

· 综 述 ·

线粒体 DNA 与心肌病的关系

朱 业, 顾 翔

(江苏省苏北人民医院心血管内科, 扬州 225001)

【摘 要】人类线粒体 DNA (mtDNA) 是细胞内唯一存在于细胞核外的遗传物质, 参与了转录、编码 2 个 rRNA, 22 个 tRNA 及线粒体呼吸链中的 13 种蛋白多肽亚单位。人类某些疾病与线粒体 DNA 缺陷有关。心肌病是一类原因不明的伴随心脏功能障碍的心肌疾病。研究显示, 线粒体产生的大量活性氧可导致 mtDNA 缺失或突变, tRNA 基因保守序列突变影响肌肉收缩蛋白合成, 造成氧化磷酸化缺陷, 影响能量代谢。因此, 线粒体的功能缺陷可能在心肌病的发生发展中起一定的作用。本文探讨了 mtDNA 突变与心肌病的关系, 对 mtDNA 的深入研究将为临床寻找病因以及预防、诊断、治疗心肌病提供新思路。

【关键词】线粒体 DNA; 心肌病; 突变

【中图分类号】 542.2

【文献标识码】 A

【DOI】 10.3724/SP.J.1264.2012.00122

Mitochondrial DNA and cardiomyopathy

ZHU Ye, GU Xiang

(Department of Cardiology, Northern Jiangsu People's Hospital of Jiangsu Province, Yangzhou 225001, China)

【Abstract】 Mitochondria are the cellular organelles which consists of 37 intronless genes that encode 13 subunits of the electron-transfer chain, 2 ribosomal RNAs (rRNA), and 22 transfer RNAs (tRNA). Mutations in mitochondrial DNA (mtDNA) may cause multiple human diseases. Recent researches have shown that reactive oxygen species caused by mitochondria can lead to mtDNA deletion or mutation, mutations of tRNA gene of conserved sequences resulting in defective contractile proteins and oxidative phosphorylation impairment that may increase the myocardial metabolic demands for ATP. Thus, these mitochondrial dysfunctions may contribute to the development of cardiomyopathy. This review summarized the association between mtDNA mutations and cardiomyopathy. These findings provide new insights into the molecular mechanism, management and treatment of cardiomyopathy.

【Key words】 mitochondrial DNA; cardiomyopathy; mutation

线粒体是细胞的能量工厂, 为机体提供 90% 以上的能量。线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 是人体除核基因 (nuclear DNA, nDNA) 之外唯一存在于细胞内的遗传物质。1988 年, Holt 等^[1]首次发现线粒体疾病与 mtDNA 的缺失存在关联; Wallace 等^[2]发现, Leber 视神经萎缩患者的细胞中存在 mtDNA 的突变。20 余年来随着分子生物学和遗传学技术的发展, 已经发现超过 250 种疾病与 mtDNA 突变相关。线粒体疾病时线粒体发生功能障碍, 能量依赖性组织器官如中枢神经系统、肌肉包括心脏最易受累, 心脏受累主要表现是心肌病变。心肌病是指以心肌功能障碍为主的心肌疾病, 迄今其病因和发病机制尚未完全阐明, 遗传可能是其重要病因。研究显示, 线粒体产生的大量活性氧 (reactive oxygen

species, ROS) 可导致 mtDNA 缺失或突变, tRNA 基因保守序列突变影响肌肉收缩蛋白合成, 造成氧化磷酸化 (oxidative phosphorylation, OXPHOS) 缺陷, 影响能量代谢^[3]。因此, 线粒体的功能缺陷可能在心肌病的发生发展中起一定的作用。本文就 mtDNA 与心肌病关系的研究进行综述。

1 mtDNA 的特点

1.1 mtDNA 的基本结构及功能

mtDNA 为一闭合的双链超螺旋闭环状分子, 分编码区和非编码区。mtDNA 是独立于细胞核染色体的基因组, 具有自我复制、转录和编码功能, 拥有自己的一套遗传控制系统。mtDNA 在 OXPHOS 组装过程中起电子传递的作用, 与能量代谢密切相

