

T-box 基因与脊椎动物心脏发育

辛娜 邱广蓉 孙开来

【摘要】 *T-box* 基因家族在脊椎动物心脏发育中起重要作用, 主要作用于脊椎动物的早期心脏谱系决定、心室特化、房室分隔和胚胎传导系统分化等。该基因家族主要包括 *Tbx1*、*Tbx2*、*Tbx3*、*Tbx5*、*Tbx18* 和 *Tbx20*。这些基因在心脏发育过程中表现出复杂的时间、空间调节作用。本文从分子水平上对 *T-box* 基因在心脏的发生发展过程中所起的作用作一综述。

【关键词】 *T-box* 基因; 心脏发育; 先天性心脏病

T-box Gene and Vertebrate Heart Development XIN Na, QIU Guang-rong, SUN Kai-lai. (Department of Medical Genetics, China Medical University, Shenyang 110001, China)
Corresponding author; SUN Kai-lai. E-mail: klsun@mail.cmu.edu.cn

【Abstract】 Members of the *T-box* gene family (*Tbx*) are essential for normal heart development. *T-box* genes have been implicated in early cardiac lineage determination, chamber specification, valvuloseptal development, and differentiation of the specialized conduction system in vertebrate embryos.

This gene family includes *Tbx1*, *Tbx2*, *Tbx3*, *Tbx5*, *Tbx18*, and *Tbx20*, all of which exhibit complex temporal spatial regulation in developing cardiac structures. The molecular hierarchies and developmental processes controlled by *T-box* genes in the heart are the focus of this review.

【Key words】 *T-box* gene; Heart development; Congenital heart disease

由于胚胎生长迅速, 单凭扩散作用不能满足胚胎的需要, 于是心血管系统在第 3 周末便开始血液循环, 成为胚胎发育中活动最早的系统。心血管系统是其中胚层分化而来, 而心脏发生于口咽膜头侧的生心区, 最初形成的是原始心血管系统。起初, 心血管的管壁构造只是内皮性管道, 随着血液动力学的变化及体内各器官的发生, 在内皮管周围的间充质分化形成肌层和结缔组织, 于是演变成心脏、动脉和静脉。当前研究较多的在胚胎心脏发育中起关键作用的转录因子包括 *TBX5*、*NKX2-5*、*GATA4* 等。

T-BOX 蛋白相对来说是一个大的 DNA 结合域, 是整个蛋白的 1/3, 大约有 17 ~ 26 kDa, 可结合 200 bp 的特异性 DNA, 而与其结合的所有 DNA 序列都存在一致性序列 TCACACCT, 因此编码该蛋白的基因称为 *T-box* 基因^[1]。该基因最初是在鼠的原肠胚突变中定位克隆的, 命名为 *Brachyury*, 而后在果蝇、线虫等动物及人类陆续发现 50 多个不同的成员而构成了 *T-box* 基因家族^[2,3]。到目前为止, 该基因家族在秀丽隐杆线虫中有 14 个成员, 在果蝇中有 11

个成员, 在哺乳动物中有 18 个成员^[4,5]。

T-box 基因家族属发育调控相关转录因子基因家族, 通过其特有的 *T-BOX* 区域参与多种生物物的发育调控。*T-BOX* 蛋白相对分子质量为 50 ~ 78 kDa。在 *T-BOX* 蛋白中至少有两个结构域, 即序列特异性 DNA 结合域(*T-box*) 和一个功能域(转录激活域或转录抑制域)^[6]。在 *T-box* 基因家族相同的亚家族成员中, *T-Box* 的 DNA 结合域是高度保守的, 但发挥不同转录功能的功能域具有低同源性。*T-box* 基因家族分为 5 个不同的亚家族, 在脊椎动物心脏中表达的主要是 *Tbx1* 和 *Tbx2* 两个亚家族。*Tbx1* 亚家族成员包括 *Tbx1*、*Tbx10*、*Tbx13*、*Tbx14*、*Tbx15*、*Tbx18*、*Tbx20* 和 *Tbx22*, 而其中与心脏发育相关的有 *Tbx1*、*Tbx18* 和 *Tbx20*; *Tbx2* 亚家族成员包括 *Tbx2*、*Tbx3*、*Tbx4* 和 *Tbx5*, 其中与心脏发育相关的有 *Tbx2*、*Tbx3* 和 *Tbx5*。所以在人类与心脏发育相关的 *T-box* 基因有 6 个, 这些与心脏发育相关的 *T-box* 基因在心脏发育的不同时间和不同区域的表达有着协同和竞争两种机制, 所以 *T-BOX* 蛋白具有重叠的表达激活和抑制作用^[7,8]。

