李庚泽,孙先定. 斑马鱼模型在骨骼遗传病中的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2025, 33(8): 1198-1210.
LI G Z, SUN X D. Research progress in zebrafish models of skeletal genetic diseases [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2025, 33(8): 1198-1210.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2025.08.009

斑马鱼模型在骨骼遗传病中的研究进展

李庚泽,孙先定*

(重庆医科大学附属第二医院骨科关节外科中心,重庆 400010)

【摘要】 骨骼遗传病(skeletal genetic diseases)是一类影响骨骼系统的遗传性疾病,其特征为全身骨骼生长发育障碍。临床上,这些疾病常表现为头颅四肢畸形、脊柱侧弯等异常病理表现,严重影响患者的生活质量。根据2023年修订的遗传性骨骼疾病分类学,可分为41大类,涉及552个基因。尽管许多骨骼遗传病的研究已取得进展,但约一半疾病的致病机制尚未完全阐明。斑马鱼(zebrafish)作为一种新型模式动物,其骨骼发育过程和调控机制与哺乳动物高度保守。斑马鱼的个体小、繁殖力强大、繁殖周期短和胚胎透明等特点,为利用该模型研究人类骨骼遗传病的发病机制提供了独特优势。本综述聚焦于斑马鱼模型在人类骨骼遗传病研究中的应用进展。通过广泛文献回顾,选取了包括*FGFR3*相关软骨发育不全、2型胶原病和11型胶原病在内的9大类骨骼遗传疾病进行详细讨论。本文从疾病概况、斑马鱼模型构建及其研究意义等方面进行总结,旨在为深入研究人类骨骼遗传病的发病机制提供参考。

【关键词】 斑马鱼;模式动物;骨骼遗传病

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2025)08-1198-13

Research progress in zebrafish models of skeletal genetic diseases

LI Gengze, SUN Xianding*

(Center for Joint Surgery, Department of Orthopedic Surgery, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

Corresponding author: SUN Xianding. E-mail: xianding1004@163.com

【Abstract】 Skeletal genetic diseases are characterized by disorders in bone development and growth throughout the body. Such diseases often present clinically with pathological manifestations such as head and limb deformities and scoliosis, which can seriously affect patient quality of life. The Nosology of genetic skeletal disorders: 2023 revision, recognizes 41 major categories, involving 552 genes; however, the pathogenic mechanisms of around half of all bone genetic diseases remain unclear. As a new type of model animal, zebrafish have a highly conserved skeletal development process and regulatory mechanism compared with mammals. They also have the advantages of small size, strong reproductive ability, short reproductive cycle, and transparent embryos, potentially making them suitable for studying the pathogenesis of human skeletal genetic diseases. This review focuses on progress in the application of zebrafish models in research related to human skeletal genetic diseases. We carried out an extensive literature review and selected nine major categories of skeletal genetic disorders for detailed discussion, including

[基金项目] 中国博士后科学基金(2024T171107)。

Funded by China Postdoctoral Science Foundation(2024T171107).

[作者简介] 李庚泽,男,在读硕士研究生,研究方向:骨关节炎,骨骼遗传疾病。Email:1561872772@qq.com

[通信作者] 孙先定,男,博士,副研究员,博士生导师,研究方向:运动医学及关节等疾病的临床诊治与基础。

Email:xianding1004@163.com

fibroblast growth factor receptor 3 chondrodysplasias, type 2 collagen disorders, and type 11 collagen disorders. This article summarizes the disease overview, zebrafish model construction, and their research significance, with the aim of providing a reference for in-depth research on the pathogenesis of human skeletal genetic diseases.

【Keywords】 zebrafish; model animal; skeletal genetic diseases

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

骨骼遗传疾病(skeletal genetic diseases)是以全身骨组织生长发育异常为特征的一类遗传性骨骼系统疾病,其临床特征包括骨生长发育障碍、骨痛、骨密度异常、头颅四肢畸形、身材矮小等^[1-3],严重影响患者生活质量。根据《遗传性骨骼疾病分类学:2023 修订版》,人类骨骼遗传疾病被分为 41 个大类,涵盖 771 个具体疾病,涉及 552 个基因和位点^[4]。然而,约半数骨骼遗传病的发病机制尚未被充分理解,这给疾病的早期诊断和有效治疗带来了挑战。

由于实验伦理和道德标准的制约,骨骼遗传病患者自身很少能作为实验的研究对象,因此,构建遗传背景稳定均一的模式动物用于人类骨骼遗传病研究显得尤为重要。近年来,作为新型模式动物的斑马鱼在人类骨骼遗传病研究中的优势逐渐显现,其应用日益广泛。首先,斑马鱼具有体型小、饲养成本低、繁殖能力强、遗传背景稳定、易于操作、生物安全性好、可塑性强等优势,较传统模式动物而言,可有效缩短实验周期并降低实验成本^[5-8]。斑马鱼具有胚胎透明、体外受精发育、生长发育迅速等特点,可通过显微镜直接观察斑马鱼胚胎的发育过程,与传统的大鼠、小鼠、兔、鸡等模式动物而言,可以更清晰直观的研究胚胎时期骨骼发育的特点及其机制^[6-8]。此外,斑马鱼基因与人类基因具有高度的同源性,其相似度可达 87%,且斑马鱼胚胎发育过程中的骨骼发育相关信号通路及其调控机制已被证实与人类高度保守^[5-6,9-10],这就意味着骨的发育以及骨骼遗传疾病的发生发展机制在人类及斑马鱼体具有较强的相关性。最后,斑马鱼是唯一适用于高通量药物筛选的脊椎动物模型,有助于直接应用于药物的发现和筛选过程^[8,11]。因此,利用斑马鱼构建的骨骼遗传病模型在通常情况下能较好重现人类骨骼遗传病的多种性状,斑马鱼模型的实验数据也将在一定程度上适用于人类。此外,mRNA 过量表达、

CRISPR、TALEN、原位杂交、免疫荧光、活体成像等技术在斑马鱼模型上的应用日趋成熟^[6,12-13]。综上所述,斑马鱼是一种研究人类骨骼遗传疾病的良好模式动物。

本综述聚焦于斑马鱼模型在人类骨骼遗传病研究中的应用进展。鉴于篇幅限制,本文从众多骨骼遗传疾病中选取了 9 大类进行详细讨论。汇总了近期发表的多种斑马鱼模型,介绍了这些疾病的概况、模型构建方法,并探讨了它们的应用价值,旨在为未来的研究提供新的方向。

1 斑马鱼模型在各种骨骼遗传病中的研究进展

1.1 *FGFR3* 相关的软骨发育不全 (*FGFR3* chondrodysplasias)

根据《遗传性骨骼疾病分类学:2023 修订版》^[4],*FGFR3* 相关软骨发育不全疾病大类下含 5 种疾病,基因涉及 *FGFR3*,选取致死性侏儒症(thanatophoric dysplasia,TD)这一疾病进行综述。先天性指/趾屈曲-身材高大-听力丧失(camptodactyly, tall stature and hearing loss syndrome, CATSHL)综合征归类于“过度生长综合征与节段性过度生长(overgrowth tall stature syndromes and segmental overgrowth)”这一疾病大类,然而由于其与 *FGFR3* 基因有关,并考虑到已有斑马鱼模型对该疾病进行研究,本文将将其纳入本节进行综述,上述疾病遗传方式及斑马鱼应用参考文献见表 1。

1.1.1 TD

TD 是一种新生儿短肢侏儒症的潜在致命原因^[16],由 4 号染色体短臂上的 *FGFR3* 功能增强突变引起^[17](见表 1),可分为两个亚型:致死性侏儒症 I 型(TD1)、致死性侏儒症 II 型(thanatophoric dysplasia type 2,TD2)^[18-19]。出生时,患儿表现为短肢、小圆锥形胸部、扁平椎体和大头畸形^[20-22]。

