



下丘脑神经干细胞的衰老与再生*

张 宇^{1,2)} 张秀峰^{1,2)**}

(1) 国家卫生健康委员会毒品依赖和戒治重点实验室(昆明医科大学), 昆明 650500; (2) 昆明医科大学法学院, 昆明 650500)

摘要 下丘脑神经干细胞(hypothalamic neural stem cells, htNSCs)是一类存在于下丘脑的具有增殖能力并能分化迁移到下丘脑实质成为神经元及整合到神经环路中的胶质样神经干细胞。成年下丘脑内的多种生理学过程都有htNSCs参与调节,包括构成血液-下丘脑屏障(blood-hypothalamus barrier, BHB)并促进小分子在血液、脑脊液和下丘脑实质间的扩散,感知血糖水平、调节神经肽释放等。发生在htNSCs的衰老对能量代谢、性激素分泌甚至下丘脑整体功能有着极大的影响,移植更为年轻的htNSCs可以减轻机体衰老中神经和骨骼肌功能障碍。近年来,htNSCs在能量代谢以及促进机体衰老方面引起了科研工作者的广泛关注。本文对htNSCs的分型以及htNSCs衰老对机体功能的影响、htNSCs与相关疾病的关系、促进htNSCs再生的调控机制进行了简要阐述,一些促进htNSCs再生及改善htNSCs衰老的措施似乎可以影响生物整体的衰老表型。深入研究htNSCs的衰老有助于理解下丘脑对机体整体衰老的影响以及性别差异造成不同衰老的原因,为改善能量代谢紊乱综合征和治疗性腺激素异常相关疾病提供新方法治疗靶点。

关键词 神经干细胞, 伸长细胞, 衰老, 调控机制, 代谢紊乱

中图分类号 R3

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0406

CSTR: 32369.14.pibb.20240406

下丘脑调控许多对生命至关重要的生理过程,包括进食、发育、代谢、繁殖、昼夜节律和机体稳态^[1-3]。下丘脑神经干细胞(hypothalamic neural stem cells, htNSCs)是一类存在于下丘脑的可以增殖、分化、迁移到下丘脑实质成为神经元,并可以整合到神经环路中的胶质样神经干细胞^[4]。其中,伸长细胞(tanycytes)作为下丘脑中主要的神经干细胞(neural stem cells, NSCs)类型,被认为是脊椎动物促性腺激素释放激素(gonadotropin releasing hormone, GnRH)的神经内分泌的关键参与者^[5]。来自生理或环境的刺激可以导致NSCs或前体细胞在下丘脑局部的产生^[6]。然而,htNSCs的衰老可能导致下丘脑的调节功能改变,从而引起机体的代谢稳态失衡^[7]。通过移植更为年轻的htNSCs,可以对抗衰老相关的神经和骨骼肌功能障碍^[8-9]。此外,htNSCs参与了激素失衡和能量代谢稳态相关疾病的形成,被认为在这些疾病中发挥了重要作用^[10-12]。因此,延缓htNSCs的衰老对于疾病的治疗以及系统整体衰老的延缓都具有无可替代的重要意义。研究htNSCs衰老相关的调

控机制并逆转其衰老过程具有重要的生物学意义,可以为相关疾病的治疗以及对抗衰老提供新的思路和治疗靶点。

1 下丘脑神经干细胞以及下丘脑神经发生的发现

1.1 神经干细胞的发现及证明

通常情况下,从成年动物神经系统中分离出的在体外培养中可以分化为星形胶质细胞、少突胶质细胞以及神经元的细胞群被认为是NSCs。目前,人们认为成年动物大脑中的NSCs主要存在于侧脑室旁区(subventricular zone, SVZ)、海马区(subgranular zone of the dentate gyrus, SGZ)以及下丘脑区域。在体内生理条件下,SGZ区的NSCs

* 国家卫生健康委员会毒品依赖和戒治重点实验室(昆明医科大学) 开放课题基金(KN202416)和国家自然科学基金(81860258)资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 15025149349, E-mail: xiuzheng1203@163.com

收稿日期: 2024-09-16, 接受日期: 2025-01-07

仅产生颗粒状神经元和星形胶质细胞, 而SVZ区的NSCs在啮齿类动物中仅产生嗅球中间神经元和胼胝体少突胶质细胞^[13-14]。在人类和啮齿类动物中, SVZ区都能产生 γ 氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)能中间神经元^[15], 而在人类中, 存在于SVZ区的NSCs主要是向纹状体迁移并产生中间神经元的干细胞^[16-17]。关于下丘脑区NSCs的种类及其分化方向, 目前尚未完全明确, 但已经证实了成年动物中该区域存在可增殖的细胞。例如, 将敲除*rax*基因的胚胎干细胞移植到小鼠下丘脑时, 观察到了神经发生^[18]。下丘脑中的神经发生部位位于第三脑室(third ventricle, 3rd V)附近, 参与神经再生的细胞主要包括3rd V底壁和腹外侧壁分布的伸长细胞, 以及3rd V侧壁的下丘脑实质中的神经元前体细胞^[6, 16, 19]。下丘脑是一个微小的结构, 位于丘脑下方和垂体腺上方^[20-21]。根据主要的神经元功能核团, 下丘脑分为多个部分, 如3rd V、背侧下丘脑核(dorsomedial hypothalamic nucleus, DMH)、腹侧下丘脑核(ventromedial hypothalamus nucleus, VMH)等。虽然下丘脑在大脑中所占体积不到2%, 但它参与了许多重要生理过程的中枢调节, 包括睡眠-觉醒、能量稳态、渗透压、体温、激素分泌、性行为 and 生殖^[20-22]。

1.2 下丘脑神经发生及其神经干细胞的发现

早在2005年, 研究者就发现, 成年大鼠下丘脑中存在神经祖细胞, 给予碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)可以促进这些祖细胞在室管膜层的有丝分裂。通过绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)谱系追踪发现, 该处神经祖细胞可以迁移到下丘脑实质, 并将突触整合入神经网络中^[4]。到了2010年, 研究显示, 成年大鼠在接受胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factors-1, IGF-1)的刺激后, 下丘脑3rd V周围和实质区的细胞增殖显著增加^[23]。通过巢蛋白(nestin)-CreERT2条件性突变技术对成年下丘脑干细胞或祖细胞进行谱系追踪, 发现在整个成年阶段, 下丘脑都有持续的神经元形成。一些在这一阶段形成的神经元随着时间的推移能够整合入正中隆起以及弓形核(arcuate nucleus, ArcN), 并产生释放GnRH。这些结果证实了成年动物下丘脑3rd V周围的实质区域存在散在的细胞, 它们能表达NSCs和祖细胞标记物, 并且具有增殖分化为新神经元的能力。通过Sox2⁺标记进行谱系追踪, 发现这些细胞主要能增殖为神经元、星形胶

质细胞和少突胶质细胞^[24]。而利用谷氨酸-天冬氨酸转运蛋白(glutamate-aspartate transporter, GLAST)-CreERT2模型进行的长期谱系追踪揭示了成年小鼠下丘脑的 α 伸长细胞是自我更新的细胞, 它们可以结构性地分化成为新的伸长细胞、星形胶质细胞以及少量的神经元^[25]。在下丘脑区域, 使用针对神经元祖细胞标志物的免疫学检测方法观察到双皮质素(doublecortin, DCX)的表达^[26]。DCX被认为是未成熟神经元的标志物, 在成年人的下丘脑结节区, 即使在20岁、72岁、79岁时, 仍可见到DCX⁺细胞的存在^[26]。从人类早产儿死后大脑皮层分离出的具有分化潜力的细胞, 其中有一个亚群表达DCX, 通过逆转录聚合酶链反应(reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)验证了其nestin、DCX以及SRY-Box转录因子2(SRY-box transcription factor 2, Sox2)的表达^[27], 从而证明了nestin、DCX及Sox2可以作为NSCs的标记物。之后有研究在成年鼠下丘脑中发现了一类细胞可以共同表达nestin、Sox2以及增殖标志物Ki-67^[28]。通过体外神经球测定法, 发现成年小鼠的下丘脑htNSCs能够生成表达NSCs生物标志物Sox2、nestin、脑脂质结合蛋白(brain lipid-binding protein, Blbp)的体外神经球^[24]。以上证据表明, NSCs不仅存在于成年啮齿类动物的下丘脑区域, 也存在于成年人类的下丘脑区域, 并且在生理状态下保持一定的增殖和分化能力。

2 下丘脑神经干细胞的分布

成年动物下丘脑内存在可以分化为神经元的诸多细胞种类, 其中有NSCs以及神经元前体细胞^[24, 28]。目前发现的包括3rd V壁的伸长细胞、下丘脑实质的神经前体细胞, 以及可以增殖但尚未证实是否参与神经发生的终板血管组织(organum vasculosum of the lamina terminalis, OVLT)的放射状室管膜样伸长细胞^[29]。坦尼胶质神经干细胞可以根据其细胞形态、功能以及生理位置分为4种亚型^[30-31]。不同的亚型之间存在生理相似性及特异性, 此外htNSCs也存在物种差异性, 在人类与啮齿类动物中有所不同^[28]。

