

Study of DCM and the Titin Target Gene Mutations

Hui Du¹, Fengying Chen^{2*}

¹Inner Mongolia Medical University, Hohhot Inner Mongolia

²The Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot Inner Mongolia

Email: 892499720@qq.com

Received: Mar. 9th, 2015; accepted: Mar. 22nd, 2015; published: Mar. 30th, 2015

Copyright © 2015 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

DCM (Dilated Cardiomyopathy, DCM) is a kind of disease with the characteristics of onset hidden and slow progress, which plays serious damage to the people's health and life quality. The early clinical symptom is not obvious, so early diagnosis is very difficult! Once somebody gets the obvious clinical symptoms, the disease always has entered the stage of irreversible. As a result, it is extremely important to look for a kind of effective method of early diagnosis to establish primary prevention mechanism quickly. Through the study and exploration of the DCM related titin and Rbm20, we can discuss the locus mutation sequence, do intervention early, to provide important basis in the early diagnosis of patients who have got DCM, has broad application prospects.

Keywords

DCM, Titin, Rbm20, Gene, Mutations

扩张型心肌病与肌联蛋白靶基因突变的研究

杜 辉¹, 陈凤英^{2*}

¹内蒙古医科大学, 内蒙古 呼和浩特

²内蒙古医科大学附属医院, 内蒙古 呼和浩特

Email: 892499720@qq.com

收稿日期: 2015年3月9日; 录用日期: 2015年3月22日; 发布日期: 2015年3月30日

*通讯作者。

摘要

扩张型心肌病(Dilated Cardiomyopathy, DCM)是一种严重危害人们身体健康和生活质量的疾病,其发病隐匿,进展缓慢,初期临床症状不明显,早期诊断较为困难!患者一旦出现明显的临床症状,病情往往已进入不可逆阶段。因此,寻找出一种有效的早期诊断方法,以及尽早建立起一级预防机制显得极其重要!通过研究和探讨与扩张型心肌病相关的肌联蛋白(titin)及RNA结合蛋白20 (RBM20),探讨其突变序列位点,早期干预,能够为扩张型心肌病患者的早期诊断提供重要的依据,具有广阔的应用前景。

关键词

扩张型心肌病, 肌联蛋白, RNA结合蛋白20, 基因突变

1. 引言

心肌疾病是指除心脏瓣膜病、高血压性心脏病、冠状动脉性心脏病、先天性心脏病、肺源性心脏病、甲亢性心脏病外的以心肌病变为主要表现的一组疾病。分为原发性心肌病和继发性心肌病。扩张型心肌病(Dilated cardiomyopathy, DCM)属于原发性心肌病,指单侧或者双侧心腔扩大和心肌收缩期功能受损的特发性心肌疾病(Idiopathic cardiomyopathy, IDC),常伴有心力衰竭、恶性心律失常和猝死,占有所有心肌病的60% [1],其病因多种多样,可以是特发性的、免疫性、病毒感染、家族或遗传性、酒精性或中毒性、围生期等。根据2006年3月美国心脏病协会(American Heart Association, AHA)提出的心肌病的新的定义和分类[2],将DCM归类为混合型心肌病,也就是说DCM致病基因的表型表达会受到遗传因素、环境因素的影响。家族性扩张心肌病(Familial Dilated Cardiomyopathy, FDCM)约占DCM的35%~48%。根据2007年中华医学会心血管病学分会及中国心肌病诊断与治疗建议工作组发布的《中国心肌病诊断与治疗建议》提供的诊断标准:1)临床常用左心室舒张,期末内径(LVEDd) > 5.0 cm(女性)或 > 5.5 cm(男性);2)左室射血分数(LVEF) < 45%或心室缩短速率(FS) < 25%;3)更为科学的是左室舒张末径(LVEDd) > 2.7 cm/m²,体表面积 = 0.0061 × 身高(cm) + 0.0128 × 体重(kg) - 0.1529,更为保守的评价LVEDd大于年龄和体表面积预测值的117%,即预测值的2倍SD + 5% [3]。在所有心肌疾病中,扩张型心肌病对心功能的影响最大,且患者预后差,5~10年年生存率仅为30%~40% [4]。因此,进行扩张型心肌病发病机制的研究显得尤其的重要和必要。

