维普资讯 http://www.cqvip.com

综 述 文章编号:0253-3626(2007)06-0667-03

pax7 对肌肉形成作用的研究进展

郑 江 综述,邓忠良 审校

(重庆医科大学附属第二医院骨科,重庆 400010)

【中国图书分类法分类号】R685.4 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-01-08

pax 基因家族为一组编码含成对结构域(Paired domain, PD)转录因子的发育调控基因,由九个基因组成,根据功能域结构的不同分成四组,每组成员之间在功能上都有部分重复。pax7 属于 pax 基因家族的 III 组,与中枢神经系统和骨骼肌的发育有关,是强有力的生肌性诱导物,能使多能干细胞转变为生肌性细胞,在骨骼肌的发育和再生过程中起着至关重要的作用。本综述就是探讨 pax7 在骨骼肌发育、生长和再生过程中对肌原性前体细胞的作用,以有助于将来对肌肉损伤与肌病进行干细胞治疗。

1 pax7 结构及作用方式

1.1 pax7 基因及其蛋白

pax7 基因定位于人染色体 1p36.2~36.12 和鼠染色体 4。pax7 蛋白含有一个配对框 (PD)、一个同源结构域(Homeodomain,HD)、一个保守的八肽结构(Octapeptide,OP)以及八个或九个外显子编码的转活区(Transactivation domain,TD)[1]。PD 和 HD 是 DNA 结合区,OP 位于 PD 和 HD 之间。

对配对框采用不同的剪接方式,可产生四种 pax7 转录物,pax7a-d,分别在第二和第三外显子的起始部位含有或者不含有三核苷酸 CAG 或者六核苷酸 GTTTAG,编码的亚型相应地在配对 DNA 结合区域含有或者不含有谷氨酰胺(Q)和(或)甘氨酸亮氨酸二肽(GL)。配对框有两个子域,每个子域都含有一个螺旋 - 转角 - 螺旋(HTH)基序,同源结构域包含有一个 HTH 基序。谷氨酰胺的加入增加了配对框两个 HTH 基序之间连接区域的长度,改变了第二个 HTH 基序的亲合力。所含的二肽(GL)增加了第二个 HTH 基序中第三个 α 螺旋的长度并且可能改变 PAX7 配对框与靶基因的结合。不同的 pax7 亚型具有不同的三级结构,有不同的 DNA 亲合力和特异性,因此可能激活不同的基因[2,3]。利用体外模型系统得出,正常胚胎及成人的肌组织持续表达所有不同的转录物[3]。

1.2 pax7 与靶基因的作用方式

pax7 与 pax3 同属 pax 基因家族的 III 组,它们通过与靶基因的启动子区域结合,促进 DNA-蛋白质起始复合物的形成,从而激活靶基因的转录,激活肌肉形成。III 组 pax 蛋白利用配对区子域或者同源结构域或者二者的复合体来结合不同的靶 DNA 序列。研究证明,配对框的结合专一性可能会影响同源结构域的结合专一性[4],这种结合专一性能够在回文序列部位促进协同二聚化作用。pax 激活区的蛋白质 - 蛋白质相互作用以及许多转录因子共同激活靶基因的转录[5]。激活区位于 pax 蛋白的羧基端,富含脯氨酸、苏氨酸和丝氨酸,这些氨基酸可能是调节这些区域功能的磷酸化和其它转录后修饰的靶位点。

2 pax7 与肌形成及再生

人类胚胎和成人体内都存在肌肉干细胞。肌肉干细胞的出现取决于两种基因 pax3 和 pax7 的作用,一旦上述两种基因丧失活性,肌肉干细胞就会缺失,并导致所有的肌肉组织停止增长。

2.1 pax7 对卫星细胞的作用

卫星细胞是肌原细胞的一个单核系细胞,其特征为 pax7 基因的表达。在肌肉的发育中主要有两个重要作用。首先,在围生期卫星细胞增殖并融合到已存在的肌管中,以促进肌纤维在出生后的增长;第二,一些卫星细胞仍然保持单核肌原细胞的状态,存在于发育成熟的肌肉中肌纤维的基膜下,当面临损伤时,这些细胞受刺激而增殖融合,形成新的肌原纤维。

