

神经嵴细胞的研究进展

龚晓雪 楼建林*

(杭州医学院公共卫生学院, 杭州 310013)

摘要 神经嵴细胞是一种由胚胎外胚层细胞在发育过程中产生的暂时性的细胞群。神经嵴细胞具有自我更新和多潜能分化的特征。神经嵴细胞有很强的迁移能力, 能够到达胚胎内的任何位置, 它们能够在所到达的位置定植并成为祖细胞或分化成不同的细胞系, 包括外周神经系统的神经元、内分泌细胞、平滑肌细胞和肌腱细胞等。该细胞群广泛参与组织损伤修复过程并且与实质性器官纤维化相关。该文就神经嵴细胞的生物学特性、迁移和分化机制、在组织损伤修复中的作用以及在纤维化中的作用进行综述。

关键词 神经嵴细胞; 生物学特征; 组织修复; 纤维化

Research Progress on Neural Crest Cells

GONG Xiaoxue, LOU Jianlin*

(School of Public Health, Hangzhou Medical College, Hangzhou 310013, China)

Abstract Neural crest cells are a temporary cell population produced by embryonic ectoderm cells during development. Neural crest cells have the characteristics of self-renewal and pluripotent differentiation. Neural crest cells have strong migration ability and can reach any position of the embryo. They can colonize and become progenitor cells or differentiate into different cell lines, including neurons of the peripheral nervous system, endocrine cells, smooth muscle cells and tendon cells. This cell population is widely involved in the process of tissue damage repair and is associated with substantial organ fibrosis. This article reviews the biological characteristics, migration and differentiation mechanism of neural crest cells, as well as their role in tissue injury repair and their role in fibrosis.

Keywords neural crest cells; biological characteristics; tissue repair; fibrosis

神经嵴细胞(neural crest cells, NCCs)是一种由胚胎外胚层细胞在发育过程中产生的暂时性的细胞群, 能产生多种类型的细胞。该细胞群起源于神经管边缘的外胚层, 经过上皮-间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)后, 可广泛迁移到身体的不同部位从而形成了大量不同的组织和器官^[1-2]。神经嵴细胞可以作为一种去分化状态的神经嵴干细胞(neural crest stem cells, NCSCs)存在于成体动物组织当中, 它们为组织修复与再生医学提供了一个具有治

疗前景的储存库^[3], 因而神经嵴细胞越来越成为干细胞领域中热门的研究对象。本文将就该细胞群的生物学特征、迁移和分化机制、在组织损伤修复中的作用以及在纤维化中的作用进行综述。

1 神经嵴细胞的生物学特征

1.1 神经嵴细胞具有多潜能性

脊椎动物体内大多数初级和迁移的神经嵴细胞具有多潜能性^[4]。神经嵴细胞迁移至目标组织后

收稿日期: 2022-02-07

接受日期: 2022-05-05

国家重点研发计划(批准号: 2019YFE0116100)和国家卫生健康委科学研究基金-浙江省医药卫生重大科技计划(批准号: WKJ-ZJ-2022)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13858025770, E-mail: jianlinlou@163.com

Received: February 7, 2022

Accepted: May 5, 2022

This work was supported by the National Key Research and Development Program (Grant No.2019YFE0116100) and the Science Foundation of National Health Commission-Zhejiang Province Medicine and Health Major Science and Technology Project (Grant No.WKJ-ZJ-2022)

*Corresponding author. Tel: +86-13858025770, E-mail: jianlinlou@163.com

会以神经嵴干细胞的状态维持其多能性,而组织中的神经嵴干细胞则又进一步促进神经嵴源衍生物的生成^[5-6]。神经嵴干细胞可存在于胚胎发育的晚期和成体组织(比如背根神经节、眼角膜、坐骨神经、肠道、心脏、骨髓、毛囊等)中^[7]。神经嵴干细胞在小鼠身体不同部位存在的比例不同,并且从不同部位提取的神经嵴干细胞的性质也有所不同^[8]。尽管神经嵴细胞经过胚胎发育后其多潜能性会受到一定限制,但成体组织中那些表达p75^{NTR}、Sox10等神经嵴细胞标志物的细胞依然能够分化成各种类型的细胞^[9]。

1.2 神经嵴细胞具有自我更新的能力

在哺乳动物整个胚胎发育和出生后成长的过程中,有一部分神经嵴干细胞必须通过自我更新来维持其早期状态而不分化,而其他神经嵴细胞的后代将经历命运限制,最终退出细胞周期并分化^[10]。早期实验表明,神经嵴干细胞在体外培养中通过形成具有自我更新能力的神经嵴球来维持其早期状态而不分化^[10-11]。神经嵴干细胞群受到小G蛋白(RhO GTPases)不同程度的调控。在神经嵴早期发育阶段,Cdc4或者Rac1信号分子的缺失不会对神经嵴干细胞的维持、迁移、分化造成影响,但会影响其细胞周期导致神经嵴细胞迁移后分化形成的组织轮廓缩小。

