

# 人类染色体 22q11.2 微缺失综合征发病机制的研究进展

周海燕 倪斌

**【摘要】** 22q11 缺失综合征(22q11 deletion syndrome, 22q11DS)是由染色 22q11.21-q11.23 缺失引起的遗传性综合征,其临床表现复杂,主要包括心脏、颅面、免疫等系统异常。22q11 缺失产生的机制是缺失区域内低拷贝重复序列(low-copy-repetitives, LCR22s)之间的不对称重组。本文对其临床表现、发病机制、候选基因克隆等方面的近年进展进行了综述。

**【关键词】** 22q11DS; 微缺失; 动物模式; 候选基因

**Advance on Pathological Mechanism of Human Chromosome 22q11.2 Microdeletion Syndrome** ZHOU Haiyan, NI Bin. (Hunan Provincial Key Laboratory of Birth Health, Family Planning Institute of Hunan Province, Changsha 410002, P. R. China)

Corresponding author: NI Bin. E-mail: xdysjs@163.com

**【Abstract】** A heterozygous deletion within chromosome 22q11.2 (del.22q11.2) is the genetic basis of the most common interstitial microdeletion syndrome. The clinical findings associated with del.22q11.2 are extensive and highly variable from patient to patient. Main features include congenital heart defects (CHD), characteristic facial appearance, immunodeficiency resulting from thymic hypoplasia, velopharyngeal dysfunction. Recombination between mismatched homologous elements (LCRs) leads to the deletion of 22q11.2. The clinical features, mechanism and candidate gene cloning of 22q11DS are reviewed.

**【Key words】** 22q11DS; Microdeletion; Animal models; Candidate genes

人类染色体 22q11.21-q11.23 区域杂合性缺失引起的一类临床征候群称之为 22q11.2 微缺失综合征(22q11DS),它又包括 DiGeorge 综合征(DGS)、腭-心面综合征(VCFs)、圆锥干畸形-面综合征(CTAFS)三种不同的综合征以及一部分单纯的先天性心脏病。其发病率在活产婴儿中为 1/4 000。随着研究的不断深入,研究者发现 22q11.2 微缺失综合征还可出现学习认知障碍、精神异常、发育迟缓等临床表现<sup>[1-5]</sup>。

## 1 22q11DS 临床表现

22q11DS 临床表现多样、复杂,主要包括:先天性心脏病、典型的面部异常、胸腺发育不全、腭裂、低血钙症、甲状腺功能减退以及学习困难、发育异常、成年时期精神障碍等(见表 1)。

基金项目 湖南省科技项目(No.05FJ4059)

作者单位 410002 长沙,湖南省计划生育研究所省现代优生与技术重点实验室

通讯作者 倪斌 E-mail: xdysjs@163.com

## 2 22q11 缺失发生机制

目前普遍认为,22q11.2 区域缺失发生的原因是染色体减数分裂时出现大片段低水平复制,导致减数分裂后重组时出现不对称和异常<sup>[7,8]</sup>。Saitta 等<sup>[9]</sup>对 20 个 DGS/VCFs 综合征家系 22q11.2 区域的 3Mb 片段进行了研究,结果发现单倍体重组时同源染色体近端内部交换现象极为普遍,在 20 个家系中 19 个家系发生了此种交换。该研究未发现染色体减数分裂时出现倒置现象,指出同源染色体近端区域的内部交换是导致 22q11 缺失的主要原因。随着对 22q11DS 分子生物学机制认识的深入,研究者发现在 22q11 缺失断点区域都有低拷贝重复序列(LCR22s),LCR22s 在减数分裂期间的同源重组介导了重排的发生(见图 1)。

