多能的*SoxB1*家族基因

胡胜男 李逸平*

(中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所国家细胞生物学重点实验室,
上海市分子男科学重点实验室, 上海200031)

摘要 *SoxB1*基因家族编码一类含有HMG DNA结合结构域的转录因子。目前, 已经鉴定出的*SoxB1*家族成员包括脊椎动物中共有的*Sox1a/b*、*Sox2*、*Sox3*以及硬骨鱼类中特有的*Sox19a/19b*, 它们在性别决定、神经元特化、“干”性细胞自我更新及全能性维持、胚层发育等过程中发挥重要作用。向小鼠成纤维细胞中导入四个关键因子*Sox2*、*Oct4*、*c-Myc*及*Klf4*, 可以成功地将体细胞诱导成具有分化全能性的干细胞, 证明了*SoxB1*因子在发育过程中不可或缺的重要性, 也极大地推动了关于*SoxB1*家族基因的研究。该文将围绕*SoxB1*基因的最新研究进展作一综述。

关键词 *SoxB1*; 性别决定; 神经元特化; 干细胞全能性; 胚层发育

1 引言

哺乳动物雄性性别决定基因*Sry*(sex-determining region of Y chromosome)是90年代第一个被发现的*Sox*(*SRY*-related HMG box)家族成员。它含有由大约80个氨基酸残基组成的DNA结合结构域, 负责结合特定序列的DNA并激活或抑制转录。近二十年中, 30多个和*Sry*在HMG结构域享有50%以上同源性的*Sox*基因被陆续克隆鉴定, 并依据HMG区域的同源性, 被划分成A~J近十个类别, 同一类别中的成员在HMG区域表现出90%以上的同源性(图1)。*Sox*因子对DNA小沟序列(A/T)(A/T)CAA(A/T)G表现出近乎一致的偏好性, 同时在功能上, 它们参与到个体发育的各个阶段以及各种组织器官的细胞命运决定和分化过程中。在HMG结构域和DNA结合序列都高度保守的情况下, 它们是怎样完成对不同细胞类群中各自迥异的靶基因的调控的呢? 人们猜想, 在不同的细胞环境中, 必然有其它辅助转录因子的参与和协助, 来实现被调控基因的多样性。这个猜想自十几年前开始已逐步被大量的实验所证实[1-2]。*SoxB1*家族基因包括在脊椎动物中共有的*Sox1*、*Sox2*、*Sox3*及硬骨鱼类中特有的*Sox19a/19b*, 它们广泛地表达在神经组织、胚胎干细胞及雄性动物睾丸中, 参与了胚胎干细胞、神经干细胞的“干”性维持、视网膜和晶状体等神经组织的发生、胚胎胚层的分化及雄性性别决定等生理过程。在执行功能的过程中, *SoxB1*家族成员之间表现出相互协同, 与其它不同亚类的*Sox*家族成员之间则表现为相互拮抗的特性。

2 *Sox3*与*Sry*协同参与雄性性别决定和两性性状分化

Sox1、*Sox2*位于常染色质上, 而*Sox3*则偶联在X性染色体上, 并在神经组织和生殖系统中均有表达。*Sox3*敲除小鼠不仅表现出中枢神经系统的发育障碍, 还表现出精原细胞的分化障碍[3], 提示*Sox3*对性别发育也施加了一定的影响。序列比较结果显示, *SoxA*家族的雄性性别决定基因*Sry*与*SoxB1*基因在HMG区域享有很高的相似度, 其中与*Sox3*的序列相似度最高[4]。在胚胎发育的性别决定时期, 早期性腺具备向雄性睾丸和雌性卵巢分化的能力, 正常的XY基因型的雄性个体中, 最初从原始性腺细胞中分化出来的是Sertoli细胞。*Sry*在Sertoli细胞中的时空特异性表达, 决定了原始生殖腺向睾丸方向定向分化。如果缺失*Sry*基因功能, 将导致XY个体发生性别逆转。*Sox9*是在早期Sertoli细胞中鉴定出的唯一的*Sry*下游基因。小鼠定向敲除*Sox9*将导致在XY个体卵巢的发育[5]。另有证据表明, *Sox3*能够激活下游的*Sox9*并导致XX个体发生性别逆转[6]。由此可见, *Sry*与*Sox3*的亲缘关系决定了功能的类似性。

