

文章编号: 1004-0374(2012)01-0019-06

*Pitx2*在牙齿早期发育中的调控作用

葛香连¹, 王冰梅¹, 许新², 林丽娣¹, 赵武奎¹, 张彦定^{1*}

(1 福建师范大学生命科学学院, 福建省发育与神经生物学重点实验室, 福州 350108;

2 福建省福州儿童医院, 福州 350005)

摘要: *Pitx 2* (*bicoid-related transcription factor 2*) 属于 Nodal/Sonic hedgehog 信号通路, 在脊椎动物的发育中通过影响细胞增殖、分化及迁移参与调控组织或器官的发育。*Pitx2* 突变或缺失小鼠胚胎将出现一系列发育异常现象, 如 *Pitx2* 突变导致小鼠肺的左右不对称、心脏的定位异常以及脑垂体和牙胚的发育异常; 同时 *Pitx2* 突变也严重影响血及生殖腺的形成。目前研究发现, *Pitx2* 包括 *Pitx2a*、*Pitx2b*、*Pitx2c* 和 *Pitx2d* 四种亚型, 其中 *Pitx2d* 亚型仅在人类颅面部被检测到其表达。*Pitx2* 是小鼠牙胚早期发育过程中的分子标记之一, 它的表达情况影响到牙胚的形成, 这种重要作用在人类牙胚发育过程中是相似的。对小鼠及人类牙胚早期发育过程中 *Pitx2* 的表达, 以及在小鼠牙胚中 *Pitx2* 与 *Fgf8*、*Msx1/Msx2*、*Bmp4*、*Lef1* 的相互调控关系进行综述。

关键词: *Pitx2*; 牙齿发育; 亚型

中图分类号: R780.2

文献标志码: A

Roles of *Pitx2* during early development of tooth germ

GE Xiang-Lian, WANG Bing-Mei, XU Xin, LIN Li-Di, ZHAO Wu-Kui, ZHANG Yan-Ding*

(1 Fujian Key Laboratory of Developmental and Neurobiology, College of Life Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou 350108, China; 2 Fujian Fuzhou Children's Hospital, Fuzhou 350108, China)

Abstract: *Pitx2* (*bicoid-related transcription factor 2*), a member of Nodal/Sonic hedgehog signaling pathway, regulates tissue and organ growth through affecting cell proliferation, differentiation, and migration during the vertebrate embryonic development. Mutation or deficiency of *Pitx2* in mouse embryo will lead to a series of aberrant development, such as lung asymmetry, cardiac positioning and pituitary and tooth abnormalities. Moreover, *Pitx2* is also involved in hematopoiesis and gonad morphogenesis. According to the existing reports, *Pitx2* is composed of four isoforms: *Pitx2a*, *Pitx2b*, *Pitx2c* and *Pitx2d*, among which, *Pitx2d* isoform is specifically expressed in human cranial facial area. At the early stage of mice tooth development, *Pitx2* is one of the molecular markers in odontogenic epithelium. Its expression level is closely associated with the formation of the tooth germ, which is also the truth when referred to its roles in human tooth development. In present review, we summarize the *Pitx2* expression in mouse and human tooth development, and elucidate the interrelationship of *Pitx2* with *Fgf8*, *Msx1*, *Msx2* and *Lef1* during the mice tooth development.

Key words: *Pitx2*; tooth development; isoforms

Pitx(*bicoid-related transcription factors*) 家族在脊椎动物发育过程起重要的调控作用。该家族划分为控制脊椎动物发育同源类型相关基因的第三组, 包括 *Pitx1*(*Ptx1*、*Otlx1*、*Bft*、*Brx 2*、*P-Otx*)、*Pitx2* (*Ptx2*、*Otlx2*、*Brx1*、*RIEG*、*Solurshin*、*ARPI*) 和 *Pitx3*(*Ptx3*) 三个亚型^[1]。由于 *Pitx2* 在器官发育中

起到非常重要的作用, 所以一直以来都备受科研人

收稿日期: 2011-07-13; 修回日期: 2011-08-01

基金项目: 福建省教育厅项目(JB10011); 福建师范大学本科生课外科技计划项目(BKL2011-080); 国家级教学示范中心创新研究计划项目(20111s014)