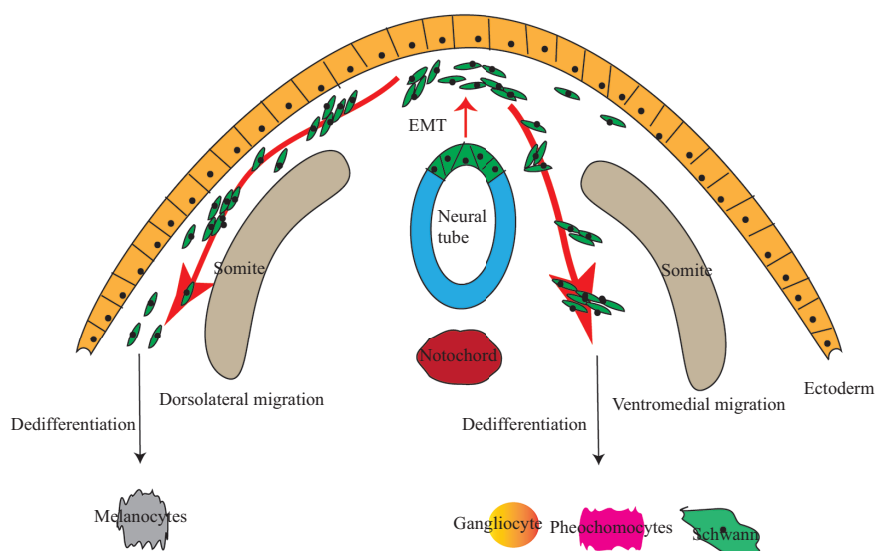
当神经嵴细胞迁移到目标组织后,神经嵴干细胞的增殖能力则依赖于Cdc4或者Rac1信号分子^[12]。

1.3 神经嵴细胞具有广泛迁移性

1.3.1 神经嵴细胞迁移路径 神经嵴细胞从神经管背侧分离后会沿着特定路径迁移并衍生为颅面部、心脏、周围神经系统等重要组织结构。脊椎动物在胚胎发育过程中,其颅神经嵴细胞迁移到鳃弓并分化成特定的骨骼、软骨和脑神经节。躯干神经嵴细胞则有两种迁移路径:一种是通过体节和外胚层间隙的背外侧迁移,一种是通过神经管和体节间隙的腹内侧迁移。向背外侧迁移的细胞群能产生黑色素细胞,而向腹内侧迁移的细胞群则产生感觉和交感神经节、施万细胞和嗜铬细胞(图1)^[13]。

1.3.2 神经嵴细胞迁移过程 神经嵴细胞在迁移过程中会经历EMT,细胞特征会发生变化,包括细胞获得自主运动性、细胞极性消失以及获得一个降钙素的表达开关^[14]。此过程受钙黏蛋白、连接蛋白、SNAIL蛋白、TWIST蛋白和基质金属蛋白(matrix metalloproteinase, MMP)等的调控^[15-16]。间隙连接蛋白43(connexin 43, Cx43)在神经嵴细胞经历EMT的过程中持续表达,且神经嵴细胞迁移需要依靠Cx43的功能(图2)^[17]。

1.3.3 神经嵴细胞迁移方式 细胞流、集体迁

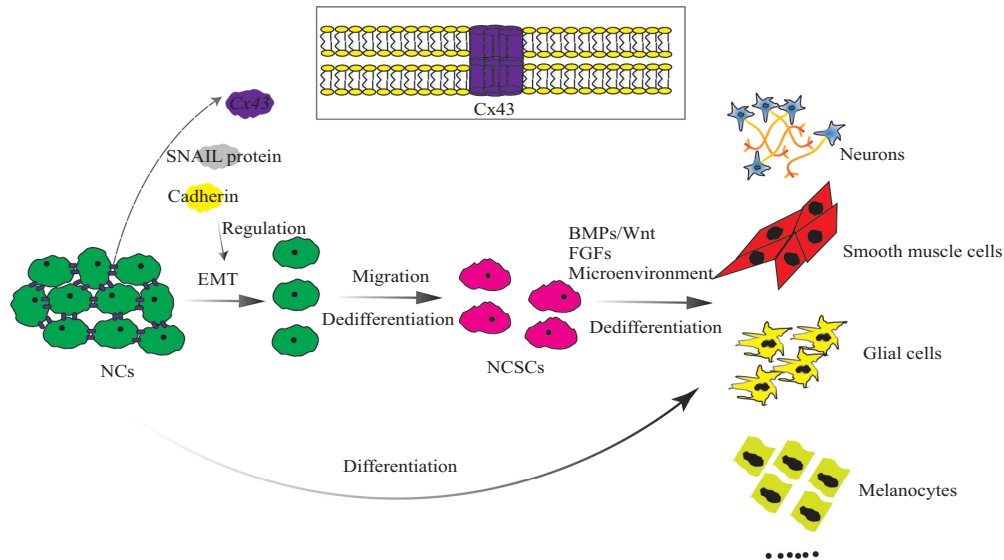


一部分躯干神经嵴细胞群通过体节和外胚层间隙向背外侧迁移并产生黑色素细胞,一部分躯干神经嵴细胞群通过神经管和体节间隙向腹内侧迁移产生感觉和交感神经节、施万细胞和嗜铬细胞。

A part of the trunk neural crest cell population migrates to the dorsolateral side through the somitic and ectodermal space and produces melanocytes, and a part of the trunk neural crest cell population migrates to the ventral medial side through the neural tube and body segment to produce sensory and sympathetic ganglia, Schwann cells, and chromophils.

图1 躯干神经嵴细胞迁移路径(根据参考文献[13]修改)

Fig.1 Migration pathways of trunk neural crest derived cells (modified from the reference [13])



神经嵴细胞在迁移时会经历EMT过程, 此过程受钙黏蛋白、SNAIL蛋白、Cx43蛋白等的调控。神经嵴细胞的迁移与分化受到BMPs/Wnt、FGFs以及微环境等影响, 一部分神经嵴细胞以神经嵴干细胞的状态维持其多潜能性, 一部分神经嵴细胞则可以直接分化为神经元、平滑肌细胞、黑色素细胞、胶质细胞等。

Neural crest cells undergo the EMT process during migration, which is regulated by cadherin, SNAIL protein, Cx43 protein, etc. The migration and differentiation of neural crest cells are affected by BMPs/Wnt, FGFs and microenvironment. Some neural crest cells maintain their polypotency in the state of neural crest stem cells, and some neural crest cells can directly differentiate into neurons, smooth muscle cells, melanocytes, glial cells, etc.

