

文章编号 :1004-0374(2008)01-125-06

Pax 基因功能及其选择性剪接的研究进展

王 秀¹, 王 蔚^{1,2}, 王义权^{1*}

(1 厦门大学生命科学学院, 厦门 361005; 2 国家海洋局第三海洋研究所海洋生物遗传资源重点实验室, 厦门 361005)

摘 要: Pax 基因家族编码的蛋白是一组极为重要的转录调控因子, 在胚胎发育的器官形成中扮演重要角色, 其主要功能包括: 调控细胞增殖、促进细胞自我更新、诱导前体细胞定向转移以及改变特异细胞系的分化方向。目前已知, Pax 基因的非正常表达是多种先天性疾病的主要诱因。Pax 基因的选择性剪接体通常具有一定的空间特异性, 每种剪接体都有其主要作用的靶位和信号通路。文章简述了 Pax 基因的相关背景知识, 详细介绍 Pax1—Pax9 调控在胚胎组织发育中的各项功能, 并列出了现已确定的 Pax 基因在不同物种中的选择性剪接产物。

关键词: Pax 基因; 基因功能; 胚胎发育; 选择性剪接

中图分类号: Q51; Q753; Q132.3 **文献标识码:** A

Progress in the study of Pax gene family and its alternative splicing

WANG Xiu¹, WANG Wei^{1,2}, WANG Yi-quan^{1*}

(1 School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 2 Key Laboratory of Marine Biogenetic Resources, Third Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, Xiamen 361005, China)

Abstract: The Pax gene family encodes a group of transcription factors and plays an essential role in organogenesis during embryonic development through regulating cell proliferation and self-renewal, migration of embryonic precursor cells, and the coordination of specific differentiation programs. This is supported by the fact that expression of Pax is dysregulated in several congenital disease. Alternative transcripts of Pax genes are identified in various tissues with specific location, and each isoforms has their own major molecular targets and signaling pathways. In this review, we provide a general background of the Pax genes, highlight the role of Pax proteins playing within specific tissues in terms of embryological development, and give a brief introduction of alternatively spliced isoforms of Pax protein identified.

Key words: Pax gene; gene function; embryological development; alternative splicing

Pax (paired box) 因子是类非常保守的转录因子, 参与细胞内信号传导的高级调控, 在胚胎发育过程中对细胞分化、更新、凋亡等都起十分重要的调控作用。研究表明 Pax 因子的非正常表达会导致多种器官组织发育畸形, 某些癌症的发生也与其中的一些成员过量表达有关。

这类因子属于螺旋-转角-螺旋蛋白, 构成一个重要的蛋白家族, 广泛存在于动物体内, 在脊椎动物中共包含 9 个成员 (Pax1—Pax9), 通常包括配对域 (paired domain, PD)、八肽域 (octapeptide, OP) 和同源域 (homeodomain, HD) 三个保守结构域, 根

据结构域组成的差异将其分为四个亚家族^[1]: (1) Pax1 和 Pax9, 由 PD 和 OP 组成, 不含 HD; (2) Pax2、Pax5 和 Pax8, 由 PD、OP 以及不完整的 HD 构成; (3) Pax3 和 Pax7, 由 PD、OP 和 HD 组成; (4) Pax4 和 Pax6, 由 PD 和 HD 组成, 不含 OP (图 1)。

Pax 蛋白中的 PD 由 128 个氨基酸残基组成, 其编码序列十分保守, 是 Pax 蛋白与 DNA 结合的主要

收稿日期: 2007-08-10; 修回日期: 2007-09-18
基金项目: 国家自然科学基金 (30470938, 30570208)
*通讯作者: E-mail: wangyq@xmu.edu.cn

