

[DOI]10.12016/j.issn.2096-1456.2019.06.011

· 综述 ·

# Sp 基因与 Wnt 基因对胚胎发育异常及唇腭裂的影响

程忠委<sup>1</sup>, 宋庆高<sup>2</sup>

1. 遵义医学院, 贵州 遵义(563000); 2. 遵义医学院附属口腔医院口腔颌面外科, 贵州 遵义(563000)

**【摘要】** 正常的胚胎发育受不同的基因及相关信号通路的调控。近年来,同一组织中不同的基因与基因、基因与信号通路之间的关联性受到了国内外学者的广泛关注,Sp 基因、Wnt 基因的缺失或突变均可导致胚胎发育异常。本文综述结果表明:由于 Sp 基因缺失/突变导致的胚胎发育异常;锌指蛋白超家族成员 Sp1-9 参与了造血系统、呼吸系统、骨骼系统等多种组织器官的发育进程,它们的缺失或突变均可导致胚胎相应组织的发育异常,其中 Sp8 基因与腭裂的发生相关;通过总结近年来关于 Wnt 基因与唇腭裂的关系研究了解到 Wnt3、Wnt3A、Wnt5A、Wnt9B、Wnt10A 和 Wnt11 的表达异常与人类唇腭裂的发生密切相关;在胚胎发育过程中 Sp5/8 是 Wnt 信号通路的关键下游效应子,并且参与 Wnt 信号通路的组成。Sp5/8 与 Wnt 信号通路共同参与调控胚胎期小鼠神经嵴的正常发育及胚胎干细胞的自我更新。综上所述,本文提出了 Sp 基因与 Wnt 基因可能共同参与调控胚胎期腭裂的形成及发生过程,同时为今后在腭裂模型中进一步研究二者之间的关联机制提供参考。

**【关键词】** Sp 基因; Wnt 基因; 胚胎发育异常; 唇腭裂; 锌指蛋白

**【中图分类号】** R782 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2019)06-0396-04

**【引用著录格式】** 程忠委,宋庆高. Sp 基因与 Wnt 基因对胚胎发育异常及唇腭裂的影响[J]. 口腔疾病防治, 2019, 27(6): 396-399.

**The effects of the Sp and Wnt genes on abnormalities in embryonic developmental and cleft lip and palate**  
CHENG Zhongwei<sup>1</sup>, SONG Qinggao<sup>2</sup>. 1. Zunyi Medical College, Zunyi 563000, China; 2. Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Affiliated Stomatological Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563000, China.

Corresponding author: SONG Qinggao, Email: 814641639@qq.com, Tel: 0086-851-28608438

**【Abstract】** Normal embryonic development is regulated by different genes and related signaling pathways. In recent years, the association between different genes and genes, genes and signaling pathways in the same organization has been widely concerned by scholars at home and abroad. Sp and Wnt gene deletion or mutation can lead to abnormal embryonic development. The results of this review indicate that abnormal embryonic development is due to Sp gene deletion/mutation. The zinc finger protein superfamily member Sp1-9 is involved in the development of various tissues and organs, such as the hematopoietic system, respiratory system and skeletal system, and its deletion or mutation can lead to developmental abnormalities in embryonic tissues. In addition, the Sp8 gene is associated with the occurrence of cleft palate. By summarizing the observations about the relationship between the Wnt gene and cleft lip and palate in recent years, we can understand the abnormal expression of Wnt3, Wnt3A, Wnt5A, Wnt9B, Wnt10A and Wnt11 in humans. The occurrence of cleft lip and palate is closely related; Sp5/8 is a key downstream effector of the Wnt signaling pathway during embryonic development and participates in the Wnt signaling pathway. Sp5/8 and the Wnt signaling pathway are involved in the regulation of normal neural crest development and the self-renewal of embryonic stem cells in embryonic mice. In summary, this paper proposes that the Sp and Wnt genes may be involved in the regulation of the formation and occurrence of embryonic cleft palate and provides a reference for further study of the associated mechanisms between the two genes in the cleft palate model.

