

## FGFR2 功能增强对小鼠下颌骨髁突发育影响

梁鑫<sup>1</sup>, 张波<sup>2</sup>, 刘苹<sup>2</sup>, 翁土军<sup>2</sup>, 张莉<sup>2</sup>, 贺龙珠<sup>1</sup>, 李芳菲<sup>2</sup>, 屈晨<sup>1</sup>, 王萍<sup>1</sup>

1. 重庆医科大学附属第一医院口腔科, 重庆 400016;

2. 第三军医大学大坪医院野战外科研究所第四研究室, 重庆 400042

**摘要:** 成纤维细胞生长因子受体 2(Fibroblast growth factor receptor, FGFR2)是参与调控骨骼发育的重要分子, 在调控软骨内成骨过程中发挥着重要作用。为了探讨 FGFR2 功能增强对小鼠下颌骨髁突生长发育的影响, 文章以 FGFR2 功能增强型点突变(*Fgfr2*<sup>+/S252W</sup>)小鼠为研究对象, 采用番红固绿染色研究 *Fgfr2*<sup>+/S252W</sup> 小鼠下颌骨髁突不同生长发育阶段的组织形态; 利用免疫细胞化学染色和实时荧光定量 PCR 方法检测 X 型胶原(*Col X*)在 3 周龄小鼠髁突肥大软骨细胞中的表达。结果显示, 1 周龄、3 周龄和 6 周龄突变型小鼠下颌骨髁突的软骨细胞层宽度都比同窝野生型窄, 钙化软骨细胞层退化时间早, 骨小梁钙化绿染色程度深; *Col X*在突变型小鼠下颌骨髁突的表达高于同窝野生型小鼠( $P<0.001$ )。结果表明, FGFR2 功能增强可导致小鼠下颌骨髁突软骨层组织形态异常, 抑制髁突软骨内成骨, 从而导致下颌骨髁突发育畸形。

**关键词:** 下颌骨; 髁突; 成纤维细胞生长因子受体 2

## A gain-of-function mutation in FGFR2 influences mandibular condylar development on mice

Xin Liang<sup>1</sup>, Bo Zhang<sup>2</sup>, Ping Liu<sup>2</sup>, Tujun Weng<sup>2</sup>, Li Zhang<sup>2</sup>, Longzhu He<sup>1</sup>, Fangfei Li<sup>2</sup>, Chen Qu<sup>1</sup>, Ping Wang<sup>1</sup>

1. Department of Stomatology, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China;

2. Department 4, Daping Hospital, Research Institute of Surgery, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China

**Abstract:** The development of the skeleton is regulated by numerous signaling molecules expressed in epiphyseal cartilage controlling both chondrogenesis and osteogenesis such as fibroblast growth factor receptors (FGFRs). In order to explore the important effect of fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) in the process of mandibular condylar growth, we introduced gain-of-function *Fgfr2*<sup>+/S252W</sup> mice, and investigated mandibular condylar morphology by means of safranin-o/fast green staining at the stage of 1 week, 3 weeks and 6 weeks. The mutant mice displayed narrower width of the mandibular condylar growth plate, stronger stainings of trabecular bone at the stage of 1 week, 3 weeks and 6 weeks and faster degradation of the calcified cartilage cell layer at the stage of 6 weeks. We also assessed the expression of type X collagen (*Col X*) in mandibular condyle at the stage of 3 weeks by immuno-

收稿日期: 2014-10-28; 修回日期: 2015-01-20

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目(973 计划)(编号: 2011CB964701)资助

作者简介: 梁鑫, 硕士, 专业方向: 口腔内科学。E-mail: 654066262@qq.com

通讯作者: 王萍, 博士, 教授, 研究方向: 牙髓根尖周病、口腔颅颌面组织生长发育研究。E-mail: cqcnpw@sina.com

DOI: 10.16288/j.ycz.14-370

网络出版时间: 2015-3-11 9:18:41

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20150311.0918.002.html>

histochemical staining and real-time PCR. The results showed that *Col X* was increased in the mutant mice. In conclusion, the gain-of-function mutation in FGFR2 resulted in histopathological abnormalities and development deformity of mandibular condyle cartilage in mice, which inhibited endochondral bone formation.

