

非综合征型多数牙先天缺失家系中PAX9新突变的研究及PAX9突变导致非综合征型先天缺牙基因型—表型分析

靳占云¹ 郭峻嘉¹ 袁云云¹ 孟令强¹ 李慧¹ 赵娅¹ 任嘉宝¹ 马永平²
肖遵胜³ 张红² 杨玲⁴ 窦晨云¹ 王晓雪¹ 王金梅¹ 沈文静¹

1. 河北医科大学口腔医学院·口腔医院修复科 河北省口腔医学重点实验室

河北省口腔疾病临床医学研究中心, 石家庄 050017;

2. 保定市第二医院口腔科, 保定 071051; 3. 河北省沧州市中心医院口腔科, 沧州 061001;

4. 衡水市第六人民医院, 衡水 053200

[摘要] **目的** 在中国多个非综合征型先天缺牙家系中鉴定PAX9突变, 并研究PAX9突变导致非综合征型先天缺牙的基因型—表型关系, 为先天缺牙基因诊断提供依据。**方法** 收集自2018年至2023年期间于河北医科大学口腔医院就诊的44例非综合征型多数牙缺失患者。采集先证者及其核心家系成员外周血进行全外显子组测序(WES), 并用Sanger测序验证其突变, 通过生物信息学工具对突变体进行了致病性分析和功能预测。在PubMed等检索出与先天缺牙相关PAX9突变的55篇文章共232例患者, 分析PAX9突变基因型—表型关系。**结果** 在中国家庭中发现了新的PAX9基因移码突变c.447delG (p.Pro150Argfs*62) 和一个已报道的PAX9基因错义突变c.406C>T (p.Gln136*)。通过生物信息学分析和三维结构建模, 预测发现该移码突变具有致病性, 突变导致PAX9蛋白提前终止, 结构与功能受损严重。总结PAX9基因型—表型关系发现, 携带PAX9突变的非综合征型先天缺牙患者最容易缺失第二磨牙。**结论** 发现非综合征型先天缺牙新的PAX9基因移码突变c.447delG (p.Pro150Argfs*62), 扩展先天缺牙PAX9突变谱。非综合征型先天缺牙PAX9突变最易感牙位为第二磨牙, PAX9突变导致的乳牙缺失均为乳磨牙缺失。

[关键词] 非综合征型先天缺牙; PAX9; 全外显子组测序; 基因型—表型

[中图分类号] R781.9 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/hxkq.2024.2024090



本文链接 开放科学标识码

A novel PAX9 variant in a Chinese family with non-syndromic oligodontia and genotype-phenotype analysis of PAX9 variants

Jin Zhanyun¹, Guo Junjia¹, Yuan Yunyun¹, Meng Lingqiang¹, Li Hui¹, Zhao Ya¹, Ren Jiabao¹, Ma Yongping², Xiao Zunsheng³, Zhang Hong², Yang Ling⁴, Dou Chenyun¹, Wang Xiaoxue¹, Wang Jinmei¹, Shen Wenjing¹

1. Dept. of Prosthodontics, School and Hospital of Stomatology, Hebei Medical University, Hebei Key Laboratory of Stomatology, Hebei Clinical Research Center for Oral Diseases, Shijiazhuang 050017, China; 2. Dept. of Stomatology, The No. 2 Hospital of Baoding, Baoding 071051, China; 3. Dept. of Stomatology, Cangzhou Central Hospital, Cangzhou 061001, China; 4. Hengshui Sixth People's Hospital, Hengshui 053200, China

[收稿日期] 2024-03-14; **[修回日期]** 2024-06-25

[基金项目] 河北省科技厅卫生健康创新专项 (21377716D); 河北省自然科学基金精准医学项目 (H2022206246); 2023年政府资助临床医学优秀人才培养项目 (ZF2023011); 河北省财政厅老年病项目 (361029)

[作者简介] 靳占云, 医师, 硕士, E-mail: jzy000601@163.com

[通信作者] 沈文静, 主任医师, 博士, E-mail: wenjingshen2020@hebmu.edu.cn

Supported by: Special Project of Health Innovation of Hebei Provincial Department of Science and Technology (21377716D); Natural Science Foundation of Hebei Province (H2022206246); 2023 Hebei Provincial Government Funded Clinical Medical Talents Training Proj-

ect (ZF2023011); Geriatric Disease Project of Hebei Provincial Department of Finance (361029)

Correspondence: Shen Wenjing, E-mail: wenjingshen2020@hebm.u.edu.cn

[Abstract] Objective This study aimed to identify PAX9 variants in non-syndromic tooth agenesis families of China, as well as to analyze the genotype-phenotype of non-syndromic tooth agenesis caused by PAX9 variants, which can provide a basis for the genetic diagnosis of tooth agenesis. **Methods** We collected the data of 44 patients with non-syndromic oligodontia who underwent treatment at Stomatological Hospital of Hebei Medical University between 2018 and 2023. Whole-exome sequencing was performed on the peripheral blood of the proband and its core family members, and the variants were verified by Sanger sequencing. Pathogenicity analysis and function prediction of the variants were performed using bioinformatics tools. The correlation between the genotype of PAX9 variant and its corresponding phenotype was examined by reviewing 55 publications retrieved from PubMed. The studies involved 232 tooth agenesis patients with PAX9 variants. **Results** A novel PAX9 c.447delG (p.Pro150Argfs*62) and a reported PAX9 c.406C>T (p.Gln136*) were identified in two Chinese families. Through bioinformatics analysis and three-dimensional structural modeling, we postulated that the frameshift variant was pathogenic. The outcome was the premature cessation of PAX9 protein, which caused severe structural and functional deficiencies. Summarizing the PAX9 genotype-phenotype relationship revealed that patients carrying the PAX9 variant commonly led to loss of the second molars. **Conclusion** We identified the novel PAX9 c.447delG (p.Pro150Argfs*62) in a Chinese family of non-syndromic oligodontia, expanding the known variant spectrum of PAX9. The most susceptible tooth position for PAX9 variants of tooth agenesis was the second molars and the deciduous molars during the deciduous dentition.

[Key words] non-syndromic tooth agenesis; PAX9; whole-exome sequencing; genotype-phenotype

牙齿发生发育涉及一系列复杂的上皮-间充质相互作用, 涉及 200 多个基因, 主要涉及 TGF- β /BMP、Wnt/ β -Catenin、Eda/Edar/NF- κ B 和 SHH 等信号通路^[1-2], 这些信号通路中 PAX9、AXIN2、EDA、LRP6、MSX1、WNT10A 和 WNT10B 已被认为是导致非综合征型牙齿发育不全的最常见致病基因^[3]。

PAX9 位于 14 号染色体 q13.3, 属于 9 个配对盒 (PAX) 转录因子家族的成员之一, PAX9 包含一个高度保守的能与 DNA 特异性结合的 128 个氨基酸组成的配对结构域 (paired domain, PD) 和一个八肽基序 (octapeptide motif, OM)^[4]。PAX9 在咽囊内胚层、体节、神经嵴来源的间充质和远端肢芽等胚胎组织中表达, 在胚胎颅面生长发育过程中发挥重要作用^[5]。

PAX9 基因突变以及多态性等遗传学改变常导致颅面部发育缺陷。Pax9^{-/-}小鼠在出生几小时内死亡, 并表现出牙胚、胸腺和甲状旁腺发育停止, 颅面及软骨畸形, 继发腭裂等广泛发育缺陷^[6]。人 PAX9 突变最常导致常染色体显性遗传性疾病——选择性牙齿发育不全 3 型 (OMIM:#604625), 即非综合征型多数牙缺失 (non-syndromic oligodontia), 主要表现为磨牙缺失^[7-8]。与先天缺牙有关的 PAX9 突变类型主要为错义突变、移码突变、无义突变, 但严重的表型常是由单倍不足引起, 表明表型严

