

·综述·

DOI: 10.16605/j.cnki.1007-7847.2017.06.014

精子相关抗原 4 的功能及其在疾病中的作用

马殊伦^a, 唐莉莎^a, 李恺璇^a, 邢晓为^{b*}

(中南大学 a. 湘雅医学院; b. 湘雅三医院医学实验中心, 中国湖南 长沙 430013)

摘要: 精子相关抗原 4 (sperm associated antigen 4, SPAG4) 是 SUN (Sad-1, UNC-84) 蛋白家族成员。近年来的研究发现, SPAG4 可以维持精子头部结构的完整性, 参与精子尾部发育, 其功能异常可导致雄性不育。此外, SPAG4 mRNA 在多种肿瘤细胞中表达, 是一种潜在的肿瘤标志物。对肾透明细胞癌的最新研究发现, SPAG4 表达增高将促进肿瘤细胞的增殖和侵袭, 其表达受缺氧诱导因子 1 (hypoxia inducible factor 1, HIF-1) 调控。对 SPAG4 功能的深入研究, 将有助于阐明男性不育的分子机制并为研究肿瘤的发生发展提供新的候选靶标。

关键词: 精子相关抗原 4 (SPAG4); SUN 结构域蛋白; 精子发生; 雄性不育; 肿瘤

中图分类号: Q51

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2017)06-0547-05

The Function of Sperm Associated Antigen 4 and Its Roles in Diseases

MA Shu-lun^a, TANG Li-sha^a, LI Kai-xuan^a, XING Xiao-wei^{b*}

(a. Xiangya School of Medicine; b. The Center for Experimental Medicine Research, the Third Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410013, Hunan, China)

Abstract: Sperm associated antigen 4 (SPAG4) is a member of the SUN (Sad-1, UNC-84) protein family. In recent years, it has been found that SPAG4 plays an important role in the maintenance of sperm head structure. SPAG4 also participates in the development of sperm tail, and dysfunction of SPAG4 will lead to male infertility. Furthermore, SPAG4 mRNA is expressed in many tumor tissues, and this makes it a potential tumor marker. Recent studies on renal clear cell carcinoma have shown that high expression of SPAG4 promotes proliferation and invasion of tumor cells. The expression of SPAG4 is regulated by hypoxia inducible factor 1 (HIF-1). Further study on the function of SPAG4 will be helpful to elucidate the molecular mechanism of male infertility and to provide a new candidate target for the study of occurrence and development of tumors.

Key words: sperm associated antigen 4 (SPAG4); SUN domain protein; spermatogenesis; male infertility; tumor
(*Life Science Research*, 2017, 21(6): 547-551)

核膜由内核膜和外核膜组成, 内外核膜之间由核周隙分隔, 目前已发现超过 100 种核膜蛋白整合于内核膜和外核膜上^[1-3]。SUN 结构域蛋白是近年来发现的一类新的核膜蛋白, 最早在酵母、线虫等真核生物中发现^[4, 5]。由于酵母 Sad-1 和线虫 UNC-84 C-端具有高度同源性, 因而将这段序列命名为 Sad-1/UNC-84 (SUN) domain。SUN 结构域蛋白的 N-端结构域能够与核纤层蛋白相互作用^[6], C-端的 SUN 结构域在核周腔与外核膜的 KASH (Klarsicht/ANC-1/Syne homology) 蛋白结合形成 LINC (linker of nucleoskeleton and cytoskeleton) 复合体^[7-9]。SUN 蛋白通常形成三聚体与同等比例的 KASH 蛋白结合形成异源六聚体^[10]。LINC 复合体在核定位^[11]、细胞核迁移^[12, 13]、DNA 损伤修复^[14]以及某些特定疾病发生发展^[15]等方面都起到了重要作用。

核膜由内核膜和外核膜组成, 内外核膜之间由核周隙分隔, 目前已发现超过 100 种核膜蛋白整合于内核膜和外核膜上^[1-3]。SUN 结构域蛋白是近年来发现的一类新的核膜蛋白, 最早在酵母、线虫等真核生物中发现^[4, 5]。由于酵母 Sad-1 和线虫 UNC-84 C-端具有高度同源性, 因而将这段序列命名为 Sad-1/UNC-84 (SUN) domain。SUN 结构域蛋白的 N-端结构域能够与核纤层蛋白相互作用^[6], C-端的 SUN 结构域在核周腔与外核膜的 KASH (Klarsicht/ANC-1/Syne homology) 蛋白结合形成 LINC (linker of nucleoskeleton and cytoskeleton) 复合体^[7-9]。SUN 蛋白通常形成三聚体与同等比例的 KASH 蛋白结合形成异源六聚体^[10]。LINC 复合体在核定位^[11]、细胞核迁移^[12, 13]、DNA 损伤修复^[14]以及某些特定疾病发生发展^[15]等方面都起到了重要作用。

