

医学信息速递

Medical Information Express



传递最有价值的医学信息

母体铁缺乏导致小鼠胚胎雄性向雌性的性别逆转

Maternal iron deficiency causes male-to-female sex reversal in mouse embryos

母体铁缺乏导致XY胚胎性别逆转的机制研究

医学与信息部

2025-06

目录

CONTENTS

01

文献简介

02

实验方法和关键结果

03

小结及提示



01

文献简介



传递最有价值的医学信息

母体铁缺乏导致小鼠胚胎雄性向雌性的性别逆转

Maternal iron deficiency causes male-to-female sex reversal in mouse embryos

【作者】 Naoki Okashita, Peter Koopman等

【作者单位】 大阪大学, 昆士兰大学

【出版时间】 2025年6月

【杂志】 Nature

【影响因子】 42.778

Article

Maternal iron deficiency causes male-to-female sex reversal in mouse embryos

https://doi.org/10.1038/s41586-025-09063-2 Naoki Okashita¹, Ryo Maeda¹, Shunsuke Kuroki¹, Kyona Sasaki¹, Yoko Uno¹, Peter Koopman² & Makoto Tachibana^{1,2}

Received: 29 June 2024

Accepted: 24 April 2025

Published online: 04 June 2025

Check for updates

Ferrous iron (Fe^{2+}) is essential in all eukaryotic cells for various oxidoreductase reactions, including the demethylation of DNA and proteins. Histone demethylation is required for normal epigenetic regulation of the Y-chromosomal sex-determining gene *Sry* in developing gonads during male sex determination^{1,2}. Here we investigate the potential connection between iron metabolism, histone demethylation and sex determination in mammals. We found that Fe^{2+} -producing pathways are substantially activated in mouse embryonic gonads during the sex-determining period. Chelation of iron in cultured XY gonads reduced the level of KDM3A-mediated H3K9 demethylation of *Sry*, mostly abolished *Sry* expression and caused the gonads to express ovarian markers. In vivo, conditional deletion of the gene *Tfr*, which is required for iron incorporation in fetal XY gonadal somatic cells, or acute pharmaceutical suppression of available iron in pregnant mice, resulted in male-to-female gonadal sex reversal in a proportion of offspring, highlighting the pivotal role of iron metabolism in male sex determination. Finally, long-term feeding of pregnant mice with a low-iron diet, when combined with a heterozygous variant of *Kdm3a* that by itself has no observable effect, suppressed *Sry* expression and caused male-to-female sex reversal in some of the progeny, revealing a connection between maternal dietary iron and fetal developmental outcomes.

During sex determination in mammals, sexually bipotential gonads differentiate into testes as a result of expression of the testis-determining gene *Sry* (refs. 3, 4). In mice, *Sry* expression is tightly regulated⁵; it is activated only in a subpopulation of gonadal somatic cells, termed pre-Sertoli cells, and only from embryonic day (E) 10.5 to E12.5. The methylation of DNA and/or histones in chromatin influences the transcription of developmental genes, and we have previously shown that the JmjC-family H3K9 demethylase KDM3A, which is expressed predominantly in pre-Sertoli cells in developing gonads⁶, activates *Sry* by demethylating H3K9me2—a hallmark for transcriptionally suppressed heterochromatin—on the *Sry* locus⁷.

Iron has an indispensable role not only in the transport of oxygen but also in a wide series of intracellular enzymatic reactions for oxidation and reduction. The JmjC-family histone demethylases require labile Fe^{2+} for their enzymatic activity; iron metabolism is tightly regulated by cellular incorporation, utilization, storage and excretion mechanisms⁸; however, the extent and nature of the cross-talk between iron metabolism and histone demethylation in development and physiology is largely unknown. Here we show that iron metabolism has a crucial function in KDM3A-mediated male sex determination in mice, revealing an unexpected link between metabolism and male sex determination in mammals.

Fe^{2+} actively accumulates in pre-Sertoli cells

The genes and proteins involved in cellular iron metabolism can be classified into three categories according to their functions: iron incorporation (*Tfr* (encoding TFR1) and *Scara5* (SCARAS)); Fe^{2+} production (*Svep3* (STEAP3), *Sik1a2* (DMT1), *Ncoo4* (NCOM4) and *Hmox1* (HMO1)); and iron excretion (*Sik4o2* (IPN) and *Heph* (HEPH)) (Fig. 1a). We first examined the activity of these genes during mouse gonadal development.

We separated NR5A1⁺ gonadal somatic cells and NR5A1⁺ mesonephric and germ cells from the gonads and mesonephros at the sex-determining period, E11.5, according to previously published methods⁹ (Extended Data Fig. 1a); only the former population contributes to sex determination. Quantitative mRNA expression analysis confirmed that the NR5A1⁺ fraction included *Sry*-expressing (pre-Sertoli) cells but the NR5A1⁺ fraction did not (Fig. 1b). Consistent with previous studies¹⁰, *Kdm3a* was expressed more abundantly in NR5A1⁺ than in NR5A1[−] cells (Fig. 1b). The iron-incorporation genes *Tfr* and *Scara5*, and Fe^{2+} -production genes *Sik1a2*, *Svep3*, *Ncoo4* and *Hmox1*, were more abundant in NR5A1⁺ than in NR5A1[−] cells, but the reverse was true for the iron-excretion genes *Sik4o2* and *Heph* (Fig. 1b). The mitochondrial Fe^{2+} -incorporation gene *Sik2s37* was less abundant in NR5A1⁺ than in NR5A1[−] cells (Extended Data Fig. 1b). Collectively, our gene-expression analysis indicates that Fe^{2+} accumulates in the cytosol and nucleus of the cells responsible for gonadal sex determination.