图2 神经嵴细胞迁移及分化方向

Fig.2 Differentiation and migration of neural crest cells

移、定向迁移是神经嵴细胞迁移的主要方式。神经嵴细胞在迁移过程中表现出趋化性和趋电性。神经嵴细胞能够沿着胞外可溶性因子浓度梯度产生定向迁移, 这些趋化性因子包括间质细胞衍生因子1(stromal derived factor 1, SDF-1)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)等; 神经嵴细胞也能在生理电场或适当的外源电场中向正极或者负极的方向移动^[18]。

2 介导神经嵴细胞分化和迁移的机制

2.1 神经嵴细胞分化机制

神经嵴细胞的形成和分化受一个复杂的基因调控网络控制, 该网络由信号通路、转录因子和表观遗传修饰因子组成。骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factors, FGFs)、Wnt蛋白、Notch配体、维甲酸(retinoic acid, RA)和受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinases, RTKs)等触发的不同信号通路参与神经嵴的诱导、特化、细胞迁移和神经分化过程^[19-25]。

染色质域解旋酶DNA结合蛋白7(chromodomain helicase DNA binding protein 7, CHD7)和染

色质重塑复合物SWI/SNF-B(switch/sucrose non fermentable-B)通过控制神经嵴特异基因的表达在神经嵴诱导中起重要作用。染色质重塑以及BMPs/Wnt信号可能共同维持神经嵴细胞的多潜能分化特性, 并且将BMPs/Wnt等信号分子传导至小鼠神经嵴干细胞^[26]。这些信号分子诱导神经嵴基因的表达, 进而参与神经嵴细胞的产生过程^[27-29]。

BMPs和Wnt信号不仅参与了鸡与爪蟾的神经嵴诱导也维持了实验小鼠神经嵴细胞的去分化状态^[30]。由Wnt信号和Lin28a/let7轴形成的调节回路可调节鸟类早期神经嵴细胞的干细胞特性并控制晚期迁移的神经嵴细胞向其他类型细胞的分化^[31]。CHD7、Oct3/4、Sox2和Nanog等在BMP2/Wnt3a信号刺激下直接诱导FoxD3表达, FoxD3进而促进Sox10表达, 而Sox10是小鼠神经嵴干细胞形成不可或缺的转录因子^[32]。

神经嵴细胞分化时面临一系列的二元决策, 而它所做的每一个决定都在细胞特化的范围内。神经嵴细胞选择成为感觉细胞、胶质细胞、自主细胞或间充质细胞时会面临两组竞争性基因的表达, 这类基因将把神经嵴细胞推向不同的发育路径。当细胞选择了一条路径时, 这一种遗传程序就会变

得更强, 而另一种竞争性的程序就会变得相对较弱, 细胞最终会走向它选择的路径。相互竞争的命运程序在细胞获得特定命运的表型特征之前是共同激活的^[33]。

2.2 神经嵴细胞迁移机制

神经嵴细胞从神经管处分离后, 即受到各种细胞内外信号的调控, 这些细胞信号塑造了神经嵴细胞的迁移模式, 影响着细胞的命运。Eph/ephrins、sema-phorins/neuropilins和Slit/Robo等是调节神经嵴细胞向胚胎靶区迁移的排斥信号^[34-36]。CHD7则通过调控信号素3E的表达来影响神经嵴细胞的迁移^[37-38]。BMPs、FGFs、Wnt以及CHD7蛋白等不仅参与神经嵴细胞的分化, 而且对神经嵴细胞从神经管种分离、改变周围的细胞基质等也具有很大作用。

神经嵴细胞从神经管处分离后进行细胞趋化运动直至迁移到腹侧通路, 这个过程需要成纤维细胞生长因子受体1(fibroblast growth factor receptor 1, FGFR1)信号的介导。FGFR1的配体FGF8通过趋化作用能在体内外增加躯干神经嵴细胞的迁移距离^[39]。颅神经嵴细胞迁移需要Rho鸟嘌呤核苷酸交换因子Trio(Rho GEF Trio), 并且Rho GEF Trio可通过与神经嵴细胞相互作用激活Rac1, 促进神经嵴细胞突起的形成^[40]。Trio与Myh9的相互作用是NCC迁移和分化的关键调节剂^[41]。转录共激活因子相关蛋白(transcriptional co-activators Yes-associated protein, YAP)是Hippo信号通路的效应器, 控制着发育的各个方面, 包括细胞增殖、迁移、存活和分化。YAP在鸟类胚胎初级神经嵴中表达活跃, 激活YAP功能可以刺激神经嵴细胞在体内迁移, 而YAP功能的减弱则会抑制神经嵴细胞周期的退出。当BMPs与Wnt的活性被抑制时, 受YAP调控的神经嵴细胞的增殖和迁移过程就会受到影响, 可以认为Hippo-SYP信号通路参与调控神经嵴细胞的增殖、迁移、特化等过程^[42-43]。

