

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2012.01223

孕酮受体介导哺乳动物雌性生殖活动的分子机理

康岳华¹, 张宝云¹, 王凭青¹, 储明星², 赖平¹, 蔡冰杰¹, 宋文静¹

1. 重庆大学生物工程学院, 重庆 400030;

2. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 农业部畜禽遗传资源与种质创新重点实验室, 北京 100193

摘要: 孕酮作为一种甾体激素, 在哺乳动物雌性生殖活动的调控中起着关键作用。孕酮的生理功能依赖于核孕酮受体介导的基因组效应和膜孕酮受体介导的非基因组效应, 这两种效应共同介导了孕酮在各种雌性生殖活动中的不同作用, 包括排卵、胚胎植入、妊娠维持、分娩启动和乳腺发育等。近年来, 通过基因芯片技术筛选出大量的孕酮下游靶基因, 但至今未能在这些基因的启动子区域上找到传统意义上的孕酮响应元件, 故推测核孕酮受体调节下游靶基因转录活动的方式可能不同于传统的类固醇核受体。基于目前最新的研究成果, 文章综述了在哺乳动物雌性生殖活动中, 孕酮受体介导各种生理效应的分子机理。

关键词: 孕酮; 孕酮受体; 生殖功能; 基因组效应

Progesterone receptor-mediated molecular mechanisms on mammalian female reproduction

KANG Yue-Hua¹, ZHANG Bao-Yun¹, WANG Ping-Qing¹, CHU Ming-Xing², LAI Ping¹, CAI Bing-Jie¹, SONG Wen-Jing¹

1. Bioengineering Institute of Chongqing University, Chongqing 400030, China;

2. The Key Laboratory of Farm Animal Genetic Resources and Germplasm Innovation of Ministry of Agriculture, Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China

Abstract: The steroid hormone, progesterone, plays a critical role in regulation of mammalian female reproductive activities. Besides the non-genomic activity of progesterone on target cells, its main physiological effect is caused through genomic action by the ligand-dependent nuclear progesterone receptor. The genomic and non-genomic effects of progesterone collectively mediate various female reproductive functions, including ovulation, embryo implantation, maintenance of pregnancy, initiation of parturition, and development of mammary gland. Although a large number of candidate genes regulated by progesterone have been identified by gene chip technology, the traditional progesterone response elements located in the promoter region of downstream target genes havenot been detected. Accordingly, it was suggested thatthe mechanism of nuclear progesterone receptors regulating transcription may be different from other nuclear steroid receptors. In this review, we summarized the mechanisms of progesterone receptors mediating the physiological effects in various female re-

收稿日期: 2012-01-12; 修回日期: 2012-02-17

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项(编号: CARS-39)和重庆市自然科学基金重点项目(编号: 2009BA1066)资助

作者简介: 康岳华, 硕士, 专业方向: 分子遗传学, E-mail: kangyuehua@126.com

通讯作者: 王凭青, 博士, 教授, 研究方向: 分子生物学与基因工程。E-mail: wang_pq@21cn.com

网络出版时间: 2012-7-4 15:02:56

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20120704.1502.001.html>

productive activities.

Keywords: progesterone; progesterone receptor; reproductive function; genomic action

孕酮作为一种主要的性激素,在哺乳动物雌性生殖活动中发挥着至关重要的作用^[1]。例如,孕酮对于卵泡壁的破裂必不可少;是维持妊娠和启动分娩的关键因素;与雌激素共同作用促进乳腺发育。孕酮的生理作用除了依赖于核孕酮受体(nuclear PGR, nPGR)介导的基因组效应之外,膜孕酮受体(membrane PGR, mPGR)介导的非基因组效应也有报道^[2]。

1 孕酮的基因组和非基因组效应

最近 10~20 年的研究表明孕酮的功能由一系列的孕酮受体介导,包括经典的核孕酮受体所介导的基因组效应,以及一系列膜结合的孕酮受体介导的非基因组效应^[3]。

1.1 基因组效应

孕酮的基因组效应能通过直接或间接机制来调节。直接机制由nPGR介导,nPGR是配体活化转录因子,能够特异性地识别位于靶基因启动子区域的孕酮响应元件(Progesterone responsive element, PRE)。因此,nPGR的主要特征是它们响应于激素结合或者其他信号之后,能够与DNA相互作用,然后募集多蛋白复合体并控制基因转录^[4]。在人类中,nPGR主要有两种亚型,分别是PGR-A(83 kDa)和PGR-B(99 kDa),它们是由位于 11 号染色体q22-q23 上的同一个基因编码,受两个不同的启动子控制。虽然也有报道表明存在其他nPGR变异体,它们是通过选择性起始翻译、外显子剪接、内含子插入和外显子缺失等方式产生的,但是它们在大多数组织中表达水平很低,生理学意义也不完全清楚^[2,5]。PGR-B的启动子、转录和翻译起始位点位于PGR-A的上游,因此PGR-A是PGR-B的截短形式(N端缺失 165 个氨基酸)。和其他核类固醇激素受体一样,PGR-A和PGR-B都有DNA结合域(DNA-binding domain, DBD)和配体结合域(Ligand-binding domain, LBD)以及不同的功能元件(与辅调节因子(Coregulator, CR)相互作用以调节转录活性)。PGR-A和PGR-B活性的不同

部分是因为B亚型N端额外多出来的转录激活域AF-3。在人类乳腺癌细胞系中,除了PGR-A和PGR-B之外,还存在第3种亚型,即PGR-C。PGR-C亚型的DBD域缺少一个锌指,因此也导致相应的转录活性的缺失。该亚型还包含一个完整的域,它负责PGR-C在细胞核中的二聚化和定位。PGR-C具有和合成孕激素结合的能力,并且跟nPGR拮抗剂的结合能力与PGR-A和PGR-B是一样的。PGR-C的作用目前还不完全清楚,但是它能与PGR-A和PGR-B形成异二聚体,并且通过这个方法调节适当基因的转录^[2,6,7]。

目前,PGR-A和PGR-B影响基因表达的配体活化核受体作用路径已经得到很好研究。在非活化状态时,nPGR在细胞质中以复杂的蛋白质-伴侣蛋白复合物的形式存在。孕酮结合引起nPGR构象改变,使其从伴侣蛋白上解离。配体结合的nPGR形成二聚体并转移至核内,然后与靶基因启动子上特异的PRE结合。nPGR二聚体也和辅调节因子和其他的转录因子(Transcription factor, TF)相互作用形成一个转录复合物以募集基本的转录装置来影响基因表达(图1)。细胞类型特异性辅调节因子影响PGR-A和PGR-B的转录活性,这也导致了孕酮功能的组织特异性。

