

## 综述

## 精原干细胞自我更新与分化机制的研究进展

林南河, 朱子珏, 李 铮

上海交通大学附属第一人民医院泌尿外科中心男科 / 盆底尿失禁外科, 上海 200080

**[摘要]** 正常精子发生起始于精原干细胞 (spermatogonial stem cell, SSC)。SSC 是具有自我更新与分化潜能的生殖干细胞, 在多种生长因子、微环境和自身信号调控下最终分化为精子。SSC 自我更新相关的分子包括胶质细胞来源神经生长因子、成纤维细胞生长因子及其下游信号通路、转录因子和表观调控因子等; SSC 分化相关的分子包括视黄酸、多种转录因子及表观调控因子等。SSC 自我更新与分化的机制研究, 对于深入理解精子发生及男性精子发生障碍性不育的诊治有重要意义。该文就近几年 SSC 自我更新与分化调控相关的外源性因子、转录因子及表观调控因子等进行综述。

**[关键词]** 精原干细胞; 自我更新; 分化

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1674-8115.2018.04.017 **[中图分类号]** R722.11 **[文献标志码]** A

## Research progress in mechanisms of self-renewal and differentiation of spermatogonial stem cells

LIN Nan-he, ZHU Zi-jue, LI Zheng

Department of Andrology/Pelvic Floor Dysfunction, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200080

**[Abstract]** Spermatogenesis originates from spermatogonial stem cells (SSCs). SSCs can continually renew and eventually differentiate into spermatozoa under control of various growth factors, microenvironments and self-signaling. The molecules involved in SSCs self-renewal include glial cell-derived nerve growth factor, fibroblast growth factor and downstream signaling pathways, as well as the transcription factors and the epigenetic regulators. Molecules related to SSCs differentiation include retinoic acid, a variety of transcription factors and the epigenetic regulatory factors. The research on the mechanism of SSCs self-renewal and differentiation is of great significance for the understanding of spermatogenesis and the diagnosis and treatment of male infertility. This review summarized the exogenous factors, transcription factors, and epigenetic regulators that are involved in the regulation of SSCs self-renewal and differentiation in recent years.

**[Key words]** spermatogonial stem cell; self-renewal; differentiation

精子发生是一个高度协调、有序进行的过程, 精原干细胞 (spermatogonial stem cell, SSC) 的自我更新与分化是正常精子发生的基础。近年来, 随着一些参与 SSC 自我更新与分化相关的重要分子的发现, 研究人员大大加深了对这方面的了解; 然而, 其具体机制仍未完全阐明, 进一步探索其机制将有助于为男性不育症的诊治提供新的思路。本文就近年来有关 SSC 自我更新与分化的调控机制的研究进展进行综述。

## 1 SSC 的特征

类似于其他类型干细胞, SSC 具有自我更新与分化的

能力。在小鼠睾丸中, 精原细胞可分为 A 型、中间型和 B 型精原细胞。A 型精原细胞又可根据形态进一步分为未分化的 Asingle (单个存在, As) 型、Apaired (成对存在, Apr) 型和 Aaligned (成串存在, Aal) 型精原细胞, 以及正在分化的 A1 ~ A4 型精原细胞。As 型精原细胞被认为是 SSC, 只占睾丸生殖细胞总数的 0.02% ~ 0.03%。As 型精原细胞通过分裂产生 2 个 As 精原细胞进行自我更新, 或通过分裂产生 2 个 Apr 细胞进入分化; Apr 细胞可进一步分裂分化产生 Aal 细胞, 并最终增殖分化产生单倍体精子<sup>[1]</sup>。近年来, 通过移植分析技术发现, 只有 10% 的 As 细胞具有干细胞潜能<sup>[2]</sup>; 而另有研究<sup>[3-4]</sup>发现部分 Apr 型及 Aal 型细胞也具有形成克隆以及自我更新等干细胞潜能。

