

· 综述 ·

DOI: 10.13865/j.cnki.cjbmb.2018.07.05

Pierre-Robin 综合征的遗传调控机制

阮宁生, 黄晨苇, 林陈胜*

(福建省发育与神经生物学重点实验室, 福建师范大学生命科学学院, 福州 350108)

摘要 Pierre-Robin 综合征(Pierre-Robin syndrome, PRS)是一种能引起颅面器官异常的遗传性疾病,主要表现为下颌发育不全、舌后坠和腭裂等,可导致新生儿喂食困难,甚至危及个体生命的阻塞性呼吸暂停,是先天性颅面畸形中较为常见的一种综合征。该综合征在全球的发病率为 1/8 500 ~ 1/14 000,不仅影响个体的生长发育还影响其受教育程度,受到社会的广泛关注。虽然 Pierre-Robin 综合征的临床特征明显,易于诊断,但不同患者间高相似性的表型很容易掩盖患病个体之间的病理学异质性,从而很难确定每例 Pierre-Robin 综合征的具体病因。因此,了解 Pierre-Robin 综合征的发病原理及其遗传机制,对于防治 Pierre-Robin 综合征尤为重要。基于此,本文结合新近几年在 Pierre-Robin 综合征发病机制方面的相关研究,主要对引起该综合征的关键信号通路及其相关分子机制,特别是不同信号通路间的相互作用机制进行综述,从而进一步理解 Pierre-Robin 综合征发生的遗传调控机制。

关键词 Pierre-Robin 综合征; 遗传机制; 信号通路; 相互作用

中图分类号 R392

The Genetic Regulation of Pierre-Robin Syndrome

RUAN Ning-Sheng, HUANG Chen-Wei, LIN Chen-Sheng*

(Fujian Key Laboratory of Developmental and Neurobiology, College of Life Sciences,
Fujian Normal University, Fuzhou 350108, China)

Abstract Pierre-Robin syndrome is a congenital craniofacial malformation containing mandibular hypoplasia, glossoptosis, and cleft palate leading to feeding difficulties and even life-threatening obstructive apnea in newborn infants. It occurs in 1/8 500 to 1/14 000 births. The malformation affects not only growth but also long-term education of patients. Though the diagnosis of Pierre-Robin syndrome is readily recognizable by clinical features, the phenotypic similarity conceals etiological heterogeneity among individuals, making it difficult to find out the specific genetic cause in each individual of Pierre-Robin syndrome. Therefore, to reveal the genetic mechanism of Pierre-Robin syndrome becomes particularly important. In this review, we introduce the latest studies on the pathogenesis and molecular mechanism of Pierre-Robin syndrome. Our review provides important references for further understanding of genetic control of Pierre-Robin syndrome.

Key words Pierre-Robin syndrome; genetic mechanism; signal pathway; interaction

1923 年,法国口腔医生 Pierre Robin 发现了一种小下颌畸形的症候群,并用自己的名字将其命名

为 Pierre-Robin 综合征^[1]。该综合征在全球的发病率高达 1/8 500 ~ 1/14 000^[1,2],主要临床表现为下

收稿日期: 2018-01-26; 修回日期: 2018-02-23; 接受日期: 2018-03-05

福建省自然科学基金项目(No. 2015J01130)和福建省教育厅科技项目(No. JA15134)资助

* 通讯作者 Tel: 0591-22860859; E-mail: lincsheng@fjnu.edu.cn

Received: January 26, 2018; Revised: February 23, 2018; Accepted: March 5, 2018

Supported by Natural Science Foundation of Fujian Province (No. 2015J01130) and Scientific Research Project of the Education Department of Fujian Province (No. JA15134)

* Corresponding author Tel: 0591-22860859; E-mail: lincsheng@fjnu.edu.cn

颌变小,舌头后坠,并发生腭裂,这些缺陷可进一步导致气道阻塞和进食困难,严重影响个体的生长发育和受教育程度^[1, 3]。这种人类颅面部综合征严重困扰着患者的生活,给患者和整个家庭带来极大的影响。为更好防治 Pierre-Robin 综合征,深入理解该综合征的发病原理和分子机制显得尤为重要。因此,本文结合最新研究成果,重点对引起 Pierre-Robin 综合征的发病原因和分子网络机制进行综述,从而进一步理解 Pierre-Robin 综合征发生的遗传调控机制。