关。OXPHOS由5种酶复合物组成,编码区含有37个基因,其中13个与复合物相关的多肽链亚单位,2个rRNA基因,22个tRNA基因。非编码区也叫控制区,包括一个复制起点,两个转录起点和置换环(D环区)。正常的线粒体功能依赖于mtDNA和nDNA协同作用的结果,参与机体调节和发病^[4]。

1.2 mtDNA的高突变率和高利用率

线粒体内膜的脂质含量高,亲脂性诱导突变的化合物易在mtDNA附近积聚。mtDNA缺乏组蛋白保护和完善的DNA切除修复机制,容易受到活性氧等自由基的损害,故比nDNA更易发生突变或缺失。据报道,mtDNA编码基因的有害突变频率比nDNA高出10~20倍^[5]。基因损伤是导致OXPHOS中基因突变的主要部位。新生突变的mtDNA会随年龄的增加而在体细胞内逐渐积累,进而影响细胞功能。

1.3 mtDNA的母系遗传与瓶颈效应

Giles等^[6]和Li等^[7]分别通过对欧洲和亚洲家系mtDNA疾病进行单核苷酸多态性分析,发现mtDNA按照母系遗传方式进行传递。受精过程中仅精子的细胞核与卵结合成受精卵,受精卵内的线粒体均通过卵细胞获得,来源于精子的mtDNA几乎对表型不起作用。受精卵母细胞通过精子传输唯一的核DNA,任何父系的mtDNA穿透卵母细胞时其活动性减弱,即母系mtDNA的遗传瓶颈效应^[8]。推测原因可能是由于卵细胞经历多次分裂,最终分配到每个卵子的mtDNA的有效数量减少所致。

1.4 mtDNA的异质性与阈值效应

当一个细胞内的mtDNA发生突变时,会同时存在野生型和突变型两种类型的mtDNA,称为异质性。突变的mtDNA是否导致疾病与突变所占比例、以及不同组织细胞对线粒体产生的ATP的依赖性有关系。mtDNA突变的比例需达到某种程度才足以引起组织或器官的功能异常而出现临床症状,称为阈值效应^[9]。组织器官对线粒体产生的ATP的依赖程度决定了阈值的高低。高度依赖OXPHOS进行代谢的组织器官(如脑、心脏等),其突变mtDNA的致病阈值低于依靠无氧酵解维持代谢的组织器官。

2 mtDNA与心肌病

迄今已发现越来越多的mtDNA突变与心肌病发病有关,说明心肌病是一种遗传异质性疾病^[10]。

2.1 mtDNA与肥厚型心肌病

肥厚型心肌病(hypertrophic cardiomyopathy,

HCM)是以左心室和(或)右心室及室间隔非对称性肥厚为特征性疾病。其临床表现多样,从无症状到轻度胸闷、心悸再到恶性心律失常、心力衰竭、甚至猝死等等。HCM是儿童及青年人猝死最常见原因之一,普遍认为HCM的病因与遗传因素有关。

20%伴乳酸酸中毒及卒中样发作的线粒体脑肌病患者有心肌病,且大多数是HCM。此类心肌病遵循母系遗传的规律,发病机制还未完全阐明。目前认为,能量代谢异常在心肌细胞肥大、衰竭的发展中起重要作用,线粒体基因结构异常是导致能量代谢障碍的重要分子生物学基础^[11]。mtDNA点突变主要发生在tRNA基因位点上。tRNA仅占整个mtDNA的约9%,但已证实,与疾病有关的mtDNA突变75%发生在tRNA区域。Obayashi等^[12]对7例非常染色体显性遗传的HCM患者心肌mtDNA进行全序列分析,其中即有5个存在tRNA基因上的点突变,且存在导致保守氨基酸序列的置换。通过对HCM患者的家系研究,发现mtDNA编码的tRNA^{leu}基因np3243A→G的突变会引起母系遗传性线粒体肥厚型心肌病,该点位于反密码子环柄上,多呈异质性状态,突变mtDNA所占的比例与线粒体呼吸链中OXPHOS复合体缺陷的严重程度成正比。最近报道了1例表现为HCM和听觉丧失的女性新生儿mtDNA np3395A→G和np4316A→G突变,这两个位点突变可能共同作用导致患儿的心功能减退^[13]。tRNA基因突变尤其是进化过程中保守序列突变将影响tRNA分子结构及功能,导致含有相应氨基酸的蛋白质合成受影响,缺陷的肌肉收缩蛋白持续而无效的收缩可能会增加心肌对ATP的代谢需求。在能量供应不足的情况下,心肌组织会发生退行性改变及代偿性肥厚增生等病理变化,从而导致心肌肥厚,引起心功能不全^[14]。mtDNA突变也受种族和地域的影响。最近有研究表明,G7697A和T12477C突变与中国汉族人群的家族性HCM有关^[15]。原因可能是HCM易感基因存在民族差异,另一方面,也可能与各民族居住区域及生活习惯不尽相同有关。