表 1 *FGFR3* 相关软骨发育不全的斑马鱼模型汇总Table 1 Summary of zebrafish models with *FGFR3* chondrodysplasias

人类孟德尔遗传 数据库编号 MIM No.	疾病名称 Disease names	遗传方式 Inheritance patterns	基因 Gene	参考文献 References
187600	致死性侏儒症 I 型 Thanatophoric dysplasia (type 1)	常染色体显性遗传 Autosomal dominant inheritance	<i>FGFR3</i>	[14]
610474	先天性指/趾屈曲-身材高大- 听力丧失综合征 Camptodactyly, tall stature and hearing loss syndrome (CATSHL)	常染色体显性遗传或常染色体 隐性遗传 Autosomal dominant inheritance or autosomal recessive inheritance		[15]

针对致死性侏儒症 I 型 (thanatophoric dysplasia type 1, TD1), LINDY 等^[14] 通过体外转录合成了带有插入突变 (c. 742_743insTGT) 的 *fgfr3* mRNA, 并将其显微注射到斑马鱼胚胎中, 构建了模拟 *fgfr3* 插入突变 (c. 742_743insTGT) 的斑马鱼模型。通过该模型, 研究人员首次报道了由于 *fgfr3* 的插入或缺失突变导致 1 型或 2 型致死性侏儒症的发生, 突变体胚胎主要表现为腹侧、尾侧组织消失, 背侧、头侧组织膨大、体轴延长、体节发育异常, 部分再现了人类致死性侏儒症表型。研究证明 c. 742_743insTGT 对 *fgfr3* 而言是一个激活突变, 导致不依赖配体的信号活性增加, 这种改变上调了成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF) 通路, 导致下游通路的信号传导增加。尽管 c. 742_743insTGT 突变使 Fgfr3 蛋白延长了一个氨基酸, 但最有可能的是使 ArgSer-Pro 基序的破坏, 并在高度保守的 Ig2-Ig3 连接域插入游离半胱氨酸, 从而改变了该蛋白的功能, 因此导致 TD1 的发生。该斑马鱼模型的建立为进一步研究致死性侏儒症奠定了基础, 然而该研究的局限性在于仅通过注射 mRNA 实现 *fgfr3* 的过表达, 且由于模型表现出严重畸形, 未能观察到胚胎软骨发育异常的表型。

1.1.2 CATSHL 综合征

CATSHL 综合征是由于 *FGFR3* 功能降低引起的, 遗传方式为常染色体显性遗传或常染色体隐性遗传。患者主要表现为小头畸形、身材高大、听力损伤、脊柱侧凸或脊柱后凸等^[23]。

本研究团队先前使用 CRISPR/Cas9 技术构建了模拟 CATSHL 综合征的 *fgfr3* 基因敲除斑马鱼模型^[15]。研究发现, 自胚胎发育早期起, *fgfr3*

突变斑马鱼出现了圆顶状颅骨、小头畸形、颅缝闭合延迟、听觉感觉器官发育异常、颌骨畸形等性状, 部分再现了 CATSHL 综合征患者的临床表现^[15]。此外发现, *fgfr3* 敲除会促进斑马鱼胚胎椎骨形成、抑制其鳞片形成、破坏咽弓和部分听觉感官系统发育、导致软骨细胞异常肥大及软骨细胞排列紊乱。进一步研究证明, *fgfr3* 基因缺失会导致印度刺猬因子 (indian hedgehog, IHH) 信号增强和 Wnt/ β -catenin 信号通路上调^[15]。抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路可以部分缓解 *fgfr3* 突变体的表型, 这意味着 Wnt/ β -catenin 信号通路异常激活可能是导致 CATSHL 综合征骨骼发育异常的一个关键机制。该研究为阐明 CATSHL 综合征的潜在发病机制及寻找有效治疗靶点提供了新思路。

1.2 2 型胶原病 (type 2 collagen disorders) 与 11 型胶原病 (type 11 collagen disorders)

根据《遗传性骨骼疾病分类学: 2023 修订版》^[4], 2 型胶原病与 11 型胶原病疾病大类下共含 17 种疾病, 基因涉及 *COL2A1*、*COL11A1*、*COL11A2*, 选取 *COL2A1* 相关的 Stickler 综合征和 *COL11A1* 相关的 Stickler 综合征、Marshall 综合征、*COL11A2* 相关的 Stickler 综合征 4 种疾病进行综述, 其遗传方式及斑马鱼应用参考文献见表 2 及表 3。

1.2.1 *COL2A1* 相关的 Stickler 综合征

Stickler 综合征是一种常染色体显性遗传结缔组织疾病 (见表 2), 临床特征包括近视、白内障和视网膜脱离、传导性和感觉神经性听力损失、面中部发育不全和腭裂、轻度脊椎骨骺发育不良和/或早熟性关节炎^[28]。大多数 Stickler 综合征

表 2 2 型胶原病的斑马鱼模型汇总

Table 2 Summary of zebrafish models with type 2 collagen disorders

人类孟德尔遗传 数据库编号 MIM No.	疾病名称 Disease name	遗传方式 Inheritance pattern	基因 Gene	参考文献 Reference
108300	COL2A1 相关的 Stickler 综合征 Stickler syndrome, COL2A1-related	常染色体显性遗传 Autosomal dominant inheritance	COL2A1	[24]

表 3 11 型胶原病的斑马鱼模型汇总

Table 3 Summary of zebrafish models with type 11 collagen disorders

人类孟德尔遗传 数据库编号 MIM No.	疾病名称 Disease names	遗传方式 Inheritance pattern	基因 Genes	参考文献 References
604841	COL11A1 相关的 Stickler 综合征 Stickler syndrome, COL11A1-related		COL11A1	[25-26]
154780	Marshall 综合征 Marshall syndrome	常染色体显性遗传 Autosomal dominant inheritance	COL11A1	[25-26]
184840	COL11A2 相关的 Stickler 综合征 Stickler syndrome, COL11A2-related		COL11A2	[27]

是因常染色体 *COL2A1* 基因显性突变使该基因功能降低,导致 2 型胶原蛋白异常而发生。

WILLIAMS 等^[24]通过 morpholino 技术敲低 *col2a1a* 基因,构建了 Stickler 综合征斑马鱼模型。该模型表现出颌骨发育延迟、小眼、突眼等异常,与人类 Stickler 综合征的颅面部畸形和眼部发育缺陷表现相似。通过原位杂交、免疫荧光、活体成像等技术,证明了 *col2a1a* 是全反式维甲酸(all-trans retinoic acid, ATRA)在颅神经嵴的下游靶点,是颅面和眼发育所必需的。为进一步阐明 Stickler 综合征患者表现出的骨骼改变及眼轴延长伴玻璃体变性等眼部病变的发病机制奠定了基础。

1.2.2 COL11A1 相关的 Stickler 综合征和 Marshall 综合征

常染色体显性软骨营养不良症 (autosomal dominant chondrodystrophies),包括由 *COL11A1* 功能降低所引起的 Stickler 综合征和 Marshall 综合征(见表 3),其临床特征为面部畸形、视力缺陷、听力丧失和关节改变等。

REECK 等^[25]通过 morpholino 技术敲低斑马鱼的 *col11a1a* 基因,构建斑马鱼模型研究其下颌发育过程。研究发现,*col11a1a* 基因敲低的斑马

