

哺乳动物纤毛/鞭毛内运输在精子形成中的作用及机制研究进展

葛婷婷, 袁露, 徐文华, 郑英

扬州大学医学院组织学与胚胎学教研室, 江苏省非编码 RNA 基础与临床转化重点实验室, 扬州 225009

摘要: 纤毛/鞭毛是真核生物细胞表面伸出的进化保守的细胞器, 独特的位置和特性使它们在细胞运动和信号传递等生命过程发挥重要作用。哺乳动物纤毛/鞭毛的组装和维持都依赖纤毛/鞭毛内运输(intraflagellar transport, IFT)。IFT 是由 IFT 复合体 A 和复合体 B 在驱动蛋白或马达蛋白驱动下的双向运输系统。该过程可将货物蛋白在胞体的合成位点与纤毛/鞭毛尖端的装配位点之间进行运输。鞭毛是哺乳动物精子产生动力的特异性细胞器, 其完整性对精子正常功能至关重要。近年来研究表明, IFT 在哺乳动物精子鞭毛形成和雄性生殖能力方面必不可少。本文对参与 IFT 的蛋白在精子鞭毛形成中的作用和机制进行了综述, 以探讨其在男性不育症中的发病机制, 为不育症的诊断和治疗提供理论基础。

关键词: 纤毛/鞭毛内运输; 精子形成; 雄性不育

Role and mechanism of intraflagellar transport in mammalian spermiogenesis

Tingting Ge, Lu Yuan, Wenhua Xu, Ying Zheng

Jiangsu Key Laboratory of Experimental & Translational Non-coding RNA Research, Department of Histology and Embryology, School of Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China

Abstract: Eukaryotic cilia and flagella are evolutionarily conserved organelles that protrude from the cell surface. The unique location and properties of cilia allow them to function in vital processes such as motility and signaling. Ciliary assembly and maintenance rely on intraflagellar transport (IFT). Bidirectional movement of IFT particles composed of IFT-A and IFT-B complexes is powered by kinesin-2 and dynein-2 motors. IFT delivers building blocks between their site of synthesis in the cell body and the ciliary assembly site at the tip of the cilium. The integrity of the flagellum, a specialized organelle of mammalian sperm to generate the motility, is critical for normal sperm function. Recent findings suggest that

收稿日期: 2021-06-10; 修回日期: 2021-08-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 82071696), 江苏省高校自然科学研究重大项目(编号: 20KJA310002)和扬州大学研究生科研创新计划项目(编号: XKYCX20_35)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 82071696), Natural Science Foundation of Jiangsu Province (No. 20KJA310002), and the Postgraduate Scientific Research Innovation Program of Yangzhou University (No. XKYCX20_35)]

作者简介: 葛婷婷, 在读硕士研究生, 专业方向: 生殖医学。E-mail: 1499356709@qq.com

通讯作者: 郑英, 教授, 博士生导师, 研究方向: 生殖医学。E-mail: yzzkl@163.com

DOI: 10.16288/j.ycz.21-206

网络出版时间: 2021/10/15 18:21:21

URI: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20211014.1711.002.html>

IFT is indispensable for sperm flagellum formation and male fertility in mice and human. In this review, we summarize the role and mechanisms of IFT proteins during enflagellation in spermiogenesis, thereby discussing the pathological mechanisms of male infertility and providing theoretical basis for the diagnosis and treatment of male infertility.

Keywords: intraflagellar transport; spermiogenesis; male infertility

真核生物的纤毛/鞭毛是进化上保守的、细胞表面伸出的细胞器, 独特的位置和特性使其在运动和信号传导等过程中发挥作用。纤毛/鞭毛的组装和维持依赖于纤毛/鞭毛内运输(intraflagellar transport, IFT), 即纤毛/鞭毛基部和顶端之间多组分运输的双向运输系统^[1]。衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)中 IFT 缺陷导致鞭毛组装异常, 致使细胞出现鞭毛缩短、畸形或缺失; 由于纤毛广泛分布于哺乳动物全身各组织器官, 纤毛装配缺陷可出现多器官病变, 统称为纤毛病(Ciliopathies), 如呼吸道疾病、视网膜变性、肝肾多囊性改变、骨骼系统发育异常、神经系统异常、智力障碍、肥胖和男性不育等^[2]。男性不育症大多与精子发生调控基因的异常表达有关, 动物模型和基因筛选研究已经证实遗传因素是精子发生障碍的常见原因。尽管有许多研究强调了 IFT 与纤毛/鞭毛形成之间的关系, 但 IFT 在哺乳动物精子鞭毛形成中的调控作用鲜有研究报道, IFT 缺陷引起人类男性不育的临床案例更是报道极少。本文主要介绍了 IFT 复合体中的不同亚基, 如 IFT25、IFT27、IFT74、IFT81、IFT88、IFT20、IFT172、IFT140、IFT144 和 IFT139 等在小鼠(*Mus musculus*)精子发生及人类男性生殖中的研究进展, 它们作为影响男性生殖的潜在遗传因子通过 IFT 机制调控精子发生, 对精子形成和其运动活性至关重要。

1 IFT 参与精子鞭毛结构的形成

在哺乳动物精子发生过程中, 精原细胞通过极其复杂的分化过程发育为成熟精子, 涉及数千个基因, 这些基因的正常表达是维持哺乳动物雄性生育能力的基础。精子发生始于生殖干细胞形成的精原细胞, 精原细胞经有丝分裂后形成精母细胞, 后者经过两次减数分裂后演变为单倍体圆形精子细胞。最后, 圆形精子细胞经过复杂的形态变化形成蝌蚪状的精子。精子形成过程包括: 细胞核浓缩和蛋白

转型; 高尔基复合体囊泡覆盖精子细胞核顶部, 形成顶体; 中心粒迁移到细胞核的尾侧, 远端中心粒是鞭毛的成核结构, 其微管延伸形成鞭毛^[3]; 线粒体聚集在鞭毛起始处形成线粒体鞘; 多余胞质形成残余体后丢失。精子形成过程中会出现一种独特的精子领结构, 其出现在精子形成早期, 消失于精子变长及核浓缩将近结束时, 参与核浓缩、核延伸, 并通过精子领内运输(intramanchette transport, IMT)输送精子尾部发育所需蛋白。轴丝是精子鞭毛的一个核心结构, 由 9 组外周双联微管和 2 根中央微管(“9+2”结构)组成, 每组外周双联微管伸出 2 个由动力蛋白组成的短臂, 称为动力蛋白臂, 分别为内动力蛋白臂(inner dynein arm, IDA)和外动力蛋白臂(out dynein arm, ODA)^[4]。中央鞘向外周双联微管发出丝状结构, 称放射辐, 将外周微管和中央微管连接起来(图 1)。

精子尾部的发育涉及 IMT 和 IFT 两种转运机制, 它们都通过微管轨道和运动蛋白来运输货物蛋白。精子尾部发育所需蛋白通过 IMT 储存和输送到基底体区域, 后由 IFT 运输到发育中的精子尾部, 参与轴丝组装。IFT 是通过复合体 A (IFT-A)和复合体 B (IFT-B)在驱动蛋白或马达蛋白的作用下调控鞭毛组装的双向运输系统。IFT-A 由 IFT43、IFT121、IFT122、IFT139、IFT140 和 IFT144 等 6 个亚单位组成; IFT-B 由 16 个亚单位组成, 其中核心复合体又分为核心复合体 1 (IFT22、IFT25、IFT27、IFT74、IFT81)和核心复合体 2 (IFT46、IFT52、IFT56、IFT70、IFT88), 外周亚基包括 IFT20、IFT38、IFT54、IFT57、IFT80 和 IFT172^[1](图 2)。驱动蛋白承担复合体 B 的顺向运输, 将鞭毛组装与维持所需的前体蛋白和信号分子由胞体运往鞭毛顶端的装配位点。鞭毛通过末端微管不断的拆卸来维持平衡, 马达蛋白介导复合体 A 及相关周转产物从轴丝末端向胞体运送, 称之为逆向运输, 其运输的货物还包括复合体 B 上一些已经完成使命的蛋白质^[5](图 1)。IFT 复合体在精子发