2. DCM的临床,病理与治疗

2.1. DCM的临床表现及辅助检查

心力衰竭,心律失常,栓塞,猝死为主要表现,一般发病缓慢,早期无任何症状,随病情发展,可分为三个阶段:第一阶段为无症状期,体检心脏可正常或稍大或饱满,心电图正常或非特异性ST-T改变,表现为ST段水平降低,T波倒置、低平或向下;异位搏动和异位心律,有频繁、多型、多源的室性期前收缩,并可发展成室性心动过速;传导障碍,表现为房室传导阻滞(第I~III度),室内束支及分支阻滞;心室肥厚。DCM出现心律失常以房性为超声心动图可无明显异常,心造影也可显示心脏扩大与室壁运动异常,左室射血分数(LVEF)减少。第二阶段为心功能失代偿期,表现为劳力性心悸气短,疲乏无力,胸闷憋气,休息后好转,LVEF为30%~40%,左室舒张末径为6.0 cm以上,第三阶段为本病严重期,表现为

右心功能不全，LVEF 为 20%左右，心包积液，由于心脏扩大室腔内淤血，心脏内附壁血栓极易形成，尤其合并房颤，易发生血栓脱落，造成新，肾，脑，肺，腹腔及肢体血管的栓塞。

2.2. 病理生理

其主要病理改变是心脏扩大，两侧心室均有明显扩大，心尖部变薄，根据疾病特点，左心室和右心室损害程度不等。以左心室首先受累居多。光镜下，病变心肌以灶性纤维化为主，偶有小块坏死。心肌细胞有不同程度的肥大，萎缩，空泡变性及嗜碱变性，肌细胞间纤维组织增厚，血管及心肌细胞周围有广泛的，大小不等的纤维化病灶和淋巴细胞浸润。电镜下可见肌原纤维含量减少，线粒体增大增多，肌浆网扩张，糖原增多，核增大，核膜折叠、变形。间质增厚有水肿，胶原纤维增多。有学者[5]认为扩张性心肌病的发病初始因素是心肌细胞真核基因表达的改变，病毒感染和免疫系统缺陷及功能紊乱首先导致心室壁纤维构架基质细胞的损害，然后逐渐发生心肌细胞的变性，坏死和细胞外间质水肿，最后出现全心扩大。

2.3. 治疗

治疗诱发因素，患者注意休息、戒烟忌酒、限制钠盐的摄入。

2.3.1. 药物治疗

目前尚无特效药物及方法，因而临床上对其治疗的主要目标即在于改善症状、预防并发症和阻止或延缓病情进展、提高生存率，包括抗心力衰竭、抗心律失常及预防血栓栓塞的抗凝治疗等并发症的治疗。心衰是 DCM 的主要症状，是所有心脏疾患的终末阶段，是并发其他疾病或导致死亡的一个重要原因，基本治疗主要使用血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)类，利尿剂和地高辛等药物。室性心律失常和猝死是 DCM 的常见症状，可用 β 受体阻滞剂，胺碘酮治疗，栓塞是本病的常见并发症，应用阿司匹林，华法林口服可预防。ACEI 类及 β 受体阻滞剂等药物，原则是达到“目标剂量”。“目标剂量”就是患者所能耐受的最大剂量[6]，另注重心肌能量代谢药物如曲美他嗪的使用，在临床上的广泛应用，显著的提高了心力衰竭患者的临床预后效果。

2.3.2. 心脏再同步化治疗(Cardiac Resynchronization Therapy, CRT)