鱼模型出现了身体弯曲、下颌骨缩短、麦氏软骨发育不良、第二咽弓弯曲、小眼等异常表现,这些表现与人类 Stickler 综合征和 Marshall 综合征有相似之处。结果表明,Col11a1a 蛋白在软骨的发育、长骨骨领及下颌麦氏软骨的矿化中发挥了重要作用,*col11a1a* 基因敲低会导致斑马鱼下颌发育中的麦氏软骨细胞排列改变,进而导致其颞部出现形态和大小异常。这一斑马鱼模型的构建为进一步探索 *COL11A1* 相关的 Stickler 综合征和 Marshall 综合征奠定了基础。

HARDY 等^[26]运用 CRISPR/Cas9 技术及 morpholino 技术,敲低了斑马鱼 *col11a1a* 表达,构建相应斑马鱼模型。研究发现,该斑马鱼模型表现出与人类 Stickler 综合征和 Marshall 综合征患者相似的表型,如软骨发育不全、视力缺陷、听力损失和关节改变等。研究证明斑马鱼的 *col11a1a* 基因是胚胎骨骼正常发育所必需的,且斑马鱼的该基因与哺乳动物的 *COL11A1* 基因具有相似的功能,该基因的缺失会导致骨骼发育异常、神经嵴细胞迁移和分化异常、细胞外基质功能障碍以及基因表达调控异常,这些机制共同导致了类似人类 Stickler 综合征和 Marshall 综合征的发生。通过该 *col11a1a* 敲低的斑马鱼模型,可以更加清

晰的观察到胚胎早期的骨骼发育过程,有助于进一步解释脊椎动物 *COL11A1* 相关的 Stickler 综合征以及 Marshall 综合征骨骼发育异常的发病机制。

1.2.3 *COL11A2* 相关的 Stickler 综合征

Stickler 综合征除了可由 *COL2A1*、*COL11A1* 突变引起外,少部分还可通过 *COL11A2* 突变导致基因功能降低引起(见表 3)。

LAWRENCE 等^[27]通过敲除斑马鱼 *col11a2* 基因,构建了 *col11a2* 缺失的突变体斑马鱼模型。通过对 11 型胶原进行免疫染色和茜素红/阿尔新蓝染色,研究人员发现突变体斑马鱼出现了颅面形态改变,在 3 d 胚胎期(3 d post fertilization, 3 dpf)时,颌骨形态未见明显异常,但在 5 和 7 dpf 时,突变体的颌骨明显变短、变宽,再现了 Stickler 综合征患者特有脸型。通过原位杂交实验,研究人员发现 *col11a2* 和 *col2a1* 在斑马鱼颅面部软骨

中共同表达。通过对 11 型胶原进行免疫染色,他们发现突变体斑马鱼体内缺失 *col11a2* 会影响 11 型胶原蛋白的稳定性。此外,*col11a2* 突变导致软骨细胞行为改变,软骨细胞成熟过程被干扰。这些变化在某种程度上解释了 11 型胶原蛋白的缺失与 Stickler 综合征发生的关系,为阐明进一步阐明疾病发生机制提供了新的方向。

1.3 脊柱骨骺-干骺端发育不良 (spondyloepiphyseal dysplasias, SE(M)D)

根据《遗传性骨骼疾病分类学:2023 修订版》^[4],脊柱骨骺-干骺端发育不良疾病大类下共包含 22 种疾病,基因涉及 *DYM*、*DDRCK1*、*TONSL*、*RPL13* 等,本文选取 *DDRCK1* 相关的脊柱骨骺-干骺端发育不良(Shohat 型)和 *RPL13* 相关的脊柱骨骺-干骺端发育不良伴严重身材矮小等 3 种疾病进行综述,其遗传方式及斑马鱼应用参考文献见表 4。

表 4 脊柱骨骺-干骺端发育不良的斑马鱼模型汇总

Table 4 Summary of zebrafish models with SE(M)D

人类孟德尔遗传数据库编号 MIM No.	疾病名称 Disease names	遗传方式 Inheritance patterns	基因 Genes	参考文献 References
602557	<i>DDRCK1</i> 相关的脊柱骨骺-干骺端发育不良(Shohat 型) SE(M)D, <i>DDRCK1</i> -related (Shohat type)	常染色体隐性遗传 Autosomal recessive inheritance	<i>DDRCK1</i>	[29]
618728	<i>RPL13</i> 相关的脊柱骨骺-干骺端发育不良伴严重身材矮小 SE(M)D with severe short stature, <i>RPL13</i> -related	常染色体显性遗传 Autosomal dominant inheritance	<i>RPL13</i>	[30]
271510	<i>TONSL</i> 相关的脊椎和鼻腔改变伴横纹干骺端发育不良(SPONASTRIME 发育不良) <i>TONSL</i> -related spondylar and nasal alterations with striated metaphyses(SPONASTRIME dysplasia)	常染色体隐性遗传 Autosomal recessive inheritance	<i>TONSL</i>	[31]

1.3.1 *TONSL* 相关的脊椎和鼻腔改变伴横纹干骺端发育不良(SPONASTRIME 发育不良)

TONSL 相关的脊椎和鼻腔改变伴横纹干骺端发育不良是一种罕见的隐性遗传骨骼发育不良(见表 4),其特征是身材矮小、面部畸形以及脊柱和长骨干骺端影像学异常^[32]。

BURRAGE 等^[31]使用 CRISPR/Cas9 技术构建了携带 *tonsl* 基因早期移码突变的斑马鱼模型。研究发现,该模型表现出生长迟缓、椎体骨化加速、中性粒细胞数量减少等异常,和人类疾病中

观察到的身材矮小、脊柱异常和中性粒细胞减少症有相同表现。该模型证明了 *tonsl* 的致病突变损害了 DNA 复制和同源重组依赖的修复过程,导致一系列骨骼发育不良表型,这些表型与 *tonsl* 相关的脊椎和鼻腔改变伴横纹干骺端发育不良的发病机制密切相关。此模型的建立为进一步阐释该疾病发病机制提供了可能。

1.3.2 *DDRCK1* 相关的脊柱骨骺-干骺端发育不良(Shohat 型)

DDRCK1 相关的脊柱骨骺-干骺端发育不良

(Shohat 型)是一种以椎体、骨骺端和骨干发育异常为特征的常染色体隐性遗传病(见表 4),临床表现包括脊柱侧凸、椎体压缩性骨折、椎体扁平、关节松弛和四肢短小等^[29]。其与 *DDRGK1* 基因隐性突变功能降低有关^[4]。

EGUNSOLA 等^[29]通过 morpholino 技术敲低 *ddrgk1* 基因,构建了相应脊柱骨骺-干骺端发育不良斑马鱼模型。被处理的斑马鱼胚胎中有 50%~61% 出现麦氏软骨和角舌软骨缩短和畸形、角鳃软骨缺失等颅面缺陷,这些表型与人类 Shohat 型脊柱骨骺-干骺端发育不良的骨骼异常相似。通过对 *ddrgk1* 敲低的斑马鱼模型进行靶向的 *ddrgk1* mRNA 共注射挽救实验、过表达 *sox9a* 的挽救实验,研究人员证明了 *Ddrgk1* 缺乏会影响斑马鱼颅面软骨发育,并导致软骨生成的关键转录因子 *sox9* 及其下游靶标 *col2a1* 水平下降,而 *sox9* 的过表达挽救了 *ddrgk1* 敲低所产生的斑马鱼软骨形成异常和颅面异常表型。该实验确定了一种通过 SOX9 泛素化调节软骨形成的新机制,同时还证明了 Shohat 型脊柱骨骺-干骺端发育不良的发病机制可能与 *DDRGK1* 功能降低导致泛素依赖性蛋白酶体降解 SOX9 增加有关。

