

叉头框-c2 基因在主动脉弓发育过程中的作用*

付 艳^{1,3)**} 邓伟国²⁾ 李艺扬¹⁾ 李玉林³⁾ N. MIURA⁴⁾

(¹⁾ 吉林大学第一医院妇产科, 长春 130021; ²⁾ 吉林大学公共卫生学院营养与食品卫生教研室, 长春 130021;

³⁾ 吉林大学基础医学院病理教研室, 长春 130021;

⁴⁾ Department of Biochemistry, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu 431-3192, Japan)

摘要 为了研究叉头框-c2 (Forkhead Box c2, *Fox c2*) 基因在心血管发生和发育中的作用, 通过制作小鼠的 *Fox c2* 基因无效突变, 解析该基因缺失鼠主动脉弓的异常发育状况. 纯合子胎鼠从 12.5 天胚胎 (embryo, E) 开始有宫内死亡; 即使完成宫内发育过程, 新生鼠出生 24 h 后也全部死亡. 这些鼠全部表现出与人的先天性心血管发育缺陷相似的 B 型或 C 型主动脉弓离断. 杂合子鼠发育正常. E10.5 胚胎的原位杂交分析显示, *Fox c2* mRNA 在第三、第四和第六弓型动脉强烈表达, 而第四弓型动脉在 E10.5 胚胎后逐渐消失. 这些结果表明, 在主动脉弓形成过程中, *Fox c2* 基因产物是左第四弓形动脉广泛改建所必需.

关键词 叉头框-c2, 基因无效突变, 主动脉弓离断

学科分类号 Q786, R715.5

心脏和血管的建立是脊椎动物胚胎原肠胚形成过程中的基本程序^[1,2]. 心血管系统在经历了一系列复杂的形态发育后, 在胎儿形成了心脏和主动脉. 先天性心血管发育缺陷 (congenital cardiovascular defects) 是人类出生缺陷和胎儿自然流产的最主要原因之一. 对几种动物模型的基因分析已经证实, 有几个保守基因家族是心血管及其他系统发育过程中构型和形体形成上所必需的^[1,3-5]. 叉头框-c2 (Forkhead Box c2, *Fox c2* 又称 MFH-1) 是进化上高度保守, 具有 DNA-结合域的翼状螺旋转录因子家族中的一员^[6]. 小鼠同时定向敲除 *Fox c2* 和另一翼状螺旋转录因子 *Fox c1* 基因, 会表现出心血管和泌尿系等多系统发育缺损^[7]. *Fox c2* 基因表达于发育中的背侧动脉血管^[8]. 小鼠与人的 *Fox c2* 基因和蛋白质结构高度保守^[9]. 在本研究中, 我们用定向敲除 *Fox c2* 基因的无效突变小鼠, 观察了 *Fox c2* 基因在心血管发育上的作用. 结果提示 *Fox c2* 在主动脉弓形成上有重要的作用.

1 材料和方法

1.1 *Fox c2* 基因的定向敲除和无效突变体的制作

从 129 小鼠 DNA 文库中分离出含全长 *Fox c2* 基因的 DNA. *Fox c2* 基因的主要转录区编码在一个单外显子内. 将其中长约 4.7 kb 含有整个 *Fox c2* 基因的 *Xho* I -*Pst* I 片段^[9], 用磷酸甘油激酶-耐新霉素 (PGK-neo) 基因取代, 同时在 5' 端连上单纯

疱疹胸苷激酶 (HSVTK) 基因. 用电穿孔法将这个重组靶基因定向导入胚胎细胞, 并用 G418 和 9- (1,3-二羟-2-丙氧甲基) 鸟嘌呤筛选载有重组靶基因的胚胎干细胞 (ES) 克隆. 用 0.5 kb 5' 外探针针对 *Eco* R I 酶消化后的 DNA 进行 DNA 印迹分析, 鉴定出 8.0 kb 的野生型和 8.7 kb 的突变型等位基因后, 借助于胚囊注射^[10], 将含有定向敲除了 *Fox c2* 基因的无效突变型 ES 注入 C57BL/6 小鼠 (Charles River Japan Inc. Tokyo) 胚泡内, 并移植到另一只假孕的雌性 C57BL/6 小鼠子宫内培育成嵌合体鼠. 经 DNA 印迹分析鉴定出杂合子嵌合体后, 让杂合子嵌合体与野生型 C57BL/6 小鼠交配繁殖 F1 代杂合子, 把 *Fox c2* 基因的突变传递给了它们的后代. F1 代杂合子间雄、雌鼠进行交配, 得到 F2 代纯合子 *Fox c2* 基因无效突变鼠 (胚胎) 及 F2 代杂合子鼠.

