神经干细胞激活的研究进展

高学虎　罗玉萍*

(南昌大学生命科学学院, 南昌 330031)

摘要　神经干细胞是一类具有自我更新和多向分化潜能的细胞。在特定的条件下能够分化成神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞, 从而参与神经发生和损伤修复。通常情况下, 成体神经干细胞大多数处于静息状态。最新研究表明, 在病理状况下, 静息态的神经干细胞可以被激活, 经增殖、迁移和分化, 从而在损伤的部位进行神经元的再生和环路重建。该文主要对静息态和激活态神经干细胞的特征以及静息态神经干细胞激活的细胞和分子机制等方面进行了综述。

关键词　静息态神经干细胞; 激活态神经干细胞; 神经发生

Research Progress on Neural Stem Cell Activation

Gao Xuehu, Luo Yuping*

(*School of Life Sciences, Nanchang University, Nanchang 330031, China*)

Abstract　Neural stem cells (NSCs) are stem cells that with the ability of self-renewal and multiple differentiation potential. Under certain circumstances, NSCs are able to differentiate into neurons, astrocytes and oligodendrocytes, thereby participating in the neurogenesis and injury repair. Normally, adult NSCs are mostly quiescent state. Recent research showed that under pathological conditions, quiescent NSCs could be activated, proliferated, migrated and differentiated into new neurons and reconstruct neural circuit in damaged sites. This review summarized the characteristics of quiescent and active NSCs and the cellular and molecular mechanisms underlying the activation of quiescent NSCs.

Keywords　quiescent neural stem cells; active neural stem cells; neurogenesis

神经干细胞(neural stem cells, NSCs)是中枢神经系统(central nervous system, CNS)中具有增殖和分化能力的一类细胞, 在特定的条件下能够增殖、迁移和分化形成神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞。研究发现, 在哺乳动物的胚胎和成体时期均存在着神经干细胞[1]。胚胎时期的神经干细胞在神经系统的多个部位都有分布, 在嗅球、大脑皮质、海马、纹状体、间脑、中脑、小脑、脊髓、视网膜、脑室壁和脑室沿线的侧脑室、第三脑室、第四脑室都能分离到神经干细胞, 而且大多数迁移前的神经嵴细胞也属于神经干细胞[2]。在胚胎发育过程中, 随着神经系统的发育成熟, 神经干细胞分化为大量的前体细胞和功能细胞, 神经干细胞的比率也随之下降。在成年哺乳动物的中枢神经系统中, 神经干细胞主要分布在大脑的两个神经源性区域: 海马齿状回下层颗粒(subgranular zone, SGZ)和侧脑室的室管膜下区(subventricular zone, SVZ)[3], 此外, 在嗅球、胼胝体下区、小脑皮质等处也有分布。2015年, Luo等[4]发现, 除了上述区域外, 从侧脑室到第四脑室和脊髓中央管等脑室区域也都存在神经干细胞。但

收稿日期: 2017-11-25　　接受日期: 2018-02-07
国家自然科学基金(批准号: 31660324)和江西省自然科学基金重点项目(批准号: 20152ACB20008)资助的课题
*通讯作者。Tel: 021-65982368, E-mail: luoyuping@163.com
Received: November 25, 2017　　Accepted: February 7, 2018
This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31660324) and Natural Science Key Project of Jiangxi Province (Grant No.20152ACB20008)
*Corresponding author. Tel: +86-21-65982368, E-mail: luoyuping@163.com
网络出版时间: 2018-05-15 18:14:42　　URL: http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180515.1814.024.html

是, 这些成体中的神经干细胞大多是处于静息状态, 这些静息状态的神经干细胞(quiescent neural stem cells, qNSCs)保持着很低的代谢速率, 进行自我更新时又伴随着较长的细胞周期。当在损伤或是病理状态下, 这些静息态的神经干细胞能够被激活变成激活态的神经干细胞(active neural stem cells, aNSCs), 进而增殖、启动分化程序和迁移到损伤部位, 产生新生神经元并整合到现有的神经回路中, 从而达到对损伤部位修复的目的[5]。

1 成年哺乳动物大脑中qNSCs和aNSCs的特征

成年哺乳动物大脑中的神经干细胞一般是处于静息状态, 这种静息态的干细胞能够承受代谢压力和保持基因组的完整性[6]。很长的一段时间, 人们认为, 这种静息态是被动的休眠状态。但当中枢神经系统受到损伤后, 这些静息态的神经干细胞会被激活变成活跃的神经干细胞, 从而进行增殖、迁移和分化, 产生新生神经元和神经胶质细胞。

