·专题·儿童足踝畸形的诊治·

先天性马蹄内翻足基因学研究进展

全文二维码

徐晨晨[1] 刘振江[2]

[1] 广州市妇女儿童医疗中心儿童骨科，广州 510623；[2] 首都儿科研究所附属儿童医院骨科，北京 100020

通信作者：刘振江，Email：lzjsdd@163.com

【摘要】 先天性马蹄内翻足（congenital talipes equinovarus，CTEV）是儿童最常见的骨骼肌肉出生缺陷畸形之一，临床特征包括跟骨内翻、前足内收、高弓足和后足跖屈畸形。目前 CTEV 的发病机制仍不清楚，不同的学说包括：神经细胞损伤、肌肉异常、血管缺陷、子宫内限制、遗传因素、特发性先天性畸形、基因－环境的相互作用、骨骼发育不良、细胞外基质异常、分子转运和代谢异常等。遗传因素对于 CTEV 的致病起着重要作用，但尚未发现主要的致病基因。普遍认为 CTEV 是环境因素和遗传因素共同作用的结果。现对 CTEV 致病基因的研究进展做一综述。

【关键词】 马蹄足畸形/先天性；马蹄足畸形/病因学；基因/遗传学

基金项目：首都儿科研究所所级课题（FX-2020-06）

DOI：10.3760/cma.j.cn101785-202008030-005

Research advances in genetics of congenital talipes equinovarus

Xu Chenchen[1], *Liu Zhenjiang*[2]

[1] *Department of Pediatric Orthopedics, Municipal Women & Children's Medical Center, Guangzhou 510623, China*; [2] *Department of Pediatric Orthopedics, Affiliated Children Hospital, Capital Institute of Pediatrics, Beijing 100020, China*

Corresponding author: Liu Zhenjiang, Email: lzjsdd@163.com

【Abstract】 Congenital talipes equinovarus (CTEV) has been one of the most common birth defects of skeletal muscle in children. Its pathogenesis is still elusive. Different theories cover nerve cell injury, muscle abnormality, vascular defect, intrauterine restriction, genetic factors, idiopathic congenital malformation, gene environment interaction, bone dysplasia, extracellular matrix abnormality, molecular transport and metabolic abnormality. Genetic factors play an important role in the etiology of CTEV. However, no major pathogenic gene has been identified. It is generally believed that environmental and genetic factors may interact. This review summarized the latest researches of CTEV pathogenic genes.

【Key words】 Equinus Deformity/CN; Equinus Deformity/ET; Genes/GE

Fund program: Project of Capital Institute of Pediatrics (FX-2020-06)

DOI: 10.3760/cma.j.cn101785-202008030-005

先天性马蹄内翻足（congenital talipes equinovarus，CTEV）是儿童最常见的骨骼肌肉出生缺陷畸形之一，临床特征包括跟骨内翻、前足内收、高弓足和后足跖屈畸形[1-3]。CTEV 的发病机制目前仍不清楚，可能与神经细胞损伤、肌肉异常、血管缺陷、子宫内限制、遗传因素、特发性先天性畸形、基因－环境相互作用、骨骼发育不良、细胞外基质（extracellular matrix，ECM）异常、分子转运和代谢异常等因素有关[4-5]。目前普遍认为，CTEV 是由环境因素和遗传因素共同作用所致[3,6-12]。研究发现，24%～50% 的 CTEV 患儿有家族史[7]。另外，Engell 等[13]在对 CTEV 双胞胎的研究中发现，单卵双胞胎患病概率一致性较异卵双胞胎更高（32% 比 2.9%），证明遗传因素在 CTEV 的发生中可能发挥重要作用。分子生物学研究发现，在 CTEV 患儿的肌肉及韧带组织中有许多基因及蛋白表达与正常儿童不同，这也证实遗传因素的作用[14]。总之，遗传因素对于 CTEV 的致病起着重要作用，但尚未发现主要的致

