

PIT-1 基因在人、鼠及猪中的研究现状

李宏滨,曹红鹤,郑友民

(中国农业科学院畜牧研究所,北京,100094)

摘要:本文对 *PIT-1* 基因在鼠、人及猪中作为生长发育性状候选基因的研究现状作一综述,主要包括 *PIT-1* 基因与鼠矮小性状、人类综合性垂体激素缺陷症及猪的生长和胴体性状之间的关系,并对 *PIT-1* 基因在小型猪中的研究前景作一展望。

关键词: *PIT-1* 基因;矮小性状;综合性垂体激素缺陷症;小型猪

中图分类号:Q418

文献标识码:A

文章编号:0253-9772(2001)06-0605-04

The Current Study Status of *PIT-1* Gene in Humans, Mice and Pigs

LI Hong-bin, CAO Hong-he, ZHENG You-min

(Institute of Animal Science, CAAS, Beijing, 100094, China)

Abstract: This paper summaries the current study status of *PIT-1* gene, which is the candidate gene for growth and development performance. The review mainly includes the association of *PIT-1* gene with dwarfism in mice, CPHD in humans and growth and carcass traits in pigs. The research prospect of *PIT-1* gene in mini-pig is also discussed.

Key words: *PIT-1* gene; dwarfism; CPHD; mini-pig

垂体特异性转录因子(pituitary transcription factor 1, *PIT-1*)是 POU 结构域(PIT-OCT-UNC domain)中几种同源(异型)蛋白之一,目前已被正式命名为 POU1F1^[1]。POU 结构域是由一段 DNA 结合区域组成,包括一个 POU 特异性区域(POU-specific domain, POU-SD)和一个 POU 同源性区域(POU-homocodomain, POU-HD)^[2,3]。同样, *PIT-1* 基因也是由这两部分区域组成,在哺乳动物的垂体发育和激素表达中起主要作用^[2]。通过生物化学和个体发育学的研究表明, *PIT-1* 是重要的组织特异性转录因子,在哺乳动物的垂体前叶腺中参与激活生长激素(GH),催乳素(PRL)和促甲状腺素(TSH)基因的表达^[4-6],即对上述三种激素起到正调控作用。在多种垂体激素缺陷而导致侏儒的鼠和人类中,均可发现缺少 *PIT-1* 基因的活性。因此, *PIT-1* 基因的突变可以导致垂体的发育不全和阻碍 GH、PRL、TSH 三种激素的分泌,引起矮小现象(dwarfism)的出现。本文将 *PIT-1* 基因对鼠、人类及猪的生长发育所产生的影响作一介绍。

1 *PIT-1* 基因在鼠中的研究现状

1.1 鼠 *PIT-1* 基因的结构与定位

PIT-1 基因定位在鼠的第 16 号染色体上。其 mRNA 全长 1261bp, 编码 291 个氨基酸。其 cDNA 序列全长 876bp, 包含 6 个外显子(I~VI), 编码的氨基酸区域分别为 1~47, 48~72, 73~147, 148~201, 195~221, 222~291。其中 POU-SD 区域包括 67 个氨基酸(132~198), 而 POU-HD 区域包括 61 个氨基酸(213~273)^[7]。

1.2 鼠 *PIT-1* 基因与 *dw* 基因座

小鼠的矮小性状基因座(dwarf locus, *dw*)发生突变会干扰垂体前叶腺的正常发育,导致生长激素、催乳素和促甲状腺素的表达缺乏,以及相应的细胞类型发育不全。最早是在 Snell dwarf (*dw*) 小鼠中观察到鼠的可遗传的矮小现象,并认为是一个常染色体的隐性突变^[8,9]。后在 C3H/HeJ 近交系中发现了一种引起 dwarf Jackson(*dw^J*)鼠的突变, *dw^J* 与 *dw* 互为等位突变,该基因座位于 16 号染色体上^[10]。另一种与 *dw* 非等位,但表型相似的矮小鼠的突变,称为 Ames dwarf (*df*),为第二种矮小性状基因座^[11]。该基因座则位于 11 号染色体上^[12]。Li 等(1990)将 *PIT-1* 基因也定位在鼠的 16 号染色体上^[7],证明 *PIT-1* 基因与鼠的 *df* 基因座不存在连锁,而是与 *dw* 存在紧密连锁关系,可作为 *dw* 矮小性

