

DOI: 10.13376/j.cbls/20240172

文章编号: 1004-0374(2024)11-1428-11

黏连蛋白及其调控因子对疾病发生的影响

张晶晶^{1#}, 佟琳^{1#}, 曹可新¹, 张政¹, 齐睿权¹, 魏杰¹, 楼慧强², 曹向宇^{1*}, 龚平^{3*}

(1 辽宁大学生命科学院, 沈阳 110036; 2 深圳大学医学部, 深圳 518073; 3 湖南省微生物研究院, 长沙 410009)

摘要: 遗传物质的准确传递是基因组维持稳定性的重要前提。遗传物质的传递主要包括染色体的复制和分离。姐妹染色单体黏连 (sister chromatid cohesion, SCC) 是保证复制生成的两条姐妹染色单体被均等地分配到两个子细胞的关键过程。SCC 过程中姐妹染色单体由黏连蛋白 (cohesin, Smc1-Smc3-Scc1-Scc3) 捆绑在一起。黏连蛋白及调控因子的突变往往导致癌症及“黏连病” (cohesinopathies)。黏连病是一类导致智力和发育障碍的罕见病。最常见的有德朗热综合征 (Cornelia de Lange syndrome, CdLS) 和罗伯茨综合征 (Roberts syndrome, RBS), 这两类患者的症状类似, 表现为面部畸形、发育迟缓, 并伴随多发畸形或肿瘤等。本文将简要概述黏连病的驱动基因突变及其分子调控机制的研究进展, 并在此基础上对黏连病的致病机理和临床研究进行展望。

关键词: 黏连病变; 黏连蛋白; 罗伯茨综合征; 德朗热综合征; 癌症

中图分类号: Q51; Q253; R73 **文献标志码:** A

The effects of cohesin and their regulatory factors on disease development

ZHANG Jing-Jing^{1#}, TONG Lin^{1#}, CAO Ke-Xin¹, ZHANG Zheng¹, QI Rui-Quan¹,

WEI Jie¹, LOU Hui-Qiang², CAO Xiang-Yu^{1*}, GONG Ping^{3*}

(1 School of Life Science, Liaoning University, Shenyang 110036, Chhina; 2 Medical School, Shenzhen University, Shenzhen 518073, China; 3 Hunan Institute of Microbiology, Changsha 410009, China)

Abstract: Accurate transmission of genetic information is an important prerequisite for maintaining genome stability. Faithful inheritance of the genetic information depends on chromosome replication and segregation. Sister chromatid cohesion (SCC) is a key process to ensure that the two sister chromatids generated by DNA replication are equally distributed to the daughter cells. There is accumulated evidence to support that mutations in the cohesin complex and regulatory factors involved in sister chromatid cohesion (SCC) establishment often lead to cancer and "cohesinopathies". The most common cohesinopathies include Cornelia de Lange syndrome (CdLS) and Roberts syndrome (RBS), both of which have similar symptoms such as facial deformities, developmental delay, and the possibility of multiple anomalies. This article provides an overview of the key loci of genes related to cohesinopathies and cancer, and summarizes the research progress on their possible molecular regulatory mechanisms. Finally, we speculate some main topics in this field to expedite both fundamental and clinic research.

Key words: cohesinopathies; cohesin; RBS; CdLS; cancer

收稿日期: 2024-01-08; 修回日期: 2024-09-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(32100069); 辽宁省教育厅项目(LJKMZ20220449); 辽宁省科技厅项目(2023-MS-141)

[#]共同第一作者

*通信作者: 龚平, Tel: 0731-88858945, E-mail: lvguang3542@sina.com; 曹向宇, Tel: 024-62202232, E-mail: caoxiangyu@lnu.edu.cn

遗传物质的稳定性关系到物种的延续和多细胞个体的正常生长与发育。而遗传物质的传递主要包括染色体的复制和分离。在细胞周期的 S 期 DNA 进行复制, 使每条染色体都生成两个相同的拷贝, 称之为姐妹染色单体。进入分裂期后, 姐妹染色单体分离, 并平均分配到两个子细胞中以完成遗传信息的传递。子细胞接收的染色体过多或过少都会使细胞出现非整倍体, 引发唐氏综合征、癌症等疾病。因此, 为了确保复制产生的两条姐妹染色单体能被精准地分配到两个子细胞, 姐妹染色单体在分离之前必须整齐排布并紧密相连, 这个过程即姐妹染色单体黏连 (sister chromatid cohesion, SCC)^[1]。SCC 是进化上高度保守的生物学过程, 从单细胞生物到高等的动植物都能发现其存在。SCC 不仅在染色体分离中发挥重要作用, 在维持染色体高级结构、细胞周期进程、基因的转录调控和 DNA 损伤修复等方面也不可或缺^[2-3]。在人体细胞中, 调控姐妹染色单体黏连的蛋白质出现突变或缺失都会引起人类发育紊乱或癌症。因姐妹染色单体黏连相关蛋白的突变而导致的人类疾病, 统称为 cohesinopathies^[4]。目前, 最常见的 cohesinopathies 是德朗热综合征 (Cornelia de Lange syndrome, CdLS) 和罗伯茨综合征 (Roberts syndrome, RBS), 这两类患者的症状类似, 表现为面部畸形、发育迟缓, 并

可能出现多发畸形等, 但它们的发病机制目前仍不清楚。其中 CdLS 新生儿的发病率高达 1/10 000~1/3 000^[5-6]。近期对癌症基因组的研究发现 SCC 相关蛋白的突变与肿瘤发生密切相关^[7]。因此, 对模式生物中姐妹染色单体黏连机制的深入研究, 不仅是生命科学基础研究的前沿难点, 也是诊断和治疗黏连缺陷相关疾病的研究重点, 具有重要的理论意义和应用价值。

1 黏连蛋白及黏连调控蛋白

姐妹染色单体的黏连状态主要通过黏连蛋白 (cohesin) 维持。1999 年, Kim A. Nasmyth 研究组首先鉴定出酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 黏连蛋白的四个主要亚基: Smc1、Smc3、Scc1/Rad21 和 Scc3^[8]。随后, 科学家陆续在爪蟾 (*Xenopus laevis*)、果蝇 (*Drosophila melanogaster*) 和人 (*Homo sapiens*) 等高等真核生物中鉴定了黏连蛋白的各个亚基, 且发现它们在进化上高度保守, 黏连蛋白在各物种中的组成见表 1^[9-11]。

Smc1 和 Smc3 是 SMC (structural maintenance of chromosome proteins, 染色体结构维持蛋白) 蛋白家族的成员, 广泛存在于原核生物和所有真核生物中, 是参与染色体结构形成与维持的重要蛋白^[12]。Smc1 和 Smc3 各自反向折叠形成螺旋结构, 在一端

表1 不同物种中黏连蛋白及调节蛋白的同源基因

人	酿酒酵母	裂殖酵母	果蝇	热带爪蟾	斑马鱼	家鼠
<i>Homo sapiens</i>	<i>Saccaromyces cerevisiae</i>	<i>Schizosaccaromyces pombe</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Xenopus tropicalis</i>	<i>Danio rerio</i>	<i>Mus musculus</i>
SMC1A	SMC1	psm1	SMC1	smc1a	smc1a	Smc1a
SMC1B	SMC1	psm1	SMC1	smc1a	Smc1al	Smc1b
SMC3	SMC3	psm3	SMC3	smc3	smc3	Smc3
STAG1	IRR1=SCC3	psc3	SA2	stag1	stag1a/1b	Stag1
STAG2	-	psc3	SA1/SA2	Stag2	Stag2a/2b	Stag2
STAG3	IRR1=SCC3	psc3	SA1/SA2	-	-	Stag3
RAD21	MCD1=SCC1	rad21	vtd	rad21	rad21a/b	Rad21
NIPBL	SCC2	mis4	Nipped-B	nipbl	nipbla/b	Nipbl
MAU2	SCC4	ssl3	Mau2	mau2	mau2	Mau2
PDS5A	PDS5	pds5	pds5	pds5a	pds5a	Pds5a
PDS5B	PDS5	pds5	pds5	pds5b	pds5b	Pds5b
WAPL	WPL1=RAD61	wpl1	wapl	wapl	wapla/b	Wapl
HDAC8	HOS1	-	-	hdac8	hdac8	Hdac8
ESCO1	ECO1	esol	eco	-	esco1	Esco1
ESCO2	ECO1	esol	eco	esco2	esco2	Esco2
CDCA5	-	sor1	-	cdca5	cdca5	Cdca5
PCNA	POL30	pcn1	PCNA/PCNA2	pcna	pcna	Pcna

