

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.002087

微管相关新发突变基因 *MTUS1* 在心肌致密化过程中的作用机制

白雪寒, 周元琳, 欧阳娜, 刘玲娟, 吕铁伟, 田 杰

(重庆医科大学附属儿童医院心脏内科、儿童发育疾病研究教育部重点实验室、儿童发育重大疾病国家国际科技合作基地、儿科学重庆市重点实验室, 重庆 400014)

【摘要】目的:探讨新发突变基因微管相关肿瘤抑制因子 1(microtubule-associated tumor suppressor 1, MTUS1)在心肌致密化过程中的作用机制。**方法:**构建过表达慢病毒突变组 MTUS1、野生组 MTUS1 及空载组(分别记为突变组、野生组及空载组) CP15-5a 细胞模型, Real-time PCR 检测各组 MTUS1 及小 GTPase RhoA(ras homolog family member A, RhoA)的 mRNA 表达水平, Western blot 检测各组 RhoA 蛋白表达水平, 细胞免疫荧光检测各组 α -tubulin 荧光表达强度, 并对各组细胞进行细胞划痕实验, 检测各组细胞迁移情况。**结果:**成功构建过表达慢病毒突变组、野生组及空载组细胞模型。细胞免疫荧光结果显示, 与野生组相比, 突变组细胞 α -tubulin 荧光强度表达下降($P=0.006$)。Real-time PCR 及 Western blot 结果显示, 与野生组相比, 突变组 RhoA 的 mRNA 及蛋白表达水平明显增高($P=0.005$, $P=0.01$)。划痕实验结果显示, 与野生组相比, 突变组细胞在划痕后 6 h、12 h 的迁移速率加快(均 $P=0.000$)。**结论:**MTUS1 新发突变是保护性突变, 通过降低 CP15-5a 细胞微管稳定性, 并调节 RhoA 表达增强细胞迁移, 从而减低心肌致密化不全的发生率。

【关键词】微管相关肿瘤抑制因子 1; 突变; 微管; RhoA; 细胞迁移**【中图分类号】**R329.2*8; R-331**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2019-03-10

Mechanism of de novo mutation in the *MTUS1* gene involved in compaction of ventricular myocardium

Bai Xuehan, Zhou Yuanlin, Oyang Na, Liu Lingjuan, Lü Tiewei, Tian Jie

(Department of Cardiology, Children's Hospital of Chongqing Medical University; Children's Development and Disorders Key Laboratory of Ministry of Education; International and National Science and Technology Cooperation Base of Children Development and Critical Disorders; Chongqing Key Laboratory of Pediatrics)

【Abstract】Objective: To investigate the mechanism of de novo mutation in the microtubule-associated tumor suppressor 1 (MTUS1) gene in the compaction of ventricular myocardium. **Methods:** Lentiviral vectors containing mutant *MTUS1* gene or wild *MTUS1* gene or empty vectors were co-infected into CP15-5a cells (mutation group, wild group, and vector group, respectively). The mRNA expression of *MTUS1* and small GTPase-ras homolog family member A (RhoA) was measured by real-time PCR. The protein expression of RhoA was measured by Western blot. The fluorescence intensity of α -tubulin was determined by immunofluorescence assay. Cell migration activity was evaluated by wound-healing assay. **Results:** Lentiviral vectors containing mutant *MTUS1* or wild *MTUS1* or empty vectors were successfully co-infected into CP15-5a cells, which was confirmed by fluorescence staining and real-time PCR. Immunofluorescence assay results showed that the mutation group had a lower fluorescence intensity of α -tubulin than the wild group ($P=0.006$, $P<0.01$). Real-time PCR and Western blot results showed that the mutation group had significantly higher mRNA and protein expression of RhoA compared with the wild group ($P=0.005$, $P=0.01$). Wound-healing assay showed that the mutation group had significantly higher migration rates at 6 and 12 hours after scratch compared with the wild group ($P=0.000$, $P=0.000$). **Conclusion:** A de novo mutation in the *MTUS1* gene is a protective mutation for decreasing the incidence of noncompaction of ventricular myocardium

作者介绍: 白雪寒, Email: 1016287150@qq.com,

研究方向: 儿童先天性心脏疾病的研究。

通信作者: 田 杰, Email: jietian@cqmu.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金面上资助项目(编号: 81570218)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20190420.1411.002.html>

(2019-04-22)

via reducing the stability of microtubules in CP15-5a cells and increasing cell migration activity by regulating the expression of RhoA.

