论著

DOI:10.16016/j.1000-5404.201409177

Sox2在NT-3促进大鼠神经干细胞分化中的作用

陈星星[1],王 冠[1],刘明永[1],薛 鑫[1],郭乔楠[2],赵建华[1] (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所脊柱外科[1];400037 重庆,第三军医大学新桥医院病理科[2])

[摘要] **目的** 探讨Sox2在神经营养因子3(neurotrophin-3,NT-3)促进原代大鼠神经干细胞(neural stem cells,NSCs)分化中的作用及其机制。**方法** 选取孕14~15 d SD胎鼠,培养原代脑源性NSCs。观察NT-3对NSCs中Sox2表达及NSCs分化的影响:采用不同浓度NT-3(25、50、100 ng/mL)刺激NSCs24 h后,检测Sox2、DCX、Olig2、GFAP蛋白的表达量。探索NT-3对Sox2产生影响的机制:使用PI3K/AKT通路阻断剂(10 μmol/L LY294002)选择性阻断NT-3的作用后,检测AKT、p-AKT和Sox2在蛋白水平表达量的变化。**结果** 随着NT-3浓度的升高,NSCs中Sox2蛋白水平的表达明显上调($P<0.05$),各NT-3处理组的NSCs向神经元前体细胞分化的比例明显增加($P<0.05$),100 ng/mL NT-3组效果最强,呈现出明显的剂量依赖性;与对照组相比,100 ng/mL NT-3组的p-AKT及Sox2蛋白水平显著上调($P<0.05$),且LY294002可阻断此作用($P<0.05$)。**结论** NT-3能够上调NSCs中Sox2的表达,后者进而诱导NSCs向神经元方向分化,其可能是通过激活PI3K/AKT信号通路起作用。

[关键词] NT-3;Sox2;神经干细胞;分化;PI3K/AKT信号通路

[中图法分类号] R322.81;R329.21;R329.26 [文献标志码] A

Effect of Sox2 on NT-3-induced differentiation in rat neural stem cells

Chen Xingxing[1], Wang Guan[1], Liu Mingyong[1], Xue Xin[1], Guo Qiaonan[2], Zhao Jianhua[1] ([1]Department of Spine Surgery, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042; [2]Department of Pathology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of SRY (sex determining region Y)-box 2 (Sox2) on neutrotrophin-3 (NT-3)-induced differentiation of rat brain-derived neural stem cells (NSCs). **Methods** NSCs were isolated from Sprague-Dawley (SD) rat embryos (14 – 15 d) and cultured *in vitro*. Then, NSCs were randomized into control group, 25 ng/mL NT-3 group, 50 ng/mL NT-3 group, and 100 ng/mL NT-3 group. After the cells in all the groups were cultured for 24 h, the expressions of Sox2, doublecortin (DCX), oligodendrocyte transcription factor 2 (Olig2), and glial fibrillary acidic protein (GFAP) were assessed by Western blotting and immunofluorescence assay. Besides, NSCs were randomized into control group, 10 μmol/L PI3K/AKT pathway inhibitor (LY294002) group, 100 ng/mL NT-3 group, and LY294002 (10 μmol/L) + NT-3 (100 ng/mL) group. After the cells were cultured for 24 h, the expressions of AKT, p-AKT and Sox2 proteins were detected. **Results** The Sox2 protein expression was significantly up-regulated along with the concentration increase of NT-3 ($P<0.05$), and the proportion of neuronal precursor cells differentiated from the NSCs was increased in a dose-dependent manner ($P<0.05$). The 100 ng/mL NT-3 group markedly up-regulated the expression of p-AKT and Sox2 proteins as compared with the control group ($P<0.05$), and the up-regulation could be blocked with LY294002 ($P<0.05$). **Conclusion** Sox2 induces the differentiation of NSCs to neuronal precursor cells, and NT-3 up-regulates the Sox2 expression

[基金项目] 国家自然科学基金(81070981,81401016)

[通信作者] 赵建华,E-mail: zhaojianhua1964@yahoo.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20141204.1643.018.html(2014-12-04)

through activating PI3K/AKT signal pathway.

