receptor-2/FLK-1 regulates its autophosphorylation and activation of signaling molecules[J]. J Biol Chem, 2002, 277(30): 27081 - 27087.

[10] Gille H, Kowalski J, Yu L, *et al*. A repressor sequence in the juxtamembrance domain of Flt-1(VEGFR-1) constitutively inhibits vascular endothelial growth factor-dependent phosphatidylinositol 3′-kinase activation and endothelial cell migration[J]. EMBO J, 2000, 19(15): 4064 - 4073.

[11] Nakopoulou L, Stefanaki K, Panayotopoulou E, *et al*. Expression of the vascular endothelial growth factor receptor-2/Flk-1 in breast carcinomas: correlation with proliferation[J]. Human Pathology, 2002, 33(9): 863 - 870.

[12] Wu L W, Mayo L D, Dunbar J D, *et al*. Utilization of distinct signaling pathways by receptors for vascular endothelial cell growth factor and other mitogens in the induction of endothelial cell proliferation[J]. J Biol Chem, 2000, 275(7): 5096 - 5103.

[13] Veikkola T, Karkkainen M, Claesson-Welsh L, *et al*. Regulation of angiogenesis via vascular endothelial growth factor receptors[J]. Cancer Res, 2000, 60(2): 203 - 212.

[14] Kanno S, Oda N, Abe M, *et al*. Roles of two VEGF receptors, Flt-1 and KDR, in the signal transduction of VEGF effects in human vascular endothelial cells[J]. Oncogene, 2000, 19(17): 2138 - 2146.

[15] Sato Y, Kanno S, Oda N, *et al*. Properties of two VEGF receptors, Flt-1 and KDR, in signal transduction[J]. Ann N Y Acad Sci, 2000, 902: 201 - 207.

[16] 方 仝, 唐孝达. 血管生成素与肿瘤新生血管生成[J]. 国外医学生理、病理科学与临床分册, 2001, 21(5): 345 - 347.

[17] Bussolati B, Dunk C, Grohman M, *et al*. Vascular endothelial growth factor receptor-1 modulates vascular endothelial growth factor-mediated angiogenesis *via* nitric oxide[J]. Am J Pathol, 2001, 159(3): 993 - 1008.

[18] Power C, Wang J H, Sookhai S, *et al*. Bacterial wall products induce downregulation of vascular endothelial growth factor receptors on endothelial cells via a CD14-dependent mechanism: implications for surgical wound healing[J]. J Surg Res, 2001, 101(2): 138 - 145.

[19] Kampfer H, Pfeilschifter J, Frank S. Expressional regulation of angiopoietin-1 and -2 and the tie-1 and -2 receptor tyrosine kinases during cutaneous wound healing: a comparative study of normal and impaired repair[J]. Lab Invest, 2001, 81(3): 361 - 373.

（编辑 张 宁）

文章编号：1000-5404(2005)04-0363-03

综述

*Tbx*3 基因功能研究及其在肿瘤演进中的作用

*Tbx*3 gene function and its roles in tumor progression

邓 军 综述，刘友生 审校 （第三军医大学西南医院病理科，重庆 400038）

*Tbx*3(T-box 3)基因是 T-box(*Tbx*)基因家族的成员之一，该家族属发育调控相关转录因子基因家族，表达产物作为真核生物的转录调控因子，有 20 多个成员，其共同特征是编码具有高度保守的 N 末端 DNA 结合区(T 区)的转录因子，广泛存在于多细胞生物，具有重要的发育调控功能，在脊椎和非脊椎动物胚胎的形态和组织发生中发挥着重要作用。*Tbx*3 基因的异常表达将导致尺骨-乳腺综合症(ulnar-marmary syndrome, UMS)，后者是一种严重的家族性显性遗传性疾病。近年来的研究已经证实，Tbx2 基因在乳腺癌有变异表达，而 *Tbx*3 基因也和 *Tbx*2 一样主要参与的 p19ARF-p53 途径等信号传导，由此推测 *Tbx*3 的变异可能与肿瘤的发生也密切相关。