1.2 DNA 印迹分析

从 ES 细胞、胚胎卵黄囊、羊膜、仔鼠皮或鼠尾末段组织提取的 6~7 μ g 染色体 DNA 用 *Eco* R I 消化后, 按常规方法^[11] 把经琼脂糖凝胶电泳后的 DNA 片段转移到尼龙膜上, 与位于 5' 同源区域旁侧作为探针的 0.5 kb *Taq* I 片段 (5' 外探针) 杂交 (图 1).

* 国家自然科学基金资助项目 (30271369) 和吉林省科技发展项目 (20030538-3).

** 通讯联系人.

Tel: 0431-5612482, E-mail: fuyan@email.jlu.edu.cn

收稿日期: 2003-02-28, 接受日期: 2003-04-28

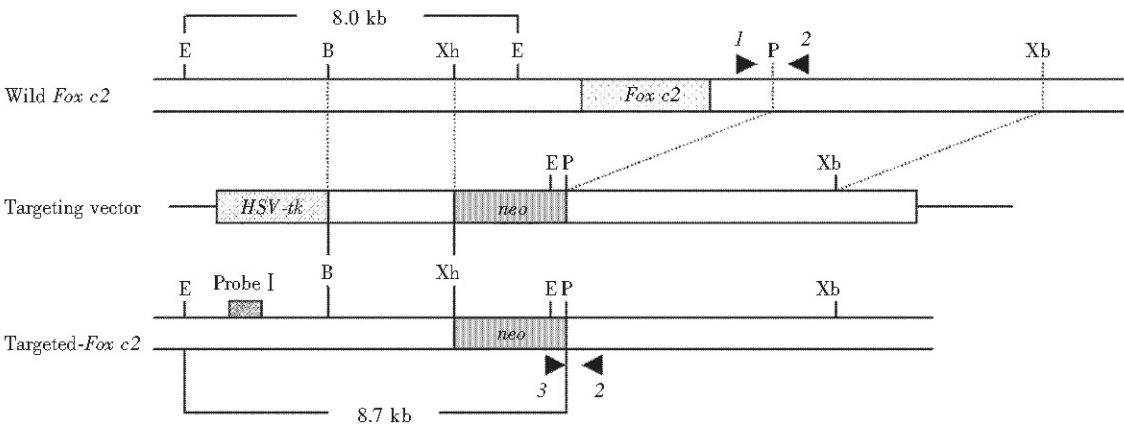


Fig. 1 Scheme targeting *Fox c2* gene

The diagram depicts the structure of *Fox c2* gene, targeting vector and mutated allele from top to bottom, respectively. Homologous fragments in targeting vector are delineated by dotted line. 5' external probe for Southern blot is indicated by probe I. 1, 2 and 3 are primers for PCR.

1.3 PCR 法鉴别胚胎 DNA 的基因型

按照标准程序^[11]用 PCR 法鉴别胚胎卵黄囊、羊膜、仔鼠皮或鼠尾末段组织 DNA 的野生型和突变型等位基因。引物序列为（位置见图 1 中的 1, 2, 3），1: 5' CCAGTTCTTAGTCCCCCAG 3', 2: 5' CCAGTTGGTAACCTGGACTG 3', 3: 5' GGATG-TGGAATGTGTGCGAG 3'。扩增条件: 94℃ 1 min, 57℃ 1 min, 72℃ 1 min, 共 30 个循环。

1.4 Fox c2^{-/-}无效突变胎鼠的鉴定

子代杂合子突变鼠间交配后的 10.5 ~ 18.5 天间（days postcoitum, dpc），将妊娠母鼠在苯巴比妥 30 ~ 50 mg/kg 麻醉下行剖宫取胎术。计数胎儿数和死胎数后，用 PCR 进行基因型诊断。