1.3.3 RPL13 相关的脊柱骨骺-干骺端发育不良伴严重身材矮小

RPL13 相关的脊柱骨骺-干骺端发育不良伴

严重身材矮小的发生与 *RPL13* 的显性突变有关^[4](见表 4)。

COSTANTINI 等^[30]CRISPR/Cas9 技术生成携带纯合 p. L191Afs32 突变的 *rpl13* 突变斑马鱼模型。该模型在胚胎和幼年发育阶段表现出颅软骨畸形、发育延迟和躯体比例失调等特征,部分再现了 *RPL13* 突变患者的表型。深入研究发现,*rpl13* 基因突变通过影响核糖体蛋白 eL13 的结构和功能,导致核糖体组装异常、蛋白质合成效率降低,进而影响骨骼和软骨的正常发育,最终引发脊柱骨骺-干骺端发育不良伴严重身材矮小。此外,该突变还表现出不完全外显和表型多样性,提示遗传背景和环境因素可能在疾病表现中起重要作用。该模型的建立为深入研究 *RPL13* 相关的脊柱骨骺-干骺端发育不良伴严重身材矮小的分子基础及开展药物测试提供了条件。

1.4 细丝蛋白类及其相关疾病 (filamins and related disorders)

根据《遗传性骨骼疾病分类学:2023 修订版》^[4],细丝蛋白类疾病大类下共包含 15 种疾病,基因涉及 *FLNA*、*MYH3*、*MAP3K7*、*SH3PXD2B* 等,本文选取 *MYH3* 相关的伴有挛缩和翼状胫肉的脊柱腕跗骨连接综合征和弗兰克-特哈尔综合征进行综述,其遗传方式及斑马鱼应用参考文献见表 5。

表 5 细丝蛋白类疾病及其斑马鱼模型汇总

Table 5 Summary of zebrafish models with filamins and related disorders

人类孟德尔遗传数据库编号 MIM No.	疾病名称 Disease names	遗传方式 Inheritance patterns	基因 Genes	参考文献 References
178110,618469	<i>MYH3</i> 相关的伴有挛缩和翼状胫肉的脊柱腕跗骨连接综合征 Spondylorcarpotarsal synostosis syndrome with contractures and pterygia, <i>MYH3</i> -related	常染色体显性遗传或常染色体隐性遗传 Autosomal dominant inheritance or autosomal recessive inheritance	<i>MYH3</i>	[33]
249420	弗兰克-特哈尔综合征 Frank-Ter Haar syndrome, FTHS	常染色体隐性遗传 Autosomal recessive inheritance	<i>SH3PXD2B</i>	[34]

1.4.1 *MYH3* 相关的伴有挛缩和翼状胫肉的脊柱腕跗骨连接综合征

MYH3 相关的伴有挛缩和翼状胫肉的脊柱腕跗骨连接综合征是一种常染色体隐性疾病(见表 5),临床表现包括身材矮小、椎骨融合、挛缩、腕

和/或跗骨融合、脊柱侧凸等^[35],其发病与 *MYH3* 基因发生显性或隐性突变有关^[4]。

WHITTLE 等^[33]将常见的 *MYH3* 错义突变 (R672H)引入斑马鱼的同源基因同源基因慢肌球蛋白重链 1 (slow myosin heavy chain 1, *smyhc1*)

中,同时研究人员创建了一个 *smyhc1* 基因的无效等位基因,以比较这两种等位基因突变对斑马鱼肌肉和骨骼发育的影响。研究人员发现,突变体胚胎在发育过程中逐渐出现脊柱侧弯,并最终导致椎骨融合,此外,突变体慢肌纤维缩短、肌肉组织结构紊乱,与正常野生型斑马鱼相比,其游泳距离明显缩短,提示突变体肌肉功能受损、运动能力下降,这些表型和患者临床表现相似。研究证明,*myh3* 基因突变导致的肌肉过度收缩通过增加机械张力影响脊索和骨骼发育,进而导致骨骼异常,而肌球蛋白 ATP 酶抑制剂能够通过减少肌动蛋白-肌球蛋白的亲合力来缓解这些异常表型。该研究成功建立了 *MYH3* 相关的伴有挛缩和翼状鳍肉的脊柱腕跗骨连接综合症的斑马鱼模型,为深入研究该疾病的发病机制、提出针对性治疗策略创造了条件。

1.4.2 弗兰克-特哈尔综合征

弗兰克-特哈尔综合征是常染色体隐性疾病(见表 5),其主要临床特征为短头、囟门宽、前额突出、眼距增宽、突眼、角膜大伴或不伴青光眼、面颊饱满、颞小、长骨弯曲、手指屈曲畸形等^[36-37],其发病与 *SH3PXD2B* 基因发生隐性突变有关^[4]。

DE 等^[34]通过 CRISPR/Cas9 技术在斑马鱼中诱导 *sh3pxd2b* 突变,建立了名为“pretzel”的模型。研究表明,突变体成鱼与对照组成鱼相比体

型减小,头骨变短,且由于肌肉骨骼纤维化的增加,该突变体随着时间的推移表现出脊柱侧凸。此外,突变体表现出软组织纤维化改变,“pretzel”从 5 月龄开始出现皮肤和肌肉骨骼纤维化,且随着时间的推移逐渐恶化,这种纤维化最初出现在背鳍、肛鳍和胸鳍周围,随后逐渐扩展,导致脊柱后凸、腹部收缩和侧折叠,与弗兰克-特哈尔综合征患者临床表现相似,这些变化损害了鱼的活动能力。研究发现,*sh3pxd2b* 基因突变导致皮肤和肌肉骨骼纤维化的发病机制可能与该基因编码的蛋白在细胞外基质(extracellular matrix, ECM)重塑中的关键作用受损有关。这种受损的 ECM 重塑导致胶原沉积异常,进而引发纤维化和相关畸形,且这种纤维化并非由皮肤创伤引起,提示其发病机制可能涉及更广泛的胶原代谢和细胞信号传导异常。该突变体模型可用于进一步阐明弗兰克-特哈尔综合征患者观察到的软组织纤维化的潜在机制,及相应新药的筛选和开发。

1.5 蛋白聚糖核心蛋白疾病(proteoglycan core proteins disorders)

根据《遗传性骨骼疾病分类学:2023 修订版》^[4],蛋白聚糖核心蛋白疾病大类下共含 6 种疾病,基因涉及 *HSPG2*、*ACAN*、*BGN*,选取节段性发育不良进行综述,其遗传方式及斑马鱼应用参考文献见表 6。

表 6 蛋白聚糖核心蛋白疾病的斑马鱼模型汇总

Table 6 Summary of zebrafish models with proteoglycan core proteins disorders

人类孟德尔遗传数据库编号 MIM No.	疾病名称 Disease name	遗传方式 Inheritance pattern	基因 Gene	参考文献 Reference
224410,224400	节段性发育不良 Dyssegmental dysplasia	常染色体隐性遗传 Autosomal recessive inheritance	<i>HSPG2</i>	[38]

节段性发育不良是一种常染色体隐性遗传的致死性侏儒症(见表 6),其发生与 *HSPG2* 基因突变功能降低有关^[4,39]。

CASTELLANOS 等^[38]利用 morpholino 技术敲低斑马鱼中 *hspg2* 的表达,构建模型以探索该基因在颅面发育中的作用。研究表明,该模型表现出下颌短缩、关节形成缺陷、神经嵴细胞晚期分化功能障碍,这些表型与节段性发育不良患者常见的骨骼发育不良和面部畸形相似。研究发现,

