

一、项目名称：先天性心脏病间隔缺损 GATA4 基因突变的筛查及功能研究

二、提名者及提名意见：安徽省立医院

该项目从先天性心脏病间隔缺损患者中发现一个新的致病基因突变点 GATA4 H436Y，并通过相关实验研究发现了该突变点可能的致病机制：GATA4 H436Y 突变虽不会改变 GATA4 蛋白的细胞核定位情况，但会导致自身表达下降，下调下游靶基因表达，影响心肌 ECM 基因的表达，导致心肌组织胶原纤维减少，最终导致心功能受损、心脏发育受到影响。课题组发表相关论文 8 篇，分别发表在

《PediatricCardiology》、《中华心血管病杂志》、《南方医科大学学报》等杂志，其中 3 篇代表性论文，被引用次数达 40 余次，为“GATA4 是调控心脏发育的重要基因、GATA4 突变是导致先心病的重要因素之一”等观点提供了有力证据。为先天性心脏病产前筛查，降低出生缺陷，具有良好的经济价值和社会价值，并且为从事相关研究学者提供了可借鉴基础。

三、项目简介：

本项目在 50 例汉族先天性心脏病间隔缺损患者和 200 例汉族健康者中应用 PCR 方法扩增 GATA4 基因 6 个外显子编码区及两侧各 50 个碱基以上的序列，再经 DNA 自动测序仪自动测序，然后与 NCBI 数据库中 GATA4 基因的序列进行比对，并与健康对照组比较。在 4 例散发性心脏病间隔缺损患者中均发现了 GATA4 基因第 7 号外显子 1 个新的错义突变（H436Y），在 NCBI 的 SNP 数据库中均未见报道且在 200 例对照组中也未发现。通过体外实验研究发现：GATA4 基因 H436Y 突变可导致 GATA4 基因自身表达活性下降，降低其 DNA 与蛋白结合能力，而这一突变并不影响 GATA4 基因蛋白的细胞核定位；

另外，GATA4 基因 H436Y 突变型质粒激活下游 ANF luciferase 报告基因的活性明显下降，并对其下游靶基因 Sox9、Scx 转录激活减弱，导致细胞外基质 Tenascin、Aggrecan 的表达降低。我们利用 CRISPR/Cas9 技术成功建立了 Gata4 基因 H435Y 突变小鼠模型，通过体内实验研究发现：Gata4 基因 H435Y 组小鼠心脏功能受损；体重、心脏重量降低，心重/体重比减小；Masson 染色结果提示突变组小鼠胶原纤维含量较野生小鼠减少，心肌组织中 Gata4、Sox9 和 Scx 表达减少，提示 Gata4 基因 H435Y 突变使 Gata4 基因自身表达水平下降，并可能通过转录激活作用导致下游靶基因 Sox9 和 Scx 表达量下降，影响心肌 ECM 基因的表达，导致心肌组织胶原纤维减少，最终引起小鼠心脏功能缺陷。以上资料表明：不论在整体动物还是在组织、细胞以及分子水平上均验证了 GATA4 基因 H436Y 突变是先天性心脏病一个新的致病点。将应用于先天性心脏病产前筛查，达到优生优育，降低出生缺陷，具有良好的经济价值和社会价值。本课题组所发表相关论文受到同行引用 40 余次，具有较强的创新性和较高的学术价值。

四、代表性论文专著目录：

1. Chen MW, Pang YS, Guo Y, Pan JH, Liu BL, Shen J, Liu TW. GATA4 Mutations in Chinese patients with Congenital cardiac septal Defects. *Pediatric Cardiology*. 2010; 31(1): 85-89.
2. 张艳丽, 陈名武, 陈冶, 洪淑君. GATA4 基因对心内膜垫发育中相关蛋白表达作用的实验研究. *中华心血管病杂志*. 2015; 43(5): 437-441.
3. 张慧, 陈名武, 方涛, 张甜, 倪文泉. Gata4 H435Y 突变型小鼠模型的建立及验证[J]. *南方医科大学学报*, 2018, 38(10): 1245-1249.

五、主要完成人：陈名武、方涛、张艳丽、陈冶、张慧

六、主要完成单位：安徽省立医院