

· 综述 ·

神经干细胞永生化的机制及其应用进展

马逸夫 孙芳玲 刘婷婷 田欣 王文

【摘要】 神经干细胞 (NSCs) 在神经系统的发育、再生和修复过程中发挥着至关重要的作用。近年来,随着对 NSCs 特性研究的深入, NSCs 的永生化技术逐渐成为神经生物学领域的研究热点。这种技术不仅能够克服 NSCs 在体外培养中分裂能力受限的问题,还为其在基础研究和临床应用中的广泛使用提供可能性。然而,目前 NSCs 永生化的机制、技术方法以及临床应用仍面临许多挑战和问题。本文对 NSCs 永生化的研究进展进行总结,并探讨其在神经退行性疾病和脑损伤修复等领域的应用潜力,期望为干细胞未来研究方向提供新的视角,进一步推动 NSCs 永生化技术在临床中的应用。

【关键词】 神经干细胞; 永生化; 临床应用; 神经退行性疾病; 脑卒中

Progress in mechanism and application of immortalization of neural stem cells Ma Yifu, Sun Fangling, Liu Tingting, Tian Xin, Wang Wen. Department of Experimental Animal Center, Xuan-Wu Hospital of Capital Medical University, Beijing 100053, China
Corresponding author: Wang Wen, Email: lzwwang@163.com

【Abstract】 Neural stem cells (NSCs) play a crucial role in the development, regeneration and repair of the nervous system. In recent years, with the in-depth research on the characteristics of NSCs, the immortalization technology of NSCs has gradually become a research hotspot in the field of neurobiology. This technique is not only able to overcome the problem of limited division capacity of NSCs *in vitro* culture, but also offers the possibility of their widespread use in basic research and clinical applications. However, there are still many challenges and problems in the mechanism, technical methods and clinical application of immortalized NSCs. This article summarizes the latest research progress of neural stem cell immortalization, and discusses its application potential in the field of neurodegenerative diseases and brain injury repair, hoping to provide a new perspective for the future research direction of stem cells and further promote the clinical application of immortalization technology of NSCs.

【Key words】 Neural stem cells; Immortalization; Clinical application; Neurodegenerative disease; Stroke

神经干细胞 (neural stem cells, NSCs) 是具有自我更新和多向分化潜能的细胞,主要存在于中枢神经系统中。它们能够分化为包括神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞在内的多种类型神经细胞。NSCs 不仅参与神经系统的发育,还在成年个体中维持神经元的更新和修复发挥重要作用^[1]。NSCs 的特性使其成为神经退行性疾病、脑损伤及其他神经系统疾病的潜在治疗靶点,对改善脊髓损伤和脑损伤功能发挥重要作用^[2-3]。

永生化是指细胞在特定培养条件下获得无限增殖能力的过程,这一技术对细胞生物学和再生医学研究具有重要意义。永生化技术使 NSCs 获得显著增强的增殖能力,

并在长期培养下维持其细胞形态和功能的稳定性,减少细胞衰老和分化潜能的丢失。这种永生化干细胞的特性可以为神经系统损伤和退行性疾病治疗,提供大量稳定的细胞资源^[4]。NSCs 永生化技术的核心价值在于通过调控细胞增殖相关机制,使 NSCs 突破自然增殖限制,从而为基础研究提供稳定的细胞模型,并为临床治疗提供充足、功能稳定的细胞资源,最终推动 NSCs 从基础研究向临床应用的转化^[4]。研究表明,永生化后的 NSCs 移植能够通过分泌神经营养因子和调节免疫反应促进脑损伤后神经再生^[5]。因此,对 NSCs 永生化的研究为开发新的治疗策略提供重要依据。本文对 NSCs 的特性、功能及其永生化的机制研究进展进行总结,并探讨将其开发为治疗神经退行性疾病和脑损伤修复等疾病新策略的应用潜力,推动 NSCs 治疗的临床应用。

DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2025.04.009

作者单位: 100053 北京,首都医科大学宣武医院实验动物室

通信作者: 王文, Email: lzwwang@163.com



中华医学电子音像出版社
CHINESE MEDICAL MULTIMEDIA PRESS

1 干细胞的永生化机制

1.1 基因组稳定性与细胞周期调控

基因组的稳定性是维持细胞功能和生存的重要因素,干细胞的永生化与其基因组的稳定性密切相关。研究表明,组蛋白 H3.1 具有维持染色质结构的作用。具体来说,在胚胎干细胞中,组蛋白 H3.1 通过 DNA 复制偶联途径在 S 期富集于染色中心,该结构对维持核形态稳定性和有丝分裂至关重要^[6]。此外, Cop9 信号体亚基 5 (Cop9 signalosome subunit 5, Cops5) 通过抑制线粒体载体蛋白 2 (Mtch2) 的自噬降解,减少活性氧积累,从而降低内源性 DNA 损伤。缺失 Cops5 引发活性氧升高、DNA 损伤累积,激活 p53 依赖的 G2/M 期阻滞和凋亡,破坏 NSCs 的自我更新能力^[7]。NSCs 具有精细的细胞周期调控能力,以维持其增殖能力和分化潜能,涉及细胞周期蛋白、激酶及其抑制因子等多种因子的相互作用。其细胞周期的调控不仅涉及干细胞的增殖,还包括对干细胞基因组完整性的监控,确保分裂过程中能够准确传递遗传信息。干细胞周期调控失常导致基因组不稳定,进而影响干细胞的自我更新和分化的潜能。通过调控细胞周期相关蛋白的表达,可以有效延长 NSCs 的增殖能力。例如,通过使用细胞周期蛋白依赖性激酶 4 或细胞周期蛋白 D1 的病毒对干细胞进行转染,可促进干细胞的增殖并实现其永生化^[8]。自噬和 beclin 1 调节器 1 (autophagy and beclin1 regulator1, AMBRA1) 通过泛素-蛋白酶体途径介导的降解导致细胞周期蛋白 D (Cyclin D) 表达水平降低,并抑制 MYCN/MYC 转录活性以降低 Cyclin D 表达。实验发现,在 AMBRA1 缺失的 NSCs 中, Cyclin D 异常累积导致 DNA 复制应激和基因组不稳定性。上述分子机制共同构成 NSCs 永生化的核心调控网络^[9]。

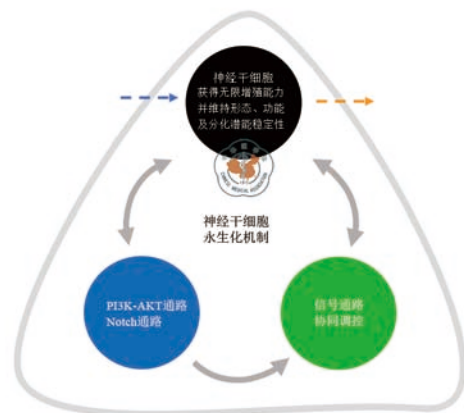
1.2 端粒酶的作用与调控

端粒酶是保持细胞染色体稳定性和维持活性的重要酶类,它通过延长端粒的长度保护染色体免受衰老和凋亡的影响。在 NSCs 中,端粒酶的活性与细胞的增殖能力密切相关^[10]。研究发现,端粒酶的主要成分——端粒酶逆转录酶(telomerase reverse tranase, TERT) 通过合成端粒 DNA 延长端粒的长度,延缓细胞的衰老过程^[11]。同时, TERT 在 NSCs 中具有较高的表达量,使干细胞在多次分裂后仍然维持端粒的完整性。特别在神经发育和再生过程中,端粒酶的调控尤为重要,不仅影响细胞的生长和分化,还影响神经系统的整体功能和修复能力。例如,糖皮质激素能够通过调节 TERT 的表达影响 NSCs 的增殖和发育^[12]。端粒酶的表达受到多种内外因素因素的调控,包括信号转导通路、转录因子及表观遗传修饰等。TERT 参与氧化应激响应通路,特别是在维持细胞氧化还原稳态中发挥关键作用。研究证实,当细胞暴露于活性氧等环境压力时, TERT 被招募至线粒体,调节线粒体 DNA 的保护和抗氧化酶的水平,从而响应细胞应激信号。这种调控在 NSCs 中能通过减轻氧化损伤维持细胞增殖和端粒完整性^[13]。例如,在神经退行性疾病背景下,

TERT 通过抗氧化应激途径影响细胞衰老过程,与 NSCs 的生存和分化能力直接相关^[14]。端粒酶的表达受特定转录因子的直接调控。近期研究表明,转录因子 ELF4 能结合于 TERT 启动子区域,增强其转录活性。ELF4 识别并结合到 HBV Enhancer I 与 TERT 启动子的嵌合结构上,从而促进 TERT 表达^[15]。