在该斑马鱼模型发育后期(4 dpf),与随机对照的胚胎相比,该模型下颌关节区域的 Sox10⁺ 和 Col2a1a⁺ 细胞的数量减少,同时,下颌关节形成标志物 *nkx3.2* 的表达下降,由此证明了 *hspg2* 在斑马鱼颌骨关节形成和分化发育中起到复杂作用。该斑马鱼模型揭示了 *hspg2* 在下颌关节发育中的关键作用,为理解节段性发育不良的致病机制提供了新的视角,并为未来相关疾病的治疗和干预提供了潜在的靶点。

1.6 干骺端发育不良症 (metaphyseal dysplasias)

根据《遗传性骨骼疾病分类学:2023 修订版》^[4],干骺端发育不良症疾病大类下共含 12 种

疾病,基因涉及 *RMRP*、*MMP13*、*MMP9*、*POP1* 等,我们选取软骨毛发发育不全 (McKusick 型干骺端发育不良) 进行综述,其遗传方式及斑马鱼应用参考文献见表 7。

表 7 干骺端发育不良症的斑马鱼模型汇总

Table 7 Summary of zebrafish models with metaphyseal dysplasias

人类孟德尔遗传数据库编号 MIM No.	疾病名称 Disease name	遗传方式 Inheritance pattern	基因 Gene	参考文献 Reference
250250	软骨毛发发育不全 (McKusick 型干骺端发育不良) Cartilage-hair hypoplasia (CHH; metaphyseal dysplasia, McKusick type)	常染色体隐性遗传 Autosomal recessive inheritance	<i>RMRP</i>	[40]

软骨毛发发育不全 (McKusick 型干骺端发育不良),是由常染色体长链非编码 RNA *RMRP* 基因隐性突变,基因功能降低所导致(见表 7),以干骺端软骨发育不良以及骨发育不良等临床表现为特征。

由于目前还没有可以存活的软骨毛发发育不全动物模型,软骨毛发发育不全导致骨骼发育异常的致病机制尚未阐明。本研究团队先前利用 CRISPR/Cas9 系统敲除斑马鱼中的 *rmrp* 基因,构建了模拟软骨毛发发育不全的模型^[40]。研究发现,经茜素红/阿尔新蓝染色后突变体胚胎在 5 dpf 时,因咽弓软骨发育缺陷引起下颌明显缩小、鳃弓延迟发育、麦氏软骨和腭方骨体表现出轻微的形态异常、角舌骨的长度减少,角舌软骨弓凹陷和钝化,这在一定程度上再现了软骨毛发发育不全患者的部分临床症状,同时,在 *rmrp* 突变体的角舌软骨中,软骨细胞呈圆形,分层排列。此外,本研究团队还证明了 *rmrp* 突变上调了典型的 Wnt/ β -catenin 信号传导,导致软骨发育不良、颅骨内膜骨化延迟和椎体矿化加速,抑制 Wnt/ β -catenin 信号传导可以部分减轻 *rmrp* 突变体的表型。该模型的建立为深入研究软骨毛发发育不全发病机制提供了新途径。

1.7 纤毛或纤毛信号异常引起的骨骼疾病 (skeletal disorders caused by abnormalities of cilia or ciliary signaling)

根据《遗传性骨骼疾病分类学:2023 修订版》^[4],纤毛或纤毛信号异常引起的骨骼疾病大类下共含 61 种疾病,基因涉及 *IFT52*、*IFT122*、

IFT140、*IFT172* 等,选取 *IFT52* 相关的短肋骨胸廓发育不良 (原为窒息性胸廓发育不良 Jeune 综合征)、*IFT122* 相关的颅脑外胚层发育不良等 4 种疾病进行综述,其遗传方式及斑马鱼应用参考文献见表 8。

1.7.1 *IFT52* 相关的短肋骨胸廓发育不良 (原为窒息性胸廓发育不良 Jeune 综合征)

IFT52 相关的短肋骨胸廓发育不良 (原为窒息性胸廓发育不良 Jeune 综合征) 是一组常染色体隐性遗传性骨骼纤毛病 (见表 8),其特征是胸廓狭窄、肋骨短、管状骨缩短及髌臼顶呈“三叉戟”状。疾病发生是 *IFT52* 基因发生隐形突变所致^[4]。

DUPONT 等^[41]利用 CRISPR/Cas9 技术诱导了 *ift52* 错义突变,构建了短肋骨胸廓发育不良的斑马鱼模型。研究发现,在 72 h 胚胎期 (72 h post fertilization, 72 hpf) 时,多个器官的纤毛出现缺失。此外,在 4 dpf 时,该种突变体出现了下颌骨形态改变、梅克尔软骨和舌骨弓之间距离缩短。研究证明,和哺乳动物一样,斑马鱼颅面软骨发育也需要 Hedgehog 信号通路 (hedgehog signaling pathway, Hh) 参与,经 qRT-PCR 分析 Hh 靶基因表达,证明了 *ift52* 参与了 Hh 信号调控,且经挽救实验表明,*ift52* 错义突变不可逆。同时,研究人员发现,此种错义突变会影响纤毛内转运复合物 B (intraflagellar transport complex B, IFT-B) 的组装及纤毛定位,导致纤毛长度缩短,此外,IFT52 还参与微管网络中中心粒的招募和维持。该斑马鱼模型的建立为深入理解 *IFT52* 相关基因型与表型

表 8 纤毛或纤毛信号异常引起骨骼疾病的斑马鱼模型汇总

Table 8 Summary of zebrafish models with skeletal disorders caused by abnormalities of cilia or ciliary signaling

人类孟德尔遗传 数据库编号 MIM No.	疾病名称 Disease names	遗传方式 Inheritance patterns	基因 Genes	参考文献 References
617102	<i>IFT52</i> 相关的短肋骨胸廓发育不良 (原为窒息性胸廓发育不良 Jeune 综合征) Short-rib thoracic dysplasia (formerly asphyxiating thoracic dysplasia- Jeune syndrome), <i>IFT52</i> -related	常染色体隐性遗传 Autosomal recessive inheritance	<i>IFT52</i>	[41]
218330	<i>IFT122</i> 相关的颅脑外胚层发育不良 Cranioectodermal dysplasia (Levin-Sensenbrenner), <i>IFT122</i> -related	常染色体显性遗传 Autosomal dominant inheritance	<i>IFT122</i>	[42]
266920	<i>IFT140</i> 相关的迈因策尔-萨尔迪诺综合征 Mainzer-Saldino syndrome, <i>IFT140</i> -related	常染色体隐性遗传 Autosomal recessive inheritance	<i>IFT140</i>	[43]
-	<i>IFT172</i> 相关的迈因策尔-萨尔迪诺综合征 Mainzer-Saldino syndrome, <i>IFT172</i> -related		<i>IFT172</i>	[44]

之间的关系奠定了重要基础。

1.7.2 *IFT122* 相关的颅脑外胚层发育不良

IFT122 相关的颅外胚层发育不良是一种累及骨骼的常染色体显性遗传病(见表 8),其主要临床症状为胸廓狭窄、近端肢体缩短、并指、多指、短指、关节松弛、生长缺陷和特征性的面部特征如前额隆起、单耳低置、内眦赘皮、面颊饱满、下唇外翻^[45]。疾病的发生与 *IFT122* 基因发生隐性突变^[4],功能降低有关。

