斑马鱼在纤毛病研究中的应用综述

魏志英1,2# 蒋尚堃3# 陈长水4 李新华5 安宇1,6*

(¹复旦大学人类表型组研究院,上海 201203;²复旦大学附属中山医院检验科,上海 200032;³同济大学医学院, 上海 200092;⁴宁波市胚胎源性疾病防治重点实验室,宁波大学附属妇女儿童医院,宁波 315000;⁵上海交通大学 医学院附属第一人民医院骨科,上海 200080;⁶复旦大学医学遗传研究院,上海 200030)

摘要 纤毛是一种基于微管构成的亚细胞结构, 广泛分布于几乎所有脊椎动物的细胞表面, 在细胞运动和信号转导等生物学过程中发挥关键作用。纤毛结构或功能的异常会导致一类遗传性 疾病, 这些疾病被统称为纤毛病(ciliopathies)。纤毛在进化过程中具有高度保守性, 且斑马鱼在多 种特化纤毛类型上与人类存在高度相似性, 使得斑马鱼成为研究纤毛功能和纤毛病的理想模式生 物。该文主要总结了斑马鱼纤毛的结构特征, 梳理了目前在该领域广泛应用的前沿研究技术, 并总 结了利用斑马鱼模型在解析人类纤毛病中的关键发现与研究进展。研究表明, 斑马鱼凭借其独特 的发育学和遗传学优势, 以及与人类纤毛结构的高度同源性, 在推动纤毛相关疾病研究方面发挥了 重要作用, 为深入揭示纤毛病的发病机制提供了重要理论基础和实验支持。

关键词 斑马鱼; 纤毛病; 纤毛; 纤毛病综合征

A Review of the Application of Zebrafish in Ciliopathy Research

WEI Zhiying^{1,2#}, JIANG Shangkun^{3#}, CHEN Changshui⁴, LI Xinhua⁵, AN Yu^{1,6*}

(¹Institute of Human Phenomics, Fudan University, Shanghai201203, China; ²Department of Laboratory Medicine, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China; ³School of Medicine, Tongji University, Shanghai 200092, China; ⁴Ningbo Key Laboratory for the Prevention and Treatment of Embryogenic Diseases, the Affiliated Women and Children's Hospital of Ningbo University, Ningbo 315000, China; ⁵Department of Orthopedics, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200080, China; ⁶Institute of Medical Genetics, Fudan University, Shanghai 200030, China)

Abstract Cilia, as microtubule-based subcellular structure, widely present on the surface of nearly all vertebrate cells and play crucial roles in various biological processes such as cell motility and signal transduction. A series of genetic diseases caused by abnormalities in the structure or function of cilia are collectively referred to as ciliopathies. Due to the high evolutionary conservation of cilia and the similarity between zebrafish and humans in multiple specialized ciliary types, zebrafish has emerged as an ideal model organism for studying ciliary functions and ciliopathies. This paper summarizes the structural features of zebrafish cilia, sorts out the advances in commonly used related novel techniques, and describes the important findings and contributions of the zebrafish model in the study of human ciliopathy. Studies have shown that zebrafish, with its unique biological development characteristics and highly similar ciliary structure to that of humans, has greatly contributed to the research progress in ciliarelated fields and provided important clues for a deeper understanding of the pathogenesis of ciliopathies.

Keywords zebrafish; ciliosis; cilia; ciliopathies

#共同第一作者

收稿日期: 2025-02-10 接受日期: 2025-04-30

上海市市级重大专项(批准号: 2017SHZDZX01)和宁波市重点研发计划(批准号: 2023Z178)资助的课题

^{*}通信作者。Tel: 13916611739, E-mail: anyu@fudan.edu.cn

Received: February 10, 2025 Accepted: April 30, 2025

This work was supported by the Shanghai Municipal Major Projects (Grant No.2017SHZDZX01), and the Ningbo Focus on Research and Development Program (Grant No.2023Z178)

[&]quot;These authors contributed equally to this work

^{*}Corresponding author. Tel: +86-13916611739, E-mail: anyu@fudan.edu.cn

纤毛作为进化上高度保守的细胞器,广泛分布 于大多数脊椎动物各类细胞中,参与调控生理学功 能和各种生物过程印。依据超微结构特征中央是否 存在微管,纤毛可分为两大类,具有中央微管对的 "9+2"运动型纤毛和缺乏中央微管的"9+0"非运动 型纤毛。运动型纤毛主要主要分布在脑室、呼吸 道黏膜和生殖系统等组织,作为细胞器发挥作用; 非运动纤毛也称为初级纤毛,则普遍分布于肾脏、 肝脏、心脏、骨骼等的上皮细胞表面,作为重要的 信号转导枢纽发挥"细胞天线"的作用[2]。纤毛病 (ciliopathies)是指由纤毛结构缺失或功能异常引发 的纤毛发育功能障碍而引起的一组罕见的人类遗 传病,其临床表现具有多系统受累特征,典型症状 包括多囊肾病、内脏异位、神经管闭合缺陷、视 网膜退行性病变、感觉神经性耳聋/嗅觉缺失、代 谢综合征及骨骼发育障碍等^[3]。斑马鱼(zebrafish) 凭借其胚胎透明、发育快速、基因与人类高度保 守等优势,已成为研究人类疾病,尤其是纤毛相关 疾病的理想模式生物。

1 人类纤毛与斑马鱼纤毛

纤毛的结构由基体、过渡区和轴丝(axoneme) 三个基础部分组成,且被细胞膜覆盖。其中轴丝是 纤毛的核心结构,通常由9组对称分布的外周双微管 组成。在人类胚胎发育早期的节点(Node)存在一类 特殊的"9+0"运动型纤毛,亦称为"节纤毛",相当于 斑马鱼库普弗囊泡(Kupffer vesicle, KV)结构, 节纤 毛兼具运动和信号转导功能,在早期胚胎发育左右 不对称模式发育有重要作用^[4]。纤毛的形成和功能 普遍依赖于鞭毛内转运(intraflagellar transport, IFT), IFT是一种多蛋白复合物,参与沿轴丝的纤毛运输。 纤毛本身不合成任何蛋白质,所有纤毛蛋白质均在 细胞质中合成,并通过顺行性IFT(anterograde IFT)经 纤毛过渡区(transition zone, TZ)转运至纤毛, TZ将细 胞质与纤毛轴丝分开,而纤毛中的蛋白则通过逆行 性IFT(retrograde IFT)转运回细胞质^[5-6]。过渡区则 由至少三个蛋白功能模块组成,这些模块通过TZ的 分子组装和门控的相互作用来限制囊泡和膜蛋白的 讲出[7]。

