

综述

ZC4H2基因突变导致神经系统异常的分子机制

朱德好¹, 颜景斌^{1,2*}¹上海市儿童医院, 上海交通大学医学院附属儿童医院, 上海医学遗传研究所, 上海 200040;²国家卫健委医学胚胎分子生物学重点实验室, 上海市胚胎与生殖工程重点实验室, 上海 200040)

摘要: 锌指C4H2(zinc finger C4H2-type containing, *ZC4H2*)基因位于Xq11.2, 其突变会导致一组以神经系统发育迟缓、多发性关节挛缩、进行性肌肉萎缩及多种先天畸形为临床特征的多系统受累的罕见遗传病, 对于神经系统的影响较为深远且危害较大, 但*ZC4H2*基因突变导致神经系统异常的分子机制尚未完全阐明。本综述介绍了*ZC4H2*基因在神经系统发育中的作用, 并重点讨论该基因突变导致神经系统异常的最新进展, 为后续研究提供参考。

关键词: ZC4H2; ZARD; 神经系统异常; 神经发育障碍

The molecular mechanism of neurological abnormalities caused by *ZC4H2* gene mutation

ZHU Dehao¹, YAN Jingbin^{1,2*}

¹Shanghai Institute of Medical Genetics, Shanghai Children's Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200040, China; ²NHC Key Laboratory of Medical Embryogenesis and Developmental Molecular Biology & Shanghai Key Laboratory of Embryo and Reproduction Engineering, Shanghai 200040, China)

Abstract: Zinc finger C4H2-type containing (*ZC4H2*) gene locates at Xq11.2, and its mutations can lead to a group of rare genetic diseases with multi-system involvement characterized by nervous system development delay, multiple joint contractures, progressive muscle atrophy, and a variety of congenital malformations. The disease has a profound and harmful effect on the nervous system, but the molecular mechanism of *ZC4H2* gene mutation caused neurological abnormalities has not been fully elucidated. This review introduced the role of *ZC4H2* gene in the nervous system development, and focused on the latest progress in neurological abnormalities caused by mutations of this gene, which will be helpful for future research.

Key Words: ZC4H2; ZARD; neurologic abnormality; neurodevelopmental disorder

遗传病是由于遗传物质发生改变诱发的疾病, 通常会导致新生儿出生缺陷, 进而造成婴儿的死亡和残疾, 研究表明, 中国每年有4%~6%的新生儿受到出生缺陷的影响^[1]。遗传性因素也是罕见病的重要原因。有研究报道, 罕见病累积患病率估

计为3.5%~5.9%, 其中约80%由遗传因素导致^[2]。

目前, 以“人类孟德尔在线遗传”的形式记录在“人类孟德尔遗传”目录中的遗传原因的表型或疾病有8 000多种。疾病的临床表现包括各种各样的症状和体征, 从仅影响身体一部分的轻度特

收稿日期: 2024-04-03

基金项目: 上海市临床重点专科项目

第一作者: E-mail: zdh1246010@163.com

*通信作者: E-mail: 18917128323@163.com

征到涉及多器官系统的严重表现。神经系统遗传病会导致智力障碍、癫痫和运动功能障碍等临床症状^[3]。

位于X染色体上的锌指C4H2(zinc finger C4H2-type containing, *ZC4H2*)基因突变会导致一组多器官、系统受累的综合征, 从而造成新生儿严重的出生畸形甚至死亡。神经系统的异常是该综合征较为突出和特征性的临床表现。本文综述了*ZC4H2*基因和其突变导致神经系统异常的分子机制研究, 希望为后续的进一步研究和疾病诊疗提供帮助。

1 *ZC4H2*基因及其相关的罕见病

*ZC4H2*基因位于Xq11.2, 全长118 940 bp, 包括5个外显子和4个内含子。目前已知有5个转录本, 其中4个转录mRNA, 1个转录非编码RNA。*ZC4H2*基因在胚胎发生过程中表达水平最高, 出生后mRNA水平下降^[4], 该基因在全身多器官、组织中均有表达。*ZC4H2*蛋白又称为肝细胞癌相关抗原127, 是在利用自身抗体大规模鉴定人类肝细胞癌抗原中发现的^[5]。*ZC4H2*蛋白全长包含224个氨基酸, 包括一个位于C端的锌指结构域(包含4个半胱氨酸残基和2个组氨酸残基), 以及一个卷曲螺旋结构域一个推测的核定位信号^[4,6,7]。

