

# Notch信号通路与生殖干细胞研究进展

李 佳<sup>1</sup> 孙梦黎<sup>1</sup> 黄 健<sup>1</sup> 潘小玲<sup>2</sup> 郑月慧<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>南昌大学医学院医学实验教学部, 南昌 310006; <sup>2</sup>南昌大学期刊社, 南昌 310006)

**摘要** Notch信号通路是一个在进化中高度保守的信号通道, 具有调控细胞增殖、分化及凋亡的作用。近年来, 随着研究的不断深入, 发现Notch信号通路与生殖干细胞的增殖分化及干细胞微环境的作用机理密切相关, Notch信号通路在生殖系统发育及疾病治疗中的作用机制逐渐引起人们的广泛关注。该文综合论述了Notch信号通路的生理特性及功能, 重点阐述Notch信号通路在精原干细胞、卵巢生殖干细胞及生殖干细胞微环境系统中的调控机制。

**关键词** Notch信号通路; 生殖干细胞; 干细胞微环境; 增殖; 分化

## Research Progress on Notch Signaling Pathway and Germline Stem Cells

Li Jia<sup>1</sup>, Sun Mengli<sup>1</sup>, Huang Jian<sup>1</sup>, Pan Xiaoling<sup>2</sup>, Zheng Yuehui<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Experimental Teaching, Nanchang University, Nanchang 310006, China;

<sup>2</sup>Periodical Press, Nanchang University, Nanchang 310006, China)

**Abstract** As a high evolutionarily conserved system during evolution, Notch signaling pathway participates in regulation of cellular differentiation, proliferation and death. In recent years, researches have shown that the element of Notch signaling pathway is complex, which is primarily related to proliferation and differentiation of germline stem cells and the role of stem cell niche. It also plays an extremely important role in reproductive system development and disease treatment. In this study, we summarized the physiological characteristics and functions of Notch signaling pathway, and focused on the role of regulating on female germline stem cells, male germline stem cells and germline stem cell niche.

**Key words** Notch signaling; germline stem cells; stem cell niche; proliferation; differentiation

### 1 Notch的发现及生物学特性

1914年, 研究者在果蝇体上首次发现Notch分子, 由于该基因的部分功能缺失导致果蝇翅缘出现缺口(Notch), 故而命名为Notch基因<sup>[1-3]</sup>。随后, Mohr<sup>[4]</sup>于1917年首次证实了该信号分子的等位基因。20世纪80年代, Artavanis-Tsakonas等<sup>[5-6]</sup>采用分子生物学方法证实了Notch信号在细胞分化过程中

有着举足轻重的作用, 同时测定了Notch信号通路上相关信号分子的基因序列。在遗传进化中, Notch信号通路高度保守, 与其他多个转导通路一起构筑起生物发展的信号骨架。在各种无脊椎和脊椎动物的细胞发育及干细胞增殖<sup>[9]</sup>、分化<sup>[10]</sup>和凋亡<sup>[11]</sup>过程中起着关键性的作用。

Notch基因可编码一种膜蛋白受体, 其信号通路由Notch受体(Notch1~4)、Notch配体(Dll1、Dll3、Dll4和Jagged1、Jagged2)及细胞内效应器分子(Hes1、Hes5)三部分组成<sup>[7-8]</sup>。Notch受体广泛存在于造血干细胞、胚胎干细胞、淋巴细胞、血管内皮细胞等细胞表面。其中, Notch1、Notch2、Notch3可在中枢神经系统、中胚层、毛发、牙齿和肾脏等许多组织器官表达。而Notch4的表达则局限于成熟的巨噬细

收稿日期: 2013-12-23 接受日期: 2014-03-03

国家自然科学基金(批准号: 81160081、81360100)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0791-83827148, E-mail: yuehuiheng@163.com

Received: December 23, 2013 Accepted: March 3, 2014

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81160081, 81360100)