1 Pierre-Robin 综合征的临床表现

在临床上,Pierre-Robin 综合征主要表现为以下几点颅面部特征异常:小颌畸形、舌头后坠、气道阻塞和腭裂等。小颌畸形是 Pierre-Robin 综合征最明显的临床表征。该特征在婴儿刚出生时就可确诊,具体表现为患病婴儿的下颌在横向和纵向均比正常婴儿小,并且后缩^[4];Pierre-Robin 综合征患者的第二个显著临床表征是舌头后坠。由于后缩的下颌无法提供足够的空间供舌生长,极大限制了舌的大小和伸长,从而导致患者的舌头也呈后缩状态并呈现纵向生长。因此,患者的舌头较正常婴儿的舌头小且厚;后缩的舌头进一步直接导致患者气道的堵塞,造成患此综合征的婴儿常常伴随呼吸不顺畅、氧饱和度下降和皮肤发青等症状,严重者甚至导致窒息。因此,患病婴儿的呼吸道问题需要特别仔细的管理,严重时需要长期留在新生儿重症监护病房,并进行延长下颌或气管切开手术以减轻气道阻塞;此外,Pierre-Robin 综合征的病人极大概率伴有腭裂的症状。患者的上颌呈现 U 型裂口,会直接造成患者进食困难^[1, 5];另有 13.3% 至 30.8% 的病人还伴有神经性听力损失^[6]。

Pierre-Robin 综合征可单独发生,称为独立的 Pierre-Robin 综合征 (isolated Pierre-Robin sequence),也常与其他综合征并发。其中,与斯蒂克勒综合征 (Stickler syndrome)、腭心面综合征 (Velocardiofacial syndrome) 和特雷彻·柯林斯综合征 (Treacher Collins syndrome) 的并发最为常见^[1]。虽然存在多种合并发生的综合征,但研究显示,Pierre-Robin 综合征病例中高达 65% 的比例是以独立的形式发生的^[3]。

2 Pierre-Robin 综合征的发病机制

Pierre-Robin 综合征的临床表征明显,易于识

别,也便于诊断。但正因其表征明显,导致患者个体之间的表型具有很高的相似性,掩盖了相当大的病原学异质性,从而无法确定每例 Pierre-Robin 综合征的具体病因^[7]。因此,深入研究和认识 Pierre-Robin 综合征的发病原因显得至关重要。研究表明,Pierre-Robin 综合征的发病与遗传因素和后天环境因素都有密切关系。这些因素引发的 Pierre-Robin 综合征归纳起来大致可分为两类:下颌骨生长的缺陷和下颌骨外部的异常。其中,下颌骨生长缺陷是导致 Pierre-Robin 综合征最根本的原因。

同颅面部其他的骨骼一样,下颌骨来源于背部神经管迁移至第一腮弓的神经嵴细胞。值得注意的是,颅面部大部分骨组织是通过膜内成骨的方式发育而来的,在发育过程中没有软骨的出现。而下颌骨的成骨发育方式与颅面部其他骨骼有明显的不同:虽然下颌骨中的大部分骨组织,例如牙槽骨等,也是通过膜内成骨的方式形成,但下颌骨成骨的发生标志是以麦氏软骨 (Meckel's cartilage) 的形成为标准^[7]。麦氏软骨的形成在下颌骨的伸长生长和冠状面形态生成中发挥了决定性的作用,其正常发育为下颌骨的形成和发育奠定了结构基础。患有 Pierre-Robin 综合征的胎儿,在胚胎期约 7 ~ 10 周时,由于一定因素引起麦氏软骨发育异常,导致下颌骨不能正常生长。此时下颌的伸长生长也因此受到阻碍,进一步造成舌头在狭小的空间内缩短增厚并形成畸形上抬的舌头。畸形上抬的舌头阻碍了上腭的上抬和融合,从而引起明显的 U 型腭裂。另外,蜷缩在口腔后部的舌头会造成呼吸道堵塞,引起婴儿在出生时呼吸困难。

