

## 综述

# 组蛋白去乙酰化酶1/2参与调控小鼠卵子发生的研究进展

高萌<sup>1</sup>, 王超<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>中国农业大学生物学院农业生物技术国家重点实验室, 北京 100094; <sup>2</sup>宁夏大学生命科学学院西部特色生物资源保护与利用教育部重点实验室, 银川 750021

**摘要:** 卵子发生是雌性哺乳动物的基本生殖过程, 是后续受精及胚胎发育的基础。近年来研究表明, 表观修饰在调控哺乳动物生殖过程(如卵子发生、精子发生、植入前胚胎发育及性别分化等)中扮演着重要的角色。以组蛋白乙酰化为例, 组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferases, HATs)和去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs)的动态变化参与调控生殖过程中众多关键生理事件发生时的基因激活与失活。其中, 结构高度同源且功能冗余的HDAC1和HDAC2在卵子发生过程中扮演了关键的生理角色。HDAC1/2共同调控生长卵母细胞的整体转录水平以及凋亡水平, 从而影响其后续发育, 这体现了两者的功能冗余性。除此之外, HDAC1/2也能够不依赖于对方、独立地发挥作用。现有研究表明, HDAC2在卵子发生中更加重要, 其可单独调控卵母细胞重新甲基化以及减数分裂染色体分离。HDAC1则在植入前胚胎发育过程中更为关键, 单独缺乏HDAC1的胚胎干细胞增殖率降低, 拟胚体体积减小且形状不规则。本综述拟就HDAC1/2在小鼠卵子发生中的调控作用及现有研究进展加以综述, 为进一步认识表观修饰与生殖调控的关系提供参考。

**关键词:** 组蛋白去乙酰化酶1; 组蛋白去乙酰化酶2; 小鼠卵子发生

**中图分类号:** R321.1; Q492.5

## The role of histone deacetylases 1/2 in regulating murine oogenesis

GAO Meng<sup>1</sup>, WANG Chao<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>State Key Laboratory for Agrobiotechnology, College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing 100094, China;

<sup>2</sup>Key Laboratory of Ministry of Education for Conservation and Utilization of Special Biological Resources in the Western China, College of Life Science, Ningxia University, Yinchuan 750021, China

**Abstract:** Oogenesis is the basic reproductive process of female mammals and is essential for fertilization and embryo development. Recent studies have shown that epigenetic modifications play an important role in the regulation of mammalian reproductive processes (such as oogenesis, spermatogenesis, preimplantation embryo development and sex differentiation). Taking histone acetylation as an instance, the dynamic changes of histone acetyltransferases (HATs) and deacetylases (HDACs) are involved in the regulation of gene activation and inactivation when numerous key physiological events occur during reproduction. Thereinto, HDAC1 and HDAC2, which are highly homologous in terms of both structure and function, play a pivotal role in murine oogenesis. HDAC1 and 2 jointly regulate the global transcription and the incidence of apoptosis of growing oocytes and affect its subsequent growth and development, which reflects their compensatory function. In addition, HDAC1 and 2 also play a specific part in oogenesis respectively. It has shown that HDAC2 is more critical than HDAC1 for oocyte development, which regulates *de novo* DNA methylation and chromosome segregation. Reciprocally, HDAC1 is more critical than HDAC2 for preimplantation development. Deficiency of HDAC1 causes the decreased proliferation of embryonic stem cells and the smaller embryoid bodies with irregular shape. In this review, we summarized

Received 2020-08-01 Accepted 2020-12-24

Research from the corresponding author's laboratory was supported by grants from the National Key Research and Development Program of China (No. 2018YFC1003701, 2018YFC1003801), the National Natural Science Foundation of China (No. 31872792), and Institution of Higher Education Projects of Building First-class Discipline Construction in Ningxia Region (Biology), China (No. NXYLXK2017B05).

\*Corresponding author. Tel: +86-10-62733435; E-mail: wangcam@126.com

the role and the current research progress of HDAC1/2 in murine oogenesis, to provide a reference for further understanding the relationship between epigenetic modifications and reproductive regulation.

**Key words:** histone deacetylase 1 (HDAC1); histone deacetylase 2 (HDAC2); murine oogenesis

哺乳动物卵子发生过程复杂, 其从胚胎发育早期开始, 经胚胎期、出生、直至性成熟才完成。以小鼠为例, 原始生殖细胞从卵黄囊迁移至生殖嵴并分化为卵原细胞, 启动减数第一次分裂并发育为初级卵母细胞。这些卵母细胞阻滞于减数第一次分裂前期的双线期, 并于出生前后由前体颗粒细胞包裹形成单个原始卵泡。这些受阻滞的卵母细胞随原始卵泡向初级卵泡、次级卵泡的逐步发育而继续生长发育, 体积不断变大, 转录逐渐活跃。进入初情期后, 腔前卵泡被周期性募集形成有腔卵泡, 此时阻滞于减数第一次分裂前期的卵母细胞胞核因体积膨大、形似泡状而被称为生发泡 (germinal vesicle, GV)。生长中的 GV 卵母细胞逐步发育为完全生长的 GV 卵母细胞, 并根据核型分为染色质高度浓缩并围绕核仁分布的 SN (surrounded nucleolus) 型和染色质分散且不围绕核仁分布的 NSN (non-surrounded nucleolus) 型卵母细胞<sup>[1, 2]</sup>。排卵前促黄体激素 (luteinizing hormone, LH) 峰的诱导促使卵母细胞进一步发育及成熟, 伴随着核仁消失、核膜解体以及生发泡破裂 (germinal vesicle breakdown, GVBD), 卵母细胞重新恢复减数分裂能力并排出第一极体。

