



· 综述 ·

## TGF- $\beta$ 信号通路在鱼类性别决定与分化中的作用

龙娟, 郑树清, 王晓双, 张帅, 王德寿\*

(西南大学生命科学学院, 淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室, 重庆北碚 400715)

**摘要:** 脊椎动物性别分化和性腺发育的分子机制保守, 但不同类群的最上游的性别决定基因却大不相同, 尤其是鱼类, 其性别决定基因表现出明显的多样性。性别决定包括环境性别决定和遗传性别决定, 环境性别决定主要受温度、光照、激素和pH等的影响, 而遗传性别决定一般由位于性染色体上的性别决定基因决定。转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ )信号通路参与介导了多种生物学过程, 近年来很多研究表明, 鱼类有多个性别决定基因都是TGF- $\beta$ 信号通路的成员, 且该信号通路对于鱼类的性别分化也有重要的作用。本文总结了鱼类已报道的性别决定基因或候选基因, 详细综述了TGF- $\beta$ 信号通路在鱼类性别决定与分化中的各种功能, 并探讨了该信号通路参与鱼类性别决定的可能机制, 这对认识TGF- $\beta$ 信号通路在鱼类性别决定、分化中的作用和性控育种有重要意义。

**关键词:** 鱼类; TGF- $\beta$ 信号通路; 性别决定基因; 性控育种

**中图分类号:** S 917.4

**文献标志码:** A

生殖是自然界中普遍存在的现象, 是生物繁衍后代的基本手段。动物的生殖方式有两种, 即无性生殖和有性生殖。虽然有性生殖的代价比无性生殖大很多<sup>[1]</sup>, 但脊椎动物普遍采用有性生殖<sup>[2]</sup>, 这正是自然选择的结果, 因为通过有性生殖可以产生对环境更为适应的个体<sup>[3]</sup>。对于有性生殖的生物而言, 两性发育都涉及到性别决定与分化等过程。而性别被称为“进化生物学中问题的皇后”, 脊椎动物如何决定性别一直是一个争论的话题<sup>[4]</sup>。

脊椎动物的性别由遗传因素、环境因素或者二者一起共同决定。遗传性别决定(genetic sex determination, GSD)一般由位于性染色体上的性别决定基因启动一系列性别相关基因参与级联信号通路, 诱导具双向分化潜能的性腺向精巢或卵巢方向发育<sup>[5]</sup>。位于最上游的性别决定基因在

各物种中不尽相同, 而性别决定通路中游或者下游与性别分化和性腺发育相关的基因却具有保守性, 生物学家将这一现象称为“换主不换仆”(masters change, slaves remain)<sup>[6]</sup>。遗传性别决定包含了由单个主效性别决定基因组成的单因素系统<sup>[7-8]</sup>, 以及多个基因在不同的染色体上构成的多因素系统<sup>[9-11]</sup>。尽管最近几十年来科学家们在寻找性别决定基因方面做出了很大的努力, 但也只找到了少数物种的性别决定基因, 因此我们对于主效基因控制遗传性别的了解仍然很有限<sup>[12]</sup>。环境性别决定(environmental sex determination, ESD)主要由环境因素决定性别, 环境性别决定的物种其性别决定发生在性腺分化的关键期, 此时个体对环境较为敏感<sup>[13]</sup>。环境因素主要包括温度、pH、激素、氧气的浓度、种群密度和视觉效果等<sup>[14-15]</sup>。在众多环境因素中, 温

收稿日期: 2019-07-18 修回日期: 2019-12-17

资助项目: 国家自然科学基金重点项目(31630082); 国家重点研发计划(2018YFD0900202)

通信作者: 王德寿, E-mail: wdeshou@swu.edu.cn

度影响性别最为常见。一些爬行动物在胚胎发育的特定一段时期温度对性别有决定作用<sup>[16]</sup>, 比如在胚胎发育的特定时期, 红耳滑龟(*Trachemys scripta*)在较高温度会产生雌性, 美洲鳄(*Alligator mississippiensis*)在较低温度时会产生雌性<sup>[17]</sup>。值得强调的是, 在一些物种中, 遗传因素会和环境因素主要是温度一起发挥作用产生复杂的性别决定机制, 比如, 基因型和环境性别决定因素可以在具有显著温度性别决定的博纳里牙汉鱼(*Odontesthes bonariensis*)中共存<sup>[18]</sup>。

转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ )信号通路是一个包含众多成员的大家族, 主要由膜外的配体、膜上的受体以及胞内的SMADs蛋白组成。该信号通路主要通过调节细胞的生长、增殖、分化等过程, 参与介导组织和器官的形成以及生殖发育等<sup>[19-22]</sup>。TGF- $\beta$ 超家族成员在动物间是高度保守的。该家族成员至少有30种相关的配体<sup>[23]</sup>, 包括转化生长因子的各种亚型(TGF- $\beta$ s)、骨形成蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)、生长和分化因子(growth and differentiation factors, GDFs)、活化素(activins)、抑制素(inhibins)、Nodal和抗缪勒氏管激素(anti-Müllerian hormone, AMH)等<sup>[19]</sup>。根据分子之间的相似性和它们激活的下游特异性信号, TGF- $\beta$ 超家族可以分为TGF- $\beta$ /Activin/Nodal(简称TGF- $\beta$ s)和BMP/GDF/AMH(简称BMPs)两个亚家族<sup>[19, 21]</sup>。这两个亚家族成员都会通过跨膜的I型(包括ALK1-7)和II型(包括ACVR2A, ACVR2B, TGFBR2, BMPR2和AMHR2)丝氨酸/苏氨酸激酶受体<sup>[24]</sup>, 激活下游两类不同的SMADs(SMAD1/5/8和SMAD2/3)通路<sup>[19, 25]</sup>, 从而调节靶基因的转录。

近年来有相当多的研究表明, TGF- $\beta$ 信号通路与鱼类的性别决定和分化有千丝万缕的关系, 因此, 本综述全面总结了该信号通路在这些过程中所扮演的各种角色, 并探讨了它们参与鱼类性别决定与分化的可能机制, 以期对性控育种奠定基础。

## 1 已分离的鱼类性别决定基因或候选基因

鱼类因其特殊的进化地位和多样性已成为研究性别决定和分化的一类极具吸引力的动物类群, 它囊括了从雌雄同体到雌雄异体、从环境性别决定到遗传性别决定等各种性别表现形式, 从而为研究性别决定基因以及这些基因在