重程度与 PAX9 突变剂量可能存在一定相关性^[9]。PAX9 突变及多态性还与少数牙缺失、牙齿大小发育异常、腭裂^[10]以及低出生体重^[11]等相关。

本研究通过对非综合征型多数牙缺失患者进行全外显子测序, 发现 1 个新 PAX9 突变位点 c.447delG (p.Pro150Argfs*62) 和 1 个已报道的 PAX9 突变位点 c.406C>T (p.Gln136*), 为家系的精准遗传提供理论依据, 并扩大了 PAX9 的突变谱; 总结已报道的 PAX9 突变导致先天缺牙患者表型 (截至 2023 年 12 月), 为临床通过患者表型推断突变基因提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 研究对象

选择 2018 年至 2023 年期间于河北医科大学口腔医院就诊的非综合征型多数牙缺失患者 44 例。筛选标准: 排除诊断或疑似外胚层器官发育异常的综合征, 排除拔牙史后, 曲面断层片检查证实缺牙区无恒牙胚, 选取缺牙数目大于等于 6 颗 (除第三磨牙) 的患者, 获得知情同意后纳入研究对象; 选取 18~55 周岁所有恒牙均萌出 (除第三磨牙) 且身体健康, 没有器官或系统疾病的对照组成员共 100 例。本研究通过了河北医科大学口腔医院伦理委员会审查批准 (批准号 [2016] 004)。

1.2 采集外周血及提取基因组DNA

采集收集到的家系及对照组成员的外周静脉血(4 mL/人)。使用20%枸橼酸葡萄糖抗凝。使用少量血液基因组DNA提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司],提取外周血基因组DNA,储存于-20 °C下备用。

1.3 全外显子测序、Sanger测序及致病性预测

先证者的基因组DNA进行全外显子测序[艾吉泰康生物科技(北京)有限公司]。通过液相探针杂交捕获技术对目标区域序列进行捕获富集后建立DNA文库,使用NovaSeq 6000二代测序平台进行高通量、高深度测序,产生了超过16 000 Mb的碱基;测序平均深度达到了140×,超过了99.6%的覆盖率。利用Burrows-Wheeler Aligner软件将读数与人类参考基因组37版(Genome Reference Consortium Human Build 37, GRCH37)进行比对。使用SAM文件处理工具(SAM tools)和基因组分析工具包(Genome Analysis Toolkit, GATK)鉴定单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)、插入和缺失(Indel),最后由基因组注释工具(ANNOVAR)进行突变注释。

筛选条件为:1)已知致病基因;2)利用千人基因组计划(1000 Genomes)、外显子组聚合联盟(Exome Aggregation Consortium, ExAC)、基因组聚合数据库(Genome Aggregation Database, gnomAD)等筛选出“最小等位基因频率(minor allele frequency, MAF) < 1%”或未在以上数据库发现的候选基因及突变位点;3)使用耐受性分析(sorting intolerant from tolerant, SIFT)、多态性表现型分析(polymorphism phenotyping v2, PolyPhen-2)、突变筛选分析(Mutation Taster)等生物信息学软件对候选突变进行功能预测,排除同义突变等无功能影响的突变;4)根据2015年美国医学遗传学与基因组学学会(American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG)标准的致病突变分类进一步预测其致病性;5)参考在线人类孟德尔遗传(Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM)、人类基因突变数据库(The Human Gene Mutation Database, HGMD),根据家系图谱进一步验证遗传方式及基因—疾病关系。最终获得可能的致病突变基因及其位点。将突变位点信息由生工生物工程(上海)股份有限公司进行Sanger测序验证。PAX9的参考序列为NM_006194.4。

1.4 PAX9突变蛋白二级结构及三维模型构建

使用PsiPred 4.0 (<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psi->

pred)预测突变蛋白的二级结构。通过swiss-model (<https://swissmodel.expasy.org/>)在线软件构建PAX9野生型及突变蛋白的三维结构,然后使用PyMol v2.6进行可视化分析,并用Expasy在线软件预测分析突变蛋白的理化性质。

1.5 基因型—表型分析

通过Pubmed搜索“oligodontia” or “hypodontia” or “tooth agenesis” and “PAX9”,选取截止2023年12月报道的与PAX9基因突变致先天缺失牙相关的文章,筛选条件:1)PAX9为先天缺失牙的致病基因;2)对缺失牙表型有详细的描述;3)排除同义突变。筛选出55篇文章中228例^[12-66]与本研究4例共232例患者纳入分析。

2 结果

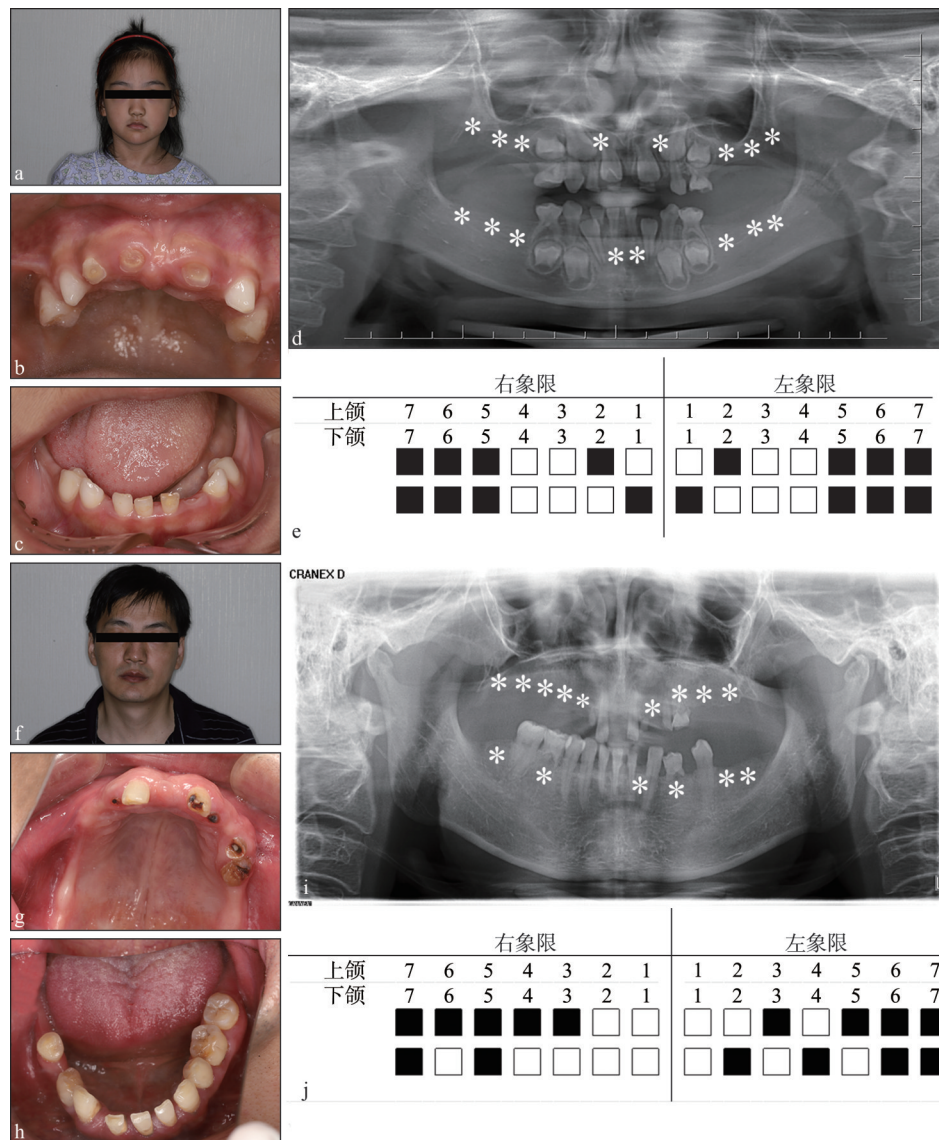
2.1 临床表现

先证者临床检查均表现为先天性牙齿缺失,缺失牙数均为6个以上,皮肤、毛发发育正常,未见汗腺、唾液、泪液分泌减少等其他外胚叶器官发育不良的表现,未观察到其他器官和系统的异常。经过全面口腔检查和曲面断层X线片证实2名患者恒牙先天缺失。

