

Ile105Val polymorphism causes an elevated risk for bladder carcinogenesis in smokers[J]. Asian Pac J Cancer Prev,2013,14(11):6375-6378.

[18] Jaiswal PK,Singh V,Mittal RD. Cytotoxic T lymphocyte antigen 4 (CTLA4) gene polymorphism with bladder cancer risk in North Indian population[J]. Mol Biol Rep, 2014,41(2):799-807.

[19] 陈占国,何杰,周武,等. 白细胞介素 10-1082G/A 位点单核苷酸多态性与膀胱癌的相关性[J]. 医学研究杂志, 2012,41(07):32-36.

[20] Singh V,Srivastava N,Kapoor R,et al. Single-nucleotide polymorphisms in genes encoding toll-like receptor -2,-3,-4, and -9 in a case-control study with bladder cancer susceptibility in a North Indian population[J]. Arch Med Res,2013,44(1):54-61.

[21] Fu YP,Kohaar I,Rothman N,et al. Common genetic variants in the PSCA gene influence gene expression and bladder cancer risk[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2012, 109(13):4974-4979.

[22] Zhu Y,Li Y,Zhu S,et al. Association of survivin polymorphisms with tumor susceptibility:a meta-analysis[J]. PLoS One,2013,8(9):e74778.

[23] Lee EK,Ye Y,Kamat AM,et al. Genetic variations in regulator of G-protein signaling (RGS) confer risk of bladder cancer[J]. Cancer,2013,119(9):1643-1651.

[24] Andrew AS,Hu T,Gu J,et al. HSD3B and gene-gene interactions in a pathway-based analysis of genetic susceptibility to bladder cancer [J]. PLoS One, 2012, 7 (12): e51301.

[25] Singh V,Jaiswal PK,Mittal RD. Replicative study of GWAS TP63C/T, TERTC/T, and SLC14A1C/T with susceptibility to bladder cancer in North Indians[J]. Urol Oncol,2014,32(8):1209-1214.

(收稿日期:2016-02-21 修回日期:2016-04-09)

• 综 述 • doi:10.3969/j. issn. 1671-8348. 2016. 29. 042

周细胞在血管生成及抗肿瘤治疗中的价值*

陈 卓¹综述,许新华^{2△}审校

(1. 三峡大学第一临床医学院肿瘤科,湖北宜昌 443003;2. 三峡大学肿瘤研究所\宜昌市中心
人民医院肿瘤科 443003)

[关键词] 周细胞;肿瘤;血管生成

[中图分类号] R730.5 [文献标识码] A [文章编号] 1671-8348(2016)29-4153-03

周细胞广泛分布于全身毛细血管和微血管管壁,紧贴于血管内皮细胞外。周细胞与血管平滑肌细胞相延续,与内皮细胞一起构成成熟的血管结构。同时,周细胞还参与血管的新生,研究发现周细胞在维护血管稳定、协调内皮细胞功能、调节血管直径及血流量、合成并释放基底膜和细胞外基质的结构物质、调节免疫活动等多种生理活动中发挥重要作用,周细胞及其相关信号将是抗血管治疗的重要靶点^[1]。现将周细胞在血管生成及抗肿瘤治疗中的作用综述如下。

1 周细胞募集的信号调节

在血管生成过程中,由内皮细胞形成的新血管腔需要募集周细胞和平滑肌细胞从而为血管提供一个理化环境的支持。周细胞对血管的成熟稳定起着至关重要的作用,但是许多因素可影响周细胞的募集与覆盖。已有研究显示,下列信号分子或通路在周细胞募集过程中发挥着重要作用。

1.1 血小板衍生生长因子(PDGF)/PDGFR-β PDGF/PDGFR-β是一种参与调节细胞扩散、迁移、生存及VEGF表达的重要信号分子,在周细胞募集中发挥着不可替代的作用。研究证实,PDGF或PDGFR-β表达的缺乏可致血管外周细胞的缺失^[2]。PDGF常常由活化的血管内皮细胞释放,PDGF可与周细胞上的PDGFR-β结合继而诱导周细胞的增殖和迁移^[3]。然而,PDGF/PDGFR-β调节周细胞募集的具体机制仍不十分明确。Hamdan等^[4]发现肿瘤诱导的PDGF-BB可诱发内皮细胞