收稿日期:2001-04-07;修回日期:2001-06-07

基金项目:国家自然科学基金(39970542)和国家重点基础研究发展规划项目(G2000016106)资助

作者简介:李宏滨(1976-),男,汉,北京人,学士学位,专业:动物遗传, Tel:010-62816002, E-mail: hongbinlee@263.net

状基因座的候选基因。

1990年, Li等的研究已经表明, 在 *dw* 矮小鼠中存在一个由点突变引起的基因变异, 相对野生型的鼠, *PIT-1* 基因外显子 6 的 POU-HD 区域内, 发生了一个 G→T 的碱基替换, 并引起第 261 号密码子的氨基酸由 Trp 变为 Cys^[6]; 而在 *dw'* 矮小鼠中, 通过 RFLP 的分析, 观察到 *dw'* 鼠和野生鼠的限制酶切图谱的差异, 说明在 *PIT-1* 基因内存在着一段 DNA 片段的插入或倒置^[7]。

2 *PIT-1* 基因在人类中的研究现状

2.1 人类 *PIT-1* 基因的结构与定位

有关人类 *PIT-1* 基因的研究日本学者报道的较早, Ohta 等首先将 *PIT-1* 基因定位在人的 3 号染色体上的 3p11 区域^[17], 该基因全长约 14 kb, 包括 6 个外显子。其 mRNA 序列长 1262bp, 编码 291 个氨基酸^[14]。

2.2 *PIT-1* 基因与人类综合性垂体激素缺陷症

由于在缺少 GH、PRL 及 TSH 分泌细胞类型的矮小鼠系中发现了 *PIT-1* 基因的突变, 所以这个基因内的突变是否在人类中也会导致相似的垂体激素的缺乏, 已引起各国学者的高度重视。以综合性垂体激素缺乏症 (CPHD) 病人的 *PIT-1* 基因突变为目标开展了广泛研究。表 1 为在人类 *PIT-1* 基因中发现的突变。其中位于 POU 同源区域的 *PIT-1* 基因外显子 6 内 Arg271Trp 的突变成为研究热点, 这一突变是由 C 到 T 的碱基转换造成的。

表 1 人类 *PIT-1* 基因的突变

Table 1 Mutations of *PIT-1* gene in humans

位置 (氨基酸)	碱基 变化	氨基酸 变化	参考文献
14	C→T	Pro→Leu	Fofanova, <i>et al.</i> (1998)
24	C→T	Pro→Leu	Ohta, <i>et al.</i> (1992)
120	C→T	Arg→Cys	Flunk, <i>et al.</i> (1998)
135	T→G	Phe→Cys	Pellegrini-Bouillier, <i>et al.</i> (1996)
143	G→A	Arg→Gln	Ohta, <i>et al.</i> (1992)
158		Ala→Pro	Wit, <i>et al.</i> (1989); Pfaffle, <i>et al.</i> (1992)
172		Arg→Ter	Tatsumi, <i>et al.</i> (1992)
239		Pro→Ser	Pernasetti, <i>et al.</i> (1998)
250		Glu→Ter	Irie, <i>et al.</i> (1995)
271	C→T	Arg→Trp	Radovick, <i>et al.</i> (1992); Ohta, <i>et al.</i> (1992); Okamoto, <i>et al.</i> (1994); de Zegher, <i>et al.</i> (1995); Aarskog, <i>et al.</i> (1997); Martineli, <i>et al.</i> (1998)