【Key words】microtubule-associated tumor suppressor 1; mutation; microtubule; RhoA; cell migration

心肌致密化不全(noncompaction of ventricular myocardium, NVM)是一种临床上较为罕见的先天性心肌病,目前认为是发育期心肌细胞致密化过程受阻或停滞,导致心肌发生海绵样改变。该病预后较差,具有明显的家族遗传倾向,发病机制尚不明确^[1]。近年来文献报道,心肌致密化不全的发生与 *TNNT2*、*MYH7*、*ACTC*、*DTNA*、*LDB3*、*ZASP* 等基因突变密切相关,这些均为细胞骨架相关基因^[2-4],存在这些基因突变的胚胎在心脏早期发育过程中会出现轻重不一的左室心肌致密化停滞。有研究发现,在心脏早期发育过程中,心肌细胞迁移异常可引起左室心肌致密化过程异常^[5],而细胞迁移又受到细胞骨架稳定性影响^[6]。课题组前期基于一个罕见的NVM小家系进行全外显子测序(whole exome sequencing, WES),通过生物信息学分析及预测,并用 Sanger 测序验证,共筛选出 32 个新发点突变(数据未发表)。其中,新发错义突变 *MTUS1* c2617A→C(rs187103704)作为一个微管相关基因,与细胞骨架密切相关^[7]。该突变位点碱基保守性好,突变位于重要的功能结构域,并且突变后编码的氨基酸极性发生改变,因此我们推测该突变基因可能影响细胞骨架结构稳定,从而对心肌致密化过程产生一定影响。为验证这一猜想,本研究通过构建过表达突变基因载体于心肌祖细胞(CP15-5a 细胞),观察细胞微管稳定性及细胞迁移情况,并探讨可能参与的机制,为临床上预防及治疗心肌致密化不全提供一定的基础依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验样本 收录一位罕见 NVM 病人,先证者及姐姐均在重庆医科大学附属儿童医院确诊为 NVM。分别采集先证者、先证者姐姐、先证者母亲及姑姑血样进行 WES 测序,并进行 Sanger 测序验证。本研究得到作者所在单位人体试验伦理委员会的审查批准[批件号:[2015]年伦审(研)第[24]号],并取得病人及监护人的知情同意。

1.1.2 CP15-5a 细胞系及分组 CP15-5a 细胞用含 10%胎牛血清及 100 mg/mL 青霉素/链霉素的 DMEM/F-12 培养基培养,置于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养、传代。将同一批复苏的 CP15-5a 传代后随机分为 4 组:突变组、野生组、空载组及空白组。

1.1.3 主要试剂 CP15-5a 细胞系(重庆医科大学附属儿童医院儿童心血管研究室保存),DMEM/F-12 培养基和胎牛血清(Hyclone, 美国),青霉素/链霉素(重庆医科大学附属儿童

医院中心供应室提供),磁珠法血液 DNA 抽提试剂盒(生工生物工程公司),TRIzol Reagent kit(Ambion),胰蛋白酶(Solarbio, 中国),逆转录试剂盒(Takara, 日本),SYBR Green 试剂盒(KAPA, 美国),蛋白酶抑制剂(Roche, 瑞士),磷酸酶抑制剂(Roche, 瑞士),全蛋白提取试剂盒(凯基生物, 中国),考马斯亮蓝染料(凯基生物, 中国),SDS 蛋白上样缓冲液(凯基生物, 中国),SDS-PAGE 配胶试剂盒(碧云天, 中国),抗 α -tubulin 抗体(Stanza, 美国),抗 RhoA 抗体(Cell signaling, 美国),GAPDH 抗体(中杉金桥, 中国),显影剂(Millipore, 美国),Cy3 标记山羊抗小鼠 IgG 抗体(塞维生物, 武汉),DAPI 染液(Roche, 瑞士),慢病毒包装及构建(吉凯基因, 上海)。

1.2 方法

1.2.1 全外显子测序及 Sanger 测序筛选突变位点 采用磁珠法抽提血液样本中的 DNA,进行全外显子测序,并对测序结果进行生物信息学分析,筛选出 32 个新发点突变,以上工作在北京德易东方转化医学中心完成。参考 GenBank、人类基因突变(HGMD)、UCSC 基因组(UCSC Genome Browser)、千人基因组计划(1000 Genome Project)等数据库,进行点突变位点功能预测,并对突变位点进行 Sanger 测序验证,并用 Chromas 软件进行序列比对分析。

1.2.2 慢病毒转染 将 4 组 CP15-5a 细胞培养至融合度为 15%~30%时,使用感染复数为 30~40 的病毒滴度转染细胞。采用半体积培养基法转染,分别在 CP15-5a 细胞中加入突变组 MTUS1 慢病毒、野生组 MTUS1 慢病毒及空载病毒,均带有绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP),培养 12 h 后更换常规培养基继续培养。于培养 48 h 后在荧光倒置显微镜下观察 GFP 表达,以明确病毒转染效率。

