

同源盒基因 (*Hox*) 与哺乳动物生殖

白玉妍* 范衡宇 杨增明

(东北农业大学生物工程系, 哈尔滨 150030)

摘要 哺乳动物的同源盒基因 (*Hox*) 与果蝇的同源异形基因是同源基因, 该基因编码的 DNA 片段含 183 碱基对, 转录由 61 个氨基酸残基组成的蛋白质保守结构域, 称同源异型域. *Hox* 基因碱基顺序及在染色体中的位置都是高度保守的. *Hox* 基因在体节结构分化等空间信息调控中起着重要作用, 按特异的空间模式赋予每一体节其自身的特点. 近年来的研究表明, *Hox* 基因不但影响胚胎发育, 而且与成体生殖系统分化有关, 在着床期子宫接受态的建立及子宫蜕膜反应的发生等生殖过程中起着重要的调节作用.

关键词 *Hox* 基因, 生殖, 哺乳动物

学科分类号 Q26

1 *Hox* 基因概述

哺乳动物体内的 *Hox* 基因与果蝇的同源异形基因是同源基因, 由这些基因决定胚胎前后体轴的分化^[1]. *Hox* 基因编码的 DNA 片段含 183 碱基对, 转录由 61 个氨基酸组成的蛋白质保守区称同源异型域. 根据氨基酸序列分析, 该基因所编码的蛋白质第 42 至 50 位氨基酸序列富含精氨酸和赖氨酸, 这 9 个氨基酸片段被认为是与 DNA 相结合的区域, 此区域含一个螺旋-环-螺旋 (helix-loop-helix, HLH) 结构域, 可以和 DNA 结合对基因进行调控. 因此, *Hox* 基因产物是可与 DNA 结合的转录调节因子^[2].

在人和小鼠已克隆出 4 类具有同源盒序列的基因, 即 *Hox* 复合物 (*Hox complex*, *Hox-c*), 在小鼠命名为 *Hoxa*、*Hoxb*、*Hoxc* 和 *Hoxd*; 在人类命名为 *Hox A*、*Hox B*、*Hox C* 和 *Hox D*. *Hoxa-10* 是一种腹区 B 基因族 (*Abdominal B*、*Abd B*) 的同源盒基因, 位于 *Hox* 基因簇的 5' 端^[3]. 根据序列的相似性及在染色体上的位置可以将每一类同源盒基因分成 13 个同源家族. 每一同源家族的成员在哺乳动物胚胎中以相似的模式表达^[4].

Hox 基因调节果蝇体内的发育过程, 按特异的空间模式赋予每一体节其自身的特点^[5]. 同果蝇一样, *Hox* 基因表达的显著区域特异性表明, 它们参与脊椎动物体内的区域性特化. 已经证实, 在发育早期抑制或促进 *Hox* 基因的表达可以使脊椎动物发生同源异型转化, 说明 *Hox* 基因的表达

可以控制脊椎动物躯体区域特异性^[6]. 近年来的研究表明, *Hox* 基因在哺乳动物生殖过程的不同阶段都起着重要的调节作用.

2 *Hox* 基因对雄性生殖系统发育的调节

腹区 B 基因族为 *Hox* 基因的一个亚族, 它们的表达可以控制身体后部的结构域, 包括果蝇成虫的生殖域中区及脊椎动物泌尿生殖系统的发育. 腹区 B 基因族中 *Hoxa-10* 的小鼠突变体实验证实, 纯合体小鼠能存活且在早期表达脊椎动物的腰椎. 相邻的 *Hoxa-9* 及 *Hoxa-11* 基因的转录水平不影响突变体的组织^[7].

所有的 *Hoxa-10* 缺失的纯合体雄鼠都表现为双侧隐睾, 进而导致严重的精子发生缺陷, 随着年龄的增加表现为不孕^[8]. 患隐睾症的雄鼠其睾丸从肾周区到低腰部逐步减小, 且无一例隐睾下降到阴囊中. 睾丸组织发生 4 周后隐睾症发生了变化, 出现精原细胞及初级精母细胞但没有精子细胞及成熟的精子. 间质细胞与支持细胞的数量也正常; 3 个月时输精管的直径明显缩小. 并且只包含支持细胞. 尽管只有 40% 的纯合体雄鼠在睾丸发生后 6~12 周时不孕, 随着年龄的增长许多可育雄鼠不孕.

缺趾 (hypodactyly) 小鼠是 *Hoxa-13* 基因杂和突变体, 这种小鼠的每只爪上只有一个趾. 缺趾小鼠 *Hoxa-13* 基因中有 50 个碱基缺失, 纯合体很

* 通讯联系人.