1.3 Notch 和磷脂酰肌醇 3 激酶 / 蛋白激酶 B (PI3K/AKT) 通路的参与

细胞信号通路在 NSCs 的永生化过程中扮演至关重要的角色。PI3K/AKT 信号通路被广泛认为是调控细胞增殖、生存和代谢的重要通路。在 NSCs 中, PI3K/AKT 信号通路的激活能够促进细胞的自我更新和增殖,同时抑制凋亡^[16]。Notch 信号通路在 NSCs 的命运决定中发挥重要作用。Notch 信号的激活可以通过抑制过度分化维持干细胞的未分化状态,从而促进其增殖和自我更新^[17]。近年来研究还发现, Notch 与 PI3K/AKT 信号通路之间存在相互调控的关系,这种交互作用可能在 NSCs 的发育和再生过程中起到协同作用^[18-19]。研究表明,使用 Notch 激动剂丙戊酸激活 Notch 通路后,大鼠内源性 NSCs 增殖受抑且神经元分化减少。丹参酮 IIA 磺酸钠通过抑制 Notch 通路过度激活,同步增强 PI3K/AKT 通路活性,促进内源性 NSCs 增殖及神经元分化。机制上表现为 Notch 通路下游效应分子 Hes1 表达下调,而 PI3K/AKT 通路关键蛋白 p-AKT 表达上调^[20]。此外,在胶质母细胞瘤模型中发现, SRY 盒转录因子 10 (SOX10) 表达降低时,肿瘤细胞向 NSCs 样转化。该过程中 PI3K 抑制剂可阻断 Notch 配体 DLL1 的转录激活,证明 PI3K 通路调控 Notch 配体表达影响干细胞命运。进一步研究表明,联合使用 PI3K 抑制剂和 Notch 抑制剂抑制 NSCs 样细胞增殖,证实两条通路协同维持肿瘤干细胞干性^[21]。这种双向互作构成正反馈循环: Notch 通路激活促进 PI3K 活性→ PI3K 增强 Notch 配体表达→进一步放大 Notch 信号,共同维持 NSCs 的自我更新能力。通过调控上述信号通路及其下游基因的表达,可以有效促进 NSCs 的永生化。(图 1)



注: PI3K/AKT 为磷脂酰肌醇 3 激酶 / 蛋白激酶 B

图 1 神经干细胞永生化的机制

2 干细胞永生化技术

2.1 通过转基因技术实现永生化

转基因技术是实现细胞永生化的重要手段之一。通过 CRISPR/Cas9 系统等基因编辑技术,研究人员可以将外源基因导入细胞中,有效地靶向敲除与细胞周期调控和衰老相关的基因,如细胞周期调控基因从而实现细胞的永生化。有研究表明,通过 CRISPR 技术敲除细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 2A (CDKN2A) 基因并同时表达端粒酶,可以成功使人类前列腺上皮细胞实现永生化^[22]。转基因技术还可以通过调控细胞内信号通路或引入细胞周期调控相关的基因提升细胞增殖和抵抗衰老的能力,进而实现细胞的永生化^[23-24]。但转基因技术的应用也面临着伦理和安全性的问题,尤其在涉及人类细胞的研究中,如何确保其安全性和有效性,需要研究人员对编辑后的细胞进行长期的安全性评估^[25]。

2.2 通过细胞重编程技术实现永生化

细胞重编程技术是近年来细胞生物学领域的重要突破之一,尤其是诱导多能干细胞的产生为细胞的永生化提供新的思路,也为再生医学和个性化治疗开辟新的方向^[26]。该过程是最早通过在体细胞引入特定的转录因子,如 OCT4、SOX2、KLF4 和 MYC 等,重塑细胞的基因表达谱,使其回归到类似于胚胎干细胞的状态,将成体细胞重新编程为多能干细胞^[27-28]。随着技术的不断进步,直接重编程技术出现,即直接转换体细胞为特定类型的功能性细胞(如神经元、心肌细胞甚至 NSCs),减少重编程过程中的复杂性和潜在的遗传变异^[29]。在获取永生化 NSCs 方面,直接重编程策略展现出独特优势。传统方法需要先通过诱导多能干细胞阶段获得多能性,再进行神经分化并克服 NSCs 的衰老限制以实现永生化,该过程延长细胞体外扩增时间,增加基因组不稳定性风险。相比之下,利用特定转录因子或小分子组合进行直接重编程,能够一步将成体细胞(如成纤维细胞或星形胶质细胞)转化为具备自我更新能力的 NSCs^[30]。更重要的是,通过在此直接重编程过程中或重编程后稳定培养阶段,选择性引入关键的永生化调控因子(例如 SV40 LT)^[31],可以在重编程发生的同时实现“永生化”。这种直接获得永生化人源诱导 NSCs 的方法,理论上可以跳过诱导多能干细胞阶段及其伴随的多轮细胞分裂,从而减少在获得功能性、可扩增 NSCs 过程中所经历的细胞分裂次数和遗传操作环节,因此被认为能更有效地降低获得性遗传变异的累积风险^[32]。然而,重编程技术的效率和安全性仍然是未来研究的关键问题,如何提高重编程的效率并降低潜在的肿瘤风险是当前科学家们面临的重要挑战^[33]。

3 NSCs 永生化后的表型特征

永生化 NSCs 在细胞增殖能力与分化潜能方面具有明确的特性。同时永生化后的 NSCs 代谢状态、免疫原性等方面较正常 NSCs 存在较大差异,这些表型特征为永生化