2001 年 Cazeau 等[7]报道用多位点双腔起搏器治疗严重心衰和心室内传导延缓，CRT 有效改善心功能。2004 年 Komura 等[8]报道日本 DCM 多中心研究，认为 CRT 是治疗 IDCM 严重心衰的首选途径。综上所述，尽管目前 DCM 患者的药物治疗已有很大进展，但 DCM 晚期慢性心力衰竭患者的发病率和病死率仍较高，生活质量和预后均较差，众多研究表明，CRT 治疗可改善心力衰竭患者的运动耐量和生活质量，尤其是出现难治性心力衰竭的患者更需要在早期积极选择 CRT 治疗。我们推荐 CRT 作为严重心衰患者的常规治疗。

2.3.3. 免疫干预与免疫吸附

自身免疫已被认为是 DCM 发病学的主要机制之一，DCM 患者体内能检测出许多自身抗体，所以针对自身抗体的免疫干预及免疫吸附已经成为治疗 DCM 的一种新疗法。

2.3.4. 心脏移植及干细胞移植

心脏移植是晚期 DCM 患者的有效治疗方法之一。据国外资料显示，心脏移植 5 年存活率约 65%，半数死亡时间为 9.4 年[9]，是治疗 DCM 晚期患者最有效的手段，但在临床实际操作中会遇到很多问题，包括供体来源、经济费用等，不能普遍推广。干细胞移植结合外科减容手术可限制左室扩张，增加室壁厚度，延缓心衰的进程，是一种新的治疗策略[10]。

2.3.5. 基因治疗

随着在细胞分子水平上对 DCM 发病机制认识的深入, 基因治疗已成为治疗 DCM 的一个新的领域。基因治疗是指用正常或野生型基因补充或置换致病基因以产生新的表型的一种治疗和预防疾病的方法, 即通过基因转移技术等, 使目的基因得到表达, 或封闭, 剪切致病基因的 mRNA, 从而达到治疗疾病的目的。近十余年来的分子遗传学研究发现, 在 DCM 家系中采用候选基因筛查和连锁分析策略已定位了 26 个染色体位点与该病相关[11], 并成功鉴定出有 20 种基因的数十种突变可导致 FDCM [12], 许多基因编码细胞骨架蛋白(Cytoskeletal protein)和肌小节蛋白(sareomerie protein)。心肌型 actin(ACTc)亦是一种肌小节蛋白, 依据其编码基因的突变位置不同, 收缩力量不同导致运动障碍即可引发 DCM [13] titin (TTN), metavineulin (VCL), phospholamban (PLN), lamina-A/C (LMNA)等也在维持肌小节正常结构和功能, 调节肌浆网 Ca^{2+} , 保持核膜稳定性等方面起重要作用, 其发生突变也可导致 FDCM [14] [15]。Staudt 等[16]用电穿孔法将人肝细胞生长因子基因导入 12 只 TO-2 品系仓鼠 DCM 模型)的骨骼肌细胞, 并设立 12 只 TO-2 品系仓鼠作对照, 结果发现肝细胞生长因子组血浆肝细胞生长因子水平、左室射血分数、室壁厚度较对照组显著增加, 同时具有更小的纤维化比例和更高的毛细血管密度。由此可见, 用电穿孔法转移肝细胞生长因子基因改善了心肌功能, 减弱了心肌重塑, 是一种好的治疗方法。基因治疗 DCM 主要针对其发病机制中的某些基因缺陷或补充一些有益的基因, 是一种新颖、很有前途的治疗方法。

3. 肌联蛋白

3.1. 肌联蛋白的生理结构及特性

3.1.1. 生理结构

肌联蛋白是迄今为止所发现的最大蛋白质, 分子量为 3000~3700 kDa, 肌联蛋白基因在人类定位于染色体 2q31, 由单基因编码[17]。共有 363 个外显子。38,138 个氨基酸残基端。外显子以不同的拼接方式形成不同的亚型[18]。肌联蛋白横跨半个肌小节, 自 Z 盘至 M 线, 依次为 Z 盘连接部、I 带区域、A 带区域以及 M 线连接部等节段。与 Z 盘的连接部分为肌联蛋白的 N 末端片断, 它与 Z 盘上的 Teap 蛋白结合[19] [20], 而与 M 线的连接部分为肌联蛋白的 C 末端, 它与肌球蛋白结合蛋白 C 相互作用。固定于粗肌丝。