家系1:先证者为6岁女童,汉族,口内余留牙14颗乳牙,其中62、72乳牙脱落,55、65、75、85牙先天缺失,曲面断层片显示16颗恒牙缺失(12、15、16、17、22、25、26、27、31、35、36、37、41、45、46、47牙);先证者母亲正常;父亲亦为先天缺失牙患者,口内余留牙16颗,否认拔牙史,其中65、74、85乳牙滞留,12、22、24牙残根,21牙残冠,曲面断层片显示15颗恒牙缺失(13、14、15、16、17、23、25、26、27、32、34、36、37、45、47牙),未见其他器官异常;先证者自述其叔叔与奶奶也患有先天缺失牙,但无法提供DNA样本(图1)。

家系2:先证者为4岁男童,汉族,口内余留15颗乳牙,其中51牙外伤脱落,55、65、75、85牙缺失,曲面断层片显示缺失16颗恒牙(12、13、15、16、17、23、25、26、27、31、35、36、37、45、46、47牙);先证者母亲自述从小缺失后牙,否认拔牙史,口内可见固定义齿修复,曲面断层片显示15颗恒牙缺失(12、13、16、17、22、25、26、27、35、36、37、41、44、46、47牙),未见其他器官异常;先证者父亲和弟弟(2周半)经检查未见牙齿及其他器官的异常,弟弟由于年龄小

未拍摄曲面断层片 (图2)。



a~e: 先证者1; f~j: 先证者1父亲。*、■示牙缺失。

图 1 先证者1及父亲正面像、口内像、曲面断层片及缺失牙位

Fig 1 Frontal image, intraoral image and curved tomography of the proband 1 and the father

2.2 全外显子检测及分析

通过全外显子测序, 家系1中发现一例新PAX9 c.447delG (p.Pro150Argfs*62), 此突变位点未在1000 Genomes、ExAC、gnomAD数据库中发现; Mutation Taster 预测的分值为1, 取值为D (Disease_causing), 表示很可能有害; 2015年美国医学遗传学与基因组学学会 (American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG) 标准的致病突变分类, 预测为可能致病; 在家系2中为PAX9 无义突变: PAX9 c.406C>T (p.Gln136*), Mutation Taster 预测的分值为1, 取值为A (Disease_causing_automatic), 表示已知有害; 2015年ACMG标准的致病突变分类, 预测为致病, HG-

MD数据库已报道该突变位点与先天缺牙相关 (表1)。

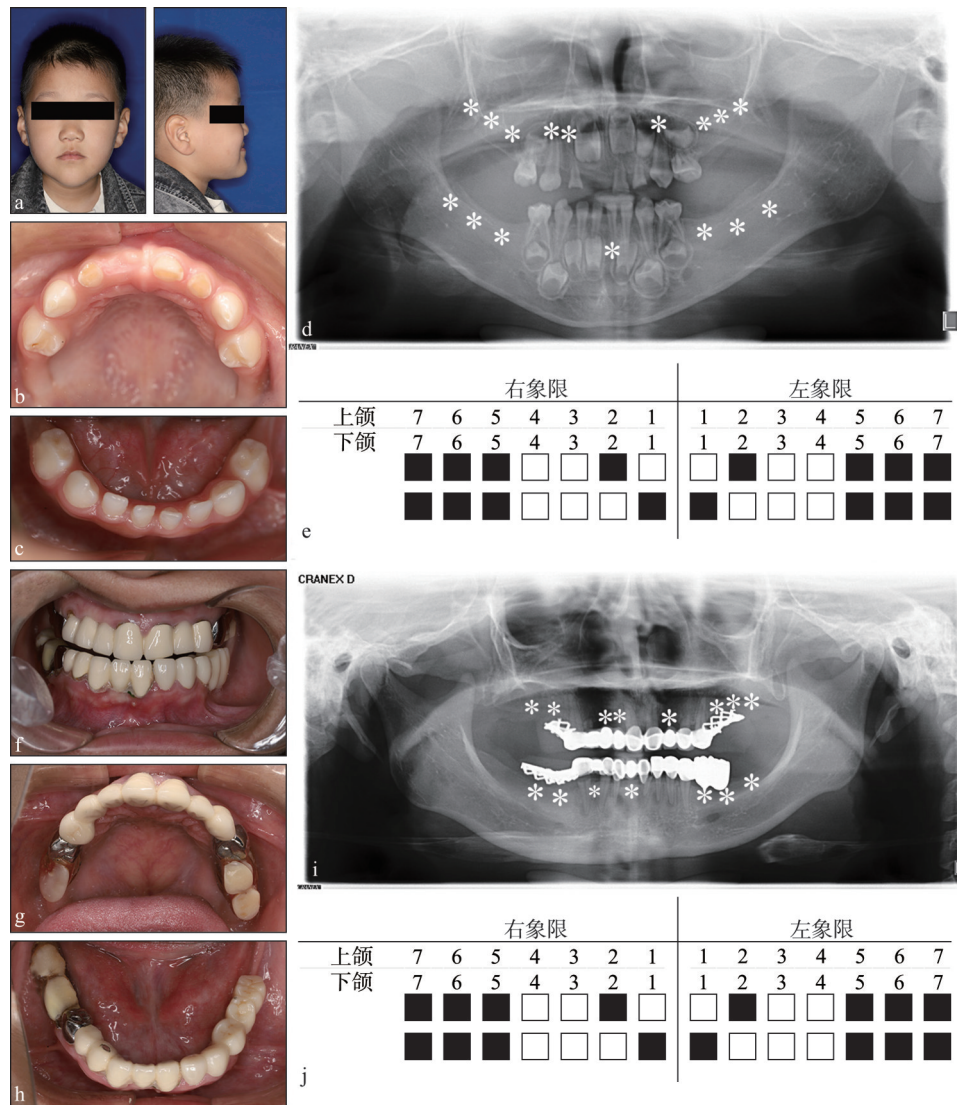
经Sanger测序验证, 家系1中先证者PAX9突变遗传自父亲, 家系2先证者PAX9突变遗传自母亲 (图3)。此外, 在100名健康对照中均未发现新PAX9突变体。

2.3 PAX9突变蛋白二级结构预测及三维构建分析

PAX9 c.447delG (p.Pro150Argfs*62) 新突变体, 在核苷酸序列第447位缺失了G碱基, 导致后续核苷酸翻译蛋白序列重排, 第149位氨基酸编码的碱基ACG变为ACC, 但编码的氨基酸仍然为苏氨酸, 但从第150位氨基酸开始由环状非极性脯氨酸变为侧链状极性精氨酸, 其后氨基酸也随之发生