*ZC4H2*基因的变异包括错义突变、无义突变、插入突变、缺失突变及移码突变等多种类型。在女性病例中主要分为两类: 截短型和非截短型。而在男性病例中未出现截短变异的报告, 出现这种情况可能是因为截短的变体在男性中多为致死性的, 而女性杂合子病患症状相对温和^[8]。这是由于*ZC4H2*基因位于X染色体, 女性杂合个体由于X染色体随机失活而出现嵌合表型。据目前的报道来看, 大多数错义变体位置都聚集在*ZC4H2*蛋白的卷曲螺旋和锌指结构域内^[9]。

*ZC4H2*基因突变会引起一组以神经系统发育迟缓、智力障碍、多发性关节挛缩、进行性肌肉萎缩及多种先天畸形为临床特征的多系统受累的罕见遗传病。Wieacker等^[10]在1985年第一次报道了这种X染色体隐性遗传的综合征, 后被命名为Wieacker-Wolff综合征。2013年, 研究发现锌指基因*ZC4H2*是该综合征的致病基因^[4]。其后也有报道类似临床表型的综合征, 称为Miles-Carpenter综合

征^[11], 以及一类主要以女性严重变异为主的综合征, 称之为女性限制型Wieacker-Wolff综合征^[7,12-14]。后续研究证实, 这些综合征均是由*ZC4H2*基因突变引起的^[15]。Wieacker-Wolff综合征、女性限制型Wieacker-Wolff综合征和Miles-Carpenter综合征统称为*ZC4H2*相关罕见病(*ZC4H2-associated rare disorders, ZARD*)。

ZARD是一组累及多系统、多组织的疾病, 临床表现涉及中枢、外周神经系统, 精神、语言发育, 运动系统及先天性多发的畸形, 并伴有呼吸、消化、内分泌系统的并发症^[9,16-18]。最为常见和特征性表现为先天性多发性关节挛缩(*arthrogryposis multiplex congenita, AMC*)和神经发育障碍(*neurodevelopmental disorders, NDDs*)。

目前, 有关*ZC4H2*基因突变引起的神经系统异常的研究已经有了一定进展, 通过对*ZC4H2*的相关分子机制研究寻找基因变异和临床表现间的关系, 不仅能帮助我们弄清*ZC4H2*在生物体内的作用机理, 也能为后续的ZARD的诊疗提供方向和思路。

2 *ZC4H2*基因突变导致神经系统异常的分子机制

虽然已经知道*ZC4H2*基因是导致ZARD的病因, 但致病机制却仍未完全明确。目前已有多项研究表明, *ZC4H2*能通过不同的作用途径影响胚胎中的神经发育过程。

2.1 *ZC4H2*在神经系统中的表达

已有多项研究表明, *ZC4H2*能在神经系统中表达, 并影响神经系统的发育和相关功能。2013年, Hirata等^[4]首先通过分析五个家族和三个不相关的单纯性病例, 发现了*ZC4H2*的致病突变会导致该疾病的发生。随后在小鼠和斑马鱼的动物模型中, 他们发现*ZC4H2*基因能在整个大脑和脊髓中高表达。而且, 在不同发育阶段的小鼠脑组织中的表达研究表明, *ZC4H2*的表达在胚胎发育时期最高, 在出生后出现下降^[4,19,20]。同样的, 与未成熟的神经元相比, *ZC4H2*的表达在小鼠的成熟神经元中显著下降。随后, Hirata等^[4]发现*ZC4H2*定位于兴奋性突触的突触后区室, 通过敲低*ZC4H2*基因, 能导致突触数量和密度显著降低。这些结果表明,

*ZC4H2*与神经系统发育和成熟密切相关,*ZC4H2*基因的突变影响神经树突棘的密度,从而造成神经系统异常的表现。

斑马鱼和小鼠是研究*ZC4H2*基因突变导致的神经系统异常最常用的模式动物。*ZC4H2*突变的斑马鱼表型较为明显,通常以异常的游泳姿势为主,伴有眼球运动缺陷、胸鳍挛缩等异常。在2015年的一项研究中,发现*ZC4H2*基因的突变能导致大脑和脊髓中V2中间神经元的特异性缺失,以及中脑被盖中GABA能神经元缺失,从而影响许多脑和脊髓回路的连接^[19]。Ma等^[20]观察到在整个胚胎发育期,中枢神经系统中均能检测到*ZC4H2*转录物,包括E8.5、E9.5和E10.5的小鼠胚胎中从端脑到脊髓的区域。