性别级联调控通路中的功能提供了各种可能<sup>[26-27]</sup>。继1990年人(*Homo sapiens*)和1991年小鼠(*Mus musculus*)的性别决定基因*SRY/Sry*(sex region on the Y chromosom)被报道后, 更多研究表明该基因也是大多数哺乳动物的性别决定基因<sup>[7, 28-30]</sup>, 因此人们认为其他动物的性别决定基因也是*Sry*及其同源基因。10多年后, 2002年在日本青鳉(*Oryzias latipes*)中发现的脊椎动物的第二个性别决定基因打破了这种观点, 它是由常染色体的*Dmrt1a*基因经过基因复制转座到Y染色体形成的, 被命名为*Dmy/Dmrt1by*<sup>[31-32]</sup>。该基因也成为首个在鱼类中发现并确认的雄性性别决定基因, 但很快证实该基因并不是鱼类中普遍存在的主要性别决定基因<sup>[33]</sup>。尽管近年来, 也相继在两栖动物非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)中发现了雌性性别决定基因*DMW*(它也被证明是*Dmrt1*的复制基因)<sup>[34]</sup>和鸟类中发现了雄性性别决定基因*Dmrt1*<sup>[8]</sup>, 但是在脊椎动物中发现并报道的性别决定基因更多的还是聚焦在鱼类, 包括哈奇奇牙汉鱼(*Odontesthes hatcheri*)的性别决定基因*Amhy*<sup>[35]</sup>、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)的*SdY*<sup>[36]</sup>、吕宋青鳉(*Oryzias luzonensis*)的*Gsdly*<sup>[37]</sup>、红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)的*Amhr2*<sup>[38]</sup>、恒河青鳉(*Oryzias dancena*)的*Sox3y*<sup>[39]</sup>、半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)Z染色体连锁的*Dmrt1*<sup>[40]</sup>、鳉(*Nothobranchius furzeri*)的*Gdf6y*<sup>[41]</sup>、我们实验室发现的尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)的*Amhy*<sup>[42]</sup>、斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)的*BCAR1*<sup>[43]</sup>、白斑狗鱼(*Esox lucius*)的*Amhy*(也叫*Amhby*)<sup>[44]</sup>和大西洋鳕鱼(*Gadus morhua*)的*Zky*<sup>[45]</sup>(图1)。鱼类因其种类多样, 其性别决定基因也表现出多样性<sup>[46]</sup>。即便是在相同属中鱼类的性别决定基因也不尽相同, 比如在青鳉属中, 日本青鳉、吕宋青鳉和恒河青鳉的性别决定基因也不同<sup>[31, 37, 39]</sup>。罗非鱼具有复杂的性别决定系统, 甚至不同种之间的性别决定系统也不同。如尼罗罗非鱼和莫桑比克罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*)为XX/XY系统, 而奥利亚罗非鱼(*Oreochromis aureus*)为ZZ/ZW系统<sup>[47-48]</sup>。尼罗罗非鱼的性染色体为LG1和LG23(第22号染色体)<sup>[47]</sup>, 莫桑比克罗非鱼的为LG1、LG3、LG14和LG23<sup>[49]</sup>, 奥利亚罗非鱼的为LG1和LG3<sup>[50]</sup>, 尼罗罗非鱼的性别决定基因*Amhy*在这两种鱼中都不适用<sup>[47]</sup>, 这也更加反映出鱼类性别决定基因的多元性。随着各种测序技术的不断进步, 我们能够更加快速而准确地定位性别决定区间, 相信在不远的将来会有更多物种的性别决定基因被解析出来。

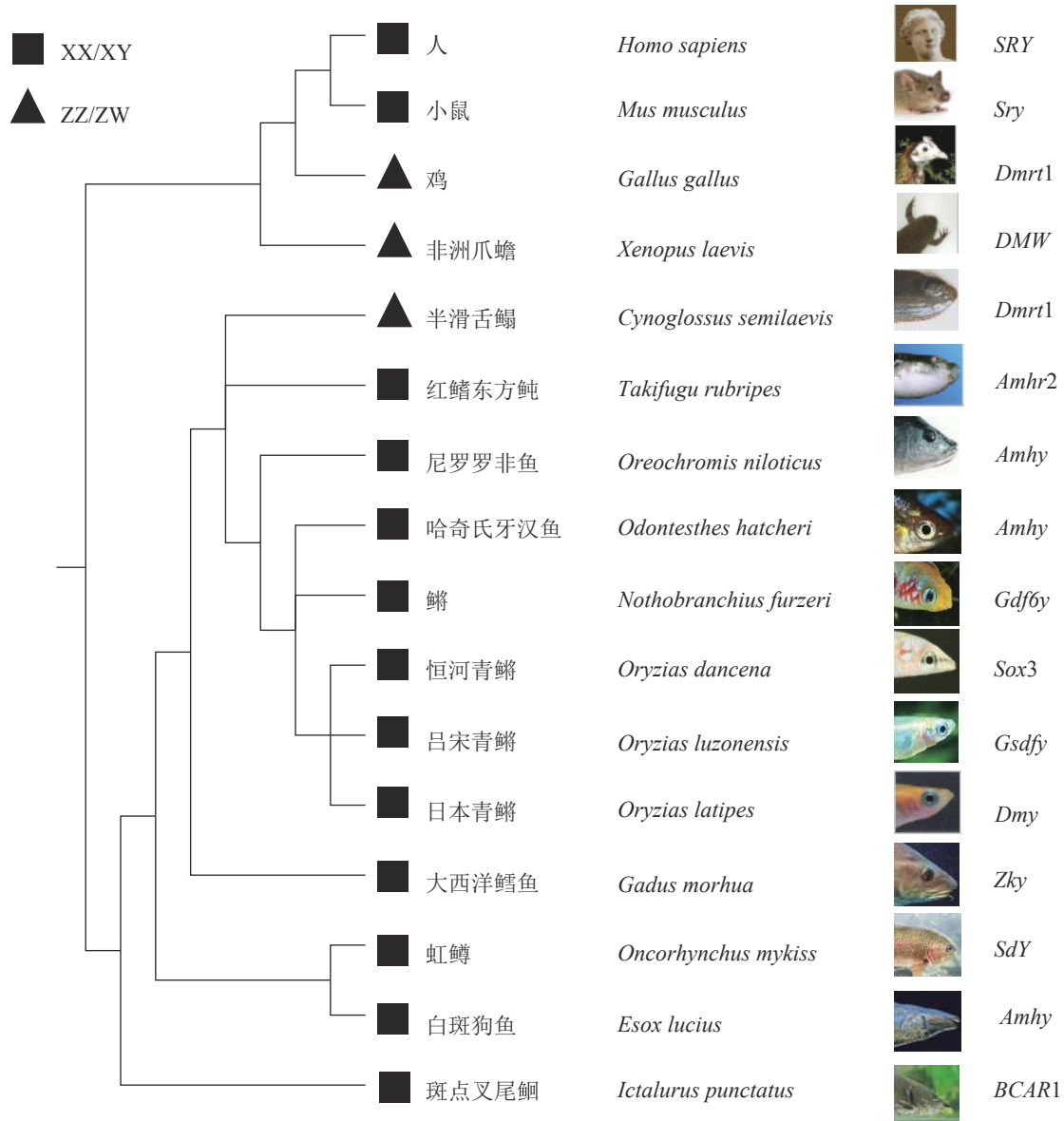


图 1 脊椎动物的性别决定系统和已分离的性别决定基因(候选基因)

图中符号表示各个物种的性别决定系统，最右一列为该物种的性别决定基因或候选基因

Fig. 1 Sex determination system and the isolated sex-determining gene (candidate gene) in vertebrates

The symbol in the figure indicates different sex determination system of each species, and the rightmost column is the sex-determining gene of the species

研究表明，除多数哺乳动物和鸟类各自共享相同的性别决定基因外，其他脊椎动物尤其是鱼类的性别决定基因存在很大差异。我们猜测：这可能是由于高等动物特别是鸟类和哺乳动物的胚胎和性腺都是在比较稳定的环境中发育，性别决定机制比较单一；而鱼类的胚胎发育环境与哺乳动物和鸟类完全不同，它们大部分都是体外受精，受精卵发育的环境多样且不稳定，因此性腺的发育也是处于一种比较多变的环境，因此，鱼类通过进化出多样的性别决定机制以更好地应对多变的环境。且鱼类的生