**Keywords:** mandibular; condyle; fibroblast growth factor receptor 2

下颌骨髁突的发育由软骨内成骨完成<sup>[1]</sup>。软骨内成骨受多种生长因子介导的信号通路调控, 其中成纤维细胞生长因子(Fibroblast growth factors, FGFs)是参与软骨内成骨的重要分子<sup>[2]</sup>。FGFs 需与其特异性的受体 FGFR(Fibroblast growth factor receptor)1~4<sup>[3]</sup>结合才能发挥功能。

Apert 综合征(Apert syndrome, AS)是一种常见的人类颅缝早闭综合征, 以冠状缝早闭、颅颌面部畸形、下颌反颌畸形、侏儒和并指/趾为典型体征。研究表明, AS 主要由两种 FGFR2 功能增强型点突变, 即 *Fgfr2* Ser252Trp 或者 Pro253Arg 突变引起, 其中 66%的 AS 由 *Fgfr2* Ser252Trp 突变引起<sup>[4]</sup>。*Fgfr2*<sup>+/S252W</sup>小鼠为 *Fgfr2* Ser252Trp 突变小鼠, 该突变小鼠导致 FGFR2 与配体结合的范围扩大, 从而使靶细胞的 FGFR2 功能持续增强<sup>[5]</sup>。

*Fgfr2*<sup>+/S252W</sup> 突变小鼠有明显的颅颌面畸形, 类似人类 Apert 综合征颅骨表型, 即圆颅和短颅畸形, 同时伴有严重的反颌畸形。*Fgfr2*<sup>+/S252W</sup> 小鼠是研究 AS 患者下颌反颌畸形的良好动物模型<sup>[6]</sup>。本研究选用不同生长发育阶段的 *Fgfr2*<sup>+/S252W</sup> 小鼠为研究对象, 通过对 *Fgfr2*<sup>+/S252W</sup> 小鼠及同窝野生型小鼠的下颌骨髁突进行组织学及分子生物学对比研究, 探索 FGFR2 功能增强对下颌骨髁突发育的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物

*Fgfr2*<sup>+/S252W-neo</sup> 小鼠购自美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)。*EIIA-Cre*、C57BL/6J 小鼠由解放军第三军医大学大坪医院实验动物中心提供。*Fgfr2*<sup>+/S252W</sup> 小鼠由 *Fgfr2*<sup>+/S252W-neo</sup> 小鼠和 *EIIA-Cre* 小鼠交配后获得。所有小鼠遗传背景皆为 C57BL/6J; 所有小鼠均为 SPF 级。

1.2 方法

1.2.1 引物设计

小鼠基因型鉴定及实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)所需引物由上海生工生物工程股份有限公司合成。引物序列见表 1。

1.2.2 *Fgfr2*<sup>+/S252W</sup> 模型小鼠的保种繁殖

*Fgfr2*<sup>+/S252W-neo</sup> 小鼠和 *EIIA-Cre* 小鼠进行交配, 子代将获得约 1/4 数量的 *Fgfr2*<sup>+/S252W</sup> 小鼠, 通过基因型鉴定明确为 *Fgfr2*<sup>+/S252W</sup> 突变小鼠后进行后续实验。*Fgfr2*<sup>+/S252W-neo</sup> 小鼠和 *EIIA-Cre* 小鼠分别与 C57BL/6J 野生型小鼠交配得以繁殖<sup>[7]</sup>。

表 1 小鼠基因型鉴定及 qRT-PCR 引物序列

用途	基因	引物序列(5'→3')	产物长度(bp)
小鼠基因型鉴定	<i>Cre</i>	C <sub>1</sub> : GCC TGC ATT ACC GGT CGA TGC	481
		C <sub>2</sub> : CAG GGT GTT ATA AGC AAT CCC	
	<i>neo</i>	R <sub>2</sub> -7R <sub>2</sub> : TTG ATC CAC TGG ATG TGG GGC	400
		RINA: CCA GAC TGC CTT GGG AAA AGC	
qRT-PCR	<i>Fgfr2</i> <sup>+/S252W</sup>	R <sub>2</sub> -7R <sub>2</sub> : TTG ATC CAC TGG ATG TGG GGC	520/460
		R2I6F1: TAG GTA GTC CAT AAC TCG G	
	<i>Col X</i>	F: GCA GCA TTA CGA CCC AAG AT	190
		R: CAT GAT TGC ACT CCC TGA AG	
	<i>GAPDH</i>	F: GGT GAA GGT CGG TGT GAA CG	233
		R: CTC GCT CCT GGA AGA TGG TG	

