

*Dmrt1*与哺乳动物生殖细胞发育

魏于栋^{1,2} 申 单³ 程慧玲³ 李 娜² 华进联^{2*}

(¹西北农林科技大学创新实验学院, 杨凌 712100; ²西北农林科技大学动物医学院, 陕西省干细胞工程技术研究中心, 杨凌 712100; ³西北农林科技大学生命学院, 杨凌 712100)

摘要 *Dmrt1*是*Dmrt*(doublesex and mab-3 related transcription factor)基因家族成员之一, 其在哺乳类、鸟类、爬行类、线虫和果蝇等多种物种中存在, 是目前已知的最为保守的一个与性别分化相关的基因。该基因在性别分化期的雄性性腺及雄性成体的精巢中特异性表达, 对于雄性性腺的形成和功能维持具有重要作用。该文主要简述*Dmrt1*在调节哺乳类动物生殖细胞发育、分化方面的研究进展及其存在的问题。

关键词 *Dmrt1*; 生殖细胞; 性别决定; 哺乳动物

Dmrt1 in Mammalian Germ Cell Development

Wei Yudong^{1,2}, Shen Dan³, Cheng Huiling³, Li Na², Hua Jinlian^{2*}

(¹Innovation Experimental College of Northwest A&F University, Yangling 712100, China; ²College of Veterinary Medicine, Shaanxi Stem Cell Engineering and Technology Research Center, Northwest A&F University, Yangling 712100, China; ³College of Life Science, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

Abstract *Dmrt1* is a member of the *Dmrt* (doublesex and mab-3 related transcription factor) family, which exists in mammals, birds, reptiles, nematodes, fruit flies and other species. It is known as the most conservative gene that participates in the gender differentiation. It is expressed in the male gonad during gender differentiation as well as in the adult testis specifically, with a significant effect on the formation and function of male gonads. This review mainly focuses on the research and problems which exist in mammalian germ cell development and differentiation regulation by *Dmrt1*.

Keywords *Dmrt1*; germ cell; sex determination; mammals

Dmrt1(doublesex and mab-3 related transcription factor 1)是一个与雄性性别决定和分化相关的基因, 其广泛参与生物的性腺发育过程, 在哺乳类、鸟类、爬行类、线虫和果蝇等多种物种中存在, 是目前已知的最为保守的一个与性别分化相关的基因^[1]。*Dmrt1*基因编码的产物与果蝇的*doublesex*基因和线虫的*mab-3*基因类似, 都含有一个Doublesex/Mab-3(DM)结构域, 此结构域以锌指结构与特异的DNA序列结合,

调节目的基因转录, 从而调控性别的决定和分化^[2]。

Sry(sex-determining region of Y chromosome)基因存在于Y染色体上, 是哺乳动物最主要的性别决定基因。小鼠的*Sry*基因在原始生殖嵴处表达, 控制双潜能的前体细胞分化为支持细胞或者颗粒细胞。雄性胎儿性腺中的*Sry*基因激活*Sox9*(*Sry*-type HMG box 9)基因^[3], *Sox9*基因诱导生殖细胞向雄性的方向发育^[4]。在性别未分化之前, *Dmrt1*蛋白在两种性别

收稿日期: 2014-07-26 接受日期: 2014-10-09

国家自然科学基金(批准号: 31272518)和国家大学生创新计划(批准号: 1310712083)资助的课题

*通讯作者。Tel: 029-87080068, E-mail: jinlianhua@nwsuaf.edu.cn

Received: July 26, 2014 Accepted: October 9, 2014

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31272518) and National College Students Innovation Plan (Grant No.1310712083)

*Corresponding author. Tel: +86-29-87080068, E-mail: jinlianhua@nwsuaf.edu.cn

网络出版时间: 2015-01-19 15:34

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150119.1534.001.html>

胚胎的生殖嵴处表达量相似,随后在卵巢的表达量下降,在精巢中的表达量上升,出生后则在雄性性腺中特异性表达^[5]。在支持细胞中,*Dmrt1*基因的缺失导致支持细胞重编程为颗粒细胞,*Dmrt1*可以抑制雌性性别分化基因*Foxl2*(forkhead transcription factor 2),从而维持雄性生殖细胞的正常功能^[6]。