3.1.2. 力学特性

在没有外力的情况下, 肌联蛋白处于松弛状态, I 带区域内的肌联蛋白分子处于高度折叠状态。随着肌肉受到拉伸, I 带区域内的肌联蛋白逐渐伸长, 像一个弹簧。产生被动张力。这种延伸变化较为复杂, Ig 样结构域先于 PVEK 区和 N2A, N2B 序列出现拉伸。然后才是 PVEK 区和 N2A/N2B 序列的展开而 I 带 Z 盘结合部与 A 带均不具有延伸性。而当肌节受到压缩, 短于松弛状态长度时, 粗肌丝会向 Z 盘方向延伸, 肌联蛋白则会产生相反的力量。推动 Z 盘相互远离。可见肌联蛋白像一个可双向调节的弹簧, 使肌小节维持在松弛状态长度。① 在生理情况下, 介导被动张力的产生主要是肌联蛋白[21]。特别是肌联蛋白 I 带的 3 个部分, 即 Ig 样串联重复区域, PEVK 区, N2B 区均可在牵张时伸展或解折叠, 产生被动张力。② 心肌细胞在收缩后的舒张过程中, 其长度的恢复不仅仅是由于钙的解离、粗肌丝的回位, 还包括恢复力的作用。心肌细胞收缩时, 伴随肌小节的缩短, 肌丝重叠的加剧, 两端分别连接细肌丝和粗肌丝的肌联蛋白纤维的 I 带部分反向牵张, 产生张力, 从而在舒张过程中, 协助心脏形状的迅速恢复, 有利于心脏的充盈, 即心脏收缩过程中可储存一部分能量用于舒张过程[22]。Cazofla 等[23]在对小鼠去膜心肌细胞的研究中发现, 在同一肌小节长度下, 被动张力增高, 肌丝问栅格空间减少, 刺激后产生的主动张力增加, 力-pCa 曲线左移, 这就是依赖被动张力的 Ca^{2+} 敏感性, 而肌丝生理长度下被动张力的主

要来源为肌联蛋白纤维，因此这种依赖性也即为肌联蛋白产生的被动张力的依赖性。

3.2. 肌联蛋白与心脏舒张功能的关系

肌联蛋白作为心肌的结构蛋白，现已对其在心肌细胞病理状态下的改变，以及此改变对心脏的影响，有一些初步的研究。心肌细胞弹性的恢复力与肌联蛋白密切相关，心室收缩末期，心肌处于受压状态，伴随肌小节的缩短，肌联蛋白的两端分别收到内向的压力，此时 I 带部分反向强张，产生张力，今儿储存部分势能用于舒张过程，从而协助心室在舒张期迅速恢复形状，有利于心脏的充盈。有实验证实，经胰蛋白酶处理破坏肌联蛋白后的肌小节之后弹性恢复力几乎减少 40% [24]。研究同时表明，生理状况下，介导被动张力的产生主要是肌联蛋白。早期的电镜和免疫组织学检查发现终晚期扩张性心肌病的的心脏中。显示肌联蛋白 N2BA 亚型的比例增高。且该亚型的分子量还增大[25]，这个结果提示扩张性心肌病心脏的被动张力减少，心脏更易发生扩大。Gerull [26]等研究发现 titin 外显子 326 处有一 2bp 的插入突变，该突变可能切断 TTNA 带，导致其结构改变。在另一家系中。发现下 TTN 的错义突变(Trp930Arg)，该突变可能破坏了位于 Z 带和 I 带过渡区的免疫球蛋白高度保守疏水核心序列。在慢性压力过度负荷的豚鼠模型中，心肌肥大代偿阶段，肌联蛋白含量轻度升高，mRNA 水平增加；而在后期失代偿阶段，肌联蛋白含量降低 18% [16]。总之，肌联蛋白的合成减少，破坏增加，加剧了心肌细胞力学性能、超微结构的紊乱，并且使心肌细胞的重建过程失去支架，肌小节无法正常组装。出于肌联蛋白的改变造成的心脏疾病主要体现在一些与遗传有关的心肌病中。肌联蛋白基因已成为家族性心肌病的候选基因之一。