### 1.2.3 小鼠基因型鉴定

分别剪取出生 10 d 的 *EIIA-Cre*、*Fgfr2*<sup>+/S252W-neo</sup>、*Fgfr2*<sup>+/S252W</sup> 小鼠脚趾, 经组织提取获得各自的基因组 DNA。分别对 *Cre* 基因、*neo* 基因、*Fgfr2*<sup>+/S252W</sup> 小鼠基因组的突变位点进行 PCR 扩增。PCR 扩增体系(PCR Amplification Kit (R011), TaKaRa)包括: 2×PCR mix 10 μL, 上游引物 0.5 μL, 下游引物 0.5 μL, DNA 1 μL, 超纯水补足体积 20 μL。扩增条件: 94℃ 预变性 4 min; 94℃ 30 s, 58℃ 30 s, 72℃ 30 s, 共 35 个循环; 72℃ 延伸 10 min。扩增后进行琼脂糖凝胶电泳, 凝胶自动成像仪记录电泳图谱。

### 1.2.4 番红固绿染色

选取 1 周龄、3 周龄和 6 周龄 *Fgfr2*<sup>+/S252W</sup> 小鼠及同窝对照野生型小鼠各 3 只, 取右侧下颌骨固定、脱钙、酒精梯度脱水、二甲苯透明、包埋、切片。常规石蜡切片脱蜡、复水, 番红 O (Sigma, USA) 染色, 流水冲洗, 固绿(上海生工生物工程技术有限公司)染色, 冰醋酸快速漂洗, 流水冲洗, 常规脱水、透明、封片, 光学显微镜下观察。

### 1.2.5 免疫细胞化学染色

选取 3 周龄 *Fgfr2*<sup>+/S252W</sup> 小鼠及同窝对照野生型小鼠各 5 只, 取右侧下颌骨固定、脱钙、脱水、透明、包埋、切片。常规石蜡切片脱蜡、复水, 参照试剂盒说明书(SP9001, 北京中杉金桥生物技术有限公司)SP 法进行抗 *Col X* (Rabbit polyclonal against mouse(ab58632), Abcam) 免疫细胞化学染色, DAB 显色, 苏木精复染, 常规脱水、透明、封片, 光学显微镜下观察。

### 1.2.6 实时荧光定量 PCR 检测基因表达

选取 3 周龄 *Fgfr2*<sup>+/S252W</sup> 小鼠及同窝对照野生型小鼠各 5 只, 解剖显微镜下分离得到小鼠右侧下颌骨髁突软骨层, 提取总 RNA (TRIzol, Invotrogen), 逆转录成 cDNA, 检测软骨晚期标志基因 *Col X* 表达情况。PCR 扩增体系: 2×master mix 10 μL, 上游引物 0.4 μL, 下游引物 0.4 μL, cDNA 2 μL, ROX 0.2 μL, ddH<sub>2</sub>O 7 μL (SYBR® Premix Ex Taq™ II (RR820A), TaKaRa)。扩增条件: 95℃ 预变性 30 s; 95℃ 5 s, 57℃ 30 s, 40 个循环; 95℃ 15 s, 57℃ 30 s 至 95℃ 15 s 连

续扫描, 0.2℃/s 进行溶解曲线分析。以内参基因(*GAPDH*)进行校正。每次做 3 个复孔, 每个基因重复 3 次。

### 1.2.7 统计学处理

*Col X* 免疫细胞化学染色阳性细胞的积分光密度值(OD)及 mRNA 表达结果以均值±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析, 对两样本均数比较采用成组 *t* 检验方法。P<0.05 为有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 PCR 产物电泳鉴定结果

电泳结果显示: 位于 481 bp 处有单一条带鉴定为 *EIIA-Cre* 小鼠, 无条带的为野生型小鼠(图 1A);