卵子发生过程中的生理调控机制因雌性独有的周期性特征而表现出更多的丰富性。除受到经典的下丘脑-垂体-卵巢轴激素以及其他内分泌激素的作用外, 表观修饰 (包括组蛋白修饰、DNA 甲基化以及 RNA 干扰等) 因素也能够通过感知卵巢微环境的变化而参与调控, 在不改变细胞核 DNA 序列的情况下可逆地、可遗传地改变基因功能<sup>[3-8]</sup>。在克隆胚胎的研究中, 由于体细胞重编程中存在大量表观修饰障碍, 如组蛋白 H3 第 9 位赖氨酸三甲基化 (histone H3 lysine 9 trimethylation, H3K9me3) 以及乙酰化 (histone H3 lysine 9 acetylation, H3K9ac), 使得体细胞重编程不完全, 从而导致核移植胚胎发育潜能低<sup>[3, 8]</sup>。注射 H3K9me3 特异性去甲基化酶 KDM4D 的 mRNA 或经组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylase, HDAC) 抑制剂 Trichostatin A 处理可以很大程度地克服这种表观修饰障碍, 从而显著提升核移植胚胎发育率<sup>[3, 8]</sup>。另有研究表明, 在 LH 峰诱导小鼠卵

母细胞恢复减数分裂时, 转录起始复合物 CBP-CIT-ED4 的乙酰化作用以及 HDAC3 的去乙酰化作用对 EGF 样生长因子的转录以及卵母细胞的成熟至关重要, 而卵母细胞中 CFP1 介导的 H3K4me3 是颗粒细胞中促排卵信号正确表达以及颗粒细胞与卵母细胞之间正常交流互作的必要条件<sup>[4, 6, 7]</sup>。

考虑到表观修饰的复杂性与多样性, 本文拟对目前研究进展较快的组蛋白乙酰化修饰, 重点分析 HDAC 家族 I 类中结构上同源且功能上冗余的两种分子, 即 HDAC1/2 的结构、功能及其参与调控小鼠卵子发生的具体进展, 为后续更好地开展相关研究提供参考。

## 1 小鼠卵子发生中组蛋白乙酰化水平的变化特征

组蛋白乙酰化是由组蛋白乙酰转移酶 (histone acetyltransferases, HATs) 以及 HDACs 所调控的动态修饰, 通过增加或去除组蛋白 H3、H4 N 端赖氨酸残基上的乙酰基从而调控 DNA 与组蛋白结合的紧密程度以及转录水平, 其关键位点分别为 H3K9、H3K14、H4K5、H4K8、H4K12 以及 H4K16<sup>[9, 10]</sup>。目前认为, 哺乳动物中存在着 18 种 HDACs, 并根据其同源性酵母蛋白分为 I 类 (HDAC1, 2, 3 和 8)、II 类 (IIa: HDAC4, 5, 7 和 9; IIb: HDAC6 和 10)、III 类 (SIRT1-7) 以及 IV 类 (HDAC11)<sup>[11]</sup>。其中, 在调节基因表达方面起决定性作用的是 I 类 HDACs<sup>[12]</sup>。

在小鼠卵子发生过程中, 其组蛋白乙酰化修饰的剧烈变化主要发生于生殖细胞到达生殖嵴前后和卵母细胞发生 GVBD 前后<sup>[13, 14]</sup>。然而, 处于同一阶段的不同类型卵母细胞中组蛋白乙酰化水平也不尽相同, 例如完全生长的 GV 卵母细胞的组蛋白乙酰化水平高于生长中的 GV 卵母细胞; 另外, 在完全生长的 GV 卵母细胞中, SN 型卵母细胞中的组蛋白乙酰化水平均高于 NSN 型卵母细胞<sup>[15]</sup>。研究证明, 原始生殖细胞到达生殖嵴前其 H3K9ac 水平与周围体细胞相似, 到达生殖嵴时瞬间升高 (此时染色体高度活化), 随后又降至原来水平<sup>[14]</sup>。考虑

