

metric remission is the most relevant prognostic factor for multiple myeloma patients who undergo autologous stem cell transplantation[J]. Blood, 2008, 112(10): 4017-4023.

[4] Ogawa H, Ikegame K, Yoshihara S, et al. Unmanipulated HLA 2-3 antigen-mismatched(haploidentical) stem cell transplantation using nonmyeloablative conditioning[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2006, 12(10): 1073-1084.

[5] Jaye DL, Geigerman CM, Herling M, et al. Expression of the plasmacytoid dendritic cell marker BDCA-2 supports a spectrum of maturation among CD4⁺ CD56⁺ hematodermic neoplasms[J]. Mod Pathol, 2006, 19(12): 1555-1562.

[6] Kraus TS, Sillings CN, Saxe DF, et al. The role of CD11c expression in the diagnosis of mantle cell lymphoma[J]. Am J Clin Pathol, 2010, 134(2): 271-277.

[7] Moreton P, Kennedy B, Lucas G, et al. Eradication of minimal residual disease in B-cell chronic lymphocytic leukemia after alemtuzumab therapy is associated with prolonged survival[J]. J Clin Oncol, 2005, 23(13): 2971-2979.

[8] Barnett D, Walker B, Landay A, et al. CD4 immunophenotyping in HIV infection[J]. Nat Rev Microbiol, 2008, 6(Suppl 11): S7-15.

[9] Soiffer RJ, Mauch P, Fairclough D, et al. CD6⁺ T cell depleted allogeneic bone marrow transplantation from genotypically HLA nonidentical related donors[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 1997, 3(1): 11-17.

[10] Ogawa H, Ikegame K, Kaida K, et al. Unmanipulated HLA 2-3 antigen-mismatched(haploidentical) bone marrow transplantation using only pharmacological GVHD prophylaxis[J]. Exp Hematol, 2008, 36(1): 1-8.

[11] Ratanatharathorn V, Nash RA, Przepiorka D, et al. Phase III study comparing methotrexate and tacrolimus(prograf, FK506) with methotrexate and cyclosporine for graft-versus-host disease prophylaxis after HLA-identical sibling bone marrow transplantation[J]. Blood, 1998, 92(7): 2303-2314.

[12] Waller EK, Rosenthal H, Jones TW, et al. Larger numbers of CD4 (bright) dendritic cells in donor bone marrow are associated with increased relapse after allogeneic bone marrow transplantation[J]. Blood, 2001, 97(10): 2948-2956.

[13] Reddy V, Winer AG, Eksioglu E, et al. Interleukin 12 is associated with reduced relapse without increased incidence of graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2005, 11(12): 1014-1021.

[14] Civin CI, Strauss LC, Brovall C, et al. Antigenic analysis of hematopoiesis. III. A hematopoietic progenitor cell surface antigen defined by a monoclonal antibody raised against KG-1a cells[J]. J Immunol, 1984, 133(1): 157-165.

[15] Roncador G, Brown PJ, Maestre L, et al. Analysis of FOXP3 protein expression in human CD41CD251 regulatory T cells at the single-cell level[J]. Eur J Immunol, 2005, 35(6): 1681-1691.

[16] Garovoy MR, Rheinschmidt MA, Bigos M, et al. A high technology crossmatch technique facilitating transplantation[J]. Transplant, 1983, 15(5): 1939-1941.

[17] Bray RA, Tarsitani C, Gebel HM, et al. Clinical cytometry and progress in HLA antibody detection[J]. Methods Cell Biol, 2011, 103(1): 285-310.

[18] Lindemann M, Nyadu B, Heinemann FM, et al. High negative predictive value of an amplified flow cytometry crossmatch before living donor kidney transplantation[J]. Hum Immunol, 2010, 71(8): 771-776.

[19] Taylor JD, Briley D, Nguyen Q, et al. Flow cytometric platform for high-throughput single nucleotide polymorphism analysis[J]. Biotechniques, 2001, 30(3): 661-666.

[20] Couzi L, Araujo C, Guidicelli G, et al. Interpretation of positive flow cytometric crossmatch in the era of the single-antigen bead assay[J]. Transplantation, 2011, 91(5): 527-535.

[21] Cecka JM, Kucheryavaya AY, Reinsmoen NL, et al. Calculated PRA: initial results show benefits for sensitized patients and a reduction in positive crossmatches[J]. Am J Transplant, 2011, 11(4): 719-724.