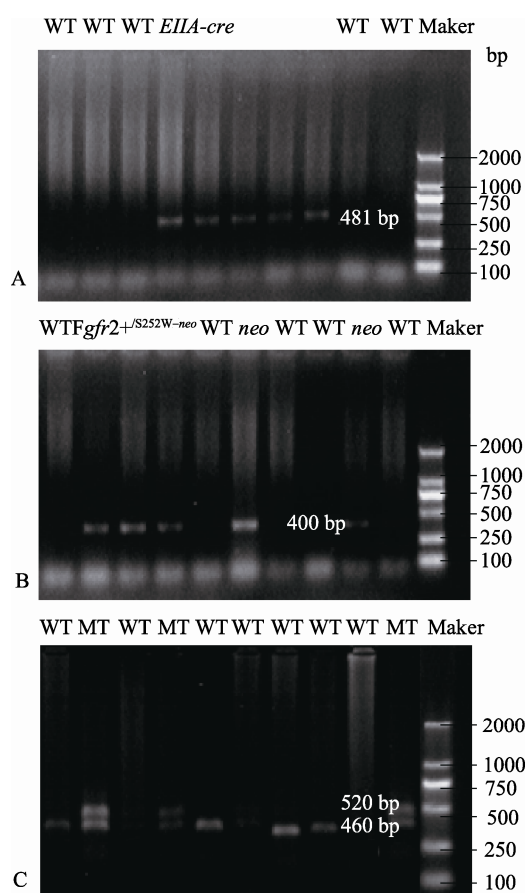


图 1 小鼠基因型鉴定电泳图

A: *EIIA-cre* 小鼠基因型鉴定结果(481 bp), 无条带为野生型小鼠; B: *Fgfr2*<sup>+/S252W-neo</sup> 小鼠基因型鉴定结果(400 bp), 无条带为野生型小鼠; C: *Fgfr2*<sup>+/S252W</sup> 小鼠基因型鉴定结果(520 bp/460 bp), 无条带及单条带者皆为野生型小鼠。MT: *Fgfr2*<sup>+/S252W</sup> 小鼠; WT: 野生型小鼠。

位于 400 bp 处有单一条带鉴定为  $Fgfr2^{+/S252W-neo}$  小鼠, 无条带的为野生型小鼠(图 1B); 位于 460 bp 处和 520 bp 处出现双条带鉴定为  $Fgfr2^{+/S252W}$  小鼠, 无条带及单条带的为野生型小鼠(图 1C)。

## 2.2 $Fgfr2^{+/S252W}$ 小鼠颅颌面观察

与同窝野生型小鼠相比,  $Fgfr2^{+/S252W}$  小鼠有明显的反颌畸形, 下颌过度前伸, 上下颌咬合关系异常; 同窝野生型小鼠表现为正常的咬合关系(图 2)。

## 2.3 $Fgfr2^{+/S252W}$ 小鼠髌突组织学观察

出生早期(1 周龄)(图 3: A, B), 野生型小鼠下颌骨髌突软骨分层清楚, 排列有序, 从表面纤维层到肥大软骨细胞层可见细胞由扁平逐渐向椭圆形、圆形过渡, 大而圆的肥大软骨细胞整齐排列于软骨下骨化中心上方。  $Fgfr2^{+/S252W}$  小鼠下颌骨髌突软骨细胞分层清楚, 但各层细胞排列不整齐, 特别是肥大软骨细胞层和钙化软骨细胞层, 软骨层厚度较野生型小鼠窄。  $Fgfr2^{+/S252W}$  小鼠的肥大软骨细胞大小不一, 部分细胞可见细胞核消失, 与钙化软骨细胞层界限不清; 钙化软骨细胞层软骨基质已部分钙化绿染, 且染色程度较野生型小鼠深。小鼠生长发育中期(3 周龄)(图 3: C, D),  $Fgfr2^{+/S252W}$  小鼠髌突软骨细胞层厚度较野生型小鼠明显变薄, 钙化软骨细胞层仅部分残留, 髌突软骨下骨化中心骨小梁结构较野生型更粗壮成熟。小鼠生长发育晚期(6 周龄)(图 3: E, F), 可明显观察到  $Fgfr2^{+/S252W}$  小鼠软骨细胞层

