

CTGF(CCN2)基因生物学功能及其在家禽上的研究进展

张 慧^{1,2,3}, 汪舒萍^{1,2,3}, 申林用^{1,2,3}, 周佳美^{1,2,3}, 葛耀文^{1,2,3}

(1. 东北农业大学动物科学技术学院, 哈尔滨 150030; 2. 农业农村部鸡遗传育种重点实验室, 哈尔滨 150030;
3. 黑龙江省普通高等学校动物遗传育种与繁殖重点实验室, 哈尔滨 150030)

摘 要: 结缔组织生长因子(Connective tissue growth factor, CTGF/CCN2), 是一种富含半胱氨酸的基质细胞蛋白。研究表明, CTGF基因在血管生成、细胞外基质重塑、细胞黏附、迁移、增殖等方面发挥重要作用, 为生理和病理过程中潜在效应分子。鸡CTGF基因与人、牛、鼠等CTGF基因均有较高保守性, 作为实验模型探索CTGF基因潜在研究价值较高。深入研究CTGF基因, 综述CTGF基因结构、生物学功能及其在家禽上的研究, 有助于家禽选育, 且可推动分子生物学领域发展。

关键词: CTGF; 鸡; 生物学功能

中图分类号: S831.2 文献标志码: A 文章编号: 1005-9369(2022)03-0080-08

张慧, 汪舒萍, 申林用, 等. CTGF(CCN2)基因生物学功能及其在家禽上的研究进展[J]. 东北农业大学学报, 2022, 53(3): 80-87.
DOI: 10.19720/j.cnki.issn.1005-9369.2022.03.009.

Zhang Hui, Wang Shuping, Shen Linyong, et al. Biological function of CTGF (CCN2) gene and its research progress in poultry field[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2022, 53(3): 80-87. (in Chinese with English abstract) DOI: 10.19720/j.cnki.issn.1005-9369.2022.03.009.

Biological function of CTGF (CCN2) gene and its research progress in poultry field/ZHANG Hui^{1,2,3}, WANG Shuping^{1,2,3}, SHEN Linyong^{1,2,3}, ZHOU Jiamei^{1,2,3}, GE Yaowen^{1,2,3}
(1. College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. Key Laboratory of Chicken Genetics and Breeding, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Harbin 150030, China; 3. Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Reproduction in Heilongjiang Province, Harbin 150030, China)

Abstract: Connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) is a kind of stromal cell protein rich in cysteine. Studies have shown that CTGF gene plays an important role in angiogenesis, extracellular matrix remodeling, cell adhesion, migration, proliferation and various pathologies, and has become a potential effector molecule in physiological and pathological processes. The chicken CTGF gene and the CTGF gene of humans, cattle, mice, etc. are highly conserved. The use of chicken as an experimental model to explore the potential value of the CTGF gene is constantly emerging. With the continuous deepening of CTGF gene research, it will not only help the genetic selection and breeding of excellent poultry genes, but also promote the rapid development of the field of molecular biology. The structure and biological function of CTGF gene and its research progress in poultry were reviewed in this paper.

Key words: CTGF; chicken; biological function

基金项目: 国家自然科学基金项目(31972549); 黑龙江省人力资源和社会保障厅留学回国人员择优资助项目(2017QD0011); 黑龙江省博士后科研启动金(LBH-Q20006)

作者简介: 张慧(1982-), 女, 教授, 博士生导师, 研究方向为家禽遗传育种。E-mail: huizhang@neau.edu.cn

结缔组织生长因子(Connective tissue growth factor, CTGF/CCN2)是基质细胞蛋白CCN家族中一员。1991年由Bradham等在人内皮细胞条件培养基中所发现,广泛存在于多种组织器官中,如肝脏、肾脏、肺脏、心脏等,可由多种细胞分泌合成,如成纤维细胞、上皮细胞、平滑肌细胞、内皮细胞等^[1-2]。CTGF参与调控多种生物学过程,如调节细胞外基质形成、介导细胞黏附和迁移、促进细胞增殖、血管生成,以及肿瘤发展和组织纤维化等多种病理过程^[2]。CTGF无论在生理还是病理中均是一种潜在的重要效应分子,具有重要临床意义^[3]。

比较基因组学研究结果表明,鸡与人基因组序列具有一定保守性^[4-5],其CTGF基因氨基酸序列均高度保守,是生命科学研究中常见模式动物,家禽育种在我国及多个国家均具有良好发展前景,肉鸡生长速度和产肉量均明显提升。但生理性不适症及相关疾病显著增加^[6],解决此类问题已成为育种者们面临的严峻挑战。在畜禽生长方面,CTGF具有一定潜在价值,且可用于进一步确定生长及其他性状遗传标记。开展该基因相关分子遗传学研究,不仅可以提高家禽养殖经济效益,同时对于揭示人类相关疾病分子机理也具有参考价值。

1 CCN家族概述

CTGF属于CCN蛋白家族一员,CCN蛋白家族目前包括CCN1(cysteine-rich protein 61, CYR61/CCN1)、CCN2(Connective tissue growth factor, CTGF/CCN2)、CCN3(nephroblastoma overexpressed, NOV/CCN3)、CCN4(Wnt-inducible signaling pathway protein1, WISP1/CCN4)、CCN5(Wnt-inducible signaling pathway protein2, WISP2/CCN5)和CCN6(Wnt-inducible signaling pathway protein3, WISP3/CCN6)这6个基质细胞蛋白成员,首字母缩写词CCN来自最早发现的前三个成员名称:CYR61, CTGF和NOV^[1]。尽管CCN蛋白家族成员均有较高同源性,但却各自发挥不同生物学功能,6个成员相互协作,在多个信号通路协调中共同发挥作用,从而构成一个复杂的功能网络,成为细胞功能重要基质细胞调节剂^[7]。该蛋白家族可调节多种细胞功能,包括有丝分裂、黏附、细胞凋亡、细胞外基质(Extracellular matrix, ECM)产生、生长停