2.2 mtDNA与扩张型心肌病

扩张型心肌病(dilated cardiomyopathy, DCM)是一种以左心室和(或)右心室扩张、心肌收缩功能减退为主要特征的病因学不明的心肌疾病。广泛认为DCM是一种多病因的疾病,约20%~35%的扩张型心肌病与遗传因素有关^[16]。

线粒体为心肌活动提供能量,mtDNA突变使得其OXPHOS障碍。而心脏高度依赖心肌线粒体

OXPHOS 所提供的能量, 故心肌 mtDNA 突变易导致心肌收缩功能障碍。当缺失突变的 mtDNA 累计达到一定程度, ATP 的生成低于细胞能量代谢所需的最低阈值时, 即可出现“能量饥饿”, 导致心脏扩大和心功能不全的发生; 而后者则可加重心肌能量代谢障碍, 从而形成恶性循环, 最终发展为不可逆性心肌损伤。早在 1991 年, Corral-Debrinski 等^[17]报道 mtDNA 4977 缺失与 DCM 患者猝死的发生可能有一定关系。第 8470~13 477 位的 5kb 片段和第 8639~1 6037 位 7.4 kb 片段缺失与心肌病、尤其与散发的扩张型心肌病关系最为密切。很多心肌病患者的 mtDNA 致病性突变位于 mtDNA 的 tRNA 基因上, 这些突变会影响线粒体蛋白质合成以及相关的呼吸酶功能^[18]。据国外文献报道, 白种欧洲人 DCM 患者的易感基因位于非编码区的 D 环区, 与对照组相比, 约 17.2% 的 DCM 患者可检测出 T16189C 突变^[19]。年龄小的患者易发生肥厚型心肌病, 成人易发生扩张型心肌病, 而且随年龄增长肥厚型心肌病可转为扩张型心肌病^[20]。扩张型心肌病晚期发病是由于这些患者的突变和野生型 mtDNA 以不同速率复制, 从而导致非分裂组织(如心肌)中易质性水平逐渐增高出现症状。临床上患者可突然发生心力衰竭、肺水肿、严重心律失常等, 也可缓慢出现临床症状。

2.3 mtDNA 与缺血性心肌病

缺血性心肌病 (ischemic cardiomyopathy, ICM) 广义是指由于心肌缺血引起的以弥漫性纤维化为主的心肌病变。该病是由于心肌长期缺血引起的, 多为多支病变, 故其发病与冠心病有着密切联系, 属于继发性心肌病。

mtDNA 突变究竟是缺血性心肌病的病因, 还是缺血所导致的结果, 目前尚无定论。大多数研究认为, 心肌缺血缺氧导致 OXPHOS 过程紊乱, 产生氧自由基损伤 mtDNA, 以及由于缺氧导致 OXPHOS 过程过度诱导而损伤 mtDNA, 慢性损伤积累导致 mtDNA 片段缺失或点突变, 最终造成心肌细胞氧化功能障碍^[21]。Wallace 等^[22]研究表明, 伴随年龄增加, OXPHOS 系统呈现衰减趋势。老年人 OXPHOS 系统受到慢性抑制易患 ICM, 易发生 5.0 kb 缺失。Takeda 等^[23]发现心肌缺血缺氧产生自由基损伤 mtDNA, 并从急性心肌梗死患者中检出 7.4 kb 的缺失。机体缺血缺氧严重时, 可引起心肌线粒体内膜流动性下降、NADH-CoQ 还原酶和 ATP 酶活性下降, 酶损伤或底物缺乏时均可引起线粒体 OXPHOS 功能损伤, 从而导致细胞内能量代谢障碍。有报道