1.5 心血管发育状况的观察

打开全部仔鼠胸腔在实体显微镜下直接观察，或将碳素墨汁混悬于生理盐水中至浓度为 50%，在显微镜下将碳素墨汁盐水混悬液注入左心室后，观察胎鼠或仔鼠大血管的发育状况。

1.6 组织学和原位杂交

将胚胎放入 4% 多聚甲醛 4℃ 下过夜固定，脱水，石蜡包埋，5 μm 厚度切片。用从 *Fox c2* cDNA 的 Not I -EcoR I 片段^[8]转录下来的 cDNA 作为探针，对组织切片或整个胚胎^[12]进行原位杂交。

2 结 果

2.1 Fox c2 无效突变鼠基因表型

从每一个克隆繁衍的小鼠都有可鉴别的表型。定向破坏的 *Fox c2* 基因位点经 DNA 印迹分析证

实，并经 PCR 分析确定。无论 DNA 印迹分析（图 2）还是 PCR 分析（图 3）均表明：野生型鼠的基因型表现为单一的电泳带；杂合型鼠基因型表现为泳动速度不同的两条电泳带，一为野生型，另一为无效突变型；*Fox c2* 纯合子型鼠基因型表现为泳动速度不同于野生型的单一电泳带（图 2 和图 3）。经过逆转录-多聚酶链式反应（RT-PCR）分

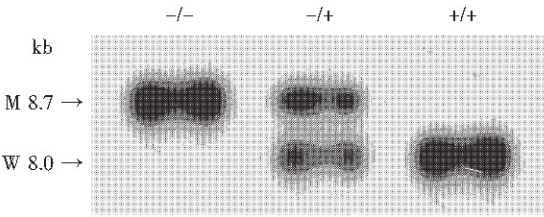


Fig. 2 Southern blot analysis of wild and mutant alleles from DNA samples

DNA prepared from embryos or ES cells was digested with *EcoR* I, then hybridized with a 0.5 kb probe I flanked the 5' homology region. 8.7 kb mutant-type (M) allele and 8.0 kb wild-type (W) allele were identified.

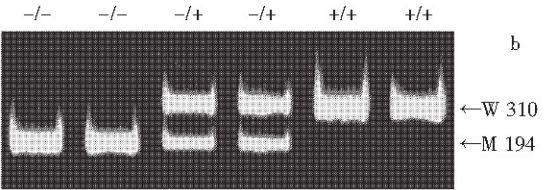


Fig. 3 PCR analysis of DNA samples from skin or yolk sac of mouse embryo

The PCR product of wild-type allele was 310 b, and mutant ones was 194 b.

析证实, 在纯合子鼠没有检测到 *Fox c2* mRNA, *Fox c2* mRNA 在杂合型鼠的表达量与在野生型鼠的表达量没有区别.

2.2 *Fox c2* 突变鼠的出生构成比

通过利用 ES 细胞的同源重组破坏了 *Fox c2* 基因, 建立了 5 个无效突变 ES 细胞系. 从这 5 个细胞克隆繁衍的嵌合鼠将突变传递到了下一代. 在杂合型鼠之间交配获得的新生仔鼠中, 部分仔鼠出生后 24 h 内陆续死亡. 经 DNA 印迹分析及 PCR 分析鉴定, 这些仔鼠为纯合子无效突变型鼠. 纯合子型

的数量几乎仅是预期出生数量的一半, 不符合孟德尔定律 (表 1). 但解剖 10.5 ~ 14.5dpc 的母鼠发现有胎鼠宫内死亡现象 (表 2). 整体上看纯合子型鼠与野生型鼠没有区别, 但是表现出呼吸系统受累的症状; 患鼠有喘息和紫绀, 并于生后 10 min 开始死亡. 杂合子鼠仔出生后与野生型鼠无异常, 没有明显的症状. 纯合子型无效突变鼠解剖显示, 主要异常出现在主动脉弓和肺不张, 这可能是 *Fox c2* 突变新生鼠死亡的原因.