滞和迁移等,其在心血管和骨骼发育、损伤修复、纤维化疾病及癌症中发挥重要作用^[8]。

2 CTGF基因和蛋白结构

2.1 人CTGF基因与蛋白结构

人CTGF基因位于染色体6q23.1上^[3,9],有4个内含子和5个外显子^[3,10-11],转录本长度达2 338 bp(GenBank登录号:NM_001901.4),编码349个氨基酸,其包含4个结构域,依次为:①胰岛素型生长因子的结合蛋白结构域(Insulin-like growth factor binding protein, IGFBP);②C型von Willebrand重复域(von Willebrand factor C, VWC);③血小板反应蛋白1型重复序列域(Thrombospondin type I, TSP1);④生长因子半胱氨酸群,肝素结合区(C-terminal, CT区)。CTGF结构域分别可和不同受体或蛋白结合:IGFBP结构域可与胰岛素样生长因子-1(Insulin growth factor-1, IGF-1)、胰岛素样生长因子-2(Insulin growth factor-2, IGF-2)、纤连蛋白等下游受体以及转化生长因子- β (Transforming growth factor- β , TGF- β)蛋白结合;VWC结构域可在细胞外与TGF- β 、骨形成蛋白(Bone morphogenetic protein, BMP)等蛋白家族直接物理性结合;TSP1结构域上有血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)、极低密度脂蛋白(Very low density lipoprotein, VLDL)受体蛋白(Lipoprotein receptor-related protein, LRP)结合位点;CT结构域上有硫酸乙酰肝素糖蛋白(Heparan sulfate proteoglycan, HSPG)、LRP、纤连蛋白(Fibronectin, FN)结合位点^[1,3]。

2.2 鸡CTGF基因与蛋白结构

鸡CTGF基因位于3号染色体上,由5个外显子和4个内含子组成。鸡CTGF基因可参考的转录本目前仅有一个,mRNA(GenBank登录号:NM_204274.1)全长2 288 bp,编码344个氨基酸,其基本结构主要由一个信号肽区以及4个相互独立结构域组成,依次为胰岛素型生长因子结合蛋白结构域(IGFBP)、C型von Willebrand重复结构域(VWC)、血小板反应蛋白I型重复结构域(TSP1)、糖蛋白激素-链同源物结构域(GHB_like)(见图1)。鸡CTGF蛋白序列与人、黑猩猩、鼠、牛、狗、猪等CTGF蛋白序列具有较高同源性(见图2),暗示其在功能上具有一定相似性。

Sig peptide



图1 鸡CTGF蛋白结构域示意图

Fig. 1 Chicken CTGF protein domain

3 CTGF生物学功能

近年来,CCN蛋白家族被广泛关注,对该家族每个成员生物学特性相关研究也在不断增加,其中对于CTGF基因生物学功能研究广泛^[3]。CTGF基因在多种细胞如纤维细胞、血管内皮细胞、上皮细胞、神经细胞、血管平滑肌细胞等以及不同哺乳动物多种组织中均可检测到^[1,12]。CTGF是相对分子质量为35~38 ku富含半胱氨酸的分泌蛋白,其4个功能性结构域通过与不同受体或蛋白结合发挥其细胞生物学功能^[13]。

3.1 CTGF在生理方面主要生物学功能

3.1.1 CTGF促进细胞外基质形成

CTGF是基质细胞蛋白,近年来,多项研究表明其在细胞外基质重塑过程中起关键作用,是细

胞外基质关键调节因子。CTGF可通过介导TGF- β 信号通路促进细胞外基质形成及重塑^[14]。卢翠侠等通过体外培养大鼠肺动脉平滑肌细胞(Pulmonary artery smooth muscle cell, PASMC)试验,发现CTGF可促进PASMC细胞外基质沉积,并证明ERK1/2信号通路参与CTGF-整合素 $\alpha v\beta 5$ 受体信号诱导的PASMC细胞外基质沉积^[15]。Ling等发现LncRNA MIAT可通过调节miR-181a/CTGF/ERK信号通路增加老年性白内障(Age-related cataract, ARC)细胞ECM产生^[16]。Li等研究发现,二硫键A氧化还原酶样蛋白(Disulfide bond-forming oxidoreductase A-like, DsbA-L)与波士顿大学小鼠近端小管细胞(Boston University mouse proximal tubule, BUMPT)线粒体中Hsp90相互作用,激活Smad3和p53信号传导,上调CTGF,导致BUMPT细胞和小鼠肾成纤维细胞ECM积累^[17]。另外,在人成纤维细胞中研究表明,CTGF通过介导糖基化末端产物生成促进FN基因mRNA表达量上调以及蛋白质合成,造成细胞外基质大量沉积^[18]。因此,可特异性敲除或者干扰CTGF基因表达量,抑制细胞外基质过度沉积。