SDF-1α的表达,而SDF-1α参与周细胞的迁移和分化,进一步研究发现,SDF-1α/趋化因子CXC亚家族受体(CXCR)4信号对PDGF-BB诱导的周细胞募集有促进作用。肿瘤细胞分泌的PDGF-B也可通过NRP-1信号加强间充质干细胞-周细胞转换及细胞募集^[5]。

1.2 血管生成素(Ang)-1、Ang-2及其受体Tie2 Ang-1作为重要的血管调控因子,可由血管平滑肌细胞和周细胞产生。Ang-1可绑定于Tie2受体,而Tie2可在血管内皮表达,通过Ang-1/Tie2信号参与维护新生血管的成熟和稳定。研究发现Ang-1可促进一些内皮细胞依赖的生长因子的释放,如转化生长因子β(TGF-β)、PDGF-B从而参与周细胞的募集^[6]。同时,作为调节周细胞运动性的调控因子,肝细胞生长因子(HGF)被发现可通过Ang-1/Tie2信号上调其表达进而调节周细胞的运动^[7]。Ang-1/Tie2可作为周细胞募集的重要辅助信号。此外,内皮细胞可产生Ang-2,它通过竞争性结合Tie2拮抗Ang-1的作用。研究证实Ang-2/Tie2可诱导内皮细胞与周细胞之间的接连疏松,降低周细胞的覆盖^[8]。

1.3 TGF-β TGF-β是血管发展中不可缺少的调控因子,TGF-β活性的缺失将导致血管系统的异常,包括周细胞覆盖的缺乏、血管的扭曲和血管易出血。研究发现TGF-β的释放与周细胞标记分子肌动蛋白α(α-SMA)的表达密切相关,α-SMA与NG2/desmin表达转换的调控依赖于TGF-β的水平^[9]。

* 基金项目:湖北省自然科学基金资助项目(2011CDB330,2014CFB312);湖北省卫生厅科研基金资助项目(JX4B52)。 作者简介:陈卓(1989—),在读硕士,主要从事鼻咽肿瘤基础与临床研究。 △ 通讯作者,Tel:(0717)6487360;E-mail:xuxinhua@medmail.com.cn。

TGF- β 通过结合不同的 TGF- β 受体产生不同的细胞效应。不同 TGF- β 受体的活化素受体样激酶 (ALK) 如 ALK1 和 ALK5 可表现出不同的细胞效应: ALK1 促进细胞的募集而 ALK5 诱导细胞静止^[10]。Zhu 等^[11] 发现下调 ALK1 信号和增加 ALK5 活性可干扰内皮细胞的增殖、迁移和分化, 扰乱血管平滑肌细胞的募集和分化。Chen 等^[12] 研究显示即使在血管内皮生长因子 (VEGF) 作用后, ALK1 的缺乏也可导致血管完整性的损伤和周细胞覆盖率的降低。此外, TGF 被发现还可促进单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1) 的分泌, 而 MCP-1 参与壁细胞的募集, 故 TGF 可能通过此方式诱导周细胞向血管内皮迁移^[13]。

1.4 SIP SIP 是一种可通过 G 蛋白耦合受体 (EDG) 调节细胞间信号的分泌鞘脂类分子, 它在调节内皮细胞和壁细胞的增殖、迁移及细胞间作用中发挥作用。SIP 可绑定于 5 种 G 蛋白耦合受体即 SIP-1~5, 通过结合不同受体 SIP 在血管发展中表现不同作用。研究发现 SIP-1 可以调节细胞外基质, 调控内皮-壁细胞间作用, 从而增强内皮细胞与周细胞间的连接^[14]。与之相反, 激活 SIP-2 依赖信号, SIP 可下调 PDGF-BB 诱导的细胞迁移^[15]。同样的, Du 等^[16] 证实抑制 SIP-2 可以提高壁细胞的募集, 而诱导产生促血管因子如 TGF- β , VEGF-A 可能是其原因之一。