Laboratory of Epigenome Dynamics, Graduate School of Frontier Biosciences, Osaka University, Suita, Japan; ²Institute for Molecular Bioscience, University of Queensland, St. Lawrence, Queensland, Australia. *e-mail: tachibana.makoto@fbs.osaka-u.ac.jp



Sry: Sex-determining region Y gene, 性别决定区Y基因

KDM3A : 组蛋白去甲基化酶3A。一种依赖Fe²⁺发挥功能的组蛋白去甲基化酶, 负责清除包括Sry启动子在内的H3K9me2标记。

H3K9me2: 组蛋白H3第9位赖氨酸二甲基化

Tfrc : 转铁蛋白受体1基因

TFR1: 转铁蛋白受体1

NR5A1⁺ : 核受体亚家族5A组1阳性



背景

- 二价铁离子 (Fe^{2+}) 对所有真核细胞的氧化还原反应至关重要，包括DNA和蛋白质的去甲基化过程。在雄性性别决定期间，发育中的性腺需要通过组蛋白去甲基化对Y染色体性别决定基因 *Sry* 进行正常的表观遗传调控。

目的

- 探讨铁代谢、组蛋白去甲基化与哺乳动物性别决定之间的潜在关联。

发现

- 在小鼠胚胎性腺的性别决定关键期， Fe^{2+} 生成通路被显著激活。
- 体外培养XY性腺时，铁螯合剂会降低 *Sry* 位点KDM3A介导的H3K9去甲基化水平，基本抑制 *Sry* 表达，并导致性腺表达卵巢标志物。
- 在体内实验中，性腺体细胞条件性敲除铁摄取必需基因 *Tfrc*，或对孕鼠进行可利用铁的急性药物抑制，可导致部分子代出现XY性腺的雄性向雌性的性别反转。
- 孕鼠长期低铁饮食联合Kdm3a杂合变异（该变异本身无表型效应）会抑制 *Sry* 表达并引起部分后代性别逆转。

结果

- 在性别决定关键期，KDM3A及铁代谢相关基因在雄性性别决定细胞中的表达显著高于周围其他细胞类型。
- 胚胎期性腺体细胞中铁代谢平衡对雄性性别决定具有重要作用，同时说明TFR1介导的铁摄取通路参与KDM3A对 *Sry* 基因的表观遗传调控机制。
- 研究揭示了铁代谢在小鼠性别决定中的关键作用，特别是通过影响KDM3A介导的 *Sry* 位点的H3K9去甲基化来调控 *Sry* 的表达。
- 母体铁缺乏可通过干扰 Fe^{2+} 依赖的KDM3A活性，抑制 *Sry* 的表观遗传激活过程，进而诱发胎儿的性别逆转。

