



HAL
open science

Des souris et des femmes : une ovogenèse foétale similaire ?

Clara Gobe, Béatrice Mandon-Pepin

► **To cite this version:**

Clara Gobe, Béatrice Mandon-Pepin. Des souris et des femmes : une ovogenèse foétale similaire ?. Médecine de la Reproduction, 2019, 21 (2), pp.111-126. 10.1684/mte.2019.0746 . hal-02360556

HAL Id: hal-02360556

<https://hal.science/hal-02360556>

Submitted on 12 Nov 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0
International License

Des souris et des femmes : une ovogenèse fœtale similaire ?

Of Mice and Women: similar fetal oogenesis?

Clara Gobé
Béatrice Mandon-Pépin

UMR BDR, Inra, Enva, Université Paris
Saclay, Jouy-en-Josas, France
<beatrice.mandon-pepin@inra.fr>

Résumé. La fonction de reproduction des femelles adultes dépend essentiellement de l'état fonctionnel de ses ovaires, ceux-là assurant la production des gamètes fécondants ainsi qu'une sécrétion hormonale nécessaire à cette fonction de reproduction. La mise en place des gamètes femelles débute, chez les mammifères, dès le stade fœtal, peu après la différenciation de l'ovaire. Elle se caractérise par un processus discontinu – à la différence des mâles. Chez un fœtus femelle XX, en absence du chromosome Y, la cascade génétique femelle se met en place, d'où découlent la différenciation ovarienne et la colonisation de l'ovaire par les cellules germinales d'origine extraembryonnaire, lesquelles évoluent vers les ovogonies. Ces dernières prolifèrent par mitose, puis – caractéristique du développement femelle – la méiose des cellules germinales est initiée et ces cellules deviennent alors des ovocytes I qui restent bloqués en fin de prophase de première division méiotique. Cette étape est suivie par la formation des follicules, qui sont des ovocytes entourés de cellules somatiques : la granulosa. Ces follicules constituent l'entité fonctionnelle de l'ovaire, c'est-à-dire le stock de cellules germinales disponible pour toute la vie reproductive de la femelle. Dans cette revue, nous nous efforçons de montrer que, si ces étapes sont globalement similaires chez tous les mammifères, il existe des différences de chronologie entre les espèces et notamment entre la femme et la souris, animal modèle de laboratoire.

Mots clés : ovaire fœtal, cellules germinales, méiose, folliculogénèse basale

Abstract. Reproduction in adult females is highly dependent on functional ovaries that allow efficient gamete production and hormonal secretion and so, fertility in adulthood. Female gamete production starts during fetal life in mammals, after the ovarian differentiation. Unlike male gamete production, the female one is a discontinuous process. In female fetus, in the absence of the Y chromosome, the ovary determining-pathway takes place resulting in ovarian differentiation and primordial germ cells migration from the somatic lineage to urogenital ridge. Here, these cells undergo a period of intensive proliferation (mitosis). In contrast with males where germ cells meiosis starts at puberty with a continuous mechanism, female germ cell meiosis initiates during fetal life. Then, oocytes I arrest at diplotene stage of prophase I of meiosis throughout fetal life (meiosis will resume at puberty in ovulated oocytes). Then arrested germ cells follow the process of primordial follicle formation and early folliculogenesis. Follicle thus formed represent the functional unit of the ovary and constitute the reserve of gametes for all reproductive life of the female. Although the establishment of the resting pool of primordial follicles are quite similar during oogenesis of mammals, there are however chronological differences between species and particularly concerning mouse and women. That is what we would like to prove in this review.

Key words: fetal ovary, germ cells, meiosis, early folliculogenesis

Dans l'espèce humaine, la production est assurée par la production de cellules hautement spécialisées appelées gamètes ou cellules germinales. Contrairement à l'homme, la femme naît avec une population définie de cellules germinales, qui constitue la réserve ovarienne dont elle disposera au cours de toute sa vie de reproduction. La fertilité de la femme dépend donc directement du développement ovarien

lors de sa vie fœtale. La différenciation ovarienne, qui conduira à la mise en place de ce stock de cellules germinales, est marquée, entre autres, par deux grandes étapes :

- l'entrée en méiose des cellules germinales XX puis leur blocage au stade diplotène de prophase I jusqu'à l'ovulation,
- la mise en place du stock de follicules primordiaux, unités fonctionnelles de l'ovaire.

Médecine
de la **Reproduction**

Tirés à part : B. Mandon-Pépin

Pour citer cet article : Gobé C, Mandon-Pépin B. Des souris et des femmes : une ovogenèse fœtale similaire ? *Médecine de la Reproduction* 2019 ; 21 (2) : 111-126. doi : 10.1684/mte.2019.0746

Si ces deux grandes étapes de la différenciation ovarienne se retrouvent, intrinsèquement similaires, chez tous les mammifères, des différences notables existent, notamment entre les rongeurs (espèce polyovulante) et d'autres mammifères comme les femmes (espèce mono-ovulante). Ces différences portent essentiellement sur la morphologie ovarienne, l'activité stéroïdogène au cours de la vie fœtale et sur le moment où la méiose est initiée (on parle d'espèces à méiose immédiate *versus* espèces à méiose retardée), ainsi que sur la folliculogénèse.

À partir d'une ébauche gonadique...

Pendant des décennies, la différenciation de l'ovaire chez les mammifères est restée peu étudiée, par rapport à la celle du testicule – cette dernière étant considérée, à tort, comme un phénomène plus actif d'un point de vue moléculaire et sur le plan des régulations géniques. Cette idée a du reste été renforcée par la découverte du gène *Sry*, chez l'homme et la souris [1, 2]. Or, depuis presque vingt ans, notamment grâce aux progrès de la génétique et de la transcriptomique réalisés chez la souris puis étendus à d'autres modèles animaux, avec, entre autres, la découverte de gènes impliqués spécifiquement dans la différenciation précoce de l'ovaire, cette différenciation est vue comme un processus actif.

Chez les mammifères, les crêtes génitales (ou gonades indifférenciées) se forment à la surface du mésonephros très précocement pendant la vie fœtale (dès vingt-huit jours chez l'Homme, dès neuf jours post-conception [jpc] chez la souris) [3]. Plusieurs gènes non sexuellement dimorphiques jouent un rôle crucial dans la formation de ces gonades indifférenciées, et permettent la prolifération, la différenciation et la survie des cellules somatiques de la gonade ; ce sont par exemple *Sf1* (pour *Steroidogenic factor 1*), *Wt1* (pour *Wilms tumour gene 1*), *Lhx9* (pour *LIMhomeobox protein 9*) et *Emx2* (pour *Empty spiracles homologue 2*) [4] (figure 1). Lors de leur croissance, les crêtes génitales sont colonisées par les cellules germinales primordiales (CGP), entre 10,5 et 11,5 jpc chez la souris et entre quatre et cinq semaines de vie fœtale chez l'Homme. Chez la femelle, la différenciation de l'ovaire nécessite que les CGP aient colonisé les crêtes génitales. En effet, en l'absence de CGP, l'ovaire fœtal commence à se différencier, mais dégénère ensuite en bandelette fibreuse [5, 6]. Si les cellules germinales peuvent influencer le devenir de la gonade femelle, la gonade influence également le devenir des cellules germinales XX. La croissance des crêtes génitales est rigoureusement dépendante de la prolifération des cellules somatiques de la future gonade. Un défaut de cette dernière peut ainsi entraîner un retard dans sa différenciation, voire un développement anormal. Chez la souris, l'absence de la protéine CBX2 (pour *chromobox 2*, aussi appelé M33)

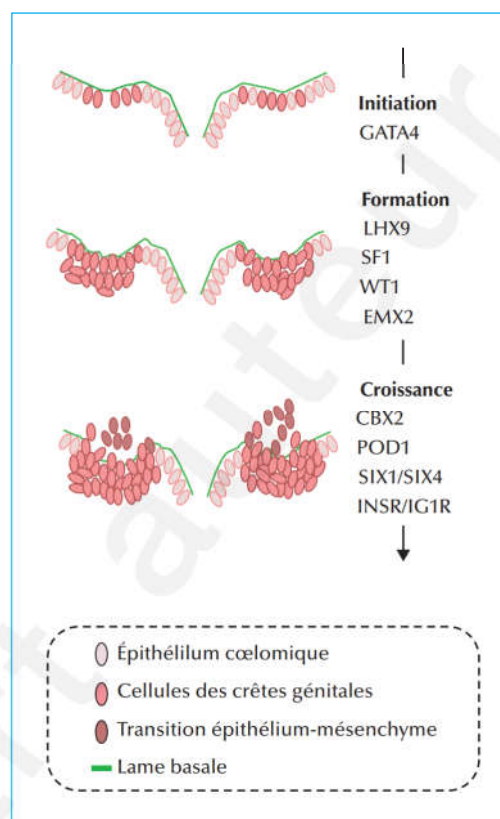


Figure 1. Croissance de la crête génitale chez la souris. L'épithélium de surface du mésonephros est monostratifié et isolé du mésonephros par une lame basale composée de laminine. Lors de l'initiation de la formation de la crête génitale, les cellules épithéliales subissent une transformation en cellules mésenchymateuses sous l'influence de GATA4. Il y a ensuite prolifération de l'épithélium coelomique et fragmentation de la lame basale, ce qui permet la croissance de la crête génitale et sa colonisation par les cellules germinales primordiales (CGP). (Adapté de [106]).

entraîne, chez les animaux XX, l'absence d'ovaire ou le développement d'ovaires plus petits [7, 8]]. Ceci a également été montré chez les souris dépourvues de INSR/IGF1R (pour *insulin receptor/insulin like growth factor 1 receptor*), les animaux XX présentant un retard de différenciation ovarienne lorsque la voie de signalisation de l'insuline est abolie [9, 10]. Il en va de même lors de la perte simple du facteur de transcription POD1 (pour *podocyte-expressed 1*, aussi appelé *Tcf21*, pour *transcription factor 21*), ou de la perte simultanée des facteurs SIX1 et SIX4 (pour *SIX homeobox 1* et 4) ou RSPO1 (pour *R-spondin-1*) et WNT4 (pour *Wnt family member 4*), qui entraînent la formation de gonades XX hypoplasiques [11-13].

Après la colonisation par les CGP des crêtes génitales, l'expression de plusieurs gènes permet d'induire la différenciation de ces dernières en ovaire par un processus

dynamique mettant en jeu d'expression de gènes « pro-ovariens ».

Différenciation précoce de l'ovaire et sa génétique

Contrairement à la voie de différenciation testiculaire, pour laquelle la cascade d'activation génétique est très linéaire, la différenciation ovarienne présente deux grandes voies principales qui agissent en parallèle et parfois se chevauchent : la voie de signalisation RSPO1/WNT4/ β -caténine et la cascade génétique induite par FOXL2 (pour *forkhead box l2*). Ces deux voies exercent des fonctions spécifiques – telles que la survie des cellules germinales XX ou la prolifération cellulaire – et complémentaires – telles que la différenciation des cellules de la granulosa et l'inhibition de la voie de différenciation mâle. L'activation de ces deux voies dans l'ovaire fœtal est cruciale pour sa différenciation et son développement. L'étude de rares cas d'inversion sexuelle, de type mâle XX sans Sry chez l'homme, a permis de recueillir des connaissances sur la différenciation ovarienne précoce. Le rôle des gènes *Rspo1*, *Wnt4* et *Foxl2* a d'ailleurs été mis en évidence de cette façon.