[**Key words**] NT-3; Sox2; neural stem cells; differentiation; PI3K/AKT signal pathway

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81070981, 81401016). Corresponding author: Zhao Jianhua, E-mail: zhaojianhua1964@yahoo.com

脊髓损伤(spinal cord injury,SCI)具有高致残率、高耗费、低死亡率的特点。据研究报道,SCI在国内外的发病率都有快速增加的趋势[1-2]。中枢神经系统(central nervous system,CNS)再生问题一直是基础研究和临床实践中困扰神经科学界和医学界的重大难题,成年神经干细胞(neural stem cells,NSCs)的发现为解决这一难题提供了新的思路。近年,NSCs移植逐渐成为人们探索治疗SCI的新途径,但是单纯的NSCs移植对受损脊髓组织的修复作用并不理想,其影响因素众多。目前研究发现,NSCs联合细胞移植对SCI的功能恢复具有较好的协同效应,常用的联合细胞有雪旺细胞、嗅球细胞等[3-5]。树突状细胞(dendriticcells,DCs)可以通过分泌神经营养因子3(neurotrophin-3,NT-3)激活内源性神经干/前体细胞(neural stem/progenitor cells,NSPCs)促进大鼠SCI功能的恢复[6-8],并且NT-3在神经系统早期发育过程中对于NSCs的存活、增殖及分化起着重要作用[9-10],而Sox2[SRY (sex determining region Y)-box 2]作为Sox转录因子家族成员之一,在CNS发育早期对于维持NSCs的自我更新及多向分化潜能具有关键性的调节作用,并且对NSCs的分化命运具有重要的调控作用[11],作为NT-3/TrkC下游信号转导途径之一的PI3K/AKT通路又可调控Sox2的表达[12]。因此,我们推测两种在NSCs早期维持其存活、增殖和分化的重要因子——NT-3和Sox2之间可能存在着特殊的联系。本实验通过使用外源性NT-3刺激体外培养的孕14~15 d SD胎鼠脑源性NSCs,从NSCs分化的角度探索其发生的可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物与材料

1.1.1 实验动物 健康SPF级孕14~15 d SD胎鼠,由第三军医大学实验动物中心提供。手术及动物处死均按国际通用实验室动物使用指南及第三军医大学动物实验管理使用规定的要求执行,以减少实验动物用量和最大限度减轻实验动物痛苦。

1.1.2 主要药品与试剂 NT-3(450-03)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor,bFGF)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)(PeproTech公司),DMEM/F12、优质胎牛血清(FBS)(Thermo scientific公司),LY294002(HY-10108,MCE公司),Nestin抗体(ab6142)、Sox2抗体(b97959)、Doublecortin(DCX)抗体(ab18723)(Abcam公司),GFAP抗体(16825-1-AP)、Olig2抗体(13999-1-AP)(武汉三鹰);p-AKT抗体(4058)、AKT抗体(4691)(CST公司),GAPDH抗体(TA-08,中杉金桥),Accutase消化液(Gibco公司)、多聚鸟氨酸(Sigma公司)。

1.1.3 主要实验器材 眼科手术器械(自备),低温离心机、酶标仪(美国Thermo scientific公司),倒置显微镜(日本Olympus公司),激光共聚集显微镜(德国Carl Zeiss公司),37 ℃含5% CO_2孵育箱(美国Thermo Forma公司),Western Blot电泳仪、转膜仪各一套(北京六一)。

1.2 方法

1.2.1 孕14~15 d SD胎鼠脑源性NSCs的培养和鉴定 无菌条件下分离孕14~15 d SD胎鼠大脑皮层,仔细剥去脑膜,眼科剪剪碎,胰酶消化12 min,含10% FBS的DMEM/F12终止消化,加入NSCs完全培养基[DMEM/F12+20 ng/mL bFGF+20 ng/mL EGF+2% B27],小心轻柔吹打置悬,200目细胞筛过滤,调整细胞数为1×10^6/mL,接种于无菌培养瓶后置于37 ℃含5% CO_2的孵育箱。3 d后半量换液。6 d后消化传代,进行贴壁培养后用于后续实验,培养瓶预先使用10 μg/mL多聚鸟氨酸包被处理。原代NSCs球经消化传代后,接种于激光共聚焦培养皿中,培养2 d后进行巢蛋白(Nestin)抗体及Sox2抗体的免疫荧光(IF)染色鉴定。同一批培养的细胞,撤去生长因子,加入1% FBS,培养2 d后进行胶质纤维酸性蛋白(GFAP)抗体,少突胶质细胞标志物2(Olig2)抗体,神经元前体细胞标志物(DCX)抗体的IF染色鉴定。