WALCZAK-SZTULPA 等^[42] 利用 morpholino 技术,构建了 *ift122* 基因敲低的斑马鱼模型。研究发现,*ift122* 基因敲低的斑马鱼模型胚胎出现体轴缩短、心脏水肿、颅骨扩张等特征性表现,同时前肾管(pronephric duct,PND)中的纤毛数量显著减少,纤毛长度明显减少,成功再现了患者的部分临床表现。研究发现,*ift122* 基因敲低的斑马鱼胚胎中,Hedgehog 信号通路的靶基因 *ptc1* 的表达明显减少,*shha* 基因的表达在 *ift122* 基因敲低的胚胎中未受影响,表明 *ift122* 基因敲低主要影响 Hedgehog 信号通路的下游靶基因。该斑马鱼模型能够模拟人类 *IFT122* 相关的颅脑外胚层发育不良的关键特征,为研究疾病机制和开发治疗方法提供了有价值的工具。

1.7.3 迈因策尔-萨尔迪诺综合征

迈因策尔-萨尔迪诺综合征是一类常染色体

隐性疾病(见表 8),可由 *IFT140*、*IFT172* 或 *WDR19* 基因突变^[4]导致基因功能降低引起。

HELM 等^[43] 通过 morpholino 技术,构建 *ift140* 基因敲低的斑马鱼模型。研究发现,斑马鱼模型表现出胚胎体轴缩短、体轴弯曲、小头畸形以及体轴缩短伴随的脊索增宽或弯曲等异常,这些表型与人类迈因策尔-萨尔迪诺综合征的多系统发育缺陷相类似。研究证明,*ift140* 基因编码的蛋白是纤毛内运输复合体的重要组成部分,负责纤毛内物质的运输,纤毛运输功能障碍导致纤毛结构和功能异常,进而影响细胞信号传导和组织发育,最终导致多器官系统的发育异常,此外在胚胎 1 ~ 4 细胞期研究人员逐渐增加剪接阻断作用,观察到剂量依赖性缺陷。该斑马鱼模型通过模拟 *ift140* 基因突变,成功复现了与人类迈因策尔-萨尔迪诺综合征相似的多系统发育异常,为研究该疾病的发病机制和探索潜在治疗方法提供了重要的实验平台。

HALBRITTER 等^[44] 利用 morpholino 技术敲低 *ift172* 的表达,构建了迈因策尔-萨尔迪诺综合征的斑马鱼模型。该模型表现出纤毛缩短和截短等纤毛发育缺陷,再现了患者表型。研究还证明了 *ift172* 和 *ift80* 之间的遗传相互作用,并确定了 *ift172* 缺陷可能是迈因策尔-萨尔迪诺综合征的发病原因之一。该斑马鱼模型通过敲低 *ift172*

基因,成功模拟了人类迈因策尔-萨尔迪诺综合征的表型,为深入理解这些疾病的病理机制和开发治疗策略提供了关键的实验模型。

1.8 肢中发育不良和肢近端-肢中发育不良 (mesomelic and rhizo-mesomelic dysplasias)

根据《遗传性骨骼疾病分类学:2023 修订

版》^[41],肢中发育不良和肢近端-肢中发育不良疾病大类下共包含 17 种疾病,基因涉及 *SHOX*、*ROR2*、*WNT5A*、*AFF3* 等,本文选取 *ROR2* 相关的罗宾逊综合征和 *WNT5A* 相关的罗宾逊综合征等 3 种疾病进行综述,其遗传方式及斑马鱼应用参考文献见表 9。

表 9 肢中发育不良和肢近端-肢中发育不良的斑马鱼模型汇总

Table 9 Summary of zebrafish models with mesomelic and rhizo-mesomelic dysplasias

人类孟德尔遗传数据库编号 MIM No.	疾病名称 Disease names	遗传方式 Inheritance patterns	基因 Genes	参考文献 References
268310	<i>ROR2</i> 相关的罗宾逊综合征 Robinow syndrome <i>ROR2</i> -related	常染色体隐性遗传 Autosomal recessive inheritance	<i>ROR2</i>	[46]
180700	<i>WNT5A</i> 相关的罗宾逊综合征 Robinow syndrome <i>WNT5A</i> -related		<i>WNT5A</i>	[47-48]
619297	<i>AFF3</i> 相关的肢中发育不良伴指(趾)异常和智力障碍综合征 (KINSSHIP 综合征) <i>AFF3</i> -related mesomelic dysplasia with digital anomalies and intellectual disability (KINSSHIP syndrome),	常染色体显性遗传 Autosomal dominant inheritance	<i>AFF3</i>	[49]

1.8.1 罗宾逊综合征

罗宾逊综合征大多属常染色体显性疾病,仅有少数为常染色体隐性疾病(见表 9)。该种疾病的主要特征为:中肢缩短、半椎骨、生殖器发育不全和“胎儿相”^[50-51]。疾病的发生与 *WNT5A*、*ROR2* 等基因发生突变,功能降低有关^[41]。

DRANOW 等^[46]通过 CRISPR/Cas9 技术构建了斑马鱼 *ror2* 突变体。研究发现,该斑马鱼模型表现出身体轴缩短、锤头状颅面部表型、软骨形态改变、软骨细胞极性紊乱等异常,这些表型与人类罗宾逊综合征的临床表现类似。研究证明了 *Ror2* 参与机体体轴伸长和颅面骨骼发育,是软骨生长发育所必需的,进一步分析表明, *Ror2* 在软骨发育中的功能需要其细胞外的 Wnt 结合半胱氨酸富集域 (cysteine-rich domain, CRD) 和细胞内的脯氨酸富集区 (proline-rich domain, PRD) 的参与,这些发现不仅证明了 *Ror2* 在软骨细胞极性和骨骼形态发生中的关键作用,还揭示了其功能依赖于 Wnt 信号通路的激活和 PRD 结构域的调控。该斑马鱼模型的建立为理解罗宾逊综合征骨骼发育异常的病理机制提供了重要依据,并强调了 Wnt 信号通路在骨骼发育中的调控作用。

HUANG 等^[47]利用 morpholino 技术敲低 *wnt5a* 的表达,构建了相应斑马鱼模型。在 72 hpf 该模型出现多种缺陷,包括体轴缩短、尾巴卷曲、心包水肿、肾小球囊肿形成、肾小管扩张、肾小管纤毛排列紊乱等,这些表型与人类罗宾逊综合征患者所表现出的骨骼发育异常、肾发育缺陷类似。研究表明, *wnt5a* 在骨骼和肾发育的多个阶段发挥重要作用,其功能缺失或异常可能导致骨骼及肾发育异常,从而引发罗宾逊综合征中相关症状。该斑马鱼模型通过揭示 *wnt5a* 在胚胎骨骼、肾发育中的关键作用,特别是其在肾小管和肾小球形态发生中的功能,为理解罗宾逊综合征中骨骼及肾发育异常的分子机制提供了可能,同时也为确定罗宾逊综合征患者肾异常的病因创造了条件。

PERSON 等^[48]通过对患者家族的 *WNT5A* 编码区进行 PCR 扩增和测序,发现 *WNT5A* 中两种不同的错义突变导致高度保守的半胱氨酸替换 (C83S 及 C182R),进而在斑马鱼胚胎中过表达 *wnt5a* mRNA 以检测上述两种突变的功能相关性。研究发现,突变体斑马鱼胰岛细胞无法正常聚集形成胰岛,这表明 *wnt5a* 突变会对细胞运动

和组织形态发生产生影响,而这种信号通路的功能受损与人类罗宾逊综合征中的骨骼和颅面部发育异常有相似的生物学基础。研究表明,这些错义突变导致 *wnt5a* 活性降低,这些发现进一步支持了 Wnt5a 信号通路在骨骼和颅面部发育中的重要作用,并揭示了 *wnt5a* 功能减弱可能是罗宾逊综合征发病机制的关键因素。该斑马鱼模型的建立为理解人类罗宾逊综合征的发病机制提供了重要的生物学依据。

1.8.2 *AFF3* 相关的肢中发育不良伴指(趾)异常和智力障碍综合征(KINSSHIP 综合征)

