DOI:10.16016/j.2097-0927.202110115

星形胶质细胞中 LXRβ 缺失对生后早期海马神经发生的影响

吕柯毅[1],骆 燚[2],李 欣[2],肖 锐[2],陈 胜[2],谢汝欣[2],范晓棠[2],陈 红[1] 400715 重庆,西南大学心理学部,认知与人格教育部重点实验室[1];400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)医学心理系军事认知心理学教研室[2]

[摘要] **目的** 研究星形胶质细胞中特异性敲除 LXRβ 对生后早期海马神经发生的影响。**方法** 使用 Cre/LoxP 系统构建星形胶质细胞中特异性 LXRβ 敲除小鼠。实验分为:对照组(LXRβ$^{fl/fl}$,$n=3$)和星形胶质细胞中特异性 LXRβ 敲除组(LXRβ cKO^{GFAP},$n=3$)。生后 7 d(postnatal day 7,P7),小鼠予以 5-溴脱氧尿嘧啶核苷(5-bromo-2'-deoxyuridine,BrdU)腹腔注射,给药后 2 h 收取 P7 脑标本,HE 染色观察小鼠 P2 和 P7 脑标本海马结构的变化,免疫荧光染色检测 P7 时小鼠海马齿状回 BrdU、SOX2/GFAP、NeuN 和 Prox1 表达,以及 P14 时小鼠海马齿状回 NeuN 和 Prox1 表达。**结果** HE 染色结果显示,P2、P7 时,与 LXRβ$^{fl/fl}$ 组相比,LXRβ cKO^{GFAP} 组小鼠海马齿状回的大体结构无明显改变,两组间海马齿状回面积差异无统计学意义;在 P7 时,与 LXRβ$^{fl/fl}$ 组相比,LXRβ cKO^{GFAP} 组小鼠海马齿状回门区 BrdU 阳性细胞数量显著增多($P<0.05$)、海马颗粒层 SOX2 标记的神经前体细胞数($P<0.01$)、SOX2/GFAP 共同标记的放射状胶质细胞数($P<0.05$)显著减少,未成熟神经元标志物 Prox1 和成熟神经元标志物 NeuN 在两组中的表达均无统计学差异。在 P14 时,与 LXRβ$^{fl/fl}$ 组相比,LXRβ cKO^{GFAP}组小鼠海马齿状回 NeuN 的表达显著减少($P<0.05$),Prox1 的表达差异无统计学意义。**结论** 特异性敲除小鼠星形胶质细胞中 LXRβ 抑制生后早期海马齿状回神经发生。

[关键词] 肝 X 受体;海马;神经发生;星形胶质细胞

[中图法分类号] R-332; R321.6; R322.81 [文献标志码] A

Loss of liver X receptor β in astrocytes leads to defects in early postnatal hippocampal neurogenesis in mice

LYU Keyi[1], LUO Yi[2], LI Xin[2], XIAO Rui[2], CHEN Sheng[2], XIE Ruxin[2], FAN Xiaotang[2], CHEN Hong[1] [1] Key Laboratory of Cognition and Personality of Ministry of Education, Faculty of Psychology, Southwest University, Chongqing, 400715; [2]Department of Military Cognitive Psychology, Faculty of Medical Psychology, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effects of specific liver X receptor β (LXRβ) knockout in astrocytes on early postnatal hippocampal neurogenesis in mice. **Methods** Cre/loxP system was used to construct a mouse model with specific LXRβ knockout in astrocyte. Then the mice were divided into control group (LXRβ$^{fl/fl}$, $n=3$) and astrocyte specific LXRβ knockout group (LXRβ cKO^{GFAP}, $n=3$). On postnatal day 7 (P7), both groups were intraperitoneally injected with 5-Bromo-2'-deoxyuridine (BrdU), and the brain samples of mice were collected 2 h after drug administration. HE staining was performed on brain samples of the P2 and P7 mice to compare the changes of hippocampal structure between the 2 groups. The expression levels of BrdU, SOX2/GFAP, NeuN and Prox1 in the hippocampal dentate gyrus (DG) were

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82071544)

[通信作者] 陈 红,E-mail:chenhg@swu.edu.cn

范晓棠,E-mail:fanxiaotang2005@163.com

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

detected in the P7 mice by immunofluorescence staining, so as the levels of NeuN and Prox1 in the P14 mice. **Results** HE staining showed no great changes in the structure and area of hippocampal DG between the LXRβ$^{fl/fl}$ and LXRβ cKO^{GFAP} groups at P2 and P7. For the P7 mice, the LXRβ cKO^{GFAP} group had larger number of BrdU-labeled positive cells in DG of the hippocampus ($P<0.05$), while less numbers of Sox2-labeled neural precursor cells ($P<0.01$) and SOX2/GFAP co-labeled radial glial cells (RGCs) ($P<0.05$) in DG layer as compared with the LXRβ$^{fl/fl}$ group. There was no statistical significance in the expression of immature neuron marker Prox1 and mature neuron marker NeuN between the 2 groups. At P14, the expression of NeuN in the DG of LXRβ cKO^{GFAP} mice was remarkably reduced ($P<0.05$), whilse the level of Prox1 between the 2 groups was not significant. **Conclusion** Specific knockout of LXRβ in astrocytes inhibits early postnatal neurogenesis of hippocampal DG in mice.