Table 1 Genotypes constituent ratio of infants obtained by intercrossing heterozygotes of *Fox c2*-knockout mouse

Days of post-birth	No. of Litters	No. of infants	FOX c2 genotype		
			(+ / +)	(+ / -)	(- / -)
0	14	98	29 (24.5)	54 (49)	15 (24.5)
1	14	83 (98)	29 (24.5)	54 (49)	0 (24.5)

The numbers in parentheses are theoretical numbers.

Table 2 Genotypes constituent ratio of fetus obtained by intercrossing heterozygotes of *Fox c2*-knockout mouse

Days of embryo (E)	No. of Litters	No. of fetus	FOX c2 Genotype		
			(+ / +)	(+ / -)	(- / -)
10.5 *	3	27	6	13	8
11.5	2	19	3	12	4
12.5	6	49	12	25	10 (2)
13.5	4	37	8	19	7 (3)
14.5	4	25	6	12	4 (3)

The numbers in parentheses are numbers of dead embryos.

2.3 *Fox c2*^{-/-}突变鼠心血管异常

对 15 只纯合子无效突变新生仔鼠进行病理学检查的结果表明, 所有的纯合子新生仔鼠都表现出主动脉弓异常 (图 4). 最频繁的异常是 B 型主动脉弓离断 (80.0%). 主要表现为缺失左颈总动脉和左锁骨下动脉间的主动脉弓 (6/15, 图 4b) 及主动脉弓狭窄 (6/15, 图 4c). 3 只新生鼠 (3/15) 的头臂动脉和左颈总动脉间的主动脉弓缺失 (C 型主动脉弓离断^[13,14], 图 4d). 所有新生鼠的左、右锁骨下动脉都发源于正常的位置以及大动脉-肺动脉间隔断形成良好.

2.4 *Fox c2* 突变鼠胚胎弓状动脉发育异常

由背主动脉与弓状动脉重新塑型产生的主动脉弓发生在 E10.5 到 E14.5 之间. 对小鼠主动脉弓

发生过程的检查结果表明, 这期间的 *Fox c2*^{-/-} 纯合子胚胎基因型基本按孟德尔定律分布. 小于 E11.5 的纯合子胚胎尚能存活, 但是大于 E13.5 的纯合子胚胎中约有半数死亡 (心脏停止跳动) (表 1). 野生型和突变型胎儿的左右两侧第三、第四和第六弓状动脉都在 E11.5 时与背主动脉形成交通, 两型胎鼠间没有发现差别. 在 E12.5 时, 大多数 *Fox c2*^{-/-} 鼠胚的左侧第四弓状动脉消失或变得细小, 没有像野生鼠那样与背主动脉一起发育成主动脉的弓部. 这时少量动物的左第三弓状动脉近侧段也变细. 突变胚胎其他弓状动脉与野生型没有差别. 这些结果提示, 缺乏 *Fox c2* 的小鼠左第四弓状动脉在主动脉弓重塑过程中可能退化了.

