

# RhoA/ROCK 信号通路对胚胎干细胞神经分化的影响

黄璟, 陈强, 伦志刚, 金晶, 李爱民

徐州医科大学附属连云港医院神经外科, 江苏 连云港 222002

**【摘要】** RhoA是RhoGTP酶家族成员之一, ROCK是RhoA的下游效应分子, ROCK影响细胞骨架及细胞核内的转录, 这一系列反应构成RhoA/ROCK信号通路。胚胎干细胞是具有自我更新和分化为各种细胞的潜能的原始细胞, RhoA/ROCK信号通路在胚胎干细胞向神经分化中发挥重要作用。本文对Rho/ROCK对胚胎干细胞分化过程的影响进行论述, 并对其今后的研究方向进行了展望、总结。

**【关键词】** RhoA; ROCK; RhoA/ROCK信号通路; 胚胎干细胞; 神经分化

**【中图分类号】** R329.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2020)10—1320—04

**Effect of RhoA/ROCK signaling pathway on neural differentiation of embryonic stem cells.** HUANG Jing, CHEN Qiang, LUN Zhi-gang, JIN Jing, LI Ai-min. Department of Neurosurgery, Xuzhou Medical University Affiliated Hospital of Lianyungang, Lianyungang 222002, Jiangsu, CHINA

**【Abstract】** RhoA is a member of the Rho GTPase family. ROCK is a downstream effector molecule of RhoA. ROCK affects cytoskeleton and transcription in the nucleus. This series of reactions constitute the RhoA/ROCK signaling pathway. Embryonic stem cells are primitive cells with the potential for self-renewal and differentiation into various cells. The RhoA/ROCK signaling pathway plays an important role in neural differentiation of embryonic stem cells. This article discusses the influence of Rho/ROCK on the differentiation process of embryonic stem cells, and prospects and summarizes their future research direction.

**【Key words】** RhoA; ROCK; Rho/ROCK signaling pathway; Embryonic stem cells; Neural differentiation

干细胞具有自我更新和分化潜能, 可以分化为不同类型的细胞。由于干细胞在再生医学上具有重要的临床应用价值, 所以近年来, 临床对干细胞的研究逐渐深入, 尤其是干细胞分化方面的研究越来越被研究者重视。Rho/ROCK在胚胎干细胞分化过程中有重

要作用, 本文对RhoA/ROCK信号通路对胚胎干细胞分化的影响进行综述, 为胚胎干细胞神经分化的进一步研究提供参考。

## 1 RhoA/ROCK 信号通路

### 1.1 RhoA 的结构及生物学特定 RhoA 是

基金项目: 江苏省连云港市第一人民医院青年英才基金(编号: QN1702)

通讯作者: 李爱民, 副教授, 主任医师, E-mail: 1127595015@qq.com

\*\*\*\*\*

2013, 30(4): 483-495.

- [29] MARDILOVICH K, GABRIELSEN M, KALNA G, et al. LIM kinase inhibitors disrupt mitotic microtubule organization and impair tumor cell proliferation [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(36): 38469-38486.
- [30] KATERINA M, MADS G, LYNN M, et al. Elevated LIM kinase 1 in nonmetastatic prostate cancer reflects its role in facilitating androgen receptor nuclear translocation [J]. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14(1): 246-258.
- [31] CHLOÉ P, VÉRONIQUE J, JULIEN V, et al. LIM kinase inhibitor pyr1 reduces the growth and metastatic load of breast cancers [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(12): 3541-3552.
- [32] PRUDENT R, VASSAL-STERMANN E, NGUYEN CH, et al. Pharmacological inhibition of LIM kinase stabilizes microtubules and inhibits neoplastic growth [J]. *Cancer Res*, 2012, 72(17): 4429-4439.
- [33] KAZUMASA O, KAORI S, MAMI N, et al. Damnacanthal, an effective inhibitor of LIM-kinase, inhibits cell migration and invasion [J]. *Mol Biol Cell*, 2014, 25(6): 828-840.