1.2.3 qRT-PCR 采用对数生长期的 CP15-5a 细胞,0.25%胰蛋白酶消化,用完全培养基重悬后,以 5×10^4 个/mL 铺于 6 孔板,每孔 2 mL,每组 3 个复孔。待细胞培养至融合度为 80%~100%,使用 TRIzol 法提取细胞 RNA 后测定浓度,以 1000 ng 的 RNA 逆转录为 cDNA。MTUS1 引物序列:上游 5'-GAGCTGAGCACTTACAGCAACAA-3',下游:5'-TTCAA-CTGCATTAAGAGCTGTAA-3';RhoA 引物序列:上游:5'-GCTACCAGTATTTAGAAGCCAACCAC-3',下游:5'-GCTGTT-AGAGCAGTGTGAGAAGGAC-3'内参基因 GAPDH 引物序列:上游:5'-GGGTGGAGCCAAACGGGTC-3',下游:5'-GGAG-TTGCTGTTGAAGTCGCA-3'。Real-time PCR 反应条件:95 °C 预变性 2 min,95 °C 反应 10 s,60 °C 反应 1 min,共 40 个循环。

1.2.4 Western blot 各组细胞采用裂解缓冲液加蛋白酶抑制剂及磷酸酶抑制剂的混合缓冲液提取总蛋白,使用考马斯亮蓝法测定蛋白浓度,蛋白上样量为 150 μ g,12% SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白,转至 0.22 μ m PVDF 膜上后,5% BSA 封闭 1.5 h,抗 RhoA 抗体(1:1 000)和 GAPDH 抗体(1:1 000)4 °C 孵育过夜,TBST 洗膜 3 次,每次 10 min,二抗(1:8 000)室温孵育 1.5 h,TBST 洗膜 3 次后显影,使用 Bio-Rad 图像分析仪进行图像扫描,采用 Quantity one 软件分析条带灰度值。

1.2.5 细胞免疫荧光 将 4 组细胞分别消化重悬后,以 1×10^4 个/mL 接种于铺好多聚赖氨酸爬片的 24 孔板,每组设置 3 个复孔。待细胞融合至 50 %~60 %时,采用 4 %多聚甲醛固定 15 min,PBS 洗 3 遍,每遍 3 min,0.5% Triton X-100 通透后山羊血清室温封闭,滴加抗 α -tubulin 抗体(1:50),4 °C 湿盒过夜孵育。复温后 PBS 洗 3 遍,荧光二抗(1:250)避光室温孵育 1.5 h,避光 PBS 洗 3 遍。DAPI 室温孵育 15 min,滴加抗荧光淬灭剂封片后于激光共聚焦显微镜下观察、拍照。采用 Image J 软件将目的蛋白荧光强度量化成数值。

1.2.6 细胞划痕实验 在 6 孔板背后,以 0.5~1.0 cm 宽度均匀画 5 条横线做定位。4 组细胞消化重悬后,以 2×10^5 个/mL 接种于准备好的 6 孔板中,每组 3 个复孔。过夜后融合约为 100%,用 10 μ L 枪头垂直于横线划痕,保证每条划痕宽度一致,PBS 清洗 3 次,去除脱落细胞,改为含 2 %胎牛血清的 DMEM/F-12 培养基,倒置显微镜下于 0、6、12、18 h 拍照。使用 Image J 软件计算划痕面积愈合率,采用划痕愈合百分比记录,计算方法为:划痕愈合百分比=(原始划痕面积-某时间点划痕面积)/原始划痕面积 $\times$ 100 %。

1.3 统计分析

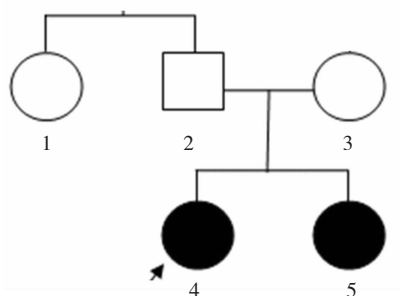
每组实验至少重复 3 次,采用 SPSS 22.0 统计软件进行统计学分析,数据结果采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间均数比较采用单因素方差分析,方差齐采用 LSD-*t* 检验,方差不齐采用 Tamhane's T2 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 家系及测序结果

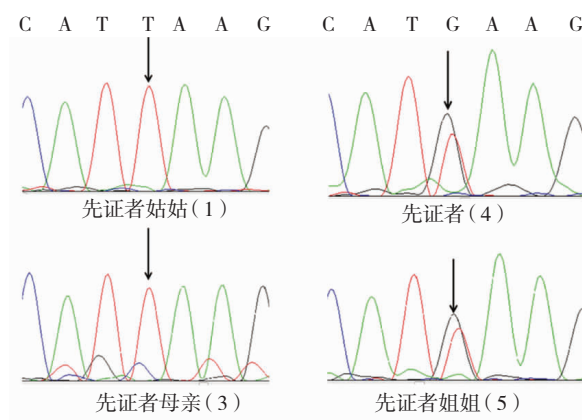
NVM 家系情况如图 1 所示,先证者及姐姐具有 NVM 表型,父母及姑姑临床表型正常。通过对全外显子测序筛选出来的 32 个突变位点进行功能预测,发现杂合错义突变 *MTUS1* c.2617A→C(rs187103704) 作为 1 个细胞骨架相关基因,位点保守性好,先证者及姐姐均出现突变,母亲及姑姑该基因正常,即突变与临床表型一致,推测该突变可能影响