PGR-A和PGR-B也可以通过类固醇作用的核外模式来间接影响基因表达,即配体结合的受体激活细胞质信号级联来调节转录因子的活性。PGR-A和PGR-B在它们的N端有富含脯氨酸的序列,这些氨基酸序列可以跟细胞质中的甾体激素受体辅激活因子(Steroid receptor coactivator, Src)酪氨酸激酶复合体反应并使之活化,然后启动一个激酶级联反应,最终激活胞外信号调节激酶(Extracellular regulated protein kinases1 and 2, ERK-1/2)^[8]。活化的ERK转移进细胞核内,通过影响多种转录因子的活性来影响基因表达^[9](图1)。

到现在为止,研究的所有孕酮靶组织都共表达PGR-A和PGR-B,二者的相对含量与组织类型和病

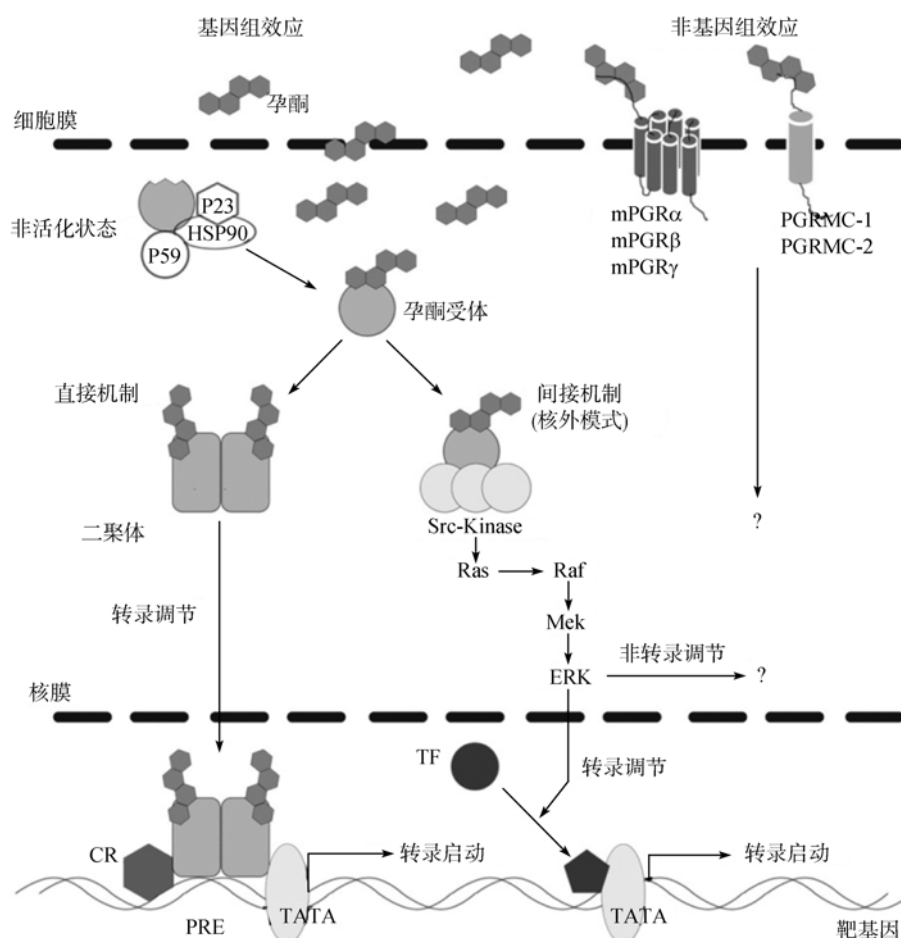


图 1 孕酮作用的基因组效应和非基因组效应

理学条件相关, 因而孕酮的基因组效应被认为是A、B亚型联合作用的结果。早期利用瞬时转染技术在不同细胞系中研究了PGR-A和PGR-B的转录活性, 其中, 通过分别构建A、B两种亚型的表达质粒来控制PGR-A/PGR-B比率, 用含有PRE的报告质粒来检测转录活性。这项研究表明, 在孕酮存在的情况下, PGR-B有很强的转录活性; 而PGR-A只有极微弱的转录活性, 并根据其相对于PGR-B的含量而抑制PGR-B的转录活性^[10~13]。这些结果表明PGR-A和PGR-B介导孕酮作用时的双重性: (1)孕酮的基因组效应主要由PGR-B介导; (2)PGR-A是PGR-B转录活性的一个内源抑制剂; (3)孕酮的基因组效应与两种亚型的比率(PGR-A/PGR-B)负相关。然而, 关于PGR-A和PGR-B对内源靶基因作用的最新研究却对早期的观点提出了挑战。在那些仅表达PGR-A或PGR-B、或者二者都表达的不同细胞系中进行全基因表达分析, 发现与配体结合后, 这两种nPGR亚型

都有转录活性, 且在不同的细胞系中影响不同基因群的表达^[14~16]。例如, 在T47D乳腺癌细胞系中, Richer等^[14]发现在仅表达PGR-B的细胞中受孕酮调节的基因数量远远多于仅表达PGR-A的、且几乎没有重叠的基因。在一个类似的研究中, Graham等^[15]研究了PGR-A/PGR-B比率对下游基因表达的影响, 并发现等量表达PGR-A和PGR-B的细胞相对于PGR-A比PGR-B多出5倍的细胞而言, 受孕酮调节的基因并没有显著的不同。他们认为假定的PGR-A对PGR-B的抑制效应不是发生在内源靶基因的启动子上。PGR-A在许多靶基因启动子上确实有转录活性, 且这些靶基因不同于PGR-B的靶基因, 同时PGR-A/PGR-B比率在数量和性能上对下游基因表达的影响存在细胞特异性。因此, 我们很自然地认为, 孕酮的功能性响应是PGR-A和PGR-B的基因组效应的综合反应, 是这两种亚型靶基因产物综合效应的最终结果。这个系统实现了在靶细胞水平上很好地

控制孕酮作用,即通过调节PGR-A和PGR-B的绝对值和相对量,并结合细胞特异性的辅调节因子,以及控制转录装置与靶基因启动子区域的结合能力等途径来调节孕酮对靶细胞的控制作用。