殖策略多属于r-选择，一般怀卵量大，子代遗传变异丰富<sup>[51]</sup>，这也为鱼类多种性别决定基因的产生提供了遗传基础。简而言之，环境因素在低等脊椎动物性别决定和分化过程中起着重要作用，它促使了性别决定基因的独立进化，从而导致了性别决定基因的多样性。

## 2 TGF-β信号通路在鱼类性别决定与分化中扮演重要角色

近年来发现的脊椎动物性别决定基因中，鱼类是最多的，且这些性别决定基因大部分都



是TGF- $\beta$ 信号通路成员,比如*Amhy*、*Amhr2*、*Gsdfy*和*Gdf6y*。研究表明该信号通路除了参与鱼类的性别决定外,也参与了鱼类的性别分化等过程。

## 2.1 *Amhy*

*Amh*主要在支持细胞中表达,它的主要功能是在哺乳动物雄性中诱导缪勒氏管(Müllerian ducts)的退化<sup>[52-53]</sup>。我们前期的研究发现,*Amh*是第二轮全基因组复制的产物,普遍存在于脊椎动物中<sup>[54]</sup>。硬骨鱼虽然没有缪勒氏管,但依然保留有*Amh*,是近期性分化研究的热点。青鳞的*Amh*信号能作用于精巢的支持细胞从而促进具有有丝分裂活性的精原细胞的增殖,但并不会促进本身静息的生殖细胞的增殖,阻断*Amh*信号能导致XY生殖细胞部分进入减数分裂,进而导致XY个体向雌性方向转变<sup>[55]</sup>。在成熟斑马鱼(*Danio rerio*)的组织培养中,*Amh*会抑制FSH刺激的雄激素的产生,同时抑制雄激素刺激的精原细胞的增生<sup>[56]</sup>。在斑马鱼中敲除*Amh*,会表现出偏向于雌性的性比,且由于生殖细胞不受控制的增殖而导致性腺肥大<sup>[57]</sup>。在日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)中,*Amh*主要在未成熟的精巢支持细胞中表达,*Amh*的持续表达会抑制精子发生<sup>[58]</sup>。在日本比目鱼(*Paralichthys olivaceus*)中,从性别分化到成熟期*Amh*的mRNA只在雄性的精巢中表达,在卵巢中没有表达<sup>[59]</sup>。同样的,*Amh*在日本青鳉<sup>[60]</sup>、欧洲鲈(*Dicentrarchus labrax*)<sup>[61]</sup>、黑鲷(*Acanthopagrus schlegelii*)<sup>[62]</sup>和彭泽鲫(*Carassius auratus var. pengze*)<sup>[63]</sup>都参与了精巢的分化过程。尽管*Amh*在鱼类中经常作为雄性特异性标记,但它在雌性性腺中也有较低的表达,表明该基因在卵巢中也有作用。在黄鳝自然性逆转过程的卵巢中,*Amh*在间性卵精巢中持续高表达,表明该基因的上调同黄鳝雄性支持细胞的分化密切相关,并且对黄鳝雄性的发育和精巢的维持具有一定的作用<sup>[64]</sup>。

有趣的是,*Amh*复制后经突变新功能化后,成为了一些鱼类的雄性性别决定基因。如前所述,Hattori等<sup>[35]</sup>在哈奇氏牙汉鱼Y染色体上发现了一个*Amh*的复制基因,命名为*Amhy*,该基因是银汉鱼的性别决定基因。*Amhy*在哈奇氏牙汉鱼胚胎受精后6 d就开始表达于精巢的支持细胞中,而常染色体上的*Amh*是在受精后12 d才开始表达,通过Morpholino在哈奇氏牙汉鱼XY个体敲

除*Amhy*后,激活了雌性通路相关基因*Foxl2*和*Cyp19a1a*的表达,导致其性腺向卵巢方向发育。我们实验室前期的研究表明,*Amhy*也是尼罗罗非鱼的性别决定基因,它是由于*Amh*在Y染色体上串接复制而来,该基因与X染色体上的*Amh*相比编码区有一个碱基的不同(393C/T),导致编码的氨基酸由丝氨酸变成亮氨酸,且启动子区域有大片段的删除和插入,正是这些改变使其成为尼罗罗非鱼的雄性性别决定基因。通过CRISPR/Cas9在尼罗罗非鱼XY个体敲除*Amhy*后,导致XY性逆转,发育为卵巢,同时检测到了芳香化酶*Cyp19a1a*的表达和血清雌激素(E2)的上调<sup>[42]</sup>。最近在白斑狗鱼Y染色体上也发现了一个*Amh*的复制基因,命名为*Amhy*,该基因在精巢特异表达,是白斑狗鱼的性别决定基因。该基因与X染色体上的*Amh*相比,有部分雄性特有片段的插入,且该区域重组率减少。白斑狗鱼的*Amhy*与*Amh*外显子序列平均相似性只有79.6%,从而导致这两个基因所编码的蛋白在功能上发生了分歧,所激活的下游信号通路也会有所不同<sup>[44]</sup>。尼罗罗非鱼属于鲈形目,而银汉鱼属于银汉鱼目,白斑狗鱼属于鲑形目,虽然这3个物种亲缘关系很远,但*Amhy*却成为了它们的性别决定基因,通过系统进化分析表明这种事件是独立起源且谱系特有的<sup>[44]</sup>,因为它们祖先物种并没有*Amhy*,*Amhy*在不同物种中决定性别可能是趋同进化的结果。

## 2.2 *Amhr2*

哺乳动物雄性中由*Amh*诱导的缪勒氏管的退化是由其II型受体*Amhr2*介导的,且很多物种都发现了这两个基因的同源基因<sup>[62,65]</sup>。有趣的是,目前为止只在尼罗罗非鱼、哈奇氏牙汉鱼和白斑狗鱼的Y染色体分离出了*Amh*的另外一个拷贝,在其他物种中*Amh*和*Amhr2*都是以单拷贝形式存在<sup>[54]</sup>。在已经公开基因组的软骨鱼纲[象鲨(*Callorhynchus milii*)和鲸鲨(*Rhincodon typus*)]和鲤形目[斑马鱼、鲤(*Cyprinus carpio*)、草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)、团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)、3种金线鲃(*Sinocyclocheilus graham*, *S. rhinoceros*和*S. anshuiensis*)和雅罗鱼(*Leuciscus waleckii*)]都没有分离出*Amhr2*,可能在进化过程中这些物种都丢失了这个基因<sup>[54]</sup>。*Amh*/*Amhr2*信号通路在鱼类性别决定与分化中非常重

要, 但还没发现*Amhy*特异的II型受体, 它可能和*Amh*共享II型受体*Amhr2*<sup>[66]</sup>。*Amhr2*在红鳍东方鲀雌雄未分化的性腺中均有表达, 随后在分化性腺的生殖细胞周围的体细胞中表达, 由于激酶结构域单核苷酸的突变(C/G)导致单个氨基酸的改变(His384/Asp384), 从而成为其性别决定基因, 启动性别决定基因级联的下游信号通路, 决定其性别<sup>[38]</sup>。红鳍东方鲀*Amhr2* SNP与性别连锁, 雄性是杂合, 雌性为纯合, 这种性别特异性的SNP同样在豹纹东方鲀(*T. pardalis*)和网纹多纪鲀(*T. poecilonotus*)中存在。即使在不使用TGF- $\beta$ 信号通路成员作为性别决定基因(使用*Dmy*作为性别决定基因)的日本青鲷中, *Amhr2*突变也会导致其由雄到雌的性逆转, 以及生殖细胞的过度增生<sup>[65]</sup>, 这表明*Amhr2*在日本青鲷的性别决定中也有重要作用。在尼罗罗非鱼中, *Amhr2*缺失导致XY个体性腺性逆转, 发育为卵巢(不可育), 同时伴随着*Cyp19a1a*的表达和雌激素水平的上升<sup>[42]</sup>。这些研究表明*Amhr2*在鱼类雄性性别决定过程中起着重要作用。