[22] Ciurea SO, de Lima M, Cano P, et al. High risk of graft failure in patients with anti-HLA antibodies undergoing haploidentical stem-cell transplantation[J]. Transplantation, 2009, 88(8): 1019-1024.

[23] Stetler-Stevenson M, Davis B, Wood B, et al. 2006 Bethesda International Consensus Conference on flow cytometric immunophenotyping of hematolymphoid Neoplasia[J]. Cytometry B Clin Cytom, 2007, 72(Suppl 1): S3.

[24] Calvo KR, McCoy CS, Stetler-Stevenson M, et al. Flow cytometry immunophenotyping of hematolymphoid neoplasia[J]. Methods Mol Biol, 2011, 699(1): 295-316.

[25] Wilson WH. International consensus recommendations on the flow cytometric immunophenotypic analysis of hematolymphoid neoplasia[J]. Cytometry B Clin Cytom, 2007, 72(Suppl 1): S2.

(收稿日期: 2013-02-28)

• 综 述 •

先天性心脏病的遗传学研究进展

徐 菲, 孙奉劼 综述, 张瑞生 审校

(南京市第一医院检验科/南京医科大学附属南京第一医院, 江苏南京 210000)

关键词: 先天性心脏病; 基因; 染色体

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 16. 037 文献标识码: A 文章编号: 1673-4130(2013)16-2140-03

先天性心脏病(先心病)是人胚胎发育时期(怀孕初期 2~3 个月内)由于心脏及大血管的形成障碍而引起的局部解剖结构异常,或出生后应自动关闭的通道未能闭合(在胎儿属正常)的心脏,称为先天性心脏病。其发生率占活产婴儿的 0.7%~1%,中国每年新增 15 万至 20 万例先心病患儿^[1]。临床上以心功能不全、发绀以及发育不良等为主要表现。先心病是胚胎

作者简介:徐菲,女,研究员,主要从事医学遗传学研究。

期遗传因素和环境因素共同作用、相互影响,导致心血管发育异常。先心病的遗传因素主要是单基因遗传缺陷、多基因遗传缺陷、染色体易位与畸变;环境因素主要与宫内感染、饮酒吸烟、大剂量放射性接触和药物等有关^[2]。

1 染色体畸变

染色体数目和结构的畸变都可引起各类综合征,如 21-三体综合征、18-三体综合征、13-三体综合征、5p-综合征等,多伴有先心病,这部分先心病约占先心病的 4%~5%。近年来研究表明,先心病与 22q11.2 微缺失有关^[3]。相关研究在 11q 染色体末端发现一个心脏关键区,编码 40 个基因,54% 的 11q 染色体末端缺失表现为先天性心脏缺陷^[4]。

2 单基因缺陷

2.1 Noonan 综合征 是一种临床表现多样的常染色体显性遗传病。发病率为 1/2 500~1/1 000。80% 合并心脏畸形。有较高的遗传异质性,已经确定多个致病基因,其中 PTPN11 的突变约占 50%。PTPN11 定位于 12q24.1,编码一个非受体蛋白,即 11 型酪氨酸磷酸化酶 SHP2,具有 N-SH2、C-SH2 和 PTP 三个功能结构域。在患者 PTPN11 基因的外显子 3 区域检出一杂合的 c.181G>A 碱基取代,引起第 61 位的天冬氨酸改变为天冬酰胺(p. D61N)。该突变位于 N-SH2 结构域中的环状区(p. 58-62),分子动态模拟显示该区域在调控酶的催化活力中担当主要角色^[5]。在 Noonan 综合征心脏缺陷中的基因-表型关系中,肺动脉狭窄和心肌病与 PTPN11 突变的关联最为紧密。在 PTPN11 内部,分散于特定外显子的一系列不同突变与特定的心脏缺陷,尤其是肺动脉瓣狭窄、间隔缺损和心肌病的关系有待于进一步研究和证实。

2.2 进行性肌营养不良 Duchenne 型(DMD) 发病率为 1/6 000~1/3 600。心肌受累是最常见的并发症,患儿心脏收缩功能较同龄儿低下,部分患儿可见心率增快、心律失常。DMD 是 X 连锁隐性遗传,男性发病,女性为致病基因携带者。致病基因定位于 Xp21,其基因的 cDNA 已经被克隆全长为 14 kb,共有 79 个外显子,基因表达产物为抗肌萎缩蛋白(Dys)。当基因出现大片段缺失重复或其他形式变异如点突变时,阅读框被破坏,产生不稳定 mRNA,截短的抗肌萎缩蛋白在肌肉中很快降解^[6]。

