

直肠肛门畸形环境致病因素的研究进展



王琛^{1,2} 郑伟^{1,3} 李龙^{1,2}

先天性肛门直肠畸形 (Anorectal malformations, ARM) 作为常见的先天性消化道畸形之一, 发病率约 1/5 000, 且有增加趋势, 发病类型多样、复杂, 有 49.4% 左右的直肠肛门畸形合并其他系统发育异常^[1]。治疗上主要为手术治疗, 但由于先天性肛门直肠畸形多合并盆底肌肉及神经元发育异常, 术后常存在肛门排便功能异常等并发症, 对患儿的身心发育影响颇大^[2-3]。因此能从病因学层次预防直肠肛门畸形的发生具有深远的社会意义。目前其病因尚不明确, 多认为基因因素起关键作用, 通过动物模型及人体标本研究, 直肠肛门畸形的发生与基因突变有密切关联^[4-5]。但临床观察发现 ARM 患者较少表现家族聚集性, 除染色体异常综合征 (如 currarino 综合征、Townes - brocks 综合征等) 有典型的家谱可供分析外, ARM 病患多表现为散发性。多种化学物品可诱导 ARM 动物模型形成, 同时临床病例-对照实验表明孕期疾病、肥胖等环境因素都可增加 ARM 的发病风险。因此环境因素在直肠肛门畸形的发生过程中发挥了重要作用。现就先天性肛门直肠畸形环境致病因素的研究进展综述如下。

一、相关环境因素的临床病例-对照研究

除遗传及 de novo 基因突变等内在因素外, 外界环境因素改变也可影响胎儿发育。随着环境污染的不断加重及对先天性疾病认识的深入, 环境因素对 ARM 的影响受到更多重视, 欧洲 (荷兰、德国)、美国等均在开展大规模的临床-对照试验, 以筛选与 ARM 发病有关的环境因素^[6-7]。

现有临床病例-对照试验提示环境因素与 ARM 发病关系密切, 而 ARM 发病的风险环境因素的相关研究较少, 现有证据多停留在临床病例-对照试

验结果分析阶段, 真正探讨环境因素导致人类 ARM 的机制研究尚未开展。

胎儿发育最密切的环境因素是宫内环境, 主要由母系因素决定, 母亲身体环境的改变 (肥胖、疾病) 不可避免地影响胎儿发育。Waller 等^[7]发现孕前肥胖 (BMI > 2.5 kg/m²) 可能是 ARM 发病的潜在危险因素。Stothard 等^[8]认为肥胖母亲具有较高可能娩出 ARM 患儿 (OR 1.48, 95% CI 1.12 ~ 1.97)。肥胖影响 ARM 形成的机制尚不明确, 可能与妊娠期间的高血糖及胰岛素抵抗状态有关^[9]。妊娠 3 个月内感冒作为影响 ARM 发病的常见相关危险因素 (OR 10.6, 95% CI 2.8 ~ 40.4), 可能通过病毒感染、体温改变及治疗用药等影响胎儿后肠胚胎发育^[10]。妊娠期间患某些疾病也可增加后代 ARM 的风险, 包括损伤、哮喘、癫痫、甲状腺疾病及糖尿病^[11-13]。

妊娠期间缺乏维生素 A、叶酸等物质被认为可增加后代 ARM 的风险^[14-15]。维生素 A 及叶酸是哺乳动物胚胎阶段神经系统发育的必要物质, 其缺乏导致 ARM 形成的相关机制可能与肠道神经系统受影响有关, 因在维生素 A 缺乏症导致动物模型肠道组织中 PGP9.5 和 S100 蛋白等神经细胞相关蛋白表达明显降低。

另外一些常被忽视的因素, 如不孕症治疗、试管婴儿、多胎、母亲的受教育程度、怀孕年龄、母亲的工作暴露等都被认为是增加 ARM 患病率的潜在危险因素^[16]。除了母系影响外, 父亲的部分行为, 如吸烟与否也可影响 ARM 发病^[17]。关于环境因素的相关研究目前规模较小, 病例数少, 区域集中, 临床病例-对照试验得到的结论仍不具有绝对的说服力, 同时, 人种、地域及易感性等因素也可干扰试验的结论, 因此, 更多病例数、多区域的研究应得到开展。