收稿日期: 2017-07-19; 修回日期: 2017-09-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81170615); 湖南省卫生计生项目(B2015-041); 大学生创新创业项目(cx20170533)

作者简介: 马殊伦(1995-), 女, 北京人, 临床八年制学生; * 通讯作者: 邢晓为(1973-), 男, 陕西临潼人, 博士, 中南大学湘雅三医院副研究员, 博士生导师, 主要从事分子诊断与基因功能研究, Tel: 0731-88618311, E-mail: davy2222@163.com。

近年来发现, SUN 蛋白家族主要有: SUN1、SUN2、SUN3、SPAG4 (SUN4)和 SPAG4L (SUN5)。其中, SUN1 和 SUN2 广谱性表达^[16, 17]; SUN3、SPAG4 和 SPAG4L 则主要在睾丸中表达^[18-20]。前期对 SUN 结构域蛋白的研究多集中在 SUN1 和 SUN2, 然而, 近年来 SPAG4 逐渐成为一个研究热点。研究发现, SPAG4 蛋白参与核重塑并维持核膜完整性^[21], 同时参与精子尾部的发育, 该蛋白质功能异常可导致雄性不育^[21, 22]; 另一方面, SPAG4 是新发现的肿瘤标志物, SPAG4 的表达可影响肿瘤细胞增殖和侵袭能力^[23]。本文就 SPAG4 功能及其在疾病中的作用综述如下。

1 SPAG4 的基本特征

1.1 SPAG4 基因

SPAG4 属于经典的 SUN 基因家族, 该基因定位于人类染色体 20q11.2^[24], 其 cDNA 长 1.45 kb, 含有 12 个外显子^[25]。Shao 等^[19]在对大鼠圆形精子的 RNA 进行 Northern-blot 分析时发现, 大鼠 *Spag4* 基因存在长短两个转录本, 大小分别为 2 kb 和 1.5 kb, 这可能是由于 *Spag4* C-端 poly A 重复序列的长短不一致所导致。随后, Kennedy 等^[25]在克隆人 SPAG4 基因时发现, 人 SPAG4 比大鼠 *Spag4* 第一外显子 3' 端少 132 bp, 其余部分高度同源, 对不同个体进行重复实验, 同样没有发现不缺少 132 bp 的“长”SPAG4, 说明人和大鼠对该基因的剪切可能存在差异。

1.2 SPAG4 蛋白

SPAG4 具有 SUN 蛋白家族的典型结构: C-端为保守的 SUN 结构域, N-端为跨膜(transmembrane, TM)区域, 中间为卷曲螺旋(coiled-coil)结构域(图 1)^[26]。SPAG4 蛋白通过各结构域与其他蛋白质相互作用, 如: SPAG4 可通过 SUN 结构域与 KASH 结构域蛋白结合形成 LINC 复合物, 参与核质连接^[21]; Shao 等^[19]对大鼠 *Spag4* 蛋白研究时发现, *Spag4* 依靠亮氨酸拉链与精子尾部蛋白质 Odf1 相互作用, 在精子尾部的形成以及精子运动方面发挥着重要作用; 然而, 人类 SPAG4 没有保守的亮氨酸拉链, 但可能通过形成 coiled-coil 结构介导与其他蛋白质的作用^[25]。

1.3 SPAG4 分布

Kennedy 等^[25]先后利用多组织表达(multiple tissue expression, MTE)微阵列和 RT-PCR 技术对 SPAG4 基因的表达谱进行了分析, 发现 SPAG4

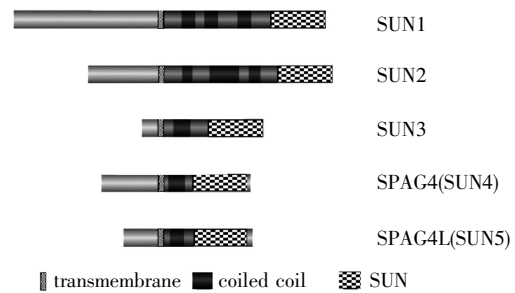


图 1 SUN 家族蛋白结构示意图^[26]