斑马鱼作为研究人类纤毛病的疾病模型有很 多优势,包括快速发育、高繁殖力、胚胎透明,与人 类基因组有87%的相似性,超过82%的人类致病基 因在斑马鱼中具有同源物等^[8]。纤毛几乎存在于斑 马鱼所有细胞中,且斑马鱼纤毛的类型和结构也多 种多样,分布在肾导管、耳囊、脑室、嗅觉器官等 多种器官中。此外,通过将γ-微管蛋白和乙酰化α-微管蛋白与特异性抗体相结合将斑马鱼纤毛可视化 以便观察^[9]。斑马鱼模型可以通过大规模诱变筛选 获得,比如利用TALEN、CRISPR/Cas9编辑,或Morpholino敲降等技术模拟人类纤毛病表型^[10-12]。

Hedgehog信号通路是纤毛中十分重要的机制 (图1),在纤毛介导的Hh(Hedgehog)信号通路中,初 级纤毛作为信号枢纽发挥核心作用。当Hh信号未 激活时,跨膜受体PTCH通过IFT-A复合体介导的逆 行运输定位于纤毛膜,抑制 SMO蛋白向纤毛的转 运。此时,细胞质中的SUFU蛋白通过与Gli转录因 子结合,抑制其活性并促进蛋白酶体对其降解。同 时,蛋白激酶A(protein kinase A, PKA)通过磷酸化 Gli蛋白,进一步促使其形成抑制性构象(即Gli Rep) 或加剧降解(即Gli degradation)。当Hh配体与纤毛膜 上的PTCH结合后, PTCH通过IFT-A复合体的逆行运 输被移出纤毛,解除对SMO的抑制。IFT-B复合体随 即介导SMO蛋白沿纤毛轴丝微管的顺行运输,使其 富集于纤毛膜并激活下游信号。活化的SMO通过未 知机制解除SUFU对Gli的束缚,促使Gli蛋白的激活 形式(即Gli act)从纤毛基部释放进入细胞质, 最终转 运至细胞核调控靶基因转录。值得注意的是, PKA 对Gli的磷酸化修饰可能通过改变其与IFT运输复合 体的相互作用,动态调控Gli在纤毛与胞质间的定位 及稳定性。

人类与斑马鱼的纤毛在Hh信号通路中既有共同点也存在显著差异。在共同点上,首先,两者均依赖纤毛作为Hh信号转导的核心平台,例如Iguana/DZIP1蛋白在斑马鱼和人类中均通过促进纤毛 生成调控Hh活性,且Gli转录因子的定位与功能需依 赖纤毛结构^[13-14]。其次,二者的核心组分(如Smoothened/SMO、Gli转录因子、PTCH受体)在两种物种 中高度保守。在不同点方面,斑马鱼的Hh信号活性 在纤毛缺失时可以部分维持(如*IFT88*突变体缺乏纤 毛,但Hh靶基因*ptch2*的表达仅被轻度抑制,且*Gli1* 表达不完全依赖Hh信号)^[15-16],但是在人类中,纤毛 缺失会完全阻断Hh信号转导。此外,斑马鱼可能存 在不依赖纤毛的Hh信号旁路。例如,斑马鱼*iguana* 突变体虽缺乏纤毛,但其胚胎发育缺陷与Hh信号缺



在纤毛依赖性信号传递中,当Hh信号未与纤毛膜表面蛋白PTCH结合时,PTCH通过纤毛内运输机制维持纤毛定位,同时抑制SMO蛋白向纤毛的转运。此时细胞内SUFU蛋白通过结合Gli蛋白形成复合物,抑制其转录活性。PKA通过磷酸化修饰促使部分Gli蛋白转化为抑制性构象(Gli Rep)或启动蛋白酶体介导的降解途径(Gli degradation)。Hh配体与纤毛膜PTCH结合可引发PTCH离开纤毛,解除其对SMO蛋白的转运抑制。SMO通过顺向纤毛运输进入纤毛结构并被激活,该过程打破SUFU-Gli复合物的稳定性。释放的Gli蛋白形成激活形式(Gli act),其通过核定位信号转位至细胞核内调控靶基因转录,在此激活过程中,PKA对Gli蛋白的磷酸化修饰水平降低,进一步保障Gli act的稳定性与功能发挥。在整个Hh信号通路中,IFT-A和IFT-B复合体作为IFT蛋白的核心组成部分,负责在纤毛内双向运输结构和信号分子,其中IFT-A在膜蛋白的纤毛导入及逆行运输中起关键作用^[6],而IFT-B复合体则构成多聚物的骨架结构^[70]。

In cilium-dependent signalling, when Hh signals do not bind to the cilia membrane surface protein PTCH, PTCH maintains cilia localisation via an internal transport mechanism, thereby inhibiting the transport of SMO protein to the cilia. The intracellular SUFU protein then forms a complex with the Gli proteins, thereby inhibiting their transcriptional activity. PKA promotes the phosphorylation of some Gli proteins, converting them into an inhibitory conformation (Gli Rep) or initiating proteasome-mediated degradation pathways (Gli degradation). When the Hh ligand binds to PTCH on the ciliary membrane, PTCH leaves the cilia and releases the inhibition on SMO protein transport. SMO then enters the ciliary structure via anterograde ciliary transport, where it is activated. This process disrupts the stability of the SUFU-Gli complex. The released Gli proteins then form an active form (Gli act), which is translocated to the cell nucleus via a nuclear localisation signal, where it regulates target gene transcription. During this activated form of Gli. Throughout the Hh signalling pathway, the IFT-A and IFT-B complexes are responsible for the bidirectional transport of structural and signalling molecules within cilia, as core components of IFT proteins. IFT-A plays a key role in the import of membrane proteins into the cilia and their retrograde transport ^[6], while the IFT-B complex forms the polymeric skeletal structure^[70].

图1 Hedgehog信号通路 Fig.1 Hedgehog signaling pathway

陷的表型并不完全重叠,提示其他补偿机制存在^[17], 而人类Hh信号则高度依赖纤毛。在分子调控细节 方面,斑马鱼的Gli1部分独立于Hh信号而激活,而人 类Gli1完全依赖Hh信号^[15]。在疾病研究方面,由于 斑马鱼中部分Hh信号活性不依赖纤毛,可能导致其 与人类疾病表型存在差异,如斑马鱼kif7突变体仅表 现为脊柱侧弯,而人类KIF7突变会导致更广泛的纤 毛病表型^[18]。但毫无疑问,利用斑马鱼作为模式动 物进行实验性研究,再通过人类模型验证靶点的临 床相关性,二者结合,可为理解纤毛病提供更多维、 更科学的研究平台。

