

## 论著

文章编号:1000-5404(2012)23-2368-05

### 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

陈太邦<sup>1</sup>, 赵建华<sup>1</sup>, 王永飞<sup>1</sup>, 王 钟<sup>1</sup>, 郭乔楠<sup>2</sup> (400042 重庆, 第三军医大学大坪医院野战外科研究所脊柱外科<sup>1</sup>; 400038 重庆, 第三军医大学西南医院病理学研究所<sup>2</sup>)

**[摘要]** **目的** 观察树突状细胞(dendritic cells, DCs)对神经干/祖细胞(neural stem/progenitor cells, NSPCs)分化的影响,探讨神经生长素-3(Neurotrophin-3, NT-3)在DCs调控NSPCs分化中可能的作用机制。**方法** 实验共设5组,分别为NSPCs组、NSPCs/DCs组、NSPCs+NT-3组、NSPCs/DCs+抗NT-3组和DCs组。共培养24、48、72 h后,ELISA法检测各组上清液中NT-3含量;7 d后荧光免疫细胞化学法检测各组NSPCs分化情况。Western blot检测各组NSPCs磷酸化的细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK1/2)表达。**结果** NSPCs/DCs组上清液中NT-3含量较NSPCs组、NSPCs/DCs+抗NT-3组和DCs显著升高( $P < 0.05$ )。NSPCs/DCs组和NSPCs+NT-3组 $\beta$ -tubulin-III阳性细胞数较NSPCs组和NSPCs/DCs+抗NT-3组显著增高( $P < 0.05$ ),而NSPCs组和NSPCs/DCs+抗NT-3组GFAP阳性细胞较NSPCs/DCs组和NSPCs+NT-3组显著增高( $P < 0.05$ )。NSPCs/DCs组和NSPCs+NT-3组NSPCs中的p-ERK1/2的表达较其余两组增高( $P < 0.05$ )。**结论** NSPCs与DCs共培养能显著促进NSPCs分化为神经元,可能与共培养后NT-3表达量增高,通过其特异性受体TrkC激活下游信号通路MEK-ERK有关。

**[关键词]** 干细胞;树突状细胞;共培养;分化;NT-3

**[中图分类号]** R329.26; R329.28; R338.12

**[文献标志码]** A

### Dendritic cells promote neural stem/progenitor cells differentiation through NT-3 up-regulating p-ERK1/2 *in vitro*

Chen Taibang<sup>1</sup>, Zhao Jianhua<sup>1</sup>, Wang Yongfei<sup>1</sup>, Wang Zhong<sup>1</sup>, Guo Qiaonan<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Department of Spinal Surgery, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042; <sup>2</sup>Institute of Pathology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

**[Abstract]** **Objective** To observe the effect of dendritic cells (DCs) on neural stem/progenitor cells (NSPCs) differentiation *in vitro*, and to explore the possible mechanism of neurotrophin-3 (NT-3) in NSPCs differentiation regulated by DCs. **Methods** Primary NSPCs and DCs generated from SD rats were separately cultured and then co-cultured by using transwell chambers, respectively. There are five experimental groups including a NSPCs group, a DCs group, a NSPCs/DCs group, a NSPCs+NT-3 group and a NSPCs/DCs+anti-NT-3 group. After incubation for 24, 48 and 72 h, ELISA was used to detect the NT-3 content in cell supernatant of each group. After 7 d, fluorescence immunocytochemistry was used to detect NSPCs differentiation, and Western blot assay was used to detect the expression of phosphorylated extracellular signal-regulated protein kinases (p-ERK1/2) of NSPCs. **Results** The ELISA results showed that the NT-3 content in the cell supernatant of the NSPCs/DCs group was significantly increased compared with the NSPCs group, DCs group and NSPCs/DCs+anti-NT-3 group ( $P < 0.05$ ). Seven days after induction of differentiation, the proportions of  $\beta$ -tubulin-III-positive cells in the NSPCs/DCs group and NSPCs+NT-3 group were significantly higher than those of the NSPCs group and NSPCs/DCs+anti-NT-3 group ( $P < 0.05$ ), while the proportions of glial fibrillary acidic protein (GFAP)-positive cells in the NSPCs/DCs group and NSPCs+NT-3 group were significantly lower than those of the NSPCs group and NSPCs/DCs+anti-NT-3 group ( $P < 0.05$ ). The Western blotting results showed that the levels of p-ERK1/2 in the NSPCs/DCs group and NSPCs+NT-3 group were significantly higher than those in the NSPCs group, DCs group and NSPCs/DCs+anti-NT-3 group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion**

