

威尔姆氏瘤基因 1 对肾脏和性腺发育影响的研究进展

安培培, 李春义

(中国农业科学院特产研究所, 特种经济动物分子生物学国家重点实验室, 吉林长春 130112)

摘要:威尔姆氏瘤基因 1(Wilms tumor gene 1, WT1)是与威尔姆氏瘤相关的, 在威尔姆氏瘤中发生功能失活的基因。同时, WT1 基因编码的锌指蛋白在调节不同组织和不同类型细胞的正常分化中又扮演着很重要的角色。研究发现, WT1 基因敲除小鼠会出现无肾脏、性腺缺失及视网膜畸形等症状。同时, 在正常性别发育过程中, WT1 基因还可维持雄性体征。因此, 在发育过程中, WT1 基因与肾脏及性腺细胞的存活及分化密切相关, 但其具体机制需进一步研究。

关键词:威尔姆氏瘤基因 1; 肾脏; 性腺

中图分类号:R730.231

文献标识码:A

文章编号:1671-7236(2014)07-0136-06

1899 年, Max Wilms 在统计患有肾脏恶性肿瘤的年轻患者时有一重大发现, 即威尔姆氏瘤(又称小儿肾母细胞瘤)的儿童患病比例是 1:10000, 占所有小儿恶性肿瘤的 8%(Hastie, 1994)。威尔姆氏瘤的发生是由于发育过程中的肾脏里多潜能间充质干细胞不能正常分化成肾小球和肾小管, 却持续增殖造成的(Hastie, 1994; Beckwith, 1998)。非完整性肾脏的形成是威尔姆氏瘤的组织学特征, 其效仿了正常肾脏发育的某个阶段(Beckwith, 1998)。威尔姆氏瘤基因 1(Wilms tumor gene 1, WT1)在 10%~15% 的肿瘤中发生失活性突变(Hastie, 1994)。尽管仍有许多染色体位点的基因突变与威尔姆氏瘤的发生有关, 但人染色体 11p13 上的 WT1 基因是目前已克隆并证明能抑制肿瘤形成的关键基因。WT1 基因的表达对肾脏和生殖腺的发育有重要的作用, 能诱发威尔姆氏瘤, 带有 WT1 种系突变的杂合子个体还会发生泌尿生殖道异常及肾小球硬化症导致肾衰竭(Pelletier 等, 1991)。因此, 文章主要讨论 WT1 基因在发育过程中的一些重要功能, 特别是在肾脏和性腺形成和维持中所发挥的重要功能。

1 WT1 基因的结构和功能

1.1 WT1 基因结构 人 WT1 基因位于染色体条带的 11p13 上, 大小约为 50 kb, 该基因由 10 个外显子组成, 编码约 3 kb 的 mRNAs(Call 等, 1990)。在哺乳动物当中, 由于外显子 5 和 9 处选择性剪接的

存在, WT1 基因有 4 种不同的剪接亚型(图 1)(Haber 等, 1991)。而在脊椎动物中, WT1 基因外显子 5 是不存在的, 所以这些物种只有 2 种不同的 mRNA 转录产物(Kent 等, 1995)。位于 WT1 基因富含脯氨酸和谷氨酰胺的氨基端及含有锌指结构域的羧基端之间的外显子 5 处, 会选择性插入 17 个氨基酸(可变剪接 I, WT1+17AA/-17AA); 而在第 3 和 4 个锌指结构之间, 外显子 9 的末端, 由于选择性剪接供体位点的存在, 会选择性插入 3 种额外的氨基酸, 即赖氨酸、苏氨酸和丝氨酸(KTS)(可变剪接 II, WT1+KTS/-KTS)。因此 WT1 主要有 4 种蛋白质亚型(图 1): WT1(-17AA/-KTS)、WT1(+17AA/-KTS)、WT1(-17AA/+KTS)、WT1(+17AA/+KTS)。这些剪接变体的比例在正常胎儿的肾脏、威尔姆氏瘤及小鼠的泌尿生殖系统中是非常保守的, 并且在人和小鼠中, mRNA 亚型的剪接插入形式最为常见, 而转录过程中发生的插入或丢失十分少见(Haber 等, 1991)。由于可变剪接的存在, WT1 蛋白分子质量大小在 52~54 ku 之间。WT1 蛋白的具体结构见图 1。由图 1 可知, WT1 蛋白的氨基端(N 末端), 具有二聚体结构域、转录激活结构域、转录抑制结构域及假定的 RNA 识别基序(RRM), 这些结构域具有调节相关基因转录的功能; WT1 蛋白的羧基端(C 末端)含有 4 个锌指结构区域, 每一个锌指结构区域各由 2 个半胱氨酸和 2 个组氨酸组成, 具有与 DNA 和 RNA 结合的功能(Morrison 等, 2008)。