心肌致密化过程。对该位点进行 Sanger 测序验证,与二代测序结果一致。先证者姐妹、姑姑及母亲的 Sanger 测序图如图 2 所示。



1:先证者姑姑;2:先证者父亲;3:先证者母亲;4:先证者;5:先证者姐姐

图 1 NVM 家系



(1)、(3)、(4)、(5)分别对应着家系图谱

图 2 Sanger 测序图

2.2 过表达慢病毒载体构建成功验证

4 组 CP15-5a 细胞转染病毒后 48 h 于荧光倒置显微镜下观察 GFP 表达情况,可见突变组、野生组及空载组转染效率可达 90 %以上,如图 3 所示。

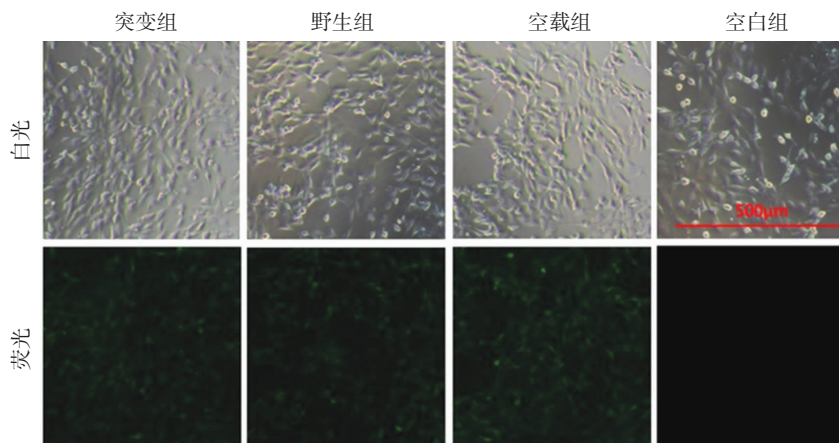


图 3 构建过表达慢病毒突变组、野生组及空载组 CP15-5a 细胞模型(40 $\times$)

通过 Real-time PCR 检测 *MTUS1* 基因 mRNA 水平,可见突变组及野生组 *MTUS1* 基因 mRNA 水平明显增高($P=0.009$),而空载组及空白组表达量低。各组间 *MTUS1* mRNA 表达水平相对值见表 1。

表 1 各组间 *MTUS1* mRNA 表达水平相对值

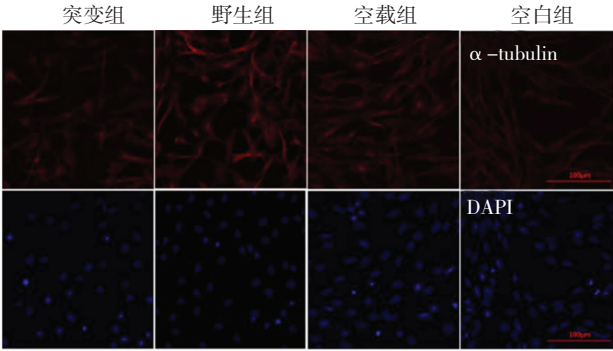
组别	mRNA 水平
突变组	10.727 ± 0.923^a
野生组	11.372 ± 1.532^b
空载组	0.298 ± 0.022
空白组	0.366 ± 0.039
<i>F</i> 值	140.557
<i>P</i> 值	0.009

注:a,与空载组相比, $P=0.009$;b:与空载组相比, $P=0.009$

以上数据结果证明 CP15-5a 过表达慢病毒载体构建成功。

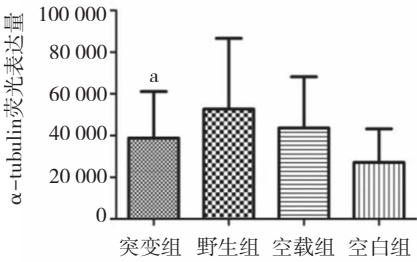
2.3 过表达突变组 *MTUS1* 后对 CP15-5a 细胞细胞骨架的影响

为了进一步验证突变基因 *MTUS1* 对细胞微管稳定性的影响,采用免疫荧光法检测各组 CP15-5a 细胞 α -tubulin 的荧光强度情况。激光共聚焦结果显示,突变组 α -tubulin 荧光强度低于野生组 α -tubulin 荧光强度,差异具有统计学意义($P=0.006$,如图 4 所示)。各组间 α -tubulin 荧光强度统计数值见表 2。



