

- [7] 陈和平. 107 例乳牙反骀的临床病因分析[J]. 重庆医学, 2002, 31(2): 154.
- [8] 徐波, 黄吉娜. 下颌前突一家系[J]. 中华医学遗传杂志, 2006, 23(4): 442.
- [9] 刘来奎, 李晓普, 等. 下颌骨发生的研究进展[J]. 国外医学口腔医学分册, 2006, 33(2): 107.
- [10] Masayo W. Mandibular prognathism in Japanese families ascertained through orthognathically treated patients [J]. *Orthod Dent Orthop*, 2005, 128: 466.
- [11] El-Gheriani AA, Maher BS, El-Gheriani AS, et al. Segregation Analysis of Mandibular Prognathism in Libya[J]. *Dent Res*, 2003, 82(7): 523.
- [12] Jena AK, Duggal R, Mathur VP, et al. Class-III malocclusion; Genetics or environment A twins study[J]. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 2005, 23(1): 27.
- [13] 赵红艳, 王娜, 赵静. 安氏Ⅲ类错骀的遗传流行病学研究[J]. *口腔正畸学*, 2005, 12(3): 120.
- [14] 王爽, 王小荣. 骨性安氏Ⅲ类错骀的遗传度分析[J]. *上海口腔医学*, 2006, 15(3): 269.
- [15] Machado CR, Krieger H, Ferreira R, et al. Major Gene and Multifactorial Inheritance of Mandibular Prognathism[J]. *Am J Med Genet*, 2008, 146(1): 71.
- [16] 周征, 罗颂椒. 大鼠下颌功能前伸后激活胰岛胰岛素样生长因子 1 基因表达[J]. *中华口腔医学杂志*, 1998, 33(6): 369.
- [17] Yokota T. Insulin-like growth factor I regulates apoptosis in condylar cartilage[J]. *Dent Res*, 2008, 87(2): 159.
- [18] 赵计林, 陈扬熙, 吴拓江. 牙齿发育异常及颅面异常综合征致病基因研究的新进展[J]. *中华口腔医学杂志*, 2005, 40(2): 172.
- [19] 周晶, 吕婴, 白玉兴, 等. 106 名中国汉族人生长激素受体基因单核苷酸多态性分析[J]. *中华口腔医学杂志*, 2004, 39: 97.
- [20] 王豫蓉, 余兴华, 戴红卫, 等. 生长激素受体基因单核苷酸多态性在下颌前突与下颌正常人群中的分布比较[J]. *重庆医科大学学报*, 2008, 33(12): 1522.
- [21] Yamaguchi T, Park SB, Narita A, et al. Genome-wide linkage analysis of mandibular prognathism in Korean and Japanese patients [J]. *Dent Res*, 2005, 84(3): 25.
- [22] Frazier-Bowers S, Rincon-Rodriguez R, Zhou J. Evidence of Linkage in a Hispanic Cohort with a Class III Dentofacial Phenotype[J]. *Dent Res*, 2009, 88(1): 56.
- [23] Cho JY, Lee WB, Kim HJ. Bone-related gene profiles in developing calvaria[J]. *Science / Gene*, 2006, (372): 71.
- [24] 杜娟, 刘淑红, 范文红, 等. Smo 基因在小鼠胚胎颌面部的表达[J]. *口腔颌面外科杂志*, 2005, 15(1): 13.

(收稿日期: 2009-06-29 修回日期: 2009-07-24)

· 综 述 ·

Nkx2-5 转录因子在心脏发育中的作用

杨 哲 综述, 张 勇 审校

(济南军区总医院心外科 250000)

关键词: Nkx2-5 转录因子; 心脏发育; 相互作用

中图分类号: R339.35; Q344.14

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)03-0360-03

心脏是脊椎动物在胚胎发育过程中第一个形成的器官, 脊椎动物的心脏由多细胞系的特化到管状结构的形成, 最后精确组装为成熟的 4 个心腔结构, 经历了一个复杂的发育过程, 它涉及到多种基因不同时间和不同空间的先后表达与相互作用。研究脊椎动物心肌基因表达的分子调控是了解调节心肌发生的关键。Nkx2-5 是目前研究较多的与心脏发育密切相关的转录因子。