但是, *Sox3*与*Sry*在雌性和雄性个体中的表达显现出剂量失衡[7]。XX个体在胚胎发育早期遵循剂量补偿定律, 有一条X性染色体因异染色质化而失活,

收稿日期: 2012-03-05 接受日期: 2012-04-05
国家重点基础研究发展规划(973计划)(No.2011CB966301)资助项目
*通讯作者。Tel: 021-54921395, Fax: 021-54921415, E-mail: yipingli@sibs.ac.cn

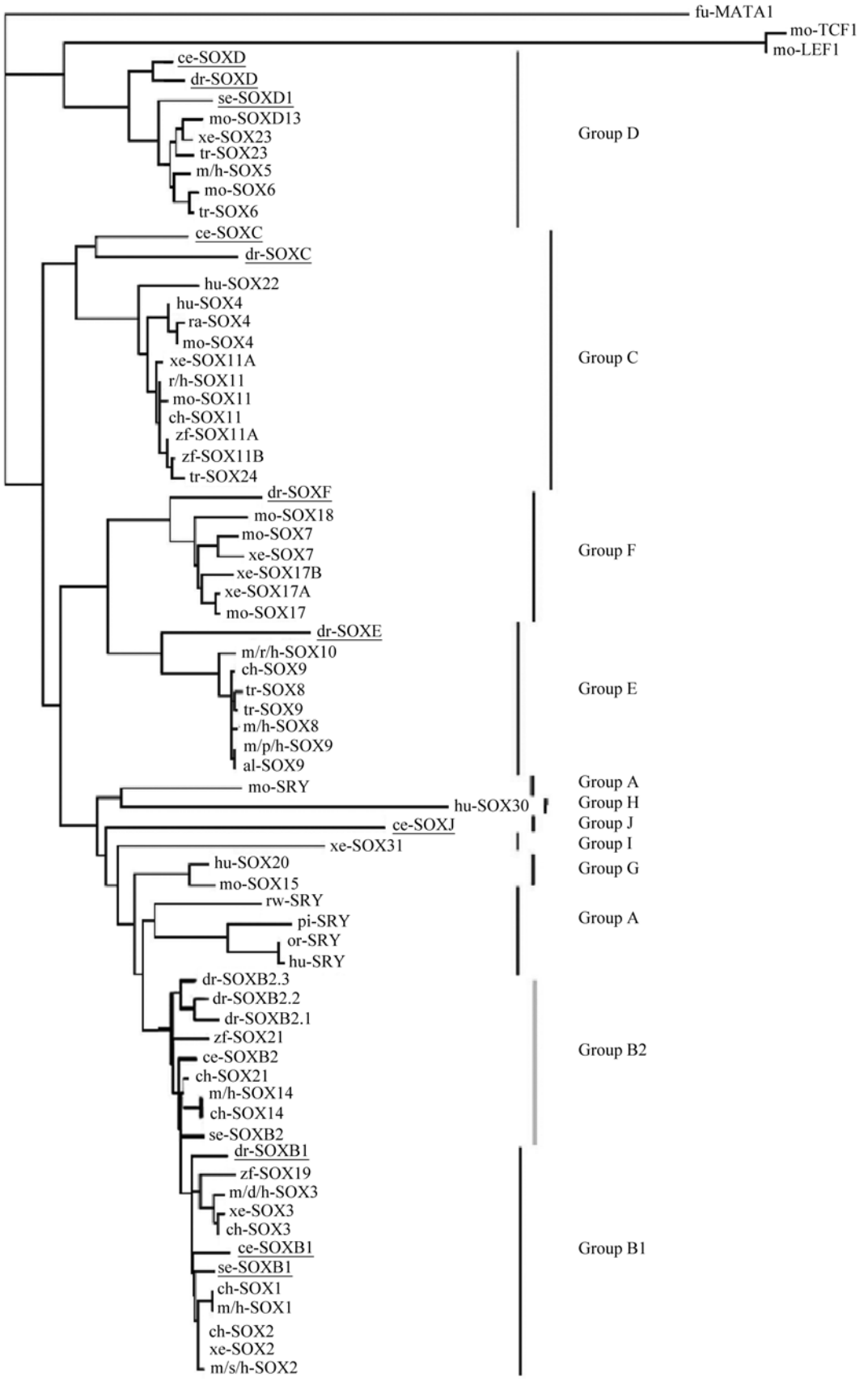


图1　*SoxB1*家族基因分类[34]

Fig.1　The classification of *SoxB1* family genes[34]

导致其中一个性别相关的*Sox3*基因拷贝是没有活性的。但是, 在XY个体中, Y染色体上的性别相关基因*Sry*与X染色体上的*Sox3*同时表达, 性别相关基因的表达剂量是雌性个体中的两倍。这种剂量失衡将影响整个细胞中的表达谱, 最终导致雌性动物和雄性动物的性状分化。*Sry*和*Sox3*并不仅仅在生殖器官表达, 在包括中枢神经系统在内的多种组织中均有表达, 因此, 表达剂量的失衡造成的影响是深远而广泛的, 尤其是在一些病理过程中, 如男性更容易罹患肾病[8], 被HIV感染后病程发展更快[9]等等, 至于它们之间的关联性还有待进一步证实。

3 *SoxB1*基因在神经祖细胞特性的维持和神经元特化过程中具有重要功能