1 Tbx3 基因的结构和功能

1.1 *Tbx*3 基因结构及其表达产物

*Tbx*3 基因位于人染色体 12q24.1，全长 12 895 个碱基。目前已发现该基因有两个剪接变异体，即 *Tbx*3-1 和 *Tbx*3-2，前者有 7 个外显子和 6 个内含子，cDNA 长 2 433 个碱基，后者有 8 个外显子和 7 个内含子，cDNA 长 3 327 个碱基。T-box 区位于 574 ~ 3 948 bp，涵盖了外显子 1 和 4 的部分碱基、外显子 2 ~ 3 的全部碱基及外显子 1 ~ 4 之间全部内含子碱基序列。*Tbx*3 基因编码的蛋白质长约 723 个氨基酸，DNA 结合区位于第 105 ~ 285 位氨基酸。在斑马鱼研究中发现该基因表达具有严格的时空特异性和空间特异性[1]，正常情况下 *Tbx*3 表达在早期胚胎的内胚层，在成熟个体的四肢作 RT-PCR 显示呈弱表达[2]。但也有认为，*Tbx*3 广泛表达在成体组织中[3]。

目前尚少发现 TBX3 蛋白作用的天然靶点，与该家族的其它成员编码的蛋白质一样，其中碳端拥有一个约 180 个高度保守的氨基酸残基区域，称为 T-box 结构域，而其前、后的序列非常多变。这一区域在所有的 T-box 基因都较为相似，*Tbx*3 与 *Tbx*2 在该区域就有 95% 的相同残基，该区域拥有一段约 20 bp sDNA 回文结构结合位点，*Tbx*3 基因可独立识别具有回文结构的双链 DNA 的两个位点，尽管也可单一半位结合，其结合却不如双链强，结合到双链的两个 *Tbx*3 的 T-box 结构域可以通过少数另一移动的侧链彼此接触。

1.2 *Tbx*3 基因的功能

TBX3 蛋白与 DNA 结合形成的复合物共同构成 *T-box* 转录因子，形成的球形表面与该家族的 Xbra/DNA 复合物较为相似，该复合物含有一个结合到 p19ARF 启动子的 T 位点。鼠短尾突变体表型的小鼠的缺失变异显示在碳端紧接 T-box 结构域的区域具有两个反式激活位点和两个抑制位点，共同构成反式激活结构域[4,5]。*Tbx* 基因的突变致病主要表现为多点突变[6]，也表现为 *Tbx*3 的杂合表达。

*Tbx*3 基因表达产物主要作为转录因子，早期即在胚胎的肢芽边缘表达，参与细胞信号的传导，从而影响机体的发育和稳定，尤其在胚胎发育时期，对于四肢和乳腺的发育尤其重要，对

作者简介：邓 军(1975 -)，男，四川省安岳县人，硕士，主治医师，主要从事乳腺癌病因及发病学方面的研究。电话：(023)68754024

通讯作者：刘友生，电话：(023)68754431

收稿日期：2004-09-25；修回日期：2004-12-01

外生殖器的发育，血细胞生成以及眼的发育都起着重要作用，最近的研究也表明，*Tbx3* 和 *Tbx2* 可能还在机体的复制性衰老中发挥其作用[7]。此外，*Tbx3* 可能还与肿瘤的发生有关。

2 *Tbx3* 基因与疾病

目前的研究发现 *T-box* 基因家族编码的 20 多个转录因子在人类组织和器官中均有表达。人类许多发育障碍都与 *T-box* 基因突变有关，如 Holt-Oram 综合征、ulnar-mammary 综合征、DiGeorge 综合征、ACTH 不足以及伴有舌系带短缩的腭裂[8~11]。最近的研究表明[12]，*T-box* 基因除了在发育过程中的作用外，人 *Tbx2* 基因还是一个永生化基因，并提示该基因在乳腺肿瘤形成中有潜在的作用。

2.1 *Tbx3* 基因与尺骨-乳腺综合征(ulnar-mammary syndrome，UMS)