到原始生殖细胞在进入生殖嵴后会发生一系列基因组重编程,包括父母本印记基因的去除等,这种有序的表现修饰变化可能对后续生殖细胞特异性修饰的建立以及配子的正常发育起着至关重要的作用<sup>[14]</sup>。对于生长中的卵母细胞而言,其H3K9ac、H4K12ac等乙酰化水平随生长发育而逐渐上升,发育至完全生长的卵母细胞阶段时达到最高,且SN型卵母细胞中的乙酰化水平均高于NSN型卵母细胞,这说明此阶段组蛋白乙酰化水平的总体上升可能与卵母细胞染色质构型的改变、恢复减数分裂能力及获得发育能力有关<sup>[15]</sup>。完全生长的卵母细胞发生GVBD后恢复减数分裂,为了获得下一代全能性合子,此时卵母细胞全基因组发生重编程,组蛋白乙酰化水平整体下降,若去乙酰化不充分则会造成非整倍体现象的发生<sup>[13, 16]</sup>。减数第一次分裂完成时,卵母细胞中H3K9ac、H4K12ac等乙酰化水平短暂上升,进入减数第二次分裂时再次去乙酰化<sup>[13, 17, 18]</sup>。这种组蛋白乙酰化水平的动态变化反映了机体在维持卵母细胞结构和功能稳定性方面存在着相当复杂的调控机制。

综上所述,小鼠卵子发生过程中的组蛋白乙酰化水平随着不同生理事件的发生做出相应的改变,其存在两个明显的峰值,分别为生殖细胞到达生殖嵴时和完全生长的卵母细胞发生GVBD之前,这也说明了HATs和HDACs通过动态调控组蛋白乙酰化水平从而参与小鼠卵子发生的各个阶段,但各个相关酶的具体调控机制仍有待研究。目前,多种HDACs已被证明参与调控小鼠卵子发生过程中的不同生理事件<sup>[4, 12, 19-28]</sup>,例如HDAC6是调控卵母细胞减数分裂期间纺锤体功能以及不对称分裂的重要因素<sup>[23, 25]</sup>;而SIRT1则可以直接与*mTOR*、*Akt*启

动子结合并促使其转录,进而调控原始卵泡的始动募集<sup>[28]</sup>。本综述将针对I类HDACs中两个高度同源的成员——HDAC1/2在小鼠卵子发生中的调控作用进行详细介绍。

## 2 HDAC1/2的结构及功能

### 2.1 HDAC1/2的结构

在人和小鼠中,HDAC1/2氨基酸序列全长分别为482和488个氨基酸残基,在结构上具有83%的同源性<sup>[11]</sup>。HDAC1/2不仅可以去乙酰化修饰相关底物(包括组蛋白、转录因子以及与染色体修饰、DNA修复有关的蛋白等),其特定氨基酸位点也可以被翻译后修饰,包括乙酰化、磷酸化、甲基化、糖基化、碳基化和泛素化等<sup>[11, 29, 30]</sup>。其中,HDAC2由于缺少特定赖氨酸残基位点而不能被乙酰化<sup>[31]</sup>。两者结构域的异同之处总结见表1<sup>[29]</sup>。

### 2.2 HDAC1/2的功能

一般认为,组蛋白乙酰化的结果是促进基因转录,而组蛋白去乙酰化则抑制基因转录。然而,近期研究却发现组蛋白去乙酰化并不仅仅与基因的转录抑制有关<sup>[38-40]</sup>。例如,在人类CD4<sup>+</sup>细胞的全基因组ChIP-seq分析中发现组蛋白去乙酰化及基因转录之间存在正相关,HDAC1在转录激活基因的启动子区域被检测到,而HDAC2则在转录激活基因的启动子以及body区域均被检测到<sup>[40]</sup>。该研究认为,HDACs被招募到激活基因序列上的目的可能是中和HATs和RNA聚合酶II的作用,“初始化”启动子以进行下一轮转录<sup>[40]</sup>。

HDAC1/2功能的多样性体现在其除了参与调节基因转录外,还在DNA复制、修复以及细胞分裂进程等多种生物过程中发挥着重要的作用。例如,

表1. HDAC1/2结构域的异同之处

Table 1. A summary of similarity and difference between HDAC1/2 domains

	Domain	Function
Similarity	N-terminal histone deacetylase domain <sup>[11]</sup>	Histone deacetylase
	N-terminal HDAC association domain <sup>[32]</sup>	Homo- and hetero-dimerization
	C-terminal IAC(E/D)E motif <sup>* [33]</sup>	Interact with pocket proteins
	Lack of nuclear export-signal <sup>[32]</sup>	Locate in nucleus
	Lack of DNA-binding domain <sup>[34, 35]</sup>	Interact with transcription factors, or be part of multi-component repressor complexes (such as SIN3 complex, CoREST complex)
Difference	HDAC1 C-terminal nuclear localization signal <sup>[32]</sup>	Locate in nucleus
	C-terminal Chfr <sup>#</sup> interaction domain <sup>[36]</sup>	Interact with Chfr
	HDAC2 C-terminal coiled-coil domain <sup>[37]</sup>	Interact between proteins

\*: HDAC1 has an IACEE motif, and HDAC2 has an IACDE motif. #: Chfr, a ubiquitin ligase.