同样的,May等^[19]在人类胎儿组织中鉴定出2种*ZC4H2*的转录物。长转录本编码224个氨基酸残基,而短转录本则缺少了外显子1,编码201个氨基酸。两种转录物都在大脑中表达,短转录本的表达水平较高,并且在大脑和脊髓的所有区域都高度表达。长转录本在所有区域均表达较弱,在下丘脑、脑桥和延髓表达较高。

目前,已知*ZC4H2*基因在全身多器官、组织中都有表达(<https://www.proteinatlas.org/ENSG00000126970-ZC4H2/tissue>)。从上述报道可知,*ZC4H2*在早期胚胎发育时就已经在神经系统

中表达,并且当出现基因突变时,会观察到中枢和外周神经系统的结构和功能的明显异常。

2.2 *ZC4H2*影响神经发育的分子机制研究

近年来的多项研究初步阐述了*ZC4H2*如何通过与特异的分子、信号通路作用进而影响神经发育(图1),有助于进一步了解*ZC4H2*基因突变的致病机制。

2.2.1 *ZC4H2*通过BMP/Smads信号途径影响非洲爪蟾的神经发育

骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)属于转化生长因子b超家族,在调节干细胞的维持、分化和胚胎发育的过程中起着至关重要的作用^[21-23]。而BMP信号传导是通过Smad(抗生物皮肤生长因子的信号源)级联传递,Smad蛋白通过可逆的磷酸化和泛素化在转录后进行调节。已有报道表明,BMP/Smads信号传导能在外胚层形成中起关键作用,并抵消新生外胚层中固有的神经诱导程序^[24,25]。Ma等^[26]发现,*ZC4H2*能在非洲爪蟾胚胎原肠胚形成前/形成时在动物半球和外胚层组织中表达,以及原肠胚形成后胚胎建立体轴时在神经特异性外胚层中表达。并通过敲低*ZC4H2*基因,发现这能影响非洲爪蟾胚胎早期外胚层的形成,再通过实验中Id1-Luc报告基因表达水平的变化,表明*ZC4H2*参与了非洲爪蟾动物帽中的BMP信号传导。

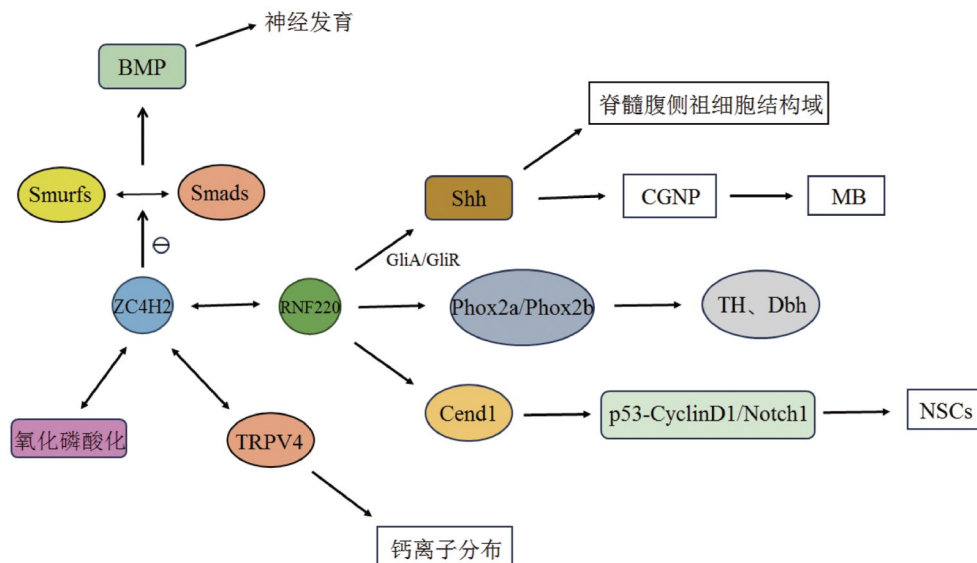


图1 *ZC4H2*影响神经发育的分子机制

进一步实验还发现, ZC4H2能减少Smad1/5和Smurf蛋白之间的相互作用。其与ZC4H2的相互作用机制有两种推断, 一是可能通过阻断Smurfs间相互作用或者破坏Smurfs相互作用所需的Smads构象, 二是Smurfs靶向的Smads中的赖氨酸残基也可能与ZC4H2相互作用而被掩盖。并且, 他们从智力障碍患者中分离出一组ZC4H2突变显示出较弱的Smad稳定活性, 这些都表明ZC4H2-Smad相互作用可能有助于人类的正常神经发育^[26]。因此, ZC4H2通过减少Smad1和Smad5蛋白与Smurf泛素连接酶的结合, 减少其泛素化, 从而结合和稳定Smad1和Smad5蛋白, 进而经由BMP信号传导参与非洲爪蟾的神经发育。