发现, 慢性心肌缺血患者心肌中存在 cytb 基因上 C15452A 突变, 且在心肌组织中突变比例明显高于外周血^[24]。Cytb 活性的缺失, 导致 OXPHOS 复合物 III 活性明显下降, 其活性的改变导致线粒体呼吸链的电子传递受阻, 并直接将电子泄漏于线粒体基质内, 使超氧阴离子产生增多, 线粒体内的氧化应激水平提高, 导致 mtDNA 损伤。mtDNA 损伤常发生于暴露 ROS 产物的细胞, 缺血性心肌病就是氧自由基产物增加的典型例子。

2.4 mtDNA 与糖尿病心肌病

糖尿病心肌病 (diabetic cardiomyopathy, DC) 是指糖尿病患者在无明显冠状动脉粥样硬化及高血压时发生的独立、特异的心肌疾病。线粒体基因结构异常、能量代谢障碍是糖尿病心肌细胞肥大、衰竭的重要分子生物学基础。

糖尿病心肌病变时, 纤维肌膜成分改变, 其胆固醇含量升高, 磷脂中的溶血磷脂酰胆碱明显升高, 促使更多的 Ca^{2+} 进入心肌内, 造成 Ca^{2+} 超负荷, 而导致线粒体膜去极化, 使膜电位降低或丧失^[25]。Kiritoshi 等^[26]在 30 mmol/L 葡萄糖浓度条件下培养人肾小球系膜细胞, 发现细胞内 ROS 生成增多, 说明高糖条件下线粒体可产生 ROS。而心肌细胞内 Ca^{2+} 的降低, 有利于线粒体将堆积的 Ca^{2+} 排出, 减少 ATP 的分解, 降低了 ROS 在细胞内堆积, 表明 Ca^{2+} 超负荷亦可促进线粒体 ROS 的产生。线粒体膜富含多不饱和脂肪酸, 易受自由基的攻击。糖尿病时, 细胞内 Ca^{2+} 超负荷、线粒体 ROS 产生增多, 产生氧自由基损伤 mtDNA, 慢性损伤积累易导致 mtDNA 缺失或突变, 影响心肌能量代谢, 从而参与糖尿病心肌病的发生、发展。

3 前景及展望

综上所述, mtDNA 在心肌病发生发展中起着重要作用。从基因水平出发不仅能寻找心肌病病因及发病机制, 而且对心肌病的早期诊断、判断患者的预后以及提前给予预防性治疗措施, 延缓疾病进程等都具有重要意义。然而这些 mtDNA 突变相关的致病机制有待进一步研究加以揭示。随着 mtDNA 与心肌病的关系研究的不断深入, 将来有关 mtDNA 及其相关领域的研究有望为心肌病的治疗提供新的途径。

【参考文献】

- [1] Holt I, Harding AE, Morgan-Hughes JA. Deletion of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial

