域毗邻并嵌入M带的羧基末端丝氨酸-苏氨酸激酶结构域,参与许多信号通路的传导,调节肌节主动收缩力^[10-11]。

2 TTNtv可能导致DCM发病的分子机制

当前国内外关于TTNtv导致儿童DCM发病机制的研究报道较少,大多是关于成人DCM的遗传研究。有研究报道在成人DCM中18%~25%的患者与TTNtv相关,此外2%~3%的健康人群携带TTNtv^[3-4, 8, 11]。不同队列研究报道儿童DCM人群中TTNtv的发生率有差异,有研究表明DCM患儿中很少发生TTNtv^[12]。而Khan等^[13]对106例儿童DCM遗传病因分析发现约9%的患儿携带TTN基因突变,并发现DCM患儿的发病年龄与TTNtv检出率密切相关,青少年(26%)明显高于婴幼儿(6%)。Wang等^[1]对我国46例DCM患儿进行遗传病因研究,显示约13%的患儿与TTNtv相关。TTNtv导致DCM的确切机制尚未得到明确的证实,其分子发病机制也一直存在争议。在具有TTNtv遗传性家族史的DCM患者中,遵循常染色体显性遗传,但同时明显存在不完全和年龄依赖的外显率^[4, 11]。肌联蛋白可通过多种机制调节其弹性及被动张力,当前认为包括TTN截断发生的位置、肌联蛋白亚型转录、翻译后修饰(氧化、磷酸化等)、单倍体剂量不足、环境因素影响等与DCM的发生、发展密切相关。此外也有研究认为TTNtv可直接产生异常的肌联蛋白,并通过一种“毒肽”

机制对肌节和心肌细胞造成直接损害,但当前认为“毒肽”模型机制尚未在人类心脏研究中得到证实^[4, 11, 14],下文将进行简要介绍。

2.1 TTNtv发生的位置与其致病性相关

DCM最常见的遗传病因是TTNtv,其多为杂合子变异,包括错义突变、框移突变、剪切突变、无义突变、重复突变和拷贝数变异等,这些突变预测可能改变肌联蛋白的氨基酸序列^[4, 15]。此外,有报道显示纯合子或非典型剪接TTN基因突变也可致儿童严重的DCM表型^[8]。基因型-表型分析研究表明DCM的表型及其严重性与TTNtv发生的位置高度相关^[15]。多项研究表明TTNtv多发生于A带区域,少部分TTNtv发生于I带、Z盘和M线区域,并且发生于A带或M线区域的TTNtv患儿常表现为更严重的DCM,预后差^[14-16]。A带区域含有高比例的不对称外显子,TTNtv可能会改变翻译阅读框,使其更容易产生异常的肌联蛋白^[16]。有超过1/3的TTNtv可进行选择性剪接,特别是发生于I带区域的外显子^[16]。选择性剪切补救机制,可减轻TTNtv产生的影响,因此发生于I带区域的DCM表型相对较轻^[16]。Z盘区域肌联蛋白表达减少可能导致Z盘结构破坏和功能受损^[17]。研究认为Z盘区域TTNtv的致病性较低,可能是与Z盘TTNtv外显子的组成性表达较低相关^[18]。Biquand等^[19]研究显示对发生于M线区域Mex5外显子(编码插入序列7)缺失的小鼠可导致严重的DCM表型,其心室进行性扩张,心室肌伴有广泛的纤维化,同时还伴有兴奋-收缩偶联蛋白的异常表达。携带位于M线区域的TTNtv患儿常表现为早期危及生命的DCM表型,多数患儿病程早期即发生死亡^[8, 15]。儿童DCM早期发病或预后不良是否与TTNtv多发生于A带、M线区域或同时合并其他致病基因相关有待进一步研究。

2.2 肌联蛋白亚型的转录调控可能与DCM相关

调控肌联蛋白亚型转录可能是治疗收缩和/或舒张功能障碍性DCM的潜在靶点。在健康成年人的心肌组织中(主要为左心室)肌联蛋白N2BA亚型占30%~40%,N2B亚型占60%~70%,同时在正常衰老过程中此比例也保持相对恒定^[7-8]。N2B亚型和N2BA亚型的正常比例,决定着肌联蛋白的延伸性和被动张力,如N2BA亚型比例增多则肌原纤维被动张力降低,其心室收缩功能障碍;N2B亚型占比增多则肌原纤维变得僵硬,其心室舒张功能降低^[4, 7-8]。有研究发现在终末期DCM患者中,其