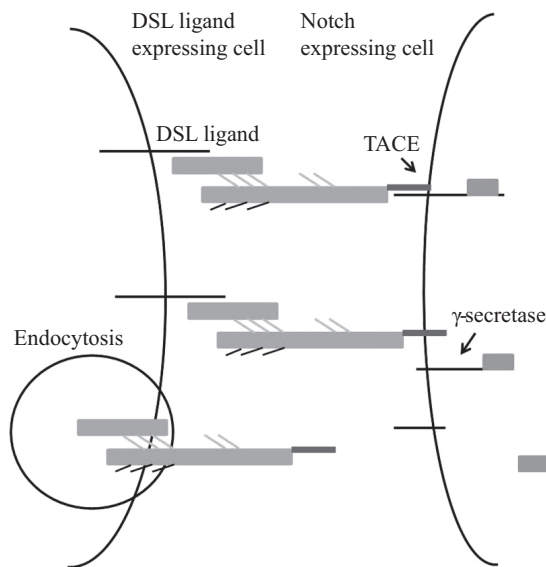
\*Corresponding author. Tel: +86-791-83827148, E-mail: yuehuiheng@163.com

网络出版时间: 2014-05-29 17:40

URL: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.11844/cjcb.2014.06.0427.html>

胞、胰腺和上皮细胞<sup>[12-13]</sup>。Notch受体是由Notch基因编码的一个相对分子量约为300 kDa的单跨膜蛋白,由胞外域、跨膜区和胞内域组成,胞外域与胞内域两个亚基通过Ca<sup>2+</sup>依赖的非共价键结合形成异源二聚体。在胞外域内,含有30余个不同的表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)样重复序列和3个家族特异性的LNR重复序列,其具有结合配体和激活Notch的功能。在跨膜区域存在一个S3裂解位点,包含RAM序列(RBP-J kappa associated molecular)、7个cdc/ankyrin重复序列、2个核定位信号区(nuclear localization signal, NLS)及C端PEST结构域(proline-glutamate-serine-threonine-rich domain)。其中, RAM结构域是Notch信号效应分子CBF1/RBPJK主要的结合部位<sup>[14]</sup>。

研究发现, Notch信号通路中已鉴定的5种配体均为I型跨膜蛋白, 均有一个保守的DNA结合蛋白CSL(CBF1/Su(H)/LAG1 family)功能区。当Notch胞内域(notch intracellular domain, NICD)转运至细胞核时, NICD与CSL结合形成复合物, 发生去阻遏效应, 进而激活Notch靶基因的转录活性。Notch受体与配体的结合主要是通过第11~12个EGF重复序列与配体的DSL区序列结合产生信号来完成的(图1)。



相邻细胞间的Notch信号通路作用步骤。在 $\gamma$ -分泌酶作用下, NICD与CSL结合形成复合物, 发生去阻遏效应, 进而激活Notch靶基因。

Notch mediated juxtacrine signal steps between adjacent cells. Under the effect of  $\gamma$ -secretase, the complexes is formed including NICD and CSL, and then activates the effect of Notch target genes steps.

图1 Notch信号通路原理图(根据参考文献[11]修改)

Fig.1 A basic schematic of Notch signaling pathway (modified from reference [11])

当配体与受体结合时, Notch受体容易在 $\gamma$ -分泌酶复合物作用下发生蛋白水解, 释放NICD, 通过细胞内吞作用和膜泡运输, 使NICD片段经过核孔进入细胞核, 并与CSL形成复合物, 调控下游的靶基因<sup>[15-16]</sup>。Notch信号通路的靶基因*Hes1*可以激活细胞周期, 促进细胞处于分化状态<sup>[17]</sup>。研究者发现, Notch信号通路与其他信号通路间存在不同层次上的串联对话, 相互协调以使细胞应答与细胞的整体状态相适应。已在果蝇卵巢内发现, Notch信号通路与Hippo信号通路之间的相互作用对卵巢生殖干细胞在时间和空间上的增殖及分化是十分重要的<sup>[18]</sup>。由此可见, Notch信号通路处于十分复杂的多位调控网络之中。