2.1 坦尼胶质细胞及其功能、位置分布

Tanycytes最早出现在1954年的文献描述中, 来源于希腊语“tanus”, 意思是“细长的”^[32]。伸长细胞是一群特殊的放射状神经胶质细胞, 可以充当下丘脑输入和输出的传感器和调节器来控制对血

液信号的暴露,其具有的神经发生作用被证明在进食控制和能量代谢中发挥重要作用^[16]。伸长细胞主要分布在3rd V壁周围,3rd V侧壁主要由终末分化的多纤毛室管膜细胞和伸长细胞的特化径向胶质样细胞组成,腹侧仅由伸长细胞组成。Akmayev等^[30]根据正中隆起和3rd V室管膜细胞的不同形态、生化、分子、功能等特点,将伸长细胞分为4个亚型:α1、α2、β1、β2,其具体的生理学位置及生物学标记物如表1所示,图1则提供了伸长细胞的分布模式图。伸长细胞的形态和定位与其不同的作用密切相关,β伸长细胞的突起呈棘突状,与神经元形成突触样连接,而远端扩张在软脑膜表面形成膨大的“端足”,接触将大脑与外周毛细血管分开的基底层。位于下丘脑背内侧区的α伸长细胞在其突起延伸的路径中缠绕毛细血管形成“套囊”,终止于薄壁组织或其他血管周围。包裹神经元轴突末端的下丘脑基底部(medium basal hypothalamus, MBH)的伸长细胞可以从基底层推进或缩回其突起,以控制神经激素的分泌和对衰老或疾病的反应^[33]。α1伸长细胞位于下丘脑腹内侧核以及背内侧核的室管膜层,突起呈直线,伸入到丘脑的核团中^[30]。α2伸长细胞位于ArcN附近的室管膜层,突起弯曲成弓状伸入到ArcN中^[34]。β1伸长细胞位于3rd V漏斗隐窝的三角形侧壁室管膜层,突起呈弧形,从背侧穿过正中隆起的外侧区域延伸至3rd V外,可穿透到ArcN区域^[34-35]。β2伸长细胞位于漏斗隐窝底部正中隆起的中1/3,突起末端有平行分支,可延伸至门静脉毛细血管^[32]。成年下丘脑室区富含NSCs和祖细胞特有的多种标记物,其中室管膜下层细胞群中β2伸长细胞亚群

的表达水平更高,如Hes1和Hes5,相比其他伸长细胞亚型更具有神经源性,伸长细胞β2亚群被直接证明在下丘脑增殖区(hypothalamic proliferative zone, HPZ)即3rd V底部大量增殖,HPZ区域的增殖率在出生后第4周仍相对较高,但是在成年后显著下降^[36]。

2.2 下丘脑神经干细胞的物种差异

利用两个标志物组合进行标记,如波形蛋白(vimentin)和nestin、nestin和GLAST、nestin和胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP),已经揭示了成年人类伸长细胞中存在分子异质性,但其功能的异质性尚不清楚。人类与其他动物下丘脑的NSCs可能有所差异。尽管在啮齿类动物的下丘脑实质发现Sox2⁺细胞,但是在人类下丘脑实质中尚未发现,而在人类中Sox2⁺细胞仅限于3rd V边界。相反,在啮齿类动物中也没有发现人类下丘脑中的NSC⁺带、室管膜和视交叉上细胞^[28]。

2.3 下丘脑神经干细胞的类似细胞

存在于3rd V的室管膜细胞因其在组织、形态、抗原谱方面与侧脑室的带状细胞相似,而侧脑室带状细胞中的GFAP⁺细胞可以在体内增殖,并在体外培养呈现NSCs自我更新,展现出发育为多潜能神经球的特性,因此3rd V的室管膜细胞有无干性已经争论了许久,最近通过高度特异的标记证明了室管膜细胞不具有NSCs特性^[6]。谱系追踪研究表明,成年小鼠室管膜上皮细胞不表现出NSCs特性^[37],无论是在正常还是实验条件下,啮齿类动物室管膜细胞表达NSCs标记物如Sox2、nestin、vimentin以及CD133,但是缺乏SVZ区NSCs的标记,如GLAST和GFAP的表达^[38]。下丘脑前端终

Table 1 The classification and general characteristics of tanycytes

表1 坦尼胶质细胞的分类及一般生物学标记物

亚群	分布位置	生理位置	生物学标记物
α1	位于下丘脑腹内侧核部分背内侧核附件的室管膜层,突起呈直线,伸入核团之中	延伸到下丘脑室管膜层与血管、神经元形成直接接触	Nestin ^[39] 、Sox2 ^[39] 、vimentin ^[39] 、Slc17a8 ^[40] 、Prss56 ^[41] 、P85 ^[35] 、Lhx2 ^[42] 、Rax ^[1]
α2	位于ArcN附近的室管膜层,突起弯曲成弓状伸入ArcN核团	延伸到下丘脑室管膜层与血管、神经元形成直接接触	Nestin ^[39] 、Sox2 ^[39] 、vimentin ^[39] 、Prss56 ^[41, 43] 、Lhx2 ^[42] 、Rax ^[1] 、P85 ^[35]
β1	位于3rd V漏斗隐窝的三角形侧壁室管膜层,突起呈弧形,从背侧穿过正中隆起的外侧区域延伸至3rd V外,可穿透到ArcN区域,位于漏斗隐窝外侧	脑脊髓外侧边缘,与内皮细胞直接接触,与表达GnRH的神经元末端紧密结合	Nestin ^[39] 、Sox2 ^[39] 、vimentin ^[39] 、Col25a1 ^[40] 、Prss56 ^[41] 、P85 ^[35] 、Slc17a8 ^[40] 、Lhx2 ^[42] 、Rax ^[1]
β2	位于3rd V漏斗隐窝的底部正中隆起的中1/3,突起末端有平行分支	脑脊髓腹侧面,终于门脉循环的血管	Nestin ^[39] 、Sox2 ^[39] 、vimentin ^[39] 、Col25a1 ^[40] 、Slc17a8 ^[40] 、P85 ^[35] 、Lhx2 ^[42] 、Rax ^[1]

ArcN: 弓形核(arcuate nucleus); 3rd V: 第三脑室(third ventricle); GnRH: 促性腺激素释放激素(gonadotropin releasing hormone)。

板的血管器 OVLT 与 MBH 部位类似, 在其周围的实质组织中发现了 Sox2⁺细胞, 表达 nestin、GFAP、GLAST、Sox2, 并被发现在体内增殖。此外, 在体外培养时展现出神经球的多能性, 但 OVLT 区域是否存在神经发生仍有争议^[29]。

3 下丘脑神经干细胞衰老

正常衰老可以导致伸长细胞间以及伸长细胞和组织间的联系更加松散^[44], 而衰老的 htNSCs 通过长非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 以及外泌体的分泌来影响机体整体的衰老^[7, 9]。此外, 下丘脑部位的衰老表现出性别差异性^[45], 人类女性中还观察到 vimentin 所标记的结构中平行排布的消失^[5]。高脂饮食 (high fat diet, HFD) 将神经炎症与 htNSCs 的衰老相互联系, 衰老可能因为肥胖而加速的原因是引起 htNSCs 的衰老失调^[45-46], 在限制饮食模型中可以通过改变下丘脑的能量代谢调节而对抗衰老, 延长寿命^[47]。总之, 发生在 htNSCs 的衰老可能与系统性衰老、神经内分泌功能的调控、性别间的差异性衰老以及肥胖诱导的神经炎症有互相作用和联系, 图 1 提供了一个概念框架, 总结了当前对这一关系的理解。

3.1 衰老性结构改变与下丘脑神经干细胞

早在 20 世纪就发现, 老年雄性大鼠的伸长细胞间出现了结构紧密度的下降, 相比成年大鼠, 老年雄性大鼠 3rd V 下壁和底部的伸长细胞之间的联系更加松散, 出现显著的细胞内分离, 只有一些纤细的胞质相连^[44]。位于雄性大鼠 AcrN 区域的伸长细胞在衰老过程中表现出蛋白质总量的变化, 环腺嘌呤单核苷酸调节蛋白 DARPP-32 免疫反应下降了 70%、GFAP 的免疫反应增加了 300%, 而在 MBH 部位的伸长细胞则没有相关变化^[48]。在雌性恒河猴正中隆起处发现, 老年动物相比年轻动物的神经末梢尺寸更大。衰老猴脑的总神经胶质细胞大小、最大神经胶质细胞亚群的密度和组织分数更大^[49]。此外, 随着年龄的增加, 更多的 NSCs 进入静止状态, 而 NSCs 的总数减少^[50], 老年小鼠中星形胶质细胞的数量同样也减少^[51]。利用荷兰脑库中的样本开展的研究表明, 人类女性的伸长细胞胞体数量似乎没有随着年龄表现出差异^[5]。

3.2 系统性衰老与下丘脑神经干细胞衰老

小鼠实验中发现, htNSCs 可能参与机体的衰老^[7-9, 46]。lncRNA 是指长度大于 200 个核苷酸的非编码 RNA, 在年轻小鼠下丘脑 htNSCs 中被发现大