肌联蛋白亚型主要为较长、较柔软的N2BA亚型^[11]。广泛的mRNA剪接可产生不同类型的肌联蛋白亚型，N2BA亚型的表达可由剪接因子RNA结合基序蛋白-20（RNA binding motif protein 20, RBM20）调控^[11]。RBM20是一种RNA剪接因子，参与mRNA成熟的过程，可与剪接位点附近的内含子、U1和U2小核核糖蛋白（snRNP）结合位点结合，调控肌联蛋白亚型转换^[11]。RBM20缺失可使肌联蛋白N2BA亚型的表达显著升高，致使肌原纤维主动和被动张力降低，从而导致心室扩张^[11]。对于舒张性心力衰竭，有研究表明包括地高辛和洋地黄在内的强心苷，可以有效降低RBM20水平，可使肌联蛋白更倾向于N2BA亚型表达，以改善其舒张功能^[11]。有研究发现胰岛素和三碘甲腺原氨酸都能调节RBM20的表达和活性通路^[7]。最近有学者对大鼠进行研究，发现三碘甲腺原氨酸或胰岛素可上调RBM20表达和激活雷帕霉素靶蛋白（mechanistic target of rapamycin, mTOR）激酶轴，从而使肌联蛋白倾向于N2B亚型表达^[11, 20]。另一种可以转录修饰肌联蛋白的分子是RNA结合基序蛋白24。有研究表明，在小鼠动物模型中敲除RNA结合基序蛋白24可导致DCM^[11]。该研究也显示，微RNA能够通过mRNA结合，使mRNA靶向降解来调控肌联蛋白的转录，并在携带*TTNtv*的DCM小鼠模型中证实了一种微RNA（miR-208b）显著表达^[11]。但miR-208b对肌联蛋白亚型调控的确切机制尚未不明确。

2.3 肌联蛋白弹簧元件的翻译后修饰

除了转录修饰外，肌联蛋白也可通过翻译后磷酸化、氧化、乙酰化等修饰改变其肌原纤维延伸性和被动张力^[4, 7]。肌联蛋白最常见的翻译后修饰是磷酸化^[7]。有研究发现携带*TTNtv*的DCM患者，其左心室中的肌钙蛋白I和肌联蛋白结合蛋白-C（myosin binding protein-C, MyBP-C）的磷酸化水平显著降低，肌联蛋白磷酸化水平的降低可加重心室功能进一步恶化，最终导致心力衰竭^[17]。基于蛋白质组学分析，预测肌联蛋白上有数百个磷酸化位点，但当前认为只有少数几个磷酸位点与肌联蛋白的结构和功能相关，其大多位于I带区域，主要包括PEVK和N2Bus区域^[4, 8, 10]。I带区域内的PEVK元件含有丰富的脯氨酸、谷氨酸、缬氨酸和赖氨酸，具有高度的可扩展性。当前认为N2Bus元件也具有许多磷酸位点，由几种不同的激酶介导，包括蛋白激酶A、蛋白激酶G、细胞外信

号调节激酶2和钙调素激酶II δ 等^[8]。差异性磷酸化已被证明可直接改变心肌细胞的长度和张力，激活PEVK元件可增强心肌细胞被动张力有助于心室收缩，避免心室进一步扩张；然而激活N2Bus元件的磷酸化可使心肌纤维变长、被动张力降低，加重心室扩张^[8]。Hidalgo等^[21]通过激活蛋白激酶C磷酸化PEVK元件，发现小鼠和猪的心肌细胞被动张力可增加20%~30%。通过调控肌联蛋白上的磷酸位点有望治疗DCM，但其具体机制仍需进一步研究。

2.4 单倍体剂量不足

当前关于单倍体剂量不足的机制导致DCM仍存在一定争论。单倍体剂量不足动物模型显示*TTNtv*并不直接损伤肌节，而是通过增加代谢应激，从而对心肌细胞和心室功能产生慢性毒害作用^[22]。*TTNtv*导致产生异常的mRNA转录本，致使无意义mRNA衰减增加，由此*TTN*等位基因表达减少，基因表达减少可能增加代谢应激，代谢的改变可导致mTOR复合物-1信号通路激活，从而致使异常肌联蛋白合成和自噬相关的致病反应，最终导致DCM表型^[4, 11]。有研究对*TTNtv*大鼠单倍体剂量不足建模研究，并用RNA-seq研究揭示了*TTNtv*等位基因介导的无意义mRNA衰减增加表明单倍体剂量不足^[22]。除单倍体剂量不足外，有研究还发现*TTNtv*导致大鼠心肌耗氧率降低，活性氧水平升高，线粒体蛋白泛素化水平升高，提示*TTNtv*导致线粒体功能障碍^[23-24]。此外还有研究发现*TTNtv*导致DCM患者的iPSC心肌细胞对异丙肾上腺素、Ca²⁺和血管紧张素II等反应减弱^[11]。总之，由*TTNtv*导致的DCM中可观察到心肌代谢、线粒体功能和钙离子处理等异常，这些病理性改变是直接来自*TTNtv*，还是机体代偿性改变带来的病理变化也有待研究证实。

