

[DOI]10.12016/j.issn.2096-1456.2023.08.003

· 基础研究 ·

# 先天性牙发育不全 WNT6 基因突变的新位点

戴卓, 李丽丽, 张晓昕, 牟永斌, 陈斌

南京大学医学院附属口腔医院, 江苏 南京(210008)

**【摘要】** 目的 探讨先天性牙发育不全病例与相关基因突变可能存在的联系,为疾病的早期诊断提供参考。**方法** 通过收集1例罕见先天性牙发育不全病例的临床和影像学资料,评估牙齿的形态、数量以及全身健康状况;采集患者静脉外周血,对与牙齿发育紧密关联的PAX9和MSX1基因双向测序;进行全外显子测序,筛查与牙发育异常相关的其他突变位点,对先证者儿子进行新发现突变位点的Sanger测序;通过模拟测算工具和体外细胞转染实验评估突变对基因表达的影响。**结果** 患者的临床特征是先天性右下颌单侧第一磨牙缺失,第二磨牙为单根,且伴有右下第二前磨牙多生。在PAX9和MSX1基因测序中发现,PAX9基因中c.717 C>C/T为同义突变,MSX1基因中c.119C>G为错义突变,Polyphen预测为“良性”。全外显子测序发现WNT6基因的1个全新突变位点,内含子3中的c.637-7 C>A突变,经MAXENT预测,可能影响mRNA的剪切,且先证者及其儿子均携带该突变;细胞转染实验发现,该突变对WNT6基因的mRNA剪切没有影响。**结论** 单核苷酸多态性之间的相互作用可能与先天性牙发育异常相关。

**【关键词】** 牙发育不全; 非综合征型; 剪切突变; 全外显子测序; WNT6基因; PAX9基因; MSX1基因; 单核苷酸多态性

**【中图分类号】** R78 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2023)08-0552-07

**【引用著录格式】** 戴卓,李丽丽,张晓昕,等.先天性牙发育不全WNT6基因突变的新位点[J].口腔疾病防治,2023,31(8):552-558. doi:10.12016/j.issn.2096-1456.2023.08.003.

**A novel mutation in the WNT6 gene of congenital tooth agenesis** DAI Zhuo, LI Lili, ZHANG Xiaoxin, MOU Yongbin, CHEN Bin. Nanjing Stomatological Hospital, Medical School of Nanjing University, Nanjing 210008, China  
Corresponding authors: CHEN Bin, Email: 361734128@qq.com, Tel: 86-25-83620213; MOU Yongbin, Email: yongbinmou@163.com, Tel: 86-25-83620228

**【Abstract】 Objective** This article explores the relationship between congenital tooth agenesis and related gene mutations, providing a reference for early diagnosis of the disease. **Methods** Clinical and radiographic examinations of a rare case of congenital tooth agenesis were conducted to evaluate the abnormal morphology and quantity of the teeth, as well as the overall health of the patient. Bidirectional sequencing of the PAX9 and MSX1 genes and whole-exome sequencing were conducted to identify potential genetic abnormalities. Sanger sequencing of the newly discovered mutation site was performed on the proband's son. Subsequently, the impacts of the mutations were evaluated through computational tools and a cell-based gene transfection assay. **Results** This is a rare case of tooth agenesis characterized by a congenitally missing first molar, a second molar with one single root and a supernumerary second premolar in the right mandibular dentition. The c.717 C>C/T in PAX9 is synonymous. The c.119C>G in MSX1 is a missense mutation predicted to be “benign” by Polyphen. Through whole-exome sequencing, we found a novel mutation, c.637-7 C>A in intron 3 of the WNT6 gene, which is predicted by MAXENT to influence the splicing of mRNA. Both the proband and his son carry this mutation. A cell-based gene transfection assay demonstrated that it did not alter the mRNA splicing of WNT6. **Conclusion** The interaction between single nucleotide polymorphisms may contribute to congenital tooth agen-

**【收稿日期】** 2022-10-22; **【修回日期】** 2023-01-26

**【基金项目】** 国家自然科学基金(82002865);江苏省自然科学基金项目(BK20220199);江苏省重点研发计划(社会发展)项目(BE2020629)

**【作者简介】** 戴卓,博士研究生,Email: 281901309@qq.com;共同第一作者,李丽丽,主治医师,博士,Email: njdxll@163.com

**【通信作者】** 陈斌,副主任医师,博士,Email: 361734128@qq.com, Tel: 86-25-83620213;共同通信作者,牟永斌,教授,博士,Email: yongbinmou@163.com, Tel: 86-25-83620228



微信公众号

esis.

**【Key words】** tooth agenesis; non-syndrome; splicing mutation; whole-exome sequencing; WNT6 gene; PAX9 gene; MSX1 gene; single nucleotide polymorphisms

**J Prev Treat Stomatol Dis, 2023, 31(8): 552-558.**

**【Competing interests】** The authors declare no competing interests.

This study was supported by the grants from National Natural Science Foundation of China (No. 82002865); National Natural Science Foundation of Jiangsu Province (No. BK20220199); Jiangsu Provincial Key Research and Development Program (No. BE2020629).

