



袁婺洲, 湖南师范大学生命科学学院教授, 博士生导师, 教育部新世纪优秀人才。本科毕业于北京师范大学生物学系, 湖南农业大学作物遗传育种专业博士, 美国密西根大学博士后。主持国家自然科学基金5项, 国家精品课程、国家级精品资源共享课及国家级一流本科课程各1项; 发表研究论文130多篇, 主编《基因工程》教材2本, 合作出版专著4部。获湖南省科技进步一等奖及湖南省自然科学一等奖各1项, 第五届湖南省青年科技奖1项, 湖南省教学成果二等奖1项。

果蝇心脏发育研究三十年进展

袁婺洲^{1*}, 谢玉莲¹, 吴秀山¹, 邓婷智²

(1. 湖南师范大学生命科学学院 心脏发育研究室, 中国湖南 长沙 410081; 2. 湖南省人民医院(湖南师范大学附属第一医院), 中国湖南 长沙 410006)

摘要: 果蝇(*Drosophila melanogaster*)作为最早用于研究心脏发育基因调控的模式生物, 已经走过三十年的历程。果蝇心脏发育过程经历了胚胎期、幼虫期和成虫期三大阶段。在胚胎早期, *Tinman*、*Dorsocross* 和 *Pannier* 等基因是关键性的调控因子。*Tinman* 参与最早的心脏前体细胞分化和心脏细胞形成, 而 *Dorsocross* 和 *Pannier* 则影响心脏前体细胞的定向分化和心脏管腔的形成。进入胚胎晚期和幼虫期, 果蝇的心管经历进一步的发展和重塑, 该过程主要受到转录因子 *Hand*、*Mef2* 以及 *Hox* 基因家族的调控。在成虫期, *Hox* 基因家族和 *Tinman* 依旧发挥重要作用。虽然果蝇心脏与脊椎动物成熟心脏存在形态上的差异, 但两者心脏的早期发育过程以及调控基因和信号通路都有保守性。本文综述了果蝇心脏发育基因调控研究的三十年进展以及利用果蝇模型研究人类心脏相关疾病的潜在希望。

关键词: 果蝇; 心脏发育; 基因调控; *Tinman*; *Hox* 基因家族

中图分类号: Q344, Q46

文献标志码: A

文章编号: 1007-7847(2024)01-0001-11

Thirty Years' Progress in the Study of *Drosophila* Heart Development

YUAN Wuzhou^{1*}, XIE Yulian¹, WU Xiushan¹, DENG Tingzhi²

(1. The Laboratory of Heart Development Research, College of Life Sciences, Hunan Normal University, Changsha 410081, Hunan, China; 2. Hunan Provincial People's Hospital (the First Affiliated Hospital of Hunan Normal University), Changsha 410006, Hunan, China)

Abstract: Over the past three decades, *Drosophila melanogaster* has emerged as a leading model organism to investigate the regulatory mechanism of heart development. The development process of *Drosophila* heart goes through three major stages: embryonic stage, larval stage, and adult stage. In the early embryonic stage, genes such as *Tinman*, *Dorsocross* and *Pannier* are key regulators. *Tinman* participates in the earliest differentiation of cardiac precursor cells and the formation of cardiac cells, while *Dorsocross* and *Pannier* affect the directional differentiation of cardiac precursor cells and the formation of cardiac lumens. During the late embryonic and larval stages, the *Drosophila* heart tube undergoes further development and remodeling, which is

收稿日期: 2023-09-01; 修回日期: 2023-11-16; 网络首发日期: 2024-02-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81170229, 81370451); 国家级一流本科课程项目(2020110536, 2023220356); 湖南省卫生健康委项目(202203013427)

作者简介: * 通信作者: 袁婺洲(1966—), 女, 湖南衡阳人, 博士, 湖南师范大学教授, 主要从事心血管发育与疾病基因调控研究, Tel: 0731-88872780, E-mail: 1025084201@qq.com。

mainly regulated by multiple transcription factors such as *Hand*, *Mef2*, and the *Hox* gene family. The *Hox* gene family and *Tinman* continue to wield significant influence in the adult stage. Despite morphological disparities between the fruit fly heart and vertebrate hearts, the early developmental process, regulatory genes and signaling pathways remain conserved in both. This review encapsulates three decades of research advances in gene regulation of heart development in *D. melanogaster*, and also describes the prospects of using *Drosophila* model to study heart-related diseases in humans.

Key words: *Drosophila*; heart development; gene regulation; *Tinman*; *Hox* gene family

(*Life Science Research*, 2024, 28(1): 001-011)

果蝇(*Drosophila melanogaster*)是广泛应用于遗传学和发育生物学的模式生物,它具有生命周期短、繁殖力高、培养成本低的优势。果蝇基因组的测序表明,与脊椎动物相比,果蝇参与心脏发育的基因高度保守^[1]。在疾病研究方面,77%的人类疾病基因在果蝇中存在对应的同源基因,其中26个基因与心血管疾病有关^[2]。果蝇这些心脏发育调控基因、信号通路和细胞分化过程的保守性,使得其成为人类心脏发育和心血管疾病研究的理想模型^[3]。

果蝇心脏形成过程包括心脏中胚层的发生、心脏前体细胞(progenitor cell)的形成与分化、细胞迁移以及心肌细胞(cardioblast, CB)再分化^[4]。这些过程受到复杂的基因和信号通路调控。本文将概述果蝇心脏发育基因调控研究的三十年进展,并探讨利用果蝇模型研究人类心脏相关疾病分子机制的前景。

1 果蝇的心脏发育过程与调控基因

果蝇心脏位于背部表皮下方的T2~A7体节,也被称为背部血管(dorsal vessel, DV)或心管。果蝇心脏发育起始于胚胎第10期,此时从背部中胚层诱导出心脏区域。胚胎第11期,心脏中胚层已经特化出心脏前体细胞。第12期,心脏前体细胞分化出心肌细胞和副心肌细胞(pericardial cell, PC),并沿体节呈线性排列。第14期,心肌细胞向背部继续迁移。胚胎16期,心肌细胞分化完成,心管闭合,形成管腔^[5]。在胚胎第17期,心脏开始跳动,将血淋巴从心后腔泵入主动脉,扩散到体腔^[6]。与胚胎期相比,果蝇幼虫的心脏细胞数量基本保持不变^[7],但心管形态有一些显著变化,如管腔直径扩大和心肌细胞增大^[8-10]。成体果蝇的心脏与胚胎时期相比有更明显的变化,如:心门(ostium)减少^[11-12]、心内瓣膜(valve)增加^[7]、心管下腹侧纵向肌层形成^[11-12],以及心肌细胞和副心肌细胞数量减

少^[13-14](图1)。

1.1 果蝇胚胎及幼虫期心脏形态及其基因调控

果蝇胚胎及幼虫期心脏由心肌细胞和周围不规则排列的副心肌细胞组成^[15]。心肌细胞形成具有前后极性的管状心腔,前部较窄,被称为主动脉(aorta);后部较宽,并拥有血淋巴流入道,被称为心脏部分(heart proper)。心管由52对心肌细胞组成^[15],其中一部分心肌细胞只表达同源盒基因*Tin* (*Tinman*),简称Tin细胞;另一部分心肌细胞只表达孤核受体基因*Svp* (*seven-up*),简称Svp细胞^[16](图1)。这种表达模式在成蝇阶段保持不变^[17]。Svp细胞在胚胎心脏中形成7对心门^[11]。副心肌细胞与心管紧密相连,形成固定结构。成虫期部分副心肌细胞变为肾细胞,承担淋巴过滤、物质分泌和吸收的功能,与心脏连接较为松散^[18-19]。

1.1.1 心肌细胞形成的基因调控

果蝇最早的心肌细胞分化源自心脏中胚层起源的心脏前体细胞^[15]。在胚胎早期,中胚层转录因子Twist直接结合到*tinB*增强子区域的3个保守e-box,启动*Tin*基因在整个中胚层表达^[20]。接着,*Tin*受到外胚层表达的两种生长因子Dpp (Decapentaplegic)^[21]和Wg (Wingless)^[22-23]的调控,局限在背部中胚层表达。到胚胎第10期,Dpp和Wg进一步调控*Tin*只在心脏中胚层表达^[21]。胚胎第11期,它们诱导GATA因子*Pnr* (*Pannier*)也在心脏中胚层表达^[24]。近期有研究发现,转录辅助因子Akirin突变导致果蝇胚胎心脏形态学缺陷,同时使*Tin*转录本水平显著降低,Tin蛋白的表达减少,最终减少了Tin细胞的数量^[25]。可见,心脏关键基因*Tin*在心肌细胞中的受限表达是由Dpp、Wg和Akirin共同调控的,最终决定了心脏前体细胞的定位和分化。

心脏前体细胞进一步分化为心肌细胞和副心肌细胞。两个同源盒基因*Lb-e* (*ladybird early*)和*Lb-l* (*ladybird late*)^[26]在Wg信号外胚层下方的心脏