WT1 除了上述 4 种蛋白质亚型以外, 还可在读码框内起始密码子 AUG 的上游 CUG 密码子处起始翻译, 从而产生分子质量大小为 60~62 ku 的 WT1 蛋白质亚型(Bruening 等, 1996)。另外, WT1

修回日期:2014-03-24

作者简介:安培培(1983—), 女, 河北人, 博士, 助理研究员, 从事动物克隆与干细胞方面的研究。

通信作者:李春义, 男, 研究员, 博士生导师, 主要从事动物干细胞研究。E-mail:lichunyi1959@163.com

基金项目:国家 863 课题(2011AA100603); 国家自然科学基金(31170950)。

基因还可在起始密码子 AUG 的下游 AUG127 启动子处起始转录,从而产生分子质量大小为 36~38 ku 的蛋白质亚型(Scharnhorst 等,1999),在不同的哺乳动物中均可检测到这些亚型的存在。因

此,WT1 共计约有 24 种蛋白质亚型存在,从而赋予 WT1 蛋白不同的功能。同时 WT1 蛋白还存在着磷酸化、泛素化及类泛素化等翻译后修饰,这些修饰对蛋白功能的影响目前仍不清楚。

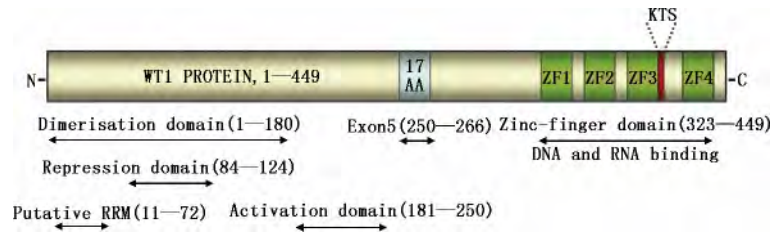


图 1 WT1 蛋白结构图

注:资料来源于 Morrison 等(2008)。WT1 蛋白结构从左至右依次为:二聚体结构域(1—180)、假定的 RRM 基序(11—72)、转录抑制结构域(84—124)、转录激活结构域(181—250)、外显子 5(250—266)及锌指结构域(323—449)

1.2 WT1 基因功能 WT1 基因的一个首要功能是调节各种靶基因的转录,根据细胞内环境及试验背景的不同,它既可发挥转录激活又可发挥转录抑制的功能(Roberts,2005)。最近,随着体内研究技术的发展,通过 WT1 突变体小鼠模型、染色质免疫沉淀内源 WT1 基因与其相互作用的 DNA 及小鼠胚胎中 WT1 与 DNA 共表达模式分析等技术,研究发现了许多 WT1 的转录靶基因。这些转录激活的基因有: *Amphiregulin*、*Sprouty1*、*TrkB*、*Nephrin*、*Nestin* 及 *Pou4f2*。另外,还有一些辅因子如 BASP1 及 WTIP,它们可与 WT1 组成转录抑制复合物。除此之外,占 WT1 总蛋白 1/3 含量的 WT1 (-KTS)亚型,也具有较高的 DNA 结合活性,从而发挥转录调节功能。

WT1 除了具有转录调节功能之外,还具有调控 RNA 代谢的功能。根据其结构特性(图 1),在其 N 末端的 11—72 氨基酸处的 RRM 基序能通过其锌指结构与 RNA 的结合。这一过程很可能是通过 WT1(+KTS)亚型及锌指结构 1 介导的剪接过程实现的(Dudnakova 等,2010)。WT1(+KTS)亚型还能对剪接作用进行修饰,并可直接与剪接蛋白(如 U2AF65)结合(Davies 等,1998)。WT1(-KTS)亚型虽然不能与 RNA 结合,却能抑制剪接因子激酶 1 (splicing-factor kinase 1,SRPK1)的表达,从而改变 RNA 的加工过程,并对其进行代谢调控。因此,在一些肿瘤中所发生的 WT1 基因突变及其导致的后续相关基因表达的改变,不仅是通过癌症相关基因的选择性剪接而引起的(包括血管内皮生长因子 VEGF),还包括与剪接因子的直接作用或控制剪接因子激酶的表达来实现的(Amin 等,2011)。