尺骨-乳腺综合征(UMS)为常染色体显性遗传性疾病，*Tbx3* 基因的变异是导致人类 UMS 的原因。该遗传性疾病主要为以肢体、顶浆分泌腺、毛发、生殖器以及牙齿等缺陷为主的综合症，临床表现有四肢发育异常、指(趾)骨数目异常、指(趾)骨形态发育异常以及腕骨融合、乳头的数目及位置异常、乳腺发育障碍等[13]。在 1.7Å 分辨率下观察到人类 TBX3 转录因子的晶体结构上的点突变，是发生 UMS 的结构基础[4]。单个基因的缺失或剪接位点的变异都会导致 *Tbx3* 的单倍剂量不足(haploinsufficiency)，从而反映了引起 UMS 的该基因表达的临界水平[13]。由于 TBX3 蛋白的功能结构域主要位于 C-端，发生在 C-端尤其编码 DNA 连接结构域的突变，更容易导致 TBX3 蛋白的功能障碍。Carlson[6] 发现，在大多数的 UMS 患者中，TBX3 蛋白因 C-端的抑制结构域(RD1)均有缺失，从而使其失去转录抑制活性。

研究还表明，Tbx3 基因的突变，导致胚胎发育中乳腺基板的数目减少。Todd 等[8]在 Tbx3 变异的小鼠体内发现乳腺仅存在 3 个基板，而正常情况下为 5 个，基板的减少进而影响胚胎乳腺的发育[14]，表现为更小的乳腺胚芽，胎儿体积也较小。进一步的研究显示，TBX3 转录因子可能是通过参与成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor，FGF)和 WNT 信号传导途径来发挥其对胚胎乳腺等顶浆分泌腺体的发育的调控作用[8]，该基因的突变所致的表达下调或缺失，导致乳腺发育障碍，提示 *Tbx3* 基因对于乳腺的正常发育是必需的[13]。

肢体的发育与 FGF 和 SHH(sonic hedgehog)信号传导有关，*Tbx3* 基因正常表达时，胚胎肢芽边缘可以发出其上游信号，促进肢体的正常发育。在胚胎发育的研究中表明，胚胎发育组织中 *Tbx3* 基因的纯合表达可以表现出与 *SHH* 基因缺失(导致 SHH 信号传导障碍)相似的临床表现[15]，提示该基因是通过 SHH 信号途径来发挥作用的，这一点与较早对 FGF 的研究相类似[16]。Takabatake 等[16] 发现 *Tbx3* 和 *Tbx2* 基因能够共同抑制 Gli 依赖的 SHH 信号传导，从而影响眼的发育；而 *SHH* 基因也可以调控 *Tbx3* 基因的表达，即该基因的表达对 *SHH* 基因存在依赖性[17]，当该基因发生基因突变等变异时，将导致信号传导的异常而影响肢体的发育。

Tbx3 基因是发现的第一个与胚胎卵黄囊发育有关的 *T-box* 家族成员，该基因纯合的小鼠胚胎模型，在妊娠中期出现细胞死亡或变性，甚至在几天内出现胎儿死亡，无一幸免；在人类尚无纯合缺失的个体存活的报道。这可能因为卵黄囊是胚胎早期的造血器官，卵黄囊细胞的变性坏死将影响胚胎的发育而导致胎儿死亡。也有学者推测，*Tbx3* 基因可能参与了 p19ARF-p53 途径[7,18]，*Tbx3* 的变异导致其对 p19ARF(人类为 p14ARF)表达的抑制作用的丧失，导致 p53 的上调，从而导致卵黄囊细胞增殖受阻，凋亡增加，最后导致胚胎死亡。对于该基因杂合表达的小鼠，除了生殖器的表现有所不同之外，其余各脏器在外观上与野生型小鼠并无差异[8]。但这一点与人类不同，人类 *Tbx3* 基因杂合子表现为穿刺刺丝囊完全变异，在上肢和顶浆分泌腺的表现尤为突出，而下肢表现相对较轻；此外，外生殖器的表现也有改变，如阴道闭锁、小阴茎和肛门闭锁等[3]。这些差异可能与物种的遗传调节功能或者物种特异性有关，也可能与 *Tbx3* 基因由动物到人的进化有关。

