

DOI: 10.13376/j.cbcls/2017007

文章编号: 1004-0374(2017)01-0052-03



何祖平, 博士, 上海交通大学医学院研究员、博士生导师、上海高校特聘教授(东方学者), 上海市浦江人才计划、上海交通大学医学院高峰高原计划入选者。现任上海市男科学研究所所长、仁济医院干细胞研究中心生殖干细胞研究室主任。国家自然科学基金重点项目负责人、国家重大科学研究计划课题负责人。他对生殖干细胞的分离、培养、自我更新与分化及其基因调控、小 RNA 和信号转导通路进行了深入和系统研究, 其研究成果发表在干细胞和生殖生物学领域国际著名期刊, 如 *Stem Cells* (3 篇)、*Stem Cell Reports* (Cell 子刊)、*Oncotarget* (2 篇)、*Scientific Reports* (2 篇)、*Human Reproduction* (2 篇)。现任国际 SCI 期刊 *Reproduction* 编委、*Frontiers in Bioscience* 执行编辑。受聘国际期刊 *Stem Cells*、*Biomaterials*、*Development* 等审稿专家。

睾丸微环境对精子发生及其异常的调控作用

海亚楠, 袁青青, 孙敏, 牛明辉, 郭英, 何祖平*

(上海交通大学医学院附属仁济医院, 癌基因与相关基因国家重点实验室,
仁济医院-Med X 临床干细胞研究中心, 上海 200127)

摘要: 男性不育已经成为影响人类生殖健康的重大疾病。精子发生是精原干细胞自我更新和分化为精子的复杂过程。这个过程受睾丸微环境的精细调控。将讨论精子发生与睾丸微环境的关系, 简要介绍睾丸微环境的国内外研究动态, 展望睾丸微环境的研究热点和前沿。这将为阐释精子发生的机制提供新的调控机理, 对治疗男性不育, 预防子代出生缺陷, 研发新型男性避孕方法等都具有重要意义。

关键词: 精子发生; 微环境; 调控

中图分类号: R339.2[†]1; Q492.6 文献标志码: A

The roles of testicular microenvironment in regulating normal and abnormal spermatogenesis

HAI Ya-Nan, YUAN Qing-Qing, SUN Min, NIU Ming-Hui, GUO Ying, HE Zu-Ping*

(State Key Laboratory of Oncogenes and Related Genes, Renji- Med X Clinical Stem Cell Research Center, Ren Ji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200127, China)

Abstract: Male infertility has become one of the most serious diseases affecting human reproduction and health. Spermatogenesis is a complex process by which spermatogonial stem cells self-renew and differentiate to mature spermatids. This process is precisely regulated by the microenvironment of the testis. In this review, we addressed the relationship between spermatogenesis and testicular microenvironment as well as the advancement on the testicular microenvironment. We highlighted the frontier and hot topics in the studies on testicular microenvironment. These

收稿日期: 2016-07-06

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(31230048)

*通信作者: E-mail: zupinghe@sjtu.edu.cn; Tel:021-68383920

studies would provide novel mechanisms underlying spermatogenesis and are of great significance in treating male infertility, preventing defect of offspring, and developing new approaches for male contraceptives.

Key words: spermatogenesis; microenvironment; regulation

据世界卫生组织 (WHO) 统计, 不孕不育已经成为第三大严重影响人类健康的疾病。2009 年《中国不孕不育现状调研报告》显示: 我国不孕不育率已高达 15%; 2011 年我国不育患者已超过 5 000 万, 其中由男性原因引起的不育约占 50%, 男性不育已经成为影响我国生殖健康的重大疾病。精子发生 (spermatogenesis) 是精原干细胞 (spermatogonial stem cells) 自我更新和分化为成熟精子的过程。精子是将遗传物质传递给子代的男性配子。精子发生异常引起精子生成障碍, 导致男性不育。精子发生受睾丸微环境的精细调控。本文讨论精子发生与睾丸微环境的关系、睾丸微环境的国内外研究动态、睾丸微环境的研究热点与前沿。

