

*Hox*基因在中枢神经系统中作用的研究进展

邓如娅 白洁*

(昆明理工大学, 医学神经生物学重点实验室, 昆明 650500)

摘要 同源异型盒基因(homeobox genes, *Hox*)在进化上是保守的, 在调节胚胎发育, 尤其在脊椎动物前-后轴(antero-posterior axis)的发育及肢体发育中起着重要作用。最近研究表明, *Hox*基因通过与之相关的辅助因子调节中枢神经系统(central nervous system, CNS)以及神经环路的发育。该文主要对*Hox*基因调控中枢神经系统发育的作用及机制进行综述。

关键词 *Hox*基因; 中枢神经系统; 神经环路

Research Progress on the Role of *Hox* Genes in Central Nervous System

DENG Ruhua, BAI Jie*

(Key Laboratory of Medical Neurobiology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract Homeobox genes are evolutionarily conserved, which play important roles in regulating embryonic development, especially in the development and limb development of the antero-posterior axis of vertebrates. Recent studies have shown that the *Hox* genes regulate the development of the central nervous system and the neural circuit through their associated cofactors. This paper reviewed the roles and mechanism of the *Hox* gene in regulating the development of the central nervous system.

Keywords homeobox genes; central nervous system; neural circuit

1 *Hox*基因的概况

1.1 *Hox*基因的结构和功能

同源异型盒基因(homeobox genes, *Hox*)最早由McGinnis在果蝇中鉴定出, 之后在包括人在内的脊椎动物中发现。它是细胞分化和脊椎动物生长发育的主控基因, 具有高度保守性。

目前已鉴定的*Hox*基因分为*HoxA*、*HoxB*、*HoxC*、*HoxD*四个簇, 根据簇间基因序列的相似性及基因在染色体上的位置又分为13组。大多数*Hox*基因在中枢神经系统中表达, *Hox*在后脑和脊髓的分布见表1^[1]。它们在神经元迁移、轴突生长方面起关键作用, 与神经环路的形成有关, 这些环路主

要调节呼吸、运动协调、听觉和本体感觉等^[2]。

1.2 *Hox*的作用机制

*Hox*基因编码的转录因子(transcription factors, TFs), 在体轴形态发生过程中起重要的调控作用^[3], 通过*Hox*蛋白的结构域与DNA结合, 但是这种结合是相对非特异性的^[4]。*Hox*蛋白对DNA结合力较弱, 通常需要与辅助因子三个氨基酸残基的延伸结构(three amino acid loop extension, TALE), 如B淋巴细胞白血病前体蛋白转录因子(pre-B-cell leukemia homeobox, PBX)和骨髓专宿病毒整合位点(myeloid ecotropic viral integration site, MEIS)协同作用^[5]。*Hox*蛋白通过不同的方式与PBX和MEIS辅

收稿日期: 2019-10-09 接受日期: 2019-12-02

国家自然科学基金(批准号: 81660222、U1202227)和云南省高校氧化应激与防御重点实验室(2019)项目(批准号: KKP201960002)资助的课题

*通讯作者。Tel: 15025191617, E-mail: jiebai662001@126.com

Received: October 9, 2019 Accepted: December 2, 2019

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81660222, U1202227) and the Key Lab of Oxidative Stress and Defense in University of Yunnan Province (Grant No.KKP201960002)

*Corresponding author. Tel: +86-15025191617, E-mail: jiebai662001@126.com

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5255>

表1 *Hox*基因在后脑和脊髓中的表达Table 1 Expression of *Hox* gene in hindbrain and spinal cord

分类	后脑	脊髓
Classify	Hindbrain	Spinal cord
<i>HoxA</i>	a1、a2、a3、a4、a5	a5、a6、a7、a9、a10、a11
<i>HoxB</i>	b1、b2、b3、b4、b5	b5、b6、b7、b8
<i>HoxC</i>	c5	c4、c5、c6、c8、c10、c11
<i>HoxD</i>	d3、d4	d8、d9、d10、d11