[**Key words**] liver X receptor; hippocampus; neurogenesis; astrocytes

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (82071544). Corresponding author: CHEN Hong, E-mail: chenhg@swu.edu.cn; FAN Xiaotang, E-mail: fanxiaotang2005@163.com

肝脏 X 受体(liver X receptor, LXR)包括 LXRα 和 LXRβ 两个受体亚型,是配体激活的转录因子[1-2],其中 LXRα 主要表达于脂肪组织、肝脏和肠道,而 LXRβ 广泛表达于中枢神经系统[2]。海马齿状回内的放射状胶质细胞(radial glial cells, RGCs)一方面在生后及成年持续产生神经前体细胞和神经元,组成海马齿状回的神经前体细胞库,另一方面其由胞体伸出的长突起引导新生神经元的迁移而到达靶区,并促进颗粒神经元的进一步成熟[3-4]。课题组前期研究发现:LXRβ 缺失后会导致小鼠海马齿状回区的 RGCs 数量减少,影响新生颗粒细胞和神经前体细胞向齿状回迁移,从而使海马颗粒细胞层的颗粒神经元减少,神经元分化和成熟发生异常,因而影响生后海马的神经发生[5-7]。RGCs 可以被神经前体细胞的标志物 Nestin、SOX2、Pax6 所标识,同时亦能被星形胶质细胞标志物 BLBP,GFAP 等标记[8]。SOX2 作为核转录因子,可标记神经前体细胞,在胚胎早期发育中发挥重要作用[9-10]。星形胶质细胞标志物 GFAP 可以特异性标记放射状胶质细胞长突起,SOX2/GFAP 双标记可特异性识别生后海马齿状回颗粒区和颗粒下区内的 RGCs,提示齿状回发育的关键期部分星形胶质细胞具有 RGCs 的特性[11-12]。然而星形胶质细胞中特异性敲除 LXRβ 对小鼠海马齿状回的 RGCs 的影响目前仍不清楚。

本研究基于 Cre/loxP 系统构建星形胶质细胞中 LXRβ 敲除小鼠(LXRβ cKO^{GFAP})与对照小鼠(LXRβ$^{fl/fl}$)。胚胎期海马齿状回的形成遵循三基质,出生后,第三基质则主要负责颗粒细胞层及颗粒下区(subgranular zone, SGZ)的形成。在胚胎发育晚期至生后早期(E18.5-P2),海马齿状回内 RGC 形成跨门区的放射状胶质支架,引导细胞的迁移形成瞬时神经发生区即软膜下神经生成区(subpial neurogenic zone, SPZ),为神经前体细胞的富集区,是颗粒细胞层形成的关键。生后 2 周为小鼠海马齿状回发育的关键期,所以在生后 2 d (postnatal day 2, P2)、P7 采用 HE 染色检测两组小鼠海马齿状回结构的变化。在 P7 和 P14 采用放射状胶质细胞、神经前体细胞增殖和神经元标志物进一步探究星形胶质细胞中特异性敲除 LXRβ 对小鼠生后海马齿状回 RGCs 发育的影响,借此明确对神经前体细胞增殖、迁移和神经元成熟的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

BrdU 抗体购自美国 BD 公司,SOX2 抗体购自英国 Abcam 公司,GFAP 抗体购自美国 Dako 公司,Prox1 抗体购自美国 Millipore 公司,NeuN 抗体购自英国 Abcam 公司,荧光二抗均购自美国 Invitrogen 公司,Trition-X-100 和胎牛血清蛋白均购自美国 Invitrogen 公司。

1.2 方法

1.2.1 动物与分组 LXRβ$^{flox/flox}$(LXRβ$^{fl/fl}$)小鼠和 GFAP-Cre 小鼠分别购自澳大利 Ozgene 有限公司和美国 Jackson 实验室。LXRβ$^{fl/fl}$ 和 GFAP-Cre 小鼠都是 C57BL/6J 小鼠背景。将 GFAP-Cre 小鼠和 LXRβ$^{fl/fl}$ 小鼠进行杂交,得到星形胶质细胞特异性 LXRβ 敲除小鼠(LXRβ cKO^{GFAP})。Cre/loxP 系统用于构建星形胶质细胞中 LXRβ 特异性敲除小鼠。所有动物在 12 h 光/暗昼夜节律的环境中饲养,小鼠可随意获得食物和水。根据 PCR 结果判定小鼠的基因型。分为两组:对照组(LXRβ$^{fl/fl}$)、星形胶质细胞中 LXRβ 敲除组(LXRβ cKO^{GFAP})。动物处理和实验过程遵循陆军军医大学动物实验室管理要求。小鼠出生当天记为 P0,

只选取雄性小鼠进行实验。

1.2.2 药物处理 为评估两组小鼠海马齿状回细胞增殖情况,于 P7 对小鼠腹腔注射 BrdU(50 mg/kg),给药 2 h 后处死、取材。

1.2.3 标本采集 对 P2、P7 小鼠制备石蜡切片样本,小心剥离脑组织,置于 4%多聚甲醛(PFA)中固定 48 h,转入 50%酒精中脱水 30 min,将脑组织置于 70%的酒精中室温保存备用。对 P14 小鼠制备冰冻切片样本,于 P14 对 2 组小鼠进行心脏灌注取脑组织,在 4% PFA 溶液中放置 48 h 后,转移至 30%蔗糖中充分脱水,取 30 μm 厚度的脑组织切片,于-20 ℃保存。