1.2 非基因组效应

与基因组效应不同的是,孕酮非基因组效应的响应时间往往只有几秒钟或几分钟,因而也称快速孕酮反应。现在已经提出了一些标准来帮助区别非基因组和基因组的类固醇效应。一般来说,非基因组效应具有以下几个特点:(1)作用非常快(仅为几秒钟或数分钟),不需要进行转录激活和蛋白质合成;(2)不能被转录或翻译的抑制剂中断;(3)有些时候能够在分离的细胞膜上或者不含细胞核的细胞中观察到,例如红细胞、血小板和精子;(4)使用共价偶联的方法使激素不能通过细胞膜,也能诱导非基因组效应;(5)一般不能被核类固醇受体拮抗剂抑制^[4]。

孕酮诱导的非基因组效应被认为是由多种膜孕酮受体介导。目前已经被鉴定的mPGR家族包括:(1)mPGR α 、mPGR β 和mPGR γ (~40 kDa),它们属于G蛋白偶联受体家族,结构上包含了7个跨膜域和一个胞外孕酮结合域。有代表性的是,这些受体能激活百日咳毒素敏感的抑制性G蛋白(G_i),然后导致腺苷酸环化酶活性的下降^[17-18];(2)孕酮受体膜元件1/2 (Progesterone receptormembrane component1 and 2, PGRMC-1/2)(26~28 kDa),它们与酪氨酸激酶偶联受体极为相似,包含了一个单跨膜域和一个胞外孕酮结合域^[3];(3)诸如催产素受体(Oxytocin receptor, OXTr)和 γ -氨基丁酸A型(Gamma-amino butyric acid-A [GABA_A] receptor)受体的一些已知膜受体,这些受体除了它们原来已知的功能外,似乎还能结合孕酮或它的代谢产物。除此之外,孕酮的非基因组效应也可以由nPGR通过非转录的核外作用介导,配体活化的nPGR直接激活细胞内信号分子^[3](图1)。

历史上研究孕酮的非基因组效应主要有两种模式系统,其中一种是人类精子的顶体反应,另一个是非洲爪蟾卵母细胞成熟的诱导。在人类精子中,孕酮诱导细胞外 Ca^{2+} 的快速内流和 Cl^- 的外流,这两者对于精子的顶体反应都是必不可少的^[19]。由于精子细胞无法进行基因转录和蛋白质翻译活动,这表明在精子中存在着另一种不需要nPGR参与的信

号路径。然而,参与该路径的分子却一直没有鉴定出来^[20]。直到最近,来自德国和美国的两个独立研究小组^[21,22]分别使用光学和电生理学技术以及膜片钳技术证明,孕酮能够强力激活位于人类精子鞭毛上的一种特异性 Ca^{2+} 通道(CatSper,近来发现的一种仅存于精子鞭毛上的阳离子通道)。这种激活作用能够被 Ca_v 离子通道抑制剂NNNC55-0396 中断,却不能被RU486(米非司酮,一种nPGR的竞争性拮抗剂)所抑制,这说明CatSper的孕酮结合位点与nPGR至少在药理学上是不同的^[20]。令人惊讶的是,他们的实验条件决定了不可能存在细胞内 Ca^{2+} 、ATP或GTP,这表明那个不需要nPGR参与的信号路径同样也不需要G蛋白、蛋白质激酶或第二信使的参与。而这与之前的观点十分矛盾,之前人们一直认为cAMP的 Ca^{2+} 依赖性升高和接下来精子中一些蛋白质的磷酸化介导了响应于孕酮的精子顶体反应^[19]。虽然他们的实验结果是如此的鼓舞人心,但是,值得注意的是,他们目前尚未在CatSper上鉴定出孕酮的结合位点,因而也不能肯定CatSper就是孕酮的一种新型膜受体;同时,他们的实验结果目前仅在人类精子中成立,至少小鼠的CatSper就不能被孕酮激活,这表明调节精子 Ca^{2+} 内流的机制可能有物种差异^[22]。

在非洲爪蟾的卵母细胞中,孕酮能诱导一系列的反应,包括了细胞内 Ca^{2+} 的升高,细胞内pH值的突然升高和细胞膜导电性的降低。孕酮能使停滞在 G_2 期的卵母细胞恢复减数分裂,这个过程包括了环腺苷酸酶的抑制,以及接下来引起的胞内cAMP水平的降低。值得注意的是,卵母细胞成熟也能被糖皮质激素、雄激素和盐皮质激素以及少量的米非司酮有效地诱导^[4]。目前,已经毋庸置疑地证明了类固醇介导的卵母细胞成熟只是非基因组效应。在卵母细胞成熟过程中,转录几乎被完全抑制,并且转录抑制剂不会影响卵母细胞成熟的比率或潜能。而且,卵母细胞的成熟甚至能在无核的非洲爪蟾卵母细胞中发生^[23]。

2 PGR 在雌性生殖中的作用

2.1 排卵

到目前为止,已有大量研究证明孕酮作用对于排卵的不可或缺。用RU486 处理未怀孕的定期发情

的雌性小鼠^[24]或大鼠^[25-27], 能够抑制或减少其卵泡的破裂。*nPGR*基因敲除(*PGR* knockout, *PGRKO*)小鼠卵巢虽然能够正常发育到排卵前期, 但是表现出完全不排卵性状, 即使利用促性腺激素给予超排卵刺激, 卵母细胞仍然停留在未破裂的卵泡中。尽管卵泡破裂失败, 但是*PGRKO*小鼠排卵前卵泡的颗粒细胞仍然能够响应促黄体激素(Luteinizing hormone, LH)峰的刺激, 例如: 仍然可以观察到卵丘膨胀现象; 并且LH峰仍然能正常诱导颗粒细胞中环氧化酶-2(Cyclooxygenase-2, COX-2)(一种能催化前列腺素产生的酶, 且对于排卵是必须的)的表达上调; 以及黄体化标志分子P450 侧链解链酶的正常表达, 表明颗粒细胞仍然能够正常地黄体化^[28]。因此, *nPGR*基因的表达虽然对于卵泡的生长和发育以及颗粒细胞的分化和黄体化等不是必须的, 但是对于排卵前卵泡的破裂和卵母细胞的释放绝对是必不可少。单独敲除*PGR-A*基因的小鼠也几乎不排卵, 但并不完全消失; 而*PRBKO*小鼠的排卵则基本不受影响^[29]。这表明, 孕酮诱导的卵泡壁破裂主要由*PGR-A*介导。