下颌骨外部的问题常由一些非遗传因素引起,包括神经肌肉功能的紊乱和胎儿约束等一系列原因。其中,羊水过少,面部肌无力或结缔组织病均有可能导致 Pierre Robin 综合征的发生^[8-10]。

3 Pierre-Robin 综合征发生的分子机制

3.1 TGF-β/BMP 信号通路与 Pierre-Robin 综合征

骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic proteins, BMPs) 是转化生长因子 (transforming growth factor-β, TGF-β) 超家族的成员。已有多项研究表明,BMP 信号通路参与调控颅面部多种器官的发生和发育,其功能异常可导致 Pierre-Robin 综合征的发生^[11]。通过与 BMP 配体结合,BMP 受体将胞外 BMP 信号跨膜传入细胞内,激活胞内信号传导途径。其中,

BMP I 型受体 *Alk2* 在颅面部器官发育中发挥重要作用。研究发现,在 *Wnt1-Cre; Alk2^{F/F}* 转基因小鼠中,尽管 *Alk2* 基因在颅神经嵴细胞中的缺失不影响颅面部整体的模式形成,但仍表现出明显的 Pierre-Robin 综合征特点:腭裂、因麦氏软骨和下颌骨细胞增殖减弱形成的小下颌^[11]。BMP 的另一种受体——BMPRI A 同样介导 BMP 活性传导,参与颅面部的器官发育。Li 等^[12, 13] 通过构建神经嵴细胞 *Bmpr1a* 的敲除小鼠(*Wnt1-Cre; Bmpr1a^{F/F}*)和过表达小鼠(*Wnt1-Cre; caBmpr1a*),发现 *Bmpr1a* 表达的缺失或增强均会导致小鼠下颌缩小变短和腭裂发生,体现出 BMP 稳态在颅面部器官发育中的重要性。最新研究表明,BMP 另一受体 *BMPRI B* 基因在人类中的突变同样也会导致 Pierre-Robin 综合征的发生^[14]。这些结果说明,多种 BMP 受体参与介导颅面部器官中的 BMP 信号通路,这些信号构成的 BMP 稳态对于维持颅面部器官,特别是下颌骨和上腭板的发育具有非常重要的调控作用。

TGF- β 激酶 1(TGF-beta kinase 1, *Tak1*)是 TGF- β 非 Smad 依赖性信号通路的关键因子,其在腭上皮和间质中均有表达。当利用 *Osr2-Cre* 小鼠特异在小鼠腭间充质中敲除 *Tak1* 基因后,突变型小鼠并不会发生腭裂,说明只在上腭板中敲除 *Tak1* 引起的腭发育异常,并不会导致腭裂的发生^[15];当利用 *Wnt1-Cre* 小鼠在整个神经嵴细胞中敲除 *Tak1* 基因,由于该突变型小鼠除了在腭间充质中敲除 *Tak1* 基因外,在其他颅面部器官特别是下颌骨和舌间充质中也敲除了 *Tak1* 基因,从而引起下颌骨和舌发育异常,表现出小下颌和舌头畸形,限制了腭板的上抬,最终引起腭裂的发生^[15]。这类突变小鼠呈现出来的表型和引起腭裂发生的机制与人类 Pierre-Robin 综合征相吻合。因此,*Tak1* 基因也被作为 Pierre-Robin 综合征的候选基因。