量存在下丘脑神经干细胞相关长链非编码 RNA (hypothalamic neural stem cell-related long non-coding RNA, Hnscl), 而在中年小鼠中显著减少。这种 lncRNA 可以与 YB-1 蛋白结合以保持其稳定, 防止泛素化蛋白酶体对其介导的降解, 并减少 p16INK4A 的表达^[7]。在 htNSCs 中沉默 *Bmi1* 可以导致小鼠认知、社会性、肌肉耐力、协调性和空间记忆显著降低, 而在 Sox2 标记的 htNSCs 中删除 *Bmi1* 则表现为寿命下降。将新生小鼠的 htNSCs 补充到中年小鼠的 MBH 部位中可以延长寿命并延缓年龄相关的生理衰退^[9]。衰老的 htNSCs 可以影响机体整体的衰老表型, 移植更为年轻的 htNSCs 一定程度延长了小鼠的寿命, 而衰老相关的神经和骨骼肌功能障碍得到了改善, 该研究也指出移植带来的主要影响是促进了 htNSCs 的 miRNA 外泌体的分泌, 从而促进 GnRH 的分泌^[8-9]。通过单细胞转录组数据分析发现, 由 htNSCs 衍生的外泌体 miRNA 的内分泌可以引发抗衰老的机制, 表现出年轻时的转录特征^[52]。衰老可导致下丘脑 *GnRH* mRNA 水平降低, 在小鼠中观察到中年小鼠脑脊液中 miRNA 的种类大幅减少。衰老发展的特征是 NF- κ B 通路导向的先天免疫途径在下丘脑中的慢性激活, 通过抑制或激活 NF- κ B 通路分别表现出了寿命的延长或缩短, 以及认知、耐力相对应的表型。而同时 NF- κ B 通路表现出了对 GnRH 分泌的负调控作用。同样, 衰老与 *GnRH* 的 mRNA 水平的增减相关联。此外通过 GnRH 在成年小鼠的 3rd V 注射观察到了全脑的神经发生增强效应, 而且外周 GnRH 的注射同样也减低了组织学的衰老表现, 部分解释了为什么下丘脑能够在全身范围引起衰老表型的改变^[46]。双侧上颌第一磨牙拔除后, 小鼠咬合支持的减少会影响海马和下丘脑的衰老、神经活动以及神经损伤从而影响小鼠的认知功能和行为活动^[53]。热量限制 (caloric restriction, CR) 可以改善许多模型组织的寿命, 下丘脑通过不同饮食诱导其神经元大小、形态和数量的变化, 胞体大小或轴突投射的改变。调节能量传感途径模拟 CR 效应也表现出了延长寿命的效果, 揭示了对抗衰老并将寿命延长的机制与下丘脑相关^[47]。

3.3 性别差异与下丘脑神经干细胞衰老

性别之间衰老的机制可能存在差异。研究发现, 在动物衰老模型中延长寿命的措施存在性别差异^[54], 许多年龄相关的疾病同样表现出了性别特异模式^[55-56], 这种衰老的不同可能与下丘脑及其干

细胞相关。啮齿类动物的数据显示,在卵巢周期的大部分时间里,GnRH突触末端收缩并完全被伸长细胞末端足包裹,阻止GnRH分泌到垂体门脉循环中。当GnRH激增时,足突末端收缩,暴露出GnRH突触末端,使其与垂体门脉血液接触。此外还发现,女性和男性在衰老过程中由于雌性激素的不同而产生不同步异化的衰老现象^[45]。一项对荷兰脑库中人类女性样本的研究中发现,作为伸长细胞标志物vimentin的免疫反应性在婴儿、青春期和成年期均沿着脑室壁排成相对平行的一排,而在老年群体中失去了这种平行样排列,表现出交叉。伸长细胞在人类女性衰老过程中表现出了明显的组织混乱,其跨越的距离较短,vimentin免疫反应性的覆盖面积在人的一生中发生变化,相比成年和老年组,婴儿或青春期以前的vimentin免疫反应性覆盖的面积会更高^[5]。伸长细胞在雌性小鼠的雌激素介导的GnRH/促黄体生成素(luteinizing hormone, LH)的释放过程中起重要作用,选择性敲除伸长细胞中的雌激素受体ER α 相关基因*Esr1*改变了雌性小鼠的发情周期和生育能力,增加了LH释放脉冲的频率及振幅,影响了基础LH水平。雌性小鼠中伸长细胞ER α 的缺失增加了小鼠的神经肽Y(neuropeptide Y, Npy)转录以及小鼠的体重,并阻止了雌激素介导的卵巢切除小鼠食物摄入量的减

少以及能量消耗和脂肪酸氧化的增加^[57]。X失活特异性转录本(X inactive specific transcript, *Xist*)是女性下丘脑中最高度上调的基因,是女性X染色体失活的关键参与者,同样会在伸长细胞中上调,*Xist*虽然在诸多大脑区域都呈上升趋势,但仅在女性下丘脑中达到显著意义,雄性小鼠中该基因没有随着年龄上调,老年女性下丘脑中的表达会显著高于年轻女性^[47]。

3.4 高脂饮食、神经炎症与下丘脑神经干细胞衰老

长期的HFD导致htNSCs的耗竭,这一过程是由细胞凋亡控制和Notch信号转导机制介导。肥胖可以加速衰老,而htNSCs的失调与肥胖相关^[45]。在HFD中,会出现肥胖相关的疾病症状,如胰岛素抵抗和慢性炎症,这些症状还会影响能量代谢、神经炎症^[58-59]。在衰老过程中,小胶质细胞炎症的增加导致MBH区域的htNSCs数量减少^[24]。衰老过程中出现的肥胖及炎症都会促使衰老的进一步发生发展,而这些因素都可以导致htNSCs的减少或异常。啮齿类动物在衰老时,其循环系统中的线粒体小分子多肽——小人类素样肽2(small humanin-like peptide 2, SHLP2)水平减少^[60],该小分子多肽可以激活ArcN的前阿黑皮素原神经元(pro-opiomelanocortin neurons, POMC),而在糖尿

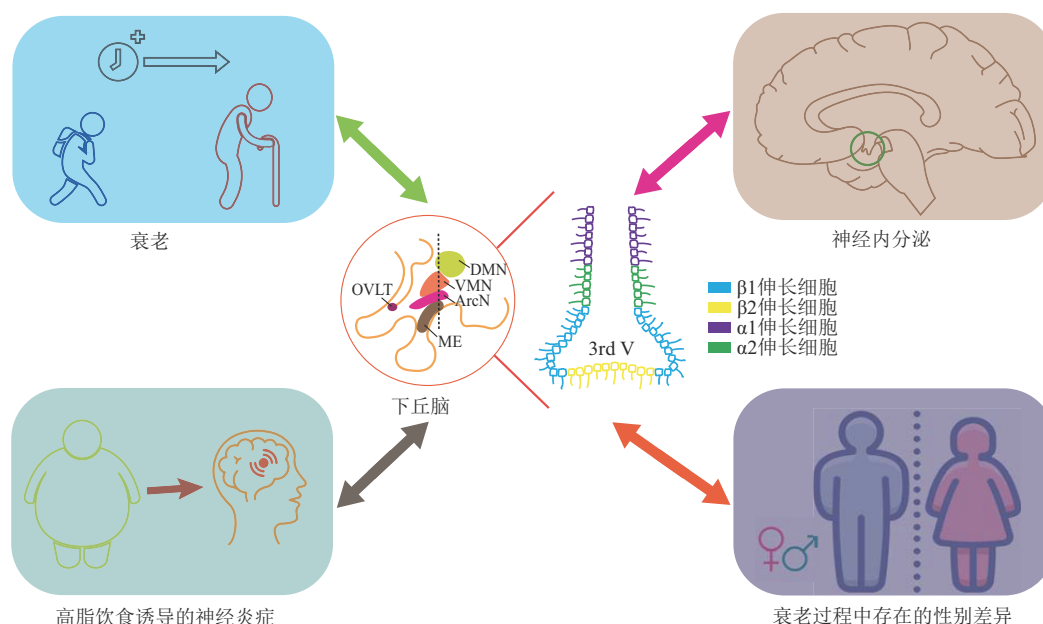


Fig. 1 Aging of hypothalamic neural stem cells and its associated pathophysiological changes

图1 下丘脑神经干细胞衰老及其相关的病理生理学改变

OVLT: 终板血管组织 (organum vasculosum of the lamina terminalis); DMN: 背侧核 (dorsomedial nucleus); VMN: 腹侧核 (ventromedial nucleus); ArcN: 弓形核 (arcuate nucleus of the hypothalamus); ME: 正中隆起 (median eminence); 3rd V: 第三脑室 (third ventricle)。

病和肥胖患者中观察到SHLP2在血清中水平的下降^[61], 即SHLP2在机体衰老、处于肥胖状态以及糖尿病时均表现出了下降。因此, 综合以上研究, 推测htNSCs可能参与能量代谢的调控以及机体的衰老, 与肥胖导致的衰老加速以及衰老时出现的神经炎症互相联系。核转录因子红系2相关因子2(nuclear factor-erythroid 2-related factor 2, Nrf2)作为一种转录因子在衰老中的NSCs依赖性神经发生中具有关键作用, Nrf2可以调节不同干细胞类型的氧化还原稳态从而应对氧化应激使细胞存活, 衰老过程中细胞面对氧化应激的存活能力逐渐下降。深入了解氧化应激的主要转录因子Nrf2可以提供神经炎症过程中htNSCs基本变化的信息, 从而为治疗提供新的思路^[45]。