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81070981)

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

Co-culture of DCs and NSPCs can significantly promote NSPCs to differentiate into neurons. Activation of MEK-ERK signaling pathway may contribute to the differentiation of NSPCs into neurons, which is mediated by increased NT-3 binding to its specific receptor TrkC in co-culture system.

[Key words] stem cells; dendritic cells; co-culture; differentiation; NT-3

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

神经干/祖细胞(neural stem/progenitor cells, NSPCs)具有自我更新能力和多向分化潜能,对疾病和损伤具有反应能力。但NSPCs的存活、增殖及分化调控问题一直是研究及应用NSPCs的瓶颈。研究<sup>[1-3]</sup>发现体外神经营养因子BDNF和/或NT-3能调控NSPCs的存活、增殖和分化。虽然研究<sup>[3]</sup>发现体外培养过程中NSPCs能分泌一些BDNF、NT-3、NGF等神经营养因子,但分泌的内源性神经营养因子难于维持自身的存活、增殖。有研究<sup>[4]</sup>通过基因干预、共培养等方法促使NSPCs过表达内源性神经营养因子,以调控NSPCs更新能力和多向分化潜能,取得预期效果。树突状细胞(dendritic cells, DCs)具有神经保护作用,移植体内能激活内源性NSPCs增殖并促进脊髓损伤的恢复<sup>[5]</sup>。本课题组前期体外实验<sup>[6]</sup>进行树突状细胞与NSPCs共培养,发现共培养上清液中检测到神经营养因子NT-3含量比其他实验组显著增高,且观察到神经球数量增多,平均直径明显增大。体内两种细胞联合移植促进脊髓损伤修复,且观察到NT-3表达增加<sup>[7]</sup>。根据这个现象,本研究在DCs与NSPCs共培养条件下进一步观察NSPCs分化的情况,检测共培养体系总NT-3表达变化,探讨NT-3在DCs调控NSPCs中可能的作用机制,为调控NSPCs修复脊髓损伤提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 骨髓源性DCs的原代培养

参照Hauben等<sup>[8]</sup>的方法培养诱导SD大鼠胫骨骨髓来源的DCs,传代2次后收集备用。

### 1.2 NSPCs原代培养

NSPCs来源于普通SD新生大鼠(1~3d)全脑,参照Mistry等<sup>[9]</sup>的培养方法,传代培养1次后收集上清,制备细胞悬液备用。

### 1.3 NSPCs与DCs共培养

共分4个实验组,每组重复实验6次。①空白对照组(NSPCs组):培养第2代NSPCs离心收集消化后,更换培养液。取2ml NSPCs( $1 \times 10^5$ /ml)滴加在12孔培养板上(孔内盖玻片用0.1%多聚赖氨酸包被),第3天半量换液。②实验组(NSPCs/DCs组):收集纯化培养7d后的DCs,使细胞浓度维持在 $1 \times 10^6$ /ml,取1ml滴加在12孔培养板Transwell共培养体系中(上室)(Millipore公司,德国),下室滴加1ml  $1 \times 10^5$ /ml第2代NSPCs(上下室接种密度比为10:1)进行分隔培养。③NSPCs+NT-3组:方法同NSPCs组,在培养孔中加入1 $\mu$ g NT-3。

④NSPCs/DCs+抗-NT-3组:方法同NSPCs/DCs组,在培养孔中加入200 $\mu$ g抗-NT-3(兔抗大鼠多克隆抗体Abcam,UK)。共培养3d后换液,第7天倒置显微镜下观察NSPCs形态,收集细胞备用。⑤DCs组:培养第2代DCs,收集离心,取2ml DCs( $1 \times 10^6$ /ml),滴加在12孔培养板。