在生长发育过程中,pax7 与 pax3 的功能有部分重叠,但在卫星细胞介导的生后骨骼肌的生长和再生过程中,pax7 的作用不能为 pax3 所取代[6]。当缺少 pax7 时,由于细胞周期缺陷而致的细胞凋亡,出生后卫星细胞将会急剧丢失。在激活的卫星细胞中,pax7 有重要的抗凋亡作用,这是 pax3 所不能补偿的[7]。

pax7 在胚胎肌肉形成中的作用尚未完全弄清楚。pax7-/- 鼠在出生时表现正常,但是由于骨骼肌中缺少生肌性细胞,大多数停止生长,在随后的 2~3 周不明原因死亡。新生 pax7-/- 鼠肌肉表现正常,说明 pax7 并不影响早期的肌肉发育,但是对于卫星细胞的发育却是必需的[6]。少量 pax7-/- 鼠能够存活到成年,在生后肌肉的生长过程中,由于缺少卫星细胞的融合,pax7-/- 鼠肌原纤维的直径减小,表明在 pax7

作者介绍:郑 江(1981-),男,硕士生,
主要研究方向:肌肉损伤修复。

维普资讯 http://www.cqvip.com

缺失的情况下,残余的卫星细胞仍然能继续肌肉的生长。但是在成年 pax7-/- 鼠中,肌肉的稳定性和再生能力的程度尚待讨论[7,8]。在体外培养中,pax7-/- 鼠的肌原纤维仍然能够激活 MyoD,并且增殖和分化[7-9]。传统观点认为,pax7 在卫星细胞的特化中起着重要作用,但由上述资料可以看出,在卫星细胞的特化中,pax7 并不显得是必需的,而在卫星细胞的维持和生存中却发挥有作用。通过构建 pax7 基因的拮抗结构 pax7EnR,发现抑制 pax7 基因的功能并没有抑制卫星细胞向肌原纤维分化,但是却抑制了其对干细胞群的维持作用,可见 pax7 对卫星细胞有维持作用[10]。但采取系统免疫组化原位分析法对在躯干和头部肌肉的发育中 pax3 和 pax7 蛋白表达的时空特征进行分析,并与 MyoD 和肌细胞生成素的该特征进行对比,发现 pax7 在所有横纹肌中都有表达并且表达模式相同。pax7 仅仅表达在单核细胞中,这些单核细胞或者分化成肌管,或者随后形成卫星细胞。在头部肌肉的发育过程中,pax7 随着 MyoD 和肌细胞生成素的表达而表达,意味着在头部肌肉形成的最初诱导阶段 pax7 并不是必需的。在 pax7 的纯合子突变体中(其肌肉发育是正常的),pax7 的表达与野生型模式是没有差别的,表明在 E13.5 阶段之后,肌肉的形成并不需要 pax3 和 pax7[11]。由此可见,pax7 是卫星细胞的重要影响因素之一,对卫星细胞的特化、维持都有重要作用。少数研究不支持这些传统观点,可能是由于方法、材料方面的差异。

人们相信卫星细胞有一种有限的自我更新能力[12]。纯合子 pax7 敲除老鼠发育正常,但是新生鼠肌肉量轻微减少,并且大多数突变体仅仅存活几周[7]。对受累肌肉进行分析,发现出生后卫星细胞数目明显减少,提示 pax7 在卫星细胞自我更新中的重要作用[6,7]。在培养中,卫星细胞的子代具有不同命运。静止卫星细胞表达转录因子 pax7[6],激活后则同时表达 pax7 和 MyoD[13]。然后大多数激活的卫星细胞增殖,下调 pax7 并分化。相反,其它卫星细胞仍然维持 pax7,但却丢失了 MyoD,并从细胞周期和即将进入的生肌性分化状态退出,回到类似静止的状态[14]。在病态情况下,卫星细胞群变得很衰竭,最终肌肉未能再生,导致肌肉功能的丧失和死亡[15]。因此 pax7 在使已经激活的卫星细胞再次获得静止未分化状态方面可能起着重要作用,以补充卫星细胞的消耗。近来研究表明,pax7 蛋白在静止的、激活的以及增殖的卫星细胞中都能驱动转录。在开始进行终末分化的细胞中 pax7 的表达开始下调,但在退出分化状态的细胞中其表达及转录活性仍然继续维持。不管是内生的还是逆转录病毒介导异位表达的 pax7 都不能阻止卫星细胞表达 MyoD。重要的是,虽然 pax7 延迟了肌细胞生成素的表达,但持续的 pax7 异位表达是和分化状态相容的。因此,pax7 可能与维持增殖和抑制过早分化有关,但却并不促进细胞进入静止状态[16]。这些研究表明,pax7 与卫星细胞的自我更新机制有一定关系,但具体尚需深入研究。