3.2 ERK 信号通路与 Pierre-Robin 综合征

胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinases, ERK)信号通路的功能,是将细胞表面的受体信号传递到细胞核内的 DNA。ERK 信号通路不仅在四肢软骨的发生发育过程中作为负调节因子参与软骨的分化^[16, 17],在颅面部软骨发育的调控中也发挥至关重要的作用。研究表明,ERK 信号通路参与了面部多种软骨的形成^[18]。Newbern 等在小鼠神经嵴细胞中敲除 ERK 级联的上游元件,包括 *B-Raf* 和 *C-Raf*, *MEK1* 和 *MEK2*,获得的转基因小鼠都表现出相类似的颅面畸形,包括颌骨发育不全、腭

裂、舌头畸形或无舌、以及小颌畸形等^[19]。Parada 等^[20]通过直接构建在小鼠神经嵴细胞中敲除 *ERK2* (*Wnt1-Cre; Erk2^{F/F}*)的小鼠模型,发现在神经嵴细胞中阻断 ERK 通路,可通过干扰下颌骨的成骨分化机制来影响下颌骨的发育,从而表现出小下颌或不对称的下颌畸形,进而由下颌畸形引起继发性的舌畸形和上腭腭裂。这一系列症状的发生与人类 Pierre-Robin 综合征的发病原理同样十分类似。然而,在神经嵴细胞中敲除 ERK 通路下游因子——血清效应因子(serum response factor, SRF)后,转基因小鼠却只表现出下颌畸形,而上颌和舌头的发育却十分正常,明显表现出该通路对上颌和下颌器官发育调控的区别^[19]。同时,Bobick 等^[18]发现,ERK 信号能增强下颌间充质的成软骨分化,但对上颌骨或舌骨间质细胞不具有调节作用。上述结果充分说明,ERK 信号是通过不同的调控机制来调节小鼠颅面部上颌和下颌以及舌头的发育。

3.3 SOX 家族与 Pierre-Robin 综合征

SOX(Sry-related HMG box)家族属于具有同源序列特征的高迁移率蛋白(high mobility group, HMG)超家族中的一员。SOX 基因位于 Y 染色体上,编码一组含有 HMG 结构,能与 DNA 小沟结合的转录因子,参与调节生物体各种发育过程和性别决定。根据与 HMG 结构域和其他结构基序的同源性以及功能,SOX 家族可以划分为 10 种不同的亚组^[21, 22]。其中,SOX9 是该家族参与调控器官发育的一个重要成员,在多种不同组织和器官胚胎发育时期中发挥关键性的作用,同时也是目前在人和小鼠颅面部器官发育中研究最多也最为清楚的一个关键基因。

SOX9 属于 SoxE 亚组,能够通过调节骨发育关键基因,参与下颌骨的形成^[23]。SOX9 在软骨祖细胞和分化的软骨细胞中均有表达^[24, 25],且在软骨内成骨的形成过程中发挥至关重要的作用^[26]。作为软骨细胞分化的标志基因,SOX9 的功能与下颌骨的发生发育存在直接密切的关系,其功能异常可能是引发 Pierre-Robin 综合征最主要的因素之一^[7]:在人类中,一条 SOX9 等位基因的缺失即可导致躯干发育的异常^[27, 28]。进一步研究发现,人类 SOX9 基因功能缺失引起的 Pierre-Robin 综合征,往往是由于该基因上游约 1.06 ~ 1.5 Mb 或更靠近基因的 DNA 片段发生改变造成的^[29, 30]。这些 DNA 区域包含一个高度保守的非编码元件(HCNE),其具有增强子的活性,调控 SOX9 的表达。此区域的破坏

直接引起 *SOX9* 基因活性降低,从而引发 Pierre-Robin 综合征^[29, 30]。在小鼠中,*Sox9* 突变型杂合小鼠同样表现出躯干发育的异常,以及颅面部骨架结构的畸形^[31]。其实早在 2003 年, Mori-Akiyama 等^[23]就发现,在小鼠的神经嵴细胞中敲除 *Sox9* 基因,即使 *Sox9* 缺失的突变细胞能够正确迁移到其在软骨发生的位置,但这些细胞也无法完成软骨间充质细胞的凝集,导致本是软骨细胞命运的细胞朝着成骨细胞方向转化,最终引起该突变小鼠的颅面部发育异常。

