

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2012.00407

鸟类性别决定与性别分化机制

杨秀荣¹, 蒋和生¹, 杨宁²

1. 广西大学动物科学技术学院, 南宁 530004;
2. 中国农业大学动物科技学院, 北京 100193

摘要: 鸟类的性别由性染色体(ZZ 雄性, ZW 雌性)的遗传物质决定。在胚胎期, 1 条或 2 条性染色体上的基因控制着鸟类性别的分化, ZZ 雄性性腺发育成睾丸, ZW 雌性性腺发育成卵巢。DMRT1(Doublesex and mab-3 related transcription factor 1)被认为是目前为止调节性腺分化的最佳候选基因。然而, 最近的研究发现, 鸟类的性别独立于性激素信号而表现为细胞自主性。因此, 鸟类的性别决定基因不仅仅要控制性腺的分化, 而且能操纵全身的细胞。从这个意义上说, DMRT1 不可能是鸟类性别决定的开关基因。文章将从 W 染色体与卵巢发育、Z 染色体与睾丸发育及性别决定的自主性等 3 个方面对鸟类性别决定与性别分化机制取得的最新进展进行阐述, 为研究鸟类性别决定的开关因子、性别决定的分子机理奠定基础。

关键词: 鸟类; 性别决定; 性别分化; 细胞自主性; DMRT1

Mechanism of avian sex determination and differentiation

YANG Xiu-Rong¹, JIANG He-Sheng¹, YANG Ning²

1. College of Animal Science and Technology, Guangxi University, Nanning 530004, China;
2. College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193, China

Abstract: Avian sex is determined by genes on the sex chromosomes (ZZ for male and ZW for female). In avian embryo stage, genes on one or two chromosomes control the sex differentiation. Gonad develops to testis in ZZ male and to ovary in ZW female. To date, DMRT1 (Doublesex and mab-3 related transcription factor 1) is considered to be the best candidate gene in controlling the avian gonad differentiation. However, recent study showed that avian sex might be determined by cell autonomous independent of sex hormone signal. Therefore, sex determination gene does not only control the gonadal differentiation, but also control body cells. From this sense, DMRT1 is not the switch gene of avian sex determination. What is the switch factor of avian sex determination, and what is the mechanism of avian sex determination? This review discussed the current progresses on avian sex determination and differentiation from three aspects: W chromosome and ovary development, Z chromosome and testis development, and avian sex determination and cell autonomous.

Keywords: avian; sex determination; sex differentiation; cell autonomous; DMRT1

收稿日期: 2011-08-25; 修回日期: 2011-12-19

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973 计划)项目(编号: 2006CB102102), 国家高技术研究发展计划项目(863 计划)(编号: 2006AA10A121)和中国博士后基金项目(编号: 20100480837, 201104387)资助

作者简介: 杨秀荣, 博士, 博士后, 研究方向: 鸟类性别决定与分化机制。E-mail: yangxiurong09@163.com

通讯作者: 杨宁, 教授, 博士生导师, 研究方向: 分子数量遗传学及家禽育种。E-mail: nyang@cau.edu.cn

网络出版时间: 2012-3-16 15:52:02

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20120316.1552.012.html>

鸟类和哺乳动物的性别由性染色体决定,而性染色体上的关键基因则开启性别分化。性别开启后,一系列性别相关基因和性激素通路调节性腺分化成卵巢或睾丸^[1,2]。在脊椎动物,性别要么由环境因素、要么由遗传因素决定^[3]。鸟类和哺乳动物有确定的性染色体,为遗传性别决定。然而,鸟类的ZZ/ZW性染色体与哺乳动物的XX/XY性染色体是由不同的常染色体进化而来,鸟类缺乏哺乳动物睾丸决定基因(Sex-determining region Y, *SRY*)^[4,5]。在鸟类,ZW异型配子发育成雌性,ZZ同型配子发育成雄性^[1]。Z染色体上的*DMRT1*是睾丸发育的关键基因,但不是鸟类睾丸发育的开关基因,性别决定的开关基因尚未找到^[6]。鸟类性别决定机制迄今仍未阐明^[7]。