生过程中充当衔接子，介导货物蛋白和马达之间的结合，还在鞭毛和体细胞之间传导信号，IFT 亚基

的突变通常会导致鞭毛缩短或完全消失，顺向或逆向运输缺陷通常引起鞭毛末端肿胀。

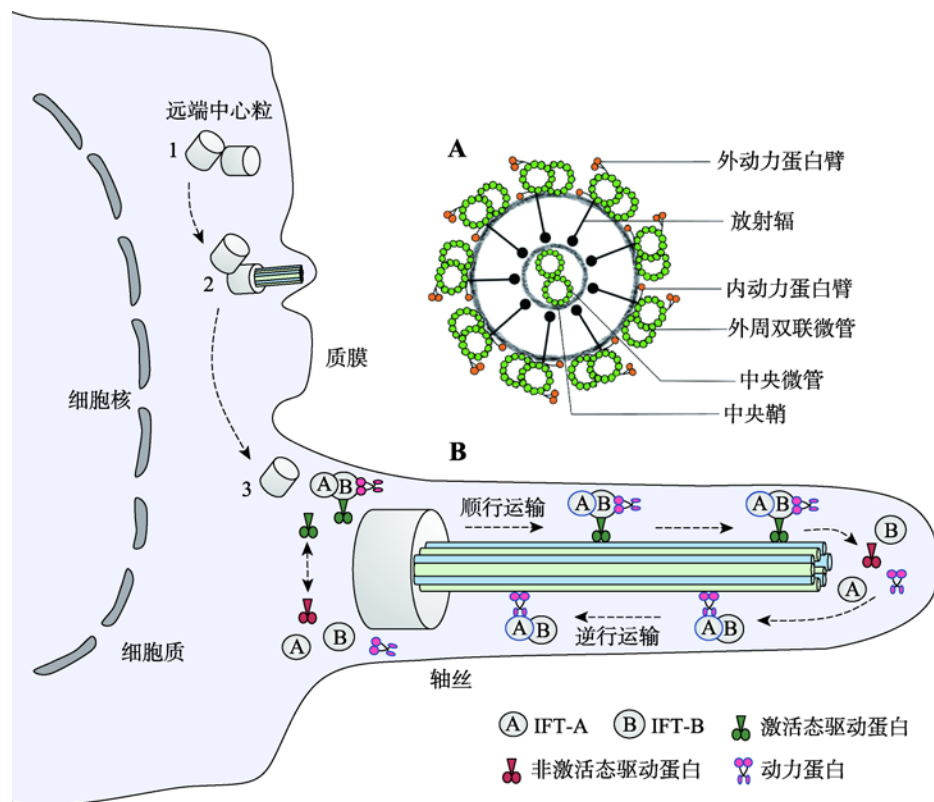


图 1 纤毛/鞭毛的形成过程及精子去细胞膜轴丝横断面模式图

Fig. 1 Diagram of the process of cilia/flagellum formation and the cross-sectional pattern of the axoneme in the acellular membranes of spermatozoa

A: 精子去细胞膜轴丝横断面模式图; B: 纤毛/鞭毛的形成及鞭毛内运输主要步骤示意图。

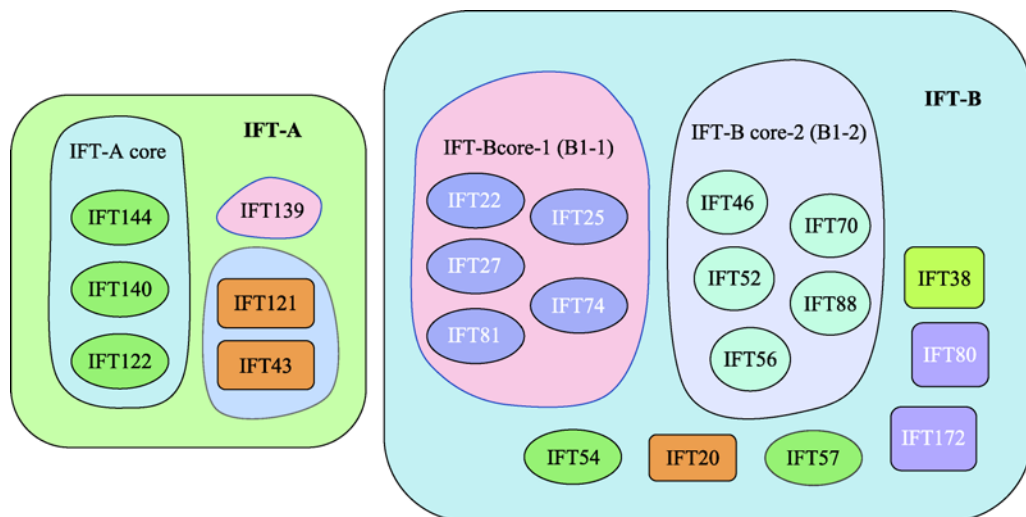


图 2 IFT 复合体整体结构示意图

Fig. 2 Schematic representation of the overall architecture of the IFT complex

2 IFT-B 复合体调控精子鞭毛发生

IFT-B 复合体由 10 个核心亚基和 6 个外周亚基组成。目前已有研究表明, *Ift25*、*Ift27*、*Ift74*、*Ift81*、*Ift88*、*Ift20* 和 *Ift172* 突变会引起小鼠精子发生中鞭毛组装和维持出现不同程度的缺陷, 进而影响雄性小鼠生育能力。

2.1 IFT25 通过多种途径调控精子发生

IFT25 蛋白在小鼠睾丸中高表达, 定位于精子细胞中心粒和鞭毛, 是 IFT 蛋白的典型分布部位。小鼠出生后第 12 天, 睾丸组织中 IFT25 蛋白开始表达, 在第 24 天表达上调, 即精子发生的最后阶段。IFT25 缺失的生殖细胞在形成长形精子细胞时, 由于细胞核形状改变而开始出现异常^[6]。

IFT25 在体细胞和雄性生殖细胞的纤毛/鞭毛发育中起着不同的作用。*Ift25* 基因敲除导致多种异常表型, 这些表型与位于初级纤毛的 Hedgehog 信号通路被破坏有关, 但纤毛生成不受影响^[7]。在生殖细胞特异性缺失 IFT25 的小鼠模型中, 所有小鼠都存活到成年, 但精子鞭毛结构破坏, 精子数量急剧减少, 精子的运动性完全消失, 且雄性不育。光镜和扫描电镜分析发现, 一些精子鞭毛有分支、鞭毛厚度异常和尖端肿胀。透射电镜观察到鞭毛内存在空泡, 尾部有囊泡聚集, “9+2”轴丝结构异常, 外周致密纤维(outer dense fibers, ODF)和纤维鞘(fibrous sheath, FS)排列紊乱^[6]。这可能是因为 IFT25 蛋白的缺乏破坏了精子细胞中的 IFT, 货物蛋白无法运输并整合到鞭毛中。虽然 IFT25 是 IFT-B 组分, IFT-B 成分破坏通常会因为顺行运输受阻而导致鞭毛过短, 但条件性敲除 *Ift25* 基因的雄性小鼠精子鞭毛尖端肿胀提示 IFT25 也可能参与逆行运输。

