

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2011.01300

精子发生过程中基因表达转录水平的调控

张秀军^{1,2}, 刘美玲¹, 贾孟春¹

1. 国家人口计生委科学技术研究所, 北京 100081;
2. 河北联合大学生命科学学院, 唐山 063000

摘要: 哺乳动物精子发生于睾丸的生精小管, 是一个高度复杂的细胞分裂和分化过程, 涉及到错综复杂的基因表达调控过程, 包括转录和转录后水平的调控, 其中任何一个环节出错都可能导致雄性不育。因此, 揭示精子发生过程中的分子调控机理, 对发现新的男性避孕方法及治疗不育症有重要意义。文章重点综述了近年有关雄激素及其受体、雌激素及其受体、转录因子和染色质相关因子在精子发生转录水平调控的研究进展。

关键词: 精子发生; 转录调控; 转录因子; 染色质相关因子

Regulation of gene expression during spermatogenesis at transcriptional level

ZHANG Xiu-Jun^{1,2}, LIU Mei-Ling¹, JIA Meng-Chun¹

1. National Research Institute for Family Planning, Beijing 100081, China;
2. College of Life Sciences, Hebei United University, Tangshan 063000, China

Abstract: Mammalian spermatogenesis is a highly complex cell division and differentiation process occurring in the seminiferous tubules of the testis. These processes are regulated at both transcriptional and post-transcriptional levels, any mistake in this process can lead to infertility. Unveiling the molecular mechanisms of spermatogenesis has important implications for exploring novel contraceptive approach and treatment of infertility. This review addresses recent progress towards understanding the regulation of androgen, estrogen and their receptors, transcription factors and chromatin-associated factors for spermatogenesis at transcriptional level.

Keywords: spermatogenesis; transcriptional regulation; transcription factor; chromatin-associated factor

哺乳动物的精子发生(Spermatogenesis)依赖于雄激素(Androgen)驱动, 由生殖细胞和体细胞相互作用共同完成。在特定基因表达调控下, 精原干细胞经有丝分裂、减数分裂和分化等事件, 持续不断产生正常功能精子(Functional sperm)。精子发生过程

中的转录调控方式有多种: 如激素通过与其受体结合成复合物, 该复合物与靶基因的顺式作用元件结合, 调控该基因转录; 转录因子能够直接结合靶基因顺式作用元件调控基因转录; 染色质相关因子通过DNA组蛋白去甲基化或乙酰化来调控转录; 最近

收稿日期: 2011-01-20; 修回日期: 2011-03-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 81072093, 81170616)和中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(国家人口计生委科学技术研究所项目(编号: 2009GJSSJKB03) 资助

作者简介: 张秀军, 博士后, 专业方向: 细胞生物学。E-mail: zhangxiujun66@yahoo.com.cn

通讯作者: 贾孟春, 研究员, 研究方向: 细胞生物学。E-mail: jmchun48@yahoo.com.cn

网络出版时间: 2011-8-31 9:12:39

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20110831.0912.001.html>

发现 microRNA 通过结合靶基因的 3'-UTR 区域沉默基因转录。可见精子发生转录水平调控十分复杂, 故弄清精子发生基因的表达调控非常重要, 不仅助于理解精子发生过程, 而且有利于发现治疗男性不育和避孕的新策略、新方法。本文主要综述了雄激素、雌激素及其受体、转录因子和染色质相关因子在精子发生转录水平上的调控。

1 激素对精子发生的转录调控机制

激素通过与它们对应的受体蛋白结合成复合物, 在细胞核内能识别其靶基因 DNA 上的顺式作用元件—激素应答元件(Hormone response element, HRE), 并与之结合, 在转录水平上调控基因表达。在精子发生过程中, 雄激素、雌激素及其受体的转录调控作用尤为重要。

1.1 雄激素及雄激素受体(Androgen receptor, AR)对精子发生的调控

雄激素主要由睾丸产生(肾上腺皮质、卵巢少量分泌)。天然雄激素为睾丸间质细胞分泌的睾酮(Testosterone), 与AR形成复合物^[1]。对AR信号产生应答的是支持细胞, AR在两个步骤对精子发生起作用: (1)生殖细胞减数分裂起始阶段(少量AR信号); (2)晚期圆形精子细胞形成长形精子细胞阶段(需要大量AR信号)。

雄激素及其受体通过 3 种方式对精子发生过程中的基因表达起调控作用: (1)初级激素应答(Primary hormone responses): 雄激素-受体复合物直接与位于初级应答靶基因启动子区的顺式DNA元件相互作用, 激素处理 30 min 足以改变基因转录^[2], 一般激活转录, 但也能抑制。已发现的初级雄激素应答基因较少, 一是 *Pem/Rhox5* 同源框基因, 该基因转录起始位点上游 0.3 kb 存在雄激素反应原件(Androgen response elements, AREs)^[3], 另一个是原癌基因 *c-myc*^[4], 免疫共沉淀实验表明, AR 结合于 *myc* 启动子区域。(2)次级激素应答(Secondary hormone responses): 初级应答引起新蛋白合成(转录因子), 转录因子继而激活其他基因, 称之为次级激素应答。由于靶基因受到新合成的转录因子调控, 一般几小时至几天才达到最大反应。次级雄激素应答基因自身没有 AREs, 例如精氨酸酶(Arginase)、connexin-43、谷胱