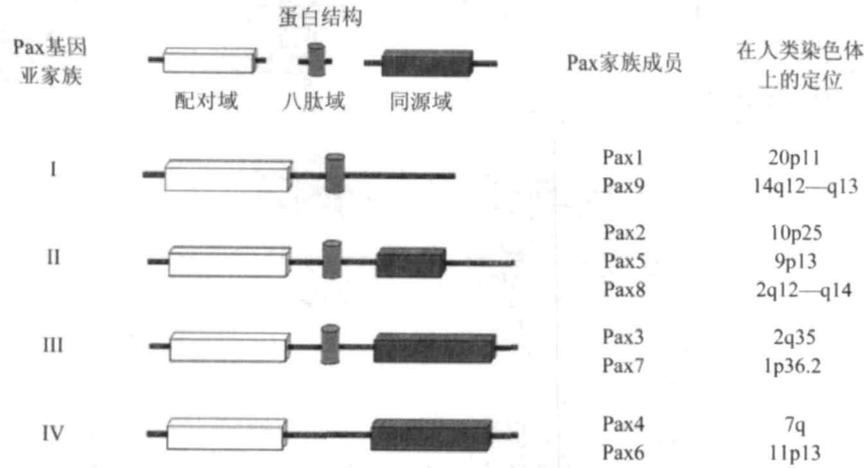


图1 Pax蛋白家族结构及其编码基因在人类染色体上的定位

功能域；PD 由氨基端 (PAI) 和羧基端 (RED) 两个亚结构域组成 (PAI + RED = PAIRED)，PAI 直接和 DNA 相作用，RED 则间接参与 DNA 的连接反应；PAI 在进化过程中保守性较高，种属差异远小于 RED 序列。OP 由 24 个氨基酸残基组成，多行使转录抑制调节作用，当 Pax5 的 OP 和 GRG4 或 LEF1 基因形成复合体后，可抑制细胞基因转录的进行^[2]。Pax3、4、6 和 7 的 HD 包含三个螺旋型同源结构，二级结构为螺旋-转角-螺旋 (helix-turn-helix, HTH) 的构象，也具有连接 DNA 的功能，Pax2、5 和 8 则相应只含有一个螺旋型结构。

1 Pax 基因在胚胎发育中的作用

Pax 基因的调节功能贯穿脊椎动物生长发育全过程，主要作用包括调控发育基因的转录、促进细胞增殖和自我更新、抑制细胞凋亡、引导细胞前体的定向迁移和分化等。同一器官或细胞系的正常生长发育，常受到 2—3 个亚家族成员的协同调控，各成员间相互交叉作用的同时又各有侧重点。

1.1 Pax1 和 Pax9 对骨骼系统发育的影响 Pax1 和 Pax9 同源性高达 98%，在脊椎、胸腺、甲状旁腺和第三、四咽囊及其衍生物和胚胎骨骼组织的生长发育中起重要调控作用。在小鼠中 Pax1 主要参与胸骨、肢芽、肩胛骨、胸骨带和盆骨带的发育生长调控；Pax9 的调控范围则包括头部、尾部、肢芽、食道、牙齿和咽喉^[3]。它们对骨骼发育的影响主要通过调节相关基因得以实现：在胚胎发育中，Bapx1 广泛表达于生肌骨节及脊椎发育的组织细胞中，Pax1 和 Pax9 是激活 Bapx1 转录起始的必需调控因子^[4]。Pax1 和 Pax9 基因敲除的小鼠胚胎发育过程中完全观察不到脊柱形成，单个基因缺失的实验

体表现为不同程度的脊柱畸形^[5,6]。

1.2 Pax1 和 Pax9 对胸腺和甲状旁腺的发育调控 在咽发育过程中，Pax9 在咽囊 I—IV 中均有表达而 Pax1 局限在前 3 个，胸腺、甲状旁腺由咽囊 III 发育形成。Pax1 在 T 细胞成熟期 (即胸腺发育晚期) 发挥调控作用，Pax9 出现在更早的时期^[7]。敲除小鼠的 Pax1 基因，其体内成熟的胸腺细胞数目急剧下降，胸腺分泌量也随之减少，说明 Pax1 具有促使胸腺细胞成熟的功能^[8]。Pax9 直接影响胸腺细胞的形成，作用时间在 Pax1 调控之前，影响也更为严重。Pax9 被敲除的小鼠，由于没有胸腺细胞前体形成，胚胎中第 III、IV 咽囊会完全消失，表象与 Pax1、Pax9 全部缺失的小鼠相似^[5]。