NSCs 治疗神经系统疾病提供重要的线索。

3.1 细胞增殖与分化潜能的变化

NSCs 的增殖与分化潜能是其生物学特性的重要组成部分。研究表明,永生化的 NSCs 在增殖能力上增强,能够在体外长时间保持增殖状态,而不出现衰老或凋亡现象。这种增殖能力的增强与端粒酶的表达密切相关, TERT 的活性可以延长细胞的寿命,进而维持其增殖潜能^[34]。此外,永生化的 NSCs 在分化潜能方面也表现出多向分化的能力,能够向神经元和胶质细胞等多种细胞类型转化,为神经再生和修复提供细胞来源^[35]。

3.2 细胞代谢的变化

NSCs 的代谢状态在其永生化过程中发生显著变化。研究发现,永生化后的 NSCs 代谢能力增强,特别是线粒体功能提升,不仅支持细胞的高增殖率,还促进细胞的存活和功能^[36]。现有证据显示, NSCs 在增殖期偏向糖酵解,而分化过程中上调氧化磷酸化;在特定永生化/肿瘤起始情境中,线粒体融合-氧化磷酸化的增强可成为维持永生化的必要条件,并非简单地从氧化磷酸化转到有氧糖酵解的单向切换。永生化的 NSCs 更可能表现为代谢能力整体提高与糖酵解和氧化磷酸化协同提升的灵活供能^[37-39]。同时,代谢变化也可能影响细胞的信号转导通路,进而影响其分化潜能和功能表现^[40]。

3.3 免疫原性与肿瘤发生风险

永生化的 NSCs 可能在免疫系统中表现出不同的免疫原性,影响其在体内的存活和功能^[41]。有研究表明,永生化的 NSCs 可能表达不同的免疫标志物,这些标志物的表达变化可能影响其被宿主免疫系统识别的能力,从而影响其移植的成功率和长期存活^[42]。研究证实,在永生化的 NSCs 移植实验中发现,外源基因标记的 NSCs 在移植术后增加主要组织相容性复合体-I 和主要组织相容性复合体-II 的表达水平,这一变化增强宿主免疫系统的识别和排斥反应。这种表达上调激活 T 细胞介导的免疫应答,直接损害移植细胞的存活率^[43]。同时,在永生化过程中伴随的细胞应激反应可能诱导高迁移率族蛋白 B1 的异常释放^[44]。此外,研究表明 NSCs 的无序增殖和重编程可能增加肿瘤发生风险,如在恶性胶质瘤治疗中,胶质瘤干细胞的异常增生与类似 NSCs 的表型相关^[45]。部分研究指出,长期培养的 NSCs 在增殖时可能偏向于肿瘤样细胞的特征^[46]。通过单细胞测序分析揭示,脑室下区的 NSCs 在持续激活状态下出现标志物表达的显著异质性。这种不稳定状态可能干扰宿主对“自我”细胞的识别耐受机制^[47]。因此,在临床应用中,评估永生化 NSCs 的安全性和有效性至关重要^[48-49]。

4 永生化 NSCs 在疾病模型中的应用

4.1 神经退行性疾病

NSCs 的永生化为神经退行性疾病治疗提供新的可能性。阿尔茨海默病和帕金森病是两种常见的神经退行性疾病,病理表现分别涉及颞叶内侧海马体病变或中脑部位黑

质多巴胺能神经元大量丧失。研究发现,在阿尔茨海默病模型小鼠中,移植的永生化 NSCs 通过分泌脑源性神经营养因子改善认知功能^[50]。将永生化 NSCs 株 C17.2 移植到 A β 1-40 损伤的阿尔茨海默病模型大鼠海马后,细胞存活并分化为胶质纤维酸性蛋白阳性胶质细胞和神经丝重链蛋白阳性神经元,改善空间学习记忆能力^[51]。一项临床研究表明,对中晚期帕金森病患者经鼻黏膜移植来源于人多能干细胞的永生化 NSCs 后, MDS 统一帕金森病评定量表总分从第 3 个月开始改善,平均减少 19.9 分。其疗效可在治疗结束后第 6 个月达到峰值,受试者的临床症状有所改善^[52]。在肌萎缩侧索硬化症小鼠模型中,研究人员发现,鞘内移植过表达血管内皮生长因子基因的永生化人 NSCs 可延迟肌萎缩侧索硬化小鼠模型疾病发作并延长其生存期。移植术后 4 周,在脊髓灰质内发现移植的细胞,其机制与下调凋亡蛋白和上调抗凋亡蛋白有关^[53]。一项针对肌萎缩侧索硬化症患者的临床试验显示,脊髓内注射永生化 NSCs 能够改善患者的长期预后^[54]。