形成铰链区 (hinge domain), 两个 Smc 蛋白的铰链区紧密结合形成异二聚体; 另一端形成具有 ATP 酶活性的头部区域 (heads domain), Smc1 和 Smc3 的头部区域由 Scc1 连接, 其中 Scc1 的 N 端与 Smc3 结合, C 端与 Smc1 结合, 使黏连蛋白形成了一个闭合的环状结构。Scc3 与 Scc1 结合, 四个亚基一起构成完整的黏连蛋白环状结构 (图 1)^[13]。

除了黏连蛋白外, 姐妹染色单体黏连的建立还需要其他调控蛋白的参与, 如 Pds5、Wapl、Sororin 等。在高等动物细胞中, Pds5 存在两种亚型 Pds5A 和 Pds5B^[21]。Pds5 通过 Scc3 与黏连蛋白相连接, 是姐妹染色单体黏连的必需因子, 通过招募黏连正调控因子或者负调控因子, 在 SCC 的不同阶段发挥不同的功能。Wapl 与黏连蛋白的结合依赖 Scc1 和 Scc3, 不同于黏连蛋白的其他亚基, Wapl 并不是姐妹染色单体黏连的必需因子, 它作为黏连负调控因子, 可能通过打开 Smc3-Scc1 相互作用界面, 帮助黏连蛋白从染色体上释放^[22]。Sororin 是后生动物中特有的一种正调控因子, 在 DNA 复制过程中, Sororin 可以将释放因子 Wapl 从 Pds5 上替换下来进而维持黏连蛋白与染色体的稳定结合^[23], 在人体内 Sororin 指 Cdca5。

2 姐妹染色单体黏连周期

姐妹染色单体黏连周期是指 DNA 复制生成的两条姐妹染色单体需经历黏连蛋白的装载、黏连的建立、黏连的维持、黏连的解除四个步骤, 这一过程的准确运行才能确保姐妹染色单体分离正确进行, 因此该过程受到细胞周期的严格调控。黏连周期的正常运行主要依靠黏连蛋白及其调节蛋白共同完成。

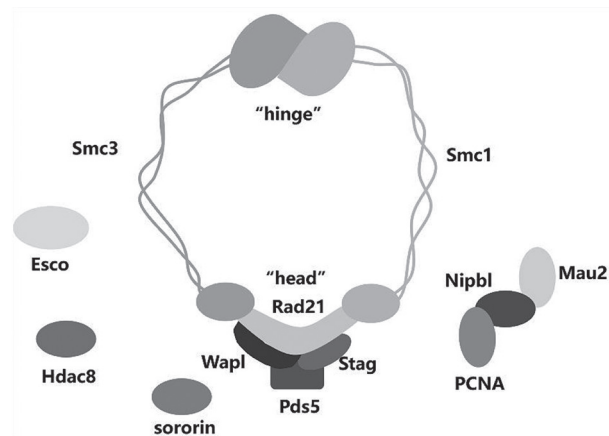


图1 黏连蛋白及调节蛋白结构示意图
(根据参考文献^[14-20]制作)

在细胞周期的 G1 早期, 黏连蛋白在装载复合物 Scc2-Scc4 (人细胞中的同源复合体为 Nipbl-Mau2) 的帮助下结合到染色体上, 但此时的黏连蛋白并无黏连活性, 可以沿着染色体滑行。因此, 在释放因子 Wapl 的作用下, 黏连蛋白极易从染色体上释放下来。Scc2-Scc4 作为装载蛋白, 并不直接参与黏连蛋白的形成, 而是作为黏连蛋白 ATP 酶活性的变构调节因子, 促进黏连蛋白的打开, 使得染色体可以进入环内。目前, 关于黏连蛋白是如何装载到 DNA 链上的仍有争议, 主要存在两种假说, 即打开黏连蛋白的“hinge domain”或者打开 Smc3-Scc1 的“head domain”^[24]。

细胞进入 S 期, 伴随着 DNA 复制的完成, 乙酰转移酶 Eco1 (establishment of cohesion 1)(人细胞中同源蛋白为 Esco1、Esco2) 被招募到复制机器上并将黏连蛋白 Smc3 亚基上两个保守的赖氨酸残基 (酵母细胞中是 K112/K113, 人细胞中 K105/106) 乙酰化, 被乙酰化修饰的黏连蛋白具有了黏连活性, 可以抑制释放因子 Pds5-Wapl 活性, 从而触发黏连建立, 使得黏连蛋白稳定结合染色体, 从而将复制生成的两条姐妹染色单体黏连在一起^[25]。在脊椎动物中, 黏连的建立还需要 Sororin 的参与。Sororin 的招募依赖 Smc3 乙酰化和 DNA 复制^[23, 26]。本课题组前期利用全基因组遗传互作和表型筛选 (epistatic mini-array profile, E-MAP) 在酿酒酵母中鉴定到了调控 Eco1 的新因子——Rtt101^{Mms1-Mms22}, 该复合物能够回补酿酒酵母细胞乙酰转移酶 Eco1 的生长缺陷和黏连缺陷^[27], 且该调控机制在人细胞中高度保守^[28]。此外, 黏连的建立还需要许多 DNA 复制相关蛋白 (PCNA、Ctf4、Ctf18、Fen1 等) 的参与, 但其调控机制仍需要进一步探索^[29]。

在姐妹染色单体黏连周期中, 姐妹染色单体黏连的维持亦至关重要, 一旦黏连建立, 它将受到多种负调控因子的影响, 其中包括 Wapl-Pds5 的负调控作用。据 Ladurner 等^[30]研究发现, 当 DNA 复制完成且姐妹染色单体建立黏连后, Sororin 蛋白的失活会导致姐妹染色单体黏连缺陷。这一现象不仅在 DNA 复制阶段出现, 即使在有丝分裂的前中期将 Sororin 蛋白失活, 也会观察到姐妹染色单体黏连缺陷。这些结果均表明 Sororin 在 G2 期和前中期对姐妹染色单体黏连的维持具有关键作用^[30]。Sororin 的主要功能之一就是拮抗 Wapl 的负调控作用^[31]。在有丝分裂前期, Sgo1 被 Cdk1 磷酸化, 并与 PP2A 形成复合物。Sgo1-PP2A 复合物与黏连蛋白结合,

使得 Sororin 处于低磷酸化状态。处于低磷酸化的 Sororin 能够与 Pds5 结合, 共同结合在黏连蛋白上, 以拮抗 Wapl 与黏连蛋白的结合, 从而维持着丝粒区姐妹染色单体的黏连^[32]。近期, 科研人员对 Sgo1 的着丝粒定位及其黏连维持的调控网络进行了深入研究, 发现其机制远比先前所知更为复杂。染色体乘客复合体 (chromosome passenger complex, CPC) 与 Sgo1 之间共同影响着彼此在着丝粒的定位^[33-34]。此外, Aurora A 依赖的 CENP-A 磷酸化过程也被证明在延长中期细胞的细胞分裂中发挥着重要作用。这一磷酸化过程可能促进 Sgo1 定位于着丝粒, 从而有效对抗黏连疲劳^[35]。这种磷酸化机制与 Sgo1 的着丝粒定位之间的相互作用为黏连维持提供了精密且及时的调控。