- [34] SARI-HASSOUN M, CLEMENT MJ, HAMD I, et al. Cucurbitacin I elicits the formation of actin/phospho-myosin II co-aggregates by stimulation of the RhoA/ROCK pathway and inhibition of LIM-kinase [J]. *Biochem Pharmacol*, 2016, 102: 45-63.
- [35] HUAPEI S, YU W, LI L, et al. Cucurbitacin E Inhibits Proliferation and Migration of Intestinal Epithelial Cells via Activating Cofilin [J]. *Front Physiol*, 2018, 9(undefined): 1090.
- [36] 徐炜, 陈清勇, 陈方园, 等. LIMK-1/cofilin在姜黄素抑制人肺癌细胞增殖和转移中的作用[J]. *实用肿瘤杂志*, 2014, 29(1): 36-40.
- [37] FEI Y, JIA G, DEEMAH D, et al. Discovery of Novel small-molecule inhibitors of lim domain kinase for inhibiting HIV-1 [J]. *J Virol*, 2017, 91(13). pii: e02418-16.
- [38] HARRISON BA, ALMSTEAD ZY, BURGOON H, et al. Discovery and development of LX7101, a dual LIM-Kinase and ROCK inhibitor for the treatment of glaucoma [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2014, 6(1): 84-88.

(收稿日期: 2019-12-23)

RhoGTP 酶家族成员之一, RhoA 起着分子开关的作用, 在 GTP 结合的活性构象和 GTP 结合的非活性构象之间循环。鸟嘌呤核苷酸交换因子(GEFs)、GTPase 激活蛋白(GAP)和鸟嘌呤核苷酸解离抑制剂(GDIs)这三种蛋白质相互作用并调节 RhoA 与 GDP 和 GTP 结合的转换<sup>[1]</sup>。在激活期, GEFs 促进结合核苷酸的交换, 有利于 Rho 蛋白与 GTP 结合形式的生成。在非激活期, GAPs 刺激 Rho 蛋白的 GTP 酶活性, 从而将 GTP 转化为 GDP, Rho 与 GDP 结合, Rho 定位在胞浆中。GDIs 能抑制 Rho-GDP 与 Rho-GTP 之间的转化, 有活性的 RhoA-GTP 复合体位于细胞膜, 而无活性的 RhoAGDP-GDI 复合体存在于细胞内液, 这三种蛋白质相互作用并调节两种形式的 Rho 的转化<sup>[2]</sup>。RhoA 在调节细胞骨架蛋白、细胞形态和迁移以及细胞的各种增殖和转录活性等方面发挥多种功能。c-MYC、HIF1 $\alpha$ /2 $\alpha$ 、Stat6、NF- $\kappa$ B 和一些微小 RNA 等一些转录因子能调节 RhoA 的表达<sup>[3]</sup>。RhoA 调节细胞骨架动力学和基因表达, 两者都控制着干细胞的命运<sup>[4]</sup>。

**1.2 ROCK 的结构和功能** ROCK 属于丝氨酸/苏氨酸激酶家族, 是 RhoA 的关键下游效应器。ROCK 有 ROCK1 (ROCK $\beta$ )、ROCK2 (ROCK $\alpha$ ) 两种亚型, 他们功能各不相同。ROCK 由 N 端激酶结构域、Rho 蛋白结合结构域(rho-binding domain, RBD)、PH 结构域(pleckstrin-homology domain)和 C 端的半胱氨酸富集结构域(cysteine-rich domain, CRD)组成<sup>[5]</sup>。ROCK 与其他肌动蛋白细胞骨架激酶, 如肌强直性肌营养不良激酶(DMPK)、肌强直性肌营养不良相关 cdc42 结合激酶(MRCK)和 citron 激酶具有 45%~50% 的同源性。ROCK1 和 ROCK2 在氨基酸序列上有 65% 的同源性, 在激酶结构域上有 92% 的同源性<sup>[6]</sup>。ROCK 通过大量下游靶蛋白的磷酸化来促进肌动蛋白-肌球蛋白介导的收缩力的产生。ROCK 使 LIM 激酶(LIM kinase, LIMK)磷酸化, 增加 LIMK 活性, 随后促进 cofilin 蛋白的磷酸化。ROCK 还直接磷酸化调节肌球蛋白轻链(MLC)和肌球蛋白轻链磷酸酶靶亚单位 1 (MYPT1)磷酸酶, 以抑制催化活性<sup>[7]</sup>。ROCK1 主要在循环炎症细胞中表达, 而 ROCK2 主要在血管平滑肌细胞中表达。在分布上, ROCK1 主要分布在肺、肝、脾、肾和睾丸, 而 ROCK2 主要分布在脑、肌肉和心脏<sup>[5]</sup>。ROCK 是肌动蛋白细胞骨架动力学的关键调控因子, 磷酸化多种下游靶点, 并影响许多对细胞收缩性、运动性、增殖和形态非常重要的细胞内过程, 并且 ROCK 是平滑肌收缩、应力纤维形成、微管动力学、中间纤维组装和局部黏附的主要调节因子。ROCK 可以通过影响细胞核内的转录机制来调节基因表达, ROCK 也控制炎症转录因子的表达, 包括 NF- $\kappa$ B、IRF4、IRF7。ROCK 介导的信号传导也可以促进细胞存活<sup>[8]</sup>。

