

维甲酸和 *Cyp26* 基因家族与生殖细胞分化

韩 飞 刘智皓 吴风瑞 黄宝锋 张未丽 周 宏 王德寿*

(西南大学生命科学学院, 重庆市水产科学技术重点实验室, 淡水生物生殖与发育教育部重点实验室, 重庆 400715)

摘要 在哺乳动物胚胎期, 成熟分裂首先在雌性生殖细胞启动, 雄性生殖细胞则停滞于有丝分裂的 G_0/G_1 阶段。在小鼠的研究发现, 成熟分裂启动时间很可能决定着生殖细胞的分化方向。另一方面, 达到一定阈值浓度的维甲酸(RA)能够启动生殖细胞从有丝分裂到成熟分裂的过渡。体内 RA 的水平由其合成和降解速率调节, 而 *Cyp26* 是调节体内 RA 水平最关键的酶。因此, 这种由 *Cyp26* 调节的 RA 水平的变化可能从根本上调控着哺乳动物生殖细胞的分化方向(形成精原细胞或卵原细胞), 最终影响性别的分化。本文主要综述 RA、*Cyp26* 基因家族在哺乳动物性腺分化过程中的作用, 并探讨了低等脊椎动物特别是鱼类成熟分裂启动及生殖细胞分化的分子机制。

关键词 成熟分裂; 维甲酸; *Cyp26* 基因家族; *Stra8*; 生殖细胞分化

进行有性生殖的动、植物生殖细胞都需要经过成熟分裂(即减数分裂, meiosis)产生单倍体配子(精子或卵子), 雌、雄性配子再进行结合发育成正常的生物个体, 从而完成遗传信息由亲代向子代的稳定传递。在脊椎动物, 雌性生殖细胞成熟分裂的起始时间通常早于雄性^[1-4]。近年来的研究发现, 小鼠生殖细胞成熟分裂在胚胎期的启动, 大约开始于交配后 13.5 d(days post coitum, dpc), 随后生殖细胞分化为卵原细胞(oogonia); 而一旦成熟分裂启动被推迟到出生后, 生殖细胞则分化为精原细胞(spermatogonia)^[2], 暗示成熟分裂的起始时间很可能决定着生殖细胞的分化方向。最近的研究表明, 一定阈值浓度的维甲酸(retinoic acid, RA)能够诱导 *Stra8* (stimulated by retinoic acid gene 8)的表达, 从而启动成熟分裂; 反之, 低于这一阈值浓度则不能诱导 *Stra8* 的表达, 成熟分裂则被延迟。而 RA 细胞色素 P450 酶(cytochrome P450 family 26, *Cyp26*)对体内 RA 水平的调节具有关键作用^[4]。本文主要论述了 RA、*Cyp26* 基因家族在哺乳动物成熟分裂和生殖细胞分化中的作用, 并对低等脊椎动物, 尤其是鱼类成熟分裂的调控机制进行了初步探讨。

1 RA及其功能

RA 又称视黄酸, 是维生素 A (即视黄醇)在体内代谢后的主要活性产物^[5], 分子式为 $C_{20}H_{28}O_2$, 由环己烯、侧链及极性基团 3 部分组成。由于极性基团及侧链部分不同, RA 具有多种异构体。

RA 是机体正常生长发育必不可少的重要因子。

一般认为, 正常胚胎的形态发生, 尤其是中枢神经系统的形成与 RA 调控的靶向发育基因相关, 如果 RA 过量则导致不适当激活或抑制这些基因的表达, 从而出现胚胎畸形^[6,7]。同时, 研究还发现, 机体内一定浓度的 RA 在调节免疫功能、细胞增殖、分化和成熟以及诱导细胞凋亡^[8-10]等方面具有重要作用。

1.1 RA 在生物体内的代谢及分类

动物通过食物摄入维生素 A, 并经过 2 步脱氢氧化为活性的 RA^[7] (图 1)。然而, 维生素 A、视黄醛和 RA 都是脂溶性, 因此必须与细胞内的特定蛋白结合才能发挥相应的作用。目前, 几种结合蛋白已被确定参与了 RA 生成过程, 包括细胞视黄醇结合蛋白 1 和 2 (cellular retinol binding protein 1 and 2, CRBP 1 和 2); 同时大量的酶也参与了这一过程, 包括醇脱氢酶(alcohol dehydrogenase, ADH)、视黄醇脱氢酶的微粒体(retinol dehydrogenase of the microsomal fraction, DHRS)和 4 种视黄醛脱氢酶(retinaldehyde dehydrogenase 1, 2, 3 and 4, RALDH 1、2、3 和 4)等^[11]。细胞 RA 结合蛋白 1 和 2 (cellular retinoic acid binding protein 1 and 2, CRABP 1 和 2)则参与了 RA 的代谢过程, RA 与 CRABPs 结合后, 在特异性降解酶(即 RA 降解酶)的作用下代谢为非活性的极性物质, 如 4- 羟基 RA(4-OH-RA)、4- 氧化 RA (4-OXO-RA)和 18- 羟基 RA(18-OH-RA)等^[7,12], 从而失去生物活性(图 1)。