4 下丘脑神经干细胞再生的调控机制

目前研究发现, 调控伸长细胞再生的方法有限, 主要以增加成年动物体内伸长细胞的增殖为主, 包括细胞因子信号调节、特异性基因敲除以及给予lncRNA的化学模拟物, 图2展示了影响htNSCs再生的调控机制。

根据形态区分的不同亚型伸长细胞表现出不同

的增殖特性, 在不同的 α 伸长细胞亚群中, 只有GFAP阳性的 $\alpha 2$ 伸长细胞具有干细胞成球能力。 α 伸长细胞体外增殖需要成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)信号来维持, 而在体内FGF水平的升高导致体内的 α 伸长细胞增殖增强^[25]。成年动物的下丘脑神经干细胞表现出对胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)刺激的增殖反应。在成年大鼠中, 静脉注射IGF-1可以促进3rd V中间部分室管膜下的星形胶质细胞和GFAP⁺伸长细胞增殖, 在小鼠中没有发现这一现象。此外, 大鼠的IGF-1静脉注射还可以导致附件脑实质的新生神经元数量增加^[23]。从htNSCs或祖细胞中敲除IGF受体后, 观察到神经元产生增加及 α 伸长细胞的自我更新能力增强^[62]。IGF-1可以刺激成人NSCs的增殖和分化, IGF-1水平的降低与认知衰老相关, 终生的IGF-1暴露被认为可能是与年龄相关的成人神经发生减少的原因之一^[47]。红花籽油(safflower seed oil, SSO)对体外培养的NSCs的增殖和分化具有有益作用。在成年小鼠中施用SSO促进了小鼠体内NSCs的增殖。与使用亚油酸的对照组相比, 从小鼠下丘脑分离的NSCs显示出增殖能力显著增强^[63]。

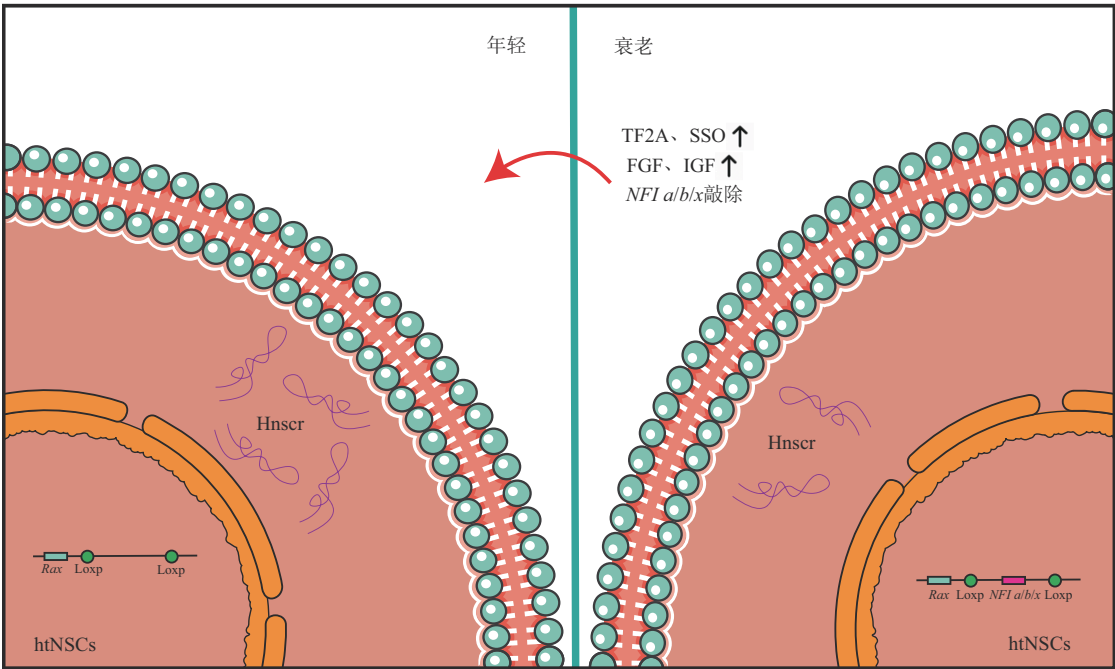


Fig. 2 Regulatory mechanism of hypothalamic neural stem cell regeneration

图2 下丘脑神经干细胞再生的调控机制

TF2A: 茶黄素3-没食子酸盐 (theaflavin 3-gallate); SSO: 红花籽油 (safflower seed oil); FGF: 成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor); IGF: 胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factor); Hnscr: 下丘脑神经干细胞相关长链非编码RNA (hypothalamic neural stem cell-related long non-coding RNA); NFI: 核因子I家族 (nuclear factor I family)。

通过构建 Rax 工具小鼠实现在成年小鼠对伸长细胞特异性的核因子 I 家族 (nuclear factor I family, NFI) 其中的 *NFI a/b/x* 敲除可以导致伸长细胞的增殖, 并且促进了它们向下丘脑实质区域的分化, 最终通过谱系追踪发现这些细胞迁移到了下丘脑实质 ArcN 区域并表达了部分神经元的标记, 通过电生理测试表明, 由这些敲除 *NFI a/b/x* 伸长细胞衍生的细胞可以发射自发动作电位, 存在与神经元诸多相似的电生理特征^[31]。

在小鼠的 htNSCs 中表达的一种 lncRNA——Hnscr, 在年轻小鼠中大量表达而在中年小鼠中显著减少。这种 lncRNA 可以稳定 YB-1, 从而减少 p16INK4A 的表达并进一步减弱衰老相关表型。在细胞内过表达 YB-1 蛋白挽救了 Hnscr 耗竭 htNSCs 细胞增殖的降低, 体内测定显示 YB-1 过表达部分挽救了 Hnscr 耗竭小鼠下丘脑中 htNSCs 数量减少的情况。茶黄素 3-没食子酸盐 (theaflavin 3-gallate, TF2A) 可以作为 Hnscr 的模拟物, 使用 TF2A 处理 htNSCs 增加了 YB-1 蛋白的稳定性, 保护其免受泛素化介导的降解, 在细胞中给予 TF2A 的处理减少了 htNSCs 的衰老^[7]。

5 下丘脑神经干细胞与疾病的关系

5.1 下丘脑神经干细胞与激素相关疾病

在成年雄性小鼠中选择性杀死 GFAP⁺ 的伸长细胞会导致特发性低促性腺激素性腺功能减退症 (idiopathic hypogonadotropic hypogonadism, IHH), 降低睾酮水平和睾丸重量, 以及导致曲细精管的空泡化和精子发生的丧失。此外, 选择性耗竭 GFAP⁺ 伸长细胞导致 GnRH 免疫反应神经元数量的急剧减少以及 LH 分泌减弱^[10]。GnRH 轴突在下丘脑正中隆起处进行分化, 并将其神经激素释放到垂体门脉血液循环中。同时, 伸长细胞远端突起表现出的形态可塑性改变了它们与相邻神经元的关系以及神经血管交界处的空间特性, 这可以调节 GnRH 神经元释放神经激素的能力, 并介导外周激素向下丘脑反馈的离散非神经元通路的激活^[64]。分泌 GnRH 的神经元主要位于下丘脑结节区的漏斗核, 其神经内分泌末梢与正中隆起下方的垂体门脉系统的开窗血管接触, 以分泌激素, 这一过程受到下丘脑胶质细胞特定群体重塑的控制^[65]。

5.2 下丘脑神经干细胞与代谢性疾病

负责将代谢信息传递给神经系统能量稳态网络的血液分子受到血脑屏障 (blood-brain barrier,

BBB) 的限制。这个屏障的一部分由正中隆起微血管的开窗内皮和伸长细胞之间的紧密连接构成。禁食导致的血糖下降会改变血液-下丘脑屏障 (blood-hypothalamus barrier, BHB) 结构, 从而改善代谢底物进入 ArcN 的途径。2-脱氧-D-葡萄糖 (2-deoxy-D-glucose, 2-DG) 可模拟这种变化, 血糖升高可以逆转这种效果, 而血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 信号的中和可以阻断禁食诱导的屏障重塑, 并且改变血糖再升高时的逆转恢复作用。这证实了葡萄糖通过 VEGF 依赖性机制控制 BHB 以及伸长细胞在禁食适应性代谢反应中的作用^[11]。