哺乳动物性别的转分化涉及到维甲酸(retinoic acid)信号通路。在*Dmrt1*基因缺失型的支持细胞中,维甲酸激活相关雌性性别决定基因并启动向卵巢细胞的转分化。*Dmrt1*可以抑制雌性性别相关基因的活性,使维甲酸信号分子在支持细胞中正常工作,从而促进支持细胞的增殖并抑制性别转分化^[7]。

此外,*Dmrt1*作为一种与胚胎性别决定相关的转录因子,在精原干细胞的多能性调控中也起到重要作用,并且在多项研究中发现,*Dmrt1*基因能够抑制细胞多能性相关的转录因子*Sox2*(sex determining region Y box 2)的表达^[8]。最新研究表明,*Dmrt1*可引起细胞凋亡^[9],说明组织特异性表达的*Dmrt1*可能是一个新的抑癌基因。本文简要介绍*Dmrt1*基因及其对哺乳动物生殖细胞发育的影响和机制。

1 *Dmrt1*基因调控区分析

不同物种间*Dmrt1*基因的启动子区域存在很大的同源性。通过比较人、小鼠、猪的启动子,发现其转录起始位点上游存在几个保守性很高的区域,这些区域很有可能是重要的调控区(图1)。在大鼠*Dmrt1*基因启动子的转录起始位点上游(-3 280 bp~-2 750 bp)和(-150 bp~-98 bp)处存在与调控相关的重要结合位点。其中,近端处(-150 bp~-98 bp)主要结合Sp1(specificity protein 1)、Sp3(specificity protein 1)和Egr1(early growth response 1)等通用转录因子;远端处(-3 280 bp~-2 750 bp)主要结合GATA1、GATA4等GATA家族的几个因子,GATA4在睾丸的支持细胞中表达较早,对性别分化起重要作用^[10]。另外,在*Dmrt1*的3'UTR区的分析中发现,在不同细胞中*Dmrt1*

的3'UTR区对基因表达的促进作用存在明显的差异。这表明,*Dmrt1*的3'端基因组序列对基因的调控同样具有组织或细胞的特异性,其中涉及的具体作用机制仍有待进一步探讨。

2 哺乳类*Dmrt1*的性别调控功能

哺乳类动物性别的决定可以看做胎儿性腺中信号通路间的竞争。存在于Y染色体上的*Sry*基因驱使前体细胞分化为支持细胞或者颗粒细胞。*Sry*基因进而激活*Sox9*基因,共同维持雄性细胞的功能。而雌性胎儿中的WNT/ β -catenin信号通路激活*Foxl2*基因,促进前体细胞向颗粒细胞分化^[11]。*Dmrt1*基因缺失的支持细胞中,*Foxl2*使之重编程为颗粒细胞。因此,*Dmrt1*对哺乳动物睾丸分化具有重要作用,并且参与竞争性调节胎儿性腺的调控网络,决定个体性别。

*Dmrt1*蛋白可以在胎儿时期的卵巢中暂时性地表达,但在两种性腺中发挥不同的功能^[12-13]。在小鼠的性别决定后,雌性生殖细胞在青春期前会进入减数分裂期。而雄性生殖细胞在出生前会进入有丝分裂阻滞状态,*Dmrt1*对这两种过程均起到重要的调控作用。在维甲酸以及其下游减数分裂诱导物*Stra8*(stimulated by retinoic acid gene 8)的影响下,卵巢内生殖细胞进入减数分裂期^[14],但是*Dmrt1*基因突变后会减少*Stra8*的表达进而引起减数分裂异常。mRNA以及CHIP分析发现,调节*Stra8*的活性是*Dmrt1*基因在胎儿卵巢中的重要功能之一。雄性性腺中*Dmrt1*突变型小鼠在胎儿发育过程中有很高的致睾丸畸胎瘤率^[11-12,15]。这些畸胎瘤来源于多能性蛋白的过表达。人类的一些睾丸生殖细胞瘤也与*Dmrt1*基因的突变有关。

在出生后哺乳动物的睾丸中,*Dmrt1*主要存在两种功能。一是对于出生后生殖细胞的进一步发育发挥作用:*Dmrt1*突变型细胞不能进行有丝分裂,也不能继续生殖细胞的分化^[11-12];二是*Dmrt1*敲低后对