*通信作者: E-mail: ydzhang@fjnu.edu.cn

员的关注。*Pitx2* 全长 cDNA 序列为 2 125 bp, 由于该基因是从 Axenfeld Rieger 综合征患者的颅面部 cDNA 序列筛选而得到, 所以被命名为 *RIEG*(rieger syndrome) 基因^[2]。*Pitx2* 属于 Nodal/Sonic hedgehog(shh) 信号通路^[3-6], 1999 年, Lin 等^[7]发现 *Pitx2* 缺失的小鼠表型和 *ActRIIB*(the type IIB activin receptor) 基因缺失表型相似, 接着证明了在器官的不对称发育及心脏的定位过程中, *Pitx2* 参与 Shh 信号通路, 是 Nodal 介导的下游基因。*Pitx2* 在脊椎动物发育过程中起着重要作用, 调控小鼠肺的左右对称、心脏的定位以及脑垂体和牙胚的形成^[7], 其突变或缺失将导致一系列发育不正常, 例如, *Pitx2* 缺失的小鼠发育出现多种异常: 体壁不联合、心血管融合受阻、牙胚发育异常、脊柱前弯, 并且影响心脏隔膜的形成以及导致小鼠胎肺发育异常; 同时, *Pitx2* 缺失影响小鼠心脏的左右对称发育, 导致心跳异常, 影响垂体腺前体的定位及垂体腺细胞的增殖^[8]。由此可见, *Pitx2* 对脊椎动物胚胎发育过程中器官的形成及发育具有重要的调控作用。

1 *Pitx2*的研究概况

1.1 *Pitx2*与相关基因或蛋白相互作用研究概况

Pitx2 与 YB-1(Y-box-binding protein)、nucleolin、hnRNP K (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K) 及 hnRNP U (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U)、NF-1 (nuclear factor-1) 等蛋白相互作用调控细胞增殖、分化、器官形成及造血等功能^[9-12]。与 *Pitx2* 相互作用的蛋白还有 HMG-17 (high mobility group-17)、MEF2A、Pit-1 及 GcMa (glial cells missing a), *Pitx2* 与心脏利钠因子 (atrial natriuretic factor, ANF) 启动子的活化、HEK293 细胞的增殖等密切相关^[13-16]。Wnt/Dvl/ β -catenin 通路通过与 Lef1 相互作用, 启动下游基因 *Pitx2* 的表达, 促进神经嵴来源的细胞的特化及增殖进而调控心脏流出通道的形成^[8]; 同时 *Pitx2* 与 Lef1 的相互作用调控肌源性细胞分化形成体节肌^[17]。在心脏和肺的形成过程中, *Pitx2* 是 *ActRIIB* 特异的下游基因, 调控小鼠体轴的形成及不对称发育^[7]。此外, 在小鼠眼睛发育过程中, *Pitx2* 的一个重要的下游基因是 *Dkk2*, 它控制小鼠眼周间充质的发育^[18]。在鸡胚生殖腺发育过程中, *Pitx2* 调控原始生殖腺上皮细胞的增殖、分化, 细胞的附着、黏连、识别, 此过程是通过调控 *cyclinD1* 的表达来调控卵巢的形态与功能的形成^[19]。目前, 在牙胚早期发育的几个经典时期, *Otlx1* 和

Pitx2 的表达情况已有较深入的研究^[2]。由此可见, *Pitx2* 在组织及器官的形成过程中受到不同基因的调控, 从而行使不同的功能与活性。

人类 *Pitx2* 的突变或缺失导致一些常染色体显性遗传病, 例如里格尔综合征 (axenfeld-Rieger syndrome)、虹膜发育不全 (iridogoniodysgenesis syndrome)、零星彼得综合征 (sporadic Peter syndrome)^[2,20]。Ernst 等^[21]推测急性白血病的形成与 *Pitx2* 基因的不表达相关。Lin 等^[7]研究表明, *Pitx2* 突变或缺失会引起牙胚发育不全。*Pitx2* 在毛囊外根鞘发育过程中是受 β -catenin 调控的下游因子, 对体外培养的毛囊干细胞的分化起到调节作用^[22]。由 *Pitx2* 突变引起的里格尔综合征, 即 RIEG 综合征, 除了由完全缺失 *Pitx2* C 末端引起以外, 还出现氨基酸的错译, 如 742 bp 处 G 突变成 C, 导致 58 位 Phe 错译成 Leu; 753 bp 处 T 突变成 G, 导致 55 位谷氨酸错译; 942 bp 处 A 突变成 C, 导致 121 位酪氨酸错译。另一种 *Pitx2* 的突变是在 1 251 bp 处插入了 8 个核苷酸序列 (CGACTCCT)^[20]。这些位点的突变大大影响了 *Pitx2* 蛋白作为转录因子与靶基因的结合能力。由此可见, *Pitx2* 在人类器官及组织发育过程中同样也起着至关重要的作用。