病基因。本文对 CTEV 相关致病基因的研究进展进行综述，以期为 CTEV 的研究提供理论基础。

一、细胞凋亡通路基因

细胞凋亡是一个多基因严格控制的过程，相关基因包括 B 淋巴细胞瘤-2（B-cell lymphoma-2，Bcl-2）家族、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶（cysteinyl aspartate specific proteinase，CASP）基因家族、抑癌基因 p53 等。细胞凋亡在生物体进化、内环境稳定以及多个系统发育中起着重要作用。CASP 是半胱氨酸蛋白酶家族的一员，在细胞凋亡、坏死以及炎症中发挥作用[15]。CTEV 患儿的基因包括 6 个大的染色体缺失区域（2q31-33、3q23-24、4p16-14、7p22、13q33-34、18q22-23）和 2 个重复区域（6q21-27 和 10p15-11）。CASP8、CASP10 与 2q31-33 区域的缺失相关，这些基因调控线粒体介导的凋亡通路，在肢体和肌肉发育中起着关键作用[6]。Bacino 等[6]证实了 CTEV 与位于 2q31-33 上的两个短串联重复序列 GATA149B10 和 D2S1371 的缺失存在关联。此外，凋亡基因（*CASP9*、*CASP10*、*CASP8*、*CASP3*、凋亡酶激活因子 1、Bcl-2）的单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphism，SNP）参与线粒体介导的细胞凋亡，这些基因的变异可能与 CTEV 存在一定关联[6,11]。Jiang 等[4]证明 Bcl-2 家族成员在细胞凋亡调控中发挥核心作用，细胞凋亡是通过外部或内在途径激活，由于 Bcl-2 相关 X 蛋白和 Bcl-2 之间的不平衡，激活内在通路而使线粒体膜通透性改变，使胎盘细胞凋亡，导致下肢血液供应不足和发育空间不足，从而诱发 CTEV，胎盘细胞凋亡的不平衡可能对 CTEV 的发展起着重要的作用。

二、同源异型盒家族（homeobox，HOX）

HOX 基因是一个转录因子家族，在胚胎发育的形态发生过程中起着核心作用[16]。*HOX* 基因簇的 50 个成员，高度协调且有序介导着肢体发育。胚胎时期肢体肢芽的形成，就是在成纤维细胞生长因子（fibroblast growth factor，FGF）信号的影响下，以原始近端中胚层细胞内的 *HOX* 基因表达的方式开始。Wang[17]证实了 *HOX* 基因在 CTEV 组织中高表达。此外，研究还发现 CTEV 组中 iNOS、NO、IL-1β、IL-6、TNF-α、Fas、FasL 和 Bax mRNA 表达明显高于对照组，表明 CTEV 组发生了严重的氧化损伤，其发病机制可能与炎症反应和细胞凋亡相关，具体机制还需更深入研究。

HOXA 和 *HOXD* 基因参与肢体的肌肉、肌腱和软骨的同步发育，这两种基因突变会导致各种肢体畸形。Barker 等[18]发现 HXOA 和 HOXD 复合体通过骨形态发生蛋白（bone morphogenetic protein，BMP）调控骨和关节的发育，在动物模型中 BMP 与生长分化因子（growth differentiation factor，GDF）协同作用引起肢体畸形。Ester 等[19]发现 *CTEV* 与 *HOXA*、*HOXC* 和 *HOXD* 基因组调控区域变异相关联，调控区突变增加了启动子活性。此外，*HOXD10*、*HOXD12*（rs847154）和 *HOXD13*（rs13392701）可能是 CTEV 的关键易感基因[7,11,20]。Wang 等[21]认为 *HOXD13* 基因的表达水平下降，使四个半 LIM 结构域蛋白 1（four and a half LIM domains protein 1，FHL1）的表达水平下调，影响人胚胎期足的发育，导致 CTEV。*FHL1* 基因位于 Xq36 染色体上，CTEV 患儿踇长屈肌中 *FHL1* 表达下调，与骨骼肌分化相关，导致异常骨骼肌形成[22]。

LIM 同源盒基因家族（LIM-homeobox gene，LHX）是 *HOX* 基因的亚家族之一，Yang 等[23]发现 LIM 同源盒基因家族的成员 LHX9 是性腺、四肢、心脏和神经系统等器官正常发育所必需的，LHX9 作为 FGF 和音猬因子（sonic hedgehog，SHH）的整合体调节肢体发育，其位于脊椎动物肢芽后缘、是由 *SHH* 基因编码的分泌蛋白，是建立前肢和后肢极性的关键信号分子。

三、肌肉收缩相关基因

CTEV 患儿在出生时即出现小腿肌肉发育不全，经过治疗后患侧小腿肌肉仍较正常缩小，提示编码肌肉发育的基因可能参与疾病的发生。Weymout 等[24]发现编码骨骼肌纤维的收缩蛋白基因（*MYBPH*、*TPM2*、*TNNT3*、*TPM1*、*MYH13*、*MYH3*）变异影响了肌纤维的收缩性，是 CTEV 的潜在候选基因。已经明确的肌肉收缩基因 *TPM1*（*rs4075583*），*TPM2*（*rs2025126*，*rs2145925*）和 *TNNC2* 均与 CTEV 有关[6,10,24-25]。Weymouth 等[10]认为 *TPM2* 表达增加可能会导致肌肉萎缩，表现为小腿肌肉发育不全，这些重要肌肉功能的不平衡可以导致 CTEV。Ester 等[19]认为作为候选基因的胰岛素样生长因子结合蛋白 3（insulin-like growth factor binding protein 3，IGFBP3），其变异体在肢体和肌肉形态发生中发挥重要作用。