图1 *Dmrt1*启动子示意图

Fig.1 The pattern of *Dmrt1* promoter region

未分化的精原细胞的影响: 维甲酸信号对于精子发生过程中由未分化状态到分化状态起关键作用^[16], 且通过激活 *Stra8* 的转录来启动已分化精原细胞的减数分裂。敲除 *Dmrt1* 使未分化的精原细胞高表达 *Stra8*, 致使其过早地进入减数分裂^[13]。 *Dmrt1* 通过抑制维甲酸信号和直接调控 *Stra8* 来达到精原细胞减数分裂和有丝分裂的平衡, 即 *Dmrt1* 是调控有丝分裂和减数分裂的关键基因。

3 *Dmrt1* 阻止雄性生殖细胞的性反转

在哺乳动物中, 性别决定首先由性腺中的前体细胞分化为各自所对应的支持细胞或者颗粒细胞, 机体其他细胞的命运也由这些先驱细胞决定。 *Dmrt1* 基因缺失型雄性小鼠虽然可以正常出生, 但是出生两周后并没有表达雄性特异的 *Sox9* 蛋白, 而表达了雌性特异表达的颗粒细胞标记 *Foxl2*。并且, 即使是在成年哺乳动物的支持细胞中, *Dmrt1* 基因敲除后也可引起支持细胞重编程为颗粒细胞^[7]。 雄性性别发育畸形是一种典型的性别发育障碍, 其主要特征为睾丸和卵巢并存于同一个体中^[17]。通过检测一位携带有 XY 染色体的女性患者发现, 其 *Dmrt1* 基因的外显子有 35 Kb 的区段缺失。这说明, 细胞的性别决定不仅仅局限于胚胎时期, 而是贯穿于个体终生。

支持细胞中 *Dmrt1* 基因缺失可引起 *Foxl2* 基因的表达上调, *Dmrt1* 基因的功能之一是在出生后哺乳动物的睾丸中抑制 *Foxl2* 基因的活性。 *Sox9* 作为雄性生殖细胞的标记只在支持细胞中表达^[6], 而 *GATA4* 在支持细胞及颗粒细胞中都表达。 *Minkina* 等^[7] 检测了双敲型支持细胞及颗粒细胞中 *GATA4* 和 *Sox9* 的表达情况, 发现支持细胞中 *GATA4/Sox9* 都具有活性, 而颗粒细胞中却丧失了 *GATA4* 的活性。因此推测, 在 *Dmrt1* 基因缺失型支持细胞中, *Foxl2* 可诱导其向雌性生殖细胞转变。

在突变型细胞中, 雄性激素水平下降, 雌性激素水平上升, 这可能与 *Cyp19a1a* (cytochrome P450, family 19, subfamily A, polypeptide 1a) 基因的表达上调有关。而 *Dmrt1* 对于雌性激素通路的调节可能与 *Cyp19a1a* 有相反的作用, *Dmrt1* 基因抑制 *Cyp19a1a* 基因的转录、阻碍雌激素的产生并且促进雄性性腺的发育^[18]。在出生后哺乳动物的性腺中, *Dmrt1* 除了抑制 *Foxl2* 外, 也抑制一些雌性性别决定基因,

如 *Wnt4* (wingless-type MMTV integration site family, member 4)、 *Rspo1* (R-spondin1)、 *Esr1* (estrogen receptor 1) 和 *Esr2* (estrogen receptor 2)。在胎儿原始的性别决定时期, *Sox9* 对于支持细胞和睾丸的发育有重要作用, *Sox9* 的缺失会激活雌性性别调控网络并促使卵巢产生^[4,19]。在出生后胎儿的性腺中, 两种性别的调控网络又发生了变化, 雄性性别的维持需要 *Dmrt1*, 而雌性需要 *Foxl2*, 任何一种基因表达受阻或缺失都会引起向相反性别转化的现象。

维甲酸信号通路在精子发生过程中起到重要作用, 且对于细胞的命运有潜在的决定作用。维甲酸也会影响成年动物睾丸细胞周期基因的表达并调控青年动物睾丸中生殖细胞的分化^[20-23]。在精原细胞中, *Dmrt1* 限制维甲酸参与的精子发生过程并实现有丝分裂和减数分裂的平衡^[5], 因此推测, 在支持细胞中 *Dmrt1* 具有同样的功能。 *Minkina* 等^[7] 通过实验发现, 增强维甲酸信号的强度可以促进 *Dmrt1* 突变型细胞性别的转分化。相反地, 减弱维甲酸的信号可以抑制 *Dmrt1* 突变型细胞中的转分化。通过对支持细胞中编码维甲酸受体 *Rara* (retinoic acid receptor A) 的基因和 *Dmrt1* 双敲除发现, *Rara* 与 *Dmrt1* 双敲可强烈地抑制向雌性生殖细胞的转分化^[7], 这表明, *Rara* 在向雌性生殖细胞转分化过程中起主要作用。