一直以来, 排卵被看做是一个剧烈的炎症反应过程, 因而那些参与炎症反应的关键分子和信号通路也可能在排卵过程中发挥着关键作用^[30]。近年来, 通过联合使用基因芯片技术和不同基因敲除小鼠模型, 筛选出了大量与排卵相关的*nPGR*下游基因。Sriraman等^[31]采用腺病毒载体传递基因系统, 在体外研究了小鼠卵巢壁颗粒细胞中这两种亚型的基因表达谱, 排除了LH峰介导的信号级联对*nPGR*下游基因筛选的干扰, 并鉴定出约 50 种表达差异 2 倍以上的下游基因。例如, *ADAMTS-1*(Adisintegrin and metalloprotease with thrombospondin type 1 motifs)^[32]、*Ctsl*(Cathepsin-L)^[32]、*Prkg2*(cGMP-dependent protein kinase II)^[33]、*Edn2*(Endothelin 2)^[34]、*Adam8* (Adisintegrin and metalloproteinase 8)^[35]和*Pparg*(Peroxisome proliferator-activated receptor gamma)^[36]等。同时, 前人研究已经证明这些基因在许多组织中介导或调控炎症反应, 这也进一步支持了关于排卵机制的炎症假说^[30]。

除了*nPGR*之外, 一些研究表明小鼠卵巢壁颗粒细胞可能也存在一些膜结合的孕酮受体。这些受体与配体结合后能增强蛋白激酶G的活性, 并抑制壁颗粒细胞的有丝分裂和细胞凋亡, 但是这些受体在

排卵中的作用还没有研究清楚^[31, 37]。

2.2 胚胎植入

在妊娠早期, 活性胚胎附着于子宫上皮并侵入子宫基质, 以及基质发生的蜕膜化等都是妊娠成功启动的必要条件。而孕酮在胚胎植入过程中发挥着至关重要的作用。通过对不同的基因敲除小鼠模型的研究发现, *PGRKO*雌性小鼠的不育是胚胎植入和子宫蜕膜化的失败以及对雌二醇和孕酮信号响应异常造成的^[38]。*PRBKO*雌性小鼠与*PGRKO*的表现型一致; 相反, *PRBKO*雌性小鼠能够生育^[29, 39, 40]。这说明*PGR-A*是孕酮子宫功能的主要介导者。在人类月经周期的增殖期中, *nPGR*两种亚型在子宫上皮和基质中都有表达; 而进入分泌期或者在蜕膜化期间, *PGR-B*在子宫上皮和基质中的表达都下调, 而*PGR-A*的表达在基质中依然保持不变^[41]。这也表明, 在人类蜕膜化过程中, 主要由*PGR-A*介导孕酮的功能。更进一步, 体外实验已经证明*PGR-A*对于蜕膜标志物IGFBP-1 有比*PGR-B*更强的激活作用^[42]。然而, 我们依然不能忽视*PGR-B*的潜在作用, 因为*PGR-A/PGR-B*比率对于子宫内膜功能障碍有重要影响, 例如复发性早期流产、子宫内膜异位症和子宫内膜癌^[41]。

孕酮和*nPGR*是通过激活不同分子的级联反应来调节胚胎植入和蜕膜化。在围植入期(Peri-implantation), *nPGR*通过诱导大量配体的表达以及激活大量相应的信号通路来传递信号。其中一些已经鉴定出的在生殖中发挥重要作用的配体包括: *Ihh*(Indian hedgehog), 骨形成蛋白 2(Bone morphogenetic protein-2, Bmp-2), *Wnt-4*(Wingless-related MMTV integration site-4), 肝素结合EGF样生长因子(ErbB ligand and heparin-binding epidermal growth factor, HB-EGF)。Lee等^[43]通过在雌性小鼠*nPGR*阳性子宫细胞中条件性敲除*Ihh*基因, 充分证明*Ihh*是子宫中孕酮功能的主要调节因子, 并且它介导的子宫上皮基质交互作用对于胚胎植入是必须的。除了配体诱导或者其他方式之外, *nPGR*也能通过诱导信号调节因子或转录因子的表达来影响信号通路。其中, 包括丝裂原诱导因子 6(Mitogen inducible gene 6, Mig6)衔接蛋白, 细胞周期蛋白D3 和p53 细胞周期调节因子, 以及CCAAT/增强子结合蛋白β(CCAAT/Enhancer-binding protein-β)、Hand2 和鸡卵蛋白上游启动子转

录因子 (Chicken ovalbumin upstream promoter transcription factor, COUP-TF) 转录因子^[41]。例如, 孕酮抑制雌激素介导的子宫上皮细胞增殖是胚胎成功植入的必要条件。Li等^[44]通过在小鼠子宫中条件性敲除*Hand2* 基因, 证明在子宫基质中孕酮诱导表达的*Hand2* 能够抑制一些成纤维细胞生长因子 (Fibroblast growth factor, FGF) 的表达, 进而抑制 FGF 以旁分泌模式诱导的子宫上皮细胞增殖。

2.3 妊娠维持和分娩启动

孕酮主要通过维持子宫的静息状态来维持妊娠。抗孕激素诱导分娩的能力证明了nPGR信号途径对于确保子宫肌层在妊娠过程中维持静息状态的重要性^[4]。PGR-B在妊娠早期的表达较高, PGR-A主要在妊娠后期表达, 且PGR-A能抑制PGR-B的表达。故推测孕酮静息子宫平滑肌的基因组效应由PGR-B介导, 而PGR-A起着调控PGR-B功能的作用^[45,46]。

相反, 孕酮对子宫肌层静息作用的“撤退”则导致分娩的启动。因此, 孕酮水平的下降是很多哺乳动物分娩启动的前提条件。然而, 有些哺乳动物包括灵长类在分娩时母源孕酮水平没有发生剧烈下降^[46]。分娩的启动被认为是子宫肌层对孕酮响应性下降的结果, 一般称为“孕酮的功能性撤退 (Functional Progesterone Withdrawal)”^[47-49]。即上调收缩相关蛋白 (Contraction associated proteins, CAP) 的表达, 使子宫肌层由静息状态转变为收缩状态。这些收缩相关蛋白包括催产素及其受体、环氧合酶-2、前列腺素 $F_{2\alpha}$ 受体 (Prostaglandin $F_{2\alpha}$ [PGF $_{2\alpha}$] receptor, FP)、缝隙连接蛋白 (Gap-junction proteins) (如连接蛋白 43 [connexin-43]) 以及离子通道等^[4]。