1.2 *Pitx2*亚型的研究概况

Pitx2 全长 cDNA 由 6 个外显子编码, 包括 1、2、3、4(4a 与 4b)、5 和 6。不同外显子拼接可以构成 *Pitx2a*、*Pitx2b*、*Pitx2c* 和 *Pitx2d* 四种亚型。其中 *Pitx2a* 由 1、2、4、5、6 编码; *Pitx2b* 由 1、2、3、5、6 编码; *Pitx2c* 由 4b、5、6 编码; *Pitx2d* 由 4a、5、6 编码。四种亚型 C 末端由 5、6 外显子编码 80% 的蛋白, 相当保守, b、c 亚型 N 末端只有 33% 的相似性。*Pitx2a*、*Pitx2b*、*Pitx2c* 三者 N 末端仍然有 60 个氨基酸的同源域, 而 *Pitx2d* 亚型具备的是删除顶端的无功能的同源结构域, 所以其不具有与靶基因结合的能力^[8]。所有亚型在 C 末端具有 14 个保守的氨基酸序列, 即 OAR^[2,15]。研究表明, 人类 *Pitx2* 四种亚型都表达, 四种亚型的活性具有组织、细胞及启动子的差异性, 并且只在人的颅面部检测到 *Pitx2d* 亚型信号。目前研究比较多的是 *Pitx2a*、*Pitx2b*、*Pitx2c* 三个亚型, *Pitx2a*、*Pitx2c* 在控制鸡和非洲蟾蜍左右对称发育的过程中起重要的作用, *Pitx2c* 在鸡胚发育过程中调控组织器官的发育, 控制左右对称及右侧心脏环的形成^[3]。*Pitx2a* 在斑马鱼胚胎发育过程中控制心脏原基细胞的发育, *Pitx2c* 亚型调控中脑、间脑的左背部及肠的发育^[23]。

在小鼠及蛙中, *Pitx2c* 亚型在十二指肠及肺中的表达水平比心脏中高, 并且与细胞的迁移相关, 而 *Pitx2b* 在头部、脑垂体、鳃及肌肉中表达^[23-24]。2005年, Vadlamudi等^[25]研究发现, 在小鼠牙上皮细胞系, 即LS-8细胞中有 *Pitx2a* 和 *Pitx2c* 两种亚型的表达, *Pitx2b*、*Pitx2d* 亚型不表达。研究证明了 *Pitx2d* 本身不具备激活启动子的活性, 而是通过与 *Pitx2a*、*Pitx2c* 结合起到下调两者的转录活性的作用, 这种抑制作用在各个细胞系及启动子中是相同的。*Pitx2c* 主要控制细胞的分化, 正常人表皮角化细胞只表达 *Pitx2c* 亚型, 而经过体外培养的表皮角化细胞表达 *Pitx2a/b/c* 三种亚型。LiCl 能刺激 Wnt 信号的加强^[26], 当往培养的表皮细胞中加入 LiCl 处理时, 细胞中的 Wnt 信号增强。很多研究报道 *Pitx2* 的表达受到 β -catenin 的调控, 所以在体外加强 Wnt 信号, 如用 LiCl 刺激细胞或用基因转染细胞后, 细胞中的 *Pitx2* 亚型的表达也增多, 进一步说明了 *Pitx2c* 是促进分化的功能转录因子^[27]。*Pitx2a*、*Pitx2b*、*Pitx2c* 分别可以不同程度地激活心脏利钠因子 ANF 的启动子, *Pitx2c* 必须特异地与 *Nkx2.5* 协同作用后才能激活 ANF 的表达^[28]。

2 *Pitx2*在牙胚早期发育过程中的表达

早期人牙胚发育按其形态可分为牙板期(5~6周)、蕾状期(7~8周)、帽状期(9~10周)、钟状期(14~18周)及分泌期(18周以后)等五个时期。对应于小鼠是 E(embryonic)11.5、E12.5~E13.5、E14.5、E16.5 及 E18.5 以后。Mucchielli等^[29]研究表明, *Pitx2* 在人类门牙、磨牙、尖牙中均有表达, 并且在小鼠的磨牙中表达仅比 *Fgf8* 迟 2 d, 之后持续到小鼠出生后的第 4 天。*Pitx2* 各个亚型在鼠胚、鸡胚、斑马鱼等模式生物组织及器官发育中都有研究, 但关于 *Pitx2* 及其四种亚型在人类牙胚中的表达情况尚未见有人研究。