## 2 生殖干细胞基本生物学特性

生殖干细胞(germline stem cells, GSCs)是一种终生具有自我更新能力的细胞, 且具有分化为子代细胞的潜能<sup>[19-20]</sup>, 通常GSCs表现为单能性。所谓单能性是相对多能性而言的, 通常指干细胞具有更窄的发育潜能, 只能使后代细胞发育成为一种细胞的特性。生殖干细胞包括雄性生殖干细胞(male germline stem cells, mGSCs)和雌性生殖干细胞(female germline stem cells, fGSCs)<sup>[21-22]</sup>, 雌性生殖干细胞也称为卵巢生殖干细胞(ovarian germline stem cells)。在多种哺乳动物中, GSCs通常存在于特定的干细胞微环境中, GSCs通过自我复制的方式维持干细胞的“干”性, 同时又逐级分化为子代精母或卵母细胞。传统观点认为, 哺乳动物中, 精原干细胞具有自身决定的自我更新和分化能力, 持续地维持精子发生过程; 而卵母细胞则在胎儿发育期就已形成, 之后这些卵泡或者凋亡或者在休眠一段时间后重新启动发育, 形成了哺乳动物卵巢“固定卵泡理论”<sup>[23]</sup>。Johnson等<sup>[24]</sup>首次报道, 幼鼠及成年鼠卵巢中包含具有有丝分裂活性的生殖细胞, 并可持续更新卵泡池。吴际等<sup>[25-27]</sup>的最新研究也表明, 哺乳动物卵巢及人卵巢体内卵泡的数量并非完全固定, 在某些条件下卵泡可以再生, 发育为成熟卵子。此后, 关于fGSCs的研究引起全世界生殖研究者的广泛关注。

## 3 Notch信号通路与生殖干细胞

在动物的发育中, 高度保守的Notch信号通路有序地调控着发生在细胞水平上的生命活动。在许多器官中, Notch信号途径主要调控细胞的增殖、分

化及凋亡,在细胞形成和细胞发育中起重要的作用。目前,已有研究表明,Notch信号通路与卵巢癌、原始卵泡形成、分化及在mGSCs发生过程中有密切的关系,其在发育中的功能主要表现为维持GSCs的持续更新及调节干细胞的增殖分化<sup>[28-29]</sup>。

### 3.1 Notch信号通路与mGSCs

对于雄性哺乳动物而言,mGSCs的形成经历着一个十分复杂的发育过程。动物体内精子发生是一个受精原干细胞高度调控有序发生的过程,该过程可称为“生精上皮周期”。起初于1994年,在兔子睾丸内发现了Notch信号基因的存在<sup>[30]</sup>。2001年,Dirami等<sup>[31]</sup>以刚出生的乳鼠为材料,首次在小鼠睾丸组织中检测到了Notch信号分子的存在。实验结果表明,在出生不同天数的乳鼠睾丸组织中,Notch信号的三个受体(Notch1、Notch2、Notch3)在精原细胞内具有共存的表达模式;而在支持细胞中仅Notch2分子表达。该研究还检测了Notch信号通路相关配体(Delta1、Jagged1)在精原细胞及支持细胞中是否表达,发现配体Jagged1只在支持细胞中表达,Delta1则在整个睾丸组织中均有表达。该结果提示,Notch信号系统存在于新生小鼠睾丸的精子发生及支持细胞内,对于各级生精细胞过程中精原细胞的分化有调控作用。同时,在大鼠和人的睾丸组织中也检测到了受体Notch1及配体Jagged2在精子发生过程中有表达。大鼠出生后13 d,睾丸组织中Notch1及Jagged2的表达量最高;而在人睾丸组织中,未检测到Notch1基因表达,但在所用人睾丸组织样品中检测到Jagged2均有表达<sup>[32]</sup>。随后研究者在精子发生过程中发现,Notch信号通路与支持细胞的周期性表达有关。在果蝇及节肢动物体内,Notch信号通路对支持细胞周期性循环具有阶段依赖作用。该实验利用cre-loxP系统,将支持细胞中Notch信号通路的*Pofut1*基因敲除,结果发现,*Hes1*基因表达阶段性依赖于Notch信号分子的活性,证实Notch信号通路对支持细胞中的关键基因有周期性调控作用<sup>[33]</sup>。