WT1 是一种核质穿梭蛋白,在小鼠肾脏及已分化的 ES 细胞中,有 10%~25%的内源 WT1 在细胞质中表达,并可穿梭于细胞核与细胞质之间(Moore 等,1999)。研究结果发现,细胞质中的 WT1 蛋白能激活具有翻译功能的多聚核糖体。WT1 (+KTS)亚型能刺激多聚核糖体结合在仍保留内含子的 RNA 上,并起始翻译,而 WT1(-KTS)亚型则不具有此功能(Wagner 等,2002)。因此,WT1 除了能调控转录和 RNA 代谢以外,还具有转录后修饰的功能。

鉴于 WT1 基因特殊的结构及其所赋予的多种功能,WT1 在生物体内具有十分重要的作用。WT1 能维持间充质细胞—上皮细胞之间转变的动态平衡;WT1 对小鼠正常的胚胎发育来说是不可或缺的,否则会导致肾脏和性腺发育的缺失;WT1 是一种肿瘤抑制基因,当其突变或缺失时,可导致威尔姆氏瘤及威尔姆氏瘤—无虹膜症—泌尿生殖系统畸形—智力迟缓综合征(WAGR 综合征)的发生;WT1 又是一种原癌起始基因,能导致白血病及其他一些固体肿瘤的发生;另外,WT1 还对心脏/心血管系统的生成及维持、假两性畸形、组织纤维化等疾病有着十分重要的作用。文章将着重详细阐述 WT1 对肾脏及性腺发育的影响。

2 WT1 基因对肾脏发育的影响

2.1 WT1 基因参与肾脏发育 哺乳动物的肾脏起源于间介中胚层体节外侧的细胞索。在发育过程中,根据不同的状态具有 3 种发育阶段:原肾(功能未知)、中肾(胚胎的排泄器)及后肾(可变成持久肾组织)。原肾和中肾属于暂时性的器官,在胚胎发育过程中逐渐退化,最后由后肾发育为成熟的肾脏组

织。肾脏与输尿管、膀胱和尿道共同构成哺乳动物完整的泌尿系统。后肾的早期发育过程较复杂,主要由输尿管芽和后肾间充质之间的双向互动下诱导生成,其中输尿管芽和后肾间充质均属于中胚层的 2 个衍生物(Pelletier 等,1991;Vainio 等,2002)。肾脏的具体发育过程见图 2:①妊娠 35~37 d 左右的人源胚胎和妊娠 10.5~11 d 左右的小鼠胚胎尾部均有输尿管芽形成,进而侵入邻近的后肾间充质;②间充质细胞在输尿管芽周围形成聚集样的上皮细胞,输尿管芽也逐渐发生分枝。与此同时,WT1 基因呈现上调表达状态;当 WT1 表达缺失时,间充质

细胞则发生凋亡,输尿管芽不会发生分枝,说明 WT1 可能是胚胎肾细胞增殖的关键存活因子;③间充质细胞聚集后逐渐在输尿管芽的顶端形成逗状体和 S 小体。在肾脏发育的后期阶段,WT1 可能抑制间充质细胞增殖,从而促进 S 状体的形成(Scholz 等,2005);④S 小体逐渐拉伸,上枝将分化为远端小管并与输尿管芽形成的集合管融合,中间枝分化为近端小管,下枝或远端部分形成紧密细胞连接样的勺状囊样结构,经过间充质到上皮细胞的转变,最后形成肾囊。随之,血管球突入肾囊,最终形成成熟的肾小球。