Bailey 的研究显示:22 号染色体约 10.8%(3.7Mb/33.8Mb)的 DNA 序列为重复序列。

目前,对这些重复序列的特性以及其在介导 22q11.2 重组中的作用的研究正在进行。

表 1 22q11DS 的一些主要临床表现及发病率<sup>[6]</sup>

Table 1 Clinical features and frequency of 22q11DS<sup>[6]</sup>

主要异常分类	临床特征及发病率
先天性心脏病	在 22q11DS 患者中有 75% 患有各类先天性心脏病 , 其中法洛氏四联症占 30% , 主动脉弓异常 15% , 永存动脉干 10% , 室间隔缺损 15% , 其他畸形 5%。
典型的面部特征	双眼距离过远 , 脸裂过短 , 鼻梁低凹 , 小嘴 , 小耳叶。面部特征在幼儿患者中比较明显 , 在新生儿或者成年患者中无明显表现。
胸腺功能发育不全引起的免疫缺陷	超过 50% 的 22q11DS 患者伴有免疫缺陷 , 主要表现为 T 细胞数量减少 , 胸腺体积减小 , 其中只有不足 5% 的 22q11DS 患者能够自身获得免疫 , 产生免疫抗体。
低钙血症	甲状旁腺发育不良可导致低钙血症 , 大约 70% 的 22q11DS 患者在新生儿期出现低钙血症 , 主要表现为血清中甲状旁腺素低。新生儿期重度低钙血症可以自然缓解 , 但可再次复发。

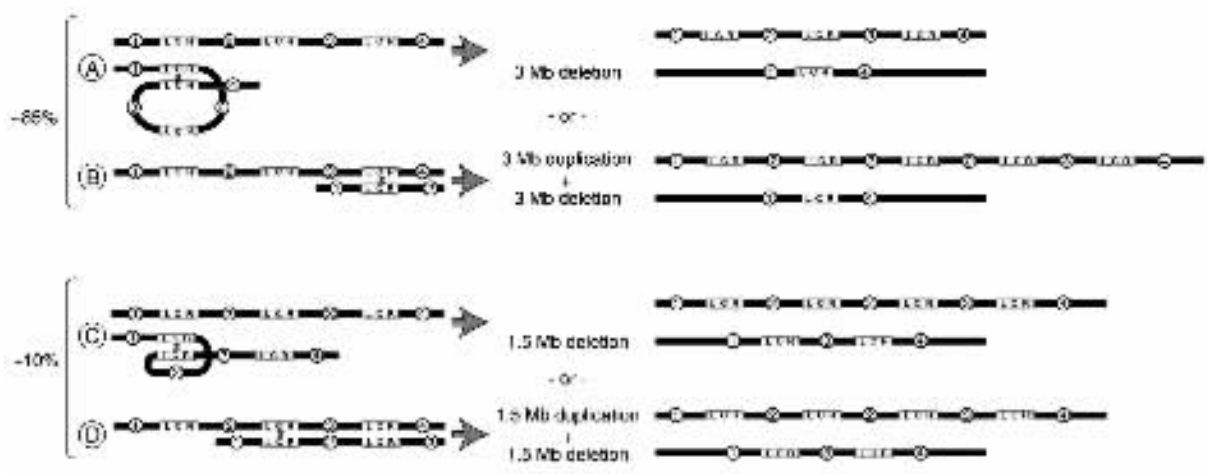


图 1 LCR (low-copy-repetitive) 介导 22q11 缺失发生的机制

Fig.1 Mechanism of LCR mediated 22q11 deletions

同源染色体之间(B,D)或内部(A,C)不对称重组导致 22q11 缺失发生, 缺失的发生主要是由低拷贝重复序列(LCR22s)介导的。大约 85% 的 22q11DS 患者缺失范围为 3Mb(A,B), 约 10% 的 22q11DS 患者缺失范围为 1.5 Mb(C,D)<sup>[10]</sup>。

Recombination between mismatched homologous elements(LCRs) can lead to the deletion of chromosomal segments. Mismatches can occur within a single chromosomal segment(A or C), leading to an excision in one chromosome, while the other chromosome is intact. Alternatively, mismatches between LCRs on both chromosomal pairs can lead to a deletion in one(B and D) chromosome, with a reciprocal duplication in its chromosomal pair. While most patients (~85%) have large deletions mediated by the most distal and proximal LCRs(A and B), a smaller number have atypical deletions mediated by the medial LCR(C and D)<sup>[10]</sup>。