改变, 导致蛋白质三维结构显著改变, 并在新阅读框架的第62位密码子处产生终止密码子, 突变蛋白在翻译至第210位赖氨酸提前终止, 导致蛋白

截短, 生物信息学预测表明, 突变位点之前增加了1个 α -螺旋结构, 突变位点之后减少了4个 α -螺旋结构, 蛋白质结构发生显著改变(图4、5)。



a~c: 先证者2; f-j: 先证者2母亲。*、■示牙缺失。

图2 先证者2及母亲面部像、口内像及曲面断层片

Fig 2 Facial image, intraoral image and curved tomographic image of the proband 2 and the mother

表1 PAX9两种突变体致病性预测

Tab 1 Prediction of pathogenicity of the two PAX9 mutants

先证者	核苷酸改变	氨基酸改变	突变类型	SIFT	Polyphen2	Mutation Taster	致病性分类(ACMG)
1	c.447delG	p.Pro150Argfs*62	移码突变	—	—	D	可能致病(PVS1+PM2)
2	c.406C>T	p.Gln136*	无义突变	—	—	A	致病(PVS1+PM2+PP3)

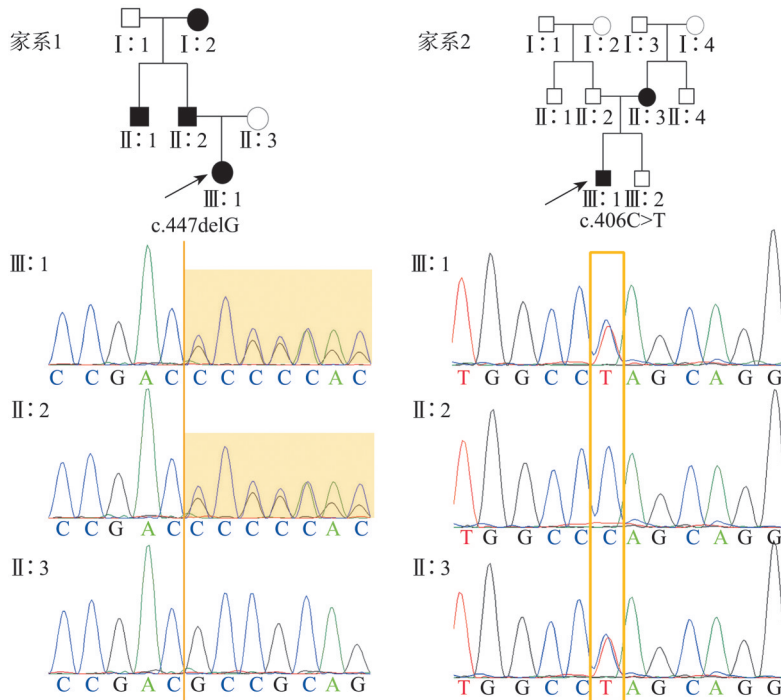
注: PVS: 非常强的致病证据; PM: 中等致病证据; PP: 支持水平致病证据。

理化性质方面, 与野生型相比, p.Pro150Argfs*62突变蛋白分子量因截短而显著减少(由36 310.12变为23 208.74); 正电残基与负电残基数量均增加(由11和21变为33和30), 蛋白虽然仍为碱性, 等电点变化较小(由9.39变为11.00), 但因突变蛋白空间结构改变导致不稳定性指数显著

增高, 说明突变蛋白较野生型更容易降解; 突变蛋白消光系数显著下降(由42 860变为24 325), 但半衰期无变化(表2)。疏水性分析表明, PAX9蛋白为疏水性蛋白, 突变后第150位精氨酸疏水性显著下降, 且第150位后疏水性呈整体下降趋势, 亲水性平均值由-0.279变为-0.571。因为蛋白质疏

水性与水不溶性分子和水分子相互作用有关，疏水性越强，蛋白质越稳定，因此突变蛋白的稳定

性下降（图6）。



箭头示先证者。

图 3 家系遗传图谱及 Sanger 测序

Fig 3 Genetic map and Sanger sequencing of the family

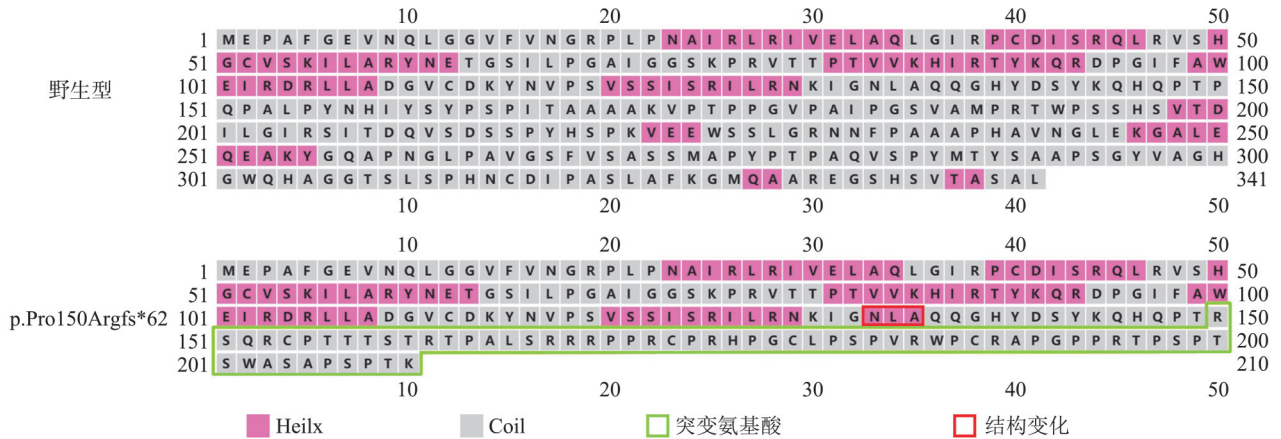


图 4 PAX9 野生型及突变蛋白二级结构

Fig 4 Secondary structure of PAX9 wild-type and mutant protein

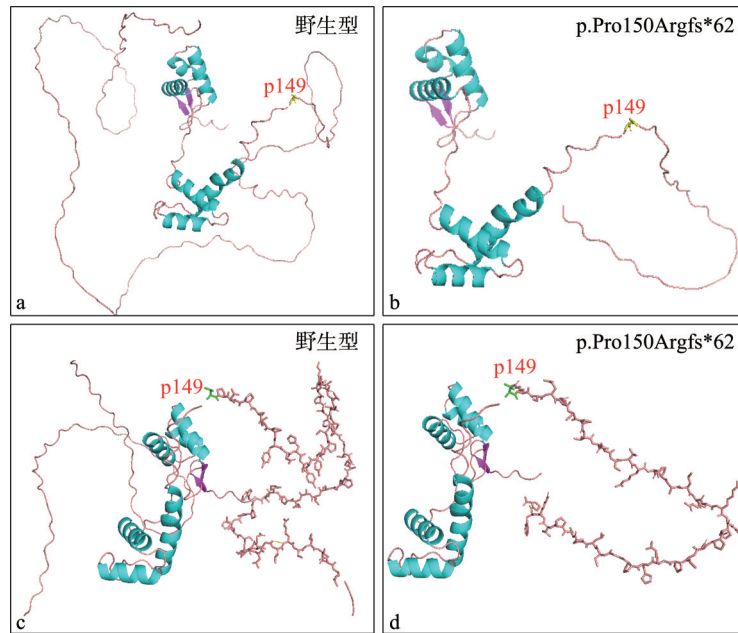
2.4 PAX9 基因型—表型分析

选取共 232 例已报道 PAX9 突变的先天缺牙患者（除第三磨牙缺失），进行基因型—表型分析。共计 95 种 PAX9 突变体，其中错义突变和移码突变占比较高（约 46.3% 和 31.6%），其次为无义突变（约 12.6%），其他突变类型较少见（图 7a）；PAX9 突变主要与非综合征型先天缺牙有关，尤其是非综合征多数牙缺失（约 81.5%），其次非综合征型少数牙缺失（约 16.4%），同时也可导致综合