4. Rbm20

4.1. Rbm20 的生理结构及特性

RNA 结合结构域主要包括:RNA 识别模体(RNA Recognition Motif, RRM)、KH 结构域、锌指结构(Zinc finger)、RGG 盒、DEAD/DEAH 盒、Pumilio/FBF (PUF)、双链 RNA 结合结构域(double-stranded RNA binding domain)、富含精氨酸模体(Arginine-rich motif)、Piwi/Argonaute/Zwille (PAZ) domain、Smprotein 模体等。RNA 结合蛋白在转录后的基因调控中有着关键的作用，其功能最近受到越来越多的关注。它主要通过与其 IE 标 RNA 相互结合，参与 RNA 剪接、多聚腺苷化作用、序列编辑、RNA 转运、维持 RNA 的稳定和降解、细胞内定位和翻译控制等 RNA 代谢的各个方面，从而广泛调控基因表达。

4.2. Rbm20 的作用机制

在正常发育或心脏病的不同时期，机体通过翻译后修饰或形成肌联蛋白不同的剪切体，以适应不同的需要。已经发现在心脏发育的不同阶段，RNA 结合基元蛋白 20 (RBM20)可直接作用于肌联蛋白的基因，形成不同的剪切体。Rbm20 能够调节编码 titin 的转录子的剪切，titin 是一个大的肌节蛋白[27] [28]，Rbm20 突变和人类扩张性心肌病有关，因为 Rbm20 在调节肌原纤维结构和功能中有重要作用[29] [30]。肌联蛋白的不同剪切体及译后修饰能直接影响依赖于肌联蛋白的心脏的被动舒张，进而影响回心血量，它通过 RNA 的调节，影响心脏肌联蛋白不同同工酶的表达。通过对人 RBM20 的靶基因研究，找出受 RBM20 调控的基因从而有利于 DCM 的诊断及治疗。

5. 诊断价值及治疗，进展

5.1. 诊断价值

DCM 是一种慢性疾病，患者通常在出现一定临床症状后才去就医，而通常其病程已经发展到中晚期，治疗效果和预后均较差，随着 DCM 基因筛查和芯片技术的发展，通过采用突变检测的手段及早发现致

病基因携带者并判断其可能的恶性程度，为有效的治疗手段以及风险规避提供重要依据。另外，基因缺陷所致的扩张性心肌病通常会有一定的概率遗传给后代，对于有家族史的患者，可以通过基因筛查的方法来寻找致病基因，这为 DCM 的早期诊断和有效治疗提供新的理论，方法和研究方向[31]-[33]。应用到临床实践工作中，做到早预防，早诊断，早治疗，早期干预，尤其应用于家族性扩张型心肌病患者群中，可以指导其生活方式方法以降低其发病风险，患病及病后康复，进一步提高其生活治疗，降低死亡率，并可以降低患病儿童出生率，进行遗传咨询，减轻社会家庭经济精神负担压力。

5.2. 治疗

近年来随着心脏病治疗技术的发展，DCM 的治疗效果取得了较的进步。治疗手段包括药物治疗、心脏起搏再同步化治疗、左室减容成形术、左心室机械辅助循环及心脏移植治疗等。但 DCM 总体治疗效果还不够理想，近年有学者在 DCM 治疗的实验室研究中进行了积极的探索，采用基因治疗的手段治疗 DCM 大鼠，治疗针对缺陷基因的补充及针对 DCM 的发病机制和病理生理的改善，在实验中取得了一定效果，评估病情，分析预后，改善生活质量，降低死亡率。