基金项目: 国家自然科学基金项目(30400485)
作者单位: 110001 沈阳, 中国医科大学遗传学教研室
通讯作者: 孙开来 (E-mail: klsun@mail.cmu.edu.cn)

Tbx5 基因于 1997 年在 Holt-Oram 综合征 (HOS) 中由 Basson 等鉴定并克隆, 最近发现 *Tbx1* 在

心脏流出道和咽弓发育中起着重要的作用,另外, *Tbx2*、*Tbx3*、*Tbx18* 和 *Tbx20* 等在心脏发育的不同时间、不同空间间隔表达,在心脏谱系决定、心室特化、房室分隔、心外膜发育和传导系统中扮演着重要角色。

1 与心脏发育相关的 *Tbx1* 亚家族成员

Tbx1 基因定位于染色体 22q11.2, 该基因的同源基因位于鼠的 16 号染色体上。通过对鼠模型研究推测 *Tbx1* 是人类 DiGeorge 综合征 (DGS) 中的一个重要基因而 DGS 的主要特征是先天性心血管和颅面部异常^[9]。最初报道 *Tbx1* 基因在咽部间质和胚胎神经嵴迁移的重要时期表达,提示该基因在咽部发育中发挥作用。*Tbx1* 纯合性丢失除了表现出严重的咽弓异常之外,还表现出主动脉弓异常、室间隔缺损等心血管异常,提示 *Tbx1* 基因参与胚胎心脏发育^[10,11]。*Tbx1* 在心月牙和原始心肌流出道表达,所以它在心脏谱系决定中起到了直接的作用。*Tbx1* 也在原始的次级心区表达参与流出道心肌细胞增殖。*Tbx1* 在心脏和头侧神经嵴细胞中不表达,但是它可以通过非自主细胞机制间接影响神经嵴的迁移和分化。遗传研究表明 *Tbx1* 是成纤维细胞因子 8 (FCF8) 和成纤维细胞因子 10 (FCF10) 在内胚层咽弓表达所必需的,而 FGF8 缺陷能够导致与神经嵴相关的心脏流出道和主动脉弓发育异常^[12]。因此 *Tbx1* 可能通过调节邻近细胞中 FGFs 的总体表达而影响神经嵴细胞对心脏流出道和主动脉弓的作用。最近研究发现 *TBX1* 在 DGS 和 22q11 微缺失综合征的发生中起重要作用,该区域 *TBX1* 的缺失可导致心脏流出道和主动脉弓异常,进一步研究证明 *Tbx1* 基因参与胚胎心脏发育,尤其是心脏流出道的正确发生。

Tbx18 基因位于染色体 6q14-q15。 *Tbx18* 在鼠的心外膜前体细胞中表达,而且在心外膜层细胞中持续表达^[13]。除了心外膜以外, *Tbx18* 还在 7 d 鸡胚的心内膜上的原始瓣膜表达和斑马鱼的原始心房表达。 *Tbx18* 无标记鼠主要表现为心外膜缺失,提示 *Tbx18* 在心外膜发育中起关键作用,但具体机制尚不清楚。

Tbx20 基因位于染色体 7p14-p15, 全长为 22 kb 包括 6 个外显子。人类 *Tbx20* 基因编码 279 个氨基酸的蛋白。最初报道 *Tbx20* 是在鼠和鸡胚中胚叶侧面、原始心脏、原始心脏和心脏的四个腔室中表达^[14,15]。随后的研究表明 *Tbx20* 在心脏的心内膜垫、原始瓣膜和成熟瓣膜中表达丰富^[16]。提示 *Tbx20* 在心内膜垫、原始瓣膜和成熟瓣膜中存在表

达,表明 *Tbx20* 在瓣膜塑造和谱系成熟中有着独特的功能。 *Tbx20* 的表达在心房与 *Tbx5* 重叠,在房室管心肌层与 *Tbx2*、*Tbx3* 和 *Tbx5* 重叠,但到目前为止在鼠和人类基因中还没有 *Tbx20* 突变的报道。