征型先天缺牙，但较少见（图 7b）。

排除综合征型先天缺牙患者 5 例，与 PAX9 突变相关非综合征型先天缺牙的数目为 1~28 不等，平均为 11 颗，且任何一颗恒牙都可能受累，呈左右对称趋势，上颌缺牙率要高于下颌，除下颌中切牙外，其余上颌同名牙缺牙率均高于下颌同名牙；上颌从高到低依次为第二磨牙、第一磨牙、第二前磨牙、侧切牙、尖牙、第一前磨牙、中切牙；下颌从高到低依次为第二磨牙、中切牙、第

一磨牙、第二前磨牙、侧切牙, 第一前磨牙和尖牙缺失(表3)。
PAX9突变导致的乳牙缺失、均为乳磨牙(图8)。



a、b: 野生型及突变蛋白总体三维构建比较; c、d: 野生型及突变蛋白第149位后氨基酸结构变化。

图5 PAX9野生型及突变蛋白三维重建

Fig 5 Three-dimensional reconstruction of PAX9 wild-type and mutant protein

表2 PAX9野生型及突变蛋白理化性质

Tab 2 Physicochemical properties of PAX9 wild-type and mutant proteins

PAX9	氨基酸数目	相对分子质量	理论等电点	负电残基数	正电残基数	消光系数	半衰期/h	不稳定性指数	脂溶指数	亲水性平均值
野生型	341	36 310.12	9.39	21	11	42 860	30	50.20	77.86	-0.279
p.Pro150Argfs*62	210	23 208.74	11.00	30	33	24 325	30	63.61	73.81	-0.571

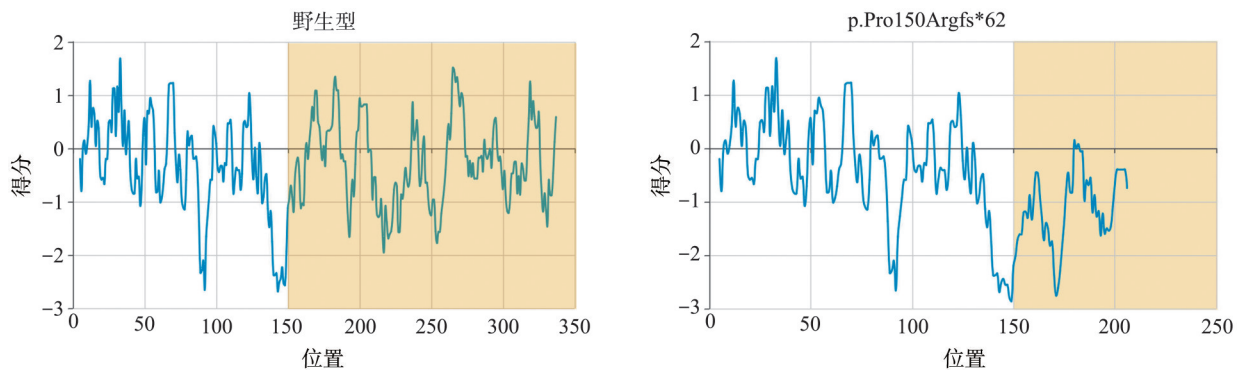


图6 PAX9野生型及突变蛋白的疏水性分析

Fig 6 Hydrophobicity analysis of PAX9 wild-type and mutant proteins

3 讨论

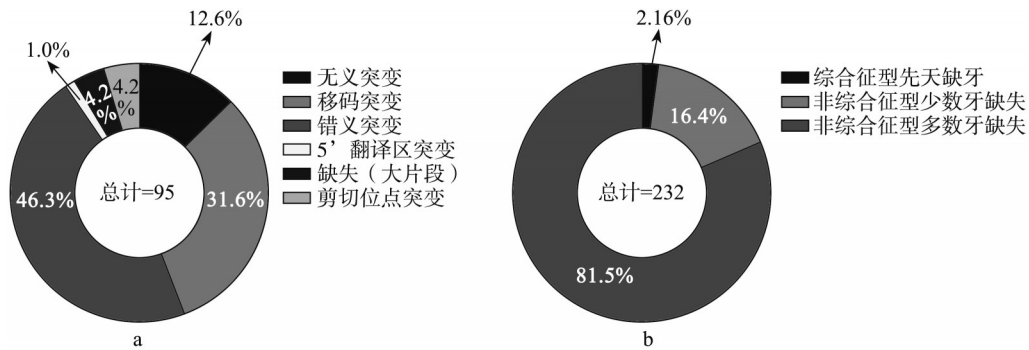
牙齿发育不全主要是由遗传因素导致的, 但其遗传异质性是相当广泛的, 约90%是由以下7个基因突变引起, 包括AXIN2、EDA、LRP6、MSX1、PAX9、WNT10A和WNT10B^[3], 其中由PAX9突

变体引起的非综合征型先天缺牙多以常染色体显性方式遗传^[36]。

PAX9是一个重要的转录因子: PAX9蛋白与靶DNA的结合是通过PD的N-末端亚结构域实现的, 而C-末端亚结构域与N-末端亚结构域一起在通路调节中发挥作用, 八肽可能与其他蛋白质相互作用, 其功能尚未研究^[67], 可能与抑制转录活

性有关^[68]。大多数PAX9突变聚集于PD (73.7%)，且第二磨牙缺失通常与高度保守的配对结构域有关，尤其是N-末端亚结构域^[69]。本研究在1个中国非综合征型先天缺牙家族中发现了PAX9新突变c.447delG (p.Pro150Argfs*62)，另一个家系中发现已报道的PAX9突变c.406C>T (p.Gln136*)。通过Sanger测序验证先证者均为杂合突变，进行家

系基因共分离，发现突变分别来源于先天缺牙的父亲或母亲，表明在这两个家系PAX9突变导致非综合征型先天缺牙均为常染色体显性遗传，与以前的研究一致^[37,57]。Mutation Taster与ACMG标准突变分类预测这两种突变体均具有致病性。这两个突变体均位于第3外显子，是PAX9基因最大的编码区，也是先天缺牙相关的突变热点^[9]。



a: 先天缺牙相关PAX9突变类型及比例; b: PAX9致先天缺牙表型及比例。

图 7 先天缺牙相关PAX9突变类型及表型比例

Fig 7 Types of PAX9 variants associated with tooth agenesis and proportion of phenotypes