La voie de signalisation RSPO1/WNT4/ β -caténine

Chez la souris, les gènes *Rspo1* et *Wnt4* sont exprimés dans les crêtes génitales des deux sexes dès 10,5 jpc [14, 15]. Lors de la différenciation des crêtes génitales, l'expression de ces gènes participe à la prolifération cellulaire, aussi bien dans les gonades XX que XY [11]. À ce stade, leur expression est stimulée par les facteurs SF1, GATA4/FOG2 [16], SIX1/SIX4 [13] et IGF1R [10], qui sont exprimés dans les gonades indifférenciées. L'expression de *Rspo1* et de *Wnt4* diminue ensuite dans la gonade mâle pour devenir spécifique de l'ovaire à 12,5 jpc [14, 15]. Ces deux gènes codent respectivement les protéines RSPO1 et WNT4, qui agissent toutes les deux sur l'activation de la voie β -caténine canonique dans les cellules somatiques de l'ovaire [17].

L'interaction de WNT4 avec les récepteurs transmembranaires Frizzled et LRP5/6 (pour *light density lipoprotein receptor-related protein 5/6*) active une cascade moléculaire qui conduit *in fine* à une augmentation de la quantité de β -caténine cytoplasmique, permettant son transfert dans le noyau et l'activation de ses gènes cibles [18]. Chez la souris XX, la suppression de *Wnt4* entraîne une inversion partielle du sexe avec le développement d'ovotesticules (*tableau 1*) [15], une masculinisation du tractus génital avec persistance de dérivés wolffiens tels que l'épididyme, dû à la différenciation de cellules stéroïdogènes de type Leydig (Leydig-like, d'où sécrétion d'androgènes) [15, 19], une vascularisation de type mâle et une transdifférenciation des cellules de la granulosa en cellules de type Sertoli

(Sertoli-like) [20, 21]. Chez l'Homme, WNT4 est également un gène majeur de la différenciation ovarienne, mais pas uniquement puisque des mutations de WNT4 peuvent être responsables de différents syndromes, notamment le syndrome de SERKAL (*SEx Reversion, Kidneys, Adrenal and Lung dysgenesis*) [22], se manifestant, entre autres, par des ambiguïtés sexuelles.

Chez la souris, RSPO1 est une protéine sécrétée par les cellules somatiques, située en amont de la voie d'activation WNT/ β -caténine, qui permet à WNT4 d'exercer son action indispensable pour une morphogénèse ovarienne adéquate [23, 24]. L'absence de RSPO1 entraîne une inversion du sexe incomplète avec un pseudo-hermaphrodisme (présence des structures wolffienne et mullérienne), et un phénotype gonadique similaire aux souris XX *Wnt4*^{-/-} avec néanmoins plus de cordons séminifères dans les ovotesticules, indiquant une masculinisation plus prononcée de la gonade (*tableau 1*) [23]. Par ailleurs, une différence notable avec les souris XX *Wnt4*^{-/-} est que les souris XX *Rspo1*^{-/-} présentent un défaut d'entrée en méiose des cellules germinales XX [25].

Chez l'Homme, les mutations homozygotes de *RSPO1* entraînent un syndrome d'hyperkératose palmoplantaire, une prédisposition au carcinome épidermoïde de la peau et une inversion du sexe – homme 46 XX DSD (pour défaut de développement sexuel) – avec des ambiguïtés génitales externes plus ou moins importantes. En fonction des études, il est rapporté une hypoplasie testiculaire ou la présence d'ovotesticules chez ces patients XX [14, 26, 27] (*tableau 1*). Chez une femme 46, XX avec une mutation homozygote de *RSPO1*, il a également été décrit la présence d'un ovaire d'un côté et d'un ovotesticule de l'autre [28]. Le gène *RSPO1* est donc un gène majeur de la différenciation ovarienne, et celui-ci est exprimé dans l'ovaire en développement entre les semaines 6 et 9 de vie fœtale [27]. Il n'est pas exprimé à l'âge adulte, contrairement à WNT4, et semble avoir un rôle d'optimisation de l'activation de la voie WNT/ β -caténine à un stade crucial de la différenciation ovarienne.

Les protéines RSPO1 et WNT4 ont pour but l'activation de la voie de signalisation WNT dont l'effecteur est la protéine CTNNB1 (aussi appelée β -caténine),

La β -caténine (codée par le gène *Ctnnb1*) est importante pour la morphogénèse ovarienne, notamment en activant l'expression de la follistatine, qui inhibe la vascularisation testiculaire (en antagonisant l'activine) et en favorisant la survie des cellules germinales femelles [29-31]. La stabilisation de la β -caténine (mimant l'activation de la voie de signalisation WNT4) est également capable d'inhiber l'expression de gènes nécessaires au développement testiculaire (*Sox9*, *Pgds* et *Amh*, dans les précurseurs des cellules de soutien) [23, 30], d'antagoniser la fonction de FGF9 [32] et d'inhiber la différenciation des cellules stéroïdogènes mâles [32, 33]. L'activité de la β -caténine n'est pas complètement abolie dans les souris

Tableau I. Gènes impliqués dans le développement ovarien précoce chez la souris et la femme.

Gènes	Mutation	Sexe	Phénotypes murins	Phénotypes humains	Références
<i>Rspo1</i> <i>RSPO1</i>	Perte de fonction	XX	Inversion partielle du sexe, phénotype similaire à <i>Wnt4</i> . Pas de méiose des cellules germinales	Inversion du sexe complète ou partielle (DSD)	[14, 23, 24]
<i>Wnt4</i> <i>WNT4</i>	Perte de fonction	XX	Perte des cellules germinales femelles, formation du vaisseau coelomique, production d'androgène, agénésie des canaux de Müller	Divers degrés d'inversion du sexe, formation du vaisseau coelomique, production d'androgène, agénésie des canaux de Müller	[15, 19, 22, 107-110]
<i>Ctnnb1</i> <i>CTNN B1</i>	Perte de fonction	XX	Phénotype similaire à <i>Wnt4</i> et <i>Rspo1</i>	NR	[16, 34]
<i>Foxl2</i> <i>FOXL2</i>	Perte de fonction	XX	Entrée en croissance des follicules primordiaux. Granulosa reste squameuse. Arrêt au stade de follicules primaires et apoptose.	À l'hétérozygotie: BPES et dans certains cas: IOP	[38, 111-113]
<i>Fst</i> <i>FST</i>	Perte de fonction	XX	Inversion partielle du sexe, formation du vaisseau coelomique, perte des cellules germinales femelles	NR	[31]

CTNNB1 : β -caténine, NR : non renseigné, IOP : insuffisance ovarienne prématurée.

dépourvues de *Rspo1* ou de *Wnt4*, suggérant que ces deux gènes partagent cette même cible et/ou qu'il pourrait exister d'autres régulateurs positifs de cette voie [11]. Par ailleurs, l'invalidation spécifique de *Ctnnb1* dans la lignée somatique de la gonade perturbe peu la différenciation ovarienne [34], indiquant que la fonction de la β -caténine doit être abolie dans les cellules somatiques et germinales pour induire une inversion du sexe gonadique, et que la signalisation des cellules germinales est importante dans la différenciation de l'ovaire.

Cascade génétique induite par FOXL2

Foxl2 (pour *forkhead box l2*) appartient à la famille des facteurs de transcription à tête de fourchette (*forkhead box family*). La protéine FOXL2 possède deux domaines protéiques principaux :

- un domaine de liaison à l'ADN de 110 acides aminés (le domaine Forkhead),
- une région polyalanines (polyAla), correspondant à une répétition de quatorze alanines extrêmement bien conservée chez les mammifères [35, 36].

Dans l'ovaire de souris, l'expression du gène *Foxl2* commence dès 11,5 jpc dans les précurseurs des cellules de la granulosa [37] et sa protéine peut être détectée dès 12,5 jpc dans les futures cellules de soutien [38, 39]. Bien qu'elle soit spécifiquement exprimée dans les futures cellules de soutien dès les premiers stades de différenciation de l'ovaire chez la souris, la protéine FOXL2 ne semble pas jouer un rôle crucial dans la morphogenèse de la gonade femelle avant la folliculogenèse chez cette espèce. En effet,

la délétion de *Foxl2* chez la souris entraîne une insuffisance ovarienne prématurée (IOP) [38, 39] et, selon le fond génétique des souris, la cause de l'IOP est soit une anomalie de la formation des follicules primordiaux (mauvaise fragmentation des niches de cellules germinales ou nids ovigères) [39], soit une anomalie de la folliculogenèse basale (blocage au stade de follicule primaire) [38].

Chez l'homme, le blépharophimosis-ptosis-épicanthus-inversus (BPES), est un syndrome à transmission autosomale dominante induit par une mutation hétérozygote de *FOXL2*. Les patients BPES présentent des malformations complexes des paupières : on distingue le BPES de type I, associé à une insuffisance ovarienne primaire, et du type II, où seul le phénotype de malformations palpébrales est présent [40]. Actuellement, plus d'une centaine de mutations de *FOXL2* responsables d'un BPES ont été décrites¹. Le problème de fertilité, quand il survient, ne concerne que la femme, et la variabilité des phénotypes ovariens est importante. Les patientes peuvent être atteintes d'aménorrhée primaire ou secondaire, et la pénétrance du phénotype ovarien peut être dépendante du contexte génétique, mais également de l'âge et de l'environnement [41, 42]. Par ailleurs, la variabilité phénotypique observée au niveau de l'ovaire suite à une mutation de *FOXL2* n'est pas exclusivement limitée aux cas de BPES de type I. Elle s'observe également dans les rares cas d'IOP non syndromiques liés à *FOXL2* [43-45]. À ce jour, aucune mutation homozygote de *FOXL2* n'a été décrite chez la femme. Chez la chèvre, la perte de fonction de *Foxl2* (à l'état homozygote) est liée à une inversion de sexe femelle

¹ <http://medgen.ugent.be/FOXL2>

vers mâle durant l'embryogenèse [46]. *Foxl2* est donc un gène de détermination du sexe femelle au moins chez la chèvre.

La voie de signalisation RSPO1/WNT4/ β -caténine est donc une voie de détermination et de morphogénèse ovarienne, et une voie d'inhibition de la différenciation testiculaire, tout comme la cascade génétique activée par FOXL2. Ces deux voies possèdent des rôles qui leur sont propres, tels que l'action de la voie WNT4/ β -caténine sur la vascularisation de la gonade et la survie des cellules germinales, ou l'action de FOXL2 sur la maturation des cellules de la granulosa. Elles ont également des rôles complémentaires, notamment en ce qui concerne la régulation de l'expression de la follistatine (en collaboration avec BMP2 [*bone morphogenetic protein 2*]) à des stades différents du développement [47]. Ces deux voies sont également complémentaires en ce qui concerne l'inhibition de l'expression de *Sox9* et de la différenciation des cellules de Sertoli et de Leydig.