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目 (81671512); 国家重点研发计划 (2017YFC1002003); 上海市级医院新兴前沿技术联合攻关项目 (SHDC12014236) (National Natural Science Foundation of China, 81671512; National Key Research and Development Program of China, 2017YFC1002003; Frontier Technology Project of Shanghai Hospital Development Center, SHDC12014236)。

**[作者简介]** 林南河 (1994—), 男, 博士生; 电子信箱: lin.nh@foxmail.com。

**[通信作者]** 李 铮, 电子信箱: lizhengboshi@163.com。



目前,多采用细胞表面标志物筛选和鉴定 SSC,如胶质细胞来源神经生长因子(GDNF)家族受体- $\alpha 1$ (GFR $\alpha 1$ )、原癌基因 *Ret* 的表达产物、胸腺细胞表面抗原(CD90)、 $\beta 1$ -整合素(CD29)、 $\alpha 6$ -整合素(CD49f)、CD9、G 蛋白偶联受体 125(GRP125)、CD133 等,但迄今为止尚未发现公认的特异性标志物<sup>[2]</sup>。

## 2 SSC 的自我更新机制

精子发生是一个复杂而又高度协调的过程,为了保持 SSC 群体数量的稳定,需要维持自我更新与分化的动态平衡。如果 SSC 增殖过强,将导致其过度积累,干扰正常精子发生;相反如果自我更新不足,精原细胞将会耗竭。

### 2.1 细胞因子及其下游通路的调控

GDNF 是曲精小管中的支持细胞分泌的一种生长因子,在 SSC 自我更新过程中有非常重要的作用。GDNF 通过由 GFR $\alpha 1$  和受体酪氨酸激酶 *Ret* 组成的共受体发挥作用。GDNF 通过多条信号通路促进 SSC 自我更新与增殖,包括磷酸肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 信号通路、Src 家族激酶信号通路等<sup>[5-6]</sup>。此外,Ras/细胞外调节蛋白激酶(Ras/ERK)途径也参与了 GDNF 对 SSC 自我更新的调控<sup>[7]</sup>。

成纤维细胞生长因子(FGF2)是 SSC 体外培养中另一个必需成分,ERK 激酶(MAP2K)通路为 FGF2 的下游通路。MAP2K 通路是细胞增殖的重要通路,MAP2K 信号通路与 RA 信号通路(介导 SSC 分化的重要通路)相互拮抗和相互调节,维持着 SSC 自我更新与分化的平衡<sup>[8]</sup>。MAP2K 抑制剂能抑制 MAP2K1 磷酸化和 SSC 增殖,而激活的 MAP2K 能使 SSC 在仅有 GDNF 而无 FGF2 的情况下继续增殖,MAP2K 通路激活能替代 FGF2 在刺激 SSC 自我更新中的作用。FGF2 通过 MAP2K 信号上调 *Bcl6b* 和 *Etv5* 等基因,促进 SSC 自我更新<sup>[9]</sup>。

此外,氧自由基(ROS)在多种干细胞中与自我更新相关。最近研究发现,在 GDNF 和 FGF2 促进 SSC 增殖过程中,通过 AKT 和 MAP2K 信号通路产生了 ROS。ROS 由 NADPH 氧化酶(NOX1)产生,ROS 通过激活应激激酶 p38 MAPK 和 JNK 通路而促进细胞增殖<sup>[10]</sup>。Wnt/ $\beta$ -连环蛋白(Wnt/ $\beta$ -catenin)信号通路在多种干细胞中发挥重要调控作用,其可促进包括 SSC 在内的未分化精原细胞的增殖。支持细胞产生 Wnt6,通过旁分泌途径激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路,促进未分化精原细胞的自我更新<sup>[11]</sup>。

