

• 综述 •

先天性马蹄内翻足的基因研究进展

杜香平 综述 吴欣乐 审校

先天性马蹄内翻足 (congenital idiopathic club-foot, CIF) 是常见的儿童先天畸形之一, 不同人群发病率有很大差异, 全世界约为 1%, 男女比例约为 2 ~ 2.5 : 1^[1-2]。主要包括前足内收、跟骨内翻、踝关节下垂、胫骨内旋。病因尚不十分清楚, 与遗传、宫内发育、环境等因素有关。不同种族患病率不同, 中国人患病率为 0.39%, 夏威夷人和毛利人为 7%^[3-4]; 马蹄内翻足家族第一代发病率为 2.9%, 较正常人约高 25 倍^[5]; 同样的宫内环境, 两位同胞同时患病在双卵双生子中仅为 2.9%, 而单卵双生的概率为 32.5%^[6]。这些流行病学调查说明: 先天性马蹄内翻足的成因与遗传因素密切相关。近年来发现多基因遗传在先天性马蹄内翻足的发生、发展过程中起重要作用。现综述如下。

一、Hox 基因

Hox 基因家族是一个高度保守的成簇存在的同源异型盒基因家族, 由 39 个 Hox 基因组成, 并分为 A、B、C、D 四簇, 每一个族位于不同的染色体 (7、17、12、2) 中, 包含 9 ~ 10 个基因。该家族在胚胎发育阶段基本体轴和次级体轴的形成中起作用, 具有一段长约 180 bp 的同源序列, 所编码的 60 个氨基酸构成同源结构域结合特定的 DNA 序列去调控附件的靶基因而发挥转录调控作用^[7]。从进化角度看, 四个 Hox 基因家族中, HoxD 最古老, HoxB 和 HoxC 较年轻, HoxA 和 HoxD 在调节肢体形成中起重要作用^[8]。Hox 基因在肢体发生中的基本作用包括: 调节软骨细胞增殖分化起始时间和速率; 调节未分化间充质的增殖; 参与间充质凝集形成原生质的原基; 参与软骨细胞的组建^[9]。

先天性马蹄内翻足与骨骼、肌肉、软组织、神经和血管等发育异常有关, 而 Hox 基因调节神经、肌肉、骨骼和血管形成。王大佳等^[10]对 32 个 CIF 家系的 96 名成员进行基因型分析, 并进行传递连锁不平衡检验, 提出 HoxD 基因很可能是先天性马蹄内

翻足的易感基因。提出 Hox 基因引起先天性马蹄内翻足的机制为: ①Hox 基因通过纤维生长因子来调节肢体的形成、肢体的肌肉发生及神经支配, 如 Hox 基因异常可导致足肌肉神经支配异常, 肌肉营养不良, 或小腿肌肉的肌纤维类型和数量异常, 从而导致畸形发生; ②影响骨骼的发育, 使骨化沟发育紊乱, 软骨通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; ③导致血管发育缺陷, 发生缺血和 (或) 血栓形成导致缺氧, 影响肢芽的形成而发生畸形。

近年研究发现, 单个 Hox 基因突变不会引起先天性马蹄内翻足的发生。Gurnett CA 等^[11]对 199 个足部畸形的患者 (包括 177 个先天性马蹄内翻足, 10 个垂直距骨, 3 个既有先天性马蹄内翻足又有垂直距骨) 进行基因分析, 发现 HoxD10 突变不会引起先天性马蹄内翻足的发生。Ester AR 等^[12]的实验也证实上述观点, 认为 Hox 基因与细胞凋亡基因相互作用影响肌肉和下肢的发育, 从而导致马蹄内翻足畸形。为先天性马蹄内翻足的发生、发展与多基因遗传有关提供了依据。

