

卵泡刺激素受体基因点突变与生殖功能的研究进展

Research Progress of Follicle Stimulating Hormone Receptor Gene Point Mutation and Reproductive Function

薛聿婷¹ 刘芳²

Yuting Xue¹ Fang Liu²

1. 内蒙古医科大学 中国·内蒙古 呼和浩特 010000

2. 内蒙古医科大学附属医院 中国·内蒙古 呼和浩特 010000

1. Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia, 010000, China

2. Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia, 010000, China

摘要: 卵泡刺激素受体 (FSHR) 主要特异性表达于卵巢颗粒细胞以及睾丸支持细胞。作为 G 蛋白偶联受体蛋白, 可与 FSH 形成特异结合的复合物, 激活胞内信号传导最终决定生殖相关细胞增殖、分化。FSH 基因的点突变绝大多数仅为单次报道, 可导致生殖系统疾病。男女性生殖系统的正常发育及功能均依赖于完整的 FSHR 介导, FSHR 突变对两性生殖表型的影响存在着差异。

Abstract: Primary specificity of follicle stimulating hormone receptor (FSHR) is mainly expressed in ovarian granulosa cells and testicular supporting cells. As a G protein-coupled receptor protein, it can form a specific binding complex with FSH, activate intracellular signal transduction and ultimately regulate the proliferation and differentiation of generative cells. Most point mutations occurred in the FSHR gene have a single report, which are responsible for reproductive system diseases. The normal development and functions of both male and female reproductive systems rely on the complete FSHR mediation, and FSHR mutation exerts different effects on the reproductive phenotypes for both gender.

关键词: 卵泡刺激素受体; 突变; 生殖功能

Keywords: follicle stimulating receptor; mutation; reproductive function

课题项目: 内蒙古医科大学“研究生教育教学改革研究与实践”项目“生殖医学研究生 PBL 教学模式的实践与研究”(课题编号: YJG20191013206)。

DOI: 10.12346/pmr.v4i1.5430

1 引言

卵泡刺激素受体, 可特异性表达于卵巢颗粒细胞及睾丸支持细胞细胞膜表面。在卵巢及睾丸的高表达对生殖细胞的发生和发育、成熟起关键调控作用。编码 FSHR 基因的突变以及特异性多态性对卵巢功能的影响不容小觑。论文主要就 FSHR 结构与功能、FSHR 基因点突变、FSHR 基因单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNP) 与生殖等方面的研究进展做一综述。

2 FSHR 基因及表达

人类 FSHR 基因全长约 54kb, 位于人染色体 2 号染色体短臂 2 区 1 带 (2p2.1), 内有 10 个外显子和 9 个内含子,

共同编码 FSHR 蛋白。根据与细胞膜的关系, 分为胞外区、跨膜区和胞内区 3 部分。其中胞外区与配体 FSH 结合有关, 跨膜区与信号转导有关, 胞内区与 G 蛋白耦联有关。FSHR 基因的 1-9 号外显子较短, 编码胞外区的氨基端部分; 10 号外显子负责编码胞外区的羧基端、跨膜区和胞内区^[1]。最早于 90 年代初, FSHR 的表达被认为是性腺特异性表达, 而非种属特异性, 且 FSHR mRNA 主要表达于卵巢颗粒细胞和睾丸的支持细胞, 且在卵泡发育的不同阶段表达水平有差异。目前认为在其他部位如子宫、前列腺癌组织、骨骼和卵巢上皮细胞、脂肪组织也有 FSHR 的表达出现^[1,2]。

3 FSHR 基因点突变及影响

FSHR 基因点突变可大致归类为活性突变和失活突变两

【作者简介】薛聿婷 (1994-), 女, 蒙古族, 中国内蒙古呼和浩特人, 硕士, 从事妇科内分泌及不孕研究。

种,失活突变可能导致原发或继发性闭经、高促性腺激素性功能障碍、卵巢早衰及生精功能障碍等生殖疾病,活性突变主要与卵巢功能的高表达和高反应关系密切。

3.1 失活突变

目前对于失活突变的研究发现其可分布于FSHR的各个区域。失活突变对于男性生殖系统而言,可能会引起部分生精功能障碍,尚未发现引起精子缺乏或不育的明显证据。但女性的失活突变对女性卵巢正常发育及功能维持影响较大,失活突变可致使FSH与受体结合力降低,进一步引起原发或继发性闭经、卵巢早衰等疾病。根据突变位点在FSHR基因结构中分布的不同,分别描述胞外区、跨膜区的失活突变。