在 CTEV 患儿中可以观察到Ⅱ型肌肉的持续减少，在 CTEV 胚胎发育时可以观察到编码Ⅱ型肌肉成分的基因表达，包括肌凝蛋白 2、肌凝蛋白 3、肌凝蛋白 7 和肌凝蛋白 8[7]。Shyy 等[26]证实肌凝蛋白调节通路的缺陷或者与其相互作用的蛋白质可能

作用于肌凝蛋白，从而导致 CTEV，因此肌凝蛋白可以做为 CTEV 的一个重要、非直接的病因。另外，Racca 等[27]发现 *MYH3* 的表达局限于胎儿时期，但 *MYH3 mRNA* 和胚胎肌球蛋白存在于正常成人和胎儿的骨骼肌中。*MYH3* 的突变可以影响胎儿时期和成人时期的骨骼肌收缩和舒张。Hwang 等[28]发现肌节同源盒基因 1（muscle segment homeobox 1，*MSX1*）是肢体畸形的候选基因，*MSX1* 表达区域和细胞凋亡相重叠，表明 *MSX1* 可以通过调节细胞凋亡程序在肢芽发育中发挥作用。这些基因的异常表达均可能增加 CTEV 的患病风险。

四、T-box 基因家族（T-box gene family，*TBX*）

T-box 基因家族 4（T-box gene family 4，*TBX4*）、配对样同源域 1（paired-like homeodomain transcription factor 1，*PITX1*）和 *PITX1-TBX4* 的发育途径在 CTEV 发病中起一定作用[2,7,25,29-31]。*TBX* 基因编码转录因子参与肢体生长过程的调控[11]。Yong 等[11]发现 *TBX3* 基因作为易感基因，其第 3 个等位基因短串联重复 D12S378 在 CTEV 患儿中存在传递不平衡。*TBX4* 转录因子位于 17q23.1-q23.2 染色体区域，参与肢体肌肉和肌腱的形成，对正常的后肢发育至关重要。多个基因组研究表明家族性和散发性 CTEV 病例中存在这一区域的缺失和重复染色体[10,12,29,32]。*PITX1* 是一种参与早期肢体发育的转录因子，是少数在下肢优先表达的基因之一，对下肢的发育至关重要[29]。*PITX1* 突变可能导致小腿肌肉萎缩、胫腓骨体积缩小和胫前动脉畸形[6]。TBX4 是 *PITX1* 的下游转录靶点，*PITX1* 通过对 *TBX4* 表达的调控来塑造后肢的形态[29]。Gurnett 等[31]发现 PITX1-TBX4 通路在 CTEV 发病机制中发挥作用，位于 *PITX1* 基因高度保守的区域的一个错义突变（p.E130K）通过降低外显率的主导方式，在多代人的家族性 CTEV 中进行常染色体遗传[30]。

五、胶原蛋白家族基因（collagen family genes，*COL*）

COL 家族基因中的 *COL9A1* 和 *COL1A1* 基因是 CTEV 相关遗传学研究的重点[16]。*COL9A1* 基因编码构成透明软骨的 IX 型胶原蛋白[11]。CTEV 患儿外展肌中 *COL9A1* 的表达明显高于对照组，提示 *COL9A1*（rs35470562）基因可能是 CTEV 的重要易感基因[24,33]。COL1A1 编码 I 型胶原的前 α1 链，这是大多数结缔组织的一个成分，富含于骨和肌腱中[16]。*COL1A1* 基因在 CTEV 患儿中的 mRNA 表达水平明显高于健康人[11]。研究表明，SRY-盒包含蛋白 9（sex determining region Y-box 9，SOX9）转录因子与 *COL2A1* 和 *COL9A1* 基因上游区域的序列对相结合，并调节其表达。在 CTEV 患儿的肌肉样本中，*SOX9* 和 *COL9A1* 高表达存在相关性[34]。