收稿日期: 2008-10-08 接受日期: 2009-03-12

国家高技术研究发展计划(863计划)(No.2007AA10Z165)和国家自然科学基金(No.30770272)资助项目

* 通讯作者。Tel: 023-68254062, Fax: 023-68252365, E-mail: wdeshou@swu.edu.cn

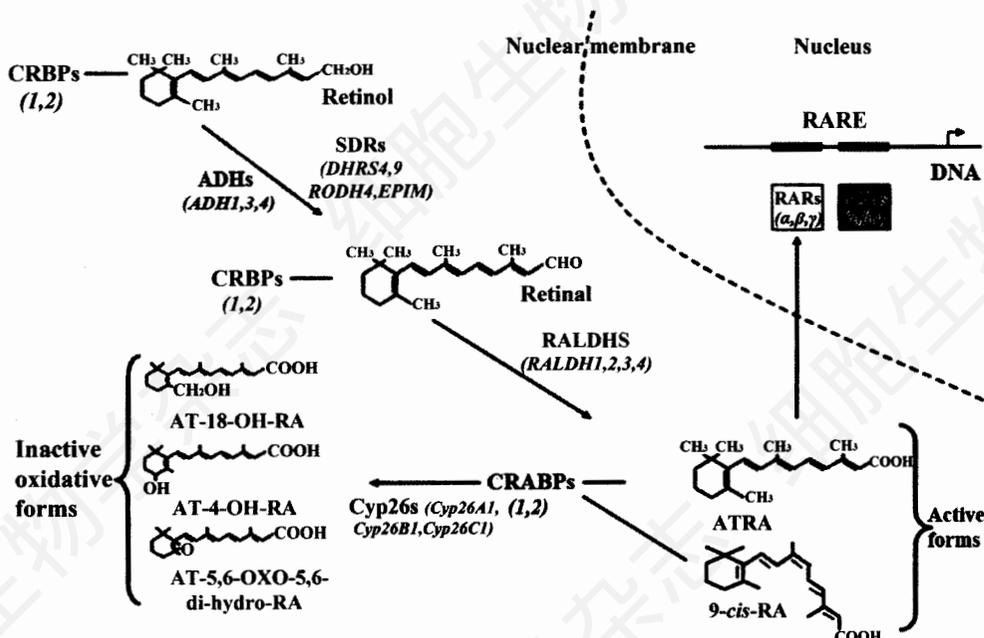


Fig.1 Schematic representation of the intracellular retinoid signaling pathway [13]

Abbreviations are: ADH: alcohol dehydrogenase; CRABP: cellular retinoic acid binding protein; CRBP: cellular retinol binding protein; Cyp26: cytochrome p450 retinoic acid inducible; RAR: retinoic acid receptor; RALDH: retinaldehyde dehydrogenase; RXR: retinoid X receptor, SDR: short-chain dehydrogenase/reductase.

生物体内生成的RA在异构酶(isomerase)的作用下以全反式RA (all-trans retinoic acid, ATRA)和顺式RA (cis-retinoic acid, cis-RA)的形式存在,其中cis-RA又包括13-cis-RA和9-cis-RA。这3种RA即ATRA、13-cis-RA和9-cis-RA根据活化受体类型的不同又分为2大类:一类包括ATRA、13-cis-RA,只能结合活化RA受体(retinoic acid receptor, RAR);另一类为9-cis-RA,能够结合活化RAR和retinoid X受体(retinoid X receptor, RXR)。

1.2 RA发挥生物学效应的作用机制

RA必须通过核膜,并与其特定的核受体结合才能发挥生物学活性。在哺乳动物,RA具有2组核受体,即RAR和RXR,均属类固醇激素受体家族,具有 α 、 β 、 γ 3种亚型[14]。RA与RARs和RXRs结合后,形成异二聚体,再与靶基因启动子上的RA反应元件(retinoic acid responsive element, RARE)结合,从而启动靶基因的转录表达[15-16]。此外,活化的RARs和RXRs还能形成同源二聚体或与其他核受体形成异二聚体发挥作用[17],如甲状腺激素受体(thyroid hormone receptor)、过氧化物增殖激活受体(peroxisome proliferator activated receptor)、维生素D受体(vitamin D receptor)以及孤核受体(orphan nuclear receptor)等。