Tel: 0451-5390846, E-mail: yuyanbai@hotmail.com

收稿日期: 2000-06-23, 接受日期: 2000-07-07

难存活而且都不孕,其纯合体雄性的阴茎骨发育不全且表现为畸形^[9].

Hox 基因家族成员 *Lhx9* 在胚胎发育第 9.5 天的老鼠尿生殖嵴中表达. 在睾丸形态分化后, 它们定位在睾丸间质区. 在 *Lhx9* 缺失的老鼠中, 原生殖细胞正常迁移, 但生殖脊中的体细胞不能增殖, 所以无法形成正常的性腺. 类固醇激素合成因子 1 (*Sf1*) 是合成类固醇激素所必需的一种核受体. 在 *Lhx9* 缺失老鼠的生殖腺中 *Sf1* 不表达, 说明 *Lhx9* 是 *Sf1* 上游的转录因子. 与介导老鼠早期性腺发育的其他因子不同, *Lhx9* 的突变并不造成其他严重的发育缺陷. 所以 *Lhx9* 的突变可能是造成人类某些性腺疾病的原因^[10].

3 *Hox* 基因对雌性生殖系统发育的调节

哺乳动物雌性生殖系统是由副中肾管 (缪勒氏管) 分化而成的. *Hoxa* 轴打开的时间及模式可决定副中肾管的发育过程. *Hoxa-9*、*Hoxa-10*、*Hoxa-11* 及 *Hoxa-13* 都沿着老鼠胚胎副中肾管的长轴表达^[11]. 老鼠出生后最初的两周, *Hoxa* 轴沿着副中肾管建立起来, *Hoxa-9* 在输卵管表达, 代表副中肾管的前端及 3' 端 *Hoxa* 基因的表达; *Hoxa-10* 与 *Hoxa-11* 都在子宫表达; *Hoxa-11* 与 *Hoxa-13* 都在子宫颈处表达; *Hoxa-13* 在阴道上部表达.

许多成体组织不再表达 *Hox* 基因, 而成体的雌性生殖系统仍表达 *Hox* 基因. 成体的雌性生殖系统在月经周期时发生了巨大的变化, 但仍具有高度的发育可塑性来建立和维持妊娠, 后期建立的 *Hoxa* 轴及 *Hox* 基因在成体内的持续表达可能对保持这种可塑性起作用^[12].

缺趾老鼠杂合体可孕, 但是其子宫颈部组织转化成子宫基质的表型, 即成熟子宫颈和阴道应有的复层鳞状上皮转化成子宫基质样结构^[9]. 这种转化在纯合体中更严重, 有时可以在颈部组织中发现子宫特有的腺体. 纯合体雌鼠可产生有活性的生殖细胞, 但它们的子宫颈及阴道的容积严重发育不全. 实验证实 *Hoxa-13* 在子宫颈及阴道上部表达, 与观察到的缺陷一致. 这表明雌性缺趾老鼠不孕与阴道及子宫颈发育不全有关, 即与生殖系统远端发育不全有关.

4 老鼠 *Hox-9* 基因对乳腺发育的调节

Hoxa-9、*Hoxb-9* 与 *Hoxd-9* 三种共生同源基

因的突变体老鼠研究证实, 它们是妊娠时介导乳腺管状系统的发育或分化所必需的^[4]. 雌性突变体因不能产生乳汁而不能抚养幼鼠, 但这些幼鼠可以被野生型雌鼠喂养长大. 组织学检查表明, 雌性突变体的乳腺在妊娠前是正常的, 但在妊娠及分娩时不能正常发育. 这三种基因都在成体乳腺中表达, 推测它们可能在泌乳前直接调节乳腺上皮管状系统的分化, 妊娠后由于 *Hox* 基因不表达导致乳腺发育不全. 突变体 *Hox* 基因的异常活动导致乳腺停止发育, 有助于乳腺癌的形成. 在老鼠乳腺癌中已发现许多 *Hox* 基因的异常表达. 寻找这些不表达的 *Hox-9* 同源基因可能有益于乳腺癌的预测.

妊娠时雌性突变体的乳腺不能发生细胞扩展, 而且上皮管状系统没有分支, 但是腺泡结构的形态是正常的; 出生后不但乳腺组织停止发育而且腺泡结构也不正常. 这些结果说明 *Hox* 基因可能不只行使一种功能, 而是随着时间的变化行使多种功能. 因此, *Hoxa-9*、*Hoxb-9* 与 *Hoxd-9* 可能不只影响乳腺上皮的增生与分支, 而且还影响乳腺后期的分化.