2 与心脏发育相关的 *Tbx2* 亚家族成员

Tbx2 基因定位于染色体 17q23, 该基因的同源基因位于鼠的 11 号染色体上。 *Tbx2* 在胚胎发育的各种组织和器官中广泛表达。 *Tbx2* 可以与 NKX2-5 一起形成一个复杂的调控机制,对 *ANF* 有激活和抑制的作用,而 *ANF* 是心室形成的第一个标志性感因,所以 *Tbx2* 对心室的形成起着间接的作用^[17]。在心脏中除了分化心室的心肌区以外其他的心脏流入道、流出道、心内膜和房室管等都有表达^[18]。 *Tbx2* 的功能是通过鼠的目标基因突变观测到的, *Tbx2* 无标记鼠的纯合子表现正常,但是杂合子胚胎在房室管和心脏流出道间隔形成中发生形态缺陷,而分子分析表明 *Tbx2* 在胚胎发育 9.5 d 的房室管分化心室的过程中起抑制作用^[19]。因此 *TBX2* 是转录抑制因子。

Tbx3 基因位于染色体 12q24.1, 其同源基因位于鼠的 5 号染色体上, *Tbx3* 基因全长为 9.0 kb 至少包括 6 个外显子。与 *Tbx2* 相似, *Tbx3* 也在原始心脏和房室管道中表达,但相比之下, *Tbx2* 的表达比 *Tbx3* 更强、更广泛。 *Tbx3* 也是转录抑制剂,而且与房室管和中枢传导系统相关,在鼠的研究中发现对心脏传导系统而言 *Tbx3* 是一个比 *Tbx2* 更精确的标志,但是在人的研究中, *Tbx3* 突变可导致一种增殖低下的遗传病-尺骨-胸腺综合征^[20]。但不出现心脏传导系统缺陷,这有可能是由于 *Tbx2* 补充 *Tbx3* 缺失。因此,未来的研究需要阐明 *Tbx2* 和 *Tbx3* 在心室形成和心脏传导系统发育中作用的重叠和区别。

Tbx5 基因定位于染色体 12q21.4, 基因全长 47 kb, 包括 8 个外显子, 编码 218 个氨基酸。对 *Tbx5* 基因在心脏形态发生过程中研究最多的是 *Tbx5*, 而且其在心脏谱系和结构上都有显著的功能。 Holt-Oram 综合征患者中 *Tbx5* 的突变可以导致广泛的心脏畸形, 包括房间隔缺损、室间隔缺损、左侧畸形(心内膜垫缺损、左心发育不全和肌小梁异常)等^[21]。提示 *Tbx5* 在心脏发生过程中起重要作用。在早期心脏分化之前 *Tbx5* 在整个心脏形成区表达,而在明显房室区分时逐步限于后部心形成区。此外 *Tbx5* 严格的在左心室表达而在右心室不表达说明其对室间隔位置的控制有着一定的作用^[22]。 Liberatore 等^[23] 研究鸡胚发育过程中 *Tbx5* 基因表达发现在心脏前部 *Tbx5* 表达的下降与房室

系分化相一致。以上研究表明, *Tbx5* 在早期心脏发育过程中的表达方式是动态的, 这种动态的表达方式对于房室腔初始分化和间隔的正确形成可能是十关键的。

由上述可见各个相关的 *T-box* 基因在心脏的发育过程中都有其独特的功能, 而且它们的功能也都是动态发展的, 同时有些基因在功能上又有着共性, 有些基因的作用则是相对的, 所以 *T-box* 基因在心脏发育中的作用是一个复杂的过程。

3 *T-box* 基因与其他心脏发育相关基因及转录因子之间的相互作用

多个 *T-box* 基因在心脏发育的重要时期表达, 它们在心脏谱系决定、心室特化、房室分化等中有着特殊的贡献。T-BOX 蛋白根据其功能域的不同, 在心脏的发育过程中起到了不同的转录激活或转录抑制作用。很多研究表明 T-BOX 蛋白激活作用和抑制作用在相同时间出现在相同的细胞群中, 而且它们可能通过协同作用或是竞争作用控制心脏的基因表达, 例如: *Tbx5* 和 *Tbx20*, 虽然这两个基因都在心发生区共同表达, 但在后来形态发生过程中表达不同; *TBX5* 蛋白是转录激活剂, 而 *TBX20* 蛋白是转录抑制剂。心脏特化启动子 (ANF) 是心脏发生的重要因素, 在 ANF5' 侧翼序列中存在 TBE1 (T-box 结合元件 1) 和 TBE2 (T-box 结合元件 2) 两个顺式作用元件, 其中 TBE1 是 *Tbx5* 和 GATA4 协同激活所必需的, 而 TBE2 是 *Tbx20* 起抑制作用所必需的。因此, *Tbx5* 和 *Tbx20* 通过竞争机制调控下游基因的表达。在脊椎动物心脏发育过程中多个 T-BOX 蛋白的协同作用更普遍存在, 如前所述 *Tbx2* 和 *Tbx3* 在心室形成和心脏传导系统发育中的有着相互协同和补充作用。*Tbx5* 和 *Tbx18* 协同调节心外膜的发育和心外膜衍生细胞谱系。此外, 多个 *T-box* 基因可以协同调节心脏发育中起作用的基因 *Nppa*、*Cx40*、*Cx43* 等, 也可以与心脏其他转录因子 GATA4、NKX2-5 等相互作用。因此这些基因不同时间不同空间的相互作用形成了心脏发育的复杂调控网络, 但具体作用机制仍需进一步深入研究。