简而言之,进入体内的维生素A经过2步氧化反应生成RA。体内一定阈值浓度的RA与RARs和

RXR结合,形成二聚体再与靶基因启动子上的RAREs结合,完成对靶基因转录的调控。同时RA在降解酶,尤其是Cyp26的作用下降解为非活性物质。

2 Cyp26基因家族及其功能

Cyp26(也称为P450RAI)属于细胞色素P450超家族成员,编码特异代谢RA的氧化酶。Cyp26(Cyp26A1)首先在斑马鱼(*Danio rerio*)中克隆得到[18]。随后,在哺乳类[19]、鸟类[20]、两栖类以及其他鱼类[21,22]中相继克隆得到了3种Cyp26亚家族成员,即Cyp26A1(cytochrome P450 family 26 subfamily A polypeptide 1)、Cyp26B1和Cyp26C1[19,22,23]。最近,在斑马鱼报道了第4个成员(命名为Cyp26D1)的存在[24,25]。然而经过系统进化分析发现斑马鱼Cyp26D1与其他所有脊椎动物Cyp26C1处于同一进化枝(图2),且其氨基酸序列与斑马鱼Cyp26C1仅有3个氨基酸的差异。进一步分析表明,这3个氨基酸的差异是由三联密码子中一个核苷酸的变化引起(图3)。因此,在斑马鱼克隆到的Cyp26D1很可能就是Cyp26C1,这种氨基酸水平上的差异可能是一种多态现象(polymorphism)(未发表资料)。下面对Cyp26基因家族的3个成员分别进行介绍。

2.1 Cyp26A1

CYP26A1包含8个外显子[26],除在成人脑中未能

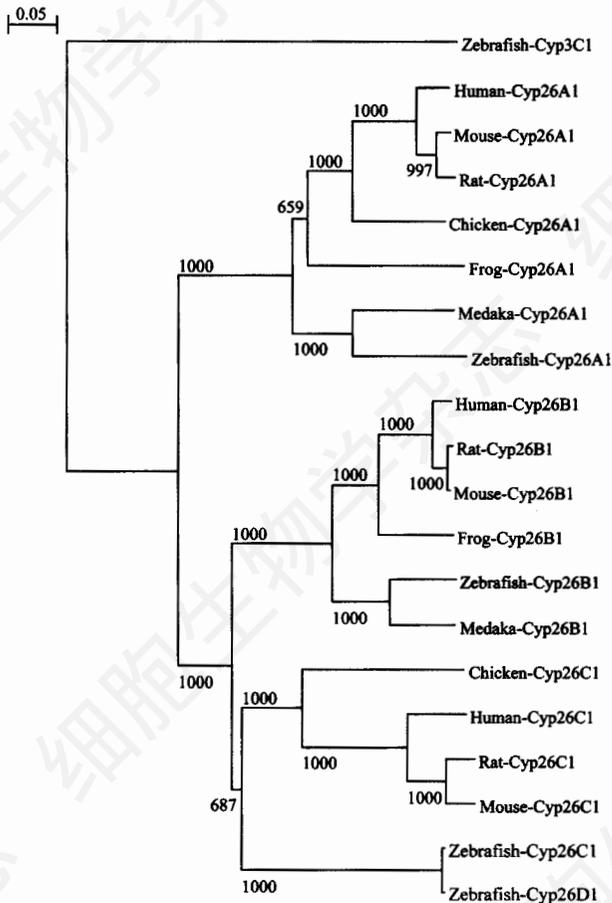


Fig.2 Phylogenetic tree of Cyp26s from various vertebrates
Phylogenetic tree was generated by the default settings of Clustal X protein alignment program. Zebrafish Cyp3C1 is used as outgroup. Zebrafish Cyp26D1 and Cyp26C1 are in the same clad. The GenBank accession numbers are as follows: Cyp26A1: human (NP_000774), mouse (NP_031837), rat (NP_569092), chicken (NP_001001129), frog (NP_001081868), medaka (ABQ08578), zebrafish (NP_571221); Cyp26B1: human (NP_063938), mouse (NP_780684), rat (EDL91177), frog (NP_001072655), medaka (ABQ08579), zebrafish (NP_997831); cyp26C1: zebrafish (NM_001029951), rat (XP_217935), mouse (NM_001105201), human (NP_899230), chicken (XP_421678); Cyp26D1: zebrafish (AY920470); Cyp3C1: zebrafish (NP_997838).