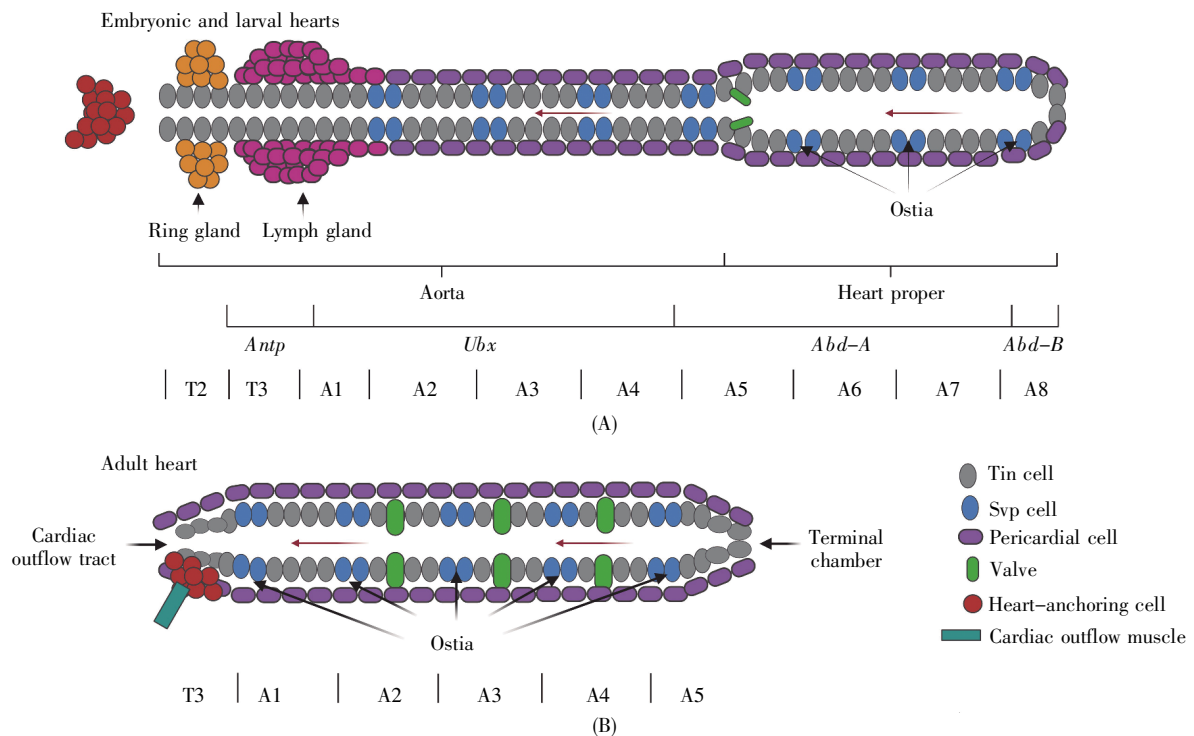


图 1 果蝇不同时期心脏形态与结构示意图

(A) 果蝇胚胎与幼虫期心血管形态。前部较窄,称为主动脉,后部较宽,称为心脏部分。主动脉与心脏部分有一个瓣膜隔开。Svp 细胞组成 7 对心门。*Hox* 基因在不同体节表达;(B) 果蝇成虫心脏。与胚胎期相比,细胞数量减少,瓣膜增多,心门数量减少,心脏形态发生改变。图中红色箭头表示血淋巴流出方向。

Fig.1 The schematic diagram of heart morphology and structure of *D. melanogaster* at different stages

(A) *Drosophila* heart morphology in the embryonic and larval stage. The anterior part is narrower and is called the aorta. The posterior part is wider and is called the heart proper. The aorta is separated from the heart proper by a valve. Svp cells make up 7 pairs of ostia. *Hox* gene is expressed in different body segments; (B) *Drosophila* adult heart morphology. Compared with the embryonic heart, the number of cells in the adult heart is decreased, the number of valves is increased, the number of ostia is reduced, and the heart shape is changed. Red arrows indicate the direction of hemolymph flow.

前体细胞亚群中表达,并促进心脏前体细胞的分化。在发育后期,Lb (ladybird)蛋白在每个节段的 2 对 Tin 细胞中表达,受 Wg 的调控和 Hh (Hedgehog)信号的抑制^[26]。Svp 细胞祖细胞在每个节段以不对称方式进行分裂,产生 2 个表达 Svp 的心肌细胞和 2 个表达 Svp 的副心肌细胞,而 4 个表达 Tin 的心肌细胞是由 2 个非心门祖细胞的对称分裂产生的^[27]。这种不对称分裂依赖于 Notch 信号通路 Numb 和 Sanpodo 两个蛋白质的调控^[28-29]。研究发现,在 *Sanpodo* 突变体中,Svp 心肌细胞增加,而在 *Numb* 突变体中,Svp 心肌细胞减少,但在这两种情况下 Tin 心肌细胞数量是不变的^[30]。此外,Svp 心肌细胞的一个重要功能是抑制 Tin 基因及其靶基因 $\beta 3$ tubulin 的表达^[30]。

在心肌细胞分化过程中,T-box 基因 *Doc* 1~3 (*Dorsocross* 1~3)、*H15* 和 *Mid* (*Midline*)也发挥重要作用。*Doc* 基因前期受到 Dpp 和 Wg 信号的共同调控,后期受到 Tin 和 Pnr 的调控。*Doc* 基因与

Tin 和 Pnr 协同作用,促进心肌细胞和某些副心肌细胞的分化。在心肌细胞分化后,*Doc* 的表达仅限于 Svp 细胞^[31]。研究发现,在 *Mid* 或 *H15* 缺陷突变体中,Tin 表达减少,*Doc* 表达增加^[32]。在 *H15* 激活的心肌细胞中,Tin 的表达抑制 *Doc* 的表达,而 Svp 和 *Doc* 都可以抑制 Svp 细胞中 Tin 的表达,以决定 Svp 细胞的分化。这些心脏转录因子之间存在着复杂的交叉调控^[33]。此外,一些在所有心肌细胞中都表达的基因在 Svp 细胞和 Tin 细胞中受到不同的调控。例如,*Mef2* (*myocyte enhancer factor-2*)在所有心肌细胞中都表达,它是 Tin 和 Pnr 的直接靶位点,但具有独立的调控元件^[30]。类似地,*Hand* 也在所有心肌细胞中表达,其表达受到 LIM 同源结构域转录因子 Tup (*Tailup*)的调控。当 *Tup* 突变时,*Hand* 增强子的活性会在 Svp 细胞中丧失^[34](图 2A)。

Heartless 是另一个与果蝇心脏形成相关的基因。在 *Heartless* 突变体中,中胚层和心肌细胞不

能向背部迁移,导致心管不能形成^[4]。当前,还有许多在心肌细胞发育过程中表达的基因,但其在心脏发育中的作用尚不确定。例如:*Tg/CG7395* (*transglutaminase*)主要在Svp细胞中表达,是*Mef2*的直接转录靶位点;但*Mef2*不仅在Svp细胞表达,也在Tin细胞中表达;因此,*Tg*在Svp细胞的表达可能有其他的调节因子参与^[35]。此外,早在2002年就有高通量表达研究发现了Svp细胞中特异性表达的其他尚未被表征的基因,如*CG8147*和*CG13196*^[36]。阐明这些未表征的基因如何调控Svp细胞分化将是未来研究的重点。

1.1.2 副心肌细胞形成的基因调控

相比于按体节规则排列的具有收缩功能的心肌细胞,围绕在心肌细胞周围的不能收缩的副心肌细胞排列比较松散,细胞种类也比较多。表达*Tin*的心脏前体细胞一部分分化出Tin心肌细胞,而另一部分分化出表达*Tin*的副心肌细胞^[37]。Tin副心肌细胞又分为两种类型,一部分表达*eve* (*even-skipped*)基因,被称为EPC;另一部分表达*Lb*基因,被称为LPC^[37]。Svp前体细胞既通过不对称分裂产生Svp心肌细胞,也会产生表达Svp的

副心肌细胞,而这种Svp副心肌细胞还受到另一个基因*odd* (*odd-skipped*)的调控^[37]。*odd*基因不仅共表达于Svp副心肌细胞(SOPC),也单独表达于一类独特的副心肌细胞(OPC)。研究显示,锌指蛋白基因*zfh1*与副心肌细胞的形成也密切相关。与*Tin*、*Heartless*、*Mef2*一样,*zfh1*一开始在整个中胚层表达,后局限在心脏中胚层表达,最后只在副心肌细胞中表达。*zfh1*虽然并不在EPC中表达,但是EPC的形成受到*zfh1*和*eve*自身的调控(图2B)。另外,*Hand*在所有心肌细胞中表达,但与*Mef2*不同,*Hand*也在一类副心肌细胞中表达,这类副心肌细胞会发育成肾细胞,与淋巴过滤、物质分泌与吸收功能相关^[19]。

1.1.3 心脏前后极性的调控

在胚胎发育过程中,*Hox*基因家族在引导背部心管沿前后轴差异模式的形成和控制Svp细胞分化方面发挥着重要作用。这些基因确保了在胚胎和幼虫期间只有心管后部存在功能性流入道。关键的*Hox*基因包括:*Ubx* (*Ultrabithorax*)、*Abd-A* (*Abdominal-A*)、*Abd-B* (*Abdominal-B*)和*Antp* (*Antennapedia*复合体)^[38]。在胚胎发育中,*Ubx*在主动