因子相互作用,结合于富含AT的DNA序列^[6-9]。PBX蛋白除了与*Hox*蛋白形成二聚体外,还能与其他转录因子相互作用,调节其核定位和稳定性^[10]。PBX蛋白还与组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferases, HATs)、组蛋白乙酰基转移酶协同分子、组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)、核受体辅助抑制因子(nuclear receptor co-repressor 1, N-CoR)和维甲酸/甲状腺素受体沉默调节子(silencing mediator of retinoid and thyroid hormone receptor, SMRT)相互作用^[8]。还有研究报道, PBX1是室管膜下区神经形成的早期调节因子,其能与泛神经元标记分子双皮质素(doublecortin, Dcx)的启动子结合并激活*Dcx*表达^[11]。

2 *Hox*与中枢神经系统

2.1 *Hox*在中枢神经系统中的作用

*Hox*在中枢神经系统(central nervous system, CNS)中的持续表达的时间,取决于*Hox*效应分子是否持续表达,以及细胞是否需要*Hox*^[12]。在后脑发育中,*Hox*基因在耳蜗腹侧核(ventral cochlear nucleus, VCN)和上橄榄复合体(superior olivary complex, SOC)中持续表达,直到出生后的早期阶段。*Hox*基因在中枢神经系统与不同类型细胞的增殖、分化和凋亡有关,其异位表达、错位表达或功能的丧失均可导致脑增殖的抑制^[13]。*Hox*基因介导神经祖细胞的细胞凋亡在幼体CNS前-后轴的发育中起着重要作用^[13]。

2.2 *Hox*下游分子

*Hox*在干细胞的更新、细胞周期调节和DNA修复发挥重要的作用^[14]。*Hox*通过调节特殊的下游分子,调节器官和结构的形成^[15]。多梳抑制复合物2(polycomb repressive complex 2, PRC2)可选择性催化组蛋白H3第27位赖氨酸三甲基化(trimethylation of lysine 27 on histone 3, H3K27me3),从而诱导靶基因转录抑制。*Zeste*基因增强子的人类同源基因2(enhancer of zeste homolog 2, *Ezh 2*)是PRC2的一

个亚基,在肿瘤和中枢神经系统中,*Ezh 2*与其他表观遗传修饰酶相互协调介导基因沉默。*Ezh 2*可以调节H3K27me3的定位,而H3K27me3再通过PRC2和PRC1之间的相互作用抑制基因表达^[16]。H3K-27me3在发育中尤其重要^[17]。因此,*Ezh 2*的缺失,会导致*Hox*基因在神经脊细胞中脱抑制^[14]。在后脑,*Hoxa1*和*Hoxa2*的基因突变会影响与细胞类型有关的基因的表达,如配对同源异型盒2B基因(paired-like homeobox 2b, *Phox 2B*)、心脏特异性同源盒转录因子(homobox transcription factor, NKX2.5)和配对盒基因6(paired box gene 6, *Pax6*)。*Phox 2B*是*Hoxb1*和*Hoxb2*的直接靶标,是后脑鳃动(branchiomotor, BM)和内脏运动(visceral motor, VM)神经元的决定因素^[18]。BM与VM统称为内脏运动神经元(visceral motor neuron, vMN),由腹侧前体区(ventral progenitor domain)产生。小鼠胚胎的腹侧菱脑节4(rhombomere 4, R4)中*Hoxb1*和*Hoxb2*的突变,会导致*Phox 2B*在腹侧vMN前体细胞不能正常表达,从而导致其向5-羟色胺能神经元的转变^[19]。Nkx2.5高表达可以抑制转录因子sox2表达的神经前体细胞的分化^[20]。研究显示,*Pax6*的缺失导致早期小鼠神经管中*Hoxd4*的表达降低,影响神经管的前后轴及背腹轴的共线性,表明*Pax6*基因在后脑发育过程中起到重要作用^[21]。叉头框P1(forkhead box P1, FoxP1)转录因子,作为*Hox*辅助因子,在调节运动神经元多样性和连结性中起重要的作用。FoxP1的失活,抑制了运动神经元中*Hox*的表达,影响平衡运动的微神经环路,因此, FoxP1是决定运动神经元多样性和连结性的关键因素^[22]。

