

文章编号 :1004-0374(2011)01-0032-05

## Sox2 在内耳发育中的作用

陈道森, 熊 鹰\*

(第三军医大学学员旅, 第三军医大学基础医学部神经生物学教研室, 重庆 400038)

**摘 要:** 转录因子 Sox2 是 Sox 基因家族的成员之一, 由于它在早期胚胎发生、神经分化和内耳发育等多种重要的发育事件中都起着关键的作用, 从而引起了越来越广泛的关注。哺乳动物的内耳主要由 6 个形态上和功能上不同的感觉区组成, 这些区域对声音和前庭信息的传导是必需的, 在这些区域的发育过程中, Sox2 基因是内耳细胞早期发育所必需的基因。该文就 Sox2 在内耳发育中的作用作一综述。

**关键词:** Sox2 基因; 内耳发育; 毛细胞; 支持细胞

**中图分类号:** R339.16 **文献标识码:** A

### Effect of transcription factor Sox2 on the development of inner ear

CHEN Dao-Sen, XIONG Ying\*

(Student Brigade, the Third Military Medical University, Neurobiology Department, College of Medicine, the Third Military Medical University, Chongqing400038, China)

**Abstract:** Transcription factor Sox2 is a member of Sox gene family. It gains general attention according to the key role in various important developmental events, such as early embryogenesis, neural differentiation, inner ear development and so on. The mammalian inner ear is composed of six functionally and morphologically distinct sensory regions, which are required for sound and vestibular information transduction. And Sox2 is required for the early development of inner ear cells in the develop process of the sensory regions. In this review, we focus on the Sox2 gene's role in inner ear development.

**Key words:** Sox2 gene; inner ear development; hair cell; supporting cell

近年来,随着哺乳动物性别决定基因 SRY(sex determining region Y)的发现,导致了一个新的基因家族——Sox(SRY related HMG box)基因家族的诞生<sup>[1]</sup>。Sox 基因家族编码一组进化上高度保守、结构上与 SRY 相关的转录因子,其包含的 HMG-box(high-mobility group box)与 SRY 的 HMG-box 具有高度(>50%)的氨基酸序列相似性。Sox 家族的成员在动物界中广泛分布,从果蝇、两栖类、鸟类、哺乳动物到人都有 Sox 基因的存在。随着对 Sox 基因越来越多的关注,对其功能有了进展性的了解,其家族成员之一的 Sox2(SRY-box 2)基因,因其在早期胚胎发生、神经发生等多种重要的发育事件中都起着关键作用,并且 Sox2 是一个维持干细胞多潜能性和内耳细胞早期发育所必需的基因,因而备受关

注。

内耳是哺乳动物的感觉器官,起着对声音和平衡信息传导的关键作用。具有完整结构与正常功能的内耳来源于听祖细胞的分化与增殖,以及分化后毛细胞和支持细胞的定型增殖。在这一过程中,Sox2 在时间上和空间上严格地表达与沉默起着关键性的作用,表达紊乱将导致内耳形态上和功能上的损伤,引起疾病的发生。

收稿日期:2010-05-31;修回日期:2010-06-30

基金项目:国家自然科学基金项目(30770681);重庆市自然科学基金项目(2008BB5020)

\* 通讯作者: E-mail: xiongying2001@163.com; Tel: 023-68752227

## 1 Sox2简介

Sox2 是 Sox 基因家族的成员之一,同 Sox1、Sox3 一起组成 B 族 Sox,位于人的 3 号染色体上。Sox2 基因包含一个外显子,编码由 317 个氨基酸组成的蛋白质,该蛋白包含 N-末端未知功能域、HMG 域和一个具有转录激活区的 C-末端。