### 1.4 ELISA检测各组神经营养因子浓度

共培养24、48、72h后,分别检测5组培养液上清营养因子NT-3浓度。取上清及不同浓度标准品(100 $\mu$ l/孔)滴入相应孔内,37 $^{\circ}$ C孵育箱孵90min;洗板5次,加入生物素化抗体工作液(100 $\mu$ l/孔),37 $^{\circ}$ C孵育箱孵60min,洗板4次;加入酶结合物工作液(100 $\mu$ l/孔),避光37 $^{\circ}$ C孵育箱孵育20min;加入终止液(100 $\mu$ l/孔)混匀,用酶标仪(主波长450nm,辅助波长630nm)测量光密度值 $[D(450)]$ 。

### 1.5 荧光免疫细胞化学技术

取共培养7d后NSPCs盖玻片,4%多聚甲醛固定15~30min,PBS洗3次,0.3% Triton X-100细胞打孔15min,PBS洗3次,加1%BSA牛血清白蛋白封闭15~30min,加入一抗:兔抗 $\beta$ -微管蛋白3( $\beta$ -tubulin-III)多克隆(1:200,Abcam Cambridge,UK)/鸡抗GFAP多克隆(1:200,Abcam Cambridge,UK),4 $^{\circ}$ C过夜,37 $^{\circ}$ C复温2h,PBS洗3次,加二抗:羊抗兔Fitic(1:300,碧云天,江苏)/小鼠抗鸡CY3(1:300,碧云天,江苏),37 $^{\circ}$ C复温2h,PBS洗3次,Hoechst(碧云天,江苏)避光染核3~5min,PBS洗3次后,中性树胶封片。在荧光显微镜下(Leica,德国)每个实验组随机读取4~6个视野,计算GFAP、 $\beta$ -tubulin-III阳性细胞,采用Image Pro Plus 6.0图像处理软件分析荧光表达面积(荧光值范围70~250)。

### 1.6 Western blot检测

收集各组NSPCs细胞后,细胞裂解液(碧云天,江苏)提取总蛋白,考马斯亮蓝比色法测定蛋白含量,上样量为80 $\mu$ g,蛋白进行10%SDS-PAGE凝胶电泳,PVDF转膜,5%脱脂奶粉室温封闭2h;加入一抗:兔抗p-ERK1/2(1:2000,Santa Cruz公司),GAPDH(1:1000,北京中杉金桥),4 $^{\circ}$ C过夜,二抗为辣根过氧化物酶标记山羊抗兔。ECLipse发光剂3~5min曝光、显影、定影。数码成像分析系统进行结果分析。

### 1.7 统计学分析

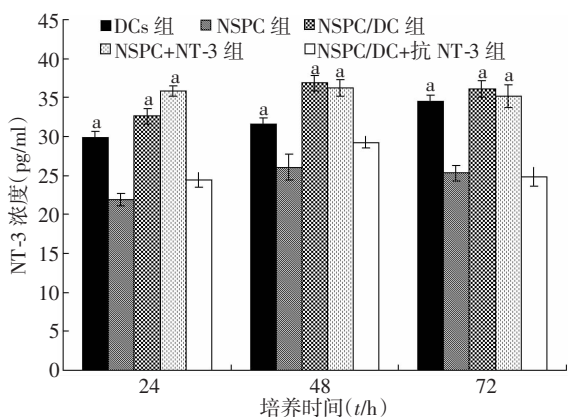
数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 13.0统计软件,ELISA结果采用多因素重复测量方差分析,荧光免疫细胞化学结果采用单因素方差分析。