pax7 与生后肌肉的生长和修复有非常密切的关系,在卫星细胞的特化、增殖和激活过程中都有表达[17]。成年生物的骨骼肌有明显的再生能力。生后骨骼肌对生理需要(如正常生长)、加强锻炼后的生长以及损伤后的再生表现出的惊人的适应能力归因于卫星细胞激活、增殖、分化以及融合的效力[6]。骨骼肌损伤会导致肌肉变性,随之引起炎症反应和激活卫星细胞。肌肉卫星细胞被激活后产生生肌性前体细胞,生肌性前体细胞随后分化以修复和代替损伤的肌纤维[18]。虽然在年老的个体卫星细胞的数量和增殖能力有所下降,但卫星细胞群却一直在不停地补充[19]。在正常的发育成熟的肌肉中,卫星细胞在没有进入静止状态前是形成肌原纤维新肌核的主要来源。尽管如此,卫星细胞仍然保留有增殖分化能力以适应肌核循环的需要或者肌原纤维肥大和肌肉再生的需要[20]。与肌肉损伤相适应,例如肌肉撕裂或者肌病,从免疫细胞和细胞外基质来的信号会激活卫星细胞由静止状态向激活状态转变。这就使得静止卫星细胞被替代以及激活肌肉前体细胞的产生。产生的肌肉前体细胞迁移到损伤位点,分化并融合到尚存的肌纤维中从而影响修复。当有肌肉再生的需求时,卫星细胞就会从静止状态向激活状态改变,这个过程有许多因子参与,包括生长因子、生肌调节因子。例如,生肌调节因子(Myf5,MyoD,myogenin 和 MRF4)仅仅在激活的卫星细胞中发现,它们介导骨骼肌特化基因的增量调节并诱导卫星细胞的分化[19]。再生过程中调节细胞增殖和确定肌形成的细胞自主因子 pax7 和 FGFR-4 有高度的表达[21]。由此可见,生后骨骼肌的生长、再生、修复与卫星细胞有极为密切的关系,取决于卫星细胞的功能。虽然卫星细胞受多种因素的调节,但 pax7 在卫星细胞的调节中起着极为重要的作用。

2.2 pax7 与其它生肌性细胞

传统观点认为,在成体骨骼肌中,肌肉卫星细胞被认为是产生生肌性祖细胞的唯一细胞群。但最近的试验表明,存在于肌肉中的非卫星细胞干细胞可能会参与卫星细胞的补充从而参与肌肉再生。虽然肌肉卫星细胞是生肌性前体细胞的主要来源,但在极端环境下,肌肉旁群细胞(SP 细胞)或者骨髓干细胞可能会参与骨骼肌的再生,而它们的参与则以 pax7 的增量调节为特征[22]。Relaix 等人鉴定了一个表达 pax3 和 pax7 但却没有骨骼肌特异标记物的细胞群,在整个胚胎和胎儿的躯干及四肢的肌肉发育过程中,这些细胞都作为增育细胞群而存在,并构成固有的、继而具有生肌性并形成骨骼肌的肌肉祖细胞,并推断固有的依赖 pax3/pax7 的祖细胞群构成了对骨骼肌形成具有重要作用的生肌性细胞的来源[23]。近来也发现一种肌肉间质 pax3+ 细胞,并被认为代表了一种新的与基膜下卫星细胞不同的肌原性细胞群,但 pax7 对于基膜下卫星细胞衍生的生肌性祖细胞的形成也是必不可少的[24]。这些研究拓宽了人们对生肌性干细胞的认识,也进一步确定了 pax7 在肌肉形成过程中的作用。

3 结 论

在脊椎动物骨骼肌发育、成熟以及再生的前体细胞的分化中,pax7 具有重要作用。不同的转录物及亚型具有不同的

维普资讯 http://www.cqvip.com

结合及转活效能,但具体亚型的生物学重要性都不明确。其与靶基因启动子序列的结合很复杂,意味着靶基因的激活充满了复杂性和多样性。同时关于 pax7 作用的传统观点也在不断接受挑战。今后的研究重点将集中于 pax7 在肌肉形成中的作用及其机制以及其与生肌性干细胞的相关作用方面,因为这意味着可以利用 pax7 使干细胞向生肌性细胞转变,这是一种旨在显著增强肌肉再生的肌肉疾病治疗策略。

参 考 文 献

[1] Balczarek KA,Lai ZC,Kumar S.Evolution of functional diversification of the paired box(Pax)DNA-binding domains[J].Mol Biol Evol,1997;14(8):829-842.

[2] Barr FG,Fitzgerald JC,Ginsberg JP,et al.Predominant expression of alternative PAX3 and PAX7 forms in myogenic and neural tumor cell lines[J].Cancer Res,1999;59(21):5443-5448.

[3] Ziman MR,Thomas M,Jacobsen P,et al.A key role for pax7 transcripts in determination of muscle and nerve cells[J].Exp Cell Res,2001;268(2):220-229.