细胞所处的微环境和细胞自主因素都可能影响到神经嵴细胞的分化和迁移^[44]。肠神经嵴细胞可以通过分泌细胞外基质蛋白主动重塑其微环境来控制自身的迁移^[45]。有新研究发现, 神经嵴细胞从神经管背侧分离进行EMT时, 基质金属蛋白酶14(matrix metalloproteinase-14, MMP14)表达量增加。MMP14可能是神经嵴细胞上皮-间充质化级联反应的早期参与者^[46-47]。

3 神经嵴细胞在组织修复中的作用

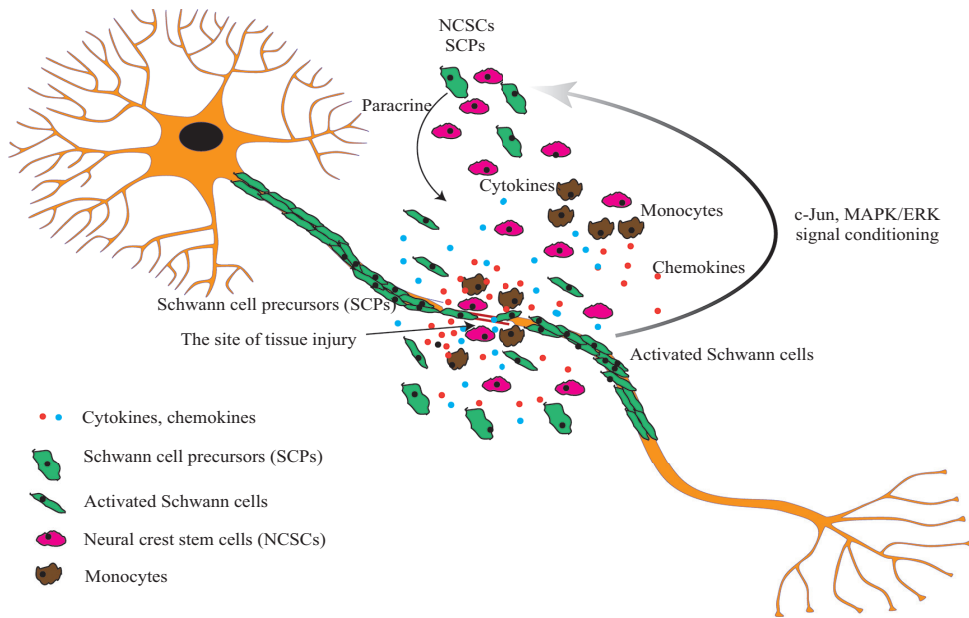
3.1 神经嵴源衍生物通过去分化或者激活具有干细胞特征的细胞的方式修复组织

神经嵴源衍生物通过促进神经嵴细胞衍生的特化细胞的去分化或者激活残留在组织中具有神经嵴干细胞特征的细胞来应对损伤和应激。成人腭组织受到损伤时, 位于该组织中的神经嵴源衍生物细胞会在伤口愈合过程中分化成角质细胞和成骨细胞等细胞^[48]。周围神经的轴突被髓鞘化和非髓鞘化施万细胞所覆盖, 这些施万细胞源自神经嵴来源的施万细胞前体(Schwann cell precursors, SCPs)^[49]。当应对损伤时, 施万细胞会去分化为SCPs或者是NCSCs样细胞。例如, 在成年神经损伤后, 邻近损伤处和残端处的成熟髓鞘化施万细胞开始增殖并转化为一种特定的细胞类型, 这些修复细胞重新表达了不成熟的施万细胞甚至早期神经嵴源衍生物的特征基因, 如修复细胞上调肌腱蛋白c(repair cells upregulate expression of tenascin-c, Tnc)^[50]。

当人外周神经损伤时, 施万细胞的去分化与激活被认为部分受c-Jun和MAPK/ERK信号调节。基因c-Jun抑制髓鞘化基因表达并诱导施万细胞修复编程。MAPK/ERK的激活可诱导施万细胞在神经和免疫细胞趋化过程中去分化。此外, 施万细胞激活信号的持续时间和水平对神经组织修复过程也很重要。MAPK/ERK的持续激活会导致神经损伤无法正常桥接和恢复, 而基因c-Jun过表达会导致低髓鞘化^[51]。

3.2 神经嵴源衍生物通过旁分泌的方式来修复组织

小鼠坐骨神经损伤时, 施万细胞会大量分泌细胞因子和趋化因子, 如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)、白细胞介素(interleukin, IL)等, 帮助招募单核细胞。为了促进轴突生长, 施万细胞会上调编码一系列神经营养生长因子[包括胶质细胞源性神经营养因子(glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF)、脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、神经营养因子3(neurotrophin-3, NT-3)、神经生长因子(nerve growth factor, NGF)等]的基因以帮助招募单核细胞(图3)。修复细胞也会产生细胞外基质(extracellular



当神经损伤时,邻近施万细胞在c-Jun和MAPK/ERK信号调节下被激活并去分化为SCPs或者是NCSCs样细胞。此外,施万细胞以及神经嵴衍生物会分泌大量细胞因子和趋化因子以帮助招募单核细胞并促进组织修复。

In the event of nerve damage, neighboring Schwann cells are activated and dedifferentiated into SCPs or NCSCs-like cells under the regulation of c-Jun and MAPK/ERK signals. In addition, Schwann cells, as well as neural crest derivatives, secrete cytokines and chemokines in large quantities to help recruit monocytes to promote tissue repair.