5 *Hox* 基因对胚胎着床及蜕膜化的影响

接受态子宫环境的建立对于胚胎的存活及着床是十分关键的, 同源盒基因 *Hoxa-10* 着床前在子宫内的表达是雌性生殖所必需的. *Hoxa-10* 突变体子宫中蓝色染料反应 (是着床时血管通透性增加的标志) 的强度与数量都降低. 另外, 突变体子宫受到人工刺激后蜕膜化程度降低^[12]. *Hox* 基因参与胚胎发育过程中分节结构的形态建成, 据推测也在成体再生和修复中发挥作用. 野生型雌鼠在交配后 0.5~7.5 d, *Hoxa-10* 在卵巢及近端输卵管不表达但在远端输卵管及子宫内以动态模式表达. *Hoxa-10* 在交配后 4.5~7.5 d (着床后) 蜕膜发育时强烈表达, 说明其在妊娠后期也起作用^[8]. *Hoxa-10* 的这些作用表明其可能调节输卵管和子宫使之适于胚泡的发育.

子宫基质细胞中 *Hoxa-10* 功能的缺失所引起的缺陷性着床及蜕膜化是雌性不育的主要原因. 现在认为存在两种可能引起 *Hoxa-10* (-/-) 老鼠子宫缺陷的分子机制^[3]. 首先, 前列腺素 E2 (*PGE*₂) 的两个受体亚型——EP₃ 和 EP₄ 在 *Hoxa-10* (-/-) 老鼠子宫基质中的表达不正常, 而其他几种基因在基质 (基质金属蛋白酶组织型抑制剂, 基质金属蛋白酶, 雌激素受体, 孕酮受体) 及

上皮(白血病抑制因子, 肝素结合的表皮生长因子, 两性结合蛋白, 环氧合酶-1) 中的表达在着床前不受影响。另外, *Hoxa* 缺失使孕酮(P₄) 不能正常地调节EP₃ 和EP₄, 而孕酮受体, *Hoxa-11* 及癌基因 *c-myc* 等受P₄ 影响的基因反应正常。这说明 *Hoxa-10* 主要是通过调节P₄ 从而影响子宫基质中的EP₃ 和EP₄。其次, 因为 *Hox* 基因与局部细胞增生有关, 所以在 *Hoxa-10* (-/-) 小鼠中也发现了子宫中类固醇激素反应性细胞增生。在突变小鼠中, 由P₄ 及雌二醇(E₂) 所引起的基质细胞增生明显降低, 而受E₂ 刺激的细胞增生是正常的。这说明在 *Hoxa-10* (-/-) 小鼠中受P₄ 刺激的基质细胞增生受损。综上所述, *Hoxa-10* 可导致特异性基质细胞受损进一步导致着床及蜕膜化的缺陷, 但不影响上皮细胞的功能。

Hoxa-10 及 *Hoxa-11* 也在成年人类子宫中表达。在月经周期的分泌中期, *Hoxa-10* 及 *Hoxa-11* 表达量剧增, 与着床“窗口” 开放的时间相一致。在培养的子宫内膜细胞中, *Hoxa-10* 的表达受E₂ 和P₄ 刺激。P₄ 对 *Hoxa-10* 的刺激作用在生理范围内是剂量依赖式的^[13]。E₂ 的效应可被环己酮所抑制。*Hoxa-11* 的表达也受生理浓度的P₄ 诱导^[14]。这些结果表明性激素是 *Hox* 基因正常的表达调控者, *Hoxa-10* 可能在调节月经周期子宫内膜发育中具有重要作用, 从而参与人类子宫接受态的建立。

采用免疫组化法及RNA 酶保护法(RPA) 证实, *Hoxa-10* 在上皮及基质细胞中都表达, 并且表达量伴随着着床“窗口” 的打开而增加。用E₂ 及P₄ 或只用E₂ 处理体外培养的子宫上皮或基质, 可使 *Hoxa-10* 的表达增加。E₂ 及P₄ 都可以使基质细胞中的 *Hoxa-10* 的表达明显增加, 并且其效果累加。松弛素可以进一步使基质中的 *Hoxa-10* 的表达增加。同正常组相比较, 子宫内膜异位症患者的子宫腔、腺及内皮中 *Hoxa-10* 的表达几乎没有变化, 但是基质中 *Hoxa-10* 的表达显著降低^[15]。因此, *Hoxa-10* 是一种调节子宫内膜的转录因子, 其表达明显受卵巢类固醇激素及松弛素的影响。着床“窗口” 期这种核蛋白在子宫上皮和基质中的表达可能为调节子宫接受态及鉴别其他可建立妊娠的关键基因提供新的见解。