缺失 HDAC1/2 导致 NIH3T3 细胞中新生染色质上复制叉速度降低, 同时 DNA 复制应激反应被激活<sup>[41]</sup>; 在人骨肉瘤细胞中, 缺少 HDAC1/2 会造成细胞 DNA 损伤<sup>[42]</sup>; 在人肿瘤细胞中 HDAC1 的缺失也会导致有丝分裂受损<sup>[43]</sup>等。

### 3 HDAC1/2在卵子发生过程中的作用

HDAC1/2 结构上的高度同源决定了两者的功能冗余性, 即两个基因具有相同功能, 缺失其中一个不影响其他基因表型。例如, 在心脏、大脑、T 细胞、B 细胞、卵母细胞以及各种细胞系中, 单独敲除 *Hdac1* 或 *Hdac2* 只能引起轻微损伤, 甚至无表型, 但同时敲除 *Hdac1/2* 则会导致严重的缺陷, 如心律失常致死、脑发育受损致死、胸腺发育停滞致死以及 B 细胞、卵母细胞发育停滞等, 并伴随着细胞凋亡和细胞分裂进程受阻等现象<sup>[29]</sup>。然而, 在许多生理事件中 HDAC1/2 又各自独立发挥作用, 例如 HDAC2 (而非 HDAC1) 通过维持着丝粒的功能确保卵母细胞减数分裂的正确进行<sup>[21]</sup>。

已有研究显示, *Hdac1* 全敲小鼠在胚胎期 10.5 天前死亡<sup>[44]</sup>, 而 *Hdac2* 全敲小鼠则因心脏缺陷在出生前后死亡<sup>[45]</sup>, 因此研究者构建了条件性敲除小鼠来进行更加深入的探索。Ma 等利用 *Zp3-Cre* 工具小鼠, 在初级卵泡阶段分别特异性敲除卵母细胞中的 *Hdac1* 和 / 或 *Hdac2* 的等位基因, 从而构建了单基因敲除小鼠 (*Hdac1*<sup>-/-</sup>、*Hdac2*<sup>-/-</sup>)、双基因敲除小鼠 (*Hdac1:2*<sup>-/-</sup>) 以及只保留一个等位基因的小鼠 (*Hdac1*<sup>+/-</sup>/*Hdac2*<sup>-/-</sup>、*Hdac1*<sup>-/-</sup>/*Hdac2*<sup>+/-</sup>) 模型<sup>[46]</sup>。各个基因敲除小鼠的表型归纳见表 2<sup>[20, 21, 29, 46]</sup>, 后文以 HDAC1/2 在小鼠卵子发生中的冗余及独立作用为出发点对其调控机制进行详细阐述。

#### 3.1 HDAC1/2的冗余作用

在 *Hdac1:2*<sup>-/-</sup> 双基因敲除小鼠的卵巢中, 卵泡发育停滞于次级卵泡阶段且无有腔卵泡, 抑癌因子 TRP53 乙酰化水平上升使得其活性增加, 引起卵母细胞凋亡, 从而导致小鼠不育<sup>[46]</sup>。与此同时, 该小鼠生长卵母细胞中与转录活跃有关的 H3K4 甲基化水平剧烈下降, 导致全基因组转录水平下降约 40%,

表2. HDAC1/2敲除小鼠的表型及作用机制

Genetic mode	Fertility	Follicle development	Oocyte maturity	Master gene	Mechanism
<i>Hdac1</i> <sup>-/-</sup>	Fertile <sup>[46]</sup>	Normal	Normal		
<i>Hdac2</i> <sup>-/-</sup>	Subfertile <sup>[46]</sup>	Normal	Failure of chromosomes to condense, separate or align properly and increased incidence of aneuploidy	<i>Hdac2</i>	H4K16 hyperacetylation impacts the function of spindle and kinetochore <sup>[21]</sup>
<i>Hdac1</i> <sup>-/-</sup> / <i>Hdac2</i> <sup>+/-</sup>	Fertile <sup>[46]</sup>	Normal	Normal		
<i>Hdac1</i> <sup>+/-</sup> / <i>Hdac2</i> <sup>-/-</sup>	Infertile <sup>[46]</sup>	More secondary follicles and fewer antral follicles without oocyte apoptosis or degeneration	Fewer MII oocytes, and other phenotypes are same as <i>Hdac2</i> <sup>-/-</sup>	<i>Hdac2</i>	H3K4 hypomethylation causes ~20% decrease of global transcription; Oocyte maturity: idem <sup>[21]</sup>
<i>Hdac1:2</i> <sup>-/-</sup>	Infertile <sup>[46]</sup>	Arrest at secondary follicle stage with oocyte apoptosis and degeneration, no antral follicles	Failed	<i>Hdac2</i>  <i>Hdac1/2</i>	Global DNA hypomethylation impacts the establishment of imprinted genes and activates retrotransposon expression with DNA double-strand breaks inducing apoptosis <sup>[20]</sup> H3K4 hypomethylation causes ~40% decrease of global transcription; TRP53 hyperacetylation induces apoptosis <sup>[46]</sup>