黏连状态的及时解除是保障有丝分裂中染色体准确分离的最后一步。在脊椎动物细胞的有丝分裂过程中, 黏连蛋白的解除分为两步: 第一步, 在有丝分裂的前期, 黏连负调控因子 Wapl 去除了染色体臂上大部分的黏连蛋白; 第二步, 细胞进入 M 期的中 / 后期转换时, 黏连蛋白 Scc1 亚基被分离酶 separase 切割, 着丝粒区的黏连蛋白被解除, 促使姐妹染色单体分离^[36]。在酵母细胞中没有明显的前期途径, 大多数黏连蛋白在中 / 后期转变时被 separase 切割, 从而实现染色体分离^[37]。从染色体上脱离的黏连蛋白可以被去乙酰化酶 Hos1 去乙酰化, 并在下一个细胞周期中被循环利用。因此, SCC 的精确调控保证了细胞周期的正常行进和遗传物质的稳定传递。

3 黏连蛋白的其他生物学功能

随着研究的不断深入, 科学家们发现黏连蛋白除了在姐妹染色单体黏连中发挥作用外, 还参与许多其他重要的生物过程, 包括染色体高级结构维持、基因转录调控、中心体复制、DNA 复制以及 DNA 修复等^[38]。

环状马达蛋白, 如黏连蛋白、凝集蛋白等 SMC 蛋白家族复合物, 在染色体高级结构形成中扮演着重要角色, 这一观点已在学术界引发了长达数十年的讨论。经过多方面的研究证实, 黏连蛋白有可能形成染色体轴或复制点, 从而作为染色质环的基底结构^[39-41]。最近基于 Hi-C 的高分辨率研究表明, 在人类基因组中发现了大约一万个大小从 40 kb 到 3 Mb 的 DNA 环。令人惊讶的是, 大约 90% 的环峰与 CCCTC 结合因子 CTCF (CCCTC binding

factor) 共定位, 同时与黏连蛋白亚基 Rad21 和 Smc3 结合^[42]。这一发现进一步支持了环状马达蛋白在染色体结构形成中的关键作用。Rao 等^[43]发现, 当通过生长素诱导 Rad21 降解时, 细胞中染色体的环结构域将会消失; 当去除生长素后, 这些环结构域又能重新形成。相似地, Nipbl/Scc2 缺陷的小鼠细胞基因组显示拓扑关联域 (topologically associating domain, TAD) 和相关峰在整体水平上减少^[44]。相比之下, 在 Wapl 缺陷细胞中, 黏连蛋白在染色质上的稳定性显著增强, 这导致 CTCF 结合位点被异常组合在一起, 进而导致扩展环的增加^[45]。这些研究结果提示, Wapl 通过维持黏连蛋白的动态平衡来限制环的大小。细胞通过调节不同 CTCF 结合位点间的组合以及 CTCF 与 DNA 结合的方向性维持染色质环结构的稳定性。黏连蛋白缺失不仅会阻碍局部环结构域的形成, 而且会进一步影响染色体高级结构的整体组织。尽管 Hi-C 研究揭示了黏连蛋白在环结构域形成中的重要作用, 并且认为它们是染色体高级结构形成的必需因素, 但其具体的分子机制仍然未知。

大量证据表明黏连蛋白是基因表达的关键调节因子。在果蝇中的研究发现, 当黏连蛋白装载复合物的亚基 Nipped-B 发生突变时, 其同源框内的基因无法激活转录^[46]。在其他物种中也陆续发现黏连蛋白及其装载复合物参与了转录调控过程^[1, 38, 47]。

中心体复制与组装是细胞生长与发育过程中的关键环节, 其过程极为复杂且需精确调控。在细胞周期中, 中心体的复制仅发生一次, 且每次复制前都伴随着一系列精细的生物学事件^[48]。其中, 子中心粒与母中心粒的分离是中心体复制的先决条件。在中心粒分离过程中, 分离酶的参与至关重要。众所周知, 分离酶在染色体分离过程中发挥关键作用, 其能够切割黏连蛋白的 Scc1 亚基, 进而破坏姐妹染色单体之间的黏连^[49], 这一机制在中心体复制中也同样适用。近年来, 科学研究发现黏连蛋白不仅存在于染色体上, 同时也定位在中心体上^[50-51]。这些研究结果进一步证实了黏连蛋白亚基 Scc1 的切割同样发生在中心粒分离过程中。

在遗传学研究中, 酿酒酵母中的 *WPL1* 基因 (也称为 *RAD61*) 和裂殖酵母中的 *SCC1* 基因 (也称为 *RAD21*) 最初也都被认为对 DNA 损伤高度敏感, 暗示它们可能参与 DNA 损伤应答反应。进一步的研究表明, 当细胞遭遇 DNA 损伤时, 检验点通路会被激活。在这个过程中, 感应激酶 Mec1 会磷酸化

损伤位点附近的 H2AX。磷酸化的 H2AX 作为一个信号,通过装载复合物 Scc2-Scc4 将黏连蛋白招募到损伤位点。同时,感应激酶 Mec1 和效应激酶 Chk1 会催化黏连蛋白亚基 Scc1 的级联磷酸化。被磷酸化的 Scc1 进一步被乙酰转移酶 Eco1 乙酰化,这有助于 DNA 损伤位点的黏连,使修复机器能够更容易地找到未损伤的同源 DNA 链,并以此为模板进行修复^[52-54]。

4 姐妹染色单体黏连异常及相关疾病

近年来对黏连蛋白功能的深入研究发现,黏连蛋白除了参与 SCC 外,在许多生物学过程中发挥着重要的作用,如转录调节^[47, 55-56]、DNA 损伤修复^[57-61]、染色体凝缩和形态发生^[62]、中心体复制和分离^[51]等。因此,在人细胞中黏连蛋白及其调节蛋白的突变会引起人类发育紊乱,导致严重的疾病,甚至癌症,这类疾病统称为“cohesinopathies”^[63]。如 RBS、CdLS、华沙破裂综合征 (Warsaw breakage syndrome, WABS) 等。

4.1 罗伯茨综合征

罗伯茨综合征 (Roberts syndrome, RBS)(OMIM#-268300) 是一种罕见的常染色体隐性遗传病,由于编码乙酰转移酶 Esco2 (establishment of cohesion homolog 2) 的基因突变,引起姐妹染色单体黏连失败而导致的一种综合征。患者常有生长迟缓、四肢骨缺损、颅颌面畸形等临床表现,严重者常于宫内或出生后不久死亡,只有症状较轻的患者能成年。而成年患者可出现脏器病变、智力迟缓、恶性肿瘤等。目前针对 RBS 的治疗手段有限,仅限于预防以及轻度症状的纠正治疗,例如手术纠正身体畸形、语言治疗和器官功能障碍的治疗等,并不能从源头治疗^[64]。

虽然 RBS 在 1919 年就被报道^[65],但直到 2005 年 Vega 等^[66]通过纯合子定位法对疾病相关位点进行全基因搜索,才发现染色体 8p21.1 上的 *ESCO2* 是 RBS 的致病基因。迄今,所有经分子遗传学诊断的 RBS 患者均存在 *ESCO2* 突变,包括基因片段的缺失、插入、错义、无义剪接位点突变等,形成截短或者无功能的蛋白质(表 2)。

现有研究表明,RBS 患者细胞中的 *ESCO2* 突变,以及小鼠和斑马鱼中 Esco2 表达量下调均会引起有丝分裂停滞或延迟,导致染色体分离障碍、非整倍体、微核等。但不同 RBS 患者的疾病表现形式差异很大,因此无法根据患者基因表型来预测其

