

• 综述 •

Vangl 基因与神经管缺陷的研究进展

徐 织¹ 综述 鲍 南¹ 王 剑² 审校

神经管缺陷 (Neural Tube Defects, NTDs) 是中枢神经系统严重的先天性缺陷 (约为 1/1 000 活产婴儿)^[1]。我国是 NTDs 的高发国家之一, 北方较南方发病率高, 农村较城市高, 男女发病比例约为 0.6 ~ 0.9 : 1^[2]。NTDs 是一种复杂的多基因疾病。有研究认为, 孕前服用叶酸可使 NTDs 的发病率降低 50% ~ 70%^[3]。5-10-亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与叶酸代谢以及和同型半胱氨酸蓄积之间的相互作用与 NTDs 发生率的增加有密切关系。但是人类 NTDs 的确切致病基因还不十分清楚, 动物模型研究显示 Looptail (LP) 小鼠基因 *Vangl 2* 的突变可表现为一种严重的 NTDs: 颅脊柱裂^[4]。最近 Ki-bar 等^[5-6] 在人 NTDs 患者先后发现了多种独立 *Vangl 1* 基因突变, 提示 *Vangl 1* 与 NTDs 密切相关。

一、Vangl 的发现与结构

1998 年 Taylor 等^[7] 首先在果蝇中克隆出 *Vangl* 基因。根据表型的不同, 最先发现的基因被命名为 *Sstbm* 或 *Vangl*^[7-8]。在以后的研究中, 人们发现 *Vangl* 的亚型因种属而异。在人类、鱼类及小鼠中 *Vangl* 存在 2 个亚型, 分别是 *Vangl 1* 和 *Vangl 2*, 而在两翼昆虫和蠕虫类只有一种 *Vangl*, 在青蛙中则只发现了 *Vangl 2* 的同系物。

Vangl 1 定位在小鼠染色体的 3qF2.2、人类的 1p13.1, 而 *Vangl 2* 定位在小鼠染色体的 1qH3、人类的 1q23.2, 都是 *Stbm/Vangl* 的同系物。脊椎动物的 *Vangl 1* 和 *Vangl 2* 蛋白属于高度保守的膜蛋白, 由 521 个氨基酸组成, 包括 4 个跨膜区和胞浆区, 1 个 PDZ 结构域。4 个跨膜区分别位于氨基酸序列的 114-134、152-172、186-206、222-242 残基端。胞浆区的 PDZ 结构域则与其他蛋白质的结合有关。在生物进化过程中, N 端胞质区的 Ser 簇结构域及 C 端胞质尾区的 PDZ 结构域是非常保守的^[9]。

二、Vangl 的功能

对于不同种类动物来说, 在其发育过程中, 保

持不同细胞类型在一定时间和空间上的极性非常重要。研究显示 *Vangl* 蛋白在神经胚形成时, 对建立 PCP 和调节 CE 过程起关键性作用。PCP 是通过一种非经典的 Fz/Dvl 通路控制, 在这个过程中涉及了一系列的核心基因, 包括 *Stbm/Vangl*、受体 Fz、非典型的钙粘蛋白 *Stan/Fml*、及胞浆蛋白 *Dsh/Dvl* 和 *Pk*^[10-11]。这些基因在原肠胚和神经胚形成过程中相互作用, 共同调控细胞延伸过程中的形态发生。如果在 PCP 过程中, *Vangl* 基因受到干扰, 就会导致高度组织特异性的上皮结构失去正常的极性, 从而有可能导致不同程度神经管缺陷的发生。研究显示, 在生理状态下, *Vangl 1* 和 *Vangl 2* 与细胞质中 Dishevelled (Dvl) 蛋白家族的 3 个成员 (*Dvl1*、*Dvl2* 及 *Dvl3*) 相互作用, 形成膜结合信号复合物, 从而将信息传递到胞内。实验证实这种相互作用依赖于 *Vangl 1*、*Vangl 2* 蛋白的胞质 C 端部分以及 Dvl 蛋白 PDZ 及 DIX 结构。而且, 导致神经管缺陷的 *Vangl 1*、*Vangl 2* 功能缺失突变, 同时也损害了与 Dvl 家族 3 成员结合功能^[5, 12]。而 CE 是指细胞移动并相互镶嵌而引起组织形态的重塑, 其结果是组织在中轴部位变窄, 在垂直部位延伸。神经管闭合时, CE 使背部中轴旁的间充质细胞和神经上皮细胞变得有极性、迁移并相互嵌入, 从而使上皮细胞在前-后轴方向上延长, 在中轴上缩窄^[13-14]。在神经管形成过程中, 如果 CE 过程失败, 会出现中线部位神经板严重增宽, 使神经褶由于相距太远不能愈合, 从而引起神经管缺陷的发生^[13, 15]。LP 突变小鼠的表型与 CE 过程失败相符合, 因为 LP 突变小鼠同样也表现为中轴变短, 神经板增宽, 神经管未闭合^[14, 16]。