Du point de vue de la morphologie ovarienne fœtale murine et humaine

Après la colonisation des gonades par les cellules germinales, et parallèlement à l'expression de ces gènes

indispensables à la différenciation précoce de l'ovaire, cette gonade va s'organiser selon une morphologie et une chronologie qui varient selon les espèces (*figure 2*).

Avant l'entrée en méiose des cellules germinales, une phase de prolifération importante des CGP XX est observée dans l'ovaire fœtal de souris entre 10,5 et 14,5 jpc [48, 49]. Les cellules germinales sont alors appelées ovogonies. Les divisions mitotiques sont synchrones et la cytokinèse est incomplète, organisant ces cellules germinales en clusters, avec des ponts cytoplasmiques entre elles [49]. Les cellules germinales d'un même cluster sont capables d'échanger des organelles via les ponts cytoplasmiques [49]. Ces clusters sont partiellement fragmentés avant l'entrée en méiose, et les cellules germinales femelles, encore reliées, se différencient de façon synchrone lors de la méiose [48]. On parle alors d'ovocytes.

Plusieurs groupes d'ovocytes entourés de cellules épithéliales allongées de la prégranulosa, formant ainsi des nids ovigères (ou cordons ovigères), sont observables entre 16,5 et 18,5 jpc (*figure 3*), donc après l'initiation de la méiose (13,5 jpc). Les nids ovigères se mettent en place en périphérie de l'ovaire et définissent le cortex. A *contrario*, la partie centrale de l'ovaire est appelée médulla. Les cellules germinales femelles peuvent rester connectées entre elles jusqu'à 17,5 jpc avant d'être

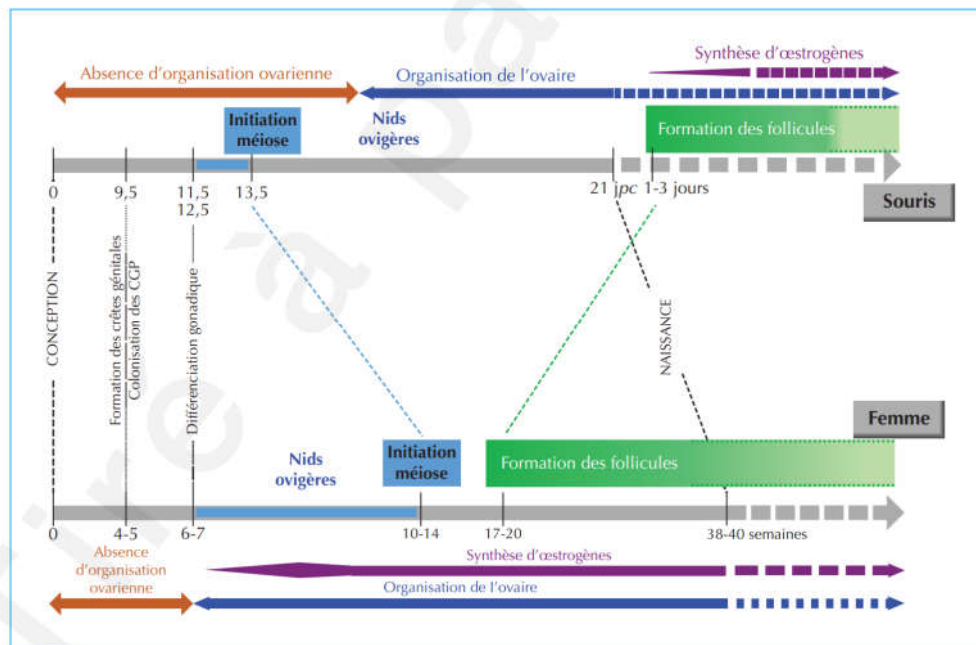


Figure 2. Chronologie comparée femme/souris des principales étapes du développement ovarien. *Chez la souris*, un à deux jours séparent la différenciation gonadique de l'entrée en méiose des cellules germinales. Les nids ovigères se forment après la méiose. Une synthèse ovarienne d'œstrogènes n'est détectée qu'après la naissance, avec la formation des follicules. *Chez la femme*, la période entre différenciation gonadique et initiation de la méiose dure plusieurs semaines, pendant lesquelles l'ovaire adopte une organisation structurale et une activité stéroïdienne est détectée. La formation des follicules et la folliculogénèse basale se mettent en place pendant la vie fœtale.

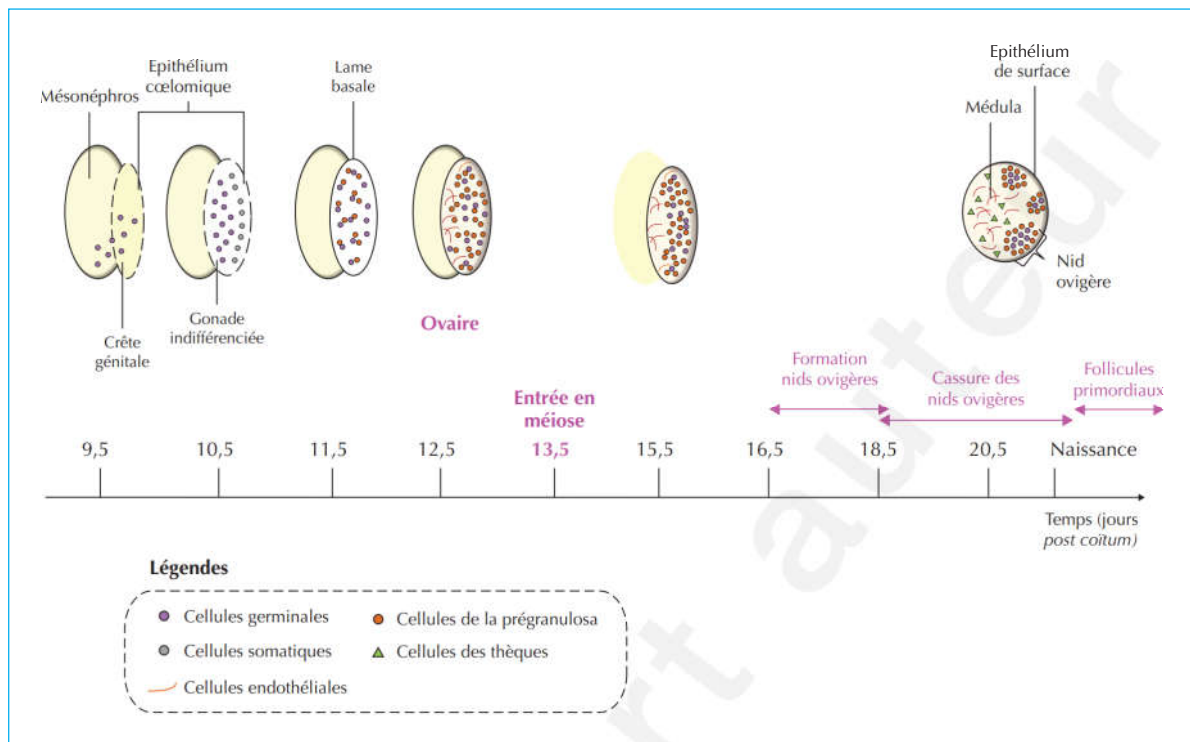


Figure 3. Morphogénèse ovarienne fœtale chez la souris. La différenciation ovarienne nécessite l'absence du gène *Sry*. Ainsi, les cellules somatiques peuvent entamer un programme génétique de différenciation femelle pour former des cellules de la granulosa. Les cellules de la granulosa forment des clusters avec les cellules germinales XX et favorisent leur entrée en méiose. Ces clusters forment ensuite dans le cortex les nids ovigères, essentiels pour la formation des follicules primordiaux.

complètement individualisés [48, 49]. Cette individualisation des ovocytes est importante pour la fragmentation des nids ovigères et la formation des follicules primordiaux. Chez les rongeurs, la formation des follicules primordiaux ne se produit qu'après la naissance.

Chez la femme, la différenciation des cellules germinales dans l'ovaire fœtal se produit de façon asynchrone, à la différence des rongeurs. Les cellules de la granulosa se différencient vers neuf semaines de vie fœtale [50]. Exceptés chez les rongeurs, l'ovaire fœtal de mammifère en développement présente une activité stéroïdogène, attestée soit par une activité aromatasase, soit par une production de 17β -œstradiol. Cette potentielle production d'œstrogènes fœtaux a lieu avant l'initiation de la méiose chez le lapin [51], les ruminants (brebis, chèvre et vache; cf [52] et l'Homme [53]. Une formation lente de nids ovigères se met en place, d'abord en périphérie, puis dans les parties les plus profondes de l'ovaire (médulla), à partir de la dixième semaine de grossesse jusqu'à environ 17-20 semaines chez le fœtus humain XX [54, 55]. L'activité stéroïdogène et la formation de ces nids ovigères sont alors suivies par l'initiation de la méiose des premières cellules germinales, vers onze semaines. L'entrée en

méiose est dépendante de l'expression préalable de protéine *ARN binding* DAZL (pour *deleted in azoospermia-like*) [56]. Les cellules germinales ayant exprimé Dazl pourront s'engager dans le processus de la méiose. DAZL permettra alors, dans l'ovaire fœtal humain [57], mais pas dans celui de souris, l'expression de BOLL lors de la transition méiotique du stade zygotène vers le pachytène.

Une autre différence majeure entre l'ovogenèse de souris et celle de la femme est la mise en place de l'initiation de la folliculogénèse. Chez l'humain, contrairement à ce qui se passe chez la souris, la formation des follicules primordiaux se déroule pendant la vie fœtale et commence entre les semaines 17 et 20, dès la fragmentation des nids ovigères [58, 59] (figure 2). Dès 14-15 semaines, la majorité des cellules germinales ont atteint le stade diplotène et certaines de ces cellules sont entourées de quelques cellules de granulosa aplaties, formant les premiers follicules primordiaux du cortex, de diamètre 30-50 μm [60]. Un début de croissance folliculaire basale est amorcé pendant la vie fœtale (indépendante des gonadotrophines), contrôlé par plusieurs facteurs agissant de façon autocrine ou paracrine pour former un dialogue entre ovocytes et cellules somatiques [61]. Dans l'ovaire fœtal

humain, on peut observer l'entrée en croissance d'une partie de ces follicules. En effet, l'ovocyte croît rapidement et, dès vingt-deux semaines de vie *in utero*, des follicules primaires sont visibles (26 %). À vingt-six semaines, quelques follicules secondaires peuvent apparaître, susceptibles d'être producteurs d'œstrogènes [58, 59]. En effet, à l'inverse de ce qui s'observe chez la souris, il existe chez la femme une population de cellules stéroïdogènes entre douze et vingt semaines de vie fœtale. Cette population cellulaire, située dans la médulla, sécrète des stéroïdes en très faibles quantités [62, 63]. Elle décroît fortement entre vingt et une et trente et une semaines, période pendant laquelle des cellules similaires, les cellules de la thèque, moins nombreuses et plus petites, apparaissent dans la partie interne du cortex, dès vingt semaines de vie fœtale dans l'ovaire humain [64-66]. Leur différenciation nécessite les facteurs DHH/IHH (pour *desert/indian hedgehog*) et GDF9 (pour *growth differentiation factor 9*), comme chez la souris, mais également la sécrétion d'hormone lutéinisante (LH), de l'insuline/IGF1 (pour *insulin-like growth factor-1*) et *KIT ligands* [67]. La sécrétion de stéroïdes pendant la vie fœtale [68] augmente avec la différenciation des cellules de la thèque. Peu avant la naissance (à quarante semaines de vie fœtale), des cellules de la thèque sont visibles autour de quelques follicules en croissance dans la partie inférieure du cortex (la majorité des follicules primordiaux étant dans la partie supérieure du cortex). À ce stade, la réserve ovarienne est établie [65].