先天性牙发育不全是人类最常见的颅面畸形之一,临床表现主要为牙齿大小、形态和数目异常。依据恒牙缺失数目(不含第三磨牙),先天缺牙分为3型:I型即少数牙缺失,缺牙数<6颗;II型即多数牙缺失,缺牙数 $\geq$ 6颗;III型即全口无牙。依据是否伴发全身系统性疾病,先天缺牙又可分为:①综合征型,通常涉及多个器官系统,如唐氏综合征、外胚层发育不良、Axenfeld-rieger综合征等;②非综合征型,仅表现为牙齿的先天缺失。遗传因素在先天性缺牙中发挥关键作用<sup>[1]</sup>。已有研究表明,非综合征型先天缺牙与MSX1(Msh homeobox 1)、PAX9(paired box 9)、WNT10A(wingless-type MMTV integration site family, member 10A)、WNT10B(wingless-type MMTV integration site family, member 10B)、EDA(ectodysplasin-A)和AXIN2(axis inhibition protein 2)等基因相关<sup>[2]</sup>。MSX1位于染色体4p16.1区域,属于MSX家族基因编码的一种同源异型转录因子<sup>[3]</sup>,表达于未分化的多能干细胞,在调节上皮-间充质转化中起重要作用<sup>[4]</sup>。MSX1基因突变的患者通常表现为第二前磨牙的缺失<sup>[5]</sup>。PAX9基因是最早发现的与单纯型先天缺牙相关的基因之一<sup>[6]</sup>。PAX9和MSX1基因在颅面发育过程中共同表达<sup>[7]</sup>,它们通过相互作用,引起蛋白质相互作用的变化,从而引起特定表型的变化<sup>[8]</sup>。值得关注的是,经典Wnt/ $\beta$ -catenin通路上的突变基因以及Wnt相关基因突变是导致单纯型先天缺牙的最高遗传风险因素<sup>[9]</sup>。本研究通过收集1例罕见先天性牙发育不全病例,分析其临床特点,检测了PAX9和MSX1基因的突变与牙发育不全的相关性,再对先证者进行全外显子测序,并对先证者的儿子进行了突变位点的Sanger测序,验证全外显子测序结果,并对可能致病的突变位点进行功能实验,进一步分析基因突变对基因功能的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要试剂和仪器

RPMI-1640培养基、DMEM高糖型培养基(Gibco,美国);胎牛血清(Gibco,美国);青霉素-链霉素双抗液(Hyclone,美国);胰酶(Gibco,美国);Biotek DNA微型试剂盒(Biotek,中国);RNA提取试剂盒、RNA逆转录试剂盒(Vazyme,中国);PCR纯化试剂盒(Qiagen Inc.,美国);PCR引物、质粒(金斯瑞,中国);实时定量PCR仪(ABI ViiA7, Thermo,美国)。人肝癌细胞系Hep-G2由浙江大学严教授慧赠,人外周血单核细胞系THP-1由南京大学医学院附属口腔医院中心实验室慧赠。

### 1.2 病例采集

患者1,男性,48岁,2019年10月因牙齿松动就诊于牙周科。既往因“慢性牙周炎”有右上颌中切牙及第一磨牙拔除史。否认系统病史。否认家族性遗传病史。通过临床检查、曲面体层片以及锥形束计算机断层扫描(cone beam computed tomography, CBCT)对患者颌系统及全身状况进行详细检查,观察到右下颌磨牙的形态异常。在治疗过程中,先证者的儿子(患者2)也被诊断为牙周炎,23岁,#13埋伏阻生,磨牙尤其是上颌磨牙牙髓腔形态异常。本研究经南京大学医学院附属南京市口腔医院伦理委员会批准[审批号:2018NL-042(KS)],所有受检者均签署知情同意书。

### 1.3 PAX9及MSX1双向基因测序

采集患者静脉外周血(5 mL),使用Biotek DNA微型试剂盒从外周血淋巴细胞中提取DNA。通过PCR扩增PAX9基因和MSX1基因(扩增PAX9、MSX1基因的引物序列和退火温度见表1、表2)。通过琼脂糖凝胶电泳的方法对PCR扩增产物进行分析,并使用PCR纯化试剂盒进行纯化。使用Illumina MiSeq平台进行扩增子测序。将测序序列与GenBank中的PAX9基因序列(NM\_001372076)和MSX1基因序列(NM\_002448.3)进行对比。利用

已有数据库,包括国家生物技术信息中心人类 SNP 数据库 (dbSNP, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>), 1000 基因组项目数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/tools/1000genomes/>) 和外显子组测序项目 (ESP, <http://evs.gs.washington.edu/EVS/>), 筛选出与疾病相关的有价值的突变位点。