### 3 22q11DS 的发病机制

3.1 神经嵴细胞迁移与心脏发育: 22q11DS 患者表现为多器官缺陷, 而且多是同时发生, 在胚胎期有共同的先兆, 提示 22q11DS 的发生源于发育过程中的缺陷。在胚胎发育过程中, 存在一个“形态发生反应单元”(morphogenetically reactive unit), 各种不利的遗传和环境因素可破坏这一单元。实验证据表明 22q11DS 的“形态发生反应单元”是头颅部的神经嵴。神经嵴细胞迁移到心脏的流出道, 同时对肺动脉隔膜的形成也是必需的(见图 2)。在鸡胚胎研究

中, 去掉神经嵴细胞可导致总动脉流出道和大动脉易位。由此推测, 人类染色体 22q11 区域内存在影响神经嵴迁移、分化的基因。这些基因的缺失破坏了 22q11DS 的“形态发生单元”, 而表现出相应的先天性心脏缺陷等多种临床症状<sup>[11]</sup>。

研究者对 22q11.2 典型缺失区域进行了分析, 在 1.5~3.0Mb 区域中分离出 4 个重复序列和 30 多个基因, 重复序列均位于缺失或易位的断点上, 而基因则定位于 300~600kb 的共有缺失片段即 DiGeorge 关键区域中<sup>[12,13]</sup>。在这些基因中, 对 *TBX1* 基因的功能研究较深入, 目前认为 *TBX1* 基因是 22q11DS

最主要的候选基因。

### 3.2 22q11DS 的候选基因：

3.2.1 *Tbx1* 基因 T-BOX 转录因子家族( T-BOX transcription factor family, T/Brachyury family, TBX family)是在胚胎早期发育和遗传性疾病等多方面起重要作用的一类调控因子。Bollag 等首先在小鼠体内发现并克隆出 T 位点( Brachyury)蛋白基因,随后在其他脊椎动物中陆续确定该基因家族成员。鼠 *Brachyury* 基因编码的蛋白质对大鼠的胚胎发育起着极为重要的作用。同样,人类 *TBX* 基因家族成员的功能也是作为转录因子调控胚胎生长发育过程。Jerome 等用鼠模型证实纯合型 *Tbx1* 突变小鼠在宫内死亡,并表现出 22q11DS 的几乎所有常见表现:包括胸腺、甲状腺发育不全,心脏流出道畸形,颅面部

畸形等。杂合型 *Tbx1* 突变可导致小鼠心脏流出道畸形<sup>[14-17]</sup>。这些研究结果提示 *Tbx1* 可能是 22q11DS 发病机制中起关键作用的基因之一。

3.2.1.1 *Tbx1* 基因研究的动物模型 Garg 等<sup>[18]</sup>研究了小鼠胚胎发育过程中 *Tbx1* 基因的表达模式:小鼠胚胎发育 9.5 天时, *Tbx1* 基因主要在咽弓中胚层的核心部位、围绕神经管的间质中、以及听泡的腹侧和头部表达。胚胎发育 10.5 天,冠状切片观察发现 *Tbx1* 转录体主要存在于咽部内胚层和中胚层的核心部位,不存在于神经嵴细胞来源的间质中。在小鼠胚胎发育的 11.5 天, *Tbx1* 基因主要在其头部和主动脉周围的间质中表达。与小鼠胚胎发育过程中一致的是:鸡早期胚胎发育过程中 *Tbx1* 不在咽弓神经嵴细胞来源的间质中表达(见表 2)。