2.5 *TTNtv*导致的DCM与环境因素相关

*TTNtv*导致DCM的发病年龄常见于0~40岁，但当与年龄、性别、药物、酒精、妊娠或获得性疾病等风险因素相结合时，可加重DCM^[11]。发病年龄越小，其预后多不良，对传统的治疗疗效欠佳^[1]。化疗药物也可诱发、加重*TTN*基因突变相关的儿童DCM^[11]。最近在蒽环类化疗药物诱导的心肌病患者中发现了*TTNtv*，同时还观察到*TTNtv*可能与化疗药物诱导的严重心肌病相关^[11, 25]。酒精是一种常见的环境风险因素，与*TTNtv*导致的DCM预后不良相关，在酗酒伴*TTNtv*的DCM患者

中可以观察到其左心射血分数下降得更显著^[26]。同时 *TTNtv* 还与围生期心肌病的风险增加有关^[11]。*TTNtv* 的外显率还与性别相关。有研究显示男性 DCM 发病的中位年龄为 28 岁，女性为 56 岁，携带 *TTNtv* 的女性 DCM 患者比男性患者预后好^[27]。雌激素是否对 *TTNtv* 导致的 DCM 具有保护作用，从而导致了性别相关的差异，有待进一步研究。

3 *TTNtv* 可导致的临床表型

儿童 DCM 具有显著的遗传异质性，患儿同时可携带多个基因变异，受环境因素的影响及发病年龄依赖的外显率等特点，可使患儿的临床表型时有重叠^[2, 11]。编码肌联蛋白的基因突变与多种骨骼肌病和心肌病相关，其中最常见的表型为 DCM，其相关临床表型见表 1^[8, 11, 25]。*TTNtv* 携带者的发病年龄与其临床表型的严重程度密切相关，对于儿童时期发病的 *TTNtv* 患者常表现为危及生命的 DCM 表型，预后不良^[1, 13]。成人 *TTNtv* 携带者通常会在中年或晚年才表现出 DCM 相关临床症状，但有证据表明 *TTNtv* 携带者在出现 DCM 相关症状

前，心脏 MRI 可检测到其心功能障碍和/或偏心性心室重构^[11]。此外，包括肥厚型心肌病 (hypertrophic cardiomyopathy, HCM)、限制型心肌病 (restrictive cardiomyopathy, RCM)、致心律失常型右心室心肌病 (arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy, ARVC) 和围生期心肌病等也有报道^[11, 25]。在 HCM 中，*TTNtv* 占比约为 1.3%~4%，但当前对 RCM、ARVC 携带 *TTNtv* 报道得较少^[8]。也有研究报道 *TTNtv* 可能与约 16% 的家族性房颤和约 5% 的早发性房颤相关^[28]。Enriquez 等^[29] 也研究发现携带 *TTNtv* 的 DCM 患者中，约 65% 的患者发生过快速性房性心律失常，并且多数患者早期只表现为快速性房性心律失常，随着病程进展才出现 DCM 相关表现；随访 2 年并发现约 53% 的患者发生过室性心动过速复发，约 27% 的患者需要心脏移植、机械循环支持或死亡。特发性/家族性 DCM 中携带 *TTNtv* 可作为预测早期发生心律失常的独立危险因素，携带 *TTNtv* 的 DCM 患者有增加发生室性心律失常的风险，同时还应考虑到与年龄依赖相关的外显率，并建议对未受影响的携带者进行长期随访^[30]。