### 3.2 Notch信号通路与fGSCs

来自果蝇的研究资料<sup>[34]</sup>提示,Notch信号途径在fGSCs的调控中有下列作用:(1)参与fGSCs巢的形成。当Notch信号途径过表达时,通过干细胞巢中帽子细胞数目增多,使干细胞巢穴增大,巢穴内生殖干细胞数量增多;反之,当Notch信号途径受抑制时,帽子数量减少,干细胞巢变小,fGSCs数量下降。

(2)参与fGSCs的自我更新和分化<sup>[33,35]</sup>。当fGSCs感染Notch信号分子中的靶基因过表达质粒或重组的Notch配体使Notch信号过度活化时,卵泡干细胞处于其前体时期而无法分化为卵泡细胞。在果蝇体内已证实,GSCs的功能随着年龄的增加而减弱,并发现此现象与巢穴中Notch信号活性降低有关,因为增加此信号活性能延长GSCs的寿命。

另有研究表明,Notch信号分子也存在于小鼠卵巢中,参与原始卵泡形成。Trombly等<sup>[30]</sup>研究了新生小鼠卵巢中Notch信号分子的表达情况,结果显示,Jagged1、Notch2与Hes1都有表达,且Jagged1及Hes1显示高表达。在卵巢体外培养条件下,Notch信号分子对早期卵泡的形成是必需的,在 $\gamma$ -分泌酶抑制剂(L-685、458和DAPT)作用下,阻止Notch受体的成熟及NICD/ICN的形成,使Notch信号分子活性显著下降,体外培养的卵巢组织增殖缓慢甚至停止增殖。而在卵子发生晚期,Notch信号可能通过负向调控*cut*基因表达,从而启动卵泡细胞有丝分裂过程中的增殖与分化。之后,又有研究表明,在成年小鼠卵巢的颗粒细胞中,Notch2、Notch3与Jagged2有重叠的表达模式,而Jagged1具有单独的表达模式,提示Notch信号途径与哺乳动物卵巢功能关系密切<sup>[29,36]</sup>。Zhang等<sup>[37]</sup>以体外培养的原始卵泡为材料,分别利用Notch信号通路抑制剂(L-685、458及DAPT)对体外培养的原始卵泡进行分组处理,结果表明,在L-685、458及DAPT处理组中,观察到培养的卵泡完全停止生长,多数颗粒细胞分解且卵母细胞退化。后续的实验结果显示,颗粒细胞的分化与Notch信号通路有关,在L-685、458及DAPT处理组中,体外培养的初级颗粒细胞的分化受到抑制且c-Myc的表达下降,又用慢病毒载体过表达N2ICD(Notch intracellular domain 2)分子,发现c-Myc可促进颗粒细胞增殖,且对经L-685、458及DAPT处理的细胞有增生作用。目前,国内已有实验室正利用GFP转基因小鼠[B6, CBA-Tg(Pou-5f1-EGFP) 2Mmm/JNju],在建立fGSCs体外培养和分化体系的基础上,拟深入阐明Notch信号通路在fGSCs增殖分化和衰老中的作用。这些都表明Notch信号通路与卵泡的发育、原始卵泡池形成以及干细胞巢穴发生等卵巢生理过程密切相关,但关于Notch信号通路在卵巢干细胞中的表达调控详细机制还需进一步的验证。