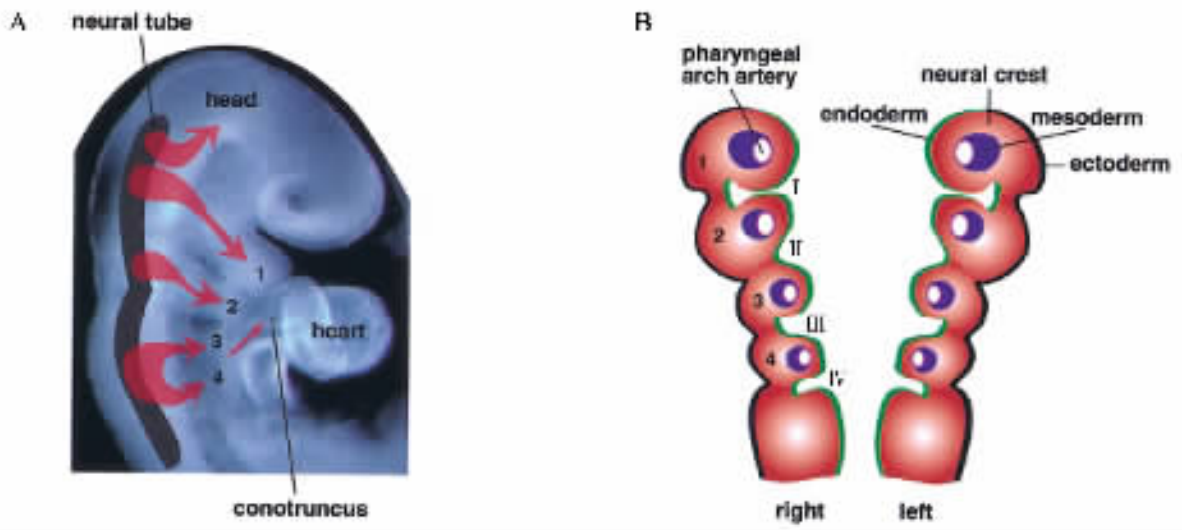


图 2 咽弓结构的发育

Fig.2 Development of pharyngeal arch structures

A. 小鼠发育第 9.5 天胚胎的右侧面观察(相当于人类 28 天胚胎)箭头所示为近头侧的神经嵴细胞从背部神经管迁移出,并分别迁移到头部、咽弓和心脏流出道;B. 小鼠胚胎发育 9.5~10.5 天 d 鸡胚胎发育 16~18 阶段咽弓的冠状切片<sup>[6]</sup>

(A) Right lateral view of a mouse embryo at embryonic day (E) 9.5 (equivalent to about 28 days in a human embryo). Arrows show the migration of cephalic neural crest cells derived from the dorsal aspect of neural tube (neural fold) into the head, pharyngeal arches and the conotruncal region (outflow tract) of the heart. (B) Coronal section of pharyngeal arches corresponding to E9.5-10.5 mouse or stage 16-18 chick embryos<sup>[6]</sup>

表 2 鸡早期胚胎发育过程中 *Tbx1* 基因的表达模式<sup>[18]</sup>

Table 2 Expression pattern of *Tbx1* gene during chick embryo development<sup>[18]</sup>

发育阶段 (Chick embryo development stages)	<i>Tbx1</i> 基因表达情况 (Expression pattern of chick <i>Tbx1</i> gene)
第 16 阶段	主要在咽部和听泡的腹侧表达
第 17 阶段	主要在咽部的内胚层和中胚层的核心部位表达
第 22 阶段	<i>Tbx1</i> 转录体主要存在于咽囊、咽部裂缝和中胚层来源的核心部位以及围绕背主动脉的间质中

为了确定 *Tbx1* 是否在迁移的神经嵴细胞中表达,培养迁移出神经管的神经嵴细胞,运用免疫细胞化学方法分析,神经嵴细胞的标记蛋白 HNK-1 和神经毡蛋白(neuropilin-1)正常表达,而 *Tbx1* 转录体在正在迁移的神经嵴细胞中未检测到,这说明 *Tbx1* 在咽弓神经嵴细胞来源的组织中不表达<sup>[18]</sup>。

3.2.1.2 *Tbx1* 基因表达的上游调控基因 Shh (sonic hedgehog protein)作为成形成素(morphogen)起作用,对于颅面部的正常发育是必需的,在咽弓的发育过程中,shh 调节 *Tbx1* 基因的表达,*Tbx1* 基因是 shh 的下游调节因子,shh 在早期胚胎发育过程中通过界定基因表达空间这种方式来调节基因作用,但具体的调节方式还不是很清楚,可能的方式是 shh 通过调控 Bmp 蛋白来调节 *Tbx1* 基因的表达<sup>[18]</sup>。