二、化学物品诱导的动物模型

目前尚没有有力证据表明药物及化学物质可以导致人类 ARM 发病^[18-19]。但化学物品可诱导动物 ARM 模型的形成。化学物品诱导形成的动物 ARM 模型多表现为多系统先天性畸形, 常表现为 VACTERL 综合征及 currarino 综合征等与人类类似

doi:10.3969/j.issn.1671-6353.2015.04.023

基金项目: 北京市医院管理局“扬帆计划”课题 (项目号: ZYXL201306)

作者单位: 1, 首都儿科研究所附属儿童医院 (北京市, 100020); 2, 北京协和医学院研究生院 (北京市, 100730); 3, 北京和睦家医院 (北京市, 100016), 通讯作者: 李龙, E-mail: lilong231@163.com, 郑伟, wei.cheng3@gmail.com.

的综合征。这些模型的建立最初是为了研究基因调控的变化,但模型建立的本身就具有重大意义,它表明致畸剂等外在物质可以干扰后肠胚胎期的分化及发育。Kubota 等^[20]通过孕鼠腹腔内注射依曲替酯(长效维生素 A 类似物)获得了鼠 ARM 模型。Pittera 等^[21]于 2001 年报道了一种维甲酸诱导的鼠尾端发育退化综合征:延迟的肠道发展、退化盲肠及肛门直肠畸形。Sasaki 等^[22]以 100 mg/kg 剂量全反维甲酸喂养 ICR 孕鼠,95% 的胎鼠可表现为直肠肛门畸形。维生素 A 类(依曲替酯、维甲酸、全反维甲酸)化学物质可以通过抑制维生素 A 的吸收、结合,导致维生素 A 缺乏影响肠道胚胎的发育,同时影响基因表达调控。Arana 等^[23]发现胚胎期经过乙烯硫脲(Ethylene thiourea ETU)暴露处理的胎鼠可表现为直肠肛门畸形伴有直肠肛门肌环的发育异常及 VACTERL 综合征。经阿霉素诱导形成的小鼠 ARM 模型,可表现为脊柱、肛门、心脏、气管等多系统畸形^[24]。阿霉素是一种常见抗肿瘤药物,可抑制 DNA 和 RNA 的合成,对 RNA 的抑制尤强,主要作用机制是通过嵌入 DNA 而抑制核酸合成,因此可产生广泛的生物学效应。Jiang 等^[25]发现邻苯二甲酸二正丁酯可导致小鼠男性后代表现为明显的直肠肛门畸形。以上动物 ARM 模型与人类 ARM 存在很多相似点,因此不能忽视药物及化学物质对人类 ARM 的影响,维生素 A 类(依曲替酯、维甲酸、全反维甲酸)及化疗药物(阿霉素)都是临床常用药物,乙烯硫脲是咪唑林类硫化剂,常用来制作抗真菌药物、染料和合成树脂,邻苯二甲酸二正丁酯时常用的纤维增塑剂,在这方面研究应得到更多重视,以避免其运用不当导致 ARM 形成。

三、基因-环境的相互作用

基因表达异常和环境因素对 ARM 形成及发展都存在一定程度影响,研究基因-环境的相互作用更有利于研究 ARM 形成过程中的生理机制及病理过程^[26]。关于直肠肛门畸形的基因研究认为 Sonic Hedgehog(Shh)、Gli2、同源性基因(Homeobox gene Hox)、骨成型蛋白(Bone Morphogenetic Protein BMP)及成纤维细胞生长因子(Fibroblast Growth factor,FGF)等多种调控因子参与了泄殖腔的分化及消化道形成、分化和发育过程。调控因子与其下游的传导因子间存在精密的、剂量依赖性的、时限性的调控关系,组成信号传导通路共同控制原肠胚发育各个阶段的重要事件^[27-28]。外界因素,特别是化学物质诱导形成的动物模型中,在表型改变的同时,信号传