与其它大多数细胞类型一样, 神经细胞也经历了漫长的分化演变过程。具有自我更新能力的神经祖细胞位于脊髓的脑室区, 随着发育的进行, 逐渐丧失其"干细胞特性", 并开始表达与神经分化相关的分子标记。在胚胎发育早期, *Sox1/2/3*以及硬骨鱼类中的*Sox19a/19b*均一地、并以一种相互重叠的方式表达在外胚层区域的神经板中, 而在分化的神经元中呈下调趋势[10]。如在神经祖细胞中过表达*Sox1~3*将抑制细胞分化, 并将其维持在一种不断分裂的干细胞状态; *bHLH*(basic helix-loop-helix)家族转录因子包括*Ngn1*、*Ngn*和*Mash1*等, 是促使神经元分化的正向调控因子, 如果将*Sox3*与*Ngn2*共表达, 可以阻断*Ngn2*单独过表达引发的神经元分化效应[11]。由此可见, *SoxB1*基因对神经祖细胞特性的维持至关重要。

此外, *SoxB1*家族成员还参与了多种神经元的特化过程。如*Sox1*调控晶状体纤维和腹侧纹状体神经元的的终末分化[12]; *Sox3*参与调节腹侧间脑的发育[13]; *Sox2*对丘脑、纹状体正常生理功能的维持以及视网膜的发育具有重要作用, 人类*Sox2*基因读码框内的无义突变将导致无眼、小眼症的发生[14]。

*SoxB1*家族成员之间表现出显著的功能冗余及互补性。通过显性失活形式的*Sox2*分子干扰其自身及其它*SoxB1*基因的功能, 将导致脑室中的神经祖细胞提前分化, 但这种缺陷可以通过同时过表达正常的*Sox1*分子而获得纠正。在仅有某个分子单独表达的区域, 其突变将导致显著的功能缺陷。例如, *Sox1*缺陷的小鼠在生存率方面不受影响, 神经组织的发育也未见显著异常, 唯独在晶状体细胞中表现出一定的障碍[15], 这是因为在晶状体发育的后期仅有*Sox1*的表达。进化的观点认为, 越是重要的生物学过程, 就有越多的功能互补性的分子参与到其中, 以提高个体应对突变的能力并提高生存率。*SoxB1*成员在神经发生的过程中扮演的角色恰好印证了这个观点。