## 2 结果

### 2.1 ELISA检测

ELISA检测各实验组24、48、72h培养上清液中神经营养

因子 NT-3 浓度显示; NSPCs 组、NSPCs/DCs + 抗-NT-3 组 3 个时间点 NT-3 浓度没有显著差异 ( $P > 0.05$ )。NSPCs/DCs 组 NT-3 浓度 24 h 开始上升, 48 h 后开始逐步下降。DCs 组上清 NT-3 含量持续增高。DCs 组、NSPCs/DCs 组 3 个时间点 NT-3 的浓度较 NSPCs 组、NSPCs/DCs + 抗-NT-3 组相应时间点显著增高 ( $P < 0.05$ ), NSPCs + NT-3 组 NT-3 的浓度维持在  $(35.25 \pm 0.82)$  pg/ml。见图 1。



a:  $P < 0.05$ , 与 NSPCs 组及 NSPCs/DCs + 抗-NT-3 组比较

图 1 共培养 24、48、72 h 后各组培养上清液中 NT-3 的表达

## 2.2 免疫细胞化学检测

分化培养 7 d 后, 倒置荧光显微镜下每孔随机选 5 个视野中的细胞总数进行计算统计。激光共聚焦显微镜观察到 NSPCs/DCs 组、NSPCs + NT-3 组  $\beta$ -tubulin-III 阳性细胞轴突明显且相互交错(图 2), NSPCs 组、NSPCs/DCs + 抗-NT-3 组  $\beta$ -tubulin-III 阳性细胞少且未见轴突生长。NSPCs/DCs 组、NSPCs + NT-3 组神经元荧光值比其他两组显著增高 ( $P < 0.05$ , 表 1)。NSPCs 组、NSPCs/DCs + 抗-NT-3 组星形胶质细胞核小, 胞突分支多, 相互交错(图 3)。NSPCs 组、NSPCs/DCs + 抗-NT-3 组星形胶质细胞荧光值较 NSPCs/DCs 组、NSPCs + NT-3 组显著增高 ( $P < 0.05$ , 表 1)。

表 1 各组共培养后 NSPCs 分化为神经元和星形胶质细胞荧光值 (AU,  $n = 6, \bar{x} \pm s$ )

| 组别                   | 神经元细胞                         | 星形胶质细胞                        |
|----------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| NSPCs 组              | 23.61 $\pm$ 2.83              | 89.86 $\pm$ 3.24              |
| NSPCs/DCs 组          | 73.58 $\pm$ 3.08 <sup>a</sup> | 32.65 $\pm$ 4.36 <sup>a</sup> |
| NSPCs + NT-3 组       | 68.96 $\pm$ 4.78 <sup>a</sup> | 25.37 $\pm$ 4.81 <sup>a</sup> |
| NSPCs/DCs + 抗-NT-3 组 | 12.04 $\pm$ 3.57              | 91.45 $\pm$ 5.85              |

a:  $P < 0.05$ , 与 NSPCs 及 NSPCs/DCs + 抗-NT-3 组比较

## 2.3 Western blot 检测

共培养 72 h 后, NSPCs/DCs 组、NSPCs + NT-3 组 NSPCs 中 p-ERK1/2 蛋白表达量明显高于另 2 组 ( $P < 0.05$ ), 磷酸化的细胞外调节蛋白激酶 (p-ERK1/2) 的表达量 (条带灰度值) 与内参 (GAPDH) 表达量的比值之间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 表明在共培养体系中随着 NT-3 量的增加, 其下游信号通路蛋白激酶 p-ERK1/2 在 NSPCs 的表达也升高, 中和培养体系的 NT-3 (NSPCs/DCs + 抗-NT-3 组) 后, p-ERK1/2 磷酸化水平明显下调 (图 4)。