CTGF_chicken.seq	MSASIPVALLLALGPEVRQCE.CSGGQCCGSGPGECPACVSIIVLDGCGCCRVCAKQIGELCTERDPCDHHKG	74
CTGF_human.seq	MTAASMGVVRVAEVVLLALCSRPFVEQN.CSGGPGRCDEPAERCPACVSIIVLDGCGCCRVCAKQIGELCTERDPCDHHKG	79
CTGF_chimpanzee.seq	MTAASVGEVVRVAEVVLLALCSRPFVEQN.CSGGPGRCDEPAERCPACVSIIVLDGCGCCRVCAKQIGELCTERDPCDHHKG	79
CTGF_mouse.seq	MLASVAGISIALV.LLALCTRPMQD.CSAQCCCAEAHHCPCVSIIVLDGCGCCRVCAKQIGELCTERDPCDHHKG	78
CTGF_cattle.seq	MSATGLGVRCAEVLLALCSRPAASQDCCSAFQCCPAGPAERCPACVSIIVLDGCGCCRVCAKQLS.ELCTERDPCDHHKG	79
CTGF_dog.seq	MSAAGLGVRGAFLLLALCGRPAAQD.CGGGQCCCAAPARCPACVSIIVLDGCGCCRVCAKQIGELCTERDPCDHHKG	79
CTGF_pig.seq	MSATGLSVRCAEVLLALCSRPAQD.CSGGQCCCAAGKARCPACVSIIVLDGCGCCRVCAKQIGELCTERDPCDHHKG	79
Consensus	m a gpvr afvllalcsrpa qgd csggqcc a paprcpagvslvldgcgccrvcaqkqigelcterdpdphkg	
CTGF_chicken.seq	LFCDFGSHANRRIGVCTARDGAPCVGGGVVRSGESFQSSCHYQCTCLDGVGCVPLCSMDVRLSPDCHPFRVKLPGK	154
CTGF_human.seq	LFCHFGSHANRRIGVCTARDGAPCVGGGVVRSGESFQSSCHYQCTCLDGVGCVPLCSMDVRLSPDCHPFRVKLPGK	159
CTGF_chimpanzee.seq	LFCHFGSHANRRIGVCTARDGAPCVGGGVVRSGESFQSSCHYQCTCLDGVGCVPLCSMDVRLSPDCHPFRVKLPGK	159
CTGF_mouse.seq	LFCDFGSHANRRIGVCTARDGAPCVGGGVVRSGESFQSSCHYQCTCLDGVGCVPLCSMDVRLSPDCHPFRVKLPGK	158
CTGF_cattle.seq	LFCDFGSHANRRIGVCTARDGAPCVGGGVVRSGESFQSSCHYQCTCLDGVGCVPLCSMDVRLSPDCHPFRVKLPGK	159
CTGF_dog.seq	LFCDFGSHANRRIGVCTARDGAPCVGGGVVRSGESFQSSCHYQCTCLDGVGCVPLCSMDVRLSPDCHPFRVKLPGK	159
CTGF_pig.seq	LFCDFGSHANRRIGVCTARDGAPCVGGGVVRSGESFQSSCHYQCTCLDGVGCVPLCSMDVRLSPDCHPFRVKLPGK	159
Consensus	lfcdfgspanrrigvctardgapcvgggvvrsgesfqsschyqctcldgavgcvplcsmdvrlspdcppfrvklpgk	
CTGF_chicken.seq	CCEEWVCEDEPDTVVGPAALAYRLEDTGDPDTMFRANCIVOTTEWSAGSKTCGMGISTRVINDNAHCRLEQSRLCMV	234
CTGF_human.seq	CCEEWVCEDEPDTVVGPAALAYRLEDTGDPDTMFRANCIVOTTEWSAGSKTCGMGISTRVINDNAHCRLEQSRLCMV	239
CTGF_chimpanzee.seq	CCEEWVCEDEPDTVVGPAALAYRLEDTGDPDTMFRANCIVOTTEWSAGSKTCGMGISTRVINDNAHCRLEQSRLCMV	239
CTGF_mouse.seq	CCEEWVCEDEPDTVVGPAALAYRLEDTGDPDTMFRANCIVOTTEWSAGSKTCGMGISTRVINDNAHCRLEQSRLCMV	238
CTGF_cattle.seq	CCEEWVSRDEPDTVVGPAALAYRLEDTGDPDTMFRANCIVOTTEWSAGSKTCGMGISTRVINDNAHCRLEQSRLCMV	239
CTGF_dog.seq	CCEEWVCEDEPDTVVGPAALAYRLEDTGDPDTMFRANCIVOTTEWSAGSKTCGMGISTRVINDNAHCRLEQSRLCMV	239
CTGF_pig.seq	CCEEWVCEDEPDTVVGPAALAYRLEDTGDPDTMFRANCIVOTTEWSAGSKTCGMGISTRVINDNAHCRLEQSRLCMV	239
Consensus	cceewvcddepdtvvgpalaayrledtfgdpdtmfrancivqttewsagsktcgmgistrvndnafrclerkqsrilmv	
CTGF_chicken.seq	RPCEADLEENIKKGGKCIKTEKISKIKELSGCTSVKTYRAKFCGVCTDGRCCTPHRTITLPEVEFKCPDGEVMKKNMF	314
CTGF_human.seq	RPCEADLEENIKKGGKCIKTEKISKIKELSGCTSVKTYRAKFCGVCTDGRCCTPHRTITLPEVEFKCPDGEVMKKNMF	319
CTGF_chimpanzee.seq	RPCEADLEENIKKGGKCIKTEKISKIKELSGCTSVKTYRAKFCGVCTDGRCCTPHRTITLPEVEFKCPDGEVMKKNMF	319
CTGF_mouse.seq	RPCEADLEENIKKGGKCIKTEKISKIKELSGCTSVKTYRAKFCGVCTDGRCCTPHRTITLPEVEFKCPDGEVMKKNMF	318
CTGF_cattle.seq	RPCEADLEENIKKGGKCIKTEKISKIKELSGCTSVKTYRAKFCGVCTDGRCCTPHRTITLPEVEFKCPDGEVMKKNMF	319
CTGF_dog.seq	RPCEADLEENIKKGGKCIKTEKISKIKELSGCTSVKTYRAKFCGVCTDGRCCTPHRTITLPEVEFKCPDGEVMKKNMF	319
CTGF_pig.seq	RPCEADLEENIKKGGKCIKTEKISKIKELSGCTSVKTYRAKFCGVCTDGRCCTPHRTITLPEVEFKCPDGEVMKKNMF	319
Consensus	rpceadleenikkggkciatkiskikelsgctsvktyrakfcgvctdgrcctphrttlpvefkcpdgevmkknmf	
CTGF_chicken.seq	IKTCACHYNCFGNDIFESLYRMYGDM	343
CTGF_human.seq	IKTCACHYNCFGNDIFESLYRMYGDM	348
CTGF_chimpanzee.seq	IKTCACHYNCFGNDIFESLYRMYGDM	348
CTGF_mouse.seq	IKTCACHYNCFGNDIFESLYRMYGDM	347
CTGF_cattle.seq	IKTCACHYNCFGNDIFESLYRMYGDM	348
CTGF_dog.seq	IKTCACHYNCFGNDIFESLYRMYGDM	348
CTGF_pig.seq	IKTCACHYNCFGNDIFESLYRMYGDM	348
Consensus	iktachyncfgndifeslyrmygdm	