更窄, 增殖层和肥大层软骨细胞数量明显减少, 而钙化软骨细胞层已完全被骨组织替代, 骨小梁形态粗壮成熟。

## 2.4 免疫组化检测 $Fgfr2^{+/S252W}$ 小鼠髌突 $Col X$ 表达

采用 Image-pro Plus 6.0 图像分析软件对 3 周龄  $Fgfr2^{+/S252W}$  小鼠和野生型小鼠髌突表达  $Col X$  的阳性细胞进行积分光密度值(OD)分析, 结果表明  $Fgfr2^{+/S252W}$  小鼠  $Col X$  的表达明显高于野生型小鼠 ( $P<0.001$ )(图 4: A, B, C)。

## 2.5 $Fgfr2^{+/S252W}$ 小鼠髌突 $Col X$ mRNA 的表达

3 周龄  $Fgfr2^{+/S252W}$  小鼠下颌骨髌突  $Col X$  mRNA 的表达较野生型小鼠明显上调 ( $P<0.001$ )(图 4: D)。

## 3 讨论

下颌骨髌突发育由软骨内成骨完成<sup>[1]</sup>。全身骨骼除了颅骨和锁骨等扁骨外, 其他大部分的骨骼都是通过软骨内成骨发育形成。在这种成骨方式中, 间充质细胞分化为软骨细胞, 然后软骨细胞增殖、分化并有序排列形成生长板, 最后软骨组织被骨组织替代形成骨骼<sup>[8]</sup>。其中生长板软骨细胞的分化从静息软骨细胞开始, 逐渐分化为增殖软骨细胞, 最后分化为肥大软骨细胞<sup>[9]</sup>。

髌突软骨是覆盖于下颌骨髌突表面的一层结缔组织, 由纤维软骨组成。髌突软骨有其特有的“层域化”结构<sup>[10]</sup>, 各层界限分明, 从外到里依次为: 表面纤维层, 增殖浅层, 增殖深层, 肥大软骨细胞层, 钙化软骨细胞层。增殖层细胞具有增殖分化功能, 是髌突生长发育的细胞来源; 肥大软骨细胞是软骨内成骨过程中最为活跃的细胞, 是调节骨生长的重要细胞; 它是终末软骨细胞, 可以诱导血管生成、调节软骨基质的钙化、最终引导骨组织生成<sup>[9]</sup>。X 型胶原( $Col X$ )是肥大软骨细胞特异性合成的胶原, 是肥大软骨细胞特有的标志蛋白, 在软骨内成骨过程中发挥着重要作用<sup>[11]</sup>。髌突软骨细胞层对颞下颌关节的发育及咬合关系的建立有着重要影响。

近年来大量研究发现 FGF 信号与骨骼发育及疾病有密切关系, 其中 FGFR1-3 突变可导致颅缝早闭、颅颌面畸形、软骨发育不良等人类骨骼发育疾病<sup>[12]</sup>。Yasuda 等<sup>[13]</sup>报道  $Fgfr3$  P244R 点突变可导致颞下颌关节髌突发育缺陷。  $Fgfr2$  不同位点突变可导致各种