**【Key words】** Sp gene; Wnt gene; Abnormal embryonic development; Cleft lip and palate; Zinc finger protein

**【收稿日期】** 2018-10-11; **【修回日期】** 2018-12-22

**【基金项目】** 国家自然科学基金资助项目(81560182);国家自然科学基金资助项目(81860191)

**【作者简介】** 程忠委, 医师, 硕士研究生在读, Email: 2044178436@qq.com

**【通信作者】** 宋庆高, 教授, 博士, Email: 814641639@qq.com, Tel: 0086-851-28608438

生物体胚胎发育过程极其复杂,除了需要必不可少的营养条件等外部环境因素外,还涉及众多的基因、转录因子及信号通路,他们之间通过相互作用,共同调控来促进胚胎正常的生长发育,相关基因及信号通路的异常通常会导致严重的胚胎发育异常。

由 Sp 基因产生的转录因子特异性蛋白(Specificity protein, Sp)及由 Wnt 基因介导的 Wnt/ $\beta$ -catenin 经典信号通路均参与调控细胞的增殖、分化、凋亡和迁移等,对维持生物体正常的胚胎发育过程十分重要。近年来有研究发现部分 Sp 基因与 Wnt 基因的异常均可导致腭裂的发生<sup>[1]</sup>;同时,有研究指出在胚胎发育期间 Sp 基因与 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路之间存在关联性<sup>[2]</sup>。但 Sp 基因与 Wnt 基因在腭裂的发生过程中是否存在相关性,目前仍在研究中。为了更加清楚地了解 Sp 基因与 Wnt 基因及 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路之间的关系,本文通过对生物体胚胎发育期间由 Sp、Wnt 基因异常导致的相关疾病进行概括,并进一步总结了胚胎发育期间 Sp 基因家族与 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路之间的关联性研究进展。

### 1 Sp 基因家族缺乏与胚胎发育异常

Sp 基因在胚胎发育中起重要作用,Sp 基因家族成员的缺失或表达降低对生物体的生长发育有着不可小觑的影响,如:在妊娠中 Sp1 基因敲除的小鼠会造成其胚胎严重的发育异常及造血功能不全,Gilmour 等<sup>[3]</sup>指出在胚胎发育早期敲除 Sp1 可导致血细胞终末造血分化的失败,在后期敲除则无该现象。因此可以看出 Sp1 在造血功能的发育过程中有着不可或缺的作用。Wegener 等<sup>[4]</sup>指出 Sp2 因子在人类和小鼠细胞系中很少甚至没有 DNA 结合或转录活性,在脊椎动物胚胎发育过程中,对其时空表达模式和生物学功能知之甚少,有待进一步研究。Meinders 等<sup>[5]</sup>研究发现 Sp3 缺失会导致胎鼠在产后出现呼吸衰竭,同时造成牙齿、骨骼及造血系统发育不足。可推测 Sp3 在调控呼吸系统、骨骼系统、造血系统的发生过程中扮演重要的角色。Wang 等<sup>[6]</sup>研究指出 Sp4 是多种心理疾病的风险基因,被发现与精神分裂症、躁郁症和重度抑郁症有关,其在神经元中有选择性表达,并在海马的发育过程中起重要作用,Sp4 基因表达减少可导致小鼠大脑中 N-甲基-D-天冬氨酸型受体亚单位-1 的降低,并产生精神分裂症的表现。Park 等<sup>[7]</sup>发现非