1 Nkx2-5 转录因子

最初人们应用果蝇同源结构域(homeodomain, HD)寡核苷酸探针筛查果蝇 cDNA 文库, 克隆出 NK 型同源盒基因, 随后分离出一种与果蝇背侧血管/心脏发育密切相关的果蝇 NK-2 型基因——tinman 基因。当 tinman 基因发生突变时会导导致果蝇心脏形成异常。由于该类基因在进化中的高度保守性, 人们猜测是否在脊椎动物体内也存在着这一类基因并且保留着相似的功能。目前已从脊椎动物鉴定出 6 个结构和功能上与 tinman 基因相关的基因, 即 Nkx2-3、Nkx2-5、Nkx2-6、Nkx2-7、Nkx2-8、Nkx2-9。其中 Nkx2-5/Csx (cardiac specific homeobox) 基因正是影响心脏发育的关键性的转录因子之一^[1]。1993 年研究人员应用 cDNA 文库筛查、Southern 印迹

杂交、Northern 印迹杂交、RT-PCR 和原位杂交等分子技术分别在两栖类和啮齿类动物体内分离出 Nkx2-5 基因, 并证明其确实与果蝇 tinman 基因高度同源^[2]。Lyons 等^[3]报道被破坏 Nkx2-5 基因的小鼠心脏发育异常。Turbay 等^[4]在成人心脏 cDNA 文库中分离出 Nkx2-5 基因, 进一步将其定位于 5q35。Schott 等^[5]证实在人类先天性心脏病患者中确实存在 Nkx2-5 基因的突变。

NK-2 编码转录激活因子是 DNA 结合蛋白质, 结合位点位于目的基因的启动子和(或)增强子的共有序列(T^{C/T}AAGTG), 它能激活转录。它的同源结构域(60 个氨基酸)的三维结构是由 3 个 α -螺旋组成, 其中螺旋 II 和 III 形成一个螺旋-转角-螺旋的结构, NK-2 同源结构域的 C-末端包含 17 个氨基酸的保守序列, NK-2 特异结构域有一个不变的疏水氨基酸中心簇(VPVLV), 它可能在蛋白质与蛋白质的相互影响中起作用, 如果这个结构域发生突变, 将会影响它在体外结合 DNA 的能力。Nkx2-5 是 NK 型同源盒基因家族 Nkx2 型成员, 是心脏前体细胞分化的最早期标志之一。它主要通过同源盒结构域与目的基因中相应的顺式作用元件(NKE)序列(5'-TNAAGTG-3')结合, 作为转录因子启动下游基因的转录, 在

胚胎发育和器官形成中发挥重要作用。Nkx2-5 位于人类染色体 5q35, 具有两个外显子。该基因的侧翼序列及外显子之间存在着许多具有重要功能的启动子、增强子、抑制因子和一些自动调节因子。它们在不同时间和空间调控 Nkx2-5 基因, 使其在心脏及其他器官的发育过程中发挥复杂的调节作用。Nkx2-5 基因编码的蛋白具有 4 类高度保守的结构域, 其中包括 N 端的 TN(tin) 结构域、160 个氨基酸组成的同源盒结构域 (HD)、位于 HD 下游的 NK2-SD 和 C 端含有 GI-RAW 保守的结构域。其中 HD 可以与目的基因中相应的启动子结合, 从而促进下游基因的转录。对这种蛋白质-DNA 结合的最有意义的氨基酸包括天冬氨酸、谷氨酸、赖氨酸和精氨酸等, 除此之外 Nkx2-5 还有一个富含丙氨酸和脯氨酸残基的阻遏结构域, 以及富含上述两种氨基酸和天冬氨酸、谷氨酸残基的激活域。它们的变化将引起蛋白质-DNA 间亲和力的改变, 从而影响基因的转录, 产生相关蛋白的缺陷, 形成心脏畸形^[6]。

Nkx2-5 基因具有明显的心脏特异性表达的特点, 虽然在发育阶段的脾、舌、胃和甲状腺等组织中 Nkx2-5 基因也有低度表达, 但出生后除心脏外其他器官中 Nkx2-5 蛋白水平都明显下降。这说明 Nkx2-5 在 mRNA 和蛋白水平上对多种器官的发育都有一定的影响, 尤其对心脏发育的作用最为明显^[7]。