表 1 与 *TTN* 基因变异相关的临床表型/疾病

疾病	孟德尔遗传数据库	临床特征	遗传方式	突变频率 (%)
DCM	OMIM:604145	心室扩张和收缩功能障碍	AD/-	9~25
家族性 HCM	OMIM:613765	心室及室间隔不对称性肥厚	AD	1.3~4.0
其他心肌病 (RCM、ARVC 等)	-	心室充盈受限、室性心律失常和猝死等	-	-
心律失常	-	房室传导阻滞、快速性房性心律失常及室性心动过速等，可合并 DCM	-	-
儿童中央核肌病	OMIM:255200	婴儿期运动发育迟缓，可合并房间隔缺损、室间隔缺损和 DCM	AR	-
Salih 肌病	OMIM:611705	婴儿早期缓慢进行的骨骼肌无力，伴致死性 DCM	AR	-
肢带型肌营养不良 10 型	OMIM:608807	儿童时期严重的肌营养不良症，近端肌无力和萎缩，可合并心肌病和房室传导阻滞	AR	-
肌纤维肌病伴早发性呼吸衰竭	OMIM:603689	常中后期发病，慢性渐进性肌病，近端肌和呼吸系统肌无力	AD	-
胫骨肌营养不良	OMIM:600334	晚发型远端肌病，小腿肌肌无力和萎缩，特别是胫骨前肌	AD	-

注：[DCM] 扩张型心肌病；[HCM] 肥厚型心肌病；[RCM] 限制型心肌病；[ARVC] 致心律失常型右心室心肌病；[AD] 常染色体显性遗传；[AR] 常染色体隐性遗传。-表示目前尚不明确。

4 基因治疗有望治愈 *TTNtv* 相关的 DCM

当前儿童 DCM 的治疗方法多为纠正紊乱的继发性病理生理改变，包括神经体液过度激活和心室重构。对于基因治疗，反义寡核苷酸 (antisense

oligonucleotide, AON) 介导的外显子跳跃疗法可能是治愈 *TTNtv* 导致 DCM 的潜在手段。在 AON 介导的这种治疗方法中，单链寡核苷酸被设计为结合突变内含子-外显子边界前 mRNA，或阻断外显子剪接基因序列，其目标是通过选择性剪接跳过包

含移码突变的外显子,从而恢复阅读框防止翻译过程中肌联蛋白的早期终止^[11, 31-32]。美国食品药品监督管理局已经批准了一种外显子跳跃疗法用于杜氏肌营养不良症^[6],希望类似的基因治疗策略也可用于治疗 *TTN*_{tv} 导致的 DCM。AON 介导的外显子跳跃疗法治疗 DCM 的可行性已经在小鼠模型中得到了验证,该方法可使肌联蛋白表达正常,并可挽救 *TTN* 基因突变导致 DCM 表型,但目前尚不清楚这种治疗策略是否能够逆转已经存在的 DCM 表型^[32]。此外还应该特别关注外显子跳跃治疗也可能会发生脱靶效应^[10]。此外,包括 mTOR 抑制剂雷帕霉素和人诱导多能干细胞来源的心肌细胞(human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocyte, hiPSC-CM)治疗 *TTN*_{tv} 相关 DCM 也有研究报道^[11],但当前认为 hiPSC-CM 技术存在一定局限性,其产生的心肌细胞相对不成熟,常表达较柔软的 N2BA 亚型,其功能效应也有待进一步验证。总之 AON 介导的外显子跳跃疗法为治愈 DCM 带来了新希望,未来外显子跳跃疗法很有可能成为突破传统 DCM 的治疗手段。

综上所述, *TTN*_{tv} 是 DCM 最常见的遗传突变,尽管当前对 *TTN*_{tv} 导致 DCM 的发病机制存在较大争议,但研究了解 *TTN* 基因突变相关儿童 DCM 的分子发病机制,有助于这部分患儿的预后评估及精准治疗。*TTN*_{tv} 导致儿童 DCM 的遗传分子机制与成人是否存在差异,也有待进一步研究。此外,临床工作中如何精准评估 *TTN*_{tv} 的致病性也是当前所要面临的重大挑战。随着基因检测成本的持续下降,基因诊断、精准治疗将会是未来医学发展的大趋势。进一步深入研究 *TTN*_{tv} 导致 DCM 和心律失常的遗传分子机制,可为精准治疗 *TTN* 基因突变相关的 DCM 患者带来新希望。

[参 考 文 献]