参 考 文 献

- Muller CW, Herrmann BG. Crystallographic structure of the T domain-DNA complex of the Brachyury transcription factor. *Nature*, 1997, 389:884-888.
- Papaioannou VE. T-box genes in development: from hydra to humans. *Int Rev Cyt*, 2001, 207:1-70.
- Smith J. T-box genes: what they do and how they do it. *Trends Genet*, 1999, 15:154-158.
- Reim I, Lee HH, Frasch M. The Tbox-encoding orsocross genes function in amnioserosa development and the patt-erning of the dorsolateral germ band downstream of Dpp. *Development*, 2003, 130: 3187-3204.
- Showell C, Binder O, Conlon FL. T-box genes in early embryogenesis. *Dev Dyn*, 2004, 229:201-218.
- Conlon FL, Fairclough L, Price BM, et al. Determinants of T-box protein specificity. *Development*, 2001, 128:3749-3758.
- Tada M, Smith JC. T-targets: clues to understanding the functions of T-box proteins. *Dev Growth Differ*, 2001, 43:1-11.
- Wilson V, Conlon FL. The T-box family. *Genome Biol*, 2002, 3: 3008.
- Baldini A. DiGeorge syndrome: an update. *Curr Opin Cardiol*, 2004, 19:201-224
- Jerome LA, Papaioannou VE. Di-George syndrome phenotype in mice mutant for the T-box gene, *Tbx1*. *Nat Genet*, 2001, 27:286-291.
- Raft S, Nowotzschin S, Liao J, et al. Suppression of neural fate and control of inner ear morphogenesis by *Tbx1*. *Development*, 2004, 131: 1801-1812.
- Xu H, Morishima M, Wylie JN, et al. *Tbx1* has a dual role in the morphogenesis of the cardiac outflow tract. *Development*, 2004, 131: 3217-3227.
- Begemann G, Gilbert Y, Meyer A, et al. Cloning zebrafish T-box genes *tbx15* and *tbx18* and their expression during embryonic development. *Mech Dev*, 2004, 114:137-141.
- Iio A, Koide M, Hidaka K, et al. Expression pattern of novel chick T-box gene, *Tbx20*. *Dev Genes Evol*, 2001, 211:559-562.
- Kraus F, Haenig B, Kispert A. Cloning and expression analysis of the mouse T-box gene *Tbx20*. *Mech Dev*, 2001, 100:87-91.
- Plageman TF Jr, Yutzey KE, Katherine E. Differential expression and function of *Tbx5* and *Tbx20* in cardiac development. *J Biol Chem*, 2004, 279:19026-19034.
- Christoffels VM, Hoogaars WMH, Tessari A, et al. T-box transcription factor *Tbx2* represses differentiation and formation of the cardiac chambers. *Dev Dyn*, 2004, 229:763-770.
- Habelts PE, Moorman AF, Clout DE, et al. Cooperative action of *Tbx2* and *Nkx2.5* inhibits ANF expression in the atrioventricular canal implications for cardiac chamber formation. *Genes Dev*, 2002, 16:1234-1246.
- Barnshad M, Lin RC, Law DJ, et al. Mutations in human *TBX3* alter limb, apocrine and genital development in ulnar-mammary syndrome. *Nat Genet*, 1997, 16:311-315.
- Lincoln J, Alfieri CM, Yutzey KE. Development of heart valve leaflets and supporting apparatus in chicken and mouse embryos. *Dev Dyn*, 1997, 230:239-250.
- Takeuchi JK, Ohgi M, Koshiba-Takeuchi K, et al. *Tbx5* specifies the left/right ventricles and ventricular septum position during cardiogenesis. *Development*, 2003, 130:5953-5964.
- Plageman TF Jr, Yutzey KE. Microarray analysis of *Tbx5*-induced genes expressed in the developing heart. *Dev Dyn*, 2006, 235:2868-2880.
- Liberatore CM, Searcy-schnick RD, Yutzey KE, et al. Ventricular expression of *TBX5* inhibits normal heart chamber. *Dev Biol*, 2000, 223:169-180.

(收稿日期:2006-06-07)

(本文编辑:孙岩伟)