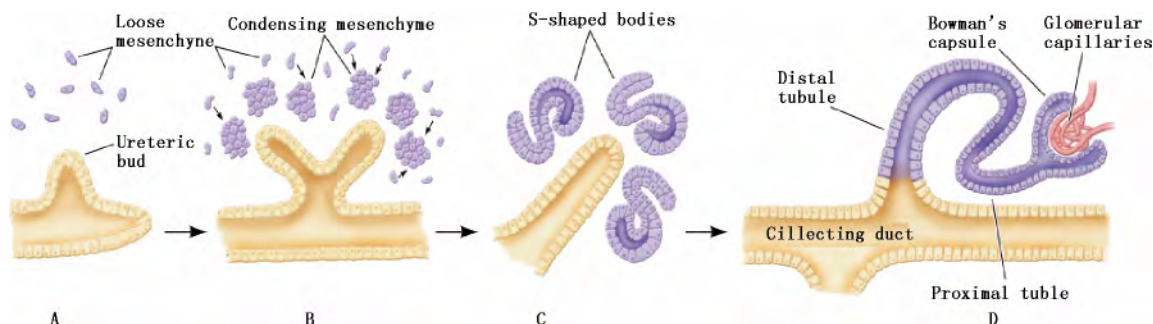


图 2 肾脏发育过程简图

注:资料来源于 Scholz 等(2005)。A,后肾间充质和输尿管芽的相互诱导;B,输尿管芽分枝及间充质细胞在输尿管芽周围聚集;C,S 小体的形成;D,S 状体逐渐拉伸,互相连接形成分枝状的集尿管树,最终形成成熟的肾单元。

2.2 WT1 基因对后肾发育的影响 在后肾发育过程中,一些转录因子扮演着不可或缺的角色。转录因子复合物 Eyal 及 Six1 对生殖嵴尾端的后肾间充质的特异性起始发育十分重要(Li 等,2003;Xu 等,2003);神经营养因子(gial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF)能促使来自沃夫管的输尿管芽分枝开始形成,GDNF 又是后肾间充质在转录因子 Pax2 的调控下分泌的(Costantini,2006);WT1 对输尿管芽的分枝来说也十分重要(Kreidberg 等,1993),WT1 能调控血管内皮生长因子 A(VEGF-A)从而刺激血管母细胞的增殖;我们前期研究发现在肾源成纤维细胞中 WT1 基因对 GDNF 具有负调控作用,WT1 基因表达下调能引起 GDNF 上调表达,说明 WT1 在肾脏发育过程中,可能通过调控多种因子的表达,来维持肾脏发育的正常进行(An 等,2013)。在发育中的肾组织中,后肾间充质可检测到 WT1 的表达,并且在凝缩的生肾间充质中,WT1 的表达量是升高的;在逗状体和 S 体中,WT1 的表达量最高;肾发育完全后 WT1 的表达量下降,但并不消失,主要是肾小球足细胞中维持 WT1 的表达。通过对 WT1 基因靶位点失活的转基因小鼠

研究,科学家们揭示了 WT1 在肾发育中的重要作用。取决于遗传背景的 WT1^{-/-} 缺陷的纯合子小鼠,在胚胎发育到 12 d 时就终止发育了(Herzer 等,1999),主要是因为该突变体胚胎缺乏肾脏和性腺(Kreidberg 等,1993)。WT1 缺陷型小鼠的显著性表型引起了许多科学家对其在肾脏发育过程中所起作用的广泛研究。在 WT1^{-/-} 胚胎中,后肾间充质细胞会发生凋亡,而且输尿管芽也不会出现分枝(Kreidberg 等,1993)。在肾脏器官培养中,通过小片段 siRNA 技术特异性敲减 WT1 在其中的表达也发现了输尿管芽分枝失败及间充质细胞死亡的现象;同样研究结果显示,在肾脏发育的晚期阶段,抑制 WT1 基因表达,此时肾脏会出现类似威尔姆氏瘤的部分症状,结果表明该基因可能阻止了肾单位的形成,引起间充质细胞非正常性增殖(Davies 等,2004)。这些研究结果表明 WT1 在肾脏不同发育阶段发挥着不同的功能,肾脏发育初始阶段其阻止后肾间充质细胞发生凋亡,肾脏发育后期其又会抑制间充质细胞的过度增殖。