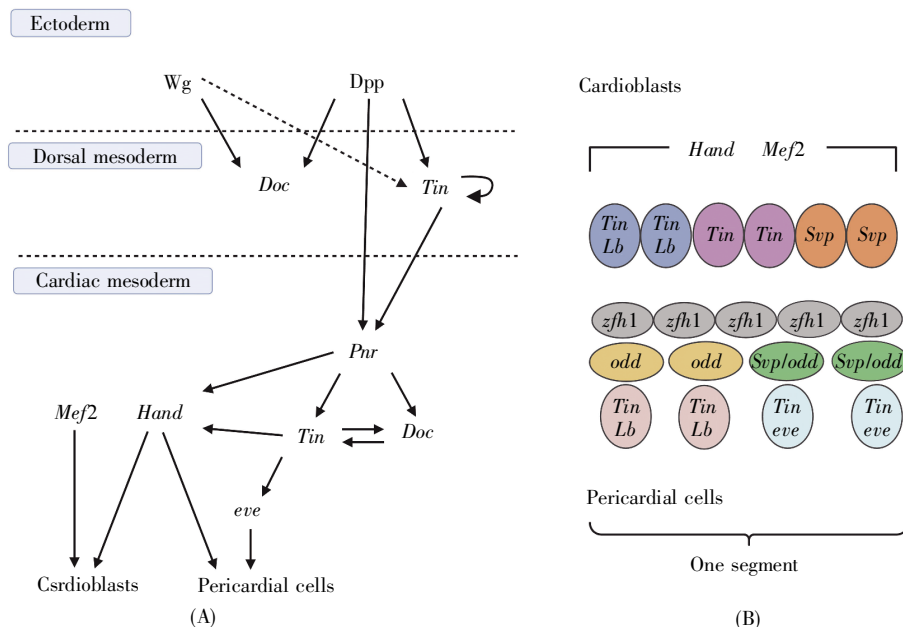


图2 果蝇心脏细胞形成与分化的基因调控

(A) 心脏细胞形成所需要的主要基因。心脏中胚层最初由背部中胚层发育而来,这个过程受到外胚层信号Dpp与Wg的调控,之后心脏中胚层主要受到*Tin*、*Pnr*、*Doc*三者的联合调控;(B) 心脏细胞分类。心脏前体细胞分化成为心肌细胞和副心肌细胞,心肌细胞和副心肌细胞中存在不同的基因表达。

Fig.2 Gene regulation of cardiac cell formation and differentiation in *D. melanogaster*

(A) Major genes required for the formation of heart cells. The cardiac mesoderm initially develops from the dorsal mesoderm, and this process is regulated by ectoderm signals Dpp and Wg, and the cardiac mesoderm is mainly regulated by *Tin*, *Pnr* and *Doc*; (B) Classification of cardiac cells. Cardiac progenitor cells differentiate into cardioblasts and pericardial cells, and the two cell types have different gene expression profiles.

脉表达,并且决定了主动脉心肌细胞的分化;*Abd-A*在心脏的第五到第七节段(A5~A7)表达,对心肌细胞的部分分化是必要的;*Abd-B*在心脏后部表达。*Hox*基因异常表达会影响心肌细胞的分化,这进一步证实了*Hox*基因在心脏前后极性和心肌细胞正确分化中的重要性^[39-40](图 1)。

1.1.4 两侧心肌细胞闭合的调控

从胚胎第 12 期到第 15 期,心肌细胞开始向背部迁移和闭合^[41]。除 *Heartless* 基因外, *Cdc42* 基因在细胞迁移中也发挥关键作用,它能促进 *Tin* 细胞向胚胎中线方向迁移并与对侧心肌细胞接触。*Cdc42* 功能缺失导致心脏融合失败^[42]。进一步的研究发现, *Cdc42* 和 *Formin* 共同调节局部肌动蛋白网络的组装,通过调控 *zipper* 基因在心肌细胞的定位和动态分布,影响心肌细胞形态变化和心腔的形成^[43]。另外, *Slit-Robo* 信号通路在心脏形态发育中发挥关键作用,主要调节心肌细胞间的黏附^[43]。

有研究揭示了肌动蛋白调节蛋白 *Ena* (*Ena-bled*) 在心肌细胞闭合过程中的重要作用。*Ena* 缺失会导致背部心管细胞形态和排列缺陷,包括:心肌细胞的前缘突出长度减少,心管细胞间出现空隙。*Ena* 蛋白通过调节心肌细胞的细胞突起形成促进细胞间的黏附和封闭,确保背侧心管完整形态和结构的形成。在背侧心管形成时, *Ena* 蛋白定位于相对的心肌细胞之间的接触点上,特别是在成对的 *Svp* 细胞之间^[44]。此外,近期有研究揭示了 *CAP* (*Cbl-associated protein*) 蛋白在果蝇心脏发育中的关键作用。*CAP* 蛋白通过连接 *integrin* 信

号和肌动蛋白细胞骨架,调节心肌细胞迁移、细胞形态以及细胞间连接,参与了心脏的发育和功能调控^[45]。

G 蛋白信号通路也在果蝇心脏形态和副心肌细胞定位中发挥作用。该信号通过激活心脏异三聚体 G 蛋白来调节心肌细胞之间的连接和定位。*Gia/Mthl5* 是一种心脏特异性 G 蛋白偶联受体,通过激活 *G- α 47A* 蛋白来调节心肌细胞间黏附蛋白的分布, *Gia/Mthl5* 的缺失会导致果蝇心管形态异常和副心肌细胞定位异常^[46](图 3)。

1.2 果蝇成体心脏的结构与功能维持相关基因

果蝇的心管在胚胎和幼虫阶段包含 104 个心肌细胞,但在变态发育过程中,组织会发生分解和重塑,导致成体果蝇的心肌细胞数量减少到 84 个^[7]。研究报道, *Hand* 基因在果蝇胚胎期和成虫期的心脏均有表达^[47]。尽管 *Hand* 突变体在胚胎期的背部心管形态上没有明显变化,但在成虫心脏中出现显著异常,这表明 *Hand* 基因对成虫心脏的形成至关重要^[47]。

1.2.1 心门的形成

在果蝇胚胎和幼虫心管中, *Svp* 细胞构成了 7 对心门。果蝇的变态发育导致心腔的结构发生变化,成虫心脏只剩下 5 对心门(图 1)。研究表明,在蛹期发育过程中, *Wg* 在主动脉的 *Svp* 细胞中表达,并调控这些细胞向成虫心门分化^[48]。另外, *Wnt4* 基因也是正常心门形成所必需的^[49]。这些因子通过典型的 *Wg* 信号通路以自分泌的方式促进成虫心门发育。*Hox* 基因的活性会影响 *Svp* 表达,因此, *Wg* 的表达也受到 *Hox* 基因活性的调控,并与

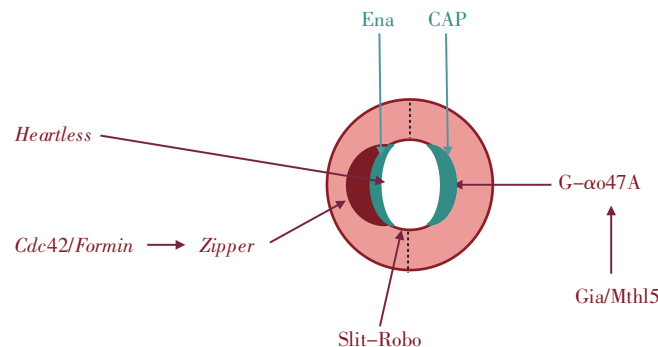


图 3 两侧心肌细胞闭合过程中的基因调控

Cdc42 和 *Formin* 通过调控 *zipper* 基因影响心肌细胞闭合。在这一过程中, *Ena* 和 *CAP* 蛋白也参与了成对心肌细胞闭合的调控。此外, *Slit-Robo* 信号通路和 G 蛋白信号通路在心肌细胞闭合过程中也发挥重要作用。

Fig.3 Gene regulation during bilateral cardiomyocyte closure

Cdc42 and *Formin* affect cardiomyocyte closure by regulating the *zipper* gene. In this process, *Ena* and *CAP* proteins are also involved in the closure of paired cardiomyocytes. *Slit-Robo* signaling pathway and G protein signaling pathway also play important roles in cardiomyocyte closure.