2.3 Alagille 综合征 是一种临床表现多样的多系统发育异常的常染色体显性遗传病。发病率为 1/7 000。该病常伴有心脏畸形。致病基因是 JAG1 突变(>90%)和 Notch2 突变(<1%)^[7]。JAG1 定位于 20p12,整个基因组约 36 kb 大小,共 26 个外显子,组成 5.9 kb 大小的 mRNA。大约 72% 的突变(无义突变、缺失/插入导致的移码突变)会导致下游提早出现终止密码子,还有 15% 剪接位点突变,13% 为错义突变,其中有 3%~7% 的患者一个 JAG1 等位基因发生缺失^[8]。另外,在无 JAG1 基因突变的 Alagille 综合征中可发现 Notch2 突变^[9]。Notch2 基因是人 4 个 Notch(Notch1-4)基因之一,该基因定位于 1p11-p13,含 34 个外显子,长约 158 kb,开放阅读框长 7 413 bp。研究发现灭活心脏神经嵴细胞中的 Notch2 会导致主动脉、肺动脉因平滑肌组织减少而异常狭窄^[10]。

3 多基因缺陷

3.1 T-box 转录因子家族 主要有 TBX1 和 TBX2 亚家族。其中与心脏发育有关的基因主要是 TBX1 亚家族中的 TBX1、TBX18、TBX20 和 TBX2 亚家族中的 TBX2、TBX3、TBX5。

3.1.1 TBX1 亚家族 TBX1 基因定位于 22q11,该基因缺失可导致 DiGeorge 综合征。该病累及多个器官,心脏畸形主要

为心脏神经嵴迁移异常所致,包括主动脉离断、永存动脉干、法洛四联症、右室双出口和大动脉换位。研究发现 TBX1 基因表达于内胚层的咽弓组织,参与调控心脏神经嵴细胞的正常迁移,而心脏神经嵴细胞参与了主、肺动脉的分隔过程^[11]。TBX18 基因位于 6q14~q15,在心外膜层细胞中表达^[12]。TBX20 基因位于 7p14~p15,全长 22kb,包括 6 个外显子,是先心病的候选基因^[13]。TBX20 在心脏发育过程中起着转录激活及转录抑制双重作用^[14]。在胚胎期和胎儿期的心脏发育, TBX20 调节心肌细胞的增殖和成熟^[15]。若 TBX20 缺乏,则心脏管变短,右室腔和心脏流出道发育不良,这一表型改变的主要原因可能是第二心区不能给发育中的心管添加足够的心脏祖细胞^[16]。TBX20 基因突变能引起 T-box DNA 结合模序列功能紊乱,导致家族性心脏间隔缺损、心腔发育和瓣膜形成障碍。

3.1.2 TBX2 亚家族 TBX2 基因定位于染色体 17q23。TBX3 基因位于染色体 12q24.1,其同源基因位于鼠的 5 号染色体上, TBX3 基因全长为 9.0 kb,至少包括 6 个外显子。TBX2 和 TBX3 诱导房室心肌发展及心内膜垫的形成^[17]。Radio 等^[18]在 1 例伴有先心病患者中发现 TBX2 过表达。TBX5 基因定位于染色体 12q21.4,基因全长 47 kb,包括 8 个外显子,编码 218 个氨基酸。对 T-box 基因在心脏形态发生过程中研究最多的是 TBX5。作为一种转录因子, TBX5 主要通过其特有的 T-BOX 结构域与下游靶基因结合,调控正常的心脏发育。TBX5 基因参与心脏发育全过程的调控,其在时间和空间上的精确表达对于房室腔初始分化、心室和心脏间隔的正确形成是十分关键的。TBX5 基因过表达或表达剂量不足都将引起心脏畸形的发生^[19]。