六、胶质瘤相关癌基因 3（glioma-associated oncogene，*GLI3*）

GLI3 是参与早期肢体发育的重要转录因子之一，已证实其与指（趾）的发育密切相关，有学者以 CTEV 核心家系作为研究对象，通过 SNP 关联分析发现 *GLI3* 基因与 CTEV 的发生可能相关[35]。Akiyama 等[36]发现，婆罗双树样基因 4（sal-like 4，*SALL4*）-GLI3 体系在早期肢体骨骼发育中起关键作用。Cao 等[37]认为哺乳动物的 *GLI3* 基因家族编码的锌指转录因子在人类发育和疾病中起调控的作用，作为候选基因，*GLI3* 表达水平的变化与 CTEV 的发生相关。Zhang 等[38]发现在染色体 12q24.31（rs7969148）上基因间的两个转录调控因子锌指蛋白 664（zinc finger protein 664，ZNF664）和核受体共抑制因子 2（nuclear receptor corepressor 2，NCOR2）的变异与 CTEV 的发生相关。此外，*HOXD13* 可以在肢体的形成中直接调节 *GLI3* 的表达，*HOXD13* 表达减少会导致 *GLI3* 的表达增加，可能在 CTEV 发病机制中起关键作用。曹东华等[35]证实了 *ENL* 基因通过调控 *GLI3* 基因的表达参与 CTEV 的发生，但 CTEV 的发生可能与多个基因相关，这些基因之间的相互作用有待深入研究。

七、N-乙酰化转移酶基因（N-acetyltransferase，*NAT*）

孕母怀孕期间吸烟已确定是环境风险因素，参与烟草代谢的基因可能在出生缺陷中起作用，*NAT2* 参与 N-乙酰化作用下烟草的生物转化，在 *NAT2* 基因多态性中，导致与 CTEV 有关的乙酰化活动减少，表明芳香胺和具有潜在毒性作用的积累添加物的生物转化减少，可能与 CTEV 的发展相关。Hecht 等[39]发现 CTEV 患儿存在明显的缓慢 NAT2 乙酰化表型，提示乙酰化可能是 CTEV 的危险因素。Sommer 等[40]通过对 8 种烟草代谢酶基因的研究，证实异源性代谢基因 *NAT2* 之间存在相互作用，使得罹患 CTEV 的风险增加，孕妇吸烟和孕期异源性代谢基因的作用对胎儿发育的影响还有待研究。

八、维甲酸（retinoic acid，RA）

RA 信号在脊椎动物发育过程中起着核心作用，内源性 RA 通过抑制 FGF8 促进前肢发育[41]。RA 通过细胞毒性或增强细胞凋亡等作用来抑制软

骨的发育。RA 致畸机制可能是基于 RA 改变了细胞分化[42]。增加 RA 的浓度，可增强转录因子激活蛋白-2（activator protein-2，AP-2）的表达，并降低了软骨源性维甲酸敏感蛋白质（cartilage derived retinoic acid sensitive protein，CD-RAP）和Ⅱ型胶原蛋白的表达，从而抑制软骨发育[42]。通过比较 CD-RAP 在 CTEV 和正常人外展拇趾肌中的表达水平，发现 *CD-RAP* 基因在 CTEV 患儿中高表达，提示 *CD-RAP* 可能是 CTEV 的易感基因[11]。

通过给大鼠胃内注射 RA 可以建立大鼠胚胎 CTEV 模型，表现为后肢先天性畸形、软骨发生受损和细胞凋亡增加。通过调节 p53/p21 在软骨早期胚胎发育过程中的表达，使鼠后肢芽基质细胞（rat embryo hindlimb bud mesenchymal cells，rEHBMCs）中软骨特异性蛋白下调，从而抑制软骨的形成[43]。RA 也可以通过抑制 SOX9 和 COL2Al 等软骨特异性分子的表达，使 *PITX1* 的表达下调，抑制 rEHBMCs 的软骨发育，导致产生 CTEV[43]。

PITX1 与沉默信息调节因子 1（sirtuin 1，SIRT1）的启动子结合可促进 SIRT1 的转录，SIRT1 调控 RA 信号的激活，抑制 *PITX1* 的表达可以使肌腱细胞 *SIRT1* 基因转录下调并且激活 RA 信号通路，这可能是 CTEV 潜在的发病机制[44]。孕 17 天是大鼠胚胎下肢晚期骨骼肌分化的一个关键时间点。在大鼠 E17 下肢中发现了控制骨骼肌发育和分化的基因表达出现峰值，包括 *PAX3*、*HGF*、*MYOD* 和 *MYOGENIN* [22]。总之，RA 可能作用于多种基因和途径调控肢体的发育，具体的机制需要更多的临床样品和动物模型进一步验证。

九、亚甲基四氢叶酸还原酶（methylenetetrahydrofolate reductase，MTHFR）

在 CTEV 的研究中，服用叶酸的孕母分娩出 CTEV 患儿的发生率较未补充叶酸的孕母低[45]。母亲基因型与孕期叶酸补充量之间的相互作用可能会影响 CTEV 的发病，提示叶酸代谢可能与 CTEV 相关。CTEV 也与母体 *MTHFR* 基因多态性相关[46]。*MTHFR* 基因上 677T 变异的儿童具有较低的 CTEV 患病风险，但叶酸代谢复杂，叶酸途径在 CTEV 中的作用有待进一步研究[45]。

