

精原干细胞的生物学特性：现状、发展与应用

罗玥洁^{1,2}, 曾杰², 汤瑞玲¹, 王行明¹, 范立青¹(¹中南大学生殖与干细胞工程研究所, 湖南省长沙市 410078; ²长沙医学院基础医学系, 湖南省长沙市 410219)

文章亮点:

1 此问题的已知信息: 精原干细胞具有其独特的生物学特性, 随着对精原干细胞研究的深入, 已广泛应用于医学、干细胞工程、转基因研究等领域, 精原干细胞作为干细胞研究模型已成为 21 世纪现代生命科学研究的热点之一。

2 文章增加的新信息: 根据最近的相关进展, 文章对精原干细胞的来源、生物学特性、自我更新和分化的分子调控、精原干细胞应用的相关研究成果进行了综述, 为今后精原干细胞科学研究和临床应用的开展提供了理论依据。

3 临床应用的意义: 人类不育的原因大部分来自男性, 其中尤其以精子发生出现障碍为主, 临床上称为精子产生异常。无精子症和少精子症就是由于精子发生障碍而导致的男性不育, 精原干细胞体外培养、遗传修饰及同种或异种移植的生物学特性将有助于解开精子发生的机制, 为男性功能的保存及不育治疗提供新思路,

关键词:

干细胞; 分化; 精原干细胞; 生物学特性; 自我更新; 分化

主题词:

精原细胞; 精子; 不育; 男(雄)性

基金资助:

湖南省科技计划项目(2011SK3263)

罗玥洁, 女, 1983 年生, 湖南省株洲市人, 汉族, 2008 年湖南大学生命科学与技术研究院毕业, 硕士, 讲师, 主要从事分子生物学研究。

通讯作者: 范立青, 博士, 教授, 博士生导师, 中南大学生殖与干细胞工程研究所, 湖南省长沙市 410078

中图分类号:R318

文献标识码:A

文章编号:2095-4344

(2015)14-02291-06

稿件接受: 2015-03-05

http://www.crter.org

摘要

背景: 精原干细胞具有分化、自我更新和增殖的能力, 是可以实现将遗传信息稳定传递给下一代的一类成体干细胞, 在医学、遗传学及动物学方面的应用前景广阔。

目的: 对精原干细胞的来源、生物学特性、自我更新和分化的分子调控、精原干细胞应用的相关研究成果进行了综述。

方法: 以“spermatogonial stem cell, biological characteristics, self-renewal, differentiation”和“精原干细胞, 生物学特性, 自我更新, 分化”为检索词, 由第一作者检索 1990 至 2015 年 PubMed 和中国知网数据库, 查阅与精原干细胞有关的文献, 最终保留 46 篇文献进行分析。

结果与结论: 精原干细胞能够进行体外培养、冷冻保存和遗传修饰及同种或异种移植, 这些特性将有助于解开精子发生的机制, 为雄性不育症和遗传病的治疗提供新方法, 也为青年肿瘤患者因放疗带来的生殖细胞损伤带来新的希望。精原干细胞微环境、Plzf、GDNF、SCF/c-Kit 等相关信号通路对精原干细胞自我更新和分化的调控有重要作用。精原干细胞作为干细胞研究模型, 将会使人们进一步了解干细胞的生物学特性, 从而为医学、遗传学及动物科学方面开发奠定基础。

罗玥洁, 曾杰, 汤瑞玲, 王行明, 范立青. 精原干细胞的生物学特性: 现状、发展与应用[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(14):2291-2296.

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2015.14.027

Spermatogonial stem cells and their biological characteristics: current situation, advances and applications

Luo Yue-ji^{1,2}, Zeng Jie², Tang Rui-ling¹, Wang Xing-ming¹, Fan Li-qing¹ (¹Research Institute of Reproduction and Stem Cell Engineering, Central South University, Changsha 410078, Hunan Province, China; ²Department of Basic Medical Sciences, Changsha Medical University, Changsha 410219, Hunan Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Spermatogonial stem cells with abilities of differentiation, self renewal and proliferation are a kind of adult stem cells that can transfer genetic information into offspring, which have great application prospects in medicine, genetics and zoology.

OBJECTIVE: To review the source, biological characteristics, and application of spermatogonial stem cells as well as self-renewal and molecular regulation underlining these differentiations.