1.3 以 Pax2 为主、Pax8 为辅对泌尿生殖系统的影响 Pax2 基因与肾脏的发育密切相关，是在肾脏发育初期最早表达的基因之一，前期主要调节肾单位前体细胞增殖和中肾管形成。在输尿管芽诱导下，Pax2 在后肾间质中持续表达，活跃于围绕输尿管的后肾浓缩物 and 上皮衍生物中。Pax2 突变型小鼠最初也能够形成输尿管，但之后会被快速分解。Pax8 对肾脏发育也有一定调控作用，但其影响效果远不如 Pax2 明显^[9]。当 Pax2 和 Pax8 同时发生突变时，间质上皮转化停止，输尿管和中肾管的合成也中止，肾发育停滞^[10]。

Pax2 的过量表达会促使细胞增殖加速，从而导致肾组织癌变。在传统的肾细胞癌 (CRCC) 中，Pax2 表达水平与 Ki-67 增长指数相关，现在认为 Ki-67 高表达是肾癌高恶性度的一个重要指标，因此，Pax2 表达可作为这类肿瘤侵袭的一个标志^[11]。Wilms 瘤是一种胚胎肾肿瘤，是由于后肾间质分化

的缺乏, Pax2 突变体和 WT1 的协同作用是其发生的根本原因, 大多数 Wilms 瘤均可检测到 Pax2, 因此, Pax2 也是诊断 Wilms 瘤的分子标志物之一^[12]。

1.4 Pax8与甲状腺发育 Pax8多在胚胎发育10d后开始在甲状腺憩室中表达, 其影响贯穿于内胚层未分化细胞向成熟滤泡细胞(thyroid follicular cell, TFC)转化的整个过程。Pax8 对于甲状腺球蛋白基因(Tg)、甲状腺过氧化物酶基因(TPO)以及钠/碘同向转运体(NIS)(甲状腺激素合成所必需)均有调控作用^[13]。Pax8^{-/-}小鼠甲状腺发育不全, TFC 消失, 如果不提供其额外的甲状腺激素, 只能存活到断奶期, 说明 Pax8 是甲状腺合成必需的^[14]。人类临床实验表明, 单个碱基突变常导致 Pax8 识别特异 DNA 的能力丧失, 患者表现为甲状腺机能减退^[15]。一些突变体还能与过氧化体增殖物激活型受体 γ (PPAR γ) 结合, 形成致癌基因 PAX8-PPAR γ 1, 其融合蛋白在甲状腺良性和恶性肿瘤中均可测得^[16]。

1.5 Pax5与B-淋巴细胞的形成 Pax5蛋白, 也叫B细胞特异活化蛋白(B-cell-specific activator protein, BSAP), 是B细胞特有的转录因子。Pax5蛋白通过与B细胞发育相关基因结合, 影响B细胞的增殖、同型转换、免疫球蛋白基因转录及最终分化^[17]。Pax5和GRG4可连接形成转录抑制复合体, 活化了Pax5对某些基因的转录调控作用, 这是Pax5调控作用得以实现的机制之一^[2]。Pax5可激活B细胞连接蛋白(BLNK), 促使B细胞增殖^[18], 而对于非造血细胞分化因子具有抑制作用, 如Notch-1(T-细胞发育必需)和M-CSF(巨噬细胞形成相关)^[19], 即Pax5通过对多个基因的转录调节, 促使更多的造血干细胞发育分化为B细胞。当B细胞进入最终分化阶段时, Pax5的表达下调, 原因在于Pax5的持续表达会阻碍B细胞最终分化, 其作用机制是通过和增强子受体PU.1结合形成Pax5-PU.1-GRG4复合体, 隔断了PU.1与轻链Igk 3'端增强子的正常结合^[20]。

1.6 Pax3对神经嵴细胞和黑素细胞生长的影响 神经嵴细胞(neural crest cells, NCCs)位于外胚层神经管的背外侧, 是发育中具有多向分化潜能的干细胞, 根据其迁移分化方向不同, 大致可分为神经系统结构细胞和黑素形成细胞两类, Pax3在这两类细胞的发育过程中均扮演重要角色。Pax3作为转录调控因子直接调控黑素特异基因MITF的转录^[21], Pax3单个等位基因的突变形成Sp1otch(Sp)鼠, 其腹部由于黑素缺失而形成白色的斑点, 纯合突变型