### 2.2 转录因子水平的调控

Oatley 等<sup>[12]</sup>发现小鼠中有 6 个转录因子(*Bcl6b*、*Etv5*、*Lhx1*、*Egr2/3* 和 *Tspan8*)的表达受 GDNF 调控,其中 *Bcl6b* 在 SSC 维持自我更新中起重要作用,*Bcl6b* 基因缺陷可导致精子发生减少甚至缺失。*Etv5* 基因是 ETS 转录因子家族的一个成员,其产物 *Etv5* 是 GDNF 信号通路的重要下游因子,介导数个已知的 SSC 自我更新相关基因的表达(如 *Bcl6b*、*Lhx1* 等),同时 *Etv5* 调节 *Brachyury* 和 *CXC* 趋化因子受体 4(*CXCR4*),*Etv5* 结合至 *Brachyury* 基因启动子区域,激活其转录而促进 SSC 自我更新<sup>[13]</sup>。*Etv5* 表达还受 FGF2 调控,FGF2 通过 MAP2K1 信号通路激活 *Etv5* 基因及其下游基因 *Bcl6b* 和 *Lhx1* 等<sup>[9]</sup>。

早幼粒细胞白血病锌指蛋白(PLZF)特异性表达于未分化精原细胞中,通过其锌指结构域结合 DNA 抑制多种基因表达。PLZF 突变可导致进行性生殖细胞减少,最终导致精子发生障碍<sup>[14]</sup>。PLZF 可结合至 SSC 分化相关的 *Kit* 基因的启动子,抑制 *Kit* 基因转录及其下游基因的表达<sup>[15]</sup>。转录因子 SALL4 可通过抑制 PLZF 促进 *Kit* 基因的表达,从而促进分化;但同时 PLZF 也可抑制 SALL4,提示两者相互拮抗调控着 SSC 的自我更新与分化的平衡<sup>[16-17]</sup>。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTORC1)是 PI3K/Akt 下游的一种重要的蛋白激酶,在 SSC 自我更新中起负性调控作用;PLZF 可抑制 mTORC1 活性,避免 mTORC1 活性过高导致 SSC 耗竭。同时,mTORC1 抑制 GDNF 受体亚基 *Ret* 的表达,影响 SSC 对 GDNF 的应答,因此 mTORC1-PLZF 及 GDNF 之间可能存在一个调控 SSC 自我更新的负反馈机制<sup>[18]</sup>。

TATA 结合蛋白相关因子(Taf4b)表达于精原细胞和支持细胞,*Taf4b* 基因缺陷导致 SSC 自我更新障碍,减数分裂起始延迟,GFR $\alpha^+$  的 As 型及 Apr 型细胞增多。*Taf4b* 缺陷的细胞表现出分化倾向,SSC 自我更新障碍<sup>[19]</sup>。

FOXO1 是叉头转录因子(FOX)家族成员之一。*FOXO1* 基因缺陷表现出与 PLZF、*Etv5* 缺陷类似的 SSC 自我更新障碍,出现精原细胞进行性减少,SSC 更新相关因子表达下降(如 *Lhx1*、*Ret*)及分化相关因子表达增加(如 *Egr2*、*Tex19*),使 SSC 自我更新与分化之间失去平衡,表明 FOXO1 可能为转录因子调节网络的核心因子之一<sup>[20]</sup>。此外,研究<sup>[21]</sup>表明,FOXO1 为 SSC 中 PI3K/Akt 通路的关键因子,Akt 抑制因子 PTEN 丢失可导致 FOXO1 异常存在于精原细胞细胞质中,并表现出 SSC 自我更新障碍;相反,PI3K/Akt 的正调控因子 PPK1 障碍导致 Akt 过度磷酸化,FOXO1 在精原细胞的细胞核中堆积,引起

精原细胞过度增殖及分化障碍。转录因子 Glis3 特异性表达于 SSC 及其他未分化精原细胞中, *Glis3* 基因缺陷可影响 FOXO1 从胞质至胞核移位, 使未分化精原细胞相关基因表达下降, 抑制 SSC 自我更新<sup>[22]</sup>。