5.2.1. 载体选择

合适的载体使目的基因转移入靶细胞并高效表达是基因治疗的关键之一。

腺病毒(adenovirus, Ad)载体适于心肌细胞的基因转移，它可以感染分裂期和非分裂期细胞，且制备滴度高；可插入大片段的外源性 DNA 片段；通过基因重组，使改造后的腺病毒只能在特定的包装细胞中才具备复制和扩增能力；不与宿主基因组发生整合，避免了非计划性的基因突变，应用比较安全。缺点是能引起宿主细胞免疫和体液免疫，使腺病毒和外源基因和外源表达产物易被清除。

5.2.2. 基因转移方法

是指将重组的 DNA 片段导入目的组织的方法，包括冠状动脉腔内转移(如应用导管注入冠状动脉或冠状静脉逆灌注进行转移)和心脏直接注(注射基因载体到心肌、心室腔或心包)使目的基因在心肌表达；注射基因载体到体内其他特定靶细胞和靶器官，在体内表达出所需要的功能蛋白，从而发挥作用。

5.2.3. 靶基因选择

是基因治疗的关键环节。目前认为 DCM 存在心肌细胞基因异常表达，造成心肌细胞骨架蛋白异常、心肌细胞肥大纤维化及细胞内信号转导系统、Ca²⁺调节、细胞生长和凋亡调控机制等发生一系列列改变，导致进行性左室、右室或双心腔扩大、左室收缩功能降低。治疗方案可针对一个或多个环节。

5.2.4. 基因治疗在 DCM 中的具体应用

sarcoglycan 基因包括 α , β , γ 及 δ 。 δ -sarcoglycan 是 dystrophin 相关糖蛋白复合物(DGC)中 sarcoglycan 亚复合物的组成部分。多项研究表明， δ -sarcoglycan 基因与 DCM 有关。

5.3. 进展

遗传因素在扩张型心肌病发生发展过程中起着重要作用。许多基因的突变通过多个不同的病理生理机制可以引起 DCM，预后较差生存率低。虽然通过对有缺陷的基因进行修复或用正常有功能的基因置换或增补缺陷基因，对 FDCM 患者的基因治疗，取得了一定的成果，但基因转染细胞的效率、基因在细胞中表达的稳定性、在人类体内安全性以及基因转染细胞的增殖分化仍是研究中需重点克服的问题。从基因水平探索扩张型心肌病病因及发病机制，确定一套全面的诊断标准，对患者进行早期的诊断和临床干预，减少基因缺陷或突变带来的不良后果，同时指导特定基因的个体化治疗将成为 DCM 基因突变研究的重点。随着分子遗传学方法和技术的发展，相信将有更多与 DCM 有关的基因被发现，具有重要的意

义。许多遗传学位点与扩张型心肌病有关,心肌产生力、传递力、细胞核的缺陷均可促发扩张重塑通路,并最终导致心衰。突变基因的检测为扩张型心肌病的诊断与防治开辟了新的途径,这将有利于我们对 DCM 早期、准确的诊断,并对 DCM 的基因治疗提供充足的理论依据和更多治疗靶点及方式的选择。随着 DCM 基因筛查和芯片技术的发展,通过采用突变检测的手段及早发现致病基因携带者并判断其可能的恶性程度,为有效的治疗手段以及风险规避提供重要依据。另外,基因缺陷所致的扩张性心肌病通常会有一定的概率遗传给后代,对于有家族史的患者,可以通过基因筛查的方法来寻找致病基因,并通过选择性生育的方法来降低患儿的出生率,这为 DCM 的早期诊断和有效治疗提供新的理论方法和研究方向[34]。目前的研究已经证实了基因治疗的效果和可行性,随着上述问题的不断解决,从动物实验走向临床试验指日可待,相信在不久的将来 DCM 的基因治疗将能成功地应用于临床,使 DCM 患者终生受益。