2.1 *Pitx2*在小鼠牙胚早期发育过程中的表达

近年来不少科研人员对 Bicoid 家族的转录因子进行了大量研究, 在 *Xenopus laevis* 腺体形成过程中, *Pitx1* 及 *Pitx2c* 起着重要作用^[30]。小鼠中 *Pitx1*、*Pitx2* 是后肢芽发育及形成的重要因子^[31]。在小鼠牙胚发育过程中, *Pitx1* 起初在下颌磨牙牙胚的间充质中表达, 随着牙胚的发育, *Pitx1* 特异地在上皮中表达, 并且在上皮和间充质中都受到 *Bmp4* 的调控^[32]。在下颌磨牙发育的早期, *Pitx2* 诱导间充质中 *Barx1* 的表达, 后期诱导成釉细胞分子

标记 *Tbx1* 的表达, 而在上颌磨牙中不存在这种调控机制。

Pitx2 已被证明是小鼠牙胚上皮的标记基因, 1997年, Mucchielli等^[29]证明属于 *Pitx2* 成员之一的 *Otlx2* 特异地在小鼠门、磨牙的牙上皮表达, 并且持续到牙胚发育的分泌期, 即出生后 4 d 仍能在内釉上皮及上皮隔膜检测到 *Otlx2* 的表达。早在小鼠 E9.5 牙胚发生定位之时就能检测到 *Pitx1*、*Pitx2* 的表达^[33], 其中 *Pitx1* 在上皮和间充质中都表达, *Pitx2* 只在牙胚发生的位置包括门、磨牙的上皮中有特异表达。*Pitx2*^{-/-} 小鼠牙胚发育停滞在蕾状期。E13.5 蕾状晚期到 E17.5 钟状期 *Pitx2* 的表达水平是最高的, 而这个时期也是牙上皮形态变化最快、最明显且细胞增殖最迅速的时期。小鼠 E16.5 以后, *Pitx2* 的表达水平在内外釉上皮较高, 星网层的表达量最低^[29]。出生后 4 d 小鼠第二磨牙上皮隔膜上仍可以检测到 *Otlx2* 的表达。1999年, Lin等^[7]推测 *Pitx2* 的表达可能和细胞增殖相关; 2002年, Kioussi等^[8]证实 *Pitx2* 是 Wnt 信号通路的下游基因。当 β -catenin 与 *Lef1* 相互作用结合到 *Pitx2* 启动子上时, 启动 *Pitx2* 基因的表达, 接着 *Pitx2* 与 β -catenin 共同启动 *CyclinD2* 表达, 从而起到促进细胞增殖的作用。由 Wnt 引起 *Pitx2* 基因的表达对中胚层来源的器官的发育起到非常重要影响。因此, 推测, *Pitx2* 不但对牙胚的定位起着很重要的作用, 牙上皮的细胞增殖可能也与 *Pitx2* 的活性密切相关。2005年, Vadlamudi等^[25]证明牙胚的发育需要 *Pitx2*、CTNNB1 和 *Lef1* 三者的协调作用, 同时鉴定小鼠牙上皮中 *Pitx2* 存在 *Pitx2a*、*Pitx2b*、*Pitx2c* 三种亚型, *Pitx2c* 起最主要的作用。三种亚型之间有冗余的现象, 当 *Pitx2a*、*Pitx2b* 突变后, 牙胚仍能正常发育, 也就是 *Pitx2a*、*Pitx2b* 突变后, *Pitx2c* 能够弥补由于前两者突变而引起的缺陷。实验也证明了 *Fgf8* 的表达需要 *Pitx2* 的维持^[25,34]。*Lef1* 启动子存在对 *Pitx2* 的抑制区域, 但这些抑制区域不能抑制 *Pitx2c* 亚型的表达, 正因如此, 在牙胚发育过程中抑制 *Pitx2a*、*Pitx2b* 亚型的活性不影响 *Lef1* 的表达。由于牙胚以外的其他器官只表达 *Pitx2a*、*Pitx2b* 两个亚型或只有其中之一表达, 所以当 *Pitx2a*、*Pitx2b* 表达受到抑制时, *Lef1* 活性受到严重影响。