- [1] Wang Y, Han B, Fan Y, et al. Next-generation sequencing reveals novel genetic variants for dilated cardiomyopathy in pediatric Chinese patients[J]. *Pediatr Cardiol*, 2022, 43(1): 110-120. PMID: 34350506. DOI: 10.1007/s00246-021-02698-8.
- [2] 郑奎, 张英谦, 刘露, 等. 32 例儿童心肌病基因检测与临床特征分析[J]. *临床心血管病杂志*, 2022, 38(7): 566-571. DOI: 10.13201/j.issn.1001-1439.2022.07.010.
- [3] Azad A, Poloni G, Sontayananon N, et al. The giant titin: how to evaluate its role in cardiomyopathies[J]. *J Muscle Res Cell Motil*, 2019, 40(2): 159-167. PMID: 31147888. PMID: PMC6726704. DOI: 10.1007/s10974-019-09518-w.
- [4] 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. PMID: 31849696. PMID: PMC6892752. DOI: 10.3389/fphys.2019.01436.
- [5] Liu G, Yang Z, Chen W, et al. Novel missense variant in *TTN* cosegregating with familial atrioventricular block[J]. *Eur J Med Genet*, 2020, 63(3): 103752. PMID: 31470098. DOI: 10.1016/j.ejmg.2019.103752.
- [6] 王晶, 徐文峰, 陈頔, 等. 治疗 45 外显子跳跃突变杜氏肌营养不良症的药物——Casimersen[J]. *临床药物治疗杂志*, 2022, 20(5): 17-20. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3384.2022.05.004.
- [7] Loescher CM, Hobbach AJ, Linke WA. Titin (*TTN*): from molecule to modifications, mechanics, and medical significance[J]. *Cardiovasc Res*, 2022, 118(14): 2903-2918. PMID: 34662387. PMID: PMC9648829. DOI: 10.1093/cvr/cvab328.
- [8] Gerull B. The rapidly evolving role of titin in cardiac physiology and cardiomyopathy[J]. *Can J Cardiol*, 2015, 31(11): 1351-1359. PMID: 26518445. DOI: 10.1016/j.cjca.2015.08.016.
- [9] Santiago CF, Huttner IG, Fatkin D. Mechanisms of *TTN* tv-related dilated cardiomyopathy: insights from zebrafish models[J]. *J Cardiovasc Dev Dis*, 2021, 8(2): 10. PMID: 33504111. PMID: PMC7912658. DOI: 10.3390/jcdd8020010.
- [10] Kellermayer D, Smith JE, Granzier H. Titin mutations and muscle disease[J]. *Pflugers Arch*, 2019, 471(5): 673-682. PMID: 30919088. PMID: PMC6481931. DOI: 10.1007/s00424-019-02272-5.
- [11] Tharp C, Mestroni L, Taylor M. Modifications of titin contribute to the progression of cardiomyopathy and represent a therapeutic target for treatment of heart failure[J]. *J Clin Med*, 2020, 9(9): 2770. PMID: 32859027. PMID: PMC7564493. DOI: 10.3390/jcm9092770.
- [12] Dai G, Pu Z, Cheng X, et al. Whole-exome sequencing reveals novel genetic variation for dilated cardiomyopathy in pediatric Chinese patients[J]. *Pediatr Cardiol*, 2019, 40(5): 950-957. PMID: 30993396. DOI: 10.1007/s00246-019-02096-1.
- [13] Khan RS, Pahl E, Dellefave-Castillo L, et al. Genotype and cardiac outcomes in pediatric dilated cardiomyopathy[J]. *J Am Heart Assoc*, 2022, 11(1): e022854. PMID: 34935411. PMID: PMC9075202. DOI: 10.1161/JAHA.121.022854.
- [14] Akinrinade O, Heliö T, Lekan Deprez RH, et al. Relevance of titin missense and non-frameshifting insertions/deletions variants in dilated cardiomyopathy[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 4093. PMID: 30858397. PMID: PMC6412046. DOI: 10.1038/s41598-019-39911-x.
- [15] 李发有, 范洁. 肌联蛋白基因截断突变致家族性扩张型心肌病的研究进展[J]. *中国循环杂志*, 2015, 30(7): 715-717. DOI: 10.3969/j.issn.1000-3614.2015.07.025.
- [16] Fatkin D, Huttner IG. Titin-truncating mutations in dilated cardiomyopathy: the long and short of it[J]. *Curr Opin Cardiol*, 2017, 32(3): 232-238. PMID: 28151760. DOI: 10.1097/HCO.0000000000000382.
- [17] Vikhorev PG, Vikhoreva NN, Yeung W, et al. Titin-truncating