三、Vangl 与神经管缺陷

利用扫描技术, 人们发现在人类孕第 8、10 周能检测到 *Vangl* 的广泛存在, 在小鼠的 E7.5 到 E16.5 也能检测到 *Vangl 1* 的存在, 而且表现为一种动态表达模式^[17]。在 E8.5, 与 *Vangl 2* 相比, *Vangl 1* 在正常胚胎的后脑至神经管闭合的起始点之间均有表达, 且从头端到尾端表达增加, 但在 LP/LP 胚胎中的表达却是阴性。因此, 此阶段神经管闭合障碍可

能与 *Vangl 1* 表达下调有关^[4]。在 E9.0 时, *Vangl 1* 在 LP/LP 及正常型胚胎中的表达相同, 主要限制在神经管头端的底板区, 而 *Vangl 2* 出现在神经上皮的侧翼, 在底板区缺乏。这些均表明在神经管发育过程中, 虽然 *Vangl 1* 和 *Vangl 2* 都有表达, 但它们的表达时间和空间有很大差异, 这也许可以解释为什么斑马鱼 *Vangl 1* 的异位表达部分抑制 *tri(Vangl 2)* 突变时原肠胚形成时的缺陷, 而不是全部。

众所周知, 全反式维甲酸能够导致实验动物神经管缺陷的发生, 而根据刘坚等^[17]的研究, 在维甲酸诱导的神经管缺陷动物, 早期使用维甲酸(E9.5)导致 *Vangl 1* 和 *Vangl 2* 表达显著下调, 从颅侧到尾端神经孔均显著下调, 并且这种微弱的表达水平持续到出生。稍后使用维甲酸(E10.5)的影响方式较为复杂: *Vangl 1* 和 *Vangl 2* 基因的表达在头侧中度下调, 但在尾侧却显著下调。这表明 *Vangl 1*、*Vangl 2* 与维甲酸诱导的神经管缺陷有关。

1. *Vangl 1* 与神经管缺陷: 过去在神经管缺陷患者中, 并没有检测到与疾病相关的 *Vangl 1* 特异性突变^[18]。但 2007 年 Kibar 等^[5]在家族性和散发性 NTDs 患者的 *Vangl 1* 基因中检测出 3 种独立的突变(p. Val239Ile, p. Arg274Gln, p. Met328Thr), 并推测在生物化学水平上, 可能是通过调节 Dvl 与胞膜的作用, 干扰了原肠胚形成和神经管闭合过程中的分子信号, 使 V239I 阻断了 *Vangl 1* 与 Dvl 之间的相互作用, 这个机理有待进一步实验验证。另一个重要的发现是 NTDs 患儿的母亲也存在 V239I, 但没有任何类型的 NTDs 发生, 且 V239I 的表型因人而异, 这与神经管缺陷是环境和基因联合作用的观点相符合。Kibar 等研究发现 R274Q 和 M238T 没有明显阻断 *Vangl 1* 与 Dvl 之间的相互作用。随后的研究发现了另外 5 种有意义的突变(p. Ser83Leu, p. Phe153Ser, p. Arg181Gln, p. Leu202Phe 和 p. Ala404Ser), 更加证实了 *Vangl 1* 与 NTDs 有密切的关系^[6]。由于目前发现的 *Vangl 1* 的所有突变都是杂合的, 推测这些突变的基因可能是丧失了部分功能, 或者是与其他基因或环境因素相互作用, 从而影响了神经管缺陷的发生类型。

2. *Vangl 2* 与神经管缺陷: 已经证明 LP 小鼠 *Vangl 2* 基因的突变可以导致严重的神经管缺陷^[4]。目前关于 LP 小鼠 *Vangl 2* 基因的自然突变(S464N)和化学诱导突变(D255E)已有报道, 这 2 种突变均发生在 *Vangl 2* 的胞浆区, 是 *Vangl* 蛋白家族中高度保守的(Ser-464)或(Asp-255)区域^[12]。有研究