的Sp鼠除黑色素严重不足外, 心脏、肌肉、神经管和肠神经中枢的发育均不正常^[22]。先天性遗传病Waardenburg综合征(WS)I、III型也是由Pax3基因突变引起的, 患者症状包括头发色泽浅、听力不佳和四肢肌肉萎缩。

1.7 Pax3和Pax7对骨骼肌的发育调控 骨骼和肌肉均由体节发育形成, Pax3和Pax7在体节发育早期普遍表达, 之后只出现在肌节的骨骼肌细胞中, 当肌细胞分化为肌浆蛋白时, Pax3和Pax7表达量下调; 稍晚时, Pax3在侧面体节中又强烈表达。MyoD和Myf5均属于肌源性分化因子(MDFs), 大多只在骨骼肌前体细胞中有活性, 运用RNAi方法降低小鼠胚胎中Pax3和Pax7的RNA含量, 发现Myf5和MyoD的活性均受到抑制, 导致肌肉发育畸形^[23]。以Sp鼠为对象的实验证明, Pax3突变直接影响四肢肌肉的形成, 上调Pax7的表达可在一定范围内弥补Pax3功能的缺失, 但不能起到替代作用。当Pax7被敲除时, 小鼠在胚胎发育和出生时都有正常的肌肉组织, 可见Pax7在肌肉形成中所起的作用不大^[22]。在骨骼肌卫星细胞中, Pax7通过抑制MyoD和肌浆蛋白基因的表达, 促使其停留在干细胞状态, 以便于在肌肉损伤等突发状况时再分化, Pax3则只起到辅助作用^[24]。由此推测, Pax3对于肌肉细胞的形成是必不可少的, 而Pax7则侧重于肌肉的自我修复和再生。

横纹肌肉瘤是一种多发生在人类幼儿群体中的恶性肿瘤, 腺泡型横纹肌肉瘤多由Pax3基因突变引起。Pax3 t(2; 13)(q35; q14)发生染色体易位, 形成Pax3-FKHR融合基因^[25], 其大量表达与c-met基因呈正相关性^[26]。c-Met是一种多功能的致癌基因, 过量表达可诱发实体瘤和血液恶性肿瘤的增殖与迁移, Pax3突变型通过对c-Met基因的活化使得肌肉细胞前体非正常迁移, 导致横纹肌肉瘤。

1.8 Pax4和Pax6对胰腺和肠胃道发育的影响 在胰腺中, 成簇的内分泌细胞定位于大量外分泌组织中, 并将自身分泌的激素(包括胰岛素、胰高血糖素等)排入血液中。对小鼠胚胎的研究表明, Pax4和Pax6从胰芽发育的初始阶段就开始表达, 直到胰腺分化成内、外分泌系统后, 表达仅限于胰岛细胞前体。胰岛由 α 、 β 、 γ 、 δ 四个亚单位组成, Pax6^{-/-}小鼠不能形成可产生胰高血糖素的 α 亚单位细胞, 导致胰岛和外分泌细胞混杂无序^[27]; Pax4^{-/-}小鼠不能形成 β 、 δ 亚单位, 丧失产生胰岛素和生

长激素抑制素的功能^[28]。当 Pax4 和 Pax6 同时缺失时, 胰腺中胰岛细胞的分化趋向紊乱, 甚至会转变为外分泌细胞。Pax4 和 Pax6 还参与内分泌细胞形成胃肠道表皮的发育过程, 降低 Pax6 的表达量会直接减少胃分泌激素、胃生长激素抑制素以及肠内胰高血糖素的合成^[29]。

1.9 Pax6 与动物眼的形成 在眼中, 视盘、视泡、视网膜、晶状体及角膜等组织的发育均受到 Pax6 基因表达的调控。Pax6 基因结合区的启动子对于晶状体特异基因的表达是必需的, 因此, Pax6 被认为是晶状体形成的主导基因。一些参与动物眼发育的保守基因(如 Eya1、Six3 和 Dach1 等)全都包含 Pax6 基因编码蛋白的结合位点^[30]。通过错义突变的实验证明, Pax6 配对域的氨基端和羧基端相应调控眼发育的前期(角膜形成)和后期(视网膜形成)。先天性 Pax6 突变患者症状包括失明、先天性无虹膜症、眼睛缺损或白内障^[31]。