此外,*SOX11* 也在调控颅面部器官发育中发挥重要的作用。*SOX11* 属于 *Sox C* 亚组,该亚组还有另外两名成员:*SOX 4* 和 *SOX12*。研究发现,该亚组中,只有 *Sox11* 基因敲除小鼠表现出腭裂的表型^[32]。Huang 等^[33]进一步研究发现,*Sox11* 基因对于下颌骨和腭的生长发育是必需的。*Sox11* 缺陷型小鼠的颅面部器官同样表现出与人类 Pierre-Robin 综合征一样的发病特征。该基因缺失可引起小鼠上腭板和下颌间充质中的细胞增殖明显减少。进一步利用基因表达图谱的微矩阵分析发现,*Sox11* 基因是通过调节下游 *Fgf9* 基因来调控上腭和下颌中的细胞增殖。

3.4 FGF 信号通路 with Pierre-Robin 综合征

成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factors, FGFs)是一种具有多种作用的多功能蛋白质,参与生物体的生长发育和分化过程。FGF 信号通路中的 *Fgf10* 基因也是调控颅面部器官发育的一个重要基因,其功能异常同样表现出 Pierre-Robin 综合征的表型。颅神经嵴细胞中 *Fgf10* 过表达的 *Wnt1-Cre*; *pMes-Fgf10* 转基因小鼠,表现出与 *Wnt1-Cre*; *Tak1^{F/F}* 小鼠一样的 Pierre-Robin 综合征表型。*Fgf10* 过表达,可明显促进颅面部中舌器官而不是上腭板中的细胞增殖,造成舌头增厚并抑制腭板的上抬,从而引起腭裂的发生^[15]。

3.5 转铁蛋白受体与 Pierre-Robin 综合征

转铁蛋白受体(transferrin receptor, Tfrc)是一类载体蛋白,能够将 Fe 离子转运到细胞内。有研究发现,神经嵴细胞中 Tfrc 的缺失同样表现出显著的人类 Pierre-Robin 综合征的表型^[34]。

3.6 各通路之间的关系

由上述可知,多个信号通路在调控颅面部器官发育过程中均发挥着关键的作用。任意一条通路信号的改变都会导致 Pierre-Robin 综合征的发生。不仅如此,在调控颅面部器官发育方面,这些通路也并

非是独立发挥作用的,它们之间往往通过直接或间接的相互作用,共同维持颅面部器官的正常发育。

TGF- β /BMP 通路可通过控制 *Sox9* 的表达,来实现对下颌中软骨细胞的正调控作用。研究发现,在小鼠神经嵴细胞中敲除 TGF- β 受体,可引起 *Sox9* 的表达下调。而外源 TGF- β 的刺激又可诱导 *Sox9* 的异位表达。说明在颅面部器官发育中,*Sox9* 基因是受 TGF- β 信号调控^[35]。此外,在体外培养的人间充质干细胞中,依赖于 Smad2/3 的 TGF- β 信号通路活性,通过提高 *SOX9* 的转录激活来促进软骨的形成^[36]。BMP 信号通路中的 *Bmp4* 基因,也通过促进 *Sox9* 的表达,来诱导小鼠下颌软骨的发生^[37]。另一 BMP 配体,*Bmp2* 基因经 p38 胞内信号传导途径,同样通过促进 *Sox9* 的表达,刺激小鼠胚胎成纤维细胞(MEFs)的软骨发生^[38]。

FGF 信号通路也是通过调节 *Sox9* 的表达来调控软骨的发育,其主要通过 ERK 途径来实现。研究发现,在鸡下颌间充质细胞中,FGF2、4、8 依赖 MEK-ERK 信号通路来调节软骨分化^[39]。在小鼠的原代和分化软骨细胞中,FGFs 也是依赖 ERK 信号通路来进一步刺激 *Sox9* 的表达^[16]。在大鼠下颌器官中,外源添加 FGF10 蛋白同样通过促进内源性 ERK 的磷酸化来促进 *Sox9* 基因的表达,从而促进软骨的形成和分化^[40]。