表 1 PAX9 基因引物序列

Table 1 PAX9 gene primer sequences

Primer sequence (5'-3')	Size/bp	Annealing temperature/°C
Exon 2 F: CCACTGAGGCGGTGCGGAAAG	227	58
Exon 2 R: CCTACAACCTGTAGGAACACGAGCAAAG		
Exon 3a F: AGGCAGCTGTCCCAAGCAGCG	235	58
Exon 3a R: TGTATCGCGCCAGGATCTTGCTG		
Exon 3b F: ATCCGACCGTGTGACATCAGCC	239	58
Exon 3b R: GGAGGGCACATTGTACTTGTCCG		
Exon 3c F: GCATCTTCGCTGGGAGATCCG	345	58
Exon 3c R: GAGCCCCTACCTTGGTCGGTG		
Exon 4 F: TTGGGTCCCGTCTCAAGAGTGG	263	58
Exon 4 R: CCTAAATCCCGCCGCCACG		
Exon 5 F: GGAGACTAGACTCAGAGCATTGCTG	450	58
Exon 5 R: GAGACCTGGGAATTGGGGGA		

表 2 MSX1 基因引物序列

Table 2 MSX1 gene primer sequences

Primer sequence (5'-3')	Size/bp	Annealing temperature/°C
Exon 1 F: CTGGCCTCGCCTTATTAGC	766	58
Exon 1 R: GCCTGGGTCTTGCTACTC		
Exon 2 F: ACTTGGCGGCACTCAATATC	698	56
Exon 2 R: CAGGGAGCAAAGAGGTGAAA		

#### 1.4 全外显子测序

将 DNA 样本交与上海天昊遗传分析中心进行全外显子测序。将患者与其儿子 DNA 样本通过 Sanger 测序验证全外显子组测序中发现的可能突变位点。使用引物设计网站 (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>) 设计针对 WNT6 基因突变位点的引物: WNT6-F (5'-GCAACTGCA CAACACGAGG-3') 和 WNT6-R (5'-CGCCATTCCAGAG-3')。

#### 1.5 测算突变的潜在影响

从 GenBank 获得人类 PAX9 和 MSX1 基因序列, 并使用 Clustalw2 软件 ([ebi.ac.uk/Tools/msa/Clustalw2/](http://ebi.ac.uk/Tools/msa/Clustalw2/)) 进行分析。使用在线软件 PolyPhen-2 ([genetics.bwh.harvard.edu/pph2/](http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/)) 评价突变致病性。使用在线软件 MAXENT (<http://hollywood.mit.edu/burgelab/maxent/Xmaxentscanscoreseqacc.html>) 预测突变对

WNT6 基因的潜在剪接效应。

#### 1.6 细胞培养

THP-1 培养于含 10% 胎牛血清和 1% 双抗的 RPMI-1640 培养基中; Hep G2 培养于含 10% 胎牛血清和 1% 双抗的 DMEM 培养基中。细胞放置于 5% CO<sub>2</sub> 的 37 °C 恒温培养箱中。当细胞密度达到 80% ~ 90% 时, 使用胰酶以 1:3 消化传代。

#### 1.7 质粒构建和转染

体外直接基因合成 WNT6 基因野生型序列和含有 c.637-7 C > A 的突变序列, 将上述序列连接至表达载体 pcDNA3.1 (+) 上, 构建 WNT6 基因野生型及突变型表达载体。将 Hep G2 细胞以每孔 1 × 10<sup>5</sup> 个细胞的密度接种到 12 孔板中; 24 h 后, 使用 Lipo 2000 转染试剂将野生型和突变 WNT6 基因质粒转染到细胞中; 48 h 后, 收集细胞用于后续实验。

#### 1.8 实时定量 PCR

使用 RNA 提取试剂盒从 Hep G2 和 THP-1 细胞中提取总 RNA; 使用逆转录试剂盒将提取的 RNA 逆转录为 cDNA, 进行实时定量; 使用 Sanger 测序中列出的引物扩增产生的 cDNA。