Fox (forkhead box)蛋白介导的 shh 信号系统对 *Tbx1* 基因的调控,在众多 fox 因子中 foxc1 和 foxc2 同属 fox 蛋白,在中胚层来源的头部间质中表达,具有 DNA 结合区域,在心血管的发育中具有多方面的作用。foxa 蛋白在内胚层的发育中起重要作用,其中 foxa2 在咽部内胚层表达。通过实验证实,在咽部内胚层 foxa2 可能调节 *Tbx1* 的表达。如图 3 所示:*Tbx1* 基因在头部间质由 foxc1 和 foxc2 调节,在咽部内胚层则主要由 foxa2 调节,这种调节主要是通过 *Tbx1* 基因上游的 fox 结合部位,shh 信号通过维持 foxa2 和 foxc2 的表达来最终激活 *Tbx1* 的表达<sup>[19]</sup>。

3.2.1.3 *Tbx1* 基因表达的下游调控因子 22q11DS 所有异常组织器官都是由第三、四咽囊发展而来,而第三、四咽囊的分化与神经嵴细胞(neural crest cells, NCC)迁移有关,如神经嵴细胞从后脑向心脏流出道的迁移对于主动脉与肺动脉的分离是必需的,据此推测神经嵴细胞的异常迁移导致了 22q11DS 的发生。目前认为咽囊间叶细胞的异常旁分泌活动影响了经过咽囊的神经嵴细胞,从而导致该综合征的发生。其途径可能是通过成纤维细胞生长因子(FGF)的调节<sup>[20-22]</sup>。FGF 信号系统介导 *Tbx1* 基因在咽弓、咽囊衍生结构中的作用,不同的 FGF 基因在不同的衍生结构发育中起作用,在动脉弓和胸腺发育中 FGF8 与 *Tbx1* 基因相互作用,而 FGF10 在肺、肢体和胸腺的发育中起作用。实验证明,FGF8 基因突变引起神经嵴细胞(NCC)畸形,从而表现出 22q11DS 的一些临床表现。*Tbx1* 基因是否通过 FGF8 因子对神经嵴细胞起作用还有待进一步的研究<sup>[23-26]</sup>。

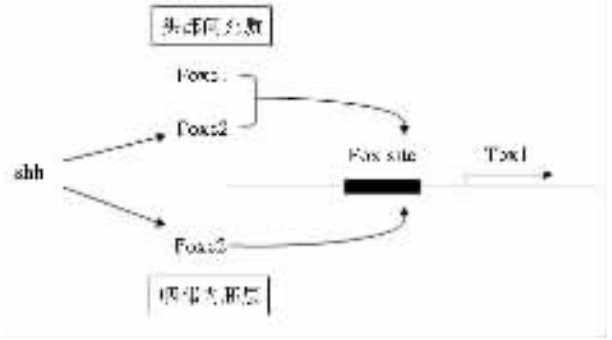


图 3 *Tbx1* 基因分子调控模式图<sup>[25]</sup>

Fig. 3 A proposed model for molecular regulation of *Tbx1*<sup>[25]</sup>

3.2.2 其他 22q11DS 可能的候选基因

3.2.2.1 *Crkol* 基因 此基因在来源于神经嵴细胞的组织发育过程中表达,编码一条 303 个氨基酸的多肽。Guris 等<sup>[27]</sup>建立了 *Crkol* 基因无义突变的纯合型小鼠,此种类型小鼠表现出主动脉弓缺失、甲状旁腺、颅面部畸形。这些实验结果表明与人类 *CRKOL* 基因同源的小鼠 *Crkol* 基因在小鼠神经嵴细胞分化、存活、功能表现过程中具有重要作用,并进而提示人类 *CRKOL* 基因介导的信号通路在 22q11DS 的发病机制中可能至关重要。