3.1.1 胞外区失活突变

Ala189Val位点是1995年FSHR基因的首例点突变,被发现于芬兰的6例高FSH性卵巢功能不全的家族中^[1]。此种Ala189Val在芬兰人中较为常见,女性患者主要临床表现为卵泡成熟障碍和内分泌功能紊乱,将此突变转染小鼠支持细胞系(MSC-1),可显著削弱了FSHR与配体的结合力及信号转导能力,但对配体的亲和力是正常的。Ala189Val突变的FSHR大量聚集在转染的细胞内,仅不足20%的突变FSHR蛋白表达于细胞膜。研究表明小变构分子(Org41841)可以恢复FSHR突变型Ala189Val在质膜上的表达,同时对正常剂量的hMG无反应,而对高剂量hMG有反应^[4]。未来可能需要展开多类似研究。Asn191Ile^[3]是第7外显子的另一处杂合突变。与Ala189Val一样,该突变出现在一段保守序列中。该名杂合子突变患者的卵巢功能正常,但体外试验的结果表明FSH刺激后cAMP产量明显低于野生基因型。Pro348Arg位点^[5]是2002年从一位患有高促性腺激素性卵巢功能衰竭和原发性闭经的青春期女孩基因中检测到的纯合突变,这种突变用亲水性精氨酸替代脯氨酸导致突变型FSHR在体外研究中完全丧失功能,且无法结合激素。Val221Gly位点是于2008年日本Nakamura等从1名25岁女性第8外显子上观察到的突变,该女性原发性闭经,中等发育的第二性征,卵巢大小正常,有小窦状卵泡,她的卵巢对克罗米芬治疗反应轻微;对普通剂量的hMG没有反应,但对高剂量hMG治疗有反应^[5]。目前对此突变的功能学研究还未见相关报道。

3.1.2 跨膜区失活突变

Ala419Thr/Ala189Val组合突变^[5]于2002年在1例原发性闭经的芬兰女性基因中第10外显子上检测出,与Ala189Val突变的纯合患者相比,该表型不那么严重。体外转染实验显示FSH刺激下仍无第二信使cAMP产生,受体在细胞膜上的表达量、配体结合力正常,但信号转导被完全阻断。2003年在1例26岁卵巢早衰的女性基因中检测到Pro519Thr位点,该女性表现为青春期延迟、原发性闭经、血浆FSH水平高和卵巢小,且对外源性FSH无任何反应。该突变阻断了cAMP途径的信号传递,通过改变细胞膜上

突变受体的表达,完全损害受体功能,使得胞内集聚大量突变受体。几乎无法检测到FSH与转染Pro519ThrFSHR突变的完整细胞的结合。Phe591Ser突变可引发卵巢功能丧失^[5]。

体外转染COS-7细胞,即使在最高剂量下也未检测到FSH反应。表明该突变可能通过改变与信号转导装置的耦合来损害FSH反应性。该突变高表达卵巢性索间质肿瘤(发生率高达69%),因此某种程度上该种突变导致肿瘤时更倾向于性索肿瘤,该结果仍待大量样本进行补充。Ala433Asn是FSHR基因的一个新的纯合错义突变体,França等人^[6]在患有促性腺激素性腺机能减退症(HH)的两个兄弟姐妹中发现。该FSHR突变在兄弟姐妹中以纯合状态存在,在父母双方中以杂合状态存在。