METHODS: PubMed and CNKI databases were searched by the first author using key words of “spermatogonial stem cell, biological characteristics, self-renewal, differentiation” in English and in Chinese, respectively, to

Luo Yue-ji, Master, Lecturer, Research Institute of Reproduction and Stem Cell Engineering, Central South University, Changsha 410078, Hunan Province, China; Department of Basic Medical Sciences Changsha Medical University, Changsha 410219, Hunan Province, China

Corresponding author: Fan Li-qing, M.D., Professor, Doctoral supervisor, Research Institute of Reproduction and Stem Cell Engineering, Central South University, Changsha 410078, Hunan Province, China

Accepted: 2015-03-05

retrieve relevant articles published from 1990 to 2015. Literatures addressing spermatogonial stem cells were included, and 46 articles were chosen for further analysis eventually.

RESULTS AND CONCLUSION: Spermatogonial stem cells can be cultured *in vitro*, cryopreserved, and genetically modified as well as used for allogeneic or xenogeneic transplantation, all of which contribute to understanding the mechanisms of spermatogenesis, thereby providing new means for treatment of male sterile disease and genetic diseases and providing new hopes for chemotherapy-induced germ cell damage in young cancer patients. Microenvironment and Plzf, GDNF, SCF/c-Kit signaling pathways can play an important role in the regulation of spermatogonial stem cell self-renewal and differentiation. As a cell model, spermatogonial stem cells become an important tool for the researches on spermatogenesis mechanism, regeneration of spermatogenesis in sterile individuals and reproduction of transgenic animals.

Subject headings: Spermatogonia; Spermatozoa; Infertility, Male

Funding: the Science and Technology Plan Project of Hunan Province, No. 2011SK3263

Luo YJ, Zeng J, Tang RL, Wang XM, Fan LQ. Spermatogonial stem cells and their biological characteristics: current situation, advances and applications. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2015;19(14):2291-2296.

0 引言 Introduction

精原干细胞(spermatogonial stem cells, SSCs)是雄性生殖腺内的一类原始精原细胞,其既能自我更新、维持自身群体恒定,又能定向分化产生精母细胞^[1],位于睾丸曲细精管靠近基底膜处。随着雄性动物的出生,原始生殖细胞转化为生殖母细胞,迁移到生精小管基膜部,并分化为精原干细胞。生精过程是一个高效、有序、丰产的持续性生理过程,主要依赖于精原干细胞的高度自我更新及分化潜能^[2]。1994年Brinster等^[3]通过生殖细胞移植实验验证了精原干细胞的存在,并且有其独特的生物学特性,目前对精原干细胞的研究已广泛应用于医学、干细胞工程、转基因研究等领域。近年来借助于移植及各种细胞生物学技术,科学家对精原干细胞在不同睾丸微环境中的分化和发育状况进行了深入研究,该领域的热点核心内容是精原干细胞在体内复杂有序的发育分化过程以及特定微环境对干细胞转分化的影响。根据最近的相关进展,本文对精原干细胞的来源、生物学特性、自我更新和分化的分子调控、精原干细胞应用的相关研究成果进行了综述。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 由第一作者通过计算机检索1990至2015年PubMed和中国知网数据库,英文检索词为“spermatogonial stem cell, biological characteristics, self-renewal, differentiation”,中文检索词为“精原干细胞,生物学特性,自我更新,分化”。

1.2 入选标准

纳入标准: ①有关精原干细胞来源、生物学特性、自我更新和分化的文献。②文献内容相关程度高,具有原创性,且观点明确,论据可靠。

排除标准: 内容陈旧、重复性文章。

1.3 资料提取与文献质量评价 共检索到128篇文献,阅读标题与摘要进行筛选,排除与此文无关的文献,最后共纳入46篇文献。文献类型包括实验研究和综述文献。

2 结果 Results

2.1 精原干细胞的起源 哺乳动物原始生殖系细胞起源于胚胎外胚层,以小鼠为例,在小鼠胚胎11.5 d时,原始生殖系细胞陆续从尿囊基部沿后肠迁移到双侧生殖嵴,大约在胚胎13.5 d时原始生殖系细胞停止分裂^[4]。在雄性生殖腺嵴,原始生殖系细胞被支持细胞-Sertoli前体细胞包围,共同形成被称为生精索的实体细胞团,此时的原始生殖系细胞的形态发生改变,成为精原母细胞或性原细胞,之后随着发育的进行,精索逐渐形成腔隙,增殖10 000倍后停止在G₀/G₁期直到出生;而在雌性个体发育过程中,原始生殖系细胞经减数分裂后失去干细胞潜能,成为卵母细胞。与卵母细胞相反,精母细胞仍然保持并具有干细胞潜能,出生后精原母细胞继续增殖,在出生后六七天迁移至曲细精管基底膜并发育成精原干细胞^[5]。