图2 不同物种间CTGF蛋白序列比对

Fig. 2 CTGF protein sequences among different species

3.1.2 CTGF介导细胞黏附和迁移

CTGF作为一种细胞黏性蛋白,介导细胞黏附并促进不同类型细胞迁移。通过骨肉瘤细胞试验发现,CTGF可通过 $\alpha_v\beta_3$ 整合素/FAK/PI3K/Akt/NF- κ B信号通路促进血管细胞黏附分子-1(Vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)产生,诱导骨肉瘤细胞迁移,可见CTGF有望成为改善患者预后临床靶点^[19]。Chen等研究发现,CTGF可通过 $\alpha_6\beta_1$ -HSPGs介导的细胞黏附信号通路促进人皮肤成纤维细胞黏附,主要包括 $\alpha_6\beta_1$ 复合蛋白形成、肌动蛋白细胞骨架重组、丝状体和片状体细胞形成,以及Ras相关C3肉毒素底物16(Recombinant Ac16, RAC16)和桩蛋白(Paxillin)等黏附蛋白激活^[20]。CTGF在促进细胞黏附过程也可能导致细胞迁移、增殖以及基因表达改变等其他细胞反应。

3.1.3 CTGF促进细胞增殖

CTGF对细胞增殖的影响具有细胞类型特异性,并在细胞增殖与分化过程中发挥重要作用。Li等通过体外培养小鼠脂肪干细胞(Adipose-derived stem cell, ASC)探究CTGF在体外促进ASC成腱分化潜力,发现CTGF以剂量依赖性方式促进ASC增殖,利用抑制剂SCH772984和PF573228阻断FAK和ERK1/2通路,减弱CTGF诱导的ASC肌腱分化和增殖^[21],表明CTGF可诱导脂肪源性基质细胞成腱分化和增殖。在骨骼组织修复或再生过程中,CTGF基因mRNA表达显著增加,且用CTGF重组蛋白处理成骨细胞或软骨细胞刺激细胞增殖分化^[22-23]。在动物肝纤维化过程中,CTGF可通过直接作用或与FN、TGF- β 等其他细胞因子相互作用两种途径,促进活化肝星状细胞增殖^[24]。在创面愈合试验中,Zhang等发现,阻断巨噬细胞中的CTGF可抑制成纤维细胞增殖和迁移,而添加CTGF重组蛋白可恢复成纤维细胞的增殖和迁移,表明巨噬细胞通过分泌CTGF促进创面愈合^[25]。

3.1.4 CTGF促进血管形成

细胞外基质是一种动态结构,决定血管功能和完整性,CCN蛋白家族Cyr61和CTGF定位于微血管细胞周围基质中并作用于微血管细胞周围基质,构成微血管的主要候选标志物和调节剂^[26]。因此,CTGF作为血管生成的调节因子,通过调节细胞外基质生成和降解动态平衡激活血管生成的级联反应^[27]。另外,研究发现,CTGF可通过PI3K、

AKT、ERK和NF- κ B/ELK1信号通路上调miR-210表达促进VEGF产生,进而促进内皮祖细胞管形成和迁移。敲除CTGF会降低VEGF表达并消除体外滑膜成纤维细胞(Osteoarthritis synovial fibroblasts, OASF)条件培养基介导的血管生成^[28]。