图3 神经嵴细胞组织修复
Fig.3 Neural crest cells in tissue repair

matrix, ECM)成分以及促进神经元轴突生长的层黏连蛋白(laminin)^[51-52]。当周围神经损伤时,分化的神经嵴细胞能够产生和分泌多种具有生物活性的营养因子以促进体外神经突的生长并为周围神经再生提供营养支持^[53]。

3.3 神经嵴细胞具备吞噬细胞的能力

在神经管闭合和脊髓发育过程中,许多细胞会在中枢和周围神经系统中凋亡,神经嵴细胞能对神经管周围的凋亡细胞和吞噬细胞碎片作出快速反应。神经嵴细胞的吞噬作用机制类似于巨噬细胞的吞噬作用,在白细胞介素1b介导下,神经嵴细胞向细胞碎片方向募集并在吞噬碎片后逐渐酸化最终形成PI(3)P⁺和Lamp1⁺的吞噬体^[54]。

3.4 神经嵴衍生物表现成纤维细胞特征促进ECM合成

当跟腱应对损伤时,大量神经细胞聚集在伤口处通过调节神经肽Y刺激血管形成。其中有一部分神经嵴来源的成纤维细胞会促进肌腱纤维化,一部分神经嵴来源的间充质细胞则分化成成骨细胞与脂肪细胞,并且当神经嵴衍生物被激活时,其又能调节腱细胞的细胞功能^[55]。

4 神经嵴细胞在纤维化中的作用

纤维化可发生于多种器官,主要病理改变为器官组织内纤维结缔组织增多,实质细胞减少。成纤维细胞和肌成纤维细胞被普遍认为是关键的纤维化效应细胞,负责细胞外基质的蛋白质合成。如前所述,神经嵴衍生物应对跟腱损伤时表现出成纤维细胞特征,这表明神经嵴来源细胞确实参与了组织纤维化过程,但该细胞群在不同组织器官纤维化的表现是否具有差异、在纤维化进程扮演什么样的角色以及如何促进纤维化进程等一系列问题都值得探讨分析。

4.1 神经嵴细胞促进肝纤维化中的胶质细胞增殖

SIERRA等^[55]通过小鼠遗传示踪模型探究神经嵴细胞与肝纤维化的关系时指出神经嵴细胞可能参与了肝纤维化胶质化过程。实验结果表明,位于门静脉周围的神经胶质细胞是由神经嵴来源的非髓鞘化施万细胞组成的,当发生肝纤维化时,肝实质区域内的胶质细胞会被激活进而大量增殖。从该结果来看,神经嵴细胞似乎只对纤维形成过程中被激活的肝胶质细胞起作用。对于肝纤维化中肝胶质细胞大量增殖的原因文中却并未有详细提及。

4.2 神经嵴细胞增殖分化肾成纤维细胞

MACK等^[56]利用P0-Cre转基因小鼠对外周神经系统中的施万细胞进行谱系示踪研究, 他们发现这些转基因小鼠体内的迁移神经嵴细胞和神经嵴来源的施万细胞会表达Cre重组酶。肾间质、皮质和外髓质中的大多数肾成纤维细胞以及分泌促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)的细胞也被P0-Cre谱系标记。已有研究证实, 神经嵴细胞的某些亚群能分泌EPO^[57], 这很有可能是因为在胚胎发育期间, 神经嵴细胞迁移到肾中并分化为常驻肾脏的成纤维细胞及部分能分泌EPO的细胞。由此可见, 一部分肾脏常驻成纤维细胞来源于神经嵴细胞。

4.3 神经嵴细胞在肺纤维化中的新发现

SHI等^[58]在利用博来霉素诱导的肺纤维化动物模型中发现了具有异常细胞表型的神经嵴细胞群, 并在分离纤维化小鼠外周血中的单核细胞并选择性培养时检测出了循环神经嵴源性间充质祖细胞。有研究表明机体在纤维化和癌症情况下, 体内循环的单核细胞具有增殖和转分化为间充质型细胞的能力, 这种循环的单核样细胞起源于神经嵴细胞, 充当着外胚层间充质干细胞(ectomesenchymal stem cell)的角色^[59]。目前, 骨髓来源的间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)在临床研究中被广泛地应用于抗肺纤维化。当前研究认为, MSCs抗肺纤维化的作用主要表现为其归巢、分化和旁分泌效应^[60]。尽管目前尚未有神经嵴细胞与肺纤维化的相关报道, 但我们或许能从其他器官纤维化中神经嵴细胞的表现获取灵感。比如早期已有研究在心脏修复性纤维化中发现表达巢蛋白(nestin)的神经嵴细胞^[61]。此外, PENG等^[62]也利用神经嵴干细胞条件培养基显著降低由缺血再灌注引起的肺水肿发生的风险, 这种保护机制可能是由于该条件培养基抑制了NF- κ B的活化, 减轻了炎症反应。

4.4 神经嵴细胞在肺纤维化中的可能作用

小鼠肺部位于气道周围的神经细胞源自神经嵴细胞, 这些细胞会形成一种内在神经网络并支配肺部气道平滑肌^[63-64]。另外, 在胚胎发育过程中, 神经嵴干细胞可以通过血液循环系统进入骨髓中^[65]。我们认为既然神经嵴细胞可广泛分布在成体组织器官中, 且肺的发育形成与神经嵴细胞密切相关, 那么我们假设: 不同原因引起的肺损伤, 可能激活外周血中的神经嵴细胞或者其衍生物, 然后在某些细胞因

子作用下该细胞群从外周血被募集到肺组织中, 且在受损的部位进一步分化成纤维细胞或肌成纤维细胞, 并合成细胞外基质, 从而发挥其生理性的损伤修复和病理性的致纤维化作用。当然, 这还需要体内外实验进一步去验证和阐明机理。