4 *SoxB1*基因通过抑制中内胚层信号影响胚层特化

在爪蟾、斑马鱼等脊椎动物的早期胚胎中, *SoxB1*基因主要分布在靠近动物极即位于胚胎顶部的外胚层区域, 而*SoxF*家族基因包括*Sox7/Sox17/Sox18*则分布在靠近植物极的中、内胚层区域。在爪蟾中, *Sox3*和*Sox7*都有母源的转录本存在, 因此在受精初期即形成了一套完备的"*Sox*-轴向"[16]。*Nodal*是重要的中内胚层诱导信号, 阻碍神经外胚层的特化[17]。在中内胚层区域, *Sox7*正向调控*Nodal*信号和中内胚层的促进信号*Slug/Snall/Xmenf*。在外胚层区域, *Sox3*抑制*Nodal*信号, 并激活*Nodal*信号的抑制因子*Ecto/Coco/Xema*的表达, 支持外胚层的发生。这一过程中不同家族的*Sox*成员之间表现为相互抑制的关系。

*Wnt/β-catenin*是背方中胚层特化的上游信号, 它激活合子型背方基因*boz*, 并和*Nodal*信号协同作用诱导出背方组织中心, 造成胚胎的背腹轴分化, 并向神经外胚层发布诱导信号[18]。 Zorn等[19]发现, *SoxB1*基因通过与TCF/LEF竞争性地结合*β-catenin*从而抑制背侧分化。另有实验结果显示, 通过显性失活形式的*Sox3*抑制*SoxB1*家族基因功能, 将导致背方中胚层基因的表达区域扩张和第二体轴的发生[20], 同样表明了*SoxB1*基因和背侧中胚层特化的抑制性关系。我们实验室也证实了以上观点, 斑马鱼特有的*SoxB1*基因*Sox19b*能够抑制*Wnt/β-catenin*和背方组织中心信号, 并通过这条信号途径影响神经系统前后轴向的特化[21-22]。*SoxB1*基因主要表达在外胚层和神经外胚层区域, 而在中内胚层区域没有表达。这种分布特征以及*SoxB1*基因和中内胚层特化信号的拮抗关系, 将中胚层特化的信号限定在其自身区域内, 为胚层的划分提供了实现条件。

5 *Sox2*是胚胎干细胞自我更新和全能性维持的重要调控因子

过表达四个转录因子*Oct-3/4*、*Sox2*、*Klf4*及*c-Myc*

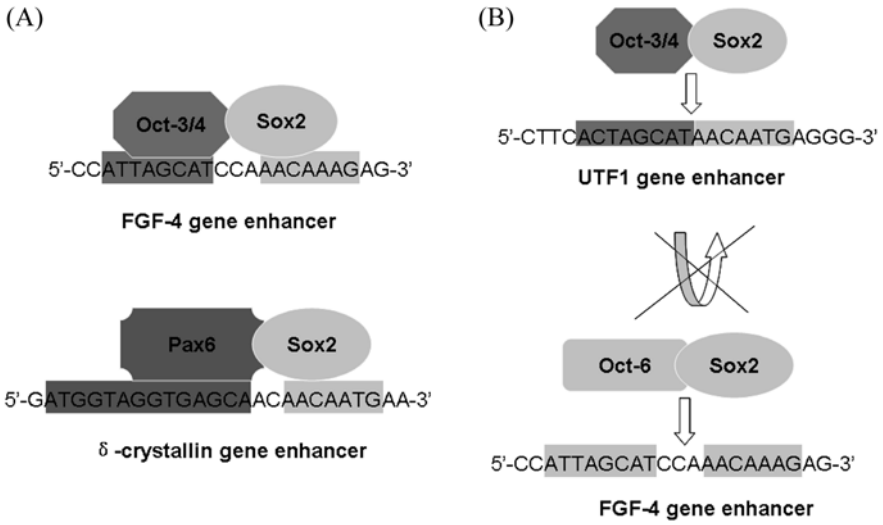
可以成功地将小鼠成纤维细胞诱导成具有全能性和自我更新能力的胚胎干细胞[23-24], 其中*Sox2*主要在早期胚胎内细胞团、滋养层干细胞等具有干细胞特征的区域表达。敲除*Sox2*或者降低其表达水平, 将导致细胞分化。这说明*Sox2*对干细胞特性维持具有重要意义[25]。*Sox1/3*能够替代*Sox2*在多能干细胞诱导中的功能, 而胚胎干细胞中存在的*Sox4/11/15*却不具备该能力, 更加突显了*SoxB1*家族基因之间的功能互补性以及在干细胞特性维持过程中的不可替代性。