- mutations associated with dilated cardiomyopathy alter length-dependent activation and its modulation via phosphorylation[J]. *Cardiovasc Res*, 2022, 118(1): 241-253. PMID: 33135063. PMCID: PMC8752363. DOI: 10.1093/cvr/cvaa316.
- [18] Fomin A, Gärtner A, Cyganek L, et al. Truncated titin proteins and titin haploinsufficiency are targets for functional recovery in human cardiomyopathy due to *TTN* mutations[J]. *Sci Transl Med*, 2021, 13(618): eabd3079. PMID: 34731013. DOI: 10.1126/scitranslmed.abd3079.
- [19] Biquand A, Spinozzi S, Tonino P, et al. Titin M-line insertion sequence 7 is required for proper cardiac function in mice[J]. *J Cell Sci*, 2021, 134(18): jcs258684. PMID: 34401916. PMCID: PMC8466004. DOI: 10.1242/jcs.258684.
- [20] Zhu C, Yin Z, Ren J, et al. RBM20 is an essential factor for thyroid hormone-regulated titin isoform transition[J]. *J Mol Cell Biol*, 2015, 7(1): 88-90. PMID: 25573899. PMCID: PMC4400401. DOI: 10.1093/jmcb/mjv002.
- [21] Hidalgo C, Hudson B, Bogomolovas J, et al. PKC phosphorylation of titin's PEVK element: a novel and conserved pathway for modulating myocardial stiffness[J]. *Circ Res*, 2009, 105(7): 631-638, 17 p following 638. PMID: 19679839. PMCID: PMC2764991. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.109.198465.
- [22] Schafer S, de Marvao A, Adami E, et al. Titin-truncating variants affect heart function in disease cohorts and the general population[J]. *Nat Genet*, 2017, 49(1): 46-53. PMID: 27869827. PMCID: PMC5201198. DOI: 10.1038/ng.3719.
- [23] 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. PMID: 30719619. DOI: 10.1007/s10930-019-09815-w.
- [24] Verdonschot JAJ, Hazebroek MR, Derks KWJ, et al. Titin cardiomyopathy leads to altered mitochondrial energetics, increased fibrosis and long-term life-threatening arrhythmias[J]. *Eur Heart J*, 2018, 39(10): 864-873. PMID: 29377983. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx808.
- [25] Linschoten M, Teske AJ, Baas AF, et al. Truncating titin (*TTN*) variants in chemotherapy-induced cardiomyopathy[J]. *J Card Fail*, 2017, 23(6): 476-479. PMID: 28315399. DOI: 10.1016/j.cardfail.2017.03.003.
- [26] Ware JS, Cook SA. Role of titin in cardiomyopathy: from DNA variants to patient stratification[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2018, 15(4): 241-252. PMID: 29238064. DOI: 10.1038/nrcardio.2017.190.
- [27] Franaszczyk M, Chmielewski P, Truszkowska G, et al. Titin truncating variants in dilated cardiomyopathy: prevalence and genotype-phenotype correlations[J]. *PLoS One*, 2017, 12(1): e0169007. PMID: 28045975. PMCID: PMC5207678. DOI: 10.1371/journal.pone.0169007.
- [28] Ahlberg G, Refsgaard L, Lundegaard PR, et al. Rare truncating variants in the sarcomeric protein titin associate with familial and early-onset atrial fibrillation[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 4316. PMID: 30333491. PMCID: PMC6193003. DOI: 10.1038/s41467-018-06618-y.
- [29] Enriquez A, Liang J, Smietana J, et al. Substrate characterization and outcomes of ventricular tachycardia ablation in *TTN* (titin) cardiomyopathy: a multicenter study[J]. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2021, 14(9): e010006. PMID: 34315225. DOI: 10.1161/CIRCEP.121.010006.
- [30] Peña-Peña ML, Ochoa JP, Barriales-Villa R, et al. Prognostic implications of pathogenic truncating variants in the *TTN* gene[J]. *Int J Cardiol*, 2020, 316: 180-183. PMID: 32371228. DOI: 10.1016/j.ijcard.2020.04.086.
- [31] Gramlich M, Pane LS, Zhou Q, et al. Antisense-mediated exon skipping: a therapeutic strategy for titin-based dilated cardiomyopathy[J]. *EMBO Mol Med*, 2015, 7(5): 562-576. PMID: 25759365. PMCID: PMC4492817. DOI: 10.15252/emmm.201505047.
- [32] Hahn JK, Neupane B, Pradhan K, et al. The assembly and evaluation of antisense oligonucleotides applied in exon skipping for titin-based mutations in dilated cardiomyopathy[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2019, 131: 12-19. PMID: 30998980. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2019.04.014.

(本文编辑: 邓芳明)