1.2.2 外源性NT-3对NSCs中Sox2蛋白表达量及对NSCs分化影响的检测 将原代培养的NSCs随机分为对照组、25 ng/mL NT-3组、50 ng/mL NT-3组、100 ng/mL NT-3组,采用Western blot法检测各组Sox2、DCX、Olig2、GFAP蛋白表达水平,收集各组经处理24 h后的细胞,提取总蛋白,BCA法测定蛋白浓度;取等量蛋白(20 μg),上样,电泳跑胶,转膜目的蛋白至PVDF膜后0.5% BSA封闭2 h;兔抗大鼠Sox2抗体(1∶1 000)、兔抗大鼠DCX抗体(1∶1 000)、兔抗大鼠Olig2抗体、兔抗大鼠GFAP抗体(1∶1 000)、GAPDH单克隆抗体(1∶1 000)4 ℃孵育过夜;PBST洗膜3次,

每次10 min,二抗为辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔/小鼠IgG(1∶5 000)室温孵育2 h,洗膜3次,每次10 min;加显色剂,Chemi Doc XR+紫外凝胶成像仪扫描成像,条带分析测定使用Image Lab程序。

实验分组同上,采用IF染色方法检测不同浓度NT-3对NSCs向三系细胞分化的影响,各组细胞经处理24 h后,弃掉培养基,PBS清洗3次,每次10 min;4%多聚甲醛固定30 min;PBS清洗3次,每次10 min;0.5% Triton X-100透膜15 min;正常山羊血清封闭2 h,兔抗大鼠DCX抗体(1∶200)、兔抗大鼠Olig2抗体(1∶200)、兔抗大鼠GFAP抗体(1∶200)自制湿盒中4 ℃孵育过夜,二抗为Cy3标记山羊抗兔IgG(1∶200)室温孵育2 h,DAPI染核15 min,激光共聚焦显微镜成像。

1.2.3 各组NSCs中p-AKT蛋白表达量的测定及PI3K/AKT通路在NT-3调控Sox2蛋白表达中的作用分析 将原代培养的NSCs随机分为对照组、10 μmol/L PI3K/AKT通路阻断剂(LY294002)组、100 ng/mL NT-3组、LY294002(10 μmol/L)+NT-3(100 ng/mL)组,经处理24 h后,采用Western blot法检测各组p-AKT、AKT及Sox2蛋白表达水平,具体方法同前1.2.2。

1.3 统计学方法

应用SPSS 15.0软件,数据以$\bar{x} \pm s$表示,多组间比较使用单因素方差分析。

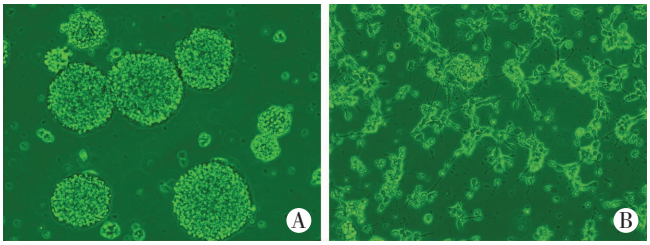
2 结果

2.1 NSCs的培养和鉴定

首先,形态学观察显示,原代培养NSCs第6天时,可见大量的NSCs球呈悬浮生长(图1A),NSCs球经Accutase消化为单细胞后能较好地在多聚鸟氨酸包被过的培养瓶中呈贴壁生长(图1B)。其次,从NSCs分化性能上进行鉴定,激光共聚焦显微镜观察显示:绝大部分原代培养的细胞细胞质中表达Nestin(图2A,红色),同时细胞核中表达Sox2(图2A,绿色);在去除生长因子及含1% FBS的培养基中生长2 d后的NSCs可观察到分化为表达神经元前体细胞标志物DCX(图2B,红色)、少突胶质细胞标志物Olig2(图2C,红色)及星形胶质细胞标志物GFAP(图2D,红色)三系细胞。表明成功分离培养了具有多向分化潜能的NSCs。

