

RBM20基因在扩张型心肌病中表达的研究进展

林欣 综述 周岩 审校

(吉林大学第一医院小儿心血管科, 吉林长春 130000)

[摘要] 扩张型心肌病 (dilated cardiomyopathy, DCM) 是心力衰竭重要的原因之一, 任何阶段均可出现严重的心血管事件, 导致猝死。RNA结合基序蛋白20 (RNA-binding motif protein 20, *RBM20*) 基因突变是引起DCM的原因之一, 呈家族性聚集, 可合并心律失常, 具有易猝死、早死亡的特点。该文介绍 *RBM20* 基因及其调节 *TTN* 基因、*CAMK2* 基因的剪接, 总结 *RBM20* 基因突变相关DCM的治疗, 旨在提高临床工作者对 *RBM20* 基因的认识, 为精准医学治疗提供新思路。

[中国当代儿科杂志, 2023, 25 (10): 1084-1088]

[关键词] 扩张型心肌病; *RBM20* 基因; 可变剪接

Research progress on the expression of the *RBM20* gene in dilated cardiomyopathy

LIN Xin, ZHOU Yan. Division of Pediatric Cardiology, First Hospital of Jilin University, Changchun 130000, China (Zhou Y, Email: zhou_y@jlu.edu.cn)

Abstract: Dilated cardiomyopathy (DCM) is a significant contributor to heart failure and can lead to life-threatening cardiovascular events at any stage. RNA-binding motif protein 20 (*RBM20*) gene mutation is known to be one of the causes of DCM. This mutation exhibits familial aggregation and is associated with arrhythmias, increasing the risk of sudden and early death. This article delves into the characteristics of the *RBM20* gene, highlighting its role in regulating alternative splicing of the *TTN* gene and calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II gene. Furthermore, the article provides a summary of treatment options available for DCM caused by *RBM20* gene mutations, aiming to enhance clinicians' understanding of the *RBM20* gene and provide new ideas for precision medicine treatment.

[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2023, 25(10): 1084-1088]

Key words: Dilated cardiomyopathy; *RBM20* gene; Alternative splicing

扩张型心肌病 (dilated cardiomyopathy, DCM) 是全球心力衰竭重要的原因之一, 表现为心脏结构出现一侧或双侧心室扩大及收缩功能减退, 可同时合并心律失常, 在疾病的任何阶段均可出现严重心血管事件, 导致猝死, 最终的治疗手段多为心脏移植。部分DCM原因不明, 在特发性DCM中, 20%~35%为家族遗传, 多为常染色体显性遗传。自1990年发现第1例家族性心肌病致病性基因突变, 目前已超过170个基因与心肌病、离子通道病等多种心脏系统疾病相关, 超过60个基因可引起DCM^[1-2]。2009年, 首次发现RNA结合基序

蛋白20 (RNA binding motif protein 20, *RBM20*) 基因突变可引起DCM^[3]。*RBM20*基因突变所致的心肌病多为家族性DCM, 临床表现相似^[4], 发病率为1%~5%^[5]。少数*RBM20*基因突变所致的心肌病为散发性DCM^[6]。*RBM20*基因又可作为剪接因子, 在转录过程中可变剪接 *TTN* 基因、*TNNT2* 基因, 在心脏发育中起重要作用。*RBM20*基因突变导致的DCM具有发病年龄小、心力衰竭严重、高病死率的特点^[7-9]。目前, *RBM20*基因已被证实与多种心血管疾病相关, 可表现为DCM、心律失常、猝死及心肌广泛纤维化、心肌致密化不全。