1992年, Radovick 等对一个患有 GH、PRL 和 TSH 缺陷症病人进行了研究^[15]。该病人表现为一系列精神发育阻滞和身长短小。而患者母亲的体格和垂体激素水平均正常。利用特异的寡聚核苷酸引物扩增 POU 特异性和同源性区域, 被扩增的 *PIT-1* 区域对应于小鼠 *PIT-1* 基因的外显子 4

到 6 区域, 包括完整的 POU-HD 及大部分的 POU-SD。取 3 个正常人的基因组 DNA 作为实验对照。克隆产物的测序结果表明, 在 POU 的特异区域 (POU-SD) 没有发现异常; 然而, 在密码子 271 中的一个 C 到 T 的变异在大约 1/2 的病人的克隆产物中被发现, 说明在这个基因座只存在一个等位基因的突变。利用等位基因特异性扩增在 POU 同源区确定了这个变异, 而病人母亲的 DNA 中没有这个变异。该突变使预测的 271 密码子的氨基酸由 Arg 转变为 Trp。为了进一步检测这个突变是否将改变 *PIT-1* DNA 的结合, 以及这个突变的 *PIT-1* 蛋白能否激活垂体基因的表达, Radovick 等将含有编码 GH、PRL 和 TSH-β 启动子基因的荧光素酶报告基因与野生型和突变型 *PIT-1* 表达载体进行共转染, 导入到一个 *PIT-1* 缺失的细胞系中。结果, 野生型的 *PIT-1* 表达载体激活了 GH 和 PRL 启动子的表达。证明突变的 *PIT-1* 能够正常地结合 DNA, 但对 *PIT-1* 在垂体中的功能起到了明显的抑制作用。随后, 在 3 个不相关的患有 CPHD 日本小孩以及在挪威的 CPHD 患者的 *PIT-1* 基因中进一步证实了外显子 6 的 Arg271Trp 突变^[3, 16]。1998 年, Martineli 等发现了一个父母为近亲的 38 岁妇女, 表现为生长缓慢和甲状腺机能减退^[17], 生长缓慢的症状早在幼年时就有表现, 而甲状腺机能减退的症状则仅从青春期开始表现。在她的体内几乎测不到生长激素和催乳素, 且促甲状腺素的水平也极低, 通过核磁共振发现其垂体发育不正常。分析发现同样在外显子 6 存在 C→T 的点突变, 从而导致第 271 号密码子的氨基酸的转变。

在 POU 同源区的另一个重要突变是 Arg172Ter 的无义突变。Tatsumi 等在一对患有呆小症的姐妹中发现: 姐姐患有 GH、PRL、TSH 缺乏症, 两姐妹中的妹妹在出生后 2 个月就由于肺炎而死亡。其父母是第二代的堂兄妹, 都是杂合子。突变的基因导致全部的 POU 同源性区域缺失^[14]。

1996 年, Pellegrini-Bouillier 等对由健康父母生下的 4 个患有 CPHD 的同胞进行了研究^[18], 通过对 *PIT-1* 基因 6 个外显子的测序分析, 在外显子 3 区发现了一个新的 T 到 G 的碱基改变, 引起 135 号密码子发生了 Phe 到 Cys 的转换。所有患病的孩子在此突变点均为纯合型, 而母亲却是杂合型, 认为这是一个隐性的遗传模式。随后, Pro239Ser、Pro14Leu 及 Arg120Cys 等突变相继在 CPHA 病人的 *PIT-1* 基因中发现^[13-21]。

3 *PIT-1* 基因在猪中的研究现状

3.1 猪 *PIT-1* 基因的结构与定位

猪的 *PIT-1* 基因已被定位在 13 号染色体上的 q46 区域^[22]。已知其 cDNA 序列全长 876bp, 编码 292 个氨基酸, 包含 6 个外显子。其中, POU 特异性区域为第 128 个氨基酸至第 198 个氨基酸; 而 DNA 结合区域, 即同源性区域为第 214 个氨基酸至第 273 个氨基酸, 约包含 60 个氨基酸。猪