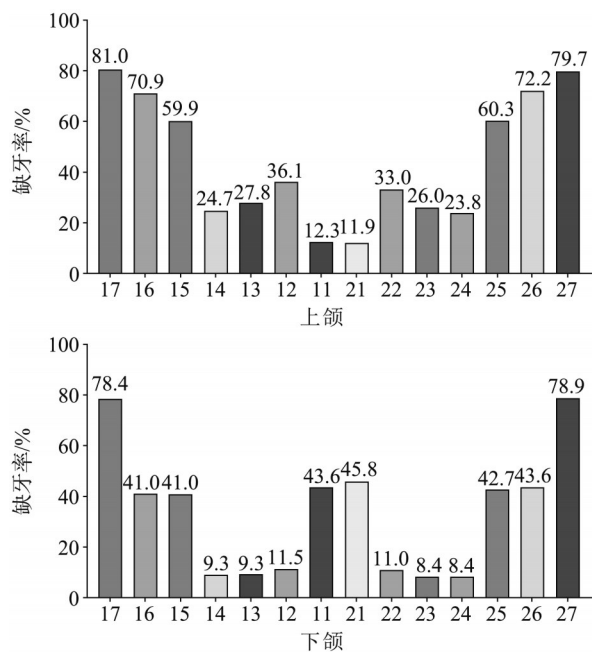


图 8 PAX9突变致非综合征型先天缺牙上下颌恒牙缺失率

Fig 8 Rate of maxillary and mandibular permanent tooth loss due to PAX9 variants causing non-syndromic tooth agenesis

PAX9 c.447delG (p.Pro150Argfs*62) 新突变属于移码突变，是PAX9最常见的突变类型之一。碱基序列中第447位鸟嘌呤缺失，序列向前移码，第149位编码的氨基酸仍为苏氨酸，但编码的氨基酸从150位开始改变至210位后提前终止，严重影响蛋白质理化性质，尤其是引起蛋白质疏水性明

显下降，导致蛋白质稳定性降低，使突变蛋白更容易降解，该突变位点位于PAX9配对结构域下游，导致其八肽结构缺失，蛋白截短，肽链较野生型显著缩短，蛋白相对分子质量显著减少，严重影响蛋白质结构。PAX9无义突变c.439C>T (p.Q147*)导致蛋白截短，该突变也位于配对结构域之外，导致八肽结构缺失影响蛋白质的结构和功能^[44]，本研究新发现位点与该研究相似；PAX9 c.480C>G (p.Tyr160*)无义突变导致的蛋白截短，使C端反式激活结构域缺失，从而影响蛋白质的功能^[66]；PAX9移码突变c.491_510del20bp (p.Pro165Glnfs*145)导致突变蛋白下调或减少PAX9的下游靶点BMP4的转录激活^[70]。本课题组也发现PAX9 p.Gly51Val和p.Arg47Pro在人牙髓干细胞中蛋白表达下降，可能由于单倍体不足导致先天缺牙表型^[37]。PAX9作为PAX转录因子家族成员之一，突变导致蛋白截短无法正常行使功能，导致PAX9单倍剂量不足或影响靶基因的DNA结合能力及反式激活能力^[71]，但突变如何影响牙胚发育仍需进一步研究。

通过Pubmed筛选出55篇文章共232例患者对PAX9致牙齿发育不全进行基因型—表型分析，笔者发现PAX9突变引起的牙齿发育不全，主要是非综合征型先天缺牙，且大部分患者为多数牙缺失，与之前研究^[57]一致。Chu等^[61]用176名患者分析，错义突变(49%)是PAX9致先天缺牙的主要

突变类型,其次为移码突变(29%)、无义突变(11%),其他类型突变少见(11%),本研究扩大样本量至232例,移码突变占比上升(31.6%),但错义突变仍然是PAX9的主要突变类型(46.3%)。Intarak等^[69]发现,从突变类型上,无义突变和移码突变患者的上颌第二磨牙及第二前磨牙缺失率高于错义突变,本研究2例先证者上颌第二磨牙及第二前磨牙均缺失;此外,本课题组也发现除下颌中切牙外,上颌同名牙缺失率高于下颌牙,但左右呈对称趋势,且最常累及磨牙,尤其是第二磨

牙,与之前研究^[61,69]一致,但下颌尖牙与第一前磨牙差异不明显,但Intarak等^[69]认为下颌第一前磨牙缺失最少见(4%);其次在报道乳牙缺失的患者中,均累及乳磨牙^[14,38,40-41,45,57],且发现乳牙发育不全的患者均是蛋白截短突变,如无义或移码突变^[37],与本研究两位先证者一致,但对于乳牙缺失的研究较少,因此,对于PAX9突变致乳牙缺失的基因型—表型关系还需进一步分析。本课题组进一步扩大了样本量,总结基因型—表型关系,为临床根据表型诊断基因型提供依据。

表 3 总结 PAX9 突变致乳牙缺失

Tab 3 Summary of PAX9 variant induced loss of primary teeth

序号	核苷酸改变	氨基酸改变	突变类型	缺失乳牙	参考文献
1	c.175C>T	p.Arg59*	无义突变	65	41
2	c.175C>T	p.Arg59*	无义突变	75	41
3	c.218_219insG	p.Ser74Glnfs*243	移码突变	75、85	45
4	c.330_331insGT+c.1010C>A	p.T337K+p.D113Afs*9	错义突变+移码突变	55、65、74、75、85	57
5	c.330_331insGT+c.1010C>A	p.T337K+p.D113Afs*9	错义突变+移码突变	55、65、75、85	57
6	c.340A>T	p.Lys114*	无义突变	55、65、75、85	40
7	c.406C>T	p.Gln136*	无义突变	55、65、75、85	/
8	c.447delG	p.Pro150Argfs*62	移码突变	55、65、75、85	/
9	44-100 kb deletion including entire PAX9	p.?	缺失	54、55、64、65、74、75、84、85	38
10	223kb de novo heterozyrous deletion including 1 copy of entire PAX9 gene, and partial SLC25A21 gene	p.?	缺失	55、65、74、75、84、85	14

综上,本研究在中国汉族非综合征型先天缺失牙家系中发现了1个新PAX9 c.447delG (p.Pro150Argfs*62),进一步扩大了PAX9的突变谱;总结至2023年12月的已报道的PAX9突变表型,发现PAX9突变主要是错义突变和移码突变;易累及牙位为上颌第二磨牙、下颌第二磨牙、上颌第一磨牙,为先天缺失牙的基因诊断提供了理论基础。

利益冲突声明:作者声明本文无利益冲突。

[参考文献]

[1] Lan R, Wu YQ, Dai QG, et al. Gene mutations and chromosomal abnormalities in syndromes with tooth agenesis [J]. Oral Dis, 2023, 29(6): 2401-2408.

[2] Yu M, Wong SW, Han D, et al. Genetic analysis: Wnt and other pathways in nonsyndromic tooth agenesis[J]. Oral Dis, 2019, 25(3): 646-651.

[3] Zhou M, Zhang H, Camhi H, et al. Analyses of oligodontia phenotypes and genetic etiologies[J]. Int J Oral Sci, 2021, 13(1): 32.

[4] Ogasawara M, Wada H, Peters H, et al. Developmental

expression of Pax1/9 genes in urochordate and hemichordate gills: insight into function and evolution of the pharyngeal epithelium[J]. Development, 1999, 126(11): 2539-2550.

[5] Bhol CS, Patil S, Sahu BB, et al. The clinical significance and correlative signaling pathways of paired box gene 9 in development and carcinogenesis[J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2021, 1876(1): 188561.

[6] Peters H, Neubüser A, Kratochwil K, et al. Pax9-deficient mice lack pharyngeal pouch derivatives and teeth and exhibit craniofacial and limb abnormalities[J]. Genes Dev, 1998, 12(17): 2735-2747.

[7] 叶依婷, 刘浩辰, 韩冬, 等. PAX9突变非综合征型先天缺失牙患者的缺牙表型分析[J]. 口腔颌面修复学杂志, 2019, 20(3): 151-155.