在 *Dmrt1* 缺失的支持细胞中, 维甲酸激活相关雌性性别决定基因并启动向卵巢细胞的转分化。 *Dmrt1* 可以抑制雌性性别相关基因的活性, 使维甲酸信号分子在支持细胞中正常工作, 促进支持细胞的增殖并使其保持雄性生殖细胞的功能。当 *Dmrt1* 缺失时, 维甲酸受体作为上游调节物启动一系列雌性性别分化基因的表达。 *Dmrt1* 可以沉默维甲酸的下游靶基因从而阻止性别的反转。

4 *Dmrt1* 诱导雄性生殖干细胞的多能性

精原干细胞 (spermatogonial stem cells, SSC) 在特殊的培养条件下可以被诱导为多能性干细胞^[24], 但是其向多能性干细胞的诱导效率很低, 且 SSC 重编程的机制尚不清楚。 *Takashima* 等^[8] 研究表明, 雄性生殖干细胞 (germline stem cell, GSC) 的 DNA 低甲基化可以有效诱导多能性干细胞的产生。同时对 *Dnmt1* (DNA methyltransferases 1) 和 *p53* 的表达进行阻断后, GSC 进而可以重编程为类胚胎干细胞。 *Dmrt1* 的下调可以导致 GSC 的凋亡, 同时减弱 *Dmrt1*

和p53的表达也可以使细胞具有多能性。

Sox2是一种多能性干细胞的转录因子,在维持小鼠ES(embryonic stem)细胞的多能性和自我更新过程中起关键作用。*Dmrt1*基因的下调使*Sox2*基因上调,*Sox2*和Oct4(octamer-binding transcription factor 4)相互作用产生多能性细胞。*Oct1*(octamer-binding transcription factor 1)基因的敲除促进了这一系列变化^[8],表明Oct家族蛋白有助于维持精原干细胞的功能。这一系列现象表明,精原干细胞的自发重编程与DNA的甲基化有关,且*Dmrt1-Sox2*的级联作用对于调节精原干细胞的多能性有重要影响。

*Dnmt1*的作用是使DNA维持甲基化状态,单独敲低*Dnmt1*会引起细胞凋亡。Takashima等^[8]将*Dnmt1*的敲低载体转入*p53*敲除型小鼠的GSC内,在*Dnmt1*基因被敲低后第4周得到了mGS细胞(multipotent germline stem cell, mGSC)。通过定量PCR可以检测到*Nanog*在*Dnmt1-mGSC*中的表达,而并没有检测到*Nanos3*,进一步证实了GSC丢失了精原细胞的特性,转而具有多能性。*Dnmt1*敲低会下调一些基因的表达,如*Dmrt1*和*Dnd1*(*Deadend1*)^[25]。对这两个基因分别构建*p53*双敲载体,转入GSC中发现,*Dmrt1-p53*双敲型细胞有更高比例的细胞重编程为mGSC。过表达*Dmrt1*并且敲低*Dnmt1*可以显著减少mGSC的产生^[8],说明*Dmrt1*的下调是*Dnmt1-mGSC*具有多能性的原因。且*Dmrt1-mGSC*形成的克隆能很快检测出*Nanog*的表达,说明*Dmrt1*是诱导GSC具有多能性的关键因子。

在寻找*Dmrt1*下游靶基因的分析中,发现多能性相关基因*Sox2*和*Utf1*(undifferentiated embryonic cell transcription factor 1)是随着*Dmrt1*的下调而上调的。*Dmrt1*本身是一种具有锌指结构域的转录因子,能够识别DNA上的特定区域,具有作用位点特异性的特点,这类转录因子在细胞内识别DNA序列后募集其他蛋白因子共同调节目标基因的转录活性。因此认为,转录因子*Dmrt1*能够识别*Sox2*启动子区的特定区域,并募集其他蛋白因子共同抑制*Sox2*启动子活性,从而降低体内*Sox2*基因mRNA的表达量。