作为一个高泳动度的转录因子,Sox2 与大多数转录因子不同的是,Sox2 蛋白在小沟处结合 DNA,并引起 DNA 双螺旋以一定的角度弯曲。通过 C-末端的转录激活区,调控基因的转录水平。然而 Sox2 基因的表达调节牵涉多个分离的组织特异性增强子,遗传互补结果和表达数据表明 *Lcc*(light coat and circling)和 *Ysb*(yellow submarine)都是 Sox2 的调控等位基因<sup>[2]</sup>。有研究表明,在 *lcc* 和 *ysb* 突变小鼠中 Sox2 不表达或表达下调,则与毛细胞分化密切相关的转录因子 *Atoh1* 也不表达,但在 *Atoh1* 不表达的细胞中却有 Sox2 的表达,说明 Sox2 处于 *Atoh1* 的上游区,*Atoh1* 的表达依赖于 Sox2,从而影响 *Atoh1* 表达调控的其他发育过程<sup>[2]</sup>。*Atoh1* 是 bHLH 转录因子家族的成员之一,SoxB 族成员通过抑制 bHLH 介导的神经元分化来维持神经元前体细胞处于一种前体状态。

## 2 内耳结构及功能特征

内耳包括前庭器官和耳蜗,由结构复杂的弯曲管道组成,又称迷路,有骨迷路及紧贴其内的膜迷路之分。

前庭是位居骨迷路中部略呈椭圆形的空腔,内藏膜迷路的椭圆囊和球囊,后部有五个小孔与三个半规管相通,前部有一大孔通连耳蜗。前庭的感受器为椭圆囊、球囊和壶腹脊,感受细胞均为机械感受毛细胞,可接受来自外界的躯体位置觉和平衡觉刺激,对于维持躯体平衡起着重要作用。

耳蜗与前庭相连,为一条围绕骨质轴的螺旋形骨质管道,轴向骨性蜗管中伸出一骨板,其外缘联结着基底膜,在基底上方有一斜行的前庭膜,因此,耳蜗被分成三个腔,上方为前庭阶,下方为鼓阶,中为蜗管,均有淋巴液充填。前庭阶与卵圆窗膜相接,鼓阶与蜗窗膜相连,前庭阶在耳蜗顶部与鼓阶相连通。螺旋器是重要的听觉感受器,位于基底膜上,由感觉细胞、非感觉细胞和初级感觉神经元组成,感觉细胞包括内毛细胞和外毛细胞,通过感觉神经元将听觉信号传入中枢<sup>[3,4]</sup>。

内耳功能的完整有赖于内耳的正常发育,以及后天的环境影响,其中内耳的发育又受到了多种因素的影响,包括体液因素(甲状腺素)、转录因子调节(Sox2、Notch 等)等。

## 3 Sox2对内耳发育的影响

成熟的内耳是由六个感觉区组成的复杂的膜迷路结构,包括前庭和耳蜗两部分,分别处理来自外界的平衡觉和听觉信息<sup>[5]</sup>。内耳源自于外胚层,由单一的外胚层细胞发育为内耳是一个复杂的过程,包括细胞命运的决定,细胞的分化、成熟,以及感觉细胞与神经元轴突联系的建立,功能的完善等过程。这些都受到各种因素的调节,包括环境因素、体液因素、遗传因素等<sup>[3,6]</sup>。到目前为止,已发现有 100 多个基因位点与听觉丧失有关,除了影响感觉传导通路形成的基因之外,还有一些调节胚胎期内耳发育的关键转录因子的基因,如 *Sox2*、*Atoh1*、*NGN1*、*BRN3C* 等<sup>[5]</sup>。研究已发现,转录因子 Sox2 在内耳耳蜗前感觉区的形成过程中发挥着关键作用<sup>[6,7]</sup>,并且 Sox2 持续性地标记前感觉和感觉上皮<sup>[8]</sup>。