2.2 *Pitx2*在人牙胚早期发育过程中的表达

2007年, Lin等^[35]研究并对比了小鼠和人牙胚中 *Pitx2* 的表达情况, 检测了 8W(蕾状期)、

14W(钟状期)门牙牙胚以及12W(帽状期)、14W(钟状期)前磨牙牙胚,与E14.5小鼠磨牙进行了对比发现,*Pitx2*在人和小鼠中的表达模式相同,即在牙胚发育的帽状期以前,*Pitx2*表达分布于整个牙上皮,而到了钟状期以后,*Pitx2*的在内釉上皮的表达水平会高于外釉上皮。这种现象与*Pitx2*促进细胞分化作用可能相关,人和小鼠牙胚发育到钟状期以后,前成釉细胞向柱状成釉质细胞方向分化,前成釉细胞处于内釉上皮的位置,这也同时可以解释在牙胚发育过程中*Pitx2c*亚型比*Pitx2a*、*Pitx2b*两种亚型重要的原因。

3 在小鼠牙胚发育过程中*Pitx2*与*Fgf8*、*Msx1*/*Msx2*、*Bmp4*、*Lef1*的相互关系

3.1 *Pitx2*与*Fgf8*的相互关系

Fgfs(fibroblast growth factors)与*Pitx2*之间存在正反馈调节的作用。小鼠牙齿定位始于胚胎发育E9.5,此时*Fgf8*在预定牙上皮特异表达。*Pitx1*、*Pitx2*表达区域与*Fgf8*重叠^[33],*Pitx1*在牙上皮、间充质和整个下颌都有表达,*Pitx2*则特异地在牙上皮中表达。*Pitx2*双敲除小鼠中检测到表皮中除了*Fgf2*及*Fgf18*的表达量下调以外,同时*Fgf8*的表达微量下调^[7]。在E10.5*Pitx2*敲除杂合子小鼠中,*Fgf8*正常表达,而在*Pitx2*敲除纯合子小鼠牙胚中,*Fgf8*不表达,依赖于*Fgf8*的*Dlx2*、*Edn1*表达量下调^[7,34]。2003年,Liu等^[34]用部分外显子敲除的方法研究了*Pitx2*基因亚型在小鼠颌面部的表达情况,结果显示少剂量的*Pitx2*可以维持*Fgf8*的表达,而抑制*Bmp4*的表达则需要大剂量*Pitx2*的表达。此外,*Pitx2*呈阳性的细胞具有迁移能力,对牙上皮形态的形成起直接调控作用。牙板期牙上皮中*Fgf8*的微量减少可能直接或是间接地受*Pitx2*缺失的影响。在E9.5~E10.5的小鼠牙胚中检测到*Pitx1*、*Pitx2*在下颌发育过程中与*Fgf8*重叠,当加入吸附有*Fgf8*的琼脂糖小珠异位表达*Fgf8*时,可诱导*Pitx1*、*Pitx2*的表达^[36]。由于E9.5时内源性*Pitx1*在鳃弓间充质中无需上皮的诱导已经有表达,所以*Fgf8*对*Pitx1*只是起到上下调节的作用,而*Fgf8*与*Pitx2*之间是正反馈调节的关系。

3.2 *Pitx2*与*Msx1*/*Msx2*的相互关系

Msx(muscle segment homeobox)家族包括*Msx1*、*Msx2*、*Msx3*,已报道的在牙胚发育过程中表达的成员有*Msx1*、*Msx2*。在小鼠牙胚发生的起始时期E9.5~E11.5,*Msx1*、*Msx2*在牙上皮中表达;E11.5

小鼠牙胚到蕾状期时,*Msx1*、*Msx2*表达由上皮中的*Bmp4*诱导转移至间充质中^[37]。在E13.5*Msx2*敲除纯合子小鼠门磨牙中,*Pitx1*、*Pitx2*的表达不受影响;而在E17.5*Msx2*敲除纯合子小鼠门牙中,*Pitx1*、*Pitx2*的表达水平下调,磨牙保持不变。这说明*Msx2*对小鼠门牙中*Pitx1*、*Pitx2*的表达是必需的,而在小鼠磨牙的整个发育过程中,*Msx2*对*Pitx1*、*Pitx2*没有影响,也从另一侧面说明小鼠门牙和磨牙发育中分子调控机制的不同。同时,在E12.5小鼠*Pitx2*敲除杂合子牙胚间充质中可以检测到*Msx1*的表达,而在*Pitx2*敲除纯合子中,*Msx1*不表达^[8]。由此可见,*Msx1*、*Msx2*与*Pitx2*在小鼠门牙牙胚发育的后期存在正相关调控作用,而在磨牙中不存在这种调控关系。