2.2.2 ZC4H2与RNF220的相互作用

RNF220是一种RING型泛素E3连接酶, 能通过泛素化作用调节多种细胞功能。泛素化过程主要通过E1活化酶、E2偶联酶和E3连接酶组成的三酶级联催化来发挥作用, E3连接酶是其中的关键部分, 控制着泛素化的效率和底物特异性^[27]。E3泛素连接酶与胚胎发育和神经发育息息相关^[28]。通过酵母双杂交筛选及免疫共沉淀实验, 已鉴定出ZC4H2蛋白与RNF220蛋白相互作用^[20,29]。

ZC4H2能作为RNF220的稳定剂, 影响神经系统的发育形成, 甚至决定神经细胞的命运。在胚胎发育的早期, 脊髓的腹侧祖细胞结构会受到Sonic Hedgehog(Shh)信号的调节, 从而形成五个结构域, 分别产生V0、V1、V2、运动神经元(motor neuron, MN)和V3神经元^[30,31]。RNF220通过限制细胞核中的有效转录激活因子(GliA)和阻遏因子(GliR)水平, 微调Gli梯度^[32], 进而形成Shh信号沿着腹-背轴的递减梯度^[33]。ZC4H2则能稳定RNF220, 降低其多泛素化水平, 进而调节Shh/Gli信号传导。并且发现RNF220和ZC4H2的缺失会导致腹侧细胞结构域(V3)的背侧扩张和中间神经元(V0)的腹侧扩张, 同时减少了它们之间的中间神经元和运动神经元(V1、V2和MN)^[20,29]。另一方面, Shh信号能刺激小脑颗粒神经元祖细胞(cerebellar granule neural progenitor cells, CGNP)的增殖^[34,35], 而Shh信号的过度激活或失调突变, 会改变CGNP的发育, 使其具有过度增殖性, 容易恶性转化为髓母细胞瘤(medulloblastoma, MB)^[36,37]。

在这一过程中, RNF220能通过调节Gli靶基因的表观调控因子EED的稳定性发挥功能。ZC4H2能作为RNF220稳定剂, 来完全激活CGNP和MB细胞增殖中的Shh信号。同时, 泛素E3连接酶的RING-finger LIM结构域结合蛋白能通过介导ZC4H2的多泛素化, 进而稳定ZC4H2^[38]。

ZC4H2也能通过和RNF220相互作用, 级联作用于特定的因子和信号途径, 从而调控神经系统的发育。去甲肾上腺素属于单胺类系统, 其神经元在中枢神经系统中主要位于脑干, 分别为蓝斑组(A6)、核下组和其他四组(A1、A2、A5和A7)^[39]。同源结构域转录因子Phox2a和Phox2b在LC-NA神经元中直接控制酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, Th)和多巴胺-β-羟化酶(dopamine-β-hydroxylase, Dbh)的表达, 这两种关键酶负责去甲肾上腺素的生物合成^[40-42]。Song等^[43]通过小鼠实验证明, Zc4h2和Rnf220复合物与Phox2a和Phox2b相互作用并单泛素化, 能促进Phox2a/Phox2b的转录调节活性以及Th和Dbh的表达。另外, 有报告表明, ZC4H2或RNF220的缺失能在体外抑制神经干细胞的增殖并促进其分化能力, 并确定Cend1是在ZC4H2敲除和RNF220敲除中上调的关键分子^[44]。Cend1已被证明能通过调节p53-CyclinD1和Notch1信号通路, 在神经发生过程中促进细胞周期退出和神经元分化^[45,46]。