1.1 海马中qNSCs和aNSCs的特征

海马中的NSCs主要分布在齿状回颗粒下层, 根据神经干细胞的形态、标志物的表达、增殖动力学和分化能力的不同, 可以将SGZ中的NSCs分成两种不同的细胞类型[7]。这两种干细胞都是Sox2阳性, 其中1型(type 1)细胞具有独特的径向过程和分支结构, 形态呈现出放射状。这类细胞的形态和在发育过程中充当NSCs的放射状胶质细胞的形态非常相似, 同时也表达相应的放射状胶质细胞的一些标志物, 如巢蛋白(nestin)、胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)、脑脂质结合蛋白(brain lipid-binding protein, Blbp)和谷氨酸转运体(glutamate transporter, Glast), 这一类细胞通常是处于静息状态。另一类细胞2型(type 2)没有1型的径向过程或是径向过程很短, 一般是呈现水平形态, 而且这种细胞主要表达巢蛋白和Sox2, 不表达GFAP, 这种细胞一般有丝分裂比较旺盛。2型细胞来源于静息态的1型细胞, 它能够快速地进行增殖并多向分化。这种激活态的2型细胞根据其表达的转录因子的不同又可以将其分成两个亚型, 分别是2a型(type 2a)和2b型(type 2b)。2a型细胞主要表达促进分化的转录因子哺乳动物无刚毛–鳞甲同源物1(mammalian achaete-scute homologue 1, Mash1), 2b型细胞主要表达同源异性蛋白1(prospero-related homeobox 1, Prox1)和神经分化因子1(neurogenic differentiation 1, NeuroD1)[8]。最近, 通过对成年海马区的静息态的神经干细胞进行单细胞转录组分析, 不仅揭示了静息态的神经干细胞活跃的微环境信号整合能力和较低的蛋白质翻译活性等分子特征, 而且还发现当微环境信号和下游信号成分的各种受体表达时, 静息态的神经干细胞可以被激活[9]。在功能上, 减少GABA[10]或是抑制Wnt[11]的表达都能导致静息态的NSCs被激活。由此可以说, 静息只是干细胞维持的一种状态。

最近的一项研究[8]通过构建Hes5::GFP转基因小鼠去选择性标记SGZ中的NSCs, *Hes5*是Notch的靶基因, 而Notch在海马齿状回的祖细胞和未分化的细胞中一直都表达, 因此, SGZ中的神经干细胞都会被GFP标记。通过这种荧光标记的方法进一步揭示了在SGZ中有两种不同类型的NSCs。一种是快速增殖的1型细胞, 这些激活的NSCs能够快速增殖并表达细胞增殖的核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA), 用BrdU处理后的24小时内检测到增殖活跃的水平状的$GFP^+/BrdU^+/PCNA^+$细胞, 而在BrdU处理后的15天内既检测到$GFP^+/BrdU^+/PCNA^+$细胞, 又检测到退出细胞周期的静息态$GFP^+/BrdU^+/PCNA^-$细胞。外界的刺激可以激活这些静息态的NSCs, 他们可以被特异性地招募到活跃的NSCs池中。研究者还发现, 导致老年小鼠神经发生受损的是激活态的NSCs消耗而不是静息态的NSCs, 但是当存在癫痫发作刺激时, 这些年老小鼠中静息态的NSCs能够被重新激活[8]。综合这些数据表明, 在SGZ中共存着不同功能类型的静息态和激活态的NSCs。

1.2 侧脑室室管膜下区中qNSCs和aNSCs的特征

在SVZ中, 主要存在着四种与NSCs活动相关的细胞: (1)室管膜E细胞(ependymal E cells); (2)室管膜下区的$GFAP^+$ B细胞(subependymal $GFAP^+$ B cells), 这种B细胞表面带有一根纤毛[12], 表达胚胎期放射性胶质细胞和星型胶质细胞表面的标志物GFAP; (3)瞬时增殖C细胞(transit-amplifying C cells, TACs); (4)成神经A细胞(neuroblast A cells)。关于在SVZ中哪种类型细胞是神经干细胞的问题一直存在着争议。最初学者认为, 室管膜E细胞是神经干细胞, 但是随着研究的深入, 室管膜下区$GFAP^+$ B细胞被认为是干细胞[13]。Coskun等[14]研究发现, 在成年小鼠的室

管膜细胞表达干细胞的标志物CD133, 能够分化成B型、C型和A型等神经性细胞, 沿着嘴侧迁移流进入嗅球, 这说明室管膜细胞具有NSCs的特征, 并且处于比B细胞更原始的状态。他们的结果说明, 室管膜的$CD133^+$ E细胞相比于室管膜下区的$GFAP^+$ B细胞更能代表SVZ中静息态的NSCs。进一步研究发现, 大脑局部缺血能够激活室管膜静息态的神经干细胞, 并且能够产生成神经细胞和胶质细胞, 由此更进一步说明这些室管膜中$CD133^+$细胞是静息态的神经干细胞[15]。研究者还通过使用split-Cre技术将Cre分成了NCre和CCre, 分别由GFAP和Prominin1的启动子驱动其表达, 只有当这两个基因都表达时才能驱动报告基因绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, *GFP*)的表达, 结果显示, 在室管膜下区的$CD133^+/GFAP^+$的放射状胶质样细胞是激活态的神经干细胞, 这些放射状的胶质细胞在底部从室管膜延伸到脑室, 顶部通过TACs和成神经细胞延伸到血管[16]。这些研究结果说明, 在SVZ室管膜E细胞中存在是静息态的神经干细胞, 室管膜下区的$GFAP^+$ B细胞是激活状态的干细胞。