已经发现在心脏发育的不同阶段, RBM20 的异位调节作用,可直接作用于肌联蛋白而影响肌联蛋白的剪切。在国内,有关 RBM20 突变可能引起心脏肌联蛋白产生不同的剪切体的研究报道较少。通过对 DCM 及肌联蛋白突变的研究,可能有助于 DCM 的早期诊断及治疗,尤其可能有助于 FDCM 的筛查,预防,诊治等临床工作的开展。

参考文献 (References)

- [1] Karkkainen, S. and Peuhkurinen, K. (2007) Genetics of dilated cardiomyopathy. A comprehensive review of the known genetic mutations that have been shown to cause FDC. *Annals of Medicine*, **39**, 91-107.
- [2] Maron, B.J., Towbin, J.A., Thiene, G., et al. (2006) Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: An American Heart Association scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee: Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups: And Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation*, **113**, 1807-1816.
- [3] Everly, M.J. (2008) Cardiac transplantation in the United States: An analysis of the UNOS registry. *Clinical Transplantation*, 35-43.
- [4] 王玉亭, 王庭槐 (2005) 扩张型心肌病发病机理及治疗进展. *中国心血管杂志*, **10**, 230-231.
- [5] 吕安林, 张晶, 杜娟娟 (2009) 扩张型心肌病发病机制新论. *临床医学工程*, **16**, 99-100.
- [6] 中华医学会心血管病学分会 (2014) 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2014. *中华心血管病杂志*, **42**.
- [7] Cazeau, S., Leclercq, C., Lavergne, T., et al. (2001) Effects of multisite biventricular pacing in patients with heart failure and intraventricular conduction delay. *New England Journal of Medicine*, **344**, 873-880.
- [8] Komura, S., Chinushi, M., Kudo, M., et al. (2004) Potential candidates for cardiac resynchronization therapy in Japanese patients with idiopathic dilated cardiomyopathy a Niigatamulticenter study of DCM. *Circulation Journal*, **68**, 1104-1109.
- [9] Hosenpud, J.D., Bennett, L.E., Keck, B.M., et al. (1998) The registry of the international society for heart and lung transplantation: Fifteenth official report 1998. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, **17**, 656-668.
- [10] 王建安, 谢小洁 (2006) 干细胞移植治疗扩张型心肌病. *中华心血管病杂志*, **34**, 200-201.
- [11] 王虎, 惠汝太 (2006) 基因突变与扩张型心肌病. *中华心血管病杂志*, **3**, 193-195.
- [12] Mestroni, L., Maisch, B., McKenna, W.J., Schwartz, K., Charron, P., Rocco, C., et al. (1999) Guidelines for the study of familial dilated cardiomyopathies. *European Heart Journal*, **20**, 93-102.
- [13] Burkelt, E.L. and Hershberger, R.E. (2005) Clinical and genetic issues in familial dilated cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*, **45**, 969-981.
- [14] Dunkman, W.B., Johnson, G.R., Carson, P.E., Bhat, G., Farrell, L. and Cohn, J.N. (1993) Incidence of thromboembolic events in congestive heart failure. The V-HeFT VA Cooperative Studies Group. *Circulation*, **87**, UI94-UI101.
- [15] Yetino, M., Ozeke, O., Deveci, B., Timur Selcuk, M. and Aras, D. (2006) Multichamber intracardiac thrombi associated with activated protein C resistance in a patient with dilated cardiomyopathy. *The International Journal of Cardiovascular Imaging*, **22**, 59-61.
- [16] Staudt, A., Hummel, A., Ruppert, J., Dörr, M., Trimper, C., Birkenmeier, K., et al. (2006) Immunoabsorption in dilated cardiomyopathy: 6-month results from a randomized study. *American Heart Journal*, **152**, 712e1-712e6.
- [17] Granzier, H.L. and Labeit, S. (2004) The giant protein titin: A major player in myocardial mechanics, signaling, and