2 Pax 基因的选择性剪接

选择性剪接是指选择性地对 Pre-mRNA 不同剪接位点的组合加工, 形成不同的成熟 mRNA, 进而产生结构和功能不同的蛋白, 它是真核生物控制基因表达的一种重要机制, 高效调节基因的定量表达以及蛋白功能的多样化, 对细胞分化、发育、生理功能和病理状态都有重要意义。对 Pax 基因的深入研究发现其 4 个亚家族中均存在选择性剪接, 这种选择性剪接有助于单个 Pax 基因行使多种功能。

现已发现 Pax 基因亚家族 (Pax1 和 Pax9) 的选择性剪接出现较少, 仅在少数物种中发现 Pax9 的剪接体。斑马鱼含有 2 种 Pax9 剪接体, 即 Pax9a 和 Pax9b^[32], 两者的氨基端的序列均含有 212 个氨基酸, 不同的是 Pax9b 缺失了羧基端的第 3 外显子, 两者在羧基端的氨基酸数目分别为 131 个和 58 个。虽然目前在小鼠的甲状腺癌细胞中没有发现 Pax9 选择性剪接体存在, 但在其全基因组中已经找到 C-端编码 58 个氨基酸的序列, 和斑马鱼的 Pax9b 具有较高的同源性(40% 一致, 59% 相近), 由此推测 Pax9 的选择性剪接可能普遍存在于脊椎动物各类群中。

亚家族 (Pax2、Pax5 和 Pax8) 的选择性剪接报道多集中在 Pax2 和 Pax8 上。目前已知在人类和小鼠体中存在 4 种 Pax2 的选择性剪接体: Pax2a、Pax2b、Pax2c、Pax2d^[33]。Pax2a、Pax2b 首先在小鼠中被发现, 后者比前者少了第 6 外显子(编码 23 个氨基酸)。随后在人和小鼠肾器官中发现的

Pax2c, 也不含有第 6 外显子, 同时增添了大小为 83 bp 第 10 外显子, 使得第 11 外显子读码框迁移, 转录提前终止。最后在人类肾脏 cDNA 文库中又发现 Pax2d, 其第 12 个外显子的前 19 bp 缺失, 也使得读码框迁移, 但这次终止密码子是被推后了 64 bp。这 4 种剪接体中以 Pax2b 在人和小鼠体内出现的频率最高。

Pax8 有 6 种选择性剪接形式^[34]: Pax8a 是涵盖 10 个完整外显子的标准形式; Pax8b 转录时跳过了第 8 外显子, 使得外显子 7 和 9 发生融合; Pax8c 缺失了外显子 7 和 8, 导致外显子 6、9 接合, 读码框改变, 在羧基端形成脯氨酸富集区(26%), 转录提前结束; Pax8d 虽只是缺失部分第 8 外显子, 但由于读码也发生改变, 使得转录结果和 Pax8c 十分相似; Pax8e 和 Pax8f 都缺失了部分配对域序列, 它们与 DNA 的接合位点也发生了改变。

关于第三亚家族 Pax3 和 Pax7 的选择性剪接研究多侧重在和横纹肌肉瘤发生相关的剪接形式上, Pax3 的剪接差别在于 5' 端配对域编码区中是否含有编码谷氨酰胺(Q+ 和 Q-) 的三肽; Pax7 的编码区中不仅包含了对谷氨酰胺的剪切, 还增添了对甘氨酸、亮氨酸(G, L) 的六肽结构的剪切, 通过排列组合共形成 4 种剪切体(Q+GL+, Q+GL-, Q-GL+, Q-GL-) ^[35]。除以上剪切形式外, 人体神经嵴肿瘤细胞内 Pax3 的选择性剪接有 7 种(a、b、c、d、e、g、h 型), 和其他基因家族成员具有许多共同点: 剪接也多发生在基因的羧基端, 剪切差异多控制在数百碱基对范围内, 且根据功能需要, 各剪接形式的表达位置和时序不同^[36]。