值得注意的是, *Ift25* 敲除小鼠精子细胞中 FS 形成破坏^[6]。FS 是一种独特的细胞骨架结构, 围绕着轴丝和 ODF。它由两个纵列组成, 通过紧密排列的圆周肋连接, 在整个精子形成过程中从远端到近端组装。FS 是信号通路中的蛋白质支架, 可参与调节精子成熟、运动、获能、超活化和顶体反应, 也是糖酵解通路中为精子超活化运动提供能量的酶的支架^[8]。FS 仅存在于精子细胞中, 且 IFT25 在体细

胞纤毛组装中非必需, 精子细胞缺失 IFT25 会引起 FS 结构破坏, 推测 IFT25 可能在 FS 的形成和维持中发挥独特作用。此外, 一些精子中丢失“9+2”核心轴丝成分, 这种成分只存在于活动鞭毛中, 是调节运动的关键结构, 其丢失可能是条件性敲除 *Ift25* 精子无运动活性的重要原因。

IFT25 包含一个半乳糖结合样结构域, 该结构域在其他蛋白质中可结合各种配体, 如碳水化合物、磷脂和核酸等。研究表明, IFT25/Hsp16.2 过表达可激活 Hsp90, 并通过 PI3k-Akt 信号通路稳定脂筏^[9]。脂筏是专门的膜微域, 在包括精子在内的许多细胞质膜上充当信号平台^[10]。精子脂筏在 cAMP 合成的信号上游发挥作用, 是精子激活钙依赖性途径所必需的^[11], 然而 *Ift25* 突变小鼠的精子脂筏被破坏, 提示 IFT25 也可能负责将某些离子通道运输到精子鞭毛。

2.2 IFT27 通过调控 IFT-B 蛋白运输参与鞭毛组装

IFT27 与 IFT88、IFT81、IFT74、IFT72、IFT52、IFT46 构成 IFT-B 的核心复合体^[12]。在小鼠出生后的第 20 天, IFT27 蛋白在睾丸组织中首次检测到, 其表达水平在第 24 天显著增加, 直至第 42 天一直保持较高水平。IFT27 分布于精母细胞和圆形精子细胞胞质及发育中的鞭毛。生殖细胞特异性 *Ift27* 基因敲除小鼠不育, 仅 2% 的精子具有运动能力, 附睾尾腔内精子呈现多种形态异常, 如圆头、短且弯曲的尾部、精子鞭毛厚度不一、鞭毛末端肿胀, 及头尾分离。超微结构观察显示, 在 IFT27 缺失的小鼠附睾精子中发现断裂的“9+2”轴丝核心结构、断裂的轴丝微管、扭曲的膜、错位和缺失的微管、异常的 FS 和线粒体鞘等多种异常表型^[13]。

与 IFT25 相似, IFT27 虽然不是体细胞纤毛形成所必须, 但对小鼠精子发生和生殖能力都必不可少。IFT27 与 IFT25 之间存在直接的相互作用, 两者通过许多共同的机制调控精子形成。在 *Ift25* 敲除小鼠中, IFT27 几乎不存在; 相反, IFT25 仍然存在于 *Ift27* 敲除小鼠中, 这表明细胞和组织中的 IFT27 存在与否取决于 IFT25。*Ift25* 基因敲除小鼠不仅表现出与 *Ift27* 基因敲除小鼠相似的表型, 而且具有 IFT25 缺失特有的表型, 如精子脂筏被破坏、鞭毛出现分支^[13]。因此推测, IFT25 可能在 IFT27

之外还发挥其他的作用：其一，可能调节精子中的脂筏状态；其二，IFT25 可能携带 IFT25/IFT27 未运输的其他货物蛋白。分别检测 *Ift25* 与 *Ift27* 两种基因敲除小鼠中其他 IFT 蛋白表达水平发现，*Ift25* 敲除小鼠中 IFT20 和 IFT81 表达均下调。与 *Ift25* 相似，IFT81 在条件性 *Ift27* 敲除小鼠内表达下调，但 IFT20 表达未受影响。*Ift25* 和 *Ift27* 对睾丸内 IFT20 表达的不同影响，可能是 *Ift25* 和 *Ift27* 敲除小鼠两者表型存在差异的原因之一。

IFT27 还参与其他多种蛋白质相互作用，CEP19-RABL2B-IFT 通路是调控纤毛组装的分子机制之一。CEP19 被中心粒 CEP350/FOP 复合体招募到纤毛基底部，RABL2B 通过其固有的核苷酸交换活性和 GTP 结合，激活的 RABL2B 被 CEP19 特异性捕获引入纤毛。然后，RABL2B 通过 IFT74/81 异二聚体与 IFT-B 结合，从而启动 IFT-B 的纤毛进入。RABL2 在 GTP 结合状态下通过 IFT74/81 异二聚体与 IFT-B 复合体相互作用，这种相互作用在精子鞭毛运动缺陷的雄性不育小鼠中被破坏^[14]。此外，IFT27 被认为是一个功能连接体，协助 IFT-B 和 BBSome 这两个多蛋白复合体之间的纤毛蛋白转运^[15]。

2.3 IFT74 调控核心轴丝和纤维鞘的组装

IFT74 分布于小鼠体内含有纤毛细胞的器官，如脑、肺和肾，在睾丸中高表达。小鼠出生后第 12 天首次在睾丸组织中检测到 IFT74 蛋白，第 20 天蛋白表达量显著上升。在雄性小鼠生殖细胞中，IFT74 定位于精母细胞、圆形精子细胞囊泡以及长形精子细胞的顶体、中心体和发育中的尾部。*Ift74* 敲除雄性小鼠不能生育，精子细胞数减少，活力降低，仅有少量发育成熟的精子，且形态异常，如圆头或其他畸形头、短尾、轴丝和微管呈多种异常形态；*Ift74* 敲除小鼠精子顶体形成过程未观察到异常，可见 IFT74 虽定位在顶体，但不是调控顶体形成的关键因素^[16]。

IFT74 是 IFT-B 复合体的核心组分，在精子形成过程中对其他 IFT 的稳定和功能有重要影响，IFT-B 复合体组分如 IFT27、IFT57、IFT81、IFT88 和 IFT140 蛋白表达量在 *Ift74* 突变雄性小鼠体内都显著降低。而 IFT-B 复合体的另外两个组分 IFT20 和 IFT25 蛋白表达水平无明显变化，这两者位于 IFT-B 核心亚复

合体之外，它们的功能可能不同于其他的 IFT 蛋白。

在 IFT-B 蛋白的核心亚群中，IFT25/27、IFT88/52/46 和 IFT81/74/72 可以相互作用^[12,17,18]。IFT74 和 IFT81 通过中心和 C 端螺旋结构域的直接相互作用稳定 IFT-B 复合体，IFT74 氨基末端和 β -微管蛋白的高酸性羧基末端相互作用，使得 IFT81 氨基端与 β -微管蛋白的亲和力增强了 18 倍^[12]。结合 *Ift74* 敲除小鼠精子超微结构，推测 IFT74 的主要功能之一是在精子细胞轴丝形成过程中转运 β -微管蛋白使其参与微管组装。IFT74 也可以作为调节因子，通过控制 IFT 亚基进入鞭毛的频率和逆行速度，调节轴丝和微管装配来参与精子鞭毛的形成^[19]。