#### 1.9 统计学分析

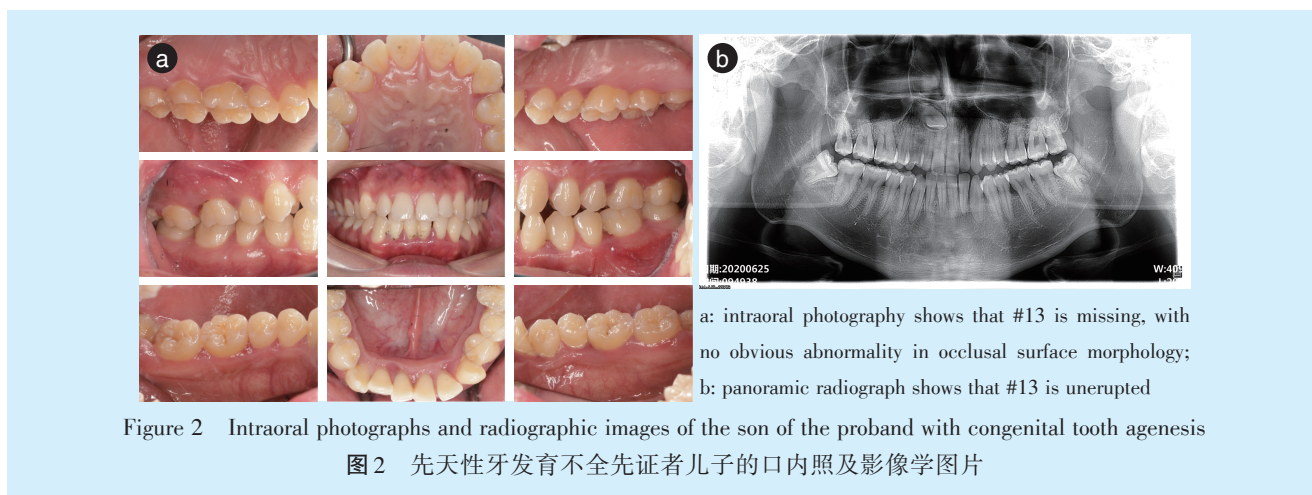
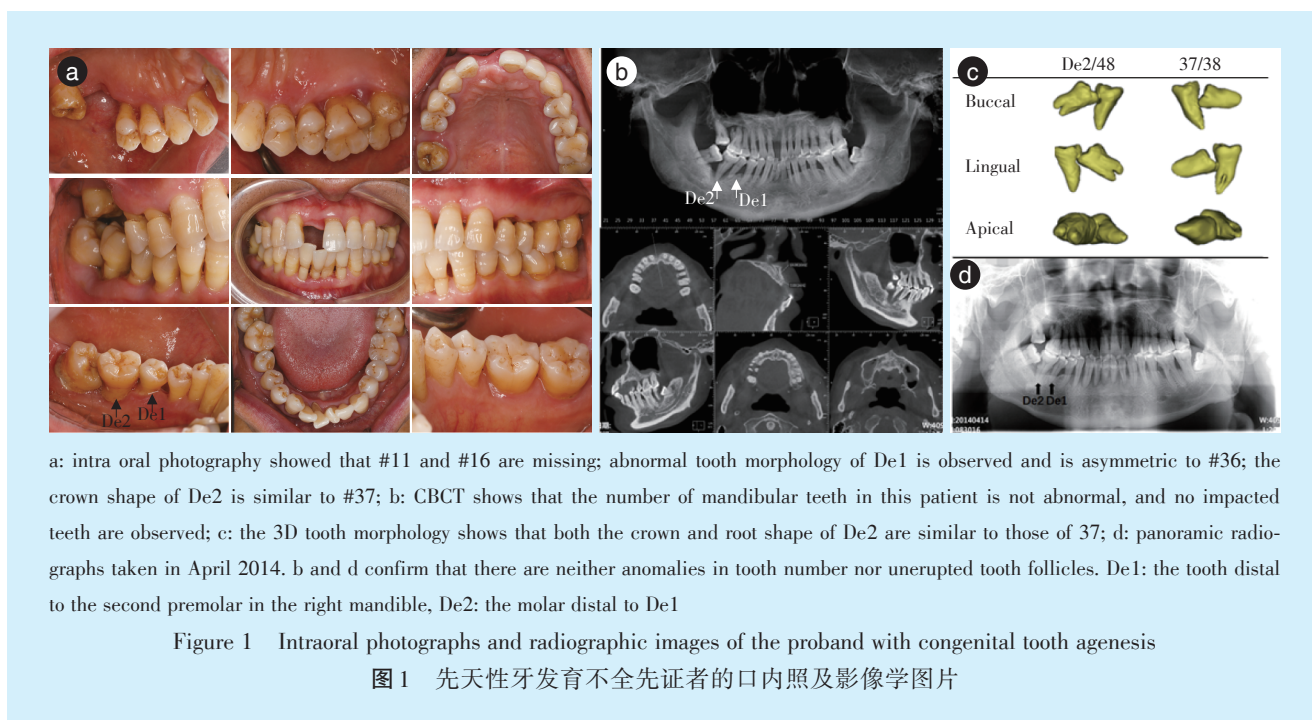
使用 GraphPad Prism 5.0 对数据进行统计分析。数据以均数 ± 标准差表示, 两组比较采用独立 *t* 检验。P < 0.05 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 临床表现

先证者患者 1 全身检查未发现皮肤、头发、指甲、汗腺、耳朵、眼睛等外胚层来源组织器官异常。口腔检查咬合关系可, 未见明显颌骨发育异常; 口内见 #11 和 #16 牙齿缺失, 根据病史, 患者既往因“慢性牙周炎”拔除 #11 和 #16; 右下颌牙列形态异常, 第二前磨牙远中牙位仅有两个牙尖, 而更远中的牙位有 5 个牙尖, 将此两个牙位缩写为 De1 和 De2 (图 1)。与左下颌相比, De1 与 #36 极不对称, De2 牙冠形态则与 #37 相似。CBCT 示, 该患者下颌牙列数量未见异常, 且未见埋伏阻生牙; 与 5 年前拍摄的曲面体层片相比, 部分牙位发生移位, 但下颌牙列牙齿数量没有变化。三维重建牙体形态发现, De2 的牙根形态与 #37 相似。