1.3 嗅球上皮中qNSCs和aNSCs的特征

哺乳动物神经系统中的嗅球上皮(olfactory epithelium, OE)被认为是另一个神经源性区域。在OE中有两种不同形态和不同增殖特性的干细胞, 分别是水平基底细胞(horizontal basal cells, HBCs)和球状基底细胞(globose basal cells, GBCs)。这两种细胞都表达干细胞的标志物Sox2[17-19]。HBCs分裂一次需要60天, 而GBCs每天可以分裂一次。除了细胞周期不同外, 这两种细胞所表达的标志物也有区别, GBCs主要表达GBC1/GBC2和神经祖细胞标志物Mash1, 而且增殖分化比较活跃, 而HBCs主要表达K5/K14, 大多是处于静息状态。这些静息态的NSCs在生理状况下能够保持着组织干细胞的特性[20-21]。研究者[22]通过cre-loxp谱系示踪的方法证实了HBCs可以在体内产生各种嗅球上皮细胞和一些GBCs。GBCs再从全能性的$Sox2^+/Pax6^+$干细胞, 经过$Ascl1^+$瞬时增殖细胞, 最后分化成能够产生嗅觉神经细胞的$Neurog1^+/NeuroD1^+$神经元前体细胞[23]。与此同时, 研究者还发现, GBCs能够对大多数损伤作出反应, 而HBCs只有在非常严重的损伤或是GBCs耗尽的时候才能够被激活[24]。以上数据表明, 在OE中HBCs是静息态的神经干细胞, 它能够被激活变成GBCs, 从而进行增殖分化产生嗅球神经元细胞。

1.4 第四脑室中qNSCs和aNSCs的特征

最新的研究表明, 在哺乳动物的第四脑室中也存在着神经干细胞, 主要分布在第四脑室室管膜上。这些NSCs大多是处于静息状态下, 在血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)联合作用下可以被激活, 能够重新进入细胞周期进行有丝分裂。Luo等[4]通过单细胞转录组分析结合权重基因共表达网络分析(weighted gene co-expression network analysis, WGCNA)揭示了室管膜区域$CD133^+/GFAP^-$静息态的神经干细胞表达谱特征, 并且发现室管膜区静息态神经干细胞的关键节点基因中富集了免疫应答基因和血管生长因子受体基因, VEGF信号参与静息态的神经干细胞的激活。为了进一步验证这个激活的过程, 研究者将prominin1启动子驱动Cre重组酶的质粒定位注射到ROSA26-tdTomato的报告基因小鼠的第四脑室, 然后再注射bFGF或VEGF, 发现第四脑室室管膜上静息态的神经干细胞被激活, 并进行有丝分裂[4]。当单独向小鼠第四脑室注射bFGF或VEGF时, 只有少量的$tdTomato^+$细胞; 而当同时注射bFGF和VEGF时, 室管膜上$CD133^+$细胞不仅被激活, 而且还发现$tdTomato^+$细胞和$CD133^+$细胞可以迁移到周围的薄壁组织中, 并分化成$MAP2^+$神经元和$GFAP^+$星形胶质细胞。目前, 有关第四脑室神经干细胞研究的报道还比较少, 尤其是在静息态神经干细胞激活和调控方面还需更深入的研究。

2 静息态神经干细胞的激活

在成体哺乳动物中, 静息态的神经干细胞在一定条件下激活、增殖、迁移和分化, 从而产生新生神经元以替代受损的神经细胞, 并整合到现有的神经回路中发挥其特有的功能, 最终维持着机体正常的生命活动和神经发生。胚胎时期, 这些NSCs不断被激活分化产生新生神经元以形成大脑基本的神经结构; 成年后, SVZ和SGZ中的NSCs也会被激活产生大量的神经细胞迁移到特定的区域, 维持着正常的神经发生。静息态NSCs的激活不仅对机体的生长发育有着重要意义, 而且对中枢神经系统的损伤修复也发挥着重要作用。研究表明, 当中枢神经系统受到损伤后, 这些静息态NSCs可以被激活变成活跃

的NSCs, 从而进行增殖和分化并替代缺失的神经细胞, 使损伤的脑组织得到功能上的修复。

2.1 生理状况下静息态NSCs的激活

成年哺乳动物大脑中静息态NSCs的激活受到多种因素的影响, 丰富外界环境、适当的生理活动(如奔跑、学习)、生长因子和氧浓度等均可促进静息态NSCs的激活、增殖、迁移和分化。研究者通过比较生活在丰富环境和一般环境中的小鼠发现, 生活在丰富环境中的小鼠, 其大脑中的海马神经营养素-3(neurotrophin-3, NT-3)和脑源性神经营养因子(brain derived neurothrophic factor, BDNF)都有所上调, 神经发生有所增强; 而对于一般环境的小鼠, 其海马中的皮质生长因子(nerve growth factor, NGF)下调、神经发生减弱[25]。这说明, 丰富环境可以促进各种生长因子的分泌, 从而激活静息态的神经干细胞。最近的研究表明, 氧浓度对NSCs的激活也有一定的影响[26]。在SVZ中NSCs能耐受较低的氧浓度, 对氧化代谢的要求较低, 能量来源主要是依赖于糖酵解途径。Lugert等[8]发现, 跑步运动也可以诱导静息态神经干细胞进入细胞周期进行增殖。通过对静息态NSCs和激活态NSCs单细胞转录组分析表明, 在SVZ和SGZ中静息态NSCs激活过程中伴随着糖酵解的下调, 线粒体中的氧化磷酸化则出现上调[8,27]。这些新的证据进一步说明了静息态NSCs主要利用糖酵解产生的能量维持自我更新, 当NSCs被激活后进行增殖和分化时, 细胞所利用的能量主要来源于氧化磷酸化。上述结果表明, 氧浓度对NSCs在激活和增殖、分化方面发挥着重要的作用。