## 2 ESCs 神经分化的相关因子

**2.1 细胞外因子** 细胞外因子骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)、Wnt/ $\beta$ -catenin 和白血病控制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)诱导的信号通路在鼠胚胎干细胞的命运决定中起重要作用<sup>[9]</sup>。BMP 属于转化生长因子(transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )家族成员, 它们与 I 型和 II 型受体组成的异四聚体受体复合物结合, 激活具有 Smad1/5/8 和 Smad4 作为关键效应分子的细胞内通路<sup>[10]</sup>。在鼠 ESCs 中, BMP 信号可以通过一系列下游靶点如 Id 和其他基因, 通过抑制分化来促进自我更新, BMP4 通过刺激双特异性蛋白磷酸酶 9 (dual specificity protein phosphatase 9, DUSP9)减弱细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)活性。ERK 已被证明是一种关键的 ESC 命运调节因子, 适当的 ERK 活性对于降低 ESC 的多能性和限制其增殖潜能具有重要意义, 较高的 ERK 活性可促进其分化, 而较低的 ERK 活性可限制其分化, 外源添加的 LIF 和自分泌的 FGF 信号都能激活 ERK, BMP 可以抵消 LIF 和 FGF 信号对 ERK 活性的刺激作用<sup>[11]</sup>。Noggin 可以通过干扰 BMP4 与 BMP 受体结合抑制 BMP4 信号, Noggin 抑制 BMP4 信号通过激活 pax6 和磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt/PKB)信号通路诱导神经分化<sup>[4]</sup>。在体外, LIF 通过激活信号转导子 STAT3 维持鼠 ES 细胞处于未分化期<sup>[12]</sup>。然而, 单靠 LIF 不足以维持鼠 ESC 的多能性, 外源性 BMP 和 LIF 信号协同维持小鼠 ESC 自我更新, 而内源性 ERK 活性启动分化。在无血清和无血清培养中, 来自 BMP 和 LIF 的外部信号共同维持小鼠 ESC 的自我更新, 而固有的 ERK 活性是促进 ESC 分化的主要触发因素<sup>[13]</sup>。Wnt/ $\beta$ -catenin 信号在 ESC 中有重要作用, 无 wnt 信号时, 细胞质中轴蛋白(axis inhibitor, Axin)的不同区域分别与大肠腺瘤息肉蛋白(adenomatous p01yposis coli, APC)、酪蛋白激酶 I (casein kinase 1, CK-1)、糖原合成激酶-3 $\beta$  (glycogen synthase kinase-3 $\beta$ , GSK-3 $\beta$ )结合形成多蛋白降解复合物。在 Wnt 配体存在下, Wnts 与异基因受体复合物的结合导致破坏复合物的抑制, 从而使  $\beta$ -catenin 在细胞质中积聚。 $\beta$ -catenin 转运到细胞核, 在细胞核中充当 T 细胞因子和淋巴增强因子家族 DNA 结合转录因子的转录辅助激活因子, 调控下游基因的表达<sup>[14]</sup>。Wnt3a 与  $\beta$ -catenin 结合 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号与 LIF 具有相似作用, 其可以上调 STAT3 维持鼠 ES 细胞处于未分化期, GSK-3 $\beta$  作为 wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路降解复合物的重要成员, 能够磷酸化  $\beta$ -catenin, 促进  $\beta$ -catenin 的降解, GSK-3 $\beta$  抑制剂能够维持 ESCs 的未分化表型, 维持多能性转录因子 oct3/4、Rex-1 和 Nanog 的表达<sup>[15]</sup>。因此, LIF、BMP 和