### 2.3 RNA 结合蛋白的调控

RNA 结合蛋白 (RNA binding protein, RBP) 在转录后基因表达的调节中具有重要作用, 主要通过与 mRNA、miRNA 等相互作用来发挥功能, 在细胞代谢、细胞周期及多能性调控中起重要作用。*Nanos2* 基因编码一种锌指 RNA 结合蛋白, *Nanos2* 缺失或过度表达将分别导致 SSC 进行性减少或未分化精原细胞堆积。研究<sup>[23-24]</sup>发现, *Nanos2* 在转录后水平对 SSC 维持自我更新非常重要, 主要通过在翻译水平上抑制促分化基因, 以及抑制 SSC 自我更新的重要负调控 mTORC1 通路。

RNA 结合蛋白 Lin28A 是 SSC 的标志物之一, 有促进 SSC 增殖的作用。Lin28A 与 AKT、ERK 及 mTOR 等通路有关, 通过调节 *OCT4*、*SOX2*、*GFRa1*、*PLZF* 及 *ETV5* 等基因发挥作用<sup>[25]</sup>。研究<sup>[26]</sup>发现, F-box 蛋白家族成员 FBXW7 对 SSC 自我更新呈负性调控, *FBXW7* 缺陷引起未分化精原细胞堆积, *Fbxw7* 过表达则导致 SSC 自我更新障碍。

### 2.4 表观水平的调控

DNA 甲基化转移酶 3L (DNMT3L) 是重要的表观调控因子, DNMT3L 在 SSC 自我更新与分化平衡中起重要调控作用。DNMT3L 一方面影响促增殖因子 PLZF 的稳定性, 通过抑制 *CDK2* 表达, 抑制其介导的 PLZF 降解; 另一方面 DNMT3L 抑制 PLZF 拮抗因子 *SALL4B*。*DNMT3L* 缺失时可使 PLZF 水平下降而 *SALL4A* 水平升高, ERK 和 AKT 信号途径过度激活, 最终导致 SSC 自我更新障碍而耗竭; 因此, DNMT3L 可调控 PLZF 与 *SALL4* 之间平衡, 影响 SSC 的命运<sup>[27]</sup>。另外, miRNA 同样在 SSC 自我更新调控中发挥重要作用。一项研究<sup>[28]</sup>发现, 在小鼠体内, miRNA-20 和 miRNA-106a 表达于 SSC 中, 两者通过转录后水平调节 STAT3 和 *CCND1*, 调控 SSC 自我更新及分化。DNA 甲基化及 miRNA 等表观调控机制在 SSC 自我更新中的作用有待进一步深入研究。

## 3 SSC 的分化机制

SSC 在多种因子协同调控下分化, SSC 分化有 3 个重要关键点: ① As 型向 Apr 型精原细胞的转变。② Aal 型向

A1 型转化。③ A1 型转变为 B 型精原细胞, B 型精原细胞最终进入减数分裂, 分化形成高度特化的成熟精子<sup>[3-4]</sup>。

### 3.1 细胞因子的调控

视黄酸 (RA) 由支持细胞和生精细胞合成, 在精原细胞分化及减数分裂调控中起重要作用。RA 由乙醛脱氢酶和视黄醛脱氢酶经过 2 次氧化合成, RA 与细胞核 RA 受体 (RARA、RARB 及 RARG 等) 结合引起一系列的转录变化 (如减数分裂起始基因 *Stra8* 的表达)。RA 合成、转运和降解各个环节异常均可导致精子发生障碍<sup>[29]</sup>。