3.2.2.2 *Ufd1L* 基因 另一研究得较多的基因是 *Ufd1L* (ubiquitin, fusion, degradation-1-like), *Ufd1L* 编码一种参与泛素蛋白水解的高度保守蛋白质,其在胚胎组织中的表达可影响神经嵴细胞、咽咽弓和心脏流出道等的发育。Lindsay 运用基因敲除鼠模型证实 *Ufd1L* 缺失可引起锥干型心脏畸形(CTD), Yamagishi 等<sup>[28]</sup>指出, *Ufd1L* 可能作为一种修饰因子使 22q11DS 表型变异增大,体现在室间隔缺损,甲状旁腺、甲状旁腺发育不良,行为和精神异常等<sup>[29,30]</sup>。

4 展望

22q11DS 临床表现多样、复杂,表型和基因型之间关联不密切,即使是在同一家系中表型也多样。这给 22q11DS 的临床诊断带来了困难。22q11DS 是引起先天性心脏病的第二常见遗传因素,先天性心脏病在正常人群中发病率较高,大约为 1%,且预后不良。因而 22q11DS 诊断技术与产前诊断技术的研究,对预防出生缺陷,实行优生优育具有重要的意义。

22q11DS 的染色体缺失区域大约 3Mb,在该区域中已经分离出一系列基因,在这些基因中,哪些在

22q11DS 发生中起着主要作用以及它们之间如何相互作用,有待于进一步的研究。shh 调节 *Tbx1* 基因的表达,但具体的调节方式还不是很清楚,*Tbx1* 基因是否通过 FGF8 因子对神经嵴细胞起作用也还需要进一步阐明。