*Sox2*在四个转录因子中扮演了关键性的角色。有实验室曾做过上述四个因子排列组合式的实验, 当这四个因子被同时转染到成纤维细胞中, 能大大提高干细胞诱导成功的效率; 但是在缺失*Klf4*和*c-Myc*的条件下, 仅*Sox2*和*Oct4*的组合即可完成诱导。在以神经干细胞为诱导对象的实验中, 仅*Oct4*单因子即可实现目标, 可能是神经干细胞中存在内源性*Sox2*的缘故[26]。Masui等[27]的实验结果表明, 在胚胎干细胞中降低*Sox2*的表达水平, 将导致细胞发生分化, 如果将*Oct4*的表达水平维持在基准线以上, 就可以挽救因*Sox2*缺陷造成的分化效应。此外, 在*Sox2*缺陷的胚胎干细胞中, *Oct4*的正调控因子表达水平下降, 而负调控因子的表达水平上升。由此推断, *Sox2*在ES细胞中的一项重要功能是维持*Oct4*的表达, 这两个因子在干细胞诱导中发挥的功能最为关键。但是, 当过量的*Sox2*存在时, 则抑制*Fgf4*、*Oct4*、*Nanog*、*UTF1*和*Sox2*自身的表达, 导致干细胞向神经外胚层和中胚层等方向分化[28], 说明*Sox2*对该过程的调控是极为精密和复杂的。

斑马鱼中的*SoxB1*家族成员包括和哺乳动物中共有的*Sox1a/1b*、*Sox2*、*Sox3*以及硬骨鱼中特有的*Sox19a/19b*, 其中仅*Sox19b*在早期胚胎中存在母型转录本, 其它成员均表达在中囊胚转化合子型基因组激活以后[10]。斑马鱼中囊胚转换前的胚胎细胞被认为具备全能性, 中囊胚转换后逐渐开始分化[29-30], *Sox*家族基因特有的表达时相可能与中囊胚转换时全能性状态的切换密切相关。已有研究表明, 斑马鱼*Sox2*与*Pou5f1*(斑马鱼中*Oct4*同源基因)协同作用, 在中囊胚转换后激活一系列分化抑制基因, 有力地佐证了*Sox2-Oct4*复合体参与全能性维持的机制在脊椎动物中的保守性[31]。

6 小结

综上所述, *SoxB1*基因参与了多种细胞命运的决定和组织的形成, 但是这些*SoxB1*基因与下游靶基因之间处于一种“少对多”的状态。为顺利完成其涉及的多种生物学过程, *SoxB1*基因在进化过程中形成了一定的策略。例如, 在胚胎干细胞和畸胎瘤干细胞中, *Sox2*和Octamer蛋白*Oct-3/4*形成复合体, 共



A: *Sox2*与辅因子协同作用, 结合在靶基因的转录调控区内; B: *UTF1*调控区能特异性地识别*Sox2/Oct4*复合体, 而其它的Octamer蛋白与*Sox2*形成的复合体则不能被识别。

A: *Sox2* binds to the regulatory region of target genes with other co-factors. B: the regulatory region of *UTF1* can specifically recognize the *Sox2/Oct4* complex, but not the complex formed by *Sox2* and other Octamer proteins.