IFT74 在小鼠精子形成过程中的重要作用可能是通过调控核心轴丝和纤维鞘的组装来实现的。*Ift74* 基因敲除后精子纤维鞘蛋白 AKAP4 的表达模式发生了变化。在野生型小鼠中，AKAP4 (110 kDa) 是主要形式，且 pro-AKAP4 (84 kDa) 表达水平明显低于 AKAP4，pro-AKAP4 通过 IFT 由胞质运输到纤维鞘装配位点，经加工后，AKAP4 进入纤维鞘。然而在 *Ift74* 敲除小鼠中，pro-AKAP4 成为主要存在形式^[16]。*Ift74* 缺失导致 pro-AKAP4 不能被输送到纤维鞘的组装位置，也没有被加工为 AKAP4。

2.4 IFT81 与 IFT74 共同调节 IFT 的稳定性

IFT81 作为 IFT74 的结合伴侣，在小鼠睾丸中的表达阶段性增加，在出生后第 8 天首次检测到，第 16 天时蛋白质表达显著增加，此后精子发生期间 IFT81 表达水平保持稳定。与 IFT74 的分布不同，IFT81 均匀分布在粗线期精母细胞和圆形精子细胞胞质，以及长形精子尾部。生殖细胞特异性 *Ift81* 敲除小鼠精子数量减少、活力降低且精子鞭毛短小畸形，无生育能力。进一步研究发现 IFT81 的缺失扰乱了精子发生进程，出现精子头部异常、尾部微管丢失、ODF 和线粒体鞘排列紊乱等异常，阻碍了鞭毛的装配和延长^[20]。精子数量的减少表明 IFT81 不仅参与鞭毛形成，对生殖细胞的存活同样不可或缺。

与条件性敲除 *Ift74* 基因相似，其他几种 IFT 组分如 IFT20、IFT25、IFT27、IFT57、IFT74 和 IFT88，在 IFT81 突变小鼠中表达下调，此外作为纤维鞘主要加工形式的 AKAP4 水平也显著降低^[16,20]。小鼠 *Ift74* 和 *Ift81* 两种条件性敲除后表现出相似表型，表

明这两种相互作用的蛋白彼此间不能代偿,IFT81 与 IFT74 一起充当 IFT-B 复合体的核心成分,共同运输精子尾部发育所需的微管蛋白和纤维鞘前体参与精子发生,并调节其稳定性。

2.5 IFT88 调控纤维鞘的组装

与其他组织相比,IFT88 在小鼠睾丸组织中呈现高水平表达。组织学分析发现,其首先出现在 II-III 期粗线期精母细胞的头部和尾部,并在 VIII 期精母细胞中高表达,此后蛋白表达量随着精子细胞发育成熟逐渐降低。与 IFT20 相同,IFT88 也是存在于高尔基体中的 IFT-B 顺行蛋白^[21],协助顶体和中心体正确及时地靶向运输货物,调控精子尾部发育。*Ifi88* 突变小鼠产生的精子较野生型小鼠少 350 倍,几乎无运动活性,精子短或无鞭毛。短鞭毛极少有正常排列的轴丝,异位微管和 ODF 聚集在一起,并积聚组装失败的纤维鞘蛋白^[22]。

Ifi88 缺失导致鞭毛轴丝及附属成分装配出现异常,FS 尤为明显,精子尾部 FS 由两个连接到轴丝双联微管的纵向柱状蛋白和围绕轴丝的横向蛋白组成,在 *Ifi88* 缺陷的突变体中,纵向柱状蛋白形成失败,或者不能与轴丝上的双联微管连接。部分精子细胞中参与运输但未被组装的鞭毛前体聚集,引起鞭毛末端异常肿胀^[23]。此外,鞭毛肿胀的末端含有大量堆积的 FS 前体蛋白,提示蛋白能有效运输到鞭毛末端,但未能成功组装到鞭毛轴丝。

IFT88 蛋白不存在成熟精子细胞中。免疫荧光染色未能在附睾尾精子中检测 IFT88 的阳性信号,类似的分子还有 IFT20、IFT57 和 IFT140 等。在精子形成过程中,IFT 需要替换在鞭毛末端发生转换的轴丝成分,并将转化产物移出鞭毛,同时还在鞭毛和胞体之间运送信号蛋白、受体蛋白等膜成分。哺乳动物成熟精子不同于发育中的精子细胞,它几乎没有细胞质,没有蛋白质的合成,所以成熟精子可能不需要 IFT 介导的蛋白质周转,但不排除由其他小分子而非 IFT 介导的蛋白质运输。

2.6 IFT20 调控鞭毛形成并参与细胞自噬

IFT20 是最小的 IFT 蛋白,在脑、肺、肾脏、肝、脾和睾丸等不同的组织中表达。小鼠出生后的第 16 天首次在睾丸组织中检测到 IFT20 蛋白,在第

30 天和第 42 天表达量显著增加,此时生殖细胞在第一波精子发生中进入凝缩/伸长阶段。在生殖细胞中,IFT20 分布于晚期精母细胞高尔基体、圆形精子细胞顶体以及长形精子细胞鞭毛^[21]。在活细胞内,荧光标记的 IFT20 是高度动态的,在高尔基复合体和鞭毛之间沿着微管移动,将鞭毛膜蛋白从高尔基复合体运送到鞭毛。*Ifi20* 基因敲除可使胚胎致死,表明 IFT20 对小鼠发育是必需的^[24]。生殖细胞特异性 *Ifi20* 敲除小鼠中,6 周龄突变雄性小鼠有 37.5% 不育,成年后均不育。在条件性敲除 *Ifi20* 小鼠中,很少有生殖细胞完成精子发生,且附睾尾腔精子数量显著减少。突变小鼠精子细胞数量和活力明显降低,还有圆形肿胀的头部、短小扭曲的精子尾等多种异常形态。扫描电镜发现精子中胞质小泡增多、纤维样结构、线粒体异常堆积、成熟溶酶体减少,这表明在 IFT20 缺失情况下,用以鞭毛组装的成分不能顺利进入精子尾部,无法到达装配位点^[25]。进一步研究发现在精子形成过程中,IFT20 不仅通过 IFT 机制参与鞭毛形成,还参与调节自噬,它与自噬核心蛋白 ATG16L 相互作用,协助调节清除多余细胞质成分所需的正常自噬过程^[26]。

ODF2 和 SPAG16L (一种轴状中央装置蛋白)的表达量未受到 *Ifi20* 缺失的影响,但这两种精子鞭毛蛋白最终却未能成功组装到精子尾部^[25]。IFT20 还可与 GMAP210、CCDC41、SPATA1、SPEF2、BLOC-1、SPAG17 等其他蛋白相互作用。IFT20 分布在高尔基体,GMAP210 蛋白作为膜受体将 IFT20 锚定在高尔基复合体,协助 IFT20 将鞭毛装配所必需的蛋白由高尔基复合体运输到精子尾部。GMAP210 丢失将导致精子细胞顶体和线粒体鞘发育异常,IFT20 蛋白表达和定位也将受到影响,但它不是鞭毛形成所必需的^[21]。CCDC41 是参与早期鞭毛形成的母中心粒成分,协助母中心粒募集来自高尔基复合体的 IFT20,调控鞭毛装配所需蛋白质的分选和运输^[27]。SPATA1 定位于顶体,是精子头部形成的重要因素之一,作为 IFT20 的相互作用蛋白,为 IFT20 在顶体区域提供一个停靠位点^[28]。此外,钙离子是衣藻和哺乳动物纤毛装配和拆卸的关键调节因子,钙浓度过高,将影响 IFT 逆向运输;钙离子缺失将导致 IFT20 在鞭毛末端堆积。钙介导的蛋白质磷酸化可以通过调节 IFT 亚基-驱动蛋白的相互作用,来调控 IFT 进出