参 考 文 献

- 1 Krumlauf R. *Hox* genes in vertebrate development. *Cell*, 1994, **78** (2): 191~ 120
- 2 Laughn A. DNA binding specificity of homeodomains. *Biochemistry*, 1991, **30** (48): 11357~ 11367
- 3 Lim H, Ma L, Ma W G, *et al.* *Hoxa10* regulates uterine stromal cell responsiveness to progesterone during implantation and decidualization in the mouse. *Mol Endocrinol*, 1999, **13** (6): 1005~ 1017
- 4 Chen F, Capecchi R M. Paralogous mouse *Hox* genes, *Hoxa9*, *Hoxb9*, and *Hoxd9*, function together to control development of the mammary gland in response to pregnancy. *Developmental Biology*, 1999, **96** (1): 541~ 546
- 5 McGinnis W, Krumlauf R. Homeobox genes and axial patterning. *Cell*, 1992, **68** (2): 283~ 302
- 6 Belting H G, Shashikant C S, Ruddle F H. Multiple phase of expression and regulation of mouse *Hoxc8* during early embryogenesis. *J Exp Zool*, 1998, **282** (1~ 2): 196~ 222
- 7 Benson G V, Nguyen E T, Maas R L. The expression pattern of the murine *Hoxa10* gene and the sequence recognition of its homeodomain reveal specific properties of Abdominall B-like genes. *Mol Cell Biol*, 1995, **15** (6): 1591~ 1601
- 8 Satokata I, Benson G, Maas R. Sexually dimorphic sterility phenotypes in *Hoxa10*-deficient mice. *Nature*, 1995, **374** (30): 460~ 462
- 9 Post L C, Innis J W. Infertility in adult hypodactyly mice is associated with hypoplasia of distal reproductive structures. *Biol Reprod*, 1999, **61** (6): 1402~ 1408
- 10 Birk O S, Caslano D E, Wassif C A, *et al.* The LIM homeobox gene *Lhx9* is essential for mouse gonad formation. *Nature*, 2000, **403** (24): 909~ 912
- 11 Taylor H S, Vanden Heuvel G B, Igarashi P. A conserved *Hox* axis in the mouse and human female reproductive system: late establishment and persistent adult expression of the *Hoxa* cluster genes. *Biol Reprod*, 1997, **57** (6): 1338~ 1345
- 12 Taylor H S, Bagot C, Kardana A, *et al.* *HOX* gene expression is altered in the endometrium of women with endometriosis. *Hum Reprod*, 1999, **14** (5): 1328~ 1331
- 13 Taylor H S, Arici A, Olive D, *et al.* *Hoxa10* is expressed in response to sex steroids at the time of implantation in the human endometrium. *J Clin Invest*. 1998, **101** (7): 1379~ 1384
- 14 Taylor H S, Igarashi P, Olive D L, *et al.* Sex steroids mediate *Hoxa-11* expression in the human peri-implantation endometrium. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999, **84** (3): 1129~ 1135
- 15 Gui Y, Zhang J, Yuan L, *et al.* Regulation of *Hoxa10* and its expression in normal and abnormal endometrium. *Mol Hum Reprod*, 1999, **5** (9): 866~ 873

Homeobox (*Hox*) Genes in Mammalian Reproduction

BAI Yu-Yan^{*}, FAN Heng-Yu, YANG Zeng-Ming

(Department of Biotechnology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract *Hox* genes in mammals are the homogenetic genes of homeotic selector genes (HOM genes) in *Drosophila*. These genes include an encoding sequence of 183 bp, which encode a conservative protein domain of 61 amino acids. Both the nucleotide sequence of *Hox* gene and their position on the chromosomes are highly conservative. *Hox* genes are important in the regulation of spatial information during development, such as the differentiation of somites. Each somite acquires its own specialty according to its singular spatial position. Recent studies suggest that *Hox* genes not only influence embryonic development, but also have effects on the differentiation of adult reproductive system. They play an indispensable role in the establishment of uterine receptivity and the decidualization.

Key words *Hox* gene, reproduction, mammal

^{*} Corresponding author. Tel: 86-451-5390846, E-mail: yuyanbai@hotmail.com

Received: June 23, 2000 Accepted: July 7, 2000