Fig.1 Schematic diagram of SUN family protein structures^[26]

mRNA 主要在人类胰腺和睾丸组织中表达, 同时在多种肿瘤细胞中均有表达; Shao 等^[19]利用 Northern-blot 技术对大鼠肾、卵巢、肝、脑、肺、小肠、脾、胸腺和睾丸中 *Spag4* mRNA 的表达进行了分析, 发现 *Spag4* 只在睾丸中表达; Pasch 等^[21]检测了 *Spag4* 基因在小鼠卵巢、皮肤、脾、肌肉、心、肺、睾丸、脑、肝、小肠、肾中的表达, 发现 *Spag4* 基因同样只在睾丸中表达, 而在其他组织中均不表达。

作为核膜蛋白, SPAG4 主要定位于核膜和内质网。Shoji 等^[27]研究发现, 在 HeLa 细胞中表达带有绿色荧光蛋白标记的 SPAG4 蛋白, 在细胞分裂间期 SPAG4 主要分布于核膜和内质网, 而在分裂末期 SPAG4 主要分布于细胞间桥。Pasch 等^[21]在研究小鼠生殖细胞时发现, *Spag4* 从圆形精子细胞到成熟的精子均有表达。随后进行的免疫荧光实验发现, 在长形精子中 *Spag4* 主要定位于后核膜, 可能介导精子领(manchette)与核膜的连接。

2 SPAG4 蛋白的功能

SUN 结构域蛋白是一类具有广泛作用的核膜蛋白, 它能介导细胞核的锚定^[11], 参与细胞核迁移^[12, 13]、DNA 损伤修复^[14]、mRNA 核输出^[28], 以及维持核仁形态^[29]等。SPAG4 蛋白属于 SUN 蛋白家族, 近年来研究发现, SPAG4 蛋白参与核重塑并维持核膜完整性、参与中心体和细胞核的连接、参与精子尾部的发育并影响肿瘤细胞的增殖和侵袭能力。

2.1 SPAG4 蛋白参与核重塑并维持核膜完整性

SPAG4 蛋白在哺乳动物核重塑中起重要作用。Calvi 等^[22]发现, 精子的成熟需要精子细胞核重塑, 即圆形的精子细胞核需要转变为有极性的长形细胞核。敲除小鼠 *Spag4* 基因后, 小鼠精子的核小而紧凑, 顶体形状不规则。进一步研究发现, 细胞质微管结构 manchette 在核重塑中发挥重要

作用, Spag4 蛋白具有耦合 manchette 到核周的功能, 所有 *Spag4* 基因敲除的小鼠精子细胞头部均呈圆形或畸形, 核周 manchette 排列紊乱, 失去了与核的横向相互作用, 精子细胞核难以延长, 导致小鼠精子圆头畸形, 从而引起小鼠不育。此外, SPAG4 蛋白在维持精子核膜完整性中有重要意义。Pasch 等^[21]研究小鼠精子时发现, Spag4 蛋白与 Nesprin-1、Sun3 共定位于后核膜, 通过免疫共沉淀技术发现 Spag4 蛋白能与 Nesprin-1、Sun3 相互作用, 进一步的共转染和免疫共沉淀实验提示 Spag4 可以与自身或 Sun3 形成同源或异源寡聚体, 该结构通过与 Nesprin-1 的 KASH 结构域相互作用连接到胞质骨架, 具有维持核膜完整性的作用。敲除 *Spag4* 基因后精子核膜完整性遭到破坏, 出现核膜异常凸起和严重畸形, 这可能是细胞质力传递到核膜障碍引起的。Yeh 等^[30]在针对人类精子发生过程的研究中发现 SEPT12 蛋白参与精子尾部形成。人或小鼠细胞中 *SEPT12* 基因缺陷会导致精子形态学的改变, 采用酵母双杂交技术展开相关研究时发现, SEPT12 蛋白与 SPAG4 蛋白具有相互作用, 且 SEPT12 蛋白通过 SPAG4 蛋白与核纤层蛋白 LAMIN B1 相互作用并在核周形成复合物, 从而包围细胞核。以上研究说明, SPAG4 在维持雄性生殖细胞核膜的完整性中发挥着重要作用。