图 2 突变型小鼠(MT( $Fgfr2^{+/S252W}$ ))和同窝对照野生型小鼠(WT)颅颌面观察

左侧突变型小鼠上下颌咬合关系异常, 而右侧野生型小鼠上下颌咬合关系正常。黑色箭头指向上切牙。



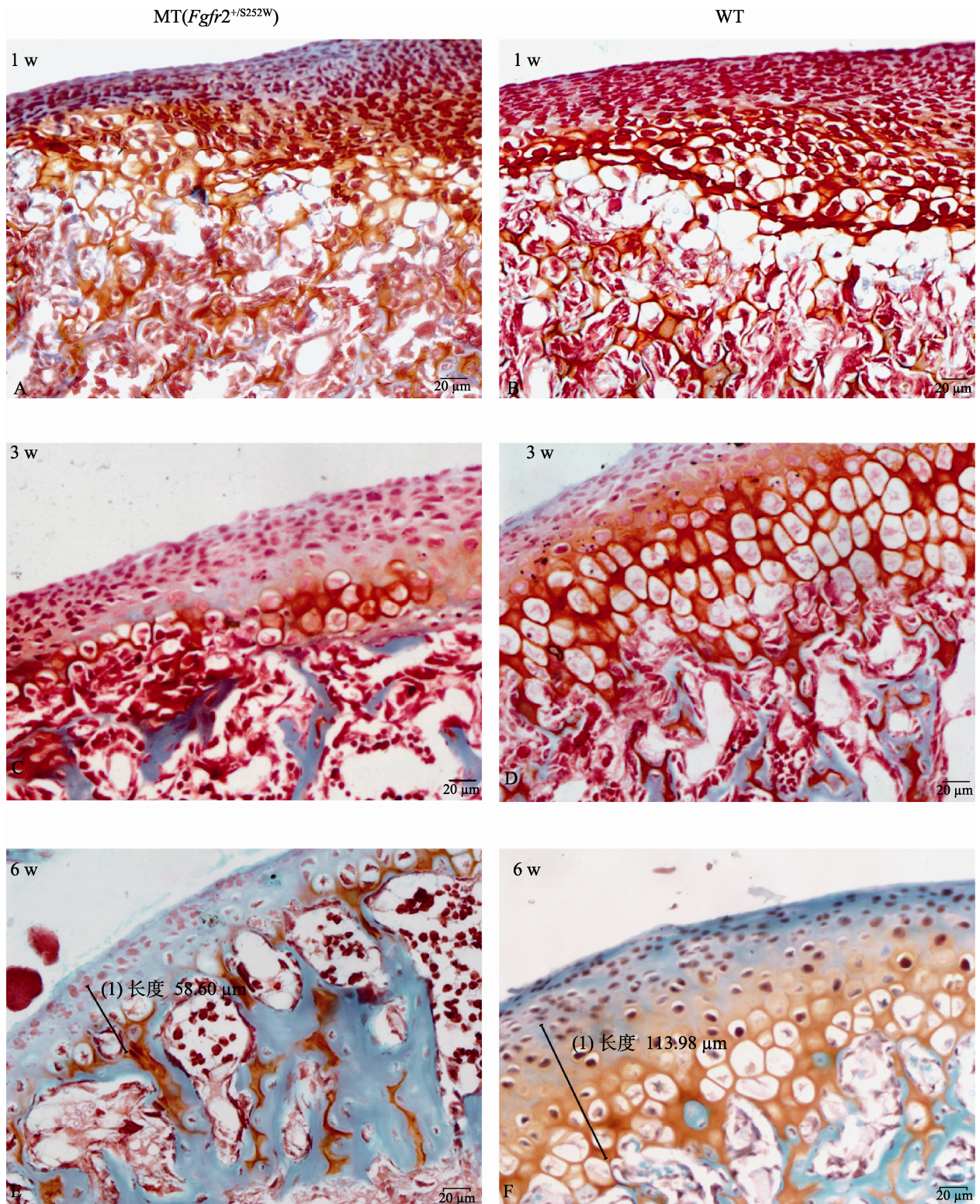


图 3 突变型小鼠(MT(*Fgfr2*<sup>+/S252W</sup>))和同窝对照野生型小鼠(WT)髁突番红固绿染色

A, C, E: 突变型小鼠髁突组织切片; B, D, F: 野生型小鼠髁突组织切片。A, B: 1 周龄小鼠; C, D: 3 周龄小鼠; E, F: 6 周龄小鼠。放大倍数:  $\times 400$ ; bar: 20  $\mu\text{m}$ 。



