

先天性马蹄内翻足致病基因研究进展

谢丰 吕志宝

摘要 先天性马蹄内翻足(ITEV)为多基因遗传因素与环境因素共同作用的结果。研究发现 ITEV 发病与几类相关基因的改变密切。该文就 ITEV 相关致病基因 HOX 基因、TBX 基因、CASP 基因、PITX 基因等研究进展作一综述。

关键词 马蹄内翻足;致病基因;先天性

DOI:10.3969/j.issn.1673-7083.2011.02.011

先天性马蹄内翻足(ITEV)是一种常见的严重影响足的形态与功能的先天性畸形,包括前足内收、跟骨内翻及踝关节马蹄畸形^[1]。目前认为,ITEV 的发生是遗传因素与环境因素共同作用的结果。ITEV 遗传方式属于多基因遗传,不同种族的患病率不同,如中国人患病率约为 0.39‰,高加索人约为 1.2‰,波利尼西亚约为 6.8‰,毛利人约为 7‰;ITEV 同胞患病概率增加约 30 倍^[2]。Wynne-Davies^[3]报道双胞胎同时患病概率在单卵双生儿中达 33%,而在双卵双生儿中仅 3%。以上研究均提示,尽管环境因素起到相当大的作用,但 ITEV 患病率也在很大程度上受到遗传因素的影响。ITEV 遗传模式为遗传因素和环境因素相互作用、相互影响的模式,其特点包括:①多基因遗传;②非遗传因素如环境、化学物质、病毒等的作用;③有一素因性基因,但它受到其他因素如基因或环境的调控;④引起畸形的原因虽不同,但表型却相似^[4]。近年研究报道显示,ITEV 发病与几类相关基因的改变有着非常密切的联系。这些相关的基因主要包括起调控肢体发育作用的同源异形盒(HOX)、T-box 转录因子家族(TBX)、天冬氨酸半胱氨酸特异性蛋白酶家族(CASP)、Bicoid 同源盒家族转录因子(PITX)、胰岛素样生长因子(IGF)、骨畸形发育不良硫酸盐转移因子(DTDST)等基因。本文就 ITEV 致病基因研究进展作一简要综述。

1 HOX 基因家族

HOX 基因家族是成簇存在的同源异形盒基因。近年研究发现,HOX 基因突变可能是 ITEV 相关基因。HOX 基因具有一段长约 180 bp 的同源序列,它所编码的 60 个氨基酸构成螺旋-转角-螺旋结构的同源结构域,作为转录调控因子发挥作用^[5]。HOX 基因在肢体发育中的基本作用:①调控软骨细胞增殖分化速率和时机;②调节未分化间充质细胞增殖;③参与软骨间充质凝成原质原基;④参与组建软骨细胞。

人类和鼠的 HOX 基因家族含有 39 个基因,分成 4 簇,分别为 HOXA、HOXB、HOXC 和 HOXD。此 4 簇分别位于人类第 7、17、12、2 号染色体特定区域上,每一簇含有 7~11 个基因。大量动物实验证实,HOX 基因是脊椎动物胚胎发育及器官形成的主要调控基因,在转录及翻译过程中行使特定的表达和调控作用,其功能改变直接影响发

育,因此很可能是人类先天性畸形的候选基因。到目前为止,共有 3 种人类先天性畸形综合征与 HOX 基因异常有关:人类多指(趾)、并指(趾)畸形与 HOXD13 丙氨酸密码子扩增相关,人类手足生殖器综合征与 HOXA13 单一核苷酸替换相关,人类单指(趾)和生殖器异常综合征与 HOXD 簇杂合性丢失相关。HOX 基因调节神经、肌肉、骨骼和血管等肢体形成的各个方面,因此可以推测 ITEV 发生是肢体发育过程中 HOX 基因调控异常,导致胚胎发育缺陷的缘故^[6]。王大佳等^[7]报道在 HOX 基因 d 簇内选择微卫星 DNA 标记 HOX4 Ep,以聚合酶链反应(PCR)技术扩增微卫星片断,聚丙烯酰胺凝胶电泳对 32 个 ITEV 核心家系 96 名成员进行基因型分析,并进行传递连锁不平衡检验,结果证明人类 ITEV 与 HOXD 基因位点有关,HOXD 基因可能是 ITEV 易感基因。Wang 等^[8]研究证明,HOXD12、HOXD13 可能是单纯性 ITEV 重要的易感基因。HOX 基因不仅表达于整个胚胎期,而且表达于新生儿期。实验证明,其中的 HOXD9 基因不仅调节正常关节的早期形成,而且参与出生后关节疾病的病理过程。据此推测,HOX 基因不仅在胚胎形成过程中调节后肢发育,导致马蹄足畸形,而且使 ITEV 的病理改变在出生后逐渐加重。