4.2 脑卒中

永生化 NSCs 在脑卒中的应用同样展现出巨大的潜力。在脑卒中小鼠模型使用永生化 NSCs 治疗,能够改善其运动功能,并促进神经再生^[55-57]。永生化 NSCs 结合低强度脉冲超声等物理刺激手段,促进干细胞增殖和分化能力,提高神经修复的效果^[58]。在大鼠大脑中动脉闭塞模型中,研究人员发现在移植过表达血管内皮生长因子人源诱导的 NSCs 后,改善大鼠的空间学习和记忆能力,并抑制氧化应激损伤、炎症反应和组织病理学损伤。其机制与 Wnt 信号转导通路的激活有关^[59]。在一项单中心 I 期临床研究中,脑内注射永生化 NSCs 治疗发现受试者的 Fugl-Meyer 运动量表 (FMMS) 评分提高 16 分,平均改良 Rankin 量表 (mRS) 评分提高 0.8 分,美国国立卫生研究院卒中量表 (NIHSS) 评分提高 3.1 分。同时,纵向 MRI 研究显示,9 例患者均有新神经组织形成,填充空洞^[60]。另一项临床研究发现,在脑出血 7 d 后,通过腰椎穿刺将 NSCs 移植到蛛网膜下腔。14 d 后 NIHSS 评分和血肿周围病变体积降低^[61]。在小鼠脑出血模型中,移植永生化的来源 NSCs 能在出血周围区域存活并分化为神经元和星形胶质细胞,改善动物在转轮测试与肢体伸展测试中的功能表现^[62]。这些研究为脑卒中的临床治疗提供新的思路,表明 NSCs 的永生化技术在神经再生领域具有重要的应用潜力。

4.3 其他神经系统疾病的潜在治疗

神经系统的其他疾病如抑郁症、多发性硬化脊髓损伤及脑肿瘤等也可能受益于 NSCs 的永生化技术。永生化 NSCs 通过调节免疫反应和促进神经修复改善多发性硬化症等自身免疫性疾病状况^[63]。在大鼠脊髓损伤模型中,移植条件性永生化的来源 NSCs 能够促进大鼠运动功能恢复,并在受损部位传达多种神经营养因子(如脑源性神经营养因子、血管内皮生长因子、神经生长因子、神经营养因子 3 等),促进宿主轴突再生,有助于神经修复^[64]。此外,永生化 NSCs 还

被证明在脑肿瘤动物模型中具有抗肿瘤的作用,提示其在癌症治疗中的潜在应用^[65]。

5 应用前景与挑战

综上所述, NSCs 永生化技术通过调控基因组稳定性、端粒酶活性及关键信号通路,有效突破细胞体外扩增与功能维持的限制,为获得大量、稳定且具备多向分化潜能的细胞资源提供可行途径,并在神经退行性疾病、脑卒中及其他神经系统疾病的实验与临床研究中展现出修复与功能改善潜力。然而,其在安全性、免疫原性及肿瘤化风险等方面仍面临挑战。通过基因工程技术对 NSCs 进行永生化处理,可以增强其增殖能力和分化潜力,从而提高其在临床治疗中的应用价值。尽管永生化 NSCs 的临床转化前景广阔,但在安全性和有效性方面仍需进行大量的临床试验,以确保其在人体内的应用不会引发不良反应或肿瘤化风险。未来的研究方向应聚焦于提高永生化 NSCs 的安全性和有效性。技术创新方面,基因编辑技术如 CRISPR/Cas9 的应用能够为改造和优化 NSCs 提供新的思路,研究者可以通过精准的基因修饰增强细胞的治疗潜力^[66]。此外,生物打印技术的进步也为 NSCs 应用提供新的平台^[67]。在应用层面,生物医学工程与临床医学跨学科的合作,将进一步推动永生化 NSCs 的研究进展与临床应用。另外,在不同研究中 NSCs 永生化的机制和效果存在差异性,因此需要建立标准化的研究方法和评价指标,以确保临床应用的有效性和安全性。并且,应当关注如何优化 NSCs 的永生化过程,提高其在体内的存活率和功能,通过更大规模的临床试验清晰地界定永生化 NSCs 在不同神经疾病中的实际效果与应用前景。