证实突变 D255E 主要位于胞内的内质网, 而胞膜上很少^[19]。在这两种基因突变中, 杂合体(LP/+)和纯合体(LP/LP)的每个等位基因都具有相同的表型, 推测 *Vangl 2* 途径的突变可能是基因-蛋白剂量依赖性的, 因为这种突变是以共显性的方式遗传: LP/+ 杂合体表现为泌尿生殖系统的缺陷和以环状尾为特征; LP/LP 纯合体小鼠既有环尾, 也有严重的颅脊柱裂。实验已经证明在 LP 突变小鼠中, S464N 和 D255E 突变能明显减弱 *Vangl 2* 与 Dvl 蛋白之间的相互作用^[13]。

哺乳动物的 *Vangl 1* 和 *Vangl 2* 是高度保守的膜蛋白, 约 70% 有同源性。斑马鱼 *Vangl 1* 的异位表达部分抑制 *tri(Vangl 2)* 突变时原肠胚形成时的缺陷, 同样, 在斑马鱼体内注射入 *Vangl 1* 的 mRNA 后能部分抑制 *tri/Vangl 2* 敲除小鼠的 CE 缺陷^[20-21], 这些现象说明 *Vangl 1* 和 *Vangl 2* 不仅具有相似的生物学活性, 而且都与神经管畸形有关。对于神经管缺陷患儿, 已明确存在 *Vangl 1* 基因突变, 但是由于神经管缺陷表型的可变性, 以及研究数量的有限性, 还不能将不同类型的神经管缺陷与不同的基因突变对应起来。另外, 是不是神经管缺陷的程度不同, 基因突变也有显著的差异? 小鼠 *Vangl 2* 基因的突变可以导致以“环尾”为特征的严重神经管缺陷-颅脊柱裂。这种模型小鼠不仅存在 *Vangl 2* 功能的部分或全部丧失, 而且基因突变导致了 *Vangl 2* 蛋白与 Dvl 蛋白之间相互作用的减弱。

神经管缺陷是一种复杂的多基因病, 严重威胁着患者的生命和生活质量, 在现有研究基础上进一步明确 *Vangl* 的各种突变在神经管缺陷的发生发展过程中所起的作用, *Vangl 1* 和 *Vangl 2* 在神经管缺陷的发生发展中的相互作用, *Vangl* 与其他基因或环境因素是否相互作用等, 可为发现新的治疗方法提供线索, 有着十分重要的意义。

参考文献

- 1 Detrait ER, George TM, Etchevers HC, et al. Human neural tube defects: developmental biology, epidemiology, and genetics[J]. Neurotoxicol Teratol, 2005, 27(3): 515-524.
- 2 代礼, 朱军, 周光萱, 等. 1996~2000 年全国神经管缺陷的动态监测[J]. 中华预防医学杂志, 2002, 36(6): 402-405.
- 3 Van der Linden IJ, Afman LA, Heil SG, et al. Genetic variation in genes of folate metabolism and neural-tube defect risk[J]. Proc Nutr Soc, 2006, 65(2): 204-215.
- 4 Murdoch JN, Doudney K, Patemotte C, et al. Severe neural