2.2 SPAG4 蛋白能参与中心体与细胞核的连接

在模式动物中的研究发现, Spag4 蛋白介导精子发生过程中中心体与细胞核的连接。Kracklauer 等^[31]发现, 敲除果蝇 *Spag4* 基因后雄性精子细胞核与中心体在减数分裂后分离。Spag4 蛋白介导的中心体与细胞核的连接对于带有卷曲螺旋结构域(coiled-coil)的 Yuri Gagarin 蛋白是必需的, 而对于果蝇中的 2 个 KASH 结构域蛋白(Klarsicht 和 MSP-300)不是必需的, 说明 Spag4 蛋白虽然是 SUN 蛋白家族中的一员, 但其在中心体粘附到核膜的过程中并不依赖经典的 SUN-KASH 蛋白途径。Pasch 等^[21]研究发现 Spag4 蛋白在小鼠精子中心体与细胞核的连接中不是必需的, 即使 *Spag4* 基因敲除后中心体也能定位于植入窝附近, 这可能是因为在雄性果蝇在精子发生中仅由 Spag4 蛋白提供 SUN 结构域蛋白, 但哺乳动物精子发生中至少含有 4 种 SUN 结构域蛋白: Sun1/Sun1 η 和具有睾丸特异性的 Sun3、Sun4 和 Sun5^[18-20], 哺乳动物精子发生过程更具有复杂性。比如: 敲除小鼠 *Spag4*

基因后, Sun1 可以定位于后核膜并发挥代偿作用, 代替 Spag4 蛋白在中心体和细胞核连接中的功能, 说明 Spag4 蛋白确实具有参与中心体与细胞核连接的功能, 但在哺乳动物中这一作用可能需要更多组分参与, 缺失某种组分也许并不会影响中心体与细胞核的连接。

2.3 SPAG4 蛋白参与精子尾部的发育

SPAG4 蛋白在精子尾部的发育中发挥重要作用。Tarnasky 等^[24]首先发现大鼠 Spag4 蛋白可以通过亮氨酸拉链和外周致密纤维 Odf27 (outer dense fiber 27)相互作用, 且 Spag4 蛋白在精子尾部形成时含量很高。Shao 等^[19]进一步研究大鼠 Spag4 功能时发现, Spag4 蛋白能和 Odf1 (即 Odf27)相互作用, 但不能与 Odf2 相互作用。Spag4 蛋白发挥作用的机制可能是 Spag4 蛋白同时与 Odf1 和轴丝相连, 从而介导外周致密纤维和轴丝的相连。然而最近 Pasch 等^[21]研究发现, 小鼠精子的 Spag4 蛋白仅分布于后核膜上与 manchette 微管连接的部位, 在精子鞭毛并不能检测到 Spag4 的表达, 但是 *Spag4* 基因敲除仍会导致精子在其形成后期鞭毛卷曲, 说明 Spag4 蛋白确实在精子尾部发育过程中发挥重要作用, 但 Spag4 蛋白在精子尾部发育中的具体作用机制还有待进一步阐明。

2.4 SPAG4 蛋白能影响肿瘤细胞增殖和侵袭能力

近年来研究发现, SPAG4 能影响肿瘤细胞的增殖和侵袭。Knaup 等^[23]对人肾透明细胞癌(renal clear cell carcinoma, RCC)的研究显示, 在缺氧环境下肿瘤中的缺氧诱导因子 1 (hypoxia inducible factor 1, HIF-1)能稳定表达。HIF-1 α 是 HIF-1 的一个亚基, 其降解的减少会引起 SPAG4 蛋白的表达增高, 过表达 SPAG4 蛋白则会促进 RCC 肿瘤细胞的增殖, 而敲减 *SPAG4* 基因和 *HIF-1 α* 基因将降低 RCC 细胞的体外侵袭能力, 说明 SPAG4 蛋白高表达能促进肿瘤细胞的增殖和侵袭。Shoji 等^[27]在针对肾癌标本的研究中发现, SPAG4 蛋白在肿瘤细胞分裂间期定位于内质网, 在分裂末期定位于细胞间桥, 说明 SPAG4 蛋白调控肾癌细胞胞质分裂。同时, 在对 HeLa 细胞的研究中发现, *SPAG4* 基因敲减后会导致 HeLa 细胞增殖分化能力降低。

综上所述, 针对 SPAG4 蛋白功能的研究主要集中在雄性生殖细胞和肿瘤细胞, 其在核重塑、维持核膜完整性、精子尾部发育、中心体和细胞核的连接以及肿瘤细胞的增殖和侵袭中发挥重要作用。