### 3.1 内耳的发生

在小鼠耳蜗的发育中,首先是源自于外胚层靠近前脑的一群细胞下陷形成听板,进而形成听窝,在胚胎 8.5 d 时形成一个囊状的听泡,蜗管位于听泡最腹侧,于胚胎 11 d 时形成,几乎同时蜗管的最底层开始形成前感觉区,后者是螺旋器形成的基础。此后又发生了前感觉区细胞命运的决定,毛细胞、支持细胞、初级神经元、柱细胞等细胞的分化、成熟,毛细胞和感觉神经元突触联系的建立,以及出生后静纤毛束形成和功能成熟<sup>[3,6]</sup>。

在人类胚胎第 4 周初,菱脑两侧的表面外胚层在菱脑的诱导下增厚,形成听板,继而向下方向充质内下陷,形成听窝,最后听窝闭合并与表面外胚层分离,形成一个囊状的听泡。听泡初为梨形,以后向背腹方向延伸增大,形成背侧的前庭囊和腹侧的耳蜗囊,并在背端内侧长出一小囊管,为内淋巴管。前庭囊形成三个半规管和椭圆囊的上皮,耳蜗囊形成球囊和耳蜗管的上皮。这样,听泡及其周围的间充质便演变为内耳膜迷路。胚胎第 3 个月时,膜迷路周围的间充质分化成一个软骨囊,包绕膜迷路。约在胚胎第 5 个月时,软骨囊骨化成骨迷路。于是膜迷路完全被套在骨迷路内,两者间仅隔以狭窄的外淋巴间隙<sup>[6]</sup>。耳蜗发育受到众多因素的调

节,任一环节出现异常都将导致机体听觉的异常。因此,耳蜗发育过程中调节机制的研究对于预防和治疗先天性耳聋有一定意义。

### 3.2 Sox2在耳蜗形成过程中的表达

耳蜗多种独特的细胞类型是由多能听泡前体细胞的一小部分细胞分化而来,然后排列成高度精确的细胞斑。在发育过程中有细胞外信号和细胞内信号的相互作用,如Sox2和Eya1等细胞内因子介导细胞外Notch信号和Hedgehog信号分别对前感觉特异性的正、负效应影响。

Sox2在小鼠和鸡内耳发育中均有表达<sup>[9,10]</sup>,Kiernan等<sup>[2]</sup>研究发现,其与感觉上皮的形成有关。该基因的表达是内耳前感觉区形成所必需的,其表达的缺失将导致内耳感觉器官及相应非感觉器官发育的异常。另外,Sox2同Atoh1一起参与了前感觉区毛细胞分化过程。Neves等<sup>[11]</sup>研究发现,Sox2与鸡的感觉神经祖细胞的自我更新状态和前神经元特性相关,在其感觉神经元的神经发生区最先表达。随着内耳发育的成熟,将不再表达于分化后的神经元和毛细胞,但仍高表达于支持细胞<sup>[7,12]</sup>。Sox2在支持细胞中的维持对于支持细胞向毛细胞的转分化起着重要作用<sup>[13]</sup>。

#### 3.2.1 Sox2在前感觉区形成中的作用

在内耳的感觉上皮,Sox2最初表达于毛细胞和支持细胞的祖细胞<sup>[2,5,11]</sup>。Dabdoub等<sup>[7]</sup>通过实验,检测了Sox2在小鼠发育中耳蜗内的表达。在胚胎12.5d,Sox2表达于内侧半蜗管的细胞带,通过与前感觉区标记物p27kip1(一种细胞周期抑制分子)的表达对比,证实Sox2在前感觉区表达,这些细胞将会发育为螺旋器<sup>[7]</sup>。到胚胎16d,蜗管中Sox2的表达带与发育中的螺旋器的位置相关。此外,Sox2表达于位于临近发育中感觉上皮内侧缘的Kolliker器官的细胞中。Mak等<sup>[8]</sup>指出在小鼠内耳感觉上皮的发育过程中,Sox2最初表达于所有的前感觉区域,随后表达于支持细胞和毛细胞直到胚胎15.5d,之后在毛细胞中的表达逐渐减少。Kiernan等<sup>[14]</sup>发现,Notch信号通路中的Jagged1分子是内耳前感觉区确定所必需的。Dabdoub等<sup>[7]</sup>研究发现了Sox2在前感觉区的表达也受到了Notch信号通路的调节,尤其是该通路中的一个膜配体分子Jagged1,该分子的激活可以诱导Sox2分子的表达。