5 结语与展望

神经嵴是一个过渡性结构, 成体脊椎动物胚胎发育后期不会再有这种结构。神经嵴细胞在神经管背部经历上皮-间充质转换过程后能广泛迁移并产生大量各种类型细胞, 且成体组织中的神经嵴干细胞依然保持其多潜能性。由此可见, 神经嵴细胞的功能性研究依然是未来干细胞领域的热点之一。神经嵴细胞的分化迁移不仅受到严格且复杂的基因调控网络控制而且也会受到微环境影响, 所以对于该细胞在整个胚胎发育乃至生长等一系列过程中的全部导向机制, 我们还知之甚少。调控神经嵴细胞迁移分化的基因网络受到干扰必会引发神经嵴病, 这将严重影响患者的心理健康与身体机能。伴随着活体成像等新技术的成熟发展, 细胞动态可视化正陆续揭示神经嵴细胞的生物学奥秘以及神经嵴病的发病机制。

神经嵴细胞因为具有干细胞的生物学特征, 又广泛参与神经组织的形成与损伤修复过程, 所以该细胞在组织修复领域的研究越来越受到广泛关注^[66]。但是神经嵴细胞在纤维化中的作用研究目前还停留在该细胞群在纤维化过程中可能的表现, 更深入的作用机制依然需要时间探讨。尽管已经有研究可以从胚胎、人脐带血、皮肤、毛囊中提取神经嵴衍生物并在体外进行培养^[67], 但是当前依然缺乏一个更加简单高效的神经嵴原代细胞体外培养方案。作者认为这也是未来神经嵴细胞在纤维化研究中的工作方向之一。结合由博来霉素诱导的肺纤维化病灶中发现的该类异常细胞群, 以及跟腱损伤修复时神经嵴来源的成纤维细胞也参与纤维化过程这两个发现, 我们产生了大胆的想法: 或许神经嵴来源的成纤维细胞也参与肺组织损伤修复过程。

尽管目前有关神经嵴细胞的研究主要集中在神经损伤修复, 而其在肺纤维化中作用的研究还处于探索阶段^[58], 但脊髓或脂肪来源间充质干细胞移植、肺巨噬细胞等在肺纤维化发生发展中的作用研

究已有相关报道。因此,神经嵴细胞在肺纤维化中的新发现以及神经嵴细胞在纤维化中的表现与作用探究将为诊断治疗肺纤维化提供新的希望。

参考文献 (References)