存在争议的是, 分娩的启动既可能是因为一系列刺激子宫收缩的分子路径的激活, 又可能是由于维持子宫松弛机制的丧失^[50]。子宫肌层收缩性的物理化学基础是子宫肌层平滑肌细胞中肌球蛋白和肌球蛋白的相互作用, 这种相互作用是由 Ca^{2+} /钙调蛋白依赖性激酶——肌球蛋白轻链激酶 (Myosin light chain kinase, MLCK) 控制的。MLCK磷酸化肌球蛋白轻链 (Myosin light chain, MLC) 并使之活化, 最后引起收缩; 相反, 肌球蛋白磷酸酶对MLC的去磷酸化会导致平滑肌细胞的松弛。同时, 丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK) ERK-

1/2 引起的MLC磷酸化增强, 和肌球蛋白磷酸酶通过环核苷酸类导致的去磷酸化增强对这个循环也有重要的调控作用。这也解释了妊娠期间高水平的cAMP所引起的松弛效应^[51,52]。孕酮能够抑制磷酸二酯酶 4 (Phosphodiesterase, PDE4) 活性, 而PDE4 能够水解cAMP, 因此维持了cAMP的高浓度^[53]。

MLC的磷酸化也可以由有生物活性的溶血磷脂素类鞘氨醇 1-磷酸 (Sphingosine 1-phosphate, Sph-1-P) 和溶血磷脂酶来增高^[54,55]。鞘氨醇到Sph-1-P的瞬时磷酸化由鞘氨醇激酶 (Sphingosine kinase, SphK) 催化^[56]。孕酮诱导SphK1 在妊娠期间的大鼠子宫和体外培养的大鼠子宫肌层细胞中表达, 并依次增强MLC磷酸化和提高细胞周期蛋白D1 的水平^[57]。虽然孕酮诱导了细胞周期调节者——细胞周期蛋白D1 的表达 (在乳房细胞中也存在), 这可以部分解释妊娠期间子宫肌层的细胞增殖现象, 但是孕酮介导的MLC磷酸化对于妊娠的维持是不利的, 这在妊娠期间是必须被抑制的。因而, 解除这种抑制作用的信号释放可能参与了接下来的分娩启动。尽管孕酮介导的MLC磷酸化 (经由SphK1 表达的诱导) 需要几个小时^[57], 但是更多的不依赖于蛋白质重新合成的快速非基因组孕酮效应已有报道。在取自孕子宫下段的肌肉条中, 孕酮能通过 Ca^{2+} 依赖性的途径来增强收缩性的频率和强直性^[58]。然而, 关于孕酮对子宫肌肉条收缩性的频率、振幅、持续时间和范围活性的准确作用的报道存在很大的矛盾^[59], 这可能是部分因为人类子宫肌层是一个非均匀组织, 分为外侧和功能不同的内侧 (内侧一般称为子宫结合带)^[60]。

分娩在PRBKO小鼠中是正常的, 而PRAKO小鼠的不育却阻碍了PGR-A在分娩过程中的功能分析^[29,40]。在人类中, PGR-B似乎对维持子宫肌膜的静息状态有重要作用, 而PGR-A的上调促进子宫肌层进入收缩状态^[11]。其他一些解释分娩启动的机制包括了类固醇受体辅激活因子的下调^[61], 还有截短的nPGR亚型的诱导和mPGR的不同表达。然而, 即使“孕酮的功能性撤退”假说很吸引人, 但到目前为止, 该假说还缺乏一些关键性的科学或临床证据的支持。

2.4 乳腺发育

孕酮、雌激素、催乳素 (Prolactin, PRL) 以及局部

作用生长因子对于出生后乳腺的发育非常重要。在人类中, 雌激素诱导导管的延伸和分支, 而孕酮促进导管二叉分支端的增加和泌乳小叶腺泡的分化。在妊娠过程中, 孕酮和PRL促进小叶腺泡的增殖和分化^[39, 62]。PGRKO小鼠的表型分析已经证明孕酮功能的缺失会导致导管增生和小叶腺泡分化的失败。因此, 孕酮在乳腺中的作用与其在子宫内膜上皮细胞发育过程中的抗增殖效应是相反的。在乳腺组织中, 两种孕酮受体亚型均有表达。PRAKO小鼠和野生型小鼠的乳腺均能良好发育。然而, PRBKO小鼠的乳腺在妊娠过程中不能正常发育。这与导管和小叶的上皮细胞的增殖被抑制以及细胞凋亡被促进有关。因此, PGR-A的作用可能是抑制乳腺中的上皮细胞被孕酮和雌激素所诱导的过度增生^[39, 63]。

nPGR 在乳腺上皮和基质中都有表达, 为了确定在上皮细胞中表达的 nPGR 对于乳腺发育的作用, 通过清洁脂肪垫移植实验, 研究发现上皮内源性的 nPGR 对于导管的侧边分支是必需的。即在雌性小鼠出生 3 周后, 将腹股沟处的两侧乳腺脂肪垫上的乳腺上皮组织去除干净, 在其中一侧的脂肪垫上植入敲除 nPGR 基因的乳腺上皮, 而在另一侧则植入野生型(Wild type, WT)的乳腺上皮。nPGR 基因敲除的上皮移植物与野生型移植物相比, 虽然生长正常, 但是侧边分支失败, 且不能形成腺泡, 这表明上皮中表达的 nPGR 对于侧边分支和腺泡形成是必需的。通过全标本包埋显微镜检查发现, 在基质中敲除 nPGR 基因不会影响乳腺的正常发育。nPGR 的两种亚型在小鼠乳腺中都有表达。在小鼠中分别敲除这两种亚型, 进一步证明了 PGR-B 对于乳腺的正常发育和分化是必需的, 并不需要 PGR-A 的功能表达。

乳腺上皮由位于内层的腔细胞和紧挨基底层的包围着腔细胞的基底细胞组成。其中一些基底细胞被认为包含有祖细胞, 另外一些纺锤形的基底细胞由于具有平滑肌细胞性质而被称为肌上皮细胞。大约 30%的腔上皮细胞表达ER α 和nPGR, 并且在人类乳腺上皮细胞中大部分共表达。近来研究证明, 孕酮通过两种不同的机制诱导乳腺上皮细胞增殖。第一, 一小部分nPGR阳性细胞通过一种依赖于细胞周期蛋白D1 的机制增殖; 第二, 大部分nPGR阴性细胞通过一种依赖于RANKL的机制增殖。Wnt-4 对于