AFF3 相关的肢中发育不良伴指(趾)异常和智力障碍综合征(KINSSHIP 综合征)是由 *AFF3* 基因突变(见表 9),导致基因功能增强引起,其临床症状主要为:中肢发育不良,严重的肢体缩短和弯曲^[4,52]。

VOISIN 等^[49]通过向斑马鱼胚胎显微注射 *aff3* mRNA,构建了 *aff3* 过表达的斑马鱼模型。该模型出现体轴弯曲、卵黄囊水肿,甚至出现尾部缺失、鳍缺失和环状嘴等极端畸形,这与人类 KINSSHIP 综合征中观察到的骨骼发育异常和全身发育缺陷有相似表现。研究证明,该斑马鱼模型胚胎发育缺陷具有剂量依赖性,随着注射的 *aff3* mRNA 剂量增加,出现发育缺陷的胚胎比例也增加,这一结果支持了 *Aff3* 蛋白稳态失衡可能是 KINSSHIP 综合征发病机制的关键因素,尤其是在骨骼系统发育方面。该模型的建立为深入研究 KINSSHIP 综合征的发病机制提供了有力工具,此外该模型可以用于筛选能够影响 *AFF3* 功能或其相关信号通路的药物,为治疗相关疾病提供可能的治疗靶点。

2 展望

斑马鱼作为一种低等脊柱动物,尽管其与人类在骨骼结构上存在差异,但鉴于二者基因的高度同源性和骨骼发育信号通路的保守性,利用斑马鱼模型的独特优势研究人类骨骼遗传疾病及其治疗靶点是切实可行的。斑马鱼具有发育周期短、体型小、饲养成本低、胚胎透明等优点,加之与人类基因的高度同源性,使其成为研究骨骼遗传疾病及其药物筛选的理想模型动物。研究人员利用该模型可以快速地构建模拟骨骼遗传

病的突变体模型,从而确定致病基因,研究骨骼表型产生的细胞及分子机制,同时进一步还可以开展在体水平的药物筛选。

尽管斑马鱼在人类骨骼遗传病研究中的应用相较于传统模型动物如兔、鼠、鸡等还有待进一步开发,但随着细胞谱系追踪、活体成像技术、基因、蛋白组学、单细胞测序技术、大规模筛选技术及 CRISPR-Cas9 基因敲除敲入技术等多种技术方法在斑马鱼模型中的应用逐渐成熟,相信将有更多人类骨骼遗传病的发病机制被揭示。这不仅将加深对这些疾病的理解,也将为临床治疗提供宝贵的实验室依据。综上所述,对于人类骨骼遗传疾病的研究而言,斑马鱼模式动物具有广阔的研究应用空间。

参 考 文 献(References)

- [1] GEISTER K A, CAMPER S A. Advances in skeletal dysplasia genetics [J]. Annu Rev Genomics Hum Genet, 2015, 16: 199–227.
- [2] COSTANTINI A, GUASTO A, CORMIER-DAIRE V. TGF- β and BMP signaling pathways in skeletal dysplasia with short and tall stature [J]. Annu Rev Genomics Hum Genet, 2023, 24: 225–253.
- [3] SAVARIRAYAN R, HOOVER-FONG J, YAP P, et al. New treatments for children with achondroplasia [J]. Lancet Child Adolesc Health, 2024, 8(4): 301–310.
- [4] UNGER S, FERREIRA C R, MORTIER G R, et al. Nosology of genetic skeletal disorders: 2023 revision [J]. Am J Med Genet A, 2023, 191(5): 1164–1209.
- [5] HOU Y, LIU X, QIN Y, et al. Zebrafish as model organisms for toxicological evaluations in the field of food science [J]. Compr Rev Food Sci Food Saf, 2023, 22(5): 3481–3505.
- [6] SHIMIZU N, SHIRAIISHI H, HANADA T. Zebrafish as a useful model system for human liver disease [J]. Cells, 2023, 12(18): 2246.
- [7] GONZÁLEZ-ROSA J M. Zebrafish models of cardiac disease: from fortuitous mutants to precision medicine [J]. Circ Res, 2022, 130(12): 1803–1826.
- [8] HABJAN E, SCHOUTEN G K, SPEER A, et al. Diving into drug-screening: zebrafish embryos as an *in vivo* platform for antimicrobial drug discovery and assessment [J]. FEMS Microbiol Rev, 2024, 48(3): fuae011.
- [9] DEBAENST S, JARAYSEH T, DE SAFFEL H, et al. Crispant analysis in zebrafish as a tool for rapid functional screening of disease-causing genes for bone fragility [J]. eLife, 2025, 13: RP100060.