Ala575Val是Swati等^[3]报道的第10外显子上的突变,该突变的先证者为1名16岁患有原发性闭经的女孩,高FSH、LH水平,低雌激素水平,超声检查显示其子宫发育不全,2个卵巢均很小,雌激素、孕酮对其月经诱导均无效。2015年Desai等人^[7]通过转染仓鼠卵巢细胞发现,该突变表现出较低的细胞表面表达和较高的内化激素受体复合物。此外,与野生型相比,在该突变型中未观察到cAMP积累的剂量依赖性增加。受体在细胞表面运输中存在缺陷。

3.1.3 胞外区/跨膜区失活突变

Beau等^[5]对1例继发性闭经30岁不孕妇女行DNA测序后,发现了位于第6外显子的Ile160Thr以及第10外显子的Arg573Cys两处杂合突变的复合型。患者表现为青春期发育正常,但FSH水平较高和雌激素水平较低。Ile160Thr可大幅度降低受体与FSH的特异结合,而Arg573Cys与信号转导相关,质膜表达可受到严重影响,基本不影响配体结合亲和力,两者均显著抑制信号的转导能力。当用低剂量FSH刺激后,检测不到cAMP产生;给予高剂量FSH时,Ile160Thr仅产生相当野生型10%的cAMP,Arg573Cys产生的cAMP约为野生型的30%。

2017年Pradervand^[8]发现19岁的原发性闭经患者为纯合型Ile160Thr突变患者,因其卵巢功能短时间大幅度下降,通过未成熟卵子体外成熟培养和玻璃化冷冻相结合成功保存该患者的生育能力。Asp224Val/Leu601Val是在1名19岁女性基因中检测到的^[5]。该患者为复合杂合子,从父母双方继承了不同的突变等位基因:父亲的第3外显子中的Asp224Val和母亲的第10外显子中的Leu601Val。患者表现为原发性闭经,第二性征发育正常,但其窦状卵泡仅能发育3mm大小。体外试验几乎检测不到FSH与Asp224Val受体的结合;且高剂量FSH刺激时,Asp224Val仅产生相当于野生型5%的cAMP,Leu601Val产生的cAMP不到15%。Asp224Val突变产生的受体在细胞膜上几乎不表达,Leu601Val替代的特点是信号转导受损,对FSH的亲和力没有任何变化。

3.2 活性突变

FSHR基因活性突变目前仅发现于跨膜区和胞外区,都

在杂合子中观察到,且呈显性遗传。在男性中活性突变最先仅在切除垂体后仍有精子发生的患者中观察到。而在女性中的研究表明,活性突变与卵巢功能的高表达及高反应密切联系。

Asp567Gly 功能活化的突变是在 1 例垂体切除仍保留生育能力的男子 FSHR 基因中鉴定出来的^[5]。该男子曾因垂体肿瘤进行垂体切除手术,术后其血清中未检测到 FSH,但却保持了正常的性腺形态并生育子女。后续研究表明突变受体的基础 cAMP 水平增加了 1.5 倍,且在缺乏 FSH 情况下,自主维持睾丸中精子的发生和成熟。有趣的是,在相同残基上发现了女性的第一个激活突变 Asp567Asn,该名患者反复出现重度 OHSS 的临床表现。体外试验的结果显示此突变使胞内 cAMP 水平显著升高,并且对 hCG 和 TSH 治疗也有反应。

Thr449Ile 突变,2003 年 Vasseur 报道 1 例家族性 Thr449Ile 突变^[4],该家族内三姐妹有反复自发性 OHSS,都为 Thr449Ile 突变杂合子,体外转染试验显示突变型基础 cAMP 水平与野生型中并无明显差异,突变只改变受体的亲和力,并对胞内 cAMP 变化产生剂量效应。后同一位点又鉴定出 Thr449Ala,体外实验显示野生型受体产生的 cAMP 基础水平与突变型受体产生的 cAMP 基础水平无显著差异,突变受体对 HCG 反应产生的 cAMP 呈剂量依赖性增加,用 TSH 刺激不敏感。Ile545Thr 活性突变是在 FSHR 的第 5 个跨膜螺旋上发现的,携带该突变基因的是 1 名自发 OHSS 的患者。