坦尼胶质细胞与 2 型糖尿病以及阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 之间可能存在联系^[66], 即伸长细胞的葡萄糖耐受性与胰腺 β 细胞相似。在侧脑室或全身给予 FGF1 后, 导致了伸长细胞的强烈激活, 并表现出持续降低葡萄糖水平长达 18 周^[12]。在白藜芦醇介导的衰老改善机制中, 下丘脑的神经干细胞参与这一复杂生物过程中的关键步骤。白藜芦醇通过激活沉默信息调节因子 1 (silent information regulator 1, SIRT1) 发挥作用, 能够改善由 HFD 诱导的代谢并发症以及与衰老相关的神经退行性疾病, 如帕金森病、AD 和中风。但是其局限性在于仅在烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺) 含量充足时起效, 中枢系统因其较低的烟酰胺磷酸核糖转移酶 (nicotinamide phosphoribosyltransferase, NAMPT) 活性导致 NAD⁺ 在产生时受限制, 通过外周补充的 NAD⁺ 可以在经过 BHB 以及 BBB 处的坦尼胶质细胞和星形胶质细胞中的间隙连接半通道蛋白 43 (gap junction protein connexin 43, Cx43) 转运下, 被输送到中枢并发挥作用^[67]。此外, 白藜芦醇治疗还能逆转由高热量饮食引起的代谢变化, 并延长小鼠寿命。通过抑制 NAD⁺ 的消耗酶 CD38, 可以采用药理学方法治疗衰老相关组织中的 NAD⁺ 缺陷和代谢功能障碍。在老年小鼠中应用此方法, 改善了与年龄相关的 NAD⁺ 水平下降, 并显著促进了葡萄糖稳态、运动能力、肌肉功能和心功能的改善^[67]。

在成年雄性小鼠的坦尼细胞中表达肉毒杆菌神经毒素 B 型 (botulinum neurotoxin type B, BoNT/B) 可以抑制囊泡相关膜蛋白 (vesicle associated membrane protein, VAMP) 介导的伸长细胞释放。阻断伸长细胞的 BoNT/B 的表达导致瘦素无法实现

向下丘脑内侧转运, 导致体重正常的中心性肥胖, 如食物摄入增加、腹部脂肪沉积和瘦素水平升高; 而在伸长细胞中表达 BoNT/B 则促进脂肪酸储存, 导致葡萄糖不耐受和胰岛素抵抗^[68]。慢性饮食或遗传性肥胖导致了 MBH 部位的抑制性 κ B 激酶 β ($\text{ikB kinase } \beta$, $\text{IKK}\beta$) 的激活。实验性激活 $\text{IKK}\beta$ 可以增加体重和食物摄入量, 并导致下丘脑中胰岛素和瘦素信号的显著受损^[69]。在 HFD 暴露后, 正中隆起区域的 $\beta 2$ 伸长细胞显示出神经发生增加。通过靶向抑制这一机制, 可以减少 HFD 喂养小鼠的体重增加^[69]。双皮质素样蛋白 (doublecortin-like, DLC) 是在 β 伸长细胞高度表达的一类与神经可塑性相关的微管蛋白, 通过使用强力霉素诱导的 shRNA 表达系统减低下丘脑部位 DCL 的表达水平后, 小鼠的肥胖程度减少, 可能机制为循环甲状腺激素升高导致的全身能量消耗的增加^[70]。静脉注射 $\text{IL-1}\beta$ 会增加伸长细胞中转录因子 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 的活性, 从而导致环氧化酶 2 (cyclooxygenase-2 , Cox-2) 的表达增加, 并促使伸长细胞释放出厌食性前列腺素 E_2 。通过选择性剪切删除伸长细胞中核因子 κB 激酶/核因子 κB 亚单位, 可以减轻 $\text{IL-1}\beta$ 诱导的厌食症^[71]。在 HFD 早期, 正中隆起和 ArcN 界面的 BBB 结构和功能受损, BBB 的渗透率增加。在 HFD 发展的不同时期观察到, 下丘脑正中隆起、ArcN 以及 3rd V 周围的伸长细胞, 特别是胰岛素样生长因子结合蛋白 2 ($\text{insulin-like growth factor binding protein 2}$, IGFBP2) 表达阳性的 $\beta 1$ 伸长细胞的组织和空间分布发生了变化^[72]。饮食性肥胖会损害 htNSCs 的存活和神经再生。在下丘脑构建 NSCs 可以作为控制肥胖和血糖障碍的一种策略, 单纯植入到肥胖小鼠下丘脑的 NSCs 不能存活, 但是抑制 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 信号通路后诱导了这些细胞的存活和神经发生, 从而对抗肥胖和葡萄糖不耐受^[73]。

6 促进下丘脑神经干细胞再生改善衰老的治疗途径及策略

从 htNSCs 的角度出发, 目前相关的改善衰老的报道较少, 这可能是因为下丘脑位于中枢系统深处, 其生理位置及较小的体积导致可操作性较低。我们发现, 下丘脑作为潜在的参与调控全身性衰老的位点, 在改善衰老的治疗和策略中可能具有较大的潜力。促进 htNSCs 的再生似乎可以改善全身的衰老。细胞因子信号调节、特异性基因敲除、使用

lncRNA 的化学模拟物以及体育锻炼似乎都可以使 htNSCs 的增殖变得活跃, 但并非所有这些措施都可以改善衰老表型, 只有部分研究明确报道了它们与衰老之间的关系。

移植年轻的 htNSCs 可以促进 miRNA 外泌体的分泌, 从而使 GnRH 的分泌增加, 实现对 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 通路的抑制实现了衰老的改善, 表现出全脑神经的发生增加、寿命延长、认知提高、耐力增加以及衰老相关的生物学标志物减少。外周注射 GnRH 同样也降低了衰老组织学程度^[8-9]。TF2A 可以作为 Hnscr 的模拟物发挥其促 htNSCs 的再生作用。在细胞中给予 TF2A 的处理减少了 htNSCs 的衰老, 体内实验, 对野生型小鼠给药 TF2A 6 个月会使 htNSCs 的增殖和分化显著增加, 而 β 半乳糖苷酶染色显示衰老会低于对照组, 并且有衰老相关行为学的改善^[7]。对成年雌性小鼠的研究显示, HFD 和体育锻炼有助于 htNSCs 的再生, 短期 HFD 增加了神经发生, 而体育锻炼则刺激了细胞增殖^[74]。运动可以促进 htNSCs 的增殖, 并同时缓解因衰老引起的睡眠障碍问题^[20]。

番茄红素 (lycopene, LYC) 可以通过综合应激反应 (integrated stress response, ISR) 途径减轻阿特拉津 (atrazine, AT) 诱导的下丘脑神经干细胞衰老^[75]。LYC 是一种强效氧化剂, 已有报道认为其可以通过阻止细胞衰老、氧化应激和衰老相关的分泌表型 (senescence-associated secretory phenotype, SASP) 来提高自发老年性骨质疏松模型小鼠 (senescence-accelerated mouse prone 6, SAMP6) 的骨质量^[76]。AT 作为一种农业除草剂可以诱导小鼠下丘脑损伤, 使 htNSCs 表现出分化和增殖的抑制, 衰老标记物核纤层蛋白 B1 (lamin B1 , LMNB1) 表达下降以及 DNA 损伤标志物 $\gamma\text{-H2AX}$ 表达上调从而实现 htNSCs 衰老的促进。使用 LYC 对小鼠进行灌胃, 可以通过抑制 ISR 信号通路从而减轻 AT 诱导的 htNSCs 衰老。具体表现为对 htNSCs 的分化和增殖的促进, LMNB1 表达上调, 磷酸化组蛋白 H2AX ($\text{phosphorylated histone H2AX}$, $\gamma\text{-H2AX}$) 表达下调, 此外 SASP 相关基因的 mRNA 水平降低^[75]。

7 总结与展望

下丘脑作为神经内分泌中枢, 其病理生理重要性不言而喻。传统观念认为, 仅有一些内分泌相关疾病与之相关, 但目前看来下丘脑可以作为衰老和

代谢疾病的切入点^[3]。其中, htNSCs的生物学功能丰富, 恢复衰老状态的htNSCs治疗应用前景潜力巨大。目前已经发现htNSCs与系统性的衰老、神经内分泌调控、HFD及其诱导的神经炎症以及性别差异性衰老联系密切^[5, 7, 45-46]。

目前进行干细胞治疗所使用的细胞类型包括NSCs、间充质干细胞、造血干细胞及诱导干细胞等。干细胞的治疗主要通过两种机制发挥作用, 细胞替代以及旁观者效应, 前者主要通过替换损伤的神经干细胞以补偿功能受损, 后者是指神经干细胞通过自身具有的诸多因子分泌起效^[77-78]。结合htNSCs主要通过分泌信号调节因子发挥作用这一特性, 我们认为除了恢复htNSCs细胞本身的再生以外, 靶向修饰htNSCs的细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)同样有巨大的研究和应用前景。干细胞植入疗法存在一定风险和局限性。在AD模型小鼠中植入NSCs后可以实现神经细胞的再生、记忆能力的恢复改善, 但是存在形成畸胎瘤的风险; 使用间充质干细胞则可以以低免疫性进入BBB, 通过分泌囊泡等实现对神经炎症的减轻, 但是会带来疗效的减低^[79-80]。恶劣的体内微环境会导致细胞存活率降低, 细胞黏附丧失导致细胞在损伤部位的留存和整合不良, 缺乏有效分化为所需细胞的类型^[81]。此外, 神经干细胞移植对神经系统疾病有治疗作用, 但是获得大量的稳定的高质量干细胞仍然是困难点。但是针对神经上皮干细胞来说, 目前已发明一种悬浮培养体系, 在结合改良培养基的基础上可以实现对神经上皮干细胞的量产^[82]。EVs具有较低的免疫原性, 可以穿过BBB, 扩散到脑脊液中, 经过靶向修饰后, 可以与靶细胞的质膜融合, 转运小分子药物^[78]。神经干细胞衍生的细胞外囊泡(neural stem cell-derived extracellular vesicles, NSC-EVs)不仅可以作为特定内容物的载体, 而且因具有较高的靶向性可以更好地通过肝、肾的筛除从而到达神经系统的靶细胞^[78]。在之前的研究中, 将脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)加载到来源于NSCs的EVs中, 用于大鼠卒中模型中, 发现其可以抑制小胶质细胞的活化, 并促进内源性NSCs向神经元的分化, 改善了在多种运动行为测试中的表现, 促进了缺血区域的组织修复, 神经功能得到恢复^[83]。