- [10] HU C, SUN L, CHEN J, et al. Advantages of the zebrafish tumor xenograft model; the evaluation of efficacy in cancer therapy and the application to the study of lncRNAs [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1483192.
- [11] PUDELKO L, EDWARDS S, BALAN M, et al. An orthotopic glioblastoma animal model suitable for high-throughput screenings [J]. *Neuro Oncol*, 2018, 20(11): 1475–1484.
- [12] LIU J, LI W, JIN X, et al. Optimal tagging strategies for illuminating expression profiles of genes with different abundance in zebrafish [J]. *Commun Biol*, 2023, 6(1): 1300.
- [13] HYATT T M, EKKER S C. Vectors and techniques for ectopic gene expression in zebrafish [J]. *Methods Cell Biol*, 1999, 59: 117–126.
- [14] LINDY A S, BASEHORE M J, MUNISHA M, et al. Identification of a novel insertion mutation in FGFR3 that causes thanatophoric dysplasia type 1 [J]. *Am J Med Genet A*, 2016, 170(6): 1573–1579.
- [15] SUN X, ZHANG R, CHEN H, et al. Fgfr3 mutation disrupts chondrogenesis and bone ossification in zebrafish model mimicking CATSHL syndrome partially via enhanced Wnt/ β -catenin signaling [J]. *Theranostics*, 2020, 10(16): 7111–7130.
- [16] WAINWRIGHT H. Thanatophoric dysplasia: a review [J]. *S Afr Med J*, 2016, 106(6): S50–S53.
- [17] ABBA DEKA I, THEOTOKIS P, MANTHOU M E, et al. An immunohistochemical study of thanatophoric dysplasia type 1 after fetus autopsy examination [J]. *Congenit Anom (Kyoto)*, 2025, 65(1): e70004.
- [18] AUDU L, GAMBO A, BADUKU T S, et al. Thanatophoric dysplasia: a report of 2 cases with antenatal misdiagnosis [J]. *Case Rep Pediatr*, 2022, 2022: 3056324.
- [19] PRATHEEP V, GAMBHIR P, SOUNDHARYA V. Thanatophoric dysplasia with concurrent hydroureteronephrosis: a rare case report from rural southern India [J]. *Cureus*, 2024, 16(10): e70842.
- [20] SHARMA M, Jyoti, JAIN R, et al. Thanatophoric dysplasia: a case report [J]. *J Clin Diagn Res*, 2015, 9(11): QD01–QD03.
- [21] CHEN C P, HUANG J P, HUANG K S, et al. Perinatal imaging findings of a fetus with Pfeiffer syndrome and a heterozygous c. 1019A > G, p. Tyr340Cys (Y340C) mutation in FGFR2 presenting a cloverleaf skull, craniosynostosis and short limbs on prenatal ultrasound mimicking thanatophoric dysplasia type II [J]. *Taiwan J Obstet Gynecol*, 2024, 63(3): 387–390.
- [22] JAMA M A, SCOTT READING N, FREDRICKSON E, et al. A single multiplex PCR and single-nucleotide extension assay for the detection of common thanatophoric dysplasia I and II mutations [J]. *J Mol Diagn*, 2024, 26(12): 1102–1108.
- [23] CANNOVA S, MEOSSI C, GRILLI F, et al. CATSHL syndrome, a new family and phenotypic expansion [J]. *Clin Genet*, 2024, 105(3): 313–316.
- [24] WILLIAMS A L, BOHNSACK B L. Zebrafish model of stickler syndrome suggests a role for Col2a1a in the neural crest during early eye development [J]. *J Dev Biol*, 2022, 10(4): 42.
- [25] REECK J C, OXFORD J T. The shape of the jaw-zebrafish Col11a1a regulates meckel's cartilage morphogenesis and mineralization [J]. *J Dev Biol*, 2022, 10(4): 40.
- [26] HARDY M J, REECK J C, FANG M, et al. Col11a1a expression is required for zebrafish development [J]. *J Dev Biol*, 2020, 8(3): 16.
- [27] LAWRENCE E A, KAGUE E, AGGLETON J A, et al. The mechanical impact of col11a2 loss on joints; col11a2 mutant zebrafish show changes to joint development and function, which leads to early-onset osteoarthritis [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2018, 373(1759): 20170335.
- [28] BOOTHE M, MORRIS R, ROBIN N. Stickler syndrome: a review of clinical manifestations and the genetics evaluation [J]. *J Pers Med*, 2020, 10(3): 105.
- [29] EGUNSOLA A T, BAE Y, JIANG M M, et al. Loss of DDRGK1 modulates SOX9 ubiquitination in spondyloepimetaphyseal dysplasia [J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(4): 1475–1484.
- [30] COSTANTINI A, ALM J J, TONELLI F, et al. Novel RPL13 variants and variable clinical expressivity in a human ribosomopathy with spondyloepimetaphyseal dysplasia [J]. *J Bone Miner Res*, 2021, 36(2): 283–297.
- [31] BURRAGE L C, REYNOLDS J J, BARATANG N V, et al. Bi-allelic variants in TONSL cause SPONASTRIME dysplasia and a spectrum of skeletal dysplasia phenotypes [J]. *Am J Hum Genet*, 2019, 104(3): 422–438.
- [32] CHANG H R, CHO S Y, LEE J H, et al. Hypomorphic mutations in TONSL cause SPONASTRIME dysplasia [J]. *Am J Hum Genet*, 2019, 104(3): 439–453.
- [33] WHITTLE J, ANTUNES L, HARRIS M, et al. MYH3-associated distal arthrogyposis zebrafish model is normalized with Para-aminoblebbistatin [J]. *EMBO Mol Med*, 2020, 12(11): e12356.
- [34] DE VOS I J H M, WONG A S W, TASLIM J, et al. The novel zebrafish model pretzel demonstrates a central role for SH3PXD2B in defective collagen remodelling and fibrosis in Frank-Ter Haar syndrome [J]. *Biol Open*, 2020, 9(12): bio054270.
- [35] SEAVER L H, BOYD E. Spondylocarpotarsal synostosis

- syndrome and cervical instability [J]. *Am J Med Genet*, 2000, 91(5): 340–344.
- [36] DUNDAR M, SAATCI C, TASDEMIR S, et al. Frank-ter Haar syndrome with unusual clinical features [J]. *Eur J Med Genet*, 2009, 52(4): 247–249.
- [37] KHAN Y N, IMAD A M MAHMUD M, OTHMAN N, et al. Whole exome sequencing enables the correct diagnosis of Frank-Ter Haar syndrome in a Saudi family [J]. *Vavilovskii Zhurnal Genet Seleksii*, 2024, 28(3): 326–331.
- [38] CASTELLANOS B S, REYES-NAVA N G, QUINTANA A M. Knockdown of *hspg2* is associated with abnormal mandibular joint formation and neural crest cell dysfunction in zebrafish [J]. *BMC Dev Biol*, 2021, 21(1): 7.
- [39] FARSHADYEGANEH P, YAMADA T, OHASHI H, et al. Dyssegmental dysplasia Rolland-Desbuquois type is caused by pathogenic variants in *HSPG2*-a founder haplotype shared in five patients [J]. *J Hum Genet*, 2024, 69(6): 235–244.
- [40] SUN X, ZHANG R, LIU M, et al. *Rmrp* mutation disrupts chondrogenesis and bone ossification in zebrafish model of cartilage-hair hypoplasia via enhanced Wnt/ β -catenin signaling [J]. *J Bone Miner Res*, 2019, 34(11): 2101–2116.
- [41] DUPONT M A, HUMBERT C, HUBER C, et al. Human IFT52 mutations uncover a novel role for the protein in microtubule dynamics and centrosome cohesion [J]. *Hum Mol Genet*, 2019, 28(16): 2720–2737.
- [42] WALCZAK-SZTULPA J, EGGENSCHWILER J, OSBORN D, et al. Cranioectodermal Dysplasia, Sensenbrenner syndrome, is a ciliopathy caused by mutations in the IFT122 gene [J]. *Am J Hum Genet*, 2010, 86(6): 949–956.
- [43] HELM B M, WILLER J R, SADEGHPOUR A, et al. Partial uniparental isodisomy of chromosome 16 unmasks a deleterious biallelic mutation in IFT140 that causes Mainzer-Saldino syndrome [J]. *Hum Genomics*, 2017, 11(1): 16.
- [44] HALBRITTER J, BIZET A A, SCHMIDTS M, et al. Defects in the IFT-B component IFT172 cause Jeune and Mainzer-Saldino syndromes in humans [J]. *Am J Hum Genet*, 2013, 93(5): 915–925.
- [45] LEVIN L S, PERRIN J C, OSE L, et al. A heritable syndrome of craniosynostosis, short thin hair, dental abnormalities, and short limbs: cranioectodermal dysplasia [J]. *J Pediatr*, 1977, 90(1): 55–61.
- [46] DRANOW D B, LE PABIC P, SCHILLING T F. The non-canonical Wnt receptor *Ror2* is required for cartilage cell polarity and morphogenesis of the craniofacial skeleton in zebrafish [J]. *Development*, 2023, 150(8): dev201273.
- [47] HUANG L, XIAO A, CHOI S Y, et al. *Wnt5a* is necessary for normal kidney development in zebrafish and mice [J]. *Nephron Exp Nephrol*, 2014, 128(1/2): 80–88.
- [48] PERSON A D, BEIRAGHI S, SIEBEN C M, et al. *WNT5A* mutations in patients with autosomal dominant Robinow syndrome [J]. *Dev Dyn*, 2010, 239(1): 327–337.
- [49] VOISIN N, SCHNUR R E, DOUZGOU S, et al. Variants in the degron of *AFF3* are associated with intellectual disability, mesomelic dysplasia, horseshoe kidney, and epileptic encephalopathy [J]. *Am J Hum Genet*, 2021, 108(5): 857–873.
- [50] YANG L, SHANNON P, SILVER R, et al. Prenatal diagnosis of ROR-2 related Robinow syndrome presenting with fetal ultrasound findings of mesomelia, vertebral, digital and genital abnormalities [J]. *Prenat Diagn*, 2024, 44(5): 653–656.
- [51] GRIFFITHS S C, TAN J, WAGNER A, et al. Structure and function of the ROR2 cysteine-rich domain in vertebrate noncanonical WNT5A signaling [J]. *eLife*, 2024, 13: e71980.
- [52] BOLT C C, LOPEZ-DELISLE L, MASCREZ B, et al. Mesomelic dysplasias associated with the *HOXD* locus are caused by regulatory reallocations [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 5013.

[收稿日期] 2024-11-26