临床表型。此外,研究发现 RBS 不仅可改变转录,还可减少 DNA 复制和细胞增殖,并在发育过程中加速关键祖细胞的凋亡^[66, 71]。

ESCO2 基因突变导致 RBS 发生的分子机制仍不清楚,Esco2 最主要的功能是作为乙酰转移酶修饰黏连蛋白亚基,从而促进 SCC 的建立。因此,早期的模型认为 RBS 的发生是由于 *ESCO2* 基因突变影响了细胞正常的有丝分裂进而导致细胞凋亡。但是,该模型也存在争议,研究发现降低 Smc3 的乙酰化对 SCC 造成的损伤远远不及对染色体凝缩、基因转录和 DNA 修复的影响深远^[72-74]。近年来又提出了新的模型,认为 Esco2 是基因表达的关键调节器,即 RBS 的发生是由于基因表达变化造成的。斑马鱼的基因芯片的结果显示黏连蛋白亚基缺失和 *ESCO2* 缺失造成基因表达变化,但这两种突变细胞中不仅存在重叠基因也存在非重叠基因^[75-76]。在酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 中,携带 *eco1-W216G* 突变(类似于人细胞中导致 RBS 的 *ESCO2W539G* 突变)的细胞有 1 210 个基因的表达改变,但其中 843 个在 *eco1rad61* 双突变体细胞(黏连非依赖细胞)中仍然失调^[77]。这表明 Esco2 通过黏连依赖和黏连非依赖两种模式调控基因的表达,但其具体的调控机制需要进一步研究。黏连依赖模型可能的机制是 Esco2 通过调控黏连的发生进而改变转录调节因子的相互作用,最终影响基因的表达^[78-79]。黏连非依赖模型可能的机制是 Esco2 作为一种支架蛋白,与多种转录调节因子结合,以独立于黏连的方式调控细胞中的基因表达。例如人细胞中的 Esco2 与组蛋白多个修饰酶结合调节染色质的结构进而影响基因表达或沉默^[79]。对 RBS 的深入研究,不仅有助于在分子水平上理解 *ESCO2* 突变导致 RBS 发生的机制,还可以推进 RBS 疾病的产前检测和靶向药物的研发,为 RBS 未来治疗提供更多有价值的信息。

4.2 德朗热综合征

德朗热综合征 (Cornelia de Lange syndrome, CdLS)(OMIM#122470、#300590、#300882、#610759、#614701) 是一种典型的多系统神经发育障碍疾病,以荷兰儿科医生 Cornelia de Lange 的名字命名,她在 1933 年首次描述了两名患儿的症状。德朗热综合征是“罕见疾病家族”的成员之一,新生儿的患病率大概在 1/30 000~1/10 000^[6],其症状表现为发育障碍、生长障碍、多器官异常(包括肢体异常、先天性心脏缺陷、胃肠功能障碍和神经发

表2 位于RBS患者个体中的Esco2突变

序号	突变位点	氨基酸突变	作用结构域	突变方式	参考文献
1	750-751insG	E251fsX30	Exon3	Frameshift	[66]
2	505C-T	R169X	Exon3	Nonsense	[66]
3	1615T-G	W539G	Exon10	Missense	[66]
4	252-253delAT	V84fsX7	Exon3	Frameshift	[66]
5	1457-1458delAG	K486fsX20	Exon9	Frameshift	[66]
6	1104-1105insA	K369fsX34	Exon6	Frameshift	[66]
7	877-888delAG	R293fsX7	Exon4	Frameshift	[66]
8	411-412insA	K138fsX10	Exon3	Frameshift	[66]
9	294-297delGAGA	E98fsX2	Exon3	frameshift	[67]
10	1132-7A>G	I377-378insLX	Intron6	missense	[67]
11	308-309delAA	K103fsX3	Exon3	frameshif	[67]
12	760delA	T254fsX12	Exon3	frameshift	[67]
13	760-761insA	T254fsX27	Exon3	frameshift	[67]
14	764-765delTT	F255fsX25	Exon3	frameshift	[67]
15	875-878delACAG	D292fsX47	Exon4	frameshift	[67]
16	879-880delAG	R293fsX7	Exon4	frameshift	[67]
17	955+2-+5delTAAG	ND	Intron		[67]
18	1111-1112insG	T371fsX32	Exon6	frameshif	[67]
19	1263+1G>C	ND	Intron		[67]
20	1131+1G>A	R338fsX17	Intron6	missense	[67]
21	1354-18G>A	V452-Q499del	Intron8	missens	[67]
22	1597-1598insT	L533fsX5	Exon10	frameshif	[67]
23	1674-2A>G	ND	Intron10		[67]
24	244_245dupCT	T83PfsX20	Exon3	frameshift	[68]
25	1654C > T	Arg552Ter(X)		nonsense	[69]
26	-151G > A		Exon 1	missense	[70]
27	-17 + 19 C > T		Intron	nonsense	[70]
28	c.239 C > T	A80V	Exon 3	missense	[70]
29	346 G > A	D116N	Exon 3	missense	[70]
30	1013 + 35 G > A		Intron	nonsense	[70]
31	*71_*74delTATT		3'UTR	nonsense	[70]
32	*130 G > A		3'UTR	nonsense	[70]
33	*1489 A > T		3'UTR	nonsense	[70]
34	1673+1G>A		intron 10	missense	[71]

ND: not determined, 无法确定, 因为RNA来源不可用。

fs: frameshift, 移码突变, X代表终止子; 后面的数字代表该终止子距离原始终止密码子的氨基酸个数。

育改变)和典型的面部畸形(如前额多毛,眉毛拱起,鼻梁下垂,鼻孔前倾,人中长而光滑,嘴唇薄,嘴角向下翻转)^[80]。目前发现至少有7个基因与CdLS发病相关:*NIPBL*、*SMC3*、*SMC1A*、*RAD21*、*HDAC8*、*BRD4*、*ANKRD11*^[81-84]。*Smc3*、*Smc1A*和*Rad21*是组成黏连蛋白的3个主要亚基;*Nipbl*作为装载因子负责将黏连蛋白装载到染色体上;*Hdac8*作为去乙酰化酶调节M期*Smc3*从染色质中解除后的去乙酰化,以保证黏连的正确解离;*Brd4*和*Ankrd11*作为染色质结合因子参与转录调控。不

同的基因突变导致的德朗热综合征症状也不一样,并非所有的CdLS患者都表现出典型的症状,且CdLS患者的症状从轻度到重度有很大差异,有不同程度的面部和肢体缺陷,其中*NIPBL*基因突变导致的症状最为严重^[85]。

前已述及,黏连相关因子的突变导致了CdLS,然而姐妹染色单体过早分离与CdLS并无较强相关性,不能作为诊断CdLS的标准^[86]。CdLS的致病机理目前仍不清楚,现有证据表明CdLS患者中存在几种失调的生物学途径,包括基因转录、RNA