检测到表达外, 其余大部分组织均有低水平表达^[20,27]。*Cyp26A1* 功能丧失的小鼠胚胎是致死的^[28]并伴有与过量 RA 处理相似的形态发生表型^[29,30], 暗示在胚胎发育过程中, *Cyp26A1* 可能是控制 RA 水平必不可少的因素。进一步研究发现, *Cyp26A1* 敲除的小鼠会导致 RA 信号先扩展到后脑, 再扩展到尾巴, 而当向

这些小鼠注入RALDH2时, 扩展现象会受到抑制而且先前的后脑缺损也会得到部分恢复^[12]。在非洲爪蟾 (*Xenopus laevis*), 胚胎注射 *Cyp26A1* mRNA 也会导致类似 RA 缺失症状的出现, 通过 RA 处理则能够回救 (rescue) 这种缺失症状^[21]。在斑马鱼胚胎, 过表达 *Cyp26A1* 能够抑制下游基因的表达, 而如果抑制 *Cyp26A1* 的表达, 下游基因表达则会得到部分恢复, 这分别与 RA 失活和 RA 回救得到的结果相似^[31]。表明 *Cyp26A1* 对体内 RA 水平的调节和胚胎正常发育的维持具有重要作用。

2.2 Cyp26B1

CYP26B1 包含6个外显子, 在成人主要表达于脑中尤其是后脑(特别是桥脑和小脑), 也少量表达于其他组织。*Cyp26B1* 突变的小鼠由于呼吸困难出生后会很快死亡^[28], 具体机制尚不清楚。而当把 *Cyp26B1* 转入到 COS-1 细胞(非洲绿猴 SV40 转化的肾细胞)时, 能够快速将 ATRA 转化成非活性的代谢产物, 表明 *Cyp26B1* 能够分解代谢 RA。在对不同底物代谢效率的竞争性研究中发现, *Cyp26B1* 的首选作用底物是 ATRA, 其次为 9-*cis*-RA 和 13-*cis*-RA^[27]。

2.3 Cyp26C1

Cyp26C1 也含有6个外显子, 表达于脊椎动物的后脑^[23]、内耳、第一鳃弓和齿芽等组织^[32]。与 *Cyp26A1* 及 *Cyp26B1* 突变的结果不同^[28], *Cyp26C1* 的功能缺失并不会表现出明显的表型变化^[29-30]。而在斑马鱼胚胎, 过表达 *Cyp26C1* 不仅造成第5菱脑节和第一体节的距离比正常胚胎短, 而且也会导致体节发生的左右不对称, 这种变化类似于胚胎期过量 *Cyp26A1* 和视黄醛脱氢酶抑制剂处理的结果, 暗示 *Cyp26C1* 也参与了 RA 的分解代谢过程。进一步研究表明, *Cyp26C1* 能够代谢呈异构体的 *cis*-RA 和 ATRA^[19,23,27], 尤其是 ATRA。与 *Cyp26B1* 一样, *Cyp26C1* 的首选作用底物也是 ATRA^[27]。

3 RA 和 Cyp26 基因家族与生殖细胞分化

在小鼠胚胎期卵巢, RA 的表达要明显高于同一时期的睾丸。进一步研究发现, RA 能够诱导生殖细胞大规模的成熟分裂, 并可能控制着生殖细胞开始分

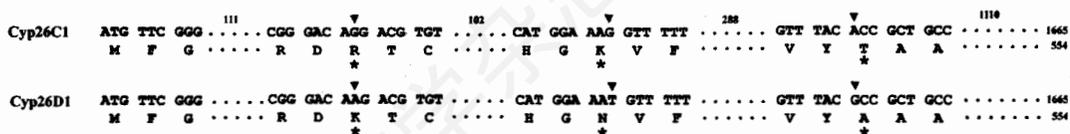


Fig.3 Alignment of the zebrafish Cyp26C1 and Cyp26D1 nucleotide and amino acid sequences
The GenBank accession numbers are as follows: Cyp26C1, Zebrafish (NM_001029951); Cyp26D1, Zebrafish (AY920470).