RA 及 *Stra8* 在精原细胞减数分裂起始的调控中发挥关键作用; 而研究<sup>[27]</sup>发现, RA 对减数分裂前的精原细胞分化过程同样有重要作用。Endo 等<sup>[30]</sup>研究发现, RA 的靶基因 *Stra8* 缺失导致未分化精原细胞堆积而分化的精原细胞消失, 提示 RA 具有促进精原细胞分化的作用。RA/*Stra8* 通路的激活对处于不同时期的精原细胞产生 2 种不同的作用: 一种是促进精原细胞进入分化状态, 另一种是促进减数分裂的起始。Raverdeau 等<sup>[31]</sup>发现, 由支持细胞合成分泌的 RA 对 Aal 型向 A1 型精原细胞分化是必需的, RA 通过激活转录调控因子 MAFB 的作用促进精原细胞分化; 同时, 精原细胞也能合成 RA, 并通过自分泌的方式调控 *Stra8*, 起始减数分裂。因此, 以上结果提示由支持细胞旁分泌的 RA 间接促进精原细胞分化, 而来源于生殖细胞自分泌的 RA 信号直接介导减数分裂起始。

RA 促进精原细胞分化的具体机制尚不明确。RA 可通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路介导 SSC 分化关键受体 *Kit* 基因的 mRNA 有效翻译, *Kit* 基因的 mRNA 虽然在未分化精原细胞中同样存在, 但是其翻译被抑制。利用雷帕霉素阻断后, RA 介导的 *Kit* 编码 mRNA 的翻译被抑制, 导致分化障碍及未分化精原细胞堆积<sup>[32-33]</sup>。此外, 研究<sup>[34]</sup>发现 RA 与其受体 RAR、RXR 可结合至 *SALL4A* 基因, 促进重要转录因子 *SALL4A* 的表达, 这可能是 RA 对 SSC 调控的另一个重要机制。

支持细胞还分泌另一种分化调控因子——干细胞因子 (stem cell factor, SCF), 其为酪氨酸激酶受体 Kit 的配体。*Kit* 基因表达于 A 型和 B 型精原细胞, SCF 和 Kit 的相互作用在精原细胞自我更新、分化和减数分裂中起重要作用。若小鼠睾丸支持细胞中 *SCF* 基因突变可引起精原细胞分化障碍而导致不育, 其睾丸中只存在 As 型、Apr 型和 Aal 型等未分化精原细胞。利用重组 SCF 可恢复并促进小鼠精原细胞分化<sup>[35]</sup>。

支持细胞分泌的骨形成蛋白 4 (BMP4) 同样参与分





化调控, BMP4 结合苏氨酸/色氨酸激酶受体 BMPRII 和 BMP II 发挥作用, BMPRII 和 BMP II 特异性表达于各阶段精原细胞上。BMP4 和 RA 在促分化过程中还存在协同作用, 共同影响 Stra8 和 Kit 表达<sup>[36]</sup>。

### 3.2 转录因子的调控

Stat3 属于 STAT 家族之一, 是胚胎干细胞中调控自我更新与分化的重要因子。在睾丸中, Stat3 表达于精原细胞。Stat3 功能被抑制后不影响 SSC 的增殖和凋亡, 但 SSC 分化会出现障碍, 导致未分化 SSC 的堆积<sup>[37]</sup>。Stat3 具体作用机制尚不清楚, 目前发现神经原素 3 (Ngn3) 是其靶点之一, 睾丸中 Ngn3 主要表达于未分化精原细胞。Stat3 能结合到 *Ngn3* 基因启动子和增强子区域以调节其表达。*Ngn3* 缺陷表现出与 *Stat3* 缺陷类似的生精障碍, 提示存在 Stat3/Ngn3 通路对 SSC 分化起重要作用<sup>[38]</sup>。研究<sup>[39]</sup>发现, 过度表达的 Ngn3 可促进 Stra8 及 SSC 分化标志物 CD117 的表达, 同时抑制促增殖因子 PLZF 的表达。

Sohlh1/2 均为 bHLH 家族成员, 特异性表达于生精细胞中。Sohlh1 和 Sohlh2 能组成同源二聚体, 也能组成异源二聚体; Sohlh1 和 Sohlh2 存在相互调节作用并协同促进精原细胞的分化发育。Sohlh1 和 Sohlh2 可激活精原分化相关信号通路, 直接结合至精原细胞 *Kit* 基因的启动子促进其表达, 在 SSC 分化中起重要作用<sup>[40]</sup>。Sohlh 抑制多种 SSC 自我更新相关基因, 如 *GFRα1*、*Ret*、*Naos2*、*Pou5f1* 等, 同时促进分化相关基因表达, 如 *Ngn3*、*Sox3* 等<sup>[41]</sup>。