1 W 染色体与卵巢发育

根据W染色体的显性假说,鸟类W染色体上存在卵巢或雌性发育的显性因子,类似于哺乳动物Y染色体携带睾丸显性基因*SRY*^[8]。鸟类W染色体为微小染色体,而且W染色体含有大量的异染色质区,这些异染色质区大部分由重复序列组成,因此,鸟类W染色体上的功能基因较少。Yamada等^[9]对W染色体上新基因表达的研究发现,这些新基因能在早期鸡胚性腺中表达,但没有直接的证据证明这些基因在卵巢形成过程中起作用。*HINTW*(Histidine triad nucleotide binding protein-W linked)是目前为止在W染色体发现的唯一与性别相关的基因^[10,11]。*HINTW*基因特异的在雌性表达,编码产物为一个异常的3组氨基酸核酸结合蛋白,并作为一个显性负调控因子,干扰Z染色体上的*HINTZ*基因开启雄性的发育功能^[12,13]。最近采用异位过表达(Ectopic over-expression, EO)方法对*HINTW*的功能研究发现该基因并未在性腺分化过程中起作用,这提示如果*HINTW*基因的最终产物是蛋白质的话,*HINTW*可能不作为一个显性因子影响雌性鸡胚卵巢的发育^[14]。但到目前为止,在鸟类体内一直没有检测到*HINTW*蛋白的存在^[10,12,14],*HINTW*基因的最终功能产物可能是RNA分子。*HINTW*在体内的功能产物到底是蛋白质还是RNA分子还没有实验性的数据证实。如果*HINTW*的功能产物是RNA分子,那么*HINTW* RNA分子在鸟类性别决定与分化过程中起什么作用将是个非常吸引人的研究课题。

2 Z 染色体与睾丸发育

鸡Z性染色体有680多个已知的蛋白编码基因,49个新基因和至少45个非编码RNA基因^[15]。这些基因中任何一个都可能参与鸟类的性别决定和在下游性腺性别分化中具有功能。在Z染色体上,*DMRT1*是雄性性腺性别分化的最佳候选基因。*DMRT1*编码的蛋白质为一锌指样DNA结合域的转录因子。在鸟类包括平胸鸟类,在W染色体上找不到与*DMRT1*同源的基因。并且该基因在鸡胚雌雄性腺呈剂量差异表达,即在雄性的表达量约是雌性的2倍^[1]。Z染色体的剂量假说认为,*DMRT1*在雄性的高剂量或高表达量开启性腺的睾丸发育,而在雌性的低剂量或低表达开启性腺的卵巢发育。最近的研究表明^[6],在早期鸡胚中敲除*DMRT1*可引起雄性性腺的雌性化,影响睾丸组织的形成,雄性相关基因的表达和生殖细胞的分布。因为ZZ雄性可能具有更高的*DMRT1*剂量,这一高剂量的*DMRT1*开启睾丸的分化和关键保守的支持细胞分化因子如*SOX9*的表达,因此,这一结果从性腺的性别发育上支持了鸟类性别决定的Z染色体剂量假说。*DMRT1*在鸟类雄性性腺分化过程中具有关键的作用。然而,Zhao等^[16]的细胞移植实验发现,性腺前体细胞在性腺开始分化前(E2.0)已具有了性别鉴定的能力,这一过程先于性腺的性别分化。而*DMRT1*在雄性泌尿系统的表达量高于雌性组织,最早发生在E3.5,并且仅局限在中肾细的体腔表皮细胞^[6,13,17,18]。如果*DMRT1*在E2.0具有更高表达,则它可能将参与形态分化前的性别鉴定。或者在Z染色体存在另一连锁基因,或在W染色体上存在一抑制因子在性腺性别分化通路位于*DMRT1*的上游,并且这条通路位于性腺之外的性别鉴定。因此,性别的自主性不可能包括*DMRT1*,因为*DMRT1*不在泌尿生殖系统外的其他组织表达。根据第2种情况,另一个未知的性连锁基因是鸟类的性别决定因子,在性腺,这个基因将直接或间接影响*DMRT1*基因的性别2态性表达。