1.2.4 HE 染色 首先对小鼠脑组织样本进行脱蜡和水化,接着样本在苏木素中浸泡 5 min,用自来水冲掉残留液体后,盐酸酒精分化 30 s,接下来将样本过伊红 30 s,自来水冲掉残留液体,最后标本自然风干后,用 DPX 封片,制备好的染色标本室温保存用于后续拍照。

1.2.5 免疫荧光染色 对于 P7 石蜡组织切片,首先要进行脱蜡和水化,接着进行抗原修复:将标本放置在枸橼酸盐缓冲液中,微波炉中加热,室温自然冷却,后续染色步骤同 P14 冰冻切片。选取 2 组大小合适脑片于 PBS 中漂洗 30 min,之后加入 0.3 % Triton X-100 封闭非特异性结合。加入相应一抗:小鼠抗 BrdU 抗体(1∶500)、小鼠抗 SOX2 抗体(1∶500)、兔抗 GFAP 抗体(1∶400)、兔抗 Prox1 抗体(1∶400)、兔抗 NeuN 抗体(1∶500)抗体 ,37 ℃ 放置 2 h,4 ℃ 孵育过夜。对于 BrdU 染色还需进行 2NHCL 解除 DNA 双链。二抗分别加入抗小鼠 594、抗兔 cy3、抗兔 488 荧光二抗(1∶500),37 ℃ 孵育 2 h 后,DAPI 复染,自然晾干后滴加荧光封片剂封片。每组每个时间点各取 3 只小鼠,每只小鼠选取相似位置得 4 张脑片用于染色。

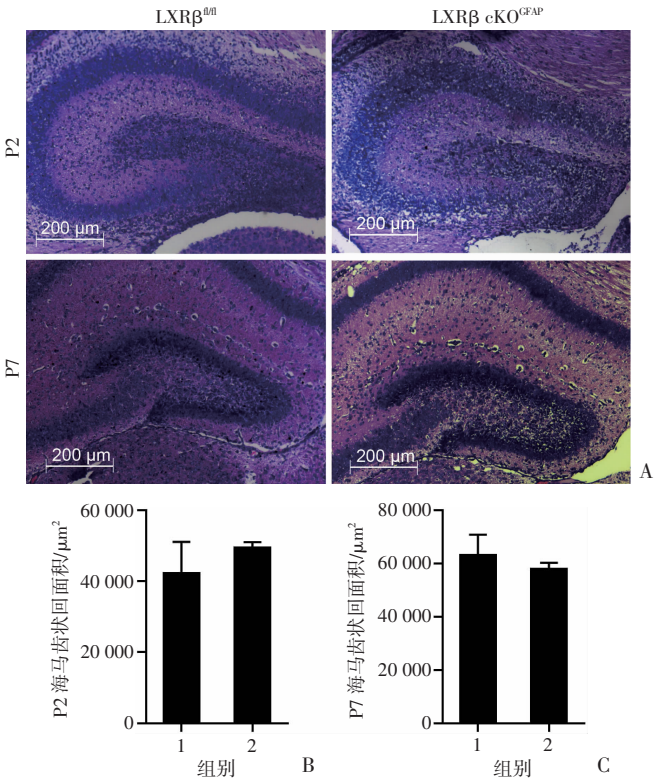
1.3 统计学分析

采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析,数据均用 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组比较采用 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 星形胶质细胞中 LXRβ 缺失对海马结构的影响

HE 染色结果显示,P2、P7 时,两组小鼠海马齿状回区颗粒细胞层细胞排列紧密,呈圆形,细胞结构清晰,细胞连接紧密,大体结构上均没有明显的变化(图 1)。与 LXRβ$^{fl/fl}$ 组小鼠相比,LXRβ cKO^{GFAP} 组小鼠海马齿状回面积无明显改变(图 1)。说明星形胶质细胞中 LXRβ 缺失不会改变海马齿状回结构的形成。



A:HE 染色观察两组小鼠 P2、P7 时海马齿状回结构;B:P2 时海马齿状回面积定量分析;C:P7 时海马齿状回面积定量分析 1:LXRβ$^{fl/fl}$ 组;2:LXRβ cKO^{GFAP} 组