图2 *Sox2*因子对靶基因的调控策略(根据文献[32]改编)

Fig.2 The target-regulating strategy used by *Sox2* factors(modified from reference [32])

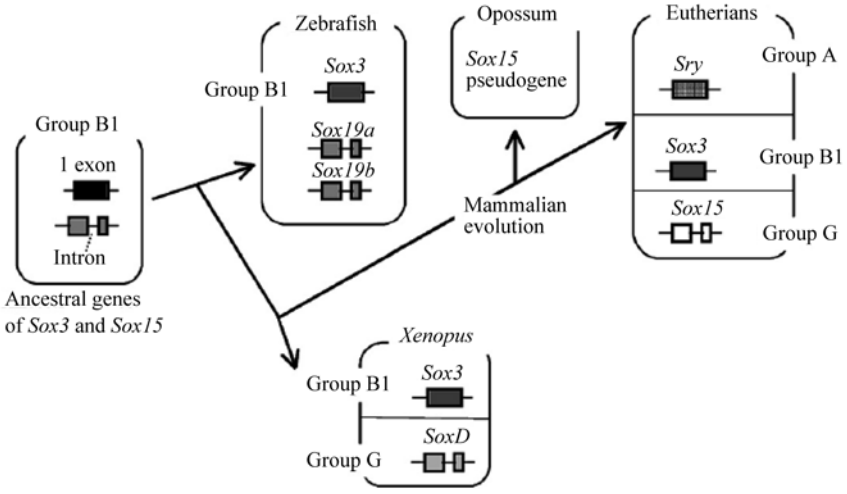


图3 *SoxB1*基因进化模式图[33]

Fig.3 The evolution of *SoxB1* genes[33]

同结合在*fgf4*基因的转录调控区域, 激活其表达; 胚胎干细胞中的*UTF1*基因以及*Sox2*、*Oct4*自身也以同样的方式受到该复合体的调控。在神经始祖细胞中, *Sox2*与Octamer蛋白*Brn1/2/4*或*Oct6*同时结合在*Nestin*基因的转录调控区; 在晶状体中, *Sox2*与*Pax6*共同活化*δ-crystallin*基因的DC5增强子[32]。通过与其它因子的组合, *SoxB1*基因可以激活不同细胞中特异性的靶基因, 并增强与DNA结合的稳定性(图2)。

在*Sox*基因的分子进化史上, *SoxB1*是较为古老的一个亚类。*B1*家族的始祖基因在脊椎动物的进化过程中, 经过复制形成含有一个内含子以及不含内含子的基因。不含内含子的基因进化成*Sox3*和哺乳动物中*SoxA*家族的*Sry*, 含有内含子的基因演化成斑马鱼*Sox19a/19b*、爪蟾的*SoxD*以及哺乳动物的*Sox15*(图3)[33]。*SoxB1*基因的功能主要体现在神经系统和"干"性的胚胎细胞中, 而*Sox15*目前已知的功能主要体现在肌肉组织的损伤修复和再生过程中, *Sry*基因的功能则主要体现在性别决定的过程中, 提示*Sox*家族的基因在分子进化的过程中获得了各异的功能。

参考文献 (References)

1 Wegner M. From head to toes: the multiple facets of Sox proteins. Nucleic Acids Res 1999; 27(6): 1409-20.

2 Pevny LH, LovellBadge R. Sox genes find their feet. Curr Opin Genet Dev 1997; 7(3): 338-44.

3 Raverot G, Weiss J, Park SY, Hurley L, Jameson JL. Sox3 expression in undifferentiated spermatogonia is required for the progression of spermatogenesis. Dev Biol 2005; 283(1): 215-25.

4 Sato Y, Shinka T, Sakamoto K, Ewis AA, Nakahori Y. The male-determining gene SRY is a hybrid of DGCR8 and SOX3, and is regulated by the transcription factor CP2. Mol Cell Biochem 2010; 337(1/2): 267-75.