雄性高甲基化区(Male hypermethylated, MHM)是鸟类Z染色体上继*DMRT1*之后引起人们高度关注的一个区域。MHM位于Z染色体短臂靠近*DMRT1*的位置,转录模式与*DMRT1*不同,并不单一局限在生殖系统,而是在受精完成后,在雌性鸡胚全身各个

部位开始表达, 转录产物为非编码RNA (Non-coding RNA, ncRNA), 这些ncRNA堆集在转录位点附近^[19], 推测MHM ncRNA可能调节*DMRT1*的转录活性^[19]。而且, 研究发现在MHM附近发生剂量补偿的基因要显著高于Z染色体上的其他区域, 推测这是由MHM ncRNA介导的^[20]。注射外源pEGFPN1-cMHM表达质粒的研究中发现, 外源pEGFPN1-cMHM可改变公鸡体内性激素水平, 同时抑制睾丸中*DMRT1*基因的表达和上调*ERα*基因的表达^[21]。在成年性反转母鸡, MHM的甲基化程度随着性反转程度的增加而提高^[22]。特别是最近的研究表明, 鸡的性别决定基因不但可以在性腺, 而且可以在身体所有细胞间发挥功能^[16]。因此可以推测: MHM ncRNA可能调控鸟类的性别决定和分化过程; 在ZW雌性鸡胚, MHM ncRNA在性别分化前联合其他因子如雌激素共同作用于*DMRT1*从而开启ZW雌性鸡胚性腺的卵巢发育; 在ZZ雄性鸡胚, MHM的转录活性受某一未知因子抑制, 两条Z染色体上的*DMRT1*转录, 双倍剂量的*DMRT1*联合其他因子开启ZZ雄性鸡胚性腺的睾丸发育; MHM ncRNA可能参与雌雄性腺的形态分化。

3 性别决定的自主性

雄性为ZZ性染色体, 雌性为ZW性染色体。Z染色体是大染色体, 携带有睾丸决定关键候选基因*DMRT1*。较小的W染色体大都为异染质, 几乎不含有的意义的基因。1条或2条性染色体上的基因可能控制着胚胎期性腺的分化, ZZ雄性发育成睾丸, ZW雌性发育成卵巢。在鸟类, 具有双向分化潜能的性腺在E6.0开始形态的分化, 分化成卵巢或睾丸。在ZZ雄性鸡胚, 支持细胞分化成性腺的内在髓质部分, 而外部的皮质退化。相反ZW雌性性腺左侧发育成卵巢, 带有厚的皮质和空的骨髓, 右侧性腺不能形成厚的皮质而被退化。

传统性别发育的观点认为在鸟类和其他脊椎动物的胚胎发育过程中, 性腺发育成卵巢或睾丸, 然后, 性腺释放性激素雄性化或雌性化大脑和身体的其他部位。然而, 这种传统的观点与雌雄嵌合鸡的研究不符。Zhao等^[16]检测了3个自然发生的一半身体为雄性, 一半身体为雌性的雌雄嵌合鸡。雄性的一边有较大的胸肌、肉髯和脚刺; 而雌性一边的胸