综上所述,无论是在mGSCs还是fGSCs中,Notch

信号通路均可直接或间接地影响GSCs的发生及发育。

#### 4 Notch信号通路与生殖干细胞微环境

近年来,国内外大量的研究者们通过在体外模拟干细胞微环境(stem cell niche)的一方面或几个方面协同研究干细胞,这已成为目前的研究热点。大量文献表明,Notch信号通路在多种干细胞微环境中具有重要的调控作用,比如在造血系统、肠、乳腺及肌肉细胞中<sup>[38]</sup>。而生殖干细胞微环境是由生长因子相关的细胞外基质蛋白构成,对干细胞的“干”性维持及干细胞的自我复制、增殖及分化具有调控作用<sup>[39]</sup>。目前,在哺乳动物中对生殖干细胞微环境的研究仍然处于初期阶段,但在模式生物果蝇中生殖干细胞微环境结构已被研究清楚。果蝇卵巢生殖干细胞微环境由位于卵巢顶部的末端细丝细胞(terminal filament cells)和位于其基部直接与GSCs相接触的帽子细胞(cap cells)组成,最新资料显示,内部鞘细胞(inner sheath cells)也是果蝇干细胞微环境中不可或缺的组成部分。在成体果蝇的精巢中,干细胞微环境的主要成分有:与基底膜相接触的10~12个中心细胞(hub cells)、5~10个生殖干细胞和10~18个原包裹细胞(cyst progenitor cells)。原包裹细胞也是一种成体干细胞(somatic stem cells, SSCs),中心细胞位于干细胞的周围并与其接触形成一个指环结构<sup>[40-41]</sup>。

关于Notch信号通路与干细胞微环境的相互作用关系研究依然是起源于果蝇卵巢组织。有研究报道,干细胞在干细胞微环境的影响下,保有继续维持细胞分化的能力<sup>[42]</sup>。果蝇的fGSCs贮存于一个由颗粒细胞组成的微环境中。在成年果蝇卵巢体内,发现Notch信号通路具有诱导细胞微环境标记分子表达的作用,且在生殖细胞中Delta配体显示高表达。在体细胞中Notch信号通路活性表现为激活状态。在干细胞微环境外的体细胞中,Notch信号分子活性是正常值的10倍左右;同时,体外模拟的干性细胞微环境能诱发产生更多的GSCs。相反地,当GSCs不能产生具有活性的Notch配体Delta和Serrate时,GSCs中的TGF- $\beta$ 信号通路是不具备活性的。随之这些GSCs将会分化且离开细胞微环境。提示在果蝇fGSCs与细胞微环境之间存在一个反馈循环,果蝇fGSCs具有调控微环境功能的作用,而微环境对干细胞生存及发生过程也是不可或缺的要素。Song

等<sup>[43]</sup>在果蝇卵巢内,发现一条新调控GSC微环境形成的分子机制。具体为超激活的Notch信号分子可促进更多帽细胞形成及更多生殖干细胞微环境形成。相反,当Notch信号分子受到抑制时,微环境中帽细胞数目则减少,同时,微环境的大小及生殖干细胞数目随之也会受到影响。另外还发现,在成年果蝇体内,Notch信号通路缺失会引起生殖干细胞微环境的快速缺失及帽细胞和生殖干细胞数目相应的减少。该研究表明,Notch信号通路对生殖干细胞微环境的形成及维护起重要作用。根据该研究还可以推测,Notch信号通路与哺乳动物GSC微环境的形成有关,但目前该推测仍无文献证实。

为进一步阐明Notch信号通路在mGSCs增殖及微环境形成过程中是必需的,研究者对果蝇睾丸组织中生殖干细胞微环境形成的调控机理进行了深入研究<sup>[44-45]</sup>。在果蝇睾丸组织发育过程中,中心细胞由一系列前性腺体细胞分化而成,再由中心细胞分化形成生殖干细胞。该研究提示,Notch信号分子对果蝇雄性生殖干细胞微环境体系的大小及位置具有调控作用。具体为在果蝇睾丸组织中,Notch信号通路可以诱导中心细胞的分化,在所有前性腺体细胞中,Notch信号通路都处于激活状态,且Serrate配体有表达。

#### 5 结语与展望

本文首次详细地综述了Notch信号通路在精原干细胞、卵巢生殖干细胞中的作用机制,为Notch信号通道在生殖干细胞发育及生殖干细胞疾病实际治疗中发挥的作用提供一定的理论依据。目前,有关Notch信号通路在生殖干细胞增殖分化调控的机制中是研究的热点问题。生殖干细胞尤其是卵巢生殖干细胞的研究日前有很大进展,引起科学界极大关注。不过,近年来有关Notch信号通路在生殖干细胞中的研究少有里程碑式的进展,主要原因有:Notch信号通路作用表现为多样性及复杂性(如配体内吞、配体胞内域的功能等);生殖细胞体外培养易受环境因素及营养成分的束缚,这为进一步深入探讨Notch信号通路与雌性生殖细胞的相互作用机制带来了巨大的阻力。此外,国内外许多学者正关注于在生殖干细胞疾病中Notch作为治疗靶点及新的生物标志因子的临床应用研究,比如在癌症治疗中,Notch信号通路分子可作为一种新的药物作用靶点; $\gamma$ -分泌酶