患者 2 口内见右上颌尖牙缺失 (图 2a), 曲面体层片示 #13 埋伏阻生, 磨牙冠根向膨大, 尤其是上颌磨牙, 根分叉向根方移位, 牙根短小 (图 2b)。



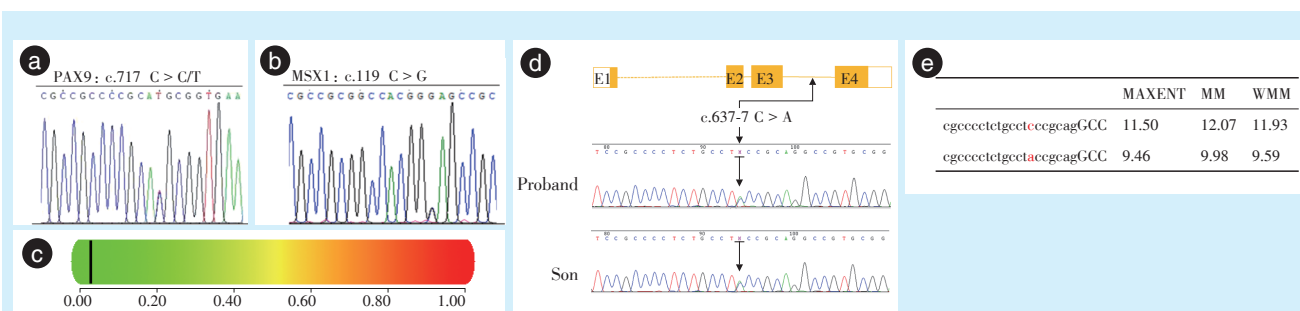
## 2.2 突变分析

测序结果提示 PAX9 基因外显子 3 中的 c.717 C > C/T(rs12881240)(图 3a)和 MSX1 基因外显子 1 中的 c.119 C > G(rs36059701)(图 3b)存在突变。PAX9 基因中的 c.717 C > C/T 为同义突变, MSX1 基因中的 c.119C > G(p.Ala40Gly)为错义突变, Poly-Phen-2 预测该突变评分为 0.027, 为“良性”突变(图 3c)。通过全外显子测序进一步筛查可能存在的其他基因突变。全外显子测序在先证者中发现了一种罕见的 WNT6 基因内含子变体: c.637-7C > A(rs990065139); 该突变位于 WNT6 基因内含子 3' 剪切位点, A 等位基因在 gnomAD 数据库中的突变频率为 0.000 008。Sanger 测序证实先证者及其儿子均携带该突变(图 3d)。MaxEnt 预测该突变会适度

影响 WNT6 基因剪切受体位点, 并产生新的剪切受体(图 3e)。

## 2.3 剪接突变功能分析

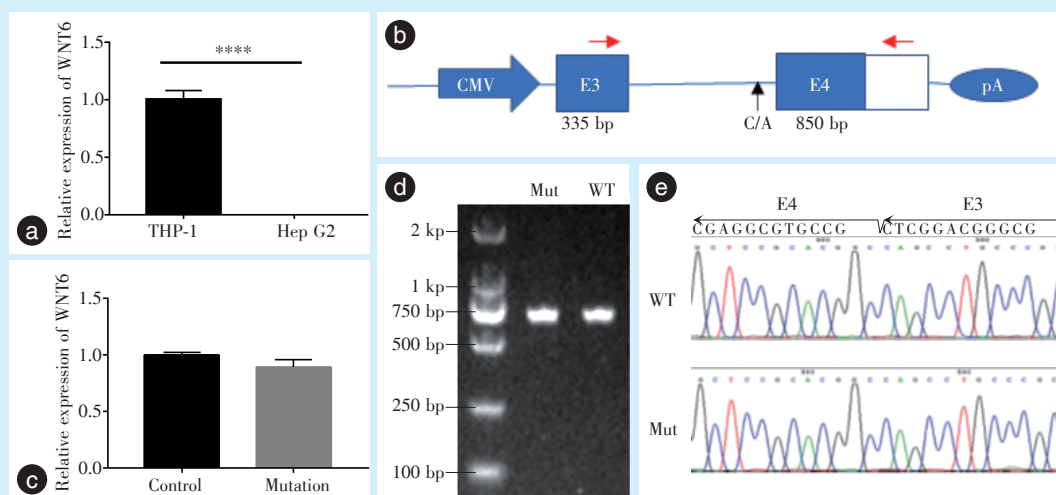
通过实时定量 PCR 发现 WNT6 基因在 THP-1 细胞中高表达, 在 Hep G2 细胞中不表达(图 4a)。因此本实验选用 Hep G2 用于后续研究。针对 WNT6 基因的突变位点 c.637-7 C > A 构建野生型和突变型质粒(图 4b), 转染到 Hep G2 细胞; 野生型和突变型之间的 WNT6 基因表达水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ , 图 4c); 实时定量 PCR 结果提示, 野生型和突变型质粒的剪切产物均为 750 bp 的条带(图 4d); 测序证实野生型和突变型质粒的 cDNA 序列相同(图 4e)。WNT6 基因的突变位点 c.637-7 C > A 未对 mRNA 剪接产生影响。



a: a synonymous mutation in PAX9; b: a missense mutation in MSX1; c: functional prediction shows that the missense mutation in MSX1 is 'BENIGN' with a score of 0.027 (sensitivity: 0.95; specificity: 0.81); d: a splice site mutation is detected in WNT6 carried by both the proband and his son; e: prediction scores of the splicing variant indicate that the variant is highly likely to affect splicing of its pre-mRNA. E1, E2, E3 and E4 represent exons 1,2,3,4 respectively