2 基于斑马鱼模型的纤毛病新型技术研 究进展

2.1 基因编辑技术在以斑马鱼为模型的纤毛病的 运用

斑马鱼因其具有高度保守的基因组特性、胚 胎透明、便于操作等优势, 被广泛用作基因编辑的 模式生物;其通过敲除或引入纤毛相关基因,可用 于模拟人类疾病和研究该疾病的进展机制。例如, 靶向敲除纤毛功能相关基因(如ALMS1、IFT88)可 高效构建纤毛病突变体模型,用以探究纤毛功能障 碍与表型变化之间的关系。已有研究构建了斑马 鱼nphp1-4-8模块基因的突变体,揭示了纤毛缺陷 与肾脏发育异常之间的密切联系[19]。近年来,利用 CRISPR/Cas9技术成功构建斑马鱼pgrip11基因的突 变体,为研究纤毛病相关基因突变与脊柱侧弯等发 育异常之间的关联提供了新的工具^[20]。结合基因 编辑与活体成像技术,可实现对活体中纤毛动态(如 纤毛长度、摆动频率等)的实时可视化。例如,研究 者发现斑马鱼Nphp3的N末端截短肽可作为新型纤 毛特异性标记工具,该短肽无需依赖完整蛋白即可 实现精准定位,有效避免了传统标记方法因过表达 全长蛋白(如ARL13b和5HT)引发的纤毛功能干扰。 在此基础上,稳定表达纤毛标记的转基因斑马鱼品 系(如Tg)的建立,进一步推动了体内纤毛动力学研 究的深入^[9]。在该研究领域,基因编辑的精确性^[21]、 多重基因组编辑策略[22]以及基因组可编辑范围拓 展技术[23],均为近年来的研究热点。然而,基因编 辑技术仍然存在一定局限性。例如,在基因敲除技 术方面,吗啉代寡核苷酸(Morpholino, MO)虽然在 早期被广泛用于基因敲除研究,但其潜在的脱靶效 应以及与基因突变体所呈现表型之间的不一致性, 已引发学界广泛关注。以nphp1-4-8模块为例,研究 发现MO敲除与基因突变体之间的表型差异可能影 响结果的可靠性^[24]。针对上述问题, CRISPR干扰技 术(CRISPR interference, CRISPRi)作为一种新兴的 基因敲除方式,凭借其更高的特异性和可控性,正 逐步成为更加主流且被广泛认可的基因功能研究 工具[25]。

2.2 单细胞测序技术在以斑马鱼为模型的纤毛病 的运用

在斑马鱼的单个细胞的水平上,对基因组、转 录组进行测序分析的技术,可以解析纤毛相关细胞 异质性。如在视网膜再生研究中,单细胞RNA测序 (scRNA-seq)被用于分析斑马鱼视网膜中穆勒胶质 细胞、祖细胞及再生神经元的分子动态,揭示了纤 毛病中视网膜退化的潜在机制^[26]。相似地,在内耳 毛细胞再生研究中, 通过 scRNA-seq揭示了斑马鱼 毛细胞再生过程中转录模块的时序激活,为纤毛病 中感觉细胞损伤修复提供了分子基础[27]。在纤毛病 相关肝脏纤维化的疾病研究中,斑马鱼单细胞转录 组分析为纤毛病相关器官纤维化提供了细胞类型特 异性标志物及信号通路[28]。近些年,单细胞测序技 术也运用到了药物靶点研究方向,例如,研究者对斑 马鱼肠道细胞进行了单细胞RNA测序,以揭示双酚 类似物暴露后肠道细胞的异质性响应。通过这种方 法,能够识别出不同细胞类型对双酚类似物暴露的 特定转录变化,从而深入了解这些化学物质如何通 过影响肠道细胞的代谢途径来诱导代谢效应[29]。然 而,单细胞测序技术也存在不足,测序本身缺乏空间 定位信息,无法直接关联特定细胞状态与其在组织 中的三维位置或微环境相互作用,而纤毛功能的异 常常与特定区域的细胞空间分布密切相关,这种空 间解析能力的缺失限制了病理机制的全面解析。在 近年的研究中,将单细胞测序技术与空间转录组学 (spatially resolved transcriptomics)结合, 以达到在斑 马鱼中对mRNA的空间定位^[30]。

2.3 类器官模型技术协同斑马鱼模型在纤毛病的 应用

类器官(如肾脏、视网膜、肝脏和气道类器官) 通过模拟人类组织的三维结构和功能,为纤毛病的 疾病机制研究提供了高度还原的体外模型。在以斑 马鱼为模式动物的相关研究中,可以协同运用,提 高纤毛病的研究可靠性。例如,*KR4S*突变引起的淋 巴水肿在斑马鱼和肠道类器官中均被MEK抑制剂 显著缓解,证实跨物种治疗潜力^[31]。还有,在视网膜 纤毛病研究中,类器官揭示的CXCR4信号通路异常 通过斑马鱼模型进一步验证,发现两者在神经节细 胞减少和光感受器排列紊乱表型上的一致性^[32]。然 而,类器官技术也存在不足,其难以模仿机体内环境 复杂的相互作用机制,缺乏体内血管化、神经支配 及免疫细胞浸润等系统性调控,静态培养环境下无 法复现体内血流、机械应力(如肠道蠕动)等动态刺 激^[33]。近年来,人工智能技术与类器官研究的深度 融合为领域发展注入新动能。通过构建智能化筛选 平台,研究者可系统优化类器官培养体系参数,结合 深度学习算法对高分辨率多维影像数据进行实时解 析,同时整合基因组学、转录组学及代谢组学等多 维度数据构建高通量分析平台^[34]。

3 斑马鱼模型解析不同类型纤毛病

斑马鱼作为一种模式生物,因其胚胎透明、体 外发育和基因操作便利等优点,已成为研究纤毛病 分子机制的重要工具。本段将从不同器官系统受累 的角度,系统阐述斑马鱼模型在纤毛病研究中的重 要突破性发现。由于几乎所有组织和器官都存在纤 毛,其结构或功能的损害可能导致大量的表型,从 单个器官损伤到复杂的全身性疾病。截至目前已 经确定了许多的纤毛病综合征,包括原发性纤毛运 动障碍(primary ciliary dyskinesia, PCD)、多囊肾病 (polycystic kidney disease, PKD)、肾消耗病(nephronophthisis, NPHP)、口面指综合征(oral-facial-digital syndrome, OFD)、Ellis-Van Creveld综合征(Ellis-Van Creveld syndrome, EVC)、Sensenbrenner综合征、 Bardet-Biedl综合征(Bardet-Biedl syndrome, BBS)、 Joubert综合征(Joubert syndrome, JBTS)、MeckelGruber综合征 (Meckel-Gruber syndrome, MKS)、 Senior-Loken综合征 (Senior-Loken syndrome, SLS)、 Alagille综合征等。其中许多基因的突变导致斑马 鱼出现多种表型,包括体曲、肾囊肿、视网膜变性、 脑积水和偏侧性缺陷等,我们将总结通过研究斑马 鱼的人类纤毛病而取得的最新发现。

3.1 斑马鱼与原发性纤毛运动障碍

原发性纤毛运动障碍(PCD)是一种常染色体隐 性遗传病,其特征在于与运动性纤毛功能异常相关 的呼吸道反复感染、鼻窦炎、听力障碍和不育^[35], 大约有42%的PCD患者表现出内脏异位^[36-37]。目前 已发现大约有50种突变将导致PCD,且大多数人类 PCD基因的斑马鱼突变体表现出了如体轴弯曲、内 脏异位、肾囊肿和左右模式缺陷等(表1)纤毛病样 表型^[38]。