3.3 *Pitx2*与*Bmp4*的相互关系

Bmp4(Bone morphogenetic protein 4)与*Pitx2*共同参与牙齿发生的定位,同时*Bmp4*还参与牙齿类型的确定。*Pitx2*的缺失不会对*Bmp2*、*Bmp4*的表达产生严重影响,但*Pitx2*的缺失会导致釉结节位置的消失^[7]。St Amand等^[33]利用吸附有*Bmp4*的琼脂糖小珠置于*Pitx1*的表达区域——下颌间充质及表达*Pitx2*的预期牙上皮,结果表明*Bmp4*抑制*Pitx1*、*Pitx2*的表达,但*Bmp4*不是抑制*Pitx1*的必需因子,早期下颌发育过程中,*Pitx1*、*Pitx2*的表达受*Fgf8*与*Bmp4*的对抗性表达调控。目前,*Pitx2*对*Bmp4*的表达是否起到直接或间接的调控需要进一步的实验证明。

3.4 *Pitx2*与*Lef1*的相互关系

一些神经嵴来源的器官,如脑垂体及心脏的发育过程中,*Pitx2*是Wnt信号通路的下游基因^[8],当 β -catenin去磷酸化进入细胞核与转录因子Lef1共同结合到启动子上时,启动下游基因*Pitx2*的表达,而Cyclin D1、Cyclin D2、c-myc等细胞周期调控因子又是*Pitx2*的靶基因,作用于G₀/G₁期诱导细胞自身增殖。脊椎动物器官发育过程中一般只具有一个或两个亚型有表达,小鼠牙胚中*Pitx2a*、*Pitx2b*、*Pitx2c*三个亚型都有表达,并且三种亚型都可以和Lef1、 β -catenin协同作用,激活Lef1的启动子。Lef1、 β -catenin、*Pitx2*在小鼠牙胚发育的蕾状期重叠表达,并且Lef1的表达比*Pitx2*迟1.5~2d。在*Pitx2*敲除纯合子小鼠牙胚中,Lef1的表达量下调,Lef1敲除纯合子小鼠牙胚发育停滞在蕾状期,这与*Pitx2*敲除纯合子小鼠牙胚发育停滞在蕾状期是一致的^[25],因此,在小鼠牙胚发育中*Pitx2*是Lef1的