1.5 基质金属蛋白酶 (MMP) MMP 作为降解细胞外基质和基底膜的重要调节分子, 可由血管平滑肌细胞及周细胞表达。研究表明, 脑血屏障中 MMP-9 主要由大脑周细胞产生, 并且周细胞诱导的 MMP-9 可启动周细胞的迁移^[17]。许多机制可能参与 MMP 对周细胞募集的调节: 通过降解细胞外基质直接促进周细胞的浸润; 通过调节细胞外基质刺激周细胞的增殖; 通过释放一些生长因子 (如 VEGF) 活化周细胞; 协助血管生成相关信号等^[18]。

2 周细胞在血管生成中的作用

在血管生成的初始阶段, 内皮细胞通过增殖迁移形成新生血管腔, 这不仅需要降解血管基底膜, 还需要周细胞和内皮细胞的分离。周细胞可通过分泌 VEGF 刺激周细胞-内皮细胞分离。但是这些新形成的管腔的基底膜不成熟, 所以, 需招募如周细胞等其他血管成分促进其稳定和成熟。

内皮-周细胞间作用可为血管生成提供适宜条件。除分泌 VEGF 促进内皮细胞的生存和迁移外, Franco 等^[19] 还发现周细胞可诱导肿瘤中内皮细胞表达抗凋亡蛋白 Bcl-w 从而抑制内皮细胞的凋亡。此外, VEGF 等血管调控因子可诱导周细胞表达 MMP, 为内皮细胞的迁移提供条件。与此同时, 内皮细胞可表达 PDGF, 它可促进周细胞的募集从而进一步刺激内皮-周细胞间作用。有趣的是, 有研究发现 PDGF 和 VEGF 在血管生成中具有相反作用^[20]。最可能的解释是, 在早期 VEGF 发挥主导作用, 而较后期将表现出 PDGF 调节作用。

当血管生长到足够程度后, 内皮细胞的增殖将被抑制从而维护新成血管的稳定, 周细胞在其过程中发挥作用。周细胞参与 Ang-1 的产生, 而通过 Ang-1/Tie2 可抑制内皮细胞的活动从而促进血管的稳定。而内皮细胞和平滑肌细胞可表达 Ang-2, 对抗 Ang-1 的作用从而引起内皮细胞的不稳定和周细胞的缺失。Wakui 等^[21] 发现 Ang-2 和 VEGF 在血管生成的初始阶段升高, 而在成熟期则表现 Ang-1 相对增强和 VEGF 表达水平的降低。在 LPA 诱导的血管退化模型中, 研究发现周细胞可通过加速 LPA 的新陈代谢诱导内皮细胞管腔的稳定, 在周细胞的参与调节下, 完整的结构支持和适宜的生理调控将促进维护血管的成熟稳定。

3 周细胞在肿瘤发生、发展中的作用

不同于正常血管, 肿瘤血管常常呈现不成熟的血管表型: 异常的基底膜、异常的细胞连接、血管通透性增加等, 使得有利于肿瘤细胞的浸润和转移。周细胞覆盖的减少和内皮-周细胞间作用的异常是其原因之一, 周细胞是肿瘤发展的重要调节因子。

乏氧是肿瘤快速生长中常见的现象, 研究证实乏氧会诱导产生一系列生长因子如 VEGF、Ang-2 和 MMP。在低氧刺激下, 周细胞可以通过缺氧诱导因子 (HIF) 信号分泌 VEGF 从而促进肿瘤血管的发展。乏氧可刺激周细胞相关 Ang-2 和 MMP 的表达, 诱导血管不稳定性及内皮渗透性的增加, 进而为血管新生和肿瘤生长提供条件。

转移是导致患者死亡的一个重要原因, 而肿瘤血管周细胞覆盖异常是促进转移的重要因素之一。周细胞的缺乏使得肿瘤血管结构不完整, 从而增强肿瘤细胞进入血循环的能力。相比前列腺癌细胞 LNCaPs, 更强侵袭性的 LNCaP-19 亚型细胞具有更低的周细胞覆盖; 周细胞的缺乏与肿瘤患者不良的预后存在密切联系。Keskin 等^[6] 通过对早期 (非乏氧) 和晚期 (乏氧) 肿瘤中周细胞的检测, 发现在早期阶段, PDGFR-b+ 周细胞的损耗可降低肿瘤的转移, 而在晚期则增强转移。在早期阶段, 周细胞的缺失可影响血管功能从而干扰肿瘤生长的氧供给, 导致肿瘤生长受限、降低转移发生; 随着周细胞缺失的加重, 血管通透性进一步加大, 又为肿瘤转移提供条件。