Ye YT, Liu HC, Han D, et al. PAX9 mutation phenotype analysis in patients with non-syndromic tooth agenesis [J]. Chin J Prosthodont, 2019, 20(3): 151-155.

[8] Bonczek O, Balcar VJ, Šerý O. PAX9 gene mutations and tooth agenesis: a review[J]. Clin Genet, 2017, 92(5): 467-476.

- [9] Fauzi NH, Ardini YD, Zainuddin Z, et al. A review on non-syndromic tooth agenesis associated with PAX9 mutations[J]. *Jpn Dent Sci Rev*, 2018, 54(1): 30-36.
- [10] Li R, Chen Z, Yu Q, et al. The function and regulatory network of Pax9 gene in palate development[J]. *J Dent Res*, 2019, 98(3): 277-287.
- [11] Cheng N, Wang D, Zhou ZH, et al. Interaction between HCMV infection and PAX9 gene polymorphisms in low birth weight infants[J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2016, 29(12): 2040-2043.
- [12] 王璟, 简繁, 王晟, 等. 一个单纯性先天缺牙家系的临床及基因突变分析[J]. *华西口腔医学杂志*, 2009, 27(6): 606-609, 613.
Wang J, Jian F, Wang S, et al. Analysis of clinical features and mutation associated with oligodontia[J]. *West China J Stomatol*, 2009, 27(6): 606-609, 613.
- [13] 赵计林, 陈扬熙, 鲍朗, 等. 中国先天性缺失牙患者 PAX9 基因的新突变[J]. *中华口腔医学杂志*, 2005, 40(4): 266-269.
Zhao JL, Chen YX, Bao L, et al. Novel mutations of PAX9 gene in Chinese patients with oligodontia[J]. *Chin J Stomatol*, 2005, 40(4): 266-270.
- [14] Haldeman-Englert CR, Biser A, Zackai EH, et al. A 223-kb de novo deletion of PAX9 in a patient with oligodontia[J]. *J Craniofac Surg*, 2010, 21(3): 837-839.
- [15] Lammi L, Halonen K, Pirinen S, et al. A missense mutation in PAX9 in a family with distinct phenotype of oligodontia[J]. *Eur J Hum Genet*, 2003, 11(11): 866-871.
- [16] Thimmegowda U, Prasanna P, Athimuthu A, et al. A non-syndromic autosomal dominant oligodontia with a novel mutation of PAX9—a clinical and genetic report[J]. *J Clin Diagn Res*, 2015, 9(6): ZD08-ZD10.
- [17] Sarkar T, Bansal R, Das P. A novel G to A transition at initiation codon and exon-intron boundary of PAX9 identified in association with familial isolated oligodontia[J]. *Gene*, 2017, 635: 69-76.
- [18] Mendoza-Fandino GA, Gee JM, Ben-Dor S, et al. A novel g.-1258G>A mutation in a conserved putative regulatory element of PAX9 is associated with autosomal dominant molar hypodontia[J]. *Clin Genet*, 2011, 80(3): 265-272.
- [19] Liang J, Qin CQ, Yue HT, et al. A novel initiation codon mutation of PAX9 in a family with oligodontia[J]. *Arch Oral Biol*, 2016, 61: 144-148.
- [20] Zhao JL, Hu QG, Chen YX, et al. A novel missense mutation in the paired domain of human PAX9 causes oligodontia[J]. *Am J Med Genet A*, 2007, 143A(21): 2592-2597.
- [21] Jumlongras D, Lin JY, Chapra A, et al. A novel missense mutation in the paired domain of PAX9 causes non-syndromic oligodontia[J]. *Hum Genet*, 2004, 114(3): 242-249.
- [22] Frazier-Bowers SA, Guo DC, Cavender A, et al. A novel mutation in human PAX9 causes molar oligodontia[J]. *J Dent Res*, 2002, 81(2): 129-133.
- [23] Mostowska A, Biedziak B, Trzeciak WH. A novel mutation in PAX9 causes familial form of molar oligodontia [J]. *Eur J Hum Genet*, 2006, 14(2): 173-179.
- [24] Hansen L, Kreiborg S, Jarlov H, et al. A novel nonsense mutation in PAX9 is associated with marked variability in number of missing teeth[J]. *Eur J Oral Sci*, 2007, 115(4): 330-333.
- [25] Daw EM, Saliba C, Grech G, et al. A novel PAX9 mutation causing oligodontia[J]. *Arch Oral Biol*, 2017, 84: 100-105.
- [26] Zhang TT, Zhao XX, Hou FF, et al. A novel PAX9 mutation found in a Chinese patient with hypodontia via whole exome sequencing[J]. *Oral Dis*, 2019, 25(1): 234-241.
- [27] Šerý O, Bonczek O, Hloušková A, et al. A screen of a large Czech cohort of oligodontia patients implicates a novel mutation in the PAX9 gene[J]. *Eur J Oral Sci*, 2015, 123(2): 65-71.
- [28] Sarkar T, Ranjan P, Kanathur S, et al. An *in vitro* and computational validation of a novel loss-of-functional mutation in PAX9 associated with non-syndromic tooth agenesis[J]. *Mol Genet Genomics*, 2023, 298(1): 183-199.
- [29] Arte S, Parmanen S, Pirinen S, et al. Candidate gene analysis of tooth agenesis identifies novel mutations in six genes and suggests significant role for WNT and EDA signaling and allele combinations[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e73705.
- [30] Haddaji Mastouri M, de Coster P, Zaghabani A, et al. Characterization of a novel mutation in PAX9 gene in a family with non-syndromic dental agenesis[J]. *Arch Oral Biol*, 2016, 71: 110-116.
- [31] Murakami A, Yasuhira S, Mayama H, et al. Characterization of PAX9 variant P20L identified in a Japanese family with tooth agenesis[J]. *PLoS One*, 2017, 12(10): e0186260.
- [32] Guala A, Falco V, Breedveld G, et al. Deletion of PAX9