目前公认的 HOX 基因致病机制^[6]:首先,HOX 基因异常导致足肌肉去神经支配,产生肌肉营养不良或者小腿肌纤维类型和数量发生改变,从而发生畸形。其次,HOX 基因异常影响骨骼发育,使骨化沟发育紊乱,软骨道相对骨化中心来说数量较多,导致距骨骨化中心相对较小且偏位;同时跗骨骨化延迟,出现畸形。另外,HOX 基因异常使血管发育缺陷,最终因缺血或血栓形成导致缺氧、影响肢芽形成而产生畸形。

2 TBX 基因

TBX 基因系列是进化上高度保守的 T-box 转录因子家族,编码含有特征性 DNA 结合域。目前发现与脊椎动物肢体发育有关的 TBX 基因包括 TBX2、TBX3、TBX4、TBX5。TBX4 在胚胎肢芽发育过程中表达,TBX5 则在鸡胚翅芽发育过程中表达。这些基因的表达与特定肢体部位有明显关联,TBX2 与 TBX3 均在鸡胚肢芽和翅芽的发育中有表达,以上基因的异常表达或缺失将导致相应肢体部位发育畸形。Davenport 等^[9]建立纯合性 TBX3 基因突变鼠模型,结果导致鼠肢体发育畸形。近年越来越多研究表明,人 TBX3 基因突变导致的尺骨乳

腺综合征均伴有肢体发育畸形,这些实例进一步证实TBX系列基因与人类肢体畸形的发生有关。因此,ITEV的发生也可能是肢体发育过程中TBX基因调控异常所致。任舒月等^[10]利用我国的病源优势收集ITEV家系并作TBX3基因相关性研究,在TBX3基因所在的染色体区域12q24内选择一个微卫星DNA标记D128378,传递不平衡检验(TDT)结果显示,ITEV与D128378遗传标记位点的第3个等位基因存在传递不平衡,因此提示ITEV与TBX3基因所在的染色体区域12q24有关联,TBX3基因可能是ITEV的易感基因。Alvarado等^[11]最近研究发现,包含TBX4基因的染色体17q23.1q23.2区域的微小复制是引起ITEV的一个相对常见原因

3 CASP 基因

CASP8和CASP10基因编码同属于介导细胞凋亡的信号转导蛋白——天冬氨酸半胱氨酸特异性蛋白酶家族,激活的CASP8和CASP3可导致蛋白酶水解底物以及DNA降解,从而达到使细胞凋亡的目的。CASP10具有与CASP8极高的同源性,均拥有死亡效应子结构域。研究^[12]表明,胚胎发育过程中细胞凋亡与分化同样重要,不符合发育过程的过度凋亡或凋亡不足均会导致胚胎死亡、妊娠终止及畸形。Heck等^[13]报道对ITEV家系进行CASP8、CASP10基因相关性研究,在CASP10基因所在染色体区域2q31~33内选择2个微卫星DNA标记rs1804650和rs3731713,分析结果提示ITEV与CASP10基因所在的染色体区域2q33有关联,认为ITEV可能与细胞过度凋亡有关。

4 PITX 基因

肢体的形成和发育通过转录因子和信号分子组成的复杂网络来调控。PITX1在所有垂体细胞中表达,是生长发育和垂体激素合成的必要元素之一。PITX1基因是胚胎后半部侧板中胚层中最先表达的基因,起始于侧板中胚层形成原肠胚时期。PITX1基因在人类细胞染色体中的位置为5q31。

在组织发育过程中,PITX1基因作用的主要靶点为腮弓、脑垂体、牙齿和下肢间充质等^[14]。PITX1通过与多种不同因子,如类固醇生成因子-1(SF-1)和螺旋-环-螺旋转录因子(HAND)等相互作用而发挥作用。PITX1首次发现于大鼠腺垂体促皮质激素细胞,作为转录因子编码基因,是下肢发育过程中的主要调节基因,对上肢发育的作用不明显。研究表明,PITX1基因表达障碍会改变鸡翅芽形态和数目,使之发育类似于下肢。同样,小鼠模型研究表明PITX1基因表达失活会导致后肢形态和生长特点相似于前肢。人类疾病中也发现有PITX1基因突变。位于高度保守的同源结构域中的PITX1 E130K突变对转录有显性负效应,与家族性下肢发育畸形相关^[15]。PITX2基因与PITX1基因一起控制下肢间充质的发育过程,其突变会导致Rieger综合征。PITX3基因表达于眼部、中脑多巴胺神经元和大多数骨骼肌。PITX3基因的肌肉特异性启动子位于第一个外显子(控制眼部和中脑发育)和第二个外显子(含起始密码子ATG)之间,其突变