Une étape fondamentale de l'ovogenèse : l'initiation de la méiose

Chez les mammifères, la méiose des cellules germinales débute :

- pendant la vie fœtale, chez les femelles (sauf la lapine : autour de la naissance),
- en période postnatale chez les souris mâles, autour de la puberté chez les mâles des autres espèces.

Les rongeurs femelles ont une méiose immédiate et synchronisée, tandis que la femme (comme les ruminants) a une méiose retardée et désynchronisée. Au moment de l'entrée en méiose des cellules germinales XX, la structure ovarienne fœtale est organisée en cortex et médulla chez les humains (et les ruminants) alors que l'organisation ovarienne des rongeurs n'est pas aussi identifiable.

La méiose est constituée de deux divisions cellulaires suivant une phase de réplication de l'ADN. La première, réductionnelle, permet de diviser par deux le nombre de chromosomes et permet le brassage de l'information génétique. La deuxième, équationnelle, ressemble davantage à une mitose mais sans réplication préalable de l'ADN, et n'a lieu que sur un seul chromosome. À la

différence des mâles, chez qui une cellule germinale produit quatre cellules filles identiques après divisions méiotiques, les femelles produisent des cellules filles de tailles différentes (globules polaires) et de façon discontinue dans le temps.

Chaque division méiotique est constituée de quatre étapes similaires à celle d'une mitose (prophase, métaphase, anaphase et télophase). La prophase I de première division méiotique est une étape fondamentale, de par sa durée, importante, et de par les événements fondamentaux qui s'y déroulent, à savoir les *crossing-over* entraînant des échanges d'information génétique entre les chromosomes parentaux. La prophase I est elle-même sous-divisée en cinq étapes intermédiaires en fonction de l'état de condensation des chromosomes :

- *leptotène* : suite à la réplication de l'ADN, les chromosomes forment des filaments accrochés à la membrane par les télomères et les complexes protéiques synaptonémaux commencent à se former sur les chromosomes homologues,
- *zygotène* : les chromosomes s'apparient grâce aux éléments axiaux et centraux des complexes synaptonémaux,
- *pachytène* : les chromosomes homologues sont associés en tétrade et les *crossing-over* se forment au niveau des chiasmata,
- *diplotène* : les complexes synaptonémaux se dissocient, les chromosomes homologues se séparent mais restent attachés par leurs chiasmata.

À la différence des mâles, chez qui la méiose est un processus continu dans le temps, le développement des ovocytes est marqué par une pause au stade diplotène de la première division méiotique. Cette pause peut durer de quelques jours (chez la souris) à plusieurs années (chez la femme). La méiose se poursuivra lors du pic de LH, c'est-à-dire quelques heures avant l'ovulation, moment où l'ovocyte entrera en deuxième division de méiose, marquera de nouveau un arrêt au stade de métaphase II (ovocyte II), pour se terminer définitivement lors de la fécondation.

Chez la souris, dès 13,5 jpc, les ovogonies arrêtent de proliférer et commencent à se différencier en initiant la première division de méiose [69, 70]. L'entrée en méiose des cellules germinales XX se déroule selon une vague antéropostérieure, conduisant à l'apparition d'ovocytes I entre 13,5 et 15,5 jpc [69, 71]. À 15,5 jpc, la majorité des cellules germinales ont initié la méiose, et ce processus s'interrompt aux alentours de 16,5-17,5 jpc, ce qui correspond au stade diplotène de la prophase I [71, 72].

L'entrée en méiose des cellules germinales, spécifiquement dans l'ovaire fœtal, est contrôlée par de nombreux mécanismes de régulation. La méiose est initiée par le gène *Stra8* à partir de 13,5 jpc chez la souris. Avant

ce stade, l'expression de *Stra8* est réprimée par des modificateurs de la chromatine, tels que des histones désacétylases (HDAC) [73] et le complexe PRC1 (pour *polycomb complex 1*) (figure 4). Les marques épigénétiques apposées rendent le promoteur de *Stra8* moins accessible et donc moins sensible à l'acide rétinoïque [74]. La fonction inhibitrice de cette configuration chromatiniennne est supposée être progressivement contrebalancée par la présence croissante d'acide rétinoïque [74]. Même si le rôle de l'acide rétinoïque dans l'initiation de la méiose femelle est encore contesté *in vivo*, cet agent n'en reste pas moins capable de stimuler *in vitro* l'expression de *Stra8*, mais également celle de *Rec8*, un autre facteur essentiel à la réalisation de la méiose [75] (figure 4). Dans la gonade mâle, à ce même stade de développement, l'enzyme CYP26B1 est responsable de la dégradation de l'acide rétinoïque [76]. Dans la gonade femelle n'exprimant pas CYP26B1, l'acide rétinoïque ne serait pas dégradé, pouvant ainsi exercer son action activatrice notamment, sur le gène *Stra8*. Le dogme actuel soutient que l'acide rétinoïque produit par le mésonéphros est acheminé vers la gonade via les tubules mésonéphrotiques connectés à sa partie antérieure [69, 71, 77, 78]. De façon intéressante, la méiose est initiée par *Stra8* de façon décalée entre 13,5 et 15,5 jpc, selon une vague antéropostérieure qui correspondrait à l'acheminement progressif de l'acide rétinoïque dans la gonade. Néanmoins, le gène *Raldh1* est exprimé dans l'ovaire, se trouvant ainsi en situation de générer une production locale d'acide rétinoïque et de participer à l'entrée en méiose des cellules germinales XX [79].

L'entrée en méiose des ovogonies est également contrôlée par d'autres facteurs, tels que :

- MSX1/MSX2 (pour *Msh homeobox 1/2*), qui sont nécessaires au maintien et à l'augmentation de l'expression de *Stra8* [80],
- DMRT1 (pour *doublesex and mab-3 related transcription factor 1*) qui stimule l'expression de *Stra8* [81] et surtout l'augmentation de la voie de signalisation femelle WNT4/RSP01/β-caténine permettant de réguler la prolifération des cellules germinales XX et de promouvoir leur entrée en méiose [25] (figure 4).

Ainsi pour résumer, chez la femelle, le contexte ovarien permet l'augmentation d'expression de *Stra8*, qui entraîne une augmentation des gènes méiotiques « classiques » tels que *Sycp3* (pour *synaptonemal complex protein 3*), *Spo11* (pour *initiator of meiotic double stranded breaks*) et *Dmc1* (pour *DNA meiotic recombinase 1*), essentiels à la formation/réparation des cassures d'ADN double brin et à la réalisation de la méiose [75, 82-84] (figure 4). Les ovocytes passent par les différents stades méiotiques de prophase I : leptotène, zygotène, pachytène puis diplotène, où la méiose se bloque.

Autre étape fondamentale de l'ovogenèse : la formation des follicules primordiaux

Selon les espèces, la formation des follicules se déroule soit en période fœtale (chez la femme mais aussi chez les

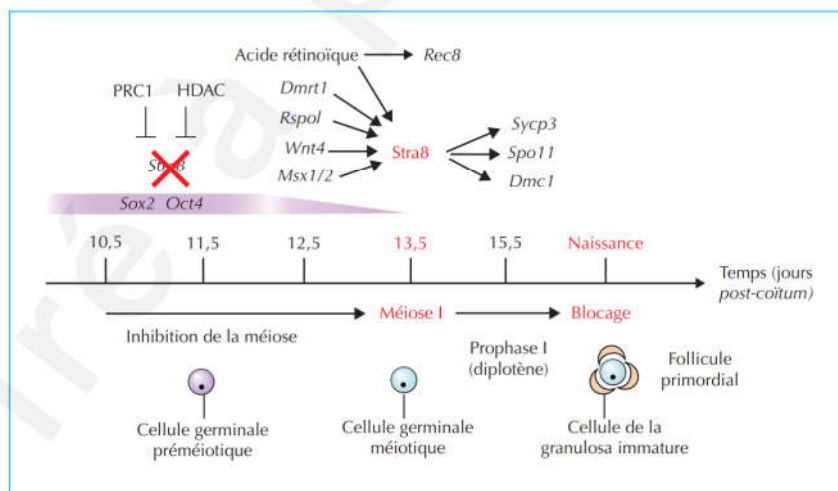


Figure 4. Initiation de la méiose dans l'ovaire fœtal chez la souris. La méiose des cellules germinales primordiales XX sert à former des gamètes femelles haploïdes. Elle débute lors de la vie fœtale, à 13,5 jpc, et reste bloquée au stade diplotène de prophase I jusqu'à l'ovulation. L'expression des gènes de pluripotence *Sox2* et *Oct4* diminue lors de la différenciation des CGP XX, tandis que les facteurs ovariens RSP01 et WNT4 augmentent et favorisent l'expression de *Stra8*. Les régulations représentées (→ : stimulations et ⊥ : inhibitions) peuvent être directes ou indirectes.

ruminants) soit en période néonatale (chez les rongeurs et le lapin). Les follicules primordiaux se forment dans un ovaire structuré (cortex/médulla), lorsque les ovocytes sont bloqués en prophase I au sein des cordons ovigères. La fragmentation de ces cordons permet l'individualisation des ovocytes et donc la formation de follicules primordiaux, grâce, également, à la coopération des cellules prégranulosa et des cellules parenchymateuses.

La folliculogénèse peut être divisée en trois grandes étapes qui sont :

- la mise en place du stock de petits follicules primordiaux, qui constituera la réserve ovarienne dont disposera la femelle pendant sa vie reproductive,
- la croissance folliculaire basale, indépendante des hormones gonadotropes hypophysaires (hormone folliculo-stimulante [FSH] et LH), qui comprend l'entrée en croissance d'un pool de follicules primordiaux jusqu'au stade préantral chez la souris [85] et antral chez la femme. En l'absence des hormones gonadotropes, ces follicules dégèneront par apoptose,
- la croissance folliculaire terminale, strictement dépendante des gonadotropines, qui va du stade de follicule antral jusqu'à l'ovulation.

La fertilité de la femelle dépend de chacune de ces trois étapes. Chez certaines espèces, notamment chez la femme, les deux premières étapes peuvent avoir lieu au cours de la vie foetale. Chez la souris, un cycle de folliculogénèse complet dure environ vingt-deux jours, alors que chez la femme, ce processus représente de 112 à 132 jours [86]. Néanmoins, dans les deux espèces, la folliculogénèse basale dure 75 % du cycle.