参 考 文 献

- 1 Fan Y, Goh ELK, Chan JKY. Neural cells for neurodegenerative diseases in clinical trials[J]. Stem Cells Transl Med, 2023, 12(8):510-526.
- 2 Wang S, He Q, Qu Y, et al. Emerging strategies for nerve repair and regeneration in ischemic stroke: neural stem cell therapy[J]. Neural Regen Res, 2024, 19(11):2430-2443.
- 3 Matsumura H, Marushima A, Ishikawa H, et al. Induced neural cells from human dental pulp ameliorate functional recovery in a murine model of cerebral infarction[J]. Stem Cell Rev Rep, 2022, 18(2):595-608.
- 4 Kalogeropoulou A, Mougkogianni M, Iliadou M, et al. Intrinsic neural stem cell properties define brain hypersensitivity to genotoxic stress[J]. Stem Cell Reports, 2022, 17(6):1395-1410.
- 5 Zhang Q, Li J, An W, et al. Neural stem cell secretome and its role in the treatment of neurodegenerative disorders[J]. J Integr Neurosci, 2020, 19(1):179-185.
- 6 Arfè S, Karagyozyova T, Forest A, et al. H3.3 deposition counteracts the replication-dependent enrichment of H3.1 at chromocenters in embryonic stem cells[J]. Nat Commun, 2025, 16(1):5138.
- 7 Li P, Gao L, Cui T, et al. Cops5 safeguards genomic stability of embryonic stem cells through regulating cellular metabolism and DNA repair[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2020, 117(5):2519-2525.
- 8 Hahn WC, Meyerson M. Telomerase activation, cellular