鞭毛和在鞭毛内的运输速率^[29]。

2.7 IFT172 通过 IMT 机制调控精子发生

IFT172 是最大的 IFT 亚基, 小鼠 *Ift172* 翻译两种主要蛋白: 全长 170 kDa 的 IFT172 可以在睾丸和体细胞中表达, 130 kDa 的 IFT172 只存在于生殖细胞中。生殖细胞特异性 IFT172 是完成精子发生所必需的, 分布在长形精子细胞的精子领中, 含量丰富。小鼠出生后第 12 天首次检测到 130 kDa 的 IFT172, 此时生殖细胞开始进入减数分裂阶段。IFT172 参与雄性生殖细胞的发育, 虽然生殖细胞条件性敲除 *Ift172* 基因阻碍了正常精子发生, 但仍有 40% 小鼠具有生育能力。附睾尾精子数显著减少, 大多形态异常且活力下降^[30]。

IFT172 仅分布于长形精子的精子领, 可能通过调控 IMT 过程参与精子发生。精子领是精子形成中独特的必需结构, 通过 IMT 机制在精子头部塑形和运输精子鞭毛发育所需蛋白方面发挥作用^[31]。一些暂存在精子领中的货物蛋白通过 IMT 机制运输到作为成核位点的中心体后, 通过 IFT 运输到发育中的精子鞭毛^[32]。鉴于 *Ift172* 缺失的精子头部形态异常, 精子领形态变长, 货物蛋白 ODF2 和 AKAP4 在附睾精子中的信号显著减弱, 中心体缺失或受到破坏, 部分“9+2”轴丝结构紊乱甚至缺失, 部分精子尾内出现空泡, 据此推测 IFT172 是精子鞭毛附属结构的关键调节因子, 直接或间接参与中心体的分裂与迁移, “9+2”核心轴丝结构缺陷和运动能力减弱可能是由附属结构破坏引起。此外, IFT25 和 IFT57 在突变小鼠中表达显著下调, 表明 IFT172 也能调节雄性生殖细胞中的其他 IFT 蛋白成分^[30]。IFT172 是一种膜相互作用蛋白, 含有 7 个 β -螺旋桨的 WD 结构域和 α -螺旋管的四肽重复序列(tetrapeptide repeat sequence, TPR), 与 COP 具有相似的结构域结构, 具有作为膜变形蛋白的潜力, 能够将膜重塑为小囊泡, IFT172 两种不同的构象可以被脂质调控, IFT57 可以减弱 IFT172 与膜两者间的结合能力, 表明 IFT172 在 IFT 中具有多种功能^[33]。

3 IFT-A 复合体调控精子鞭毛发生

IFT-A 复合体由 6 个亚单位组成: IFT121、

IFT122、IFT139/TTC21、IFT140、IFT43 和 IFT144/WDR19。其中, IFT-122/140/144 是 IFT-A 的核心亚复合体, IFT43/121/139 是其外周亚复合体。相比于 IFT-B, 目前对 IFT-A 的了解相对较少, 主要原因之一是后者的亚单位比大多数 IFT-B 亚单位大。其中 IFT140、IFT144、IFT139 在人类男性不育相关的病例中已有报道, 下文介绍了这 3 种蛋白与雄性小鼠和人类男性精子发生的关系。

3.1 IFT140 通过介导其他 IFT 相关蛋白的运输参与鞭毛形成

人 *IFT140* 基因在睾丸、一些内分泌组织(例如垂体、甲状腺、肾上腺)和中枢神经组织(例如小脑、尾状、海马)中均有高水平的 RNA 表达, IFT140 蛋白位于细胞纤毛基体和中心体。*IFT140* 定位在染色体 16p13.3, 有 40 个外显子。IFT140 蛋白由 1462 个氨基酸组成, 包含 5 个 WD 重复卷曲螺旋序列和 9 个 TPR 结构域。据报道, *IFT140* 突变和人类纤毛病有关, 在锥虫(*Trypanosoma*)和衣藻体内, *Ift140* 缺陷会导致短鞭毛的形成^[34,35]。

通过对一名因严重少弱畸精子症而患有原发性不育症的患者进行高通量全外显子组测序, 确定该患者编码 IFT140 蛋白的基因存在两个点突变: c.1837G>A 和 c.4247G>A, 患者的哥哥是 *IFT140* 杂合子携带者(c.4247G>A), 和配偶自然生育一个健康的孩子。这两种突变分别来自父亲和母亲, 这也表明该家系的变异和表型的共分离符合常染色体隐性遗传, 这是首例被报道的 *IFT140* 突变引起人类不育的病例。与健康成年男性相比, 患者精子头部形态异常, 顶体与细胞核分离, 细胞核形态不规则, 尾部短且局部膨大, 精子尾部线粒体分布异常。IFT140 蛋白分布在正常精子颈段和中段, 在患者精子中完全缺失^[36]。

生殖细胞特异性敲除 *Ift140* 小鼠附睾尾仅有极少精子, 其中只有 10% 的畸形精子具有运动性, 活力明显弱于正常精子^[37]。突变小鼠精子头部形态异常, 鞭毛短而肿胀, 形状扭曲。凸起的鞭毛末端是逆行运输缺陷的典型表型^[38], 推测可能是 *Ift140* 缺陷而缺乏驱动逆行运输的 IFT-马达动力蛋白, 导致精子鞭毛组装的中间产物的堆积。透射电镜发现, *Ift140* 突变小鼠的附睾精子出现了紊乱排列的轴丝

微管、分布错误的 ODF、FS 和线粒体,被破坏的“9+2”微管结构和异常的染色质,睾丸精子也观察到和附睾精子相似的异常^[37]。此外, *Ift140* 敲除小鼠附睾内观察到多种未降解的残存细胞质成分,这表明 IFT140 可能与精子发生过程中的自噬过程有关。IFT140 存在于正常精子细胞的精子领中,表明该蛋白可能参与 IMT 过程。人类不育患者和突变小鼠的精子细胞中 IFT140 丢失可能影响 IMT 过程,货物蛋白不能被输送到基底部进行 IFT 过程,因此精子发生被破坏^[36]。

Ift140 突变小鼠生精功能障碍、精子形态异常和精子活力缺陷,最终导致雄性不育,这些观察结果与人类不育患者的临床表现相一致。人类 IFT140 与小鼠 *Ift140* 具有同源性,突变表型基本相同,因而可以推测 IFT140 在哺乳动物精子发生过程中发挥着关键作用。

3.2 IFT144/WDR19 突变引起精子鞭毛微管结构紊乱

WDR19 编码一个由 1342 个氨基酸组成的 IFT144 蛋白,是 IFT-A 核心亚复合体的组成成分。该蛋白含有 6 个 WD40 重复序列、3 个 TPR 重复序列、1 个 COG5290 结构域和 1 个双锌带结构域(double zinc ribbon, DZR)。目前,有研究报道 1 例男性不育患者具有 *IFT144* 纯合错义突变: c.A3811G,光镜下患者精子呈短尾、卷尾或无鞭毛等异常形态,仅 13.5% 的精子形态正常,鞭毛运动性完全消失。电镜超微结构观察发现精子轴丝排列紊乱、“9+2”微管结构被破坏、存在空泡和残余胞质成分。免疫荧光显示在健康对照组中,IFT144 沿着精子细胞颈部和鞭毛的轴丝呈点状分布,表达量非常丰富,然而在 *WDR19* 突变患者精子中,IFT144 异常聚集在头部和颈部^[39]。