3.2 CTGF在病理方面的生物学功能

3.2.1 CTGF在组织纤维化疾病中的作用

CTGF是纤维化疾病重要介质,其在多种纤维化疾病发展过程中发挥关键作用。肾脏纤维化是慢性肾脏疾病共同病理特征^[29],肾脏中,CTGF在正常情况下低水平表达,而肾脏纤维化时其表达显著上调,此外,Toda等研究发现CTGF是TGF- β 促纤维化特性的下游介质^[12],且越来越多证据也表明CTGF在肾纤维化过程中扮演重要角色;特发性肺纤维化(Idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)是一种致命肺部疾病^[30]。邹梦林等研究发现,CTGFmRNA在IPF肺组织中纤维灶周边肺泡上皮细胞表达量高于肺泡上皮细胞中表达量,其过度表达与纤维化疾病的发生密切相关^[31]。

3.2.2 CTGF在肥胖及胰岛素抵抗中的作用

脂肪组织增加通常引起胰岛素抵抗,这是导致肥胖等相关代谢性疾病关键因素。Yoshino等探究人类脂肪组织中CTGF表达与脂肪组织纤维化、体脂肥胖及多器官胰岛素抵抗间关系,研究发现CTGF在前脂肪细胞中高表达,而在脂肪细胞中不表达,且脂肪组织中CTGF基因表达量与肥胖和胰岛素抵抗有关,其蛋白表达量增加与脂肪组织纤维化相关,另外,随体重进行性下降,脂肪组织中CTGF表达量也呈缓慢下降趋势^[32];脂肪组织中发现胰岛素样生长因子及其结合蛋白和结构相关蛋白,CTGF与IGFBP-3具有结构同源性和功能相似性,Baxter等研究发现IGFBP-3、CTGF和TGF- β 1可能部分抑制脂肪细胞分化,从而限制脂肪细胞在活体内分化过程^[33]。这类生长因子是否在胰岛素抵抗相对严重的受试者内脏脂肪中增加还有待进一步临床研究,但现有数据表明,TGF- β 1下游因子IGFBP-3和CTGF可为调节胰岛素敏感性提供更特异的脂肪组织靶点。

3.2.3 CTGF在癌症上的作用

虽然几十年来癌症研究取得巨大进展,但仍迫切需有效治疗策略。目前,越来越多证据表明,CTGF作为一种多功能信号调节剂,通过调节

细胞增殖、迁移、耐药性等促进癌症发生和转移。胰腺导管腺癌(Pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)是一种致死性极高的恶性肿瘤,间质纤维化是绝大多数实体肿瘤的病理特征之一,这一现象在胰腺癌中表现尤为显著。Shen等研究发现,CTGF加剧纤维化环境,促进癌症发生、发展,因此暗示CTGF可作为PDAC治疗新靶点;CTGF也是一种与肝纤维化相关的基质细胞蛋白,肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma, HCC)通常由肝纤维化发展而成^[34]。Makino等探究CTGF在HCC中作用,研究显示,与非肿瘤组织相比,人肝癌组织中CTGF过度表达,主要在肿瘤细胞中,且CTGF表达增高与HCC临床病理恶性程度有关^[35]。此外,将小鼠肝细胞特异性突变后,肝癌细胞中CTGF表达上调,再敲除这些小鼠肝细胞中CTGF基因发现肝癌细胞数量和大小均减少。由此可见,CTGF可作为癌症预后评估的临床标记物,是一个很有前途的癌症治疗靶点^[36]。

4 CTGF基因在家禽上的研究进展

CTGF是一种多功能生长因子,促进多种细胞生长和分化,在控制禽畜生长方面具有一定潜力。通过RNAi、基因组编辑等生物技术手段控制其在机体中表达,可改善家禽生长性状,在家禽遗传选育中具有潜在价值。Mukudai等研究表明,鸡CTGF在软骨、脑、肺、心脏中表达较强,在肝脏中表达较弱^[37]。

4.1 CTGF在鸡血管形成、心肺发育中的作用

CTGF最初是从培养人内皮细胞的培养基中分离出来的,是一种新型多肽生长因子^[38],在鸡血管、心肺发育过程中发挥关键作用^[39]。Shimo等通过鸡胚胎绒毛膜尿囊膜(CAM)测定试验,发现添加rCTGF的玻璃纤维膜片在5 d后出现新生血管,且rCTGF以剂量依赖方式促进血管生成^[38]。流体流动在血管发育中发挥重要作用,为探究机械敏感基因在鸡胚心脏开始跳动后的胚外血管中表达动态,Rajendran等利用鸡胚作为实验模型,捕捉血管内流体流动前和流动后不同条件下转录组动态,提取胚胎外区血管RNA并测序,结果显示常见的机械敏感基因包括CTGF基因显著上调^[40]。藏鸡对高海拔环境表现出特殊适应能力,Zhang等通过对高原鸡群和低地鸡群基因组进行重测序确定

高原鸡这种适应性遗传机制。RNA测序结果显示,在与血管和呼吸系统发育相关基因中富集多个差异表达基因,其中CTGF便是涉及心肺系统发育的重要候选基因之一^[41]。

4.2 CTGF在鸡胚成纤维细胞存活过程中的作用

CTGF重组蛋白在鸡胚成纤维细胞(Chicken embryonic fibroblast, CEF)中有非促有丝分裂的抗凋亡功能。Gygi等对鸡CTGF基因进行克隆和测序,结果显示CTGF基因mRNA表达量在无血清诱导CEF凋亡时下调,在细胞凋亡停止时,CTGF mRNA表达量瞬时上调,此结果表明CTGF可能以自分泌方式在CEF存活中发挥作用^[42]。研究者还发现CTGF在一定浓度下发挥活性,支持某些细胞有效存活却不刺激细胞生长。