2.2.3 ZC4H2与氧化磷酸化途径

大脑是人体中耗氧量最大的器官, 神经系统的功能运行往往需要耗费大量的能量。线粒体是生物体内重要的能量产生部位, 当线粒体出现损伤时会出现以神经系统和肌肉运动异常为主要表现的线粒体病。神经干细胞能产生新的神经元和胶质细胞, 其在发育性神经发生和成年神经发生中都发挥着重要作用^[47-49]。而线粒体是神经细胞发生的基础, 在神经干细胞功能和分化中, 以及在大脑发育和成人神经发生中都起着重要作用^[50,51]。线粒体的代谢转变、生物发生、基因调控网络和形态学的变化都能与NSCs的增殖和分化息息相关^[52]。线粒体的功能和线粒体动力学也与神经发生密切相关^[53]。

细胞内产生ATP主要由细胞溶质内糖酵解及线粒体中氧化磷酸化过程组成。线粒体通过氧化磷

酸化(oxidative phosphorylation, OXPHOS)呼吸是细胞产生ATP的最有效方式, 能提供ATP在神经元等需要能量的分化细胞中大量使用。小鼠凋亡诱导因子是OXPHOS必需的线粒体蛋白, 通过小鼠凋亡诱导因子的缺失模型实验, 发现线粒体功能受损会导致神经干细胞自我更新、神经祖细胞增殖和细胞周期退出以及神经元分化的缺陷^[54]。有实验使用携带致病性突变的基因*SURF1*(Leigh综合征的病因)的神经干细胞, 探索了OXPHOS对人类神经发生的需求, 显示该基因能决定神经元的发育, 其突变会导致成熟神经细胞减少^[55]。我们的研究团队在对一例*ZC4H2*突变的病例研究中发现, *ZC4H2*基因c.352C>T无义突变导致的蛋白质功能丧失会影响氧化磷酸化信号通路的多个基因表达, 并可能造成线粒体功能障碍^[56]。线粒体功能障碍可能是*ZC4H2*基因突变导致神经发育异常的重要分子机制。

钙离子是人体中的重要元素, 在神经系统中与电位变化、神经递质释放及运动调节等息息相关。钙离子通道的异常会在神经发育的过程中影响细胞增殖和分化^[57,58]。线粒体运动和形态学的变化也受到钙离子相关机制的调节^[59]。Vangeel等^[6]在研究中发现, *ZC4H2*能与可渗透Ca²⁺的瞬时受体电位通道香草亚家族成员4(transient receptor potential channel vanilloid subfamily member 4, TRPV4)相互作用, 进而调控其在膜周的动力学, 影响细胞内外离子的分布。而TRPV4疾病会出现骨骼发育不良、神经病变以及手指和脚趾骨关节病, 与ZARD在症状方面也有类似之处。研究*ZC4H2*基因与线粒体功能、钙离子通道间的分子机制, 有助于阐释ZARD表型与*ZC4H2*基因突变间的相关性。

3 展望

目前, *ZC4H2*基因突变导致结构畸形和异常神经系统表现等临床症状的机制仍未完全明确。前些年的研究发现, 人*ZC4H2*蛋白同源物——锌指蛋白VAB-23能影响秀丽隐杆线虫的形态发生^[60,61]。而*ZC4H2*表达降低后会出现明显的神经肌肉等的异常, 且能在动物模型中复现, 说明*ZC4H2*确实参与和影响了神经系统的发育。ZARD临床表型具有明显的异质性, 不同的突变和个体之间的差异

性较大, 常伴有多系统畸形和异常。ZARD的特征性表现与胚胎神经和肌肉系统发育受损的遗传疾病一致。后续研究仍需探索*ZC4H2*新发突变如何导致ZARD的各种临床表现。

有研究表明, *ZC4H2*蛋白在体内外以多聚体的形式存在, 通过对*ZC4H2*的物理学分析发现, 一个锌离子结合两个*ZC4H2*的锌离子结合域, 突变不会破坏肽中的锌结合, 可能破坏*ZC4H2*的多聚化, 损害与其他因子的相互作用和基因调控^[62]。明确*ZC4H2*蛋白不同区域的功能和作用, 也是揭示*ZC4H2*基因发挥作用的关键。

*ZC4H2*能作为一种辅助因子, 通过与不同因子和信号途径相互作用, 进而靶向调节不同生理过程, 从而在中枢神经系统中发挥重要作用。线粒体的氧化磷酸化过程在ZARD的神经发生过程中发挥重要作用。同时, 钙通道的异常也与神经发育的异常息息相关。因此, 探索*ZC4H2*与线粒体功能、线粒体动力学相关的特定因子之间的关系, 研究*ZC4H2*与细胞氧化磷酸化过程功能代谢和相关因子的联系, 以及针对钙离子通道的调控机制对*ZC4H2*异常的神经发育影响, 也能帮助我们进一步明晰*ZC4H2*在ZARD的病理机制中发挥的作用。