2.2 *Tbx3* 基因与肿瘤

Xu 等[19]在对由甲基丙烯酸缩水甘油酯(GMA)诱导发生的恶性转化的细胞进行 cDNA 分析发现，该细胞内存在 *Tbx3* 的 cDNA 片段。这一片段与乳腺癌的转录因子 TBX3(ZA11)高度同源，提示 *Tbx3* 可能参与了 GMA 诱导细胞恶性转化的发生。郝权[20] 等在膀胱癌患者体内也发现了 *Tbx3* 基因的表达，而在正常患者的膀胱粘膜无该基因的表达，因此推测 *Tbx3* 基因可能与膀胱癌的发生和肿瘤细胞分化有关。

Tbx3 基因的异常表达在肿瘤发生过程中的作用可能通过以下机制实现：*Tbx3* 既参与了机体的复制性衰老，也协同 *Myc* 和 *Ras* 癌基因在细胞转化中发挥作用[21]。某些抑癌基因的过表达会引起细胞进入衰老程序，细胞绕过衰老途径是其永生化及癌变的必要条件，因而细胞复制性衰老是抑制肿瘤的一种可能机制。而 p19ARF(p14ARF)/p53 既是肿瘤抑制途径，又是细胞衰老途径[22]，p14ARF 和 p53 在人类多种肿瘤中存在高频率的突变。该途径具有两个作用，体外激活 p19ARF 可以导致 p53 依赖的细胞增殖的停止，即导致细胞衰老。另一方面，p19ARF-Mdm2-p53 途径可以防御细胞的恶性转化[5]。p19ARF 是 INK4a/ARF 基因编码的另一种抑癌蛋白，因而是一种肿瘤抑制因子。*T-box* 基因结构域及其产物碳端的抑制结构域是抑制 p19ARF 所必须的，*T-box* 基因家族中 *Tbx2* 基因可抑制 p19ARF 启动子并削弱 *E2F1*、*Myc* 或 *Ras* 基因对 p19ARF 的诱导作用，从而下调 p19ARF[5,12]。*Tbx3* 与 *Tbx2* 在 T-box 结构域具有 95% 的相同氨基酸残基，据此推测二者的大部分功能可能相同，因此，*Tbx3* 亦可通过 p19ARF/p53 途径发挥作用。*Tbx3* 基因能负性调控 p19ARF 和人 p14ARF 的表达并能抑制衰老，该基因的点突变可使其失去此抑制作用。在细胞培养物中，*Tbx3* 和 *Tbx2* 可以使鼠胚胎的成纤维细胞获得永生性，而其表达产物的 C-端的 RD1 抑制结构域是必需的[6]，但变异的 *Tbx3* 基因由于其表达产物缺乏 C-端的抑制结构域，从而丧失抗凋亡活性[18]。通过 *Tbx3* 基因与癌基因的协同作用，即 *Tbx3* 与 *Myc* 和致瘤性的 *Ras*(H-*Ras*(*Val*17))的表达足以导致鼠胚胎的成纤维细胞的恶性转化，这种协同作用可能表现为 *Myc* 和 *Ras* 的过度表达促使 *Tbx3* 抑制 p19ARF 和 p53 的凋亡诱导作用；同时，*Tbx3* 可以防御 *Myc* 诱导的肿瘤细胞的凋亡。而 *Tbx3* 在肿瘤组织的高表达则可以有力的抑制 p19ARF-p53 水平，促使细胞绕过衰老途径，从而抑制细胞的衰老与凋亡，当这种致病基因的异常表达累积而达到时间和量的极限，细胞突破这一临界值，就可能最终导致细胞的恶性转化。