- immortalization and cancer[J]. *Ann Med*, 33(2):123-129.
- 9 Maiani E, Milletti G, Cecconi F. The pro-autophagic protein AMBRA1 coordinates cell cycle progression by regulating CCND (cyclin D) stability[J]. *Autophagy*, 2021, 17(12):4506-4508.
 - 10 Liu M, Zhang Y, Jian Y, et al. The regulations of telomerase reverse transcriptase (TERT) in cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(1):90.
 - 11 Saretzki G. Telomerase and neurons: an unusual relationship[J]. *Neural Regen Res*, 2022, 17(11):2364-2367.
 - 12 Liu MY, Fan Y, Ni N, et al. TERT mediates the U-shape of glucocorticoids effects in modulation of hippocampal neural stem cells and associated brain function[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2024, 30(2):e14577.
 - 13 Rosen J, Jakobs P, Ale-Agha N, et al. Non-canonical functions of telomerase reverse transcriptase-impact on redox homeostasis[J]. *Redox Biol*, 2020, 34:101543.
 - 14 Yu X, Liu MM, Zheng CY, et al. Telomerase reverse transcriptase and neurodegenerative diseases[J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1165632.
 - 15 Sze KM, Ho DW, Chiu YT, et al. Hepatitis B virus-telomerase reverse transcriptase promoter integration harnesses host ELF4, resulting in telomerase reverse transcriptase gene transcription in hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2021, 73(1):23-40.
 - 16 Liu G, Cheng G, Zhang Y, et al. Pyridoxine regulates hair follicle development via the PI3K/Akt, Wnt and Notch signalling pathways in rex rabbits[J]. *Anim Nutr*, 2021, 7(4):1162-1172.
 - 17 He C, Li Y, Gan L, et al. Notch signaling regulates Th17 cells differentiation through PI3K/AKT/mTORC1 pathway and involves in the thyroid injury of autoimmune thyroiditis[J]. *J Endocrinol Invest*, 2024, 47(8):1971-1986.
 - 18 Hou G, Zhao Q, Zhang M, et al. LSD1 regulates Notch and PI3K/Akt/mTOR pathways through binding the promoter regions of Notch target genes in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12:5215-5225.
 - 19 Cheng YY, Ding YX, Bian GL, et al. Reactive astrocytes display pro-inflammatory adaptability with modulation of Notch-PI3K-AKT signaling pathway under inflammatory stimulation[J]. *Neuroscience*, 2020, 440:130-145.
 - 20 Zhong W, Xu L, Jiang G, et al. Sodium tanshinone IIA sulfonate promotes proliferation and differentiation of endogenous neural stem cells to repair rat spinal cord injury via the Notch pathway[J]. *J Transl Med*, 2025, 23(1):367.
 - 21 Man KH, Wu Y, Gao Z, et al. SOX10 mediates glioblastoma cell-state plasticity[J]. *EMBO Rep*, 2024, 25(11):5113-5140.
 - 22 Zhao Z, Fowle H, Valentine H, et al. Immortalization of human primary prostate epithelial cells via CRISPR inactivation of the CDKN2A locus and expression of telomerase[J]. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2021, 24(1):233-243.
 - 23 钟周玥, 于思远, 葛胜祥. 人 B 细胞永生研究进展 [J]. *生物工程学报*, 2021, 37(1):30-39.
 - 24 Sekine A, Yasunaga G, Kumamoto S, et al. Characterization of common minke whale (*Balaenoptera acutorostrata*) cell lines immortalized with the expression of cell cycle regulators[J]. *Adv Biol (Weinh)*, 2024, 8(3):e2300227.
 - 25 Schwarz ER, Franco M, Busse N, et al. Quo Vadis, Dottore? Religious, philosophical and medical perspectives on the quest for immortality[J]. *J Relig Health*, 2022, 61(4):3177-3191.
 - 26 Fus-Kujawa A, Mendrek B, Trybus A, et al. Potential of induced pluripotent stem cells for use in gene therapy: history, molecular bases, and medical perspectives[J]. *Biomolecules*, 2021, 11(5):699.
 - 27 Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors[J]. *Cell*, 2006, 126(4):663-676.
 - 28 Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors[J]. *Cell*, 2007, 131(5):861-872.
 - 29 Horisawa K, Suzuki A. Direct cell-fate conversion of somatic cells: toward regenerative medicine and industries[J]. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 2020, 96(4):131-158.
 - 30 Thier M, Wörsdörfer P, Lakes YB, et al. Direct conversion of fibroblasts into stably expandable neural stem cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2012, 10(4):473-479.
 - 31 Ahuja D, Sáenz-Robles MT, et al. SV40 large T antigen targets multiple cellular pathways to elicit cellular transformation[J]. *Oncogene*, 2005, 24(52):7729-7745.
 - 32 Li Y, Darabi R. Role of epigenetics in cellular reprogramming: from iPSCs to disease modeling and cell therapy[J]. *J Cell Biochem*, 2022, 123(2):147-154.
 - 33 Guo T, Wei Q. Cell reprogramming techniques: contributions to cancer therapy[J]. *Cell Reprogram*, 2023, 25(4):142-153.
 - 34 Mochnacký F, Bul'kova V, Holota R, et al. "Neural stem cells puzzle" missing piece: telomerase reverse transcriptase expression patterns during nervous system ontogenesis in rats[J]. *J Physiol Pharmacol*, 2021, 72(6). Epub 2022 Apr 2.
 - 35 Almengló C, González-Mosquera T, Caamaño P, et al. Immortalization of a cell line with neural stem cell characteristics derived from mouse embryo brain[J]. *Dev Dyn*, 2020, 249(1):112-124.
 - 36 Bonnay F, Veloso A, Steinmann V, et al. Oxidative metabolism drives immortalization of neural stem cells during tumorigenesis[J]. *Cell*, 2020, 182(6):1490-1507.
 - 37 Garone C, De Giorgio F, Carli S. Mitochondrial metabolism in neural stem cells and implications for neurodevelopmental and neurodegenerative diseases[J]. *J Transl Med*, 2024, 22(1):238.
 - 38 Bonnay F, Veloso A, Steinmann V, et al. Oxidative metabolism drives immortalization of neural stem cells during tumorigenesis[J]. *Cell*, 2020, 182(6):1490-1507.e19.
 - 39 Zheng X, Boyer L, Jin M, et al. Metabolic reprogramming during neuronal differentiation from aerobic glycolysis to neuronal oxidative phosphorylation[J]. *Elife*, 2016, 5:e13374.
 - 40 Carracedo A. Metabolism in the tumor cell and beyond[J]. *Mol Oncol*, 2023, 17(6):921-924.
 - 41 Mooney R, Abidi W, Batalla-Covello J, et al. Allogeneic human neural stem cells for improved therapeutic delivery to peritoneal ovarian cancer[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1):205.
 - 42 Mi R, Luo Y, Cai J, et al. Immortalized neural stem cells differ from nonimmortalized cortical neurospheres and cerebellar granule cell progenitors[J]. *Exp Neurol*, 2005, 194(2):301-319.
 - 43 Wei N, Sun Z, Yu J, et al. Immunological responses to transgene-modified neural stem cells after transplantation[J]. *Front Immunol*, 2021, 12:697203.
 - 44 Guan T, Guo Y, Zhou T, et al. Oxidized SOD1 accelerates cellular senescence in neural stem cells[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2024, 15(1):55.
 - 45 Apostolou S, Donega V. Embracing the heterogeneity of neural stem cells in the subventricular zone[J]. *Stem Cell Reports*, 2025, 12:102452.
 - 46 Ruetz TJ, Pogson AN, Kashiwagi CM, et al. CRISPR-Cas9 screens reveal regulators of ageing in neural stem cells[J]. *Nature*, 2024, 634(8036):1150-1159.