参考文献

- [1] Dai L, Zhu J, Liang J, et al. Birth defects surveillance in China. *World J Pediatr*, 2011, 7(4): 302-310
- [2] Nguengang Wakap S, Lambert DM, Olry A, et al. Estimating cumulative point prevalence of rare diseases: analysis of the Orphanet database. *Eur J Hum Genet*, 2019, 28(2): 165-173
- [3] Kvarnung M, Nordgren A. Intellectual disability & rare disorders: a diagnostic challenge. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 1031: 39-54
- [4] Hirata H, Nanda I, van Riesen A, et al. *ZC4H2* mutations are associated with arthrogryposis multiplex congenita and intellectual disability through impairment of central and peripheral synaptic plasticity. *Am J Hum Genet*, 2013, 92(5): 681-695
- [5] Wang Y, Han KJ, Pang XW, et al. Large scale identification of human hepatocellular carcinoma-associated antigens by autoantibodies. *J Immunol*, 2002, 169(2): 1102-1109
- [6] Vangeel L, Janssens A, Lemmens I, et al. The zinc-finger

- domain containing protein ZC4H2 interacts with TRPV4, enhancing channel activity and turnover at the plasma membrane. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(10): 3556
- [7] Wang D, Hu D, Guo Z, et al. A novel *de novo* nonsense mutation in ZC4H2 causes Wieacker-Wolff Syndrome. *Mol Genet Genomic Med*, 2019, 8(2): e1100
- [8] Wakabayashi T, Mizukami M, Terada K, et al. A novel ZC4H2 variant in a female with severe respiratory complications. *Brain Dev*, 2022, 44(8): 571-577
- [9] Wongkittichote P, Choi TI, Kim OH, et al. Expanding allelic and phenotypic spectrum of ZC4H2-related disorder: a novel hypomorphic variant and high prevalence of tethered cord. *Clin Genet*, 2022, 103(2): 167-178
- [10] Wieacker P, Wolff G, Wienker TF, et al. A new X-linked syndrome with muscle atrophy, congenital contractures, and oculomotor apraxia. *Am J Med Genet*, 1985, 20(4): 597-606
- [11] Miles JH, Carpenter NJ. Unique X-linked mental retardation syndrome with fingertip arches and contractures linked to Xq21.31. *Am J Med Genet*, 2005, 38(2-3): 215-223
- [12] Zanzottera C, Milani D, Alfei E, et al. ZC4H2 deletions can cause severe phenotype in female carriers. *Am J Med Genet A*, 2017, 173(5): 1358-1363
- [13] Okubo Y, Endo W, Inui T, et al. A severe female case of arthrogryposis multiplex congenita with brain atrophy, spastic quadriplegia and intellectual disability caused by ZC4H2 mutation. *Brain Dev*, 2018, 40(4): 334-338
- [14] Frints SGM, Hennig F, Colombo R, et al. Deleterious *de novo* variants of X-linked ZC4H2 in females cause a variable phenotype with neurogenic arthrogryposis multiplex congenita. *Hum Mutat*, 2019, 40(12): 2270-2285
- [15] Kurolap A, Kreuder F, Gonzaga-Jauregui C, et al. Bi-allelic variants in neuronal cell adhesion molecule cause a neurodevelopmental disorder characterized by developmental delay, hypotonia, neuropathy/spasticity. *Am J Hum Genet*, 2022, 109(3): 518-532
- [16] Ahn JY, Kim SY, Lim BC, et al. Variable phenotypes of ZC4H2-associated rare disease in six patients. *Ann Child Neurol*, 2022, 30(3): 120-126