心门的形成密切相关。此外, Hh 信号诱导 *Svp* 基因在每个节段的最后两对心肌细胞中表达, 从而促进心肌细胞的分化和心门的形成^[50]。

1.2.2 心脏瓣膜的形成

果蝇胚胎和幼虫心管拥有 1 个心脏瓣膜, 该瓣膜将心脏部分与主动脉分开。成虫则具有 3 对心脏瓣膜, 分布在 A2 至 A4 段, 将心脏分成 4 个腔室^[6]。瓣膜通过收缩和舒张来控制心腔和主动脉以及不同腔室之间的通道, 从而使血淋巴只能按一个方向流动。虽然当前针对果蝇心脏瓣膜细胞的研究相对较少, 但早期研究发现, 在蛹期, 血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)相关受体蛋白质 Pvr 在瓣膜的表达水平升高, 且后续研究证实了 Pvr 在瓣膜形成中的关键作用^[51]。

Wg 信号通路成员 *Pygo* (*pygopus*) 基因也在瓣膜形成过程中扮演重要角色^[52]。此外, 相关研究通过筛选转基因 GFP 和 Gal4 报告基因系列, 确定了 76E11-Gal4 系列在瓣膜细胞中表达。而且研究证实, 抑制 *Tup* 基因表达导致幼虫主动脉心肌纤维定向和分化异常, 并影响成虫心管下方腹侧纵向肌层的形成, 从而影响瓣膜细胞的肌原纤维定向^[53]。

1.2.3 翼状肌与腹侧纵向肌的形成

果蝇心管还有一个重要的附属结构——翼状肌(alary muscle), 它能支撑和固定心管位置^[54]。*Abd-A* 和 *Ubx* 两个基因调控翼状肌的形成, 它们异常表达会影响翼状肌数量和背部心管的延伸。敲除 *Ubx* 导致翼状肌减少, 同时敲除 *Ubx* 和 *Abd-A* 则使翼状肌无法正常形成, 并无法连接到心管^[55]。

翼状肌祖细胞在胚胎发育阶段表达 *Org-1* (*optomotor-blind-related-gene-1*)^[56] 和 *Tup*^[57] 基因, 这两个基因在脊椎动物中都存在同源基因。研究表明, 在 *Tup* 和 *Org-1* 突变体中, 翼状肌无法正常形成。在 *Org-1* 突变体中, 许多肌肉失去了 *Tup* 表达, 而过表达 *Org-1* 会导致翼状肌增厚和表达 *Tup* 的细胞增多, 出现重复的翼状肌。这表明 *Org-1* 直接调控 *Tup* 的功能, 对翼状肌发育具有重要影响^[58]。

幼虫有 3 对翼状肌在蛹期分化为腹侧纵向肌(ventral longitudinal muscle)。这些肌肉首先通过转分化形成单核肌细胞, 然后再分化为腹侧纵向肌。腹侧纵向肌是成虫心管特有的组成部分, 协

助心管的舒张和收缩, 促进血淋巴流动, 同时为心管提供支撑和保护作用。

研究表明, 腹侧纵向肌的形成也依赖于 *Org-1* 和 *Tup* 这两个基因的调控。降低 *Org-1* 和 *Tup* 表达会阻碍腹侧纵向肌的形成。此外, 过表达 *Abd-A* 会抑制前部翼状肌中的 *Ubx* 表达, 导致腹侧纵向肌无法正常形成, 而 *Ubx* 可能直接或间接调控 *Org-1* 增强子元件的表达^[59]。

另外, 研究发现 ecdysone 受体^[38]和成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)受体 Heartless^[51]的失活会导致腹侧纵向肌不能形成。缺失 ecdysone 受体会阻止翼状肌的去分化和转分化, 而缺失 FGF 通路受体只阻止了转分化, 并减少了肌纤维的总数。类似地, *Tin* 晚期突变体的翼状肌能够进行去分化, 但无法进行转分化^[59]。此外, *Mef2* 的下调也会导致翼状肌形成减少^[60]。

1.2.4 心脏流出道的形成

果蝇心脏流出道(cardiac outflow tract)位于心管前部, 呈漏斗状, 由心锚定细胞(heart-anchoring cell, HANC)和心脏流出道肌肉(cardiac outflow muscle, COM)构成, 起稳定血淋巴流出的作用^[61]。流出道的形成关键在于 HANC 与心尖细胞之间的相互作用, 该过程受到 Slit/Robo/Shg 通路的调节^[62]。Slit 是在 HANC 与心尖细胞接触时高表达的信号分子, 而 Robo 是 Slit 的受体, 在迁移的 HANC 中表达。Shg 是一种细胞黏附蛋白, 在 HANC 迁移过程中表达, 并在心尖细胞和 HANC 之间形成黏附连接。Slit/Robo/Shg 通路通过 Slit 和 Robo 的相互作用, 以及 Shg 的表达和积累, 调控 HANC 的迁移, 影响心尖细胞与 HANC 之间的识别^[62]。*Lb*^[61]、*Tup*^[63]也参与了心脏流出道的形成, 它们通过调控 HANC 的迁移、心尖细胞的识别, 从而影响心脏流出道的形成。

另一项研究发现, 在胚胎发育早期, 表达转录因子 *eve* 的副心肌细胞(EPC)受到 *Hox* 基因家族的调控, 形成一个新的心脏流出道组件(outflow hanging structure, OHS)。这个组件在晚期胚胎中分化为连接心脏流出道和背侧表皮的结构, 从而稳定了心脏前端的位置^[64]。

综上所述, 果蝇幼虫的心管向成体心脏的重塑过程可总结如下: 1) 幼虫的后主动脉(A1~A4)重塑为成虫心脏, 而腹部体节 A5~A7 大部分经历细胞程序性死亡; 2) 在 A1~A4 段, 表达 *Tin* 的心肌细胞获得收缩活性, 幼虫主动脉的 *Svp* 细胞转化

为心门细胞,因此成虫总共有 5 对心门; 3) 幼虫 3 对翼状肌转变为腹侧纵向肌; 4) 成虫心脏在 A2、A3 和 A4 段形成 3 个瓣膜; 5) A5 段心肌细胞失去收缩活性并形成终室腔; 6) 成虫心脏的心肌细胞和副心肌细胞数量减少(图 1)。成体心脏重塑涉及的调控基因如图 4 所示。

1.2.5 细胞外基质

果蝇心脏的细胞外基质(extracellular matrix)由胶原蛋白、蛋白质多糖复合物和肌动蛋白等多种分子组成。这些分子通过相互作用和组装形成结构支持网络,为心脏提供力学支持和环境信号。细胞外基质在果蝇心脏发育的不同阶段发挥重要作用。在早期胚胎发育中,细胞外基质通过调节心脏前体细胞的定向迁移和不同细胞类型的定位,促进心脏的形成。当心脏开始收缩时,细胞外基质通过提供结构支持和连接细胞的纤维网络,维持心脏细胞的组织结构和正常功能^[65]。Mp (multiplexin)和 Loh (lonely heart)是果蝇心脏中关键的细胞外基质蛋白质。Mp 通过调节 Slit 信号分子的活性和定位,促进心脏管腔的形成。Loh 则类似胶原蛋白,与副心肌细胞结合,调节其在心脏管腔的定位,从而促进心肌细胞的黏附^[65]。其他细胞外基质蛋白质,如 thrombospondin、SPARC (secreted

protein, acidic and rich in cysteine)和 teneurin,也可通过与其他分子相互作用,调控心脏细胞生长和发育^[65]。

细胞外基质的组装还依赖层粘连蛋白和 IV 型胶原蛋白^[66]。Pericardin 是一种果蝇特异性的胶原蛋白,它在果蝇的心脏中起到了促进血细胞在心脏积聚的作用。Pericardin 的缺失会导致心脏的组织结构紊乱和副心肌细胞的脱离^[67]。

2 利用果蝇心脏建立人类心血管疾病模型

2.1 果蝇心脏与脊椎动物早期心脏的结构和调控机制具有保守性

与哺乳动物的封闭式循环系统不同,果蝇心脏是开放式循环系统,但它们的早期发育过程表现出高度保守性^[68]。果蝇和哺乳动物的心脏都起源于中胚层细胞,这些细胞分化、迁移并融合形成具有跳动功能的线状心管。随后,心管获得前后极性,将果蝇的血淋巴从后方泵送到前方,或将脊椎动物的血液从下方泵送到上方^[3]。

许多编码转录因子的基因在果蝇和脊椎动物的心脏发育中表现出保守性。例如,果蝇的 *Tin*^[20]、*Pnr*^[24]和 *Doc*^[31]是关键的调控基因,调控心脏前体细胞特化和心脏发育,而这 3 个基因在脊椎动物

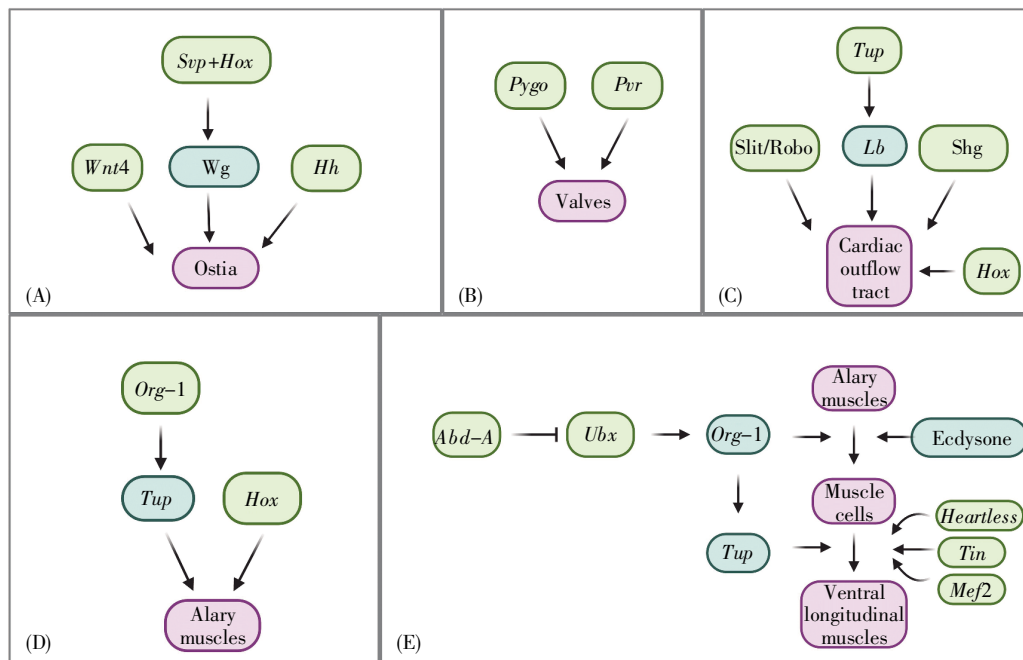


图 4 成虫心脏结构形成的基因调控

(A) 心门细胞的分化; (B) 瓣膜细胞的分化; (C) 心脏流出道的形成; (D) 翼状肌的形成; (E) 腹侧纵向肌的形成。

Fig.4 Gene regulation in adult heart structure formation

(A) Differentiation of cardiac portal cells; (B) Differentiation of valve cells; (C) Formation of the cardiac outflow tract; (D) Formation of alary muscles; (E) Formation of ventral longitudinal muscles.