甘肽S转移酶(Glutathione S transferase)、碳酸酐酶(Carbonic anhydrases)、血管紧张素转化酶 2(Angiotensin-converting enzyme 2)、雄激素结合蛋白(Androgen binding protein)和闭合蛋白-1(Claudin-1)基因^[5]。目前尚不清楚调控次级雄激素应答基因的是哪些转录因子, 在睾丸中被雄激素抑制的次级应答基因亦尚未发现。(3)非经典应答(nonclassical responses): 雄激素通过提高第二信使如 Ca^{2+} 以及蛋白激酶活性水平引起的快速应答^[6]。体外极低水平的睾酮(~ 1 nmol/L)可以引起AR诱导的基因转录达到最大(初级和次级激素应答基因), 而体内则需要大量睾酮(~ 70 nmol/L)才能保证精子发生, 表明非经典应答需要高水平的雄激素刺激^[7], 也证实了非经典应答在精子发生过程中可能更重要。非经典应答可依赖AR或不依赖AR起作用, 在雄激素处理大鼠成骨细胞(Osteoblasts)和人卵巢颗粒细胞(Granulosa cell)后, Ca^{2+} 和其他第二信使的浓度在 10 s 以内迅速升高, 因此是不依赖AR介导的应答^[8], 但至今尚未鉴定出特定激素的结合受体。在支持细胞和前列腺细胞中, 雄激素诱导的快速 Ca^{2+} 浓度升高可被AR拮抗剂羟基氟他胺(Hydroxyflutamide)阻断^[9], 表明是依赖于AR的雄激素应答。非经典应答通过快速诱导钙离子内流和激活ERK1 和ERK2 诱导MAPK通路激活来实现转录调控。非经典应答信号转导通路可能跟MAPK有关, 5-双氢睾酮能快速和短暂(2~60 min)诱导AR阳性前列腺细胞系LNCaP的ERK磷酸化^[10]。雄激素在 1 min 内快速诱导转录因子ERK和CREB磷酸化, 并持续至少 12 d, 这种磷酸化调控精子发生基因如前脑啡肽原(Proenkephalin)、c-Fos、乳酸脱氢酶A(Lactate dehydrogenase A, LDHA)和早期生长反应因子 1(Early growth response-1)基因的快速诱导表达, 这些基因都有CREM结合位点, 没有AREs。

1.2 雌激素(Estrogen)及雌激素受体(Estrogen receptor, ER)对精子发生的调控

ER α 基因敲除雄性小鼠(ER α KO)缺乏雄激素转换为雌激素的芳香化酶(Aromatase)引起生殖缺陷, 随着老化, 生殖细胞减少^[11]。哺乳动物ER α 亚型主要定位于流出管, 某些非灵长类位于支持细胞; ER β 亚型在睾丸所有生殖细胞中表达^[12]。

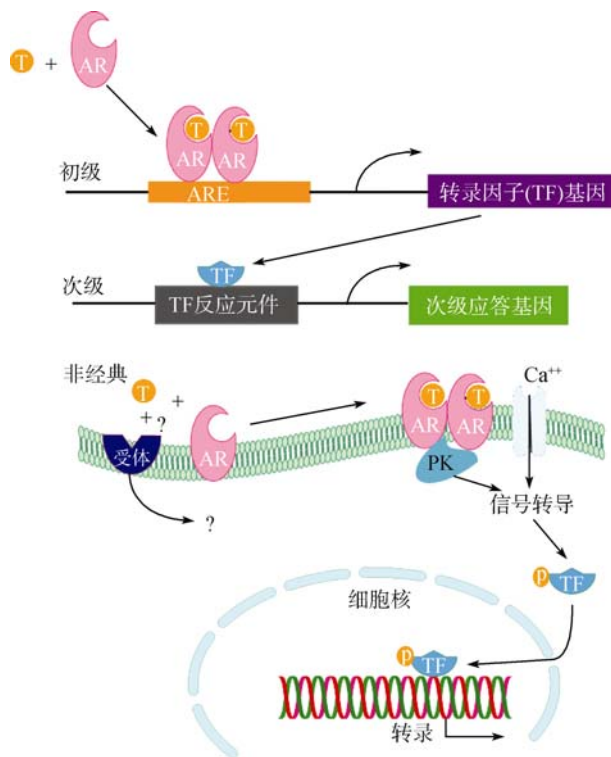


图 1 雄激素的 3 种作用方式

初级应答方式：睾酮(T)通过使AR二聚化增强其对靶基因启动子区ARE的亲和力，直接激活转录。次级应答方式：雄激素诱导的转录因子(TF)可改变次级应答基因转录。非经典应答方式：依赖或不依赖于AR，是由细胞膜触发的快速信号转导事件，包括Ca⁺⁺摄入和蛋白磷酸化，然后引起基因表达发生改变。

谷胱甘肽过氧化物酶 4(Glutathione peroxidase, gpx4)基因是初级雌激素应答基因，大鼠和小鼠睾丸用雌二醇处理后*Gpx4*表达上调，用阻断剂他莫昔芬(Tamoxifen)处理则下调^[13]。次级雌激素应答基因有衔接蛋白β1(Adaptin β1)和蛋白激酶C结合蛋白基因等一共 7 个，启动子区都没有明显雌激素反应原件(Estrogen responsive elements, EREs)，需要在己烯雌酚(Diethylstilbestrol)处理后几个小时才能表达。17β雌二醇在人精子细胞中能快速诱导钙内流和酪氨酸磷酸化的非经典应答，对精子获能(Capacitation)和受精有利^[14]。