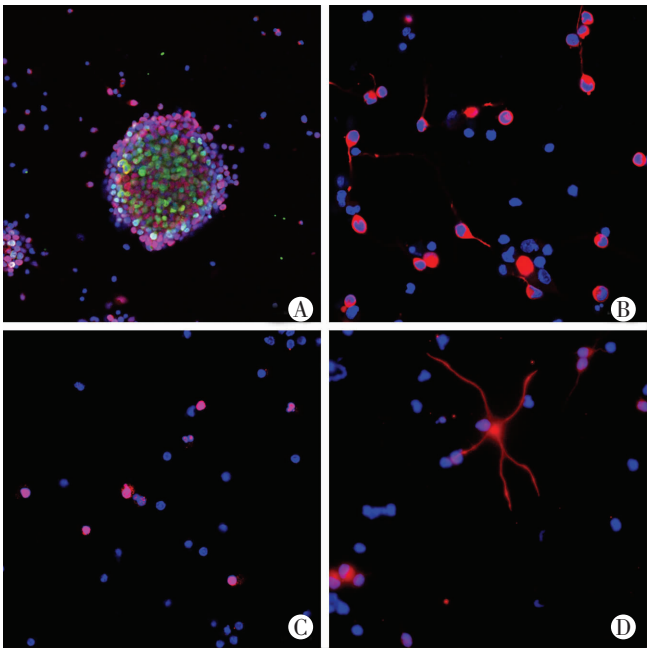
2.2 外源性NT-3作用于NSCs后Sox2蛋白质表达水平的变化及其对NSCs分化的影响

不同浓度NT-3(25、50、100 ng/mL)处理NSCs 24 h后,Western blot检测结果显示(图3):对照组(不加NT-3)Sox2蛋白表达水平最低,而各NT-3处理组Sox2蛋白表达水平明显上调,差异具有统计学意义($P<0.05$)。同时观察到:对照组DCX蛋白表达水平较低,而不同浓度NT-3处理组DCX蛋白表达水平则逐渐增加,差异具有统计学意义($P<0.05$);另外,50 ng/mL NT-3组和100 ng/mL NT-3组Olig2蛋白表达水平与对照组相比,差异也具有统计学意义($P<0.05$);但是各实验组的GFAP蛋白表达水平与对照组相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。



A:悬浮的神经干细胞球;B:贴壁的单个神经干细胞

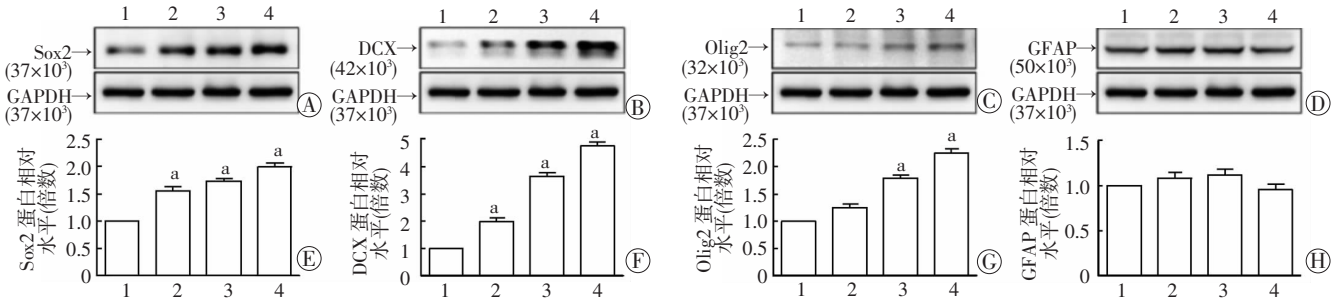
图1 倒置显微镜观察原代NSCs悬浮成球及贴壁有突起的单细胞 (×200)