化为卵原细胞或精原细胞的时间和选择^[3]。众所周知,生殖细胞分化方向取决于它们进入成熟分裂的时间:当成熟分裂在胚胎发育期启动,生殖细胞则分化为卵原细胞,最终发育成卵子;而如果成熟分裂延迟到出生后启动,生殖细胞只能分化为精原细胞,发育成精子^[2]。最近,通过分子标记技术研究发现成熟分裂的前标记物 *Stra8* 在促进两性成熟分裂启动过程中起着不可缺少的作用。当生物体内 RA 达到一定水平后,能够通过 RARs 和 RXRs 结合形成二聚体,再结合在 *Stra8* 启动子的 RAREs 上,开启 *Stra8* 的表达从而启动成熟分裂^[3,4,33]。因此,体内 RA 水平的变化调控着生殖细胞的分化方向。

目前,普遍认为胚胎期的生殖细胞进入成熟分裂是一个自身默认的过程并启动卵子发生,除非存在成熟分裂抑制因子的阻止作用^[1],不过,多年来这种物质并没有被确定,而且调控胚胎卵巢而非睾丸进入成熟分裂的分子机制仍不清楚。长期的研究表明,3种 *Cyp26* 都参与了哺乳动物体内 RA 的分解代谢过程,是调节体内 RA 水平的关键因素,而且它们在成体性腺都有表达,因此它们可能对哺乳类生殖细胞成熟分裂调控有重要作用。然而,最近的研究发现,在小鼠 *Cyp26* 基因家族的3个成员中,只有 *Cyp26B1* 表达于胚胎性腺^[24],且其表达在 12.5 dpc 左右开始呈现雄性特异性^[3]。而 *Cyp26B1* 敲除的雄性小鼠,生殖细胞会提前进入成熟分裂^[34]。这表明 *Cyp26B1* 很可能通过延缓体内的成熟分裂,阻止卵子的发生^[3,4],是雄性胚胎中成熟分裂的抑制因子^[28]。因此,在胚胎期卵巢,RA 由于不被 *Cyp26B1* 大量降解,积累到一定水平的 RA 进而诱导 *Stra8* 表达,则成熟分裂起始;而在胚胎期的睾丸,RA 被 *Cyp26B1* 大量降解,由于 RA 水平的下降则 *Stra8* 关闭,成熟分裂起始被延迟。

但是 *Cyp26B1* 的表达又是如何被上调和下调的呢?有学者认为,这可能与哺乳动物雄性性别决定基因 *Sry* (sex determining region of Y chromosome) 有关(图4)。

在哺乳动物, *Cyp26B1* 可能受 *Sry* 的直接或间接的调控。在 XY 性腺中,由于 *Sry* 的作用使 *Cyp26B1* 的表达上调;而在 XX 性腺中,没有 *Sry* 作用, *Cyp26B1* 的表达则出现下调^[35]。因此,成熟分裂起始的调控通路可总结如图5所示。

然而,迄今为止 *Sry* 仅在哺乳动物中有发现,并未见过有关非哺乳类脊椎动物存在该基因的研究报道,那么其他脊椎动物的成熟分裂启动机制又是怎样的、是否和哺乳动物存有差异呢?通过对鱼类如斑

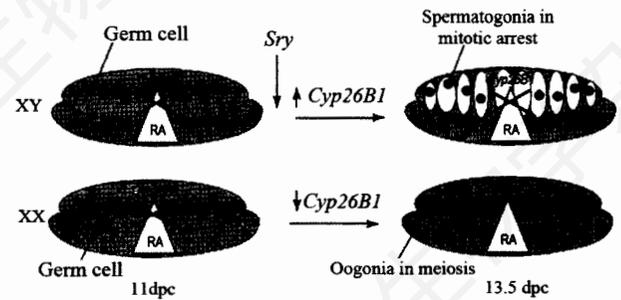
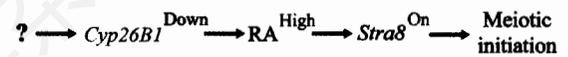


Fig.4 Sex specific changes in germ cell differentiation during ovary and testis development^[34]

After expression of the male determining gene *Sry*, *Cyp26B1* expression is upregulated in the testis. In the ovary, *Cyp26B1* expression is downregulated and RA induces meiosis of germ cells. M, mesonephros; G, gonad.

Embryonic ovary



Embryonic testis

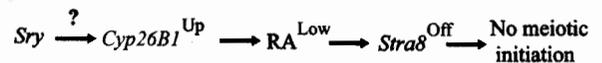


Fig.5 A proposed model for regulation of meiotic initiation in embryonic gonads in mammals