2.2 病理状况下静息态NSCs的激活

成年哺乳动物大脑中静息态NSCs受到各种损伤(如脑缺血、创伤、癫痫等)后可以被激活, 从而变成活跃的NSCs进行增殖、迁移和分化, 产生各种神经细胞达到对损伤修复的目的。脑缺血可以激活大脑中静息态NSCs, 研究发现, 在大鼠大脑中动脉闭塞造成的局灶脑缺血模型中可见到同侧SVZ和纹状体有新生神经元, 且呈链状向缺血纹状体迁移[28]。Marie等[15]也发现, 中风小鼠侧脑室室管膜中静息态NSCs可以被激活, 并且能产生成神经细胞和星形胶质细胞。最近单细胞转录组分析结合主成分分析[27]的结果更进一步地说明了静息态NSCs的激活过程并发现损伤后IFN-γ可驱动NSCs的激活。NSCs的激活过程一般要经历qNSC1到qNSC2, 最后到aNSC, 这种qNSC1被认为是最初的休眠状态, qNSC2主要是待激活状态, 从qNSC1到qNSC2细胞内主要是涉及蛋白质合成和细胞周期相关基因的激活。在缺血小鼠大脑中, qNSC2和aNSC的比重相对于正常小鼠显著性增加[27]。研究者在用红藻氨酸诱导的癫痫模型中, 发现SGZ中静息态NSCs可以被激活, 并且在处理后第4天的时候NSCs出现了显著性增加[8]。当在老年小鼠中诱导癫痫产生后, 同样也发现老年小鼠中剩余的静息态NSCs可以被激活, 重新进入增殖状态, 在第4天的时候增殖水平可以达到青年小鼠的水平[8]。

2.3 静息态NSCs激活的调控

2.3.1 *肿瘤基因对NSC激活的调控* 静息态的NSCs和激活态的NSCs的最大区别在于前者有着较长的细胞周期。因此, 这些调控细胞周期的的原癌基因以及抑癌基因对于静息态NSCs激活是密切相关的。Kippin等[29]通过比较两种*p21*$^{-/-}$和*p21*$^{+/+}$小鼠, 发现*p21*可以通过抑制细胞周期过程来维持NSCs处于静息状态, 如果敲除*p21*会导致细胞快速增殖并会使NSCs消耗殆尽。在大脑局部缺血后, 敲除*p21*能够加速增殖和成神经细胞的迁移[30]。第10号染色体上的磷酸酶和张力蛋白同源物(the phosphatase and tensin homologue deleted onchromosome 10, Pten)是*p21*上游的调控因子, 这两种因子可以通过调控G_0-G_1的进入来抑制NSCs的自我更新[31]。在SVZ中去除NSCs中的*Pten*能够增强组成型的神经发生, 不但出现了嗅觉功能的增强, 还能够帮助嗅球修复一些急性损伤[32]。另外一个和肿瘤相关的基因*Bmi-1*, 在不同的发育阶段, 它通过靶向细胞周期不同时期的调节器来调控NSCs的激活和增殖。细胞周期的抑制剂*p16ink4a*和*p19arf*调控*Bmi-1*主要发生在出生后小鼠的神经干细胞中[33], 而*p21*的调控主要是在胚胎期和成年的NSCs中发挥作用[34]。在SVZ中*p53*主要表达在室管膜的祖细胞中, *p53*的丢失能够加速祖细胞的增殖, 这表明*p53*在维持NSCs处于静息态发挥重要的作用[35]。与此同时, *p63*和*p73*也能够调节NSCs的激活和增殖。在OE中, *p63*能够调控HBCs的激活, 敲除*p63*能够促进嗅球中静息态的HBCs激活[23]; 而*p73*也能够通过促进NSCs的激活和增殖来抑制神经干细胞的过早衰老, 进而维持神经源性池的稳定[36]。从这些数据可知, 细胞周期的调节器对静息态NSCs的激活发挥着至关重要的作用。

2.3.2 表观遗传修饰对NSCs激活的调节 除了一些重要的基因能够对NSCs激活调控外, 稳定表达的转录因子和表观遗传修饰对静息态NSCs的维持和激活也发挥着至关重要的作用。孤儿核受体NR2E1(nuclear receptor subfamily 2, group E, member 1)可以通过招募一些组蛋白去乙酰基酶(histone deacetylases, HDACs)作用于下游的靶基因, 如*p21*和*Pten*, 进而保持NSCs处于未分化状态[37]。叉头框蛋白O3(Fork head box O3, FoxO3)是长寿相关的叉头蛋白O(Fork head box O, FoxO)家族中的一员。最近研究表明, 它可以通过诱导程序基因的沉默, 来防止干细胞的过早分化和维持NSC池的稳定[38]。最近, Shradha等[39]发现, 敲除*REST*(repressor element 1-silencing transcription factor)后海马中的qNSCs可以被激活, 他们又通过CHIP-seq和RNA-seq找到了转录因子的靶基因, 发现REST主要通过调节核糖体生物发生、细胞周期等相关基因来控制静息态的神经干细胞激活。表观遗传修饰的最常见形式是DNA甲基化, 通常情况下是抑制基因的表达。但是, DNA甲基转移酶DNMT3a(DNA methyltransferase 3 alpha)可以通过甲基化神经源性基因的间隔区域促进这些基因在SVZ中的神经干细胞的表达[40]。TET-GADD45介导的信号通路可以激活DNA去甲基化[41], 这种去甲基化可以通过调节成熟颗粒神经元中的生长因子的表达来控制SGZ中NSCs的增殖[42]。与此同时, 甲基-CpG结合蛋白(methyl-CpG binding protein, MECP)结合到甲基化的DNA上可以调节神经发生相关基因表达[43]。例如, 甲基-CpG结合蛋白1(methyl-CpG binding protein 1, MECP1)的缺失能够促进NSC增殖[44]。最近又通过用MECP2的转基因小鼠和野生型小鼠对比发现, 在转基因小鼠的海马中静息态的神经干细胞显著性增加, 神经祖细胞减少, 成神经细胞也有所增加[45]。深入研究发现, 转基因小鼠海马中小清蛋白(parvalbumin, PV)阳性的中间神经元显著性减少, 这对于海马中神经干细胞的静息或激活起着决定性的作用。MiR-184也可以作用于甲基CpG结合蛋白1下游的靶点, 从而导致SGZ中的NSCs的H3K27甲基化减少, 进而调控NSCs的增殖和分化[45]。