用。*SPAG4* 基因功能缺失会导致精子的形态和功能异常, 从而引起雄性不育, 但是能在一定程度上降低肿瘤细胞增殖和侵袭能力。近年来的研究表明, *SPAG4* 可作为潜在的肿瘤标记物, 有望帮助肿瘤的诊断、分类、预后判断, 以及提供治疗指导^[25]。

3 SPAG4 与疾病

3.1 SPAG4 与雄性不育

雄性不育指哺乳动物的雄性细胞或生殖器官丧失生理机能的现象。Pasch 等^[21]发现雄性 *Spag4*^{-/-} 小鼠与雌性 *Spag4*^{+/+} 小鼠无法产生后代, 而雄性 *Spag4*^{+/+} 小鼠与雌性 *Spag4*^{+/+} 小鼠可以正常产生后代。Kracklauer 等^[31]在果蝇的研究中通过转基因技术敲除 *Spag4* 的 SUN 结构域导致雄性不育, 提示 *SPAG4* 蛋白异常可能与雄性不育有相关性。

Calvi 等^[22]通过免疫分析发现, *Spag4*^{+/+} 以及 *Spag4*^{-/-} 小鼠精子表型正常, *Spag4*^{-/-} 小鼠在精子发育早期无明显畸形, 而且发育后期睾丸自身形态也无异常, 但是其中产生大量圆头精子。Pasch 等^[21]利用 HE 染色后观察到 *Spag4*^{-/-} 小鼠睾丸、附睾头和附睾尾中出现圆形核精子, 提示精子的发育异常。进一步超微结构分析显示, *Spag4*^{-/-} 小鼠附睾中有大量头部畸形的精子, 精子尾部有缠绕细胞核的趋势, 顶体与细胞核部分分离, 呈现出一种圆头精子症样改变。此外, Calvi 等^[22]利用超薄切片和免疫分析发现, 后期圆头精子有明显的核畸形、核膜外翻、精子领的异形和缺失以及鞭毛具有缠绕细胞核的趋势。上述这些现象可使精子失去正常结构与功能, 从而导致雄性不育。

3.2 SPAG4 与肿瘤

3.2.1 SPAG4 是新的肿瘤标志物

SPAG4 除在胰腺、睾丸、卵黄囊等正常组织中表达外, 还在多种肿瘤组织中表达。Kennedy 等^[25]利用 MTE 微阵列观察到, *SPAG4* 在 Burkitt's 淋巴瘤、宫颈癌细胞系 HeLa、肝癌细胞系 HepG2、乳腺癌细胞系 T47D 等癌组织中表达; 利用 RT-PCR 观察到 *SPAG4* 在卵黄囊癌中表达最高, 在肝癌细胞系 HepG2、乳腺癌细胞系 T47D 中表达较高, 均高出睾丸表达量的几倍, 提示 *SPAG4* 是一种潜在的肿瘤标志物。本项目组在前期研究中发现, *SPAG4* 在肺癌组织中的表达高于癌旁组织, RNA 干扰肺癌细胞系 A549 中 *SPAG4* 的表达后, 可见肺癌细胞迁移能力降低(文章待发表)。

3.2.2 SPAG4 与肾癌

目前已知 *SPAG4* 在多种肿瘤中表达, 但其参与肿瘤发生发展的分子机制尚不清楚。在肿瘤研究方面, *SPAG4* 与肾透明细胞癌(RCC)的研究最为深入。肾细胞癌是肾脏最常见的恶性肿瘤, 肾透明细胞癌是其中一种病理分型。Shoji 等^[27]对 190 例肾癌标本进行了研究, 其中 *SPAG4* 表达上调的肿瘤患者死亡率更高, 提示 *SPAG4* 与肿瘤的发生发展具有密切关系。

在人肾透明细胞癌体外研究中, 通过缺氧诱导可以观察到人类 *SPAG4* 表达升高, 敲除 *HIF-1 α* 或再引入 *VHL* 基因(*Von HippelLindau*)可观察到 *SPAG4* 表达下调, 敲除 *HIF-2 α* 未观察到上述现象, 提示 RCC 细胞由于本身的 *VHL* 双等位基因缺陷导致 *HIF-1 α* 降解减少, 进而调控 *SPAG4* 升高。进一步研究发现, 敲减 *SPAG4* 和 *HIF-1 α* 将降低 RCC 细胞体外的侵袭能力, 过表达 *SPAG4* 则促进 RCC 肿瘤细胞的增殖能力, 提示 *SPAG4* 参与肿瘤的侵袭和增殖^[23]。