生成、DNA 损伤修复和氧化应激反应等^[87]。染色质可以在黏连蛋白和绝缘蛋白 CTCF 的作用下形成拓扑关联结构 (TAD) 和染色质环 (chromatin loop), 调节增强子和启动子的相互作用, 影响基因表达^[43, 88-89]。全基因组数据显示, 黏连蛋白可以频繁地结合启动子和下游调控区域, 并与 CdLS 患者的活性基因相关。此外, 携带 *SMC1* 基因突变或 *Nipbl* 表达下降的 CdLS 患者细胞中基因表达有显著变化^[90-91]。因此, CdLS 现在被归入一类越来越广泛的神经发育疾病, 称为转录调节障碍 (DTRs)。基因转录调控作为一个基本的生物学过程, 涉及细胞生命活动的许多方面, 如增强子和启动子之间的相互作用、组蛋白修饰和转录装置的形成等。CdLS 细胞表现出基因表达失调, 姐妹染色单体黏连正常, 这一发现暗示不同的生物学途径对黏连蛋白存在不同层次的剂量敏感。即姐妹染色单体黏连的发生对黏连蛋白的剂量变化并不敏感, 而基因调控对黏连蛋白的剂量更敏感。这一猜测在果蝇和小鼠细胞中得到了验证, 果蝇和小鼠中 *Nipbl* 的缺失影响了基因表达, 但不会导致黏连或染色体分离缺陷^[81, 92]。同时有数据表明, CdLS 相关位点 *Wapl* 的突变在小鼠胚胎大脑中引起 1 000 多个基因表达失调, 但其调控的机制并不清楚^[93]。事实上, 尽管黏连蛋白优先与转录启动位点结合, 但 CdLS 中差异表达基因上黏连蛋白位点的数量显著减少, 而非差异表达基因的减少并不明显。此外, CdLS 中黏连蛋白对染色质的亲和力增加, 使黏连蛋白与 DNA 结合更稳定, 并且失调基因启动子区的 PolIII 募集显著减少。因此, 推断黏连蛋白的突变导致染色质高级结构的变化, 最终导致 CdLS 中的全基因组转录紊乱。

黏连蛋白还有可能影响核仁功能。在斑马鱼中的研究表明, 黏连蛋白可以和 rDNA 结合促进蛋白质翻译, 推测 CdLS 中的一些转录变化可能由翻译缺陷引起^[94-95]。同时, 还发现 CdLS 细胞耐受 DNA 损伤的能力降低 (如对 X 射线照射、aphidicolin、mytomicin C), 这可能由于 CdLS 细胞中黏连蛋白与 DNA 的结合发生变化, 从而削弱了修复蛋白在 DNA 损伤位点的募集量, 从而引起了 DNA 损伤修复能力的下降。此外, 在 CdLS 细胞中, 参与氧化应激应答的蛋白表达显著下调, 且全细胞的氧化应激明显增加, 而高水平的氧化应激会促进基因组不稳定、细胞凋亡和细胞生长停滞^[96]。

目前, 德朗热综合征的分子诊断主要靠基因测序, 由于体细胞嵌合突变以及与其他疾病存在部分

重叠使得其分子诊断变得很复杂^[97]。因此, 对 CdLS 致病机制的深入研究不仅为该病的诊断提供了更明确的目标基因, 而且为该病的治疗提供潜在靶点, 为药物的研发提供重要线索。

4.3 癌症

2008 年, Barber 等^[98]发现非整倍体结肠癌中编码 *SMC1A*、*SMC3*、*NIPBL* 和 *STAG3* (减数分裂黏连蛋白亚基) 的基因存在杂合体细胞错义突变, 首次报道了癌细胞中存在黏连蛋白亚基突变。2010 年, 研究人员分别在慢性粒细胞单核细胞白血病 (CML) 和急性髓系白血病中发现了 *RAD21* 和 *STAG2* 的功能缺失突变体^[99]。2011 年, Solomon 等^[100]发现多形性胶质母细胞瘤、Ewing 肉瘤、黑色素瘤、宫颈癌和血液瘤的细胞系和原发性肿瘤中均存在 *STAG2* 突变。随后的癌症基因组和外显子组测序显示, 在膀胱癌、尤文氏肉瘤、髓系白血病、脑肿瘤、子宫内膜癌和其他肿瘤类型中编码黏连蛋白和黏连调控的基因均存在突变, 最常见的是 *STAG2* 中的截断突变, 以及 *RAD21*、*SMC1A*、*SMC3* 和 *NIPBL* 中的杂合错义突变^[101]。

同时, 黏连调控因子在细胞中的表达水平可以作为检测肿瘤细胞及癌症预后的标志物。在食管癌患者细胞中, 通过测序和 PPI 互作分析等发现黏连蛋白及调控蛋白表达均上调, 其中生存分析显示, *Stag2* 高表达与食管腺癌的低生存率显著相关, 食管鳞状细胞癌中, *Rad21* 的高表达与高的生存系数显著相关, 虽然其具体机制尚不清楚, 但 *Stag2* 和 *Rad21* 可作为食管癌风险评估和预后分层的预测生物标志物, 为食管癌分子靶点的研究提供了新的思路^[101]。*Esco2* 与肺腺癌 (lung adenocarcinoma, LUAD) 有关, 研究发现 *Esco2* 在 LUAD 组织中表达明显上调, *Esco2* 表达越高, LUAD 患者预后越差, 而且 *Esco2* 在体外和体内均能促进 LUAD 细胞增殖和转移代谢重编程。机制上, *Esco2* 通过抑制 hnRNPA1 核易位, 增加 hnRNPA1 (异质核糖核蛋白 A1) 与 PKM mRNA 外显子 9 (EI9) 侧翼内含子序列的结合, 最终抑制 PKM1 亚型的形成, 诱导 PKM2 亚型的形成。这一研究结果证实 *Esco2* 是促进 LUAD 恶性进展的关键因素, *ESCO2* 也许可以作为治疗 LUAD 的新靶点^[102]。此外, 结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 作为男性第三、女性第二常见的癌症, 也与 *ESCO2* 相关。大约 40% 的结直肠癌患者有致命的远处转移现象, 主要转移到肝脏, 这使得结直肠癌成为癌症致死的主力。因此, 确定 CRC 患者易转

移表型的分子因素势在必行^[103-105]。有研究通过qRT-PCR、迁移与入侵分析实验、荧光素酶报告基因分析等揭示了 *Esco2* 在细胞迁移中的作用及其机制, 通过基因芯片确定 *MMP2* 是 *ESCO2* 的直接下游效应因子, 在 *Esco2* 沉默的细胞中, *MMP2* 的 mRNA 和蛋白水平均高于对照细胞, 即 *ESCO2* 抑制了 *MMP2* 的转录, 下调 *Mmp2* 的表达抑制肿瘤转移, 基于此提出假设——*Esco2* 可以作为 CRC 的预后因子和抗转移因子, 也是 CRC 的潜在治疗靶点^[106]。

基因组不稳定性是癌细胞的标志。最初, 人们认为黏连蛋白活性的改变是癌症非整倍体的主要原因。相反, 越来越多的证据表明, 黏连蛋白更倾向于作为一种染色质调节器, 介导 DNA 修复、转录调控和染色体的高级结构, 黏连蛋白和黏连调节基因的突变和失调引发基因组不稳定, 从而驱动了癌症的发生发展。更好地理解黏连蛋白如何调控这些重要的生物学过程将有助于探究癌症治疗和预防的新策略。

5 总结与展望

黏连蛋白及其调控蛋白的突变还可能引起 Warsaw Breakage 综合征 (Warsaw syndrome, WABS)、Juberg-Hayward 综合征 (Juberg-Hayward syndrome, JHS) 等疾病。WABS 是 DNA 解螺旋酶 DDX11 的双等位基因突变导致的, 其典型临床特征包括生长迟缓、面部畸形、小头畸形、耳蜗畸形导致的听力下降, 以及细胞学水平的姐妹染色单体黏连缺陷。由于缺乏疾病动物模型系统和对 DDX11 生理功能的了解有限, WABS 的分子机制尚未阐明。不过已有研究初步发现, WABS 也属于黏连病变的一种, 对 WABS 患者的 T 淋巴细胞和永生 B 淋巴细胞母细胞或成纤维细胞的分析发现存在姐妹染色单体黏连异常^[107-108]。JHS 是一种罕见的常染色体隐性畸形综合征, 以唇腭裂、小头畸形、上睑下垂、拇指发育不全或发育不全、身材矮小、桡骨头脱位、肱骨和桡骨融合导致肘关节受限为特征。最新研究证实 *ESCO2* 的纯合突变是 Juberg-Hayward 综合征的潜在原因^[69]。