孕酮诱导的侧边分支是必须的, 但是RANKL和Wnt-4 之间的相互作用, 以及二者是否在nPGR阳性细胞中共表达都尚待研究^[64, 65]。

3 结 语

目前, 虽然已鉴定出了大量的nPGR下游基因, 但是大部分还没有确定其具体生理功能。更为重要的是, 在这些已经鉴定出来的下游基因启动子区域上, 至今还没有检测到传统意义上的nPGR顺式作用元件, 故一些学者对于nPGR以二聚体形式结合靶基因启动子区域上PRE的传统观点纷纷提出质疑。例如, Robker等^[28]猜测nPGR是作为SP1/SP3 的辅调节因子来调节下游基因的表达; 而Jacobsen和Horwitz^[66]通过对目前已知的nPGR下游基因启动子区域进行序列分析, 推测nPGR是以单体形式结合在PRE半位点上。然而, 到目前为止, 这些假说仍然缺乏有说服力的实验证据来证明。而上述问题的解决, 则很可能带来孕酮作用分子机理研究的突破性进展, 有助于理解孕酮基因组效应与非基因组效应是如何共同决定孕酮作用的物种、组织和细胞特异性, 更能为诊断和治疗人类生殖系统疾病提供新的理论和方法。

参考文献(References):

- [1] 张宝云, 狄冉, 储明星, 王凭青, 鲁浪. 孕酮受体基因的研究进展. 遗传, 2008, 30(12): 1536–1544. DOI
- [2] Rekawiecki R, Kowalik MK, Kotwica J. Nuclear progesterone receptor isoforms and their functions in the female reproductive tract. *Pol J Vet Sci*, 2011, 14(1): 149–158. DOI
- [3] Mesiano S, Wang Y, Norwitz ER. Progesterone receptors in the human pregnancy uterus: do they hold the key to birth timing? *Reprod Sci*, 2011, 18(1): 6–19. DOI
- [4] Gellersen B, Fernandes MS, Brosens JJ. Non-genomic progesterone actions in female reproduction. *Hum Reprod Update*, 2009, 15(1): 119–138. DOI
- [5] Hirata S, Shoda T, Kato J, Hoshi K. Isoform/variant mRNAs for sex steroid hormone receptors in humans. *Trends Endocrinol Metab*, 2003, 14(3): 124–129. DOI
- [6] Taylor AH, McParland PC, Taylor DJ, Bell SC. The cytoplasmic 60 kDa progesterone receptor isoform predominates in the human amniochorion and placenta at term. *Reprod Biol Endocrinol*, 2009, 7(1): 22. DOI

- [7] Wei LL, Hawkins P, Baker C, Norris B, Sheridan PL, Quinn PG. An amino-terminal truncated progesterone receptor isoform, PRe, enhances progestin-induced transcriptional activity. *Mol Endocrinol*, 1996, 10(11): 1379–1387. [DOI](#)
- [8] Leonhardt SA, Boonyaratankornkit V, Edwards DP. Progesterone receptor transcription and non-transcription signaling mechanisms. *Steroids*, 2003, 68(10–13): 761–770. [DOI](#)
- [9] Yoon S, Seger R. The extracellular signal-regulated kinase: multiple substrates regulate diverse cellular functions. *Growth Factors*, 2006, 24(1): 21–44. [DOI](#)
- [10] Giangrande PH, Kimbrel EA, Edwards DP, McDonnell DP. The opposing transcriptional activities of the two isoforms of the human progesterone receptor are due to differential cofactor binding. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(9): 3102–3115. [DOI](#)
- [11] Merlino AA, Welsh TN, Tan H, Yi LJ, Cannon V, Mercer BM, Mesiano S. Nuclear progesterone receptors in the human pregnancy myometrium: evidence that parturition involves functional progesterone withdrawal mediated by increased expression of progesterone receptor-A. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92(5): 1927–1933. [DOI](#)
- [12] Pieber D, Allport VC, Hills F, Johnson M, Bennett PR. Interactions between progesterone receptor isoforms in myometrial cells in human labour. *Mol Hum Reprod*, 2001, 7(9): 875–879. [DOI](#)
- [13] Condon JC, Hardy DB, Kovacic K, Mendelson CR. Up-regulation of the progesterone receptor (PR)-C isoform in laboring myometrium by activation of nuclear factor-kappaB may contribute to the onset of labor through inhibition of PR function. *Mol Endocrinol*, 2006, 20(4): 764–775. [DOI](#)
- [14] Richer JK, Jacobsen BM, Manning NG, Abel MG, Wolf DM, Horwitz KB. Differential gene regulation by the two progesterone receptor isoforms in human breast cancer cells. *J Biol Chem*, 2002, 277(7): 5209–5218. [DOI](#)
- [15] Graham JD, Yager ML, Hill HD, Byth K, O'Neill GM, Clarke CL. Altered progesterone receptor isoform expression remodels progestin responsiveness of breast cancer cells. *Mol Endocrinol*, 2005, 19(11): 2713–2735. [DOI](#)
- [16] Yudit MR, Berrodin TJ, Jelinsky SA, Hanna LA, Brown EL, Chippari S, Bhat RA, Winneker RC, Zhang Z. Selective and opposing actions of progesterone receptor isoforms in human endometrial stromal cells. *Mol Cell Endocrinol*, 2006, 247(1–2): 116–126. [DOI](#)
- [17] Zhu Y, Rice CD, Pang Y, Pace M, Thomas P. Cloning, expression, and characterization of a membrane progestin receptor and evidence it is an intermediary in meiotic maturation of fish oocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(5): 2231–2236. [DOI](#)
- [18] Zhu Y, Bond J, Thomas P. Identification, classification, and partial characterization of genes in humans and other vertebrates homologous to a fish membrane progestin receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(5): 2237–2242. [DOI](#)
- [19] Rocha A, Soares R. Unraveling progesterone-induced molecular mechanisms in physiological and pathological conditions. *Curr Clin Pharmacol*, 2009, 4(2): 148–153. [DOI](#)
- [20] Heath V. Reproductive endocrinology: CatSper solves mystery of progesterone action on sperm. *Nat Rev Endocrinol*, 2011, 7(6): 316. [DOI](#)
- [21] Strunker T, Goodwin N, Brenker C, Kashikar ND, Weyand I, Seifert R, Kaupp UB. The CatSper channel mediates progesterone-induced Ca^{2+} influx in human sperm. *Nature*, 2011, 471(7338): 382–386. [DOI](#)
- [22] Lishko PV, Botchkina IL, Kirichok Y. Progesterone activates the principal Ca^{2+} channel of human sperm. *Nature*, 2011, 471(7338): 387–391. [DOI](#)
- [23] Edwards DP. Regulation of signal transduction pathways by estrogen and progesterone. *Annu Rev Physiol*, 2005, 67(1): 335–376. [DOI](#)
- [24] Loutradis D, Bletsas R, Aravantinos L, Kallianidis K, Michalas S, Psychoyos A. Preovulatory effects of the progesterone antagonist mifepristone (RU486) in mice. *Hum Reprod*, 1991, 6(9): 1238–1240. [DOI](#)
- [25] Gaytan F, Bellido C, Gaytan M, Morales C, Sanchez-Criado JE. Differential effects of RU486 and indomethacin on follicle rupture during the ovulatory process in the rat. *Biol Reprod*, 2003, 69(1): 99–105. [DOI](#)
- [26] Sanchez-Criado JE, Bellido C, Galio F, Lopez FJ, Gaytan F. A possible dual mechanism of the anovulatory action of antiprogesterone RU486 in the rat. *Biol Reprod*, 1990, 42(5–6): 877–886. [DOI](#)
- [27] van der Schoot P, Bakker GH, Klijn JG. Effects of the progesterone antagonist RU486 on ovarian activity in the rat. *Endocrinology*, 1987, 121(4): 1375–1382. [DOI](#)
- [28] Robker RL, Akison LK, Russell DL. Control of oocyte release by progesterone receptor-regulated gene expression. *Nucl Recept Signal*, 2009, 7: e012. [DOI](#)
- [29] Mulac-Jericevic B, Mullinax RA, DeMayo FJ, Lydon JP, Conneely OM. Subgroup of reproductive functions of progesterone mediated by progesterone receptor-B isoform. *Science*, 2000, 289(5485): 1751–1754. [DOI](#)
- [30] Kim J, Bagchi IC, Bagchi MK. Control of ovulation in