图 1 星形胶质细胞中 LXRβ 缺失对海马结构的影响

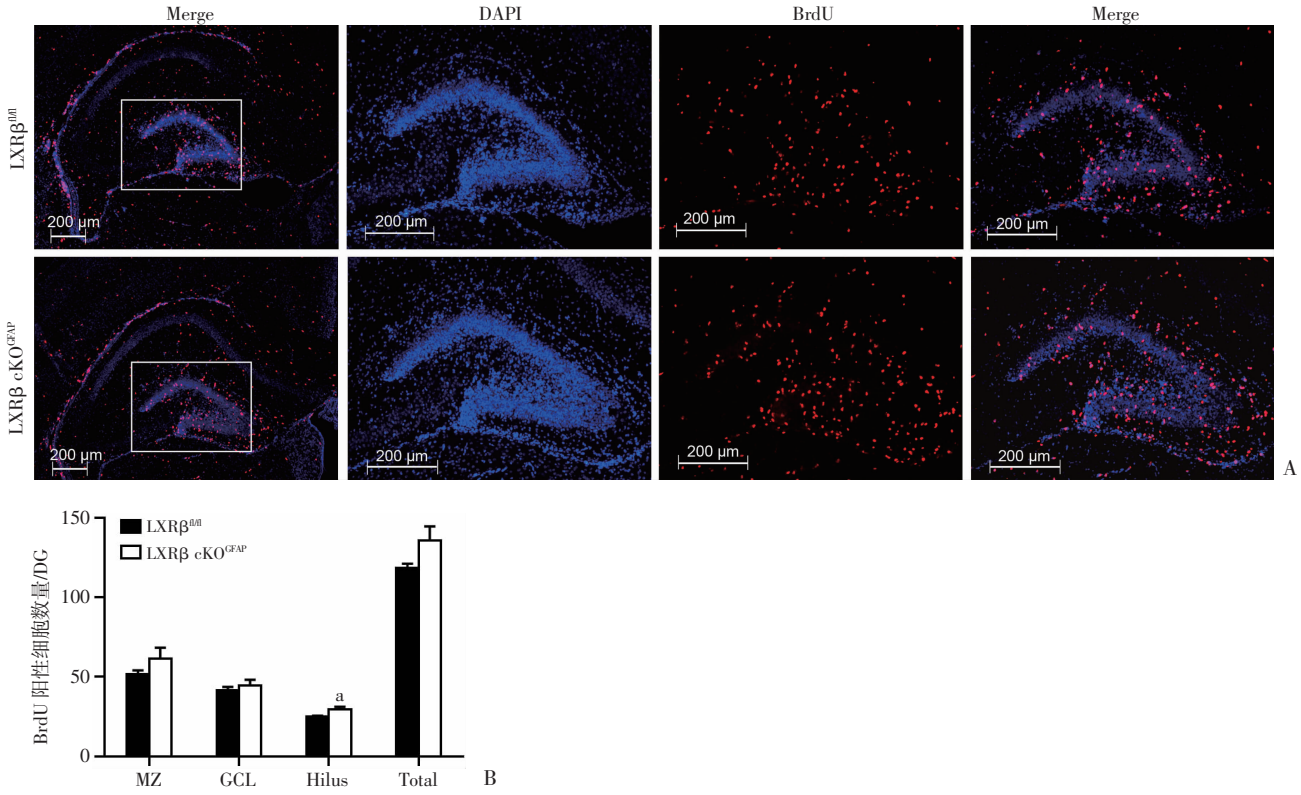
2.2 星形胶质细胞中 LXRβ 缺失导致小鼠海马齿状回门区的 BrdU 阳性细胞数增加

BrdU 作为胸腺嘧啶衍生物,能够在细胞增殖时替代核苷酸插入 DNA 链中,常用来检测细胞增殖。免疫荧光结果显示,BrdU 阳性细胞主要分布在海马齿状回颗粒层(GCL)、门区(Hilus)、边缘区(MZ)。与 LXRβ$^{fl/fl}$组小鼠相比,LXRβ cKO^{GFAP}组 BrdU 标记的阳性细胞在海马齿状回门区显著增多($P<0.05$),而在边缘区、颗粒细胞下区以及海马齿状回内 BrdU 总数差异均无统计学意义(图 2)。提示星形胶质细胞中 LXRβ 缺失会导致海马齿状回门区神经细胞增殖。

2.3 星形胶质细胞中 LXRβ 缺失引起 P7 小鼠海马齿状回放射状胶质细胞数量减少

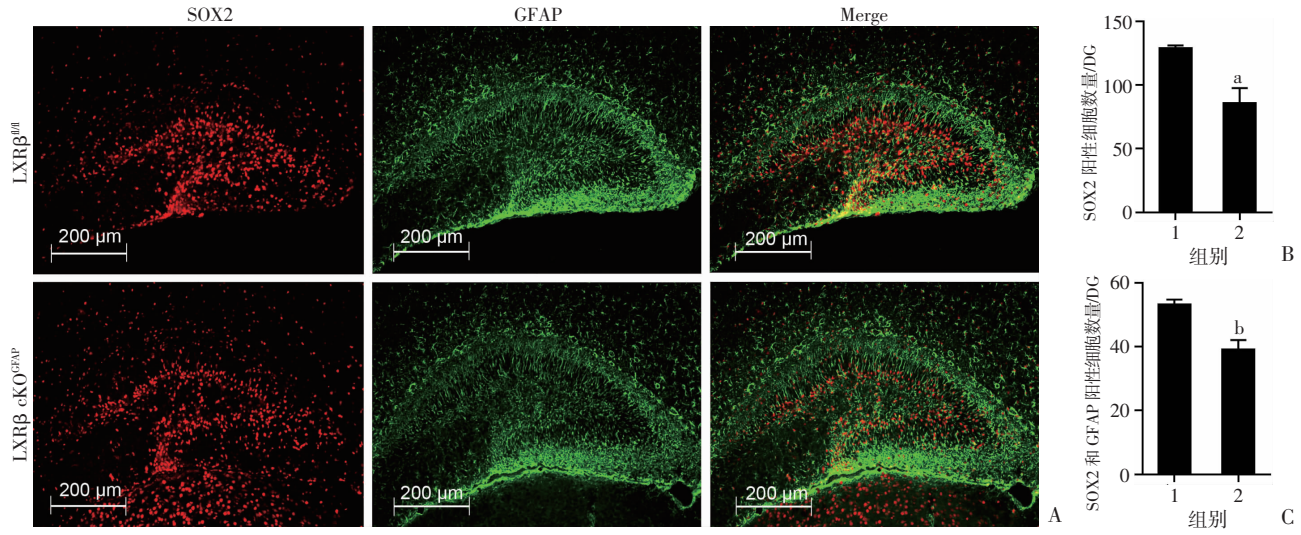
生后及成年海马齿状回颗粒细胞层保留的神经前体细胞即由早期的 RGCs 分化迁移而来,RGCs 是生后及成年海马齿状回神经干细胞的主要来源,组成海马齿状回的神经前体细胞库。SOX2 可作为神经前体细胞的标记物,GFAP 可以特异性标记放射状胶质细胞长突起。SOX2/GFAP 双标记可以标记生后海马齿状回颗粒层的 RGCs。免疫荧光检测 P7 时两组海马齿