4.3 CTGF在鸡软骨细胞分化中的作用

曾有研究表明,过表达CTGF的小鼠出现侏儒症且骨密度降低^[43],而缺失CTGF的小鼠由于软骨细胞增殖受损而表现出骨骼畸形^[44]。由此可见,CTGF在软骨细胞生长和分化过程中具有重要调控作用^[45-47]。

软骨内骨化过程中,软骨细胞首先增殖,变成成熟细胞,产生细胞外基质化合物,最终分化为肥大软骨细胞,在末期发生凋亡。在这个过程中软骨被骨头取代。Mukudai等利用鸡上胸骨软骨细胞和下胸骨软骨细胞作为研究对象探索CTGF在鸡软骨细胞分化过程中的作用,发现随软骨细胞分化,CTGF产生明显增加,并受到分化阶段依赖性调节,而CTGF mRNA表达不仅在转录水平上及转录后均受调控,Mukudai等研究发现核磷蛋白NPM(Nucleophosmin, NPM/B23)与CTGF mRNA之间存在相互作用,共同在转录后调控中发挥重要作用^[46]。

4.4 CTGF在鸡卵泡发育中的作用

CTGF是动物卵泡正常生长和黄体化所必需的调节因子。卵泡发育需ECM持续形成和降解,为卵母细胞正常生长与释放提供细胞间微环境。在哺乳动物卵巢中,CTGF基因mRNA主要表达于颗粒层,其表达量在细胞增殖和分化过程中不断发生变化^[48]。

家禽为卵泡发育的细胞机制研究提供一个独特模型,与哺乳动物不同的是,母鸡左侧卵巢中含有不同大小和发育阶段的卵泡,其排卵后卵泡

降解速度也非常快。Zhu 等检测 CTGF 在母鸡卵巢中表达和调控,发现在排卵前卵泡中,CTGF 表达量随卵泡发育显著增加,排卵时表达量达到峰值^[49]。此外,鸡卵巢排卵前后颗粒细胞中 CTGF 差异表达受 TGF β 1 和促性腺激素调控,且 TGF β 1 可挽救促性腺激素对排卵前颗粒细胞中 CTGF 表达抑制。

4.5 CTGF 在肉鸡产生白色条纹肉和木质性胸肌中的作用

过去几十年里,人们关注的肉鸡生长速度和产肉量选育效果显著,但肉鸡生理性不适症及相关疾病明显增加,其中包括白色条纹肉和木质性胸肌的产生,此缺陷是肌病综合征的表现,且与胸肉质量密切相关,影响肉质视觉效果、营养价值和加工产量。目前尚无影响肉鸡生长性能同时降低此缺陷发生率的解决方案。Praud 等通过多种生物学手段寻找与肉鸡产生此缺陷相关的生物标志物,研究发现,CTGF 基因与此缺陷严重程度存在正相关,可见 CTGF 在肉鸡产生白色条纹肉和木质性胸肌过程中起关键作用^[50]。

CTGF 基因在家禽中的研究不止于此,关于 CTGF 基因表达的分子调控机制仍有待研究。

5 讨论与展望

CTGF 在哺乳动物中的研究表明,其在前脂肪细胞中高表达,而在脂肪细胞中不表达,并且脂肪组织中 CTGF 基因表达量与肥胖有关^[32]。脂肪组织是机体重要的能量储存和内分泌器官,主要由脂肪细胞构成。脂肪细胞被认为是控制整个机体能量代谢稳态的基石^[51]。适量脂肪沉积是动物机体生理所必需的,但脂肪沉积过多会导致肥胖症、糖尿病、心血管疾病、肿瘤等相关疾病的发生^[52]。然而到目前为止,还未发现 CTGF 基因在鸡脂肪生成中的系统性研究报道;CTGF 还是软骨细胞、成骨细胞、血管内皮细胞等的多功能生长因子。Takigawa 等研究显示,在生理和病理条件下 CTGF 通过自身对成骨细胞的直接作用在骨骼生长和重塑中发挥着重要作用^[53];此外,CTGF 在心肌纤维化、高血压、血管生成等心血管疾病中发挥重要作用^[54];席云等研究发现,肾小球分泌较少的 CTGF,但机体出现纤维化时,其水平会显著升高,说明 CTGF 在肾功能上占据一定角色。

综上所述,CTGF 作为一种广泛存在于各组织器官,兼备细胞自分泌与外分泌传播途径的效应因子,在细胞外基质的形成、细胞黏附和迁移、细胞增殖、分化、纤维化、血管形成以及多种病理过程中均发挥关键作用,拥有广泛并重要的临床意义。鸡是生命科学研究中极有价值的模式动物。鸡 CTGF 基因与人、牛、鼠等 CTGF 基因均具有较高保守性,暗示其在功能上有一定的相似性。因此,深入挖掘该基因,开展相关分子遗传学研究,将有助于增进对鸡生长发育分子遗传机制的理解,提高种鸡养殖的经济效益,同时为人、鼠等生长发育的分子遗传机理的研究提供新的途径与思路。

[参 考 文 献]