3.2 GATA 家族 含有锌指结构的一组转录因子,是维持心血管发育的关键转录因子之一,包括 6 种亚型,其在进化过程中高度保守。其中 GATA-4、5、6 对大量心脏基因表达的直接调节非常重要。GATA4 是与心脏发育密切相关一种特定细胞核转录因子,在心脏前体细胞分化、心脏发育、心肌肥厚和抗凋亡以及基因突变引起的先心病等方面发挥着重要的调节作用^[20]。GATA4:定位于 8q23.1,编码 442 个氨基酸。在中胚层和内胚层起源的组织中广泛表达,能激活许多心脏特异的启动子,并且能与许多其他的转录因子如 TBX5、ISL1 和 Kruppel 样因子等相互作用^[21]。GATA4 基因完全缺失会导致心脏叉和胚胎死亡,GATA4 基因早期失活导致心肌发育不良和心内膜垫缺损,晚期 GATA4 基因失活导致心脏功能下降^[22]。

3.3 Homeobox 基因家族 NKX2.5 基因属于 Homeobox 基因家族,定位于 5q35.1,cDNA 全长 1.632 bp,2 个外显子,编码 324 个氨基酸。是心脏前体细胞分化的最早期标志之一,参与心脏发育的各个过程。它在心肌分化前即开始表达,正常表达对心房及心室发育、心脏环化、动脉干分隔、房室瓣形成及房室传导的维持均起重要作用^[23]。同时它又以转录因子的形式直接或间接地参与心脏发育密切相关的其他基因的表达调控。TBX5 基因突变会使 TBX5 转录因子表达异常或表达缺陷,引起心脏发育不良和上肢畸形,已被确认为 Holt-Oram 综合征(HOS)的致病基因。

4 宫内感染

妊娠期母体感染的微生物可以通过胎盘、羊水、产道等引起胎儿宫内感染,导致流产、早产、死胎、先天畸形、胎儿宫内生长迟缓和新生儿感染。这些微生物主要有弓形虫、风疹病毒、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒、水痘病毒、梅毒螺旋体等。吴春涛等^[24]通过 PCR 荧光定量方法检测心肌病原体基因,发现风疹

病毒感染是导致先心病的重要因素之一。

5 饮酒、吸烟

研究发现母亲每周饮酒大于 1 次,其后代发生心脏结构异常是不饮酒母亲后代的 1.9 倍;而母亲每周饮酒小于 1 次,其后代发生心脏结构异常是不饮酒母亲后代的 1.3 倍^[25]。妊娠期间母亲主动、被动吸烟可以增加先心病的发病危险。烟草烟雾中的尼古丁、一氧化碳及包括镉、铅在内的多种重金属是危害胎儿发育的不利因素,具有急慢性毒性及致突变、致畸作用^[26]。Malik 等^[27]研究发现妊娠期吸烟的母亲比非吸烟妊娠的母亲生育的婴儿患 ASD 和 VSD 的风险增大,且随着吸烟程度的增加而增加;生育的婴儿更易患右心室流出道梗阻,尤其是肺动脉瓣狭窄。

6 药 物

妊娠期间母亲服用抗惊厥药物、外源性雌激素和部分抗菌药物会使其胎儿先心病的发病率增加。阿司匹林可导致动脉干分离缺陷。四环素与主动脉缩窄相关。氨苄西林与大动脉转位相关。过量的视黄酸可导致右心室双出口、室间隔缺损、大动脉转位。

综上所述,先心病是遗传因素与环境因素相互作用的结果。随着全球环境的变化,也会有新的危险因素产生。先心病的病因需要多个学科不断的深入探讨,只有弄清病因才能深入探讨致病机制,提出有针对性的预防措施。

参考文献

- [1] 田杰,余仲苏.先天性心脏病发生的高危因素和预防[J].实用儿科临床杂志,2012,27(1):1-3.
- [2] 夏慧苏,余细勇. NKX2.5 基因的表现观遗传学改变与先天性心脏病的关系[J].实用医学杂志,2009,25(24):4257-4258.
- [3] Swaby JA, Silversides CK, Bekeschus SC, et al. Complex congenital heart disease in unaffected relatives of adults with 22q11.2 deletion syndrome[J]. Am J Cardiol, 2011, 107(3):466-471.
- [4] Ye M, Hamzeh R, Geddis A, et al. Deletion of JAM-C, a candidate gene for heart defects in Jacobsen syndrome, results in a normal cardiac phenotype in mice[J]. Am J Med Genet A, 2009, 149A(7):1438-1443.
- [5] 杨涛,孟岩,施惠平,等. Noonan 综合征的突变基因检测[C]. 第八次全国医学遗传学学术会议(中华医学会 2009 年医学遗传学年会)论文摘要汇编, 2009.
- [6] Ameen V, Robson LG. Experimental models of duchenne muscular dystrophy: relationship with cardiovascular disease[J]. Open Cardiovasc Med J, 2010, 4(4):265-277.
- [7] Ciocca M, Alvarez F. Alagille syndrome [J]. Arch Argent Pediatr, 2012, 110(6):509-515.
- [8] Suskind DL, Murray KF. Increasing the mutation rate for Jagged1 mutations in patients with Alagille syndrome[J]. Hepatology, 2007, 46(2):598-599.
- [9] Medaniell R, Warthen DM, Sanchez-Lara PA, et al. NOTCH2 mutations cause Alagille syndrome, a heterogeneous disorder of the notch signaling pathway[J]. Am J Hum Genet, 2006, 79(1):169-