2.3 WT1 基因在成熟肾脏中的功能 肾脏发育成熟后,WT1 基因主要在肾小球的足细胞中表达

(Mundlos 等,1993)。足细胞是一种高度分化的细胞,附着在肾小球毛细血管壁的基膜上。该细胞为毛细血管网络提供支持作用,并参与肾小球的超滤作用(Pavenstadt,2000)。足细胞损失可能会造成慢性肾小球疾病。许多研究结果证实 WT1 对足细胞正常功能的维持是非常重要的。首先,Denys-Drash 综合征(DDS)中,有 90% 患者体内 WT1 基因发生突变,该综合征的主要症状是肾小球硬化症;其次,转基因小鼠的肾脏足细胞中 WT1 基因表达下降后引起肾小球性肾炎和肾小球系膜硬化症(Guo 等,2002)。WT1 还可与许多肾脏关键因子发生相互作用,包括肾素(renin)、足糖萼蛋白(podocalyxin)及肾病蛋白(nephrin)。通过转染人胚肾细胞系过表达 WT1(-KTS)亚型发现,肾素表达下调,结果表明 WT1 做为上游调节区域对肾素的表达具有转录抑制作用;如果表达 WT1 突变体蛋白,那么该抑制现象则消失(Steege 等,2008)。肾病蛋白是一种跨膜受体分子蛋白,参与足细胞之间狭缝隔膜的构成,同样受到 WT1 的转录调节,不过该调节是通过 WT1 结合和激活 NPHS1 启动子间接实现的(Wagner 等,2004)。足糖萼蛋白是一种足突细胞唾液酸糖蛋白,其能维持足突细胞足突的结构,同样受 WT1 通过激活 PODXL 启动子的间接激活作用(Palmer 等,2001)。这些相互作用说明 WT1 在足细胞特异性功能维持方面扮演着十分重要的角色,从而对肾脏功能的正常进行发挥着十分重要的作用。

3 WT1 基因对性腺发育的影响

3.1 性腺发育的过程 大多数哺乳动物(包括人类)的核型中是否有 Y 染色体存在对雄性和雌性的性别决定和变异有着直接的联系(Biason-Lauber, 2010)。可将性别发育分为典型的 3 个阶段:决定阶段,即受精时所获得的染色体组型;性腺的分化阶段,将决定着胚胎是产生睾丸组织还是卵巢组织;第二性征分化阶段,即许多组织在性腺分泌的荷尔蒙的影响下,完成青春期的性成熟的阶段。哺乳动物中,性腺和后肾源自同一区域,称为尿生殖嵴。在性别发育的初期阶段,并不能清晰的分辨出睾丸和卵巢组织,因此称此时的性腺为中性地或双向性地性腺。同样,在雌性或雄性的胚胎中其泌尿生殖道也是无法辨认出性别的。以人胚胎为例,源自泌尿生殖器的尿生殖嵴大概出现在妊娠 4 周的中间中胚层(Kousta 等, 2010)。未分化的性腺,在雄性和雌性中表型一致,出现在中肾的腹正中表面,是中间中胚层的衍生物。中性或双向性地性腺是由体腔上皮细胞增殖及中肾源

的间充质细胞凝集形成的。原始生殖细胞(PGCs)源自外胚层,即胚胎外胚层的外环层,随后迁移入卵黄囊附近,然后沿着背侧肠系膜迁移至生殖嵴(图 3)(Kousta 等,2010)。在迁移过程中,PGCs 经历着细胞分群,一旦到达生殖嵴(妊娠 5 周末),PGCs 就失去运动能力,开始集合并持续进行有丝分裂。大多数动物迁移进生殖嵴的 PGCs 具备 2 种发育潜能,根据生殖腺内的微环境决定分化成为精子或卵子。