- [1] Bradham D M, Igarashi A, Potter R L, et al. Connective tissue growth factor: a cysteine-rich mitogen secreted by human vascular endothelial cells is related to the SRC-induced immediate early gene product CEF-10[J]. J Cell Biol, 1991, 114(6): 1285-1294.
- [2] 汪沙,段华,黄俊花,等. 结缔组织生长因子与器官纤维化的研究进展[J]. 医学综述, 2020, 26(12): 2289-2294.
- [3] Moussad E E, Brigstock D R. Connective tissue growth factor: what's in a name?[J]. Mol Genet Metab, 2000, 71(1-2): 276-292.
- [4] Schmid M, Nanda I, Gattenbach M, et al. First report on chicken genes and chromosomes[J]. Cytogenet Cell Genet, 2000, 90(3-4): 169-218.
- [5] Dequéant M L, Pourquié O. Chicken genome: New tools and concepts[J]. Dev Dyn, 2005, 232(4): 883-886.
- [6] Li H, Deeb N, Zhou H, et al. Chicken quantitative trait loci for growth and body composition associated with transforming growth factor-beta genes[J]. Poult Sci, 2003, 82(3): 347-356.
- [7] Perbal B. CCN proteins: A centralized communication network[J]. J Cell Commun Signal, 2013, 7(3): 169-177.
- [8] Chen C C, Lau L F. Functions and mechanisms of action of CCN extracellular proteins[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2009, 41(4): 771-783.
- [9] Martinier C, Viegas-Pequignot E, Guenard I, et al. Physical mapping of human loci homologous to the chicken nov proto-oncogene[J]. Oncogene, 1992, 7(12): 2529-2534.
- [10] Grotendorst G R, Okochi H, Hayashi N. A novel transforming growth factor beta response element controls the expression of the

- connective tissue growth factor gene[J]. *Cell Growth Differ*, 1996, 7(4): 469–480.
- [11] Xin L W, Martinerie C, Zumkeller W, et al. Differential expression of novH and CTGF in human glioma cell lines[J]. *Clin Mol Pathol*, 1996, 49(2): M91–M97.
- [12] Toda N, Mukoyama M, Yanagita M, et al. CTGF in kidney fibrosis and glomerulonephritis[J]. *Inflamm Regen*, 2018, 38(1): 14.
- [13] Brigstock D R. The connective tissue growth factor/cysteine-rich 61/nephroblastoma overexpressed (CCN) family[J]. *Endocr Rev*, 1999, 20(2): 189–206.
- [14] Verrecchia F, Mauviel A. Transforming growth factor- β and fibrosis[J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13(22): 3056–3062.
- [15] 卢翠侠, 付杰, 李刚, 等. 结缔组织生长因子-整合素 $\alpha v \beta 5$ 受体信号途径在肺动脉平滑肌细胞外基质基因表达中的作用[J]. *中国小儿急救医学*, 2015, 22(3): 150–155.
- [16] Ling J, Tan K, Lu L, et al. lncRNA MIAT increases cell viability, migration, EMT and ECM production in age-related cataracts by regulating the miR-181a/CTGF/ERK signaling pathway[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(2): 1053–1063.
- [17] Li X, Pan J, Li H, et al. DsbA-L mediated renal tubulointerstitial fibrosis in UUO mice[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 4467.
- [18] Twigg S M, Joly A H, Chen M M, et al. Connective tissue growth factor/IGF-binding protein-related protein-2 is a mediator in the induction of fibronectin by advanced glycosylation end-products in human dermal fibroblasts[J]. *Endocrinology*, 2002, 143(4): 1260–1269.
- [19] Hou C H, Yang R S, Tsao Y T. Connective tissue growth factor stimulates osteosarcoma cell migration and induces osteosarcoma metastasis by upregulating VCAM-1 expression[J]. *Biochem Pharmacol*, 2018, 155: 71–81.
- [20] Chen Y, Abraham D J, Shi-Wen X, et al. CCN2 (connective tissue growth factor) promotes fibroblast adhesion to fibronectin[J]. *Mol Biol Cell*, 2004, 15(12): 5635–5646.
- [21] Li X, Pongkitwitoon S, Lu H, et al. CTGF induces tenogenic differentiation and proliferation of adipose-derived stromal cells[J]. *J Orthop Res*, 2019, 37(3): 574–582.
- [22] Xing X, Li Z, Yu Z, et al. Effects of connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) on condylar chondrocyte proliferation, migration, maturation, differentiation and signalling pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495(1): 1447–1453.
- [23] Li Z, Lu H, Li Z B. The PI3K/Akt signalling pathway may play an internal role related to abnormal condylar growth: a preliminary study[J]. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2014, 43(12): 1477–1483.
- [24] Kothapalli D, Grotendorst G R. CTGF modulates cell cycle progression in cAMP-arrested NRK fibroblasts[J]. *J Cell Physiol*, 2000, 182(1): 119–126.
- [25] Zhang S M, Wei C Y, Wang Q, et al. M2-polarized macrophages mediate wound healing by regulating connective tissue growth factor via AKT, ERK1/2, and STAT3 signaling pathways[J]. *Mol Biol Rep*, 2021, 48(9): 6443–6456.
- [26] Chaqour B. Caught between a "Rho" and a hard place: Are CCN1/CYR61 and CCN2/CTGF the arbiters of microvascular stiffness? [J]. *J Cell Commun Signal*, 2020, 14(1): 21–29.
- [27] Kondo S, Kubota S, Shimo T, et al. Connective tissue growth factor increased by hypoxia may initiate angiogenesis in collaboration with matrix metalloproteinases[J]. *Carcinogenesis*, 2002, 23(5): 769–776.
- [28] Liu S C, Chuang S M, Hsu C J, et al. CTGF increases vascular endothelial growth factor-dependent angiogenesis in human synovial fibroblasts by increasing miR-210 expression[J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5(10): e1485.
- [29] 黄飞, 魏文斌, 王小琴. 结缔组织生长因子与肾纤维化的研究进展[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2012, 13(8): 744–746.
- [30] 贺凤群, 秦光梅. 结缔组织生长因子在致肺纤维化过程作用机制的进展研究[J]. *重庆医学*, 2012, 41(20): 2092–2094.
- [31] 邹梦林, 胡星星, 张铭杨, 等. ERK1/2 信号通过钙蛋白酶调控结缔组织生长因子参与肺纤维化的形成[J]. *武汉大学学报: 医学版*, 2020, 41(5): 720–724.
- [32] Yoshino J, Patterson B W, Klein S. Adipose tissue CTGF expression is associated with adiposity and insulin resistance in humans[J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2019, 27(6): 957–962.
- [33] Baxter R C, Twigg S M. Actions of IGF binding proteins and related proteins in adipose tissue[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2009, 20(10): 499–505.
- [34] Shen Y W, Zhou Y D, Luan X, et al. Blocking CTGF-mediated tumor-stroma interplay in pancreatic cancer[J]. *Trends Mol Med*, 2020, 26(12): 1064–1067.
- [35] Makino Y, Hikita H, Kodama T, et al. CTGF mediates tumor-stroma interactions between hepatoma cells and hepatic stellate cells to accelerate HCC progression[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(17): 4902–4914.
- [36] 丁研, 吴德华, 刘莉, 等. 肝癌中结缔组织生长因子的研究进展[J]. *广东医学*, 2014, 35(8): 1265–1268.
- [37] Mukudai Y, Kubota S, Takigawa M. Conserved repressive regula-