Chez la souris, aux alentours de la naissance, les nids ovigères commencent à se fragmenter et chaque ovocyte s'entoure de cellules de la granulosa, pour former un follicule primordial. L'ensemble des follicules primordiaux présents au niveau du cortex ovarien constituera la réserve folliculaire de la femelle [61, 87] (figures 3-4). Fragmentation des nids ovigères et mort cellulaire programmée (apoptose) sont liées, lors de la formation des follicules primordiaux. Une régulation fine de ces mécanismes est donc nécessaire afin de pouvoir individualiser les ovocytes et assurer leur survie, par exemple en éliminant les ovocytes en excès. Différents facteurs de survie/apoptose (BCL2, BAX [pour *Bcl-2 associated X*], etc.) ou même d'autophagie, interviennent notamment dans cette régulation. Lors de la fragmentation des nids, un tiers seulement de la population d'ovocytes est entouré par des cellules de la granulosa et forme des follicules primordiaux, tandis que le reste des ovocytes, n'ayant pas pu être soutenu, entre en apoptose [87]. Les facteurs cruciaux participant à la fragmentation et à la formation des follicules primordiaux sont représentés dans la figure 3 et le tableau 2. La formation de ces follicules primordiaux est dépendante également de facteurs de transcription, comme le facteur

Tableau 2. Facteurs intervenant dans la fragmentation des nids ovigères et la formation des follicules.

Mécanismes	Protéines	Références
Fragmentation des nids ovigères		
	FIGLA	[88, 114]
	FST	[115]
	NOTCH	[116]
	ZP1/2/3 (zone pellucide)	[114]
Apoptose	BAX	[117]
	CASP2/3	[118]
Survie	BCL2	[119]
	NTRK2 (neurotrophine)	[120, 121]
	NGF (neurotrophine)	[122]
Autophagie	ATG7	[123]
	BEC1	[123]
Formation des follicules primaires		
Maintien de la réserve	PTEN	[124, 125]
	FOXO3A	[125, 126]
Entrée en croissance	PI3K/AKT	[127]
	mTORC	[128]
	NOBOX	[129]
	LHX8	[130]
	SOHLH1 et SOHLH2	[131, 132]
	BMP4 et BMP7	[133, 134]
	FGF2 et FGF2R	[135, 136]
	LIF	[137]
Maturation des cellules de la granulosa	FOXL2	[38]
Formation des follicules secondaires		
	GDF9	[138]
	Activine	[139]
	TBP2	[140]
	TAF4B	[141, 142]
	FGF7 et FGF7R	[143]
Formation des follicules préantraux		
	BMP15	[98]
	Activine et inhibine	[99]
	Insuline et IGF1	[100]
	FSH et FSHR	[101]

ovocytaire FIGLA (pour *folliculogenesis specific basic helix-loop-helix*), dont l'inactivation du gène, chez la souris, abolit la formation des follicules après la naissance, et induit une disparition des ovocytes et donc une stérilité des femelles [88]. Des mutations de FIGLA ont été trouvées chez des femmes avec IOP [89]. FOXL2, spécifique des cellules de granulosa à ce stade de développement, participe également à la formation des follicules primordiaux. Son absence, chez la souris, entraîne un défaut d'organisation et de prolifération de ces cellules somatiques ovariennes [39]; chez la femme, des mutations du gène *FOXL2* entraînent, entre autres, une IOP [90]. Enfin, des facteurs de croissance (comme le NGF [*nerve growth factor*]) et différentes voies de signalisation (certains membres de la famille des facteurs de croissance transformants β [TGF β]) interviennent dans la mise en place des follicules.

Il faut noter que, chez la souris, quelques follicules primordiaux issus d'une première phase de différenciation des cellules de la granulosa commencent à se former dans la zone la plus proche de la médulla, dès 17,5 jpc [87, 91]. Lors de la première vague de folliculogénèse après la naissance, ces follicules sont activés en premier et entrent progressivement en croissance [92]. La mise en place plus tardive du stock de follicules primordiaux démarre dans la partie la plus externe du cortex, entre la naissance et le cinquième jour [93]. Cette réserve servira pour la folliculogénèse, tout au long de la vie reproductive.

Dans l'ovaire fœtal humain, les deux premières étapes de la folliculogénèse, à savoir la formation des follicules primordiaux et la croissance folliculaire basale, ont lieu pendant la vie fœtale. La formation des follicules primordiaux se produit autour de la seizième semaine de grossesse [94]. La folliculogénèse basale débute par le recrutement d'une cohorte de follicules primordiaux qui entrent en croissance et deviennent des follicules primaires, tandis que le reste de la réserve est maintenue quiescente. Ceci fait intervenir différentes voies de signalisation opposées qui favorisent soit le maintien, soit l'entrée en croissance, par l'intermédiaire de nombreux facteurs d'origine ovocytaire (comme GDF9, BMP15 et KIT), dont les récepteurs sont situés sur les cellules de la granulosa (TGF- β de type I et II, KITL). Ces facteurs agissent selon un mode paracrine et assurent une bonne communication entre ces deux types cellulaires, indispensable pour la formation et la survie du follicule [95]. Les facteurs participant à cet équilibre sont représentés dans la *figure 5*, et plus de détails sur leur fonction sont donnés dans le *tableau 2*. Ces facteurs peuvent aussi être produits par les cellules de la thèque des follicules plus avancés mais également par les cellules de la granulosa et par l'ovocyte, qui communiquent étroitement et influent l'un sur l'autre. Par ailleurs, la transition vers le stade de follicule primaire est marquée par la différenciation des cellules de la granulosa, qui passent d'un état allongé quiescent à un état

cuboïdal prolifératif. Cette maturation est dépendante de la protéine FOXL2 (pour *forkhead box L2*), spécifiquement exprimée par les cellules de la granulosa [38] (*figure 5*), et est essentielle pour que les cellules de la granulosa puissent assurer leur rôle de soutien envers l'ovocyte.

La réserve ovarienne est en permanence contrôlée par des facteurs qui exercent soit une action inhibitrice (maintien au stade de follicules primordiaux voire primaires), soit une action activatrice (croissance des follicules). La voie inhibitrice comprend notamment l'hormone antimüllérienne (AMH) et son récepteur AMHR, exprimés par la granulosa, les facteurs ovocytaires PTEN (pour *phosphatase and tensin homolog*) et FOXO3A. Les facteurs activateurs sont plus nombreux et sont produits par l'ovocyte (SOHLH1/2 [pour *spermatogenesis and oogenesis specific basic helix-loop-helix 1/2*]), LHX8, NOBOX [pour *newborn ovary homeobox*], la voie phospho-inositide 3-kinase [PI3K]), ou par les cellules de la granulosa (KITL, FOXL2, LIF).

Les cellules de la granulosa du follicule primaire prolifèrent ensuite jusqu'à former deux couches autour de l'ovocyte, conduisant à la formation du follicule secondaire (*figure 5*). Cette transition est dépendante de la capacité de prolifération des cellules de la granulosa et de la maturation de l'ovocyte, et nécessite, une fois encore, l'intervention de plusieurs facteurs de croissance et de transcription (*figure 5* et *tableau 2*). C'est au stade secondaire que la zone pellucide de l'ovocyte s'épaissit [96]. La mise en place de connexions, notamment via des jonctions communicantes réalisées par la connexine 43 (CX43) [97], est alors primordiale pour la communication entre l'ovocyte et les cellules de la granulosa (*figure 5*). C'est également au stade secondaire que le follicule s'entoure d'une ébauche de cellules de la thèque interne et que s'engage une légère activité stéroïdienne.

Les follicules secondaires évoluent ensuite en follicules préantraux, avec une prolifération importante des cellules de la granulosa (*figure 5*). Ceci fait notamment intervenir le facteur de croissance BMP15 [98] qui agit en synergie avec GDF9 pour assurer la multiplication des cellules de la granulosa, ainsi que d'autres facteurs tels que l'activine et l'inhibine [99]. Une communication bidirectionnelle entre ovocyte et cellules somatiques entourant cet ovocyte est donc nécessaire tout au long de la mise en place de la réserve ovarienne. De plus, la folliculogénèse basale est indépendante de la FSH mais, pendant la croissance des follicules préantraux, ceux-ci acquièrent progressivement un nombre de plus en plus important de récepteurs à la FSH. Le follicule développe parallèlement de plus en plus de récepteurs aux stéroïdes, tel que ESR1/2 (*estrogen receptor 1/2*), et aux facteurs de croissance tels que IGF1R (l'insuline et IGF1 sensibilisent le follicule préantral à la FSH [100]) et récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR), important pour la sélection du follicule et la maturation de l'ovocyte [101, 102] (*figure 5*).

À la fin de la croissance folliculaire basale, l'ovocyte a effectué l'essentiel de sa croissance avec une activité transcriptionnelle importante (production d'un stock d'ARN) [101, 102]. Les cellules de la granulosa ont atteint leur pic de prolifération et de production d'AMH, qui inhibe la croissance des follicules plus petits et atténue leur sensibilité à la FSH [103-105] (figure 5). Le follicule, jusqu'alors principalement régulé selon un mode d'action paracrine, ovocyte/granulosa, deviendra dépendant des gonadotropines et des stéroïdes, et son augmentation de volume sera principalement due à la formation de l'antrum.

La formation des follicules primordiaux et la folliculogénèse basale sont donc des phénomènes hautement régulés par des facteurs agissant localement, de façon paracrine ou autocrine. Une communication moléculaire

bidirectionnelle existe entre l'ovocyte et les cellules somatiques qui l'entourent, permettant ainsi le maintien des petits follicules dans la réserve ovarienne ou, au contraire, son activation et sa croissance.