导调控物质基因表达也有明显异常改变,反映环境因素可影响基因因素改变,环境因素影响胚胎期后肠的发育可能是通过影响基因型的表达间接实现的。

乙烯硫脲诱导形成的 ARM 动物模型,Shh、HoxD13 的表达呈时间相关改变,Shh 在泄殖腔分隔成直肠和尿道的时间点表达下降^[29]。而 Shh 通路通常被认为在泄殖腔分化阶段发挥重要作用。HoxD13 的表达水平在孕 13~16 d 即显著下降,而不是在正常的孕 18~21 d^[30]。在孕 18~19 d, Wnt5a 蛋白表达呈现空间依赖性,在后肠中段仍表现阶梯性增加趋势,但在后肠末端则表达减弱^[31]。在全反维甲酸诱导形成的动物模型,直肠肛门黏膜层的 Shh 和间质层的 BMP4 表达减弱。

乙炔甲硝基脲(Ethyl nitrourea,ENU)诱导形成的 ARM 胎鼠模型,多表现为 VACTERL 综合征及 currarino 综合征,可检测到蛋白质转化酶 pcsk5 的基因突变及编码蛋白功能异常,而 pcsk5 可水解、激活 BMP4 及 GDF11 等转化生化因子(TGF- β)家族成员,同时 pcsk5 和 GDF11 的协同作用还可影响 Hox 基因对后肠的调控作用。

直肠肛门畸形是一种多重因素共同作用导致的复杂疾病。很多情况下,直肠肛门畸形是一种独立疾病,但也可可是复杂综合征的一种症状,因此很难用单一理论来揭示其发病机制。在人类,特别是胎儿期,由于伦理等因素很难得到有价值的证据,基因测序技术、微阵列芯片技术的发展可能为研究人体基因突变提供有利帮助。相对于基因因素,环境因素也应给予同等的重视,特别是在空气雾霾、环境污染严重的情况下。环境因素产生的影响较基因因素更易预防干预,但因种族、地域、易感性等干扰因素多,区域性、小样本的试验很难归纳出有价值的结论,大规模多中心的病例-对照试验仍需开展,以进一步筛选可能导致直肠肛门畸形相关的环境因素,促进预防工作的开展。

参考文献

- 1 Stoll C, Alembik Y, Dott B, et al. Associated malformations in patients with anorectal anomalies [J]. Eur J Med Genet, 2007, 50(4): 281-290.
- 2 施诚仁. 重视先天性肛门直肠畸形术后并发症治疗与长期转归问题[J]. 临床小儿外科杂志, 2007, 6(1): 3-4.
- 3 张震, 吴黎明. 先天性肛门直肠畸形术后排便功能评估标准[J]. 临床小儿外科杂志, 2008, 7(4): 52-54.
- 4 Carter TC, Kay DM, Browne ML, et al. Anorectal atresia and