3 *Hox*基因与神经环路的形成

*Hox*簇在脊椎动物中的表达水平比无脊椎动物高^[23]。*Hox*基因在模式化的神经元迁移,轴突导向,以及后脑和脊髓的复杂神经环路组成中起重要

的作用^[24]。在早期胚胎发育过程中,后脑控制着许多生理过程,包括呼吸、血压、运动协调和各种感觉^[25]。*Hox*基因是菱脑节的节段性和前后轴的关键决定因素,除了在早期胚胎阶段的作用外,*Hox*基因也可能在神经元环路发育的后期,包括神经元迁移、突触的形成^[26]中发挥重要作用。*Hox*在传递本体感觉的脊髓小脑束神经元(spino cerebellar tract neuron, SCTN)的发育中起重要作用,*Hox*功能的丧失导致SCTN亚型特殊转录程序的异常,导致本体感觉神经元、SCTNS和小脑之间的连接缺陷,因此,*Hox*依赖的转录调节在大脑和脊髓的神经环路的形成中起着重要的作用^[27]。由此可见,在神经系统发育的早期阶段,*Hox*基因的表达模式异常,则导致后脑神经元功能障碍,最终引起后脑相关的环路形成缺陷,提示*Hox*在后脑相关神经环路的形成中起重要作用。

3.1 呼吸神经环路

呼吸节律产生的神经网络位于脑干^[18]。在小鼠中,*Hox*基因控制脑干呼吸神经元网络的发育,如桥脑中,面旁呼吸组(para-facial respiratory group, pFRG)和前包钦格复合体(pre-Bötzinger complex, preBöt C)。pFRG发育的异常,会导致危及生命的新生儿呼吸暂停。后脑*Hoxa2*的失活会导致脑桥的胚胎发育紊乱,改变新生儿吸气形成,而不影响呼吸频率^[28]。追踪菱脑节2特异性*Hoxa2*表达细胞的后代,提示了吸气活性控制区在吻端桥脑区,且必须是菱脑节2衍生领域,*Hoxa2*的突变则会导致与早期生长应答基因2(early growth response 2, *EGR2*)/*Krox20*突变相似的损伤,而*Krox20*是调节呼吸频率的pFRG的发育所必需的。因此,吸气深度和呼吸节律与*Hox*调节的菱脑节2有关,*Hoxa2*调控吻端桥脑区pFRG发育^[29]。

3.2 三叉神经环路的形成

感觉信息由周围到皮质区的传递,依赖于脑干和丘脑内的信号输入。在三叉神经通路中,感觉神经节投射到不同的面部区域,并集中投射到脑干中的不同核,例如喙侧三叉神经感觉主核(principal trigeminal nucleus, PrV),这些核通过丘脑核连接到躯体感觉皮层区,调节面部感觉^[18]。*Hoxa2*在脑干有丝分裂后期神经元中表达,调控环路相关分子的表达和体感环路的形成^[30]。在*Hoxa2*异常表达的情况下,三叉神经传入感受信息不适当地投射到小脑,从而造成信息的错误传导。*Hox*基因在CNS不同发育阶段中,其表达特征不同,表明*Hoxa2*在三

叉神经环路形成中作用不同^[18]。

3.3 听觉环路

支配耳蜗内外毛细胞的传入感觉纤维将信息传递到脑干中的细胞核,其包括耳蜗前腹核(anteroventral cochlear nucleus, AVCN)、后腹侧核(posterocentral cochlear nucleus, PVCN)和背侧核(dorsal cochlear nucleus, DCN)。感官信息从耳蜗核通过上橄榄核复合体、外侧丘系传递,并最终通过中脑下丘和丘脑内侧膝状体传入听觉皮层。因此,由耳蜗核中产生并通过上橄榄核复合体的路径编码声音定位^[18]。在发育过程中,菱脑节参与脑干听觉核的发育,有研究证明,脑干内R4中,*Hox*基因家族的*Hoxb1*和*Hoxb2*直接参与了导致声音感知和声音放大的环路形成。R4支配的听觉组件调控声音感知,取决于*Hoxb1*和*Hoxb2*之间的调节相互作用。*Hoxb1*和*Hoxb2*的突变会导致小鼠耳蜗毛细胞出现异常形态,耳蜗核神经轴突改变,橄榄耳蜗神经元的异常定位,最终导致突变小鼠的严重听力损伤^[31]。由此可见,*Hox*基因对菱脑节的表达模式起重要的决定作用^[32]。