由于 Pax6 对无脊椎和脊椎动物眼部发育的重要调控作用, 第四亚家族的选择性剪接研究也都集中在眼部存在的 Pax6 剪接形式上。已知眼部器官中 Pax6 的选择性剪接有 2 种: 标准型 Pax6 和 Pax6(5a)。Pax6(5a) 在配对域的 N 端多插入了一个由 14 个氨基酸组成的外显子“5a”, Pax6 和 DNA 的结合位点也发生改变, 后移至配对域的 C 端^[37]。标准型 Pax6 和 Pax6(5a) 的表达分布不同, Pax6(5a) 集中出现在视网膜中未分化细胞密集的区域, 并诱导细胞继续增殖; Pax6 在晶状体和视网膜中的比例要远高于 Pax6(5a), 角膜中两者都保持低表达量^[38]。在较低等的海胆中没有发现类似剪接体存在, 暗示 Pax6 基因选择性剪接的出现可能和物种进化中基因功能的不断细化有关联。

3 Pax 基因家族中选择性剪接的生物学意义

Pax 基因家族在人中只有 9 个成员, 但这一基因家族成员与多种器官的发生、组织分化和多种细胞功能的正常活动有关, 作为高层调控因子(master regulator) 家族的每个成员都具有调节多个基因转录的功能, 选择性剪接使其有限的基因表达出多种蛋白质, 可参与多个信号传导通路的调控。通过对 Pax 基因剪接形式的研究与归纳, 可知剪接差异多表现为 3' 端序列的部分缺失, 且含有嘌呤(A 和 T) 比例较高的外显子被剪接的可能性较大。不同的剪接使翻译出的蛋白空间结构发生改变, 这种细微差异使得剪接体结合下游基因时有了选择性, 即剪接体之间存在功能上的分工协作。这一调控机制被科学家们普遍认可, 并有两类实验依据: 第一类是通过原位杂交实验证明, 单个基因不同剪接体的表达具有时间和空间上的特异性。研究表明, Pax3b 广泛表达于人体内的多数器官, Pax3a 则被局限在小脑、食道和骨骼肌中, 而 Pax3g 和 Pax3h 在非正常神经嵴肿瘤细胞中的含量明显高于正常细胞^[36]。第二类是通过基因敲除、RNA 干扰或诱导突变等实验, 使单个剪接体活性丧失, 观察样本发育过程中的变化并进行比较。Singh 等^[39] 研究发现: 含有标准型 Pax6 但缺失剪接体 Pax6(5a) 的小鼠表现出虹膜发育不全, 角膜、晶状体和视网膜也有少部分缺陷。这类小鼠的眼睛虽然具有正常的感光力, 但无法通过控制瞳孔的收缩限制进入眼睛的光强度, 可见 Pax6(5a) 的主要功能在于调控眼部虹膜的形成, 这也是不同剪接体协同作用影响器官发育的一个实例。

Pax 基因家族在动物胚胎发育以及个体成熟过程中起重要作用, 非正常剪接体往往会导致个体先天性畸形、遗传性疾病以及恶性肿瘤的发生。Pax 基因的选择性剪接并不仅仅是序列上的差别, 它的真正意义在于功能上的分流管理, 有助于 Pax 基因家族在多个器官和信号通路中更好地发挥调控作用, 其多种剪接体往往和不同疾病发生机制相关, 对于研究发育调控以及相关疾病的预防治疗具有重要意义。然而, 从进化角度考虑, 高等脊椎动物所包含的 9 个 Pax 成员均是由原始脊索动物的 4 个基因, 经基因加倍和功能分化而来, 在此过程中选择性剪接是怎样演变的, 这种演变对高等脊椎动物器官系统的复杂化有何种联系, 对这些问题人们所知甚少, 相信对这些问题的深入了解, 将有助于对

Pax 基因家族成员和多种多样的选择性剪接与功能间关系的认识。

[参 考 文 献]