十、细丝蛋白 B（filamin-B，FLNB）

FLNB 是一种细胞骨架蛋白，它与肌动蛋白交联形成三维细胞骨架网络并维持细胞形态，在骨骼疾病中起关键作用。Yang 等[1]对一个三代家族性和 53 例散发性 CTEV 患儿进行了全外显子序列测定和 Sanger 测序，发现 *FLNB* 基因中的 *c. 4717G > T*（*p. D1573Y*）发生致病突变，提示 *FLNB* 可能参与 CTEV 发病。并在随后的体外实验证明 *M633V*、*Y732C*、*D1573Y* 突变可以影响 FLNB 蛋白的表达，在细胞质中诱导 *FLNB* 的局部积累，这三种新的 *FLNB* 错义突变与 CTEV 有关。

十一、血小板源性生长因子（platelet derived growth factor，PDGF）、转化生长因子 β（transforming growth factor-β，TGF-β）

PDGF 和 TGF 可以诱导组织损伤的愈合以及组织纤维化，可能导致 CTEV 的病理性挛缩[2,25]。TGF-5 信号调节细胞增殖、凋亡、分化、ECM 形成和重塑等过程，还参与骨骼、血管和造血的动态平衡。生长分化因子 5（growth differentiation factor-5，GDF5）是一种生长因子，与 TGF-β 家族中软骨来源的形态发生蛋白 1（cartilage-derive morphogenetic protein 1，CDMP-1）在骨骼发育的几个关键时期表达[47]。ECM 为器官、组织和细胞膜提供结构支持，在细胞分化、增殖、存活和迁移中发挥作用。ECM 整合有助于调节 TGF-β 受体信号[47]。TGF-β 受体信号也发挥了 ECM 在 CTEV 中的作用[5]。

十二、RNA 结合基序蛋白 10（RNA binding motifprotein 10，RBM10）

RBM10 是 RNA 结合蛋白的一种，其表达和功能异常可导致多种疾病。有学者通过对 CTEV 基因组中错义突变及拷贝数变异的识别，发现了大量与 CTEV 相关的基因和通路，包括 *NACA2*、*RBM10* 等[1]。*RBM10* 的突变可以导致一种多器官发育异常遗传疾病——TARP 综合征，表现为马蹄内翻足、房间隔缺损、皮罗序列征以及永存左上腔静脉[6]。

十三、*WNT* 基因家族（WNT gene family）

WNT 基因家族在细胞增殖、迁移、极性和细胞凋亡过程中起着重要作用，*WNT7a* 可能是 CTEV 的候选基因。*WNT7a* 在细胞命运、肢体发育中起作用，其突变可能影响脊椎动物背侧的发育，从而干扰肢体的正常轴发育。*WNT7a* 和 *CAND2*（在胚胎肢体形成时期的骨骼中高度表达）可增加 CTEV 的易感性，但不能直接产生 CTEV[20]。

十四、转录调控因子叉头框 N3（fork head box N3，FOXN3）、液泡蛋白分选受体 1（sortilin related VPS10 domain containing receptor 1，SORCS1）、基质金属蛋白酶 7（matrix metalloproteinase，MMP7）、跨膜蛋白 123（transmembrane protein 123，TMEM123）

FOXN3、*SORCS1*、*MMP7*、*TMEM123* 基因与

CTEV 有关[29,38]。*FOXN3* 是一种叉头翼状螺旋形转录因子,在肢体发育中高度表达。SORCS1 是分拣蛋白 10 的域内受体[38]。TMEM123 为前胀亡受体,是一种在肿瘤细胞凋亡和细胞粘附中起作用的跨膜蛋白质;而 MMP7 是一种无所不在的基质金属蛋白酶。TMEM123 与 MMP7 都能够控制肢体发育,二者之间的 SNPs 可能与 CTEV 相关[38]。

十五、回旋基因家族(roundabout family, ROBO)

ROBO 是一类与发育有关的保守的跨膜蛋白家族,调控轴突导向和细胞迁移。ROBO 参与的发育信号通路启动了胚胎和器官的发育,任何环节的异常都可能导致畸形[5]。

十六、分化相关蛋白 1(ganglioside-induced differentiation associated protein 1, GDAP1)、过氧化物酶体生物合成因子(peroxisomal biogenesis factors, PEX)