- and oligodontia: a third family and review of the literature[J]. *Int J Paediatr Dent*, 2008, 18(6): 441-445.
- [33] Sun RQ, Li SY, Xia B, et al. Detection of novel variant and functional study in a Chinese family with nonsyndromic oligodontia[J]. *Oral Dis*, 2023, 29(5): 2177-2187.
- [34] Koskinen S, Keski-Filppula R, Alapulli H, et al. Familial oligodontia and regional odontodysplasia associated with a PAX9 initiation codon mutation[J]. *Clin Oral Investig*, 2019, 23(11): 4107-4111.
- [35] Liu HC, Liu HB, Su LX, et al. Four novel PAX9 variants and the PAX9-related non-syndromic tooth agenesis patterns[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(15): 8142.
- [36] Sun K, Yu M, Yeh I, et al. Functional study of novel PAX9 variants: the paired domain and non-syndromic oligodontia[J]. *Oral Dis*, 2021, 27(6): 1468-1477.
- [37] Ren JB, Gan SF, Zheng SS, et al. Genotype-phenotype pattern analysis of pathogenic PAX9 variants in Chinese Han families with non-syndromic oligodontia[J]. *Front Genet*, 2023, 14: 1142776.
- [38] Das P, Stockton DW, Bauer C, et al. Haploinsufficiency of PAX9 is associated with autosomal dominant hypodontia[J]. *Hum Genet*, 2002, 110(4): 371-376.
- [39] Wang Y, Wu H, Wu JF, et al. Identification and functional analysis of two novel PAX9 mutations[J]. *Cells Tissues Organs*, 2009, 189(1/2/3/4): 80-87.
- [40] Nieminen P, Arte S, Tanner D, et al. Identification of a nonsense mutation in the PAX9 gene in molar oligodontia[J]. *Eur J Hum Genet*, 2001, 9(10): 743-746.
- [41] Tallón-Walton V, Manzanera-Céspedes MC, Arte S, et al. Identification of a novel mutation in the PAX9 gene in a family affected by oligodontia and other dental anomalies[J]. *Eur J Oral Sci*, 2007, 115(6): 427-432.
- [42] Bergendal B, Klar J, Stecksén-Blicks C, et al. Isolated oligodontia associated with mutations in EDARADD, AXIN2, MSX1, and PAX9 genes[J]. *Am J Med Genet A*, 2011, 155A(7): 1616-1622.
- [43] Kapadia H, Frazier-Bowers S, Ogawa T, et al. Molecular characterization of a novel PAX9 missense mutation causing posterior tooth agenesis[J]. *Eur J Hum Genet*, 2006, 14(4): 403-409.
- [44] Yue HT, Liang J, Song GT, et al. Mutation analysis in patients with nonsyndromic tooth agenesis using exome sequencing[J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2022, 10(10): e2045.
- [45] Stockton DW, Das P, Goldenberg M, et al. Mutation of PAX9 is associated with oligodontia[J]. *Nat Genet*, 2000, 24(1): 18-19.
- [46] Shahid M, Balto HA, Al-Hammad N, et al. Mutations in MSX1, PAX9 and MMP20 genes in Saudi Arabian patients with tooth agenesis[J]. *Eur J Med Genet*, 2016, 59(8): 377-385.
- [47] Pawlowska E, Janik-Papis K, Poplawski T, et al. Mutations in the PAX9 gene in sporadic oligodontia[J]. *Orthod Craniofac Res*, 2010, 13(3): 142-152.
- [48] Yu P, Yang WL, Han D, et al. Mutations in WNT10B are identified in individuals with oligodontia[J]. *Am J Hum Genet*, 2016, 99(1): 195-201.
- [49] Wong SW, Han D, Zhang H, et al. Nine novel PAX9 mutations and a distinct tooth agenesis genotype-phenotype [J]. *J Dent Res*, 2018, 97(2): 155-162.
- [50] Suda N, Ogawa T, Kojima T, et al. Non-syndromic oligodontia with a novel mutation of PAX9[J]. *J Dent Res*, 2011, 90(3): 382-386.
- [51] Boeira BR Jr, Echeverrigaray S. Novel missense mutation in PAX9 gene associated with familial tooth agenesis[J]. *J Oral Pathol Med*, 2013, 42(1): 99-105.
- [52] Das P, Hai M, Elcock C, et al. Novel missense mutations and a 288-bp exonic insertion in PAX9 in families with autosomal dominant hypodontia[J]. *Am J Med Genet A*, 2003, 118A(1): 35-42.
- [53] Liang J, Song GT, Li Q, et al. Novel missense mutations in PAX9 causing oligodontia[J]. *Arch Oral Biol*, 2012, 57(6): 784-789.
- [54] Mostowska A, Kobiela A, Biedziak B, et al. Novel mutation in the paired box sequence of PAX9 gene in a sporadic form of oligodontia[J]. *Eur J Oral Sci*, 2003, 111(3): 272-276.
- [55] Klein ML, Nieminen P, Lammi L, et al. Novel mutation of the initiation codon of PAX9 causes oligodontia[J]. *J Dent Res*, 2005, 84(1): 43-47.
- [56] Wang SK, Chan HC, Makovey I, et al. Novel PAX9 and COL1A2 missense mutations causing tooth agenesis and OI/DGI without skeletal abnormalities[J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e51533.
- [57] Ren JB, Zhao Y, Yuan YY, et al. Novel PAX9 compound heterozygous variants in a Chinese family with non-syndromic oligodontia and genotype-phenotype analysis of PAX9 variants[J]. *J Appl Oral Sci*, 2023, 31: e20220403.
- [58] Mitsui SN, Yasue A, Masuda K, et al. Novel PAX9 mutations cause non-syndromic tooth agenesis[J]. *J Dent*

- Res, 2014, 93(3): 245-249.
- [59] Mostowska A, Biedziak B, Zadurska M, et al. Nucleotide variants of genes encoding components of the Wnt signalling pathway and the risk of non-syndromic tooth agenesis[J]. *Clin Genet*, 2013, 84(5): 429-440.
- [60] Paixão-Côrtes VR, Braga T, Salzano FM, et al. PAX9 and MSX1 transcription factor genes in non-syndromic dental agenesis[J]. *Arch Oral Biol*, 2011, 56(4): 337-344.
- [61] Chu KY, Wang YL, Chen JT, et al. PAX9 mutations and genetic synergism in familial tooth agenesis[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2023, 1524(1): 87-96.
- [62] Wang J, Jian F, Chen J, et al. Sequence analysis of PAX9, MSX1 and AXIN₂ genes in a Chinese oligodontia family[J]. *Arch Oral Biol*, 2011, 56(10): 1027-1034.
- [63] Jiang CL, Yu K, Shen YH, et al. The phenotype and genotype of PAX9 mutations causing tooth agenesis[J]. *Clin Oral Investig*, 2023, 27(8): 4369-4378.
- [64] Mitscherling J, Sczakiel HL, Kiskemper-Nestorjuk O, et al. Whole genome sequencing in families with oligodontia[J]. *Oral Dis*, 2023. doi: 10.1111/odi.14816.
- [65] Mostowska A, Zadurska M, Rakowska A, et al. Novel PAX9 mutation associated with syndromic tooth agenesis[J]. *Eur J Oral Sci*, 2013, 121(5): 403-411.
- [66] Zhu JX, Yang X, Zhang CY, et al. A novel nonsense mutation in PAX9 is associated with sporadic hypodontia[J]. *Mutagenesis*, 2012, 27(3): 313-317.
- [67] Chen XX, Li YH, Paiboonrungruang C, et al. PAX9 in cancer development[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(10): 5589.
- [68] Eberhard D, Jiménez G, Heavey B, et al. Transcriptional repression by Pax5 (BSAP) through interaction with corepressors of the Groucho family[J]. *EMBO J*, 2000, 19(10): 2292-2303.
- [69] Intarak N, Tongchairati K, Termteerapornpimol K, et al. Tooth agenesis patterns and variants in PAX9: a systematic review[J]. *Jpn Dent Sci Rev*, 2023, 59: 129-137.
- [70] Sun RQ, Li SY, Xia B, et al. Detection of novel variant and functional study in a Chinese family with nonsyndromic oligodontia[J]. *Oral Dis*, 2023, 29(5): 2177-2187.
- [71] Chi N, Epstein JA. Getting your Pax straight: Pax proteins in development and disease[J]. *Trends Genet*, 2002, 18(1): 41-47.

(本文编辑 李彩)

《临床医学影像诊断》出版发行

书籍名称：临床医学影像诊断

主编：肖国有、刘军、赵保成、等

出版日期：2024年5月

出版社：山东大学出版社

内容简介：医学影像学是医学领域中发展最快的一门临床学科，随着医学科学技术的飞速发展，新理论、新技术、新方法不断在医学影像领域得到广泛推广与应用。这也使从事医学影像相关工作的医务工作者要不断更新观念，不断掌握新知识、新理论、新技术，并运用这些知识为各种疾病的预防与治疗服务。本书主要以人体各个系统疾病的影像诊断为线索，重点介绍了各个系统的影像学检查基础知识、基本理论和最新发展概况，内容丰富，层次清楚，重点突出，是一本比较实用的医学书。