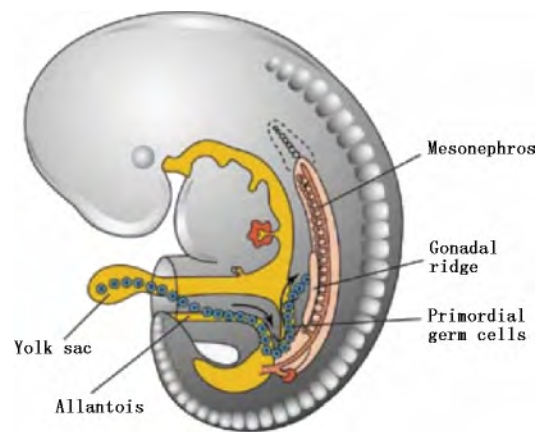


图 3 原始生殖细胞迁移路线图

注:资料来源于 Kousta 等(2010)。卵黄囊处的圆形带黑点图案代表原始生殖细胞,其从卵黄囊开始沿着背侧肠系膜迁移至生殖嵴。

3.2 WT1 基因在性腺发育过程中的作用 WT1 基因杂合子突变或者缺失,与男性性别失调甚至逆转密切相关,可引起 Denys-Drash、WAGR 及 Frasier 等综合征。在人体内发生的杂合子功能丢失性种系突变则会造成性别分化的不完全,甚至产生缺陷,如隐睾症及尿道下裂。这些种系突变基本是由 WT1 蛋白的显性失活突变或者 WT1 亚型表达比例的改变造成的,其显著病例是男性假两性畸形(Klamt 等,1998)。WT1 纯合子基因敲除的小鼠中,无性腺发育,理应增厚的尿生殖嵴上皮细胞也发生消减,且生殖嵴与正常胚胎相比也明显变小(Kreidberg 等,1993)。这些研究结果均表明 WT1 对哺乳动物性腺的早期发育非常关键。通过分析 WT1 在小鼠胚胎发育过程中的表达情况发现,WT1 在未分化的生殖嵴区域表达,之后在睾丸的支持细胞及卵巢的颗粒细胞中维持高表达状态,与精子生成及卵泡发育密切相关。最新研究结果发现,WT1 基因发生的 6 个错义突变与人非梗阻性精子缺乏症(non-obstructive azoospermia, NOA)密切相关(Wang 等, 2013)。研究者发现这是因为 WT1 失活后会导致大量生殖细胞死亡,只有睾丸支持细胞在曲细精管中存

活,与NOA症状十分相似;进一步研究结果显示WT1对睾丸支持细胞的极性维持十分重要,该过程可能是通过Wnt信号通路来实现的。另外,该研究小组还发现,卵巢中发生WT1突变后,产生的症状与卵巢功能早衰(premature ovarian failure,POF)相似,这可能是WT1突变后导致颗粒细胞极性构建缺失,进而导致卵泡发育异常(Gao等,2014)。

生成类固醇的核受体因子1(steroidogenic factor 1,SF1)在发育中的尿生殖嵴、下丘脑、脑下垂体前叶和肾上腺中表达(Parker等,2002)。睾丸发育完成后,SF1可调节睾丸支持细胞中的抗苗勒荷尔蒙蛋白的表达,从而抑制胎儿发育过程中女性苗勒结构的出现(Shen等,1994);在莱迪氏细胞中,SF1能激活类固醇酶家族的表达,从而产生男性化外生殖器并使睾丸下沉(Lin等,2008);在女性体内,SF1在卵巢卵泡膜细胞和颗粒细胞中表达,促进卵泡生长(Takayama等,1995)。SF1通过编码转录因子调节参与性发育的许多因子的表达。最典型的是SF1通过结合MIS启动子区的上游调控序列来调节MIS的表达,而WT1(-KTS)亚型可与SF1联合,起到增强SF1对MIS的促进表达作用。研究结果发现,在猪睾丸细胞(swine testis cells,ST)中,下调WT1基因表达,可直接下调SF1基因的表达,结果表明WT1基因可能直接调控SF1基因的表达;且WT1基因表达下调,能导致ST细胞发生凋亡,表明WT1基因对睾丸细胞的存活也有十分重要的作用(An等,2013)。

4 小结

在过去的几年,研究者对WT1有了较清晰的了解,除了其在肿瘤抑制方面有很重要的功能外,其在发育过程中也起着很重要的作用。WT1除了在肾脏和性腺中表达外,在脾脏、肾上腺、视网膜、心血管、腹膜间皮组织和胸腔器官中经历间质细胞向上皮细胞转变的组织中也具有较高的表达。WT1功能的复杂性可能跟其由同1条基因翻译出多种类型的蛋白相关。为进一步完整地理解WT1的生理学功能,需付出更大的努力来分析不同组织类型中WT1亚型的靶基因类型及WT1对靶基因的调控作用。一旦WT1基因调控的与生物化学和细胞生物学相关的下游信号通路分析清楚后,就可在体内分析WT1基因与其候选基因的生理学相关性。因此,转基因动物模型对WT1基因的研究十分重要,可通过组织特异性或诱导靶基因表达的手段来实现。用其他可行性基因来取代WT1基因,分析哪