最近一项研究指出,Sox2和转录辅激活因子Eya1最初共同表达在听泡的腹侧壁,这一区域引起

前感觉谱系的发生。Eya1的缺失将导致感觉形成和前感觉标记物的表达完全丧失,然而,Eya1缺乏,虽然Sox2表达减少,但感觉形成和前感觉标记物的表达不完全不存在,表明Sox2可能通过与Eya1类似的途径调节前感觉特异性<sup>[15]</sup>。

Sox2分子表达量的多少会直接影响前感觉区形成情况,以及之后的毛细胞分化等,直接影响了感受器的发育。Sox2表达的调节牵涉多个分离的组织特异性增强子。*Lcc*和*Ysb*都是Sox2调控的等位基因,在Sox2中耳的特殊转录才被允许<sup>[2]</sup>。Kiernan等<sup>[2]</sup>证明,这两个等位基因小鼠突变体——*lcc*和*ysb*表现出听觉和平衡觉损伤。*lcc/lcc*突变小鼠完全不表达Sox2,未能建立前感觉区,毛细胞及支持细胞不能分化。*ysb/ysb*小鼠仅能表达少量的Sox2,呈现出异常发育,伴有分裂的和极少数的毛细胞。由于内耳畸形和神经上皮损伤,纯合子小鼠表现出严重的听力损伤(*ysb*小鼠)或者是全聋(*lcc*小鼠),也会有旋转行为。

#### 3.2.2 Sox2与Atoh1的相互作用

在螺旋器中,Sox2的表达在将来分化为毛细胞的细胞中下调,而在将来分化为支持细胞的细胞中仍然维持,这些支持细胞包括内指状细胞、内柱细胞、外柱细胞、外指细胞和汉森细胞<sup>[7]</sup>。

Sox2在毛细胞分化开始时表达下调,同时毛细胞分化开始的标记分子Atoh1在同一细胞中表达上调,这种现象被认为是Sox2与Atoh1之间相互拮抗作用的结果。人为使Sox2在细胞中过表达,导致了毛细胞形成减少,而Atoh1的过表达则使毛细胞生成数量增加,表明Sox2可能参与抑制毛细胞发育。Atoh1在表达Sox2的细胞中过表达则导致了Sox2表达下调和毛细胞形成,共表达Sox2和Atoh1的细胞仅有50%最终发育形成了毛细胞。这些结果都表明了Sox2和Atoh1之间的相互拮抗作用在毛细胞正常形成中发挥重要作用<sup>[4,7]</sup>。

有研究证实,Sox2对Atoh1表达的抑制是通过诱导位于其下游的Prox1表达而实现的。Prox1是一种表达于发育中感觉上皮细胞的同源结构域转录因子,该转录因子在耳蜗腹侧与Sox2的表达重叠,而在*lcc/lcc*小鼠胚胎15d时没有发现Prox1的表达,而在野生型小鼠,此时正是Prox1开始表达的时间。另外,在发育中感觉上皮细胞中转染*Sox2-nucEGFP*,转染后细胞中Prox1的表达均上调,而仅转染了*nucEGFP*的细胞则不表达Prox1,这些结果

都说明 Sox2 是 Prox1 表达所必需的, Sox2 是 Prox1 的上游分子。又通过分别向细胞中转染 *Prox1-nucEGFP*, 发现转染细胞几乎都出现了毛细胞分化障碍, 同时 Prox1 也可抑制 Atoh1 的表达。因此, Sox2 与 Atoh1 在耳蜗毛细胞分化时的相互拮抗作用至少部分是通过 Prox1 实现的。