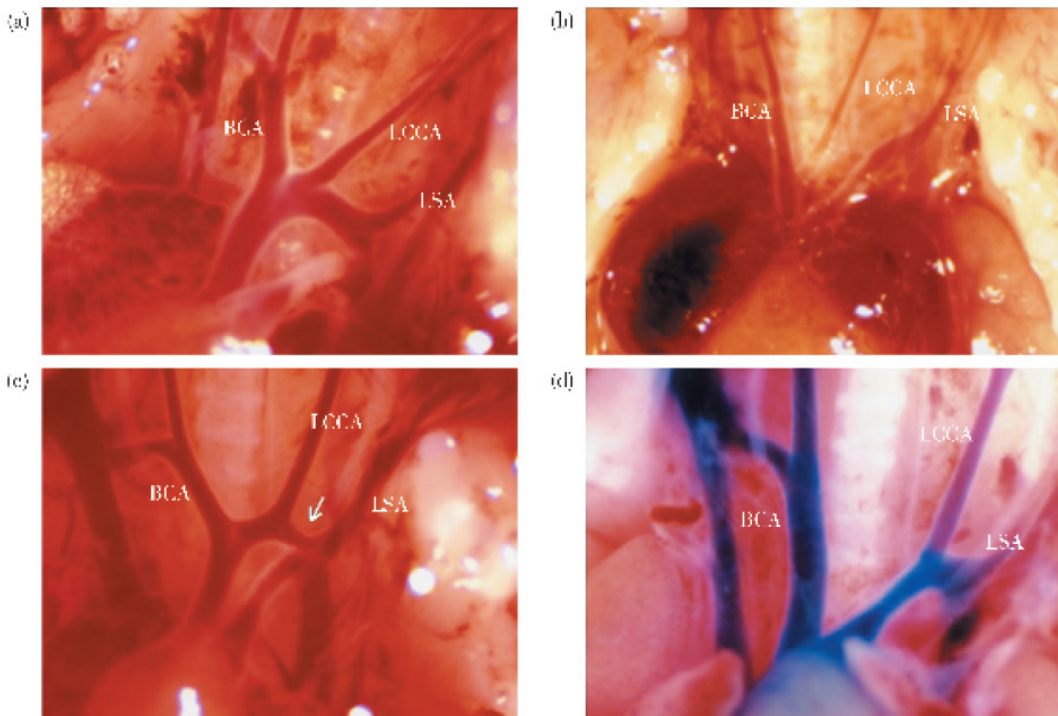


Fig. 4 Malformations of aortic arch in targeted mutant mice at term

(a) normal aortic arch; (b) Type B of interrupted aortic arch (IAA). The aortic arch interrupted between left common carotid artery (LCCA) and left subclavian artery (LSA). (c) Type B of IAA. Coarctation of the aorta located between LCCA and LSA (pointed by an arrow). (d) Type C of IAA. There was no aortic arch between brachiocephalic artery (BCA) and LCCA.

2.5 Fox c2 基因在弓形动脉的表达

正常小鼠全胚胎原位杂交显示, *Fox c2* mRNA 在 E10.5 胚胎的左右两侧第三、第四和第六弓状动脉与背主动脉表达. 在心室的心内膜也能检测到微弱的信号. 对 E10.5 胚胎切片的原位杂交分析可在左第三、第四和第六弓状动脉周围检测到强烈的信号. *Fox c2* mRNA 在动脉周围广泛的表达提示它表达在间充质细胞和内皮细胞的周围.

3 讨 论

在人类, 主动脉弓离断 (interrupted aortic archis, IAA) 是一个通常发生在胎儿的心血管异常. 大多数 IAA 婴儿在生后一个月内死去. Celoria 等^[13]根据动脉离断的解剖位置把主动脉血管异常进行了分型: A 型为主动脉弓的末端到左锁骨下动脉间的离断; B 型为主动脉弓的远端到左总颈动脉间的离断; C 型为发生在无名动脉和主动脉弓远端间的离断 (图 5). IAA 的病因尚不清楚. 最新的研究已经注意到 IAA 与某些遗传学、胚胎学和形态学紊乱的关系. 在主动脉弓的发育过程中首先产生背主动脉和弓形动脉, 然后对这些原始动脉结构

进行改建, 衍变成接近成体状态的动脉^[15]. 神经脊管衍生细胞在未来的弓形动脉区蓄积是促进弓形动脉改建的关键过程. 鸡胚心脏的神经脊管细胞在迁移前消融可导致 IAA 等多种心血管畸形^[16]. 人

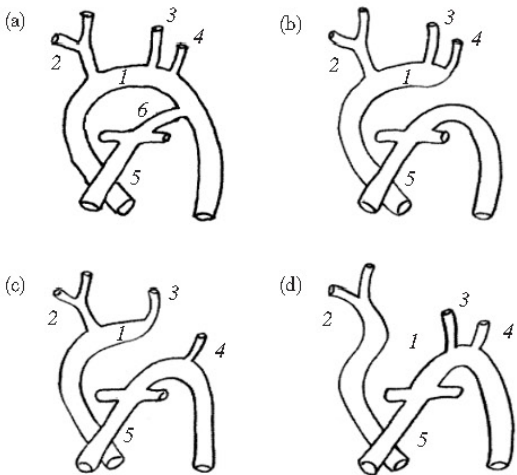


Fig. 5 Sketches of interrupted aortic arch types

(a) normal; (b) typeA; (c) typeB; (d) typeC. 1: aortic arch; 2: brachiocephalic artery; 3: left common carotid artery; 4: left subclavian artery; 5: pulmonary truncus; 6: ductus arteriosus.