A:Nestin(红色)/Sox2(绿色);B:DCX(红色);C:Olig2(红色);D:GFAP(红色)

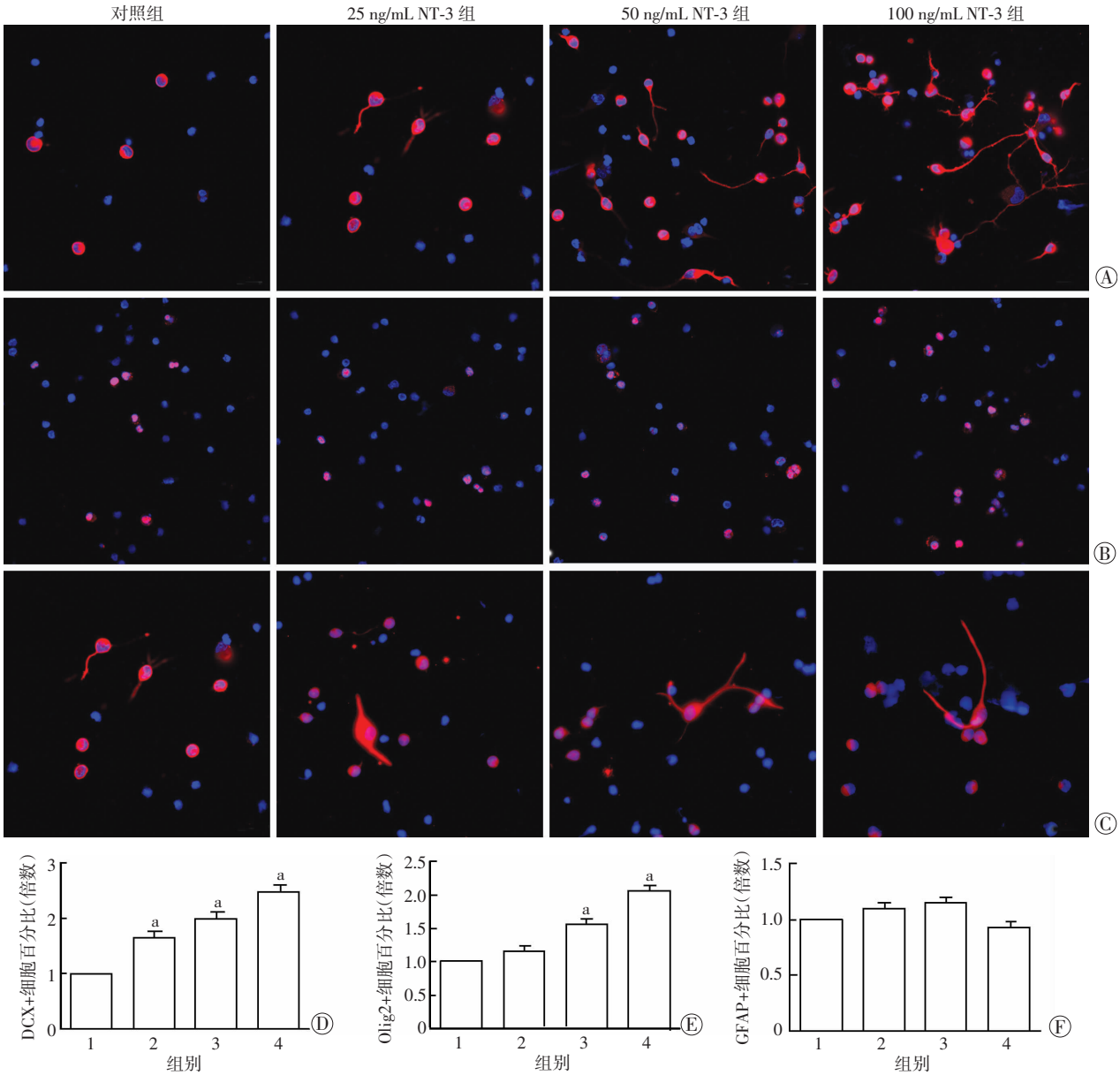
图2 激光共聚焦显微镜观察原代NSCs免疫荧光染色结果 (IF ×400)