2.2 精原干细胞的生物学特性

2.2.1 精原干细胞的形态学特征及数量 哺乳动物精原干细胞紧贴曲细精管基膜,与其他成体干细胞一样呈现圆形或是卵圆形,直径为9-12 μm,细胞核大,核呈圆形或轻微卵圆形,直径约7 μm,胞质内除核糖体、线粒体外,其他细胞器均不发达^[6]。精原干细胞的细胞核常染色质丰富且均匀,异染色质较少,核仁偏向于核膜处,数目不定,有的是1个,有的是3-5个;细胞质中的线粒体呈圆或椭圆状,内有板层状线粒体嵴。精原干细胞由于胞质分裂不完全,细胞之间以间桥相连,苏木精-伊红染色后由于核内染色质呈强碱性,染成蓝紫或深蓝色,胞质呈弱碱性,染成淡蓝色^[7]。

根据有关数据的估测,在成年小鼠睾丸中大约有细胞的总数量是10⁸个,精原干细胞的数量为2×10⁴个,仅占总数的0.02%-0.03%^[8],其余大部分生殖细胞为高度特化时期的精子细胞、正在进行减数分裂的精母细胞和有丝分裂的精原细胞^[9]。所以,精原干细胞的数量少也是其显著特征之一。

2.2.2 精原干细胞的发育微环境——龛位(niche) 干

细胞在机体组织中的居所被称为干细胞巢, 也称之为干细胞龛境(niche)或壁龛, 最初是在造血系统中提出, 目前研究发现, 睾丸组织中也同样存在于龛境^[10]。睾丸中精原干细胞生存发育的龛境是由周围的支持细胞以及所有控制干细胞增殖与分化的外部信号所构成的微环境(microenvironment)或分子环境(molecular milieu)。精原干细胞的生存发育受其自身因素和龛境的双重影响, 例如为了保持自身群体数量恒定而调整增殖更新速度, 大量精原细胞分化以维持器官功能等^[11-13]。一旦精原干细胞脱离这样的微环境, 其干细胞生物学特征将不再保持, 而是朝着既定方向分化, 精原干细胞移植研究进一步证实了干细胞龛位的存在。精原干细胞数量以及精原干细胞的微环境为研究组织特异性干细胞生物学提供了很宝贵的线索, 它为治疗一些疾病提供新途径^[14]。

2.2.3 精原干细胞具有分化潜能和迁移能力 精子的发生是一个组织性极强的复杂过程。原始生殖细胞是在胚胎发育的外胚层中被鉴定出来的, 它是形成动物配子的前体, 随着胚胎发育的进行迁移到生殖腺嵴, 进而转化为精母细胞, 在个体出生后精母细胞再发育(图1), 发育过程存在两步重要的阶段: 第一步存在于单个型(A single, As)精原细胞与对称型(A paired, Apr)精原细胞之间, 单个型精原细胞能自我更新或者分裂形成由两个通过胞质桥相连的精原细胞, 即对称型精原细胞; 第二步存在于排列型(A aligned, Aal)精原细胞与A1型之间, 对称型精原干细胞进一步分裂形成4个、8个或16个排列型精原细胞。排列型精原细胞不经过有丝分裂即分化为A1精原细胞, A1精原细胞通过严格时效控制的连续6次的细胞分裂, 分化形成A2精原细胞、A3精原细胞、A4精原细胞及中间型精原细胞, 最终分化为B型精原细胞。B型精原细胞经过数次分裂后, 体积增大并分化为初级精母细胞, 再经过减数分裂产生圆形精子, 最终变形成为成熟的精子, 完成生精过程^[15]。

精原干细胞具有一定的迁移能力, 成年动物生精上皮中的精原干细胞受到有害因素影响时会造成生精细胞损失和退化, 例如经过X射线照射或是腹腔注射入烷化剂二甲磺酸丁二醇二酯等。如果去除有害因素, 部分存活精原干细胞在生精小管内能重新进行分布和定居, 重新建立起精原干细胞群, 启动精子发生^[16]。除此之外精原干细胞移植实验也表明了它的迁移能力, 移植的精原干细胞在受体睾丸中能从生精小管管腔迁移到生精上皮基膜处, 随着时间的延长, 还能继续扩张其领地^[5, 17-18]。