Nkx2-5 是背侧中胚层形成所必需的, 它在心肌开始分化前即开始表达, 是所有脊椎动物心脏发生中最早表达的转录因子, 即心脏前体细胞最早的标志物。在心脏发育过程中, Nkx2-5 最初见于心脏头褶期心肌源性前体细胞, 持续表达于心肌细胞分化阶段, 随后在胚胎、胎儿和成体心肌细胞中保持一定的表达水平。应用 RNA 原位标记技术显示在怀孕后 7.5d 时 Nkx2-5 开始表达, 主要在心肌发生板的内胚层和中胚层的细胞核中表达^[8]。到了成熟阶段, Nkx2-5/Csx 只在房室肌细胞核中表达。Nkx2-5/Csx 基因突变的纯合子小鼠胚胎可形成心脏, 但不能正常旋转, 且心壁变薄、心功能不全、心脏不完全分隔、不表达心室特异性基因等, 胚胎很快死于循环衰竭^[7]。

随着对 Nkx2-5 基因结构和表达情况的阐明, 更多的研究转向 Nkx2-5 基因的功能及调节作用机制。大量研究表明, Nkx2-5 基因敲除导致胚胎死于心脏畸形, Nkx2-5 基因的过度表达也可以引起心脏增大。有资料显示, Nkx2-5 基因位于许多对心脏发育有作用的基因的上游, 在 Nkx2-5^{-/-} 小鼠应用原位杂交技术检测相关基因, 发现 *anf*、*mlc2v*、*mef2c*、*mhc* 等基因的表达受到严重干扰^[9]。同时, Nkx2-5 基因也受到多种因素的调节。脊椎动物与果蝇 *dpp* 基因相关的基因骨形成蛋白 (bone morphogenesis proteins, BMPs) 在胚胎中胚层的形成早期发挥作用, 小鼠 *bmp2* 缺失, Nkx2-5 不表达, 心脏早期发育阶段停滞^[10]。有研究表明, GATA-4 和 Nkx2-5 之间存在相互协调作用, 并具有启动子依赖性, 而且复杂的顺式调节作用在心肌细胞的基因表达中有重要地位。体外实验表明, Nkx2-5 基因的表达可以启动心肌的发生, 并且在心肌分化过程中激活 *mef2c* 基因; 而 *mef2c* 基因的表达在启动心肌发生的同时可以上调 Nkx2-5、GATA4、 α -肌动蛋白和 MHC 的表达^[11]。

2 Nkx2-5 与其他转录因子之间的相互作用

有研究表明, GATA-4 与 Nkx2-5 能相互作用, 彼此是辅助因子。在心肌细胞中两者相互作用调节心房利钠因子和 α -肌肌动蛋白启动子的表达。通过转基因分析显示, ANF 启动子有 1 个 Nkx2-5 的结合位点, 2 个 GATA-4 结合位点, 这些结合位点对于 ANF 的表达是必须的^[12]。有研究表明, Nkx2-5

和 GATA-4 转录因子可以通过协同作用使内源性 α -肌肌动蛋白 mRNA 表达增高 100 倍^[13]。它们的交互作用是通过 Nkx2-5 的同源区域的螺旋 III 和 GATA-4 的 C-终端锌指区域之间的相互作用实现的。在异源细胞中共同表达 GATA-4 和 Nkx2-5 导致协同激动 ANF 的启动子。这个协同作用包括在离体和在体上的 GATA-4 和 Nkx2-5 相互作用。结构/功能分析说明 GATA-4 结合到 Nkx2-5 可以导致 Nkx2-5 激动区域的结构改变, 这种作用可以在早期心肌形成关键路径中提供协同的交叉作用^[14]。

GATA-4 因子也能调节 Nkx2-5 在心肌发育时的表达, 提示在心肌中 Nkx2-5 和 GATA 转录因子之间存在一个相互增强的转录调节循环通路。在早期心脏形成中, GATA-4 在心脏谱系与 Nkx2-5 共表达, GATA-4 和 Nkx2-5 互相依赖共同发挥作用, 在 Nkx2-5 的远端增强子含有限制性心脏锌指转录因子 GATA-4 的高亲和性结合位点, Nkx2-5 的心脏特异性上游增强子在线性心血管和环化的过程中处于活化状态^[15]。