其次,IF检测结果显示(图4):对照组DCX+(阳性)细胞百分比最低,而各NT-3处理组DCX+细胞百分比逐渐增加,并且细胞突起更长、联系更广,与对照组相比较,差异均具有统计学意义($P<0.05$);相应的,与对照组相比,50 ng/mL NT-3组和100 ng/mL NT-3组Olig2+细胞百分比较高,差异具有统计学意义($P<0.05$);而各实验组的GFAP+细胞百分比与对照组相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。



A、E:Western blot 检测 Sox2 在各组的表达及半定量分析;B、F:Western blot 检测 DCX 在各组的表达及半定量分析;C、G:Western blot 检测 Olig2 在各组的表达及半定量分析;D、H:Western blot 检测 GFAP 在各组的表达及半定量分析　1:对照组;2～4:25、50、100 ng/mL NT-3 组;a:$P<0.05$,与对照组比较

图 3　Western blot 检测各组 NSCs 中 Sox2、DCX、Olig2、GFAP 蛋白的表达

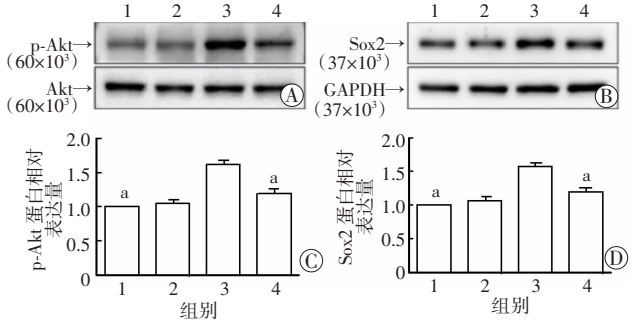


A、D:IF 检测 DCX(红色)+细胞相对百分比及半定量分析;B、E:IF 检测 Olig2(红色)+细胞相对百分比及半定量分析;C、F:IF 检测 GFAP(红色)+细胞相对百分比及半定量分析　1:对照组;2～4:25、50、100 ng/mL NT-3 组　a:$P<0.05$,与对照组比较

图 4　IF 检测不同浓度 NT-3 对 NSCs 分化的影响　(×400)

2.3 各组 NSCs 中 p-AKT 蛋白表达水平的不同及 Sox2 的表达经由 NT-3-PI3K/AKT 通路的调控

各组细胞经分别处理 24 h 后，Western blot 检测结果显示（图5）：与对照组相比，100 ng/mL NT-3 组p-AKT 蛋白表达水平最高，相应的，Sox2 蛋白表达水平也是最高，差异具有统计学意义（$P<0.05$）；与 100 ng/mL NT-3 组相比，预先使用 LY294002（10 μmol/L）干预 90 min 后再加入 NT-3（100 ng/mL）组的 p-AKT 和 Sox2 蛋白表达水平则又降低，差异具有统计学意义（$P<0.05$）。表明在 NSCs 中，NT-3 通过上调 Sox2 而促进 NSCs 向神经元方向分化可能是通过 PI3K/AKT 通路调控的。



1：对照组；2：LY294002 组；3：100 ng/mL NT-3 组；4：LY294002 +NT-3 组；A、B：Western blot 检测 p-AKT 在各组的表达水平及半定量分析；C、D：Western blot 检测 Sox2 在各组的表达水平及半定量分析　a：$P<0.05$，与 100 ng/mL NT-3 组比较

图5 Western blot 检测各组 NSCs 中 p-AKT、AKT 及 Sox2 蛋白的表达

3 讨论

细胞移植治疗脊髓损伤（SCI）仍是目前研究的热点和难点。近年，通过移植外源性的 NSCs 在 SCI 修复中显示了良好的应用前景。NSCs 是一类较原始的细胞，存在于胚胎和成年哺乳动物中枢神经系统的特定区域。但是研究发现，成年脊髓损伤后，内源性的 NSCs 则更多地分化为星形胶质细胞，形成胶质瘢痕，表明脊髓损伤局部存在强烈抑制 NSCs 向神经元和少突胶质细胞分化的微环境，这对神经功能恢复的帮助不仅有限，还可能起到了相反的作用，即单纯 NSCs 移植对受损脊髓组织的修复和神经功能的恢复作用并不理想。