抑制剂能否在干细胞疾病治疗中起到积极有效的作用等<sup>[46-49]</sup>。可见,未来研究的首要任务是揭示Notch信号通路的复杂调控网络机制;Notch信号通路各分子在生殖干细胞发生及发育过程中的具体功能,这些疑问都是科学研究中亟待解决的关键问题。

科学研究者花费了大量精力在多物种中研究Notch信号通路与生殖干细胞相互作用,将有利于进一步认识该通路的功能和作用,为Notch信号通路在生殖干细胞发育及可能的生殖异常相关性疾病治疗中提供帮助,给科研、生殖及临床治疗等领域提供更加具有科学依据的实验方法及治疗方案。

### 参考文献 (References)

- 1 Assa-Kunik E, Torres IL, Schejter ED, Johnston DS, Shilo BZ. *Drosophila* follicle cells are patterned by multiple levels of Notch signaling and antagonism between the Notch and JAK/STAT pathways. *Development* 2007; 134(6): 1161-9.
- 2 Morgan TH. The role of the environment in the realization of a sex-linked Mendelian character in *Drosophila*. *Am Nat* 1915; 49: 358-429.
- 3 Morgan TH, Bridges CB. Dilution effects and bicolorism in certain eye colors of *Drosophila*. *J Exp Zool* 1913; 15(4): 429-66.
- 4 Mohr OL. Character changes caused by mutation of an entire region of a chromosome in *Drosophila*. *Genetics* 1919; 4(3): 275-82.
- 5 Artavanis-Tsakonas S, Matsuno K, Fortini ME. Notch signaling. *Science* 1995; 268(5208): 225-32.
- 6 Artavanis-Tsakonas S, Rand MD, Lake RJ. Notch signaling: Cell fate control and signal integration in development. *Science* 1999; 284(5415): 770-6.
- 7 蔡 颖, 俞国松, 邢雪松. Notch信号通路与干细胞分化及其相关疾病研究进展. *沈阳医学院学报*(Cai Ying, Yu Guosong, Xing Xuesong. *Advances in the research of Notch signaling to stem cell and diseases related*. *J Shenyang Med*) 2013; 15(1): 56-7.
- 8 孙丽哲, 侯 林. Notch的结构、功能和相关信号通路. *中国细胞生物学学报*(Sun Lizhe, Hou Lin. *Structure, function and related signaling pathway of Notch*. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2010; 32(6): 914-21.
- 9 Go MJ, Eastman DS, Artavanis-Tsakonas S. Cell proliferation control by Notch signaling in *Drosophila* development. *Development* 1998; 125: 2031-40.
- 10 Mitsiadis TA, Hirsinger E, Lendahl IU, Goridis C. Delta-notch signaling in odontogenesis: Correlation with cyto differentiation and evidence for feed back regulation. *Dev Biol* 1998; 204(2): 420-31.
- 11 Lai EC. Notch signaling: Control of cell communication and cell fate. *Development* 2004; 131(5): 965-73.
- 12 Duan L, Ren Y. Role of notch signaling in osteoimmunology-from the standpoint of osteoclast differentiation. *Eur J Orthod* 2013; 35(2): 175-82.
- 13 Wang L, Chopp M, Zhang RL, Zhang L, Letourneau Y, Feng YF, *et al*. The Notch pathway mediates expansion of a progenitor pool and neuronal differentiation in adult neural progenitor cells after stroke. *Neurosci* 2009; 158(4): 1356-63.
- 14 赵 梅, 韩 伟. Notch信号传导通路相关疾病的研究进展. *生物化学与生物物理进展*(Zhao Mei, Han Wei. *Advances in the research of diseases related to Notch signaling pathway*. *Prog Biochem Biophys*) 2006; 33(12): 1154-60.