注:红色荧光为 α -tubulin 染色,蓝色荧光为 DAPI 染色

A. 各处理组 α -tubulin 荧光表达情况检测



a:与野生组相比, $P<0.01$

B. 各处理组 α -tubulin 荧光表达量统计条形图

图 4 细胞免疫荧光检测突变组、野生组及空载组 α -tubulin 表达情况

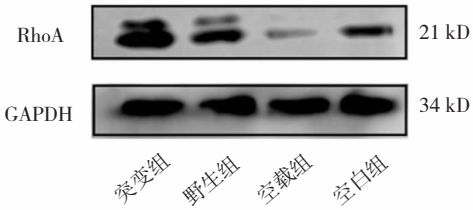
表 2 各组间 α -tubulin 荧光强度表达数值

组别	荧光强度统计数值
突变组	$37\,670.318 \pm 21\,125.35^a$
野生组	$51\,951.146 \pm 33\,972.962$
空载组	$40\,888.988 \pm 19\,369.569$
空白组	$24\,131.746 \pm 14\,585.035$
<i>F</i> 值	23.994
<i>P</i> 值	0.006

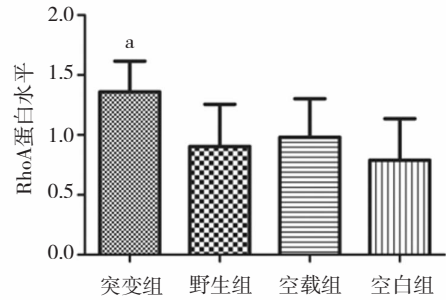
注:a,与野生组相比, $P=0.006$

2.4 过表达突变组 *MTUS1* 后细胞骨架稳定性改变对 RhoA 通路的影响

转染病毒后,Real-time PCR 结果显示,与野生组相比,突变组 RhoA mRNA 水平表达明显增高,差异具有统计学意义($P=0.005$)。Western blot 结果显示,与野生组相比,突变组 RhoA 蛋白水平表达明显增高,差异具有统计学意义($P=0.01$),如图 5 所示。各组间 RhoA mRNA 及蛋白相对表达值见表 3。



A. 各处理组 RhoA 蛋白电泳条带



a:与野生组相比, $P<0.05$

B. 各处理组 RhoA 蛋白水平统计条形图

图 5 突变组、野生组及空载组 RhoA 蛋白的表达水平

表 3 各组间 RhoA mRNA 及蛋白相对表达值

组别	mRNA	蛋白质
突变组	13.321 ± 0.941^a	1.358 ± 0.257^b
野生组	10.737 ± 0.429	0.905 ± 0.352
空载组	12.822 ± 0.682	0.980 ± 0.322
空白组	18.424 ± 0.829	0.789 ± 0.347
<i>F</i> 值	94.953	4.695
<i>P</i> 值	0.005	0.010