3.4 运动环路

哺乳动物协调运动是一种复杂的行为,它依赖于中枢神经系统中的神经网络和神经环路。信息经感觉器传入脊髓,再通过脑干向小脑传递,最终输入大脑的皮质。研究发现,*Hox*表达的变化可导致这些环路的重新连接,表明*Hox*与这两个通路相关联^[18]。小鼠中肢体外侧运动柱(lateral motor columns, LMC)神经元的产生依赖于*HoxA*和*HoxC*簇内多个基因的瞬时表达,在脊椎动物胸部,*Hoxc9*的水平与LMC决定簇的表达有关^[33]。在LMC神经元中,*Hox*的活性主要依赖于辅助因子*Foxp1*的表达,*Foxp1*在运动神经元中的表达是由脊髓中表达的*Hox*基因调节,并和*Hox*蛋白协同,决定运动神经元多样性和连结性,调控肢体肌肉的运动协调性。在*Foxp1*突变体中,支配伸肌群和屈肢群运动神经元改变,表明*Hox*在LMC神经元内起重要的作用^[34-35]。

4 总结与展望

*Hox*基因种类较多,在胚胎发育和细胞分化中起重要的作用,其与神经系统的发育有关,在调节呼吸、感觉和运动功能的神经环路形成中起重要作用。因此,进一步研究*Hox*基因,可为明确神经发育及神经系统的疾病分子机制提供新的理论依据。

参考文献 (references)