本课题组前期研究表明：DCs 可以通过分泌 NT-3 激活内源性 NSPCs 而促进大鼠 SCI 功能的恢复，这可能与 NT-3 促进 NSCs 的存活、增殖以及向神经元方向分化的作用密不可分[7-8]。当 NT-3 与其特异性受体 TrkC 结合之后，可激活下游的一系列信号分子，而诱发不同的信号转导途径，如 PI3K/AKT、MEK-ERK 等，进而产生相应的生物学效应[13]。Hapner 等[14]研究发现，NT-3 的促增殖作用是剂量依赖性的，低浓度（1 ~ 20 ng/mL）促进细胞的增殖而相对高浓度（50 ng/mL）则实际上削弱了其促增殖的作用。据此猜测，当高浓度的 NT-3 削弱了 NSCs 的增殖作用时，是否诱导了其向下游三系细胞的分化？本实验将 NT-3 的浓度范围设置为 25 ~ 100 ng/mL，探讨相对高浓度的 NT-3 对 NSCs 分化的影响。Sox2 作为一种“干性因子”，不仅是维持干细胞多潜能及自我更新的重要因子，而且在中枢神经系统发育早期对 NSCs 的分化命运也具有重要的调控作用[11, 15]。Peltier 等[12]研究报道，在成年海马 NPCs 中，过表达的 AKT 可以上调 Sox2 的表达水平，但是上调后的 Sox2 并不促进细胞本身的增殖。另外，Cavallaro 等[16]发现，Sox2 基因缺失的 NSCs 虽然可以分化产生正常数量的 β-tubulin 阳性细胞，而且细胞同样也表达 GFAP，但是这些细胞进一步分化为成熟神经元的能力则被大大削弱，如果在分化早期使用腺病毒载体重新表达 Sox2 基因则可逆转其分化功能的缺陷；他们同时发现，Sox2 可直接作用于 GFAP 基因而抑制其表达，对神经元前体细胞的分化命运起到至关重要的调节作用。Feng 等[17]报道，Sox2 可以通过上调 survivin 蛋白（baculoviral inhibitor of apoptosis repeat-containing 5，BIRC5）的表达而抑制 Caspase-9 的活性，从而调控 NSCs 的存活，而且 PI3K/AKT 信号途径同样具有抑制 Caspase-9 活性的作用，表明 Sox2 与 PI3K/AKT 之间可能存在某种特殊的作用机理，共同参与调控 NSCs 的存活、增殖及分化活性。根据诸多线索，本实验拟对 Sox2 与 PI3K/AKT 信号通路之间可能存在的相互联系进行研究探索，而 NT-3/TrkC 作为 PI3K/AKT 信号通路的上游，故将 NT-3 作为干预因素引入本研究。

本实验使用相对高浓度的外源性 NT-3（25、50、100 ng/mL）刺激 NSCs，干预时间为 24 h，结果显示：高浓度的 NT-3 明显上调了 NSCs 中 Sox2 蛋白的表达水平，而且促进了其向神经元前体细胞和少突胶质细胞方向的分化，并且在一定程度上抑制了其向星形胶质细胞的分化。我们还观察到，100 ng/mL NT-3 组的 p-AKT 蛋白表达水平明显升高，这种作用又可被特异性 PI3K/AKT 通路阻断剂（LY294002）所抑制，表明 NT-3 与其特异性受体 TrkC 结合后，很有可能通过激活其下游的 PI3K/AKT 信号转导途径而上调 Sox2 的

表达,后者进而诱导 NSCs 向神经元方向的分化。

综上所述,本研究观察到 NT-3 在相对高浓度范围内显著上调了体外培养的大鼠脑源性 NSCs 中 Sox2 的表达,并且明显促进了 NSCs 向神经元方向的分化,这些效应很可能是通过 PI3K/AKT 信号转导途径而实现的。虽然 Sox2 的上调能够促进神经干细胞向神经元方向的分化,但是这些神经元前体细胞(DCX+)能否进一步分化为成熟的神经元而发挥相应的作用还有待深入研究。相信一旦全面揭示了 NSCs 体外各种调控途径的神秘机制,将对 NSCs 移植应用于临床治疗各种中枢神经系统疾病(如脊髓损伤、帕金森病、脑出血梗死等)发挥重要作用。

参考文献:

[1] Ning G Z, Yu T Q, Feng S Q, *et al*. Epidemiology of traumatic spinal cord injury in Tianjin, China[J]. Spinal Cord, 2011, 49(3): 386-390.