而这些下调的基因大多数与转录正相关<sup>[46]</sup>。该研究证明, HDAC1/2 对卵泡的发育至关重要。

在 *Hdac1<sup>-/-</sup>/Hdac2<sup>-/-</sup>* 敲除小鼠的生长卵母细胞中, H3K4 甲基化水平下降导致全基因组转录水平下降约 20%, 部分卵泡被阻滞于次级阶段, 但仍有少部分卵泡能够发育至有腔卵泡并进一步成熟排卵; 而在 *Hdac2<sup>-/-</sup>* 单基因敲除小鼠的生长卵母细胞中, 转录水平与野生型无明显差异, 并且各级卵泡发育正常<sup>[29, 46]</sup>。考虑到 *Hdac1:2<sup>-/-</sup>* 双基因敲除小鼠的生长卵母细胞中转录水平下降最多以及无法发育至有腔卵泡的严重缺陷, 这种现象被解释为卵母细胞的正常发育存在转录阈值, 而 HDAC1 或 2 等位基因的缺失程度与全基因组转录水平有关, 当转录水平低于该阈值时会导致卵母细胞发育受损<sup>[29, 46]</sup>。这与 HDAC1/2 能够正调控基因转录的观点是一致的<sup>[40]</sup>。

相比而言, *Hdac1<sup>-/-</sup>* 单基因敲除小鼠生育力以及卵母细胞发育成熟均正常, *Hdac2<sup>-/-</sup>* 单基因敲除小鼠生育力下降但各级卵泡正常发育<sup>[46]</sup>。两种单基因敲除小鼠中均未观察到与 *Hdac1:2<sup>-/-</sup>* 双基因敲除小鼠同样严重的发育缺陷, 这说明 HDAC1/2 在卵子发生过程中表现出功能冗余性, 即在生长卵泡阶段单独缺失 HDAC1 或 2 不影响卵泡发育, 但两者同时缺失则引起卵泡发育停滞于次级卵泡阶段从而导致小鼠不育。在卵泡生长期间, 卵母细胞体积增大并伴随着急剧活跃的转录活动, HDAC1/2 共同参与调控次级卵泡向有腔卵泡的发育以及此期间的转录水平, 确保了卵母细胞的生长以及 mRNA 的积累, 为进一步发育成熟、排卵做好准备。

### 3.2 HDAC1/2的独立作用

研究证明, HDAC2 参与调节小鼠卵子发生过程中的细胞分裂进程。*Hdac1:2<sup>-/-</sup>* 双基因敲除小鼠卵泡发育被阻滞于次级卵泡阶段从而不育, 而 *Hdac2<sup>-/-</sup>* 单基因敲除小鼠生育力下降以及 *Hdac1<sup>-/-</sup>/Hdac2<sup>-/-</sup>* 敲除小鼠不育的具体原因仍需探究<sup>[46]</sup>。已知 H4K16 低乙酰化对着丝粒的功能至关重要, 而在 *Hdac2<sup>-/-</sup>* 单基因敲除小鼠以及 *Hdac1<sup>-/-</sup>/Hdac2<sup>-/-</sup>* 敲除小鼠 MII 期卵母细胞中, H4K16 高乙酰化导致纺锤体结构及着丝粒功能异常, 染色体排列不整齐且凝集、分离受损, 非整倍性现象增多, 而过表达 *Hdac2* 后这些缺陷均得以逆转, 说明减数分裂染色体异常导致 *Hdac2<sup>-/-</sup>* 单基因敲除小鼠生育力下降<sup>[21]</sup>。而 *Hdac1<sup>-/-</sup>/Hdac2<sup>-/-</sup>* 敲除小鼠不育则是由于受精卵

无法完成 DNA 复制, 导致胚胎发育停滞于一细胞或者二细胞阶段, 无法发育至囊胚期<sup>[21]</sup>。

另外, HDAC2 是卵子发生中调节 DNA 甲基化的主要 HDAC<sup>[29]</sup>。诸多研究表明, 表观修饰之间存在着交叉影响, 例如 DNA 甲基化和组蛋白修饰可以通过其修饰酶的介导而相互作用<sup>[47]</sup>。DNA 在生殖细胞形成过程中去甲基化, 且在卵母细胞直径达到 50  $\mu\text{m}$  (此时卵泡为次级卵泡) 时重新甲基化<sup>[20]</sup>。*Hdac1:2<sup>-/-</sup>* 双基因敲除小鼠的生长中卵母细胞不仅 H3K4 低甲基化, DNA 甲基转移酶 3A2 (DNA methyltransferase 3A2, DNMT3A2) 表达下降造成了全基因组 DNA 低甲基化, 破坏了母体印记基因 *Snrpn*、*Igf2r* 和 *Peg3* 的建立, 逆转录转座子被激活并整合到基因组中造成 DNA 双链断裂,  $\gamma\text{H2AX}$  水平上升<sup>[20, 46]</sup>。向 *Hdac1:2<sup>-/-</sup>* 双基因敲除小鼠的生长中卵母细胞单独注射 *Hdac2* cRNA 可以逆转该表型而添加抑制剂无效, 说明 HDAC2 不依赖其去乙酰化酶活性而是通过其结构功能靶向 DNMT3A2 从而引起 DNA 从头甲基化<sup>[20]</sup>。