*Sox2*对mGSC的产生也起到重要作用。GSC虽然可以表达Oct4,但是表达量很低。在*Sox2*基因表达上调的mGSC中,Oct4的蛋白水平很高。实验验证发现,*Sox2*与Oct4相互影响,共同诱导多能性细胞的产生^[26]。

5 *Dmrt1*在调控细胞凋亡中的作用

生殖细胞肿瘤是一类常见的肿瘤,它使男性患者产生畸形的精子,从而导致生殖障碍。睾丸生殖细胞肿瘤(testicular germ cell tumours, TGCTs)是中青年男性中最为常见的肿瘤之一。最近研究发现,*Dmrt1*基因的突变和人类的精原细胞瘤之间存在着关联,*Dmrt1*可能是一个潜在的精原细胞瘤的抑制基因^[26-27]。睾丸中存在一种凋亡诱导蛋白*Dmrt1*的调控新途径,即*Dmrt1*蛋白水平受胰岛素类生长因子正调控,*Dmrt1*通过和Mdm2(mouse double minute 2 homolog)、p53结合诱导细胞凋亡,抑制癌细胞生长。

*Dmrt1*主要通过影响p53从而诱导癌细胞凋亡。检测发现,*Dmrt1*蛋白抑制了p53的多聚泛素化,稳定了p53蛋白。在支持细胞系TM4中,外源瞬时表达的*Dmrt1*蛋白上调了内源性p53,并最终导致了TM4细胞凋亡。同时,利用G418筛选得到的稳定表达*Dmrt1*蛋白的细胞系出现了显著的凋亡,当细胞内源缺乏p53时,*Dmrt1*不能诱导细胞凋亡^[28]。*Dmrt1*导致细胞凋亡的事实说明了组织特异性表达的*Dmrt1*可能是一个新的抑癌基因,并能抑制生殖细胞肿瘤的形成。这种新发现的机制作为凋亡诱导蛋白的分子机制,可以应用于人类睾丸肿瘤的诊断,也能够作为治疗生殖细胞肿瘤的新的靶点,为男性生殖系统疾病的进一步治疗提供新的思路和方法。

6 小结

有研究显示,*Dmrt1*在发育中的性腺和成年小鼠的睾丸中存在可变剪切,而且这些可变剪切的产物有相似的表达模式^[29]。在胚胎发育过程中,这些剪切产物在雄性性腺的表达量比雌性要高。在斑马鱼、鸡和人类中,*Dmrt1*基因也存在可变剪切,大部分的可变剪切都发生在*Dmrt1*的3'UTR区域。除了小鼠的*Dmrt1d*(由于可变剪切导致其5'端缺失)基因,似乎在大部分脊椎动物中*Dmrt1*的可变剪切是一个常见的现象。*Dmrt1*在小鼠和人都存在可变剪切,这些可变剪切对性别分化是否有作用还有待进一步研究。