此外, 周细胞被证实参与免疫调节从而影响肿瘤进展。研究发现, 恶性胶质瘤相关的周细胞可以抑制 T 细胞的增殖; Bose 等^[1] 研究表明, 肿瘤相关的周细胞对 CD4⁺ T 细胞的活化和增殖有抑制作用, 其能增强 CD4⁺ CD44⁺ T 细胞对 Ag 无效应达。

4 周细胞为靶点的抗肿瘤治疗

抗血管治疗是肿瘤治疗中的重要方式, 周细胞和血管内皮细胞、VEGF 一样, 都是有效的反腐抗血管治疗靶点。一方面, 恢复肿瘤血管中周细胞的覆盖可以诱导血管的正常化。通过正常化血管, 血管孔隙压和渗透性得以恢复, 血流灌注和氧供将提高从而增强放化疗疗效, 血管正常结构的恢复还可能降低肿瘤细胞进入循环系统, 抑制转移。在 PDGF-BB 超表达的结直肠癌和胰腺癌小鼠模型中, McCarty 等^[22] 观察到周细胞覆盖率增加、肿瘤生长显著被抑制, 而给予甲磺酸伊马替尼 (PDGFR 抑制剂) 后, 肿瘤生长将提高, 周细胞总量也会下降。此外, 调节内皮-周细胞间作用也是治疗的一个重要方式。Nassarre 等^[23] 发现肿瘤在 Ang-2 缺陷小鼠中的生长慢于野生型小鼠, 并且, Ang-2 缺陷小鼠中的肿瘤微血管具有更丰富、更成熟的周细胞覆盖。但值得注意, 肿瘤生长的差异发生在肿瘤生长的早期。Tobia 等^[14] 发现通过抑制 Ang-2, 可诱导周细胞的募集, 降低肿瘤的生长。另一方面, 高数量的周细胞覆盖与不良的预后存在相关性。周细胞可产生 VEGF 刺激内皮细胞的生长和迁移, 从而在 VEGF 表达下降时维护内皮细胞的生长, 即周细胞可能诱导抗血管治疗 (靶向 VEGF/VEGFR) 抵抗。抑制周细胞募集和干扰内皮-周细胞间作用可能通过抑制新肿瘤血管的形成、降低肿瘤血供从而提高抗肿瘤疗效。研究发现, 伊马替尼通过抑制 PDGFR-b1 周细胞的功能调节血管生成, 可显著抑制淋巴瘤的增长^[24]。联合应用抗 VEGF 和抗 PDGF-B/PDGFR- β 药物抑制肿瘤生长已在许多试验中得到证实。相对于单一抑制 VEGFR 或 PDGF- β , 同时抑制 VEGFR/PDGFR- β 表现出更多优势。在一个为期 12 个月的 3 期临床试验中, Raymond 等^[25] 发现相较于安慰剂组, 每天给予 37.5

mg 舒尼替尼(VEGFR 和 PDGFR- β 抑制剂)可以改善胰腺神经内分泌肿瘤患者的无进展生存期、总生存期和客观缓解率,舒尼替尼在肝癌治疗中也有疗效。此外,Grothey 等^[26]还发现瑞格非尼对 VEGFR 抑制剂治疗失败的结直肠癌患者有一定疗效。

周细胞通常覆盖在内皮细胞间接连处外,使得内皮-周细胞形成一个物理屏障来抵御肿瘤杀伤因子如免疫细胞、化疗药物。周细胞可上调黏附蛋白和 N-钙黏蛋白等多种分子的表达;周细胞诱导的 Ang-1 还可上调紧密连接蛋白(ZO)-1 和 occludin 的表达,即周细胞可增强血管屏障功能。因此,抑制周细胞降低血管屏障可能使得肿瘤杀伤因子更容易到达肿瘤区域。Ruan 等^[27]发现伊马替尼在抑制淋巴瘤增长时,不仅影响周细胞的覆盖,还降解肿瘤间基质的作用。