- 15 Hilton MJ, Tu XL, Wu XM, Bai ST, Zhao HB, Kobayashi T, *et al*. Notch signaling maintains bone marrow mesenchymal progenitors by suppressing osteoblast differentiation. *Nat Med* 2008; 14(3): 306-14.
- 16 Chen CL, Fu XF, Wang LQ, Wang JJ, Ma HG, Cheng SF, *et al*. Primordial follicle assembly was regulated by notch signaling pathway in the mice. *Mol Biol Reports* 2014; 41: 1891-9.
- 17 Sang L, Collier HA, Roberts JM. Control of the reversibility of cellular quiescence by the transcriptional repressor HES1. *Science* 2008; 321(5892): 1095-100.
- 18 Yu JZ, Poulton J, Huang YC, Deng WM. The hippo pathway promotes Notch signaling in regulation of cell differentiation, proliferation, and oocyte polarity. *PLoS One* 2008; 3(3): 1761.
- 19 Du H, Taylor HS. Stem cells and reproduction. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2010; 22(3): 235-41.
- 20 Tilly JL, Rueda BR. Minireview: Stem cell contribution to ovarian development, function, and disease. *Endocrinology* 2008; 149(9): 4307-11.
- 21 Klun IV, Skutella T. Stem cells in aged mammalian ovaries. *Ageing* 2010; 2(1): 3-6.
- 22 孙梦黎, 徐贞刚, 潘小玲, 郑月慧. 雌、雄哺乳动物性腺的发育及调控. *南昌大学学报*(Sun Mengli, Xu Zhengang, Pan Xiaoling, Zheng Yuehui. *The development and regulation of female and male gonad mammals*. *J Nanchang University (Med Sci)*) 2013; 1(53): 79-82.
- 23 Evron A, Blumenfeld Z. Ovarian stem cells-the pros and cons. *Clin Med Insights Reprod Health* 2013; 20(7): 43-7.
- 24 Johnson J, Canning J, Kaneko T, Pru JK, Tilly JL. Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary. *Nature* 2004; 428(6979): 145-50.
- 25 Zou K, Hou L, Sun KJ, Xie WH, Wu J. Improved efficiency of female germline stem cell purification using fragilis-based magnetic bead sorting. *Stem Cells Dev* 2011; 20(12): 2197-204.
- 26 Zou K, Yuan Z, Yang ZJ, Luo HC, SunKJ, Wu J, *et al*. Production of offspring from a germline stem cell line derived from neonatal ovaries. *Nat Cell Biol* 2009; 11(5): 631-6.
- 27 Li Z, Wang L, Kang JX, Xie WH, Li XY, Wu J, *et al*. Production of fat-1 transgenic rats using a post-natal female germline stem cell line. *Mol Hum Reprod* 2014;20(2): 271-81.
- 28 Farnie G, Clarke RB. Mammary stem cells and breast cancer-role of Notch signalling. *Stem Cell Rev* 2007; 3(2): 169-75.
- 29 Trombly DJ, Woodruff TK, Mayo KE. Suppression of Notch signaling in the neonatal mouse ovary decreases primordial follicle formation. *Endocrinology* 2009; 150(2): 1014-24.
- 30 李治国, 刘 林. 雄性多能性生殖干细胞及其应用于制作转基因动物的潜能. *江西农业大学学报*(Li Zhiguo, Liu Lin. *Pluripotent male germline stem cells and their potential in generation of transgenic animals*. *Acta Agr Universitatis Jiangxiensis*) 2010; 32(5): 855-9.
- 31 Dirami G, Ravindranath N, Vachi M, Martin D. Expression of Notch pathway components in spermatogonia and sertoli cells of