此外,TGF- β /BMP 信号通路还可通过 FGF 信号通路调控小鼠下颌和舌头的发育。上述提到的 *Wnt1-Cre*; *Tak1^{F/F}* 缺失小鼠和 *Wnt1-Cre*; *pMes-Fgf10* 转基因小鼠都表现出 Pierre-Robin 综合征的表型。进一步研究发现,在舌发育过程中,*Tak1* 基因可以调控 *Fgf10* 的表达。在 *Wnt1-Cre*; *Tak1^{F/F}* 缺失小鼠中,*Tak1* 基因缺失可导致舌间充质 *Fgf10* 表达异常提高,从而引起舌间充质细胞增殖速率加快,舌头变厚,并进一步阻碍了腭板的上抬,最终造成腭裂的发生^[15]。

TGF- β /BMP 信号通路还作为 Tfrc 因子的下游来调控颅面部下颌与舌头的发育。研究发现,*Tfrc* 基因缺失可抑制下颌骨组织中的 TGF- β 和 BMP 信号传导,从而导致麦氏软骨的发育延迟,进而造成小下颌和腭裂的发生。严重时小鼠甚至出现呼吸窘迫和无法哺乳幼崽等与人类严重的 Pierre-Robin 综合征几乎相同的症状。因此,在颅面形态发生过程中,Tfrc 可能是作为 TGF- β 和 BMP 两种信号传导途径的促进剂参与颅面部器官,特别是下颌骨和上颌的发育调控^[34]。

4 问题与展望

目前,关于颅面部器官发育研究大多集中在研究麦氏软骨和下颌之间的关系。同时,因舌头异常导致的 Pierre-Robin 综合征中,腭裂发生的观点也获得较好的临床和转基因遗传小鼠模型的实验支持。因此,人类 Pierre-Robin 综合征的发生有很大概率是因为下颌的发育不全所致。然而,临床上发现, Pierre-Robin 综合征的产生与各种遗传因素都有关联,不同患者之间呈现出基因突变的多样性。这些发现说明,仍有很多别的途径可以达到同样的发展结果。因此,并不能排除其他可能造成 Pierre-Robin 综合征的病因。除了目前普遍接受的下颌和舌异常导致腭裂和气道阻塞的假说外,口咽和肌肉缺陷也可能是引起 Pierre-Robin 综合征发生的原因。尽管这个形成机制假说不太完善,但却能合理地解释该综合征的产生。由于遗传因素的多样性,而 Pierre-Robin 综合征个体间却因相似的临床特征掩盖了患者间的病原学异质性,这使得 Pierre-Robin 综合征的防治变得十分棘手。近年来,二代高通量测序在科研和临床上得到了广泛的应用。该技术同样为找到每位 Pierre-Robin 综合征患者的基因突变,提供了一种非常有效的技术和手段,也使得 Pierre-Robin 综合征的产前预测变为可能。

参考文献 (References)

[1] Gangopadhyay N, Mendonca DA, Woo AS. Pierre robin sequence [J]. *Semin Plast Surg*, 2012, **26**(2):76-82

[2] Izumi K, Konczal LL, Mitchell AL, *et al*. Underlying genetic diagnosis of Pierre Robin sequence: retrospective chart review at two children's hospitals and a systematic literature review [J]. *J Pediatr*, 2012, **160**(4):645-650. e2

[3] Brewer FR, Harper LM. Pierre Robin Sequence[M]. *Obstetric Imaging: Fetal Diagnosis and Care (Second Edition)*. Elsevier, 2018:570-572

[4] Hunt JA, Hobar PC. Common craniofacial anomalies: the facial dysostoses [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2002, **110**(7):1714-1725

[5] Paes EC, de Vries IAC, Penris WM, *et al*. Growth and prevalence of feeding difficulties in children with Robin sequence: a retrospective cohort study [J]. *Clin Oral Investig*, 2017, **21**(6):2063-2076