Figure 3 Gene mutation analysis of the proband and his son with congenital tooth agenesis

图3 先天性牙发育不全先证者及其儿子的基因突变分析



a: confirmation that the Hep G2 cell line does not express the WNT6 gene; b: schematic representation of the WNT6 minigenes in the eukaryotic expression vector pcDNA3.1. The positions of the primers are indicated by red arrows. CMV: CMV promoter; pA: polyA terminal. E1, E2, E3 and E4 indicate exon 1, 2, 3 and 4; c: expression level of wild-type and mutated WNT6 in Hep G2 cells; d: PCR products of cDNA that corresponded to the minigene mRNA transcribed from plasmid WT and Mut were separated by agarose gel electrophoresis; e: reverse sequencing chromatograms of cDNA from plasmid WT and Mut reveals that the mRNA sequence of wild type and mutated WNT6 showed no differences. \*\*\*\* $P < 0.001$ . WT: wild type; Mut: mutant type

Figure 4 *In vitro* analysis of the splice site mutation in the WNT6 gene of the proband and his son with congenital tooth agenesis

图4 先天性牙发育不全先证者及其儿子 WNT6 基因剪接位点突变的体外分析

### 3 讨论

先天性牙发育不全主要累及下颌第二前磨牙和上颌侧切牙,通常为双侧对称发生,单侧缺牙在临床较为罕见<sup>[10-11]</sup>。先天性第一磨牙缺失的报道很少,往往与综合征有关。本研究中,患者临床检查未见全身其他器官系统的发育异常,是1例非综合征型牙发育不全病,患者右下颌牙齿的形态表现异常。为了确定缺失牙齿的具体牙位,牙齿的形状和在牙列中的位置是需要考虑的主要因素,

同时需结合病史及全身状况。首先,De1为双尖牙,牙根为单根,De2有5个牙尖,咬合面呈“Y5”型,牙根为单根。根据牙齿形态,第一磨牙是恒牙列中最大、最稳定的磨牙,发生变异的概率较小<sup>[12]</sup>,且通常有远中尖(99.9%)<sup>[13]</sup>,De1为下颌第一恒磨牙可能性较低,且在前磨牙区,尤其是下颌,多生牙的出现相对常见<sup>[14]</sup>,因此De1为多生且异位萌出前磨牙可能性大。De2,根据其牙冠形状,判定它为磨牙,De2在形状、大小和位置上与牙

齿#37相似,根据牙发育的对称原则,De2为第二磨牙的可能性大。虽然下颌第二磨牙表现出单根变异的发生率仅为1.29%<sup>[15]</sup>,咬合面形态为“Y5”型仅为2.62%<sup>[16]</sup>,但也有出现单根和“Y5”型咬合形态的第二磨牙的可能性。假设De2为#47,De1为多生前磨牙,则“46”先天性缺失。先天性缺牙多见于下颌,且多为双侧对称发生<sup>[17]</sup>,单侧缺失#36或#46报道罕见,既往仅有Suprabha等<sup>[18]</sup>报道过1例“75”牙固连伴先天性缺失“36”。因此,本研究认为De2最有可能为单根的#47,De1为多生前磨牙,#46先天性缺失。

牙发育不全与遗传和环境因素密切相关。氟化物、四环素、低出生体重、营养不良、维生素D缺乏、感染和代谢障碍被认为是与牙齿发育不全密切相关的环境因素<sup>[19]</sup>。相较于环境因素,遗传因素在牙发育异常中发挥着更为关键的作用<sup>[20]</sup>。PAX9和MSX1基因的突变与牙发育不全相关已被广泛接受<sup>[21]</sup>。PAX9基因在牙齿的形态发生和位置中起着重要作用,突变可能导致多颗磨牙缺失及前磨牙和下颌中切牙的变异<sup>[22]</sup>。在本例患者的PAX9基因外显子3中检测到单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)(c.717C>C/T, rs12881240)。然而,rs12881240是一种同义突变,与牙发育异常无显著相关性<sup>[23]</sup>。