状回颗粒细胞层的 RGCs 和神经前体细胞的表达。与 LXRβ$^{fl/fl}$ 组小鼠相比,LXRβ cKO^{GFAP} 组小鼠海马齿状回颗粒细胞层 SOX2 标记的神经前体细胞数量显著减少(P<0.01,图 3A、B)。同样,LXRβ cKO^{GFAP} 组小鼠海马齿状回颗粒细胞层 SOX2/GFAP 标记的 RGCs 数量较 LXRβ$^{fl/fl}$ 组显著减少(P<0.05,图 3A、C)。结果表明,星形胶质细胞中 LXRβ 缺失会导致生后早期小鼠海马齿状回的 RGCs 和神经前体细胞数量减少。



A:免疫荧光检测 BrdU 标记的海马齿状回区阳性细胞; B:定量分析两组小鼠海马不同亚区 BrdU 阳性细胞数 a:P< 0.05,与 LXRβ$^{fl/fl}$ 组比较

图 2　星形胶质细胞中 LXRβ 缺失对小鼠海马细胞增殖的影响



A:免疫荧光检测两组小鼠海马齿状回放射状胶质细胞表达;B:定量分析两组小鼠海马齿状回 SOX2 标记的阳性细胞数;C:定量分析两组小鼠海马齿状回 SOX2 和 GFAP 共同标记的阳性细胞数　1:LXRβ$^{fl/fl}$ 组;2:LXRβ cKO^{GFAP} 组;a:P<0.01,b:P<0.05,与 LXRβ$^{fl/fl}$ 组比较

图 3　星形胶质细胞中 LXRβ 缺失的小鼠海马齿状回放射状胶质细胞数量减少

2.4 星形胶质细胞中 LXRβ 缺失不影响小鼠海马齿状回颗粒细胞层未成熟神经细胞数量

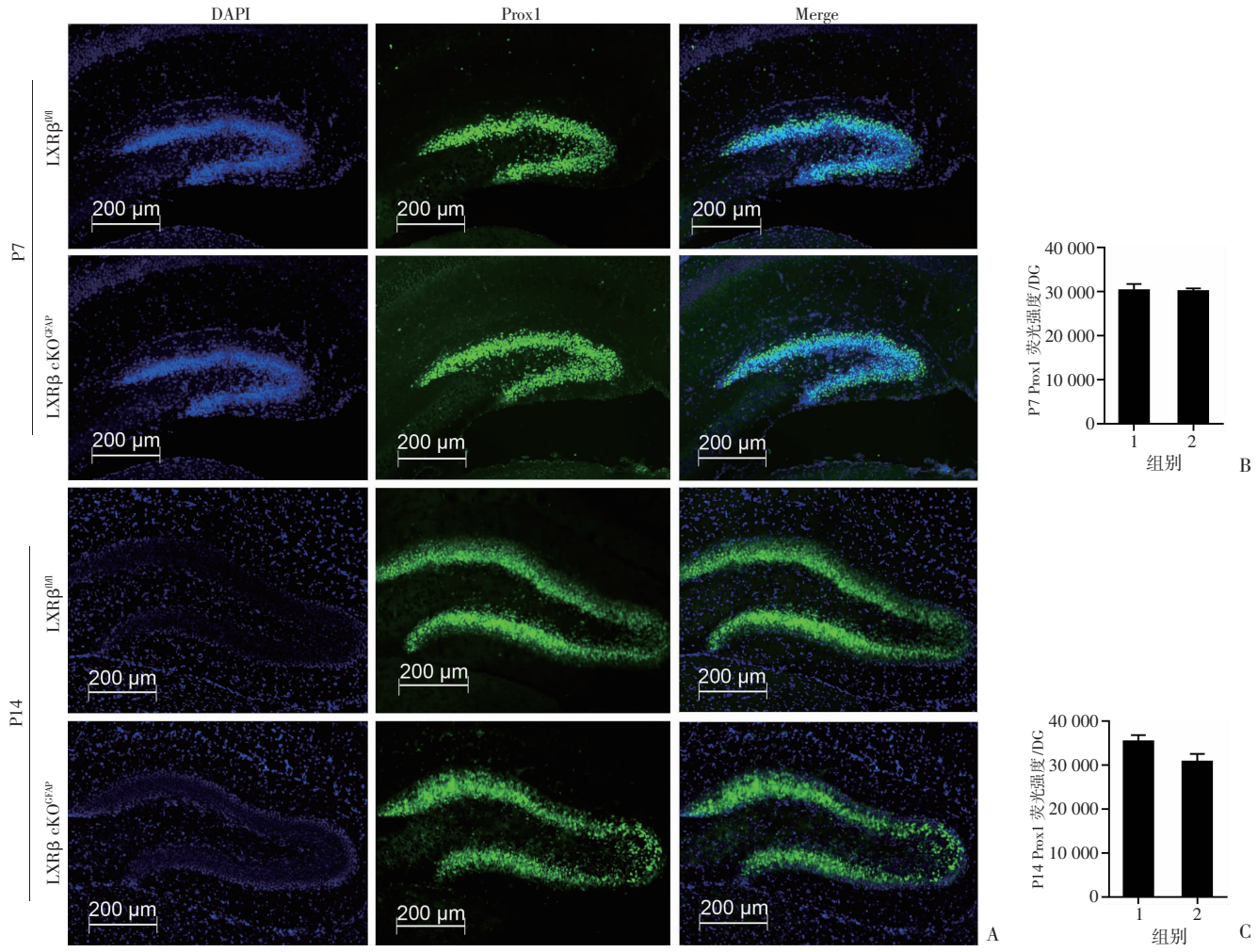
为了探究对新生颗粒神经元的影响,Prox1 标记颗粒神经元,分析星形胶质细胞中 LXRβ 缺失对海马齿状回 Prox1 标记的颗粒神经元的影响。在 P7 时 RGCs 进一步转化形成次级放射状胶质细胞,其突起穿过颗粒细胞层,并引导神经元的迁移。免疫荧光染色检测 Prox1 的表达,在 P7、P14 时,2 组小鼠在海马齿状回颗粒层 Prox1 表达的差异无统计学意义(图 4)。