[6] Fronczak P, Skarzynski P, Dziendziel B, *et al*. Problems in treatment of tinnitus and hearing loss in a Pierre Robin syndrome [J]. *J Hear Sci*, 2017, **7**(2)

[7] Tan TY, Kilpatrick N, Farlie PG. Developmental and genetic perspectives on Pierre Robin sequence [J]. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 2013, **163C**(4):295-305

[8] Pasetti M, Mazzoleni F, Novelli G, *et al*. Temporomandibular joint ankylosis as part of the clinical spectrum of Carey-Fineman-Ziter syndrome? [J]. *Am J Med Genet A*, 2016, **170**(8):2191-2195

[9] Basart H, Paes EC, Maas SM, *et al*. Etiology and pathogenesis of robin sequence in a large Dutch cohort [J]. *Am J Med Genet A*, 2015, **167A**(9):1983-1992

[10] Evans AK, Rahbar R, Rogers GF, *et al*. Robin sequence: a retrospective review of 115 patients [J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2006, **70**(6):973-980

[11] Dudas M, Sridurongrit S, Nagy A, *et al*. Craniofacial defects in mice lacking BMP type I receptor Alk2 in neural crest cells [J]. *Mech Dev*, 2004, **121**(2):173-182

[12] Li L, Lin M, Wang Y, *et al*. Bmpr1a is required in mesenchymal tissue and has limited redundant function with Bmpr1b in tooth and palate development [J]. *Dev Biol*, 2011, **349**(2):451-461

[13] Li L, Wang Y, Lin M, *et al*. Augmented BMPRIA-mediated BMP signaling in cranial neural crest lineage leads to cleft palate formation and delayed tooth differentiation [J]. *PLoS One*, 2013, **8**(6):e66107

[14] Yang Y, Yuan J, Yao X, *et al*. BMP1B mutation causes Pierre Robin sequence [J]. *Oncotarget*, 2017, **8**(16):25864-25871

[15] Song Z, Liu C, Iwata J, *et al*. Mice with Tak1 deficiency in neural crest lineage exhibit cleft palate associated with abnormal tongue development [J]. *J Biol Chem*, 2013, **288**(15):10440-10450

[16] Murakami S, Kan M, McKeehan WL, *et al*. Up-regulation of the chondrogenic Sox9 gene by fibroblast growth factors is mediated by the mitogen-activated protein kinase pathway [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, **97**(3):1113-1118

[17] Bobick BE, Kulyk WM. The MEK-ERK signaling pathway is a negative regulator of cartilage-specific gene expression in embryonic limb mesenchyme [J]. *J Biol Chem*, 2004, **279**(6):4588-4595

[18] Bobick BE, Kulyk WM. MEK-ERK signaling plays diverse roles in the regulation of facial chondrogenesis [J]. *Exp Cell Res*, 2006, **312**(7):1079-1092

[19] Newbern J, Zhong J, Wickramasinghe RS, *et al*. Mouse and human phenotypes indicate a critical conserved role for ERK2 signaling in neural crest development [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, **105**(44):17115-17120

[20] Parada C, Han D, Grimaldi A, *et al*. Disruption of the ERK/MAPK pathway in neural crest cells as a potential cause of Pierre Robin sequence [J]. *Development*, 2015, **142**(21):3734-3745

[21] Chew LJ, Gallo V. The Yin and Yang of Sox proteins: Activation and repression in development and disease [J]. *J Neurosci Res*, 2009, **87**(15):3277-3287

[22] Bowles J, Schepers G, Koopman P. Phylogeny of the SOX family of developmental transcription factors based on sequence and structural indicators [J]. *Dev Biol*, 2000, **227**(2):239-255

[23] Mori-Akiyama Y, Akiyama H, Rowitch DH, *et al*. Sox9 is required for determination of the chondrogenic cell lineage in the cranial neural crest [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, **100**(16):9360-9365

[24] Ng LJ, Wheatley S, Muscat GE, *et al*. SOX9 binds DNA, activates transcription, and coexpresses with type II collagen during chondrogenesis in the mouse [J]. *Dev Biol*, 1997, **183**(1):108-121