生物信息学分析表明,IFT140 和 IFT88 与 IFT144 之间存在相互作用。在正常精子细胞中,IFT140 分布于精子头部和鞭毛,IFT88 位于精子领和鞭毛。*WDR19* 突变患者中,IFT140 异常聚集在精子头部和颈部,IFT88 异常定位于精子颈。与 IFT88 相比,突变患者 IFT140 的表达水平和定位差异更为显著,这表明 IFT144 与 IFT140 之间存在更为紧密的相互作用。此外,SPAG6 定位于精子鞭毛,是“9+2”轴丝

中央装置的一个组成部分,对尾部结构完整性和鞭毛的运动具有重要作用^[40],然而该成分在患者精子细胞中完全丢失^[39]。因此,*WDR19* 缺陷可能会导致其他精子成分异常表达,尤其是 IFT 成分,从而导致微管结构的破坏和紊乱。

以往研究发现,人类 *WDR19* 基因突变可导致多种涉及纤毛的组织和器官的病变,例如视网膜色素变性、肾结核、颅骨外胚层发育不良、窒息性胸廓发育不良和先天性肝内胆管囊性扩张症等。前文提及的 *WDR19* 纯合突变患者仅表现为弱畸精子症引起的不育,与以往报道中由 *WDR19* 突变导致的多发性异常综合征相比,该患者精子鞭毛异常是一种较温和的遗传缺陷。结合 *WDR19* 上强等位基因和弱等位基因对轴丝结构的不同影响^[41],推测可能因为疾病表型受基因变异类型和位置影响,该患者 *WDR19* 错义突变发生在 C 末端的 DZR 结构域,由于该结构域是 *WDR19* 的最后一个结构域,因此对蛋白质的结构和功能影响较小。其次,精子鞭毛的形成与体细胞纤毛的形成不完全一致^[42]。

3.3 IFT139/TTC21A 突变引起精子头尾连接异常

精子鞭毛多发性形态异常(multiple morphological abnormalities of the sperm flagella, MMAF)是一种遗传缺陷导致的畸形精子症。MMAF 有很强的遗传异质性,迄今为止,仅 60% MMAF 的致病基因已知,仍存在许多与人类 MMAF 疾病相关的未知基因。为了研究 MMAF 的未知遗传因素, Liu 等^[43]对 65 名患有原发性不育症的汉族男性进行全外显子测序和生物信息学分析,结果发现有 3 例患者具有 *TTC21A* 双等位基因突变。第一例患者为 *TTC21A* 剪接供体位点纯合突变: c.716p1G>A,该突变使内含子 6 中下游隐性剪接位点替代了正常的剪接供体位点,使翻译提前终止;第二例患者为 *TTC21A* 双等位基因突变: c.2329C>T, c.341A>G;第三例患者为 *TTC21A* 纯合错义突变: c.2563del。*TTC21A* 上存在 TPR 结构域,这是一个由 34 个氨基酸组成的重复序列,通常串行排列,通过形成特殊空间结构,介导蛋白质相互作用。TPR 结构域常存在于 IFT 蛋白中,对纤毛/鞭毛的功能十分重要,三例患者的突变位点都位于 TPR 保守位点区域^[43]。

TTC21A 编码的 IFT139 蛋白特异性定位于前细线期精母细胞、粗线期精母细胞、圆形精子细胞和长形精子细胞。IFT139 参与精子鞭毛正常组装,在鞭毛弯曲与搏动中发挥着重要作用。临床常规精液分析显示,*TTC21A* 突变的男性患者精子运动能力弱,无进行性运动,但是精液量和精子浓度无明显差异。3 例 *TTC21A* 突变患者几乎没有正常形态的精子,以头尾连接异常和鞭毛过短最为常见。透射电镜下,精子颈部和尾部存在残余细胞质成分和散乱无序的轴丝成分。动物实验显示,与野生型小鼠相比,*Ttc21a* 基因移码突变的雄性小鼠 mRNA 相对表达水平显著降低了 26%。野生型和杂合子 *Ttc21a* 突变小鼠没有明显的生殖表型差异,但 78% 的纯合突变雄性小鼠不能生育^[43]。

精子的颈段由小头(capitulum)、节柱(segmented column)和近端中心粒组成,在核凝聚时小头与核后端相接触,起连接作用,节柱的前端包围近端中心粒,节柱末端与中段的 ODF 相连。中心粒是节柱和轴丝的组织中心,精子尾部的微管由此长出并延伸,从而使精子尾部延长。ODF 围绕轴丝,与精子尾部的弹性回缩有关。线粒体成螺旋状包绕在 ODF 外形成中段结构,在线粒体鞘末端有一层致密的板状结构,称为环。对 *Ttc21a* 突变小鼠睾丸和附睾尾腔的精子形态学分析发现,圆形精子细胞在变形早期没有明显异常,但在核凝聚和后期伸长阶段,精子颈段形成或维持失败,颈部节柱和环分散,没有线粒体的包围和环的重新定位使中段形成失败,进一步导致头尾连接异常。除此之外,明显可见鞭毛内轴丝存在多种异常形态,例如外周微管排列紊乱、中央微管对丢失、动力蛋白臂丢失和异常肿胀,这些超微结构特征和光镜下观察到的精子头尾连接异常相吻合,从人类不育患者和小鼠模型的研究结果可以得出,IFT139 基因缺陷可导致生精功能障碍从而引起不育^[43]。

TTC21B 是 *TTC21A* 的同源物,两者编码的氨基酸序列相似性约为 50%,并且有 11 个相似的 TPR 结构域^[44]。*TTC21B* 在各种组织中普遍存在,其突变与各种纤毛病有关,例如局灶节段性肾小球硬化、Joubert 综合征、Bardet-Biedl 综合征、NPHP 和 ADT,但未见与男性不育相关的报道^[45,46]。然而,*TTC21A* 在睾丸组织中特异性高表达。*TTC21B* 信号可以在

生精小管细胞和睾丸间质细胞中被检测到,*TTC21A* 特异性分布在前细线期精母细胞、粗线期精母细胞、圆形精子细胞和长形精子细胞中^[43],*TTC21A* 和 *TTC21B* 的差异表达更有力地说明 *TTC21A* 在男性精子发生中具有特异性功能。

4 结语与展望

本文综述了部分通过 IFT 机制调控精子发生的 IFT 蛋白,其基因敲除小鼠有许多共同的表型:精子数量与活力明显下降,精子细胞形态多种异常,超微结构排列紊乱甚至丢失,生育能力减弱甚至完全不育,表明 IFT 蛋白对雄性小鼠精子发生和生育能力至关重要,相似的表型提示它们在精子发生中以不同方式发挥着相似的作用。随着对精子发生基因调控机制的深入研究,遗传变异在男性不育病因诊断中的价值越来越受到重视,人类男性和小鼠雄性的 *IFT140(Ift40)*、*IFT144(Ift144)* 和 *IFT139(Ift139)* 相似的突变表型表明,小鼠模型为研究 IFT 在人类男性生殖中的作用,以及为男性不育的基因诊断和靶向治疗提供了实验基础和理论依据。

IFT 复合体由 22 个亚基组成,本文对其中 10 个成员在哺乳动物精子发生中的作用进行了介绍,其余 12 个 IFT 成员调控机制还有待进一步研究。自 IFT 被发现以来,人们对其进行的大量研究丰富了对 IFT 的认知,但对 IFT 复合体的整体结构和各个亚单位的具体功能仍然所知甚少。IFT 仅是一个用以运输蛋白质的传送带,还是更加复杂的系统?在精子发生阶段,IFT 蛋白间通过何种方式相互结合发挥作用,具有相似功能的 IFT 蛋白之间能否代偿,IFT 蛋白靶向运输货物的机制等尚待进一步研究。

参考文献(References):

- [1] Sloboda RD. Purification and localization of intraflagellar transport particles and polypeptides. *Methods Mol Biol*, 2009, 586: 207–225. [DOI]
- [2] Taschner M, Bhogaraju S, Lorentzen E. Architecture and function of IFT complex proteins in ciliogenesis. *Differentiation*, 2012, 83(2): S12–22. [DOI]
- [3] Avidor-Reiss T, Carr A, Fishman EL. The sperm centrioles.