2.5 星形胶质细胞中 LXRβ 缺失减少小鼠海马齿状回颗粒细胞层 NeuN 的表达

在生后海马齿状回颗粒细胞层产生的神经元,一般需要 2~3 周发育成功能成熟的颗粒细胞。进一步对 P7 和 P14 时小鼠海马齿状回成熟神经元的标志物 NeuN 进行免疫荧光染色。结果显示,在 P7 时,2 组小鼠海马齿状回颗粒层 NeuN 的表达无统计学意义(图 5A、B);在 P14 时,与 LXRβ$^{fl/fl}$ 组小鼠相比,LXRβ cKO^{GFAP} 组小鼠海马齿状回颗粒细胞层 NeuN 表达显著减少($P<0.05$,图 5A、C)。结果提示,在 P14 时,星形胶质细胞中 LXRβ 缺失会导致 NeuN 表达显著降低。

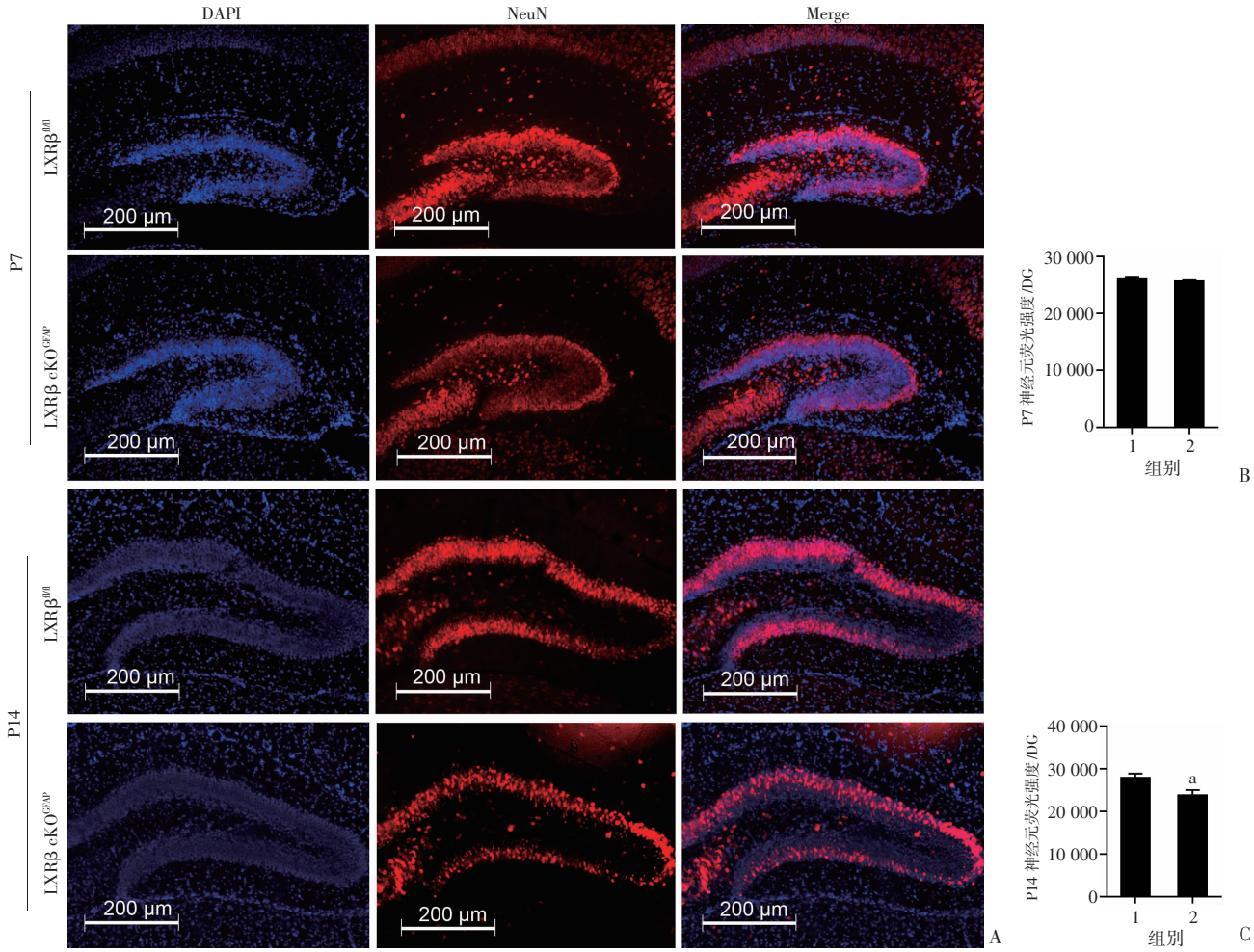
3 讨论

大量研究证据表明:放射状胶质细胞通过影响神经元的产生和迁移而参与中枢神经系统皮层、海马、小脑和视网膜等板层结构的形态发生[13-15]。我们前期研究发现,LXRβ 对放射状胶质细胞的发育与分化有重要调控作用。LXRβ 缺失影响放射状胶质细胞细胞长突起的形成,进而影响大脑皮质与海马的板层结构发育。生后放射状胶质细胞会产生少突胶质细胞和星形胶质细胞,并随着发育时程的进行,多数放射状胶质细胞会逐渐转化成成熟的星形胶质细胞,仅在成年室下区与海马齿状回的颗粒下区保留有增殖能力的放射状



A:免疫荧光检测 P7、P14 时 2 组小鼠海马齿状回颗粒神经元标志物 Prox1 的表达;B:半定量分析 P7 时小鼠海马齿状回 Prox1 标记阳性细胞数;C:半定量分析 P14 时小鼠海马齿状回 Prox1 标记阳性细胞数 1:LXRβ$^{fl/fl}$ 组;2:LXRβ cKO^{GFAP} 组

图 4 星形胶质细胞中 LXRβ 缺失对小鼠海马齿状回颗粒细胞层 Prox1 的表达没有影响



A:免疫荧光检测 P7、P14 时 2 组小鼠海马齿状回成熟神经元 NeuN 的表达;B:半定量分析 P7 时小鼠海马齿状回 NeuN 标记阳性细胞;C:半定量分析 P14 时海马齿状回 NeuN 标记阳性细胞 1:LXRβ$^{fl/fl}$ 组;2:LXRβ cKO^{GFAP} 组;a:$P<0.05$,与 LXRβ$^{fl/fl}$ 组比较

图 5 星形胶质细胞中 LXRβ 缺失的小鼠海马齿状回颗粒细胞层 NeuN 的表达减少