- 47 Tamura R, Miyoshi H, Imaizumi K, et al. Gene therapy using genome-edited iPS cells for targeting malignant glioma[J]. *Bioeng Transl Med*, 2022, 8(5):e10406.
- 48 Gao M, Dong Q, Yang Z, et al. Long non-coding RNA H19 regulates neurogenesis of induced neural stem cells in a mouse model of closed head injury[J]. *Neural Regen Res*, 2024, 19(4):872-880.
- 49 Andreotti JP, Silva WN, Costa AC, et al. Neural stem cell niche heterogeneity[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2019, 95:42-53.
- 50 Blurton-Jones M, Kitazawa M, Martinez-Coria H, et al. Neural stem cells improve cognition via BDNF in a transgenic model of Alzheimer disease[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2009, 106(32):13594-13599.
- 51 李志方, 唐军, 李露斯. C17.2 神经干细胞移植 A β 1-40 损伤大鼠海马后的分化及对学习记忆的改善 [J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(7):595-599.
- 52 Jiang S, Wang H, Yang C, et al. Phase 1 study of safety and preliminary efficacy of intranasal transplantation of human neural stem cells (ANGE-S003) in Parkinson's disease[J]. *Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2024, 95(12):1102-1111.
- 53 Hwang DH, Lee HJ, Park IH, et al. Intrathecal transplantation of human neural stem cells overexpressing VEGF provide behavioral improvement, disease onset delay and survival extension in transgenic ALS mice[J]. *Gene Ther*, 2009, 16(10):1234-1244.
- 54 Mazzini L, Gelati M, Profico DC, et al. Results from phase I clinical trial with intraspinal injection of neural stem cells in amyotrophic lateral sclerosis: a long-term outcome[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2019, 8(9):887-897.
- 55 Szelenberger R, Kostka J, Saluk-Bijak J, et al. Pharmacological interventions and rehabilitation approach for enhancing brain self-repair and stroke recovery[J]. *Curr Neuroparmacol*, 2020, 18(1):51-64.
- 56 Regenhardt RW, Takase H, Lo EH, et al. Translating concepts of neural repair after stroke: Structural and functional targets for recovery[J]. *Restor Neurol Neurosci*, 2020, 38(1):67-92.
- 57 Liu XY, Feng YH, Feng QB, et al. Low-temperature 3D-printed collagen/chitosan scaffolds loaded with exosomes derived from neural stem cells pretreated with insulin growth factor-1 enhance neural regeneration after traumatic brain injury[J]. *Neural Regen Res*, 2023, 18(9):1990-1998.
- 58 Xia B, Chen G, Zou Y, et al. Low-intensity pulsed ultrasound combination with induced pluripotent stem cells-derived neural crest stem cells and growth differentiation factor 5 promotes sciatic nerve regeneration and functional recovery[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2019, 13(4):625-636.
- 59 Zhu Y, Liu R, Zhao X, et al. VEGF overexpression in transplanted NSCs promote recovery of neurological function in rats with cerebral ischemia by modulating the Wnt signal transduction pathway[J]. *Neurosci Lett*, 2024, 824:137668.
- 60 Zhang G, Li Y, Reuss JL, et al. Stable intracerebral transplantation of neural stem cells for the treatment of paralysis due to ischemic stroke[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2019, 8(10):999-1007.
- 61 Xue YZ, Li XX, Li L, et al. Curative effect and safety of intrathecal transplantation of neural stem cells for the treatment of cerebral hemorrhage[J]. *Genet Mol Res*, 2014, 13(4):8294-8300.
- 62 Lee HJ, Kim KS, Kim EJ, et al. Brain transplantation of immortalized human neural stem cells promotes functional recovery in mouse intracerebral hemorrhage stroke model[J]. *Stem Cells*, 2007, 25(5):1204-1212.
- 63 Genchi A, Brambilla E, Sangalli F, et al. Neural stem cell transplantation in patients with progressive multiple sclerosis: an open-label, phase 1 study[J]. *Nat Med*, 2023, 29(1):75-85.
- 64 Amemori T, Romanyuk N, Jendelova P, et al. Human conditionally immortalized neural stem cells improve locomotor function after spinal cord injury in the rat[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2013, 4(3):68.
- 65 Kim JH, Ahn JS, Lee DS, et al. Anti-cancer effect of neural stem cells transfected with carboxylesterase and sTRAIL genes in animals with brain lesions of lung cancer[J]. *pharmaceuticals (Basel)*, 2023, 16(8):1156.
- 66 Yew CT, Gurumoorthy N, Nordin F, et al. Integrase deficient lentiviral vector: prospects for safe clinical applications[J]. *PeerJ*, 2022, 10:e13704.
- 67 Selvam S, Midhun BT, Bhowmick T, et al. Bioprinting of exosomes: prospects and challenges for clinical applications[J]. *Int J Bioprint*, 2023, 9(2):690.
- (收稿日期: 2025-01-08)
(本文编辑: 陈媛媛)

马逸夫, 孙芳玲, 刘婷婷, 等. 神经干细胞永生化的机制及其应用进展 [J/OL]. 中华细胞与干细胞杂志(电子版), 2025, 15(4):251-256.