Sox2 与 Atoh1 在前感觉区细胞中的相对含量决定了发育为毛细胞的细胞数量的多少, 以及毛细胞的性质。当 Sox2/Atoh1 比值增加时, 较多的 Atoh1 被 Sox2 抑制, 毛细胞形成的数量减少。较低水平的 Sox2 将导致早熟的毛细胞分化和过多内毛细胞产生<sup>[7]</sup>。过多或过少的毛细胞形成都将导致听觉感受器功能的异常。

### 3.3 Sox2 对前庭发育的影响

前庭和耳蜗虽然所执行的功能不同, 但是它们却拥有相同的基本细胞组成: 感觉毛细胞和相应的支持细胞。有研究表明毛细胞和支持细胞都源自于相同的前体细胞。但前庭处前庭前体细胞是否同耳蜗中前体细胞一样都来自于前感觉区还不是很清楚, 但是从 Kiernan 等的研究中可以看到, 由于 Sox2 在胚胎早期内耳的六个感觉区均表达, 前庭感觉器官的形成也受到了 Sox2 表达的影响。在 *lcc/lcc* 小鼠, 所有 3 个感觉脊的结构基础壶腹缺失, 半规管呈现出不发育, 球囊和椭圆囊也非常小。对于内耳中表达低水平 Sox2 的 *ysb* 小鼠, 其前外壶腹缺失, 各半规管截短, 椭圆囊内几乎没有毛细胞<sup>[2]</sup>。

Sox2 在耳蜗发育中的缺乏或表达减少等异常表达出现, 则会严重影响耳蜗以及整个内耳的发育。当 Sox2 缺失时, 将导致毛细胞、支持细胞的完全缺失, 导致内耳形成障碍, 听觉丧失和平衡觉障碍的发生。

### 3.4 Sox2 对耳蜗神经元形成的影响

Sox2 在神经发生过程中发挥着作用。在人类, Sox2 的突变将引起感觉神经性耳聋。并且, 通过对小鼠进行的功能缺失实验显示 Sox2 对耳蜗前感觉形成是必需的。

在耳蜗中, 螺旋神经节神经元在听觉传导中起着关键性的作用, 将内耳机械感受毛细胞产生的声音信号传递给脑干的蜗神经核, 从而使外界的声音信号被感知。有研究已经证实前神经基本螺旋-环-螺旋转录因子 Neurogenin1 (Neurog1) 和 NeuroD1 在听泡衍生的内耳感觉神经元的形成中起着必要的作用, Puligilla 等<sup>[16]</sup>证实了耳蜗中非感觉上皮细胞的神

经感受性, 不论是 Neurog1 还是 NeuroD1 的异位表达都导致了神经细胞形成的结果。此外, Puligilla 等<sup>[16]</sup>采用功能获得和功能丧失实验研究 Sox2 在螺旋神经节神经元形成中的作用, 指出 Sox2 的过表达导致神经元的产生, 表明 Sox2 对非感觉上皮细胞的神经元命运有足够的诱导作用, 并且结果显示, Sox2 同 Neurog1 和 NeuroD1 一起对耳蜗非感觉区的神经元起作用。

## 4 展望

Sox2 在内耳发育中起关键性作用。首先, Sox2 与感觉神经祖细胞的自我更新状态和前神经元特性相关, 是前感觉祖细胞的早期标志。其次, Sox2 在毛细胞和神经元终极分化后的缺失以及随支持细胞的分裂而维持, 提示 Sox2 可能是毛细胞损伤后再生的关键元素。哺乳动物内耳毛细胞是一种不可再生细胞, 由于各种因素导致的毛细胞损伤都将是永久性损伤<sup>[17,18]</sup>, 使感音性耳聋成为了一个不可逆的过程, 弥补丢失的毛细胞是惟一的治疗方法, 常用的方法有内耳干细胞移植、非感觉细胞的转分化以及诱导毛细胞前体细胞增殖。对 Sox2 的研究与检测, 可能用于寻找毛细胞前体细胞及诱导毛细胞前体的增殖, 有利于毛细胞损伤后修复, 可能成为治疗各种原因导致毛细胞丢失引起的耳聋的治疗切入点。