- [17] Decio A, Marelli S, Mambretti F, et al. A case of female-restricted Wieacker-Wolff syndrome with heart and endocrinological involvement. *Neurol Sci*, 2024, 45(8): 4077-4081
- [18] Ibarra-Ramírez M, Fernandez-de-Luna ML, Campos-Acevedo LD, et al. Optic nerve abnormalities in female-restricted Wieacker-Wolff syndrome by a novel variant in the ZC4H2 gene. *Ophthalmic Genet*, 2023, 44(5): 465-468
- [19] May M, Hwang KS, Miles J, et al. ZC4H2, an XLID gene, is required for the generation of a specific subset of CNS interneurons. *Hum Mol Genet*, 2015, 24(17): 4848-4861
- [20] Ma P, Song NN, Cheng X, et al. ZC4H2 stabilizes RNF220 to pattern ventral spinal cord through modulating Shh/Gli signaling. *J Mol Cell Biol*, 2020, 12(5): 337-344
- [21] Zhu H, Kavsak P, Abdollah S, et al. A SMAD ubiquitin ligase targets the BMP pathway and affects embryonic pattern formation. *Nature*, 1999, 400(6745): 687-693
- [22] Zhang J, Li L. BMP signaling and stem cell regulation. *Dev Biol*, 2005, 284(1): 1-11
- [23] Bragdon B, Moseychuk O, Saldanha S, et al. Bone morphogenetic proteins: a critical review. *Cell Signal*, 2011, 23(4): 609-620
- [24] Bier E, De Robertis EM. BMP gradients: a paradigm for morphogen-mediated developmental patterning. *Science*, 2015, 348(6242): aaa5838
- [25] Kuroda H, Wessely O, Robertis EMD, et al. Neural induction in *Xenopus*: requirement for ectodermal and endomesodermal signals via chordin, noggin, β -catenin, and cerberus. *PLoS Biol*, 2004, 2(5): e92
- [26] Ma P, Ren B, Yang X, et al. ZC4H2 stabilizes Smads to enhance BMP signalling, which is involved in neural development in *Xenopus*. *Open Biol*, 2017, 7(8): 170122
- [27] Zheng N, Shabek N. Ubiquitin ligases: structure, function, and regulation. *Annu Rev Biochem*, 2017, 86(1): 129-157
- [28] Cruz Walma DA, Chen Z, Bullock AN, et al. Ubiquitin ligases: guardians of mammalian development. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2022, 23(5): 350-367
- [29] Kim J, Choi TI, Park S, et al. Rnf220 cooperates with Zc4h2 to specify spinal progenitor domains. *Development*, 2018, 145(17): dev165340
- [30] Jessell TM. Neuronal specification in the spinal cord: inductive signals and transcriptional codes. *Nat Rev Genet*, 2000, 1(1): 20-29
- [31] Dessaud E, McMahon AP, Briscoe J. Pattern formation in the vertebrate neural tube: a sonic hedgehog morphogen-regulated transcriptional network. *Development*, 2008, 135(15): 2489-2503
- [32] Ma P, Song NN, Li Y, et al. Fine-tuning of Shh/Gli signaling gradient by non-proteolytic ubiquitination during neural patterning. *Cell Rep*, 2019, 28(2): 541-553.e4
- [33] Hui C, Angers S. Gli proteins in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2011, 27(1): 513-537
- [34] Fuccillo M, Joyner AL, Fishell G. Morphogen to mitogen: the multiple roles of hedgehog signalling in vertebrate neural development. *Nat Rev Neurosci*, 2006, 7(10): 772-783
- [35] Vaillant C, Monard D. SHH pathway and cerebellar development. *Cerebellum*, 2009, 8(3): 291-301
- [36] Goodrich LV, Milenkovic L, Higgins KM, et al. Altered