不难发现, RBS、CdLS、癌症、WABS、JHS 等疾病中都有黏连蛋白的身影, 除癌症以外的疾病临床特征均包括身体局部畸形、生长发育迟缓等, 这也恰恰说明了黏连蛋白及调控蛋白对个体生长发育的影响重大, 而目前上述疾病的研究仅停留在对

其症状及突变基因的鉴定, 只有进行分子水平的深入研究才可能从源头预防和治疗该类疾病。黏连蛋白突变对癌症的影响不仅涉及致病性还影响其预后、转移等, 所以对其分子机制的深入研究将会促进癌症靶向治疗药物的研发。作为姐妹染色单体黏连的必需因子, 黏连蛋白直接参与了细胞的有丝分裂, 同时, 还与 DNA 损伤修复等息息相关。对于黏连蛋白及其相关疾病, 未来需要回答的主要问题有: (1) RBS 是由于编码乙酰转移酶的 *ESCO2* 基因突变导致的, 那么 RBS 和 *ESCO2* 的关系是否与 *ESCO2* 的乙酰转移酶活性直接相关, 以及 *ESCO2* 突变导致 RBS 的具体分子机制? (2) 越来越多的研究发现了黏连蛋白在姐妹染色单体黏连之外的功能, 包括维持染色质结构、转录调控、中心体复制、DNA 复制和 DNA 修复等, 在 DNA 复制完成后, DNA 损伤诱导的姐妹染色单体黏连在哺乳动物中是否发生? 如果发生, 其生物学功能又是什么? (3) 黏连蛋白具有多种功能, 体外生化重建将有助于在各种生物学通路中解析黏连蛋白的功能。此外, 黏连蛋白的各种功能通常与其他生物学过程相偶联, 譬如姐妹染色单体黏连的建立与 DNA 复制。随着真核 DNA 复制体外生化重建体系的逐步完善, 体外重现与其偶联的相对完整的黏连蛋白活动也将成为可能。(4) 黏连蛋白除了参与 SCC, 还参与多种染色体高级结构的形成与维持, 包括环化、染色体间相互作用和凝缩等, 黏连蛋白的何种功能缺陷导致黏连病或癌症的发生发展? 如何获得某单一功能的特异性激活剂或抑制剂? 这些化合物一方面可以为黏连蛋白的生理功能研究提供利器, 另一方面可作为治疗相关功能缺陷疾病的先导化合物。

虽然传统简单模式真核生物的研究仍将在未来较长时期内引领黏连蛋白这类必需基因功能的解析, 但是建立越来越多的黏连病动物模型才能极大地加快对上述问题的探究。黏连蛋白及其调控蛋白作为参与生物体生长发育的重要蛋白, 对其生物学功能的深入研究具有重要的基础理论意义和临床价值。

[参 考 文 献]

- [1] Nasmyth K, Haering CH. Cohesin: its roles and mechanisms. *Annu Rev Genet*, 2009, 43: 525-58
- [2] Pherson M, Misulovin Z, Gause M, et al. Cohesin occupancy and composition at enhancers and promoters are linked to DNA replication origin proximity in *Drosophila*. *Genome Res*, 2019, 29: 602-12
- [3] Phipps J, Dubrana K. DNA repair in space and time:

- safeguarding the genome with the cohesin complex. *Genes* (Basel), 2022, 13: 198
- [4] Banerji R, Skibbens RV, Iovine MK. How many roads lead to cohesinopathies? *Dev Dyn*, 2017, 246: 881-8
 - [5] Kline AD, Grados M, Sponseller P, et al. Natural history of aging in Cornelia de Lange syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 2007, 145C: 248-60
 - [6] Kline AD, Moss JF, Selicorni A, et al. Diagnosis and management of Cornelia de Lange syndrome: first international consensus statement. *Nat Rev Genet*, 2018, 19: 649-66
 - [7] Chin CV, Antony J, Ketharnathan S, et al. Cohesin mutations are synthetic lethal with stimulation of WNT signaling. *Elife*, 2020, 9: e61405
 - [8] Tóth A, Ciosk R, Uhlmann F, et al. Yeast cohesin complex requires a conserved protein, Eco1p(Ctf7), to establish cohesion between sister chromatids during DNA replication. *Genes Dev*, 1999, 13: 320-33
 - [9] Losada A, Yokochi T, Kobayashi R, et al. Identification and characterization of SA/Scp3p subunits in the *Xenopus* and human cohesin complexes. *J Cell Biol*, 2000, 150: 405-16
 - [10] Sumara I, Vorlaufer E, Gieffers C, et al. Characterization of vertebrate cohesin complexes and their regulation in prophase. *J Cell Biol*, 2000, 151: 749-62
 - [11] Krantz ID, McCallum J, DeScipio C, et al. Cornelia de Lange syndrome is caused by mutations in NIPBL, the human homolog of *Drosophila melanogaster* Nipped-B. *Nat Genet*, 2004, 36: 631-5
 - [12] Hoencamp C, Rowland BD. Genome control by SMC complexes. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2023, 24: 633-50
 - [13] 史竹兵, 白晓辰, 于洪涛. 黏连蛋白维持基因组结构分子机制研究进展. *自然杂志*, 2021, 43: 1-8
 - [14] Guacci V, Stricklin J, Bloom MS, et al. A novel mechanism for the establishment of sister chromatid cohesion by the ECO1 acetyltransferase. *Mol Biol Cell*, 2015, 26: 117-33
 - [15] Davidson IF, Bauer B, Goetz D, et al. DNA loop extrusion by human cohesin. *Science*, 2019, 366: 1338-45
 - [16] Shi Z, Gao H, Bai XC, et al. Cryo-EM structure of the human cohesin-NIPBL-DNA complex. *Science*, 2020, 368: 1454-9
 - [17] Bauer BW, Davidson IF, Canena D, et al. Cohesin mediates DNA loop extrusion by a "swing and clamp" mechanism. *Cell*, 2021, 184: 5448-64.e22
 - [18] Perea-Resa C, Wattendorf L, Marzouk S, et al. Cohesin: behind dynamic genome topology and gene expression reprogramming. *Trends Cell Biol*, 2021, 31: 760-73
 - [19] Di Nardo M, Pallotta MM, Musio A. The multifaceted roles of cohesin in cancer. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41: 96
 - [20] Psakhye I, Kawasumi R, Abe T, et al. PCNA recruits cohesin loader Scc2 to ensure sister chromatid cohesion. *Nat Struct Mol Biol*, 2023, 30: 1286-94
 - [21] Zhang N, Coutinho LE, Pati D. PDS5A and PDS5B in cohesin function and human disease. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 5868
 - [22] Huis in't Veld PJ, Herzog F, Ladurner R, et al. Characterization of a DNA exit gate in the human cohesin ring. *Science*, 2014, 346: 968-72
 - [23] Nishiyama T, Ladurner R, Schmitz J, et al. Sororin mediates sister chromatid cohesion by antagonizing Wapl. *Cell*, 2010, 143: 737-49
 - [24] Litwin I, Wysocki R. New insights into cohesin loading. *Curr Genet*, 2018, 64: 53-61
 - [25] Rolef Ben-Shahar T, Heeger S, Lehane C, et al. Eco1-dependent cohesin acetylation during establishment of sister chromatid cohesion. *Science*, 2008, 321: 563-6
 - [26] Lafont AL, Song J, Rankin S. Sororin cooperates with the acetyltransferase Eco2 to ensure DNA replication-dependent sister chromatid cohesion. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107: 20364-9
 - [27] Zhang J, Shi D, Li X, et al. Rtt101-Mms1-Mms22 coordinates replication-coupled sister chromatid cohesion and nucleosome assembly. *EMBO Rep*, 2017, 18: 1294-305
 - [28] Sun H, Zhang J, Xin S, et al. Cul4-Ddb1 ubiquitin ligases facilitate DNA replication-coupled sister chromatid cohesion through regulation of cohesin acetyltransferase Esco2. *PLoS Genet*, 2019, 15: e1007685
 - [29] Pellegrini L. The CMG DNA helicase and the core replisome. *Curr Opin Struct Biol*, 2023, 81: 102612
 - [30] Ladurner R, Kreidl E, Ivanov MP, et al. Sororin actively maintains sister chromatid cohesion. *EMBO J*, 2016, 35: 635-53
 - [31] Zhang N, Pati D. Sororin is a master regulator of sister chromatid cohesion and separation. *Cell Cycle*, 2012, 11: 2073-83
 - [32] Liu H, Rankin S, Yu H. Phosphorylation-enabled binding of SGO1-PP2A to cohesin protects sororin and centromeric cohesion during mitosis. *Nat Cell Biol*, 2013, 15: 40-9
 - [33] Broad AJ, DeLuca KF, DeLuca JG. Aurora B kinase is recruited to multiple discrete kinetochores and centromere regions in human cells. *J Cell Biol*, 2020, 219: e201905144
 - [34] Hadders MA, Hindriksen S, Truong MA, et al. Untangling the contribution of Haspin and Bub1 to Aurora B function during mitosis. *J Cell Biol*, 2020, 219: e201907087
 - [35] Eot-Houllier G, Magnaghi-Jaulin L, Fulcrand G, et al. Aurora A-dependent CENP-A phosphorylation at inner centromeres protects bioriented chromosomes against cohesion fatigue. *Nat Commun*, 2018, 9: 1888
 - [36] Zheng G, Yu H. Regulation of sister chromatid cohesion during the mitotic cell cycle. *Sci China Life Sci*, 2015, 58: 1089-98
 - [37] Uhlmann F, Lottspeich F, Nasmyth K. Sister-chromatid separation at anaphase onset is promoted by cleavage of the cohesin subunit Scc1. *Nature*, 1999, 400: 37-42
 - [38] Mehta GD, Kumar R, Srivastava S, et al. Cohesin: functions beyond sister chromatid cohesion. *FEBS Lett*, 2013, 587: 2299-312
 - [39] Alipour E, Marko JF. Self-organization of domain structures by DNA-loop-extruding enzymes. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40: 11202-12