## [参 考 文 献]

- [1] 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(6281): 245-50
- [2] Kiernan AE, Pelling AL, Leung KK, et al. Sox2 is required for sensory organ development in the mammalian inner ear. *Nature*, 2005, 434(7036): 1031-5
- [3] Kelly MC, Chen P. Development of form and function in the mammalian cochlea. *Curr Opin Neurobiol*, 2009, 19(4): 395-401
- [4] Puligilla C, Dabdoub A, Cheah KS, et al. Sox2 as a prosensory and proneural gene in the developing mouse cochlea. *Dev Biol*, 2008, 319(2): 535
- [5] Hume CR, Bratt DL, Oesterle EC. Expression of LHX3 and SOX2 during mouse inner ear development. *Gene Expr Patterns*, 2007, 7(7): 798-807
- [6] Kelley MW. Hair cell development: commitment through differentiation. *Brain Res*, 2006, 1091(1): 172-85
- [7] Dabdoub A, Puligilla C, Jones JM, et al. Sox2 signaling in prosensory domain specification and subsequent hair cell differentiation in the developing cochlea. *Proc Natl Acad Sci*

- USA, 2008, 105(47): 18396-401
- [8] Mak AC, Szeto IY, Fritsch B, et al. Differential and overlapping expression pattern of SOX2 and SOX9 in inner ear development. *Gene Expr Patterns*, 2009, 9(6): 444-53
- [9] Wood HB, Episkopou V. Comparative expression of the mouse Sox1, Sox2 and Sox3 genes from pre-gastrulation to early somite stages. *Mech Dev*, 1999, 86(1-2): 197-201
- [10] Uchikawa M, Kamachi Y, Kondoh H. Two distinct subgroups of Group B Sox genes for transcriptional activators and repressors: their expression during embryonic organogenesis of the chicken. *Mech Dev*, 1999, 84(1-2): 103-20
- [11] Neves J, Kamaid A, Alsina B, et al. Differential expression of Sox2 and Sox3 in neuronal and sensory progenitors of the developing inner ear of the chick. *J Comp Neurol*, 2007, 503(4): 487-500
- [12] Oesterle EC, Campbell S, Taylor RR, et al. Sox2 and JAGGED1 expression in normal and drug-damaged adult mouse inner ear. *J Assoc Res Otolaryngol*, 2008, 9(1): 65-89
- [13] Millimaki BB, Sweet EM, Riley BB. Sox2 is required for maintenance and regeneration, but not initial development, of hair cells in the zebrafish inner ear. *Dev Biol*, 2010, 338(2): 262-9
- [14] Kiernan AE, Xu J, Gridley T. The Notch ligand JAG1 is required for sensory progenitor development in the mammalian inner ear. *PLoS Genet*, 2006, 2(1): e4
- [15] Puligilla C, Kelley MW. Building the world's best hearing aid; regulation of cell fate in the cochlea. *Curr Opin Genet Dev*, 2009, 19(4): 368-73
- [16] Puligilla C, Dabdoub A, Brenowitz SD. Sox2 induces neuronal formation in the developing mammalian cochlea. *J Neurosci*, 2010, 30(2): 714-22
- [17] Edge AS, Chen ZY. Hair cell regeneration. *Curr Opin Neurobiol*, 2008, 18(4): 377-82
- [18] 张永海, 熊鹰. 听皮层可塑性的研究进展. *解剖科学进展*, 2008, 14(4): 453-6