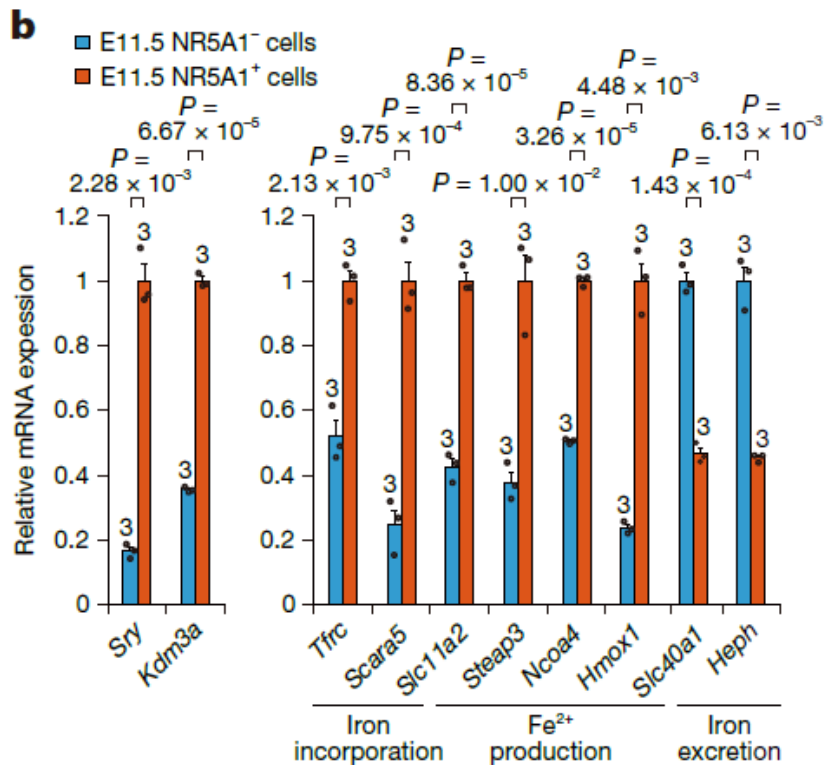


02

实验方法和关键结果



二价铁离子(Fe^{2+})在睾丸前支持细胞(pre-Sertoli cells)中呈现活性累积特征



研究方法：采用已经发表的方法，分离E11.5性别决定期的性腺细胞。

- **NR5A1⁺群体：**含Sry表达细胞（性腺体细胞，主导性别决定）
- **NR5A1⁻群体：**中肾细胞与生殖细胞（不参与性别决定）

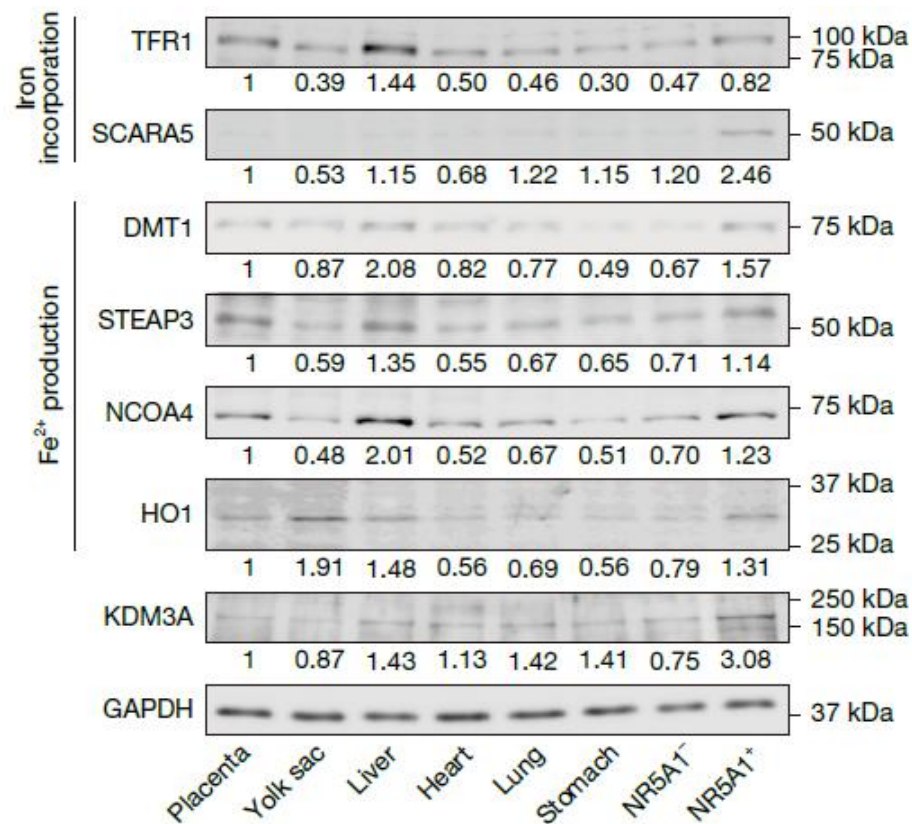
定量mRNA分析：确认NR5A1⁺组分特异性表达Sry（pre-Sertoli细胞标志）