2 转录因子对精子发生的调控

已确认在出生后和成年睾丸组织中能够影响精子发生的转录因子见表 1。

2.1 CREM (CRE modulator protein)和 CREB (cAMP response element binding protein)

第二信使 cAMP 通过 CREs(cAMP response

表 1 精子发生中重要的转录因子

基因产物	细胞类型
CREB	支持细胞
CREM-τ	雄性生殖细胞
TR4	雄性生殖细胞
HSF1	雄性生殖细胞
OVOL1	雄性生殖细胞
HSF2	支持细胞和生殖细胞
WT1	支持细胞
SOX	支持细胞
PLZF	精原细胞
DMRT1	支持细胞和生殖细胞
PEM(Rhox5)	支持细胞

elements)引发转录应答。CREs 的保守回文序列(TGACGTCA)能够特异性结合转录因子 CREB、CREM 和 ATF-1。

2.1.1 CREM

CREM有许多异构体，其中CREM-τ在精子发生中起作用，睾丸特异表达，但青春期前小鼠睾丸中并不表达，成年期突然表达升高，在生殖细胞中控制减数分裂后分化事件的关键基因表达。靶向干扰CREM使精子发生停滞在圆形精子阶段，导致雄性不育^[15]。CREM的缺失引起某些对精子分化必须的减数分裂后期关键蛋白表达下调，如转换蛋白TP1和TP2、精蛋白PN1和PN2、前顶体蛋白(Proacrosin)和钙精蛋白(Calspermin)编码的基因。这些基因的启动子都有CREs，是CREM-τ直接靶基因。因此，CREM-τ可能在生殖细胞中掌控减数分裂后分化事件的关键基因。CREM-τ以非磷酸化形式存在，必须与共激活分子(Coactivator molecules)结合才能激活下游靶标，睾丸CREM激活子蛋白(Activator of CREM in testes, ACT)^[16]是CREM-τ共激活分子，能反式激活CREM-τ。睾丸特异性驱动蛋白KIF17b与ACT结合^[17]，是ACT转运子，当精子在IX期开始延长时，KIF17b与ACT一起转位至胞浆，把ACT运出细胞核以便关闭依赖ACT和CREM-τ的基因转录。

2.1.2 CREB

部分敲除CREB(缺失α或δ异构体)小鼠生育力低、生殖细胞数量少^[18]，完全敲除CREB所有异构体(αβ和δ)小鼠出生后死亡；用表达CREM显性失活突变的腺病毒载体选择性敲除CREB可避免围产期

死亡, 但生殖细胞凋亡且圆形精子细胞数量锐减。当显性失活CREB载体在初级支持细胞中表达时, 可以引起c-Fos(CREB依赖的转录因子)表达完全抑制。

2.2 TR4 (Testicular receptor 4)

精子发生中有两类孤儿受体, 一是睾丸受体 4 (Testicular receptor 4, TR4), 在第一次生精波的定时中发挥作用。TR4 特异表达于初级精母细胞, 峰值在出生后 21 d(减数分裂前期结束), 以后持续表达。TR4 缺失小鼠表现出生育力下降、产生不到 50%精子, 第一次生精波明显推迟, 减数分裂前期和后续减数分裂的时间延长^[19]。减数分裂终止的特异性分子标记cyclin A1 和sperml 在第一次生精波中延迟表达, 生殖细胞分裂缺陷导致精子发生停滞在XI~XII期。TR4 跟NRs一样通过TR4 结合位点激活转录, 如TR4 激活编码甲状腺激素基因和睫状神经营养因子(Ciliary neurotrophic factor, CNTF)基因启动子, 抑制编码 21-羟化酶(Steroid 21-hydroxylase gene, CYP21)基因的启动子。

另一个孤儿受体是TR2, 于小鼠出生后 16 d的睾丸中表达, 28 d表达大量上调, 成年持续高表达, 仅限于圆形和长形精子细胞。TR2 在手术诱导隐睾(Cryptorchidism)和维生素A缺乏(Vitamin A depletion)两种睾丸损伤模型中表达降低, 表明其在精子发生中可能起到重要作用。对TR2 缺失动物表型分析表明, 睾丸发育和成年生育方面并没有影响^[20]。因此, 将来有必要确定TR2 在精子发生中的重要性^[21]。

2.3 热休克因子(Heat-shock factor, HSF)

HSF对热休克产生应答激活转录。不存在热休克时, HSF也调控胚胎发育和精子发生基因的表达^[22]。脊椎动物主要表达HSF1、HSF2 和HSF4, 在胞浆中都以单体存在。受环境因素刺激时, 磷酸化并转入核, 然后与其他因子形成高分子量的转录促进复合物^[23]。

转基因小鼠过表达HSF1 引起精子发生阻滞, Hsf2 敲除鼠生育能力低下(Subfertility), 睾丸重量减少, 精子数量锐减 70%, 精原细胞大量凋亡, 表明HSF2 能够促进减数分裂生殖细胞或分化的精子存活^[24]。敲除Hsf1 对精子发生没有明显影响, 但同时敲除Hsf1 和Hsf2 出现完全不育^[25], 表明Hsf1 和Hsf2 功能冗余但对精子发生关键。双突变鼠明显没有晚

期精母细胞或精子, 生殖细胞不能通过减数分裂粗线期。基因芯片分析显示, 100 个基因表达降低(超过 5 倍), 多数是分化过程中表达的HSF1 和/或HSF2 靶基因, 如*meg1* (生殖细胞减数分裂早期表达的细胞周期蛋白)、*Xmr* (联会复合物促进因子)、同源框基因(*Hoxa4*, 早期减数分裂表达)和*Pem/Rhox5* (支持细胞中表达)。