[收稿日期] 2023-06-16; [接受日期] 2023-08-31

[作者简介] 林欣, 女, 硕士, 医师。

[通信作者] 周岩, 女, 主任医师。Email: zhou_y@jlu.edu.cn。

1 *RBM20*基因的结构

*RBM20*基因主要在横纹肌中表达，心肌中表达最高，非肌肉组织中几乎不表达^[10-11]。*RBM20*基因位于10号染色体，包含14个外显子，编码含1 227个氨基酸的蛋白质。存在物种间高度保守的功能区域，包括2个锌指（zinc finger, ZnF）结构域，1个RNA识别基序（RNA recognition motif, RRM）结构域，1个富含精氨酸/丝氨酸（arginine-/serine-rich, RS）区域，1个富含亮氨酸（leucine-rich, L-rich）区域，1个富含谷氨酸（glutamate-rich, E-rich）区域^[12-13]（图1）。其中，与DCM相关的*RBM20*基因突变多发生在RS区域^[2, 10, 14-15]，导致表达的蛋白质功能丧失。E-rich区域和ZnF结构域内突变发生率比RS区域低，但是在这些区域内发生突变后也会降低*RBM20*基因的剪接活性，影响所调控的基因表达，导致DCM^[16-17]。不是所有突变均有意义，如I536T-*RBM20*基因突变影响基因表达、导致剪接异常，但是不会引起DCM^[18]。

2 *RBM20*基因突变的表达

Zhang等^[19]表明RS区域发生的突变介导中心核定位信号的中断，可引起严重的DCM。大多数*RBM20*基因突变定位在RS区域中的精氨酸-丝氨酸-精氨酸-丝氨酸-脯氨酸（arginine-serine-arginine-serine-proline, RSRSP）片段，RSRSP片段的磷酸化干扰了*RBM20*基因的核定位，在细胞质中形成异常的核糖核蛋白（ribonucleoprotein, RNP）颗粒，考虑这种RNP颗粒是形成DCM心肌改变的重要原因^[12, 14, 20-21]。另有研究表明，RSRSP片段突变使DCM表型更加严重，并发心房颤动及室性心律失常^[22]。但是，低水平的磷酸化仍可提高蛋白质表达水平，可能是受反馈机制的作用^[23]。*RBM20*基因是心脏发育过程中核糖核酸处理机制的重要组成成分。*RBM20*基因突变干扰前体信使核糖核酸（pre-messenger RNA, pre-mRNA）的翻译后修饰过程，生成大量异常蛋白质（图2）。转录过程中，*RBM20*基因通过RRM结构域抑制上游和下游内含子^[17]，Upadhyay等^[24]发现RRM结构域具有C端螺旋，特异识别含尿嘧啶-胞嘧啶-尿嘧啶-尿嘧啶的RNA基序，成为转录pre-mRNA的基础。

酸-精氨酸-丝氨酸-脯氨酸（arginine-serine-arginine-serine-proline, RSRSP）片段，RSRSP片段的磷酸化干扰了*RBM20*基因的核定位，在细胞质中形成异常的核糖核蛋白（ribonucleoprotein, RNP）颗粒，考虑这种RNP颗粒是形成DCM心肌改变的重要原因^[12, 14, 20-21]。另有研究表明，RSRSP片段突变使DCM表型更加严重，并发心房颤动及室性心律失常^[22]。但是，低水平的磷酸化仍可提高蛋白质表达水平，可能是受反馈机制的作用^[23]。*RBM20*基因是心脏发育过程中核糖核酸处理机制的重要组成成分。*RBM20*基因突变干扰前体信使核糖核酸（pre-messenger RNA, pre-mRNA）的翻译后修饰过程，生成大量异常蛋白质（图2）。转录过程中，*RBM20*基因通过RRM结构域抑制上游和下游内含子^[17]，Upadhyay等^[24]发现RRM结构域具有C端螺旋，特异识别含尿嘧啶-胞嘧啶-尿嘧啶-尿嘧啶的RNA基序，成为转录pre-mRNA的基础。



图1 *RBM20*基因结构图 [ZnF] 锌指；[RRM] RNA识别基序；[RS-rich] 富含精氨酸/丝氨酸；[L-rich] 富含亮氨酸；[E-rich] 富含谷氨酸。