173.

- [10] Varadkar P, Kraman M, Despres D, et al. Notch2 is required for the proliferation of cardiac neural crest-derived smooth muscle cells[J]. Dev Dyn, 2008, 237(4):1144-1152.
- [11] 周静怡,邱广蓉,孙开来. TBX1 基因的研究进展[J]. 国际遗传学杂志, 2009, 32(4):289-293.
- [12] Zeng B, Ren XF, Cao F, et al. Developmental patterns and characteristics of epicardial cell markers Tbx18 and Wt1 in murine embryonic heart[J]. J Biomed Sci, 2011, 18(1):67.
- [13] 刘彩霞,李仲智,李晓峰. T-box 转录因子 TBX20 与心脏发育及人类先天性心脏病的研究进展[J]. 国际儿科学杂志, 2009, 36(4):345-348.
- [14] Sakabe NJ, Aneas I, Shen T, et al. Dual transcriptional activator and repressor roles of TBX20 regulate adult cardiac structure and function[J]. Hum Mol Genet, 2012, 21(10):2194-2204.
- [15] Chakraborty S, Yutzey KE. Tbx20 regulation of cardiac cell proliferation and lineage specialization during embryonic and fetal development in vivo[J]. Dev Biol, 2012, 363(1):234-246.
- [16] Wolf M, Basson CT. The molecular genetics of congenital heart disease: a review of recent developments[J]. Curr Opin Cardiol, 2010, 25(3):192-197.
- [17] Singh R, Hoogaars WM, Barnett P, et al. Tbx2 and Tbx3 induce atrioventricular myocardial development and endocardial cushion formation[J]. Cell Mol Life Sci, 2012, 69(8):1377-1389.
- [18] Radio FC, Bernardini L, Loddo S, et al. TBX2 gene duplication associated with complex heart defect and skeletal malformations [J]. Am J Med Genet A, 2010, 152A(8):2061-2066.
- [19] 辛娜,邱广蓉,宫立国,等. 单纯性先天性心脏病中 TBX5 基因表达异常的机制[J]. 遗传, 2009, 31(4):374-380.
- [20] 陈名武,刘唐威,庞玉生. 转录因子 GATA-4 在心血管系统中作用的研究进展[J]. 中华心血管病杂志, 2008, 36(1):85-87.
- [21] Di Felice V, Zummo G. Tetralogy of fallot as a model to study cardiac progenitor cell migration and differentiation during heart development[J]. Trends Cardiovasc Med, 2009, 19(4):130-135.
- [22] Zeisberg EM, Ma Q, Juraszek AL, et al. Morphogenesis of the right ventricle requires myocardial expression of Gata4[J]. J Clin Invest, 2005, 115(6):1522-1531.
- [23] Jay PY, Harris BS, Maguire CT, et al. Nkx25 mutation causes anatomic hypoplasia of the cardiac conduction system[J]. J Clin Invest, 2004, 113(8):1130.
- [24] 吴春涛,陈立华,刘苏,等. 先天性心脏病与弓形虫、风疹病毒、巨细胞病毒及单纯疱疹病毒感染的关系[J]. 中国全科医学, 2009, 12(10):852-854.
- [25] 刘珍,朱军. 先天性心脏病的环境与遗传高危因素研究进展[J]. 实用妇产科杂志, 2011, 27(4):261.
- [26] 郭佳林,洪向丽,姚明珠. 新生儿先天性心脏病危险因素分析[J]. 中国新生儿科杂志, 2010, 25(2):76-79.
- [27] Malik S, Cleves M, Honein M, et al. Maternal smoking and congenital heart defects[J]. Pediatrics, 2008, 121(4):810-816.

(收稿日期:2012-12-28)