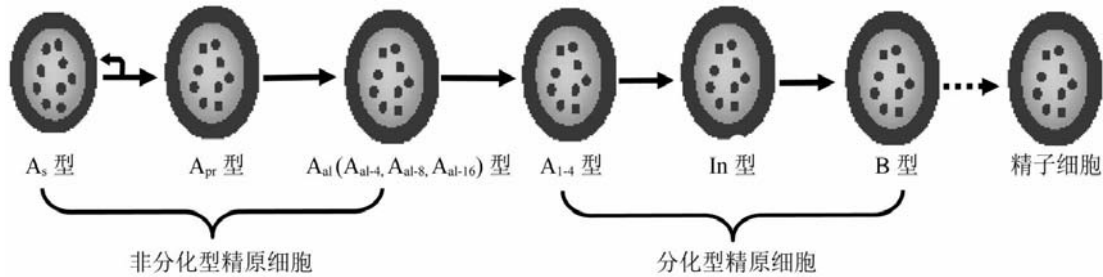
2.3 精原干细胞自我更新和分化的调控

2.3.1 微环境对精原干细胞的调控 在高等脊椎动物中, 干细胞生存的微环境是体内成体干细胞的集中存储

部位, 它是由细胞群落中特定的细胞外基质及周围细胞所组成, 对维护干细胞自我更新、决定干细胞分化命运至关重要。微环境中存在调控干细胞自我更新和分化的各类生长和细胞因子, 并具有排除已发生分化干细胞的作用^[19]。精原干细胞的微环境包括精原干细胞本身及周边细胞和结构, 如支持细胞、管周肌样细胞等细胞以及附着在胞外基质上的各种生长和细胞因子等^[20], 因此相对于其他成体干细胞而言, 精原干细胞的微环境较为复杂。有文献报道, 微环境对精原干细胞的调节分为两种途径: 首先是机体其他组织和器官间接调控精原干细胞的增殖和分化, 主要是通过产生一些活性物质进入内分泌系统运输到睾丸, 作用于微环境, 被称为外源性调节; 其次, 自身微环境中的各类因素通过网络式调控机制直接或间接作用于精原干细胞的增殖、分化、代谢及功能活动, 被称为内源性调节^[21]。

2.3.2 精原干细胞自我更新的调控 精原干细胞通过增殖和分化最终会发育成为成熟的精子, 此过程复杂有序, 要求有一个可以数量恒定且连续分化的细胞群, 所以精原干细胞必须具备不断自我更新和复制的能力。目前, 虽然关于精原干细胞自我更新和维持其数量恒定的具体机制仍然有待进一步研究, 但已有大量研究表明, 许多基因及生长因子参与了这一过程, 如早幼粒细胞白血病锌指蛋白、胶质细胞源神经营养因子、ERM/Etv等。

早幼粒细胞白血病锌指蛋白(the promyelocytic leukaemia zinc finger, Plzf): 早幼粒细胞白血病锌指蛋白基因是国内生物医学领域中第一个克隆出的新的人类疾病的基因, 在生物大分子相互作用水平和转基因小鼠模型中证实了其致白血病的作用。早幼粒细胞白血病锌指蛋白可与特异性DNA序列结合起到转录抑制作用, 属于转录因子, 在睾丸中广泛表达于单个型精原细胞、对称型精原细胞、排列型精原细胞, 不仅能维持精原干细胞的活性^[22], 在精子发生过程中也起到了重要作用^[23]。现已有实验证明早幼粒细胞白血病锌指蛋白对于精原干细胞的增殖是必需的一类生殖细胞自主性的细胞因子, 与支持细胞介导的信号通路相互作用来完成生物学功能, 如GDNF和SCF通路^[24]。在对luxoid 突变体小鼠的研究发现, 此类突变小鼠只能产生少量的精子, 出生后随着年龄的增长生殖细胞将会消失^[25]。2004年Buaas等^[26]对luxoid突变体小鼠研究时发现编码早幼粒细胞白血病锌指蛋白的基因中有一个无义突变, 这个突变是在基因的Zfp145序列上, 对Zfp145序列进行靶向断裂, 这样的小鼠随着长大会丢失一部分的精原细胞, 支持细胞不受影响, 但生精小管会发生结构的变化, 细胞凋亡增加, 这项研究也进一步证实了早幼粒细胞白血病锌指蛋白基因上的Zfp145 序列对精原干细胞的自我更新有一定的调控作用^[27]。

图1 精原干细胞的分化模式^[5]