二、PITX1 基因

同源异型结构域蛋白转录因子 (PITX) 家族共有 3 个, 分别为 PITX1、PITX2、PITX3。目前研究认为, 这个家族中, 与下肢发育有关的有 PITX1 基因和 PITX2 基因, 主要是 PITX1 基因。PITX1 基因最早于 1996 年 Iamonerie 等^[13]在果蝇中发现, 是一种激活阿片黑色素前体转录的基因, 后来命名为成对同源异型结构域蛋白转录因子 1^[14]。其参与脑垂体、鳃弓衍生和发展, 并且在侧板中胚层后半期表达, 对下肢的发育过程有重要作用^[14-15]。PITX1 基因主要在下肢的发育中表达, 而在上肢很少表达^[16-17]; 有研究发现, 老鼠的发育过程中丧失了 PITX1 基因的表达, 将会出现下肢的形态及骨骼特征向上肢发展^[18]; 在生物进化中, PITX1 基因表达的变化改变了脊椎动物种群的骨盆形态^[19]。这些都说明 PITX1 基因在下肢发育过程中起重要作用。

此外, PITX1 基因表达异常可引起右下肢畸形

发病率高于左下肢,亦说明其在下肢发育过程中所起的重要作用。PITX1 基因突变会导致人类以右下肢多见的下肢畸形^[20];当其表达丧失会导致刺鱼右侧骨盆减少更多^[19];研究发现,其不表达也会引起实验鼠的股骨短缩和右足数量上减少^[18]。这种不对称性的原因是当 PITX1 表达丧失时,PITX2 基因被激活^[21]。该基因在左侧中胚层的表达通过 Nodal 信号通路引起器官左右不对称^[22]。这种 Wiedemann 和 Opitz 提出的“发育抵抗机制”使得左下肢在 PITX1 基因突变时受到保护,从而右下肢畸形的发病率高于左侧^[23]。

April DeLaurier 等^[24]用 3D 成像技术发现,PITX1 基因决定下肢肌肉、肌腱和骨骼的形态,其对下肢的作用主要包括以下方面:①影响胚胎软骨的形态;②影响肌细胞向肌束组织的转变;③影响肌腱细胞在骨骼与肌肉之间的迁移和附着;④促使腕部三角骨、豌豆骨向跟骨发育;⑤将食指固有肌转变为足趾短伸肌。PITX1 基因还参与调节 HoxC10 和 Tbx4 表达,且参与调节在极化活性带(ZPA)的信号分子 Sonic Hedgehog(Shh,在胚胎发育过程中起关键作用的信号分子)的表达,这种调节在上下肢不同(Shh 在上肢的表达下降,而在下肢大量表达)^[24]。同时,PITX1 基因还通过 c-Abl(非受体酪氨酸激酶)参与细胞凋亡^[25]。而细胞凋亡可能与先天性马蹄内翻足的病因有关。

先天性马蹄内翻足约 50% 为双侧,在单侧畸形中大部分为右足,这与 PITX1 E130K 基因突变导致人类以右下肢为多见的下肢畸形相吻合,为 PITX1 基因是先天性马蹄内翻足的易感基因提供了依据。Christina A 等^[20]对一个主要有先天性马蹄内翻足的下肢畸形 5 代家族 13 个成员进行了基因组分析,发现下肢畸形与 PITX1 基因突变有关,一个错义核苷酸突变 c. 388G→A,导致赖氨酸替代了谷氨酸(E130K),PITX1 E130K 突变基因导致野生 PITX1 基因转录萤虫素酶活性的降低,同时 PITX1 E130K 突变蛋白抑制野生 PITX1 基因的转录。因此,PITX1 可能与马蹄内翻足的病因有关。

三、DTDST 基因

骨畸形发育不良硫酸盐转移因子(DTDST)是一种跨膜硫酸盐转移因子^[26]。是正常的野生型骨畸形发育不良基因编码的一种功能性硫酸盐转移因子,编码区域包括 2 217 个碱基,编码产物为含有 739 个氨基酸的蛋白,分子量为 82 kDa,广泛存在所有组织中。观察到 DTDST 基因突变超过 30 种不同

的突变,其中 C862T/R279W 突变是最常见的一种。DTDST 突变可引起四类软骨发育不全疾病:①软骨成长不全 1B(ACG-IB);②骨发育不全症 II 型(Ao-II);③骨畸形发育不良(DTD);④常染色体隐性遗传性多发性骨骺发育不良^[27-28]。吴欣乐等^[29]对 40 例先天性马蹄内翻足患儿和 10 例正常对照儿童的 DTDST 基因进行提取和分析,发现先天性马蹄内翻足可能与 DTDST 基因突变有关。