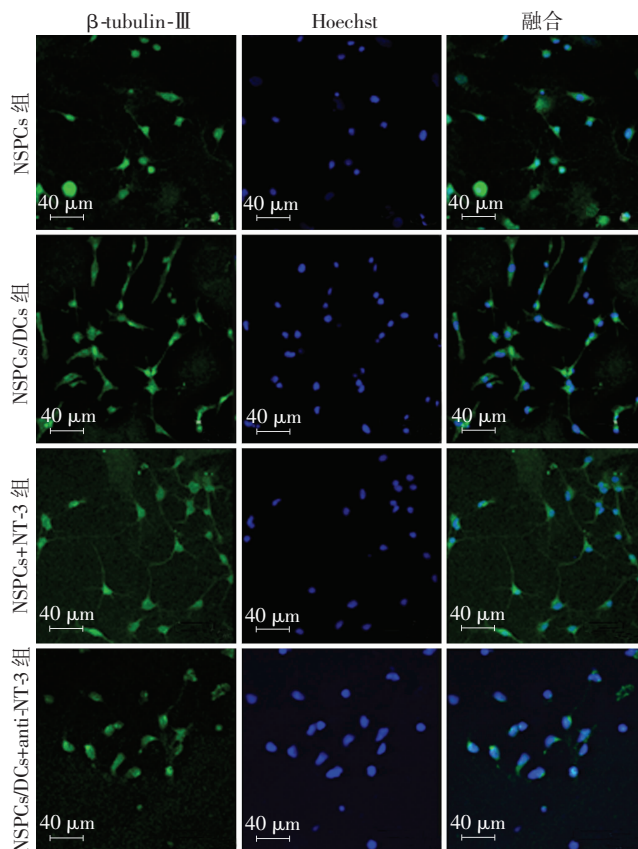


图 2 诱导分化 7 d 后激光共聚焦显微镜观察各组神经元分化情况

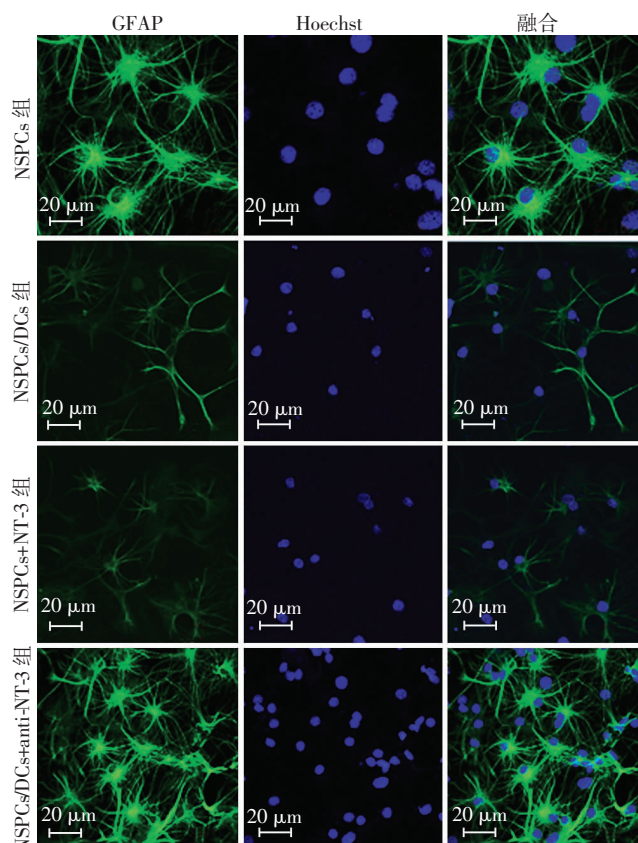
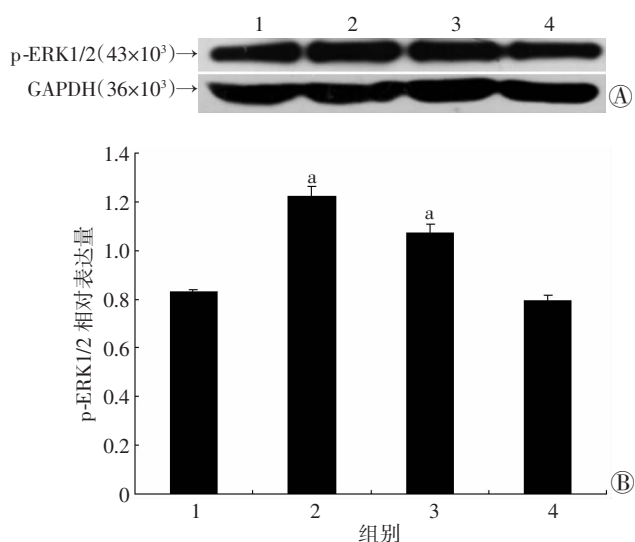