### 2.3 *Gsdfy*

*Gsdf*是TGF- $\beta$ 超家族中特殊的一员, 最先在虹鲷中发现<sup>[67]</sup>, 普遍存在于硬骨鱼中, 如斑点雀鲷(*Lepisosteus oculatus*)<sup>[54]</sup>、青鲷<sup>[68]</sup>、斑马鱼<sup>[69]</sup>、尼罗罗非鱼<sup>[70]</sup>和金钱鱼(*Scatophagus argus*)<sup>[71]</sup>等。尽管在四足动物基因组中找到与*Gsdf*关联的共线性区间, 但却找不到该基因片段, 由此推断*Gsdf*基因仅局限于硬骨鱼类, 而在四足动物进化过程中*Gsdf*可能已经丢失<sup>[69]</sup>。日本青鲷和尼罗罗非鱼的*Gsdf*都主要表达在雄性精原细胞周围的支持细胞以及雌性卵原细胞周围的颗粒细胞<sup>[70, 72]</sup>。而在这两个物种中过表达*Gsdf*, 都会导致XX雌性个体转变为功能性的雄鱼<sup>[39, 73]</sup>, 另一方面, 在XY雄鱼中敲除这个基因均会导致由雄向雌的性逆转<sup>[72, 73]</sup>, 这说明*Gsdf*在精巢发育中的作用高度保守。在日本青鲷的*Dmy*性别决定系统中, *Gsdf*在*Dmy*表达之后开始表达并与*Dmy*共表达于性腺体细胞, 这暗示*Dmy*可能是*Gsdf*的上游直接调控因子<sup>[68]</sup>。日本青鲷的近缘种吕宋青鲷的性别决定基因*Gsdfy*是*Gsdf*的等位基因, *Gsdf*在性染色体X和Y上都存在, 且编码相同的蛋白质, 但X和Y染色体上*Gsdf*启动子区的顺式调控元件的差异导致了Y染色体上的*Gsdf*(*Gsdfy*)在胚胎早期的生

殖原基上有表达, 进而使未分化性腺朝雄性方向分化<sup>[37]</sup>。青鲷*Gsdf*敲除的表型同*Amhr2*突变体极为相似, 均会导致XY个体由雄向雌的逆转, 这表明要么*Amhr2*是*Gsdf*的II型受体, 要么*Gsdf*同*Amh/Amhr2*的信号通路在雄性性别分化中可能部分重叠<sup>[67, 73]</sup>。这些研究结果表明*Gsdf*在鱼类雄性性别决定与分化过程起着重要作用。

### 2.4 *Gdf6y*

*Gdf6*(growth differentiation factor 6)也是TGF- $\beta$ 超家族中的一员, 其在Y染色体上的复制基因*Gdf6y*成为了齿鲤科鲷鱼的性别决定候选基因。而复制后的*Gdf6y*与X染色体上*Gdf6*编码的氨基酸中有15个氨基酸的改变和3个氨基酸的删除<sup>[41]</sup>。

由此可见, TGF- $\beta$ 信号通路成员经常被招募作为硬骨鱼类的性别决定基因, 而TGF- $\beta$ 信号通路成员成为性别决定基因主要来自两种策略: 一种是基因复制, 某些独立的谱系特有的复制为其产生新的性别决定基因提供了更多的可能。例如哈奇氏牙汉鱼、尼罗罗非鱼和白斑狗鱼的*Amhy*是通过*Amh*复制后产生了新功能, 成为了雄性的性别决定基因。另一种是等位基因的多样化<sup>[74]</sup>, 即常染色体基因拥有向雄性或雌性特异性转变的功能, 随后在原始的Y染色体上维持雄性特定的等位基因作为雄性的性别决定基因。例如吕宋青鲷的性别决定基因*Gsdfy*<sup>[37]</sup>和红鳍东方鲀<sup>[38]</sup>的性别决定基因*Amhr2*均来源于等位基因的多样化。然而由于现在分离出性别决定基因的物种还相对较少, TGF- $\beta$ 信号通路成员作为更多鱼类性别决定基因的可能性很可能被远远低估了。

## 3 TGF- $\beta$ 信号通路参与鱼类性别决定的可能机制

到2011年前, 在脊椎动物中所鉴定的4个性别决定基因(*Sry*、*Dmy*、*Dmrt1*和*DMW*)都是转录因子, 这为脊椎动物的性别总是被转录因子决定的观点提供了证据。然而, 后来在硬骨鱼中发现的多个新的性别决定基因(*Amhy*、*Amhr2*、*Gsdfy*和*Gdf6y*)却是转化生长因子及其受体。因此, 这些研究表明触发遗传性别决定的机制并不仅限于转录因子。

有趣的是, 上述这些新的性别决定基因都是TGF- $\beta$ 信号通路成员, 且该信号通路成员也参

与了鱼类的性别分化。一种可能的机制是TGF- $\beta$ 信号减少了生殖细胞的数量,从而促进性腺向精巢发育<sup>[75]</sup>。这个假设是依据在*Amhr2*缺陷的青鳞中,表现出由雄到雌的性逆转,且表现出生殖细胞的过度增殖<sup>[65]</sup>。此外,在性别分化的早期阶段通过Morpholino敲降使生殖细胞缺失,会导致青鳞和斑马鱼的性腺雄性化<sup>[75-76]</sup>。我们课题组前期的研究也证明,在尼罗罗非鱼XX个体敲除*Nanos3*,会导致生殖细胞数目变少,从而导致罗非鱼由雌向雄的性逆转<sup>[77]</sup>。这个假设机制与在青鳞发育的早期,雌性性腺比雄性性腺拥有更多的生殖细胞结果相一致<sup>[78]</sup>。但是,这个假设也有矛盾之处,*Amh*和*Gsdf*分别在青鳞和虹鳟中对于生殖细胞的增殖起着正向调控<sup>[67,79]</sup>。因此,这些基因促进生殖细胞增殖似乎还依赖于其他的信号成员<sup>[55,80]</sup>。此外,目前也发现一些相反的证据,在金鱼(*Carassius auratus*)<sup>[81]</sup>、泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)<sup>[82]</sup>和红耳滑龟<sup>[83]</sup>中缺少生殖细胞对性别并没有什么影响。