- mice by progesterone receptor-regulated gene networks. *Mol Hum Reprod*, 2009, 15(12): 821–828. [DOI](#)
- [31] Sriraman V, Sinha M, Richards JS. Progesterone receptor-induced gene expression in primary mouse granulosa cell cultures. *Biol Reprod*, 2010, 82(2): 402–412. [DOI](#)
- [32] Robker RL, Russell DL, Espey LL, Lydon JP, O'Malley BW, Richards JS. Progesterone-regulated genes in the ovulation process: ADAMTS-1 and cathepsin L proteases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(9): 4689–4694. [DOI](#)
- [33] Sriraman V, Rudd MD, Lohmann SM, Mulders SM, Richards JS. Cyclic guanosine 5'-monophosphate-dependent protein kinase II is induced by luteinizing hormone and progesterone receptor-dependent mechanisms in granulosa cells and cumulus oocyte complexes of ovulating follicles. *Mol Endocrinol*, 2006, 20(2): 348–361. [DOI](#)
- [34] Palanisamy GS, Cheon YP, Kim J, Kannan A, Li Q, Sato M, Mantena SR, Sitruk-Ware RL, Bagchi MK, Bagchi IC. A novel pathway involving progesterone receptor, endothelin-2, and endothelin receptor B controls ovulation in mice. *Mol Endocrinol*, 2006, 20(11): 2784–2795. [DOI](#)
- [35] Sriraman V, Eichenlaub-Ritter U, Bartsch JW, Rittger A, Mulders SM, Richards JS. Regulated expression of ADAM8 (a disintegrin and metalloprotease domain 8) in the mouse ovary: evidence for a regulatory role of luteinizing hormone, progesterone receptor, and epidermal growth factor-like growth factors. *Biol Reprod*, 2008, 78(6): 1038–1048. [DOI](#)
- [36] Kim J, Sato M, Li Q, Lydon JP, Demayo FJ, Bagchi IC, Bagchi MK. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma is a target of progesterone regulation in the preovulatory follicles and controls ovulation in mice. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(5): 1770–1782. [DOI](#)
- [37] Peluso JJ. Multiplicity of progesterone's actions and receptors in the mammalian ovary. *Biol Reprod*, 2006, 75(1): 2–8. [DOI](#)
- [38] Lydon JP, DeMayo FJ, Funk CR, Mani SK, Hughes AR, Montgomery CA, Jr, Shyamala G, Conneely OM, O'Malley BW. Mice lacking progesterone receptor exhibit pleiotropic reproductive abnormalities. *Genes Dev*, 1995, 9(18): 2266–2278. [DOI](#)
- [39] Conneely OM, Mulac-Jericevic B, Lydon JP, De Mayo FJ. Reproductive functions of the progesterone receptor isoforms: lessons from knock-out mice. *Mol Cell Endocrinol*, 2001, 179(1–2): 97–103. [DOI](#)
- [40] Conneely OM, Mulac-Jericevic B, Lydon JP. Progesterone-dependent regulation of female reproductive activity by two distinct progesterone receptor isoforms. *Steroids*, 2003, 68(10–13): 771–778. [DOI](#)
- [41] Large MJ, Demayo FJ. The regulation of embryo implantation and endometrial decidualization by progesterone receptor signaling. *Mol Cell Endocrinol*, 2012, 358(2): 155–165. [DOI](#)
- [42] Gao J, Mazella J, Tang M, Tseng L. Ligand-activated progesterone receptor isoform hPR-A is a stronger transactivator than hPR-B for the expression of IGFBP-1 (insulin-like growth factor binding protein-1) in human endometrial stromal cells. *Mol Endocrinol*, 2000, 14(12): 1954–1961. [DOI](#)
- [43] Lee K, Jeong J, Kwak I, Yu CT, Lanske B, Soegiarto DW, Toftgard R, Tsai MJ, Tsai S, Lydon JP, DeMayo FJ. Indian hedgehog is a major mediator of progesterone signaling in the mouse uterus. *Nat Genet*, 2006, 38(10): 1204–1209. [DOI](#)
- [44] Li Q, Kannan A, DeMayo FJ, Lydon JP, Cooke PS, Yamagishi H, Srivastava D, Bagchi MK, Bagchi IC. The antiproliferative action of progesterone in uterine epithelium is mediated by hand2. *Science*, 2011, 331(6019): 912–916. [DOI](#)
- [45] 刘华杰, 宇兴江, 倪华. 妊娠中的子宫收缩调控. 生殖与避孕, 2007, 27(6): 417–421. [DOI](#)
- [46] 郭春明, 孙刚. 哺乳类动物妊娠晚期孕激素撤退的三种机制. 生理学报, 2010, 62(2): 171–178. [DOI](#)
- [47] Astle S, Slater DM, Thornton S. The involvement of progesterone in the onset of human labour. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2003, 108(2): 177–181. [DOI](#)
- [48] Mesiano S. Myometrial progesterone responsiveness. *Semin Reprod Med*, 2007, 25(1): 5–13. [DOI](#)
- [49] Brown AG, Leite RS, Strauss JF 3rd. Mechanisms underlying "functional" progesterone withdrawal at parturition. *Ann N Y Acad Sci*, 2004, 1034(1): 36–49. [DOI](#)
- [50] López Bernal A. Mechanisms of labour--biochemical aspects. *BJOG*, 2003, 110(Suppl. 20): 39–45. [DOI](#)
- [51] Abdel-Latif AA. Cross talk between cyclic nucleotides and polyphosphoinositide hydrolysis, protein kinases, and contraction in smooth muscle. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2001, 226(3): 153–163. [DOI](#)
- [52] Smith R. Parturition. *N Engl J Med*, 2007, 356(3): 271–283. [DOI](#)
- [53] Kofinas AD, Rose JC, Koritnik DR, Meis PJ. Progesterone and estradiol concentrations in nonpregnant and pregnant human myometrium. Effect of progesterone and estradiol on cyclic adenosine monophosphate-phosphodiesterase activity. *J Reprod Med*, 1990, 35(11): 1045–1050. [DOI](#)
- [54] Moore F, Da Silva C, Wilde JI, Smarason A, Watson SP, Lopez Bernal A. Up-regulation of p21- and RhoA-activated protein kinases in human pregnant myometrium. *Biochem*