缺失 HDAC2 的小鼠模型 (*Hdac2<sup>-/-</sup>* 单基因敲除小鼠以及 *Hdac1<sup>-/-</sup>/Hdac2<sup>-/-</sup>* 敲除小鼠) 其卵母细胞减数分裂进程以及后续合子 DNA 复制受损, 而缺失 HDAC1 的小鼠模型 (*Hdac1<sup>-/-</sup>* 单基因敲除小鼠和 *Hdac1<sup>-/-</sup>/Hdac2<sup>-/-</sup>* 敲除小鼠) 其生育力以及卵子发生过程均正常, 这说明 HDAC2 (而非 HDAC1) 可能在卵子发生过程中发挥主导作用<sup>[29]</sup>。目前, HDAC1 在卵母细胞成熟以及后续受精过程中的作用仍不清楚。研究显示 HDAC1 在植入前胚胎的发育过程中更加重要, 例如单独缺乏 HDAC1 的胚胎干细胞增殖率降低, 拟胚体体积减小且形状不规则等<sup>[19, 39]</sup>。

## 4 总结与展望

卵子发生是一个复杂且精密的过程, 不仅涉及到多个阶段性发育事件, 也涉及内分泌、自分泌和旁分泌所产生的多种激素与因子等内部因素以及外界信号的时空性、交叉性调控。然而, 目前人们仍然缺少对卵子发生各个阶段更多的调控因子及其调控机制的具体认识。表观修饰被认为与生殖健康高度相关, 现阶段以表观修饰调控为基础开展相关研究, 已为更全面地理解卵子发生的非遗传性因素影响机制提供了借鉴, 也促使人们对这一生理性事件的复杂性进行更加深入的思考。

表观修饰调控分子 HDAC1/2 被认为在卵子发

生中起着重要的作用，其作用方式依据是否共同调控可以分为两种，即冗余作用及独立作用；依据是否依赖酶活也可以分为两种，即催化活性和结构作用。其中，HDAC2 被认为在卵子发生中起着更加重要的作用，而 HDAC1 则被认为在植入前胚胎发育过程中扮演着不可或缺的角色。

尽管有关 HDAC1/2 在卵子发生中的功能作用的研究已经取得了一定的进展，但是仍有许多仍未解决的问题值得进一步的研究与讨论，包括 HDAC1/2 的多种作用方式是否存在选择机制以及这种选择机制是否由于两者表达量或表达部位存在差异、包含 HDAC1/2 的共抑制复合物是否参与调控卵子发生过程中的乙酰化水平、两者如何调控去乙酰化之外的表观遗传修饰（例如组蛋白甲基化）、是否可以通过影响非组蛋白底物的乙酰化水平或某阶段的转录水平从而调控卵子发生等等。由此可见，HDAC1/2 在卵子发生不同阶段所发挥的作用、机制以及功能关系仍未被详细阐释。目前，抑制 HDACs 已被作为开发多种抗癌药物的治疗策略，包括 HDAC1/2 特异性抑制剂茚地那辛在内的四种 HDACs 抑制剂已被批准上市。因此，通过引入更先进的体内、体外研究模型，研究手段和策略来加强对包括 HDAC1/2 在内的表观修饰因素如何通过改变染色体结构或基因表达从而调控卵子发生的机制研究，找到潜在的关键基因靶点，这对于解决临床上由于表观修饰错误调控而引起的不孕、流产、卵巢癌以及包括多囊卵巢综合征在内的多种女性生殖发育疾病具有重要的参考意义。