*Dmrt1*基因在哺乳动物、鸟类、爬行类等物种的性腺中保守性表达。根据近年来从分子水平、发育水平对性别决定的研究,证实性别决定与分化

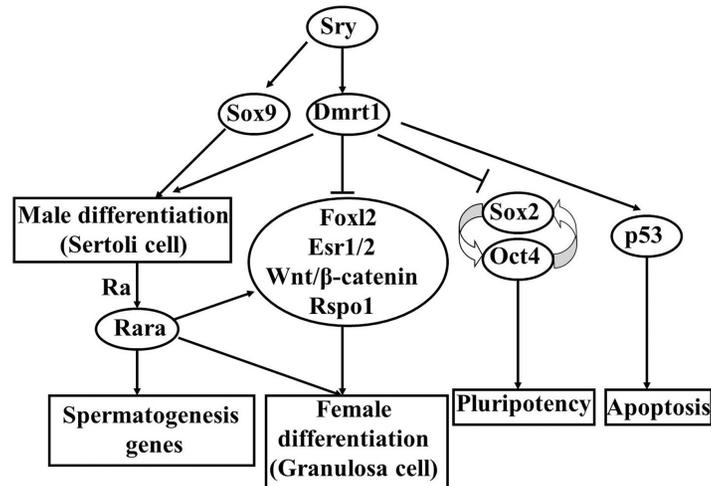


图2 Dmrt1调控哺乳动物生殖细胞发育的作用模式

Fig.2 The pattern of mammalian germ cell development regulated by Dmrt1

的机制分为三个层次：在哺乳动物中 *Sry* 基因存在于 Y 染色体上，其行使特异的性别决定功能，决定动物的性别，同时下游基因 *Sox9* 和 *Dmrt1* 决定性别的分化与发育；在非哺乳类脊椎动物中不存在 *Sry*。因此，*Sox9* 和 *Dmrt1* 共同作用调控雄性性别的分化；在无脊椎动物中，*Sry* 基因和 *Sox9* 基因均不存在，仅由 *Dmrt1* 基因参与性别的决定，如线虫和果蝇等。其主要机制如图 2 所示，表明 *Dmrt1* 是在脊椎动物和无脊椎动物中都存在的参与性别决定的保守性基因。在哺乳动物中，*Dmrt1* 基因控制睾丸发育的多个方面，包括细胞的增殖、分化及迁移等。*Dmrt1* 基因决定下游靶基因 *Stra8* 和 *Sox9* 的表达，维持精原细胞减数分裂、有丝分裂的平衡，同时抑制维甲酸的下流基因从而阻止性别转分化。*Dmrt1* 可能通过与 p53 作用决定癌细胞的凋亡，与 Sox2 作用调控 mGSC 的多能性。总之，我们已经初步认识了 *Dmrt1* 的重要功能，相信在不久的将来可以发现其更为精确的调控机理。

参考文献 (References)

- 1 Raymond CS, Murphy MW, O'Sullivan MG, Bardwell VJ, Zarkower D. Dmrt1, a gene related to worm and fly sexual regulators, is required for mammalian testis differentiation. *Gene Dev* 2000; 14(20): 2587-95.
- 2 Kobayashi T, Matsuda M, Kajiura-Kobayashi H, Suzuki A, Saito N, Nakamoto M, *et al.* Two DM domain genes, DMY and Dmrt1, involved in testicular differentiation and development in the medaka, *Oryzias latipes*. *Deve Dynam* 2004; 231(3): 518-26.
- 3 Whitfield LS, Lovell-Badge R, Goodfellow PN. Rapid sequence evolution of the mammalian sex-determining gene Sry. *Nature* 1993; 364(6439): 713-5.
- 4 Sekido R, Lovell-Badge R. Sex determination involves synergistic action of Sry and SF1 on a specific Sox9 enhancer. *Nature* 2008; 453(7197): 930-4.
- 5 Matson CK, Zarkower D. Sex and the singular DM domain: Insights into sexual regulation, evolution and plasticity. *Nat Rev Genet* 2012; 13(3): 163-74.
- 6 Matson CK, Murphy MW, Sarver AL, Griswold MD, Bardwell VJ, Zarkower D. Dmrt1 prevents female reprogramming in the postnatal mammalian testis. *Nature* 2011; 476(7358): 101-4.
- 7 Minkina A, Matson CK, Lindeman RE, Ghyselinck NB, Bardwell VJ, Zarkower D. Dmrt1 protects male gonadal cells from retinoid-dependent sexual transdifferentiation. *Dev Cell* 2014; 29(5): 511-20.
- 8 Takashima S, Hirose M, Ogonuki N, Ebisuya M, Inoue K, Kanatsu-Shinohara M, *et al.* Regulation of pluripotency in male germline stem cells by Dmrt1. *Gene Dev* 2013; 27(18): 1949-58.
- 9 张雷, 程汉华, 周荣家. Dmrt1 蛋白的稳定性研究. 基因开启未来: 新时代的遗传学与科技进步——湖北省遗传学会第八次代表大会暨学术讨论会论文摘要汇编 (Zhang Lei, Cheng Hanhua, Zhou Rongjia. Research of the stability of the protein. *Gene in the future: the new age of genetics and the progress of science and technology—The eighth congress of Hu bei province genetic institute and assemble of academic symposium abstract*) 2009.
- 10 Kyrönlähti A, Euler R, Bielinska M, Schoeller EL, Moley KH, Toppari J, *et al.* GATA4 regulates Sertoli cell function and fertility in adult male mice. *Mol Cell Endocrinol* 2011; 333(1): 85-95.
- 11 DeFalco T. Dmrt1 keeps masculinity intact. *Dev Cell* 2014; 29(5): 503-4.
- 12 Kim S, Bardwell VJ, Zarkower D. Cell type-autonomous and non-autonomous requirements for Dmrt1 in postnatal testis differentiation. *Dev Biol* 2007; 307(2): 314-27.
- 13 Matson CK, Murphy MW, Griswold MD, Yoshida S, Bardwell VJ, Zarkower D. The mammalian doublesex homolog Dmrt1 is a transcriptional gatekeeper that controls the mitosis versus meiosis decision in male germ cells. *Dev Cell* 2010; 19(4): 612-24.
- 14 Bowles J, Koopman P. Retinoic acid, meiosis and germ cell fate in mammals. *Dev* 2007; 134(19): 3401-11.
- 15 Krentz AD, Murphy MW, Kim S, Cook MS, Capel B, Zhu R, *et*