[4] Mishra R,Gorlov IP,Chao LY,et al.PAX6,paired domain influences sequence recognition by the homeodomain[J].J Biol Chem,2002;277(51):49488-49494.

[5] Cho EA,Prindle MJ,Dressler GR. BRCT domaincontaining protein PTIP is essential for progression through mitosis[J].Mol Cell Biol,2003;23(5):1666-1673.

[6] Seale P,Sabourin LA,Girgis-Gabardo A,et al.pax7 is required for the specification of myogenic satellite cells[J].Cell,2000;102(6):777-786.

[7] Oustanina S,Hause G,Braun T.pax7 directs postnatal renewal and propagation of myogenic satellite cells but not their specification[J].EMBO J,2004;23(16):3430-3439.

[8] Kuang S,Charge SB,Seale P,et al.Distinct roles for pax7 and Pax3 in adult regenerative myogenesis[J].J Cell Biol,2006;172(1):103-113.

[9] Relaix F,Montarras D,Zaffran S,et al.Pax3 and pax7 have distinct and overlapping functions in adult muscle progenitor cells[J].J Cell Biol,2006;172(1):91-102.

[10] Chen Y,Lin G,Slack JM.Control of muscle regeneration in the Xenopus tadpole tail by pax7[J].Development,2006;133(12):2303-2313.

[11] Horst D,Ustanina S,Sergi C,et al.Comparative expression analysis of Pax3 and pax7 during mouse myogenesis[J].Int J Dev Biol,2006;50(1):47-54.

[12] Buckingham M,Bajard L,Chang T,et al.The formation of skeletal muscle:from somite to limb[J].J Anat,2003;202(1):59-68.

[13] Zammit PS,Heslop L,Hudon V,et al.Kinetics of myoblast proliferation show that resident satellite cells are competent to fully regenerate skeletal muscle fibers[J].Exp Cell Res,2002;281(1):39-49.

[14] Nagata Y,Kobayashi H,Umeda M,et al.Sphingomyelin levels in the plasma membrane correlate with the activation state of muscle satellite cells[J].J Histochem Cytochem,2006;54(4):375-384.

[15] Hartigan-O'Connor D,Chamberlain JS.Developments in gene therapy for muscular dystrophy[J].Microsc Res Tech, 2000;48(3-4):223-238.

[16] Zammit PS,Relaix F,Nagata Y,et al.pax7 and myogenic progression in skeletal muscle satellite cells[J].J Cell Sci,2006;119(Pt 9):1824-1832.

[17] Tajbakhsh S.Stem cells to tissue:molecular,cellular and anatomical heterogeneity in skeletal muscle[J].Curr Opin Genet Dev,2003;13(4):413-422.

[18] Charge SB,Rudnicki MA.Cellular and molecular regulation of muscle regeneration[J].Physiol Rev,2004;84(1):209-238.

[19] Seale P,Rudnicki MA.A new look at the origin,function,and "stem-cell"status of muscle satellite cells[J].Dev Biol,2000;218(2):115-124.

[20] Schmalbruch H,Lewis DM. Dynamics of nuclei of muscle fibers and connective tissue cells in normal and denervated rat muscles[J].Muscle Nerve,2000;23(4):617-626.

[21] Zhao P,Hoffman EP.Embryonic myogenesis pathways in muscle regeneration[J].Dev Dyn,2004;229(2):380-392.

[22] Musaro A,Giacinti C,Borsellino G,et al.Stem cell-mediated muscle regeneration is enhanced by local isoform of insulin-like growth factor 1[J].Proc Natl Acad Sci USA, 2004;101(5):1206-1210.

[23] Relaix F,Rocancourt D,Mansouri A,et al.A Pax3/pax7- dependent population of skeletal muscle progenitor cells[J].Nature,2005;435(7044):948-953.

[24] Kuang S,Charge SB,Seale P,et al.Distinct roles for pax7 and Pax3 in adult regenerative myogenesis[J].J Cell Biol,2006;172(1):103-113.

(上接第 666 页)

[17] Mederle I,Bourguin I,Ensergueix D,et al.Plasmidic versus insertional cloning of heterologous genes in Mycobacterium bovis BCG:impact on in vivo antigen persistence and immune responses[J].Infect Immun,2002;70:303-314.

[18] Lee CF,Chang SY,Hsieh DS,et al.Treatment of bladder carcinomas using recombinant BCG DNA vaccines and electroporative gene immunotherapy[J].Cancer Gene Ther,2004;11(3):194-207.

[19] Arnold J,De Boer EC,O'Donnell MA,et al.Immunotherapy of Experimental Bladder Cancer with Recombinant BCG Expressing Interferon-gamma[J].J Immunother,2004;27(2):116-123.