- disease. *Circulation Research*, **94**, 284-295.
- [18] Bang, M.L., Centner, T., Fornoff, F., Geach, A.J., Gotthardt, M., McNabb, M., *et al.* (2001) The complete gene sequence of titin, expression of an unusual approximately 700-kDa titin isoform, and its interaction with obscurin identify a novel Z-line to I-band linking system. *Circulation Research*, **89**, 1065-1072.
- [19] Miller, M.K., Granzier, H., Ehler, E. and Gregorio, C.C. (2004) The sensitive giant: The role of titin-based stretch sensing complexes in the heart. *Trends in Cell Biology*, **14**, 119-126.
- [20] Lange, S., Ehler, E. and Gautel, M. (2006) From A to Z and back? Multicompartment proteins in the sarcomere. *Trends in Cell Biology*, **16**, 11-18.
- [21] Granzier, H.L. and Irving, T.C. (1995) Passive tension in cardiac muscle: Contribution of collagen, titin, microtubules, and intermediate filaments. *Biophysical Journal*, **68**, 1027-1044.
- [22] LeWinter, M.M. (2000) Titin: The “missing link” of diastole. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, **32**, 2111-2114.
- [23] Cazorla, O., Wu, Y., Irving, T.C. and Granzier, H. (2001) Titin-based modulation of calcium sensitivity of active tension in mouse skinned cardiac myocytes. *Circulation Research*, **88**, 1028-1035.
- [24] Helmes, M., Trombitas, K., Granzier, H. (1996) Titin develops restoring force in rat cardiac myocytes. *Circulation Research*, **79**, 619-626.
- [25] Hein, S., Kostin, S., Heling, A., Maeno, Y. and Schaper, J. (2000) The role of the cytoskeleton in heart failure. *Circulation Research*, **45**, 273-278.
- [26] Gerull, B., Gramlich, M., Atherton, J., McNabb, M., Trombitás, K., Sasse-Klaassen, S., *et al.* (2002) Mutations of TTN, encoding the giant muscle filament titin, cause familial dilated cardiomyopathy. *Nature Genetics*, **30**, 201-204.
- [27] Guo, W., Schafer, S., Greaser, M.L., Radke, M.H., Liss, M., Govindarajan, T., *et al.* (2012) RBM20, a gene for hereditary cardiomyopathy, regulates titin splicing. *Nature Medicine*, **18**, 766-773.
- [28] Li, S., Guo, W., Dewey, C.N. and Greaser, M.L. (2013) Rbm20 regulates titin alternative splicing as a splicing repressor. *Nucleic Acids Research*, **41**, 2659-2672.
- [29] Brauch, K.M., Karst, M.L., Herron, K.J., de Andrade, M., Pellikka, P.A., Rodeheffer, R.J., *et al.* (2009) Mutations in ribonucleic acid binding protein gene cause familial dilated cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*, **54**, 930-941.
- [30] Li, D., Morales, A., Gonzalez-Quintana, J., Norton, N., Siegfried, J.D., Hofmeyer, M. and Hershberger, R.E. (2010) Identification of novel mutations in RBM20 in patients with dilated cardiomyopathy. *Clinical and Translational Science*, **3**, 90-97.
- [31] Refaat, M.M., Lubitz, S.A., Makino, S., Islam, Z., Frangiskakis, J.M., Mehdi, H., *et al.* (2012) Genetic variation in the alternative splicing regulator RBM20 is associated with dilated cardiomyopathy. *Heart Rhythm*, **9**, 390-396.
- [32] 王铜 (2012) 克山病监测之转化流行病学. *国外医学医学地理分册*, **3**, 143-147.
- [33] 李兆祥, 杨林, 赵溯, 黄文丽, 王跃兵, 杨鹏 (2012) 2010 年云南省克山病监测结果分析. *国外医学: 医学地理分册*, **1**, 26-29.
- [34] 王斌, 王盼, 雷艳霞 (2013) 硒的功能与心血管疾病的研究进展. *国外医学: 医学地理分册*, **1**, 20-22.