胶质细胞源神经营养因子 (glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF): 胶质细胞源神经营养因子于1993年由Lin等从大鼠神经胶质细胞系B49的培养液中首先纯化并命名, 目前已在多种神经细胞和神经相关细胞中发现胶质细胞源神经营养因子表达, 并有靶源性神经营养因子的作用。在小鼠睾丸中, 支持细胞分泌胶质细胞源神经营养因子^[28], 在支持细胞、分化的生殖细胞、管周肌样细胞及间质细胞均有胶质细胞源神经营养因子mRNA表达, 调节精原干细胞增殖和分化的比例。有大量研究表明胶质细胞源神经营养因子对精原干细胞自我更新的维持起到了非常关键的作用, 是体外培养需添加的细胞因子之一^[29-30]。胶质细胞源神经营养因子家族的神经营养因子信号是通过复合受体途径实现的, 胶质细胞源神经营养因子的受体也表达在生殖细胞里, 复合受体由两部分组成, 第一部分是糖基化的磷脂酰肌醇(glycosyl-phosphatidyl inositol, GPI)锚定到细胞表面的蛋白分子, 称为胶质细胞源神经营养因子家族受体 α (GDNF Family Receptor α , GFR α); 另一部分为原癌基因c-ret编码的产物蛋白Ret, 它是一种受体酪氨酸激酶。前者特异性地结合胶质细胞源神经营养因子家族成员, 促使Ret磷酸化, 磷酸化的Ret激活其下游的丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)等, 导致一系列胞内途径的激活, 从而产生多种生物效应, 在精原干细胞中可直接导致有丝分裂的发生^[31-32]。

Tadokoro等^[33]利用睾丸没有生育能力的小鼠研究精原干细胞自我更新机制, 发现在未分化的精原细胞有GFR α 1 mRNA的表达, 且GFR α 1的剂量调控胶质细胞源神经营养因子的信号转导, 从而对单个型精原细胞增殖和分化起着双向调节作用: 高剂量时诱导其自我增殖、低剂量时诱导其分化, 同时还发现胶质细胞源神经营养因子浓度的主要调控因素为卵泡刺激素。Meng等^[34]研究表明, 未分化精原细胞的增殖受胶质细胞源神经营养因子调节, 无胶质细胞源神经营养因子等位基因的靶基因小鼠没有精原干细胞, 而过度表达胶质细胞源神经营养因子的小鼠存在大量精原干细胞, 且可能引起非转移性睾丸瘤。刘欢欢等^[35]研究中发现胶质细胞源神经营养因子通过与精原干细胞膜上受体GFR α 1结合形成

GDNF-GFR α 1复合物, 并活化RET, 最后激活MAPK、SFK和PI3K-AKT信号通路并达到调控精原干细胞自我更新和分化的目的。由此看来胶质细胞源神经营养因子是影响精原干细胞进行自我更新的重要生长因子。

Etv5/ERM对精原干细胞的调控: Ets转录因子家族一共有30多个成员, 具有调节细胞增殖、分化、凋亡等作用^[21]。Etv5/ERM在精原干细胞的自我更新发生中起重要的调节作用。转录因子Ets家族的一个重要成员是转录因子Ets差异基因5(Ets variant 5, Etv5), Etv5基因靶向敲除后小鼠模型的精原干细胞在第一次精子发生后逐渐减少, 最终会导致无精症和唯支持细胞综合征^[36-37]。所以, Etv5被认为维持精子的持续发生以及在精原干细胞的更新、分化中起着重要作用。

ERM是Ets亚家族中的一员, 包括ER81和PEA3。有研究表明, 小鼠ERM的缺失将导致睾丸和身体发育的异常, ERM功能缺失小鼠在出生4周后表现出正常精子的发生过程, 但其精原干细胞会随着时间的推移逐渐减少并最终消失; 此外, 其附睾中仍会存在活动的精子, 但已丧失受精能力, 对这类小鼠的基因进行分析表明, 精原细胞特定表达的基因如Stra8、Dazl及Plzf等表达量会明显减少^[38]。

另外, TATA盒结合蛋白相关因子(Tafs)、集落刺激因子1(CSF1)等都是精原干细胞自我更新的调节蛋白及生长因子。

2.3.3 精原干细胞分化的调控 精原干细胞经历了3个关键分化点, 第一个是从单个型到对称型精原细胞, 此分化点之后所形成的细胞均由细胞间桥相连, 这是精子形成的第一步, 也是分化的开端; 第二个关键点是从排列型到A1精原细胞的转变, 排列型精原干细胞分裂形成A1精原干细胞的过程是不可逆的, 紧接着会进行6次分裂注定导致这些细胞不可避免的走向减数分裂; 第三个关键点是从A1向B型精原细胞的转化, 此时精原细胞的增殖表现出高度同步化。以下几个因素调控了精原干细胞分化的机制, 例如SCF/c-Kit系统、维生素等。

干细胞因子(stem cell factor, SCF)及受体c-Kit: 在以上众多分子中, SCF/c-Kit研究较多。干细胞因子是一种作用广泛的多肽生长因子, 它是受体原癌基因蛋白质(c-kit)的配体, 两者可发生特异性的结合而诱导受体的