的同源基因 *Nkx2.5*^[69]、*GATA*^[70]和 *Tbx*^[71]家族成员也起着类似的作用,人类的 *Nkx2.5* 是房间隔缺损基因。*Mef2*^[3]和 *Hand*^[47, 72]基因在果蝇与脊椎动物心脏发育中都发挥着重要的调控作用。果蝇 *Sur* 基因表达减少与人类 *Sur2* 基因突变的结果相似^[4]。前文提到的在果蝇心脏发育中发挥重要功能的 *Hh*、*Lb*、*Mid*、*H15*、*Tup* 在脊椎动物中均存在同源物^[4]。果蝇胚胎外胚层中表达的 *Dpp*^[21]和 *Wg*^[22]转录因子,在脊椎动物中存在同源转录因子骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)^[73]和 *Wnt*^[74],并在中胚层迁移中发挥关键作用。这些保守的转录因子在心脏发育中扮演着关键的角色。

多个信号通路在果蝇心脏发育过程中协同作用,推动不同阶段的发育进程。首先,在中胚层迁移过程中,FGF^[75]介导的中胚层迁移对于果蝇和脊椎动物的心脏发育至关重要。随后,在中胚层细胞分化为心脏中胚层的过程中,BMP^[73]、*Dpp*^[21]、*Wnt*^[74]和 *Notch*^[76]等信号通路发挥了重要作用。其中,*Notch*^[76]、*Hg*^[75]信号通路决定了心肌前体细胞分化为心肌细胞和副心肌细胞。此外,在成虫心脏重塑的过程中,*Wnt*^[74]和 PDGF-VEGF^[75]信号同样起到重要作用。这些信号通路在果蝇和脊椎动物心脏发育中共享,体现了它们在心脏发育过程中的保守性(表 1)。

2.2 利用果蝇心脏构建人类先天性心脏病模型

人类先天性心脏病(congenital heart disease, CHD)是常见的出生缺陷^[77]。现阶段,研究人员使用染色体微阵列、全外显子组测序和新一代测序技术对 CHD 进行了大量的分子生物学和遗传学研究^[78],但约有 75%的致病基因仍未知详细功能^[79-80]。将传统的哺乳动物模型用于基因功能验证不仅成

本高,而且技术难度大、时间周期长,而果蝇模型提供了一种有效的解决方案^[81]。例如,与甲基化相关的基因在果蝇心脏发育中发挥重要作用,沉默这些基因会导致心脏结构异常和寿命缩短,若过表达人类同源基因则可以修复这种心脏缺陷^[82]。又如, *Kif1A* 基因过表达导致果蝇心脏瓣膜和收缩能力缺陷,这与人类 CHD 症状相似,提示 *kif1A* 介导的肌动蛋白组织紊乱可能是潜在的 CHD 发病机制^[83]。再如,在果蝇模型中敲低核糖体基因 *RpL13* 会导致心脏功能丧失, RNA 剪接辅助因子 SON 减少会导致果蝇心脏收缩力下降,这些与在冠心病患者中检测到的拷贝数变异(copy number variation, CNV)相似^[84]。此外,利用 CRISPR/Cas9 技术敲除果蝇 *CG8111* 基因导致果蝇生长缺陷、体重减轻、心脏心律失常和寿命缩短,这与人类 *TMEM43* 基因突变引起的心律失常性右心室心肌病类似^[85]。近期,一项新的研究聚焦肥厚型心肌病(hypertrophic cardiomyopathy, HCM)和法洛四联症(tetralogy of Fallot, TOF),发现在 TOF 患者和 HCM 患者中, *MYOM2* 基因突变率较高。果蝇 *MYOM2* 同源基因突变会导致心肌纤维错乱和被动力降低,暗示 *MYOM2* 基因可能在 HCM 和 TOF 的发病机制中发挥关键作用^[86]。

2.3 利用果蝇心脏模型研究饮食和代谢相关的心脏疾病

果蝇模型还可用于研究与代谢和饮食相关的疾病,如肥胖和糖尿病^[87]。通过高脂肪饮食模拟代谢综合征患者,果蝇呈现肥胖相关的心血管疾病表型,包括心功能障碍、心率变化、心门功能失调、结构缺陷和肌原纤维紊乱^[88-89]。研究表明,高脂肪饮食引起的果蝇心功能障碍可持续两代^[90],这为研

表 1 调控果蝇心脏发育的基因与脊椎动物同源基因具有保守性

Table 1 The genes regulating the development of the *Drosophila* heart are conserved with the homologous genes in vertebrates

<i>Drosophila</i>	Vertebrate	Function
<i>Tin</i>	<i>Nkx2.5</i>	Specified differentiation of cardiac precursor cells ^[30, 69]
<i>Mef2</i>	<i>Mef2</i>	Regulation of cardiomyocyte differentiation ^[3]
<i>Hand</i>	<i>Hand1/2</i>	Regulation of cardiomyocyte differentiation ^[47, 72]
<i>Pnr</i>	<i>Gata4/5/6</i>	Regulation of cardiomyocyte differentiation ^[24, 70]
<i>Dpp</i>	BMPs	Mesoderm migration ^[21, 73]
<i>Wg</i>	<i>Wnt</i>	Mesoderm migration ^[22, 74]
<i>Doc</i>	<i>Tbx5/6</i>	Specified differentiation of cardiac precursor cells ^[4]
<i>Hh</i>	<i>Shh</i>	Specified differentiation of cardiac precursor cells ^[4]
<i>Lb</i>	<i>Lbx1/2/3</i>	Myocardial cell diversification ^[4]
<i>Mid & H15</i>	<i>Tbx20</i>	Myocardial diversification and differentiation ^[4]
<i>Sur</i>	<i>Sur1/2</i>	ATP-sensitive potassium channel-associated gene ^[4]
<i>Tup</i>	<i>Isl1</i>	Specification of myocardial and pericardial cells ^[4]

究肥胖诱导心肌病的病理机制和对后代的遗传风险提供了线索。当前,长期缺氧及钙调神经磷酸酶对果蝇心脏功能的影响成为研究焦点。敲低果蝇心脏中 *CanA14F* 和 *Pp2B* 两个基因,会导致果蝇在正常氧气条件下心脏收缩功能障碍,且缺氧条件下异常功能更加严重。而在长期缺氧条件下,钙调神经磷酸酶在心脏重塑中发挥关键作用,这对于了解慢性缺氧相关疾病的机制也有贡献^[91]。

2.4 利用果蝇模型研究心脏衰老机制

随着年龄增长,果蝇表现出与哺乳动物相似的心脏功能下降、心率降低和纤维性颤动增加^[92]。为了研究导致心脏衰老的基因表达改变,有研究分析了年轻果蝇和老年果蝇的心脏转录组,并将老年果蝇心脏中的差异表达基因与哺乳动物心脏衰老相关的基因进行了比较,发现老年果蝇细胞外基质基因以及参与 DNA 复制和修复的基因上调,而参与 ATP 合成、 β 氧化以及碳水化合物代谢的基因则下调。在细胞外基质基因中, *Mmp1/2* (*matrix metalloprotease 1 and 2*)、*Nep2* (*neprilysin2*) 以及 *TwdlF* (*TweedleF*) 在老年果蝇中上调,与心脏衰老相关,其中 *Mmp1* 过表达会导致心脏结构减少^[93]。已知人类钾离子通道基因 *KCNQ1* 与心律不齐有关,是长 QT 综合征的关键基因。在果蝇中敲低同源基因 *KCNQ* 同样导致心脏周期延长、心律不齐、纤维震颤,与人类基因功能完全一致^[94]。其他与离子通道相关的基因,如钙离子通道基因 *ca-cophony*、钙门控钾离子通道基因 *slowpoke* 以及 ATP 敏感的钠离子通道基因 *SUR* 等,在果蝇中都被证明与心律不齐相关^[94]。胰岛素受体-TOR 信号通路最早在果蝇中被证明与生长、心脏衰老及寿命相关,后来在人类被广泛证明是延缓衰老的重要靶标^[94]。我们在利用果蝇模型大量筛选心力衰竭的候选基因时也发现, *Pygo* 基因调控心脏衰老,敲低 *Pygo* 会缩短果蝇寿命^[95]。