### 参 考 文 献

- 1 Murphy KC, Owen MJ. Velo-cardio-facial syndrome: a model for understanding the genetics and pathogenesis. *Br J Psychiatry*, 2001, 179: 397–402.
- 2 Eliez S, Schmitt JE, White CD, et al. Children and Adults With Velo-cardiofacial Syndrome. *Am J Psychiatry*, 2000, 157: 409–415.
- 3 Pinquier C, Heron D, DeCarvalho W, et al. Microdeletion 22q11: apropos of case of schizophrenia in an adolescent. *Encephale*, 2001, 27: 45–50.
- 4 Botto LD, May K, Fernhoff PM, et al. A population-based study of the 22q11.2 deletion: phenotype, incidence, and contribution to major birth defects in the population. *Pediatrics*, 2003, 112: 101–107.
- 5 Maeda J, Yamagishi H, Matsuoka R, et al. Frequent association of 22q11.2 deletion with tetralogy of Fallot. *Am J Med Genet*, 2000, 92: 269–272.
- 6 Yamagishi H. The 22q11.2 deletion syndrome. *Keio J Med*, 2002, 51: 77–88.
- 7 Edelmann L, Pandita RK, Morrow BE. Low-copy repeats mediate the common 3Mb deletion in patients with velo-cardio-facial syndrome. *Am J Hum Genet*, 1999, 64: 1076–1086.
- 8 Bailey JA, Yavor AM, Viggiano L, et al. Human specific duplication and mosaic transcripts: the recent paralogous structure of chromosome 22. *Am J Hum Genet*, 2002, 70: 83–100.
- 9 Saitta SC, Harris SE, Gaeth AP, et al. Aberrant interchromosomal exchanges are the predominant cause of the 22q11.2 deletion. *Hum Mol Genet*, 2004, 13: 417–428.
- 10 Maynard TM, Haskell GT, Lieberman JA, et al. 22q11DS: genomic mechanisms and gene function in DiGeorge/Velocardiofacial syndrome. *Int J Dev Neurosci*, 2002, 20: 407–419.
- 11 Hu DX, Yang FJ. The gene diagnosis and therapy of cardiovascular disease. Beijing: People's Medical Publishing House, 2004: 20–21.  
[胡冬煦, 杨进福. 心血管外科疾病的基因诊断与治疗. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 20–21.]
- 12 Rauch A, Pfeiffer RA, Leipold G, et al. A novel 22q11.2 microdeletion in DiGeorge syndrome. *Am J Hum Genet*, 1999, 64: 659–666.
- 13 Mark C, Johnson MD, Michael S, et al. Chromosome 22q11 monosomy and the genetic basis of congenital heart disease. *The J Pediatrics*, 1996, 129: 1.
- 14 Zhang Z, Cerrato F, Xu HS, et al. *Tbx1* expression in pharyngeal epithelia is necessary for pharyngeal arch artery development. *Development*, 2005, 132: 5307–5315.
- 15 Kochilas L, Merscher-Gomez S, Lu MM, et al. The Role of Neural Crest during Cardiac Development in a Mouse Model of DiGeorge Syndrome. *Dev Biol*, 2002, 251: 157–166.
- 16 Liu H, Abecasis GR, Heath SC, et al. Genetic variation in the 22q11 locus and susceptibility to schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99: 16859–16864.
- 17 Singh SM, Murphy B, Oreilly R. Monozygotic twins with chromosome 22q11 deletion and discordant phenotypes: updates with allelic hypothesis. *J Med Genet*, 2002, 39: e71.
- 18 Garg V, Yamagishi C, Hu T, et al. *Tbx1*, a DiGeorge syndrome candidate gene, is regulated by sonic hedgehog during pharyngeal arch development. *Dev Biol*, 2001, 235: 62–73.
- 19 Yamagishi H, Maeda J, Hu T, et al. *Tbx1* is regulated by tissue-specific forkhead proteins through a common Sonic hedgehog-responsive enhancer. *Genes Dev*, 2003, 17: 269–281.
- 20 Merscher S, Funke B, Epstein JA, et al. *TBX1* is responsible for cardiovascular defects in velo-cardio-facial/DiGeorge syndrome. *Cell*, 2001, 104: 619–629.
- 21 Jerome LA, Papaioannou VE. DiGeorge syndrome phenotype in mice mutant for the T-box gene, *Tbx1*. *Nat Genet*, 2001, 27: 286–291.
- 22 Gong W, Gottlieb S, Collins J, et al. Mutation analysis of *TBX1* in non-deleted patients with features of DGS/VCFCS or isolated cardiovascular defects. *J Med Genet*, 2001, 38: e45.
- 23 Xu H, Morishima M, Wylie JN, et al. *Tbx1* has a dual role in the morphogenesis of the cardiac outflow tract. *Development*, 2004, 131: 3217–3227.
- 24 Vitelli F, Taddei I, Morishima M, et al. A genetic link between *tbx1* and fibroblast growth factor signaling. *Development*, 2002, 129: 4605–4611.
- 25 Bachiller D, Klingensmith J, Shneyder N, et al. The role of chordin/bmp signals in mammalian pharyngeal development and DiGeorge syndrome. *Development*, 2003, 130: 3567–3578.
- 26 Abuissa R, Smyth G, Smoak I. *Fgf8* is required for pharyngeal arch and cardio-vascular development in the mouse. *Development*, 2002, 129: 4613–4625.
- 27 Guris DL, Fantes J, Tara D, et al. Mice lacking the homologue of the human 22q11.2 gene *CRKL* phenocopy neurocristopathies of DiGeorge syndrome. *Nat Genet*, 2001, 27: 293–298.
- 28 Yamagishi H, Garg V, Matsuoka R, et al. A molecular pathway revealing a genetic basis for human cardiac and craniofacial defects. *Science*, 1999, 283: 1158–1161.
- 29 Lindsay EA, Vitelli F, Su H, et al. *Tbx1* haploinsufficiency in the DiGeorge syndrome region causes aortic arch defects in mice. *Nature*, 2001, 410: 97–101.
- 30 Lindsay EA, Botta A, Jurecic V, et al. Congenital heart disease in mice deficient for the DiGeorge syndrome region. *Nature*, 1999, 401: 379–383.

(收稿日期 2005-10-31)

(本文编辑 孙岩伟)