发现：与铁摄取、铁产生相关的基因在NR5A1⁺细胞中表达更为丰富；与铁排泄相关基因则相反。

结论： **Fe^{2+} 在性腺性别决定细胞的胞质与核内特异性累积**，这一空间分布特征与其表观调控功能相耦合。



铁摄取和Fe²⁺产生基因以及KDM3A在前索细胞中表达更为丰富



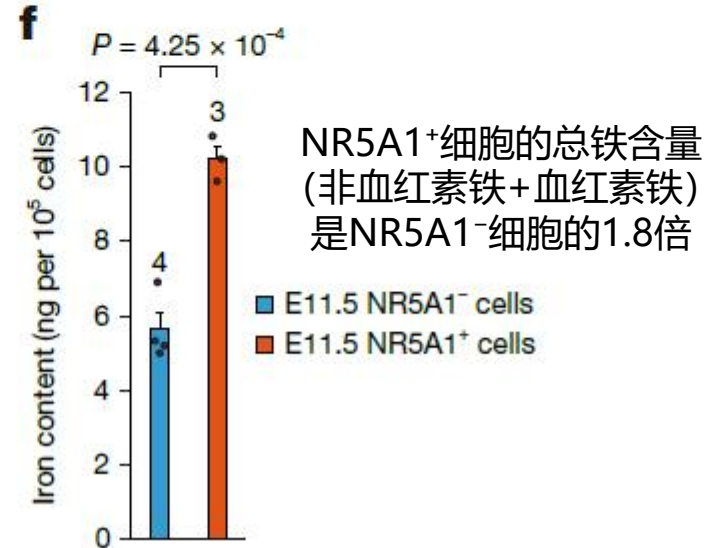
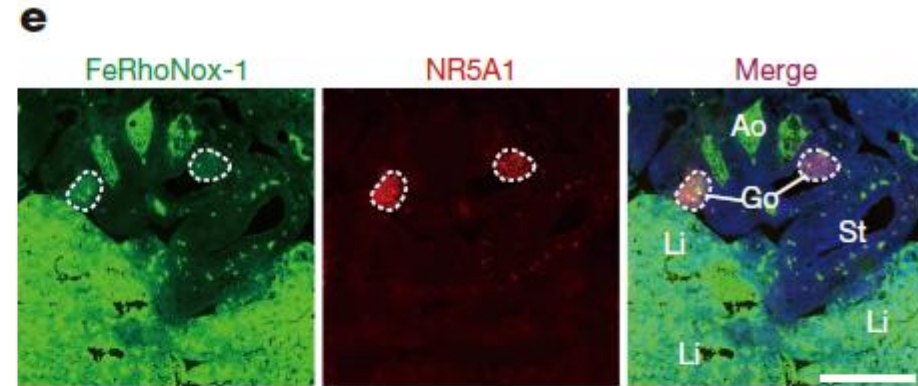
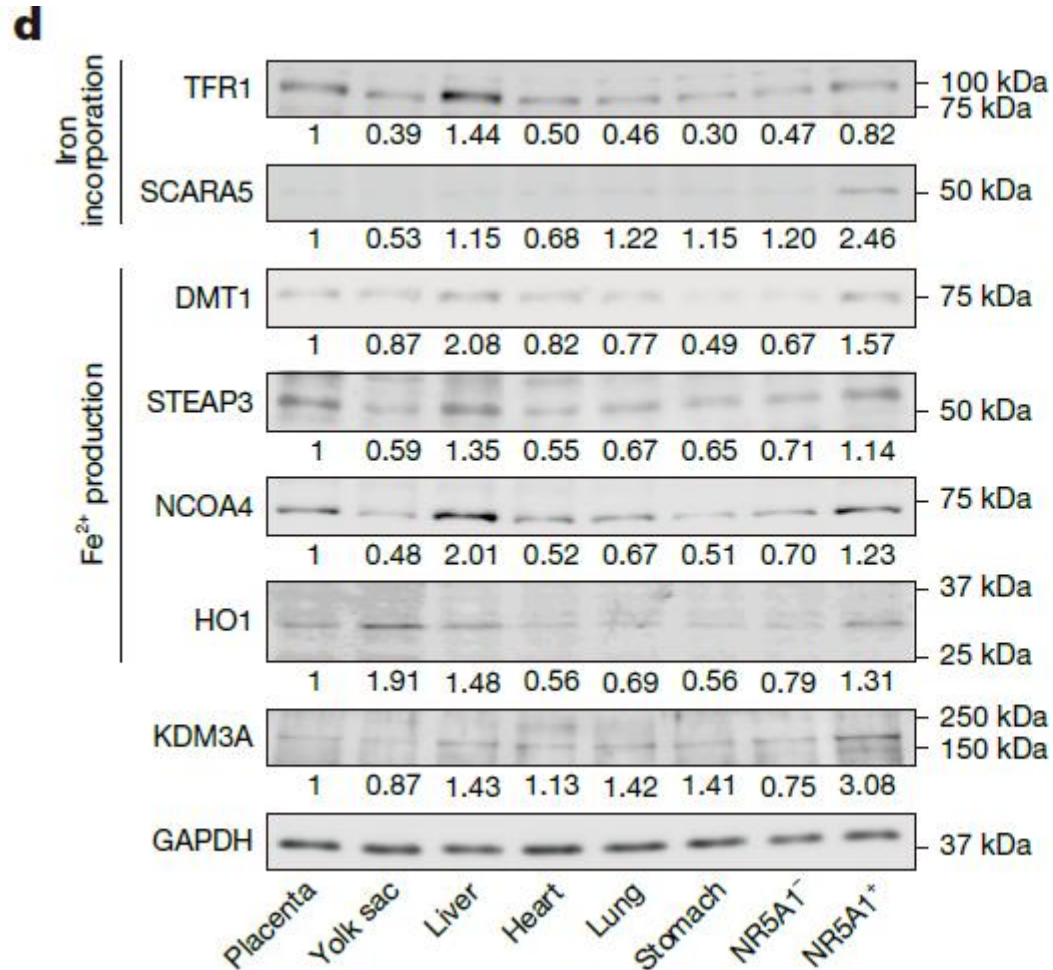
人类发育性腺中铁代谢基因的细胞类型
特异性表达模式

数据分析方法：基于GEO数据库编号GSE184708的scRNA-seq数据集，重点解析了E11.5时期性腺与中肾组织中各细胞类型的铁代谢相关基因表达谱。

发现：铁摄入基因（Tfrc/Scara5）、Fe²⁺生成基因（Steap3/Slc11a2/Ncoa4/Hmox1）及表观调控因子Kdm3a在睾丸前支持细胞(pre-Sertoli cells)中的表达量显著高于其他性腺细胞类型。