- tion of connective tissue growth factor/hypertrophic chondrocyte-specific gene 24 (*ctgf/hcs24*) enabled by different elements and factors among vertebrate species[J]. *Biol Chem*, 2003, 384(1): 1-9.
- [38] Shimo T, Nakanishi T, Nishida T, et al. Connective tissue growth factor induces the proliferation, migration, and tube formation of vascular endothelial cells *in vitro*, and angiogenesis *in vivo*[J]. *J Biochem*, 1999, 126(1): 137-145.
- [39] Gomez A P, Moreno M J, Hernández A. Adventitial growth and lung connective tissue growth factor expression in pulmonary arteries due to hypobaric hypoxia in broilers[J]. *Poult Sci*, 2020, 99(4): 1832-1837.
- [40] Rajendran S, Sundaresan L, Rajendran K, et al. The expression dynamics of mechanosensitive genes in extra-embryonic vasculature after heart starts to beat in chick embryo[J]. *Biorheology*, 2016, 53(1): 33-47.
- [41] Zhang Q, Gou W, Wang X, et al. Genome resequencing identifies unique adaptations of tibetan chickens to hypoxia and high-dose ultraviolet radiation in high-altitude environments[J]. *Genome Biol Evol*, 2016, 8(3): 765-776.
- [42] Gygi D, Zumstein P, Grossenbacher D, et al. Human connective tissue growth factor expressed in *Escherichia coli* is a non-mitogenic inhibitor of apoptosis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 311(3): 685-690.
- [43] Nakanishi T, Yamaai T, Asano M, et al. Overexpression of connective tissue growth factor/hypertrophic chondrocyte-specific gene product 24 decreases bone density in adult mice and induces dwarfism[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 281(3): 678-681.
- [44] Ivkovic S, Yoon B S, Popoff S N, et al. Connective tissue growth factor coordinates chondrogenesis and angiogenesis during skeletal development[J]. *Development*, 2003, 130(12): 2779-2791.
- [45] Mukudai Y, Kubota S, Eguchi T, et al. Regulation of chicken *ccn2* gene by interaction between RNA cis-element and putative trans-factor during differentiation of chondrocytes[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(5): 3166-3177.
- [46] Mukudai Y, Kubota S, Kawaki H, et al. Posttranscriptional regulation of chicken *ccn2* gene expression by nucleophosmin/B23 during chondrocyte differentiation[J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(19): 6134-6147.
- [47] Ohgawara T, Kubota S, Kawaki H, et al. Regulation of chondrocytic phenotype by micro RNA 18a: involvement of *Ccn2/Ctgf* as a major target gene[J]. *FEBS Lett*, 2009, 583(6): 1006-1010.
- [48] Harlow C R, Hillier S G. Connective tissue growth factor in the ovarian paracrine system[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2002, 187(1-2): 23-27.
- [49] Zhu G, Kang L, Yang C, et al. Differential expression of CTGF in pre- and post-ovulatory granulosa cells in the hen ovary is regulated by TGF β 1 and gonadotrophins[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2012, 178(2): 314-322.
- [50] Praud C, Jimenez J, Pampouille E, et al. Molecular phenotyping of white striping and wooden breast myopathies in chicken[J]. *Front Physiol*, 2020, 11: 633.
- [51] Haylett W L, Ferris W F. Adipocyte-progenitor cell communication that influences adipogenesis[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(1): 115-128.
- [52] Wang Y, Zhao L, Gao L, et al. Health policy and public health implications of obesity in China[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2021, 9(7): 446-461.
- [53] Takigawa M, Nakanishi T, Kubota S, et al. Role of CTGF/HCS24/ecogenin in skeletal growth control[J]. *J Cell Physiol*, 2003, 194(3): 256-66.
- [54] 席云, 朱冬林, 董杰明, 等. 硝克柳胺对慢性肾功能不全大鼠血清 TGF- β 1、CTGF 表达及生存时间的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39(5): 1186-1188.