- [40] Fudenberg G, Imakaev M, Lu C, et al. Formation of chromosomal domains by loop extrusion. *Cell Rep*, 2016, 15: 2038-49
- [41] Nasmyth K. Disseminating the genome: joining, resolving, and separating sister chromatids during mitosis and meiosis. *Annu Rev Genet*, 2001, 35: 673-745
- [42] Rao SS, Huntley MH, Durand NC, et al. A 3D map of the human genome at kilobase resolution reveals principles of chromatin looping. *Cell*, 2014, 159: 1665-80
- [43] Rao SSP, Huang SC, Glenn St Hilaire B, et al. Cohesin loss eliminates all loop domains. *Cell*, 2017, 171: 305-20. e24
- [44] Schwarzer W, Abdennur N, Goloborodko A, et al. Two independent modes of chromatin organization revealed by cohesin removal. *Nature*, 2017, 551: 51-6
- [45] Haarhuis JHI, van der Weide RH, Blomen VA, et al. The cohesin release factor WAPL restricts chromatin loop extension. *Cell*, 2017, 169: 693-707. e14
- [46] Rollins RA, Morcillo P, Dorsett D. Nipped-B, a *Drosophila* homologue of chromosomal adherins, participates in activation by remote enhancers in the cut and Ultrabithorax genes. *Genetics*, 1999, 152: 577-93
- [47] Wendt KS, Yoshida K, Itoh T, et al. Cohesin mediates transcriptional insulation by CCCTC-binding factor. *Nature*, 2008, 451: 796-801
- [48] Nigg EA, Holland AJ. Once and only once: mechanisms of centriole duplication and their deregulation in disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19: 297-312
- [49] Nasmyth K. Segregating sister genomes: the molecular biology of chromosome separation. *Science*, 2002, 297: 559-65
- [50] Kong X, Ball AR Jr, Sonoda E, et al. Cohesin associates with spindle poles in a mitosis-specific manner and functions in spindle assembly in vertebrate cells. *Mol Biol Cell*, 2009, 20: 1289-301
- [51] Beauchene NA, Díaz-Martínez LA, Furniss K, et al. Rad21 is required for centrosome integrity in human cells independently of its role in chromosome cohesion. *Cell Cycle*, 2010, 9: 1774-80
- [52] Unal E, Heidinger-Pauli JM, Koshland D. DNA double-strand breaks trigger genome-wide sister-chromatid cohesion through Eco1 (Ctf7). *Science*, 2007, 317: 245-8
- [53] Heidinger-Pauli JM, Unal E, Guacci V, et al. The kleisin subunit of cohesin dictates damage-induced cohesion. *Mol Cell*, 2008, 31: 47-56
- [54] Heidinger-Pauli JM, Unal E, Koshland D. Distinct targets of the Eco1 acetyltransferase modulate cohesion in S phase and in response to DNA damage. *Mol Cell*, 2009, 34: 311-21
- [55] Chien R, Zeng W, Ball AR, et al. Cohesin: a critical chromatin organizer in mammalian gene regulation. *Biochem Cell Biol*, 2011, 89: 445-58
- [56] Zhang W, Qin Z, Zhang X, et al. Roles of sequential ubiquitination of PCNA in DNA-damage tolerance. *FEBS Lett*, 2011, 585: 2786-94
- [57] Leem YE, Choi HK, Jung SY, et al. Esco2 promotes neuronal differentiation by repressing Notch signaling. *Cell Signal*, 2011, 23: 1876-84
- [58] Ivanov D, Schleiffer A, Eisenhaber F, et al. Eco1 is a novel acetyltransferase that can acetylate proteins involved in cohesion. *Curr Biol*, 2002, 12: 323-8
- [59] Arnould C, Rocher V, Finoux AL, et al. Loop extrusion as a mechanism for formation of DNA damage repair foci. *Nature*, 2021, 590: 660-5
- [60] Ellermeier C, Smith GR. Cohesins are required for meiotic DNA breakage and recombination in *Schizosaccharomyces pombe*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102: 10952-7
- [61] Rowland BD, Roig MB, Nishino T, et al. Building sister chromatid cohesion: smc3 acetylation counteracts an antiestablishment activity. *Mol Cell*, 2009, 33: 763-74
- [62] Seitan VC, Merckenschlager M. Cohesin and chromatin organisation. *Curr Opin Genet Dev*, 2012, 22: 93-100
- [63] Remeseiro S, Cuadrado A, Losada A. Cohesin in development and disease. *Development*, 2013, 140: 3715-8
- [64] Mfarej MG, Skibbens RV. An ever-changing landscape in Roberts syndrome biology: implications for macromolecular damage. *PLoS Genet*, 2020, 16: e1009219
- [65] Roberts JB. A child with double cleft of lip and palate, protrusion of the intermaxillary portion of the upper jaw and imperfect development of the bones of the four extremities. *Ann Surg*, 1919, 70: 252-3
- [66] Vega H, Waisfisz Q, Gordillo M, et al. Roberts syndrome is caused by mutations in ESCO2, a human homolog of yeast ECO1 that is essential for the establishment of sister chromatid cohesion. *Nat Genet*, 2005, 37: 468-70
- [67] Gordillo M, Vega H, Trainer AH, et al. The molecular mechanism underlying Roberts syndrome involves loss of ESCO2 acetyltransferase activity. *Hum Mol Genet*, 2008, 17: 2172-80
- [68] Afifi HH, Abdel-Salam GM, Eid MM, et al. Expanding the mutation and clinical spectrum of Roberts syndrome. *Congenit Anom (Kyoto)*, 2016, 56: 154-62
- [69] Kantaputra PN, Dejkhamron P, Tongsima S, et al. Juberg-Hayward syndrome and Roberts syndrome are allelic, caused by mutations in ESCO2. *Arch Oral Biol*, 2020, 119: 104918
- [70] Gomes JDA, Kowalski TW, Fraga LR, et al. The role of ESCO2, SALL4 and TBX5 genes in the susceptibility to thalidomide teratogenesis. *Sci Rep*, 2019, 9: 11413
- [71] Schneeberger PE, Nayak SS, Fuchs S, et al. Roberts syndrome in an Indian patient with humeroradial synostosis, congenital elbow contractures and a novel homozygous splice variant in ESCO2. *Am J Med Genet A*, 2020, 182: 2793-6
- [72] Heidinger-Pauli JM, Mert O, Davenport C, et al. Systematic reduction of cohesin differentially affects chromosome segregation, condensation, and DNA repair. *Curr Biol*, 2010, 20: 957-63
- [73] Zhang J, Shi X, Li Y, et al. Acetylation of Smc3 by Eco1 is required for S phase sister chromatid cohesion in both human and yeast. *Mol Cell*, 2008, 31: 143-51
- [74] Zuilkoski CM, Skibbens RV. PCNA promotes context-specific sister chromatid cohesion establishment separate