- [1] Lang D, Powell SK, Plummer RS, et al. PAX genes: roles in development, pathophysiology, and cancer. *Biochem Pharmacol*, 2007, 73 (1): 1-14
- [2] Eberhard D, Jimenez G, Heavey B, et al. Transcriptional repression by Pax5 (BSAP) through interaction with corepressors of the Groucho family. *EMBO J*, 2000, 19 (10): 2292-303
- [3] Kist R, Grealley E, Peters H. Derivation of a mouse model for conditional inactivation of Pax9. *Genesis*, 2007, 45 (7): 460-4
- [4] Rodrigo I, Hill RE, Balling R, et al. Pax1 and Pax9 activate Bapx1 to induce chondrogenic differentiation in the sclerotome. *Development*, 2003, 130 (3): 473-82
- [5] Peters H, WiIm B, Sakai N, et al. Pax1 and Pax9 synergistically regulate vertebral column development. *Development*, 1999, 126 (23): 5399-408
- [6] WiIm B, Dahl E, Peters H, et al. Targeted disruption of Pax1 defines its null phenotype and proves haploinsufficiency. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95 (15): 8692-7
- [7] Suzuki M, Katagiri N, Ueda M, et al. Functional analysis of Nkx2.1 and Pax9 for calcitonin gene transcription. *Gen Comp Endocrinol*, 2007, 152 (2-3): 259-66
- [8] Adham IM, Gille M, Gamel AJ, et al. The scoliosis (sco) mouse: a new allele of Pax1. *Cytogenet Genome Res*, 2005, 111(1): 16-26
- [9] Narl is M, Grote D, Gaitan Y, et al. Pax2 and pax8 regulate branching morphogenesis and nephron differentiation in the developing kidney. *J Am Soc Nephrol*, 2007, 18 (4): 1121-9
- [10] Bouchard M, Souabni A, Mandler M, et al. Nephric lineage specification by Pax2 and Pax8. *Genes Dev*, 2002, 16 (22): 2958-70
- [11] Daniel L, Lechevallier E, Giorgi R, et al. Pax-2 expression in adult renal tumors. *Hum Pathol*, 2001, 32 (3): 282-7
- [12] Discenza MT, He S, Lee TH, et al. WT1 is a modifier of the Pax2 mutant phenotype: cooperation and interaction between WT1 and Pax2. *Oncogene*, 2003, 22 (50): 8145-55
- [13] Sant isteban P, Bernal J. Thyroid development and effect on the nervous system. *Rev Endocr Metab Disord*, 2005, 6 (3): 217-28
- [14] De Felice M, Di Lauro R. Thyroid development and its disorders: genetics and molecular mechanisms. *Endocr Rev*, 2004, 25 (5): 722-46
- [15] Meeus L, Gilbert B, Rydlewski C, et al. Characterization of a novel loss of function mutation of PAX8 in a familial case of congenital hypothyroidism with in-place, normal-sized thyroid. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89 (9): 4285-91
- [16] Kroll TG, Sarraf P, Pecciarini L, et al. PAX8-PPARG1 fusion oncogene in human thyroid carcinoma. *Science*, 2000, 289 (5483): 1357-60
- [17] Nutt SL, Eberhard D, Horcher M, et al. Pax5 determines the identity of B cells from the beginning to the end of B-