胶质细胞[16-17]。与此一致的是,LXRβ 缺失引起皮层少突前体细胞的分化减少,促进海马放射状胶质细胞向星形胶质细胞的快速转化,并观察到星形胶质细胞的大量增生[5]。因此,LXRβ 对海马齿状回内放射状胶质细胞的维持和神经前体细胞的数量有调控作用。本研究中,在 P7 时,用免疫荧光对海马齿状回增殖细胞以及神经前体细胞检测发现,星形胶质细胞中 LXRβ 缺失显著增加小鼠海马齿状回门区内 BrdU 标记的阳性细胞数,而减少 SOX2 标记的神经前体细胞数与 SOX2/GFAP 标记的放射状胶质细胞数。海马齿状回生后由放射状胶质细胞产生的神经前体细胞沿着齿状回内的放射状突起由门区向颗粒细胞层进行迁移,并在 P7 时迁移至颗粒细胞层。本研究在放射状胶质细胞数量减少的同时,观察到放射状长突起的数量减少,这可能是引起 BrdU 标记的增殖细胞在齿状回内门区聚集的主要因素。我们同时注意到,在颗粒细胞层及齿状回内 BrdU 的总数 2 组间差异均无统计学意义,提示 LXRβ cKO^{GFAP} 组小鼠海马齿状回内的增殖的神经前体细胞未受到显著影响,这与海马齿状回的面积在两组间无显著差异基本一致。由于增殖的神经前体细胞不能迁移至颗粒细胞层,因此会进一步减少颗粒细胞层 SOX2 标记的神经干细胞数量。在 P7 时,小鼠海马齿状回的颗粒细胞层结构初步形成,并通过神经前体细胞在颗粒层的迁移和神经元的迁移,形成颗粒下区和颗粒细胞层。此时,颗粒细胞层内的放射状胶质细胞长突起穿过形成的颗粒细胞层,引导神经前体细胞和神经元的迁移[18]。大量研究证据显示,放射状胶质细胞的长突起在引导颗粒层神经元迁移的同时,能够促进新生神经元的成熟。Prox1 在海马齿状回颗粒细胞中特异性表达[19]。本研究中,在 P7 与 P14 时观察到 LXRβ cKO^{GFAP} 组小鼠海马齿状回内 Prox1 标记的新生神经元与对照组均无显著差异,提

示星形胶质细胞中 LXRβ 缺失不影响神经前体细胞向颗粒神经元的早期分化。进一步研究发现 P14 时,LXRβ cKO^{GFAP}组小鼠海马齿状回内颗粒细胞 NeuN 的表达较对照组显著减少减低,提示海马齿状回颗粒神经元的成熟存在一定障碍。在 P7 时,我们注意到 LXRβ cKO^{GFAP}组小鼠海马齿状回射状胶质细胞的长纤维形成障碍,推测这可能是颗粒神经元成熟发生障碍的重要因素。