5 Biason-Lauber A. Control of sex development. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2010; 24(2): 163-86.

6 Sutton E, Hughes J, White S, Sekido R, Tan J, Arboleda V, Rogers N, *et al*. Identification of SOX3 as an XX male sex reversal gene in mice and humans. Eur J Clin Invest 2011; 121(1): 328-41.

7 Turner ME, Ely D, Prokop J, Milsted A. Sry, more than testis determination? Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2011; 301(3): R561-71.

8 Neugarten J, Acharya A, Silbiger SR. Effect of gender on the progression of nondiabetic renal disease: A meta-analysis. J Am Soc Nephrol 2000; 11(2): 319-29.

9 Jarrin I, Geskus R, Bhaskaran K, Prins M, Perez-Hoyos S, Muga R, *et al*. Gender differences in HIV progression to AIDS and death in industrialized countries: Slower disease progression following HIV seroconversion in women. Am J Epidemiol 2008; 168(5): 532-40.

10 Okuda Y, Yoda H, Uchikawa M, Furutani-Seiki M, Takeda H, Kondoh H, *et al*. Comparative genomic and expression analysis of group B1 sox genes in zebrafish indicates their diversification during vertebrate evolution. Dev Dyn 2006; 235(3): 811-25.

11 Kiefer JC, Jarman A, Johnson J. Pro-neural factors and neurogenesis. Dev Dyn 2005; 234(3): 808-13.

12 Ekonomou A, Kazanis I, Malas S, Wood H, Alifragis P, Denaxa M, *et al*. Neuronal migration and ventral subtype identity in the telencephalon depend on SOX1. PLoS Biol 2005; 3(6): 1111-22.

13 Rizzoti K, Brunelli S, Carmignac D, Thomas PQ, Robinson IC, Lovell-Badge R. SOX3 is required during the formation of the hypothalamo-pituitary axis. Nat Genet 2004; 36(3): 247-55.

14 Fantes J, Ragge NK, Lynch SA, McGill NI, Collin JRO, Howard-Peebles PN, *et al*. Mutations in SOX2 cause anophthalmia. Nat Genet 2003; 33(4): 461-3.