洲爪蟾 Sp5 在早期发育过程中(从原肠胚形成到蝌蚪形成阶段)表达于未来的神经嵴(Neural Crest NC)区域,Sp5 的敲除导致颅面软骨、色素沉着和背鳍的严重缺陷。Tang 等<sup>[8]</sup>研究发现 Sp5 是维持小鼠胚胎干细胞自我更新的能力所必需的,并证明了 Nanog(一种胚胎干细胞关键蛋白)是 Sp5 的主要下游效应子,并在 Sp5 的下游发挥独特的功能。Haro 等<sup>[9]</sup>通过遗传分析表明 Sp6 / Sp8 转录因子在肢体发育中是绝对必需的,Sp6 基因缺失的小鼠子代表现出轻微的并趾畸形,Sp8 基因缺失的小鼠子代表现出严重的四肢截断甚至四肢缺失畸形。Sp6 到 Sp9 参与了脊椎动物的多种发育过程,包括毛囊、牙齿、附属物、骨骼、神经系统、耳和肺;另外,沉默蜘蛛的 Sp6-9 基因后,其子代表现出肢体缺失和严重的头部畸形<sup>[10]</sup>。由此可知 Sp6-9 对于维持生物体全身多种结构的正常发育是非常重要的。Pengfei 等<sup>[11]</sup>发现 Sp7 是斑马鱼骨骼发育所必需的。Sp7 缺失的小鼠因为肺部发育异常而在出生后表现出呼吸困难并立即死亡,人类的 Sp7 基因突变与颅面异常和成骨不全有关;Sp7 零合子小鼠表现出颅面畸形和牙槽骨缺失;另外,虽然 Sp7 与牙齿形态发生无关,但对于成釉细胞及成牙本质细胞的分化是必须的<sup>[12]</sup>。由上述可知 Sp7 对骨骼及肺的发育至关重要。Sp8 缺失除导致肢体发育缺陷外,还可导致子代小鼠在出生后不久或出生后立即死亡。对于因 Sp8 缺失而引起的腭发育异常研究较少,关于 Sp8 是否参与调控腭突的发育目前尚不清楚,有待进一步研究。Li 等<sup>[13]</sup>研究发现转录因子 Sp8 和 Sp9 协同调控嗅球中间神经元的发育,Sp8 和 Sp9 的条件性缺失可导致嗅球中间神经元数量的减少。

Sp 样转录因子家族成员包括 Sp1 至 Sp9,它们同属于 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> 型锌指蛋白,在 C-末端均存在由 81 个氨基酸组成的 3 个 Cys<sub>2</sub>His<sub>2</sub> 型锌指结构;由上述研究可知 Sp 样转录因子不仅参与调节生长、发育、分化、增殖和胚胎发生等生理过程,还调节许多疾病的发病机制,包括癌症和炎症性疾病<sup>[14]</sup>。大多 Sp 基因的缺乏可产生严重的胚胎发育异常,但是少数 Sp 基因的缺失未能引起较明显的发育异常,可能与 Sp 基因家族成员之间表达重叠有关,从而弥补了缺失基因的功能;另外在研究中也发现了 Sp8 基因的缺失与腭裂相关,锌缺乏也可以导致腭裂的发生率增高,从而可以认为微量元素锌的缺乏可能通过抑制 Sp8 基因的表达而造成腭裂的发生,

具体机制有待进一步研究。因此,研究 Sp 样转录因子家族成员的生物功能及调控机制对进一步了解人类某些疾病的发生、进展是非常有意义的。

## 2 Wnt 基因家族异常与唇腭裂

细胞分化、组织形态发生和组织稳态都需要生长因子信号,细胞内信号转导的失调可导致胚胎发育缺陷或某些疾病的产生。其中,Wnt 基因家族在唇腭裂的发生过程中扮演着重要角色,Wnt 基因介导的 Wnt 信号传导通路在面部中期发育过程中起重要作用,是唇腭裂病因学的有力候选基因之一<sup>[15]</sup>。