启动子微阵列高分辨率ChIP-on-chip检测成年小鼠睾丸HSF2 结合位点, 显示HSF2 主要与Y染色体位点相互作用, 其靶基因如*Ssty2* 和*Sly*是Y染色体长臂((MSYq)雄性特异区域内多拷贝基因簇一部分, 专门表达于精子发生期间。先前研究表明, 删除MSYq区域可导致精子头部缺失和小鼠生育力缺陷。同样, *Hsf2* 突变小鼠生育力降低且有高比例精子头部缺陷。上述现象提示, *Hsf2* 突变小鼠的生殖缺陷源于Y染色体HSF2 靶基因失调^[26]。除了Y染色体基因表达改变之外, Hsf2 还能调节转换蛋白 2(TNP2), 精蛋白-1 (PRM1)和精蛋白-2 (PRM2)转录, 证明其在精子发生的后期阶段染色质重组事件中发挥重要作用。

2.4 OVOL1

OVOL1 是锌指蛋白转录因子Ovo家族一员。破坏小鼠*Ovoll* 导致表达OVOL1的组织异常, 如睾丸、皮肤、肾脏和泌尿生殖道, 尤其是睾丸缺陷非常明显, 出现大量生殖细胞降解及生育能力低下。如精原细胞缺失OVOL1, 则大约 50%不能通过晚粗线期阶段, 伴随晚期粗线期精母细胞大量凋亡^[27]。*Ovoll* 突变的生殖细胞表现为继续增殖而不是分化, 细胞核出现异常早熟cyclin B1。OVOL1 还能通过抑制启动子直接抑制细胞分化抑制因子-2(ID2)基因转录, 调控决定生殖细胞增殖或者分化的分子表达。

2.5 WT1 (Wilms' tumor gene)

Wilms 肿瘤基因(*Wtl*)编码锌指转录因子和肿瘤抑制因子, 对胚胎期生殖腺(Gonads)发育至关重要。小鼠 *Wtl* 最初主要表达于生殖嵴(Genital ridge)细胞, 一般是在交配后 10.5~11.5 d。靶向干扰 *Wtl* 后引起生殖嵴细胞凋亡, 阻断生殖腺形成。

Wtl 条件型敲除鼠生殖管道结构异常, 睾丸尺寸减少^[28], 说明双向潜能生殖嵴发育为雄性生殖腺需要*Wtl*。在出生后的小鼠表达人工microRNA靶向干扰 *Wtl*, 可导致顶部外质特化区(Apical ectoplasmic

specialization, ES)破坏, ES是延伸精子与支持细胞的连接复合物, 其破坏可引起生殖细胞凋亡、精子数量减少、运动能力和生育率降低, 这与干扰支持细胞 *Wtl* 后导致的 *Eps8* 和 *Icap1- α* (编码ES关键信号分子) 失调有关。因此, WT1 可能通过Rac介导的信号传导事件促进支持细胞和生殖细胞联系, 最终形成顶部外质特化区。

2.6 SOX(SRY-related high-mobility group box)

SRY相关高可变区基因盒 (SOX) 转录因子有一个 79 个氨基酸的高可变区盒(High-mobility group box, HMG)DNA结合结构域, 指导雄性生殖腺形成 [29]。SOX9 位于SRY正下游, 负责协调哺乳动物睾丸形成。SOX9 和另外E区成员SOX8 都表达于成年支持细胞, 跟WT1 和RHOX5 具有一样的促进精子发育功能 [29]。干扰 *Sox8* 基因能引起年龄依赖的精子发生障碍, 特征是精母细胞和圆形精子细胞脱落、精子释放阻滞、精子发生周期瓦解, 原因可能是缺乏支持细胞和生殖细胞之间的粘附。正常小鼠顶端ES在生精小管周期的VII和VIII之间溶解, 利于成熟精子从管中释放, 而 *Sox8-null* 小鼠则不会出现这种情况 [30]。因此, WT1 和SOX8 主要负责调控生殖细胞与支持细胞的粘附基因的表达。

X连锁 *Sox3* 基因是 *Sry* 前体, *Sox3* 敲除小鼠睾丸小(约为野生型的 40%), 附睾精子比正常低 3 倍, 生精小管缺陷多样, 最严重的仅仅有支持细胞, 生殖细胞完全消失。生殖细胞这种缺陷可能是 *Sox3* 间接作用的结果, 因为免疫组化分析显示, *Sox3* 在支持细胞核高表达 [31]。 *Sox3* 同样也在生殖细胞中表达, 直接调控生殖细胞分化和存活。 *Sox3* 缺失对支持细胞形态有影响, 胞浆内有大量液泡(Vacuoles)提示可能是支持细胞吞噬作用增强导致液泡形成, 与支持细胞吞噬大量坏死生殖细胞有关。

目前发现 20 多个 *Sox* 因子, 有些可能跟精子发生有关, 如E组(*Sox8*、*Sox9* 和 *Sox10*) 在支持细胞中重叠表达。 *Sox9* 在成年睾丸生精小管上皮细胞呈阶段特异性表达 (主要在第VII阶段)。 *Sox9* 和 *Sox8* 基因敲除小鼠研究表明, 二者在胚胎生殖腺发育过程中同样重要 [32], 都在交配后第 12 d 开始到第 16 d 的支持细胞中达到峰值, 他们与GATA因子、WT1 和类固醇生成因子-1 一起激活抗苗勒氏管激素(Anti Mullerian Hormone, Amh)表达。