注:a,mRNA 与野生组相比, $P=0.005$;b:蛋白质与野生组相比, $P=0.01$

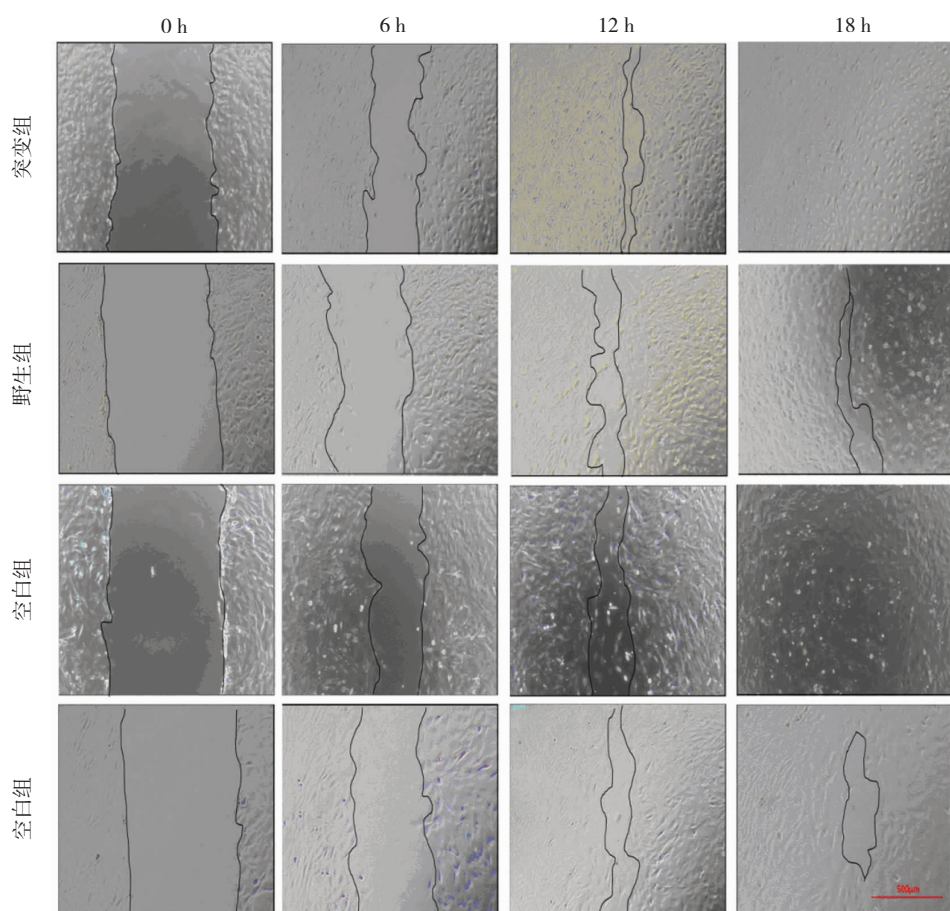
2.5 过表达突变组 MTUS1 通过调控 RhoA 对细胞迁移的影响

各组 CP15-5a 细胞进行细胞划痕后,于 0、6、12、18 h 分别置于倒置显微镜下观察划痕宽度,划痕情况如图 6 所示。细胞划痕实验结果显示,在划痕后 6、12 h 突变组划痕面积愈合率均较野生组明显增高(均 $P=0.000$),差异具有统计学意义。在划痕后 18 h,突变组划痕面积愈合率与野生组相比无统计学差异($P=0.066$)。各组间划痕后 6、12、18 h 细胞划痕愈合百分比结果见表 4。

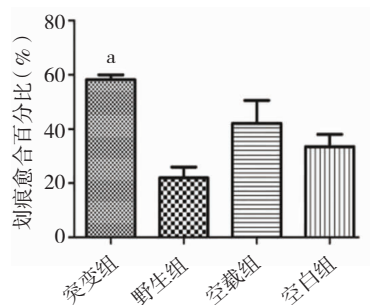
表 4 各组间细胞 6、12、18 h 划痕愈合百分比 (%)

组别	6 h	12 h	18 h
突变组	58.265 ± 1.684^a	86.364 ± 2.256^b	96.048 ± 0.286^c
野生组	21.996 ± 3.938	65.510 ± 2.731	88.435 ± 1.541
空载组	42.082 ± 8.491	63.260 ± 3.159	99.518 ± 0.065
空白组	33.499 ± 4.514	67.117 ± 6.466	87.354 ± 2.594
<i>F</i> 值	35.617	21.837	45.439
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.066

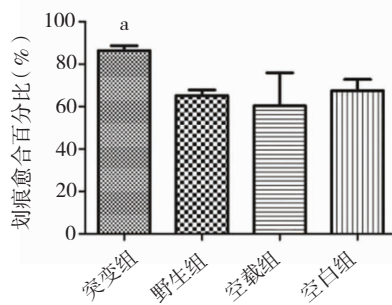
注:a,与野生组相比, $P=0.000$;b,与野生组相比, $P=0.000$;c,与野生组相比, $P=0.066$



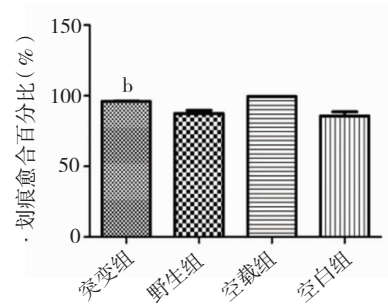
A. 各处理组划痕图像分别于划痕后 0、6、12、18 h 拍摄



B. 划痕后 6 h 统计条形图



C. 划痕后 12 h 统计条形图



D. 划痕后 18 h 统计条形图

a: 与野生组相比, $P<0.001$; b: 与野生组相比, $P>0.05$

图 6 各组细胞划痕情况

3 讨 论

NVM 又称左心室心肌致密化不全,是一种未分型的心肌病,可单独存在或合并其他先天性心脏病^[8]。病理生理表现为心室内粗大的肌小梁及与左心室腔交通深陷的小梁隐窝,临床上表现差异大,从无症状到心律失常、心力衰竭、体循环栓塞及猝死,诊断多依靠超声心动图及心脏核磁共振^[9-10]。因发病机制仍不明确,现尚无有效的治疗措施。目前通过遗传学分析发现,NVM 具有明显的家族遗传倾向,12%~50% 的 NVM 病人具有家族史,现文献报道与 NVM 发生相关的基因就有 40 多个^[11-13],因此基因缺陷筛查对预测 NVM 的发生及指导治疗具有重要意义。