15 Nishiguchi S, Wood H, Kondoh H, Lovell-Badge R, Episkopou V. Sox1 directly regulates the gamma-crystallin genes and is essential for lens development in mice. Gene Dev 1998; 12(6): 776-81.
16 Zhang C, Klymkowsky MW. The Sox axis, Nodal signaling, and germ layer specification. Differentiation 2007; 75(6): 536-45.
17 Camus A, Perea-Gomez A, Moreau A, Collignon J. Absence of Nodal signaling promotes precocious neural differentiation in the mouse embryo. Dev Biol 2006; 295(2): 743-55.
18 Schier AF, Talbot WS. Molecular genetics of axis formation in zebrafish. Annu Rev Genet 2005; 39: 561-613.
19 Zorn AM, Barish GD, Williams BO, Lavender P, Klymkowsky MW, Varmus HE. Regulation of Wnt signaling by sox proteins: XSox17 alpha/beta and XSox3 physically interact with beta-catenin. Mol Cell 1999; 4(4): 487-98.
20 Shih YH, Kuo CL, Hirst CS, Dee CT, Liu YR, Laghari ZA, *et al*. SoxB1 transcription factors restrict organizer gene expression by repressing multiple events downstream of Wnt signalling. Development 2010; 137(16): 2671-81.
21 Hu S, Wu Z, Yan Y, Li Y. Sox31 is involved in central nervous system anteroposterior regionalization through regulating the organizer activity in zebrafish. Acta Biochem Biophys Sin(Shanghai) 2011; 43(5): 387-99.
22 胡胜男, 严缘昌, 李逸平. 斑马鱼中囊胚过渡与背腹轴特化的调控. 中国细胞生物学学报(Hu SN, Yan YC, Li YP. Relevance study between zebrafish mid-blastula transition and dorsalventral axis specification. Chinese Journal of Cell Biology) 2010; 32(3): 373-42.
23 Shi Y, Desponts C, Do JT, Hahm HS, Scholer HR, Ding S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic fibroblasts by Oct4 and Klf4 with small-molecule compounds. Cell Stem Cell 2008; 3(5): 568-74.
24 Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, *et al*. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. Cell 2007; 131(5): 861-72.
25 Avilion AA, Nicolis SK, Pevny LH, Perez L, Vivian N, Lovell-Badge R. Multipotent cell lineages in early mouse development depend on SOX2 function. Gene Dev 2003; 17(1): 126-40.
26 Kim JB, Sebastiano V, Wu GM, Arauzo-Bravo MJ, Sasse P, Gentile L, *et al*. Oct4-Induced Pluripotency in Adult Neural Stem Cells. Cell 2009; 136(3): 411-9.
27 Masui S, Nakatake Y, Toyooka Y, Shimosato D, Yagi R, Takahashi K, *et al*. Pluripotency governed by Sox2 via regulation of Oct3/4 expression in mouse embryonic stem cells. Nat. Cell Biol 2007; 9(6): 625-6.
28 Kopp JL, Ormsbee BD, Desler M, Rizzino A. Small increases in the level of Sox2 trigger the differentiation of mouse embryonic stem cells. Stem Cells 2008; 26(4): 903-11.
29 Kikyo N, Wolffe AP. Reprogramming nuclei: Insights from cloning, nuclear transfer and heterokaryons. J Cell Sci 2000; 113(1): 11-20.
30 Liu QY, Wu ZL, Lv WJ, Yan YC, Li YP. Developmental expression of cyclin H and Cdk7 in zebrafish: the essential role of cyclin H during early embryo development. Cell Res 2007; 17(2): 163-73.
31 Onichtchouk D, Geier F, Polok B, Messerschmidt DM, Mossner R, Wendik B, *et al.* Zebrafish Pou5f1-dependent transcriptional networks in temporal control of early development. Mol Syst Biol 2010; 6: 354.
32 Miyagi S, Kato H, Okuda A. Role of SoxB1 transcription factors in development. Cell Mol Life Sci 2009; 66(23): 3675-84.
33 Ito M. Function and molecular evolution of mammalian Sox15, a singleton in the SoxG group of transcription factors. Int J Biochem Cell Biol 2010; 42(3): 449-52.
34 Bowles J, Schepers G, Koopman P. Phylogeny of the SOX family of developmental transcription factors based on sequence and structural indicators. Dev Biol 2000; 227(2): 239-55.

The Pluripotent *SoxB1* Family Genes

Hu Shengnan, Li Yiping*

(*State Key Laboratory of Cell Biology, Shanghai Key Laboratory for Molecular Andrology, Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China*)

Abstract *SoxB1* genes are group of transcriptional factors containing the HMG DNA binding domain. Till now the identified *soxB1* family members include the *Sox1*, *Sox2* and *Sox3* in all vertebrate and *Sox19a/Sox19b* existing exclusively in teleost, which are involved in sexual determination, stem cell self-renewal/pluripotency maintenance and germ layer development. Forced expression of four transcriptional factors, *Sox2*, *Oct4*, *c-Myc* and *Klf4* could successfully induce pluripotency stem cells from the somatic cell, which demonstrated the *SoxB1* factors play an important role during the developmental process and greatly promoted its related basic research. In this review, we mainly focused on the current advance on *SoxB1*'s function.

Key words *SoxB1*; sexual determination; neuron specification; stem cell totipotency; germ layer development

Received: March 5, 2012 Accepted: April 5, 2012

This work was supported by the National Basic Research Program of China (973 Program) (No.2011CB966301)

*Corresponding author. Tel: 86-21-54921395, Fax: 86-21-54921415, E-mail: yipingli@sibs.ac.cn