2.7 Plzf(Promyelocytic leukemia zinc factor)

高等脊椎动物锌指蛋白是转录因子中最大家族。在精子发生中唯一已知起作用的是早幼粒细胞白血病锌指因子Plzf(亦称Zinc-finger protein 145; Zfp145)。Plzf开始表达于交配后 17.5 d 的雄性生殖细胞, 峰值出现在生殖母细胞向精原细胞转化的产后 7 d [33], 然后表达限定在一部分精原细胞。基因芯片分析发现Plzf调控的多是编码转录因子、RNA结合蛋白、代谢酶和细胞周期调控蛋白的基因, 但都属间接调控, 因为启动子区都没有Plzf结合序列 [34]。

2.8 Dmrt1(Doublesex and Mab-3-related transcription factor-1)

双性和Mab3 相关转录因子(Dmrt1) 是具有DM结构域的高度保守转录因子, 最初表达于生殖嵴组织利于生殖腺形成。小鼠 *Dmrt1* mRNA在原始生殖腺支持细胞和生殖细胞表达, 产后 1 d, Dmrt1 蛋白表达水平上调, 在 7 d(此时刚开始启动减数分裂)达到高峰。成年小鼠睾丸精原细胞和支持细胞表达Dmrt1 蛋白。 *Dmrt1-null* 小鼠表型分析显示其对出生后睾丸分化和支持细胞增殖十分重要, 小鼠睾丸发育不全, 几乎没有生殖细胞, 不成熟支持细胞过剩, 生殖母细胞无法迁移至生精小管上皮造成增殖缺陷, 产后 7~10 d 细胞死亡。最近研究发现 [35], 缺失 *Dmrt1* 可引起精原细胞进入减数分裂阶段, 并干扰支持细胞中周期蛋白基因表达。

2.9 Hox(Homeobox)

同源框(Hox)基因编码带 60 个氨基酸DNA结合基序转录因子, 高等真核细胞基因组发现了超过 150 个同源框基因 [36]。Hox亚族的 *Rhox* (小鼠X染色体生殖同源框) 基因簇有 30 多个基因, 成年和出生后小鼠 *Rhox* 基因主要表达于雄性和雌性生殖组织, 编码同源结构域转录因子, 调控生殖功能。 *Rhox* 基因有 3 个亚簇, 每一个亚簇的基因在睾丸发育中根据其所处位置顺序表达, 如 α 亚簇第一个基因是 *Rhox1*, 在第一次生精波中表达, *Rhox2* 其次表达。多数 *Rhox* 基因表达于睾丸中的体细胞 [37], 一些在支持细胞增殖时表达, 另一些是在支持细胞终末分化时表达, 提示可能参与支持细胞有丝分裂和发育。

Pem/Rhox5 仅在支持细胞中表达, 调控编码分泌或细胞表面分子的基因, 控制生殖细胞存活。 *Pem/Rhox5-null* 雄性小鼠生育力低下, 与同窝出生

的正常对照比, 睾丸精母细胞凋亡增加, 不到 50% 成熟精子和附睾精子。在 15P-1 支持细胞中 RNA 表达谱检测发现, *Unc5c* 是受 *Rhox5* 调控的关键基因^[38]。目前已知在正常生理水平下, RHOX5 蛋白负调控 *Unc5c* 基因转录, 通过 *Unc5c* 5' 非翻译区的一个顺式元件抑制转录, *Rhox5*-null 小鼠睾丸则出现 *Unc5c* mRNA 水平上升, 可见 RHOX5 促进生殖细胞存活是通过抑制促凋亡分子 UNC5C 的表达来实现的。

3 染色质相关因子 (Chromatin-associated factors) 调控精子发生

染色质相关因子与转录因子互相作用以接近转录调控区域。含 JmjC 结构域的组蛋白去甲基化酶-2A (Jumonji-C-domain-containing histone demethylase-2A, JHDM2A) 可在组蛋白尾部特定位点去甲基化, 是精子成熟正调控因子。另外 2 个染色质相关因子—PYGO2 和 BRDT, 同样可以促进精子成熟。他们都有可以结合到特异组蛋白修饰位点的结构域, PYGO2 有植物同源结构域 (Plant homeodomain, PHD), 能够特异性结合到甲基化的组蛋白残基上, BRDT 有一个溴结构域 (Bromodomain), 能够结合在乙酰化的组蛋白残基上, 调控转录和染色质浓缩。

3.1 JHDM2A

JHDM2A (最近命名为赖氨酸去甲基化酶 3A, KDM3A), *Jhdm2a* 缺失小鼠表现出减数分裂后染色质凝集缺陷, 精子染色质包装和凝集所需的过渡蛋白 (TNPI) 和鱼精蛋白 (PRM1) 基因是 JHDM2A 靶点, JHDM2A 直接结合并控制这两个基因的表达^[39]。

JHDM2A 催化结构域突变后引起精子数量减少及不育, 形态和核异常, 很少有圆形精子细胞能够发育成长形精子细胞。JHDM2A 能够通过结合并去除负调控标记—组氨酸 H3 第 9 位赖氨酸的甲基 (H3K9), 进而调控 *TNPI* 和 *PRM1* 基因表达^[40]。

3.2 PYGO2

Pygopus (Pygo) 是 PHD-finger 蛋白家族中一员, Wnt 通路的共激活子, 能结合并维持 β -catenin 在核内。小鼠有 *Pygo1* 和 *Pygo2* 基因, 靶向去除 *Pygo1* 对发育和受精没有明显影响, 但去除 *Pygo2* 则产生严重发育异常, 包括晶状体发育不全和肾脏畸形, 最终导致胚胎死亡^[41]。