图 3 诱导分化 7 d 后激光共聚焦显微镜观察各组星形胶质细胞分化情况



1: NSPCs 组; 2: NSPCs/DCs 组; 3: NSPCs + NT-3 组; 4: NSPCs/DCs + 抗-NT-3 组

A: Western blot 检测; B: 半定量分析 a:  $P < 0.05$ , 与 NSPCs 及 NSPCs/DCs + 抗-NT-3 组比较

图4 Western blot 检测各组 NSPCs 的磷酸化 ERK1/2 的表达

### 3 讨论

神经营养因子是如今已知调控中枢神经系统神经元生物学最著名的生长因子,还调控部分祖细胞的发育<sup>[10]</sup>。研究<sup>[11-13]</sup>证明神经营养因子在移植的神经干细胞的存活、增殖和向神经元分化过程中发挥重要作用。NSPCs 通过自分泌或旁分泌 BDNF/NT-3 来激活其特异性受体 TrkB/TrkC 促进自身的存活和分化<sup>[3]</sup>。但有研究发现神经干细胞移植到非神经发生区域的神经系统内将难以存活。体外实验<sup>[13-14]</sup>发现大部分体外培养的神经干细胞优先分化为神经胶质细胞。仅靠自身分泌的神经营养因子 NSPCs 难于维持自身的存活、增殖及向神经元分化。Caldwell 等<sup>[15-17]</sup>通过添加一些生长因子来诱导神经干细胞存活、增殖和分化为神经元,研究取得了一定的成果,发现在祖细胞分化期间,结合生长因子(EGF 和 FGF-2)使用,可以使神经元分化增加 8% ~ 60%, NT-3、NT-4 和血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)在促进神经元存活上最有效。有学者发现未成熟 DCs 能自身分泌 NGF、BDNF、NT-3 等多种神经营养因子,同时作为抗原提呈细胞,在吞噬抗原活化成熟的过程中,能进一步释放神经营养因子<sup>[18]</sup>。本课题组前期将 DCs 和 NSPCs 按照不同浓度比共培养,发现当 DCs 与 NSPCs 按 10:1 共培养时,NSPCs 增殖效率最高。本研究将 DCs 和 NSPCs 按 10:1 共培养,分别在 24、48、72 h 检测培养基上清中神经营养因子的分泌情况,发现共培养 24 h 后 NSPCs/DCs 组 NT-3 浓度开始增高,48 h 达到

高峰,证实 NSPCs 与 DCs 共培养后有助于 NT-3 的分泌。这一生物效应可能是共培养后 DCs 自身分泌 NT-3 促进 NSPCs 分泌内源性神经营养因子,也可能是两种细胞相互作用的结果,有待进一步研究。

课题组前期实验<sup>[6]</sup>已证实 DCs 体外能够促进 NSPCs 的增殖,为了检测共培养体系下 DCs 对 NSPCs 的促分化作用,我们进行荧光免疫细胞化学染色,结果发现: NSPCs 组、NSPCs/DCs + 抗-NT-3 组  $\beta$ -tubulin-III 阳性细胞减少、细胞核小、轴突短; NSPCs + NT-3 组、NSPCs/DCs 组  $\beta$ -tubulin-III 阳性细胞数量多、细胞核大、轴突生长良好,相互交错。而 NSPCs 组、NSPCs/DCs + 抗-NT-3 组 GFAP 阳性细胞数量多,体积大,胶质原纤维少,细胞核染色浅,胞突分支多而短曲; NSPCs + NT-3 组、NSPCs/DCs 组 GFAP 阳性细胞数量少,体积小。证明培养上清中富含 NT-3 的 NSPCs + NT-3 组、NSPCs/DCs 组,有利于 NSPCs 向神经元分化和轴突的形成,同时抑制星形胶质细胞的产生。而缺乏 NT-3 的 NSPCs 组、NSPCs/DCs + 抗-NT-3 组的结果正好相反,减少神经元生成减少,且神经元轴突少、短。NT-3 不仅有利于 NSPCs 向神经元分化和轴突生成,同时抑制神经胶质细胞生成。与已有的研究<sup>[4,19-20,24-25]</sup>结果一致。由此推测,NSPCs 与 DCs 共培养时通过过表达 NT-3,促进 NSPCs 分化为神经元,同时抑制星形胶质细胞的形成。