利用果蝇模型研究心脏衰老具有独特的优势: 1) 果蝇寿命短,适用于快速研究心脏形态和功能的老化过程; 2) 繁殖能力强,有助于进行大规模候选基因筛选; 3) 基因敲除和敲低技术成熟,便于研究心脏衰老基因的遗传互作; 4) 果蝇拥有独立于心管之外的气管系统供氧,心脏功能的短暂缺失不会导致果蝇死亡; 5) 控制心脏发育和心脏衰老的基因在果蝇与哺乳动物中都高度保守,便于探究人类心脏衰老的分子调控机制。

3 结论与展望

不同发育阶段果蝇心脏表现出形态和功能上的差异,这受到多个基因的精确调控。胚胎期心脏发育涉及 3 个关键的发育过程: 1) 一部分背部中胚层细胞发生内部迁移,在外胚层的信号诱导下发育为心脏中胚层,即心脏发生区域,这个过程主要受到 *Tin*、*Pnr*、*Doc* 三者的联合调控; 2) 心脏前体细胞精确分化形成不同的心肌细胞和副心肌细胞类型,这个过程也受到一些基因的差异化表达调控,比如 *Hox* 基因家族、*Mef2* 等; 3) 两侧心肌细胞闭合形成心管,该过程主要受到 *Heartless*、*Cdc42* 和 *Formin* 的共同调控。果蝇成虫期心脏与胚胎和幼虫期心脏存在明显的形态学差异,包括心门数量减少、心内瓣膜增加、腹侧纵向肌层分化和末端心腔重塑,这些差异的产生主要受到 *Hand*、*Wnt*、*Tup*、*Hox* 基因家族、*Mef2* 等多个基因的调控。

虽然果蝇心脏与脊椎动物成熟心脏在形态上明显不同,但两者在早期发育过程和基因调控方面存在许多相似之处。果蝇的短生命周期、高繁殖率、低维护成本以及基因和细胞通路的保守性使其成为研究人类心血管疾病的理想模型。心血管疾病是多基因控制的复杂疾病,即使同一种疾病表现,也可能涉及不同的调控机制,而人们对心血管疾病更精细的分子发病机制尚知之甚少。对果蝇早期心脏发育过程的详尽研究已经明确了不同类型心脏细胞的发生过程和精确基因调控,这是其他模型动物远远不可及的,因此果蝇无疑是研究不同心血管疾病特异发病机制的首选模型。果蝇单细胞测序和高通量测序技术的成功应用也为研究人员在单细胞转录组和蛋白质组层面来解析单个细胞水平的基因表达变化与疾病进程的关系提供了便利。此外,得益于果蝇的突变基因库、RNAi 敲低基因库和完善的遗传杂交程序,果蝇模型在筛选心血管疾病的药物干预靶点和小分子药物方面也将发挥更大的优势。甚至在将酒精、营养因子、不同药物以及运动因素等外在因素与个体内在的遗传基因结合进行交叉队列研究,以阐明环境因子与基因互作对心血管疾病的复杂影响时,生命周期短而繁殖率高的果蝇模型无疑也更具有优势。

总之,果蝇心脏发育过程与基因调控机制的研究,既有助于探索人类先天性心脏病、心脏衰老

及心力衰竭的发病机制,也有助于寻求和开发人类心血管疾病的个性化诊断及精准医疗靶标。

参考文献(References):

- [1] ADAMS M D, CELNIKER S E, HOLT R A, *et al.* The genome sequence of *Drosophila melanogaster*[J]. *Science*, 2000, 287(5461): 2185–2195.
- [2] REITER L T, POTOCKI L, CHIEN S, *et al.* A systematic analysis of human disease-associated gene sequences in *Drosophila melanogaster*[J]. *Genome Research*, 2001, 11(6): 1114–1125.
- [3] BODMER R, VENKATESH T V. Heart development in *Drosophila* and vertebrates: conservation of molecular mechanisms[J]. *Developmental Genetics*, 1998, 22(3): 181–186.
- [4] ROSENTHAL N, HARVEY R P. *Heart Development and Regeneration*[M]. Boston: Academic Press, 2010: 35–60.
- [5] REIM I, FRASCH M. Genetic and genomic dissection of cardiogenesis in the *Drosophila* model[J]. *Pediatric Cardiology*, 2010, 31(3): 325–334.
- [6] ROTSTEIN B, PAULULAT A. On the morphology of the *Drosophila* heart[J]. *Journal of Cardiovascular Development and Disease*, 2016, 3(2): 15.
- [7] SELLIN J, ALBRECHT S, KÖLSCH V, *et al.* Dynamics of heart differentiation, visualized utilizing heart enhancer elements of the *Drosophila melanogaster* bHLH transcription factor Hand[J]. *Gene Expression Patterns*, 2006, 6(4): 360–375.
- [8] DAS D, ARADHYA R, ASHOKA D, *et al.* Post-embryonic pericardial cells of *Drosophila* are required for overcoming toxic stress but not for cardiac function or adult development[J]. *Cell and Tissue Research*, 2008, 331(2): 565–570.
- [9] LEHMACHER C, ABELN B, PAULULAT A. The ultrastructure of *Drosophila* heart cells[J]. *Arthropod Structure & Development*, 2012, 41(5): 459–474.
- [10] SELLIN J, DRECHSLER M, NGUYEN H T, *et al.* Antagonistic function of Lmd and Zfh1 fine tunes cell fate decisions in the Twi and Tin positive mesoderm of *Drosophila melanogaster*[J]. *Developmental Biology*, 2009, 332(2): 444–455.
- [11] MOLINA M R, CRIPPS R M. Ostia, the inflow tracts of the *Drosophila* heart, develop from a genetically distinct subset of cardiac cells[J]. *Mechanisms of Development*, 2001, 109(1): 51–59.
- [12] WASSERTHAL L T. *Drosophila* flies combine periodic heart-beat reversal with a circulation in the anterior body mediated by a newly discovered anterior pair of ostial valves and ‘venous’ channels[J]. *The Journal of Experimental Biology*, 2007, 210(Pt 21): 3707–3719.
- [13] DULCIS D, LEVINE R B. Innervation of the heart of the adult fruit fly, *Drosophila melanogaster*[J]. *The Journal of Comparative Neurology*, 2003, 465(4): 560–578.
- [14] DULCIS D, LEVINE R B. Glutamatergic innervation of the heart initiates retrograde contractions in adult *Drosophila melanogaster*[J]. *The Journal of Neuroscience*, 2005, 25(2): 271–280.
- [15] RUGENDORFF A, YOUNOSSI-HARTENSTEIN A, HARTENSTEIN V. Embryonic origin and differentiation of the *Drosophila* heart[J]. *Roux’s Archives of Developmental Biology*, 1994, 203(5): 266–280.
- [16] HUANG X H, FU Y L, LEE H, *et al.* Single-cell profiling of the developing embryonic heart in *Drosophila*[J]. *Development*, 2023, 150(16): dev201936.
- [17] LOVATO T L, CRIPPS R M. Regulatory networks that direct the development of specialized cell types in the *Drosophila* heart[J]. *Journal of Cardiovascular Development and Disease*, 2016, 3(2): 18.
- [18] IVY J R, DRECHSLER M, CATTERSON J H, *et al.* Klf15 is critical for the development and differentiation of *Drosophila* nephrocytes[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0134620.
- [19] ZHANG F J, ZHAO Y, HAN Z. An *in vivo* functional analysis system for renal gene discovery in *Drosophila* pericardial nephrocytes[J]. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2013, 24(2): 191–197.
- [20] BODMER R. The gene *tinman* is required for specification of the heart and visceral muscles in *Drosophila*[J]. *Development*, 1993, 118(3): 719–729.
- [21] LOCKWOOD W K, BODMER R. The patterns of *wingless*, *decapentaplegic*, and *tinman* position the *Drosophila* heart[J]. *Mechanisms of Development*, 2002, 114(1/2): 13–26.
- [22] WU X, GOLDEN K, BODMER R. Heart development in *Drosophila* requires the segment polarity gene *wingless*[J]. *Developmental Biology*, 1995, 169(2): 619–628.
- [23] PARK M, WU X, GOLDEN K, *et al.* The wingless signaling pathway is directly involved in *Drosophila* heart development[J]. *Developmental Biology*, 1996, 177(1): 104–116.
- [24] KLINEDINST S L, BODMER R. Gata factor Pannier is required to establish competence for heart progenitor formation[J]. *Development*, 2003, 130(13): 3027–3038.
- [25] HOWARD A M, MILNER H, HUPP M, *et al.* Akirin is critical for early *tinman* induction and subsequent formation of the heart in *Drosophila melanogaster*[J]. *Developmental Biology*, 2021, 469: 1–11.
- [26] JAGLA K, FRASCH M, JAGLA T, *et al.* *Ladybird*, a new component of the cardiogenic pathway in *Drosophila* required for diversification of heart precursors[J]. *Development*, 1997, 124(18): 3471–3479.
- [27] WARD E J, SKEATH J B. Characterization of a novel subset of cardiac cells and their progenitors in the *Drosophila* embryo[J]. *Development*, 2000, 127(22): 4959–4969.
- [28] DYE C A, LEE J K, ATKINSON R C, *et al.* The *Drosophila sanpodo* gene controls sibling cell fate and encodes a tropomodulin homolog, an actin/tropomyosin-associated protein[J]. *Development*, 1998, 125(10): 1845–1856.
- [29] SKEATH J B, DOE C Q. Sanpodo and notch act in opposition to numb to distinguish sibling neuron fates in the *Drosophila* CNS[J]. *Development*, 1998, 125(10): 1857–1865.
- [30] GAJEWSKI K, CHOI C Y, KIM Y, *et al.* Genetically distinct cardiac cells within the *Drosophila* heart[J]. *Genesis*, 2000, 28(1): 36–43.
- [31] REIM I, FRASCH M. The Dorsocross T-box genes are key components of the regulatory network controlling early cardiogenesis in *Drosophila*[J]. *Development*, 2005, 132(22): 4911–4925.
- [32] REIM I, MOHLER J P, FRASCH M. *Tbx20*-related genes, *mid* and *H15*, are required for tinman expression, proper patterning, and normal differentiation of cardioblasts in *Drosophila*[J]. *Mechanisms of Development*, 2005, 122(9): 1056–1069.
- [33] ZAFFRAN S, REIM I, QIAN L, *et al.* Cardioblast-intrinsic *tinman* activity controls proper diversification and differentiation of myocardial cells in *Drosophila*[J]. *Development*, 2006, 133(20): 4073–4083.
- [34] TAO Y, WANG J B, TOKUSUMI T, *et al.* Requirement of the LIM homeodomain transcription factor tailup for normal heart and hematopoietic organ formation in *Drosophila melanogaster*[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2007, 27(11): 3962–3969.
- [35] IKLÉ J, ELWELL J A, BRYANTSEV A L, *et al.* Cardiac expression of the *Drosophila Transglutaminase (CG7356)* gene is directly controlled by myocyte enhancer factor-2[J]. *Developmental Dynamics*, 2008, 237(8): 2090–2099.
- [36] TOMANCAK P, BEATON A, WEISZMANN R, *et al.* Systematic determination of patterns of gene expression during *Drosophila* embryogenesis[J]. *Genome Biology*, 2002, 3(12): RESEARCH0088.
- [37] HAN Z, FUJIOKA M, SU M, *et al.* Transcriptional integration of competence modulated by mutual repression generates cell-type specificity within the cardiogenic mesoderm[J]. *Developmental Biology*, 2002, 252(2): 225–240.