PIT-1 基因序列与已知的哺乳动物的序列的同源性达 95%。氨基酸序列上的区别出现在氨基端区域,而 POU-SD 和 POU-HD 区域则高度保守。Yu 等利用猪 *PIT-1* cDNA 片段为探针,克隆了 *PIT-1* 基因组区域并测序(2695bp, Accession number U00793)^[23]。

3.2 猪 *PIT-1* 基因的多态性及其应用

美国的 Iowa State University (ISU) 的 Tuggle 等早在 1993 年就开始了 *PIT-1* 基因多态性与猪生长及胴体性状关系的研究。他在中国的地方猪种—梅山猪的 *PIT-1* 基因中发现了 一个 BamHI 的多态基因座,但在 5 个美国猪种中并没有发现同样的多态基因座。之后, Yu 等又在包括梅山猪、民猪、丰泽猪等中国猪种及 3 头约克夏猪的 *PIT-1* 基因的 POU 结构域中发现了 MspI 多态性^[24]。Yu 等又利用 PCR-RFLP 的方法对 1764bp PCR 产物进行分析,与上述结果不同,一个 RsaI PCR/RFLP 在 5 种美国猪种中存在,而在中国猪种中表现为单态^[25]。

表 2 猪 *PIT-1* 基因的突变

Table 2 Mutations of *PIT-1* gene in pigs

位置 (氨基酸)	氨基酸 变化	参考文献
141	A→V	Tuggle C K, <i>et al.</i> (1993)
144	I→M	Tuggle C K, <i>et al.</i> (1993)
155-161	EALAAVH → QVAAAAT	Vila V, <i>et al.</i> (1997)
183	R→A	Tuggle C K, <i>et al.</i> (1993)
196	V→E	Tuggle C K, <i>et al.</i> (1993)
259-260	RF→SV	Tuggle C K, <i>et al.</i> (1993)
265	R→H	Tuggle C K, <i>et al.</i> (1993)

为了研究 *PIT-1* 基因与猪生长和胴体性能的关系, Yu 等选用了包括 4 个中国的梅山猪和欧洲的长白猪组成的三代杂交资源家系为实验动物群体^[25]。生产性能指标分别为出生、21 日龄和 42 日龄体重、平均日增重、几个背膘厚测量值、背最长肌等。结果发现, MspI CC 基因型的猪相对于 DD 基因型猪, 有较高的出生重(CC 型比 DD 型高 0.12kg)。在几个背膘厚的测量指标上, 也均高于 DD 基因型猪, 而 CC 基因型最初来自于中国猪种所具有的等位基因。通过以上分析, 认为 *PIT-1* 与猪早期生长性状存在相关, 是标记早期生长性状的最接近的基因。

一个控制生长的 QTL 区域已确定在 13 号染色体上^[26], 而 *PIT-1* 基因被定位在这个 QTL 区域的中央^[27]。在 ISU 资源家系中, 利用 CRIMAP 程序将 4 种微卫星 DNA (Sw1008, S0068, Sw398 和 Sw1056) 标记和 *PIT-1* 基因被连锁定位。标记之间的连锁距离为: Sw1008-9.3-S0068-13.3-PIT-1-11.6-Sw398-16.6-Sw1056。这一连锁图信息将用于在 13 号染色体上区间定位(interval map)出生重和早期生长的 QTL^[28]。

4 猪 *PIT-1* 基因的研究前景

滇南小耳猪、五指山小型猪、贵州小型香猪及广西巴马小型香猪等是我国特有的 4 种小型猪资源, 在分类上它们都属于华南型猪, 主要分布在我国南部的热带和亚热带地区, 品种资源丰富, 一般成年体重在 40kg 左右。由于小型猪大多生长在沟岭纵横, 森林密布, 交通闭塞的地区, 外来猪种的血缘难以进入, 猪的饲养一般采取自繁自养的方式, 公猪大多来自本群的优秀个体, 也有采用亲子交配的, 因此这些猪种在品种内存在一定程度的近交。随着世代的增加, 某些优良性状稳定地遗传下来, 因而形成了自己的资源优势, 在作为小型实验动物的应用中倍受重视。