课题组前期对 NVM 双姊妹进行外显子测序,分析后得出新发错义突变 *MTUS1* c.2617A→C (rs187103704),该基因位于 8p22 染色体,编码 ATIP 蛋白,共 7 个亚型(ATIP3a、ATIP3b、ATIP1、亚型 4、ATIP2、ATIP4、亚型 7),其中 ATIP3 蛋白参与微管稳定性调控^[14]。分析发现,突变位点正位于 ATIP3 蛋白亚基上。*MTUS1* 作为一种影响细胞微管的基因,该基因的异常可能导致细胞微管稳定性发生改变^[15]。有文献报道称,在肥厚性心肌病中,心肌细胞的微管稳定性发生改变,并且 *MTUS1* 的表达增高^[16-17],提示 *MTUS1* 基因与某些受微管调控的心肌病相关。微管作为细胞骨架的构成之一,与细胞内物质运输、细胞形态的维持、细胞迁移和细胞极性密切相关^[18-19],在心肌细胞中对维持心肌细胞形态及功能具有重要作用。有研究发现,微管蛋白可参与调控与 NVM 相关蛋白如 ryanodine 受体的功能^[12],提示微管可能与 NVM 有一定的关联,但具体如何关联还需要进一步的实验研究证明。而细胞骨架结合蛋白之一的 RhoA 是一种细胞骨架结合蛋白,是 ras 超家族小 GTPase 的成员之一,该蛋白的表达量改变及活化受细胞微管稳定性调控^[6,20-21],对细胞的迁移及粘附具有重要作用^[22]。研究发现,在多种肿瘤细胞中,RhoA 的表达明显增高^[23],提示 RhoA 的高表达促进细胞迁移,降低细胞粘附。而在早期胚胎心肌致密化的过程中,心肌细胞的迁移情况直接影响致密化过程的进展。在 NVM 的研究中发现,胚胎期心肌细胞的迁移速度减慢甚至停滞,是造成心肌致

密化过程阻滞的一个重要原因^[24]。这些研究提示,在胚胎期心肌致密化过程中,RhoA 和微管的稳定性可能扮演了重要角色,新发突变 *MTUS1* 是否参与其中,需要进一步研究证实。

本研究通过将新发突变 *MTUS1* 慢病毒成功过表达至 CP15-5a 细胞后,对各组细胞进行微管表达量检测,结果发现突变组与野生组相比,CP15-5a 细胞微管稳定性降低,提示突变影响了细胞微管,改变了微管稳定性。同时利用 Western blot 及 Real-time PCR 检测了各组细胞骨架结合蛋白 RhoA 的表达情况,发现 RhoA mRNA 及蛋白表达均增高,结果均具有统计学意义,这提示突变可能通过降低微管稳定性而影响到细胞迁移情况。采用细胞划痕法检测细胞迁移情况,发现突变组细胞划痕面积愈合率增高,这提示突变组细胞迁移速率增快。上述实验结果证明,在体外细胞实验中,新发突变 *MTUS1* 能够改变细胞微管稳定性,影响细胞迁移速度。

综上所述,新发突变 *MTUS1* 可以降低心肌祖细胞 CP15-5a 微管的稳定性,促进细胞迁移,其可能的机制是通过增高 RhoA 的表达来影响细胞迁移。如果该过程发生于胚胎早期心肌致密化的过程中,可能作为一种保护性突变来对抗心肌致密化停滞。下一步将基于 NVM 模型鼠中进行突变 *MTUS1* 基因挽救实验,看可否减轻或逆转 NVM 表型,为临床预防及治疗 NVM 提供基础依据。

参 考 文 献

- [1] Kubik M, Dabrowska-Kugacka A, Lewicka E, et al. Predictors of poor outcome in patients with left ventricular noncompaction: Review of the literature[J]. Adv Clin Exp Med, 2018, 27(3): 415-422.
- [2] Finsterer J, Stöllberger C, Towbin JA. Left ventricular noncompaction cardiomyopathy: cardiac, neuromuscular, and genetic factors[J]. Nat Rev Cardiol, 2017, 14(4): 224-237.
- [3] Towbin JA, Jefferies JL. Cardiomyopathies due to left ventricular noncompaction, mitochondrial and storage diseases, and inborn errors of metabolism[J]. Circ Res, 2017, 121(7): 838-854.
- [4] Takasaki A, Hirono K, Hata Y, et al. Sarcomere gene variants act as a genetic trigger underlying the development of left ventricular noncompaction[J]. Pediatr Res, 2018, 84(5): 733-742.
- [5] Ajima R, Bisson JA, Helt JC, et al. DAAM1 and DAAM2 are co-required for myocardial maturation and sarcomere assembly[J]. Dev Biol, 2015, 408(1): 126-139.