另外一种可能的机制是TGF- $\beta$ 信号能够抑制芳香化酶的活性来控制性别。芳香化酶是雌激素合成的关键限速酶,其编码基因*Cyp19a1a*对性别分化至关重要,芳香化酶的表达水平和雌激素合成与雌性性别的分化和卵巢的维持紧密相关<sup>[80]</sup>。研究表明高雌激素水平能够诱导鱼类、两栖类、爬行类和鸟类的卵巢分化<sup>[84]</sup>。一系列性逆转实验及鱼类性别决定机制的研究表明,性别控制都是通过调控雌激素的合成来实现的。我们课题组前期研究表明,雌性通路中的重要基因*Foxl2*会直接激活*Cyp19a1a*的转录从而介导雌激素的合成,影响性腺的发育<sup>[85]</sup>。在银汉鱼XY个体敲降性别决定基因*Amhy*,会激活雌性信号通路中重要基因*Foxl2*和*Cyp19a1a*的表达,导致雌激素合成增加,实现由雄向雌的性逆转<sup>[35]</sup>。同样,在尼罗罗非鱼XY个体敲除性别决定基因*Amhy*及其受体*Amhr2*,*Dmrt1*基因的表达下调而*Cyp19a1a*基因的表达上调,血清雌激素的水平升高,导致由雄到雌的性逆转<sup>[42]</sup>。虽然目前还没有证据能证明雄鱼中*Amhy*、*Amhr2*和*Gsdf*能直接抑制*Cyp19a1a*和*Foxl2*的表达,但是在雄鱼中敲除这些基因后,*Cyp19a1a*的表达确实会上调,雌激素水平也会升高。我们猜测,这些雄性性别决定基因有可能采用与*Activin*调控*Fshb*<sup>[86-87]</sup>相似的方式,即通过下游的Smads和其他的转录因子(如

*Sf1*、*Foxl2*)来共同调控*Cyp19a1a*的表达。此外,在斑马鱼中,敲除*Bmp15*的胚胎,性腺在早期正常发育,但是在中后期,性腺就会由卵巢向精巢性逆转,最终会发育为可育的雄性。而*Bmp15*能够维持雌性表型的部分作用就是通过促进*Cyp19a1a*的表达,从而调控雌激素的合成,*Bmp15*与*Cyp19a1a*一起调控雌性性腺的正常发育以及雌性性别的维持<sup>[88]</sup>。

TGF- $\beta$ 信号能够控制性别的这两种机制在不同物种中可能会有所不同,然而,这两种机制可以相互配合来决定和维持性别。因为抑制生殖细胞的增殖同样会减少围绕在生殖细胞周围的体细胞的数量,而类固醇激素正是由这些细胞合成的,因此也会减少雌激素的产生从而促进精巢的分化<sup>[80]</sup>。在斑马鱼和青鳞中缺少生殖细胞会导致雄性化,而在*Amhr2*缺陷的青鳞中雌性化的表型也被认为是通过芳香化酶的表达上调来实现的<sup>[65]</sup>。生殖细胞数量受到性别决定基因(如*Dmy*)<sup>[33]</sup>和其他多种因素的影响。雌激素水平也明显与生殖细胞的数量相关,雌激素水平升高,生殖细胞数量增多,虽然二者间是否存在直接的因果关系还有待阐明,但是这个现象是存在的。本文对TGF- $\beta$ 信号通路成员作为鱼类最上游的性别决定基因参与鱼类性别决定的分子机制进行了总结(图2)。

## 4 展望

尽管近年来TGF- $\beta$ 信号通路在鱼类的性别决定与分化中的作用研究取得了一定进展,但是仍然有很多问题还有待阐明。*Amh*的功能主要是通过其II型受体*Amhr2*实现的,在青鳞、虹鳟和尼罗罗非鱼中突变*Amhr2*会导致由雄向雌的性逆转,这些研究表明*Amh/Amhr2*信号在鱼类的性别决定中起着重要作用。*Amh*存在于所有已鉴定过的鱼类中,但是在软骨鱼类和鲤形目中并没有鉴定出*Amhr2*。尽管斑马鱼丢失了*Amhr2*,但*Amh*在斑马鱼仍然是有功能的,斑马鱼中敲除*Amh*会导致生殖细胞增殖,且表现出偏向于雌性的性比。那么在这些丢失*Amhr2*的物种中*Amh*又是结合到哪个II型受体发挥作用;*Bmpr2*是*Amhr2*的旁系同源基因,当*Amhr2*在这些物种丢失后,*Amh*是否会结合到*Bmpr2*;在拥有*Amhr2*的物种中*Bmpr2*是否还会结合到*Amh*;以及*Bmpr2*在鱼类的性别决定与分化中扮演的角色都值得深入研究。*Amh*的复制基因*Amhy*已经被证实为3个物种(哈奇



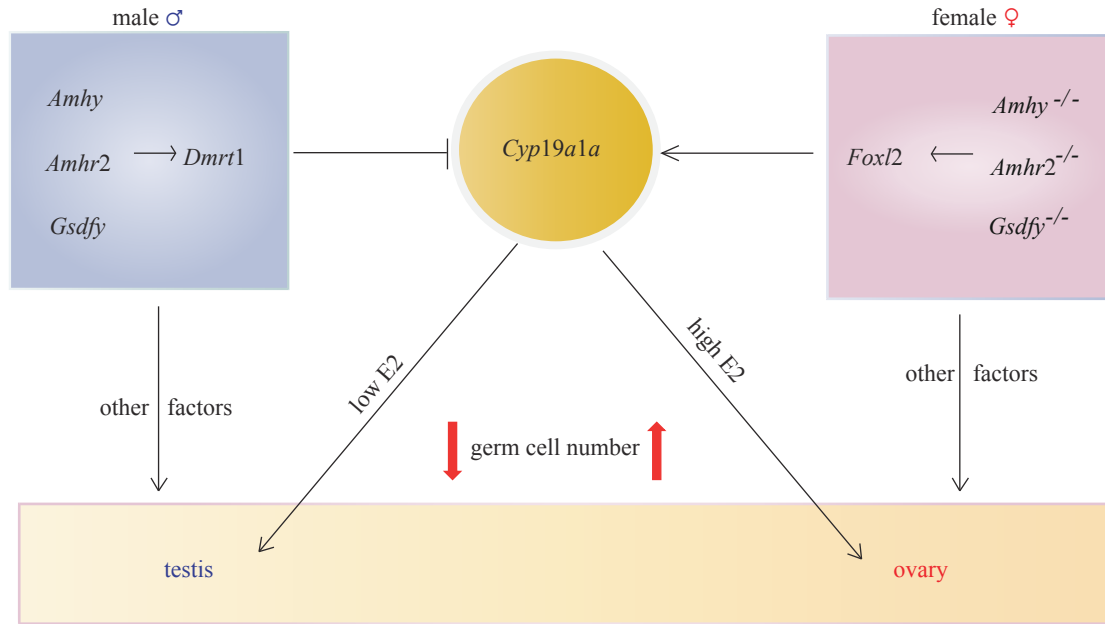


图2 TGF-β信号通路参与鱼类性别决定的分子机制

Fig. 2 Mechanisms of TGF-β signaling pathway involved in fish sex determination

氏牙汉鱼、尼罗罗非鱼和白斑狗鱼)的性别决定基因, *Amhy*在这3个亲缘关系较远的物种中独立复制成为性别决定基因; *Gdf6*的复制基因 *Gdf6y*分别成为鲮鱼的性别决定基因; 最近, 也有 *Amhr2*通过复制成为美国黄金鲈 (*Perca flavescens*)的性别决定基因的报道<sup>[89]</sup>; *Gsdf*和 *Amhr2*的等位基因分别成为吕宋青鲮和红鳍东方鲀的性别决定基因。由于目前分离性别决定基因的物种较少, 这种现象在鱼类是否具有一定的普遍性还值得在更多的物种中进行深入研究。由于鱼类性别决定及分化机制复杂, 存在多样性和易变性, 在鱼类还存在多少个不同的性别决定基因, 哪些TGF-β信号通路成员参与了鱼类的性别决定, 这些都有待今后的研究来回答。近年来, 有研究表明, 表观遗传调控在脊椎动物的性别决定中扮演重要角色。研究表明, 小鼠的 *Sry*、鸡的 *Dmrt1*、半滑舌鳎的 *Dmrt1*和红耳滑龟温度依赖的性别决定都受到了表观遗传的调控<sup>[90-93]</sup>, 那么参与性别决定与分化的TGF-β信号通路基因是否也受到表观遗传调控, 或者TGF-β信号通路成员是否通过调控表观遗传修饰而影响性别决定与分化, 这些也需要在未来的研究中阐明。