- lymphopoiesis. *Int Rev Immunol*, 2001, 20 (1): 65-82
- [18] Horcher M, Souabni A, Busslinger M. Pax5/BSAP maintains the identity of B cells in late B lymphopoiesis. *Immunity*, 2001, 14 (6): 779-90
- [19] Souabni A, Cobaleda C, Schebesta M, et al. Pax5 promotes B lymphopoiesis and blocks T cell development by repressing Notch1. *Immunity*, 2002, 17 (6): 781-93
- [20] Bai Y, Srinivasan L, Perkins L, et al. Protein acetylation regulates both PU.1 transactivation and Igkappa3' enhancer activity. *J Immunol*, 2005, 175 (8): 5160-9
- [21] Widlund HR, Fisher DE. Microphthalmia-associated transcription factor: a critical regulator of pigment cell development and survival. *Oncogene*, 2003, 22 (20): 3035-41
- [22] Hornyak TJ, Hayes DJ, Chiu LY, et al. Transcription factors in melanocyte development: distinct roles for Pax-3 and Mitf. *Mech Dev*, 2001, 101 (1-2): 47-59
- [23] Bhagavati S, Song X, Siddiqui MA. RNAi inhibition of Pax3/7 expression leads to markedly decreased expression of muscle determination genes. *Mol Cell Biochem*, 2007, 302 (1-2): 257-62
- [24] Relaix F, Montarras D, Zaffran S, et al. Pax3 and Pax7 have distinct and overlapping functions in adult muscle progenitor cells. *J Cell Biol*, 2006, 172 (1): 91-102
- [25] Mercado GE, Barr FG. Fusions involving PAX and FOX genes in the molecular pathogenesis of alveolar rhabdomyosarcoma: recent advances. *Curr Mol Med*, 2007, 7 (1): 47-61
- [26] Relaix F, Polimeni M, Rocancourt D, et al. The transcriptional activator PAX3-FKHR rescues the defects of Pax3 mutant mice but induces a myogenic gain-of-function phenotype with ligand-independent activation of Met signaling in vivo. *Genes Dev*, 2003, 17 (23): 2950-65
- [27] Dohrmann C, Gruss P, Lemaire L. Pax genes and the differentiation of hormone-producing endocrine cells in the pancreas. *Mech Dev*, 2000, 92 (1): 47-54
- [28] Sosa-Pineda B. The gene Pax4 is an essential regulator of pancreatic β -cell development. *Mol Cells*, 2004, 18 (3): 289-94
- [29] Trinh DK, Zhang K, Hossain M, et al. Pax-6 activates endogenous proglucagon gene expression in the rodent gastrointestinal epithelium. *Diabetes*, 2003, 52 (2): 425-33
- [30] Purcell P, Oliver G, Mardon G, et al. Pax6-dependence of Six3, Eya1 and Dach1 expression during lens and nasal placode induction. *Gene Expr Patterns*, 2005, 6 (1): 110-8
- [31] Dansault A, David G, Schwartz C, et al. Three new PAX6 mutations including one causing an unusual ophthalmic phenotype associated with neurodevelopmental abnormalities. *Mol Vis*, 2007, 13: 511-23
- [32] Nornes S, Mikkola I, Krauss S, et al. Zebrafish Pax9 encodes two proteins with distinct C-terminal transactivating domains of different potency negatively regulated by adjacent N-terminal sequences. *J Biol Chem*, 1996, 271 (43): 26914-23
- [33] Ritz-Laser B, Estreicher A, Gauthier B, et al. The paired homeodomain transcription factor Pax-2 is expressed in the endocrine pancreas and transactivates the glucagon gene promoter. *J Biol Chem*, 2000, 275 (42): 32708-15
- [34] Kozmik Z, Kurzbauer R, Dörfler P, et al. Alternative splicing of Pax-8 gene transcripts is developmentally regulated and generates isoforms with different transactivation properties. *Mol Cell Biol*, 1993, 13 (10): 6024-35
- [35] Du SY, Lawrence EJ, Strzelecki D, et al. Co-expression of alternatively spliced forms of PAX3, PAX7, PAX3-FKHR and PAX7-FKHR with distinct DNA binding and transactivation properties in rhabdomyosarcoma. *Int J Cancer*, 2005, 115 (1): 85-92
- [36] Parker CJ, Shawcross SG, Li H, et al. Expression of PAX3 alternatively spliced transcripts and identification of two new isoforms in human tumors of neural crest origin. *Int J Cancer*, 2004, 108 (2): 314-20
- [37] Chauhan BK, Yang Y, Cveklova K, et al. Functional interactions between alternatively spliced forms of Pax6 in crystallin gene regulation and in haploinsufficiency. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32 (5): 1696-709
- [38] Azuma N, Tadokoro K, Asaka A, et al. The Pax6 isoform bearing an alternative spliced exon promotes the development of the neural retinal structure. *Hum Mol Genet*, 2005, 14 (6): 735-45
- [39] Singh S, Mishra R, Arango NA, et al. Iris hypoplasia in mice that lack the alternatively spliced Pax6 (5a) isoform. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99 (10): 6812-5