类染色体 22q11 的删除可能引发 DiGeorge 综合征的显性紊乱, 特征为胸腺和甲状旁腺发育不良, B 型 IAA 和面部畸形^[17,18]. 近年, 染色体和基因的异常受到重视, 小鼠 *Fox c2* 基因被认为在心血管和体节的发生上有不可替代的作用^[1]. 人的 *Fox c2* 基因的截断突变能够引起伴有法鲁氏四联征、腭裂和脑脊膜膨出的淋巴水肿-双睫毛综合征^[7,19,20], 已成为多器官发育畸形的重要病因基因^[9]. 本研究结果表明, 由 *Fox c2* 基因无效突变胚胎干细胞衍生出的 *Fox c2* 基因嵌合鼠及其后代, 都可通过 DNA 印迹分析或 PCR 分析进行基因表型的鉴别. 经对 E10.5 ~ E14.5 胎鼠和新生鼠基因型分析, 近一半的纯合子鼠在 E12.5 时开始死亡, 大于 E13.5 后 *Fox c2* / 纯合子胎鼠出现心脏跳动停止. 可能由于个体差异或胎盘等因素的影响, 另一半以上的纯合子鼠经历宫内发育全程, 但在出生后 24 h 内死亡. 对新生鼠心血管的解剖表明, 所有的 *Fox c2* / 纯合子新生仔鼠都表现出主动脉弓异常. 大多数异常为主动脉弓 B 型离断, 少数为 C 型离断. 这些结果提示胚胎死亡很可能直接或间接地与动脉弓的异常改建有关. 左第四弓形动脉是形成主动脉弓的关键成分. 它经历了广泛的形态学改建参与了主动脉弓的形成. 其他弓形动脉不参与主动脉弓的形成, 仅与主动脉弓的分枝动脉形成有关. 原位杂交分析显示在第三、第四和第六弓形动脉强烈表达 *Fox c2* mRNA, 表明在主动脉弓形成过程中, *Fox c2* 基因产物是左第四弓形动脉广泛改建所必需. 虽然在早期发生的弓形动脉有 *Fox c2* 表达, 并且纯合子突变胚胎左右两侧第三、第四和第六弓状动脉都在 E11.5 时与背主动脉形成交通, 但在 E12.5 后左第四弓形动脉逐渐消失, 表明 *Fox c2* 蛋白不是神经管脊细胞在弓形血管形成区的积累和初级结构形成所必需. 然而, 由背主动脉和弓形动脉广泛改建为主动脉弓过程中, 特别是在左第四弓形动脉的转化上需要 *Fox c2* 蛋白. 于是, *Fox c2* 蛋白在左第四弓形动脉的形态改建过程中起到关键作用, 并可能涉及到动脉的外延扩张. 由于小鼠与人的 *Fox c2* 蛋白有 95% 以上的同源性, 都有一个 100 个氨基酸的高度保守区^[10], 推测某些人的 IAA 与该基因的异常密切相关.

Fox c2 缺损鼠显示了带有室间隔缺损的 B 型 IAA 和腭裂以及可能的颅面部异常, 但是无胸腺和旁甲状腺的异常 (结果略). 这样, *Fox c2* 缺损鼠的表现型与人的 DiGeorge 综合征的表现型部分重