### 参考文献

- 1 Debey P, Szollosi MS, Szollosi D, Vautier D, Girousse A, Besombes D. Competent mouse oocytes isolated from antral follicles exhibit different chromatin organization and follow different maturation dynamics. *Mol Reprod Dev* 1993; 36(1): 59–74.
- 2 Liu H, Aoki F. Transcriptional activity associated with meiotic competence in fully grown mouse GV oocytes. *Zygote* 2002; 10(4): 327–332.
- 3 Matoba S, Liu Y, Lu F, Iwabuchi KA, Shen L, Inoue A, Zhang Y. Embryonic development following somatic cell nuclear transfer impeded by persisting histone methylation. *Cell* 2014; 159(4): 884–895.
- 4 Wang H, Cai H, Wang X, Zhang M, Liu B, Chen Z, Yang T, Fang J, Zhang Y, Liu W, Han J, Guo Q, Zhang H, Wang H, Xia G, Wang C. HDAC3 maintains oocyte meiosis arrest by repressing amphiregulin expression before the LH surge. *Nat Commun* 2019; 10(1): 5719.
- 5 He M, Zhang T, Zhu Z, Qin S, Wang H, Zhao L, Zhang X, Hu J, Wen J, Cai H, Xin Q, Guo Q, Lin L, Zhou B, Zhang H, Xia G, Wang C. LSD1 contributes to programmed oocyte death by regulating the transcription of autophagy adaptor SQSTM1/p62. *Aging Cell* 2020; 19(3): e13102.
- 6 Sha QQ, Jiang Y, Yu C, Xiang Y, Dai XX, Jiang JC, Ou XH, Fan HY. CFP1-dependent histone H3K4 trimethylation in murine oocytes facilitates ovarian follicle recruitment and ovulation in a cell-nonautonomous manner. *Cell Mol Life Sci* 2020; 77(15): 2997–3012.
- 7 Zhang YL, Xia Y, Yu C, Richards JS, Liu J, Fan HY. CBP-CITED4 is required for luteinizing hormone-triggered target gene expression during ovulation. *Mol Hum Reprod* 2014; 20(9): 850–860.
- 8 Yang G, Zhang L, Liu W, Qiao Z, Shen S, Zhu Q, Gao R, Wang M, Wang M, Li C, Liu M, Sun J, Wang L, Liu W, Cui X, Zhao K, Zang R, Chen M, Liang Z, Wang L, Kou X, Zhao Y, Wang H, Wang Y, Gao S, Chen J, Jiang C. Dux-mediated corrections of aberrant H3K9ac during 2-cell genome activation optimize efficiency of somatic cell nuclear transfer. *Cell Stem Cell* 2021; 28(1): 150–163.e5.
- 9 Jacob Y, Bergamin E, Donoghue MT, Mongeon V, LeBlanc C, Voigt P, Underwood CJ, Brunzelle JS, Michaels SD, Reinberg D, Couture JF, Martienssen RA. Selective methylation of histone H3 variant H3.1 regulates heterochromatin replication. *Science* 2014; 343(6176): 1249–1253.
- 10 Strahl BD, Allis CD. The language of covalent histone modifications. *Nature* 2000; 403(6765): 41–45.
- 11 Moser MA, Hagelkruys A, Seiser C. Transcription and beyond: the role of mammalian class I lysine deacetylases. *Chromosoma* 2014; 123(1–2): 67–78.
- 12 Kelly RD, Cowley SM. The physiological roles of histone deacetylase (HDAC) 1 and 2: complex co-stars with multiple leading parts. *Biochem Soc Trans* 2013; 41(3): 741–749.
- 13 Akiyama T, Kim JM, Nagata M, Aoki F. Regulation of histone acetylation during meiotic maturation in mouse oocytes. *Mol Reprod Dev* 2004; 69(2): 222–227.
- 14 Seki Y, Hayashi K, Itoh K, Mizugaki M, Saitou M, Matsui Y. Extensive and orderly reprogramming of genome-wide chromatin modifications associated with specification and early development of germ cells in mice. *Dev Biol* 2005; 278(2): 440–458.
- 15 Kageyama S, Liu H, Kaneko N, Ooga M, Nagata M, Aoki F. Alterations in epigenetic modifications during oocyte growth in mice. *Reproduction* 2007; 133(1): 85–94.
- 16 Akiyama T, Nagata M, Aoki F. Inadequate histone deacetylation during oocyte meiosis causes aneuploidy and embryo