携带MSX1基因突变的患者通常表现为前磨牙发育不全,通常为缺失的第二前磨牙和上颌第一前磨牙。在MSX1基因的外显子1中检测到单核苷酸多态性(c.119C>G, rs36069701)。这种错义突变导致40位的丙氨酸变为甘氨酸(A40G)。Shahid等<sup>[24]</sup>报告了1例双侧第二磨牙缺失的病例,患者同样是在40位丙氨酸变为甘氨酸(A40G),与本研究结果一致。此外,Bonds等<sup>[25]</sup>发现,与对照组相比,牙齿发育不全组的A40G突变发生的概率显著高于对照组。然而,PolyPhen-2的预测表明,A40G在保守性方面是“良性的”。这可能是由于中性氨基酸取代了其他非极性氨基酸,对蛋白结构的影响较小。

为了进一步分析潜在的可能与表型关联的基因突变,本研究进行了全外显子测序。先证者样本中,在WNT6基因的内含子3中检测到一个新的突变位点(c.637-7C>A, rs990065139),通过Sanger测序,证实先证者及其儿子均携带该突变。WNT6基因是高度保守的WNT蛋白家族的一员,在人类胚胎发育中起着关键作用<sup>[26]</sup>。在牙齿发育过程

中,WNT6在维持牙齿数量和形态方面发挥着重要作用<sup>[27]</sup>。已有研究表明,WNT6基因有可能促进人牙乳头细胞分化为成牙本质细胞和牙髓细胞,调节了牙齿的发育形成<sup>[28]</sup>。此外,WNT6在调节成骨细胞和破骨细胞的活性方面也起着关键作用。因此,WNT6基因的异常表达可能与患者及其儿子在本研究中发现的牙齿发育不良有关。本病例首次将WNT6基因突变与牙齿发育异常表型联系在一起。

对突变体的功能预测表明,该突变极有可能影响前体mRNA的剪切。因此,本研究针对WNT6基因的突变位点c.637-7C>A构建野生型和突变型质粒,进行了基于细胞的基因转染试验来验证突变对剪切功能的影响。结果显示rs990065139没有改变前体mRNA的剪切,表明突变可能以其他方式影响表型,例如SNP-SNP相互作用。突变单独存在时可能对牙齿发育影响不大,但多个位点的突变有可能通过相互作用或累积效应等影响牙齿发育。PAX9和MSX1基因在颌面发育过程中共同表达,它们可以相互作用引起蛋白质的变化,从而引起特定表型的变化。Butali等<sup>[29]</sup>发现,在牙发育不全的患者中,MSX1(A40G)和PAX9(rs12881240)中的变异频率均显著提高,与本研究结果一致。因此,SNP-SNP相互作用可能是这些突变与牙齿发育不全相关的机制。虽然PAX9、MSX1和WNT6基因中的SNP单独为“良性”,但当同时存在时,它们的致病作用可能通过相互作用而增强。

#### 4 小结

本研究报道了1例罕见的先天性牙发育不全非综合征型病例,其表型为右下颌先天性第一磨牙缺失、第二磨牙为单根,且第二前磨牙多生异位萌出。同时本研究发现了1个全新的WNT6基因突变位点,扩大了WNT6基因的突变谱,并通过初步功能实验验证了新突变对WNT6基因的影响,为相关研究提供参考。

**【Author contributions】** Dai Z, Li LL wrote the article. Zhang XX analyzed the data. Chen B, Mou YB designed the study. All authors read and approved the final manuscript as submitted.

#### 参考文献

- [1] Ma T, Liu Y, Zhao X, et al. A novel mutation of MSX1 inherited from maternal mosaicism causes a severely affected child with non-syndromic oligodontia [J]. *Ann Hum Genet*, 2020, 84(1): 97-101. doi: 10.1111/ahg.12348.