2.3.3 微环境对NSCs激活的影响 NSCs专一性地处在特定的微环境中, 在这些特定的微环境周围主要是一些星形胶质细胞、血管细胞和细胞外基质, 这种复杂的微环境对静息态NSCs的激活起着重要的作用。在果蝇的发育过程中, 胶质细胞产生的营养反应性胰岛素/胰岛素样生长因子可以引起静息态的NSCs重新进入细胞周期[46]。在小鼠中, SGZ中的星形胶质细胞释放Wnt3, SVZ中的星形胶质细胞释放Wnt7a, 它们都能促进NSCs的激活和增殖[10]。除此之外, 这两个区域的星形胶质细胞都能够表达Shh来诱导神经发生[47]。最近, Noelia等[48]发现, 微环境中的E3-泛素连接酶Huwe1(HECT, UBA and WWE domain-containing 1)可以使海马中增殖的干细胞回到静息状态, 从而维持干细胞池的稳定。最新研究表明, 内源性的淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)是干细胞微环境的重要组成部分, 当减少APP能够促进SVZ中NSCs的增殖[49]。与此同时, 研究还发现, 位于侧脑室中的脉络丛对维持干细胞池的平衡也发挥着重要作用, 它可以通过分泌一些因子促进静息态的神经干细胞的增殖和激活[50]。另外, 微环境中的血管内皮细胞释放的VEGF和色素上皮衍生因子(pigment epithelium-derived factor, PEDF)也能够调控NSC的激活[51]。Luo等[4]也进一步验证了VEGF和bFGF作用于侧脑室和第四脑室, 能够使室管膜中静息态NSCs被激活。

神经干细胞的微环境除了产生各种因子来激活NSCs外, 各种信号转导对于静息态NSCs的激活也是至关重要的[52]。在SVZ中, Noggin是表达在室管膜细胞中, 而它的受体BMP2和BMP4却表达在室管膜下区的细胞中。当激活BMP信号通路能够阻断神经发生和促进星形胶质细胞的分化[53]。Noggin蛋白质可以阻断内源性的BMP信号通路, 使静息态的干细胞被激活促进神经发生的进行。BMP信号还可以通过上调Pten促使SVZ中的NSCs退出细胞周期进入静息状态[54]。在SGZ中抑制或消除BMP信号会导致祖细胞短暂性地增加, 但是随后由于干细胞池的耗尽而使神经发生减弱[55]。在OE中, BMP作用于神经祖细胞的早期阶段, 能够降低Mash1的表达和细胞增殖, 从而强烈地抑制神经发生[56]。除了MBP外, Wnt和Notch对于NSCs激活的调控也发挥着积极的作用。在SVZ中Wnt信号可以促进NSCs的激活, 研究发现, 用Axin2作为Wnt信号激活的受体, 在$Mash1^+$ C细胞和$GFAP^+$ B细胞中出现Wnt信号通路的激活, 激活的Wnt信号能够促进$Mash1^+$细胞的增殖和神经发生增强[57]。但是, 如果过度地激活Wnt信

号可能会导致SVZ中的神经干细胞被消耗殆尽。在发育和化学诱导OE再生中, Wnt信号的激活能促进细胞的增殖和$Sox2^{+}$ NSCs向着神经元方向分化。在SGZ中Wnt信号可以激活海马中的祖细胞, 这些祖细胞通过Sox2来促进增殖, 并且通过诱导Neurod1的表达促进神经元的分化[58]。与此同时, Wnt信号还可以通过促进细胞对称分裂[59]和缩短NSCs的细胞周期[60]来激活静息态的NSCs, 而且Wnt的活化也能够诱导Neurod1和Prox1的表达[61]进而促进神经元的分化。Notch信号既能够维持室管膜中qNSCs处于静息态又能促进aNSCs的增殖, 最新研究解释了Notch调节这两个明显相反的生物过程, Notch1主要是表达在aNSCs中促进增殖而对qNSCs无影响, 而Notch3则主要表达在qNSCs中维持其处于静息态[62]。敲除*Notch3*基因后侧脑室的室管膜上的qNSCs出现明显减少, 这些结果表明, Notch以不同异构体的方式控制SVZ中神经干细胞的激活和增殖。Herrick等[63]也发现了在OE中当Notch1信号下调也会出现HBCs的激活。