马鱼、青鳉(*Oryzias latipes*)、东方鲀(*Fugu rubripes*)及河豚(*Tetraodon nigroviridis*)和两栖类如爪蟾基因组分析,在硬骨鱼类及两栖类并未发现在哺乳动物成熟分裂中起重要作用的 *Stra8* 的同源基因。对鱼类的研究表明, *Cyp26B1* 的表达也不像在哺乳动物那样在成熟分裂的起始时期存在明显的性别差异(未发表资料)。因此,鱼类及两栖类成熟分裂启动的分子机制与哺乳动物可能存在较大差异。本实验室通过克隆罗非鱼成熟分裂的一系列分子标记,包括 *Scp3*、*Dmc1* 和 *Spo11* 等,并进行初步研究发现,罗非鱼细胞色素 P-450 17 α -羟化酶 2 (P450 17 α -hydroxylase/C17,20-lyase 2, *P450C17 α 2*)和 20 β -羟基类固醇脱氢酶 2 (20 β -hydroxysteroid dehydrogenase 2, *20 β -HSD2*)在雌雄性腺的初始表达时间呈现性别二态性。 *P450C17 α 2* 和 *20 β -HSD2* 在 XX 性腺的表达始于孵化后 11 d (days after hatching),而在 XY 性腺则始于 60 d^[36]。这种表达模式与罗非鱼雌、雄生殖细胞成熟分裂起始时间差异(雌性约始于 35 d,雄性约始于 75 d)呈现明显的相关性(未发表资料);最新研究表明,17 α -羟基-20 β -二氢黄体酮(17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one, 17 α ,20 β -DP)可能是生殖细胞成熟分裂启动的重要调控因子^[37],而 *P450C17 α 2* 和 / 或 *20 β -HSD2* 可能

正是合成 17 α ,20 β -DP 过程中重要的酶。因此推测 P450C17 α 2 和 20 β -HSD2 可能通过调节 17 α ,20 β -DP 的合成参与调控成熟分裂过程^[36,38]。总之,在低等脊椎动物尤其硬骨鱼类中,生殖细胞成熟分裂起始和生殖细胞分化及其相互关系的具体分子机制有待深入的研究。

4 展望

脊椎动物性别决定和分化的分子机制一直是当今生命科学领域的研究重点、热点和难点。到目前为止,已经发现很多性别决定和分化的相关基因,如 *Sry*、*Sox9*、*Dmy*、*Dmrt1*、*Sf-1*、*Dax-1*、*Foxl2*、*Cyp26B1* 等。最近,在哺乳动物对 *Cyp26B1* 在成熟分裂启动和生殖细胞分化方面的研究取得了重大进展,但还有很多有趣的现象需要进一步的探讨和阐明。比如:(1)决定生殖细胞分化方向的成熟分裂启动时间为什么出现性别差异,这种现象的最终调控因子是什么;(2)雌性生殖细胞的分化是否作为一种默认通路,抑或存在主控基因,它会不会像雌性性别决定过程那样并非先前认为的自身默认通路;如果有,那么调控雌性生殖细胞分化的主控因子又是什么;(3)生殖细胞成熟分裂一旦被 RA 诱导,活跃的性腺是否就形成卵子或精子发生的单一通道;(4)人为提前雄性个体生殖细胞成熟分裂启动时间会不会出现性逆转现象?再者,鸟类存在 *Stra8*,最新的研究显示,和小鼠一样鸡的生殖细胞成熟分裂起始也可能依赖 RA 信号,并且 *Cyp26B1* mRNA 的表达同样呈现性别二态性 (sexually dimorphic expression)^[39],这表明鸟类很可能存在和哺乳类一样的成熟分裂启动信号通路。然而低等脊椎动物如两栖类和鱼类基因组中至今没有分离到 *Stra8*,那么它们的成熟分裂启动调控机制是什么;以及低等脊椎动物如鱼类成熟分裂启动的分子机制及其与生殖细胞分化关系又是怎样的?等等。这些问题都值得以后深入的研究。此外,RA 信号源自中肾,然后到达性腺触发生殖细胞成熟分裂的启动,生殖细胞开始分化^[40],这暗示体细胞分化要先于生殖细胞的分化,这与普遍认为的结果相一致。总而言之,脊椎动物成熟分裂启动和生殖细胞分化是非常复杂的调控过程,目前人类对于它们分子机制、信号途径的了解,问题还远多于答案。

参考文献(References)