Tbx3 也参与 $p21^{WAF1/Cip1}$ 突变的致瘤途径。$p21^{WAF1/Cip1}$ 是最早发现并克隆的细胞周期蛋白依赖激酶(CDK)抑制因子，具有广泛抑制 CDK 的作用。$p21^{WAF1/Cip1}$ 缺乏的鼠胚胎成纤维细胞(MEF)会出现自发或者 *Ras* 诱导的衰老[23]。Seoane[24] 发现 *Myc* 可被 DNA 结合蛋白 Miz-1 募集到 p21 启动子处，选择性抑制 p53 对 p21 的转录激活作用，从而诱导凋亡。已有研究表明，*Tbx3* 基因可以协同 *Myc* 和 *Ras* 癌基因在细胞转化中发挥作用[15]。该基因能够干扰 *Myc* 水平升高所致的凋亡，变异的 *Tbx3* 基因其协同作用的丧失可能减弱了 *Myc* 的作用，使募集到 p21 启动子处的 *Myc* 对 p53 的抑制作用减弱，增强了 p53 对 p21 的转录激活作用的抑制，从而诱导凋亡。反之，当 *Tbx3* 高表达时，可以抑制细胞的凋亡，因而有助于细胞的恶性转化。

3　展望

T-box 基因家族是近年来发现的与胚胎发育密切相关的一个基因家族，*Tbx3* 作为该家族的重要一员，对肢体、乳腺以及胚胎早期卵黄囊的发育都具有重要的作用，随着对 *Tbx3* 基因缺陷或者变异导致 UMS 的认识的加深和机理研究的深入，可能为该类家族性显性遗传性疾病的治疗带来新的希望。

研究也表明 *Tbx3* 基因可能与肿瘤的发生密切相关。目前的研究已在乳腺癌和膀胱癌组织中发现了 *Tbx3* 基因的高表达。研究认为，*Tbx3* 基因在细胞信号传导中发挥了重要作用，其变异导致 p21WAF1/Cip1 途径、p19ARF-p53 途径信号传导的障碍而与肿瘤的发生相关。如果这一理论成立，那么在多数肿瘤组织中都应该可以找到相关的证据，但目前的研究结果尚无法有力支持这一理论，因而 *Tbx3* 基因表达的变化究竟是肿瘤发生的机制之一还是肿瘤发生的伴随变化，尚需要进一步的深入研究。

关键词：Tbx3；功能；肿瘤

中图法分类号：R394　　**文献标识码**：A

参考文献：

[1] Yonei-Tamura S, Tamura K, Tsukui T, *et al*. Spatially and temporally-restricted expression of two T-box genes during zebrafish embryogenesis[J]. Mech Dev, 1999, 80(2): 219 – 221.

[2] Takabatake Y, Takabatake T, Takeshima K, *et al*. Conserved and divergent expression of T-box genes Tbx2-Tbx5 in Xenopus[J]. Mech Dev, 2000, 91(1-2): 433 – 437.

[3] Bamshad M, Le T, Watkins W S, *et al*. The spectrum of mutations in TBX3: Genotype/Phenotype relationship in ulnar-mammary syndrome[J]. Am J Hum Genet, 1999, 64(6): 1550 – 1562.

[4] Coll M, Seidman J G, Muller C W. Structure of the DNA-bound T-box domain of human TBX3, a transcription factor responsible for ulnar-mammary syndrome[J]. Structure (camb), 2002, 10(3): 343 – 356.

[5] Lingbeek M E, Jacobs J J, Van Lohuizon M. The T-box repressors TBX2 and TBX3 specifically regulate the tumor suppressor gene p14ARF *via* a variant T-site in the initiator[J]. J Biol Chem, 2002, 277(29): 26120 – 26127.

[6] Carlson H, Ota S, Campbell C E, *et al*. A dominant repression domain in Tbx3 mediates transcriptional repression and cell immortalization: relevance to mutations in Tbx3 that cause ulnar-mammary syndrome[J]. Hum Mol Genet, 2001, 10(21): 2403 – 2413.

[7] Packham E A, Brook J D. T-box genes in human disorders[J]. Hum Mol Genet, 2003, 12(1): R37 – 44.