参考文献

- [1] Bose A, Barik S, Banerjee S, et al. Tumor-derived vascular pericytes anergize Th cells[J]. *J Immunol*, 2013, 191(2): 971-981.
- [2] Berthod F, Symes J, Tremblay N, et al. Spontaneous fibroblast derived pericyte recruitment in a human tissue-engineered angiogenesis model in vitro[J]. *J Cell Physiol*, 2012, 227(5): 2130-2137.
- [3] Genov  G, Mollick T, Johansson K. Photoreceptor degeneration, structural remodeling and glial activation: a morphological study on a genetic mouse model for pericyte deficiency[J]. *Neuroscience*, 2014(279): 269-284.
- [4] Hamdan R, Zhou Z, Kleinerman ES. Blocking SDF-1 α /CXCR4 downregulates PDGF-B and inhibits bone marrow-derived pericyte differentiation and tumor vascular expansion in Ewing tumors[J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(2): 483-491.
- [5] Dhar K, Dhar G, Majumder M, et al. Tumor cell-derived PDGF-B potentiates mouse mesenchymal stem cells-pericytes transition and recruitment through an interaction with NRP-1[J]. *Mol Cancer*, 2010(9): 209.
- [6] Keskin D, Kim J, Cooke VG, et al. Targeting vascular pericytes in hypoxic tumors increases lung metastasis via angiotensin-2[J]. *Cell Rep*, 2015, 10(7): 1066-1081.
- [7] Yu X, Radulescu A, Chen CL, et al. Heparin-binding EGF-like growth factor protects pericytes from injury[J]. *J Surg Res*, 2012, 172(1): 165-176.
- [8] Fagiani E, Lorentz P, Kopfstein L, et al. Angiotensin-1 and -2 exert antagonistic functions in tumor angiogenesis, yet both induce lymphangiogenesis[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(17): 5717-5727.
- [9] Song S, Ewald AJ, Stallcup W, et al. PDGFR β (+) perivascular progenitor cells in tumours regulate pericyte differentiation and vascular survival[J]. *Nat Cell Biol*, 2005, 7(9): 870-879.
- [10] Van Geest RJ, Klaassen I, Vogels IM, et al. Differential TGF- β signaling in retinal vascular cells: a role in diabetic retinopathy? [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010, 51(4): 1857-1865.
- [11] Zhu Q, Kim YH, Wang D, et al. SnoN facilitates ALK1-Smad1/5 signaling during embryonic angiogenesis[J]. *J Cell Biol*, 2013, 202(6): 937-950.
- [12] Chen W, Guo Y, Walker EJ, et al. Reduced mural cell coverage and impaired vessel integrity after angiogenic stimulation in the Alk1-deficient brain[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(2): 305-310.
- [13] Qian BZ, Li J, Zhang H, et al. CCL2 recruits inflammatory monocytes to facilitate breast tumour metastasis[J]. *Nature*, 2011, 475(7355): 222-225.
- [14] Tobia C, Chiodelli P, Nicoli S, et al. Sphingosine-1-phosphate receptor-1 controls venous endothelial barrier integrity in zebrafish[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(9): e104-116.
- [15] Nakajima C, Haffner P, Goerke SM, et al. The lipoprotein receptor LRP1 modulates sphingosine-1-phosphate signaling and is essential for vascular development[J]. *Development*, 2014, 141(23): 4513-4525.
- [16] Du W, Takuwa N, Yoshioka K, et al. SIP(2), the G protein-coupled receptor for sphingosine-1-phosphate, negatively regulates tumor angiogenesis and tumor growth in vivo in mice[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(2): 772-781.
- [17] Takata F, Dohgu S, Matsumoto J, et al. Brain pericytes among cells constituting the blood-brain barrier are highly sensitive to tumor necrosis factor- α , releasing matrix metalloproteinase-9 and migrating in vitro[J]. *J Neuroinflammation*, 2011(8): 106.
- [18] Chantre CF, Henri  P, Jodele S, et al. Mechanisms of pericyte recruitment in tumor angiogenesis: a new role for metalloproteinases[J]. *Eur J Cancer*, 2006, 42(3): 310-318.
- [19] Franco M, Roswall P, Cortez E, et al. Pericytes promote endothelial cell survival through induction of autocrine VEGF-A signaling and Bcl-w expression[J]. *Blood*, 2011, 118(10): 2906-2917.
- [20] Banfi A, von Degenfeld G, Gianni-Barrera R, et al. Therapeutic angiogenesis due to balanced single-vector delivery of VEGF and PDGF-BB[J]. *FASEB J*, 2012, 26(6): 2486-2497.
- [21] Wakui S, Yokoo K, Muto T, et al. Localization of Ang-1, -2, Tie-2, and VEGF expression at endothelial pericyte interdigitation in rat angiogenesis[J]. *Lab Invest*, 2006, 86(11): 1172-1184.
- [22] McCarty MF, Somcio RJ, Stoeltzing O, et al. Overexpression of PDGF-BB decreases colorectal and pancreatic cancer growth by increasing tumor pericyte content[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(8): 2114-2122.
- [23] Nasarre P, Thomas M, Kruse K, et al. Host-derived angiotensin-2 affects early stages of tumor development and vessel maturation but is dispensable for later stages of tumor growth[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(4): 1324-1333.
- [24] Chute JP, Himburg HA. Imatinib tackles lymphoma via the PDGFR β pericyte[J]. *Blood*, 2013, 121(26): 5107-5108.
- [25] Raymond E, Dahan L, Raoul JL, et al. Sunitinib malate for the treatment of pancreatic neuroendocrine tumors[J]. *N Engl J Med*, 2011, 364(6): 501-513.