综上所述,本研究发现星形胶质细胞中特异性敲除 LXRβ 影响海马齿状回放射状胶质细胞的发育,特别是放射状胶质纤维的发育,借此影响神经前体细胞的迁移和神经元的成熟。与整体 LXRβ 敲除相比较,LXRβ cKO^{GFAP} 小鼠海马齿状回内神经前体细胞的增殖异常的表型不明显,而特异性地影响放射状胶质纤维的发育,提示不同类型细胞中 LXRβ 功能存在一定差异。星形胶质细胞中特异性敲除 LXRβ 引起神经元成熟障碍,进一步探究星形胶质细胞中 LXRβ 在调控海马齿状回发育的分子机制。

参考文献:

[1] LEUSSINK S, ARANDA-PARDOS I, A-GONZALEZ N. Lipid metabolism as a mechanism of immunomodulation in macrophages: the role of liver X receptors[J]. Curr Opin Pharmacol, 2020, 53: 18-26. DOI:10.1016/j.coph.2020.02.003.

[2] WANG B, TONTONOZ P. Liver X receptors in lipid signalling and membrane homeostasis[J]. Nat Rev Endocrinol, 2018, 14(8): 452-463. DOI: 10.1038/s41574-018-0037-x.

[3] LINDSEY B W, HALL Z J, HEUZÉ A, *et al*. The role of neuro-epithelial-like and radial-glial stem and progenitor cells in development, plasticity, and repair[J]. Prog Neurobiol, 2018, 170: 99-114. DOI:10.1016/j.pneurobio.2018.06.004.

[4] KYROUSI C, LYGEROU Z, TARAVIRAS S. How a radial glial cell decides to become a multiciliated ependymal cell[J]. Glia, 2017, 65(7): 1032-1042. DOI:10.1002/glia.23118.

[5] CAI Y L, TANG X T, CHEN X, *et al*. Liver X receptor β regulates the development of the dentate gyrus and autistic-like behavior in the mouse[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2018, 115(12): E2725-E2733. DOI: 10.1073/pnas.1800184115.

[6] SUN T, LI Y J, TIAN Q Q, *et al*. Activation of liver X receptor β-enhancing neurogenesis ameliorates cognitive impairment induced by chronic cerebral hypoperfusion[J]. Exp Neurol, 2018, 304:21-29. DOI:10.1016/j.expneurol.2018.02.006.

[7] BABURAMANI A A, VONTELL R T, UUS A, *et al*. Assessment of radial glia in the frontal lobe of fetuses with Down syndrome[J]. Acta Neuropathol Commun, 2020, 8(1): 141. DOI:10.1186/s40478-020-01015-3.

[8] MARTÍ-CLÚA J. Incorporation of 5-bromo-2′-deoxyuridine into DNA and proliferative behavior of cerebellar neuroblasts: all that glitters is not gold[J]. Cells, 2021, 10(6): 1453. DOI:10.3390/cells10061453.

[9] MERCURIO S, SERRA L, NICOLIS S K. More than just stem cells: functional roles of the transcription factor Sox2 in differentiated Glia and neurons[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(18): E4540. DOI:10.3390/ijms20184540.

[10] OCHI S, SEKIYA K, ABE N, *et al*. Neural precursor cells are decreased in the Hippocampus of the delayed carbon monoxide encephalopathy rat model[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 6244. DOI:10.1038/s41598-021-85860-9.

[11] JOHNSON K, BARRAGAN J, BASHIRUDDIN S, *et al*. Gfap-positive radial glial cells are an essential progenitor population for later-born neurons and glia in the zebrafish spinal cord[J]. Glia, 2016, 64(7): 1170-1189. DOI:10.1002/glia.22990.

[12] LI G N, PLEASURE S J. Morphogenesis of the dentate gyrus: what we are learning from mouse mutants[J]. Dev Neurosci, 2005, 27(2/3/4): 93-99. DOI: 10.1159/000085980.

[13] ROQUE A, LAJUD N, VALDEZ J J, *et al*. Early-life stress increases granule cell density in the cerebellum of male rats[J]. Brain Res, 2019, 1723: 146358. DOI:10.1016/j.brainres.2019.146358.

[14] KEMPERMANN G, SONG H, GAGE F H. Neurogenesis in the adult hippocampus[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2015, 7(9): a018812. DOI: 10.1101/cshperspect.a018812.

[15] XU L, TANG X, WANG Y, *et al*. Radial glia, the keystone of the development of the hippocampal dentate gyrus[J]. Mol Neurobiol, 2015, 51(1): 131-141. DOI: 10.1007/s12035-014-8692-y.

[16] DE JUAN ROMERO C, BORRELL V. Coevolution of radial glial cells and the cerebral cortex[J]. Glia, 2015, 63(8): 1303-1319. DOI:10.1002/glia.22827.

[17] BERG D A, BOND A M, MING G L, *et al*. Radial glial cells in the adult dentate gyrus: what are they and where do they come from?[J]. F1000Res, 2018, 7: 277. DOI:10.12688/f1000research.12684.1.

[18] ALLEN N J, LYONS D A. Glia as architects of central nervous system formation and function[J]. Science, 2018, 362(6411): 181-185. DOI:10.1126/science.aat0473.

[19] KAWAGUCHI A. Neuronal delamination and outer radial Glia generation in neocortical development[J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8: 623573. DOI: 10.3389/fcell.2020.623573.

(**收稿**:2021-10-20;**修回**:2021-11-22)

(编辑 吴培红)