此外, 在htNSCs功能的研究中, 观察到不同亚型的不同增殖特点。在*NFI a/b/x*敲除模型、FGF

以及IGF诱导等模型中均观察到的 α 型伸长细胞为主要增殖亚型, 但在早期发育中, 则观察到 β 型伸长细胞存在大量的增殖, 这提示了不同亚型的伸长细胞可能具有不同的生物学功能^[23, 25, 31, 36]。此外, 尚未找到可以有效特异地区分4种伸长细胞亚型的生物学标记物, 许多标记物都是4种亚型所共享的, 此外许多标记物与其他神经细胞重复^[39-40]。

系统性衰老及性别差异性衰老都与htNSCs的衰老有着一定的关联。对于衰老这一不可逆的缓慢进程来说, 在饮食限制等措施中已经观察到延缓衰老的可能^[46]。在小鼠中, 仅依靠移植更年轻的htNSCs改善了整体的衰老表型, 即调控下丘脑中的htNSCs的衰老状态可能实现延缓甚至对抗衰老^[7]。之前的研究中均发现一些改善衰老的措施存在性别差异性, 而在htNSCs中观察到雌性小鼠在衰老时表现出的独特改变, 包括下丘脑中与GnRH相关突触的结构的变化、htNSCs中基因的沉默等, 这些可以为理解女性与男性之间不同的衰老提供切入点。不仅仅是htNSCs本身的衰老, 其参与组成的BHB结构也会随着衰老而发生改变^[45, 55, 57]。

通过长期HFD可以导致肥胖的加速以及htNSCs的耗竭, 炎症的增加同样使得htNSCs数量减少。肥胖也可以促进神经炎症, 所以我们推测htNSCs与肥胖、下丘脑处的神经炎症以及衰老互相联系^[24, 45, 58]。在促进寿命延长的CR措施中, 除了减轻HFD带来的神经炎症外, 对htNSCs的消耗抑制作用也被减轻, 从而实现了对抗衰老的效果^[24, 45]。改善htNSCs本身的功能, 恢复其年轻态对延缓衰老本身起作用^[7, 9], 这一方式部分可能是通过类似CR以及减轻神经炎症发挥作用。近来的研究认为, AD与2型糖尿病之间的关系密切, 而htNSCs中的伸长细胞则与能量代谢密切相关, 其表现出的葡萄糖耐受性与胰腺 β 细胞相似, 而且在伸长细胞中过表达BoNT/B就可以导致葡萄糖不耐受和胰岛素抵抗, 而在AD患者中实现代谢稳态则可以延缓认知的衰退及病情的发展^[12, 68]。

总之, 对于htNSCs, 其正常状态以及其衰老均与机体的衰老、能量稳态以及神经内分泌有关。但对于其病理生理性功能、不同亚型之间的区别以及临床治疗转化的研究仍比较局限。通过基因敲除技术可以促进htNSCs的增殖分化, 但目前只观察到了其有效的神经发生能力, 分化成的神经元尚不能完全替代成熟的神经元, 整合到神经环路的能力

同样有限^[31]。一方面恢复 htNSCs 的年轻态, 可以对抗衰老、延长寿命; 另一方面促进 htNSCs 的再生可以减轻神经炎症改善能量代谢稳态相关疾病。因此, 深入探究 htNSCs 的衰老与再生机制将有助于理解下丘脑对机体整体衰老的影响以及能量代谢紊乱相关疾病, 为延缓衰老以及治疗 2 型糖尿病提供新的思路和治疗靶点。

参 考 文 献

- [1] Miranda-Angulo A L, Byerly M S, Mesa J, *et al.* Rax regulates hypothalamic tanycyte differentiation and barrier function in mice. *J Comp Neurol*, 2014, **522**(4): 876-899
- [2] Sousa-Ferreira L, de Almeida L P, Cavadas C. Role of hypothalamic neurogenesis in feeding regulation. *Trends Endocrinol Metab*, 2014, **25**(2): 80-88
- [3] Kim K, Choe H K. Role of hypothalamus in aging and its underlying cellular mechanisms. *Mech Ageing Dev*, 2019, **177**: 74-79
- [4] Xu Y, Tamamaki N, Noda T, *et al.* Neurogenesis in the ependymal layer of the adult rat 3rd ventricle. *Exp Neurol*, 2005, **192**(2): 251-264
- [5] Koopman A C M, Taziaux M, Bakker J. Age-related changes in the morphology of tanycytes in the human female infundibular nucleus/Median eminence. *J Neuroendocrinol*, 2017, **29**: 1-9
- [6] Sharif A, Fitzsimons C P, Lucassen P J. Neurogenesis in the adult hypothalamus: a distinct form of structural plasticity involved in metabolic and circadian regulation, with potential relevance for human pathophysiology. *Handb Clin Neurol*, 2021, **179**: 125-140
- [7] Xiao Y Z, Yang M, Xiao Y, *et al.* Reducing hypothalamic stem cell senescence protects against aging-associated physiological decline. *Cell Metab*, 2020, **31**(3): 534-548.e5
- [8] Mendelsohn A R, Larrick J W. Inflammation, stem cells, and the aging hypothalamus. *Rejuvenation Res*, 2017, **20**(4): 346-349
- [9] Zhang Y, Kim M S, Jia B, *et al.* Hypothalamic stem cells control ageing speed partly through exosomal miRNAs. *Nature*, 2017, **548**: 52-57
- [10] Butruille L, Batailler M, Cateau M L, *et al.* Selective depletion of adult GFAP-expressing tanycytes leads to hypogonadotropic hypogonadism in males. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, **13**: 869019
- [11] Langlet F, Levin B E, Luquet S, *et al.* Tanycytic VEGF-A boosts blood-hypothalamus barrier plasticity and access of metabolic signals to the arcuate nucleus in response to fasting. *Cell Metab*, 2013, **17**(4): 607-617
- [12] Raikwar S P, Bhagavan S M, Ramaswamy S B, *et al.* Are tanycytes the missing link between type 2 diabetes and Alzheimer's disease?. *Mol Neurobiol*, 2019, **56**(2): 833-843
- [13] Bond A M, Ming G L, Song H. Adult mammalian neural stem cells and neurogenesis: five decades later. *Cell Stem Cell*, 2015, **17**(4): 385-395
- [14] Liu M, Xu P, O'Brien T, *et al.* Multiple roles of Utk4 in neurogenesis and brain function. *Neurogenesis (Austin)*, 2017, **4**(1): e1313646
- [15] Inta D, Gass P. Is forebrain neurogenesis a potential repair mechanism after stroke?. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2015, **35**(7): 1220-1221
- [16] Rizzoti K, Lovell-Badge R. Pivotal role of Median eminence tanycytes for hypothalamic function and neurogenesis. *Mol Cell Endocrinol*, 2017, **445**: 7-13
- [17] Covacu R, Brundin L, Brundin L. Effects of neuroinflammation on neural stem cells. *Neuroscientist*, 2017, **23**(1): 27-39
- [18] Miwata T, Suga H, Kawaguchi Y, *et al.* Generation of hypothalamic neural stem cell-like cells *in vitro* from human pluripotent stem cells. *Stem Cell Reports*, 2023, **18**(4): 869-883
- [19] Fong H, Kurrasch D M. Developmental and functional relationships between hypothalamic tanycytes and embryonic radial glia. *Front Neurosci*, 2022, **16**: 1129414
- [20] Kostin A, Alam M A, McGinty D, *et al.* Adult hypothalamic neurogenesis and sleep-wake dysfunction in aging. *Sleep*, 2021, **44**(2): zsaal73
- [21] Lechan R M, Toni R. Functional Anatomy of The Hypothalamus and Pituitary. South Dartmouth (MA): Endotext, 2000: 1-2
- [22] Jais A, Brüning J C. Arcuate nucleus-dependent regulation of metabolism-pathways to obesity and diabetes mellitus. *Endocr Rev*, 2022, **43**(2): 314-328
- [23] Pérez-Martín M, Cifuentes M, Grondona J M, *et al.* IGF-I stimulates neurogenesis in the hypothalamus of adult rats. *Eur J Neurosci*, 2010, **31**(9): 1533-1548
- [24] Li J, Tang Y, Cai D. IKK β /NF- κ B disrupts adult hypothalamic neural stem cells to mediate a neurodegenerative mechanism of dietary obesity and pre-diabetes. *Nat Cell Biol*, 2012, **14**: 999-1012
- [25] Robins S C, Stewart I, McNay D E, *et al.* α -Tanycytes of the adult hypothalamic third ventricle include distinct populations of FGF-responsive neural progenitors. *Nat Commun*, 2013, **4**: 2049
- [26] Batailler M, Droquerre M, Baroncini M, *et al.* DCX-expressing cells in the vicinity of the hypothalamic neurogenic niche: a comparative study between mouse, sheep, and human tissues. *J Comp Neurol*, 2014, **522**(8): 1966-1985
- [27] Schwartz P H, Bryant P J, Fuja T J, *et al.* Isolation and characterization of neural progenitor cells from post-mortem human cortex. *J Neurosci Res*, 2003, **74**(6): 838-851
- [28] Pellegrino G, Trubert C, Terrien J, *et al.* A comparative study of the neural stem cell niche in the adult hypothalamus of human, mouse, rat and gray mouse lemur (*Microcebus murinus*). *J Comp Neurol*, 2018, **526**(9): 1419-1443
- [29] Matsuzaki K, Katakura M, Inoue T, *et al.* Aging attenuates acquired heat tolerance and hypothalamic neurogenesis in rats. *J Comp Neurol*, 2015, **523**(8): 1190-1201
- [30] Akmayev I G, Fidelina O V, Kabolova Z A, *et al.* Morphological aspects of the hypothalamic-hypophyseal system. *Z Für Zellforschung Und Mikrosk Anat*, 1973, **137**(4): 493-512
- [31] Yoo S, Kim J, Lyu P, *et al.* Control of neurogenic competence in