叠. 然而人的 *Fox c2* 基因位于 16 号染色体, 不在与 DiGeorge 综合征相关联的 22 号染色体上^[18]. 因此, 引起 DiGeorge 综合征的缺损或突变基因似乎不是 *Fox c2* 基因. 确切地说, *Fox c2* 阳性细胞在预期的主动脉弓部位的缺失可能是导致 DiGeorge 综合征病人主动脉弓离断的原因. 同样, *Fox c2* 基因也可能是神经脊衍生细胞亚群中 DiGeorge 基因的靶基因. 删除 T 框转录因子基因 *Tbx1* 的小鼠显示主动脉弓异常. 通过染色体定位和它在头部间充质和发育中咽弓和咽囊的表达, *Tbx1* 已被认为是 DiGeorge 综合症的候选病因基因之一^[17]. 虽然删除 16 号染色体上包括 *Tbx1* 几个基因的杂合子小鼠也表现异常的弓形动脉, 缺损内皮素-1 (endothelin-1) 基因的小鼠也有主动脉弓的 B 型离断, 但是一直不能将 IAA 的临床特点和严重性与个别基因的丢失联系起来, 因为小鼠模型应用到人综合征时两个重要问题还没有解决. 一是人的 IAA 是单倍体综合征, 而这些异常几乎仅发生在纯合子小鼠身上. 第二个未解决的问题涉及到了某基因的单倍体功能缺乏, 是否能够解释像 DiGeorge 综合征那样的所有患者全部的临床特征. 人们还不清楚 IAA 是相邻基因综合征还是单基因的单倍体功能丧失的结果. 显然 IAA 的形成原因是非常复杂的, 可能与多种基因产物间不平衡作用有关. *Fox c2* 基因可能就是这些病因基因之一.

Fox c2 无效突变鼠是一个有用的主动脉弓离断的模型. 在主动脉弓重新塑型阶段对突变鼠的分子生物学分析, 对了解影响主动脉形成有关的基因是非常重要的.

参 考 文 献

- 1 Kume T, Jiang H Y, Topczewska J M, *et al.* The murine winged helix transcription factors, *Foxc1* and *Foxc2*, are both required for cardiovascular development and somitogenesis. *Genes & Dev*, 2001, **15** (18): 2470 ~ 2482
- 2 Srivastava D. Genetic assembly of the heart: implications for congenital heart disease. *Annu Rev Physiol*, 2001, **63**: 451 ~ 469
- 3 Weigel D, Jügens G, Kuttner F, *et al.* The homeotic gene fork head encodes a nuclear protein and is expressed in the terminal regions of the *Drosophila* embryo. *Cell*, 1989, **57** (4): 645 ~ 658
- 4 Hatini V, Huh S O, Herzlinger D, *et al.* Essential role of stromal mesenchyme in kidney morphogenesis revealed by targeted disruption of winged helix transcription factor BF-2. *Genes Dev*, 1996, **10** (12): 1467 ~ 1478
- 5 付 艳, 邓伟国, 杨晓丽. 中胚叶叉头-1 在骨成形蛋白-2 诱导肌胚细胞 C2C12 转变成骨细胞过程中的作用. *生物化学与生物物理进展*, 2001, **29** (2): 228 ~ 232
- Fu Y, Deng W G, Yang X L. *Prog Biochem Biophys*, 2001, **29** (2): 228 ~ 232