#### 参考文献:

- [1] Otto S P. The evolutionary enigma of sex[J]. The American Naturalist, 2009, 174(S1): S1-S14.
- [2] Vrijenhoek R C. Animal clones and diversity: Are natural clones generalists or specialists?[J]. *BioScience*, 1998, 48(8): 617-628.
- [3] Hill W G, Robertson A. The effect of linkage on limits to artificial selection[J]. *Genetics Research*, 1966, 8(3): 269-294.
- [4] Mittwoch U. Sex determination in mythology and history[J]. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 2005, 49(1): 7-13.
- [5] Bachtrog D, Mank J E, Peichel C L, et al. Sex determination: why so many ways of doing it?[J]. *PLoS Biology*, 2014, 12(7): e1001899.
- [6] Graham P, Penn J K M, Schedl P. Masters change, slaves remain[J]. *BioEssays*, 2003, 25(1): 1-4.
- [7] Sinclair A H, Berta P, Palmer M S, et al. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif[J]. *Nature*, 1990, 346(6281): 240-244.
- [8] Smith C A, Roeszler K N, Ohnesorg T, et al. The avian Z-linked gene *DMRT1* is required for male sex determination in the chicken[J]. *Nature*, 2009, 461(7261): 267-271.
- [9] Anderson J L, Rodriguez Mari A, Braasch I, et al. Multiple sex-associated regions and a putative sex chromosome in zebrafish revealed by RAD mapping and population genomics[J]. *PLoS ONE*, 2012, 7(7): e40701.

- [10] Liew W C, Bartfai R, Lim Z, *et al.* Polygenic sex determination system in zebrafish[J]. *PLoS ONE*, 2012, 7(4): e34397.
- [11] Ser J R, Roberts R B, Kocher T D. Multiple interacting loci control sex determination in lake Malawi cichlid fish[J]. *Evolution*, 2010, 64(2): 486-501.
- [12] Graves J A M. How to evolve new vertebrate sex determining genes[J]. *Developmental Dynamics*, 2013, 242(4): 354-359.
- [13] Marshall Graves J A. Weird animal genomes and the evolution of vertebrate sex and sex chromosomes[J]. *Annual Review of Genetics*, 2008, 42: 565-586.
- [14] Ospina-Álvarez N, Piferrer F. Temperature-dependent sex determination in fish revisited: prevalence, a single sex ratio response pattern, and possible effects of climate change[J]. *PLoS One*, 2008, 3(7): e2837.
- [15] Stelkens R B, Wedekind C. Environmental sex reversal, trojan sex genes, and sex ratio adjustment: conditions and population consequences[J]. *Molecular Ecology*, 2010, 19(4): 627-646.
- [16] 焦保卫, 王德寿, 邓思平. 爬行动物温度依赖性性别决定研究进展[J]. *动物学杂志*, 2002, 37(4): 74-78.  
Jiao B W, Wang D S, Deng S P. The approach of TSD in reptile[J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2002, 37(4): 74-78(in Chinese).
- [17] Capel B. Vertebrate sex determination: evolutionary plasticity of a fundamental switch[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2017, 18(11): 675-689.
- [18] Yamamoto Y, Zhang Y, Sarida M, *et al.* Coexistence of genotypic and temperature-dependent sex determination in pejerrey *Odontesthes bonariensis*[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e102574.
- [19] Massagué J. TGF $\beta$  signalling in context[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2012, 13(10): 616-630.
- [20] Monsivais D, Matzuk M M, Pangas S A. The TGF- $\beta$  family in the reproductive tract[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2017, 9(10): a022251.
- [21] Moustakas A, Heldin C H. The regulation of TGF $\beta$  signal transduction[J]. *Development*, 2009, 136(22): 3699-3714.
- [22] Mullen A C, Wrana J L. TGF- $\beta$  family signaling in embryonic and somatic stem-cell renewal and differentiation[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2017, 9(7): a022186.
- [23] Vitt U A, Hsu S Y, Hsueh A J W. Evolution and classification of cystine knot-containing hormones and related extracellular signaling molecules[J]. *Molecular Endocrinology*, 2001, 15(5): 681-694.
- [24] Massagué J. TGF- $\beta$  signal transduction[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 1998, 67: 753-791.
- [25] Attisano L, Wrana J L. Signal transduction by the TGF- $\beta$  superfamily[J]. *Science*, 2002, 296(5573): 1646-1647.
- [26] Devlin R H, Nagahama Y. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences[J]. *Aquaculture*, 2002, 208(3-4): 191-364.
- [27] 桂建芳, 朱作言. 水产动物重要经济性状的分子基础及其遗传改良[J]. *科学通报*, 2012, 57(15): 1751-1760.  
Gui J F, Zhu Z Y. Molecular basis and genetic improvement of economically important traits in aquaculture animals[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2012, 57(15): 1751-1760.
- [28] Koopman P, Gubbay J, Vivian N, *et al.* Male development of chromosomally female mice transgenic for *Sry*[J]. *Nature*, 1991, 351(6322): 117-121.
- [29] Koopman P. The molecular biology of *SRY* and its role in sex determination in mammals[J]. *Reproduction, Fertility and Development*, 1995, 7(4): 713-722.
- [30] Polanco J C, Koopman P. *Sry* and the hesitant beginnings of male development[J]. *Developmental Biology*, 2007, 302(1): 13-24.
- [31] Matsuda M, Nagahama Y, Shinomiya A, *et al.* *DMY* is a Y-specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish[J]. *Nature*, 2002, 417(6888): 559-563.
- [32] Nanda I, Kondo M, Hornung U, *et al.* A duplicated copy of *DMRT1* in the sex-determining region of the Y chromosome of the medaka, *Oryzias latipes*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(18): 11778-11783.
- [33] Matsuda M, Shinomiya A, Kinoshita M, *et al.* *DMY* gene induces male development in genetically female (XX) medaka fish[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(10): 3865-3870.
- [34] Yoshimoto S, Okada E, Umemoto H, *et al.* A W-linked DM-domain gene, *DM-W*, participates in primary ovary development in *Xenopus laevis*[J]. *Proceedings of the*