肌较小, 没有肉髯和脚刺。在雄性的一边, 大多数为ZZ细胞; 而在雌性的一边有大约50%的ZW细胞。这一性别嵌合的机制可能是雌性减数分裂过程中不能排除极体, 产生了具有ZZ和ZW原核的受精卵, 因而具有雄性和雌性细胞的嵌合胚胎。嵌合体并不能用激素进行解释, 因为激素在身体的两边都是平等的被流动的。Zhao等^[16]认为, 身体一边到另一边的性别不同一定是由每个细胞的性染色体直接决定的。因为绿色荧光标记一个性别的细胞转到同性别或相反性别的早期性腺证实, 所有的细胞在发育时就知道了他们的早期性别。当在同一性别间移植时, 供体和宿主细胞都整合了。而当供体和宿主细胞是相反性别时, 整合现象没发生。综上所述, 这些数据强烈支持了鸟类的性别是由操纵全身每个细胞的遗传因子直接介导的。这一过程发生在性腺性别分化和激素释放之前。一个可能的原因是, 一种性别的细胞携带有一种细胞表面抗原, 这种表面抗原能阻止相反性别细胞的整合, 这种表面抗原同源于哺乳动物的H-Y抗原^[23]。事实上, H-W抗原存在于雌性鸟类^[24]。然而, 这种雌性特异性抗原是由性腺性别分化后始时(E6.5)雌激素介导的, 并且H-W抗原在性别分化前的性腺不表达^[25-27]。

嵌合体鸡的研究并没有排除类固醇激素, 如睾酮和雌激素的作用。雌激素在性别发育早期具有功能, 因为遗传雌性鸡胚如果雌激素合成酶即芳香化酶, 在发育早期(E3.0-4.0)被阻止, 鸡胚将发育成表型性别的公鸡^[28,29]。虽然最近的研究表明, 鸟类“性别决定”并不单单以性腺为中心^[16], 但性腺仍然是描述整个胚胎性别发育过程的最好器官。在哺乳动物的研究中也有相似的报道。而且, 在有袋哺乳动物, 雌性小袋的分化或雄性阴囊在性别分化前, 依赖于X染色体的剂量^[30]。嵌合体鸡的研究表明, Z染色体上基因的剂量可能是鸟类全身性别决定的基础: 雄性ZZ具有两倍Z染色体上基因的剂量, 而雌性ZW具有一倍Z染色体上基因的剂量。但是, 鸟类缺乏整个染色体范围的剂量补偿机制, 与哺乳动物X染色体发生完全的剂量补偿不同^[20,31,32]。因此, 与雌性相比, 雄性Z染色体上的大多数基因具有双倍剂量。而平胸鸟类Z和W染色体的大小基本一样, 携带基本相同的基因, 这一现象与Z染色体转录剂量的性别决定机制相矛盾。因此, 如果鸟类的性别是由

细胞自主性决定的, 那它可能依赖于Z染色体上一个或很少的特别基因, 或者W染色体上的显性基因, 这些基因必需在突胸和平胸都存在。如果不考虑细胞自主性或激素影响, 关键基因控制胚胎性腺发育成卵巢或睾丸是性别分化过程的一部分。

4 结语与展望

自从 Elbrecht 和 Smith(1992)用芳香化酶抑制剂 Fadrozole 处理雌性鸡胚, 成功获得性反转母鸡以来, 关于鸟类性别决定与性别分化机制的研究已开展了近 20 年, 但其机制仍然不清楚。研究者们纷纷从多渠道多方面对此开展了研究。从物种和染色体的进化上看, 鸟类的进化比较特殊, 性染色体的进化也处于一种过渡状态, 既具有低等动物性染色体的特征又具有高等哺乳动物性染色体的特征。鸟类单倍体的研究受到限制, 有些特殊的单倍体在鸟类是致死的。最近几年, 在阐明鸟类性别决定机制的研究方面已取得了显著进展, 鉴定了控制性腺命运的一些基因和调控网络。在鸡胚性腺, Z 染色体上的 *DMRT1* 是睾丸发育所必需的, 并且很可能控制着睾丸分化, 但不是鸟类性别决定的开关基因。而细胞移植的实验则提示, *DMRT1* 和细胞自主性性别决定可能受其它性别连锁的基因调控。虽然鸟类其他组织性别决定基因的靶基因还不清楚, 但 *DMRT1* 可能是性腺中拟性别决定基因的靶基因。在雌性, 关键的卵巢决定因子还不清楚。W 染色体上最有可能具显性效应的候选基因 *HINTW* 已被证明不是卵巢决定因子。鸟类和哺乳动物在性别决定基因的功能和转录活性调控上并不保守, 这使我们不能简单的用哺乳动物的性别决定机制来推理鸟类的性别决定机制。鸟类性别决定机制还有很多突出问题还有待解决。什么是胚胎早期操纵全身细胞自主性性别决定的本质? 什么因子活化 *DMRT1*? 什么是性别决定的靶基因? 这将成为将来研究的热点。