过氧化物酶体是一种在多种细胞和代谢途径中起重要作用的细胞器。GDAP1 参与过氧化物酶体的分裂,PEX26 突变可破坏过氧化物酶体基质蛋白的导入,使过氧化物酶体发生生物学紊乱,这两种突变的表型后遗症都包括内翻足[47]。

综上所述,CTEV 的病因学研究已经取得了重大进展,但主要的致病基因仍然未知。目前研究发现,CTEV 的发生可能与多种致病基因相关,这些基因的上游和下游之间存在着广泛的调控,富集的信号通路之间也存在着广泛的相互作用。通过对 CTEV 患儿基因学的研究以及动物模型的实验,CTEV 的发病机制的研究正在不断深入,这对 CTEV 的预防和诊断具有深远意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 文献检索、论文讨论分析为徐晨晨、刘振江

参 考 文 献

[1] Yang H, Zheng Z, Cai H, et al. Three novel missense mutations in the filamin B gene are associated with isolated congenital talipes equinovarus[J]. Hum Genet, 2016, 135(10): 1181-1189. DOI: 10.1007/s00439-016-1701-7.

[2] Ošťádal M, ústal M, Eckhardt A, et al. Proteomic analysis of the extracellular matrix in idiopathic pes equinovarus[J]. Mol Cell Biochem, 2015, 401(1-2): 133-139. DOI: 10.1007/s11010-014-2300-3.

[3] 陈安辉,刘振江. 先天性马蹄内翻足 Ponseti 疗法的研究进展[J]. 临床小儿外科杂志, 2019, 18(1): 73-77. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2019.01.016.
Chen AH, Liu ZJ. Research advances of Ponseti therapy for congenital talipes equinovarus[J]. J Clin Ped Sur, 2019, 18(1): 73-77. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2019.01.016.

[4] Jiang B, Zhang Z, Zheng P, et al. Apoptotic genes expression in placenta of clubfoot-like fetus pregnant rats[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(2): 677-684.

[5] Cai G, Yang X, Chen T, et al. Integrated bioinformatics analysis of potential pathway biomarkers using abnormal proteins in clubfoot[J]. PeerJ, 2020, 8: e8422. DOI: 10.7717/peerj.8422.

[6] Bacino CA, Hecht JT. Etiopathogenesis of equinovarus foot malformations[J]. Eur J Med Genet, 2014, 57(8): 473-479. DOI: 10.1016/j.ejmg.2014.06.001.

[7] Basit S, Khoshhal KI. Genetics of clubfoot: recent progress and future perspectives[J]. Eur J Med Genet, 2018, 61(2): 107-113. DOI: 10.1016/j.ejmg.2017.09.006.

[8] Cardy AH, Barker S, Chesney D, et al. Pedigree analysis and epidemiological features of idiopathic congenital talipes equinovarus in the United Kingdom: a case-control study[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2007, 8: 62. DOI: 10.1186/1471-2474-8-62.

[9] O'shea RM, Sabatini CS. What is new in idiopathic clubfoot?[J]. Curr Rev Musculoskelet Med, 2016, 9(4): 470-477. DOI: 10.1007/s12178-016-9375-2.

[10] Weymouth KS, Blanton SH, Powell T, et al. Functional assessment of clubfoot associated HOXA9, TPM1, and TPM2 variants suggests a potential gene regulation mechanism[J]. Clin Orthop Relat Res, 2016, 474(7): 1726-1735. DOI: 10.1007/s11999-016-4788-1.

[11] Yong BC, Xun FX, Zhao LJ, et al. A systematic review of association studies of common variants associated with idiopathic congenital talipes equinovarus (ICTEV) in humans in the past 30 years[J]. Springerplus, 2016, 5(1): 896. DOI: 10.1186/s40064-016-2353-8.

[12] Lu W, Bacino CA, Richards BS, et al. Studies of TBX4 and chromosome 17q23.1q23.2: an uncommon cause of nonsyndromic clubfoot[J]. Am J Med Genet A, 2012, 158A(7): 1620-1627. DOI: 10.1002/ajmg.a.35418.

[13] Engell V, Damborg F, Andersen M, et al. Club foot: a twin study[J]. J Bone Joint Surg Br, 2006, 88(3): 374-376. DOI: 10.1302/0301-620X.88B3.16685.

[14] 李连永. 先天性马蹄内翻足临床工作中的问题及思考[J]. 临床小儿外科杂志, 2016, 15(6): 532-534. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2016.06.004.
Li LY. Problems considerations in clinical practice for congenital clubfoot[J]. J Clin Ped Sur, 2016, 15(6): 532-534. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2016.06.004.

[15] Raines AM, Magella B, Adam M, et al. Key pathways regulated by HoxA9, 10, 11/HoxD9, 10, 11 during limb development[J]. BMC Dev Biol, 2015, 15: 28. DOI: 10.1186/s12861-015-0078-5.