- National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(7): 2469-2474.
- [35] Hattori R S, Murai Y, Oura M, *et al.* A Y-linked anti-Müllerian hormone duplication takes over a critical role in sex determination[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(8): 2955-2959.
- [36] Yano A, Guyomard R, Nicol B, *et al.* An immune-related gene evolved into the master sex-determining gene in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*[J]. *Current Biology*, 2012, 22(15): 1423-1428.
- [37] Myosho T, Otake H, Masuyama H, *et al.* Tracing the emergence of a novel sex-determining gene in medaka, *Oryzias luzonensis*[J]. *Genetics*, 2012, 191(1): 163-170.
- [38] Kamiya T, Kai W, Tasumi S, *et al.* A trans-species missense SNP in *Amhr2* is associated with sex determination in the tiger pufferfish, *Takifugu rubripes* (fugu)[J]. *PLoS Genetics*, 2012, 8(7): e1002798.
- [39] Takehana Y, Matsuda M, Myosho T, *et al.* Co-option of *Sox3* as the male-determining factor on the Y chromosome in the fish *Oryzias dancena*[J]. *Nature Communications*, 2014, 5: 4157.
- [40] Chen S L, Zhang G J, Shao C W, *et al.* Whole-genome sequence of a flatfish provides insights into ZW sex chromosome evolution and adaptation to a benthic lifestyle[J]. *Nature Genetics*, 2014, 46(3): 253-260.
- [41] Reichwald K, Petzold A, Koch P, *et al.* Insights into sex chromosome evolution and aging from the genome of a short-lived fish[J]. *Cell*, 2015, 163(6): 1527-1538.
- [42] Li M H, Sun Y L, Zhao J E, *et al.* A tandem duplicate of Anti-Müllerian hormone with a missense SNP on the Y chromosome is essential for male sex determination in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*[J]. *PLoS Genetics*, 2015, 11(11): e1005678.
- [43] Bao L S, Tian C X, Liu S K, *et al.* The Y chromosome sequence of the channel catfish suggests novel sex determination mechanisms in teleost fish[J]. *BMC Biology*, 2019, 17(1): 6.
- [44] Pan Q W, Feron R, Yano A, *et al.* Identification of the master sex determining gene in Northern pike (*Esox lucius*) reveals restricted sex chromosome differentiation[J]. *PLoS Genetics*, 2019, 15(8): e1008013.
- [45] Kirubakaran T G, Andersen Ø, De Rosa M C, *et al.* Characterization of a male specific region containing a candidate sex determining gene in Atlantic cod[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 116.
- [46] 梅洁, 桂建芳. 鱼类性别异形和性别决定的遗传基础及其生物技术操控[J]. *中国科学: 生命科学*, 2015, 58(2): 124-136.
- Mei J, Gui J F. Genetic basis and biotechnological manipulation of sexual dimorphism and sex determination in fish[J]. *Science China Life Sciences*, 2015, 58(2): 124-136.
- [47] Baroiller J F, D'Cotta H. Sex Control in aquaculture[M]. John Wiley & Sons Ltd, 2019: 191-234.
- [48] Mair G C, Scott A G, Penman D J, *et al.* Sex determination in the genus *Oreochromis*: 1. Sex reversal, gynogenesis and triploidy in *O. niloticus* (L.)[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1991, 82(2): 144-152.
- [49] Gammerdinger W J, Kocher T D. Unusual diversity of sex chromosomes in African cichlid fishes[J]. *Genes (Basel)*, 2018, 9(10): 480.
- [50] Lee B Y, Hulata G, Kocher T D. Two unlinked loci controlling the sex of blue tilapia (*Oreochromis aureus*)[J]. *Heredity*, 2004, 92(6): 543-549.
- [51] Pianka E R. On r- and k-selection[J]. *The American Naturalist*, 1970, 104(940): 592-597.
- [52] Josso N, di Clemente N, Gouédard L. Anti-Müllerian hormone and its receptors[J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2001, 179(1-2): 25-32.
- [53] Rey R, Lukas-Croisier C, Lasala C, *et al.* AMH/MIS: what we know already about the gene, the protein and its regulation[J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2003, 211(1-2): 21-31.
- [54] Zheng S Q, Long J, Liu Z L, *et al.* Identification and evolution of TGF- $\beta$  signaling pathway members in twenty-four animal species and expression in tilapia[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(4): 1154.
- [55] Nakamura S, Watakabe I, Nishimura T, *et al.* Hyperproliferation of mitotically active germ cells due to defective anti-Müllerian hormone signaling mediates sex reversal in medaka[J]. *Development*, 2012, 139(13): 2283-2287.
- [56] Skaar K S, Nóbrega R H, Magaraki A, *et al.* Proteolytically activated, recombinant anti-Müllerian hormone inhibits androgen secretion, proliferation, and

- differentiation of spermatogonia in adult zebrafish testis organ cultures[J]. *Endocrinology*, 2011, 152(9): 3527-3540.
- [57] Lin Q H, Mei J, Li Z, *et al.* Distinct and cooperative roles of *amh* and *dmrt1* in self-renewal and differentiation of male germ cells in zebrafish[J]. *Genetics*, 2017, 207(3): 1007-1022.
- [58] Miura T, Miura C, Konda Y, *et al.* Spermatogenesis-preventing substance in Japanese eel[J]. *Development*, 2002, 129(11): 2689-2697.
- [59] Yoshinaga N, Shiraishi E, Yamamoto T, *et al.* Sexually dimorphic expression of a teleost homologue of Müllerian inhibiting substance during gonadal sex differentiation in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2004, 322(2): 508-513.
- [60] Klüver N, Pfennig F, Pala I, *et al.* Differential expression of anti-Müllerian hormone (*amh*) and anti-Müllerian hormone receptor type II (*amhr II*) in the teleost medaka[J]. *Developmental Dynamics*, 2007, 236(1): 271-281.
- [61] Halm S, Rocha A, Miura T, *et al.* Anti-Müllerian hormone (*AMH/AMH*) in the European sea bass: Its gene structure, regulatory elements, and the expression of alternatively-spliced isoforms[J]. *Gene*, 2007, 388(1-2): 148-158.
- [62] Wu G C, Chiu P C, Lyu Y S, *et al.* The expression of *amh* and *amhr2* is associated with the development of gonadal tissue and sex change in the protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegelii*[J]. *Biology of Reproduction*, 2010, 83(3): 443-453.
- [63] Li M, Wang L H, Wang H P, *et al.* Molecular cloning and characterization of *amh*, *dax1* and *cyp19a1a* genes and their response to 17 $\alpha$ -methyltestosterone in Pengze crucian carp[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2013, 157(4): 372-381.
- [64] Hu Q, Guo W, Gao Y, *et al.* Molecular cloning and characterization of *amh* and *dax1* genes and their expression during sex inversion in rice-field eel *Monopterus albus*[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 16667.
- [65] Morinaga C, Saito D, Nakamura S, *et al.* The *hotei* mutation of medaka in the anti-Müllerian hormone receptor causes the dysregulation of germ cell and sexual development[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(23): 9691-9696.
- [66] Hattori R S, Strussmann C A, Fernandino J I, *et al.* Genotypic sex determination in teleosts: insights from the testis-determining *amhy* gene[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2013, 192: 55-59.
- [67] Sawatari E, Shikina S, Takeuchi T, *et al.* A novel transforming growth factor- $\beta$  superfamily member expressed in gonadal somatic cells enhances primordial germ cell and spermatogonial proliferation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Developmental Biology*, 2007, 301(1): 266-275.
- [68] Shibata Y, Paul-Prasanth B, Suzuki A, *et al.* Expression of gonadal soma derived factor (*GSDF*) is spatially and temporally correlated with early testicular differentiation in medaka[J]. *Gene Expression Patterns*, 2010, 10(6): 283-289.
- [69] Gautier A, Le Gac F, Lareyre J J. The *gsdf* gene locus harbors evolutionary conserved and clustered genes preferentially expressed in fish previtellogenic oocytes[J]. *Gene*, 2011, 472(1-2): 7-17.
- [70] Jiang D N, Yang H H, Li M H, *et al.* *gsdf* is a downstream gene of *dmrt1* that functions in the male sex determination pathway of the Nile tilapia[J]. *Molecular Reproduction and Development*, 2016, 83(6): 497-508.
- [71] Jiang D N, Mustapha U F, Shi H J, *et al.* Expression and transcriptional regulation of *gsdf* in spotted scat (*Scatophagus argus*)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2019, 233: 35-45.
- [72] Kaneko H, Ijiri S, Kobayashi T, *et al.* Gonadal soma-derived factor (*gsdf*), a TGF-beta superfamily gene, induces testis differentiation in the teleost fish *Oreochromis niloticus*[J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2015, 415: 87-99.
- [73] Zhang X, Guan G J, Li M Y, *et al.* Autosomal *gsdf* acts as a male sex initiator in the fish medaka[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 19738.
- [74] Kikuchi K, Hamaguchi S. Novel sex-determining genes in fish and sex chromosome evolution[J]. *Developmental Dynamics*, 2013, 242(4): 339-353.
- [75] Siegfried K R, Nüsslein-Volhard C. Germ line control of female sex determination in zebrafish[J]. *Developmental*