转录因子之一,同时也对 *Lef1* 的表达起到抑制作用。

4 *Pitx2*在牙胚发育过程中的研究展望

近年来的研究成果表明, *Pitx2* 作为牙上皮的关键基因之一,在肺的左右对称、心脏定位、垂体和牙胚的形成过程中参与 *Shh* 信号通路,是 *Nodal* 介导的下游基因^[7]。在牙胚发育过程中加强 *Wnt* 信号,会出现多牙或多数磨牙出现融合等现象^[38]。*Shh* 信号通路的下游基因,同时是 *Wnt* 拮抗物的 *Wise* 基因敲除^[39]及拮抗 *SHH* 蛋白^[40]的小鼠会出现与上述相同的现象。此外 *Fgf* 和 *Shh* 是由 *Wise* 调控的 *Wnt* 信号通路的下游基因^[41], *Pitx2* 与 *Wnt/β-catenin* 的直接靶基因 *Fgf8* 形成正反馈调控关系,那么可以推测当 *Wnt* 信号加强时, *Pitx2* 的表达量也上调。由前面的关系可进一步推测,在牙胚发育过程中, *Pitx2* 可能起着与 *Wise* 一样的介导调控 *Wnt* 与 *Shh* 两条信号通路的作用,同时与 *Fgf8* 相关。神经嵴来源的细胞中, *Pitx2* 是 *Wnt* 的下游靶基因^[8],在细胞水平起着重要的调控作用。 *Pitx2* 的亚型分别调控着特定的下游基因,牙胚发育涉及到细胞的迁移、增殖、分化和凋亡等过程,而 *Pitx2* 对细胞的这些过程都起着重要的调控作用,这就奠定了 *Pitx2* 作为牙上皮分子标记因子的关键性。此外,小鼠牙胚发育过程中, *Pitx2* 各亚型之间存在冗余效果,其中 *Pitx2c* 启动子受到的干扰作用最小,当 *Pitx2a*、*Pitx2b* 受到 *Lef1* 启动子抑制时, *Pitx2c* 仍不受影响,预示着 *Pitx2c* 亚型在小鼠牙胚发育过程中起着最重要的作用。 *Pitx2* 表达同样贯穿于人牙胚发育的整个过程,那么人牙胚中是否存在 *Pitx2* 表达亚型,以及它们之间的相互作用就有待进一步深入研究了。同时,在人牙胚发育过程中 *Pitx2* 与其他基因的相互关系,例如与 *Fgf8*、*Msx1/Msx2*、*Bmp4*、*Lef1* 等也有待进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] Meijlink F, Beverdam A, Brouwer A, et al. Vertebrate aristaless-related genes. *Int J Dev Biol*, 1999, 43(7): 651-63
- [2] Semina EV, Reiter R, Leysens NJ, et al. Cloning and characterization of a novel bicoid-related homeobox transcription factor gene, RIEG, involved in Rieger syndrome. *Nat Genet*, 1996, 14(4): 392-9
- [3] Logan M, Pagan-Westphal SM, Smith DM, et al. The transcription factor *Pitx2* mediates situs-specific morphogenesis in response to left-right asymmetric signals. *Cell*, 1998, 94(3): 307-17
- [4] Piedra ME, Icardo JM, Albajar M, et al. *Pitx2* participates in the late phase of the pathway controlling left-right asymmetry. *Cell*, 1998, 94(3): 319-24
- [5] Ryan AK, Blumberg B, Rodriguez-Esteban C, et al. *Pitx2* determines left-right asymmetry of internal organs in vertebrates. *Nature*, 1998, 394(6693): 545-51
- [6] Yoshioka H, Meno C, Koshiba K, et al. *Pitx2*, a bicoid-type homeobox gene, is involved in a lefty-signaling pathway in determination of left-right asymmetry. *Cell*, 1998, 94(3): 299-305
- [7] Lin CR, Kioussi C, O'Connell S, et al. *Pitx2* regulates lung asymmetry, cardiac positioning and pituitary and tooth morphogenesis. *Nature*, 1999, 401(6750): 279-82
- [8] Kioussi C, Briata P, Baek SH, et al. Identification of a *Wnt/Dvl/β-Catenin* → *Pitx2* pathway mediating cell-type-specific proliferation during development. *Cell*, 2002, 111(5): 673-85
- [9] Huang Y, Huang K, Boskovic G, et al. Proteomic and genomic analysis of *PITX2* interacting and regulating networks. *FEBS Lett*, 2009, 583(4): 638-42
- [10] Schitteck B, Psenner K, Sauer B, et al. The increased expression of Y box-binding protein 1 in melanoma stimulates proliferation and tumor invasion, antagonizes apoptosis and enhances chemoresistance. *Int J Cancer*, 2007, 120(10): 2110-8
- [11] Ai D, Wang J, Amen M, et al. Nuclear factor 1 and T-cell factor/LEF recognition elements regulate *Pitx2* transcription in pituitary development. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(16): 5765-75
- [12] Hayashi M, Maeda S, Aburatani H, et al. *Pitx2* prevents osteoblastic transdifferentiation of myoblasts by bone morphogenetic proteins. *J Biol Chem*, 2008, 283(1): 565-71
- [13] Toro R, Saadi I, Kuburas A, et al. Cell-specific activation of the atrial natriuretic factor promoter by *PITX2* and *MEF2A*. *J Biol Chem*, 2004, 279(50): 52087-94
- [14] Amen M, Espinoza HM, Cox C, et al. Chromatin-associated HMG-17 is a major regulator of homeodomain transcription factor activity modulated by *Wnt/β-catenin* signaling. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(2): 462-76
- [15] Amendt BA, Sutherland LB, Russo AF. Multifunctional role of the *Pitx2* homeodomain protein C-terminal tail. *Mol Cell Biol*, 1999, 19(10): 7001-10
- [16] Schubert SW, Kardash E, Khan MA, et al. Interaction, cooperative promoter modulation, and renal colocalization of *GCMa* and *Pitx2*. *J Biol Chem*, 2004, 279(48): 50358-65
- [17] Abu-Elmagd M, Robson L, Sweetman D, et al. *Wnt/Lef1* signaling acts via *Pitx2* to regulate somite myogenesis. *Dev Biol*, 2010, 337(2): 211-9
- [18] Kumar S, Duester G. Retinoic acid signaling in periostic mesenchyme represses *Wnt* signaling via induction of *Pitx2* and *Dkk2*. *Dev Biol*, 2010, 340(1): 67-74
- [19] Rodriguez-Leon J, Rodriguez Esteban C, Marti M, et al. *Pitx2* regulates gonad morphogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(32): 11242-7
- [20] Vieira V, David G, Roche O, et al. Identification of four