斑马鱼是验证PCD分子基础的成熟模型,在斑马鱼发育过程中,胚胎受精后11~13 hpf(即斑马鱼 受精卵受精后小时数, hour post-fertilization)即可在 KV中观察到运动纤毛,该结构相当于人类纤毛左 右组织者区域(local recipient organizations, LRO)中 的"节点",数小时后,也可在其他部位观察到纤毛, 包括肾管和脑室。影响纤毛组装或功能的基因突 变通常会导致发育中的胚胎出现特征性的体轴弯 曲、脑积水等表型^[39]。

内脏异位综合征(heterotaxy syndrome, HTX)是

table 1 ratiogenic genes of numan cillosis in Zedransh models					
分组	相关疾病	基因	斑马鱼模型	斑马鱼表型	参考文献
Group	Ciliopathy	Gene	Zebrafish models	Zebrafish phenotype	References
Motile ciliary	PCD	DNAHP9, NME5 DNAH6,	CRISPR/Cas9, MO	Abnormal cardiac circulation,	[71-74]
Dysfunction	HTX	CCDC151		body axis curvature, left-right	
				mode defect, abnormal ciliary	
				beating, pericardial edema, renal cysts	
Renal ciliopa-	PKD	PKD1, PKD2, NPHP1-9	CRISPR/Cas9, MO	Renal cysts, body axis curva-	[24,39-40,42,44-
thies	NPHP			ture, hydrocephalus	45]
Skeletal cil-	SRPS	IFT52, IFT80, IFT140	CRISPR/Cas9, MO	Body axis curvature, otolith	[57,61,75-78]
iopathies	TIS (thoracic	IFT172		defect, gastrulation defect,	
	insufficiency			situs inversus/heterotaxy, situs	
	syndrome)			inversus, heterotaxy, pronephric	
	CED			cysts	
	MZSD				
Retinal ciliopa-	BBS	BBS1, BBS10, CEP290,	CRISPR/Cas9, MO	Photoreceptor degeneration,	[7,69]
thies	MKS	BBS14, MKS1 (BBS13)		retinal degeneration, body axis	[79-81]
	JBTS			curvature, renal cysts, pericar-	
				dial edema	

表1 斑马鱼模型中的人类纤毛病致病基因

一种影响多个器官系统的复杂遗传性疾病,表现为 沿身体左右轴胸腹器官排列异常如先天性心脏缺 陷、肠旋转异常、纤毛运动功能障碍等^[40]。其发病 机制包括胚胎早期发育左右不对称模式信号紊乱, 涉及运动和非运动纤毛。当纤毛运动功能障碍和/或 编码纤毛外动力蛋白臂(outer dynein arm, ODA)结构 基因突变时,左右不对称模式发育被打乱,则会导致 内脏异位综合征^[40]。

针对ccdc141在纤毛中心体的定位特征,研究者 通过斑马鱼模型系统探讨了该基因在左右体轴发育 及纤毛相关病理中的作用机制。利用CRISPR/Cas9 技术构建的ccdc141基因全敲除(ccdc141--)斑马鱼模 型,验证ccdc141基因在左右不对称发育及纤毛形成 和内脏异位的作用时发现, ccdc141--表现出与WT型 斑马鱼相同的表型。然而,通过吗啉寡核苷酸(MO) 介导的基因敲降实验却观察到典型的纤毛病表型, 如心包水肿、体轴弯曲异常及心脏循环异常等[41]。 这种基因敲除与敲降模型间的表型异质性提示,在 ccdc141完全敲除条件下可能存在遗传补偿效应(genetic compensation response, GCR)。GCR作为近年 来在斑马鱼研究中揭示的重要遗传调控机制,特指 当敲降某一个基因时有明显的表型,但此基因的敲 除遗传突变体中由于其他相关基因的代偿性表达上 调,从而弥补目标基因缺失的功能缺陷。该现象的 发现为解析基因敲降与敲除模型间的表型差异提供 了新的分子解释框架。值得注意的是, PCD研究中 揭示的GCR不仅为表型异质性提供了新的解释,也 为后续多系统纤毛病的研究奠定了基础。这种代偿 机制可能在其他纤毛病中广泛存在,成为表型复杂 性的潜在调控因素。

3.2 斑马鱼与肾脏系统受累为主的纤毛病

继PCD研究揭示了纤毛运动功能的核心作用 后,肾脏作为最常受到纤毛病影响的器官之一,其病 理机制的研究进一步凸显了初级纤毛在信号转导中 的多重功能。几乎所有纤毛病都有肾脏疾病这个 共同点,肾脏系统受累为主的纤毛病是一组以肾炎、 囊性肾脏或肾囊性不典型增生为特征的疾病,统称 为肾纤毛病^[42]。其潜在的疾病发病机制与原发性纤 毛复合体的异常结构或功能有关,根据其特征性的 肾脏病理状态进行分类,包括多囊肾病(PKD)和肾 消耗病(NPHP)^[42-43]。斑马鱼和哺乳动物肾脏之间 存在密切的功能类比,斑马鱼是肾纤毛病的理想模 型^[44]。对斑马鱼的纤毛病相关肾脏表型建模,并在 有情况的条件下敲除,敲降这些基因会导致肾脏囊 性病变^[45]。

PKD是人类最常见的单基因疾病之一,其特征 是肾脏内异常积液或囊肿的形成。PKD按遗传方式 可分为常染色体显性多囊肾病(ADPKD)和常染色 体隐性多囊肾病(ARPKD), 其中ADPKD是最常见的 遗传性肾纤毛病,大多数表现为PKD1和PKD2基因 功能缺失引起的进行性肾囊肿和部分肾外表型。斑 马鱼具有人类PKD1的两个同源基因,即pkd1a和pkdlb。注射MO敲降这两个基因会导致体轴弯曲、脑 积水、软骨及颅骨缺损^[46]。也有文献表明pkd1a和 pkd1b的共同敲降将导致更严重的背侧体轴弯曲与 肾囊肿,说明pkdla和pkdlb基因具有重叠和冗余功 能^[47]。而人类PKD2是一种六道跨膜蛋白,与PKD1 形成复合物,并定位于初级纤毛上。斑马鱼pkd2在 原肾中富集,利用MO技术敲低斑马鱼胚胎中pkd2导 致肾囊肿和体轴弯曲,且利用了wtlb:EGFP转基因 鱼系定量分析发现体轴弯曲的严重程度与肾囊肿大 小之间存在强相关性^[48]。有研究利用CRISPR/Cas9 敲低pkd2,同样观察到肾囊肿和体轴弯曲的表型^[49]。 MO敲低可能具有脱靶效应,相较而言,CRISPR/Cas9 比MO更具特异性。