Li 等<sup>[16]</sup>研究发现 Pax9 基因突变体胚胎在腭板发育过程中表现出经典 Wnt 信号活性的减弱,通过药理学抑制 DKK 活性或 Wise 的遗传失活来调节 Wnt 信号传导活性可部分拯救由 Pax9 基因缺失引起的胎鼠腭形态发育异常。Jia<sup>[17]</sup>等研究发现对 Pax9 基因缺失的孕鼠通过静脉输注小分子 Wnt 激动剂(Dkk 抑制剂)后,恢复了 Wnt 信号,并促进腭板的生长和融合,Wnt 信号通路具有促进腭突的发育的作用。Lu 等<sup>[18]</sup>通过调查中国东北人群 Wnt3 基因两个 SNPs 位点 rs3809857 和 rs9890413,其结果支持 Wnt3 基因与中国东北人群的 NSCL/P 有关。Sosilo 等<sup>[19]</sup>对印度尼西亚西爪哇省人口中 Wnt5A 基因中的单核苷酸多态性(SNP)rs566926 进行了研究发现携带 Wnt5A 变异等位基因的个体患腭裂的风险增加。Fontoura 等<sup>[20]</sup>对巴西人群 Wnt9B 的 2 个多态性进行研究发现在 Wnt9B 基因中,NSCL/P 与 SNP rs1530364 呈正相关。Rafighdoost 等<sup>[21]</sup>研究发现伊朗人群中 Wnt3 (rs3809857 和 rs9890413)、Wnt3A (rs752107 和 rs3121310) 和 Wnt10A (rs201002930) 基因多态性与非综合征性唇腭裂相关。Wijaya 等<sup>[22]</sup>对西爪哇省马来人群 Wnt11 (rs1533767) 基因多态性分析结果表明在腭板内侧边缘上皮中的单核苷酸多态性 rs1533767 基因 Wnt11 的缺失或突变引起腭板上皮和间充质的缺陷并导致腭裂的发生。

分析以上 Wnt 基因家族成员的研究可以发现 Wnt 基因家族的异常与人类和小鼠胚胎发育期间唇腭裂的发生密切相关。

## 3 Sp 与 Wnt 基因之间的关联性

由 Sp 基因家族与 Wnt 基因家族介导产生的相关特异性转录因子及信号通路均参与调控生物体

生长发育的过程,对调控细胞的生长分化、胚胎的发育、特定组织的形成有着极其重要的作用,目前,对胚胎发育期 Sp 与 Wnt 二者之间的关联性研究较集中。

其中 Sp5 和 Sp6-9 基因组与胚胎生长区如尾部相关,且都是 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号传导途径成员和靶标,文昌鱼 Sp5 显示对 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号的动态响应,受 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号调制<sup>[23]</sup>。神经嵴(Neural crest, NC)是多能胚胎细胞群,它是由 BMP、Wnt 和 FGF 分泌信号整合诱导的,Sp5 在非洲爪蟾 NC 形成中介导 Wnt 和 FGF 信号传导的活性,在非洲爪蟾早期胚胎发生中 Sp5 通过 NPB 指标、Msx1、Pax3、Wnt 和 FGF 途径的下游调节 NC 诱导<sup>[7]</sup>;可以看出 Sp5 是 Wnt 和 FGF 信号传导的关键下游介质。Ye 等<sup>[2]</sup>发现激活白血病抑制因子-Stat3 和 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路汇集在 Sp5 上以促进小鼠胚胎干细胞的自我更新,增强 Sp5 表达可以产生 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号传导的部分效应,同时证明 Sp5 是 MESCC 中  $\beta$ -连环蛋白的直接靶标, $\beta$ -连环蛋白可以通过与 Tcf 因子的相互作用诱导 Sp5 表达。Huggins 等<sup>[24]</sup>研究发现在人类多能干细胞中 Sp5 负向调节 Wnt 传导过程,Sp5 可通过抑制 Wnt 通路激活的基因的表达,从而导致 Wnt 信号通路启动的转录程序终止。Kennedy<sup>[25]</sup>等研究发现在小鼠胚胎和正在分化的胚胎干细胞中,Sp5/8 是 Wnt/ $\beta$ -catenin 途径中的基因特异性转录共激活因子,Sp5/8 可直接与 Wnt 靶基因增强子中的 GC 盒结合,并与邻近或远端定位的染色质结合 T 细胞因子 1/淋巴增强因子 1,以促进  $\beta$ -连环蛋白募集至靶基因增强子,增强 Wnt 靶基因的表达。Dunty 等<sup>[26]</sup>通过研究发现 Wnt3a/ $\beta$ -catenin 信号在原条、前体节中胚层和胚胎干细胞中对 Sp5 和 Sp8 的表达是必要和充分的,证实 Sp5、Sp8 位于体内 Wnt3a 和  $\beta$ -catenin 的下游,通过基因芯片鉴定 Sp5 和 Sp8 是 Wnt3a 突变体中最显著的下调基因;另外,通过协同转录分析和遗传学方法确定 Sp5 和 Sp8 是 Wnt3a 的关键下游效应子,由原条中的 Wnt3a 调节,并且是神经中胚层干细胞自我更新和分化所必需的,对神经和骨骼肌的形成至关重要。Wnt 信号通路激活后, $\beta$ -连环蛋白通过募集共激活因子,使下游靶基因如 Sp5/Sp8 等激活并转录,从而调控胚胎发育进程。