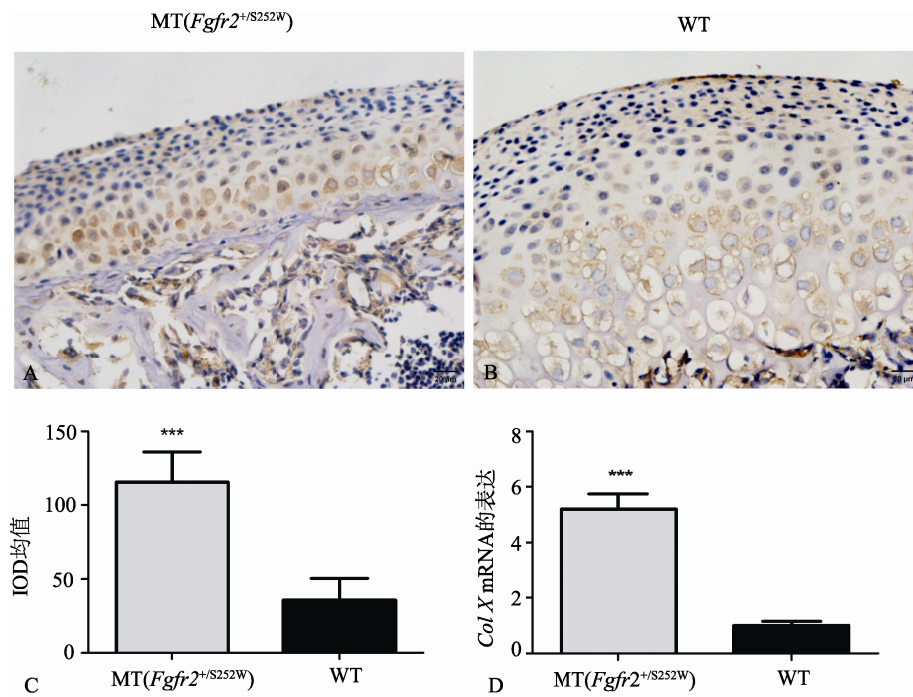


图 4 突变型小鼠(MT(*Fgfr2*<sup>+/S252W</sup>))和同窝对照野生型小鼠(WT)髁突 *Col X* 的表达

A: 3 周龄突变型小鼠髁突 *Col X* 免疫细胞化学染色; B: 3 周龄野生型小鼠髁突 *Col X* 免疫细胞化学染色; C: 3 周龄突变型和野生型小鼠髁突 *Col X* 阳性细胞的积分光密度值(IOD)统计(n=5); D: 3 周龄突变型和野生型小鼠髁突 *Col X* mRNA 的表达(n=3)。放大倍数: ×400; bar: 20 μm; \*\*\*:  $P<0.001$ 。

遗传疾病, 如 Apert 综合征(AS)<sup>[4]</sup>、Crouzon 综合征(CS)<sup>[14]</sup>和 Pfeiffer 综合征(PS)<sup>[15]</sup>等, 患者颌面部均表现出明显的反颌畸形。因此 FGFR2/FGFs 信号通路在调控下颌骨髁突发育中有着至关重要的作用。

本文分别对 *Fgfr2*<sup>+/S252W</sup> 小鼠和野生型小鼠 3 个不同生长阶段的下颌骨髁突进行组织学研究, *Fgfr2*<sup>+/S252W</sup> 小鼠髁突软骨细胞层厚度窄于野生型小鼠, 表明 FGFR2 功能增强可使小鼠髁突软骨细胞生长受到抑制。*Fgfr2*<sup>+/S252W</sup> 小鼠髁突钙化软骨细胞层较同发育时期的野生型小鼠更早退化, 髁突骨小梁较野生型小鼠更早形成, 由此可见, FGFR2 功能增强可导致小鼠髁突生长发育周期变短。同时 *Fgfr2*<sup>+/S252W</sup> 小鼠髁突 *Col X* 的表达高于野生型小鼠, 表明 FGFR2 功能增强型小鼠的肥大软骨细胞活性强于野生型小鼠, 髁突软骨组织更快骨化。

综上所述, FGFR2 功能增强可抑制髁突各层软骨细胞增生, 并活肥大软骨细胞, 导致髁突软骨下骨化中心的骨小梁提早骨化, 较野生型小鼠更早停止生长发育, 从而使 *Fgfr2*<sup>+/S252W</sup> 小鼠的下颌骨髁突发育异常, 呈现出反颌畸形。有关 FGFR2/FGFs