Wnt信号在胚胎干细胞分化过程中发挥重要作用。

**2.2 细胞内因子** 细胞内因子 Oct4、Sox2、Nanog 对胚胎干细胞的自我更新能力和多能性的维持有重要作用<sup>[10,16]</sup>。Sox2 属于 Sox 家族成员之一,是控制 ESC 神经分化的重要调控因子。Sox2 抑制神经祖细胞神经分化,并且 Sox2 对神经祖细胞自我更新的维持有重要作用,Sox2 在增殖的神经祖细胞中高度表达,并在有丝分裂后向神经元和胶质细胞分化时下调。神经祖细胞中 Sox2 信号的抑制阻碍其自我更新和增殖,促进其提前退出细胞周期和终末分化。因此,Sox2 的下调是神经分化的先决条件<sup>[17]</sup>。AP2、Pax6 和 PROX1 可以激活 Sox2 启动子<sup>[18]</sup>,在神经祖细胞中,Sox2 的表达受 PI3K/Akt 和 STAT3 信号调节<sup>[19-20]</sup>。Oct4 也被称为 POU5F1,属于 POU 家族的转录因子,是 ESCs 多能转录因子中的关键之一。Oct4 在 ESCs 中过表达与向原始内胚层和中胚层分化有关,而低于正常 Oct4 水平的 ESCs 仍处于基态,无法向外胚层分化。研究发现,ESCs 中 Oct4 的不同表达水平具有四种不同的作用:需要中等水平的 Oct4 表达来建立多能性,低水平的 Oct4 表达加强自我更新,中等水平的 Oct4 表达允许分化,高水平的 Oct4 表达诱导分化<sup>[21]</sup>。然而,Oct4 并不是唯一控制胚胎干细胞多能性的主基因,在无 LIF 时,Oct4 本身不足以阻止小鼠 ESC 细胞分化,提示还需要增加新的因子。Nanog 是促进 ESCs 自我更新的“核心转录因子”,其过表达能赋予 ESC 细胞不依赖 LIF 的自我更新能力,Nanog 的下调可诱导小鼠和人类 ESCs 向胚胎外系分化<sup>[22]</sup>。Nanog 可能是 LIF-STAT3 通路维持 ESCs 多能性的直接下游效应,高水平的 Nanog 可以绕过 LIF 维持小鼠 ES 细胞未分化状态的。

### 3 Rho/ROCK 信号通路在神经分化中的作用

神经突生长是分化神经前体细胞(NPCs)形态极化的第一步,RhoA 和 ROCK 是神经突生长的抑制物<sup>[23]</sup>,Syx 可以激活 RhoA,缺少 Syx 可以加速 ESC 的神经分化。BMP 4 和 Noggin 之间的平衡决定了是保持多能状态还是神经分化。抑制 RhoA 可以增加 Noggin 的产生,同时 Syx<sup>-/-</sup>的 ESC 细胞中 Noggin 的表达量是 Syx<sup>+/+</sup>ESC 细胞的两倍<sup>[4]</sup>,神经分化同时受 RA 的影响,Noggin 的产生需要 RA 受体 RAR $\gamma$ 。RhoA 的效应器 rhophilin-2 (Rhpn2)可以与 RAR $\gamma$  结合,敲低 Rhpn2 基因可以增加 Noggin 的表达。表明 Rhpn2 与 RAR $\gamma$  的结合抑制了 RAR $\gamma$  的转录,RhoA 对 RAR 有抑制作用。RA 可增加 pSmad1 的降解和 MAPK 通路的激活<sup>[24]</sup>,RhoA 可以通过激活 ROCK 使 Smad 磷酸化,在 Syx<sup>-/-</sup>的 ESCs 中有 pMAPK 表达增加并且 pSmad1 产生减少。Syx<sup>-/-</sup>细胞的低 RhoA 活性增加了 RA 向细胞核的穿梭,从而增加了 Noggin 的产生和神经祖细胞标志物 Pax6 和其他标志物的转录<sup>[25]</sup>。