## 4 总结

综上所述,Sp 基因家族及 Wnt 基因家族成员



的异常均可导致胚胎的发育异常,其中Sp8基因及多个Wnt基因的缺失可引起腭裂的发生;部分Sp家族转录因子已经被证明是Wnt相关信号通路的下游效应子,在生物体胚胎发育过程中有着相互影响的作用;尤其是在胚胎发育中Sp5/8与Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路之间存在较密切的关联性,然而目前对于Sp5/8及Wnt基因家族成员是否共同参与调控唇腭裂的发生,以及在唇腭裂的发生、发展过程中Sp样转录因子是如何影响Wnt相关信号通路的分子机制目前尚不清楚,有待进一步的研究。

#### 参考文献

- [1] Vijayan V, Ummer R, Weber R, et al. Association of Wnt pathway genes with nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate[J]. *Cleft Palate Craniofac J*, 2018, 55(3): 335-341.
- [2] Ye S, Zhang D, Cheng F, et al. Wnt/ $\beta$ -catenin and LIF/Stat3 signaling pathways converge on Sp5 to promote mouse embryonic stem cell self-renewal[J]. *J Cell Sci*, 2016, 129(2): 269-276.
- [3] Gilmour J, Assi SA, Jaegle U, et al. A crucial role for the ubiquitously expressed transcription factor Sp1 at early stages of hematopoietic specification[J]. *Development*, 2014, 141(12): 2391-2401.
- [4] Wegener A, Küspert M, Sock E, et al. Sp2 is the only glutamine-rich Specificity protein with minor impact on development and differentiation in myelinating glia[J]. *J Neurochem*, 2017, 140(2): 245-256.
- [5] Meinders M, Kulu DI, Van De Werken HJ, et al. Sp1/Sp3 transcription factors regulate hallmarks of megakaryocyte maturation and platelet formation and function[J]. *Blood*, 2015, 125(12): 1957-1967.
- [6] Wang X, Pintoduarte A, Behrens MM, et al. Ketamine independently modulated power and phase-coupling of theta oscillations in Sp4 hypomorphic mice[J]. *PLoS One*, 2018, 13(3): 1-17.
- [7] Park DS, Seo JH, Hong MA, et al. Role of Sp5 as an essential early regulator of neural crest specification in xenopus[J]. *Dev Dyn*, 2013, 242(12): 1382-1394.
- [8] Tang L, Wang MM, Liu DH, et al. Sp5 induces the expression of Nanog to maintain mouse embryonic stem cell self-renewal[J]. *PLoS One*, 2017, 12(9): 1-13.
- [9] Haro E, Delgado I, Junco M, et al. Sp6 and Sp8 transcription factors control AER formation and Dorsal-Ventral patterning in limb development[J]. *PLoS Genet*, 2014, 10(8): 1-16.
- [10] Koenigsmann T, Turetzek N, Pechmann MA. Expression and function of the Zinc finger transcription factor Sp6-9 in the spider *Parasteatoda tepidariorum*[J]. *Dev Genes Evol*, 2017, 227(6): 389-400.
- [11] Pengfei, Niu, Zhaomin, et al. Zinc finger transcription factor Sp7/Osterix acts on bone formation and regulates col10a1a expression in zebrafish[J]. *Ko Hsueh Tung Pao*, 2017, 62(3): 174-184.
- [12] Bae JM, Clarke JC, Rashid H, et al. Specificity protein 7 is required for proliferation and differentiation of ameloblasts and odontoblasts[J]. *J Bone Miner Res*, 2018, 33(6): 1126-1140.
- [13] Li JW, Wang CY, Zhang ZZ, et al. Transcription factors Sp8 and Sp9 coordinately regulate olfactory bulb interneuron development[J]. *Cereb Cortex*, 2018, 28(9): 3278-3294.