- death in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103(19): 7339–7344.
- 17 Huang J, Ding CH, Li ZY, Zhang XB, You ZS, Zhou CQ, Xu YW. Epigenetic changes of histone deacetylation in murine oocytes matured *in vitro* versus *in vivo*. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2017; 21(9): 2039–2044.
- 18 Fulka H. Changes in global histone acetylation pattern in somatic cell nuclei after their transfer into oocytes at different stages of maturation. *Mol Reprod Dev* 2008; 75(3): 556–564.
- 19 Dovey OM, Foster CT, Cowley SM. Histone deacetylase 1 (HDAC1), but not HDAC2, controls embryonic stem cell differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107(18): 8242–8247.
- 20 Ma P, de Waal E, Weaver JR, Bartolomei MS, Schultz RM. A DNMT3A2-HDAC2 complex is essential for genomic imprinting and genome integrity in mouse oocytes. *Cell Rep* 2015; 13(8): 1552–1560.
- 21 Ma P, Schultz RM. Histone deacetylase 2 (HDAC2) regulates chromosome segregation and kinetochore function via H4K16 deacetylation during oocyte maturation in mouse. *PLoS Genet* 2013; 9(3): e1003377.
- 22 Singh VP, Yueh WT, Gerton JL, Duncan FE. Oocyte-specific deletion of *Hdac8* in mice reveals stage-specific effects on fertility. *Reproduction* 2019; 157(3): 305–316.
- 23 Sui L, Huang R, Yu H, Zhang S, Li Z. Inhibition of HDAC6 by tubastatin A disrupts mouse oocyte meiosis via regulating histone modifications and mRNA expression. *J Cell Physiol* 2020; 235(10): 7030–7042.
- 24 Sui L, Zhang S, Huang R, Li Z. HDAC11 promotes meiotic apparatus assembly during mouse oocyte maturation via decreasing H4K16 and  $\alpha$ -tubulin acetylation. *Cell Cycle* 2020; 19(3): 354–362.
- 25 Zhou D, Choi YJ, Kim JH. Histone deacetylase 6 (HDAC6) is an essential factor for oocyte maturation and asymmetric division in mice. *Sci Rep* 2017; 7(1): 8131.
- 26 Guo Y, Sun J, Bu S, Li B, Zhang Q, Wang Q, Lai D. Melatonin protects against chronic stress-induced oxidative meiotic defects in mice MII oocytes by regulating SIRT1. *Cell Cycle* 2020; 19(13): 1677–1695.
- 27 Tatone C, Di Emidio G, Barbonetti A, Carta G, Luciano AM, Falone S, Amicarelli F. Sirtuins in gamete biology and reproductive physiology: emerging roles and therapeutic potential in female and male infertility. *Hum Reprod Update* 2018; 24(3): 267–289.
- 28 Zhang T, Du X, Zhao L, He M, Lin L, Guo C, Zhang X, Han J, Yan H, Huang K, Sun G, Yan L, Zhou B, Xia G, Qin Y, Wang C. SIRT1 facilitates primordial follicle recruitment independent of deacetylase activity through directly modulating Akt1 and mTOR transcription. *FASEB J* 2019; 33(12): 14703–14716.
- 29 Ma P, Schultz RM. HDAC1 and HDAC2 in mouse oocytes and preimplantation embryos: Specificity versus compensation. *Cell Death Differ* 2016; 23(7): 1119–1127.
- 30 Segré CV, Chiocca S. Regulating the regulators: the post-translational code of class I HDAC1 and HDAC2. *J Biomed Biotechnol* 2011; 2011: 690848.
- 31 Luo Y, Jian W, Stavreva D, Fu X, Hager G, Bungert J, Huang S, Qiu Y. Trans-regulation of histone deacetylase activities through acetylation. *J Biol Chem* 2009; 284(50): 34901–34910.
- 32 Taplick J, Kurtev V, Kroboth K, Posch M, Lechner T, Seiser C. Homo-oligomerisation and nuclear localisation of mouse histone deacetylase 1. *J Mol Biol* 2001; 308(1): 27–38.
- 33 Brunmeir R, Lagger S, Seiser C. Histone deacetylase HDAC1/HDAC2-controlled embryonic development and cell differentiation. *Int J Dev Biol* 2009; 53(2–3): 275–289.
- 34 Silverstein RA, Ekwall K. Sin3: a flexible regulator of global gene expression and genome stability. *Curr Genet* 2005; 47(1): 1–17.
- 35 Lee MG, Wynder C, Cooch N, Shiekhhattar R. An essential role for CoREST in nucleosomal histone 3 lysine 4 demethylation. *Nature* 2005; 437(7057): 432–435.
- 36 Oh YM, Kwon YE, Kim JM, Bae SJ, Lee BK, Yoo SJ, Chung CH, Deshaies RJ, Seol JH. Chfr is linked to tumour metastasis through the downregulation of HDAC1. *Nat Cell Biol* 2009; 11(3): 295–302.
- 37 Gregoretti IV, Lee YM, Goodson HV. Molecular evolution of the histone deacetylase family: functional implications of phylogenetic analysis. *J Mol Biol* 2004; 338(1): 17–31.
- 38 Clayton AL, Hazzalin CA, Mahadevan LC. Enhanced histone acetylation and transcription: a dynamic perspective. *Mol Cell* 2006; 23(3): 289–296.
- 39 Kidder BL, Palmer S. HDAC1 regulates pluripotency and lineage specific transcriptional networks in embryonic and trophoblast stem cells. *Nucleic Acids Res* 2012; 40(7): 2925–2939.
- 40 Wang Z, Zang C, Cui K, Schones DE, Barski A, Peng W, Zhao K. Genome-wide mapping of HATs and HDACs reveals distinct functions in active and inactive genes. *Cell* 2009; 138(5): 1019–1031.
- 41 Bhaskara S, Jacques V, Rusche JR, Olson EN, Cairns BR, Chandrasekharan MB. Histone deacetylases 1 and 2 maintain S-phase chromatin and DNA replication fork progression. *Epigenetics Chromatin* 2013; 6(1): 27.
- 42 Miller KM, Tjeertes JV, Coates J, Legube G, Polo SE, Britton S, Jackson SP. Human HDAC1 and HDAC2 function in the DNA-damage response to promote DNA nonhomologous

- end-joining. *Nat Struct Mol Biol* 2010; 17(9): 1144–1151.
- 43 Senese S, Zaragoza K, Minardi S, Muradore I, Ronzoni S, Passafaro A, Bernard L, Draetta GF, Alcalay M, Seiser C, Chiocca S. Role for histone deacetylase 1 in human tumor cell proliferation. *Mol Cell Biol* 2007; 27(13): 4784–4795.
- 44 Lagger G, O'Carroll D, Rembold M, Khier H, Tischler J, Weitzer G, Schuettengruber B, Hauser C, Brunmeir R, Jenwein T, Seiser C. Essential function of histone deacetylase 1 in proliferation control and CDK inhibitor repression. *EMBO J* 2002; 21(11): 2672–2681.
- 45 Montgomery RL, Davis CA, Potthoff MJ, Haberland M, Fielitz J, Qi X, Hill JA, Richardson JA, Olson EN. Histone deacetylases 1 and 2 redundantly regulate cardiac morphogenesis, growth, and contractility. *Genes Dev* 2007; 21(14): 1790–1802.
- 46 Ma P, Pan H, Montgomery RL, Olson EN, Schultz RM. Compensatory functions of histone deacetylase 1 (HDAC1) and HDAC2 regulate transcription and apoptosis during mouse oocyte development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109(8): E481–E489.
- 47 Cedar H, Bergman Y. Linking DNA methylation and histone modification: patterns and paradigms. *Nat Rev Genet* 2009; 10(5): 295–304.