- mammalian hypothalamic tanycytes. *Sci Adv*, 2021, **7**(22): eabg3777
- [32] Flament-Durand J, Brion J P. Tanycytes: morphology and functions: a review. *Int Rev Cytol*, 1985, **96**: 121-155
- [33] Prevot V, Nogueiras R, Schwaninger M. Tanycytes in the infundibular nucleus and Median eminence and their role in the blood-brain barrier. *Handb Clin Neurol*, 2021, **180**: 253-273
- [34] Amat P, Pastor F E, Blazquez J L, *et al*. Lateral evaginations from the third ventricle into the rat mediobasal hypothalamus: an amplification of the ventricular route. *Neuroscience*, 1999, **88**(3): 673-677
- [35] Blázquez J, Guerra M, Pastor F, *et al*. Antibodies obtained by xenotransplantation of organ-cultured Median eminence specifically recognize hypothalamic tanycytes. *Cell Tissue Res*, 2002, **308**(2): 241-253
- [36] Lee D A, Blackshaw S. Functional implications of hypothalamic neurogenesis in the adult mammalian brain. *Int J Dev Neurosci*, 2012, **30**(8): 615-621
- [37] Shah P T, Stratton J A, Stykel M G, *et al*. Single-cell transcriptomics and fate mapping of ependymal cells reveals an absence of neural stem cell function. *Cell*, 2018, **173**(4): 1045-1057.e9
- [38] Chaker Z, Codega P, Doetsch F. A mosaic world: puzzles revealed by adult neural stem cell heterogeneity. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*, 2016, **5**(6): 640-658
- [39] Dou Z, Son J E, Hui C C. *Irx3* and *Irx5* - novel regulatory factors of postnatal hypothalamic neurogenesis. *Front Neurosci*, 2021, **15**: 763856
- [40] Chen R, Wu X, Jiang L, *et al*. Single-cell RNA-seq reveals hypothalamic cell diversity. *Cell Rep*, 2017, **18**(13): 3227-3241
- [41] Wittmann G, Lechan R M. Prss56 expression in the rodent hypothalamus: inverse correlation with pro-opiomelanocortin suggests oscillatory gene expression in adult rat tanycytes. *J Comp Neurol*, 2018, **526**(15): 2444-2461
- [42] Kim D W, Washington P W, Wang Z Q, *et al*. The cellular and molecular landscape of hypothalamic patterning and differentiation from embryonic to late postnatal development. *Nat Commun*, 2020, **11**: 4360
- [43] Jourdon A, Gresset A, Spassky N, *et al*. Prss56, a novel marker of adult neurogenesis in the mouse brain. *Brain Struct Funct*, 2016, **221**(9): 4411-4427
- [44] Scott D E, Sladek J R. Age related changes in the endocrine hypothalamus: I. Tanycytes and the blood-brain-cerebrospinal fluid barrier. *Neurobiol Aging*, 1981, **2**(2): 89-94
- [45] Plakkot B, Di Agostino A, Subramanian M. Implications of hypothalamic neural stem cells on aging and obesity-associated cardiovascular diseases. *Cells*, 2023, **12**(5): 769
- [46] Zhang G, Li J, Purkayastha S, *et al*. Hypothalamic programming of systemic ageing involving IKK- β , NF- κ B and GnRH. *Nature*, 2013, **497**: 211-216
- [47] Hajdarovic K H, Yu D, Hassell L A, *et al*. Single-cell analysis of the aging female mouse hypothalamus. *Nat Aging*, 2022, **2**: 662-678
- [48] Zoli M, Ferraguti F, Frasoldati A, *et al*. Age-related alterations in tanycytes of the mediobasal hypothalamus of the male rat. *Neurobiol Aging*, 1995, **16**(1): 77-83
- [49] Naugle M M, Lozano S A, Guarraci F A, *et al*. Age and long-term hormone treatment effects on the ultrastructural morphology of the Median eminence of female rhesus macaques. *Neuroendocrinology*, 2016, **103**(6): 650-664
- [50] Dabelow S, LeHanka A, Jilkin A. Distinguishing between multiple mathematical models of neural stem cell quiescence and activation during age-related neural stem cell decline in neurogenesis. *Math Biosci*, 2022, **346**: 108807
- [51] Kim Y J, Park B S, Song N, *et al*. Metabolic profiling in the hypothalamus of aged mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022, **599**: 134-141
- [52] Krarup J, Araya L, Álvarez F, *et al*. A brain anti-senescence transcriptional program triggered by hypothalamic-derived exosomal microRNAs. *Int J Mol Sci*, 2024, **25**(10): 5467
- [53] Furukawa M, Tada H, Wang J, *et al*. Molar loss induces hypothalamic and hippocampal astrogliosis in aged mice. *Sci Rep*, 2022, **12**: 6409
- [54] Austad S N. Sex differences in health and aging: a dialog between the brain and gonad?. *GeroScience*, 2019, **41**(3): 267-273
- [55] Hägg S, Jylhävä J. Sex differences in biological aging with a focus on human studies. *Elife*, 2021, **10**: e63425
- [56] Barros P R, Costa T J, Akamine E H, *et al*. Vascular aging in rodent models: contrasting mechanisms driving the female and male vascular senescence. *Front Aging*, 2021, **2**: 727604
- [57] Fernandois D, Rusidzé M, Mueller-Fielitz H, *et al*. Estrogen receptor- α signaling in tanycytes lies at the crossroads of fertility and metabolism. *Metabolism*, 2024, **158**: 155976
- [58] Sanchez C, Colson C, Gautier N, *et al*. Dietary fatty acid composition drives neuroinflammation and impaired behavior in obesity. *Brain Behav Immun*, 2024, **117**: 330-346
- [59] Lama A, Pirozzi C, Severi I, *et al*. Palmitoylethanolamide dampens neuroinflammation and anxiety-like behavior in obese mice. *Brain Behav Immun*, 2022, **102**: 110-123
- [60] Cobb L J, Lee C, Xiao J, *et al*. Naturally occurring mitochondrial-derived peptides are age-dependent regulators of apoptosis, insulin sensitivity, and inflammatory markers. *Aging (Albany NY)*, 2016, **8**(4): 796-809
- [61] Kim S K, Tran L T, NamKoong C, *et al*. Mitochondria-derived peptide SHLP2 regulates energy homeostasis through the activation of hypothalamic neurons. *Nat Commun*, 2023, **14**: 4321
- [62] Chaker Z, George C, Petrovska M, *et al*. Hypothalamic neurogenesis persists in the aging brain and is controlled by energy-sensing IGF-I pathway. *Neurobiol Aging*, 2016, **41**: 64-72
- [63] Barmak M J, Nouri E, Shahraki M H, *et al*. Safflower seed oil, a rich source of linoleic acid, stimulates hypothalamic neurogenesis *in vivo*. *Anat Cell Biol*, 2023, **56**(2): 219-227
- [64] Prevot V, Sharif A. The polygamous GnRH neuron: astrocytic and tanycytic communication with a neuroendocrine neuronal population. *J Neuroendocrinol*, 2022, **34**(5): e13104