Pygo2 突变后降低减数分裂后基因表达, 如

PRM1、TNP2 和 H1fnt 这些染色质浓缩需要的蛋白, 表明 *Pygo2* 在雄性生殖细胞中与导致核浓缩的染色质重塑事件有关^[42]。*Pygo2* 突变鼠第 9 阶段的精子细胞缺失组蛋白 H3 在第 9 (H3K9) 和 14 位 (H3K14) 的乙酰化能力, 表明 PYGO2 能够通过促进这两种组蛋白残基乙酰化, 激活精子发生过程中基因表达。此外, PYGO2 的 PHD 基序能结合组氨酸 H3 尾部第 4 个赖氨酸的三甲基化位点 (histone H3 tails trimethylated on lysine 4, H3K4me3), 这是一个与转录激活基因密切相关的标志。因此, PYGO2 转录激活基因的可能过程是: 结合到被 H3K4me3 修饰的等待激活的基因上, 然后促进组氨酸修饰 (H3K9 和 H3K4 乙酰化), 最后导致转录激活。

3.3 BRDT

“溴”结构域睾丸特异性蛋白 (Bromodomain testis-specific protein, BRDT) 在初级精母细胞和圆形精子中表达丰富, 调控染色质浓缩。缺失 BRDT 引起生殖细胞缺陷, *Brd1* 突变小鼠有非正常延伸的 (第 9~12 阶段)、非正常头部的、低数量的精子。睾丸特异性组蛋白异构体基因 *H1t* 表达上升, BRDT 结合 *H1t* 启动子, 推测 *H1t* 可能在生殖细胞中介导 BRDT 的功能^[43]。Steilmann 等^[44] 发现, 可育精子的 BRDT 启动子区域组氨酸高甲基化, 提示其表达在受精后会被抑制, 但在不育患者中这种甲基化比较低, 表明不育与 BRDT 转录水平增加有关。

3.4 TAF4B

RNA II 多聚酶的核心 TFIID 由 TATA 结合蛋白 (TATA-binding protein, TBP) 和 14 个 TBP 相关因子 (TBP-associated factors, TAFs) 组成。TAFs 大多广泛表达于所有细胞, 其中 TAF4B 在生殖细胞中特异起作用, *Taf4b*-null 小鼠雄性不育, 伴随生殖细胞的丢失和生精小管的降解^[45]。

4 展望

人们对精子发生的研究已有几十年历史, 但从精原细胞到成熟可运动精子的发育过程及其分子机制还是知之甚少。在雄激素对精子发生基因表达调控方面, 仅仅开始鉴定雄激素初级应答基因。将来可在如下领域开展研究工作: 在全基因组范围内搜索睾丸中包含 ARE 的基因; 筛选对雄激素快速应答

或抑制的基因;发现鉴定精子发生相关的次级雄激素应答基因的新方法,如借助于发现更多雄激素初级应答基因编码的转录因子,其下游靶点肯定是次级应答基因;AR 在睾丸组织中的信号通路除了 MAPK 之外,是否与 PI3K、JAK/STAT 和 Akt 通路有关等;在睾丸中鉴定的雌激素调控基因。迄今为止,仅有少数转录因子确认在精子发生的某一阶段起作用,不同转录因子在多个阶段对精子发生调控的功能冗余及之间的关系也远未阐明。在应用睾丸和细胞特异性基因敲除或者敲低方法研究生殖细胞特异转录因子的功能,以及发现新的调控生殖细胞发育的染色质相关因子等方面需要做很多工作。

精子发生转录调控网络非常复杂,因此需要用细胞内信号调控通路、细胞间信号通路的精确分析等多种方法去研究、揭示,当前在这一研究领域只是对精子发生过程揭秘的初级阶段,有待进一步深入研究。

参考文献(References):