[8] Daven pont T G, Jerome Majewska L A, Papaioannou V E. Mammary gland, limb and yolk sac defects in mice lacking Tbx3, the gene mutated in human Ulnar Mammary syndrome[J]. Development, 2003, 130(10): 2263 – 2273.

[9] Gross J M, Peterson R E, Wu S Y, *et al*. LvTbx2/3: a T-box family transcription factor involved in formation of the oral/aboral axis of the sea urchin embryo[J]. Development, 2003, 130(9): 1989 – 1999.

[10] Sowden J C, Holt J K, Meins M, *et al*. Expression of drosophila omb-related T-box genes in the developing human and mouse neural retina[J]. Invese Ophthalmol Vi Sci, 2001, 42(13): 3095 – 3102.

[11] Jacobs J J, Keblusek P, Robanus Maandag E, *et al*. Senescence bypass screen identifies TBX2, which represses cdkn2a(p19ARF) and is amplified in a subset of human breast cancers[J]. Nat Genet, 2000, 26(3): 291 – 299.

[12] Brummelkamp T R, Kortlever R M, Lingbeek M, *et al*. TBX-3, the gene mutated in ulnar-mammary syndrome, is a negative regulator of p19ARF and inhibits senescence[J]. J Biol Chem, 2002, 277(8): 6567 – 6572.

[13] Bamshad M, Lin R C, Law D J, *et al*. Mutations in human TBX3 alter limb, apocrine and genital development in ulnar-mammary syndrome[J]. Nat Genet, 1997, 16(3): 311 – 315.

[14] Satokata I, Ma L, Ohshima H, *et al*. Msx2 deficiency in mice causes pleiotropic defects in bone growth and ectodermal organ formation[J]. Nat Genet, 2000, 24(4), 391 – 395.

[15] Chiang C, Litingtung Y, Harris M P, *et al*. Manifestation of the limb prepattern: Limb development in the absence of sonid hedgehog function [J]. Dev Biol, 2001, 236(2): 421 – 435.

[16] Takabatake Y, Takabatake T, Sasagawa S, *et al*. Conserved expression control and shared activity between cognate T-box genes Tbx2 and Tbx3 in connection with Sonic hedgehog signaling during Xenopus eye development [J]. Dev Growth Differ, 2002, 44(4): 257 – 271.

[17] Tumpel S, Sanz-Ezquerro J J, Isaac A, *et al*. Regulation of Tbx3 expression by anteroposterior signalling in vertebrate limb development[J]. Dev Biol, 2002, 250(2): 251 – 262.

[18] Carlson H, Ota S, Song Y, *et al*. Tbx3 impinges on the p53 pathway to suppress apoptosis, facilitate cell transformation and block myogenic differentiation[J]. Oncogene, 2002, 21(24): 3827 – 3835.

[19] 许建宁，尹学钧，王全凯，等. 甲基丙烯酸环氧丙酯诱导细胞转化的部分相关 cDNA 的克隆[J]. 卫生研究，2001，30(1)：14 – 17.

[20] 郝　权，徐　勇，李文录，等. 人膀胱癌相关基因 cDNA 片段的克隆与鉴定. 中华泌尿外科杂志[J]. 2002，23(10)：598 – 600.

[21] Prince S, Carreira S, Vance K W, *et al*. Tbx2 directly represses the expression of the p21(WAF1) cyclin-dependent kinase inhibitor[J]. Cancer Res, 2004, 64(5): 1669 – 1674.

[22] 郑文婕，童坦君，张宗玉. 细胞衰老的重要通路：p16INK4a/Rb 和 p19ARF/p53/p21Cip1 信号途径[J]. 生命的化学，2002，22 (4)：314 – 316.

[23] Pantoja C, Serrano M. Murine fibroblasts lacking p21 undergo senescence and are resistant to transformation by oncogenic Ras[J]. Oncogene, 1999, 18(35): 4974 – 4982.

[24] Seoane J, Le H V, Massague J, *et al*. Myc suppression of the p21(Cip1) Cdk inhibitor influences the outcome of the p53 response to DNA damage [J]. Nature, 2002, 419(6908): 729 – 734.

（编辑　张大春）