信号通路对下颌骨髁突发育影响的具体调控机制将在后续实验中进一步研究。

## 参考文献

- [1] Martín AE, del R Pani M, Holgado NR, López Miranda LI, Meheris HE, Garat JA. Facial development disorders due to inhibition to endochondral ossification of mandibular condyle process caused by malnutrition. *Angle Orthod*, 2014, 84(3): 473–478. [\[DOI\]](#)
- [2] Xie YL, Zhou SR, Chen HG, Du XL, Chen L. Recent research on the growth plate: Advances in fibroblast growth factor signaling in growth plate development and disorders. *J Mol Endocrinol*, 2014, 53(1): T11–T34. [\[DOI\]](#)
- [3] Itoh N, Ornitz DM. Evolution of the *Fgf* and *Fgfr* gene families. *Trends Genet*, 2004, 20(11): 563–569. [\[DOI\]](#)
- [4] Lajeunie E, Cameron R, El Ghouzzi V, De Parseval N, Journeau P, Gonzales M, Delezoide AL, Bonaventure J, Le Merrer M, Renier D. Clinical variability in patients with Apert's syndrome. *J Neurosurg*, 1999, 90(3): 443–447. [\[DOI\]](#)
- [5] Yu K, Ornitz DM. Uncoupling fibroblast growth factor receptor 2 ligand binding specificity leads to Apert syn-

- drome-like phenotypes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(7): 3641–3643. [\[DOI\]](#)
- [6] Wang YL, Xiao R, Yang F, Karim BO, Iacovelli AJ, Cai JL, Lerner CP, Richtsmeier JT, Leszl JM, Hill CA, Yu K, Ornitz DM, Elisseeff J, Huso DL, Jabs EW. Abnormalities in cartilage and bone development in the Apert syndrome  $FGFR2^{+/S252W}$  mouse. *Development*, 2005, 132(15): 3537–3548. [\[DOI\]](#)
- [7] Chen L, Li D, Li CL, Engel A, Deng CX. A *Ser252Trp* substitution in mouse fibroblast growth factor receptor 2 (*Fgfr2*) result in craniosynostosis. *Bone*, 2003, 33(2): 169–178. [\[DOI\]](#)
- [8] Kronenberg HM. Developmental regulation of the growth plate. *Nature*, 2003, 423(6937): 332–336. [\[DOI\]](#)
- [9] Zuscik MJ, Hilton MJ, Zhang XP, Chen D, O’Keefe RJ. Regulation of chondrogenesis and chondrocyte differentiation by stress. *J Clin Invest*, 2008, 118(2): 429–438. [\[DOI\]](#)
- [10] 谷志远, 胡莹, 张银凯, 冯剑颖, 胡济安. 髁突软骨的细胞分层及其功能研究. 中华口腔医学杂志, 2004, 39(5): 366. [\[DOI\]](#)
- [11] Schmid TM, Linsenmayer TF. Immunohistochemical localization of short chain cartilage collagen (type X) in avian tissues. *J Cell Biol*, 1985, 100(2): 598–605. [\[DOI\]](#)
- [12] Ornitz DM, Marie PJ. FGF signaling pathways in endochondral and intramembranous bone development and human genetic disease. *Genes Dev*, 2002, 16(12): 1446–1465. [\[DOI\]](#)
- [13] Yasuda T, Nah HD, Laurita J, Kinumatsu T, Shibukawa Y, Shibutani T, Minugh-Purvis N, Pacifici M, Koyama E. Muenke syndrome mutation, *fgfr3*<sup>P244R</sup>, causes TMJ defects. *J Dent Res*, 2012, 91(7): 683–689. [\[DOI\]](#)
- [14] Lin Y, Ai SM, Chen C, Liu XL, Luo LX, Ye SB, Liang XW, Zhu Y, Yang HS, Liu YZ. Ala344Pro mutation in the *Fgfr2* gene and related clinical findings in one Chinese family with Crouzon syndrome. *Mol Vis*, 2012, 18: 1278–1282. [\[DOI\]](#)
- [15] Lajeunie E, Ma HW, Bonaventure J, Munnich A, Le Merrer M, Renier D. *FGFR2* mutations in Pfeiffer syndrome. *Nat Genet*, 1995, 9(2): 108. [\[DOI\]](#)

(责任编辑: 吴强)