综上所述, 组织特异性 Nkx2-5 同源核蛋白是心肌细胞前体最早的标记, 是心脏形成的关键, 但不能发起心脏的形成。它在心脏发育过程中与其他的转录因子起着互相协同的作用, 一起调节心肌特异基因的表达。过度表达 Nkx2-5 可以促进前体心肌细胞的发育。

参考文献:

- [1] Prall OW, Elliott DA, Harvey RP. Developmental paradigms in heart disease: insights from tinman [J]. *Ann Med*, 2002, 34(3):148.
- [2] Komuro I, Izumo S. Csx: a murine homeobox-containing gene specifically expressed in the developing heart [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(17):8145.
- [3] Lyons I, Parsons LM, Hartley L, et al. Myogenic and morphogenetic defects in the heart tubes of murine embryos lacking the homeo box gene Nkx2-5 [J]. *Genes Dev*, 2005, 9(13):1654.
- [4] Turbay D, Wechsler SB, Blanchard KM, et al. Molecular cloning, chromosomal mapping, and characterization of the human cardiac-specific homeobox gene hCsx [J]. *Mol Med*, 2006, 2(1):86.
- [5] Schott JJ, Benson DW, Basson CT, et al. Congenital heart disease caused by mutations in the transcription factor Nkx2-5 [J]. *Science*, 1998, 281(5373):108.
- [6] Kasahara H, Usheva A, Ueyama T, et al. Characterization of homo- and heterodimerization of cardiac Csx/Nkx2-5 homeoprotein [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(7):4570.
- [7] Stennard FA, Costa MW, Elliott DA, et al. Cardiac T-box factor Tbx20 directly interacts with Nkx2-5, GATA-4, and GATA-5 in regulation of gene expression in the developing heart [J]. *Dev Biol*, 2003, 262(2):206.
- [8] Raffin M, Leong LM, Rones MS, et al. Subdivision of the cardiac Nkx2-5 expression domain into myogenic and non-myogenic compartments [J]. *Dev Biol*, 2006, 218(2):326.
- [9] Porter GA Jr, Makuck RF, Rivkees SA. Intracellular calcium plays an essential role in cardiac development [J]. *Dev Dyn*, 2003, 227(2):280.
- [10] Jamali M, Karamboulas C, Rogerson PJ, et al. BMP signa-

- ling regulates Nkx2-5 activity during cardiomyogenesis [J]. FEBS Lett, 2001, 509(1):126.
- [11] Dai YS, Cserjesi P, Markham BE, et al. The transcription factors GATA-4 and dHAND physically interact to synergistically activate cardiac gene expression through a p300-dependent mechanism [J]. J Biol Chem, 2006, 277(27):390.
- [12] Small EM, Krieg PA. Transgenic analysis of the atrial natriuretic factor (ANF) promoter; Nkx2-5 and GATA-4 binding sites are required for atrial specific expression of ANF [J]. Dev Biol, 2006, 261(1):116.
- [13] Sepulveda JL, Vlahopoulos S, Iyer D, et al. Combinatorial expression of GATA-4, Nkx2-5, and serum response factor directs early cardiac gene activity [J]. J Biol Chem, 2007, 277(28):775.
- [14] Benoit GB. Transcriptional regulation of vertebrate cardiac morphogenesis [J]. Circ Res, 2006, 90(5):509.
- [15] Garg V, Kathiriyi IS, Barnes R, et al. GATA-4 mutations cause human congenital heart defects and reveal an interaction with TBX-5 [J]. Nature, 2005, 424(6947):443.

(收稿日期:2009-05-05 修回日期:2009-07-13)

· 综 述 ·

Barrett 食管的诊治进展

王 珏 综述, 王江红[△] 审校

(重庆市肿瘤研究所内镜诊疗中心 400030)

关键词: Barrett 食管; 食管腺癌; 治疗; 内镜诊断技术

中图分类号: R735.1; R730.49

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)03-0362-03

Barrett 食管 (Barrett Esophagus, BE) 是指食管下段的复层鳞状上皮被单层柱状上皮所替代的一种病理现象, 可伴肠化生或不伴肠化生, 其中伴有特殊肠化生者属于食管腺癌的癌前病变^[1]。Barrett 食管是由英国心胸外科医生 Barrett 在 20 世纪 50 年代首次报道并以其名字命名。近年来食管腺癌的发病率逐年升高, 尤其是西方国家。食管腺癌的预后差, 进展期患者 5 年生存率小于 20%, BE 的治疗已成为临床的研究热点。