- [1] ALKOBTAWI M, RAY H, BARRIGA E H, et al. Characterization of Pax3 and Sox10 transgenic *Xenopus laevis* embryos as tools to study neural crest development [J]. *Dev Biol*, 2018, 444: S202-S208.
- [2] VEGA-LOPEZ G A, CERRIZUELA S, AYBAR M J. Trunk neural crest cells: formation, migration and beyond [J]. *Int J Dev Biol*, 2017, 61(1/2): 5-15.
- [3] DUBANDJ L, NEKOOIE-MARNANY N, DUFOUR S. Establishing primary cultures of trunk neural crest cells [J]. *Curr Protoc Cell Biol*, 2020, 88(1): e109.
- [4] BAGGIOLINI A, VARUM S, MATEOS J M, et al. Premigratory and migratory neural crest cells are multipotent *in vivo* [J]. *Cell Stem Cell*, 2015, 16(3): 314-22.
- [5] KUNISADA T, TEZULKA K, AOKI H, et al. The stemness of neural crest cells and their derivatives [J]. *Birth Defects Res C Embryo Today*, 2014, 102(3): 251-62.
- [6] COOPER F, TSAKIRIDIS A. Shaping axial identity during human pluripotent stem cell differentiation to neural crest cells [J]. *Biochem Soc Trans*, 2022, 50(1): 499-511.
- [7] LI T, CHEN S, PEI M. Contribution of neural crest-derived stem cells and nasal chondrocytes to articular cartilage regeneration [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(23): 4847-59.
- [8] 神经嵴源性干细胞研究有新发现 [J]. *医学研究杂志* (New findings in neural crest-derived stem cell research [J] *Journal of Medical Research*), 2008, 37(10): 49.
- [9] SOTO J, DING X, WANG A, et al. Neural crest-like stem cells for tissue regeneration [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2021, 10(5): 681-93.
- [9] WONG C E, PARATORE C, DOURS-ZIMMERMANN M T, et al. Neural crest-derived cells with stem cell features can be traced back to multiple lineages in the adult skin [J]. *J Cell Biol*, 2006, 175(6): 1005-15.
- [10] MOHLINS, KUNTAS E, PERSSON C U, et al. Maintaining multipotent trunk neural crest stem cells as self-renewing crestspheres [J]. *Dev Biol*, 2019, 447(2): 137-46.
- [11] MOHLIN S, KEROSUO L. *In vitro* maintenance of multipotent neural crest stem cells as crestspheres [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 2002: 1-11.
- [12] FUCHS S, HERZOG D, SUMARA G, et al. Stage-specific control of neural crest stem cell proliferation by the small rho GTPases Cdc42 and Rac1 [J]. *Cell Stem Cell*, 2009, 4(3): 236-47.
- [13] NAGOSHI N, SHIBATA S, NAKAMURA M, et al. Neural crest-derived stem cells display a wide variety of characteristics [J]. *J Cell Biochem*, 2009, 107(6): 1046-52.
- [14] VANDAMME N, BERX G. From neural crest cells to melanocytes: cellular plasticity during development and beyond [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(10): 1919-34.
- [15] 蒋锐达. 神经嵴细胞趋化性和趋电性迁移动力学对比研究[D]. 昆明: 云南师范大学, 2017.
- [16] PUNOVOURI K, MALAGUTI M, LOWELL S. Cadherins in early neural development [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78(9): 4435-50.
- [17] JOURDEUIL K, TANEYHILL L A. The gap junction protein connexin 43 controls multiple aspects of cranial neural crest cell development [J]. *J Cell Sci*, 2020, 133(4): jcs235440.
- [18] 蒋锐达, 赵敏, 赵三军, 等. 胚胎发育中神经嵴细胞迁移机制的研究进展 [J]. *基因组学与应用生物学* (JIANG R D, ZHAO M, ZHAO S J, et al. Research advance on the migration mechanism of neural crest cell during embryonic development [J]. *Genomics and Applied Biology*), 2018, 37(9): 3799-809.
- [19] MENDEZ-MALDONADO K, VEGA-LOPEZ G A, AYBAR M J, et al. Neurogenesis from neural crest cells: molecular mechanisms in the formation of cranial nerves and ganglia [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 635.
- [20] JI Y, HAO H, REYNOLDS K, et al. Wnt signaling in neural crest ontogenesis and oncogenesis [J]. *Cells*, 2019, 8(10): 1173.
- [21] DASH S, TRAINOR P A. The development, patterning and evolution of neural crest cell differentiation into cartilage and bone [J]. *Bone*, 2020, 137: 115409.
- [22] MILLER S R, BENIT C, MIRSKY R, et al. Neural crest Notch/Rbpj signaling regulates olfactory gliogenesis and neuronal migration [J]. *Genesis*, 2018, 56(6/7): e23215.
- [23] TEIXEIRA B L, AMARANTE-SILVA D, VISONIS B, et al. FGF2 stimulates the growth and improves the melanocytic commitment of trunk neural crest cells [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2020, 40(3): 383-93.
- [24] ALKOBTAWI M, PIA P, MONSORO-BURG A H. BMP signaling is enhance intracellularly by FHL3 controlling WNT-dependent spatiotemporal emergence of the neural crest [J]. *Cell Rep*, 2021, 35(12): 109289.
- [25] COPELAND J, SIMOES-COSTA M. Post-transcriptional tuning of FGF signaling mediates neural crest induction [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(52): 33305-16.
- [26] FUJITA K, OGAWA R, KAWAWAKI S, et al. Roles of chromatin remodelers in maintenance mechanisms of multipotency of mouse trunk neural crest cells in the formation of neural crest-derived stem cells [J]. *Mech Dev*, 2014, 133: 126-45.
- [27] HALDIN C E, LABONNE C. SoxE factors as multifunctional neural crest regulatory factors [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42(3): 441-4.
- [28] MUNDELL N A, LABOSKY P A. Neural crest stem cell multipotency requires Foxd3 to maintain neural potential and repress mesenchymal fates [J]. *Development*, 2011, 138(4): 641-52.
- [29] TENG L, MUNDELL N A, FRIST A Y, et al. Requirement for Foxd3 in the maintenance of neural crest progenitors [J]. *Development*, 2008, 135(9): 1615-24.
- [30] ACHILLEOS A, TRAINOR P A. Neural crest stem cells: discovery, properties and potential for therapy [J]. *Cell Res*, 2012, 22(2): 288-304.
- [31] BHATTACHARYA D, ROTHSTEIN M, AZAMBUJA A P, et al. Control of neural crest multipotency by Wnt signaling and the Lin28/let-7 axis [J]. *eLife*, 2018, 7: e40556.
- [32] FUJITA K, OGAWA R, ITO K. CHD7, Oct3/4, Sox2, and Nanog control FoxD3 expression during mouse neural crest-derived stem cell formation [J]. *FEBS J*, 2016, 283(20): 3791-806.
- [33] SOLDATOV R, KAUCKA M, KASTRITI M E, et al. Spatiotemporal structure of cell fate decisions in murine neural crest [J]. *Science*, 2019, 364(6444): eaas9536.
- [34] KURIYAMA S, MAYO R. Molecular analysis of neural crest