- neural cell fates and medulloblastoma in mouse patched mutants. *Science*, 1997, 277(5329): 1109-1113
- [37] Briscoe J, Thérond PP. The mechanisms of Hedgehog signalling and its roles in development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, 14(7): 416-429
- [38] Li Y, Yang C, Wang H, et al. Sequential stabilization of RNF220 by RLIM and ZC4H2 during cerebellum development and Shh-group medulloblastoma progression. *J Mol Cell Biol*, 2022, 14(1): mjab082
- [39] Robertson SD, Plummer NW, de Marchena J, et al. Developmental origins of central norepinephrine neuron diversity. *Nat Neurosci*, 2013, 16(8): 1016-1023
- [40] Morin X, Cremer H, Hirsch MR, et al. Defects in sensory and autonomic ganglia and absence of locus coeruleus in mice deficient for the homeobox gene *phox2a*. *Neuron*, 1997, 18(3): 411-423
- [41] Pattyn A, Morin X, Cremer H, et al. Expression and interactions of the two closely related homeobox genes *Phox2a* and *Phox2b* during neurogenesis. *Development*, 1997, 124(20): 4065-4075
- [42] Flames N, Hobert O. Transcriptional control of the terminal fate of monoaminergic neurons. *Annu Rev Neurosci*, 2011, 34(1): 153-184
- [43] Song NN, Ma P, Zhang Q, et al. Rnf220/Zc4h2-mediated monoubiquitylation of Phox2 is required for noradrenergic neuron development. *Development*, 2020, 147(6): dev185199
- [44] Zhang L, Ye M, Zhu L, et al. Loss of ZC4H2 and RNF220 inhibits neural stem cell proliferation and promotes neuronal differentiation. *Cells*, 2020, 9(7): 1600
- [45] Georgopoulou N, Hurel C, Politis PK, et al. BM88 is a dual function molecule inducing cell cycle exit and neuronal differentiation of neuroblastoma cells via cyclin D1 down-regulation and retinoblastoma protein hypophosphorylation. *J Biol Chem*, 2006, 281(44): 33606-33620
- [46] Politis PK, Makri G, Thomaidou D, et al. BM88/CEND1 coordinates cell cycle exit and differentiation of neuronal precursors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(45): 17861-17866
- [47] Gage FH, Temple S. Neural stem cells: generating and regenerating the brain. *Neuron*, 2013, 80(3): 588-601
- [48] Ming G, Song H. Adult neurogenesis in the mammalian central nervous system. *Annu Rev Neurosci*, 2005, 28(1): 223-250
- [49] Kriegstein A, Alvarez-Buylla A. The glial nature of embryonic and adult neural stem cells. *Annu Rev Neurosci*, 2009, 32(1): 149-184
- [50] Arrázola MS, Andraini T, Szelechowski M, et al. Mitochondria in developmental and adult neurogenesis. *Neurotox Res*, 2019, 36(2): 257-267
- [51] Rangaraju V, Lewis Jr TL, Hirabayashi Y, et al. Pleiotropic mitochondria: the influence of mitochondria on neuronal development and disease. *J Neurosci*, 2019, 39(42): 8200-8208
- [52] Coelho P, Fão L, Mota S, et al. Mitochondrial function and dynamics in neural stem cells and neurogenesis: Implications for neurodegenerative diseases. *Ageing Res Rev*, 2022, 80: 101667
- [53] Iwata R, Casimir P, Erkol E, et al. Mitochondria metabolism sets the species-specific tempo of neuronal development. *Science*, 2023, 379(6632): eabn4705
- [54] Khacho M, Clark A, Svoboda DS, et al. Mitochondrial dysfunction underlies cognitive defects as a result of neural stem cell depletion and impaired neurogenesis. *Hum Mol Genet*, 2017, 26(17): 3327-3341
- [55] Inak G, Rybak-Wolf A, Lisowski P, et al. Defective metabolic programming impairs early neuronal morphogenesis in neural cultures and an organoid model of Leigh syndrome. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 1929
- [56] Sun JJ, Cai Q, Xu M, et al. Loss of protein function causing severe phenotypes of female-restricted wieacker wolff syndrome due to a novel nonsense mutation in the ZC4H2 gene. *Genes*, 2022, 13(9): 1558
- [57] Luo Z, Zhang X, Fleig A, et al. TRPM7 in neurodevelopment and therapeutic prospects for neurodegenerative disease. *Cell Calcium*, 2024, 120: 102886
- [58] Cibelli A, Mola MG, Saracino E, et al. Aquaporin-4 and transient receptor potential vanilloid 4 balance in early postnatal neurodevelopment. *Glia*, 2024, 72(5): 938-959
- [59] Fatiga FF, Wang LJ, Hsu T, et al. Miro1 functions as an inhibitory regulator of MFN at elevated mitochondrial Ca^{2+} levels. *J Cell Biochem*, 2021, 122(12): 1848-1862
- [60] Pellegrino MW, Gasser RB, Sprenger F, et al. The conserved zinc finger protein VAB-23 is an essential regulator of epidermal morphogenesis in *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol*, 2009, 336(1): 84-93
- [61] Pellegrino MW, Farooqui S, Fröhli E, et al. LIN-39 and the EGFR/RAS/MAPK pathway regulate *C. elegans* vulval morphogenesis via the VAB-23 zinc finger protein. *Development*, 2011, 138(21): 4649-4660
- [62] Natalia MV. Exploring protein folding patterns: characterization and functional insights of Zinc finger domain containing protein ZC4H2[D]. United States-North Carolina: The University of North Carolina, 2023: 18-55