- Mol Cell Endocrinol*, 2020, 518: 110987. [DOI]
- [4] Lechtreck KF. IFT-cargo interactions and protein transport in cilia. *Trends Biochem Sci*, 2015, 40(12): 765–778. [DOI]
- [5] Taschner M, Lorentzen E. The intraflagellar transport machinery. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2016, 8(10): a028092. [DOI]
- [6] Liu H, Li W, Zhang Y, Zhang ZG, Shang XJ, Zhang L, Zhang SY, Li YW, Somoza AV, Delpi B, Gerton GL, Foster JA, Hess RA, Pazour GJ, Zhang ZB. IFT25, an intraflagellar transporter protein dispensable for ciliogenesis in somatic cells, is essential for sperm flagella formation. *Biol Reprod*, 2017, 96(5): 993–1006. [DOI]
- [7] Keady BT, Samtani R, Tobita K, Tsuchya M, San Agustin JT, Follit JA, Jonassen JA, Subramanian R, Lo CW, Pazour GJ. IFT25 links the signal-dependent movement of Hedgehog components to intraflagellar transport. *Dev Cell*, 2012, 22(5): 940–951. [DOI]
- [8] Eddy EM, Toshimori K, O'Brien DA. Fibrous sheath of mammalian spermatozoa. *Microsc Res Tech*, 2003, 61(1): 103–115. [DOI]
- [9] Bellyei S, Szigeti A, Boronkai A, Pozsgai E, Gomori E, Melegh B, Janaky T, Bogner Z, Hocsak E, Sumegi B, Gallyas F Jr. Inhibition of cell death by a novel 16.2 kD heat shock protein predominantly via Hsp90 mediated lipid rafts stabilization and Akt activation pathway. *Apoptosis*, 2007, 12(1): 97–112. [DOI]
- [10] Levental I, Veatch S. The continuing mystery of lipid rafts. *J Mol Biol*, 2016, 428(24 Pt A): 4749–4764. [DOI]
- [11] Zhu LH, Inaba K. Lipid rafts function in Ca^{2+} signaling responsible for activation of sperm motility and chemotaxis in the ascidian ciona intestinalis. *Mol Reprod Dev*, 2011, 78(12): 920–929. [DOI]
- [12] Lucker BF, Behal RH, Qin H, Siron LC, Taggart WD, Rosenbaum JL, Cole DG. Characterization of the intraflagellar transport complex B core: direct interaction of the IFT81 and IFT74/72 subunits. *J Biol Chem*, 2005, 280(30): 27688–27696. [DOI]
- [13] Zhang Y, Liu H, Li W, Zhang ZG, Shang XJ, Zhang D, Li YH, Zhang SY, Liu JP, Hess RA, Pazour GJ, Zhang Z. Intraflagellar transporter protein (IFT27), an IFT25 binding partner, is essential for male fertility and spermiogenesis in mice. *Dev Biol*, 2017, 432(1): 125–139. [DOI]
- [14] Kanie T, Abbott KL, Mooney NA, Plowey ED, Demeter J, Jackson PK. The CEP19-RABL2 GTPase complex binds IFT-B to initiate intraflagellar transport at the ciliary base. *Dev Cell*, 2017, 42(1): 22–36. [DOI]
- [15] Nishijima Y, Hagiya Y, Kubo T, Takei R, Katoh Y, Nakayama K. RABL2 interacts with the intraflagellar transport-B complex and CEP19 and participates in ciliary assembly. *Mol Biol Cell*, 2017, 28(12): 1652–1666. [DOI]
- [16] Shi L, Zhou T, Huang Q, Zhang SY, Li W, Zhang L, Hess RA, Pazour GJ, Zhang ZB. Intraflagellar transport protein 74 is essential for spermatogenesis and male fertility in mice. *Biol Reprod*, 2019, 101(1): 188–199. [DOI]
- [17] Lucker BF, Miller MS, Dziedzic SA, Blackmarr PT, Cole DG. Direct interactions of intraflagellar transport complex B proteins IFT88, IFT52, and IFT46. *J Biol Chem*, 2010, 285(28): 21508–21518. [DOI]
- [18] Wang ZH, Fan ZC, Williamson SM, Qin HM. Intraflagellar transport (IFT) protein IFT25 is a phosphoprotein component of IFT complex B and physically interacts with IFT27 in chlamydomonas. *PLoS One*, 2009, 4(5): e5384. [DOI]
- [19] Brown JM, Cochran DA, Craige B, Kubo T, Witman GB. Assembly of IFT trains at the ciliary base depends on IFT74. *Curr Biol*, 2015, 25(12): 1583–1593. [DOI]
- [20] Qu W, Yuan S, Quan C, Huang Q, Zhou Q, Yap Y, Shi L, Zhang D, Guest T, Li W, Yee SP, Zhang L, Cazin C, Hess RA, Ray PF, Kherraf ZE, Zhang ZB. The essential role of intraflagellar transport protein IFT81 in male mice spermiogenesis and fertility. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2020, 318(6): C1092–C1106. [DOI]
- [21] Wang ZY, Shi YQ, Ma SH, Huang Q, Yap YT, Shi L, Zhang SY, Zhou T, Li W, Hu B, Zhang L, Krawetz SA, Pazour GJ, Hess RA, Zhang ZB. Abnormal fertility, acrosome formation, IFT20 expression and localization in conditional Gmap210 knockout mice. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2020, 318(1): C174–C190. [DOI]
- [22] Kierszenbaum AL, Rivkin E, Tres LL, Yoder BK, Haycraft CJ, Bornens M, Rios RM. GMAP210 and IFT88 are present in the spermatid golgi apparatus and participate in the development of the acrosome-acroplaxome complex, head-tail coupling apparatus and tail. *Dev Dyn*, 2011, 240(3): 723–736. [DOI]
- [23] San Agustin JT, Pazour GJ, Witman GB. Intraflagellar transport is essential for mammalian spermiogenesis but is absent in mature sperm. *Mol Biol Cell*, 2015, 26(24): 4358–4372. [DOI]
- [24] Keady BT, Le YZ, Pazour GJ. IFT20 is required for opsin trafficking and photoreceptor outer segment development. *Mol Biol Cell*, 2011, 22(7): 921–930. [DOI]
- [25] Zhang ZG, Li W, Zhang Y, Zhang L, Teves ME, Liu H,