会导致间充质发育不全和白内障。另外,如果改变PITX1表达,将很快改变脊椎动物的骨盆形态,这些均支持该基因在后肢发育中起重要作用。

除了以上ITEV相关基因外,有学者对IGF^[16]、DTDST^[17]、Wnt7和LMC7^[18]等基因也进行深入研究并取得了一定进展,一些曾认为与ITEV相关的基因如TNNT3、MYH3、TPM2^[19]则被排除。

综上所述,目前对人类ITEV遗传学研究已取得一定进展,比如在HOX基因、TBX基因、CASP基因和PITX1基因等方面。但ITEV确切的易感基因尚未明确,易感基因功能和表现遗传学特性等有待进一步深入研究。ITEV致病基因的研究有助于揭示ITEV病因,为有效预防干预及基因治疗ITEV提供理论依据。

参考文献

- Lochmiller C, Johnston D, Scott A, et al. Genetic epidemiology study of idiopathic talipes equinovarus. *Am J Med Genet*, 1998; 79(2):90-96
- Beals RK. Clubfoot in the Maori: a genetic study of 50 kindreds. *N Z Med J*, 1978; 88(618):144-146
- Wynne-Davies R. Family studies and the cause of congenital clubfoot. *Talipes equinovarus, talipes calcaneo-valgus and metatarsus varus*. *J Bone Joint Surg Br*, 1964; 46:445-463
- Dietz F. The genetics of idiopathic clubfoot. *Clin Orthop Relat Res*, 2002; 401: 39-48
- Barker S, Chesney D, Miedzybrodzka Z, et al. Genetics and epidemiology of idiopathic congenital talipes equinovarus. *J Pediatr Orthop*, 2003; 23(2):265-272
- Ester AR, Weymouth KS, Burt A, et al. Altered transmission of HOX and apoptotic SNPs identify a potential common pathway for clubfoot. *Am J Med Genet A*, 2009; 149(12):2745-2752
- 王大佳,马瑞雪,陈秋,等.先天性马蹄内翻足与HoxD基因传递连锁不平衡研究. *中华小儿外科杂志*, 2003; 24(4):348-350
- Wang JL, Fu WN, Li ZJ, et al. HOXD13 may play a role in idiopathic congenital clubfoot by regulating the expression of FHL1. *Cytogenet Genome Res*, 2008; 121(3-4):189-195
- Davenport TG, Jerome-Majewska LA, Papaioannou VE. Mammary gland, limb and yolk sac defects in mice lacking Tbx3, the gene mutated in human ulnar mammary syndrome. *Development*, 2003; 130(10):2263-2273
- 任舒月,麻宏伟,姜俊,等.先天性马蹄内翻足与PAX5、PAX6和TBX3基因传递不平衡研究. *中华小儿外科杂志*, 2004; 25(5):444-447
- Alvarado D, Aferol H, McCall K, et al. Familial isolated clubfoot is associated with recurrent chromosome 17q23.1q23.2 microduplications containing TBX4. *Am J Hum Genet*, 2010; 87(1):154-160
- Fernando P, Kelly JF, Balazsi K, et al. Caspase 3 activity is required for skeletal muscle differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002; 99(17):11025-11030
- Heck AL, Bray MS, Scott A, et al. Variation in CASP10 gene is associated with idiopathic talipes equinovarus. *J Pediatr Orthop*, 2005; 25(5):598-602
- Gurnett CA, Alaei F, Kruse LM, et al. Asymmetric lower-limb malformations in individuals with homeobox PITX1 gene mutation. *Am J Hum Genet*, 2008; 83(5):616-622
- Marcel A, Dumontier E, Chamberland M, et al. Pitx1 and Pitx2 are required for development of hindlimb buds. *Development*, 2003; 130(1):45-55
- Delany AM, Rydzek S, Canalis E. Autocrine down-regulation of collagenase-3 in rat bone cell cultures by insulin-like growth factors. *Endocrinology*, 1996; 137(11):4665-4670
- Huber C, Odent S, Rumeur S, et al. Sulphate transporter gene mutations in apparently isolated clubfoot. *J Med Genet*, 2001; 38(3):191-193
- Dietz FR, Cole WG, Tosi JL, et al. A search for the genes predisposing to idiopathic clubfoot. *Clin Genet*, 2005; 67(4):361-362
- Gurnett CA, Alaei F, Desruisseau D, et al. Skeletal muscle contractile gene (TNNT3, MYH3, TPM2) mutations not found in vertical talus or clubfoot. *Clin Orthop Relat Res*, 2009; 467(5):1195-1200

(收稿:2011-03-08)

(本文编辑:边佑)