### 3.3 miRNA 的调控

miRNA 在正常精子发生中发挥了重要调控作用。miRNA-221/222 的功能受损可导致精原细胞从未分化状态向分化状态的转变以及干细胞自我更新能力的丧失。miRNA-221/222 在促增殖分子作用下表达水平上调, 而在 RA 作用下表达水平下降; miRNA-221/222 通过抑制 Kit 表达, 参与 SSC 分化调控<sup>[42]</sup>。miRNA-202 在 SSC 中高表达, 并受到 GDNF 和 RA 的负调控; miRNA-202 敲除后, SSC 表现为过早分化及凋亡增加。*Rbfox2* 和 *Cpeb1* 等为 miRNA-202 的靶基因, 对于 SSC 分化是必需的<sup>[43]</sup>。miRNA-224 在小鼠 SSC 中高表达, miRNA-224 通过 Wnt/β-catenin 通路调控 DMRT1 来促进 SSC 分化, miRNA-224 过度表达导致 *GFRα1* 和 PLZF 的水平上升而 DMRT1 水平下降<sup>[44]</sup>。miRNA 等表观调控因子在 SSC 分化中的调控网络需要进一步的研究。

## 4 总结与展望

近年来, 随着研究深入及技术进步, 人们逐渐加深了对 SSC 及精子发生的认识。SSC 的自我更新与分化受到干细胞内部及微环境中的因子严密调控, 然而其中具体的机制尚不完全清楚。目前, 有关 GDNF 依赖性信号通路的重要性已趋于明朗, 而不受 GDNF 调控的信号通路及转录因子尚未研究透彻, 分化相关调控也需深入研究。建立一套完整的 SSC 体外分离纯化和培养体系, 对深入了解精子发生及男性精子发生障碍性不育有重要意义。

## 参 考 文 献

- [1] Griswold MD. Spermatogenesis: the commitment to meiosis[J]. *Physiol Rev*, 2016, 96(1): 1-17.
- [2] Kanatsu-Shinohara M, Shinohara T. Spermatogonial stem cell self-renewal and development[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2013, 29: 163-187.
- [3] Nakagawa T, Sharma M, Nabeshima Y, et al. Functional hierarchy and reversibility within the murine spermatogenic stem cell compartment[J]. *Science*, 2010, 328(5974): 62-67.
- [4] Nakagawa T, Nabeshima Y, Yoshida S. Functional identification of the actual and potential stem cell compartments in mouse spermatogenesis[J]. *Dev Cell*, 2007, 12(2): 195-206.
- [5] Oatley JM, Avarbock MR, Brinster RL. Glial cell line-derived neurotrophic factor regulation of genes essential for self-renewal of mouse spermatogonial stem cells is dependent on Src family kinase signaling[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(35): 25842-25851.
- [6] Lee J, Kanatsu-Shinohara M, Inoue K, et al. Akt mediates self-renewal division of mouse spermatogonial stem cells[J]. *Development*, 2007, 134(10): 1853-1859.
- [7] He Z, Jiang J, Kokkinaki M, et al. Gdnf upregulates c-Fos transcription via the Ras/Erk1/2 pathway to promote mouse spermatogonial stem cell proliferation[J]. *Stem Cells*, 2008, 26(1): 266-278.
- [8] Hasegawa K, Namekawa SH, Saga Y. MEK/ERK signaling directly and indirectly contributes to the cyclical self-renewal of spermatogonial stem cells[J]. *Stem Cells*, 2013, 31(11): 2517-2527.
- [9] Ishii K, Kanatsu-Shinohara M, Toyokuni S, et al. FGF2 mediates mouse spermatogonial stem cell self-renewal via upregulation of ETV5 and Bcl6b through MAP2K1 activation[J]. *Development*, 2012, 139(10): 1734-1743.
- [10] Morimoto H, Iwata K, Ogonuki N, et al. ROS are required for mouse spermatogonial stem cell self-renewal[J]. *Cell Stem Cell*, 2013, 12(6): 774-786.
- [11] Takase HM, Nusse R. Paracrine Wnt/β-catenin signaling mediates proliferation of undifferentiated spermatogonia in the adult mouse testis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(11): E1489-E1497.
- [12] Oatley JM, Avarbock MR, Telaranta AI, et al. Identifying genes important for spermatogonial stem cell self-renewal and survival[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(25): 9524-9529.
- [13] Wu X, Goodyear SM, Tobias JW, et al. Spermatogonial stem cell self-renewal requires ETV5-mediated downstream activation of Brachyury in mice[J]. *Biol Reprod*, 2011, 85(6): 1114-1123.
- [14] Buas FW, Kirsh AL, Sharma M, et al. Plzf is required in adult male germ cells for stem cell self-renewal[J]. *Nat Genet*, 2004, 36(6): 647-652.
- [15] Hobbs RM, Fagoonee S, Papa A, et al. Functional antagonism between Sall4 and Plzf defines germline progenitors[J]. *Cell Stem Cell*, 2012, 10(3): 284-298.
- [16] Filipponi D, Hobbs RM, Ottolenghi S, et al. Repression of kit expression by