- variants at predicted regulatory sites in candidate genes [J]. *Ann Hum Genet*, 2013, 77(1): 31–46.
- 5 Wong EH, Cui L, Ng CL, et al. Genome-wide copy number variation study in anorectal malformations [J]. *Hum Mol Genet*, 2013, 22(3): 621–361.
 - 6 Van Maldergem L, Siitonen HA, Jalkh N, et al. Revisiting the craniosynostosis-radial ray hypoplasia association: Baller-Gerold syndrome caused by mutations in the RECQL4 gene [J]. *J Med Genet*, 2006, 43(2): 148–152.
 - 7 Waller DK, Shaw GM, Rasmussen SA, et al. Prepregnancy obesity as a risk factor for structural birth defects [J]. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 2007, 161(8): 745–750.
 - 8 Stothard KJ, Tennant PW, Bell R, et al. Maternal overweight and obesity and the risk of congenital anomalies: a systematic review and meta-analysis [J]. *JAMA*, 2009, 301(6): 636–650.
 - 9 Parker SE, Werler MM, Shaw GM, et al. Dietary glycemic index and the risk of birth defects [J]. *Am J Epidemiol*, 2012, 176(12): 1110–1120.
 - 10 Wijers CH, van Rooij IA, Bakker MK, et al. Anorectal malformations and pregnancy-related disorders: a registry-based case-control study in 17 European regions [J]. *BJOG*, 2013, 120(9): 1066–1074.
 - 11 Tinker SC, Reefhuis J, Dellinger AM, et al. Maternal injuries during the periconceptional period and the risk of birth defects, National Birth Defects Prevention Study, 1997–2005 [J]. *Paediatr Perinat Epidemiol*, 2011, 25(5): 487–496.
 - 12 Lin S, Munsie JP, Herdt-Losavio ML, et al. Maternal asthma medication use and the risk of selected birth defects [J]. *Pediatrics*, 2012, 129(2): 317–324.
 - 13 Browne ML, Rasmussen SA, Hoyt AT, et al. Maternal thyroid disease, thyroid medication use, and selected birth defects in the National Birth Defects Prevention Study [J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2009, 85(7): 621–628.
 - 14 Huang Y, Zheng S. The effect of vitamin A deficiency during pregnancy on anorectal malformations [J]. *J Pediatr Surg*, 2011, 46(7): 1400–1405.
 - 15 Myers MF, Li S, Correa-Villasenor A, et al. Folic acid supplementation and risk for imperforate anus in China [J]. *Am J Epidemiol*, 2001, 154(11): 1051–1056.
 - 16 Sheridan E, Wright J, Small N, et al. Risk factors for congenital anomaly in a multiethnic birth cohort: an analysis of the Born in Bradford study [J]. *Lancet*, 2013, 382(9901): 1350–1359.
 - 17 Zwink N, Jenetzky E, Brenner H. Parental risk factors and anorectal malformations: systematic review and meta-analysis [J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2011, 6: 25.
 - 18 Pasternak B, Svanstrom H, Molgaard-Nielsen D, et al. Metoclopramide in pregnancy and risk of major congenital malformations and fetal death [J]. *JAMA*, 2013, 310(15): 1601–1611.
 - 19 Carter TC, Druschel CM, Romitti PA, et al. Antifungal drugs and the risk of selected birth defects [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2008, 198(2): 191. 1–7.
 - 20 Kubota Y, Shimotake T, Iwai N. Congenital anomalies in mice induced by etretinate [J]. *Eur J Pediatr Surg*, 2000, 10(4): 248–251.
 - 21 Pitera JE, Smith VV, Woolf AS, et al. Embryonic gut anomalies in a mouse model of retinoic Acid-induced caudal regression syndrome: delayed gut looping, rudimentary cecum, and anorectal anomalies [J]. *Am J Pathol*, 2001, 159(6): 2321–2329.
 - 22 Sasaki Y, Iwai N, Tsuda T, et al. Sonic hedgehog and bone morphogenetic protein 4 expressions in the hindgut region of murine embryos with anorectal malformations [J]. *J Pediatr Surg*, 2004, 39(2): 170–173.
 - 23 Arana J, Villanueva A, Guarch R, et al. Anorectal atresia. An experimental model in the rat [J]. *Eur J Pediatr Surg*, 2001, 11(3): 192–195.
 - 24 Dawrant MJ, Giles S, Bannigan J, et al. Adriamycin produces a reproducible teratogenic model of vertebral, anal, cardiovascular, tracheal, esophageal, renal, and limb anomalies in the mouse [J]. *J Pediatr Surg*, 2007, 42(10): 1652–1658.
 - 25 Jiang JT, Sun WL, Jing YF, et al. Prenatal exposure to di-n-butyl phthalate induces anorectal malformations in male rat offspring [J]. *Toxicology*, 2011, 290(2–3): 322–326.
 - 26 Zhu H, Kartiko S, Finnell RH. Importance of gene-environment interactions in the etiology of selected birth defects [J]. *Clin Genet*, 2009, 75(5): 409–423.
 - 27 Botcher RT, Niehrs C. Fibroblast growth factor signaling during early vertebrate development [J]. *Endocr Rev*, 2005, 26(1): 63–77.
 - 28 Roberts DJ, Smith DM, Goff DJ, et al. Epithelial-mesenchymal signaling during the regionalization of the chick gut [J]. *Development*, 1998, 125(15): 2791–2801.
 - 29 Mandhan P, Beasley S, Hale T, et al. Sonic hedgehog expression in the development of hindgut in ETU-exposed fetal rats [J]. *Pediatr Surg Int*, 2006, 22(1): 31–36.
 - 30 Dan Z, Bo ZZ, Tao Z, et al. Hoxd-13 expression in the development of hindgut in ethylenethiourea-exposed fetal rats [J]. *J Pediatr Surg*, 2010, 45(4): 755–761.
 - 31 Mandhan P, Quan QB, Beasley S, et al. Sonic hedgehog, BMP4, and Hox genes in the development of anorectal malformations in Ethylenethiourea-exposed fetal rats [J]. *J Pediatr Surg*, 2006, 41(12): 2041–2045.