磷酸化从而对生殖细胞增殖、分化及原始生殖细胞迁徙、存活等有重要的调控作用。还有资料表明, 在原始生殖细胞和其他阶段生殖细胞发育过程中SCF/c-Kit系统也起到了重要的调控作用^[39]。SCF/c-Kit系统在生精细胞的发育过程中可维持分化A型精原细胞状态, 而对未分化A型精原细胞没有影响。体内实验已证实动物出生后不久, 睾丸中支持细胞就会生成较多的干细胞因子, 干细胞因子与A型精原细胞表达的c-Kit酪氨酸激酶受体发生特异性的结合, 维持干细胞状态和影响A型精原细胞分化^[40]。在体外, 经X射线照射后, 干细胞因子可刺激残留的A型精原干细胞的存活和分化。在精原细胞培养中, 干细胞因子诱导DNA复制, 注入抗c-kit抗体后会阻断精原细胞的增殖, 生精过程开始阶段受阻, 在分化型A1-A2精原细胞DNA合成受抑制和雄性不育时, 减数分裂开始时c-kit表达终止^[41]。

维生素: 正常精子的发生过程中脂溶性维生素A、E和水溶性维生素C都发挥了至关重要的作用。维生素A的活性形式之一视黄酸是促进单个型精原干细胞自我更新和分化的细胞因子, 大鼠维生素A缺乏将导致其生殖细胞分化的终止^[21]。在维生素A缺乏症动物模型中, 大量A型精原干细胞退化^[42]。维生素C和E则是精原干细胞的存活因子, 培养基中添加维生素C和E虽不刺激精原干细胞增殖, 但可维持其存活^[43], 在精子的发生过程中维生素C和E是抗氧化剂, 可清除体内的超氧自由基, 提高的精子活力, 保护精子免受伤害。

2.4 精原干细胞的应用

2.4.1 男性功能的保存及不育的治疗 每年有很多年轻癌症患者在接受化疗时会破坏内源性精子的发生, 从而可能会导致永久或长时间的不育, 针对这种情况, 可在治疗前低温储存精原干细胞, 待患者治愈后将低温贮藏的精原干细胞复苏移植回体内, 开始精子发生及恢复生育能力^[44]。目前关于精原干细胞分离纯化和体外培养技术正在不断的进步和完善, 获得临床应用也正在不断的努力中。

人类不育的原因大部分来自男性, 其中尤其以精子发生出现障碍为主, 临床上称为精子产生异常。无精子症和少精子症就是由于精子发生障碍而导致的男性不育, 但这些患者睾丸中精原干细胞浓度通常较高, 当有少量的精子或处于单倍体时期生殖细胞时, 可以采用体外受精、胞质内精子注射、胚胎移植等辅助生殖技术进行治疗。解放军北京军区总医院生殖医学中心张水文等^[45]介绍非梗阻性无精子症的诊疗大都采用精子库提供的精子而满足当父亲的愿望。精原干细胞是哺乳动物成体睾丸生精上皮内唯一可复制的多潜能二倍体细胞, 它能在体外分离、纯化、培养、冻存及同体或异体移植。近年来, 随着精原干细胞移植技术的发展, 将为这一难题探索出一种新的治疗方法。

2.4.2 转基因动物 目前转基因动物的研究在医学和农业等领域有着广泛的应用前景。这项技术涉及到细胞工程、组织胚胎工程及基因工程, 是现代生物技术的一项重要重要实验手段。精原干细胞在转基因动物上的研究机制是将外源基因转染体外培养的精原干细胞, 使之整合在细胞染色体上, 传代培养后再移植回受体动物睾丸, 该雄性动物产生的精子就有可能携带外源基因的信息, 由精子受精获得的子代动物就可以携带外源基因^[46]。从原理上讲, 这项技术有着比转染和筛选胚胎干细胞更为简便的优点, 所以备受人们的关注。

2.4.3 其他 除了上述应用, 精原干细胞移植技术为精子的发生提供了新的方法和手段, 解决了一些问题, 已成为研究生殖细胞和精子发生机制的有力工具。体外培养精原干细胞及遗传信息的体外操作可修正生殖细胞的遗传缺陷, 再进一步培养增殖, 回植到受体睾丸或者在体外通过诱导将精原干细胞增殖分化为精子, 通过人工受精矫正家族性遗传疾病, 为遗传病的治疗提供新途径。