相关研究发现, 在 HeLa 细胞系中, *SPAG4* 在肿瘤细胞分裂间期定位于内质网, 而在分裂末期定位于细胞间桥, 提示 *SPAG4* 参与调节肿瘤细胞的胞质分裂。下调 *SPAG4* 表达导致细胞胞质分裂异常, 四倍体细胞增多, 细胞增殖分化能力降低, 细胞周期相关基因上调, 而给予缺氧诱导后会增强这一现象。作为 *HIF-1* 因子的目标基因, *SPAG4* 可使四倍体形成减少, 使肿瘤细胞在缺氧环境下更易生存, 从而导致预后不良。由此可见, *SPAG4* 参与肿瘤细胞的增殖与分裂。

4 总结与展望

SPAG4 作为一种核膜蛋白, 主要在人类胰腺和睾丸中表达。目前研究发现 *SPAG4* 在核重塑、维持核膜完整性、中心体和细胞核的连接等方面发挥着重要作用。*SPAG4* 功能异常的雄性个体将会产生畸形精子并导致雄性不育, 其分子机制目前尚不完全清楚, 深入研究 *SPAG4* 功能将有助于阐明男性不育的分子机制。另一方面, *SPAG4* mRNA 在多种肿瘤组织中表达。在肾癌中, 过表达 *SPAG4* 促进肿瘤细胞的增殖与侵袭, 其机制尚不清楚。鉴于 *SPAG4* 在肾癌、肝癌、宫颈癌中高表达, *SPAG4* 有望作为一个新的肿瘤诊断标志物, 为肿瘤的筛查和早期诊断提供新的候选分子靶标。

参考文献(References):