[26] Grothey A, Van Cutsem E, Sobrero A, et al. Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer (CORRECT): an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. Lancet, 2013, 381(9863):303-312.

[27] Ruan J, Luo M, Wang C, et al. Imatinib disrupts lymphoma angiogenesis by targeting vascular pericytes [J]. Blood, 2013, 121(26):5192-5202.

(收稿日期:2016-02-22 修回日期:2016-04-10)

• 综 述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.29.043

精子形成相关基因及蛋白功能研究进展^{*}

周庭友 综述, 李彦锋[△] 审校

(第三军医大学大坪医院野战外科研究所泌尿外科, 重庆 400042)

[关键词] 精子形成; 基因; 蛋白

[中图分类号] R332; R394.33; R698

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)29-4156-04

近年来,随着环境污染、遗传、生活习惯改变等各种因素的影响下,男性不育发病率不断上升,而且精子数和精子各项参数都呈明显下降趋势^[1-2]。在男性不育的各种原因中,遗传因素是一种重要机制,全世界约 15% 的男性不育是由基因突变引起的^[3]。哺乳动物精子发生是一个特殊和复杂的细胞分化过程,是数以成千上万的基因共同调控的结果,与精子发生成熟相关的基因出现突变、缺失或表达异常都可能会导致男性不育。精子形成是精子发生成熟过程中的最后一步,睾丸特异性基因适时有序表达,精子鞭毛骨架结构和相关蛋白的有序转运和整合,并驱动精子细胞内各细胞器的协调合成装配,是保证精子发挥正常功能最根本的物质基础^[4]。目前,研究对精子发生前期的相关基因及蛋白研究较多,对后期精子形成相关基因及蛋白知之甚少,且未得到深入研究,对其功能也缺乏了解;为此,本文就国内外报道关于精子形成中发挥重要作用的部分基因及蛋白作一综述。

1 精子的形成过程

哺乳动物精子发生是在动物睾丸生精小管内发生的高度复杂的细胞分裂和分化过程,其生精细胞经历有丝分裂、减数分裂和精子形成 3 个阶段,每个阶段都受到无数个相关基因及蛋白的调控。研究者们大多关注精子发生的机制,而对精子形成这最后一步研究较少。