- migration [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2008, 363(1495): 1349-62.
- [35] SZABO A, MAYOR R. Mechanisms of neural crest migration [J]. *Annu Rev Genet*, 2018, 52: 43-63.
- [36] LI Y, ZHANG X T, WANG X Y, et al. Robo signaling regulates the production of cranial neural crest cells [J]. *Exp Cell Res*, 2017, 361(1): 73-84.
- [37] KALEV-ALTMAN R, HANAEL E, ZELINGER E, et al. Conserved role of matrix metalloproteases 2 and 9 in promoting the migration of neural crest cells in avian and mammalian embryos [J]. *FASEB J*, 2020, 34(4): 5240-61.
- [38] LETTIERI A, OLEARI R, PAGANONI A J J, et al. Semaphorin regulation by the chromatin remodeler CHD7: an emerging genetic interaction shaping neural cells and neural crest in development and cancer [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 638674.
- [39] DUNKEL H, CHAVERRA M, BRADLEY R, et al. FGF signaling is required for chemokinesis and ventral migration of trunk neural crest cells [J]. *Dev Dyn*, 2020, 249(9): 1077-97.
- [40] KRATZER M C, BECKE S F S, GRUND A, et al. The Rho guanine nucleotide exchange factor Trio is required for neural crest cell migration and interacts with Dishevelled [J]. *Development*, 2020, 147(10): dev186338.
- [41] GUO S, MENG L, LIU H, et al. Trio cooperates with Myh9 to regulate neural crest-derived craniofacial development [J]. *Theranostics*, 2021, 11(9): 4316-34.
- [42] KUMAR D, NITZAN E, KALCHEIM C. YAP promotes neural crest emigration through interactions with BMP and Wnt activities [J]. *Cell Commun Signal*, 2019, 17(1): 69.
- [43] ZHAO X, LE T P, ERHARDT S, et al. Hippo-Yap pathway orchestrates neural crest ontogenesis [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 706623.
- [44] TANG W, LI Y, LIA, et al. Clonal analysis and dynamic imaging identify multipotency of individual *Gallus gallus* caudal hind-brain neural crest cells toward cardiac and enteric fates [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 1894.
- [45] NAGY N, BARAD C, HOTTA R, et al. Collagen 18 and agrin are secreted by neural crest cells to remodel their microenvironment and regulate their migration during enteric nervous system development [J]. *Development*, 2018, 145(9): dev160317.
- [46] ANDRIEU C, MONTIGNY A, BIBONNE A, et al. MMP14 is required for delamination of chick neural crest cells independently of its catalytic activity [J]. *Development*, 2020, 147(7): dev183954.
- [47] KALEV-ALTMAN R, HANAEL E, ZELINGER E, et al. Conserved role of matrix metalloproteases 2 and 9 in promoting the migration of neural crest cells in avian and mammalian embryos [J]. *FASEB J*, 2020, 34(4): 5240-61.
- [48] TAKIZAWA H, KARAKAWA A, SUZAWA T, et al. Neural crest-derived cells possess differentiation potential to keratinocytes in the process of wound healing [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 146: 112593.
- [49] JESSEN K R, MIRSKY R. The origin and development of glial cells in peripheral nerves [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2005, 6(9): 671-82.
- [50] JESSEN K R, MIRSKY R. The repair Schwann cell and its function in regenerating nerves [J]. *J Physiol*, 2016, 594(13): 3521-31.
- [51] PARFEJEVS V, ANTUNES A T, SOMMER L. Injury and stress responses of adult neural crest-derived cells [J]. *Dev Biol*, 2018, 444(Suppl 1): S356-S65.
- [52] ZURKIRCHEN L, SOMMER L. Quo vadis: tracing the fate of neural crest cells [J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2017, 47: 16-23.
- [53] JONES I, NOVIKOVA L N. Regenerative effects of human embryonic stem cell-derived neural crest cells for treatment of peripheral nerve injury [J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2018, 12(4): e2099-e109.
- [54] ZHU Y, CROWLEY S C, LATIMER A J, et al. Migratory neural crest cells phagocytose dead cells in the developing nervous system [J]. *Cell*, 2019, 179(1): 74-89.e10.
- [55] SIERRA R, GOMEZ BUSTILLO S, KAMENEVA P, et al. Contribution of neural crest and GLAST⁺Wnt1⁺ bone marrow pericytes with liver fibrogenesis and/or regeneration [J]. *Liver Int*, 2020, 40(4): 977-87.
- [56] MACK M, YANAGITA M. Origin of myofibroblasts and cellular events triggering fibrosis [J]. *Kidney Int*, 2015, 87(2): 297-307.
- [57] SUZUKI N, HIRANO I, PAN X, et al. Erythropoietin production in neuroepithelial and neural crest cells during primitive erythropoiesis [J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 2902.
- [58] SHI W. Growth and/or recruitment of a novel cell population with neural crest origin in lung fibrosis [R]. *Childrens Hospital Los Angeles Los Angeles United States*, 2019.
- [59] LABAT M L, MILHAUD G, POUCHELET M, et al. On the track of a human circulating mesenchymal stem cell of neural crest origin [J]. *Biomed Pharmacother*, 2000, 54(3): 146-62.
- [60] 李小红, 罗自强. 内源性骨髓间充质干细胞在肺纤维化中的研究进展 [J]. *生理学报* (LI X H, LUO Z Q. Research progress of endogenous bone marrow-derived mesenchymal stem cells in pulmonary fibrosis [J]. *Acta Physiologica Sinica*), 2020, 72(5): 597-604.
- [61] EI-HELOUI V, BEGUIN P C, ASSIMAKOPOULOS J, et al. The rat heart contains a neural stem cell population; role in sympathetic sprouting and angiogenesis [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2008, 45(5): 694-702.
- [62] PENG C K, WU S Y, TANG S E, et al. Protective effects of neural crest-derived stem cell-conditioned media against ischemia-reperfusion-induced lung injury in rats [J]. *Inflammation*, 2017, 40(5): 1532-42.
- [63] HUTCHINS E J, KUNTTAS E, PIACENTINO M L, et al. Migration and diversification of the vagal neural crest [J]. *Dev Biol*, 2018, 444(Suppl 1): S98-S109.
- [64] FREE L J, ESCOT S, TANNAHILL D, et al. The intrinsic innervation of the lung is derived from neural crest cells as shown by optical projection tomography in Wnt1-Cre;YFP reporter mice [J]. *J Anat*, 2010, 217(6): 651-64.
- [65] NAGOSHI N, SHIBATA S, KUBOTA Y, et al. Ontogeny and multipotency of neural crest-derived stem cells in mouse bone marrow, dorsal root ganglia, and whisker pad [J]. *Cell Stem Cell*, 2008, 2(4): 392-403.
- [66] SOTO J, DING X, WANG A, et al. Neural crest-like stem cells for tissue regeneration [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2021, 10(5): 681-93.
- [67] AL-BAKRI Z, ISHIGE-WADA M, FUKUDA N, et al. Isolation and characterization of neural crest-like progenitor cells in human umbilical cord blood [J]. *Regen Ther*, 2020, 15: 53-63.