- [1] Giraldi T, Giovannelli P, Di Donato M, Castoria G, Migliaccio A, Auricchio F. Steroid signaling activation and intracellular localization of sex steroid receptors. *J Cell Commun Signal*, 2010, 4(4): 161–172. [DOI](#)
- [2] Robaire B, Seenundun S, Hamzeh M, Lamour SA. Androgenic regulation of novel genes in the epididymis. *Asian J Androl*, 2007, 9(4): 545–553. [DOI](#)
- [3] Hu ZY, Dandekar D, O'Shaughnessy PJ, De Gendt K, Verhoeven G, Wilkinson MF. Androgen-induced Rhox homeobox genes modulate the expression of AR-regulated genes. *Mol Endocrinol*, 2010, 24(1): 60–75. [DOI](#)
- [4] Amir AL, Barua M, McKnight NC, Cheng S, Yuan X, Balk SP. A direct β -catenin-independent interaction between androgen receptor and T cell factor 4. *J Biol Chem*, 2003, 278(33): 30828–30834. [DOI](#)
- [5] Geyer CB, Kiefer CM, Yang TP, McCarrey JR. Ontogeny of a demethylation domain and its relationship to activation of tissue-specific transcription. *Biol Reprod*, 2004, 71(3): 837–844. [DOI](#)
- [6] Castoria G, Lombardi M, Barone MV, Bilancio A, Di Domenico M, De Falco A, Varricchio L, Bottero D, Nanayakkara M, Migliaccio A, Auricchio F. Rapid signalling pathway activation by androgens in epithelial and stromal cells. *Steroids*, 2004, 69(8–9): 517–522. [DOI](#)
- [7] Walker WH. Nongenomic actions of androgen in Sertoli cells. *Curr Top Dev Biol*, 2003, 56: 25–53. [DOI](#)
- [8] Kousteni S, Chen JR, Bellido T, Han L, Ali AA, O'Brien CA, Plotkin L, Fu Q, Mancino AT, Wen Y, Vertino AM, Powers CC, Stewart SA, Ebert R, Parfitt AM, Weinstein RS, Jilka RL, Manolagas SC. Reversal of bone loss in mice by nongenotropic signaling of sex steroids. *Science*, 2002, 298(5594): 843–846. [DOI](#)
- [9] Gorczynska E, Handelsman DJ. Androgens rapidly increase the cytosolic calcium concentration in Sertoli cells. *Endocrinology*, 1995, 136(5): 2052–2059. [DOI](#)
- [10] Lyng F M, Jones G R, Rommerts F F G. Rapid androgen actions on calcium signaling in rat sertoli cells and two human prostatic cell lines: Similar biphasic responses between 1 picomolar and 100 nanomolar concentrations. *Biol Reprod*, 2000, 63(3): 736–747. [DOI](#)
- [11] Toda K, Okada T, Takeda K, Akira S, Saibara T, Shiraishi M, Onishi S, Shizuta Y. Oestrogen at the neonatal stage is critical for the reproductive ability of male mice as revealed by supplementation with 17 β -oestradiol to aromatase gene (Cyp19) knockout mice. *J Endocrinol*, 2001, 168(3): 455–463. [DOI](#)
- [12] Zhou Q, Nie R, Prins GS, Saunders PT, Katzenellenbogen BS, Hess RA. Localization of androgen and estrogen receptors in adult male mouse reproductive tract. *J Androl*, 2002, 23(6): 870–881. [DOI](#)
- [13] Nam SY, Baek IJ, Lee BJ, In CH, Jung EY, Yon JM, Ahn B, Kang JK, Yu WJ, Yun YW. Effects of 17 β -estradiol and tamoxifen on the selenoprotein phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx) mRNA expression in male reproductive organs of rats. *J Reprod Dev*, 2003, 49(5): 389–396. [DOI](#)
- [14] Luconi M, Muratori M, Forti G, Baldi E. Identification and characterization of a novel functional estrogen receptor on human sperm membrane that interferes with progesterone effects. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999, 84(5): 1670–1678. [DOI](#)
- [15] Rajkovic M, Iwen KAH, Hofmann PJ, Harneit A, Weitzel JM. Functional cooperation between CREM and GCNF directs gene expression in haploid male germ cells. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(7): 2268–2278. [DOI](#)
- [16] Fimia GM, De Cesare D, Sassone-Corsi P. CBP-independent activation of CREM and CREB by the LIM-only protein ACT. *Nature*, 1999, 398(6723): 165–169. [DOI](#)
- [17] Macho B, Brancorsini S, Fimia GM, Setou M, Hirokawa N, Sassone-Corsi P. CREM-dependent transcription in male germ cells controlled by a kinesin. *Science*, 2002, 298(5602): 2388–2390. [DOI](#)
- [18] Scobey MJ, Bertera S, Somers JP, Watkins SC, Zeleznik AJ, Walker WH. Delivery of a cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate response element-binding protein (creb) mutant to seminiferous tubules results in impaired spermatogenesis. *Endocrinology*, 2001, 142(2): 948–954. [DOI](#)
- [19] Mu XM, Lee YF, Liu NC, Chen YT, Kim E, Shyr CR,