- Biophys Res Commun*, 2000, 269(2): 322–326. [DOI](#)
- [55] Essler M, Retzer M, Ilchmann H, Linder S, Weber PC. Sphingosine 1-phosphate dynamically regulates myosin light chain phosphatase activity in human endothelial cells. *Cell Signal*, 2002, 14(7): 607–613. [DOI](#)
- [56] Ye X. Lysophospholipid signaling in the function and pathology of the reproductive system. *Hum Reprod Update*, 2008, 14(5): 519–536. [DOI](#)
- [57] Jeng YJ, Suarez VR, Izban MG, Wang HQ, Soloff MS. Progesterone-induced sphingosine kinase-1 expression in the rat uterus during pregnancy and signaling consequences. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2007, 292(4): E1110–E1121. [DOI](#)
- [58] Fu X, Moberg C, Backstrom T, Ulmsten U, Gylfe E. Anisomycin and verapamil influence the action of progesterone on regulation of term human myometrial contractile activity. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 1997, 47(3): 349–355. [DOI](#)
- [59] Mesiano S, Welsh TN. Steroid hormone control of myometrial contractility and parturition. *Semin Cell Dev Biol*, 2007, 18(3): 321–331. [DOI](#)
- [60] Fusi L, Cloke B, Brosens JJ. The uterine junctional zone. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2006, 20(4): 479–491. [DOI](#)
- [61] Condon JC, Jeyasuria P, Faust JM, Wilson JW, Mendelson CR. A decline in the levels of progesterone receptor coactivators in the pregnant uterus at term may antagonize progesterone receptor function and contribute to the initiation of parturition. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(16): 9518–9523. [DOI](#)
- [62] Anderson E. The role of oestrogen and progesterone receptors in human mammary development and tumorigenesis. *Breast Cancer Res*, 2002, 4(5): 197–201. [DOI](#)
- [63] Mulac-Jericevic B, Lydon JP, DeMayo FJ, Conneely OM. Defective mammary gland morphogenesis in mice lacking the progesterone receptor B isoform. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(17): 9744–9749. [DOI](#)
- [64] Briskin C, O'Malley B. Hormone action in the mammary gland. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010, 2(12): a003178. [DOI](#)
- [65] Beleut M, Rajaram RD, Caikovski M, Ayyanan A, Germano D, Choi Y, Schneider P, Briskin C. Two distinct mechanisms underlie progesterone-induced proliferation in the mammary gland. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(7): 2989–2994. [DOI](#)
- [66] Jacobsen BM, Horwitz KB. Progesterone receptors, their isoforms and progesterone regulated transcription. *Mol Cell Endocrinol*, 2012, 357(1–2): 18–29. [DOI](#)

•综合信息•

2012 年第 10 期《遗传》封面说明

近年来,随着牛全基因组高密度SNP芯片的出现,基于牛全基因组信息的研究迅速成为了热点。2008年,中国科学院北京畜牧兽医研究所牛遗传育种研究室在内蒙古锡林郭勒盟乌拉盖管理区建立资源群体,截止2012年已收集了1029头牛的生长发育、肉质性状和胴体性状数据,其中135头牛有Illumina BovineSNP50的基因型数据,504头牛采用Illumina BovineHD chip技术进行基因分型。而本研究基于高密度SNP芯片数据采用 F_{ST} 检验方法分析牛群的遗传分化,并筛查人工选择在牛的基因组留下的印记。通过全基因组范围内的扫描,共发现了2036个“离群”位点和520个群体特异的人工选择“候选基因”,如CLIC5、TG、CACNA2D1、DGAT2、FSHR等。多数“候选基因”和相应的生物学过程均局限于特定群体中,提示人工选择在牛品种遗传改良中发挥了重要作用。通过基因注释对基因的生物学过程和分子功能进行富集分析,确定了通道活性、金属离子的跨膜转运活性和钙离子结合等显著富集的分子功能。本研究构建了我国肉牛的全基因组的选择信号图谱,为深入研究人工选择和理解生物进化提供线索。详见《遗传》“动物遗传育种专刊”第1304–1313页刘喜冬,王志鹏,樊惠中,李俊雅,高会江“基于高密度SNP标记的肉牛人工选择痕迹筛查”一文。封面图片为在内蒙古锡林格勒盟乌拉盖管理区构建的西门塔尔牛资源群体。

刘喜冬, 高会江