- [1] PARKER H J, KRUMLAUF R. Segmental arithmetic: summing up the Hox gene regulatory network for hindbrain development in chordates [J]. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*, 2017, 6(6): e286-314.
- [2] GOFFLOT F, LIZEN B. Emerging roles for HOX proteins in synaptogenesis [J]. *Int J Dev Biol*, 2018, 62(11/12): 807-18.
- [3] HUEBER SD, LOHMANN I. Shaping segments: Hox gene function in the genomic age [J]. *Bioessays*, 2008, 30(10): 965-79.
- [4] MORGAN R, EL-TANANI M, HUNTER K D, et al. Targeting HOX/PBX dimers in cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(19): 32322-31.
- [5] HUDRY B, THOMAS-CHOLLIER M, VOLOVIK Y, et al. Molecular insights into the origin of the Hox-TALE patterning system [J]. *eLife*, 2014, 3: e01939-63.
- [6] MANN R S, LELLI K M, JOSHI R. Hox specificity unique roles for cofactors and collaborators [J]. *Curr Top Dev Biol*, 2009, 88: 63-101.
- [7] SAADAOU M, MERABET S, LITIM-MECHERI I, et al. Selection of distinct Hox-extradenticle interaction modes fine-tunes Hox protein activity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 2276-81.
- [8] LADAM F, SAGERSTROM C G. Hox regulation of transcription: more complex(es) [J]. *Dev Dyn*, 2014, 243(1): 4-15.
- [9] LONGOBARDI E, PENKOV D, MATEOS D, et al. Biochemistry of the tale transcription factors PREP, MEIS, and PBX in vertebrates [J]. *Dev Dyn*, 2014, 243(1): 59-75.
- [10] BERTHELSEN J, KILSTRUP-NIELSEN C, BLASI F, et al. The subcellular localization of PBX1 and EXD proteins depends on nuclear import and export signals and is modulated by association with PREP1 and HTH [J]. *Genes Dev*, 1999, 13(8): 946-53.
- [11] GREBBIN BM, SCHULTE D. PBX1 as pioneer factor: a case still open [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2017, 5: 9-15.
- [12] YAGHMAEIAN SALMANI B, MONEDERO COBETA I, RAKAR J, et al. Evolutionarily conserved anterior expansion of the central nervous system promoted by a common PcG-Hox program [J]. *Development*, 2018, 145(7): 145-62.
- [13] KHANDELWAL R, SIPAIN R, GOVINDA RAJAN S, et al. Combinatorial action of grainyhead, extradenticle and notch in regulating Hox mediated apoptosis in *Drosophila larval* CNS [J]. *PLoS Genet*, 2017, 13: e1007043-78.
- [14] PRIMON M, HUNTER K D, PANDHA H S, et al. Kinase regulation of HOX transcription factors [J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(4): 508-17.
- [15] SANCHEZ-HIGUERAS C, RASTOGI C, VOUTEV R, et al. *In vivo* Hox binding specificity revealed by systematic changes to a single cis regulatory module [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 3597-610.
- [16] MORTIMER T, WAINWRIGHT E N, PATEL H, et al. Redistribution of EZH2 promotes malignant phenotypes by rewiring developmental programmes [J]. *EMBO Rep*, 2019, e48155-75.
- [17] JAMBHEKAR A, DHALL A, SHI Y. Roles and regulation of histone methylation in animal development. *Nature reviews* [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(10): 625-41.
- [18] PHILIPPIDOU P, DASEN J S. Hox genes: choreographers in neural development, architects of circuit organization [J]. *Neuron*, 2013, 80(1): 12-34.
- [19] SAMAD OA, GEISEN MJ, CARONIA G, et al. Integration of anteroposterior and dorsoventral regulation of Phox2b transcription in cranial motoneuron progenitors by homeodomain proteins [J]. *Development*, 2004, 131(16): 4071-83.
- [20] RAMACHANDRA CJ, MEHTA A, LUA CH, et al. ErbB receptor tyrosine kinase: a molecular switch between cardiac and neuroectoderm specification in human pluripotent stem cells [J]. *Stem Cells*, 2016, 34 (10): 2461-70.
- [21] NOLTE C, RASTEGAR M, AMORES A, et al. Stereospecificity and PAX6 function direct Hoxd4 neural enhancer activity along the antero-posterior axis [J]. *Dev Biol*, 2006, 299(2): 582-93.
- [22] DASEN JS, DE CAMILLI A, WANG B, et al. Hox repertoires for motor neuron diversity and connectivity gated by a single accessory factor, FoxP1 [J]. *Cell*, 2008, 134(2): 304-16.
- [23] DARBELLAY F, BOCHATON C, LOPEZ-DELISLE L, et al. The constrained architecture of mammalian Hox gene clusters [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(27): 13424-33.
- [24] DI BONITO M, GLOVER J C, STUDER M. Hox genes and region-specific sensorimotor circuit formation in the hindbrain and spinal cord [J]. *Dev Dyn*, 2013, 242(12): 1348-68.
- [25] FRANK D, SELA-DONENFELD D. Hindbrain induction and patterning during early vertebrate development [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(5): 941-60.
- [26] NARITA Y, RIJLI F M. Hox genes in neural patterning and circuit formation in the mouse hindbrain [J]. *Curr Top Dev Biol*, 2009, 88: 139-67.
- [27] BAEK M, MENON V, JESSELL T M, et al. Molecular logic of spinocerebellar tract neuron diversity and connectivity [J]. *Cell Rep*, 2019, 27(9): 2620-35.
- [28] CHAMPAGNAT J, MORIN-SURUN M P, FORTIN G, et al. Developmental basis of the rostro-caudal organization of the brainstem respiratory rhythm generator [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2009, 364 (1529): 2469-76.
- [29] CHATONNET F, WROBEL L J, MEZIERES V, et al. Distinct roles of Hoxa2 and Krox20 in the development of rhythmic neural networks controlling inspiratory depth, respiratory frequency, and jaw opening [J]. *Neural Dev*, 2007, 2: 19-32.
- [30] BECHARA A, LAUMONNERIE C, VILAIN N, et al. Hoxa2 selects barrelette neuron identity and connectivity in the mouse somatosensory brainstem [J]. *Cell Rep*, 2015, 13(4): 783-97.
- [31] DI BONITO M, NARITA Y, AVALLONE B, et al. Assembly of the auditory circuitry by a Hox genetic network in the mouse brainstem [J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(2): e1003249-51.
- [32] TUMPEL S, WIEDEMANN L M, KRUMLAUF R. Hox genes and segmentation of the vertebrate hindbrain [J]. *Curr Top Dev Biol*, 2009, 88: 103-37.
- [33] JUNG H, MAZZONI E O, SOSHNIKOVA N, et al. Evolving Hox activity profiles govern diversity in locomotor systems [J]. *Dev Cell*, 2014, 29(2): 171-87.
- [34] HINCKLEY C A, ALAYNICK W A, GALLARDA B W, et al. Spinal locomotor circuits develop using hierarchical rules based on motorneuron position and identity [J]. *Neuron*, 2015, 87(5): 1008-21.
- [35] MACHADO T A, PNEVMATIKAKIS E, PANINSKI L, et al. Primacy of flexor locomotor pattern revealed by ancestral reversal of motor neuron identity [J]. *Cell*, 2015, 162(2): 338-50.