- myopathies [J]. *Nature*, 1988, 331(6158): 717-719.
- [2] Wallace DC, Singh G, Lott MT, *et al.* Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy[J]. *Science*, 1988, 242(4884): 1427-1430.
- [3] Davidson MM, Walker WF, Hernandez-Rosa E, *et al.* Evidence for nuclear modifier gene in mitochondrial cardiomyopathy[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2009, 46(6): 936-942.
- [4] de Souza-Pinto NC, Mason PA, Hashiguchi K, *et al.* Novel DNA mismatch-repair activity involving YB-1 in human mitochondria [J]. *DNA Repair*, 2009, 8(6): 704-719.
- [5] Cameron JM, Levandovskiy V, MacKay N, *et al.* Complex V TMEM70 deficiency results in mitochondrial nucleoid disorganization[J]. *Mitochondrion*, 2011, 11(1): 191-199.
- [6] Giles RE, Blanc H, Cann HM, *et al.* Maternal inheritance of human mitochondrial DNA[J]. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.*, 1980, 77(11): 6715-6719.
- [7] Li ZB, Liu YQ, Yang L, *et al.* Maternally inherited hypertension is associated with the mitochondrial tRNA(Ile) A4295G mutation in a Chinese family[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 367(4): 906-911.
- [8] Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S. Oxidative stress and mitochondrial DNA damage in heart failure[J]. *Circ J*, 2008, 72(Suppl A) :A 31-7.
- [9] Zaragoza MV, Brandon MC, Diegoli M, *et al.* Mitochondrial cardiomyopathies: how to identify candidate pathogenic mutations by mitochondrial DNA sequencing, MITOMASTER and phylogeny[J]. *Eur J Hum Genet*, 2011, 19(2): 200-207.
- [10] Karamanlidis G, Nascimben L, Couper GS, *et al.* Defective DNA replication impairs mitochondrial biogenesis in human failing hearts[J]. *Circ Res*, 2010, 106(9):1541-1548.
- [11] Tuppen HA, Blakely EL, Turnbull DM, *et al.* Mitochondrial DNA mutations and human disease[J]. *Biochem Biophys Acta*, 2010, 1797(2): 113-128.
- [12] Obayashi T, Hattori K, Sugiyama S, *et al.* Point mutations in mitochondrial DNA in patients with hypertrophic cardiomyopathy[J]. *Am Heart J*, 1992, 124(5): 1263-1269.
- [13] Chamkha I, Mkaouar-Rebai E, Aloulou H, *et al.* A novel m.3395A > G missense mutation in the mitochondrial ND1 gene associated with the new tRNAIle m.4316A > G mutation in a patient with hypertrophic cardiomyopathy and profound hearing loss[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 404(1): 504-510.
- [14] Hsu PC, Chu CS, Lin TH, *et al.* Adult-onset hypertrophic cardiomyopathy manifested as initial major presentation of mitochondrial disease with A-to-G 3243 tRNA Leu(UUR) point mutation[J]. *Int J Cardiol*, 2008, 129(3): 441-443.
- [15] Wei YL, Yu CA, Yang P, *et al.* Novel mitochondrial DNA mutations associated with Chinese familial hypertrophic cardiomyopathy[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2009, 36(9): 933-939.
- [16] Hershberger RE, Ana Morales A, Siegfried JD. Clinical and genetic issues in dilated cardiomyopathy: a review for genetics professionals[J]. *Genet Med*, 2010, 12(11): 655-667.
- [17] Corral-Debrinski M, Stepien G, Shoffner JM, *et al.* Hypoxemia is associated with mitochondrial DNA damage and gene induction[J]. *JAMA*, 1991, 266(13): 1812-1816.
- [18] Go'mez-Carballea A, Cerezo M, Balboa E, *et al.* Evolutionary analyses of entire genomes do not support the association of mtDNA mutations with Ras/MAPK pathway syndromes[J]. *PLoS ONE*, 2011, 6(4): e18348.
- [19] Khogali SS, Mayosi BM, Beattie JM, *et al.* A common mitochondrial DNA variant associated with susceptibility to dilated cardiomyopathy in two different populations[J]. *Lancet*, 2001, 357(9264) : 1265-1267.
- [20] Schaefer AM, McFarland R, Blakely EL, *et al.* Prevalence of mitochondrial DNA disease in adults[J]. *Ann Neurol*, 2008, 63(1): 35-39.
- [21] Sebastiani M, Giordano C, Nediani C, *et al.* Induction of mitochondrial biogenesis is a maladaptive mechanism in mitochondrial cardiomyopathies[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2007, 50(14): 1362-1369.
- [22] Wallace DC. Mitochondrial genetics: a paradigm for aging and degenerative diseases[J]. *Science*, 1992, 256(5057): 628-632.
- [23] Takeda N, Ota Y, Tanaka Y, *et al.* Myocardial adaptive changes and damage in ischemic heart disease[J]. *Ann NY Acad Sci*, 1996, 793: 282-288.
- [24] Marin-Garcia J, Hu YP, Ananthakrishnan R, *et al.* A point mutation in the cytb gene of cardiac mtDNA associated with complex III deficiency in ischemic cardiomyopathy[J]. *Biochem Mol Biol Int*, 1996, 40(3): 487-495.
- [25] Boudina S, Abel ED. Diabetic cardiomyopathy revisited[J]. *Circulation*, 2007, 115(25): 3213-3223.
- [26] Kiritoshi S, Nishikawa T, Sonoda K. Reactive oxygen species from mitochondria induce cyclooxygenase-2 gene expression in human mesangial cells: potential role in diabetic nephropathy[J]. *Diabetes*, 2003, 52(10): 2570-2577.

(编辑: 王雪萍)