1 精子发生与睾丸微环境

男性生育能力取决于睾丸持续的精子发生。源源不断的精子生成过程则取决于对精原干细胞自我更新与向精子分化过程的有效平衡和调控^[1]。精原干细胞位于一个独特的睾丸微环境 (microenvironment, niche) 中。在成年睾丸组织中, 精原干细胞及各级雄性生殖细胞位于由支持细胞 (Sertoli cells) 组成的龕窝里, 其外围由基底膜包绕, 共同组成了生精小管。生精小管外围环绕着管周肌细胞 (myoid cells)、间质细胞 (Leydig cells)、巨噬细胞、血管等间质组织。这些体细胞及其合成分泌的各种细胞因子共同构成了精子发生的微环境^[2]。研究表明, 睾丸微环境对精原干细胞的作用在幼年和成年期不同。幼年时期的睾丸微环境主要作用是促进精原干细胞的自我更新和增殖, 建立起男性生殖轴。成年后, 精原干细胞的自我更新只发生于生精上皮周期的某些特定阶段, 伴随着其他的精原干细胞向精子方向分化。只有在肿瘤化疗等情况导致睾丸受损后, 才可以观察到精原干细胞自我更新增加。研究睾丸微环境有助于将精原干细胞应用于生殖医学治疗男性不育。睾丸微环境与精原干细胞的研究可提供一个有价值的模型, 因为通过对睾丸微环境的研究可以理解组织干细胞的基本生物学特性, 并可揭示其如何调控干细胞的自我更新及组织特异性分化。鉴于精原干细胞对再生医学的重要性及其目前受到的极大关注, 对睾丸微环境的研究将成为一个重要的研究方向。

2 睾丸微环境的国内外研究动态

目前, 国内外主要研究睾丸体细胞对动物精原干细胞的自我更新与分化的基因调控与信号转导。Sertoli 细胞通过分泌重要的细胞因子影响精子发生的微环境形成和功能。Sertoli 细胞通过分泌重要因子, 如胶质细胞源性神经营养因子 (GDNF)、干细胞因子 (SCF)、碱性成纤维细胞生长因子 (FGF₂)、表皮生长因子 (EGF) 以及维甲酸 (RA) 等调节精原细胞自我更新和分化, 对精子发生微环境起最重要的调控作用^[2]。人们发现, GDNF 由 Sertoli 细胞分泌, 并对小鼠精原干细胞的自我更新起至关重要的作用^[3]。值得关注的是, GDNF 的发现使小鼠精原干细胞的体外长期培养 (可达 2 年) 成为现实。另外, GDNF 和 SCF 分别促进小鼠精原干细胞增殖与分化^[4]。Sertoli 细胞还可分泌转录相关因子, 如 Ets 有关分子 (ERM), 通过旁分泌调节小鼠精原干细胞的自我更新^[5-6]。BMP4 对果蝇精原干细胞的分化起重要作用^[7]。我们最近发现, 非梗阻性无精子症患者 Sertoli 细胞的 GDNF、SCF、BMP4 的表达显著低于正常人 Sertoli 细胞, 表明睾丸微环境对人类精子发生及其异常导致的男性不育有重要调控作用^[8]。除了 Sertoli 细胞, Leydig 细胞通过表达集落刺激因子 1 (CSF-1)、睾酮等对精原干细胞的自我更新和分化发挥重要作用^[9]。Sertoli 细胞分泌的生长因子介导的信号通路对不同种属的精原干细胞增殖和分化的调控作用可能不同。比如, JAK/STAT 信号通路促进果蝇精原干细胞的自我更新^[10-11]; 相反, STAT3 刺激小鼠精原干细胞的分化^[12]。我们揭示, Ras/ERK1/2 和 Smad2/3 两条信号通路促进 DNA 合成和小鼠精原干细胞的增殖^[1,13]。磷酸肌醇 3-激酶 (PI3K/Akt) 通路通过激活 N-Myc 促进小鼠精原干细胞的自我更新^[14-15]。Smad 信号通路可调节小鼠精原干细胞的增殖与分化, BMP4 刺激果蝇精原干细胞会导致 Smad4 和 Smad5 快速的核转运, 促进果蝇精原干细胞的分化^[7]。我们发现 Smad2/3 调节小鼠精原干细胞的自我更新^[1]。但是, 人类精原干细胞的自我更新与分化的信号转导和睾丸微环境的调控机制目前尚不清楚。