- Plzf in germ cells[J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(19): 6770-6781.
- [17] Lovelace DL, Gao Z, Mutoji K, et al. The regulatory repertoire of PLZF and SALL4 in undifferentiated spermatogonia[J]. *Development*, 2016, 143(11): 1893-1906.
- [18] Hobbs RM, Seandel M, Falciatori I, et al. Plzf regulates germline progenitor self-renewal by opposing mTORC1[J]. *Cell*, 2010, 142(3): 468-479.
- [19] Lovasco LA, Gustafson EA, Seymour KA, et al. TAF4b is required for mouse spermatogonial stem cell development[J]. *Stem Cells*, 2015, 33(4): 1267-1276.
- [20] Song HW, Wilkinson MF. Transcriptional control of spermatogonial maintenance and differentiation[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2014, 30: 14-26.
- [21] Goertz MJ, Wu Z, Gallardo TD, et al. Foxo1 is required in mouse spermatogonial stem cells for their maintenance and the initiation of spermatogenesis[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(9): 3456-3466.
- [22] Kang HS, Chen LY, Licht-Kaiser K, et al. Transcription factor GLIS3: a new and critical regulator of postnatal stages of mouse spermatogenesis[J]. *Stem Cells*, 2016, 34(11): 2772-2783.
- [23] Sada A, Suzuki A, Suzuki H, et al. The RNA-binding protein NANOS2 is required to maintain murine spermatogonial stem cells[J]. *Science*, 2009, 325(5946): 1394-1398.
- [24] Zhou Z, Shirakawa T, Ohbo K, et al. RNA binding protein Nanos2 organizes post-transcriptional buffering system to retain primitive state of mouse spermatogonial stem cells[J]. *Dev Cell*, 2015, 34(1): 96-107.
- [25] Ma F, Zhou Z, Li N, et al. Lin28a promotes self-renewal and proliferation of dairy goat spermatogonial stem cells (SSCs) through regulation of mTOR and PI3K/AKT[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 38805.
- [26] Kanatsu-Shinohara M, Onoyama I, Nakayama KI, et al. Skp1-Cullin-F-box (SCF)-type ubiquitin ligase FBXW7 negatively regulates spermatogonial stem cell self-renewal[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(24): 8826-8831.
- [27] Liao HF, Chen WS, Chen YH, et al. DNMT3L promotes quiescence in postnatal spermatogonial progenitor cells[J]. *Development*, 2014, 141(12): 2402-2413.
- [28] He Z, Jiang J, Kokkinaki M, et al. miRNA-20 and miRNA-106a regulate spermatogonial stem cell renewal at the post-transcriptional level via targeting STAT3 and Cend1[J]. *Stem Cells*, 2013, 31(10): 2205-2217.
- [29] Griswold MD, Hogarth CA, Bowles J, et al. Initiating meiosis: the case for retinoic acid[J]. *Biol Reprod*, 2012, 86(2): 35.
- [30] Endo T, Romer KA, Anderson EL, et al. Periodic retinoic acid-STRA8 signaling intersects with periodic germ-cell competencies to regulate spermatogenesis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(18): E2347-E2356.