- [38] MONIER B, ASTIER M, SÉMÉRIVA M, *et al.* Steroid-dependent modification of hox function drives myocyte reprogramming in the *Drosophila* heart[J]. *Development*, 2005, 132(23): 5283–5293.
- [39] PERRIN L, MONIER B, PONZIELLI R, *et al.* *Drosophila* cardiac tube organogenesis requires multiple phases of Hox activity[J]. *Developmental Biology*, 2004, 272(2): 419–431.
- [40] RYAN K M, HOSHIZAKI D K, CRIPPS R M. Homeotic selector genes control the patterning of seven-up expressing cells in the *Drosophila* dorsal vessel[J]. *Mechanisms of Development*, 2005, 122(9): 1023–1033.
- [41] VOGLER G, BODMER R. Cellular mechanisms of *Drosophila* heart morphogenesis[J]. *Journal of Cardiovascular Development and Disease*, 2015, 2(1): 2–16.
- [42] SWOPE D, KRAMER J, KING T R, *et al.* *Cdc42* is required in a genetically distinct subset of cardiac cells during *Drosophila* dorsal vessel closure[J]. *Developmental Biology*, 2014, 392(2): 221–232.
- [43] VOGLER G, LIU J D, IAFE T W, *et al.* *Cdc42* and formin activity control non-muscle myosin dynamics during *Drosophila* heart morphogenesis[J]. *The Journal of Cell Biology*, 2014, 206(7): 909–922.
- [44] KING T R, KRAMER J, CHENG Y S, *et al.* Enabled/VASP is required to mediate proper sealing of opposing cardioblasts during *Drosophila* dorsal vessel formation[J]. *Developmental Dynamics*, 2021, 250(8): 1173–1190.
- [45] JAMMATH J, REIM I, SAUMWEBER H. Cbl-associated protein CAP contributes to correct formation and robust function of the *Drosophila* heart tube[J]. *PLoS One*, 2020, 15(5): e0233719.
- [46] PATEL M V, ZHU J Y, JIANG Z P, *et al.* *Gia/Mthl5* is an aorta specific GPCR required for *Drosophila* heart tube morphology and normal pericardial cell positioning[J]. *Developmental Biology*, 2016, 414(1): 100–107.
- [47] LO P C H, ZAFFRAN S, SÉNATORE S, *et al.* The *Drosophila Hand* gene is required for remodeling of the developing adult heart and midgut during metamorphosis[J]. *Developmental Biology*, 2007, 311(2): 287–296.
- [48] SHAH A P, NONGTHOMBA U, KELLY TANAKA K K, *et al.* Cardiac remodeling in *Drosophila* arises from changes in actin gene expression and from a contribution of lymph gland-like cells to the heart musculature[J]. *Mechanisms of Development*, 2011, 128(3/4): 222–233.
- [49] CHEN Z M, ZHU J Y, FU Y L, *et al.* *Wnt4* is required for ostia development in the *Drosophila* heart[J]. *Developmental Biology*, 2016, 413(2): 188–198.
- [50] PONZIELLI R, ASTIER M, CHARTIER A, *et al.* Heart tube patterning in *Drosophila* requires integration of axial and segmental information provided by the *Bithorax Complex* genes and *hedgehog* signaling[J]. *Development*, 2002, 129(19): 4509–4521.
- [51] ZEITOUNI B, SÉNATORE S, SÉVERAC D, *et al.* Signalling pathways involved in adult heart formation revealed by gene expression profiling in *Drosophila*[J]. *PLoS Genetics*, 2007, 3(10): 1907–1921.
- [52] TANG M, YUAN W Z, BODMER R, *et al.* The role of pygopus in the differentiation of intracardiac valves in *Drosophila*[J]. *Genesis*, 2014, 52(1): 19–28.
- [53] MEYER C, BATAILLÉ L, DRECHSLER M, *et al.* Tailup expression in *Drosophila* larval and adult cardiac valve cells[J]. *Genesis*, 2023, 61(1/2): e23506.
- [54] BATAILLÉ L, COLOMBIÉ N, PELLETIER A, *et al.* Alary muscles and thoracic alary-related muscles are atypical striated muscles involved in maintaining the position of internal organs[J]. *Development*, 2020, 147(8): dev185645.
- [55] LABEAU E M, TRUJILLO D L, CRIPPS R M. *Bithorax Complex* genes control alary muscle patterning along the cardiac tube of *Drosophila*[J]. *Mechanisms of Development*, 2009, 126(5/6): 478–486.
- [56] SCHAUB C, NAGASO H, JIN H, *et al.* *Org-1*, the *Drosophila* ortholog of *Tbx1*, is a direct activator of known identity genes during muscle specification[J]. *Development*, 2012, 139(5): 1001–1012.
- [57] BOUKHATMI H, FRENDO J L, ENRIQUEZ J, *et al.* *Tup15let1* integrates time and position to specify muscle identity in *Drosophila*[J]. *Development*, 2012, 139(19): 3572–3582.
- [58] BOUKHATMI H, SCHAUB C, BATAILLÉ L, *et al.* An *Org-1-Tup* transcriptional cascade reveals different types of alary muscles connecting internal organs in *Drosophila*[J]. *Development*, 2014, 141(19): 3761–3771.
- [59] SCHAUB C, MÄRZ J, REIM I, *et al.* *Org-1*-dependent lineage reprogramming generates the ventral longitudinal musculature of the *Drosophila* heart[J]. *Current Biology*, 2015, 25(4): 488–494.
- [60] KELLY K K, MEADOWS S M, CRIPPS R M. *Drosophila* MEF2 is a direct regulator of *Actin57B* transcription in cardiac, skeletal, and visceral muscle lineages[J]. *Mechanisms of Development*, 2002, 110(1/2): 39–50.
- [61] ZIKOVA M, DA PONTE J P, DASTUGUE B, *et al.* Patterning of the cardiac outflow region in *Drosophila*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 2003, 100(21): 12189–12194.
- [62] ZMOJDZIAN M, DA PONTE J P, JAGLA K. Cellular components and signals required for the cardiac outflow tract assembly in *Drosophila*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 2008, 105(7): 2475–2480.
- [63] ZMOJDZIAN M, JAGLA K. Tailup plays multiple roles during cardiac outflow assembly in *Drosophila*[J]. *Cell and Tissue Research*, 2013, 354(2): 639–645.
- [64] ZMOJDZIAN M, DE JOUSSINEAU S, DA PONTE J P, *et al.* Distinct subsets of *Eve*-positive pericardial cells stabilise cardiac outflow and contribute to *Hox* gene-triggered heart morphogenesis in *Drosophila*[J]. *Development*, 2018, 145(2): dev158717.
- [65] VOLK T, WANG S, ROTSTEIN B, *et al.* Matricellular proteins in development: perspectives from the *Drosophila* heart[J]. *Matrix Biology*, 2014, 37: 162–166.
- [66] HOLLFELDER D, FRASCH M, REIM I. Distinct functions of the laminin β LN domain and collagen IV during cardiac extracellular matrix formation and stabilization of alary muscle attachments revealed by EMS mutagenesis in *Drosophila*[J]. *BMC Developmental Biology*, 2014, 14: 26.
- [67] CHARTIER A, ZAFFRAN S, ASTIER M, *et al.* Pericardin, a *Drosophila* type IV collagen-like protein is involved in the morphogenesis and maintenance of the heart epithelium during dorsal ectoderm closure[J]. *Development*, 2002, 129(13): 3241–3253.
- [68] HILLYER J F, PASS G. The insect circulatory system: structure, function, and evolution[J]. *Annual Review of Entomology*, 2020, 65: 121–143.
- [69] FU Y, YAN W, MOHUN T J, *et al.* Vertebrate *tinman* homologues *XNkx2-3* and *XNkx2-5* are required for heart formation in a functionally redundant manner[J]. *Development*, 1998, 125(22): 4439–4449.
- [70] RAMAIN P, HEITZLER P, HAENLIN M, *et al.* *Pannier*, a negative regulator of *achaete* and *scute* in *Drosophila*, encodes a zinc finger protein with homology to the vertebrate transcription factor *GATA-1*[J]. *Development*, 1993, 119(4): 1277–1291.
- [71] YAMADA M, REVELLI J P, EICHELE G, *et al.* Expression of chick *Tbx-2*, *Tbx-3*, and *Tbx-5* genes during early heart development: evidence for BMP2 induction of *Tbx2*[J]. *Developmental Biology*, 2000, 228(1): 95–105.
- [72] TSUCHIHASHI T, MAEDA J, SHIN C H, *et al.* *Hand2* function in second heart field progenitors is essential for cardiogenesis[J]. *Developmental Biology*, 2011, 351(1): 62–69.