NPHP是一种常染色体隐性遗传性囊性肾病, 表现为慢性肾小管间质性肾炎,最终进展成终末 期肾病(end stage renal disease, ESRD)^[50]。迄今为 止,至少有20多个与NPHP相关的基因,有研究发现 NPHP蛋白模块定位于纤毛过渡区,利用MO敲低斑 马鱼同源物*nphp3*发现斑马鱼胚胎显示出脑积水和 前肾囊肿^[51]。TOBIAS等^[52]发现NPHP5和NPHP6蛋 白相互作用形成复合物并定位于中心体,敲除斑马 鱼*nphp5/6*会导致体轴弯曲、大脑异常和肾囊肿等 典型纤毛病样表型。

肾脏纤毛病的研究不仅揭示了囊性病变的分 子基础,还为探索其他系统(例如骨骼和视网膜)中 纤毛信号通路的相互作用提供了重要线索。

3.3 斑马鱼与骨骼系统受累为主的纤毛病

肾脏研究的重点在于纤毛的结构与功能,而对 骨骼系统的探索则揭示了纤毛在发育时序调控中 的关键作用。这一发现将纤毛相关疾病的机制研 究从静态的结构异常转变为动态信号网络的不平 衡。纤毛在包括骨骼在内的许多重要器官的胚胎和 发育中发挥关键作用,纤毛功能对于成骨细胞、骨 细胞、软骨细胞及其祖细胞的分化至关重要,在全 身和局部因子的严格调控下维持骨软骨的发育和 稳态。如前所述,顺行性IFT复合物B由至少14种 蛋白质(IFT172、IFT88、IFT81、IFT80、IFT74、 IFT70、IFT57、IFT54、IFT52、IFT46、IFT27、 IFT25、IFT22和IFT20)组成,与驱动蛋白马达(KI-F3A、KIF3B和KAP3)结合^[53]。而纤毛中的蛋白则 通过逆行性IFT转运回细胞质,IFT逆转运复合物A 由6种IFT蛋白(IFT144、IFT140、IFT139、IFT122、 IFT121和IFT43)组成,由动力蛋白马达(DYNC2H1 和DYNC2L1)介导。骨骼纤毛病的遗传基础涉及纤 毛的结构和调节蛋白,所以该组的许多致病基因多 集中在IFT蛋白。

迄今为止,纤毛病的骨骼表型已在许多病例中 被报道,2019年国际骨骼发育不良学会疾病学委员 会(Nosology Committee of the International Skeletal Dysplasia Society)对461种骨骼疾病进行分组,其 中第九组为受影响的细胞功能即骨骼纤毛病,包 括短肋多指综合征(short-rib polydactyly syndrome, SRPS)、窒息性胸骨发育不良综合征(Jeune syndrome, JS)、颅外胚层发育不良(cranioectodermal dysplasia, CED)、短肋胸廓发育不良伴或不伴多指 综合征9型(Mainzer-Saldino syndrome, MZSD)、口 面指综合征4型(orofaciodigital syndrome type IV, OFD4)等^[54],骨骼纤毛病具有类似的临床和放射学 特征,其特征性表型包括胸廓发育不全伴呼吸功能 不全、脊柱侧弯、肋骨及四肢短、可能伴有多指畸 形等。骨骼纤毛病通常伴有非骨骼相关表型,包括 肾脏异常、内脏异位、视网膜病变、肝脏疾病、中 枢神经系统异常等[55]。

目前已发现30多个基因突变与骨骼纤毛病相关,且新的候选基因仍然继续被发现。在目前现有的骨骼纤毛病斑马鱼模型中,*IFT46、IFT52、IFT80、IFT81、IFT172*等基因通过RNA注射、MO敲降技术、ENU诱变、CRISPR/Cas9突变获得相应的斑马鱼模型,其中*IFT80*突变是第一个被发现的与人类JATD骨骼纤毛功能缺陷相关的基因,注射*ift80*-MO的胚胎有腹侧尾曲、眼睛略小、心包水肿和肾囊肿和光感受器退化等表型^[56-57]。*Ift52*突变已在CED和SRPS等多种骨骼纤毛病中均报道过^[58-59]。受*IFT52*突变相关影响的个体表现出胸部狭窄、四肢

1701

短小、牙列缺损、皮肤松弛、毛发稀疏和面部畸形, 同时观察到了非骨骼相关的纤毛病表型如头部细 长(多头畸形)、肾病、肝纤维化、视网膜变性和脑 发育迟缓等症状^[59-60]。CRISPR/Cas9介导的斑马鱼 *ift52*突变会导致一系列的纤毛病表型,尤其是体轴 弯曲、肾前囊肿、心脏异位、视网膜变性和耳石缺 陷^[61]。DYNC2H1基因突变是骨骼纤毛病最常见的 原因之一,但目前未有相关的斑马鱼品系建立研究。 IFT172是MZSDS的致病基因,MO斑马鱼敲除*ift172* 模型可导致耳石缺损、腹侧体轴弯曲和软骨缺失^[62]。

骨骼纤毛病呈现显著的遗传异质性特征,这种 表型重叠的本质,即纤毛功能网络的整体性破坏,与 在原发性纤毛功能障碍(primary ciliary dyskinesia, PCD)中发现的基因调控机制相呼应。其基因型-表型相关性存在多维复杂性:首先,同一致病基因 的特定变异可引发不同器官系统的表型差异,如 纤毛相关转录因子的剂量效应差异可能导致骨骼 发育异常程度的分级表现;其次,不同基因的突变 通过影响纤毛信号转导的共同通路,可能产生相 似的临床综合征。这种表型重叠现象在 SRPS和 JS 中尤为典型——IFT80(编码纤毛内运输复合体B 组分)与DYNC2H1(编码细胞质动力蛋白重链2)的 突变均可导致这两种疾病的发生。值得注意的是, IFT80通过调控Hedgehog信号转导影响软骨分化,而 DYNC2H1作为逆向运输马达蛋白则参与纤毛结构 维持, 二者虽作用于纤毛系统的不同环节, 但最终均 通过破坏骨骼发育的时空协调性引发胸廓畸形、短 肢等共同表型。这种分子机制层面的"殊途同归"现 象,揭示了骨骼纤毛病表型重叠的本质在于纤毛功 能网络的整体性破坏。

3.4 斑马鱼与视网膜受累为主的纤毛病

从骨骼发育的时空协调性转向感觉器官的精密调控,视网膜纤毛病的研究进一步扩展了纤毛功能的边界。光感受器纤毛的特化提示了同一细胞器在不同组织中的功能可以展现出高度的异质性。视网膜纤毛病是由光感受器纤毛相关形态和功能障碍引起的一组遗传性视网膜变性疾病,可分为单纯型和综合征型^[63]。视网膜变性是单器官纤毛病的一个很好的例子,因为光感受器的外段(outer segment, OS)是高度修饰特化的初级纤毛,其特定视网膜纤毛基因突变导致孤立的非综合征性视网膜色素变性,包括视网膜色素变性、先天性黑蒙症等疾病,而

视网膜色素变性也是综合征纤毛病的常见特征,综合征纤毛病通常具有广泛的临床表型谱,涉及眼睛、肾脏、心脏、骨骼、肝脏、中枢神经系统、脂肪组织和性腺等器官,根据这些器官的临床特征,该类综合征包括BBS、MKS、JBTS、Senior-Loken综合征(Senior-Loken syndrome, SLS)等疾病。