3 结语与展望

哺乳动物的成体神经干细胞通常情况下处于静息状态, 当中枢神经系统受到损伤时, 这些内源静息态的神经干细胞即被激活, 迁移到损伤部位, 启动分化并取代受损的细胞。因此, 静息态神经干细胞的激活对于神经系统稳态的维持和损伤的修复起着重要的作用。目前, 神经源性区域静息态和激活态神经干细胞的分子特征以及激活所依赖的细胞间信号调控、微环境中的信号通路和调控因子的研究都取得了一定的进展, 但是对静息态和激活态神经干细胞的研究仍然还面临着很大的挑战。维持体内静息态和激活态神经干细胞的动态平衡的分子机制还不清楚, 内源神经干细胞激活后的分化趋向性也不确定。因此, 需要外界的干预措施诱导神经干细胞向着特定的方向分化。静息态的神经干细胞虽然作为神经修复的再生源, 但是在病理状况下激活产生的神经干细胞比较少, 未来可以通过微纳米生物材料将激活信号分子运送到特定的靶位点, 从而达到修复中枢神经系统创伤的目的。相信随着内源静息态NSCs激活的研究不断深入, 内源性干细胞在神经损伤修复或神经系统疾病治疗中将发挥重要的作用。

参考文献 (References)

1 Ming GL, Song H. Adult neurogenesis in the mammalian brain: significant answers and significant questions. Neuron 2011; 70(4): 687-702.

2 White PM, Morrison SJ, Orimoto K, Kubu CJ, Verdi JM, Anderson DJ. Neural crest stem cells undergo cell-intrinsic developmental changes in sensitivity to instructive differentiation signals. Neuron 2001; 29(1): 57 -71.

3 Wang TW, Stromberg GP, Whitney JT, Brower NW, Klymkowsky MW, Parent JM. Sox3 expression identifies neural progenitors in persistent neonatal and adult mouse forebrain germinative zones. J Comp Neurol 2006; 497(1): 88-100.

4 Luo Y, Coskun V, Liang A, Yu J, Cheng L, Ge W, *et al*. Single-cell transcriptome analyses reveal signals to activate dormant neural stem cells. Cell 2015; 161(5): 1175-86.

5 Li L, Harms KM, Ventura PB, Lagace DC, Eisch AJ, Cunningham LA. Focal cerebral ischemia induces a multilineage cytogenic response from adult subventricular zone that is predominantly gliogenic. Glia 2010; 58(13): 1610-9.

6 Doetsch F, Caillé I, Lim DA, García-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. Cell 1997; 97(6): 703-16.

7 Suh H, Deng W, Gage FH. Signaling in adult neurogenesis. Annu Rev Cell Dev Biol 2009; 25: 253-75.

8 Lugert S, Basak O, Knuckles P, Haussler U, Fabel K, Götz M, *et al*. Quiescent and active hippocampal neural stem cells with distinct morphologies respond selectively to physiological and pathological stimuli and aging. Cell Stem Cell 2010; 6(5): 445-56.

9 Shin J, Berg DA, Zhu Y, Shin JY, Song J, Bonaguidi MA, *et al*. Single-cell RNA-Seq with waterfall reveals molecular cascades underlying adult neurogenesis. Cell Stem Cell 2015; 17(3): 360-72.

10 Song J, Zhong C, Bonaguidi MA, Sun GJ, Hsu D, Gu Y, *et al*. Neuronal circuitry mechanism regulating adult quiescent neural stem-cell fate decision. Nature 2012; 489(7414): 150-4.

11 Jang MH, Bonaguidi MA, Kitabatake Y, Sun J, Song J, Kang E, *et al*. Secreted frizzled-related protein 3 regulates activity-dependent adult hippocampal neurogenesis. Cell Stem Cell 2013; 12(2): 215-23.

12 Danilov AI, Gomes-Leal W, Ahlenius H, Kokaia Z, Carlemalm E, Lindvall O. Ultrastructural and antigenic properties of neural stem cells and their progeny in adult rat subventricular zone. Glia 2009; 57(2): 136-52.

13 Johansson CB, Momma S, Clarke DL, Risling M, Lendahl U, Frisén J. Identification of a neural stem cell in the adult mammalian central nervous system. Cell 1999; 96(1): 25-34.

14 Coskun V, Wu H, Blanchi B, Tsao S, Kim K, Zhao J, *et al*. CD133+ neural stem cells in the ependyma of mammalian postnatal forebrain. Proc Natl Acad Sci USA 2008; 105(3): 1026-31.

15 Carlén M, Meletis K, Göritz C, Darsalia V, Evergren E, Tanigaki K, *et al*. Forebrain ependymal cells are Notch-dependent and generate neuroblasts and astrocytes after stroke. Nat Neurosci 2009; 12(3): 259-67.

16 Beckervordersandforth R, Tripathi P, Ninkovic J, Bayam E, Lepier A, Stempfhuber B, *et al*. *In vivo* fate mapping and expression analysis reveals molecular hallmarks of prospectively

isolated adult neural stem cells. Cell Stem Cell 2010; 7(6): 744-58.

17 Carter LA, MacDonald JL, Roskams AJ. Olfactory horizontal basal cells demonstrate a conserved multipotent progenitor phenotype. J Neurosci 2004; 24(25): 5670-83.

18 Chen X, Fang H, Schwob JE. Multipotency of purified, transplanted globose basal cells in olfactory epithelium. J Comp Neurol 2004; 469(4): 457-74.

19 Guo Z, Packard A, Krolewski RC, Harris MT, Manglapus GL, Schwob JE. Expression of pax6 and sox2 in adult olfactory epithelium. J Comp Neurol 2010; 518(21): 4395-418.