- neonatal mice. *J Androl* 2001; 22(6): 944-52.
- 32 Hayashi T, Kageyama Y, Ishizaka K, Xia GB, Kihara K, Oshima H. Requirement of Notch1 and its ligand Jagged2 expressions for spermatogenesis in rat and human testes. *J Androl* 2001; 22(6): 999-1011.
- 33 Hasegawa K, Okamura Y, Saga Y. Notch signaling in Sertoli cells regulates cyclical gene expression of Hes1 but is dispensable for mouse spermatogenesis. *Mol Cell Biol* 2012; 32(1): 206-15.
- 34 Pan L, Chen SY, Weng CJ, Call G, Zhu DX, Tang H, *et al.* Stem cell aging is controlled both intrinsically and extrinsically in the *Drosophila* ovary. *Cell Stem Cell* 2007; 1(4): 458-69.
- 35 Nystul T, Spradling A. Regulation of epithelial stem cell replacement and follicle formation in the *Drosophila* ovary. *Genetics* 2010; 184(2): 503-15.
- 36 Johnson J, Espinoza T, Gaughey RW, Rawls A, Wilson-Rawls J. Notch pathway genes are expressed in mammalian ovarian follicles. *Mech Develop* 2001; 109(2): 355-61.
- 37 Zhang CP, Yang JL, Zhang J, Li L, Huang L, Ji SY, *et al.* Notch signaling is involved in ovarian follicle development by regulating granulosa cell proliferation. *Endocrinology* 2011; 152(6): 2437-47.
- 38 Schröder N, Gossler A. Expression of Notch pathway components in fetal and adult mouse small intestine. *Gene Expr Patterns* 2002; 2(3/4): 247-50.
- 39 Molofsky AV, Slutsky SG, Joseph NM, He S, Pardal R, Krishnamurthy J, *et al.* Increasing p16INK4a expression decreases forebrain progenitors and neurogenesis during ageing. *Nature* 2006; 443(7110): 448-52.
- 40 冯振月, 潘敏慧, 鲁成. 果蝇生殖腺干细胞和它们的微环境. 细胞生物学杂志(Feng Zhenyue, Pan Minhui, Lu Cheng. *Drosophila* germline stem cells and their microenvironment. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2006; 28: 169-72.
- 41 Yukiko MY, Margaret TF, Jones DL. Signaling in stem cell niches: Lessons from the *Drosophila* germline. *J Cell Sci* 2005; 15(118): 665-72.
- 42 Ward EJ, Shcherbata HR, Reynolds SH, Fischer KA, Hatfield SD, BakerHR, *et al.* Stem cells signal to the niche through the Notch pathway in the *Drosophila* ovary. *Curr Biol* 2006; 16(23): 2352-8.
- 43 Song X, Call GB, Kirilly D, Xie T. Notch signaling controls germline stem cell niche formation in the *Drosophila* ovary. *Development* 2007; 134(6): 1071-80.
- 44 KitadateY, Kobayashi S. Notch and Egfr signaling act antagonistically to regulate germ-line stem cell niche formation in *Drosophila* male embryonic gonads. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(32): 14241-6.
- 45 Tang H, Brennan J, Karl J, HamadaY, Raetzman L, Capel B. Notch signaling maintains Leydig progenitor cells in the mouse testis. *Development* 2008; 135(22): 3745-53.
- 46 Al-Hussaini H, Subramanyam D, Reedijk M, Sridhar SS. Notch signaling pathway as a therapeutic target in breast cancer. *Mol Cancer Ther* 2011;10(1): 9-15.
- 47 Bolós V, Mira E, Martínez-Poveda B, Luxán G, Cañamero M, Martínez-A C, *et al.* Notch activation stimulates migration of breast cancer cells and promotes tumor growth. *Breast Cancer Res* 2013; 15(4): 4.
- 48 Garner JM, Fan MY, Yang CH, Du ZY, Sims M, Davidoff AM, *et al.* Constitutive activation of signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) and nuclear factor  $\kappa$ B signaling in glioblastoma cancer stem cells regulates the Notch pathway. *J Biol Chem* 2013; 288(36): 26167-76.
- 49 Morgan SL, Wyant GA, Dinulescu DM. "Take it up a NOTCH" Novel strategies for cancer therapy. *Cell Cycle* 2013; 12(2): 191-2.