研究<sup>[3]</sup>表明新分离的 NSPCs 表达膜受体蛋白 Trk 是对其自身分泌神经营养因子的一种反应。本课题组前期试验<sup>[6]</sup>发现 NSPCs 与 DCs 共培养后,NSPCs 表面特异性受体蛋白 TrkC 的含量较对照组显著增高。细胞外调节蛋白激酶 1/2 (extracellular regulated protein kinases, ERK1/2) 是广泛存在于真核细胞内一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,属于丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinase, MAPK) 的家族成员。从信号转导角度分析,活化后的 ERK1/2 (p-ERK1/2) 作用于细胞质或者细胞核内底物蛋白,引起特异性蛋白表达或活化,调控细胞的增殖、分化、凋亡。研究<sup>[21-23]</sup>表明 Shp2-MEK-ERK-C/EBP 信号通路促进神经发生的同时,抑制星形胶质细胞的形成。Western blot 检测显示 NSPCs/DCs 组、NSPCs + NT-3 组 p-ERK1/2 蛋白表达量明显高于 NSPCs 组、NSPCs/DCs + 抗-NT-3 组 ( $P < 0.05$ , 图 3)。说明共培养体系中随着 NT-3 量的增加,其下游信号通路激酶 p-ERK1/2 在 NSPCs 的表达逐渐升高,从而进一步提示 NT-3 可能在 DCs 诱导 NSPCs 向神经元分化和抑制星形胶质细胞生成过程中起重要作用。这一实验结果与荧光免疫细胞化学结果相一致。由此可推测 NSPCs 与 DCs 共培养通过 NT-3 及特异性受体蛋白 TrkC 激活下游 MEK-ERK 信

号通路促进 NSPC 向神经元分化,并抑制星形胶质细胞形成。

本研究通过建立共培养体系观察 DCs 对 NSPCs 分化的影响,结果提示 DCs 与 NSPCs 共培养时 NT-3 表达量增高,通过 NT-3 激活 MEK-ERK 信号通路诱导 NSPCs 向神经元分化。而对于共培养体系下其他神经营养因子的作用和其他信号通路,如 AKT-IP3 信号通路对 NSPCs 的存活、增殖、分化的作用还有待进一步研究。

#### 参考文献:

[1] Ghosh A, Greenberg M E. Distinct roles for bFGF and NT-3 in the regulation of cortical neurogenesis[J]. *Neuron*, 1995, 15(1): 89-103.

[2] Lukaszewicz A, Savatier P, Cortay V, et al. Contrasting effects of basic fibroblast growth factor and neurotrophin 3 on cell cycle kinetics of mouse cortical stem cells[J]. *J Neurosci*, 2002, 22(15): 6610-6622.

[3] Barnabe-Heider F, Miller F D. Endogenously produced neurotrophins regulate survival and differentiation of cortical progenitors via distinct signaling pathways[J]. *J Neurosci*, 2003, 23(12): 5149-5160.

[4] Lu H, Li M, Song T, et al. Retrovirus delivered neurotrophin-3 promotes survival, proliferation and neuronal differentiation of human fetal neural stem cells *in vitro*[J]. *Brain Res Bull*, 2008, 77(4): 158-164.

[5] Liu M, Zhao J, Liang H, et al. Vaccination with dendritic cells pulsed with homogenate protein of spinal cord promotes functional recovery from spinal cord injury in mice[J]. *Spinal Cord*, 2009, 47(5): 360-366.

[6] 王永飞, 赵建华, 晁瑞, 等. DCs 和 NSPCs 共培养促进 NSPCs 增殖及其机制的初步研究[J]. *第三军医大学学报*, 2012, 34(5): 373-377.

[7] 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.

[8] Hauben E, Gothif A, Cohen A, et al. Vaccination with dendritic cells pulsed with peptides of myelin basic protein promotes functional recovery from spinal cord injury [J]. *J Neurosci*, 2003, 23(25): 8808-8819.

[9] Mistry S K, Keefer E W, Cunningham B A, et al. Cultured rat hippocampal neural progenitors generate spontaneously active neural networks[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99(3): 1621-1626.