- from that of chromatin condensation. *Cell Cycle*, 2020, 19: 2436-50
- [75] Mönnich M, Kuriger Z, Print CG, et al. A zebrafish model of Roberts syndrome reveals that Esco2 depletion interferes with development by disrupting the cell cycle. *PLoS One*, 2011, 6: e20051
- [76] Rhodes JM, Bentley FK, Print CG, et al. Positive regulation of c-Myc by cohesin is direct, and evolutionarily conserved. *Dev Biol*, 2010, 344: 637-49
- [77] Lu S, Lee KK, Harris B, et al. The cohesin acetyltransferase Eco1 coordinates rDNA replication and transcription. *EMBO Rep*, 2014, 15: 609-17
- [78] Kim BJ, Kang KM, Jung SY, et al. Esco2 is a novel corepressor that associates with various chromatin modifying enzymes. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 372: 298-304
- [79] Rahman S, Jones MJ, Jallepalli PV. Cohesin recruits the Esco1 acetyltransferase genome wide to repress transcription and promote cohesion in somatic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112: 11270-5
- [80] Avagliano L, Parenti I, Grazioli P, et al. Chromatinopathies: a focus on Cornelia de Lange syndrome. *Clin Genet*, 2020, 97: 3-11
- [81] Tonkin ET, Wang TJ, Lisgo S, et al. NIPBL, encoding a homolog of fungal Scc2-type sister chromatid cohesion proteins and fly Nipped-B, is mutated in Cornelia de Lange syndrome. *Nat Genet*, 2004, 36: 636-41
- [82] Musio A, Selicorni A, Focarelli ML, et al. X-linked Cornelia de Lange syndrome owing to SMC1L1 mutations. *Nat Genet*, 2006, 38: 528-30
- [83] Deardorff MA, Kaur M, Yaeger D, et al. Mutations in cohesin complex members SMC3 and SMC1A cause a mild variant of cornelia de Lange syndrome with predominant mental retardation. *Am J Hum Genet*, 2007, 80: 485-94
- [84] Liu C, Li X, Cui J, et al. Analysis of clinical and genetic characteristics in 10 Chinese individuals with Cornelia de Lange syndrome and literature review. *Mol Genet Genomic Med*, 2020, 8: e1471
- [85] Yuan B, Pehlivan D, Karaca E, et al. Global transcriptional disturbances underlie Cornelia de Lange syndrome and related phenotypes. *J Clin Invest*, 2015, 125: 636-51
- [86] Castronovo P, Gervasini C, Cereda A, et al. Premature chromatid separation is not a useful diagnostic marker for Cornelia de Lange syndrome. *Chromosome Res*, 2009, 17: 763-71
- [87] Li Q, Chang G, Yin L, et al. Clinical and molecular analysis in a cohort of Chinese children with Cornelia de Lange syndrome. *Sci Rep*, 2020, 10: 21224
- [88] Zuin J, Dixon JR, van der Reijden MI, et al. Cohesin and CTCF differentially affect chromatin architecture and gene expression in human cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111: 996-1001
- [89] Davidson IF, Barth R, Zaczek M, et al. CTCF is a DNA-tension-dependent barrier to cohesin-mediated loop extrusion. *Nature*, 2023, 616: 822-7
- [90] Mannini L, C Lamaze F, Cucco F, et al. Mutant cohesin affects RNA polymerase II regulation in Cornelia de Lange syndrome. *Sci Rep*, 2015, 5: 16803
- [91] Liu J, Zhang Z, Bando M, et al. Transcriptional dysregulation in NIPBL and cohesin mutant human cells. *PLoS Biol*, 2009, 7: e1000119
- [92] Kagey MH, Newman JJ, Bilodeau S, et al. Mediator and cohesin connect gene expression and chromatin architecture. *Nature*, 2010, 467: 430-5
- [93] Kean CM, Tracy CJ, Mitra A, et al. Decreasing Wapl dosage partially corrects embryonic growth and brain transcriptome phenotypes in Nipbl^{+/-} embryos. *Sci Adv*, 2022, 8: eadd4136
- [94] Muto A, Calof AL, Lander AD, et al. Multifactorial origins of heart and gut defects in nipbl-deficient zebrafish, a model of Cornelia de Lange syndrome. *PLoS Biol*, 2011, 9: e1001181
- [95] Deardorff MA, Wilde JJ, Albrecht M, et al. RAD21 mutations cause a human cohesinopathy. *Am J Hum Genet*, 2012, 90: 1014-27
- [96] Gu W, Wang L, Gu R, et al. Defects of cohesin loader lead to bone dysplasia associated with transcriptional disturbance. *J Cell Physiol*, 2021, 236: 8208-25
- [97] Avagliano L, Parenti I, Grazioli P, et al. Chromatinopathies: a focus on Cornelia de Lange syndrome. *Clin Genet*, 2020, 97: 3-11
- [98] Barber TD, McManus K, Yuen KW, et al. Chromatid cohesion defects may underlie chromosome instability in human colorectal cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105: 3443-8
- [99] Rocquain J, Gelsi-Boyer V, Adélaïde J, et al. Alteration of cohesin genes in myeloid diseases. *Am J Hematol*, 2010, 85: 717-9
- [100] Solomon DA, Kim T, Diaz-Martinez LA, et al. Mutational inactivation of STAG2 causes aneuploidy in human cancer. *Science*, 2011, 333: 1039-43
- [101] Gan W, Wang W, Li T, et al. Prognostic values and underlying regulatory network of cohesin subunits in esophageal carcinoma. *J Cancer*, 2022, 13: 1588-602
- [102] Zhu HE, Li T, Shi S, et al. ESCO2 promotes lung adenocarcinoma progression by regulating hnRNPA1 acetylation. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40: 64
- [103] Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, et al. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut*, 2017, 66: 683-91
- [104] Siegel RL, Miller KD, Fedewa SA, et al. Colorectal cancer statistics, 2017. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67: 177-93
- [105] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65: 87-108
- [106] Guo XB, Huang B, Pan YH, et al. ESCO2 inhibits tumor metastasis via transcriptionally repressing MMP2 in colorectal cancer. *Cancer Manag Res*, 2018, 10: 6157-66
- [107] Kawauchi S, Calof AL, Santos R, et al. Multiple organ system defects and transcriptional dysregulation in the Nipbl^{+/-} mouse, a model of Cornelia de Lange Syndrome. *PLoS Genet*, 2009, 5: e1000650
- [108] Dorsett D. Gene regulation: the cohesin ring connects developmental highways. *Curr Biol*, 2010, 20: R886-8