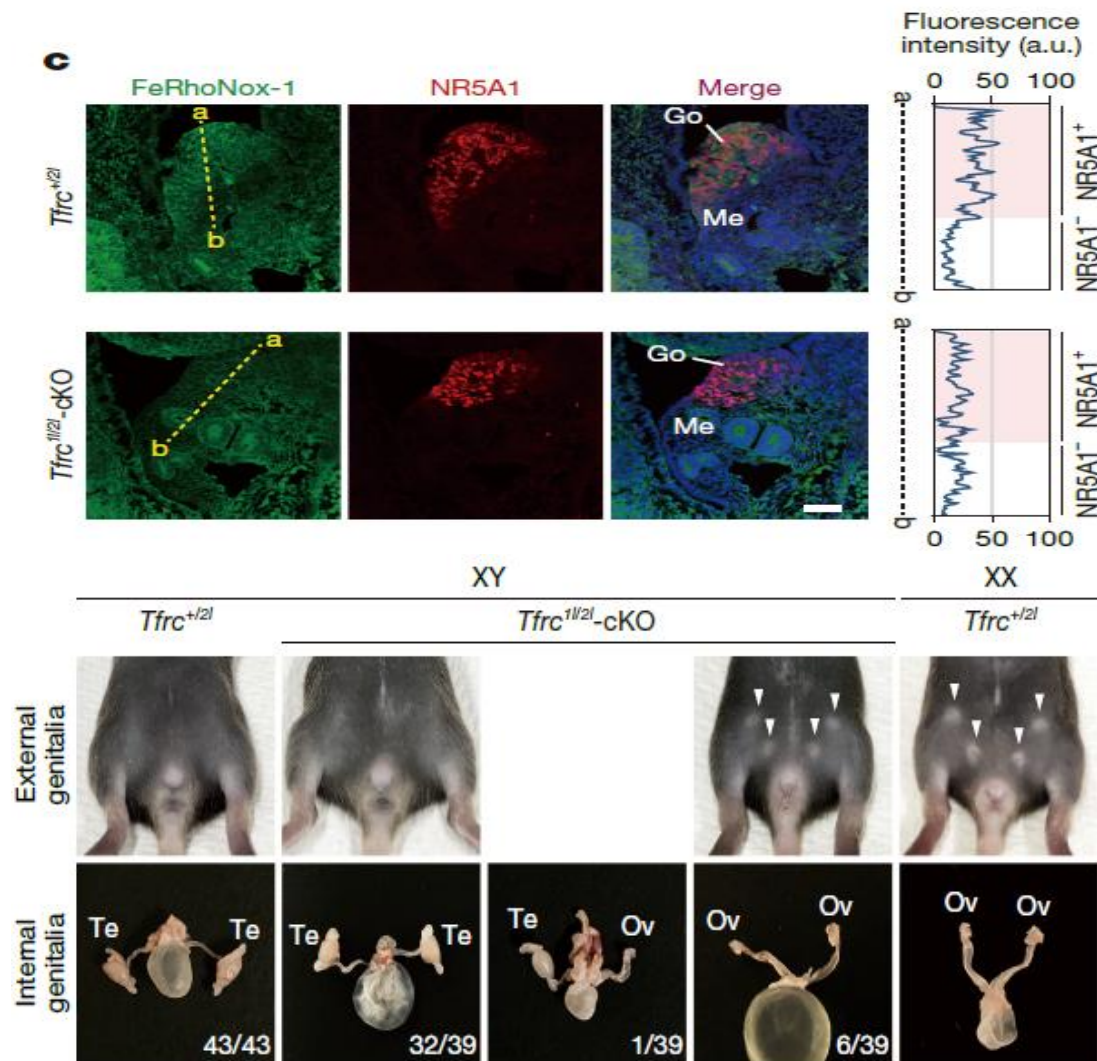
跨物种验证：对人类XY胚胎发育性腺的scRNA-seq数据分析进一步揭示，**在性别决定关键期，KDM3A及铁代谢相关基因在雄性性别决定细胞中的表达显著高于周围其他细胞类型。**

铁摄取和Fe²⁺产生蛋白在性腺中的表达强度显著高于其他组织（除肝脏外）



- 通过免疫荧光技术检测：E11.5 XY胚胎**完整性腺中铁代谢蛋白的表达谱**，选用NR5A1和GATA4蛋白作为性腺体细胞的标记物。**铁摄入蛋白**（TFR1、SCARA5）和**Fe²⁺生成蛋白**（NCOA4、HO1）**在性腺中的表达强度显著高于其他组织（肝脏除外）。**

TFR1功能的缺失可影响性腺体细胞的铁摄取与富集能力



TFR1缺失的表观遗传效应

条件性敲除Tfrc导致：

- 性腺 Fe^{2+} 下降50%；
- Sry位点H3K9me2增加2倍；
- Tfrc条件性敲除(Tfrc-cKO)小鼠的发育情况，39只XY小鼠中有6只完全发生了雄性到雌性的性别逆转，出现两个卵巢；另有1只表现出部分雌性化(一个睾丸、一个卵巢)。