- 6 Lai E, Clark K L, Burley S K, *et al.* Hepatocyte nuclear factor 3/fork head or 'winged helix' proteins: a family of transcription factors of diverse biologic function. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90** (22): 10421 ~ 10423
- 7 Fang J M, Dagenais S L, Erickson R P, *et al.* Mutations in *Fox c2* (MFH-1), a forkhead family transcription factor, are responsible for the hereditary lymphedema-distichiasis syndrome. *Am J Hum Genet*, 2000, **67** (6): 1382 ~ 1388
- 8 Miura N, Wanaka A, Tohyama M, *et al.* MFH-1, a new member of the fork head domain family, is expressed in developing mesenchyme. *FEBS Lett*, 1993, **326** (1 ~ 3): 171 ~ 176
- 9 Miura N, Iida K, Kakinuma H, *et al.* Isolation of the mouse (MFH-1) and human (FKHL-14) mesenchyme fork head-1 gene reveals conservation of their gene and protein structures. *Genomics*, 1997, **41** (3): 489 ~ 492
- 10 Tanaka T, Akira S, Yoshida K, *et al.* Targeted disruption of the NF-IL6 gene discloses its essential role in bacteria killing and tumor cytotoxicity by macrophages. *Cell*, 1995, **80** (2): 353 ~ 361
- 11 伍欣星, 聂广. 医学分子生物学. 武汉: 武汉大学出版社, 1996. 248 ~ 250
Wu X X, Nie G. Medical Molecular Biology. Wuhan: Wuhan University Press, 1996. 248 ~ 250
- 12 Kessel M, Gruss P. Homeotic transformation of murine vertebrae and concomitant alteration of Hox codes induced by retinoic acid. *Cell*, 1991, **67** (1): 89 ~ 104
- 13 Celoria G C, Patton R B. Congenital absence of the aortic arch. *Am Heart J*, 1959, **58** (3): 407 ~ 413
- 14 Ng'walali P M, Ohtsu Y, Tsunenari S. Interrupted aortic arch with ventricular septal defect: an unsuspected fatal congenital anomaly in forensic pathology. *J Clin Forensic Med*, 2002, **9** (4): 185 ~ 188
- 15 刘斌, 高英茂. 人体胚胎学. 北京: 人民卫生出版社, 1996. 512 ~ 514
Liu B, Gao Y M. Human Embryology. Beijing: People Health Press, 1996. 512 ~ 514
- 16 Kirby M L, Waldo K L. Neural crest and cardiovascular patterning. *Circ Res*, 1995, **77** (2): 211 ~ 215
- 17 Jerome L A, Papaioannou V E. DiGeorge syndrome phenotype in mice mutant for the T-box gene, *Tbx1*. *Nat genet*, 2001, **27** (3): 286 ~ 291
- 18 Wilson D I, Burn J, Scambler P, *et al.* DiGeorge syndrome: part of CATCH22. *J Med Genet*, 1993, **30** (10): 852 ~ 856
- 19 Finegold D N, Kimak M A, Lawrence E C, *et al.* Truncating mutations in *Fox c2* cause multiple lymphedema syndromes. *Hum Mol Genet*, 2001, **10** (11): 1185 ~ 1189
- 20 Bell R, Brice G, Child A H, *et al.* Analysis of lymphoedema-distichiasis families for *Fox c2* mutations reveals small insertions and deletions throughout the gene. *Hum Genet*, 2001, **108** (6): 546 ~ 551

Effect of *Fox c2* on Aortic Arch Development*

FU Yan^{1,3)} **, DENG Wei-Guo²⁾, LI Yi-Yang¹⁾, LI Yu-Lin³⁾, N. MIURA⁴⁾

⁽¹⁾ Department of Obstetrics and Gynecology, First Hospital, Jilin University, Changchun 130021, China;

⁽²⁾ Department of Nutrition and Food Hygiene, School of Public Health, Jilin University, Changchun 130021, China;

⁽³⁾ Department of Pathology, School of Preclinical Medicine, Jilin University, Changchun 130021, China;

⁽⁴⁾ Department of Biochemistry, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu 431-3192, Japan)

Abstract In order to investigate the potential roles of Forkhead Box c2 (*Fox c2*) in cardiovascular development, mice lacking *Fox c2* locus were produced by targeted mutation and the developmental anomalies in the aortic arch were found. Mice homozygotes for the mutation (*Fox c2*^{-/-}) died embryonically from E12.5 (embryo days, E) to term. Although some of the homozygous mutants were born with abnormalities of the aortic arch, all of them died within 24 h after birth. *Fox c2*^{-/-} homozygous mutants all displayed the Type B or Type C of interrupted aortic arch, which is the same as human congenital cardiovascular anomalies. Mice heterozygous for the mutation developed normally. *In situ* hybridization analysis on E10.5 embryos showed that *Fox c2* mRNA expressed at the third, fourth and sixth arch arteries strongly. However, left fourth arch arteries disappeared at E12.5 gradually. These results suggest that the *Fox c2* plays indispensable role in the remodeling of left fourth arch arteries during the formation of aortic arch.

Key words Forkhead Box c2, gene targeted mutation, interrupted aortic arch

* This work was supported by grants from The National Natural Sciences Foundation of China (30271369) and Jilin Province Research and Development Fund (20030538-3).

** Corresponding author. Tel: 86-431-5612482, E-mail: fuyan@email.jlu.edu.cn

Received: February 28, 2003 Accepted: April 28, 2003