些表型发生的改变最小,可能对WT1在发育和疾病方面的分子学功能分析提供新的切入点,从而为治疗人类相关的疾病服务。

参 考 文 献

- 1 Amin E M, Oltean S, Hua J, et al. WT1 mutants reveal SRPK1 to be a downstream angiogenesis target by altering VEGF splicing[J]. *Cancer Cell*, 2011, 20(6): 768~780.
- 2 An P, Yin Y, Fan A, et al. The effects of the WT1 gene on apoptosis and development-related gene expression in porcine kidney fibroblasts and swine testis cells[J]. *Mol Reprod Dev*, 2013, 80(5): 414~425.
- 3 Beckwith J B. Nephrogenic rests and the pathogenesis of Wilms tumor: Developmental and clinical considerations[J]. *Am J Med Genet*, 1998, 79(4): 268~273.
- 4 Biason-Lauber A. Control of sex development[J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2010, 24(2): 163~186.
- 5 Bruening W, Pelletier J. A non-AUG translational initiation event generates novel WT1 isoforms[J]. *Biol Chem*, 1996, 271(15): 8646~8654.
- 6 Call K M, Glaser T, Ito C Y, et al. Isolation and characterization of a zinc finger polypeptide gene at the human chromosome 11 Wilms' tumor locus[J]. *Cell*, 1990, 60(3): 509~520.
- 7 Costantini F. Renal branching morphogenesis: Concepts, questions, and recent advances[J]. *Differentiation*, 2006, 74(7): 402~421.
- 8 Davies J A, Lodomery M, Hohenstein P, et al. Development of an siRNA-based method for repressing specific genes in renal organ culture and its use to show that the WT1 tumour suppressor is required for nephron differentiation[J]. *Hum Mol Genet*, 2004, 13(2): 235~246.
- 9 Davies R C, Calvio C, Bratt E, et al. WT1 interacts with the splicing factor U2AF65 in an isoform-dependent manner and can be incorporated into spliceosomes[J]. *Genes Dev*, 1998, 12(20): 3217~3225.
- 10 Dudnakova T, Spraggon L, Slight J, et al. Actin: A novel interaction partner of WT1 influencing its cell dynamic properties[J]. *Oncogene*, 2010, 29(7): 1085~1092.
- 11 Gao F, Zhang J, Wang X, et al. Wt1 functions in ovarian follicle development by regulating granulosa cell differentiation[J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(2): 333~341.
- 12 Guo J K, Menke A L, Gubler M C, et al. WT1 is a key regulator of podocyte function: Reduced expression levels cause crescentic glomerulonephritis and mesangial sclerosis[J]. *Hum Mol Genet*, 2002, 11(6): 651~659.
- 13 Haber D A, Sohn R L, Buckler A J, et al. Alternative splicing and genomic structure of the Wilms tumor gene WT1[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88(21): 9618~9622.
- 14 Hastie N D. The genetics of Wilms' tumor—A case of disrupted development[J]. *Annu Rev Genet*, 1994, 28: 523~558.
- 15 Herzer U, Crocoll A, Barton D, et al. The Wilms tumor suppressor gene WT1 is required for development of the spleen[J]. *Curr Biol*, 1999, 9(15): 837~840.
- 16 Kent J, Coriat A M, Sharpe P T, et al. The evolution of WT1