20 Fuchs, E. The tortoise and the hair: slow-cycling cells in the stem cell race. Cell 2009; 137(5): 811-9.

21 Li, L, Clevers, H. Coexistence of quiescent and active adult stem cells in mammals. Science 2010; 327(5965): 542-5.

22 Fletcher RB, Prasol MS, Estrada J, Baudhuin A, Vranizan K, Choi YG, *et al*. p63 regulates olfactory stem cell self-renewal and differentiation. Neuron 2011; 72(5): 748-59.

23 Schwob JE, Jang W, Holbrook EH, Lin B, Herrick DB, Peterson JN, *et al*. Stem and progenitor cells of the mammalian olfactory epithelium: Taking poietic license. J Comp Neurol 2017; 525(4): 1034-54.

24 Leung CT, Coulombe PA, Reed RR. Contribution of olfactory neural stem cells to tissue maintenance and regeneration. Nat Neurosci 2007; 10(6): 720-6.

25 Wolf SA, Kronenberg G, Lehmann K, Blankenship A, Overall R, Staufenbiel M, *et al*. Cognitive and physical activity differently modulate disease progression in the amyloid precursor protein(APP)-23 model of Alzheimer's disease. Biol Psychiatry 2006; 60(12): 1314-23.

26 Kate M. Candelario, C. William Shuttleworth, Lee Anna Cunningham. Neural stem/progenitor cells display a low requirement for oxidative metabolism independent of hypoxia inducible factor-1 alpha expression. J Neurochem 2013; 125(3): 420-9.

27 Llorens-Bobadilla E, Zhao S, Baser A, Saiz-Castro G, Zwadlo K, Martin-Villalba A. Single-cell transcriptomics reveals a population of dormant neural stem cells that become activated upon brain injury. Cell Stem Cell 2015; 17(3): 329-40.

28 Zhang R, Zhang Z, Wang L, Wang Y, Gousev A, Zhang L, *et al*. Activated neural stem cells contribute to stroke-induced neurogenesis and neuroblast migration toward the infarct boundary in adult rats. J Cereb Blood Flow Metab 2004; 24(4): 441-8.

29 Kippin TE, Martens DJ, van der Kooy D. p21 loss compromises the relative quiescence of forebrain stem cell proliferation leading to exhaustion of their proliferation capacity. Genes Dev 2005; 19(6): 756-67.

30 Qiu J, Takagi Y, Harada J, Rodrigues N, Moskowitz MA, Scadden DT, *et al*. Regenerative response in ischemic brain restricted by p21cip1/waf1. J Exp Med 2004; 199(7): 937-45.

31 Groszer M, Erickson R, Scripture-Adams DD, Dougherty JD, Le Belle J, Zack JA, *et al*. PTEN negatively regulates neural stem cellself-renewal by modulating G_0-G_1 cell cycle entry. Proc Natl Acad Sci USA 2006; 103(1): 111-6.

32 Gregorian C, Nakashima J, Le Belle J, Ohab J, Kim R, Liu A, *et al*. Pten deletion in adult neural stem/progenitor cells enhances constitutive neurogenesis. J Neurosci 2009; 29(6): 1874-86.

33 Molofsky AV, He S, Bydon M, Morrison SJ, Pardal R. Bmi-1 promotes neural stem cell self-renewal and neural development but not mouse growth and survival by repressing the p16Ink4a and p19Arf senescence pathways. Genes Dev 2005; 19(12): 1432-7.

34 Fasano CA, Dimos JT, Ivanova NB, Lowry N, Lemischka IR, Temple S. shRNA knockdown of Bmi-1 reveals a critical role for p21-Rb pathway in NSC self-renewal during development. Cell Stem Cell 2007; 1(1): 87-99.

35 Gil-Perotin S, Marin-Husstege M, Li J, Soriano-Navarro M, Zindy F, Roussel MF, *et al*. Loss of p53 induces changes in the behavior of subventricular zone cells: Implication for the genesis of glial tumors. Neurosci 2006; 26(4): 1107-16.

36 Talos F, Abraham A, Vaseva AV, Holembowski L, Tsirka SE, Scheel A, *et al*. p73 is an essential regulator of neural stem cell maintenance in embryonal and adult CNS neurogenesis. Cell Death Differ 2010; 17(12): 1816-29.

37 Sun G, Yu RT, Evans RM, Shi Y. Orphan nuclear receptor TLX recruits histone deacetylases to repress transcription and regulate neural stem cell proliferation. Proc Natl Acad Sci USA 2007; 104(39): 15282-7.

38 Renault VM, Rafalski VA, Morgan AA, Salih DA, Brett JO, Webb AE, *et al*. FoxO3 regulates neural stem cell homeostasis. Cell Stem Cell 2009; 5(5): 527-39.

39 Mukherjee S, Brulet R, Zhang L, Hsieh J. REST regulation of gene networks in adult neural stem cells. Nat Commun 2016; 7: 13360.

40 Wu H, Coskun V, Tao J, Xie W, Ge W, Yoshikawa K, *et al*. Dnmt3a-dependent nonpromoter DNA methylation facilitates transcription of neurogenic genes. Science 2010; 329(5990): 444-8.

41 Guo JU, Su Y, Zhong C, Ming GL, Song H. Emerging roles of TET proteins and 5-hydroxymethylcytosines in active DNA demethylation and beyond. Cell Cycle 2011; 10(16): 2662-8.