- **结果显示**，在E10.8这一性别决定前的关键时间点，正常XY胚胎的性腺中 Fe^{2+} 含量较高；而在Tfrc条件性敲除(Tfrc-cKO)小鼠中，性腺内的Fe水平却显著下降。
- **胚胎期性腺体细胞中铁代谢平衡对雄性性别决定具有重要作用**，同时说明TFR1介导的铁摄取通路参与KDM3A对Sry基因的表观遗传调控机制。

TFRI介导的铁摄取对Sry基因启动子处H3K9去甲基化的影响

Tfrc基因：通过内化转铁蛋白-铁复合物在细胞铁摄入中起核心作用

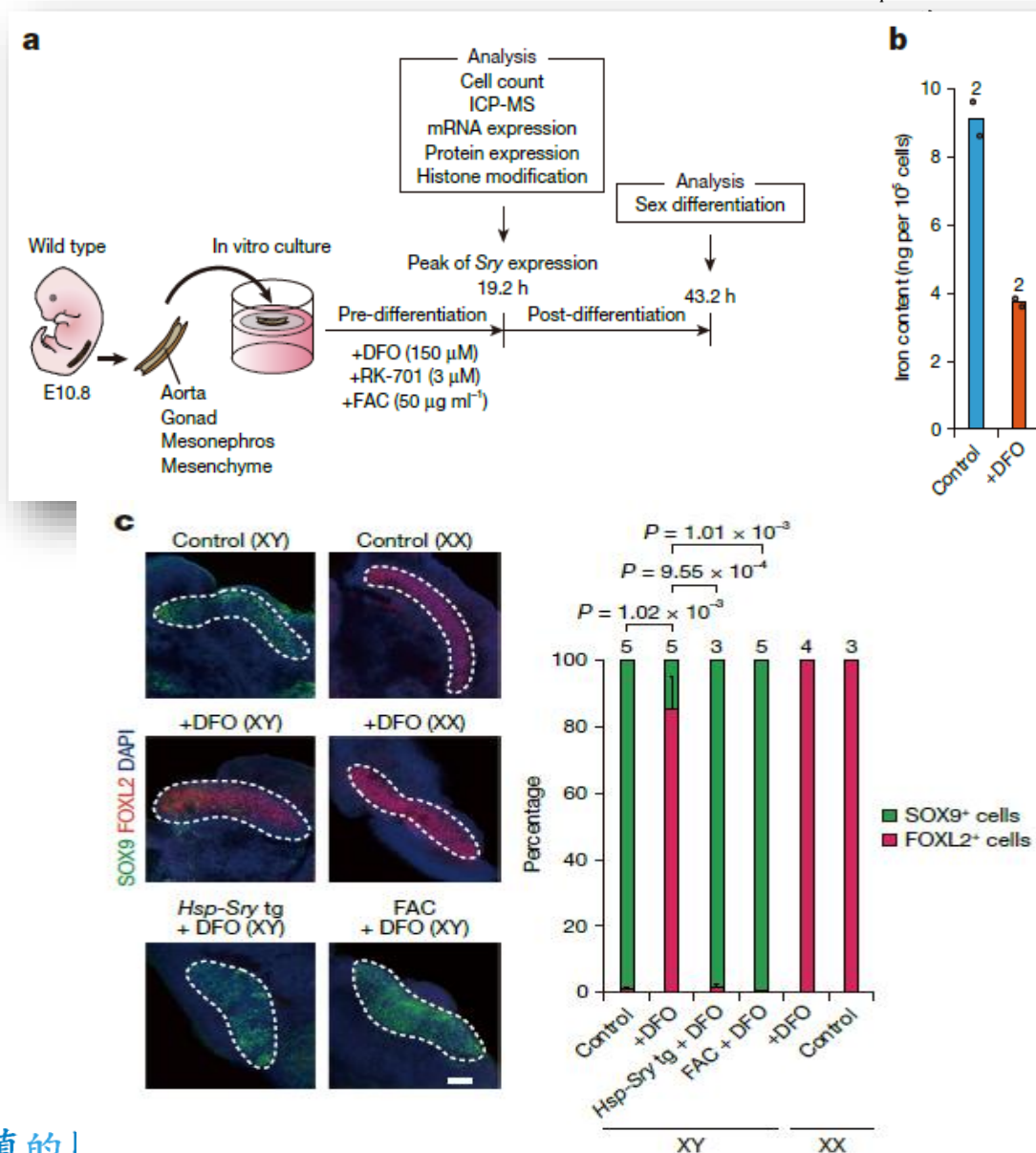
传递最有价值的医学信息

铁缺乏通过影响组蛋白去甲基化状态，干扰Sry的激活，从而诱发性别逆转

方法：建立体外性腺培养系统，并通过添加铁螯合剂DFO人为制造缺铁环境。

发现：DFO处理显著**降低了细胞内铁水平**，增加了H3K9me2水平，降低了Sry表达，并**导致雄性性腺向雌性性腺转化**：本应发育为睾丸的XY性腺开始偏向“雌性程序”，近90%的细胞表达了卵巢标志物FOXL2，呈现出明显的雌性化趋势。**当同时补充足量铁离子时，XY性腺的雄性分化完全恢复。**