- Strauss JF 3rd, Pazour GJ, Foster JA, Hess RA, Zhang ZB. Intraflagellar transport protein IFT20 is essential for male fertility and spermiogenesis in mice. *Mol Biol Cell*, 2016, 27(23): 3705–3716. [DOI]
- [26] Pampliega O, Orhon I, Patel B, Sridhar S, Díaz-Carretero A, Beau I, Codogno P, Satir BH, Satir P, Cuervo AM. Functional interaction between autophagy and ciliogenesis. *Nature*, 2013, 502(7470): 194–200. [DOI]
- [27] Joo K, Kim CG, Lee MS, Moon HY, Lee SH, Kim MJ, Kweon HS, Park WY, Kim CH, Gleeson JG, Kim J. CCDC41 is required for ciliary vesicle docking to the mother centriole. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(15): 5987–5992. [DOI]
- [28] Zhang L, Zhen JK, Huang Q, Liu H, Li W, Zhang SY, Min J, Li YH, Shi L, Woods J, Chen XQ, Shi YQ, Liu YH, Hess RA, Song SZ, Zhang ZB. Mouse spermatogenesis-associated protein 1 (SPATA1), an IFT20 binding partner, is an acrosomal protein. *Dev Dyn*, 2020, 249(4): 543–555. [DOI]
- [29] Liang YW, Pang YN, Wu Q, Hu ZF, Han X, Xu YS, Deng HT, Pan JM. FLA8/KIF3B phosphorylation regulates kinesin-II interaction with IFT-B to control IFT entry and turnaround. *Dev Cell*, 2014, 30(5): 585–597. [DOI]
- [30] Zhang SY, Liu YH, Huang Q, Yuan S, Liu H, Shi L, Yap YT, Li W, Zhen JK, Zhang L, Hess RA, Zhang ZB. Murine germ cell-specific disruption of Ift172 causes defects in spermiogenesis and male fertility. *Reproduction*, 2020, 159(4): 409–421. [DOI]
- [31] Hermo L, Pelletier RM, Cyr DG, Smith CE. Surfing the wave, cycle, life history, and genes/proteins expressed by testicular germ cells. Part 2: changes in spermatid organelles associated with development of spermatozoa. *Microsc Res Tech*, 2010, 73(4): 279–319. [DOI]
- [32] Lehti MS, Sironen A. Formation and function of the manchette and flagellum during spermatogenesis. *Reproduction*, 2016, 151(4): R43–54. [DOI]
- [33] Yang H, Huang K. Dissecting the vesicular trafficking function of IFT subunits. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 7: 352. [DOI]
- [34] Absalon S, Blisnick T, Kohl L, Toutirais G, Doré G, Julkowska D, Tavenet A, Bastin P. Intraflagellar transport and functional analysis of genes required for flagellum formation in trypanosomes. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(3): 929–944. [DOI]
- [35] Zhu B, Zhu X, Wang LM, Liang YW, Feng QF, Pan JM. Functional exploration of the IFT-A complex in intraflagellar transport and ciliogenesis. *PLoS Genet*, 2017, 13(2): e1006627. [DOI]
- [36] Wang X, Sha YW, Wang WT, Cui YQ, Chen J, Yan W, Hou XT, Mei LB, Yu CC, Wang JH. Novel IFT140 variants cause spermatogenic dysfunction in humans. *Mol Genet Genomic Med*, 2019, 7(9): e920. [DOI]
- [37] Zhang Y, Liu H, Li W, Zhang ZG, Zhang SY, Teves ME, Stevens C, Foster JA, Campbell GE, Windle JJ, Hess RA, Pazour GJ, Zhang ZB. Intraflagellar transporter protein 140 (IFT140), a component of IFT-A complex, is essential for male fertility and spermiogenesis in mice. *Cytoskeleton (Hoboken)*, 2018, 75(2): 70–84. [DOI]
- [38] Hirano T, Katoh Y, Nakayama K. Intraflagellar transport-A complex mediates ciliary entry and retrograde trafficking of ciliary G protein-coupled receptors. *Mol Biol Cell*, 2017, 28(3): 429–439. [DOI]
- [39] Ni XQ, Wang JJ, Lv MR, Liu CY, Zhong YD, Tian SX, Wu H, Cheng HR, Gao Y, Tan Q, Chen BL, Li Q, Song B, Wei ZL, Zhou P, He XJ, Zhang F, Cao YX. A novel homozygous mutation in WDR19 induces disorganization of microtubules in sperm flagella and nonsyndromic asthenoteratospermia. *J Assist Reprod Genet*, 2020, 37(6): 1431–1439. [DOI]
- [40] Li W, Mukherjee A, Wu JH, Zhang L, Teves ME, Li HF, Nambiar S, Henderson SC, Horwitz AR, Strauss JF III, Fang XJ, Zhang ZB. Sperm associated antigen 6 (SPAG6) regulates fibroblast cell growth, morphology, migration and ciliogenesis. *Sci Rep*, 2015, 5: 16506. [DOI]
- [41] Liem KF Jr, Ashe A, He M, Satir P, Moran J, Beier D, Wicking C, Anderson KV. The IFT-A complex regulates Shh signaling through cilia structure and membrane protein trafficking. *J Cell Biol*, 2012, 197(6): 789–800. [DOI]
- [42] Myktyyn K, Mullins RF, Andrews M, Chiang AP, Swiderski RE, Yang BL, Braun T, Casavant T, Stone EM, Sheffield VC. Bardet-Biedl syndrome type 4 (BBS4)-null mice implicate Bbs4 in flagella formation but not global cilia assembly. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(23): 8664–8669. [DOI]
- [43] Liu WJ, He XJ, Yang SM, Zouari R, Wang JX, Wu H, Kherraf ZE, Liu CY, Coutton C, Zhao R, Tang DD, Tang SY, Lv MR, Fang YY, Li WY, Li H, Zhao JY, Wang X, Zhao SM, Zhang JJ, Arnoult C, Jin L, Zhang ZG, Ray PF, Cao YX, Zhang F. Bi-allelic mutations in TTC21A induce asthenoteratospermia in humans and mice. *Am J Hum Genet*, 2019, 104(4): 738–748. [DOI]

- [44] Tran PV, Haycraft CJ, Besschetnova TY, Turbe-Doan A, Stottmann RW, Herron BJ, Chesebro AL, Qiu HY, Scherz PJ, Shah JV, Yoder BK, Beier DR. THM1 negatively modulates mouse sonic hedgehog signal transduction and affects retrograde intraflagellar transport in cilia. *Nat Genet*, 2008, 40(4): 403–410. [DOI]
- [45] Huynh Cong E, Bizet AA, Boyer O, Woerner S, Gribouval O, Filhol E, Arrondel C, Thomas S, Silbermann F, Canaud G, Hachicha J, Ben Dhia N, Peraldi MN, Harzallah K, Iftene D, Daniel L, Willems M, Noel LH, Bole-Feysot C, Nitschké P, Gubler MC, Mollet G, Saunier S, Antignac C. A homozygous missense mutation in the ciliary gene TTC21B causes familial FSGS. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 25(11): 2435–2443. [DOI]
- [46] Davis EE, Zhang Q, Liu Q, Diplas BH, Davey LM, Hartley J, Stoetzel C, Szymanska K, Ramaswami G, Logan CV, Muzny DM, Young AC, Wheeler DA, Cruz P, Morgan M, Lewis LR, Cherukuri P, Maskeri B, Hansen NF, Mullikin JC, Blakesley RW, Bouffard GG; NISC Comparative Sequencing Program, Gyapay G, Rieger S, Tönshoff B, Kern I, Soliman NA, Neuhaus TJ, Swoboda KJ, Kayserili H, Gallagher TE, Lewis RA, Bergmann C, Otto EA, Saunier S, Scambler PJ, Beales PL, Gleeson JG, Maher ER, Attié-Bitach T, Dollfus H, Johnson CA, Green ED, Gibbs RA, Hildebrandt F, Pierce EA, Katsanis N. TTC21B contributes both causal and modifying alleles across the ciliopathy spectrum. *Nat Genet*, 2011, 43(3): 189–196. [DOI]

(责任编辑: 刘默芳)