为了保护好我国的珍贵资源, 分析我国特有的近交小型猪种的遗传资源独特性, 首先就必须对小型猪的矮小性遗传机理进行充分的了解和认识。本课题组在国家自然科学基金及国家重点基础研究发展规划项目的资助下, 以 *PIT-1* 基因作为候选基因, 开展了 *PIT-1* 基因在小型猪和普通猪中的遗传特性的研究, 分析猪矮小性的遗传机理, 为珍贵小型猪动物资源评价、利用及保护提供理论依据。

参考文献(References):

- [1] Cohen L E, Zanger K, *et al.* Defective retinoic acid regulation of the *PIT-1* gene enhancer: a novel mechanism of combined pituitary hormone deficiency[J]. *Mol Endocrinol*, 1999, 13(3): 476~484.
- [2] Rosenfeld M G. POU-domain transcription factors: pou-erful developmental regulators [J]. *Genes Dev*, 1991, 5(6): 897~907.
- [3] Aarskog D, Eiken H G, *et al.* Pituitary dwarfism in the R271W *PIT-1* gene mutation[J]. *Eur J Pediatr*, 1997, 156(11): 829~834.
- [4] Mangalam H, Albert V, *et al.* A pituitary POU domain protein, *PIT-1*, activates both growth hormone and prolactin promoters transcriptionally[J]. *Genes Dev*, 1989, 3(7): 946~958.
- [5] Ingraham H A, Chen R P, *et al.* A tissue-specific transcription factor containing a homeodomain specifies a pituitary phenotype [J]. *Cell*, 1988, 55(3): 519~529.
- [6] Steinfelder H L, Radovick S, *et al.* Hormonal regulation of the thyrotropin subunit gene by phosphorylation of the pituitary-specific transcription factor *PIT-1* [J]. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, 1992, 89: 5942~5945.
- [7] Li S, Crenshaw E, *et al.* Dwarf locus mutants lacking three pituitary cell types result from mutations in the POU-domain gene *PIT-1* [J]. *Nature*, 1990, 347 (6293): 528~533.
- [8] Snell G D. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1929, 15, 733~734.
- [9] Van Buul-Offier, S *Acta endocr*, 1983, 258, 7~47.
- [10] Eicher E M, Beamer W G. New mouse dw allele: genetic location and effects on lifespan and growth hormone levels [J]. *J*