- [14] Kim CK, He P, Bialkowska AB, et al. SP and KLF transcription factors in digestive physiology and diseases[J]. *Gastroenterology*, 2017, 152(8): 1845-1875.
- [15] Rafighdoost H, Hashemi M, Asadi H, et al. Association of single nucleotide polymorphisms in Wnt genes with the risk of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate[J]. *Congenit Anom (Kyoto)*, 2018, 58(4): 130-135.
- [16] Li C, Lan Y, Krumlauf R, et al. Modulating Wnt signaling rescues palate morphogenesis in Pax9 mutant mice[J]. *J Dent Res*, 2017, 96(11, SI): 1273-1281.
- [17] Jia SH, Zhou J, Fanelli C, et al. Small-molecule Wnt agonists correct cleft palates in Pax9 mutant mice in utero[J]. *Development*, 2017, 144(20): 3819-3828.
- [18] Lu YP, Han WT, Liu Q, et al. Variations in WNT3 gene are associated with incidence of non-syndromic cleft lip with or without cleft palate in a Northeast Chinese population[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(4): 12646-12653.
- [19] Sosilo A, Kasim A, Riawan L, et al. Genetic variation of single nucleotide polymorphism rs566926 Wnt5a gene with nonsyndromic cleft palate in Deutromelayu population in West Java[J]. *Int J Oral Max Surg*, 2017, 46(1): 69-70.
- [20] Fontoura C, Silva RM, Granjeiro JM, et al. Association of Wnt9B gene polymorphisms with nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in Brazilian nuclear families[J]. *Cleft Palate Craniofac J*, 2015, 52(1): 44-48.
- [21] Rafighdoost H, Hashemi M, Asadi H, et al. Association of single nucleotide polymorphisms in Wnt genes with the risk of Non-Syndromic Cleft Lip with or without Cleft Palate[J]. *Congenit Anom (Kyoto)*, 2018, 58(4): 130-135.
- [22] Wijaya Y, Hardianto A, Laksono B, et al. Polymorphism analysis of rs1533767 gene Wnt11 of nonsyndromic cleft palate of Deutero Malay population in West Java[J]. *Int J Oral Max Surg*, 2017, 46(1): 220-220.
- [23] Dailey SC, Kozmikova I, Somorjai IM. Amphioxus Sp5 is a member of a conserved Specificity Protein complement and is modulated by Wnt/beta-catenin signalling[J]. *Int J Dev Biol*, 2017, 61(10/12): 723-732.
- [24] Huggins IJ, Bos T, Gaylord O, et al. The WNT target SP5 negatively regulates WNT transcriptional programs in human pluripotent stem cells[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 1-14.
- [25] Kennedy MW, Chalamalasetty RB, Thomas SA, et al. Sp5 and Sp8 recruit beta-catenin and Tcf1-Lef1 to select enhancers to activate Wnt target gene transcription[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(13): 3545-3550.
- [26] Dunty J, Kennedy MW, Chalamalasetty RB, et al. Transcriptional profiling of Wnt3a mutants identifies Sp transcription factors as essential effectors of the Wnt/beta-catenin pathway in neuromesodermal stem cells[J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): 1-9.

(编辑 罗燕鸿,张兆强)