- new PITX2 gene mutations in patients with Axenfeld-Rieger syndrome. *Mol Vis*, 2006, 12: 1448-60
- [21] Ernst P, Mabon M, Davidson AJ, et al. An *Mll*-dependent *Hox* program drives hematopoietic progenitor expansion. *Curr Biol*, 2004, 14(22): 2063-9
- [22] Sohn KC, Shi G, Jang S, et al. Pitx2, a beta-catenin-regulated transcription factor, regulates the differentiation of outer root sheath cells cultured *in vitro*. *J Dermatol Sci*, 2009, 54(1): 6-11
- [23] Schweickert A, Campione M, Steinbeisser H, et al. Pitx2 isoforms: involvement of Pitx2c but not Pitx2a or Pitx2b in vertebrate left-right asymmetry. *Mech Dev*, 2000, 90(1): 41-51
- [24] Liu C, Liu W, Palie J, et al. Pitx2c patterns anterior myocardium and aortic arch vessels and is required for local cell movement into atrioventricular cushions. *Development*, 2002, 129(21): 5081-91
- [25] Vadlamudi U, Espinoza HM, Ganga M, et al. PITX2, β -catenin and LEF-1 interact to synergistically regulate the LEF-1 promoter. *J Cell Sci*, 2005, 118(Pt 6): 1129-37
- [26] Hedgepeth CM, Conrad LJ, Zhang J, et al. Activation of the Wnt signaling pathway: a molecular mechanism for lithium action. *Dev Biol*, 1997, 185(1): 82-91
- [27] Shi G, Sohn KC, Choi TY, et al. Expression of paired-like homeodomain transcription factor 2c (PITX2c) in epidermal keratinocytes. *Exp Cell Res*, 2010, 316(19): 3263-71
- [28] Ganga M, Espinoza HM, Cox CJ, et al. PITX2 isoform-specific regulation of atrial natriuretic factor expression: synergism and repression with Nkx2.5. *J Biol Chem*, 2003, 278(25): 22437-45
- [29] Mucchielli ML, Mitsiadis TA, Raffo S, et al. Mouse *Otlx2*/RIEG expression in the odontogenic epithelium precedes tooth initiation and requires mesenchyme-derived signals for its maintenance. *Dev Biol*, 1997, 189(2): 275-84
- [30] Schweickert A, Deissler K, Blum M, et al. Pitx1 and Pitx2c are required for ectopic cement gland formation in *Xenopus laevis*. *Genesis*, 2001, 30(3): 144-8
- [31] Marcil A, Dumontier E, Chamberland M, et al. Pitx1 and Pitx2 are required for development of hindlimb buds. *Development*, 2003, 130(1): 45-55
- [32] Mitsiadis TA, Drouin J. Deletion of the Pitx1 genomic locus affects mandibular tooth morphogenesis and expression of the *Barx1* and *Tbx1* genes. *Dev Biol*, 2008, 313(2): 887-96
- [33] St Amand TR, Zhang Y, Semina EV, et al. Antagonistic signals between BMP4 and FGF8 define the expression of Pitx1 and Pitx2 in mouse tooth-forming anlage. *Dev Biol*, 2000, 217(2): 323-32
- [34] Liu W, Selever J, Lu MF, et al. Genetic dissection of Pitx2 in craniofacial development uncovers new functions in branchial arch morphogenesis, late aspects of tooth morphogenesis and cell migration. *Development*, 2003, 130(25): 6375-85
- [35] Lin D, Huang Y, He F, et al. Expression survey of genes critical for tooth development in the human embryonic tooth germ. *Dev Dyn*, 2007, 236(5): 1307-12
- [36] Hjalt TA, Semina EV, Amendt BA, et al. The Pitx2 protein in mouse development. *Dev Dyn*, 2000, 218(1): 195-200
- [37] Zhang Y, Zhao X, Hu Y, et al. *Msx1* is required for the induction of Patched by Sonic hedgehog in the mammalian tooth germ. *Dev Dyn*, 1999, 215(1): 45-53
- [38] Wang XP, O'Connell DJ, Lund JJ, et al. *Apc* inhibition of Wnt signaling regulates supernumerary tooth formation during embryogenesis and throughout adulthood. *Development*, 2009, 136(11): 1939-49
- [39] Ahn Y, Sanderson BW, Klein OD, et al. Inhibition of Wnt signaling by Wise (*Sostdc1*) and negative feedback from *Shh* controls tooth number and patterning. *Development*, 2010, 137(19): 3221-31
- [40] Itasaki N, Jones CM, Mercurio S, et al. Wise, a context-dependent activator and inhibitor of Wnt signalling. *Development*, 2003, 130(18): 4295-305
- [41] Wang LC, Liu ZY, Gambardella L, et al. Regular articles: conditional disruption of hedgehog signaling pathway defines its critical role in hair development and regeneration. *J Invest Dermatol*, 2000, 114(5): 901-8