- [65] Sauve F, Nampoothiri S, Clarke SA, *et al.* Long-COVID cognitive impairments and reproductive hormone deficits in men may stem from GnRH neuronal death. *EBioMedicine*, 2023, **96**: 104784
- [66] Qi G, Tang H, Hu J, *et al.* Potential role of tanycyte-derived neurogenesis in Alzheimer's disease. *Neural Regen Res*, 2025, **20**(6): 1599-1612
- [67] Roh E, Kim M S. Hypothalamic NAD⁺-sirtuin axis: function and regulation. *Biomolecules*, 2020, **10**(3): E396
- [68] Duquenne M, Deligia E, Folgueira C, *et al.* Tanycytic transcytosis inhibition disrupts energy balance, glucose homeostasis and cognitive function in male mice. *Mol Metab*, 2024, **87**: 101996
- [69] Bhusal A, Rahman M H, Suk K. Hypothalamic inflammation in metabolic disorders and aging. *Cell Mol Life Sci*, 2021, **79**(1): 32
- [70] Modder M, Coomans C P, Saaltink D J, *et al.* Doublecortin-like knockdown in mice attenuates obesity by stimulating energy expenditure in adipose tissue. *Sci Rep*, 2024, **14**: 19517
- [71] Böttcher M, Müller-Fielitz H, Sundaram S M, *et al.* NF-κB signaling in tanycytes mediates inflammation-induced anorexia. *Mol Metab*, 2020, **39**: 101022
- [72] Ramalho A F, Bombassaro B, Dragano N R, *et al.* Dietary fats promote functional and structural changes in the Median eminence blood/spinal fluid interface-the protective role for BDNF. *J Neuroinflammation*, 2018, **15**(1): 10
- [73] Li J, Tang Y, Purkayastha S, *et al.* Control of obesity and glucose intolerance *via* building neural stem cells in the hypothalamus. *Mol Metab*, 2014, **3**(3): 313-324
- [74] Klein C, Jonas W, Wiedmer P, *et al.* High-fat diet and physical exercise differentially modulate adult neurogenesis in the mouse hypothalamus. *Neuroscience*, 2019, **400**: 146-156
- [75] Chen J, Dai X Y, Li X W, *et al.* Lycopene mitigates atrazine-induced hypothalamic neural stem cell senescence by modulating the integrated stress response pathway. *Phytomedicine*, 2024, **135**: 156114
- [76] Wang S, Heng K, Song X, *et al.* Lycopene improves bone quality in SAMP6 mice by inhibiting oxidative stress, cellular senescence, and the SASP. *Mol Nutr Food Res*, 2023, **67**(24): 2300330
- [77] Wang P, Liu P, Ding Y, *et al.* Transplantation of human neural stem cells repairs neural circuits and restores neurological function in the stroke-injured brain. *Neural Regen Res*, 2024. DOI: 10.4103/NRR.NRR-D-24-00363
- [78] Li Y, Fang B. Neural stem cell-derived extracellular vesicles: the light of central nervous system diseases. *Biomed Pharmacother*, 2023, **165**: 115092
- [79] Duan Y, Lyu L, Zhan S. Stem cell therapy for Alzheimer's disease: a scoping review for 2017-2022. *Biomedicines*, 2023, **11**(1): 120
- [80] Mousaei Ghasroldasht M, Seok J, Park H S, *et al.* Stem cell therapy: from idea to clinical practice. *Int J Mol Sci*, 2022, **23**(5): 2850
- [81] Du J, Liu X, Marasini S, *et al.* Metabolically glycoengineered neural stem cells boost neural repair after cardiac arrest. *Adv Funct Mater*, 2024, **34**(17): 2309866
- [82] Zhao S, Duan K, Ai Z, *et al.* Generation of cortical neurons through large-scale expanding neuroepithelial stem cell from human pluripotent stem cells. *Stem Cell Res Ther*, 2020, **11**(1): 431
- [83] Zhu Z H, Jia F, Ahmed W, *et al.* Neural stem cell-derived exosome as a nano-sized carrier for BDNF delivery to a rat model of ischemic stroke. *Neural Regen Res*, 2023, **18**(2): 404-409

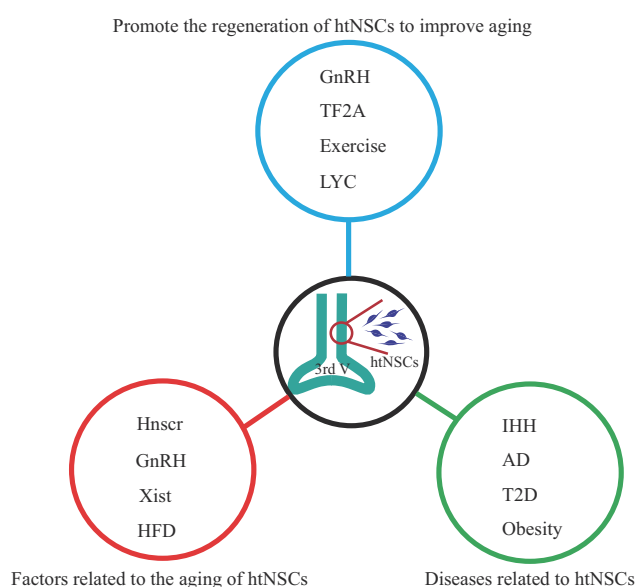
Aging and Regeneration of Hypothalamic Neural Stem Cells*

ZHANG Yu^{1,2)}, ZHANG Xiu-Feng^{1,2)**}

⁽¹⁾NHC Key Laboratory of Drug Addiction Medicine (Kunming Medical University), Kunming 650500, China;

²⁾School of Forensic Medicine, Kunming Medical University, Kunming 650500, China)

Graphical abstract



Abstract Hypothalamic neural stem cells (htNSCs) are a type of glial-like neural stem cell located in the hypothalamus, possessing unique biological characteristics. They not only have the capacity to proliferate and differentiate but can also migrate into the parenchymal regions of the hypothalamus, further developing into neurons and successfully integrating into neural circuits. HtNSCs play multiple key physiological roles in the adult hypothalamus, including contributing to the formation of the blood-hypothalamic barrier (BHB), which is crucial for maintaining the stability of the hypothalamic environment. Through the BHB, htNSCs facilitate the effective diffusion of small molecules between the blood, cerebrospinal fluid, and hypothalamic parenchyma, thereby ensuring the proper transmission of nutrients and signaling molecules. In addition, htNSCs can sense fluctuations in blood glucose levels and regulate the release of neuropeptides accordingly, thus influencing the body's energy metabolism and endocrine balance. However, as the body ages, the function of htNSCs gradually declines. Studies have shown that the aging of htNSCs has significant adverse effects on energy metabolism, sex hormone secretion, and overall hypothalamic function. During the aging process, the proliferative and differentiative capacities of htNSCs diminish, leading to reduced neuronal replenishment and subsequently

* This work was supported by grants from NHC Key Lab of Drug Addiction Medicine (Kunming Medical University) Open Projects (KN202416) and The National Natural Science Foundation of China (81860258).

** Corresponding author.

Tel: 86-15025149349, E-mail: xiuzheng1203@163.com

Received: September 16, 2024 Accepted: January 7, 2025

impairing the hypothalamus's ability to regulate energy balance. Furthermore, aging htNSCs may secrete inflammatory factors that disrupt the endocrine functions of the hypothalamus, thereby affecting sex hormone secretion. This impact extends beyond the hypothalamus itself and may exert widespread effects on the entire endocrine system through pathways such as the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. Fortunately, research has found that transplanting young htNSCs can effectively alleviate neurological and skeletal muscle dysfunction associated with aging. This transplantation therapy replenishes active htNSCs, restoring normal hypothalamic function and thereby improving the body's energy metabolism and neuromuscular function. These findings offer new perspectives and potential therapeutic strategies for anti-aging interventions. In recent years, the role of htNSCs in regulating energy metabolism and promoting aging has attracted significant attention from researchers. Studies have shown that the aging of htNSCs is closely linked to the development of various diseases. For instance, in obesity and metabolic syndrome, htNSC dysfunction may lead to disturbances in energy metabolism. Moreover, the aging of htNSCs has also been associated with the onset of neurodegenerative diseases. Therefore, in-depth research into the mechanisms underlying htNSC aging is crucial for understanding the pathogenesis of these conditions. This article briefly reviews the classification of htNSCs, the impacts of their aging on bodily functions, their relationship with related diseases, and the regulatory mechanisms that promote htNSC regeneration. Some strategies aimed at promoting htNSC regeneration and counteracting their aging appear to influence the overall aging phenotype of organisms. For example, studies have shown that modulating specific signaling pathways or gene expression can promote htNSC regeneration, thereby delaying the aging process. Additionally, certain natural products or pharmacological agents may also influence htNSC aging. Further research on htNSC aging will enhance our understanding of the hypothalamus's role in systemic aging and elucidate the reasons behind gender differences in aging patterns. Moreover, these studies may offer novel approaches and therapeutic targets for improving energy metabolism disorders and treating diseases associated with gonadal hormone abnormalities. In summary, htNSCs play a vital role in the physiological functions of the hypothalamus and the aging process. Further investigation into the mechanisms and regulatory pathways of htNSC aging will aid in the development of new anti-aging therapies and provide innovative strategies for the treatment of related diseases.

Key words neural stem cells, tanycytes, aging, regulatory mechanisms, metabolic disorders

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0406

CSTR: 32369.14.pibb.20240406