[10] Huang E J, Reichardt L F. Trk receptors: roles in neuronal signal transduction[J]. *Annu Rev Biochem*, 2003, 72: 609-642.

[11] Lin S, Wang Y, Zhang C, et al. Modification of the neurotrophin-3 gene promotes cholinergic neuronal differentiation and survival of neural stem cells derived from rat embryonic spinal cord *in vitro* and *in vivo*[J]. *J Int Med Res*, 2012, 40(4): 1449-1458.

[12] Sadan O, Melamed E, Offen D. Intraatrial transplantation of neurotrophic factor-secreting human mesenchymal stem cells improves motor

function and extends survival in R6/2 transgenic mouse model for Huntington's disease[J]. *PLoS Curr*, 2012, 4: e4f7f6dc013d4e.

[13] di-Somma P G, Kalbermatten D F, Raffoul W, et al. Extracellular matrix molecules enhance the neurotrophic effect of Schwann cell-like differentiated adipose-derived stem cells and increase cell survival under stress conditions[J]. *Tissue Eng Part A*, 2012, 16(1): 1-43.

[14] Shindo T, Matsumoto Y, Wang Q, et al. Differences in the neuronal stem cells survival, neuronal differentiation and neurological improvement after transplantation of neural stem cells between mild and severe experimental traumatic brain injury[J]. *J Med Invest*, 2006, 53(1/2): 42-51.

[15] Caldwell M A, He X, Wilkie N, et al. Growth factors regulate the survival and fate of cells derived from human neurospheres[J]. *Nat Biotechnol*, 2001, 19(5): 475-479.

[16] Gao J, Prough D S, McAdoo D J, et al. Transplantation of primed human fetal neural stem cells improves cognitive function in rats after traumatic brain injury[J]. *Exp Neurol*, 2006, 201(2): 281-292.

[17] 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.

[18] Ohta S, Ueda Y, Yaguchi M, et al. Isolation and characterization of dendritic cells from common marmosets for preclinical cell therapy studies[J]. *Immunology*, 2008, 123(4): 566-574.

[19] Guo J S, Zeng Y S, Li H B, et al. Cotransplant of neural stem cells and NT-3 gene modified Schwann cells promote the recovery of transected spinal cord injury[J]. *Spinal Cord*, 2007, 45(1): 15-24.

[20] Pyle A D, Lock L F, Donovan P J. Neurotrophins mediate human embryonic stem cell survival[J]. *Nat Biotechnol*, 2006, 24(3): 344-350.

[21] Menard C, Hein P, Paquin A, et al. An essential role for a MEK-C/EBP pathway during growth factor-regulated cortical neurogenesis[J]. *Neuron*, 2002, 36(4): 597-610.

[22] Paquin A, Barnabe-Heider F, Kageyama R, et al. CCAAT/enhancer-binding protein phosphorylation biases cortical precursors to generate neurons rather than astrocytes *in vivo*[J]. *J Neurosci*, 2005, 25(46): 10747-10758.

[23] Gauthier A S, Furstoss O, Araki T, et al. Control of CNS cell-fate decisions by SHP-2 and its dysregulation in Noonan syndrome[J]. *Neuron*, 2007, 54(2): 245-262.

[24] Bibel M, Barde Y A. Neurotrophins: key regulators of cell fate and cell shape in the vertebrate nervous system[J]. *Genes Dev*, 2000, 14(23): 2919-2937.

[25] Blesch A, Lu P, Tuszynski M H. Neurotrophic factors, gene therapy, and neural stem cells for spinal cord repair[J]. *Brain Res Bull*, 2002, 57(6): 833-838.

(收稿:2012-08-13;修回:2012-09-24)

(编辑 龙亮)

## 我刊外网网址变更通知

由于学校网站调整,我刊远程稿件处理系统外网网址变更为 <http://aammt.tmmu.edu.cn>,学校内网网址不变。请用新的网址登录本刊远程稿件处理系统进行投稿、审稿、修稿和查询稿件处理进程等。如有问题,请及时联系本刊编辑部(023-68752187)。由此给大家带来的不便敬请谅解!