参考文献(References):

- [1] Smith CA, Sinclair AH. Sex determination: insights from the chicken. *BioEssays*, 2004, 26(2): 120–132. [DOI](#)
- [2] 胡锐颖, 李仲逵, 丁小燕. 鸟类性别决定机制及性别鉴定的研究进展. *遗传*, 2005, 27(2): 297–301. [DOI](#)
- [3] Barske LA, Capel B. Sex determination: An avian sexual revolution. *Nature*, 2010, 464(7286): 171–172. [DOI](#)
- [4] Berta P, Hawkins JB, Sinclair AH, Taylor A, Griffiths BL, Goodfellow PN, Fellous M. Genetic evidence equating SRY and the testis-determining factor. *Nature*, 1990, 348(6300): 448–450. [DOI](#)
- [5] Sinclair AH, Berta P, Palmer MS, Hawkins JR, Griffiths BL, Smith MJ, Foster JW, Frischauf AM, Lovell-Badge R, Goodfellow PN. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature*, 1990, 346(6281): 240–244. [DOI](#)
- [6] Smith CA, Roeszler KN, Ohnesorg T, Cummins DM, Farlie PG, Doran TJ, Sinclair AH. The avian Z-linked gene *DMRT1* is required for male sex determination in the chicken. *Nature*, 2009, 461(7261): 267–271. [DOI](#)
- [7] Chue J, Smith CA. Sex determination and sexual differentiation in the avian model. *FEBS J*, 2011, 278(7): 1027–1034. [DOI](#)
- [8] Smith CA, Roeszler KN, Hudson QJ, Sinclair AH. Avian sex determination: what, when and where? *Cytogenet Genome Res*, 2007, 117(1–4): 165–173. [DOI](#)
- [9] Yamada D, Koyama Y, Komatsubara M, Urabe M, Mori M, Hashimoto Y, Nii R, Kobayashi M, Nakamoto A, Ogiwara J, Kato J, Mizuno S. Comprehensive search for chicken W chromosome-linked genes expressed in early female embryos from the female-minus-male subtracted cDNA macroarray. *Chromosome Res*, 2004, 12(7): 741–754. [DOI](#)
- [10] Backstrom N, Ceplitis H, Berlin S, Ellegren H. Gene conversion drives the evolution of *HINTW*, an ampliconic gene on the female-specific avian W chromosome. *Mol Biol Evol*, 2005, 22(10): 1992–1999. [DOI](#)
- [11] Ceplitis H, Ellegren H. Adaptive molecular evolution of *HINTW*, a female-specific gene in birds. *Mol Biol Evol*, 2004, 21(2): 249–254. [DOI](#)
- [12] Hori T, Asakawa S, Itoh Y, Shimizu N, Mizuno S. Wpkci, encoding an altered form of PKCI, is conserved widely on the avian W chromosome and expressed in early female embryos: implication of its role in female sex determination. *Mol Biol Cell*, 2000, 11(10): 3645–3660. [DOI](#)
- [13] 郑江霞, 杨宁. 鸟类性别决定候选基因在性反转鸡胚中的表达. *遗传*, 2007, 29(1): 81–86. [DOI](#)
- [14] Smith CA, Roeszler KN, Sinclair AH. Genetic evidence against a role for W-linked histidine triad nucleotide binding protein (*HINTW*) in avian sex determination. *Int J Dev Biol*, 2009, 53(1): 59–67. [DOI](#)
- [15] http://www.ensembl.org/Gallus_gallus. [DOI](#)
- [16] Zhao D, McBride D, Nandi S, McQueen HA, McGrew MJ, Hocking PM, Lewis PD, Sang HM, Clinton M. Somatic