四、NAT2 基因

研究发现,吸烟与先天性马蹄内翻足有关,特别是有阳性家族史者,其发病率明显增加^[30-31]。近期研究发现,怀孕期间吸烟数量增加,这种危险性也将增加,且孕妇主动吸烟要大于被动吸烟。如果有先天性马蹄内翻足阳性家族史的患者母亲在怀孕期间吸烟,其患先天性马蹄内翻足的几率更高^[32]。

N-乙酰基转移酶(NAT)是最早发现的呈多态分布的代谢酶基因,是外源性物质的重要代谢转移酶,能将外源性物质进行生物转化,这些物质包括烟草、涂料、某些药物和杀虫剂^[33]。人类 NAT 有两种同功酶,NAT1 和 NAT2,NAT2 又分为快乙酰化型和慢乙酰化型。NAT2 基因有 3 种最主要的突变等位基因:M1、M2、M3,导致 N-乙酰基转移酶活性降低,称为慢乙酰化等位基因。NAT2 基因野生型与任何一种突变等位基因(M1、M2、M3)杂合形成快乙酰化等位基因型,任何两种突变等位基因(M1、M2、M3)纯合形成慢乙酰化等位基因型。吸烟产生芳香胺需要代谢酶转化代谢,乙酰化的快慢对芳香胺的代谢是非常重要的。

Jacqueline T Hecht 等^[32]对 NAT2 变化与先天性马蹄内翻足的关系进行研究,发现 NAT2 突变等位基因增多,使慢 NAT2 乙酰化酶明显增多,认为慢 NAT2 乙酰化酶明显增多是先天性马蹄内翻足的一个危险因素。推测其机制^[32-35]:怀孕的母亲吸烟(包括被动吸烟)时,患儿体内的 4-苯基苯胺(与烟草相关的人类致癌物)血红蛋白复合物将升高,而 4-苯基苯胺血红蛋白复合物升高又会使慢乙酰化酶增多,芳香胺代谢下降。而 4-苯基苯胺血红蛋白复合物可能干扰了正常的发育过程。

目前公认的是,先天性马蹄内翻足的发生是遗传因素与环境因素共同作用的结果。探讨其如何相互作用引起先天性马蹄内翻足,可为先天性马蹄内翻足的预防和治疗提供依据。目前国内外对先天性马蹄内翻足有关基因进行了广泛和深入研究,但是还未确定哪些因素起决定性作用,很多基因间的相