- Hered, 1980, 71(3): 187~190.
- [11] Cheng T C, *et al.* Endocrinology, 1983, 113: 1669~1678.
- [12] Mouse News Letter, 1982, 66: 4~35.
- [13] Ohta K, Nobukuni Y, *et al.* Characterization of the gene encoding human pituitary-specific transcription factor, *PIT-1* [J]. Gene, 1992, Dec 15; 122(2): 387~388.
- [14] Tatsumi K, Miyai K, *et al.* Cretinism with combined hormone deficiency caused by a mutation in the *PIT-1* gene [J]. Nat Genet, 1992, 1(1): 56~58.
- [15] Radovick S, Nations M, *et al.* A mutation in the POU-homeodomain of *PIT-1* responsible for combined pituitary hormone deficiency [J]. Science, 1992, 257 (5073): 1115~1118.
- [16] Ohta K, Nobukuni Y, *et al.* Mutations in the *PIT-1* gene in children with combined pituitary hormone deficiency [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1992, 189(2): 851~855.
- [17] Martineli A M R, Braga M, *et al.* Description of a Brazilian patient bearing the R271W *PIT-1* gene mutation [J]. Thyroid, 1998, 8: 299~304.
- [18] Pellegrini-Bouiller I, Belicard P, *et al.* A new mutation of the gene encoding the transcription factor *PIT-1* is responsible for combined pituitary hormone deficiency [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1996, 81 (8): 2790~2796.
- [19] Pernaserti E, Milner R D, *et al.* Pro239Ser: a novel recessive mutation of the *PIT-1* gene in seven Middle Eastern children with growth hormone, prolactin, and thyrotropin deficiency [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1998, 83(6): 2079~2083.
- [20] Fofanova O V, Takamura N, *et al.* Rarity of *PIT-1* involvement in children from Russia with combined pituitary hormone deficiency [J]. Am J Med Genet, 1998, 77(5): 360~365.
- [21] Fluck C, Deladoe J, *et al.* Phenotypic variability in familial combined pituitary hormone deficiency caused by a *PROPI* gene mutation resulting in the substitution of Arg → Cys at codon 120 (R120C) [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1993, 83(10): 3727~3734.
- [22] Tuggle C K, Yu T P, *et al.* Cloning and restriction fragment length polymorphism analysis of a cDNA for swine *PIT-1*, a gene controlling growth hormone expression [J]. Animal Genetics, 1993, 24: 17~21.
- [23] Yu T P, Schmitz C B, *et al.* Expression pattern, genomic cloning and RFLP analyses of the swine *PIT-1* gene [J]. Animal Genetics, 1994, 25: 229~233.
- [24] Yu T P, Rothschild M R, *et al.* Rapid communication: a MspI restriction fragment length polymorphism at the swine *PIT-1* locus [J]. Journal of Animal Science, 1993, 71: 2275.
- [25] Yu T P, Tuggle C, *et al.* Association of *PIT-1* polymorphisms with growth and carcass traits in pigs [J]. J Anim Sci, 1995, 73: 1282~1288.
- [26] Andersen B, Pearce, R V II, *et al.* The Ames dwarf gene is required for *PIT-1* gene activation [J]. Dev Biol, 1995, 172 (2): 495~503.
- [27] Archibald A L, Haley C S, *et al.* The PiGMaP consortium linkage map of the pig (*Sus scrofa*) [J]. Mammalian Genome 1995, 6: 157~175.
- [28] Yu T P, Wang L, *et al.* Progress toward an internal map for birth weight and early weight quantitative traits loci on pig chromosome 13 [J]. J Animal Science, 1997, 75(Suppl. 1): 145.

中国遗传学会第六届理事会暨编委会会议在京召开

【本刊讯】中国遗传学会第六届理事会暨编委会会议于2001年10月20日在北京西郊宾馆召开。中国遗传学会理事、《遗传学报》、《遗传》编委会部分编委共50余人参加了会议，两刊编辑部编辑人员列席了会议。

上午的理事会由赵寿元理事长主持。学会办公室主任安锡培、人类与医学遗传学专业委员会主任孙开来、动物遗传学专业委员会主任张亚平和植物遗传学专业委员会主任张启发分别汇报了各自的工作，定于2002年1月在哈尔滨召开六届二次青年科学家学术会议与遗传名词审定委员会会议；2002年9月在温州举办全国医学遗传学学术研讨会；7月在长春举办动物遗传学学术研讨会；8月在北京举办第三届植物基因组学术研讨会。

海南省遗传学会理事长余诞生和秘书长符生苗汇报了2003年11月在海口召开中国遗传学会第七届全国代表大会的筹备情况，拟定的大会主题是“人—自然—社会”，会议规模约500人左右。

会议指出，2003年适逢沃森-克里克DNA双螺旋模型发现50周年。中国遗传学会将组织大型纪念活动，包括举行报告会，在《遗传学报》和《遗传》刊物上组织纪念专辑，并拟邀请沃森来华讲学或参加七大。

下午的编委会由两刊主编朱立煌主持，《遗传学报》编辑部、《遗传》编辑部分别汇报了工作，《植物学报》编辑部谢巍应邀到会介绍了经验。到会的理事、编委就如何提高刊物质量、使刊物走向国际等问题展开了热烈的讨论提出了许多好的建议。

会议决定：自2002年起，《遗传学报》改为大16开本，改进封面设计，增加英文稿件，中文稿件增加英文摘要的信息量，用英文著录参考文献，增聘国际编委，创造条件，提高刊物影响，争取早日进入SCI收录期刊的行列。