[25] Zhao Q, Eberspaecher H, Lefebvre V, *et al*. Parallel expression of Sox9 and Col2a1 in cells undergoing chondrogenesis [J]. *Dev Dyn*, 1997, **209**(4):377-386

[26] Akiyama H, Chaboissier MC, Martin JF, *et al*. The transcription factor Sox9 has essential roles in successive steps of the chondrocyte differentiation pathway and is required for expression of Sox5 and Sox6 [J]. *Genes Dev*, 2002, **16**(21):2813-2828

[27] Foster JW, Dominguez-Steglich MA, Guioli S, *et al*. Campomelic dysplasia and autosomal sex reversal caused by mutations in an SRY-related gene [J]. *Nature*, 1994, **372**(6506):525-530

[28] Wagner T, Wirth J, Meyer J, *et al*. Autosomal sex reversal and campomelic dysplasia are caused by mutations in and around the SRY-related gene SOX9 [J]. *Cell*, 1994, **79**(6):1111-1120

[29] Benko S, Fantes JA, Amiel J, *et al*. Highly conserved non-coding elements on either side of SOX9 associated with Pierre Robin sequence [J]. *Nat Genet*, 2009, **41**(3):359-364

[30] Gordon CT, Attanasio C, Bhatia S, *et al*. Identification of novel

craniofacial regulatory domains located far upstream of SOX9 and disrupted in Pierre Robin sequence [J]. *Hum Mutat*, 2014, **35**(8):1011-1020

[31] Bi W, Huang W, Whitworth DJ, *et al.* Haploinsufficiency of Sox9 results in defective cartilage primordia and premature skeletal mineralization [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, **98**(12):6698-6703

[32] Sock E, Rettig SD, Enderich J, *et al.* Gene targeting reveals a widespread role for the high-mobility- group transcription factor Sox11 in tissue remodeling [J]. *Mol Cell Biol*, 2004, **24**(15):6635-6644

[33] Huang H, Yang X, Bao M, *et al.* Ablation of the Sox11 Gene Results in Clefting of the Secondary Palate Resembling the Pierre Robin Sequence [J]. *J Biol Chem*, 2016, **291**(13):7107-7118

[34] Lei R, Zhang K, Liu K, *et al.* Transferrin receptor facilitates TGF- β and BMP signaling activation to control craniofacial morphogenesis [J]. *Cell Death Dis*, 2016, **7**(6):e2282

[35] Oka K, Oka S, Hosokawa R, *et al.* TGF-beta mediated Dlx5 signaling plays a crucial role in osteo- chondroprogenitor cell lineage determination during mandible development [J]. *Dev Biol*, 2008, **321**(2):303-309

[36] Furumatsu T, Tsuda M, Taniguchi N, *et al.* Smad3 induces chondrogenesis through the activation of SOX9 via CREB-binding protein/p300 recruitment [J]. *J Biol Chem*, 2005, **280**(9):8343-8350

[37] Semba I, Nonaka K, Takahashi I, *et al.* Positionally-dependent chondrogenesis induced by BMP4 is co-regulated by Sox9 and Msx2 [J]. *Dev Dyn*, 2000, **217**(4):401-414

[38] Pan Q, Yu Y, Chen Q, *et al.* Sox9, a key transcription factor of bone morphogenetic protein-2-induced chondrogenesis, is activated through BMP pathway and a CCAAT box in the proximal promoter [J]. *J Cell Physiol*, 2008, **217**(1):228-241

[39] Bobick BE, Thornhill TM, Kulyk WM. Fibroblast growth factors 2, 4, and 8 exert both negative and positive effects on limb, frontonasal, and mandibular chondrogenesis via MEK-ERK activation [J]. *J Cell Physiol*, 2007, **211**(1):233-243

[40] Terao F, Takahashi I, Mitani H, *et al.* Fibroblast growth factor 10 regulates Meckel's cartilage formation during early mandibular morphogenesis in rats [J]. *Dev Biol*, 2011, **350**(2):337-347