En conclusion

Depuis plusieurs dizaines d'années, il est de pratique courante, lorsque le rôle d'un gène est inconnu, d'inhiber l'expression ce gène dans le génome murin et d'observer le phénotype qui en procède. Ainsi les progrès de la génétique ont-ils permis de mettre en évidence le rôle fondamental de certains gènes dans la différenciation ovarienne et la constitution de la réserve de gamètes femelles murines. Ces gènes peuvent être de bons

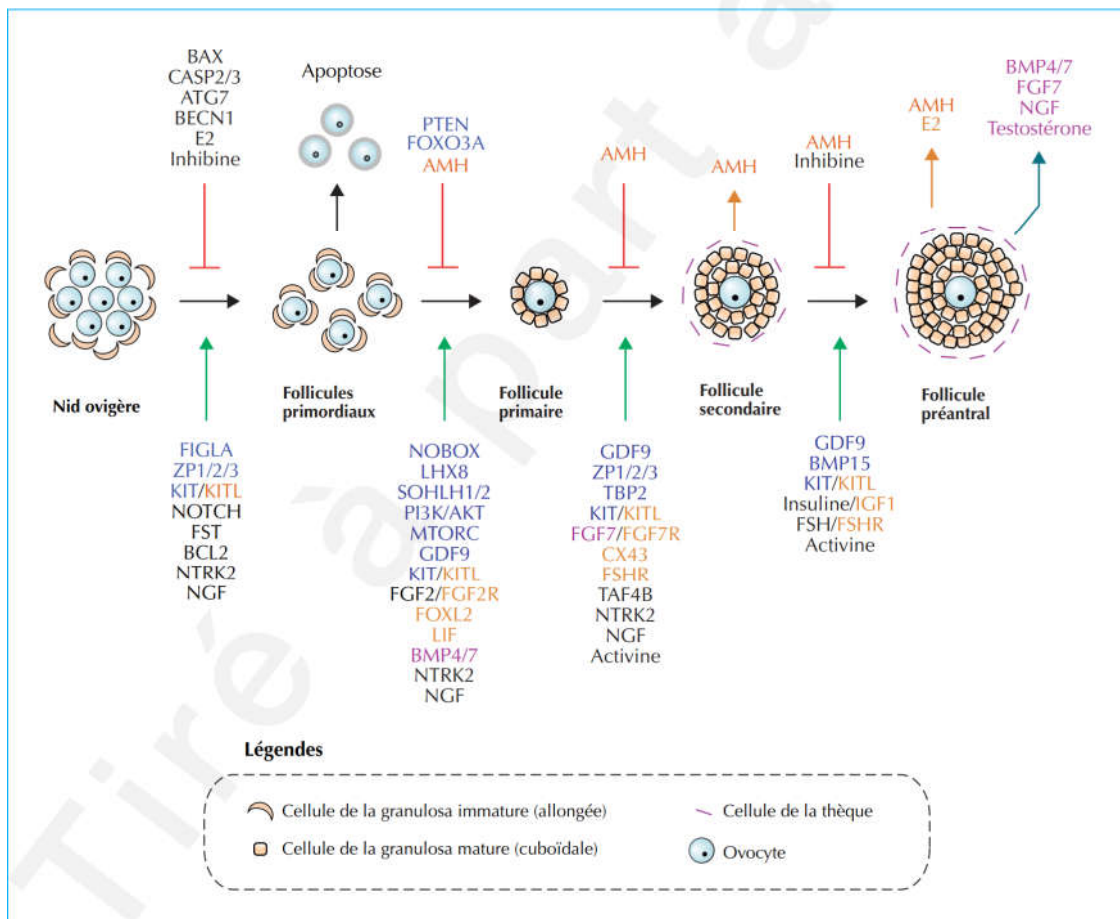


Figure 5. Régulation de la croissance folliculaire basale. Les principaux facteurs et leurs récepteurs intervenant entre chaque transition ont été représentés : en bleu lorsqu'ils sont ovocytaires, en orange lorsqu'ils sont présents dans les cellules de la granulosa (↑) et en violet quand ils sont produits par la thèque (→). Les facteurs en noir n'ont été attribués à aucun de ces trois types cellulaires. Les flèches vertes (↑) sont des stimulations, et les traits rouges (⊥) des inhibitions.

candidats pour expliquer certaines infertilités dans l'espèce humaine. Pour autant, le recours aux modèles murins ne connaît des limites, des différences existant entre l'ovogenèse fœtale de la souris et celle de la femme. En effet, une activité stéroïdogène existe au sein des ovaires fœtaux dans le premier tiers de gestation chez l'Homme (ainsi que chez les ruminants), qui n'existe pas chez les rongeurs. De plus, l'organisation structurale de l'ovaire (parties corticale/médullaire) et la présence de cordons ovigères se mettent en place avant l'initiation d'une méiose désynchronisée chez la femme (et chez les ruminants), ou après l'initiation d'une méiose synchronisée chez les rongeurs. Ceci permet de différencier des espèces à méiose immédiate et retardée. La période qui sépare la fin de la multiplication des ovogonies et l'initiation de la méiose ne dure que quelques jours chez la souris et plusieurs semaines chez la femme (et chez les ruminants). Enfin, la formation des follicules a lieu pendant la vie fœtale dans l'espèce humaine (et chez les ruminants) alors que la réserve ovarienne ne se forme qu'après la naissance chez les rongeurs. L'ovogenèse fœtale de la femme serait-elle finalement plus proche de celle d'une brebis, d'une chèvre ou d'une vache que du modèle murin ?

Liens d'intérêt : Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

1. Sinclair AH, Berta P, Palmer MS, *et al.* A gene from the human sex determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature* 1990 ; 346 : 240-4.
2. Gubbay J, Collignon J, Koopman P, *et al.* A gene mapping to the sex-determining region of the mouse Y chromosome is a member of a novel family of embryonically expressed genes. *Nature* 1990 ; 346 : 245-50.
3. Moritz KM, Wintour EM. Functional development of the meso- and metanephros. *Pediatr Nephrol* 1999 ; 13 : 171-8.
4. Brennan J, Capel B. One tissue, two fates: molecular genetic events that underlie testis versus ovary development. *Nat Rev Genet* 2004 ; 5 : 509-21.
5. McCoshen JA. *In vivo* sex differentiation of congenic germinal cell aplastic gonads. *Am J Obstet Gynecol* 1982 ; 142 : 83-8.
6. Merchant-Larios H, Centeno B. Morphogenesis of the ovary from the sterile WWv mouse. *Prog Clin Biol Res* 1981 ; 59B : 383-92.
7. Katoh-Fukui Y, Tsuchiya R, Shiroishi T, *et al.* Male-to-female sex reversal in M33 mutant mice. *Nature* 1998 ; 393 : 688-92.
8. Katoh-Fukui Y, Miyabayashi K, Komatsu T, *et al.* Cbx2, a polycomb group gene, is required for sry gene expression in mice. *Endocrinology* 2012 ; 153 : 913-24.
9. Nef S, Verma-Kurvari S, Merenmies J, *et al.* Testis determination requires insulin receptor family function in mice. *Nature* 2003 ; 426 : 291-5.
10. Pitetti J-L, Calvel P, Romero Y, *et al.* Insulin and IGF1 receptors are essential for XX and XY gonadal differentiation and adrenal development in mice. *PLoS Genet* 2013 ; 9 : e1003160.
11. Chassot A-A, Bradford ST, Auguste A, *et al.* WNT4 and RSP01 together are required for cell proliferation in the early mouse gonad. *Development* 2012 ; 139 : 4461-72.
12. Cui S. Disrupted gonadogenesis and male-to-female sex reversal in Pod1 knockout mice. *Development* 2004 ; 131 : 4095-105.
13. Fujimoto Y, Tanaka SS, Yamaguchi YL, *et al.* Homeoproteins Six1 and Six4 regulate male sex determination and mouse gonadal development. *Dev Cell* 2013 ; 26 : 416-30.
14. Parma P, Radi O, Vidal V, *et al.* R-spondin1 is essential in sex determination, skin differentiation and malignancy. *Nat Genet* 2006 ; 38 : 1304-9.
15. Vainio S, Heikkilä M, Kispert A, Chin N, McMahon AP. Female development in mammals is regulated by Wnt-4 signalling. *Nature* 1999 ; 397 : 405-9.
16. Manuylov NL, Smagulova FO, Leach L, Tevosian SG. Ovarian development in mice requires the GATA4-FOG2 transcription complex. *Development* 2008 ; 135 : 3731-43.
17. Chassot A-A, Gillot I, Chaboissier M-C. R-spondin1, WNT4 and the CTNNB1 signaling pathway: strict control over ovarian differentiation. *Reproduction* 2014 ; 148 : R97-110.
18. Hernandez Gifford JA. The role of WNT signaling in adult ovarian folliculogenesis. *Reproduction* 2015 ; 150 : R137-48.
19. Jays-Ward K. Endothelial and steroidogenic cell migration are regulated by WNT4 in the developing mammalian gonad. *Development* 2003 ; 130 : 3663-70.
20. Maatouk DM, Mork L, Chassot A-A, Chaboissier M-C, Capel B. Disruption of mitotic arrest precedes precocious differentiation and transdifferentiation of pregranulosa cells in the perinatal Wnt4 mutant ovary. *Dev Biol* 2013 ; 383 : 295-306.
21. Ottolenghi C, Pelosi E, Tran J, *et al.* Loss of Wnt4 and Foxl2 leads to female-to-male sex reversal extending to germ cells. *Hum Mol Genet* 2007 ; 16 : 2795-804.
22. Mandel H, Shemer R, Borochowitz ZU, *et al.* SERKAL syndrome: an autosomal-recessive disorder caused by a loss-of-function mutation in WNT4. *Am J Hum Genet* 2008 ; 82 : 39-47.
23. Chassot A-A, Ranc F, Gregoire EP, *et al.* Activation of catenin signaling by Rspo1 controls differentiation of the mammalian ovary. *Hum Mol Genet* 2008 ; 17 : 1264-77.
24. Tomizuka K, Horikoshi K, Kitada R, *et al.* R-spondin1 plays an essential role in ovarian development through positively regulating Wnt-4 signaling. *Hum Mol Genet* 2008 ; 17 : 1278-91.
25. Chassot A-A, Gregoire EP, Lavery R, *et al.* RSP01/ β -catenin signaling pathway regulates oogonia differentiation and entry into meiosis in the mouse fetal ovary. *PLoS One* 2011 ; 6 : e25641.
26. Tallapaka K, Venugopal V, Dalal A, Aggarwal S. Novel RSP01 mutation causing 46,XX testicular disorder of sex development with palmoplantar keratoderma: a review of literature and expansion of clinical phenotype. *Am J Med Genet A* 2018 ; 176 : 1006-10.