- [2] Bielik P, Bonczek O, Krejčí P, et al. WNT10A variants: following the pattern of inheritance in tooth agenesis and self-reported family history of cancer [J]. *Clin Oral Invest*, 2022, 26(12): 7045-7055. doi: 10.1007/s00784-022-04664-x.
- [3] Zhu Y, Zhang Y, Dong J, et al. MSX1 involved selective tooth agenesis and abnormal labial frenum, pedigree, and retrospective study [J]. *Oral Dis*, 2022. doi: 10.1111/odi.14459.
- [4] Tasanarong P, Pabalan N, Tharabenjasin P, et al. MSX1 gene polymorphisms and non-syndromic cleft lip with or without palate (NSCLP): a meta-analysis [J]. *Oral Dis*, 2019, 25(6): 1492-1501. doi: 10.1111/odi.13127.
- [5] Zheng J, Yu M, Liu H, et al. Novel MSX1 variants identified in families with nonsyndromic oligodontia [J]. *Int J Oral Sci*, 2021, 13(1): 2. doi: 10.1038/s41368-020-00106-0.
- [6] Letra A. Rethinking the genetic etiology of nonsyndromic tooth agenesis [J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2022, 20(6): 389-397. doi: 10.1007/s11914-022-00761-8.
- [7] Safari S, Ebadifar A, Najmabadi H, et al. Screening PAX9, MSX1 and WNT10A mutations in 4 Iranian families with non-syndromic tooth agenesis [J]. *Avicenna J Med Biotechnol*, 2020, 12(4): 236-240.
- [8] Yao X, Zhang C, Gao P, et al. Mutation detection and functional analysis of MSX1, PAX9, AXIN2, and BMP in nonsyndromic congenital missing teeth based on intelligent image detection [J]. *Biomed Res Int*, 2022, 2022: 6217399. doi: 10.1155/2022/6217399.
- [9] 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. doi: 10.1111/odi.12931.
- [10] Aslam K, Jabeen S, Jafri SS, et al. The molecular genetics of selective tooth agenesis [J]. *J Pak Med Assoc*, 2020, 70(11): 2023-2027. doi: 10.5455/jpma.42628.
- [11] Higashihori N, Takada JI, Katayanagi M, et al. Frequency of missing teeth and reduction of mesiodistal tooth width in Japanese patients with tooth agenesis [J]. *Prog Orthod*, 2018, 19(1): 30. doi: 10.1186/s40510-018-0222-4.
- [12] Charisi C, Kodonas K, Keklikoglou K, et al. Morphological, histological, and chemical analysis of first permanent molars with molar incisor malformation [J]. *Eur Arch Paediatr Dent*, 2022, 23(4): 601-608. doi: 10.1007/s40368-022-00723-9.
- [13] Scott GR, Potter RH, Noss JF, et al. The dental morphology of Pima Indians [J]. *Am J Phys Anthropol*, 1983, 61(1): 13-31. doi: 10.1002/ajpa.1330610103.
- [14] Suljkanovic N, Balic D, Begic N. Supernumerary and supplementary teeth in a non-syndromic patients [J]. *Med Arch*, 2021, 75(1): 78-81. doi: 10.5455/medarh.2021.75.78-81.
- [15] Demirbuga S, Sekerci A, Dincer A, et al. Use of cone-beam computed tomography to evaluate root and canal morphology of mandibular first and second molars in Turkish individuals [J]. *Med Oral*, 2013; e737-e744. doi: 10.4317/medoral.18473.
- [16] 敦莲, 任羚, 孙大麟, 等. 中国成年人下颌磨牙发育沟形态的观察 [J]. *上海口腔医学*, 1997, 6(3): 129-131, 134.
- Dun L, Ren L, Sun DL, et al. Morphological study on occlusal groove or mandibular molar of Chinese adults [J]. *Shanghai J Stomatol*, 1997, 6(3): 129-131, 134.
- [17] Heuberger S, Ulm C, Zechner W, et al. Patterns of congenitally missing teeth of non-syndromic and syndromic patients treated at a single-center over the past thirty years [J]. *Arch Oral Biol*, 2019, 98: 140-147. doi: 10.1016/j.archoralbio.2018.11.018.
- [18] Suprabha BS, Pai SM. Ankylosis of primary molar along with congenitally missing first permanent molar [J]. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, 2006, 24(Suppl 1): S35-S37.
- [19] Kurosaka H, Itoh S, Morita C, et al. Development of dentition: from initiation to occlusion and related diseases [J]. *J Oral Biosci*, 2022, 64(2): 159-164. doi: 10.1016/j.job.2022.02.005.
- [20] Lan R, Wu Y, Dai Q, et al. Gene mutations and chromosomal abnormalities in syndromes with tooth agenesis [J]. *Oral Dis*, 2022. doi: 10.1111/odi.14402.
- [21] Hii EPW, Ramanathan A, Pandarathodiyil AK, et al. Homeobox genes in odontogenic lesions: a scoping review [J]. *Head Neck Pathol*, 2022. doi: 10.1007/s12105-022-01481-2.
- [22] 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. doi: 10.1177/0022034517729322.
- [23] Vitria EE, Tofani I, Kusdhany L, et al. Genotyping analysis of the Pax9 gene in patients with maxillary canine impaction [J]. *F1000Res*, 2019, 8: 254. doi: 10.12688/f1000research.17147.1.
- [24] 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. doi: 10.1016/j.ejmg.2016.06.004.
- [25] Bonds J, Pollan-White S, Xiang L, et al. Is there a link between ovarian cancer and tooth agenesis? [J]. *Eur J Med Genet*, 2014, 57(5): 235-239. doi: 10.1016/j.ejmg.2014.02.013.
- [26] Wei M, Zhang C, Tian Y, et al. Expression and function of WNT6: from development to disease [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 558155. doi: 10.3389/fcell.2020.558155.
- [27] Zhang R, Lin J, Liu Y, et al. Transforming growth factor- $\beta$  signaling regulates tooth root dentinogenesis by cooperation with Wnt signaling [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 687099. doi: 10.3389/fcell.2021.687099.
- [28] Wang C, Ren L, Peng L, et al. Effect of Wnt6 on human dental papilla cells *in vitro* [J]. *J Endod*, 2010, 36(2): 238-243. doi: 10.1016/j.joen.2009.09.007.
- [29] Butali A, Mossey PA, Adeyemo WL, et al. Genetic studies in the Nigerian population implicate an MSX1 mutation in complex oral facial clefting disorders [J]. *Cleft Palate Craniofac J*, 2011, 48(6): 646-653. doi: 10.1597/10-133.

(编辑 罗燕鸿, 倪佳)



官网