- [1] McLaren A, Southee D. Entry of mouse embryonic germ cells into meiosis, *Dev Biol*, 1997, 187(1): 107-113
- [2] McLaren A. Primordial germ cells in the mouse, *Dev Biol*, 2003, 262(1): 1-15
- [3] Bowles J, Knight D, Smith C, et al. Retinoid signaling determines germ cell fate in mice, *Science*, 2006, 312(5773): 596-600
- [4] Koubova J, Menke D B, Zhou Q, et al. Retinoic acid regulates sex-specific timing of meiotic initiation in mice, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(8): 2474-2479
- [5] Toma S, Isnardi L, Raffo P, et al. Effects of all-trans-retinoic acid and 13-cis-retinoic acid on breast-cancer cell lines: growth inhibition and apoptosis induction, *Int J Cancer*, 1997, 70(5): 619-627
- [6] Nugent P, Greene RM. Interactions between the transforming growth factor β (TGF β) and retinoic acid signal transduction pathways in murine embryonic palatal cells, *Differentiation*, 1994, 58(2): 149-155
- [7] Ross SA, McCaffery PJ, Drager UC, et al. Retinoids in embryonal development, *Physiol Rev*, 2000, 80(3): 1021-1054
- [8] Szabo G, Puppulo M, Verma B, et al. Regulatory potential of ethanol and retinoic acid on human monocyte functions, *Alcohol Clin Exp Res*, 1994, 18(3): 548-554
- [9] Takatsuka J, Takahashi N, De Luca LM. Retinoic acid metabolism and inhibition of cell proliferation: an unexpected liaison, *Cancer Res*, 1996, 56(4): 675-678
- [10] Gianni M, Ponzanelli I, Mologni L, et al. Retinoid-dependent growth inhibition, differentiation and apoptosis in acute promyelocytic leukemia cells. Expression and activation of caspases, *Cell Death Differ*, 2000, 7(5): 447-460
- [11] Liden M, Eriksson U. Understanding retinol metabolism: structure and function of retinol dehydrogenases, *J Biol Chem*, 2006, 281(19): 13001-13004
- [12] Niederreither K, Abu-Abed S, Schubaur B, et al. Genetic evidence that oxidative derivatives of retinoic acid are not involved in retinoid signaling during mouse development, *Nat Genet*, 2002, 31(1): 84-88
- [13] Nezzar H, Chiambaretta F, Marceau G, et al. Molecular and metabolic retinoid pathways in the human ocular surface, *Mol Vis*, 2007, 13: 1641-1650
- [14] Napoli JL. Interactions of retinoid binding proteins and enzymes in retinoid metabolism, *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1440(2-3): 139-162
- [15] Leroy P, Nakshatri H, Chambon P. Mouse retinoic acid receptor α 2 isoform is transcribed from a promoter that contains a retinoic response element, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88(22): 10138-10142
- [16] Smith W, Nakshatri H, Leroy P, et al. A retinoic acid response element is present in the mouse cellular retinol binding protein I (mCRBPI) promoter, *EMBO J*, 1991, 10(8): 2223-2230
- [17] 梁 雪. 急性早幼粒细胞白血病发生机制及治疗研究进展, *第三军医大学学报*, 2005, 27(17): 807-1809
- [18] White JA, Guo YD, Baetz K, et al. Identification of the retinoic acid-inducible all-trans-retinoic acid 4-hydroxylase, *J Biol Chem*, 1996, 271(47): 29922-29927
- [19] Taimi M, Helvig C, Wisniewski J, et al. A novel human cytochrome P450, CYP26C1, involved in metabolism of 9-cis and all-trans, isomers of retinoic acid, *J Biol Chem*, 2004, 279(1): 77-85
- [20] Swindell EC, Thaller C, Sockanathan S, et al. Complementary domains of retinoic acid production and degradation in the early chick embryo, *Dev Biol*, 1999, 216(1): 282-296
- [21] Hollemann T, Chen Y, Grunz H, et al. Regionalized metabolic activity established boundaries of retinoic acid signalling, *EMBO J*, 1998, 17(24): 7361-7372
- [22] White RJ, Nie Q, et al. Complex regulation of cyp26a1 creates a robust retinoic acid gradient in the zebrafish embryo, *PLoS Biol*, 2007, 5(11): e304