27. Tomaselli S, Megiorni F, Lin L, *et al.* Human RSPO1/R-spondin1 is expressed during early ovary development and augments b-catenin signaling. *PLoS One* 2011 ; 6 : 9.
28. Tomaselli S, Megiorni F, De Bernardo *et al.* Syndromic true hermaphroditism due to an R-spondin1 (*RSPO1*) homozygous mutation. *Hum Mutat* 2008 ; 29 : 220-6.
29. Liu C-F, Parker K. WNT4/b-catenin pathway maintains female germ cell survival by inhibiting activin BB in the mouse fetal ovary. *PLoS One* 2010 ; 5 : 9.
30. Maatouk DM, DiNapoli L, Alvers A, Parker KL, Taketo M, Capel MB. Stabilization of β -catenin in XY gonads causes male-to-female sex-reversal. *Hum Mol Genet* 2008 ; 17 : 2949-55.
31. Yao HHC, Matzuk MM, Jorgez CJ, *et al.* Follistatin operates downstream of Wnt4 in mammalian ovary organogenesis. *Dev Dyn* 2004 ; 230 : 210-5.
32. Kim Y, Kobayashi A, Sekido R, *et al.* Fgf9 and Wnt4 act as antagonistic signals to regulate mammalian sex determination. *PLoS Biol* 2006 ; 4 : e187.
33. Jordan BK, Shen JH-C, Olaso R, Ingraham HA, Vilain E. Wnt4 overexpression disrupts normal testicular vasculature and inhibits testosterone synthesis by repressing steroidogenic factor 1/catenin synergy. *Proc Natl Acad Sci* 2003 ; 100 : 10866-71.
34. Liu C-F, Bingham N, Parker K, Yao HH-C. Sex-specific roles of β -catenin in mouse gonadal development. *Hum Mol Genet* 2008 ; 18 : 405-17.
35. Cocquet J, Pailhoux E, Jaubert F, *et al.* Evolution and expression of FOXL2. *J Med Genet* 2002 ; 39 : 916-21.
36. Cocquet J, De Baere E, Gareil M, *et al.* Structure, evolution and expression of the FOXL2 transcription unit. *Cytogenet Genome Res* 2003 ; 101 : 206-11.
37. Wilhelm D, Washburn LL, Truong V, Fellous M, Eicher EM, Koopman P. Antagonism of the testis- and ovary-determining pathways during ovotestis development in mice. *Mech Dev* 2009 ; 126 : 324-36.
38. Schmidt D, Ovitt CE, Anlag K, *et al.* The murine winged-helix transcription factor Foxl2 is required for granulosa cell differentiation and ovary maintenance. *Development* 2004 ; 131 : 933-42.
39. Uda M, Ottolenghi C, Crisponi L, *et al.* Foxl2 disruption causes mouse ovarian failure by pervasive blockage of follicle development. *Hum Mol Genet* 2004 ; 13 : 1171-81.
40. Zlotogora J, Sagi M, Cohen T. The blepharophimosis, ptosis and epicanthus inversus syndrome: delineation of two types. *Am J Hum Genet* 1983 ; 35(5) : 1020-7.
41. Nallathambi J, Mounmé L, De Baere E, *et al.* A novel polyalanine expansion in FOXL2: the first evidence for a recessive form of the blepharophimosis syndrome (BPES) associated with ovarian dysfunction. *Hum Genet* 2007 ; 121 : 107-12.
42. Meduri G, Bachelot A, Duflos C, *et al.* FOXL2 mutations lead to different ovarian phenotypes in BPES patients: case report. *Hum Reprod* 2010 ; 25 : 235-43.
43. Gersak K, Harris SE, Smale WJ, Shelling AN. A novel 30 bp deletion in the FOXL2 gene in a phenotypically normal woman with primary amenorrhoea: case report. *Hum Reprod* 2004 ; 19 : 2767-70.
44. Harris SE, Chand AL, Winship IM, Gersak K, Aittomäki K, Shelling AN. Identification of novel mutations in FOXL2 associated with premature ovarian failure. *Mol Hum Reprod* 2002 ; 8 : 279-33.
45. Laissue P, Lakhal B, Benayoun BA, *et al.* Functional evidence implicating FOXL2 in non-syndromic premature ovarian failure and in the regulation of the transcription factor OSR2. *J Med Genet* 2009 ; 46 : 455-7.
46. Boulanger L, Pannetier M, Gall L, *et al.* FOXL2 is a female sex-determining gene in the goat. *Curr Biol* 2014 ; 24 : 404-8.
47. Kashimada K, Pelosi E, Chen H, Schlessinger D, Wilhelm D, Koopman P. FOXL2 and BMP2 act cooperatively to regulate follistatin gene expression during ovarian development. *Endocrinology* 2011 ; 152 : 272-80.
48. Lei L, Spradling AC. Mouse primordial germ cells produce cysts that partially fragment prior to meiosis. *Development* 2013 ; 140 : 2075-81.
49. Pepling ME, Spradling AC. Female mouse germ cells form synchronously dividing cysts. *Dev Camb Engl* 1998 ; 125 : 3323-8.
50. Duffin K, Bayne RAL, Childs AJ, Collins C, Anderson RA. The forkhead transcription factor FOXL2 is expressed in somatic cells of the human ovary prior to follicle formation. *Mol Hum Reprod* 2009 ; 15 : 771-7.
51. Gondos B, George F, Wilson J. Granulosa cell differentiation and estrogen synthesis in the fetal rabbit ovary. *Biol Reprod* 1983 ; 29 : 791-8.
52. Baillet A, Mandon-Pepin B. Mammalian ovary differentiation – a focus on female meiosis. *Mol Cell Endocrinol* 2012 ; 356 : 13-23.
53. George FW, Wilson JD. Conversion of androgen to estrogen by the human fetal ovary. *J Clin Endocrinol Metab* 1978 ; 47 : 550-5.
54. Bayne RAL, Kinnell HL, Coutts SM, He J, Childs AJ, Anderson RA. GDF9 is transiently expressed in oocytes before follicle formation in the human fetal ovary and is regulated by a novel NOBOX transcript. *PLoS One* 2015 ; 10 : e0119819.
55. Sarraj MA, Drummond AE. Mammalian foetal ovarian development: consequences for health and disease. *Reproduction* 2012 ; 143 : 151-63.
56. Lin Y, Gill ME, Koubova J, Page DC. Germ cell-intrinsic and -extrinsic factors govern meiotic initiation in mouse embryos. *Science* 2008 ; 322 : 1685-7.
57. He J, Stewart K, Kinnell HL, Anderson RA, Childs AJ. A developmental stage-specific switch from DAZL to BOLL occurs during fetal oogenesis in humans, but not mice. *PLoS One* 2013 ; 8 : e73996.
58. Maheshwari A, Fowler PA. Primordial follicular assembly in humans – revisited. *Zygote* 2008 ; 16 : 285-96.
59. Pelosi E, Forabosco A, Schlessinger D. Genetics of the ovarian reserve. *Front Genet* 2015 ; 6 : 308.
60. Gougeon A. Dynamics of follicular growth in the human: a model from preliminary results. *Hum Reprod* 1986 ; 1 : 81-7.
61. Edson MA, Nagaraja AK, Matzuk MM. The mammalian ovary from genesis to revelation. *Endocr Rev* 2009 ; 30 : 624-712.

62. Gondos B, Hobel CJ. Interstitial cells in the human fetal ovary. *Endocrinology* 1973 ; 93 : 736-9.
63. Stegner HE, Pape C, Günther P. The ultrastructure of the interstitial cells in human fetal ovaries. *Arch Gynakol* 1976 ; 221 : 289-98.
64. Byskov AG, Høyer PE, Westergaard L. Origin and differentiation of the endocrine cells of the ovary. *J Reprod Fertil* 1985 ; 75 : 299-306.
65. Konishi I, Fujii S., Parmley T., Mori T. Development of interstitial cells and ovigerous cords in the human fetal ovary: an ultrastructural study. *J Anat* 1986 ; 148 : 121-35.
66. Nottola SA, Makabe S, Stallone T, Macchiarelli G, Correr S, Motta PM. Ultrastructure and distribution of interstitial glandular cells and associated elements in human fetal ovaries. *Arch Histol Cytol* 2000 ; 63 : 345-55.
67. Young JM, McNeilly AS. Theca: the forgotten cell of the ovarian follicle. *Reproduction* 2010 ; 140 : 489-504.
68. Hill M, Pašková A, Kančeva R, et al. Steroid profiling in pregnancy: a focus on the human fetus. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2014 ; 139 : 201-22.
69. Bullejos M, Koopman P. Germ cells enter meiosis in a rostro-caudal wave during development of the mouse ovary. *Mol Reprod Dev* 2004 ; 68 : 422-8.
70. McLaren A. Establishment of the germ cell lineage in mammals. *J Cell Physiol* 2000 ; 182 : 141-3.
71. Menke DB, Koubova J, Page DC. Sexual differentiation of germ cells in XX mouse gonads occurs in an anterior-to-posterior wave. *Dev Biol* 2003 ; 262 : 303-12.
72. Borum K. Oogenesis in the mouse. A study of the meiotic prophase. *Exp Cell Res* 1961 ; 24 : 495-507.
73. Wang N, Tilly JL. Epigenetic status determines germ cell meiotic commitment in embryonic and postnatal mammalian gonads. *Cell Cycle* 2010 ; 9 : 339-49.
74. Yokobayashi S, Liang C-Y, Kohler H, et al. PRC1 coordinates timing of sexual differentiation of female primordial germ cells. *Nature* 2013 ; 495 : 236-40.
75. Koubova J, Hu Y-C, Bhattacharyya T, et al. Retinoic acid activates two pathways required for meiosis in mice. *PLoS Genet* 2014 ; 10 : e1004541.
76. MacLean G, Abu-Abed S, Dollé P, Tahayato A, Chambon P, Petkovich M. Cloning of a novel retinoic-acid metabolizing cytochrome P450, Cyp26B1, comparative expression analysis with Cyp26A1 during early murine development. *Mech Dev* 2001 ; 107 : 195-201.
77. McLaren A, Southee D. Entry of mouse embryonic germ cells into meiosis. *Dev Biol* 1997 ; 187 : 107-13.
78. Yao HH-C. Meiotic germ cells antagonize mesonephric cell migration and testis cord formation in mouse gonads. *Development* 2003 ; 130 : 5895-902.
79. Bowles J, Feng C-W, Miles K, Ineson J, Spiller C, Koopman P. ALDH1A1 provides a source of meiosis-inducing retinoic acid in mouse fetal ovaries. *Nat Commun* 2016 ; 7 : 10845.
80. Le Bouffant R, Souquet B, Duval N, et al. Msx1 and Msx2 promote meiosis initiation. *Development* 2011 ; 138 : 5393-402.
81. Krentz AD, Murphy MW, Sarver AL, Griswold MD, Bardwell VJ, Zarkower D. DMRT1 promotes oogenesis by transcriptional activation of Stra8 in the mammalian fetal ovary. *Dev Biol* 2011 ; 356 : 63-70.
82. Baltus AE, Menke DB, Hu Y-C, et al. In germ cells of mouse embryonic ovaries, the decision to enter meiosis precedes premeiotic DNA replication. *Nat Genet* 2006 ; 38 : 1430-4.
83. Saba R, Wu Q, Saga Y. CYP26B1 promotes male germ cell differentiation by suppressing STRA8-dependent meiotic and STRA8-independent mitotic pathways. *Dev Biol* 2014 ; 389 : 173-81.
84. Saba R, Kato Y, Saga Y. NANOS2 promotes male germ cell development independent of meiosis suppression. *Dev Biol* 2014 ; 385 : 32-40.
85. Abel MH, Wootton AN, Wilkins V, Huhtaniemi I, Knight PG, Charlton HM. The effect of a null mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene on mouse reproduction. *Endocrinology* 2000 ; 141(5) : 1795-803.
86. Nilsson E, Skinner MK. Cellular interactions that control primordial follicle development folliculogenesis. *J Soc Gynecol Investig* 2001 ; 8 : S17-20.
87. Pepling ME. Follicular assembly: mechanisms of action. *Reproduction* 2012 ; 143 : 139-49.
88. Soyak SM, Amleh A, Dean J. FIGalpha, a germ cell-specific transcription factor required for ovarian follicle formation. *Development* 2000 ; 127 : 4645-54.
89. Zhao H, Chen ZJ, Qin Y, et al. Transcription factor FIGLA is mutated in patients with premature ovarian failure. *Am J Hum Genet* 2008 ; 82(6) : 1342-8.
90. Verdin H, De Baere E. FOXL2 impairment in human disease. *Horm Res Paediatr* 2012 ; 77 : 2-11.
91. Mork L, Maatouk DM, McMahon JA, et al. Temporal differences in granulosa cell specification in the ovary reflect distinct follicle fates in mice. *Biol Reprod* 2012 ; 86(2) : 37.
92. Zheng W, Zhang H, Gorre N, Risal S, Shen Y, Liu K. Two classes of ovarian primordial follicles exhibit distinct developmental dynamics and physiological functions. *Hum Mol Genet* 2014 ; 23 : 920-8.
93. Jagarlamudi K, Rajkovic A. Oogenesis: transcriptional regulators and mouse models. *Mol Cell Endocrinol* 2012 ; 356 : 31-9.
94. Motta PM, Makabe S, Nottola SA. The ultrastructure of human reproduction. I. The natural history of the female germ cell: origin, migration and differentiation inside the developing ovary. *Hum Reprod Update* 1997 ; 3 : 281-95.
95. Kidder GM, Vanderhyden BC. Bidirectional communication between oocytes and follicle cells: ensuring oocyte developmental competence. *Can J Physiol Pharmacol* 2010 ; 88 : 399-413.
96. Wassarman PM. Zona Pellucida Glycoproteins. *J Biol Chem* 2008 ; 283 : 24285-9.
97. Ackert CL, Gittens JEL, O'Brien MJ, Eppig JJ, Kidder GM. Intercellular communication via Connexin43 gap junctions is required for ovarian folliculogenesis in the mouse. *Dev Biol* 2001 ; 233 : 258-70.