互作用机制和环境与基因之间的作用机制仍有待进一步研究。

参考文献

- Wynne Davies, R. Genetic and environmental factors in the etiology of talipes equinovarus[J]. Clin Orthop, 1972, 84: 9-13.
- Lochmiller C, Johnston D, Scott A, et al. Genetic epidemiology study of idiopathic talipes equinovarus[J]. Am J Med Genet, 1998, 79(2): 90-96.
- Pandey S, Pandey AK. The Classification of clubfoot practical approach[J]. The Foot, 2003, 13: 61-65.
- Beals, R K. Club foot in the Maori: A genetic study of 50 kindreds[J]. N Z Med J, 1978, 88: 144-146.
- Lochmiller C, Johnston D, Scott A, Risman M, Hecht JT. Genetic epidemiology study of idiopathic talipes equinovarus[J]. Am J Med Genet, 1998, 79(2): 90-96.
- Lome T, Lawellin D, Smith D, et al. Platelet calmodulin levels in adolescent idiopathic scoliosis: do the levels correlate with curve progression and severity? [J]. Spine, 2002, 32: 2703-10.
- Goodman FR, Scambler PJ. Human HOX gene mutations[J]. Clin Genet, 2001, 59: 1-11.
- Suemori H, Noguchi S. HoxC cluster genes are dispensable for overall body plan of mouse embryonic development[J]. Deve Biol, 2000, 220: 333-342.
- Randy L, Johnson, Clifford J. Molecular models for vertebrate limb development[J]. Cell, 1997, 90: 979-990.
- 王大伟, 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[J]. 中华小儿外科杂志, 2003, 24: 348-350.
- Gurnett CA, Keppel C, Bick J, Bowcock AM, Dobbs MB. Absence of HOXD10 mutations in idiopathic clubfoot and sporadic vertical talus[J]. Clin Orthop Relat Res, 2007, 462: 27-31.
- Ester AR, Weymouth KS, Burt A, et al. Altered transmission of HOX and apoptotic SNPs identify a potential common pathway for clubfoot[J]. Am J Med Genet Part A, 2009, 149A(12): 2745-52.
- Lamonerie T, Tremblay JJ, Lanett C, et al. Ptx1, a bicoid-related homeo box transcription factor involved in transcription of the pro-opiomelanocortin gene[J]. Genes Dev, 1996, 10: 1284-95.
- Lanett C, Moreau A, Chamberland M, et al. Hindlimb patterning and mandible development require the Ptx1 gene[J]. Development, 1999, 126(9): 1805-10.
- Reginald V, Jan B, Kumari W, et al. Increased CDX2 and decreased PITX1 homeobox gene expression in Barrett's esophagus and barrett's associated adenocarcinoma[J]. Surgery, 2005, 138(5): 924-931.
- Szeto DP, Ryan AK, O'Connell SM, et al. P-OTX: A PIT-1-interacting homeodomain factor expressed during anterior pituitary gland development[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93(15): 7706-7710.
- Lancot C, Lamolet B, Drouin J. The bicoid-related homeo-protein Ptx1 defines the most anterior domain of the embryo and differentiates posterior from anterior lateral mesoderm[J]. Development, 1997, 124: 2807-2817.
- Szeto DP, Rodriguez-Esteban C, Ryan AK, et al. Role of the Bicoid-related homeodomain factor Pitx1 in specifying hindlimb morphogenesis and pituitary development[J]. Genes Dev, 1999, 13: 484-494.
- Shapiro MD, Marks ME, Peichel CL, et al. Genetic and developmental basis of evolutionary pelvic reduction in threespine sticklebacks[J]. Nature, 2004, 428: 717-723.
- Christina A, Gurnett, Farhang Alaei, et al. Asymmetric Lower-Limb Malformations in Individuals with Homeobox PITX1 Gene Mutation[J]. The American Journal of Human Genetics, 2008, 83(5): 616-22.
- Marcel A, Dumontier E, Chamberland M, et al. J Pitx1 and Pitx2 are required for development of hindlimb buds[J]. Development, 2003, 130: 45-55.
- Ketan Patel, Alison Isaac, Jonathan Cooke. Nodal signalling and the roles of the transcription factors SnR and Pitx2 in vertebrate left - right asymmetry [J]. Current Biology, 1999, 9: 609-612.
- Wiedemann HR, Opitz JM. Brief clinical report: Unilateral partial tibia defect with preaxial polydactyly, general micromelia, and trigonmacrocephaly with a note "on developmental resistance" [J]. Am J Med Genet, 1983, 14(3): 467-471.
- April DeLaurier, Ronen Schweitzer, Malcolm Logan. Pitx1 determines the morphology of muscle, tendon, and bones of the hindlimb[J]. Developmental Biology, 2006, 299(1): 22-34.
- Tomoko Yamaguchi, Yoshio miki, Kiyotsugu Yoshida. The c-Abl tyrosine kinase stabilizes Pitx1 in the apoptotic response to DNA damage[J]. Apoptosis, 2010, 15: 927-935.
- Galante LL, Schwarzbauer JE. A Role for DTDST and Syndecan-2 in Fibronectin Matrix Assembly [J]. ASMB Meeting Abstracts/Matrix Biology, 2006, 25: S1-S94.
- Superti Furga A, Neumann I, Riebel T, et al. Recessively Inherited Multiple Epiphyseal Dysplasia with Normal Stature, Club Foot and Double Layered Patella Caused by a DTDST-Mutation[J]. J Med Genet, 1999, 36: (下转第 472 页)