- [6] Deng X, Fink G, TAM B, et al. Four-stranded mini microtubules formed by *Prosthecobacter* BtubAB show dynamic instability[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(29): E5950–5958.
- [7] Bozgeyik I, Yumrutas O, Bozgeyik E. MTUS1, a gene encoding angiotensin- II type 2(AT2) receptor-interacting proteins, in health and disease, with special emphasis on its role in carcinogenesis[J]. *Gene*, 2017, 626: 54–63.
- [8] Xu Y, Liu X, Li H. Improvement of the diagnosis of left ventricular noncompaction cardiomyopathy after analyzing both advantages and disadvantages of echocardiography and CMRI[J]. *Prog Cardiovasc Dis*, 2018, 61(5–6): 491–493.
- [9] Zhao T, Ding X, Chang B, et al. MTUS1/ATIP3a down-regulation is associated with enhanced migration, invasion and poor prognosis in salivary adenoid cystic carcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2015, 15: 203.
- [10] Dong X, Fan P, Tian T, et al. Recent advancements in the molecular genetics of left ventricular noncompaction cardiomyopathy[J]. *Clin Chim Acta*, 2017, 465: 40–44.
- [11] Choquet C, THM N, Sicard P, et al. Deletion of Nkx2-5 in trabecular myocardium reveals the developmental origins of pathological heterogeneity associated with ventricular non-compaction cardiomyopathy[J]. *PLoS Genet*, 2018, 14(7): e1007502.
- [12] Piccolo P, Attanasio S, Secco I, et al. MIB2 variants altering NOTCH signalling result in left ventricle hypertrabeculation/non-compaction and are associated with Ménétrier-like gastropathy[J]. *Hum Mol Genet*, 2017, 26(1): 33–43.
- [13] Miller EM, Hinton RB, Czosek R, et al. Genetic testing in pediatric left ventricular noncompaction[J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2017, 10(6): e001735.
- [14] Parbin S, Pradhan N, Das L, et al. DNA methylation regulates Microtubule-associated tumor suppressor 1 in human non-small cell lung carcinoma[J]. *Exp Cell Res*, 2019, 374(2): 323–332.
- [15] Liu Y, Chen H, Shou W. Potential common pathogenic pathways for the left ventricular noncompaction cardiomyopathy (LVNC)[J]. *Pediatr Cardiol*, 2018, 39(6): 1099–1106.
- [16] Rodrigues-Ferreira S, Nehlig A, Monchecourt C, et al. Combinatorial expression of microtubule-associated EB1 and ATIP3 biomarkers improves breast cancer prognosis[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2019, 173(3): 573–583.
- [17] Ito S, Asakura M, Liao Y, et al. Identification of the Mtus1 splice variant as a novel inhibitory factor against cardiac hypertrophy[J]. *J Am Heart Assoc*, 2016, 5(7): e003521.
- [18] van Dijk J, Bompard G, Cau J, et al. Microtubule polyglutamylation and acetylation drive microtubule dynamics critical for platelet formation[J]. *BMC Biol*, 2018, 16(1): 116.
- [19] Roostalu J, Rickman J, Thomas C, et al. Determinants of polar versus nematic organization in networks of dynamic microtubules and mitotic motors[J]. *Cell*, 2018, 175(3): 796–808.e14.
- [20] López-Doménech G, Covill-Cooke C, Ivankovic D, et al. Miro proteins coordinate microtubule- and actin-dependent mitochondrial transport and distribution[J]. *EMBO J*, 2018, 37(3): 321–336.
- [21] Cappello S. Small Rho-GTPases and cortical malformations: fine-tuning the cytoskeleton stability[J]. *Small GTPases*, 2013, 4(1): 51–56.
- [22] Wang X, Tang P, Guo F, et al. RhoA regulates activin B-induced stress fiber formation and migration of bone marrow-derived mesenchymal stromal cell through distinct signaling[J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2017, 1861(1 Pt A): 3011–3018.
- [23] Wang T, Hamilla S, Cam M, et al. Extracellular matrix stiffness and cell contractility control RNA localization to promote cell migration[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 896.
- [24] Kitakaze M. Dysfunction of microtubules induces cardiac dysfunction[J]. *EBioMedicine*, 2018, 37: 3–4.

(责任编辑:唐秋姗)

作者·读者·编者

更正

本刊 2019 年第 44 卷第 5 期第 589 页《RGS2 抑制大鼠脑出血后炎症反应的实验研究》文中, 1.2.3 部分第 6、7 行, “**normal 组**大鼠按相同方法注入等量 TESCA 缓冲液, normal 组的大鼠除了**麻痹**没有接受其他任何处理。”改为“**假手术组**大鼠按相同方法注入等量 TESCA 缓冲液, normal 组大鼠除了**麻醉**没有接受其他任何处理。”

本刊编辑部