- [Biology](#), 2008, 324(2): 277-287.
- [76] Kurokawa H, Saito D, Nakamura S, *et al.* Germ cells are essential for sexual dimorphism in the medaka gonad[J]. [Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America](#), 2007, 104(43): 16958-16963.
- [77] Li M H, Yang H H, Zhao J, *et al.* Efficient and heritable gene targeting in tilapia by CRISPR/Cas9[J]. [Genetics](#), 2014, 197(2): 591-599.
- [78] Nakamoto M, Muramatsu S, Yoshida S, *et al.* Gonadal sex differentiation and expression of *Sox9a2*, *Dmrt1*, and *Foxl2* in *Oryzias luzonensis*[J]. [Genesis](#), 2009, 47(5): 289-299.
- [79] Shiraishi E, Yoshinaga N, Miura T, *et al.* Müllerian inhibiting substance is required for germ cell proliferation during early gonadal differentiation in medaka (*Oryzias latipes*)[J]. [Endocrinology](#), 2008, 149(4): 1813-1819.
- [80] Guiguen Y, Fostier A, Piferrer F, *et al.* Ovarian aromatase and estrogens: a pivotal role for gonadal sex differentiation and sex change in fish[J]. [General and Comparative Endocrinology](#), 2010, 165(3): 352-366.
- [81] Goto R, Saito T, Takeda T, *et al.* Germ cells are not the primary factor for sexual fate determination in goldfish[J]. [Developmental Biology](#), 2012, 370(1): 98-109.
- [82] Fujimoto T, Nishimura T, Goto-Kazeto R, *et al.* Sexual dimorphism of gonadal structure and gene expression in germ cell-deficient loach, a teleost fish[J]. [Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America](#), 2010, 107(40): 17211-17216.
- [83] Dinapoli L, Capel B. Germ cell depletion does not alter the morphogenesis of the fetal testis or ovary in the reared slider turtle (*Trachemys scripta*)[J]. [Journal of Experimental Zoology-Part B: Molecular and Developmental Evolution](#), 2007, 308B(3): 236-241.
- [84] Smith C A, Sinclair A H. Sex determination: insights from the chicken[J]. [BioEssays](#), 2004, 26(2): 120-132.
- [85] Wang D S, Kobayashi T, Zhou L Y, *et al.* Foxl2 up-regulates aromatase gene transcription in a female-specific manner by binding to the promoter as well as interacting with ad4 binding protein/steroidogenic factor 1[J]. [Molecular Endocrinology](#), 2007, 21(3): 712-725.
- [86] Wang Y, Libasci V, Bernard D J. Activin A induction of FSH $\beta$  subunit transcription requires SMAD4 in immortalized gonadotropes[J]. [Journal of Molecular Endocrinology](#), 2010, 44(6): 349-362.
- [87] Lamba P, Wang Y, Tran S, *et al.* Activin A regulates porcine follicle-stimulating hormone  $\beta$ -Subunit transcription via cooperative Actions of SMADs and FOXL2[J]. [Endocrinology](#), 2010, 151(11): 5456-5467.
- [88] Dranow D B, Hu K, Bird A M, *et al.* Bmp15 is an oocyte-produced signal required for maintenance of the adult female sexual phenotype in zebrafish[J]. [PLoS Genetics](#), 2016, 12(9): e1006323.
- [89] Romain F, Margot Z, Cédric C, *et al.* Characterization of a Y-specific duplication/insertion of the anti-Müllerian hormone type II receptor gene based on a chromosome-scale genome assembly of yellow perch, *Perca flavescens*[J]. [BioRxiv](#), 2019: 717397.
- [90] Nishino K, Hattori N, Tanaka S, *et al.* DNA methylation-mediated control of *Sry* gene expression in mouse gonadal development[J]. [The Journal of Biological Chemistry](#), 2004, 279(21): 22306-22313.
- [91] Roeszler K N, Itman C, Sinclair A H, *et al.* The long non-coding RNA, *MHM*, plays a role in chicken embryonic development, including gonadogenesis[J]. [Developmental Biology](#), 2012, 366(2): 317-326.
- [92] Shao C W, Li Q Y, Chen S L, *et al.* Epigenetic modification and inheritance in sexual reversal of fish[J]. [Genome Research](#), 2014, 24(4): 604-615.
- [93] Ge C T, Ye J, Weber C, *et al.* The histone demethylase KDM6B regulates temperature-dependent sex determination in a turtle species[J]. [Science](#), 2018, 360(6389): 645-648.



## Role of TGF- $\beta$ signaling pathway in sex determination and differentiation in fish

LONG Juan, ZHENG Shuqing, WANG Xiaoshuang, ZHANG Shuai, WANG Deshou\*

(Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development, Ministry of Education, Key Laboratory of Aquatic Science of Chongqing, School of Life Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China)

**Abstract:** Although the molecular mechanisms of sex differentiation and gonad development are conserved across vertebrates, the most upstream sex-determining genes are quite different for different groups, especially for fish, whose sex-determining genes show obvious diversity. There are two types of sex determination in vertebrates, i.e. environmental sex determination and genetic sex determination. Environmental sex determination is mainly affected by temperature, light, hormones and pH, while genetic sex determination is generally determined by sex-determining gene located on sex chromosome. Transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) signaling pathway is involved in a variety of biological processes. In recent years, many studies have shown that multiple sex-determining genes are members of the TGF- $\beta$  signaling pathway, and this signaling pathway also plays an important role in sex differentiation of fishes. This paper summarizes the sex-determining genes or candidate genes that have been discovered and reported in fishes, and reviews in detail the role of TGF- $\beta$  signaling pathway involved in sex determination and differentiation in fishes. We also discussed the mechanism of TGF- $\beta$  signaling pathway involved in sex determination, which is important in understanding the role of TGF- $\beta$  signaling pathway in fish sex determination, differentiation and sex control.

**Key words:** fish; TGF- $\beta$  signaling pathway; sex-determination gene; sex control

**Corresponding author:** WANG Deshou. E-mail: wdeshou@swu.edu.cn

**Funding projects:** National Natural Science Foundation of China (31630082); National Key Research and Development Program of China (2018YFD0900202)