结论：DFO处理导致的雄性向雌性性别逆转源于内源性Sry表达缺失，DFO诱导的**性别逆转表型确由铁缺乏所致**。



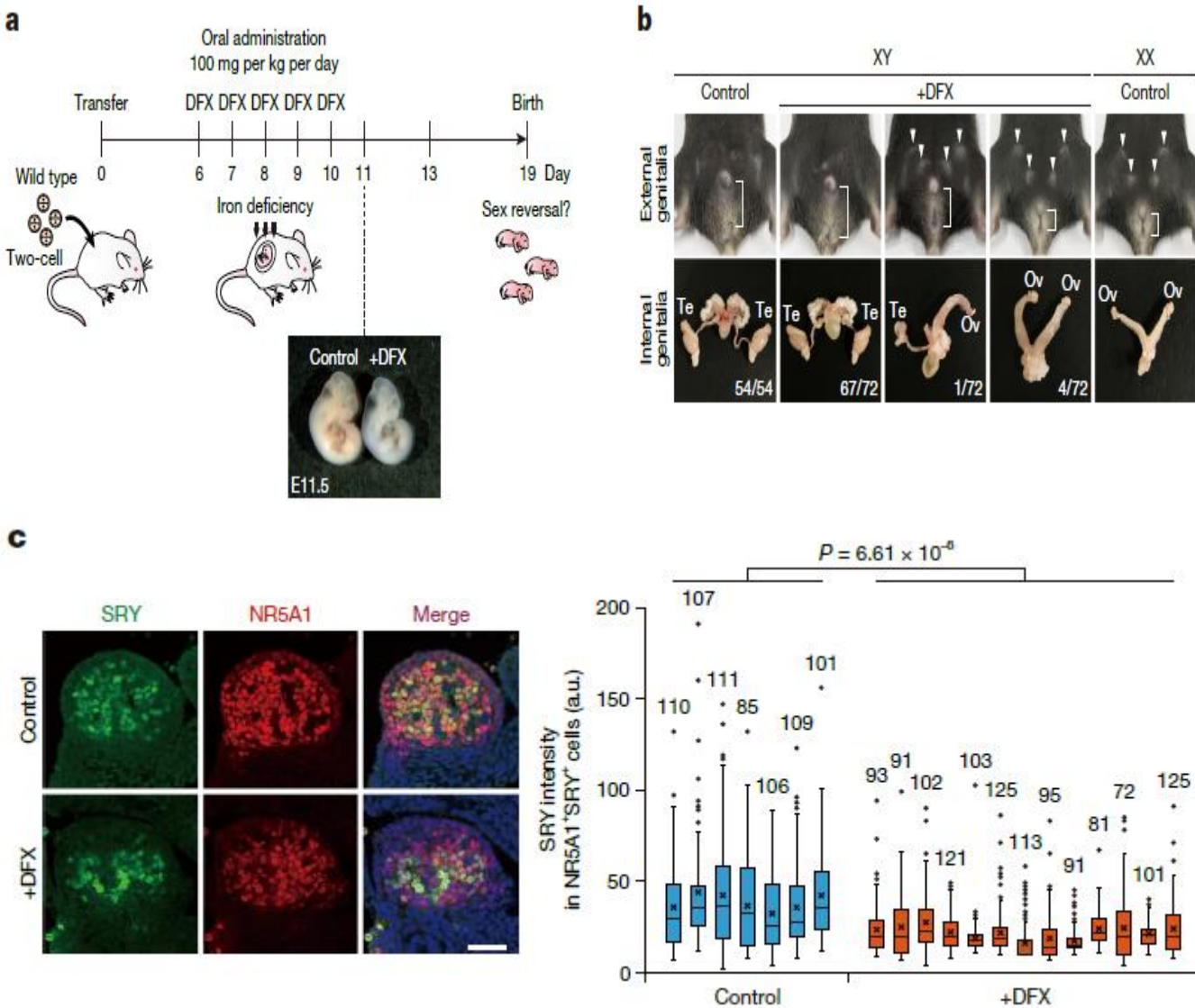
性别决定关键期母体急性铁缺乏会导致部分野生型XY子代发生雄性向雌性的性别逆转

方法：通过口服铁螯合剂地拉罗司（DFX）16对孕鼠进行药物诱导，在胚胎性别决定关键期（E6.5至E10.5）建立母体铁缺乏模型。

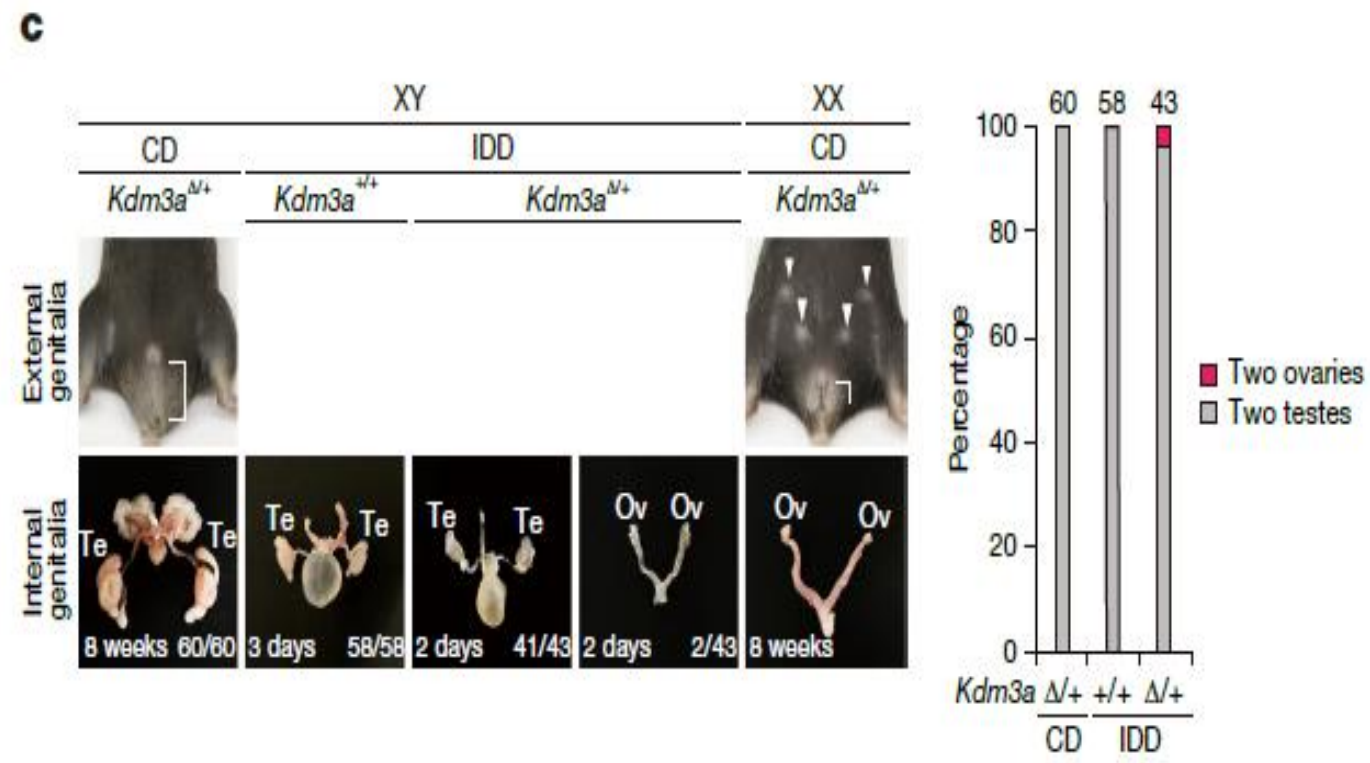
发现：DFX处理组胚胎XY性腺中SRY蛋白表达量较对照组降低近40%，其NR5A1+细胞中Sry mRNA表达量也降至对照组的约40%。子宫内发育的胚胎其NR5A1+细胞在铁缺乏状态下同样呈现Kdm3a及铁代谢基因上调、KDM3A靶基因下调的表达模式。

结果：在DFX处理组，72只XY子代中，4只出现双侧卵巢表型，1只为卵巢-睾丸并存。

结论：性别决定关键期的**母体急性铁缺乏会导致部分野生型XY子代发生雄性向雌性的性别逆转**。母体铁缺乏可通过干扰Fe²⁺依赖的KDM3A活性，抑制Sry的表观遗传激活过程，进而诱发胎儿的性别逆转。



母体铁缺乏干扰Fe²⁺依赖的KDM3A活性，抑制Sry激活，诱发性别逆转