[2] Wyndaele J J. More knowledge of worldwide incidence and epidemiology of spinal cord injury: data from the United States military[J]. Spinal Cord, 2011, 49(8): 857.

[3] McCreedy D A, Sakiyama-Elbert S E. Combination therapies in the CNS: engineering the environment[J]. Neurosci Lett, 2012, 519(2): 115-121.

[4] Wang J M, Zeng Y S, Wu J L, *et al*. Cograft of neural stem cells and schwann cells overexpressing TrkC and neurotrophin-3 respectively after rat spinal cord transection[J]. Biomaterials, 2011, 32(30): 7454-7468.

[5] Lin S, Xu J, Hu S, *et al*. Combined application of neutrophin-3 gene and neural stem cells is ameliorative to delay of denervated skeletal muscular atrophy after tibial nerve transection in rats[J]. Cell Transplant, 2011, 20(3): 381-390.

[6] 晁瑞, 赵建华, 刘明永, 等. 树突细胞及神经干细胞/前体细胞联合移植促进脊髓损伤大鼠运动功能恢复[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(10): 998-1002.

[7] 王钟, 陈太邦, 王永飞, 等. 树突状细胞通过 NT-3/TrkC 信号通路调控神经干细胞存活的体外研究[J]. 第三军医大学学报, 2013, 35(12): 1188-1191.

[8] 陈太邦, 赵建华, 王永飞, 等. 体外树突状细胞通过 NT-3 上调 P-ERK1/2 的表达促进神经干/祖细胞分化[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(23): 2368-2372.

[9] Lu H X, Hao Z M, Jiao Q, *et al*. Neurotrophin-3 gene transduction of mouse neural stem cells promotes proliferation and neuronal differentiation in organotypic hippocampal slice cultures[J]. Med Sci Monit, 2011, 17(11): BR305-BR311.

[10] Bouzas-Rodriguez J, Cabrera J R, Delloye-Bourgeois C, *et al*. Neurotrophin-3 production promotes human neuroblastoma cell survival by inhibiting TrkC-induced apoptosis[J]. J Clin Invest, 2010, 120(3): 850-858.

[11] Pevny L H, Nicolis S K. Sox2 roles in neural stem cells[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2010, 42(3): 421-424.

[12] Peltier J, Conway A, Keung A J, *et al*. Akt increases sox2 expression in adult hippocampal neural progenitor cells, but increased sox2 does not promote proliferation[J]. Stem Cells Dev, 2011, 20(7): 1153-1161.

[13] Lim M S, Nam S H, Kim S J, *et al*. Signaling pathways of the early differentiation of neural stem cells by neurotrophin-3[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 357(4): 903-909.

[14] Hapner S J, Nielsen K M, Chaverra M, *et al*. NT-3 and CNTF exert dose-dependent, pleiotropic effects on cells in the immature dorsal root ganglion: neuregulin-mediated proliferation of progenitor cells and neuronal differentiation[J]. Dev Biol, 2006, 297(1): 182-197.

[15] Andreu-Agullo C, Maurin T, Thompson C B, *et al*. Ars2 maintains neural stem-cell identity through direct transcriptional activation of Sox2[J]. Nature, 2012, 481(7380): 195-198.

[16] Cavallaro M, Mariani J, Lancini C, *et al*. Impaired generation of mature neurons by neural stem cells from hypomorphic Sox2 mutants[J]. Development, 2008, 135(3): 541-557.

[17] Feng R, Zhou S, Liu Y, *et al*. Sox2 protects neural stem cells from apoptosis *via* up-regulating survivin expression[J]. Biochem J, 2013, 450(3): 459-468.

(**收稿**:2014-09-26;**修回**:2014-10-16)

(编辑 龙 亮)