- 98.** Yan C, Wang P, DeMayo J, *et al.* Synergistic roles of bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 in ovarian function. *Mol Endocrinol* 2001 ; 15(6) : 13.
- 99.** Findlay J, Drummond A, Britt K, *et al.* The roles of activins, inhibins and estrogen in early committed follicles. *Mol Cell Endocrinol* 2000 ; 163 : 81-7.
- 100.** Mazerbourg S, Bondy C, Zhou J, Monget P. The insulin-like growth factor system: a key determinant role in the growth and selection of ovarian follicles? A comparative species study. *Reprod Domest Anim* 2003 ; 38 : 247-58.
- 101.** Monniaux D, Caraty A, Clément F, *et al.* Développement folliculaire ovarien et ovulation chez les mammifères. *Inra Prod Anim* 2009 ; 22(6) : 59-76.
- 102.** Sánchez F, Smits J. Molecular control of oogenesis. *Biochim Biophys Acta* 2012 ; 1822 : 1896-912.
- 103.** Durlinger ALL, Gruijters MJG, Kramer P, *et al.* Anti-Müllerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology* 2001 ; 142(11) : 4891-9.
- 104.** Durlinger ALL, Gruijters MJG, Kramer P, *et al.* Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology* 2002 ; 143(3) : 1076-84.
- 105.** Visser JA, Themmen APN. Anti-Müllerian hormone and folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 2005 ; 234 : 81-6.
- 106.** Tanaka SS, Nishinakamura R. Regulation of male sex determination: genital ridge formation and Sry activation in mice. *Cell Mol Life Sci* 2014 ; 71 : 4781-802.
- 107.** Biason-Laubert A, De Filippo G, Konrad D, Scarano G, Nazzaro A, Schoenle EJ. WNT4 deficiency – a clinical phenotype distinct from the classic Mayer-Rokitansky – Kuster – Hauser syndrome: a case report. *Hum Reprod* 2007 ; 22 : 224-9.
- 108.** Biason-Laubert A, Konrad D, Navratil F, Schoenle EJ. A WNT4 mutation associated with Müllerian-duct regression and virilization in a 46,XX woman. *N Engl J Med* 2004 ; 351 : 792-8.
- 109.** Philibert P, Biason-Laubert A, Rouzier R, *et al.* Identification and functional analysis of a new WNT4 gene mutation among 28 adolescent girls with primary amenorrhea and müllerian duct abnormalities: a french collaborative study. *J Clin Endocrinol Metab* 2008 ; 93 : 895-900.
- 110.** Sultan C, Biason-Laubert A, Philibert P. Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome: recent clinical and genetic findings. *Gynecol Endocrinol* 2009 ; 25 : 8-11.
- 111.** Crisponi L, Deiana M, Loi A, *et al.* The putative forkhead transcription factor FOXL2 is mutated in blepharophimosis/ptosis/epicanthus inversus syndrome. *Nat Genet* 2001 ; 27 : 159-66.
- 112.** Ottolenghi C, Omari S, Garcia-Ortiz JE, *et al.* Foxl2 is required for commitment to ovary differentiation. *Hum Mol Genet* 2005 ; 14 : 2053-62.
- 113.** Uhlenhaut NH, Jakob S, Anlag K, *et al.* Somatic sex reprogramming of adult ovaries to testes by FOXL2 ablation. *Cell* 2001 ; 139 : 1130-42.
- 114.** Liang L, Soyal SM, Dean J. FIGalpha, a germ cell specific transcription factor involved in the coordinate expression of the zona pellucida genes. *Development* 1997 ; 124 : 4939-47.
- 115.** Kimura F, Bonomi LM, Schneyer AL. Follistatin regulates germ cell nest breakdown and primordial follicle formation. *Endocrinology* 2001 ; 152 : 697-706.
- 116.** Trombly DJ, Woodruff TK, Mayo KE. Suppression of notch signaling in the neonatal mouse ovary decreases primordial follicle formation. *Endocrinology* 2009 ; 150 : 1014-24.
- 117.** Greenfeld CR, Pepling ME, Babus JK, Furth PA, Flaws JA. BAX regulates follicular endowment in mice. *Reproduction* 2007 ; 133 : 865-76.
- 118.** Bergeron L, Perez GI, Macdonald G, *et al.* Defects in regulation of apoptosis in caspase-2-deficient mice. *Genes Dev* 1998 ; 12 : 1304-14.
- 119.** Flaws JA, Hirshfield AN, Hewitt JA, Babus JK, Furth PA. Effect of bcl-2 on the primordial follicle endowment in the mouse ovary. *Biol Reprod* 2001 ; 64 : 1153-9.
- 120.** Paredes A, Romero C, Disson GA, *et al.* TrkB receptors are required for follicular growth and oocyte survival in the mammalian ovary. *Dev Biol* 2004 ; 267 : 430-49.
- 121.** Kerr B, Garcia-Rudaz C, Dorfman M, Paredes A, Ojeda SR. NTRK1 and NTRK2 receptors facilitate follicle assembly and early follicular development in the mouse ovary. *Reproduction* 2009 ; 138 : 131-40.
- 122.** Disson GA, Romero C, Hirshfield AN, Ojeda SR. Nerve growth factor is required for early follicular development in the mammalian ovary. *Endocrinology* 2001 ; 142 : 2078-86.
- 123.** Gawriluk TR, Hale AN, Flaws JA, Dillon CP, Green DR, Rucker EB. Autophagy is a cell survival program for female germ cells in the murine ovary. *Reprod Camb Engl* 2011 ; 141 : 759-65.
- 124.** Reddy P, Liu L, Adhikari D, *et al.* Oocyte-specific deletion of pten causes premature activation of the primordial follicle pool. *Science* 2008 ; 319 : 611-3.
- 125.** Liu Z, Ren YA, Pangas SA, *et al.* FOXO1/3 and PTEN depletion in granulosa cells promotes ovarian granulosa cell tumor development. *Mol Endocrinol* 2015 ; 29 : 1006-24.
- 126.** Castrillon DH, Miao L, Kollipara R, Homer JW, DePinho RA. Suppression of ovarian follicle activation in mice by the transcription factor Foxo3a. *Science* 2003 ; 301 : 215-8.
- 127.** Brown C, LaRocca J, Pietruska J, *et al.* Subfertility caused by altered follicular development and oocyte growth in female mice lacking PKB alpha/Akt1. *Biol Reprod* 2010 ; 82 : 246-56.
- 128.** Zhang X, Li L, Xu J, *et al.* Rapamycin preserves the follicle pool reserve and prolongs the ovarian lifespan of female rats via modulating mTOR activation and sirtuin expression. *Gene* 2013 ; 523 : 82-7.
- 129.** Rajkovic A, Pangas SA, Ballow D, Suzumori N, Matzuk MM. NOBOX deficiency disrupts early folliculogenesis and oocyte-specific gene expression. *Science* 2004 ; 305 : 1157-9.
- 130.** Choi Y, Ballow DJ, Xin Y, Rajkovic A. Lim homeobox gene, Lhx8, is essential for mouse oocyte differentiation and survival. *Biol Reprod* 2008 ; 79 : 442-9.
- 131.** Pangas SA, Choi Y, Ballow DJ, *et al.* Oogenesis requires germ cell-specific transcriptional regulators Sohlh1 and Lhx8. *Proc Natl Acad Sci* 2006 ; 103 : 8090-5.

- 132.** Choi Y, Yuan D, Rajkovic A. Germ cell-specific transcriptional regulator *Sohlh2* is essential for early mouse folliculogenesis and oocyte-specific gene expression. *Biol Reprod* 2008 ; 79 : 1176-82.
- 133.** Nilsson EE, Skinner MK. Bone morphogenetic protein-4 acts as an ovarian follicle survival factor and promotes primordial follicle development. *Biol Reprod* 2003 ; 69 : 1265-72.
- 134.** Lee WS, Otsuka F, Moore RK, Shimasaki S. Effect of bone morphogenetic protein-7 on folliculogenesis and ovulation in the rat. *Biol Reprod* 2001 ; 65 : 994-9.
- 135.** Nilsson E, Parrott JA, Skinner MK. Basic fibroblast growth factor induces primordial follicle development and initiates folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 2001 ; 175 : 123-30.
- 136.** Nilsson EE, Skinner MK. Kit ligand and basic fibroblast growth factor interactions in the induction of ovarian primordial to primary follicle transition. *Mol Cell Endocrinol* 2004 ; 214 : 19-25.
- 137.** Nilsson EE, Kezele P, Skinner MK. Leukemia inhibitory factor (LIF) promotes the primordial to primary follicle transition in rat ovaries. *Mol Cell Endocrinol* 2002 ; 188 : 65-73.
- 138.** Dong J, Albertini DF, Nishimori K, Kumar TR, Lu N, Matzuk MM. Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature* 1996 ; 383 : 531-5.
- 139.** Bristol-Gould SK, Kreeger PK, Selkirk CG, *et al.* Postnatal regulation of germ cells by activin: The establishment of the initial follicle pool. *Dev Biol* 2006 ; 298 : 132-48.
- 140.** Gazdag E, Santenard A, Ziegler-Birling C, *et al.* TBP2 is essential for germ cell development by regulating transcription and chromatin condensation in the oocyte. *Genes Dev* 2009 ; 23 : 2210-23.
- 141.** Falender AE, Shimada M, Lo YK, Richards JS. TAF4b, a TBP associated factor, is required for oocyte development and function. *Dev Biol* 2005 ; 288 : 405-19.
- 142.** Lovasco LA, Seymour KA, Zafra K, O'Brien CW, Schorl C, Freiman RN. Accelerated ovarian aging in the absence of the transcription regulator TAF4B in mice. *Biol Reprod* 2010 ; 82 : 23-34.
- 143.** Parrott JA, Chu Z, Skinner MK. Interactions in the ovarian follicle involve keratinocyte and hepatocyte growth factor production by thecal cells and their action on granulosa cells. *Endocrinology* 1994 ; 135 : 569-75.