- sequence and expression pattern in the vertebrates[J]. *Oncogene*, 1995, 11(9): 1781~1792.
- 17 Klamt B, Koziell A, Poulat F, et al. Frasier syndrome is caused by defective alternative splicing of WT1 leading to an altered ratio of WT1 +/−KTS splice isoforms[J]. *Hum Mol Genet*, 1998, 7(4): 709~714.
- 18 Kousta E, Papathanasiou A, Skordis N. Sex determination and disorders of sex development according to the revised nomenclature and classification in 46, XX individuals[J]. *Hormones (Athens)*, 2010, 9(3): 218~231.
- 19 Kreidberg J A, Sariola H, Loring J M, et al. WT1 is required for early kidney development[J]. *Cell*, 1993, 74(4): 679~691.
- 20 Li X, Ogih K A, Zhang J, et al. Eya protein phosphatase activity regulates Six1-Dach-Eya transcriptional effects in mammalian organogenesis[J]. *Nature*, 2003, 426(6964): 247~254.
- 21 Lin L, Achermann J C. Steroidogenic factor-1 (SF-1, Ad4BP, NR5A1) and disorders of testis development[J]. *Sex Dev*, 2008, 2(4~5): 200~209.
- 22 Moore A W, McInnes L, Kreidberg J, et al. YAC complementation shows a requirement for WT1 in the development of epicardium, adrenal gland and throughout nephrogenesis[J]. *Development*, 1999, 126(9): 1845~1857.
- 23 Morrison A A, Viney R L, Ladomery M R. The post-transcriptional roles of WT1, a multifunctional zinc-finger protein[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1785(1): 55~62.
- 24 Mundlos S, Pelletier J, Darveau A, et al. Nuclear localization of the protein encoded by the Wilms' tumor gene WT1 in embryonic and adult tissues[J]. *Development*, 1993, 119(4): 1329~1341.
- 25 Palmer R E, Kotsianti A, Cadman B, et al. WT1 regulates the expression of the major glomerular podocyte membrane protein Podocalyxin[J]. *Curr Biol*, 2001, 11(22): 1805~1809.
- 26 Parker K L, Rice D A, Lala D S, et al. Steroidogenic factor 1: An essential mediator of endocrine development[J]. *Recent Prog Horm Res*, 2002, 57: 19~36.
- 27 Pavenstadt H. Roles of the podocyte in glomerular function[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2000, 278(2): F173~F179.
- 28 Pelletier J, Bruening W, Kashtan C E, et al. Germline mutations in the Wilms' tumor suppressor gene are associated with abnormal urogenital development in Denys-Drash syndrome[J]. *Cell*, 1991, 67(2): 437~447.
- 29 Roberts S G. Transcriptional regulation by WT1 in development[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2005, 15(5): 542~547.
- 30 Scharnhorst V, Dekker P, van der Eb A J, et al. Internal translation initiation generates novel WT1 protein isoforms with distinct biological properties[J]. *Biol Chem*, 1999, 274(33): 23456~23462.
- 31 Scholz H, Kirschner K M. A role for the Wilms' tumor protein WT1 in organ development[J]. *Physiology (Bethesda)*, 2005, 20: 54~59.
- 32 Shen W H, Moore C C, Ikeda Y, et al. Nuclear receptor steroidogenic factor 1 regulates the mullerian inhibiting substance gene: A link to the sex determination cascade[J]. *Cell*, 1994, 77(5): 651~661.
- 33 Steege A, Fahling M, Paliege A, et al. Wilms' tumor protein (−KTS) modulates renin gene transcription[J]. *Kidney Int*, 2008, 74(4): 458~466.
- 34 Takayama K, Sasano H, Fukaya T, et al. Immunohistochemical localization of Ad4-binding protein with correlation to steroidogenic enzyme expression in cycling human ovaries and sex cord stromal tumors[J]. *Clin Endocrinol Metab*, 1995, 80(9): 2815~2821.
- 35 Vainio S, Lin Y. Coordinating early kidney development: Lessons from gene targeting[J]. *Nat Rev Genet*, 2002, 3(7): 533~543.
- 36 Wagner K D, Wagner N, Vidal V P, et al. The Wilms' tumor gene WT1 is required for normal development of the retina[J]. *EMBO J*, 2002, 21(6): 1398~1405.
- 37 Wagner N, Wagner K D, Xing Y, et al. The major podocyte protein nephrin is transcriptionally activated by the Wilms' tumor suppressor WT1[J]. *Am Soc Nephrol*, 2004, 15(12): 3044~3051.
- 38 Wang X N, Li Z S, Ren Y, et al. The Wilms tumor gene, WT1, is critical for mouse spermatogenesis via regulation of sertoli cell polarity and is associated with non-obstructive azoospermia in humans[J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(8): e1003645.
- 39 Xu P X, Zheng W, Huang L, et al. Six1 is required for the early organogenesis of mammalian kidney[J]. *Development*, 2003, 130(14): 3085~3094.

Research Progress on the Effects of Wilms Tumor Gene 1 on the Development of Kidney and Gonads

AN Pei-pei, LI Chun-yi

(State Key Laboratory for Molecular Biology of Special Economic Animals, Institute of Special Animal and Plant Sciences of CAAS, Changchun 130112, China)

Abstract: The Wilms tumor gene 1 (WT1) is first found to be inactivated in Wilms tumor. It encodes zinc finger proteins which act as tumor suppressor and play important roles in the development of the genitourinary system and several other tissues. WT1-null mice do not have kidneys and gonads and have abnormal retinas. In addition, WT1 is also required for normal male sex determination in the context of urogenital development. Hence, WT1 is required for both kidney and gonads development. But the mechanisms underlying these phenotypic abnormalities are largely unknown.

Key words: Wilms tumor gene 1; kidney; gonads