42 Ma DK, Jang MH, Guo JU, Kitabatake Y, Chang ML, Pow-Anpongkul N, *et al*. Neuronal activity-induced Gadd45b promotes epigenetic DNA demethylation and adult neurogenesis. Science 2009; 323(5917): 1074-7.

43 Ma DK, Marchetto MC, Guo JU, Ming GL, Gage FH, Song H. Epigenetic choreographers of neurogenesis in the adult mammalian brain. Nat Neurosci 2010; 13(11): 1338-44.

44 Liu C, Teng ZQ, Santistevan NJ, Szulwach KE, Guo W, Jin P, *et al*. Epigenetic regulation of miR-184 by MBD1 governs neural stem cell proliferation and differentiation. Cell Stem Cell 2010; 6(5): 433-44.

45 Chen Z, Li X, Zhou J, Yuan B, Yu B, Tong D, *et al*. Accumulated quiescent neural stem cells in adult hippocampus of the mouse model for the MECP2 duplication syndrome. Sci Rep 2017; 7: 41701.

46 Chell JM, Brand AH. Nutrition-responsive glia control exit of neural stem cells from quiescence. Cell 2010; 143(7): 1161-73.

47 Jiao J, Chen DF. Induction of neurogenesis in nonconventional neurogenic regions of the adult central nervous system by niche astrocyte-produced signals. Stem Cells 2008; 26(5): 1221-30.

48 Urbán N, van den Berg DL, Forget A, Andersen J, Demmers JA, Hunt C, *et al*. Return to quiescence of mouse neural stem

cells by degradation of a proactivation protein. Science 2016; 353(6296): 292-5.

49 Azevedo PO, Lousado L, Paiva AE, Andreotti JP, Santos GS, Sena IF, *et al*. Endothelial cells maintain neural stem cell quiescent in the niche. Neuroscience 2017; 363: 62-5.

50 Silva-Vargas V, Maldonado-Soto AR, Mizrak D, Codega P, Doetsch F. Age-dependent Niche signals from the choroid plexus regulate adult neural stem cells. Cell Stem Cell 2016; 19(5): 643-52.

51 Andreu-Agulló C, Morante-Redolat JM, Delgado AC, Fariñas I. Vascular niche factor PEDF modulates Notch-dependent stemness in the adult subependymal zone. Nat Neurosci 2009; 12(12): 1514-23.

52 Chapouton P, Skupien P, Hesl B, Coolen M, Moore JC, Madelaine R, *et al*. Notch activity levels control the balance between quiescence and recruitment of adult neural stem cells. J Neurosci 2010; 30(23): 7961-74.

53 Lim DA, Tramontin AD, Trevejo JM, Herrera DG, García-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Noggin antagonizes BMP signaling to create a niche for adult neurogenesis. Neuron 2000; 28(3): 713-26.

54 Mathieu C, Sii-Felice K, Fouchet P, Etienne O, Haton C, Mabondzo A, *et al*. Endothelial cell-derived bone morphogenetic proteins control proliferation of neural stem/progenitor cells. Mol Cell Neurosci 2008; 38(4): 569-77.

55 Mira H, Andreu Z, Suh H, Lie DC, Jessberger S, Consiglio A, *et al*. Signaling through BMPR-IA regulates quiescence and long-term activity of neural stem cells in the adult hippocampus. Cell Stem Cell 2010; 7(1): 78-89.

56 Shou J, Rim PC, Calof AL. BMPs inhibit neurogenesis by a mechanism involving degradation of a transcription factor. Nat Neurosci 1999; 2(4): 339-45.

57 Adachi K, Mirzadeh Z, Sakaguchi M, Yamashita T, Nikolcheva T, Gotoh Y, *et al*. Beta-catenin signaling promotes proliferation of progenitor cells in the adult mouse subventricular zone. Stem Cells 2007; 25(11): 2827-36.

58 Kuwabara T, Hsieh J, Muotri A, Yeo G, Warashina M, Lie DC, *et al*. Wnt-mediated activation of NeuroD1 and retro-elements during adult neurogenesis. Nat Neurosci 2009; 12(9): 1097-105.

59 Piccin D, Morshead CM. Wnt signaling regulates symmetry of division of neural stem cells in the adult brain and in response to injury. Stem Cells 2011; 29(3): 528-38.

60 Yoshinaga Y, Kagawa T, Shimizu T, Inoue T, Takada S, Kuratsu J, *et al*. Wnt3a promotes hippocampal neurogenesis by shortening cell cycle duration of neural progenitor cells. Cell Mol Neurobiol 2010; 30(7): 1049-58.

61 Karalay O, Doberauer K, Vadodaria KC, Knobloch M, Berti L, Miquelajauregui A, *et al*. Prospero-related homeobox 1 gene (Prox1) is regulated by canonical Wnt signaling and has a stage-specific role in adult hippocampal neurogenesis. Proc Natl Acad Sci USA 2011; 108(14): 5807-12.

62 Kawai H, Kawaguchi D, Kuebrich BD, Kitamoto T, Yamaguchi M, Gotoh Y, *et al*. Area-specific regulation of quiescent neural stem cells by Notch3 in the adult mouse subependymal zone. J Neurosci 2017; 37(49): 11867-80.

63 Herrick DB, Lin B, Peterson J, Schnittke N, Schwob JE. Notch1 maintains dormancy of olfactory horizontal basal cells, a reserve neural stem cell. Proc Natl Acad Sci USA 2017; 114(28): E5589-98.

中国细胞生物学学报