斑马鱼是研究纤毛病眼部表型的理想模型。斑 马鱼视网膜层压良好,受精后11.5 hpf出现眼睛形状, 48 hpf出现特征性亚细胞结构,50 hpf可观察到内部 连接纤毛和锥体的内节(inner segment, IS),54 hpf时 可观察到锥体外段(OS),72 hpf对视觉刺激有反应, 此时视网膜和晶状体的形态解剖学结构和功能与人 类非常相似^[64]。

BBS综合征是一种以视网膜变性为特征的常染 色体隐性纤毛病,但与肾功能障碍、肥胖、多指畸 形、认知功能障碍和生殖器功能减退等表型有关[65]。 迄今为止,已鉴定超过20多个基因(BBS1~BBS24)与 BBS有关,其中8个BBS蛋白(BBS1、BBS2、BBS4、 BBS5、BBS7、BBS8、BBS9、BBS18)形成一个 BBSome的复合体^[66-67],参与向纤毛的囊泡运输。 BBS2是编码BBSome的核心蛋白,他通过光感受器 纤毛运输蛋白所需的八聚体蛋白复合物。在斑马 鱼中, bbs2突变体幼鱼在5 dpf表现出视觉功能受损 和缩短且杂乱的感光器外段,视杆细胞和视锥感受 器退化,而在成鱼中视锥细胞出现视紫红质定位异 常^[68]。bbs1突变体幼鱼在受精后5 dpf表现出典型的 纤毛病表型,如体轴弯曲、肾囊肿以及内脏异位,且 在突变体成鱼中逐渐观察到了脊柱弯曲。最初视网 膜层压和形态正常,在5 dpf时出现视力受损,视网膜 电图(electro-retinogram, ERG)振幅下降, 在10 dpf时 突变体OS严重缩短且畸形^[69]。

4 总结与展望

斑马鱼因其胚胎透明、发育迅速、基因组高度 保守,以及纤毛类型及功能与人类的高度相似性,已 成为纤毛病研究的核心模式生物。在纤毛结构解析、 信号通路调控、疾病表型模拟以及遗传机制探索等 方面,斑马鱼展现出独特的优势。借助基因编辑、 单细胞测序和类器官等协同技术,斑马鱼模型在原 发性纤毛运动障碍、肾纤毛病、骨骼纤毛病和视网 膜纤毛病等多种纤毛相关疾病的研究中取得了突破 性进展,这些不仅揭示了纤毛病的分子病理机制,还 为靶向治疗策略的开发提供了重要依据。例如,斑 马鱼模型在验证致病基因突变与临床表型之间的关 联、解析潜在的遗传补偿效应以及探索跨物种的治 疗等方面均具有重要价值和应用前景。

然而,要进一步推动该领域的发展,仍需突破 现有技术瓶颈。尽管CRISPR/Cas9技术已显著提升 了基因编辑的效率与精确性,但其潜在的脱靶效应 和遗传补偿效应仍可能干扰表型的准确解析;单细 胞测序虽然能够揭示细胞的异质性,但由于缺乏空 间定位信息,限制了对纤毛微环境与其病理关联的 深入探索;类器官模型能够模拟组织的三维结构,却 难以全面复现体内的动态调控网络。因此,未来应 重点发展高保真的基因编辑工具、整合空间定位技 术与活体成像技术,以及开发能够模拟机械应力和 血流动力学的动态培养系统,从而更全面、真实地 还原纤毛病的生理与病理过程。此外,多组学整合 将成为深入解析纤毛功能网络研究的关键路径。通 过融合基因组、表观组、转录组、蛋白质组及代谢 组信息,可系统解析纤毛相关信号通路的时空动态 调控,进一步揭示纤毛病的核心分子枢纽及代偿通 路,为精确治疗提供理论依据。

跨物种验证体系的建立对于推动基础研究向临床转化具有重要意义。尽管斑马鱼结构与功能上与人类高度相似,但二者在Hedgehog信号依赖性、基因冗余程度及表型外显度等方面仍存在差异。未来应结合小鼠、类器官及人类患者数据,构建多层次、互补性的验证平台,以更准确地评估潜在治疗靶点的临床价值,并优化相关治疗策略。

参考文献 (References)

- REITER J F, LEROUX M R. Genes and molecular pathways underpinning ciliopathies [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2017, 18(9): 533-47.
- [2] WHEWAY G, NAZLAMOVA L, HANCOCK J T. Signaling through the primary cilium [J]. Front Cell Dev Biol, 2018, 6: 8.
- [3] HILDEBRANDT F, BENZING T, KATSANIS N. Ciliopathies[J]. N Engl J Med, 2011, 364(16): 1533-43.
- [4] HIROKAWA N, TANAKA Y, OKADA Y, et al. Nodal flow and the generation of left-right asymmetry [J]. Cell, 2006, 125(1): 33-45.
- [5] MELEPPATTU S, ZHOU H, DAI J, et al. Mechanism of IFT-A polymerization into trains for ciliary transport [J]. Cell, 2022, 185(26): 4986-98,e12.
- [6] NACHURY M V. The gymnastics of intraflagellar transport complexes keeps trains running inside cilia [J]. Cell, 2022, 185(26): 4863-5.