- sex identity is cell autonomous in the chicken. *Nature*, 2010, 464(7286): 237–242. [DOI](#)
- [17] Zhao Y, Lu H, Yu HS, Cheng HH, Zhou RJ. Multiple alternative splicing in gonads of chicken *DMRT1*. *Dev Genes Evol*, 2007, 217(2): 119–126. [DOI](#)
- [18] Smith CA, Katz M, Sinclair AH. *DMRT1* is upregulated in the gonads during female-to-male sex reversal in ZW chicken embryos. *Biol Reprod*, 2003, 68(2): 560–570. [DOI](#)
- [19] Teranishi M, Shimada Y, Hori T, Nakabayashi O, Kikuchi T, Macleod T, Pym R, Sheldon B, Solovei I, Macgregor H, Mizuno S. Transcripts of the MHM region on the chicken Z chromosome accumulate as non-coding RNA in the nucleus of female cells adjacent to the *DMRT1* locus. *Chromosome Res*, 2001, 9(2): 147–165. [DOI](#)
- [20] Melamed E, Arnold AP. Regional differences in dosage compensation on the chicken Z chromosome. *Genome Biol*, 2007, 8(9): R202. [DOI](#)
- [21] Yang XR, Zheng JX, Xu GY, Qu LJ, Chen SR, Li JY, Yang N. Exogenous cMHM regulates the expression of *DMRT1* and *ERα* in avian testes. *Mol Biol Rep*, 2010, 37(4): 1841–1847. [DOI](#)
- [22] Yang X, Zheng J, Xu G, Qu L, Chen S, Li J, Yang N. Methylation status of cMHM and expression of sex-specific genes in adult sex-reversed female chickens. *Sex Dev*, 2011, 5(3): 147–154. [DOI](#)
- [23] Wachtel SS. Conservatism of the H-Y/H-W receptor. *Hum Genet*, 1981, 58(1): 54–58. [DOI](#)
- [24] Wachtel SS, Wachtel GM, Nakamura D, Gilmour D. H-Y antigen in the chicken. *Differentiation*, 1983, 23(Suppl.): S107–S115. [DOI](#)
- [25] Muller U, Zenzes MT, Wolf U, Engel W, Weniger JP. Appearance of H-W (H-Y) antigen in the gonads of oestradiol sex-reversed male chicken embryos. *Nature*, 1979, 280(5718): 142–144. [DOI](#)
- [26] Koo GC, Allen HL, Long RA, Serio-Dunn R, Goggin B, Weppelman RM. Effect of tamoxifen on H-Y antigen expression and gonadal development in chicken embryos. *Differentiation*, 1985, 29(2): 140–144. [DOI](#)
- [27] Ebensperger C, Drews U, Mayerová A, Wolf U. Serological H-Y antigen in the female chicken occurs during gonadal differentiation. *Differentiation*, 1988, 37(3): 186–191. [DOI](#)
- [28] Elbrecht A, Smith RG. Aromatase enzyme activity and sex determination in chickens. *Science*, 1992, 255(5043): 467–470. [DOI](#)
- [29] Yang X, Zheng J, Na R, Li J, Xu G, Qu L, Yang N. Degree of sex differentiation of genetic female chicken treated with different doses of an aromatase inhibitor. *Sex Dev*, 2008, 2(6): 309–315. [DOI](#)
- [30] Glickman SE, Short RV, Renfree MB. Sexual differentiation in three unconventional mammals: spotted hyenas, elephants and tammar wallabies. *Horm Behav*, 2005, 48(4): 403–417. [DOI](#)
- [31] Kuroda Y, Arai N, Arita M, Teranishi M, Hori T, Harata M, Mizuno S. Absence of Z-chromosome inactivation for five genes in male chickens. *Chromosome Res*, 2001, 9(6): 457–468. [DOI](#)
- [32] Arnold AP, Itoh Y, Melamed E. A bird's-eye view of sex chromosome dosage compensation. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2008, 9: 109–127. [DOI](#)