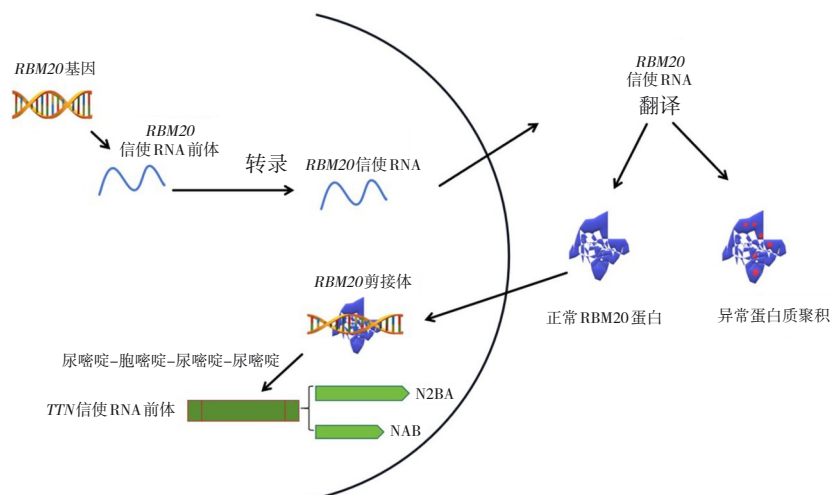


图2 *RBM20*基因转录翻译及可变剪接TTN基因示意图 图片改自Koelemen等^[13]的文章。*RBM20*基因突变影响转录及翻译过程，导致异常蛋白质聚积。同时，*RBM20*基因突变通过调整N2BA及NAB亚型比例，可变剪接TTN基因。

3 *RBM20*基因的可变剪接

*RBM20*基因突变导致可变剪接异常，导致靶

基因形成致病性的环状RNA，并且在细胞质加工小体内重新生成RNP，导致心肌细胞变异，心脏收缩功能异常^[25]。*RBM20*基因的结构域在定位剪

接位点及外显子/内含子的选择中至关重要。通过研究实验大鼠与人类心脏的基因,在内含子结合位点发现一组独特的RNA识别元件,在3'剪接位点下游400碱基对和5'剪接位点上游400碱基对位点与*RBM20*基因结合,并且,*RBM20*基因也通过与U1和U2核小核糖核蛋白颗粒(small nuclear ribonucle protein particle, snRNP)结合位点结合,抑制剪接过程^[10, 26]。

*RBM20*基因作为一种剪接因子,调节与影响心室舒张功能、肌节组装、离子转运等多个心脏相关基因的剪接^[11],包括*TTN*基因、*CAMK2*基因、*MYH6*基因、*MYH7*基因、*RYR2*基因、*NEXN*基因、*NPRL2*基因、*TNNT2*基因、*PDLIM3*基因等^[5, 11, 27]。本文介绍*RBM20*基因调控*TTN*基因及*CAMK2*基因的过程。

3.1 *TTN*基因

*TTN*基因突变是引起DCM常见的原因^[28],占10%~30%。*TTN*基因在人类中包含363个外显子,3个亚型,编码的肌联蛋白是人类体积最大的蛋白质,大小超过3 MDa,连接大多数横纹肌中的Z盘和粗丝,调节心肌收缩和弹性,是导致心肌硬化的重要因素^[20]。*TTN*基因主要的2种亚型是N2BA和NAB,心肌顺应性由N2BA和NAB所占比例不同决定。*RBM20*基因突变显著提高N2BA亚型表达,造成N2BA和NAB比例改变,使肌原纤维被动张力降低,导致心肌病^[12, 26-27, 29](图2)。

3.2 *CAMK2*基因

*CAMK2*基因的产物属于丝氨酸/苏氨酸激酶家族的一种多功能蛋白激酶,蛋白激酶中的 δ 亚型在心脏中占主导地位。*RBM20*基因突变导致*CAMK2*基因的产物从常规的- δ B和- δ C亚型转变为- δ A和- δ 9亚型,导致L型钙离子电流增加,心肌细胞肌浆网中充满钙离子,细胞内钙离子超负荷,可能是DCM心律失常发生的原因^[27, 30]。

4 性别差异

DCM发病率及临床严重程度存在性别差异,男性发病率高于女性,症状更加严重。一项Meta分析表明,相比于女性,男性DCM的全因病死亡率、心血管病死率及猝死风险更高^[31]。*RBM20*基因突变所致的DCM中,男性患者的临床症状也比女性更严重^[6, 32]。但是,Lennermann等^[33]研究构建的*RBM20*基因敲除(knockout, KO)小鼠模型,虽然

RBM20-KO所致DCM雄性小鼠的基因表达和磷酸化更加显著,但是心脏形态和功能与DCM雌性小鼠相比无性别差异。这种人类及小鼠的发病性别差异的不同可能受行为风险因素如吸烟、肥胖及激素等的影响。