[16] Pavone V, Chisari E, Vescio A, et al. The etiology of idiopathic congenital talipes equinovarus: a systematic review[J]. J Orthop Surg Res, 2018, 13(1): 206. DOI: 10.1186/s13018-018-0913-z.

[17] Wang Y. Relationship between HOX gene and pediatric congenital clubfoot[J]. Exp Ther Med, 2018, 15(6): 4861-4865. DOI: 10.3892/etm.2018.6013.

[18] Barker S, Chesney D, Miedzybrodzka Z, et al. Genetics and epidemiology of idiopathic congenital talipes equinovarus[J]. J Pediatr Orthop, 2003, 23(2): 265-272. DOI: 10.1097/00004694-200303000-00025.

[19] 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 A,2009,149A(12):2745-2752. DOI:10.1002/ajmg.a.33130.

[20] Shyy W, Dietz F, Dobbs MB, et al. Evaluation of CAND2 and WNT7a as candidate genes for congenital idiopathic clubfoot[J]. Clin Orthop Relat Res, 2009, 467(5): 1201-1205. DOI: 10.1007/s11999-008-0701-x.

[21] Wang LL, Fu WN, Li L J, et al. HOXD13 may play a role in idiopathic congenital clubfoot by regulating the expression of FHL1 [J]. Cytogenet Genome Res, 2008, 121(3-4): 189-195. DOI: 10.1159/000138884.

[22] Wang L, Miao J, Li L, et al. Identification of an FHL1 protein complex containing gamma-actin and non-muscle myosin IIB by analysis of protein-protein interactions[J]. PLoS One, 2013, 8(11): e79551. DOI:10.1371/journal.pone.0079551.

[23] Yang Y, Wilson MJ. Lhx9 gene expression during early limb development in mice requires the FGF signaling pathway[J]. Gene Expr Patterns, 2015, 19(1-2): 45-51. DOI: 10.1016/j.gep.2015.07.002.

[24] Weymouth KS, Blanton SH, Bamshad MJ, et al. Variants in genes that encode muscle contractile proteins influence risk for isolated clubfoot[J]. Am J Med Genet A, 2011, 155A(9): 2170-2179. DOI:10.1002/ajmg.a.34167.

[25] Ošťádal M, Lišková J, Hadraba D, et al. Possible pathogenetic mechanisms and new therapeutic approaches of pes equinovarus [J]. Physiol Res, 2017, 66(3): 403-410. DOI: 10.33549/physiolres.933404.

[26] Shyy W, Wang K, Sheffield VC, et al. Evaluation of embryonic and perinatal myosin gene mutations and the etiology of congenital idiopathic clubfoot[J]. J Pediatr Orthop, 2010, 30(3): 231-234. DOI:10.1097/BPO.0b013e3181d35e3f.

[27] Racca AW, Beck AE, McMillin MJ, et al. The embryonic myosin R672C mutation that underlies Freeman-Sheldon syndrome impairs cross-bridge detachment and cycling in adult skeletal muscle [J]. Hum Mol Genet, 2015, 24(12): 3348-3358. DOI: 10.1093/hmg/ddv084.

[28] Hwang SJ, Beaty TH, McIntosh I, et al. Association between homeobox-containing gene MSX1 and the occurrence of limb deficiency[J]. Am J Med Genet, 1998, 75(4): 419-423.

[29] Dobbs MB, Gurnett CA. The 2017 ABJS nicolas andry award: advancing personalized medicine for clubfoot through translational research[J]. Clin Orthop Relat Res, 2017, 475(6): 1716-1725. DOI:10.1007/s11999-017-5290-0.

[30] Alvarado DM, Buchan JG, Frick SL, et al. Copy number analysis of 413 isolated talipes equinovarus patients suggests role for transcriptional regulators of early limb development[J]. Eur J Hum Genet, 2013, 21(4): 373-380. DOI:10.1038/ejhg.2012.177.

[31] Gurnett CA, Alaee F, Kruse LM, et al. Asymmetric lower-limb malformations in individuals with homeobox PITX1 gene mutation [J]. Am J Hum Genet, 2008, 83(5): 616-622. DOI: 10.1016/j.ajhg.2008.10.004.

[32] Alvarado DM, Aferol H, McCall K, et al. Familial isolated clubfoot is associated with recurrent chromosome 17q23.1q23.2 microduplications containing TBX4[J]. Am J Hum Genet, 2010, 87(1): 154-160. DOI:10.1016/j.ajhg.2010.06.010.