- [7] WANG J, THOMAS H R, THOMPSON R G, et al. Variable phenotypes and penetrance between and within different zebrafish ciliary transition zone mutants [J]. Dis Model Mech, 2022, 15(12): dmm049568.
- [8] HOWE K, CLARK M D, TORROJA C F, et al. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome [J]. Nature, 2013, 496(7446): 498-503.
- [9] ZHANG H, HUANG Z, LÜ L, et al. A transgenic zebrafish for *in vivo* visualization of cilia [J]. Open Biol, 2022, 12(8): 220104.
- [10] EPTING D, DECKER E, OTT E, et al. The ciliary transition zone protein TMEM218 synergistically interacts with the NPHP module and its reduced dosage leads to a wide range of syndromic ciliopathies [J]. Hum Mol Genet, 2022, 31(14): 2295-306.
- [11] CHRYSTAL P W, LAMBACHER N J, DOUCETTE L P, et al. The inner junction protein CFAP20 functions in motile and nonmotile cilia and is critical for vision [J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 6595.
- [12] ZHU P, QIU Q, HARRIS P C, et al.Mtor haploinsufficiency ameliorates renal cysts and cilia abnormality in adult zebrafish tmem67 mutants [J]. J Am Soc Nephrol, 2021, 32(4): 822-36.
- [13] GLAZER A M, WILKINSON A W, BACKER C B, et al. The Zn finger protein Iguana impacts Hedgehog signaling by promoting ciliogenesis [J]. Dev Biol, 2010, 337(1): 148-56.
- [14] KIM H R, RICHARDSON J, VAN EEDEN F, et al. Gli2a protein localization reveals a role for Iguana/DZIP1 in primary ciliogenesis and a dependence of Hedgehog signal transduction on primary cilia in the zebrafish [J]. BMC Biol, 2010, 8: 65.
- [15] HUANG P, SCHIER A F. Dampened Hedgehog signaling but normal Wnt signaling in zebrafish without cilia [J]. Development, 2009, 136(18): 3089-98.
- [16] LUNT S C, HAYNES T, PERKINS B D. Zebrafish ift57, ift88, and ift172 intraflagellar transport mutants disrupt cilia but do not affect hedgehog signaling [J]. Dev Dyn, 2009, 238(7): 1744-59.
- [17] TAY S Y, YU X, WONG K N, et al. The iguana/DZIP1 protein is a novel component of the ciliogenic pathway essential for axonemal biogenesis [J]. Dev Dyn, 2010, 239(2): 527-34.
- [18] TERHUNE E A, CUEVAS M T, MONLEY A M, et al. Mutations in KIF7 implicated in idiopathic scoliosis in humans and axial curvatures in zebrafish [J]. Hum Mutat, 2021, 42(4): 392-407.
- [19] LI Y, JIA Z, ZHANG S, et al. Progress in gene-editing technology of zebrafish [J]. Biomolecules, 2021, 11(9): 1300.
- [20] DJEBAR M, ANSELME I, PEZERON G, et al. Astrogliosis and neuroinflammation underlie scoliosis upon cilia dysfunction [J]. eLife, 2024, doi: 10.7554/eLife.96831.
- [21] PRYKHOZHIJ S V, BERMAN J N. Zebrafish knock-ins swim into the mainstream [J]. Dis Model Mech, 2018, doi: 10.1242/dmm.037515.
- [22] GUO S, GAO G, ZHANG C, et al. Multiplexed genome editing for efficient phenotypic screening in zebrafish [J]. Vet Sci, 2022, doi: 10.3390/vetsci9020092
- [23] LIU Y, LIANG F, DONG Z, et al. Genome editing in zebrafish by ScCas9 recognizing NNG PAM [J]. Cells, 2021, 10(8): 2099.
- [24] KAYSER N, ZAISER F, VEENSTRA A C, et al. Clock genes rescue NPHP mutations in zebrafish [J]. Hum Mol Genet, 2022, 31(24): 4143-58.
- [25] MANGHWAR H, LINDSEY K, ZHANG X, et al. CRISPR/Cas system: recent advances and future prospects for genome editing

[J]. Trends Plant Sci, 2019, 24(12): 1102-25.

- [26] CELOTTO L, ROST F, MACHATE A, et al. Single-cell RNA sequencing unravels the transcriptional network underlying zebrafish retina regeneration [J]. eLife, 2023, 12: RP86507.
- [27] BAEK S, TRAN N T T, DIAZ D C, et al. Single-cell transcriptome analysis reveals three sequential phases of gene expression during zebrafish sensory hair cell regeneration [J]. Dev Cell, 2022, 57(6): 799-819,e6.
- [28] MORRISON J K, DEROSSI C, ALTER I L, et al. Single-cell transcriptomics reveals conserved cell identities and fibrogenic phenotypes in zebrafish and human liver [J]. Hepatol Commun, 2022, 6(7): 1711-24.
- [29] MU X, QI S, WANG H, et al. Bisphenol analogues induced metabolic effects through eliciting intestinal cell heterogeneous response [J]. Environ Int, 2022, 165: 107287.
- [30] HOLLER K, NEUSCHULZ A, DREWE-BOSS P, et al. Spatiotemporal mRNA tracking in the early zebrafish embryo [J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 3358.
- [31] SHEPPARD S E, MARCH M E, SEILER C, et al. Lymphatic disorders caused by mosaic, activating KRAS variants respond to MEK inhibition [J]. JCI Insight, 2023, doi: 10.1172/jci.insight.155888.
- [32] WU Y, QIU J, CHEN S, et al. Comparison of the response to the CXCR4 antagonist AMD3100 during the development of retinal organoids derived from ES cells and zebrafish retina [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(13): 7088.
- [33] LOU Y R, LEUNG A W. Next generation organoids for biomedical research and applications [J]. Biotechnol Adv, 2018, 36(1): 132-49.
- [34] BAI L, WU Y, LI G, et al. AI-enabled organoids: construction, analysis, and application [J]. Bioact Mater, 2024, 31: 525-48.
- [35] RIMMER J, PATEL M, AGARWAL K, et al. Peripheral vestibular dysfunction in patients with primary ciliary dyskinesia: abnormal otoconial development [J]? Otol Neurotol, 2015, 36(4): 662-9.
- [36] RAIDT J, RIEPENHAUSEN S, PENNEKAMP P, et al. Analyses of 1 236 genotyped primary ciliary dyskinesia individuals identify regional clusters of distinct DNA variants and significant genotype-phenotype correlations [J]. Eur Respir J, 2024, 64(2): 2301769.
- [37] SHAMSELDIN H E, YAKULOV T A, HASHEM A, et al. ANKS3 is mutated in a family with autosomal recessive laterality defect [J]. Hum Genet, 2016, 135(11): 1233-9.
- [38] PINTO A L, RASTEIRO M, BOTA C, et al. Zebrafish motile cilia as a model for primary ciliary dyskinesia [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(16): 8361.
- [39] KRAMER-ZUCKER A G, OLALE F, HAYCRAFT C J, et al. Cilia-driven fluid flow in the zebrafish pronephros, brain and Kupffer's vesicle is required for normal organogenesis [J]. Development, 2005, 132(8): 1907-21.
- [40] SABA T G, GEDDES G C, WARE S M, et al. A multi-disciplinary, comprehensive approach to management of children with heterotaxy [J]. Orphanet J Rare Dis, 2022, 17(1): 351.
- [41] WANG P, SHI W, LIU S, et al. ccdc141 is required for left-right axis development by regulating cilia formation in the Kupffer's vesicle of zebrafish [J]. J Genet Genomics, 2024, 51(9): 934-46.
- [42] MCCONNACHIE D J, STOW J L, MALLETT A J. Ciliopathies

and the kidney: a review [J]. Am J Kidney Dis, 2021, 77(3): 410-9.