5 治疗

DCM在临床中大多数仍表现为收缩性心力衰竭。很多患者最后的治疗措施为心脏移植,但供体稀少。目前,已开展多项治疗*RBM20*基因突变所致心肌病的研究,期望可以治愈心力衰竭。

研究表明,强心苷类药物包括地高辛及洋地黄毒苷可以抑制*RBM20*基因对*TTN*基因的可变剪接,降低*RBM20*基因表达蛋白质的水平,可能改善舒张性心力衰竭^[34]。丝氨酸-精氨酸蛋白激酶可以调节RSRSP片段的磷酸化,调控心肌病相关基因的剪接,成为治疗*RBM20*基因相关心肌病的潜在治疗靶点^[21]。应用CRISPR/Cas9基因编辑技术建立体外心肌模型,此模型包含*RBM20*基因杂合突变的多能干细胞定向分化心肌细胞,通过全反式维甲酸上调*RBM20*基因表达,部分恢复由*RBM20*基因缺陷引起的剪接、钙处理异常和收缩功能障碍,有望修复*RBM20*基因突变所致的DCM^[35]。

基因突变的精准校正是一种新的治疗方法。一项研究指出,应用腺嘌呤碱基编辑和先导编辑校正RS区域内的突变,诱导多能干细胞衍生出心肌细胞,使心力衰竭的大鼠恢复心脏功能^[14]。目前,关于基因编辑改善致病性*RBM20*基因变异体修复的方法研究仍在初级阶段。

6 总结与展望

*RBM20*基因突变通过多种途径导致DCM,其转录、翻译及调控其他基因可变剪接的过程复杂。目前,对于*RBM20*基因突变所致DCM的治疗方案多基于基础研究,由于*RBM20*基因具有物种间高度保守的特征,非同源物种、体内及体外的*RBM20*基因研究结果有部分不同,对人类DCM的疗效仍需要更多临床研究与基础研究结合进一步明确。