- [23] Zhao Q, Dobbs-McAuliffe B, Linney E. Expression of *cyp26b1* during zebrafish early development, *Gene Expr Patterns*, 2005, 5(3): 363-369
- [24] Gu X, Xu F, Wang X, *et al.* Molecular cloning and expression of a novel CYP26 gene (*cyp26d1*) during zebrafish early development, *Gene Expr Patterns*, 2005, 5(6): 733-739
- [25] Gu X, Xu F, Song W, *et al.* A novel cytochrome P450, zebrafish *Cyp26D1*, is involved in metabolism of all-*trans* retinoic acid, *Mol Endocrinol*, 2006, 20(7): 1661-1672
- [26] Lee SJ, Perera L, Coulter SJ, *et al.* The discovery of new coding alleles of human CYP26A1 that are potentially defective in the metabolism of all-*trans* retinoic acid and their assessment in a recombinant cDNA expression system, *Pharmacogenet Genomics*, 2007, 17(3): 169-180
- [27] White J A, Ramshaw H, Taimi M, *et al.* Identification of the human cytochrome P450, P450RAI-2, which is predominantly expressed in the adult cerebellum and is responsible for all-*trans*retinoic acid metabolism, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(12): 6403-6408
- [28] Yashiro K, Zhao X, Uehara M, *et al.* Regulation of retinoic acid distribution is required for proximodistal patterning and outgrowth of the developing mouse limb, *Dev Cell*, 2004, 6(3): 411-422
- [29] Abu-Abed S, Dolle P, Metzger D, *et al.* The retinoic acid-metabolizing enzyme, CYP26A1, is essential for normal hind-brain patterning, vertebral identity, and development of posterior structures, *Genes Dev*, 2001, 15(2): 226-240
- [30] Sakai Y, Meno C, Fujii H, *et al.* The retinoic acid-inactivating enzyme CYP26 is essential for establishing an uneven distribution of retinoic acid along the antero-posterior axis within the mouse embryo, *Genes Dev*, 2001, 15(2): 213-225
- [31] Kudoh T, Wilson SW, Dawid IB. Distinct roles for Fgf, Wnt and retinoic acid in posteriorizing the neural ectoderm, *Development*, 2002, 129(18): 4335-4346
- [32] Tahayato A, Dollé P, Petkovich M. Cyp26C1 encodes a novel retinoic acid-metabolizing enzyme expressed in the hindbrain, inner ear, first branchial arch and tooth buds during murine development, *Gene Expr Patterns*, 2003, 3(4): 449-454
- [33] Anderson EL, Baltus AE, Roepers-Gajadien HL, *et al.* *Stra8* and its inducer, retinoic acid, regulate meiotic initiation in both spermatogenesis and oogenesis in mice, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105 (39): 14976-14980
- [34] Bowles J, Bullejos M, Koopman P. A subtractive gene expression screen suggests a role for vanin-1 in testis development in mice, *Genesis*, 2000, 27(3): 124-135
- [35] Swain A. Sex determination: time for meiosis? The gonad decides, *Curr Biol*, 2006, 16(13): R507-R509
- [36] Zhou LY, Wang DS, Kobayashi T, *et al.* A novel type of P450c17 lacking the lyase activity is responsible for C21-steroid biosynthesis in the fish ovary and head kidney, *Endocrinology*, 2007, 148(9): 4282-4291
- [37] Miura T, Higuchi M, Ozaki Y, *et al.* Progesterin is an essential factor for the initiation of the meiosis in spermatogenic cells of the eel, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(19): 7333-7338
- [38] Zhou LY, Wang DS, Shibata Y, *et al.* Characterization, expression and transcriptional regulation of *P450c17-I* and *-II* in the medaka, *Oryzias latipes*, *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 362(3): 619-625
- [39] Smith CA, Roeszler KN, Bowles J, *et al.* Onset of meiosis in the chicken embryo; evidence of a role for retinoic acid, *BMC Dev Biol*, 2008, 8: 85
- [40] Saga Y. Mouse germ cell development during embryogenesis, *Curr Opin Genet Dev*, 2008, 18(4): 337-341

Involvement of Retinoic Acid and *Cyp26* Family Genes in Germ Cell Differentiation

Fei Han, Zhi-Hao Liu, Feng-Rui Wu, Bao-Feng Huang, Wei-Li Zhang, Hong Zhou, De-Shou Wang*
(Key Laboratory of Aquatic Organism Reproduction and Development (Ministry of Education), Key Laboratory of Aquatic Science of Chongqing, School of Life Science, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract During mammalian fetal development, meiosis is initiated in female germ cells only, while male germ cells undergoing G₀/G₁ mitotic cell cycle arrest. Further study reveals that timing of meiotic initiation during embryonic development probably determines the direction of germ cell differentiation in mammals. In addition, the proper concentration of retinoic acid (RA) can initiate the mitosis to meiosis transition *in vivo*. Homeostasis of the RA level is maintained by regulation of its rate of synthesis (ADHs and RALDHs are the key enzyme for RA synthesis) and by controlling its rate of degradation (Cyp26s are the most effective enzyme for RA degradation), which decides the direction of germ cell differentiation (spermatogonia or oogonia), and affects the sex differentiation of mammals ultimately. This review focuses on the physiological roles of RA and Cyp26s during the process of gonadal differentiation in mammalian and trying to explore the molecular mechanism of meiosis and germ cells' differentiation in the lower vertebrate, especially fish.

Key words meiosis; retinoic acid; *Cyp26* family gene; *Stra8*; germ cell differentiation

Received: October 8, 2008 Accepted: March 12, 2009

This work was supported by the National High Technology Research and Development Program (863 Program) of China (No. 2007AA10Z165) and the National Natural Science Foundation of China (No.30770272)

*Corresponding author. Tel: 86-23-68254062, Fax: 86-23-68252365, E-mail: wdeshou@swu.edu.cn