ROCK 抑制剂可以促进骨髓间充质干细胞<sup>[26]</sup>、脂肪干细胞<sup>[27]</sup>、胚胎干细胞<sup>[28]</sup>分化为神经元。ROCK 抑制剂 Y-27632 可以促进 ESC 向神经元分化<sup>[29]</sup>。ERK 信号通路在 NGF 刺激 ESC 神经分化的信号转导中发挥重要的作用,Ras-Raf-MEK-ERK 信号通路是影响细胞增殖、存活和分化的重要信号转导系统<sup>[30]</sup>。ROCK 抑制剂可以通过激活 ERK 促进 ESC 向神经元分化,此外 PI3K 抑制剂和 PKC 抑制剂阻断 ROCK 抑制剂对 ESC 向神经分化的促进作用。已知 PI3K 与 Cdc42 和 Rac 的 GTP 结合形式结合。因此,PI3K 可能是 Cdc42/Rac 的下游效应体,PI3K 可与信号蛋白形成复合物,直接调控 Ras/Raf/ERK 信号通路各组分的活性。Rac 和 Raf 信号可能协同促进 MEK 和 ERK 的激活<sup>[29]</sup>。鸡背神经节(dorsal root ganglion, DRG)条件培养基可以促进 ESC 分化为神经元,此外 DRG 条件培养基中包含 BDNF。在一项研究中报道,联合 ROCK 抑制剂 Y-27632 以及 DRG-CM 对 ES 细胞的神经元分化的促进有协同作用<sup>[31]</sup>,抑制 ROCK 可通过 PI3K 和 ERK 信号促进 ESCs 神经分化。

### 4 展望

RhoA/ROCK 信号通路在胚胎干细胞分化中起重要作用,ESCs 多能性的维持和分化是由一个复杂的调控网络共同组成,其发挥作用的分子机制有待进一步研究。在胚胎干细胞神经分化过程中,RhoA/ROCK 信号通路与其他与胚胎干细胞的相关信号通路的作用,联合抑制 RhoA/ROCK 信号通路与激活一条或多条其他与胚胎干细胞神经分化相关信号通路能否提高胚胎干细胞神经分化效率,都是未来的研究方向。

#### 参考文献

- [1] 刘建兵,刘敏丽."RhoA/ROCK 信号通路相关疾病的研究进展"[J].海南医学院学报,2019,25(6):472-476.
- [2] ASLAN JE. Platelet Rho GTPase regulation in physiology and disease [J]. Platelets, 2019, 30(1): 17-22.
- [3] KIM JG, ISLAM R, CHO JY, et al. Regulation of RhoA GTPase and various transcription factors in the RhoA pathway [J]. J Cell Physiol, 2018, 233(9): 6381-6392.
- [4] YANG J, WU C, STEFANESCU I, et al. RhoA inhibits neural differentiation in murine stem cells through multiple mechanisms [J]. Sci Signal, 2016, 9(438): ra76.
- [5] GUAN R, XU X, CHEN M, et al. Advances in the studies of roles of Rho/Rho-kinase in diseases and the development of its inhibitors [J]. Eur J Med Chem, 2013, 70: 613-622.
- [6] ZHAO Z, MANSER E. Myotonic dystrophy kinase-related Cdc42-binding kinases (MRCK), the ROCK-like effectors of Cdc42 and Rac1 [J]. Small GTPases, 2015, 6(2): 81-88.
- [7] DOS SANTOS AA, LOPEZ-GRANERO C, FARINA M, et al. Oxidative stress, caspase-3 activation and cleavage of ROCK-1 play an essential role in MeHg-induced cell death in primary astroglial cells [J]. Food Chem Toxicol, 2018, 113: 328-336.
- [8] SLADOJEVIC N, YU B, LIAO JK. ROCK as a therapeutic target for