- tube defects in the loop - tail mouse result from mutation of *Lpp1*, a novel gene involved in floor plate specification[J]. *Hum Mol Genet*, 2001, 10(22): 2593-2601.
- 5 Kibar Z, Torban E, McDearmid JR, et al. Mutations in *Vangl1* associated with neural-tube defects[J]. *N Engl J Med*, 2007, 356(14): 1432-1437.
 - 6 Kibar Z, Bosoi CM, Kooistra M, et al. Novel Mutations in *Vangl1* in Neural Tube Defects[J]. *Hum Mutat*, 2009, 30(7): E706-715.
 - 7 Wolff T, Rubin GM. *Strabismus*, a novel gene that regulates tissue polarity and cell fate decisions in *Drosophila*[J]. *Development*, 1998, 125(6): 1149-1159.
 - 8 Katoh Y, Katoh M. Comparative genomics on *Vangl1* and *Vangl2* genes[J]. *Int J Oncol*, 2005, 26(5): 1435-1440.
 - 9 Gubb D, Green C, Huen D, et al. The balance between isoforms of the prickle LIM domain protein is critical for planar polarity in *Drosophila* imaginal discs[J]. *Genes Dev*, 1999, 13(17): 2315-2327.
 - 10 Usui T, Shima Y, Shimada Y, et al. Flamingo a seven-pass transmembrane cadherin regulates planar cell polarity under the control of *Frizzled*[J]. *Cell*, 1999, 98(5): 585-595.
 - 11 Torban E, Wang HJ, Groulx N, et al. Independent mutations in mouse *Vangl2* that cause neural tube defects in looptail mice impair interaction with members of the Dishevelled family[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(50): 52703-52713.
 - 12 Keller R. Shaping the vertebrate body plan by polarized embryonic cell movements[J]. *Science*, 2002, 298(5600): 1950-1954.
 - 13 Simons M, Mlodzik M. Planar cell polarity signaling: from fly development to human disease[J]. *Annu Rev Genet*, 2008, 42: 517-540.
 - 14 Wallingford JB, Rowling BA, Vogeli KM, et al. Dishevelled controls cell polarity during *Xenopus* gastrulation[J]. *Nature*, 2000, 405(6782): 81-85.
 - 15 Kibar Z, Underhill DA, Canonne-Hergaux F, et al. Identification of a new chemically induced allele (LP) at the loop-tail locus: morphology, histology, and genetic mapping[J]. *Genomics*, 2001, 72(3): 331-337.
 - 16 Torban E, Patenaude AM, Leclerc S, et al. Genetic interaction between members of the *Vangl* family causes neural tube defects in mice[J]. *Proc Natl Acad Sci S A*, 2008, 105(9): 3449-3454.
 - 17 刘坚, 戚静, 祝捷, 等. 维甲酸对胎鼠 *Vangl 1* 及 *Vangl 2* 基因表达的影响[J]. *中国优生与遗传杂志*. 2008, 16(3): 23-26.
 - 18 Doudney K, Ybot-Gonzalez P, Paternotte C, et al. Analysis of the planar cell polarity gene *Vangl2* and its co-expressed paralogue *Vangl1* in neural tube defect patients[J]. *Am J Med Genet A*, 2005, 136(1): 90-92.
 - 19 Gravel M, Iliescu A, Horth C, et al. Molecular and cellular mechanisms underlying neural tube defects in the looptail mutant Mouse[J]. *Biochemistry*, 2010, 49(16): 3445-3455.
 - 20 Jessen JR, Solnica-Krezel L. Identification and developmental expression pattern of *van gogh-like 1*, a second zebrafish *strabismus* homologue[J]. *Gene Expr Patterns*, 2004, 4(3): 339-344.
 - 21 Reynolds A, McDearmid JR, Lachance S, et al. *Vangl1* rare variants associated with neural tube defects affect convergent extension in zebrafish[J]. *Mech Dev*, 2010, doi: 10.1016/j.mod.2009.12.002.

• 消息 •

全国妇幼泌尿外科暨女性与小儿泌尿系结石研讨会通知

中华医学会泌尿外科专业委员会结石学组与中华妇幼外科网专家委员会研究决定, 拟于 2011 年 12 月 16~18 日, 在广州医学院第三附属医院召开全国妇幼泌尿外科暨女性与小儿泌尿系结石研讨会。会议主要议题: ①泌尿系结石研究进展; ②妊娠期合并泌尿系结石防治策略; ③小儿泌尿系结石诊疗研究; ④女性排尿功能障碍(尿频、尿急、尿失禁等)研究进展; ⑤妇产科手术泌尿器官副损伤的防治; ⑥腔镜技术在妇幼外科的应用; ⑦先天性泌尿生殖器畸形研究进展; ⑧妇幼泌尿系肿瘤研究进展; ⑨胎儿泌尿外科研究进展等。欢迎全国泌尿外科医师、妇幼保健医师、妇产科医师参加。

报名方式: 请将参会申请、姓名、单位、专业、邮箱地址发送至 13929974636@163.com 或 QQ: 1170802919 @qq.com 或手机短信发送至 13929974636 即可。报名截止日期: 2011 年 11 月 15 日。

投稿方式: 登陆中华妇幼外科网(www.chinesefysurg.com), 注册医学会员, 进入"妇幼外科学会"栏目, 将你的论文(摘要)发送至"百家争鸣"聊天室("我要发表"框)。投稿截止日期: 2011 年 12 月 8 日。

中华医学会泌尿外科专业委员会结石学组
中华妇幼外科网专家委员会
广州医学院第三附属医院