- Chang CS. Targeted inactivation of testicular nuclear orphan receptor 4 delays and disrupts late meiotic prophase and subsequent meiotic divisions of spermatogenesis. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(13): 5887–5899. [DOI](#)
- [20] Shyr CR, Collins LL, Mu XM, Platt KA, Chang CS. Spermatogenesis and testis development are normal in mice lacking testicular orphan nuclear receptor 2. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(13): 4661–4666. [DOI](#)
- [21] Yang Y, Wang X, Dong TF, Kim E, Lin WJ, Chang CS. Identification of a novel testicular orphan receptor-4 (TR4)-associated protein as repressor for the selective suppression of TR4-mediated transactivation. *J Biol Chem*, 2003, 278(9): 7709–7717. [DOI](#)
- [22] Wang GH, Zhang J, Moskophidis D, Mivechi NF. Targeted disruption of the heat shock transcription factor (*hsf*)-2 gene results in increased embryonic lethality, neuronal defects, and reduced spermatogenesis. *Genesis*, 2003, 36(1): 48–61. [DOI](#)
- [23] Björk JK, Sistonen L. Regulation of the members of the mammalian heat shock factor family. *FEBS J*, 2010, 277(20): 4126–4139. [DOI](#)
- [24] Nakai A, Suzuki M, Tanabe M. Arrest of spermatogenesis in mice expressing an active heat shock transcription factor 1. *EMBO J*, 2000, 19(7): 1545–1554. [DOI](#)
- [25] Zhang Y, Huang L, Zhang J, Moskophidis D, Mivechi NF. Targeted disruption of *hsf1* leads to lack of thermotolerance and defines tissue-specific regulation for stress-inducible Hsp molecular chaperones. *J Cell Biochem*, 2002, 86(2): 376–393. [DOI](#)
- [26] Touré A, Szot M, Mahadevaiah SK, Rattigan Á, Ojarikre OA, Burgoyne PS. A new deletion of the mouse Y chromosome long arm associated with the loss of *Ssty* expression, abnormal sperm development and sterility. *Genetics*, 2004, 166(2): 901–912. [DOI](#)
- [27] Li BA, Nair M, Mackay DR, Bilanchone V, Hu M, Fallahi M, Song HQ, Dai Q, Cohen PE, Dai X. *Ovo11* regulates meiotic pachytene progression during spermatogenesis by repressing *Id2* expression. *Development*, 2005, 132(6): 1463–1473. [DOI](#)
- [28] Rao MK, Pham J, Imam JS, MacLean JA, Murali D, Furuta Y, Sinha-Hikim AP, Wilkinson MF. Tissue-specific RNAi reveals that *WT1* expression in nurse cells controls germ cell survival and spermatogenesis. *Genes Dev*, 2006, 20(2): 147–152. [DOI](#)
- [29] Sekido R, Lovell-Badge R. Sex determination and SRY: down to a wink and a nudge? *Trends Genet*, 2009, 25(1): 19–29. [DOI](#)
- [30] O'Bryan MK, Takada S, Kennedy CL, Scott G, Harada S, Ray MK, Dai Q, Wilhelm D, de Kretser DM, Eddy EM, Koopman P, Mishina Y. *Sox8* is a critical regulator of adult Sertoli cell function and male fertility. *Dev Biol*, 2008, 316(2): 359–370. [DOI](#)
- [31] Weiss J, Meeks JJ, Hurley L, Raverot G, Frassetto A, Jameson JL. *Sox3* is required for gonadal function, but not sex determination, in males and females. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(22): 8084–8091. [DOI](#)
- [32] Barrionuevo F, Scherer G. *SOX E* genes: *SOX9* and *SOX8* in mammalian testis development. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42(3): 433–436. [DOI](#)
- [33] Costoya JA, Hobbs RM, Barna M, Cattoretti G, Manova K, Sukhwani M, Orwig KE, Wolgemuth DJ, Pandolfi PP. Essential role of *Plzf* in maintenance of spermatogonial stem cells. *Nat Genet*, 2004, 36(6): 653–659. [DOI](#)
- [34] Dadoune JP. New insights into male gametogenesis: what about the spermatogonial stem cell niche? *Folia Histochem Cytobiol*, 2007, 45(3): 141–147. [DOI](#)
- [35] Matson CK, Murphy MW, Griswold MD, Yoshida S, Bardwell VJ, Zarkower D. The mammalian doublesex homolog *DMRT1* is a transcriptional gatekeeper that controls the mitosis versus meiosis decision in male germ cells. *Dev Cell*, 2010, 19(4): 612–624. [DOI](#)
- [36] Deutsch JS. Homeosis and beyond. What is the function of the *Hox* genes? *Adv Exp Med Biol*, 2010, 689: 155–165. [DOI](#)
- [37] MacLean JA II, Lorenzetti D, Hu ZY, Salerno WJ, Miller J, Wilkinson MF. *Rhox* homeobox gene cluster: recent duplication of three family members. *Genesis*, 2006, 44(3): 122–129. [DOI](#)
- [38] Hu ZY, Dandekar D, O'Shaughnessy PJ, De Gendt K, Verhoeven G, Wilkinson MF. Androgen-induced *Rhox* homeobox genes modulate the expression of AR-regulated genes. *Mol Endocrinol*, 2010, 24(1): 60–75. [DOI](#)
- [39] Okada Y, Scott G, Ray MK, Mishina Y, Zhang Y. Histone demethylase *JHDM2A* is critical for *Tnp1* and *Prml1* transcription and spermatogenesis. *Nature*, 2007, 450(7166): 119–123. [DOI](#)
- [40] Okada Y, Tateishi K, Zhang Y. Histone demethylase *JHDM2A* is involved in male infertility and obesity. *J Androl*, 2010, 31(1): 75–78. [DOI](#)
- [41] Schwab KR, Patterson LT, Hartman HA, Song N, Lang RA, Lin X, Potter SS. *Pygo1* and *Pygo2* roles in Wnt signaling in mammalian kidney development. *BMC Biol*, 2007, 5: 15. [DOI](#)
- [42] Nair M, Nagamori I, Sun P, Mishra DP, Rhéaume C, Li B, Sassone-Corsi P, Dai X. Nuclear regulator *Pygo2* controls spermiogenesis and histone H3 acetylation. *Dev Biol*, 2008, 320(2): 446–455. [DOI](#)
- [43] Shang E, Nickerson HD, Wen DC, Wang XY, Wolgemuth DJ. The first bromodomain of *Brdt*, a testis-specific member of the BET sub-family of double-bromodomain-containing proteins, is essential for male germ cell differentiation. *Development*, 2007, 134(19): 3507–3515. [DOI](#)
- [44] Steilmann C, Cavalcanti MCO, Bartkuhn M, Pons-Kühnemann J, Schuppe HC, Weidner W, Steger K, Paradowska A. The interaction of modified histones with

the bromodomain testis-specific (BRDT) gene and its mRNA level in sperm of fertile donors and subfertile men.

Reproduction, 2010, 140(3): 435–443. [DOI](#)

- [45] Falender AE, Freiman RN, Geles KG, Lo KC, Hwang K, Lamb DJ, Morris PL, Tjian R, Richards JS. Maintenance of spermatogenesis requires TAF4b, a gonad-specific subunit of TFIID. *Genes Dev*, 2005, 19(7): 794–803. [DOI](#)