- [1] Smoyer C J, Katta S S, Gardner J M, *et al.* Analysis of membrane proteins localizing to the inner nuclear envelope in living cells[J]. *The Journal of Cell Biology*, 2016, 215(4): 575–590.
- [2] Mudumbi K C, Schirmer E C, Yang W. Single-point single-molecule FRAP distinguishes inner and outer nuclear membrane protein distribution[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 12562.
- [3] Korfali N, Florens L, Schirmer E C. Isolation, proteomic analysis, and microscopy confirmation of the liver nuclear envelope proteome[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2016, 1411: 3–44.
- [4] Malone C J, Fixsen W D, Horvitz H R, *et al.* UNC-84 localizes to the nuclear envelope and is required for nuclear migration and anchoring during *C. elegans* development[J]. *Development*, 1999, 126(14): 3171–3181.
- [5] Starr D A, Hermann G J, Malone C J, *et al.* Unc-83 encodes a novel component of the nuclear envelope and is essential for proper nuclear migration[J]. *Development*, 2001, 128(24): 5039–5050.
- [6] Haque F, Mazzeo D, Patel J T, *et al.* Mammalian SUN protein interaction networks at the inner nuclear membrane and their role in laminopathy disease processes[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(5): 3487–3498.
- [7] Ungricht R, Kutay U. Mechanisms and functions of nuclear envelope remodelling[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2017, 18(4): 229–245.
- [8] Sosa B A, Kutay U, Schwartz T U. Structural insights into LINC complexes[J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2013, 23(2): 285–291.
- [9] Kim D I, Birendra K C, Roux K J. Making the LINC: SUN and KASH protein interactions[J]. *Biological Chemistry*, 2015, 396(4): 295–310.
- [10] Sosa B A, Rothballer A, Kutay U, *et al.* LINC complexes form by binding of three KASH peptides to domain interfaces of trimeric SUN proteins[J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1035–1047.
- [11] Gundersen G G, Worman H J. Nuclear positioning[J]. *Cell*, 2013, 152(6): 1376–1389.
- [12] Chang W, Antoku S, Ostlund C, *et al.* Linker of nucleoskeleton and cytoskeleton (LINC) complex-mediated actin-dependent nuclear positioning orients centrosomes in migrating myoblasts[J]. *Nucleus*, 2015, 6(1): 77–88.
- [13] Luxton G W, Gomes E R, Folker E S, *et al.* Linear arrays of nuclear envelope proteins harness retrograde actin flow for nuclear movement[J]. *Science*, 2010, 329(5994): 956–959.
- [14] Lei K, Zhu X, Xu R, *et al.* Inner nuclear envelope proteins SUN1 and SUN2 play a prominent role in the DNA damage response[J]. *Current Biology*, 2012, 22(17): 1609–1615.
- [15] Horn H F. LINC complex proteins in development and disease[J]. *Current Topics in Developmental Biology*, 2014, 109: 287–321.
- [16] Padmakumar V C, Libotte T, Lu W, *et al.* The inner nuclear membrane protein Sun1 mediates the anchorage of Nesprin-2 to the nuclear envelope[J]. *Journal of Cell Science*, 2005, 118(Pt 15): 3419–3430.
- [17] Hodzic D M, Yeater D B, Bengtsson L, *et al.* Sun2 is a novel mammalian inner nuclear membrane protein[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(24): 25805–25812.
- [18] Gob E, Schmitt J, Benavente R, *et al.* Mammalian sperm head formation involves different polarization of two novel LINC complexes[J]. *PLoS One*, 2010, 5(8): e12072.
- [19] Shao X, Tarnasky H A, Lee J P, *et al.* Spag4, a novel sperm protein, binds outer dense-fiber protein Odf1 and localizes to microtubules of manchette and axoneme[J]. *Developmental Biology*, 1999, 211(1): 109–123.
- [20] Frohnert C, Schweizer S, Hoyer-Fender S. SPAG4L/SPAG4L-2 are testis-specific SUN domain proteins restricted to the apical nuclear envelope of round spermatids facing the acrosome[J]. *Molecular Human Reproduction*, 2011, 17(4): 207–218.
- [21] Pasch E, Link J, Beck C, *et al.* The LINC complex component Sun4 plays a crucial role in sperm head formation and fertility[J]. *Biology Open*, 2015, 4(12): 1792–1802.
- [22] Calvi A, Wong A S, Wright G, *et al.* SUN4 is essential for nuclear remodeling during mammalian spermiogenesis[J]. *Developmental Biology*, 2015, 407(2): 321–330.
- [23] Knaup K X, Monti J, Hackenbeck T, *et al.* Hypoxia regulates the sperm associated antigen 4 (SPAG4) via HIF, which is expressed in renal clear cell carcinoma and promotes migration and invasion in vitro[J]. *Molecular Carcinogenesis*, 2014, 53(12): 970–978.
- [24] Tarnasky H, Gill D, Murthy S, *et al.* A novel testis-specific gene, SPAG4, whose product interacts specifically with outer dense fiber protein ODF27, maps to human chromosome 20q11.2[J]. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 1998, 81(1): 65–67.
- [25] Kennedy C, Sebire K, De Kretser D M, *et al.* Human sperm associated antigen 4 (SPAG4) is a potential cancer marker[J]. *Cell and Tissue Research*, 2004, 315(2): 279–283.
- [26] Rothballer A, Schwartz T U, Kutay U. LINCing complex functions at the nuclear envelope: what the molecular architecture of the LINC complex can reveal about its function[J]. *Nucleus*, 2013, 4(1): 29–36.
- [27] Shoji K, Murayama T, Mimura I, *et al.* Sperm-associated antigen 4, a novel hypoxia-inducible factor 1 target, regulates cytokinesis, and its expression correlates with the prognosis of renal cell carcinoma[J]. *The American Journal of Pathology*, 2013, 182(6): 2191–2203.
- [28] Li P, Noegel A A. Inner nuclear envelope protein SUN1 plays a prominent role in mammalian mRNA export[J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(20): 9874–9888.
- [29] Matsumoto A, Sakamoto C, Matsumori H, *et al.* Loss of the integral nuclear envelope protein SUN1 induces alteration of nucleoli[J]. *Nucleus*, 2016, 7(1): 68–83.
- [30] Yeh C H, Kuo P L, Wang Y Y, *et al.* SEPT12/SPAG4/LAM-1NB1 complexes are required for maintaining the integrity of the nuclear envelope in postmeiotic male germ cells[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e120722.
- [31] Kracklauer M P, Wiora H M, Deery W J, *et al.* The *Drosophila* SUN protein Spag4 cooperates with the coiled-coil protein Yuri Gagarin to maintain association of the basal body and spermatid nucleus[J]. *Journal of Cell Science*, 2010, 123(Pt 16): 2763–2772.