精子形成又称为精子变态过程,由减数分裂后期形成的圆形精子细胞经过一系列复杂的形态变化,发育为具有头、颈、尾结构的蝌蚪状精子的过程。在精子变态过程中,圆形精子形态学发生动态改变,主要经历:(1)精子头部的形成,包括核蛋白的转型,染色体的浓缩包装及精子颈的形成;(2)顶体的生成;(3)精子尾部的形成,包括鞭毛、轴丝的发生和尾部的成形分化;(4)胞质清除残余胞质及细胞器重新分布等。精子变态过程是雄性单倍体生殖细胞所独有的过程,变态过程若出现异常均会导致畸形精子的产生,如圆头精子症等,导致男性不育。现有研究表明在精子形成过程中约有一半睾丸特异性基因表达,意味着这些基因随后在精子的结构或功能方面发挥作用^[5]。随着基因敲除、分子生物技术的发展,发现了许多精子形成相关的基因及蛋白,在精子形成过程中具有重要作用。

2 精子形成相关基因及蛋白研究

2.1 精子头部形成相关基因及蛋白 精子变形早期,精子头

部的形成伴随着细胞核的聚缩,圆形精子细胞 DNA 高度聚缩并被紧密包裹起来,精子头部的体积缩减至正常体细胞细胞核的 5%。精子细胞核聚缩时,核蛋白不断发生磷酸化与去磷酸化等修饰。过渡蛋白首先替代富含组氨酸的组蛋白,然后富含精氨酸的鱼精蛋白(protamine, PRM)又替代过渡蛋白。蛋白转换过程使精子染色质密度增高和结构发生变化,诱导后续的精子顶体延长与变形,形成顶体,同时极大地提高了精子受精能力。Rousseaux 等^[6]认为精子减数分裂后形成新的精子 DNA 致密结构,必须首先经过蛋白浓缩并转换,形成高度乙酰化的组蛋白。如果没有高度乙酰化的组蛋白,则精子细胞变形过程受阻。Gaucher 等^[7]报道在体外实验中小鼠精子细胞的变形过程明显可被组蛋白乙酰化酶抑制剂阻止,证明了高度乙酰化组蛋白在精子形成过程中具有重要作用。近期研究发现 Brdt 蛋白可激活精子细胞中相关的必需基因以启动组蛋白乙酰化,从而引导精子基因组编码过程。过渡蛋白 2、在精子的形成过程中,伴随着染色体的浓缩和顶体囊泡的形态学变化,表达于整个精子的发生过程, Tnp2 的突变或缺失表达可能是导致精子畸形的一个重要因素。De Mateo 等^[8]研究还发现人和小鼠精子中均有 PRM1 和 PRM2 两种鱼精蛋白,在细胞核的聚缩过程中起调控作用,敲除两者中任何一种基因都会导致雄性不育,同时还证明了人类 PRM1 和 PRM2 的比率与男性不育症有关。TATA 盒结合蛋白/TBP 相关因子 71(Taf71)与 TBP 相关因子 2(Trf2)共同促进组织特异性基因的转录;敲除 Taf71 基因的小鼠精子细胞停滞在圆形细胞阶段;而敲除 Trf2,小鼠精子的精原细胞和精母细胞发育虽然正常,但是在变形晚期圆形精子细胞发育中断且严重凋亡。Rfx2 是 Regulatory Factor X(Rfx)家族成员,在成熟睾丸和圆形精子阶段高表达,是减数分裂阶段调控其他基因表达的转录调控因子。敲除 Rfx2 基因后,精子不能完成减数分裂,而停留在多核圆形细胞阶段,不能产生成熟精子导致雄性完全不育。Iqcg 是重要的钙离子信号调控因子,通过调控钙调蛋白来影响钙离子信号通路。Iqcg 缺失会影响肌动蛋白细胞骨架形成,从而引起精子头部缺陷和精子成熟,是精子形成过程中的必须基因。核纤层蛋白 A/C(Lamin A/C)是由人类基因 LMNA 编码的蛋白质,表达于精原细胞到圆形精子、成熟精子的不同阶段。Lamin A/C 在精子头部和顶体形成中至关重要。LMNA 敲除后导致

^{*} 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81170617)。 作者简介:周庭友(1984—),医师,硕士,主要从事男科学研究。 [△] 通讯作者,

Tel:13883402349;E-mail:lyf1000@aliyun.com。