- [43] BARROSO-GIL M, OLINGER E, SAYER J A. Molecular genetics of renal ciliopathies [J]. Biochem Soc Trans, 2021, 49(3): 1205-20.
- [44] POUREETEZADI S J, WINGERT R A. Little fish, big catch: zebrafish as a model for kidney disease [J]. Kidney Int, 2016, 89(6): 1204-10.
- [45] TOBIN J L, BEALES P L. Restoration of renal function in zebrafish models of ciliopathies [J]. Pediatr Nephrol, 2008, 23(11): 2095-9.
- [46] MANGOS S, LAM P Y, ZHAO A, et al. The ADPKD genes PKD1a/b and PKD2 regulate extracellular matrix formation [J]. Dis Model Mech, 2010, 3(5-6): 354-65.
- [47] PADHY B, AMIR M, XIE J, et al. Leucine-rich repeat in polycystin-1 suppresses cystogenesis in a zebrafish (*Danio rerio*) nodel of autosomal-dominant polycystic kidney disease [J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(5): 2886.
- [48] ARIF PAVEL M, LÜ C, NG C, et al. Function and regulation of TRPP2 ion channel revealed by a gain-of-function mutant [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2016, 113(17): E2363-72.
- [49] LIU X, ZHANG R, FATEHI M, et al. Regulation of PKD2 channel function by TACAN [J]. J Physiol, 2023, 601(1): 83-98.
- [50] SALOMON R, SAUNIER S, NIAUDET P. Nephronophthisis [J]. Pediatr Nephrol, 2009, 24(12): 2333-44.
- [51] ZHOU W, DAI J, ATTANASIO M, et al. Nephrocystin-3 is required for ciliary function in zebrafish embryos [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2010, 299(1): F55-62.
- [52] SCHAFER T, PUTZ M, LIENKAMP S, et al. Genetic and physical interaction between the NPHP5 and NPHP6 gene products [J]. Hum Mol Genet, 2008, 17(23): 3655-62.
- [53] TASCHNER M, WEBER K, MOURAO A, et al. Intraflagellar transport proteins 172, 80, 57, 54, 38, and 20 form a stable tubulin-binding IFT-B2 complex [J]. EMBO J, 2016, 35(7): 773-90.
- [54] MORTIER G R, COHN D H, CORMIER-DAIRE V, et al. Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2019 revision [J]. Am J Med Genet A, 2019, 179(12): 2393-419.
- [55] HUBER C, CORMIER-DAIRE V. Ciliary disorder of the skeleton [J]. Am J Med Genet C Semin Med Genet, 2012, 160C(3): 165-74.
- [56] HUDAK L M, LUNT S, CHANG C H, et al. The intraflagellar transport protein IFT80 is essential for photoreceptor survival in a zebrafish model of jeune asphyxiating thoracic dystrophy [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2010, 51(7): 3792-9.
- [57] MORAN J, K G S, MAYNES J, et al. IFT80 mutations cause a novel complex ciliopathy phenotype with retinal degeneration [J]. Clin Genet, 2018, 94(3/4): 368-72.
- [58] ZHANG W, TAYLOR S P, NEVAREZ L, et al. IFT52 mutations destabilize anterograde complex assembly, disrupt ciliogenesis and result in short rib polydactyly syndrome [J]. Hum Mol Genet, 2016, 25(18): 4012-20.
- [59] CHEN X, WANG X, JIANG C, et al. IFT52 as a novel candidate for ciliopathies involving retinal degeneration [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2018, 59(11): 4581-9.
- [60] ISHIDA Y, TASAKI K, KATOH Y, et al. Molecular basis underlying the ciliary defects caused by IFT52 variations found in

skeletal ciliopathies [J]. Mol Biol Cell, 2022, 33(9): ar83.

- [61] 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): 2720-37.
- [62] 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): 915-25.
- [63] MOCKEL A, PERDOMO Y, STUTZMANN F, et al. Retinal dystrophy in Bardet-Biedl syndrome and related syndromic ciliopathies [J]. Prog Retin Eye Res, 2011, 30(4): 258-74.
- [64] RICHARDSON R, TRACEY-WHITE D, WEBSTER A, et al. The zebrafish eye: a paradigm for investigating human ocular genetics [J]. Eye, 2017, 31(1): 68-86.
- [65] DELVALLEE C, DOLLFUS H. Retinal degeneration animal models in Bardet-Biedl syndrome and related ciliopathies [J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2023, doi: 10.1101/cshperspect. a041303.
- [66] KLINK B U, GATSOGIANNIS C, HOFNAGEL O, et al. Structure of the human BBSome core complex [J]. eLife, 2020, doi: 10.7554/eLife.53910.
- [67] YANG S, BAHL K, CHOU H T, et al. Near-atomic structures of the BBsome reveal the basis for BBsome activation and binding to GPCR cargoes[J]. eLife, 2020, doi: 10.7554/eLife.55954.
- [68] SONG P, FOGERTY J, CIANCIOLO L T, et al. Cone photoreceptor degeneration and neuroinflammation in the zebrafish Bardet-Biedl syndrome 2 (bbs2) mutant does not lead to retinal regeneration [J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8: 578528.
- [69] MASEK M, ETARD C, HOFMANN C, et al. Loss of the Bardet-Biedl protein bbs1 alters photoreceptor outer segment protein and lipid composition [J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 1282.
- [70] PETRIMAN N A, LOUREIRO-LÓPEZ M, TASCHNER M, et al. Biochemically validated structural model of the 15-subunit intraflagellar transport complex IFT-B [J]. EMBO J, 2022, 41(24): e112440.
- [71] CHEN W, ZHANG Y, SHEN L, et al. Biallelic DNAH9 mutations are identified in chinese patients with defective left-right patterning and cilia-related complex congenital heart disease [J]. Hum Genet, 2022, 141(8): 1339-53.
- [72] CHO E H, HUH H J, JEONG I, et al. A nonsense variant in NME5 causes human primary ciliary dyskinesia with radial spoke defects [J]. Clin Genet, 2020, 98(1): 64-8.
- [73] LI Y, YAGI H, ONUOHA E O, et al. DNAH6 and its interactions with PCD genes in heterotaxy and primary ciliary dyskinesia [J]. PLoS Genet, 2016, 12(2): e1005821.
- [74] HJEIJ R, ONOUFRIADIS A, WATSON C M, et al. CCDC151 mutations cause primary ciliary dyskinesia by disruption of the outer dynein arm docking complex formation [J]. Am J Hum Genet, 2014, 95(3): 257-74.
- [75] BEALES P L, BLAND E, TOBIN J L, et al. IFT80, which encodes a conserved intraflagellar transport protein, is mutated in Jeune asphyxiating thoracic dystrophy [J]. Nat Genet, 2007, 39(6): 727-9.
- [76] BIZAOUI V, HUBER C, KOHAUT E, et al. Mutations in IFT80 cause SRPS type IV. report of two families and review [J]. Am J Med Genet A, 2019, 179(4): 639-44.
- [77] TSUJIKAWA M, MALICKI J. Intraflagellar transport genes are

essential for differentiation and survival of vertebrate sensory neurons [J]. Neuron, 2004, 42(5): 703-16.

- [78] 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.
- [79] KIM Y H, EPTING D, SLANCHEV K, et al. A complex of BBS1 and NPHP7 is required for cilia motility in zebrafish [J].

PLoS One, 2013, 8(9): e72549.

- [80] STOETZEL C, LAURIER V, DAVIS E E, et al. BBS10 encodes a vertebrate-specific chaperonin-like protein and is a major BBS locus [J]. Nat Genet, 2006, 38(5): 521-4.
- [81] RUSTERHOLZ T D S, HOFMANN C, BACHMANN-GAGES-CU R. Insights gained from zebrafish models for the ciliopathy Joubert syndrome [J]. Front Genet, 2022, 13: 939527.