1 诊断方法

1.1 内镜筛查及追踪 BE 内镜下的典型表现是胃食管结合处 (GEJ) 近端出现橘红色柱状上皮, 即鳞、柱状上皮交界 (SCJ) 与 GEJ 分离。国外研究报道, BE 的癌变率较一般人群高 30~125 倍, 且 80% 食管腺癌来源于 BE。所以有学者建议采用内镜检查对 BE 进行筛查观察^[2]。基于过去已经认同的 BE 从上皮化生到癌变发生尚需有一个相对较长的潜伏期, 其潜伏期可长可短各不相同, 进行长期追踪监测的方案和效果评估标准目前还无统一意见。追踪监测的病例在长期过程中流失很多。有报道显示 9 年期间坚持追踪监测的例数仅占 42%^[3]。对已确定为 BE 的患者支持进行筛检或追踪监测, 其意义在于观察不典型增生的发生, 并指导临床适时进行干预。有报道指出这种追踪监测指导下临床干预的结果与无追踪对照组比较, 平均生存率可延长 42d。总的来说, 对 BE 内镜追踪监测的临床意义是肯定的。

1.2 组织病理学监测 BE 活组织标本是在内镜下分点取样获得。这对 BE 不典型增生的判断十分重要, 是临床追踪监测的基本手段。但对病理判断的结果还存在一定的异议。除已涉及过的问题外, 更主要的是如何获得有价值的活组织标本。Reid 等^[4]报道对 BE 的诊断性活组织取样应在 2cm 间隔取 4 块组织为宜。他们研究了以 1cm 间隔取 4 块样本来观察高度不典型增生的相关性变化, 45 例高度不典型增生患者有 29% 癌变是发生在内镜取样的界限上 (达到 1cm 间隔), 而其他患者

(超过 1cm 间隔) 除 2 例外均发展为癌变。这一研究提示, 内镜下采用 1cm 间隔取样仅 1/3 患者可被病理检查确认为癌变; 而采用 2cm 间隔取样的被漏诊率也是 1/3 (29%)。总之, 多点间隔式内镜下取样可以减少对恶性变的遗漏。对追踪早期癌十分重要。

组织分型^[5]: (1) 胃底型与胃底上皮相似, 可见主细胞和壁细胞, 但 BE 上皮萎缩较明显, 腺体较少且短小, 此型多分布于 BE 远端近贲门处; (2) 贲门型与贲门上皮相似, 有胃小凹和黏膜液腺, 但无主细胞和壁细胞; (3) 特殊肠化生型又称为 III 型肠化生或者不完全小肠化生型, 分布于鳞状细胞和柱状细胞交界处, 具有不完全小肠或结肠表面, 表面有微绒毛和隐窝, 杯状细胞是其特征性细胞。

1.3 放大内镜 放大内镜是一种具有高像素和高分辨率特点的电子内镜, 可使肉眼直观所见到的黏膜组织被不同程度的放大, 达到与解剖显微镜相同的观察水平, 有利于观察微细结构变化, 以判断病变的良恶性、区分组织学类型及判断病变的深度和范围。乙酸是一种可与柱状细胞发生特异性、可逆性反应的染色剂, 乙酸与其他染色剂比较, 其优势在于使用前不需使用除黏液剂, 而且对 BE 上皮的特异性较强, 可增强鳞状上皮与柱状上皮之间的色调对比, 使柱状上皮的黏膜像显示更加清晰, 其与放大内镜联合使用称为增强放大内镜^[6]。

1.4 染色内镜 染色内镜是使用染色物质使其附于胃肠道黏膜以使某些病变在内镜下呈现特殊颜色的一种技术。有研究表明, 使用亚甲蓝染色对 BE 诊断的灵敏度和特异度分别为 95%、97%, 总体准确度为 95%。用复方碘溶液染色对 BE 诊断的灵敏度和特异度分别为 89%、93%。总体准确度为 91%。染色内镜是一种安全、便宜、可反复进行、准确性相对高的检查手段, 在 BE 的追踪监测手段中占有重要地位^[7]。

1.5 富士能电子分光图像处理技术 (fuji intelligent chromoendoscopy, FICE) 放大胃镜和 FICE 都旨在观察黏膜的细微