- [13] CASS A N, SERVETNICK M D, MCCUNE A R. Expression of a lung developmental cassette in the adult and developing zebrafish swimbladder[J]. *Evolution & Development*, 2013, 15(2): 119–132.
- [14] ZHENG W L, WANG Z Y, COLLINS J E, *et al.* Comparative transcriptome analyses indicate molecular homology of zebrafish swimbladder and mammalian lung[J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): e24019.
- [15] 韩建, 何秋霞, 韩利文, 等. 化学污染物对鱼鳔的毒理学研究进展[J]. *生态毒理学报*(HAN Jian, HE Qiuxia, HAN Liwen, *et al.* Review on toxicology of chemical pollutants on fish swimbladder[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*), 2016, 11(6): 37–43.
- [16] 陈鑫, 李文华. 氟唑菌酰胺干扰斑马鱼(*Danio rerio*)鱼鳔的发育[J]. *生态毒理学报*(CHEN Xin, LI Wenhua. Metaflumizone disrupts swim bladder development in zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*), 2022, 17(3): 454–461.
- [17] YIN A, KORZH S, WINATA C L, *et al.* Wnt signaling is required for early development of zebrafish swimbladder[J]. *PLoS One*, 2011, 6(3): e18431.
- [18] WINATA C L, KORZH S, KONDRYCHYN I, *et al.* Development of zebrafish swimbladder: the requirement of Hedgehog signaling in specification and organization of the three tissue layers[J]. *Developmental Biology*, 2009, 331(2): 222–236.
- [19] SJERPS R M A, KOIJ P J F, VAN LOON A, *et al.* Occurrence of pesticides in Dutch drinking water sources[J]. *Chemosphere*, 2019, 235: 510–518.
- [20] HE M, JIA C H, ZHAO E C, *et al.* Concentrations and dissipation of difenoconazole and fluxapyroxad residues in apples and soil, determined by ultrahigh-performance liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(6): 5618–5626.
- [21] ROBERTSON G N, LINDSEY B W, DUMBARTON T C, *et al.* The contribution of the swimbladder to buoyancy in the adult zebrafish (*Danio rerio*): a morphometric analysis[J]. *Journal of Morphology*, 2008, 269(6): 666–673.
- [22] GOOLISH E M, OKUTAKE K. Lack of gas bladder inflation by the larvae of zebrafish in the absence of an air-water interface[J]. *Journal of Fish Biology*, 1999, 55(5): 1054–1063.
- [23] CHEN X, QIU T T, XIAO P, *et al.* Retinal toxicity of isoflucypram to zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Aquatic Toxicology*, 2022, 243: 106073.

(上接第 11 页)

- [73] SHI Y Q, KATSEV S, CAI C L, *et al.* BMP signaling is required for heart formation in vertebrates[J]. *Developmental Biology*, 2000, 224(2): 226–237.
- [74] TIAN Y, COHEN E D, MORRISEY E E. The importance of Wnt signaling in cardiovascular development[J]. *Pediatric Cardiology*, 2010, 31(3): 342–348.
- [75] AHMAD S M. Conserved signaling mechanisms in *Drosophila* heart development[J]. *Developmental Dynamics*, 2017, 246(9): 641–656.
- [76] PARK S, BUSTAMANTE E L, ANTONOVA J, *et al.* Specification of *Drosophila* corpora cardiaca neuroendocrine cells from mesoderm is regulated by notch signaling[J]. *PLoS Genetics*, 2011, 7(8): e1002241.
- [77] PIERPONT M E, BRUECKNER M, CHUNG W K, *et al.* Genetic basis for congenital heart disease: revisited: a scientific statement from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2018, 138(21): e653–e711.
- [78] COWAN J R, WARE S M. Genetics and genetic testing in congenital heart disease[J]. *Clinics in Perinatology*, 2015, 42(2): 373–393.
- [79] HOMSY J, ZAIDI S, SHEN Y F, *et al.* De novo mutations in congenital heart disease with neurodevelopmental and other congenital anomalies[J]. *Science*, 2015, 350(6265): 1262–1266.
- [80] JIN S C, HOMSY J, ZAIDI S, *et al.* Contribution of rare inherited and de novo variants in 2,871 congenital heart disease probands[J]. *Nature Genetics*, 2017, 49(11): 1593–1601.
- [81] SOUIDI A, JAGLA K. *Drosophila* heart as a model for cardiac development and diseases[J]. *Cells*, 2021, 10(11): 3078.
- [82] ZHU J Y, FU Y L, NETTLETON M, *et al.* High throughput *in vivo* functional validation of candidate congenital heart disease genes in *Drosophila*[J]. *eLife*, 2017, 6: e22617.
- [83] AKASAKA T, OCORR K, LIN L Z, *et al.* Overexpression of *Kif1A* in the developing *Drosophila* heart causes valvar and contractility defects: implications for human congenital heart disease[J]. *Journal of Cardiovascular Development and Disease*, 2020, 7(2): 22.
- [84] SCHROEDER A M, ALLAHYARI M, VOGLER G, *et al.* Model system identification of novel congenital heart disease gene candidates: focus on *RPL13J*. *Human Molecular Genetics*, 2019, 28(23): 3954–3969.
- [85] KLINKE N, MEYER H, RATNAVADIVEL S, *et al.* A *Drosophila melanogaster* model for *TMEM43*-related arrhythmic right ventricular cardiomyopathy type 5[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2022, 79(8): 444.
- [86] AUXERRE-PLANTIÉ E, NIELSEN T, GRUNERT M, *et al.* Identification of *MYOM2* as a candidate gene in hypertrophic cardiomyopathy and tetralogy of Fallot, and its functional evaluation in the *Drosophila* heart[J]. *Disease Models & Mechanisms*, 2020, 13(12): dmm045377.
- [87] BHARUCHA K N. The epicurean fly: using *Drosophila melanogaster* to study metabolism[J]. *Pediatric Research*, 2009, 65(2): 132–137.
- [88] BIRSE R T, CHOI J, REARDON K, *et al.* High-fat-diet-induced obesity and heart dysfunction are regulated by the TOR pathway in *Drosophila*[J]. *Cell Metabolism*, 2010, 12(5): 533–544.
- [89] PICHÉ M E, TCHERNOF A, DESPRÉS J P. Obesity phenotypes, diabetes, and cardiovascular diseases[J]. *Circulation Research*, 2020, 126(11): 1477–1500.
- [90] GUIDA M C, BIRSE R T, DALL'AGNESE A, *et al.* Intergenerational inheritance of high fat diet-induced cardiac lipotoxicity in *Drosophila*[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 193.
- [91] ZARNDT R, WALLS S M, OCORR K, *et al.* Reduced cardiac *calcineurin* expression mimics long-term hypoxia-induced heart defects in *Drosophila*[J]. *Circulation: Cardiovascular Genetics*, 2017, 10(5): e001706.
- [92] PATERNOSTRO G, VIGNOLA C, BARTSCH D U, *et al.* Age-associated cardiac dysfunction in *Drosophila melanogaster*[J]. *Circulation Research*, 2001, 88(10): 1053–1058.
- [93] CANNON L, ZAMBON A C, CAMMARATO A, *et al.* Expression patterns of cardiac aging in *Drosophila*[J]. *Aging Cell*, 2017, 16(1): 82–92.
- [94] OCORR K, REEVES N L, WESSELLS R J, *et al.* KCNQ potassium channel mutations cause cardiac arrhythmias in *Drosophila* that mimic the effects of aging[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 2007, 104(10): 3943–3948.
- [95] TANG M, YUAN W Z, FAN X W, *et al.* Pygopus maintains heart function in aging *Drosophila* independently of canonical Wnt signaling[J]. *Circulation: Cardiovascular Genetics*, 2013, 6(5): 472–480.