- [31] Raverdeau M, Gely-Pernot A, Féret B, et al. Retinoic acid induces sertoli cell paracrine signals for spermatogonia differentiation but cell autonomously drives spermatocyte meiosis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(41): 16582-16587.
- [32] Busada JT, Chappell VA, Niedenberger BA, et al. Retinoic acid regulates Kit translation during spermatogonial differentiation in the mouse[J]. *Dev Biol*, 2015, 397(1): 140-149.
- [33] Busada JT, Niedenberger BA, Velte EK, et al. Mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) is required for mouse spermatogonial differentiation *in vivo*[J]. *Dev Biol*, 2015, 407(1): 90-102.
- [34] Gely-Pernot A, Raverdeau M, Teletin M, et al. Retinoic acid receptors control spermatogonia cell-fate and induce expression of the SALL4A transcription factor[J]. *PLoS Genet*, 2015, 11(10): e1005501.
- [35] Sato T, Yokonishi T, Komeya M, et al. Testis tissue explantation cures spermatogenic failure in c-Kit ligand mutant mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(42): 16934-16938.
- [36] Yang Y, Feng Y, Feng X, et al. BMP4 Cooperates with retinoic acid to induce the expression of differentiation markers in cultured mouse spermatogonia[J]. *Stem Cells Int*, 2016, 2016: 9536192.
- [37] Oatley JM, Kaucher AV, Avarbock MR, et al. Regulation of mouse spermatogonial stem cell differentiation by STAT3 signaling[J]. *Biol Reprod*, 2010, 83(3): 427-433.
- [38] Kaucher AV, Oatley MJ, Oatley JM. NEUROG3 is a critical downstream effector for STAT3-regulated differentiation of mammalian stem and progenitor spermatogonia[J]. *Biol Reprod*, 2012, 86(5): 164, 1-11.
- [39] Tang F, Yao X, Zhu H, et al. Expression pattern of Ngn3 in dairy goat testis and its function in promoting meiosis by upregulating Stra8[J]. *Cell Prolif*, 2014, 47(1): 38-47.
- [40] Suzuki H, Ahn HW, Chu T, et al. SOHLH1 and SOHLH2 coordinate spermatogonial differentiation[J]. *Dev Biol*, 2012, 361(2): 301-312.
- [41] Barrios F, Filipponi D, Campolo F, et al. SOHLH1 and SOHLH2 control Kit expression during postnatal male germ cell development[J]. *J Cell Sci*, 2012, 125(Pt 6): 1455-1464.
- [42] Yang QE, Racicot KE, Kaucher AV, et al. MicroRNAs 221 and 222 regulate the undifferentiated state in mammalian male germ cells[J]. *Development*, 2013, 140(2): 280-290.
- [43] Chen J, Cai T, Zheng C, et al. MicroRNA-202 maintains spermatogonial stem cells by inhibiting cell cycle regulators and RNA binding proteins[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(7): 4142-4157.
- [44] Cui N, Hao G, Zhao Z, et al. MicroRNA-224 regulates self-renewal of mouse spermatogonial stem cells via targeting DMRT1[J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(8): 1503-1512.

[ 收稿日期 ] 2017-04-27

[ 本文编辑 ] 瞿麟平