- al.* The DM domain protein *Dmrt1* is a dose-sensitive regulator of fetal germ cell proliferation and pluripotency. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(52): 22323-8.
- 16 Liu L, Gudas LJ. Disruption of the lecithin: Retinol acyltransferase gene makes mice more susceptible to vitamin A deficiency. *J Biol Chem* 2005; 280(48): 40226-34.
- 17 Ledig S, Hiort O, Wunsch L, Wieacker P. Partial deletion of *Dmrt1* causes 46, XY ovotesticular disorder of sexual development. *Eur J Endocrinol* 2012; 167(1): 119-24.
- 18 Wang DS, Zhou LY, Kobayashi T, Matsuda M, Shibata Y, Sakai F, *et al.* Doublesex-and Mab-3-related transcription factor-1 repression of aromatase transcription, a possible mechanism favoring the male pathway in tilapia. *Endocrinol* 2010; 151(3): 1331-40.
- 19 Barrionuevo F, Georg I, Scherthan H, Lécureuil C, Guillou F, Wegner M, *et al.* Testis cord differentiation after the sex determination stage is independent of *Sox9* but fails in the combined absence of *Sox9* and *Sox8*. *Dev Biol* 2009; 327(2): 301-12.
- 20 Hasegawa K, Saga Y. Retinoic acid signaling in Sertoli cells regulates organization of the blood-testis barrier through cyclical changes in gene expression. *Development* 2012; 139(23): 4347-55.
- 21 Nicholls PK, Harrison CA, Rainczuk KE, Wayne Vogl A, Stanton PG. Retinoic acid promotes Sertoli cell differentiation and antagonises activin-induced proliferation. *Mol Cell Endocrinol* 2013; 377(1): 33-43.
- 22 Sugimoto R, Nabeshima Y, Yoshida S. Retinoic acid metabolism links the periodical differentiation of germ cells with the cycle of Sertoli cells in mouse seminiferous epithelium. *Mech Dev* 2012; 128(11): 610-24.
- 23 Vernet N, Dennefeld C, Guillou F, Chambon P, Ghyselinck NB, Mark M. Prepubertal testis development relies on retinoic acid but not rexinoid receptors in Sertoli cells. *EMBO J* 2006; 25(24): 5816-25.
- 24 Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126(4): 663-76.
- 25 Gilbert D, Rapley E, Shipley J. Testicular germ cell tumours: Predisposition genes and the male germ cell niche. *Nat Rev Cancer* 2011; 11(4): 278-88.
- 26 Masui S, Nakatake Y, Toyooka Y, Shimosato D, Yagi R, Takahashi K, *et al.* Pluripotency governed by *Sox2* via regulation of *Oct3/4* expression in mouse embryonic stem cells. *Nat Cell Biol* 2007; 9(6): 625-35.
- 27 Turnbull C, Rapley EA, Seal S, Pernet D, Renwick A, Hughes D, *et al.* Variants near *Dmrt1*, *TERT* and *ATF7IP* are associated with testicular germ cell cancer. *Nat Genet* 2010; 42(7): 604-7.
- 28 Voutsadakis IA. The chemosensitivity of testicular germ cell tumors. *Cell Oncol (Dordr)* 2014; 37(2): 79-94.
- 29 Lu H1, Huang X, Zhang L, Guo Y, Cheng H, Zhou R. Multiple alternative splicing of mouse *Dmrt1* during gonadal differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 352(3): 630-4.