方法及结果： Kdm3a杂合突变背景下,铁缺乏饮食孕鼠43只Kdm3aΔ/+ XY子代中，有2只发生性别逆转(约5%)，而正常饮食组中无一例发生。

结论： 进一步印证母体铁缺乏可通过干扰Fe²⁺依赖的KDM3A活性，抑制Sry的表观遗传激活过程，进而诱发胎儿的性别逆转。

核心发现：铁代谢与性别决定的联系

铁-KDM3A-Sry调控轴

铁摄入 (TFR1) → Fe^{2+} 生成 (STEAP3/HO1) → KDM3A激活 → Sry去甲基化 → 睾丸发育

“铁代谢状态” → “表观遗传调控” → “性别决定”



03

小结及提示



传递最有价值的医学信息

- **铁代谢与性别决定的联系：**研究揭示了铁代谢在小鼠性别决定中的关键作用，特别是通过影响KDM3A介导的Sry位点的H3K9去甲基化来调控Sry的表达。
- **对人类健康的意义：**母体铁缺乏或铁代谢相关基因的突变可导致雄性胚胎性别逆转，强调了维持孕期适当铁水平对于胎儿正常性别分化的重要性。

提示

- 营养代谢状态，尤其是铁的可用性，可能通过调控关键发育基因的表达从根本上塑造胚胎命运。
- 这项研究主要基于动物模型，在人类中的普适性需进一步验证。



谢谢关注！

thanks for your attention.



传递最有价值的医学信息