3 总结 Conclusion

精原干细胞是21世纪现代生命科学研究的热点之一。精原干细胞体外培养、遗传修饰及同种或异种移植的生物学特性将有助于解开精子发生的机制, 为男性功能的保存及不育治疗提供新思路, 也能为转基因动物和保护珍稀濒危动物物种等领域开辟广阔的前景。精原干细胞作为干细胞研究模型, 将会使人们进一步了解干细胞的生物学特性, 从而在医学、遗传学及动物科学方面发挥重要作用。

致谢: 感谢长沙医学院重点建设学科在论文文献检索方面提供的帮助。

作者贡献: 第一作者构思并设计本综述, 通讯作者对文章负责, 其他作者负责资料收集、数据分析和审校。

利益冲突: 文章及内容不涉及相关利益冲突。

伦理要求: 未涉及伦理冲突的内容。

学术术语: 精原干细胞—指位于曲精细管基膜上既能自我更新维持自身数量恒定, 又能定向分化产生精母细胞的一类原始精原细胞。随着雄性动物的出生, 原始生殖细胞转化为生殖母细胞, 迁移到生精小管基膜部, 并分化为精原干细胞。

作者声明: 文章为原创作品, 无抄袭剽窃, 无泄密及署名和专利争议, 内容及数据真实, 文责自负。

4 参考文献 References

- [1] Hamra FK, Schultz N, Chapman KM, et al. Defining the spermatogonial stem cell. *Dev Biol.* 2004;269(2):393-410.
- [2] Dobrinski I, Avarbock MR, Brinster RL. Transplantation of germ cells from rabbits and dogs into mouse testes. *Biol Reprod.* 1999;61(5):1331-1339.