[33] Zhao XL, Wang YJ, Wu YL, et al. Role of COL9A1 genetic polymorphisms in development of congenital talipes equinovarus in a Chinese population[J]. Genet Mol Res, 2016, 15(4). DOI: 10.4238/gmr15048773.

[34] Wang Z, Yan N, Liu L, et al. SOX9 overexpression plays a potential role in idiopathic congenital talipes equinovarus[J]. Mol Med Rep, 2013, 7(3): 821-825. DOI: 10.3892/mmr.2012.1245.

[35] 曹东华,王谦,林长坤,等. GLI3、EN1 基因在单纯性马蹄内翻足发生中的功能研究[J]. 遗传, 2009, 31(12): 1214-1220. DOI:10.3724/SP.J.1005.2009.01214.
Cao DH, Wang Q, Lin CK, et al. The functions of GLI3 and EN1 genes in idiopathic congenital talipes equinovarus[J]. Hereditas, 2009, 31(12): 1214-1220. DOI: 10.3724/SP.J.1005.2009.012 14.

[36] Akiyama R, Kawakami H, Wong J, et al. Sall4-Gli3 system in early limb progenitors is essential for the development of limb skeletal elements[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2015, 112(16): 5075-5080. DOI:10.1073/pnas.1421949112.

[37] Cao D, Jin C, Ren M, et al. The expression of Gli3, regulated by HOXD13, may play a role in idiopathic congenital talipes equinovarus[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2009, 10: 142. DOI: 10.1186/1471-2474-10-142.

[38] Zhang TX, Haller G, Lin P, et al. Genome-wide association study identifies new disease loci for isolated clubfoot[J]. J Med Genet, 2014, 51(5): 334-339. DOI: 10.1136/jmedgenet-2014-102303.

[39] Hecht JT, Ester A, Scott A, et al. NAT2 variation and idiopathic talipes equinovarus (clubfoot)[J]. Am J Med Genet A, 2007, 143A(19): 2285-2291. DOI:10.1002/ajmg.a.31927.

[40] Sommer A, Blanton SH, Weymouth K, et al. Smoking, the xenobiotic pathway, and clubfoot[J]. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol, 2011, 91(1): 20-28. DOI: 10.1002/bdra.20742.

[41] Cunningham TJ, Duester G. Mechanisms of retinoic acid signalling and its roles in organ and limb development[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2015, 16(2): 110-123. DOI:10.1038/nrm3932.

[42] Santos-Alvarez I, Martos-Rodríguez A, Delgado-Baeza E. Embryonic blastemic changes in retinoic acid-induced hindlimb deformity[J]. Cells Tissues Organs, 2003, 173(4): 217-226. DOI: 10.1159/000070377.

[43] Zhang TG, Li XD, Yu GY, et al. All-trans-retinoic acid inhibits chondrogenesis of rat embryo hindlimb bud mesenchymal cells by downregulating p53 expression[J]. Mol Med Rep, 2015, 12(1): 210-218. DOI:10.3892/mmr.2015.3423.

[44] Zhao X, Yang X. Retinoic acid promotes retinoic acid signaling by suppression of Pitx1 In tendon cells: a possible mechanism of a clubfoot-like phenotype induced by retinoic acid[J]. Med Sci Monit, 2019, 25: 6980-6989. DOI:10.12659/MSM.917740.

[45] Sharp L, Miedzybrodzka Z, Cardy AH, et al. The C677T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene (MTHFR), maternal use of folic acid supplements, and risk of isolated clubfoot: A case-parent-triad analysis[J]. Am J Epidemiol, 2006, 164(9): 852-861. DOI:10.1093/aje/kwj285.

[46] Zhang Z, Kong Z, Zhu M, et al. Whole genome sequencing identifies ANXA3 and MTHFR mutations in a large family with an unknown equinus deformity associated genetic disorder[J]. Mol Biol Rep, 2016, 43(10): 1147-1155. DOI: 10.1007/s11033-016-4047-2.

[47] Sadler B, Gurnett CA, Dobbs MB. The genetics of isolated and syndromic clubfoot[J]. J Child Orthop, 2019, 13(3): 238-244. DOI:10.1302/1863-2548.13.190063.

（收稿日期：2020-08-13）

本文引用格式：徐晨晨，刘振江. 先天性马蹄内翻足基因学研究进展[J]. 临床小儿外科杂志，2022，21(8)：725-730. DOI：10.3760/cma.j.cn101785-202008030-005.

Citing this article as: Xu CC, Liu ZJ. Research advances in genetics of congenital talipes equinovarus[J]. J Clin Ped Sur, 2022, 21(8): 725-730. DOI: 10.3760/cma.j.cn101785-202008030-005.