利益冲突声明:所有作者声明无利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] Brodehl A, Gaertner-Rommel A, Milting H. *FLNC* (filamin-C): a new(er) player in the field of genetic cardiomyopathies[J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2017, 10(6): e001959. PMID: 29212901. DOI: 10.1161/CIRCGENETICS.117.001959.
- [2] Zahr HC, Jaalouk DE. Exploring the crosstalk between *LMNA* and splicing machinery gene mutations in dilated cardiomyopathy[J]. *Front Genet*, 2018, 9: 231. PMID: 30050558. PMCID: PMC6052891. DOI: 10.3389/fgene.2018.00231.
- [3] Brauch KM, Karst ML, Herron KJ, et al. Mutations in ribonucleic acid binding protein gene cause familial dilated cardiomyopathy[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 54(10): 930-941. PMID: 19712804. PMCID: PMC2782634. DOI: 10.1016/j.jacc.2009.05.038.
- [4] Robles-Mezcua A, Rodríguez-Miranda L, Morcillo-Hidalgo L, et al. Phenotype and progression among patients with dilated cardiomyopathy and *RBM20* mutations[J]. *Eur J Med Genet*, 2021, 64(9): 104278. PMID: 34174465. DOI: 10.1016/j.ejmg.2021.104278.
- [5] 李雪银, 李广平. 家族性扩张型心肌病基因突变与精准医学[J]. *中华心力衰竭和心脏病杂志 (中英文)*, 2019, 3(4): 231-234. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2096-3076.2019.04.009.
- [6] Li M, Xia S, Xu L, et al. Genetic analysis using targeted next-generation sequencing of sporadic Chinese patients with idiopathic dilated cardiomyopathy[J]. *J Transl Med*, 2021, 19(1): 189. PMID: 33941202. PMCID: PMC8091742. DOI: 10.1186/s12967-021-02832-3.
- [7] Gaertner A, Klauke B, Brodehl A, et al. *RBM20* mutations in left ventricular non-compaction cardiomyopathy[J]. *Pediatr Investig*, 2020, 4(1): 61-63. PMID: 32851345. PMCID: PMC7331358. DOI: 10.1002/ped4.12184.
- [8] Liatakis I, Prappa E, Gouziouta A, et al. *RBM20* mutation and ventricular arrhythmias in a young patient with dilated cardiomyopathy: a case report[J]. *Am J Cardiovasc Dis*, 2021, 11(3): 398-403. PMID: 34322310. PMCID: PMC8303033.
- [9] 彭昌, 徐合平, 王世远. *RBM20* 基因新发错义突变致家族性儿童扩张性心脏病1例报告[J]. *临床儿科杂志*, 2018, 36(12): 912-915. DOI: 10.3969/j.issn.1000-3606.2018.12.007.
- [10] Maatz H, Jens M, Liss M, et al. RNA-binding protein *RBM20* represses splicing to orchestrate cardiac pre-mRNA processing[J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(8): 3419-3430. PMID: 24960161. PMCID: PMC4109538. DOI: 10.1172/JCI74523.
- [11] Guo W, Schafer S, Greaser ML, et al. *RBM20*, a gene for hereditary cardiomyopathy, regulates titin splicing[J]. *Nat Med*, 2012, 18(5): 766-773. PMID: 22466703. PMCID: PMC3569865. DOI: 10.1038/nm.2693.
- [12] Watanabe T, Kimura A, Kuroyanagi H. Alternative splicing regulator *RBM20* and cardiomyopathy[J]. *Front Mol Biosci*, 2018, 5: 105. PMID: 30547036. PMCID: PMC6279932. DOI: 10.3389/fmolb.2018.00105.
- [13] Koelemen J, Gotthardt M, Steinmetz LM, et al. *RBM20*-related cardiomyopathy: current understanding and future options[J]. *J Clin Med*, 2021, 10(18): 4101. PMID: 34575212. PMCID: PMC8468976. DOI: 10.3390/jcm10184101.
- [14] Nishiyama T, Zhang Y, Cui M, et al. Precise genomic editing of pathogenic mutations in *RBM20* rescues dilated cardiomyopathy[J]. *Sci Transl Med*, 2022, 14(672): eade1633. PMID: 36417486. PMCID: PMC10088465. DOI: 10.1126/scitranslmed.ade1633.
- [15] Gaertner A, Bloebaum J, Brodehl A, et al. The combined human genotype of truncating *TTN* and *RBM20* mutations is associated with severe and early onset of dilated cardiomyopathy[J]. *Genes (Basel)*, 2021, 12(6): 883. PMID: 34201072. PMCID: PMC8228627. DOI: 10.3390/genes12060883.
- [16] Gaertner A, Klauke B, Felski E, et al. Cardiomyopathy-associated mutations in the RS domain affect nuclear localization of *RBM20*[J]. *Hum Mutat*, 2020, 41(11): 1931-1943. PMID: 32840935. DOI: 10.1002/humu.24096.
- [17] Dauksaite V, Gotthardt M. Molecular basis of titin exon exclusion by *RBM20* and the novel titin splice regulator *PTB4*[J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(10): 5227-5238. PMID: 29518215. PMCID: PMC6007684. DOI: 10.1093/nar/gky165.
- [18] Yamamoto T, Sano R, Miura A, et al. I536T variant of *RBM20* affects splicing of cardiac structural proteins that are causative for developing dilated cardiomyopathy[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2022, 100(12): 1741-1754. PMID: 36198914. PMCID: PMC9691496. DOI: 10.1007/s00109-022-02262-8.
- [19] Zhang Y, Gregorich ZR, Wang Y, et al. Disruption of the nuclear localization signal in *RBM20* is causative in dilated cardiomyopathy[J]. *JCI insight*, 2023, 8(13): e170001. PMID: 37219949. PMCID: PMC10371347. DOI: 10.1172/jci.insight.170001.
- [20] Murayama R, Kimura-Asami M, Togo-Ohno M, et al. Phosphorylation of the RSRSP stretch is critical for splicing regulation by RNA-binding motif protein 20 (*RBM20*) through nuclear localization[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 8970. PMID: 29895960. PMCID: PMC5997748. DOI: 10.1038/s41598-018-26624-w.
- [21] Sun M, Jin Y, Zhang Y, et al. SR protein kinases regulate the splicing of cardiomyopathy-relevant genes via phosphorylation of the RSRSP stretch in *RBM20*[J]. *Genes (Basel)*, 2022, 13(9): 1526. PMID: 36140694. PMCID: PMC9498672. DOI: 10.3390/genes13091526.
- [22] Ihara K, Sasano T, Hiraoka Y, et al. A missense mutation in the RSRSP stretch of *Rbm20* causes dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation in mice[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 17894. PMID: 33110103. PMCID: PMC7591520. DOI: 10.1038/s41598-020-74800-8.
- [23] Zhang Y, Wang C, Sun M, et al. *RBM20* phosphorylation and its role in nucleocytoplasmic transport and cardiac pathogenesis[J]. *FASEB J*, 2022, 36(5): e22302. PMID: 35394688. PMCID: PMC9233413. DOI: 10.1096/fj.202101811RR.
- [24] Upadhyay SK, Mackereth CD. Structural basis of UCUU RNA motif recognition by splicing factor *RBM20*[J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(8): 4538-4550. PMID: 32187365. PMCID:

- PMC7192616. DOI: 10.1093/nar/gkaa168.
- [25] Fenix AM, Miyaoka Y, Bertero A, et al. Gain-of-function cardiomyopathic mutations in *RBM20* rewire splicing regulation and re-distribute ribonucleoprotein granules within processing bodies[J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 6324. PMID: 34732726. PMCID: PMC8566601. DOI: 10.1038/s41467-021-26623-y.
- [26] 郑奎, 娄美娜. *TTN*基因突变致儿童扩张型心肌病的研究进展[J]. 中国当代儿科杂志, 2023, 25(2): 217-222. PMID: 36854701. PMCID: PMC9979384. DOI: 10.7499/j.issn.1008-8830.2208163.
- [27] Lennermann D, Backs J, van den Hoogenhof MMG. New insights in *RBM20* cardiomyopathy[J]. Curr Heart Fail Rep, 2020, 17(5): 234-246. PMID: 32789749. PMCID: PMC7495990. DOI: 10.1007/s11897-020-00475-x.
- [28] Dominguez F, Lalaguna L, Martínez-Martín I, et al. Titin missense variants as a cause of familial dilated cardiomyopathy[J]. Circulation, 2023, 147(22): 1711-1713. PMID: 37253077. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.122.062833.
- [29] Li N, Hang W, Shu H, et al. *RBM20*, a therapeutic target to alleviate myocardial stiffness via titin isoforms switching in HFpEF[J]. Front Cardiovasc Med, 2022, 9: 928244. PMID: 35783855. PMCID: PMC9243441. DOI: 10.3389/fcvm.2022.928244.
- [30] van den Hoogenhof MMG, Beqqali A, Amin AS, et al. *RBM20* mutations induce an arrhythmogenic dilated cardiomyopathy related to disturbed calcium handling[J]. Circulation, 2018, 138(13): 1330-1342. PMID: 29650543. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.031947.
- [31] Long C, Liu X, Xiong Q, et al. Sex differences in dilated cardiomyopathy prognosis[J]. Int Heart J, 2022, 63(1): 36-42. PMID: 35095074. DOI: 10.1536/ihj.20-448.
- [32] Hey TM, Rasmussen TB, Madsen T, et al. Pathogenic *RBM20*-variants are associated with a severe disease expression in male patients with dilated cardiomyopathy[J]. Circ Heart Fail, 2019, 12(3): e005700. PMID: 30871348. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.118.005700.
- [33] Lennermann DC, Pepin ME, Grosch M, et al. Deep phenotyping of two preclinical mouse models and a cohort of *RBM20* mutation carriers reveals no sex-dependent disease severity in *RBM20* cardiomyopathy[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2022, 323(6): H1296-H1310. PMID: 36367695. DOI: 10.1152/ajpheart.00328.2022.
- [34] Liss M, Radke MH, Eckhard J, et al. Drug discovery with an *RBM20* dependent titin splice reporter identifies cardenolides as lead structures to improve cardiac filling[J]. PLoS One, 2018, 13(6): e0198492. PMID: 29889873. PMCID: PMC5995442. DOI: 10.1371/journal.pone.0198492.
- [35] Briganti F, Sun H, Wei W, et al. iPSC modeling of *RBM20*-deficient DCM identifies upregulation of *RBM20* as a therapeutic strategy[J]. Cell Rep, 2020, 32(10): 108117. PMID: 32905764. PMCID: PMC8168789. DOI: 10.1016/j.celrep.2020.108117.

(本文编辑: 王颖)

(版权所有©2023中国当代儿科杂志)