- [3] Brinster RL, Zimmermann JW. Spermatogenesis following male germ-cell transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91(24):11298-11302.
- [4] Molyneaux K, Wylie C. Primordial germ cell migration. *Int J Dev Biol*. 2004;48(5-6):537-544.
- [5] 张学明,李德雪,于家傲,等.精原干细胞的生物学特性[J].细胞生物学杂志,2006,28(1):37-41
- [6] Weiss L.Histology cell and tissue biology[M].Fifth ed. New York: Elsevier Science Publishing Co., 1983:1056-1016.
- [7] 薛振华,刘国世,王永彬,等.精原干细胞研究进展[J].中国畜牧杂志,2007,43(23):41-45.
- [8] Bellvé AR, Millette CF, Bhatnagar YM, et al. Dissociation of the mouse testis and characterization of isolated spermatogenic cells. *J Histochem Cytochem*. 1977;25(7):480-494.
- [9] de Rooij DG, Griswold MD. Questions about spermatogonia posed and answered since 2000. *J Androl*. 2012;33(6):1085-1095.
- [10] Wong MD, Jin Z, Xie T. Molecular mechanisms of germline stem cell regulation. *Annu Rev Genet*. 2005;39:173-195.
- [11] Tran J, Brenner TJ, DiNardo S. Somatic control over the germline stem cell lineage during *Drosophila* spermatogenesis. *Nature*. 2000;407(6805):754-757.
- [12] Watt FM, Hogan BL. Out of Eden: stem cells and their niches. *Science*. 2000;287(5457):1427-1430.
- [13] Spradling A, Drummond-Barbosa D, Kai T. Stem cells find their niche. *Nature*. 2001;414(6859):98-104.
- [14] 李靳,彭奔,刘苗苗,等.精原干细胞niche的研究进展[J].现代生物医学进展,2015,15(3):554-557
- [15] de Rooij DG. Proliferation and differentiation of spermatogonial stem cells. *Reproduction*. 2001;121(3):347-354.
- [16] Choi YJ, Mendoza L, Rha SJ, et al. Role of p53-dependent activation of caspases in chronic obstructive uropathy: evidence from p53 null mutant mice. *J Am Soc Nephrol*. 2001;12(5):983-992.
- [17] Ogawa T. Spermatogonial transplantation: the principle and possible applications. *J Mol Med (Berl)*. 2001;79(7):368-374.
- [18] Ryu BY, Orwig KE, Avarbock MR, et al. Stem cell and niche development in the postnatal rat testis. *Dev Biol*. 2003;263(2):253-263.
- [19] 萨初拉,顾婷玉,何志颖,等.哺乳动物精原干细胞的研究进展[J].中国细胞生物学学报,2014,36(3):392-399.
- [20] de Rooij DG. The spermatogonial stem cell niche. *Microsc Res Tech*. 2009;72(8):580-585.
- [21] 金波,刘洋,岳占碰,等.精原干细胞自我更新和分化的调控[J].生命科学,2011,23(3):244-248.
- [22] Buaas FW, Kirsh AL, Sharma M, et al. Plzf is required in adult male germ cells for stem cell self-renewal. *Nat Genet*. 2004;36(6):647-652.
- [23] Oatley JM, Avarbock MR, Telaranta AI, et al. Identifying genes important for spermatogonial stem cell self-renewal and survival. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(25):9524-9529.
- [24] 孙大林,张新东.精原干细胞增殖和分化相关因子的研究进展[J].中华男科学杂志,2010,17(3):268-272.
- [25] Costoya JA, Hobbs RM, Barna M, et al. Essential role of Plzf in maintenance of spermatogonial stem cells. *Nat Genet*. 2004;36(6):653-659.
- [26] Buaas FW, Kirsh AL, Sharma M, et al. Plzf is required in adult male germ cells for stem cell self-renewal. *Nat Genet*. 2004;36(6):647-652.
- [27] Kotaja N, Sassone-Corsi P. Plzf pushes stem cells. *Nat Genet*. 2004;36(6):551-553.
- [28] de Rooij DG. Proliferation and differentiation of spermatogonial stem cells. *Reproduction*. 2001;121(3):347-354.
- [29] Kanatsu-Shinohara M, Ogonuki N, Iwano T, et al. Genetic and epigenetic properties of mouse male germline stem cells during long-term culture. *Development*. 2005;132(18):4155-4163.
- [30] Oatley JM, Avarbock MR, Telaranta AI, et al. Identifying genes important for spermatogonial stem cell self-renewal and survival. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(25):9524-9529.
- [31] Soler RM, Dolcet X, Encinas M, et al. Receptors of the glial cell line-derived neurotrophic factor family of neurotrophic factors signal cell survival through the phosphatidylinositol 3-kinase pathway in spinal cord motoneurons. *J Neurosci*. 1999;19(21):9160-9169.
- [32] 胡红梅,李伟,吴绍华.生长因子对精原干细胞增殖、分化影响的研究现状[J].四川解剖学杂志,2006,14(1):41-43.
- [33] Tadokoro Y, Yomogida K, Ohta H, et al. Homeostatic regulation of germinal stem cell proliferation by the GDNF/FSH pathway. *Mech Dev*. 2002;113(1):29-39.
- [34] Meng X, Lindahl M, Hyvönen ME, et al. Regulation of cell fate decision of undifferentiated spermatogonia by GDNF. *Science*. 2000;287(5457):1489-1493.
- [35] 刘欢欢,陈曦,余树民,等.以GDNF为核心的哺乳动物精原干细胞调控网络[J].基础医学与临床,2015,35(3):409-412.
- [36] Morrow CM, Hostetler CE, Griswold MD, et al. ETV5 is required for continuous spermatogenesis in adult mice and may mediate blood testes barrier function and testicular immune privilege. *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1120:144-151.
- [37] Eo J, Song H, Lim HJ. Etv5, a transcription factor with versatile functions in male reproduction. *Clin Exp Reprod Med*. 2012;39(2):41-45.
- [38] Chen C, Ouyang W, Grigura V, et al. ERM is required for transcriptional control of the spermatogonial stem cell niche. *Nature*. 2005;436(7053):1030-1034.
- [39] 李泽廷,桂耀庭,蔡志明.精子发生中几个关键基因的研究进展[J].国际泌尿系统杂志,2006,26(2):240-244.
- [40] Rossi P, Sette C, Dolci S, et al. Role of c-kit in mammalian spermatogenesis. *J Endocrinol Invest*. 2000;23(9):609-615.
- [41] Vincent S, Segretain D, Nishikawa S, et al. Stage-specific expression of the Kit receptor and its ligand (KL) during male gametogenesis in the mouse: a Kit-KL interaction critical for meiosis. *Development*. 1998;125(22):4585-4593.
- [42] McLean DJ, Russell LD, Griswold MD. Biological activity and enrichment of spermatogonial stem cells in vitamin A-deficient and hyperthermia-exposed testes from mice based on colonization following germ cell transplantation. *Biol Reprod*. 2002;66(5):1374-1379.
- [43] 李德雪,张学明,李子义,等.小鼠精原干细胞体外培养的一般特性[J].中国兽医学报,2001,21(2):160-163.
- [44] Brinster RL. Male germline stem cells: from mice to men. *Science*. 2007;316(5823):404-405.
- [45] 张水文,杨玫,李建华.精原干细胞治疗非梗阻性无精子症的前景展望[J].中国优生与遗传杂志,2014,22(11):68-70.
- [46] 周燕,吴绍华.哺乳动物精原干细胞技术的研究进展[J].国际遗传学杂志,2006,29(1):77-80.