- ischemic stroke [J]. *Expert Rev Neurother*, 2017, 17(12): 1167-1177.
- [9] GUILD J, HAQUE A, GHEIBI P, et al. Embryonic stem cells cultured in microfluidic chambers take control of their fate by producing endogenous signals including LIF [J]. *Stem Cells*, 2016, 34(6): 1501-1512.
- [10] ZHANG H, DU L, ZHONG Y, et al. Transforming growth factor-beta stimulates Smad1/5 signaling in pulmonary artery smooth muscle cells and fibroblasts of the newborn mouse through ALK1 [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2017, 313(3): L615-L627.
- [11] LI Z, FEI T, ZHANG J, et al. BMP4 Signaling Acts via dual-specificity phosphatase 9 to control ERK activity in mouse embryonic stem cells [J]. *Cell Stem Cell*, 2012, 10(2): 171-182.
- [12] HE R, XHABIJA B, AL-QANBER B, et al. OCT4 supports extended LIF-independent self-renewal and maintenance of transcriptional and epigenetic networks in embryonic stem cells [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 16360.
- [13] YING QL, WRAY J, NICHOLS J, et al. The ground state of embryonic stem cell self-renewal [J]. *Nature*, 2008, 453(7194): 519-523.
- [14] XU Z, ROBITAILLE AM, BERNDT JD, et al. Wnt/beta-catenin signaling promotes self-renewal and inhibits the primed state transition in naive human embryonic stem cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(42): E6382-E6390.
- [15] KIM H, KIM S, SONG Y, et al. Dual function of wnt signaling during neuronal differentiation of mouse embryonic stem cells [J]. *Stem Cells Int*, 2015, 2015: 459301.
- [16] LI YQ. Networks of transcription factors for oct4 expression in mice [J]. *DNA Cell Biol*, 2017, 36(9): 725-736.
- [17] GRAHAM V, KHUDYAKOV J, ELLIS P, et al. SOX2 functions to maintain neural progenitor identity [J]. *Neuron*, 2003, 39(5): 749-765.
- [18] LENGELER J, BITTNER T, MUNSTER D, et al. Agonistic and antagonistic action of AP2, Msx2, Pax6, Prox1 AND Six3 in the regulation of Sox2 expression [J]. *Ophthalmic Res*, 2005, 37(6): 301-309.
- [19] MENG F, FORRESTER-GAUNTLETT B, TURNER P, et al. Signal inhibition reveals JAK/STAT3 pathway as critical for bovine inner cell mass development [J]. *Biol Reprod*, 2015, 93(6): 132.
- [20] PELTIER J, CONWAY A, KEUNG AJ, 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.
- [21] RIZZINO A, WUEBBEN EL. Sox2/Oct4: A delicately balanced partnership in pluripotent stem cells and embryogenesis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1859(6): 780-791.
- [22] PAN G, THOMSON JA. Nanog and transcriptional networks in embryonic stem cell pluripotency [J]. *Cell Res*, 2007, 17(1): 42-49.
- [23] DYBERG C, FRANSSON S, ANDONOVA T, et al. Rho-associated kinase is a therapeutic target in neuroblastoma [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(32): E6603-E6612.
- [24] SHENG N, XIE Z, WANG C, et al. Retinoic acid regulates bone morphogenic protein signal duration by promoting the degradation of phosphorylated Smad1 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(44): 18886-18891.
- [25] HOROWITZ A, YANG J, CAI J, et al. The versatility of RhoA activities in neural differentiation [J]. *Small GTPases*, 2019, 10(1): 26-32.
- [26] LIU X, ZHANG Z, YAN X, et al. The Rho kinase inhibitor Y-27632 facilitates the differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *J Mol Histol*, 2014, 45(6): 707-714.
- [27] XUE ZW, SHANG XM, XU H, et al. Rho-associated coiled kinase inhibitor Y-27632 promotes neuronal-like differentiation of adult human adipose tissue-derived stem cells [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2012, 125(18): 3332-3335.
- [28] RUNGSIWIWUT R, MANOLERTTHEWAN C, NUMCHAIKRIKA P, et al. The ROCK inhibitor Y-26732 enhances the survival and proliferation of human embryonic stem cell-derived neural progenitor cells upon dissociation [J]. *Cells Tissues Organs*, 2013, 198(2): 127-138.
- [29] KAMISHIBAHARA Y, KAWAGUCHI H, SHIMIZU N. Rho kinase inhibitor Y-27632 promotes neuronal differentiation in mouse embryonic stem cells via phosphatidylinositol 3-kinase [J]. *Neurosci Lett*, 2016, 615: 44-49.
- [30] SIM HJ, KIM JH, KOOK SH, et al. Glucose oxidase facilitates osteogenic differentiation and mineralization of embryonic stem cells through the activation of Nrf2 and ERK signal transduction pathways [J]. *Mol Cell Biochem*, 2016, 419(1-2): 157-163.
- [31] NAKAMURA M, KAMISHIBAHARA Y, KITAZAWA A, et al. Differentiation patterns of mouse embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells into neurons [J]. *Cytotechnology*, 2016, 68(3): 409-417.

(收稿日期:2019-12-18)