体外转染显示该突变导致受体同时对 hCG 和 TSH 产生交叉敏感性,以及高浓度 hCG 或 TSH 对野生型 FSHr 的自然混杂激活可能是这些散发性 OHSS 表现的原因。Desai 等人于一名 27 岁的患多囊卵巢综合征的印度女性身上发现了 Val514Ala 突变^[9]。其核型正常,基础血清 FSH、LH 在水平在正常范围内。受试者在 FSH 刺激期间出现 OHSS。体外细胞转染实验中,在低剂量 FSH 刺激下,表达突变型受体的细胞显示出比野生型受体更高的 cAMP 积累。

然而随着剂量的增加,信号活性几乎保持不变。Ser128Tyr 是从一名 21 岁土耳其妇女基因组中检测出的突变^[10],患者临床表现为初次怀孕的第 11 周出现严重的 sOHSS。它是首个被发现位于胞外区的激活突变。突变体与野生型相比细胞表面的表达减少,其对 hCG 的特异性明显降低,对该激素的亲和力增加。与先前描述的激活突变相比,该突变既不影响基础活性,也不影响对 TSH 的敏感性。

4 结语

FSHR 基因表达具有高度的性腺细胞特异性,对卵子和精子发生具有重要意义。卵巢和睾丸的正常发育及发挥功能

均依赖于完整的 FSHR 介导,FSHR 突变对两性生殖表型的影响存在着差异。活化或失活突变的鉴定提供了研究 FSH 生理作用的新思路,利用体外 DNA 突变技术和基因敲除技术,构建相应的动物模型,可进一步研究 FSH 的生理作用。总之,对 FSHR 基因的研究还处在基础阶段,相信对 FSHR 的研究必将推动生殖系统疾病的治疗,为生育治疗领域提供新的思路。

参考文献

- [1] 颜元良,龚志成.卵泡刺激素受体基因多态性对女性卵巢功能影响的研究进展[J].中国临床药理学与治疗学,2013(18):944-949.
- [2] 蔡婕.卵泡刺激素受体在脂肪组织和卵巢颗粒细胞的表达及其功能[D].杭州:浙江大学,2008.
- [3] Desai S S, Roy B S, Mahale S D. Mutations and polymorphisms in FSH receptor: functional implications in human reproduction[J]. *Reproduction (Cambridge, England)*,2013,146(6):235-248.
- [4] Janovick J A, Maya-Núñez G, Ulloa-Aguirre A, et al. Increased plasma membrane expression of human follicle-stimulating hormone receptor by a small molecule thienopyr(im)idine[J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*,2009,298(2):84-88.
- [5] 付令元,章三娇,张兆奉,等.卵泡刺激素受体基因的点突变和单核苷酸多态性[J].*Research Progress on Mutations and Single Nucleotide Polymorphisms of Follicle Stimulating Hormone Receptor Gene*,2012,32(5):328-334+344.
- [6] França M M, Lerario A M, Funari M F A, et al. A novel homozygous missense fshr variant associated with hypergonadotropic hypogonadism in two siblings from a brazilian family[J]. *Sexual Development: Genetics, Molecular Biology, Evolution, Endocrinology, Embryology, and Pathology of Sex Determination and Differentiation*,2017,11(3):137-142.
- [7] Desai S S, Achrekar S K, Sahasrabudhe K A, et al. Functional characterization of two naturally occurring mutations (Val514Ala and Ala575Val) in follicle-stimulating hormone receptor[J]. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*,2015,100(4):638-645.
- [8] Torrealday S, Kodaman P, Pal L. Premature ovarian insufficiency—An update on recent advances in understanding and management[J]. *F1000Research*,2017(6):2069.
- [9] Rannikko A, Pakarinen P, Manna P R, et al. Functional characterization of the human FSH receptor with an inactivating Ala189Val mutation[J]. *Molecular Human Reproduction*,2002,8(4):311-317.
- [10] A D L, G C, S E, et al. Identification of the first germline mutation in the extracellular domain of the follitropin receptor responsible for spontaneous ovarian hyperstimulation syndrome[J]. *Human mutation*, 2008,29(1):91-98.