3 睾丸微环境的研究热点与前沿

睾丸微环境的研究热点与前沿有: (1) 支持细

胞对人类精子发生的遗传与表观遗传调控机制。支持细胞调控的因子与途径有：关键基因、蛋白质、转录因子；各种因子，如生长因子、细胞因子；信号转导通路；小分子 RNA (microRNA)；长链非编码 RNA (long non-coding RNA)；表观遗传修饰 (DNA 甲基化、组蛋白乙酰化)。(2) 睾丸体细胞对人类生精障碍的遗传与表观遗传调控机制。包括：运用基因组学、转录组学、蛋白质组学、RNA 深度测序 (microRNA、long non-coding RNA)、单细胞 RNA 测序等技术大规模比较正常人与生精障碍患者的睾丸体细胞 (Sertoli cells、Leydig cells、myoid cells) 的差异表达谱，筛选和验证调控人类精子发生及其异常的关键基因、RNA、蛋白质；睾丸体细胞对人类生精障碍的表观遗传修饰 (DNA 甲基化、组蛋白乙酰化) 的功能与机制研究。(3) 睾丸体细胞对人类功能配子产生和睾丸重建的作用。具体包括：如何构建睾丸体细胞 (Sertoli cells、myoid cells、Leydig cells) 与人类精原干细胞理想的共培养体系与三维培养体系？如何将睾丸体细胞与人类精原干细胞体内移植重建睾丸组织？(4) 睾丸微环境对人类精子发生的调控网络。各种生长因子、细胞因子、激素、转录因子是怎样相互作用调控男性生殖细胞和体细胞 (如 Sertoli cells、myoid cells、Leydig cells) 的增殖、分化与发育？上述研究具有重大科学意义，将揭示人类精子发生的分子机理和男性不育的致病机制，为诊断与治疗男性不育症提供分子标记，这对降低不孕不育率、预防子代遗传缺陷、促进社会和谐稳定等都有重大意义。

[参 考 文 献]

- [1] He Z, Jiang J, Kokkinaki M, et al. Nodal signaling via an autocrine pathway promotes proliferation of mouse spermatogonial stem/progenitor cells through Smad2/3 and Oct-4 activation. *Stem Cells*, 2009, 27: 2580-90
- [2] Hai Y, Hou J, Liu Y, et al. The roles and regulation of Sertoli cells in fate determinations of spermatogonial stem cells and spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol*, 2014, 29: 66-75
- [3] Meng X, Lindahl M, Hyvonen ME, et al. Regulation of cell fate decision of undifferentiated spermatogonia by GDNF. *Science*, 2000, 287: 1489-93
- [4] Dettin L, Ravindranath N, Hofmann MC, et al. Morphological characterization of the spermatogonial subtypes in the neonatal mouse testis. *Biol Reprod*, 2003, 69: 1565-71
- [5] Costoya JA, Hobbs RM, Barna M, et al. Essential role of Plzf in maintenance of spermatogonial stem cells. *Nat Genet*, 2004, 36: 653-9
- [6] Chen C, Ouyang W, Grigura V, et al. ERM is required for transcriptional control of the spermatogonial stem cell niche. *Nature*, 2005, 436: 1030-4
- [7] Kawase E, Wong MD, Ding BC, et al. Gbb/Bmp signaling is essential for maintaining germline stem cells and for repressing bam transcription in the *Drosophila* testis. *Development*, 2004, 131: 1365-75
- [8] Ma M, Yang S, Zhang Z, et al. Distinct characteristics in morphology, Raman spectrum and phenotype of human Sertoli cells from non-obstructive azoospermia and obstructive azoospermia patients. *Hum Reprod*, 2013, 28: 1863-73
- [9] Kokkinaki M, Lee TL, He Z, et al. The molecular signature of spermatogonial stem/progenitor cells in the 6-day-old mouse testis. *Biol Reprod*, 2009, 80: 707-17
- [10] Tulina N, Matunis E. Control of stem cell self-renewal in *Drosophila* spermatogenesis by JAK-STAT signaling. *Science*, 2001, 294: 2546-9
- [11] Kiger AA, Jones DL, Schulz C, et al. Stem cell self-renewal specified by JAK-STAT activation in response to a support cell cue. *Science*, 2001, 294: 2542-5
- [12] Oatley JM, Kaucher AV, Avarbock MR, et al. Regulation of mouse spermatogonial stem cell differentiation by STAT3 signaling. *Biol Reprod*, 2010, 83: 427-33
- [13] 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. *Stem Cells*, 2008, 26: 266-78
- [14] Braydich-Stolle L, Kostereva N, Dym M, et al. Role of Src family kinases and N-Myc in spermatogonial stem cell proliferation. *Dev Biol*, 2007, 304: 34-45
- [15] 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 Biol Chem*, 2007, 282: 25842-51