

# microRNA 在神经元转分化中的作用

孟必成<sup>1</sup>, 刘海亮<sup>1,2</sup>

(1. 同济大学医学院再生医学系干细胞研究中心, 上海 200092;  
2. 同济大学附属同济医院干细胞临床转化中心, 上海 200092)

**摘要:** 细胞转分化是指一种已分化细胞呈现出另一种已分化细胞特征的过程, 不仅是转录因子, microRNA 也可以实现细胞的转分化。目前, 有关的研究主要集中于成纤维细胞和间充质干细胞在 microRNA 的作用下转分化为神经元, 这种作用可以是促进性的, 也可以是抑制性的。成纤维细胞和间充质干细胞作为比较容易获得的细胞资源, 通过将它们转分化成神经元, 可以大量解决临床需求, 为临床转化奠定基础。因此, 研究 microRNA 在星形胶质细胞转分化为神经元中的作用, 将有比较重要的科学意义。

**关键词:** 医学细胞生物学; microRNA; 综述; 转分化; 神经元

中图分类号: R-33 文献标识码: A 文章编号: 1674-2850(2018)17-1708-05

## Role of microRNA in the transdifferentiation of other cells into neurons

MENG Bicheng<sup>1</sup>, LIU Hailiang<sup>1,2</sup>

(1. *Stem Cell Research Center, Department of Regenerative Medicine, Tongji University School of Medicine, Shanghai 200092, China;*  
2. *Translational Stem Cell Research Center, Tongji Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai 200092, China*)

**Abstract:** Cell transdifferentiation reflects a process in which a differentiated cell exhibits the identity of another differentiated cell. Not only transcription factor, but microRNA can achieve this process. The current studies focus on the role of microRNAs during transdifferentiation from fibroblasts or mesenchymal stem cells to neurons, and this effect can be promoted or inhibited. Because fibroblasts and mesenchymal stem cells are relatively easy to obtain, they can solve a large number of clinical needs and establish a good foundation for clinical transformation by transdifferentiation them into neurons. Therefore, the role of microRNA in the transdifferentiation of astrocytes into neurons will have a more important scientific significance.

**Key words:** medical cell biology; microRNA; review; transdifferentiation; neuron

## 0 引言

再生医学领域中, 细胞的转分化正引起越来越多的重视, 成为基础研究和临床应用的新热点。细胞的转分化是指在一定的条件下, 一种已分化细胞呈现出另一种已分化细胞特征的过程<sup>[1]</sup>。1987年, DAVIS等<sup>[2]</sup>发现转录因子 MyoD 可以将成纤维细胞转分化为骨骼肌细胞, 开启了人工控制细胞转分化的新纪元。VIERBUCHEN等<sup>[3]</sup>则通过成纤维细胞在 Ascl1、Brn2 和 Myt11 的作用下转分化为神经元的实验证明, 中胚层的细胞可以转分化为外胚层的细胞。转分化有不同的类型, 既有经过一中间状态的间接转分化, 也

基金项目: 高等学校博士学科点专项科研基金 (20130072120025)

作者简介: 孟必成 (1992—), 男, 硕士研究生, 主要研究方向: 干细胞表观遗传学

通信联系人: 刘海亮, 副教授, 主要研究方向: 干细胞表观遗传学与衰老. E-mail: hailiang\_1111@tongji.edu.cn

有不存在任何去分化状态的直接转分化,如成纤维细胞直接转分化为神经元、肝细胞样细胞<sup>[4]</sup>等。作为基因表达的重要影响者, microRNA 指细胞中不编码蛋白质的一类长度约 22 nt 的 RNA 小分子,一般认为它可以结合到目标转录产物的 3'-UTR 区域以抑制靶基因的翻译和表达<sup>[5]</sup>。LIM 等<sup>[6]</sup>发现将 miR-124 或 miR-1 分别转染到海拉细胞可以令其呈现出脑部或肌肉的转录组学特征,揭示了 microRNA 在细胞转分化中的重大潜力。此后,有关 microRNA 与转分化的研究多围绕神经元展开。

## 1 microRNA 在不同谱系细胞转分化为神经元中的作用

神经系统主要有神经元和神经胶质细胞两种细胞类型,神经胶质细胞指周边神经系统的施旺细胞和中枢神经系统的星形胶质细胞与少突胶质细胞<sup>[7]</sup>。虽然有关其他细胞转分化为神经元和胶质细胞的报道层出不穷,但大多使用的是各种转录因子的组合,有关 microRNA 的研究还比较少,且转分化的目标都是神经元。目前的研究主要集中在成纤维细胞和间充质干细胞在 microRNA 的作用下转分化为神经元。

### 1.1 成纤维细胞

YOO 等<sup>[8]</sup>用慢病毒载体包装 miR-9/9\* 和 miR-124 前体并感染人成纤维细胞,发现这些细胞显示出神经元的形态特征并表达神经元特异性分子标志 MAP2。电生理学研究显示,这些细胞能被激发产生动作电位,并且其钠离子、钙离子等离子通道具有正常活性。两种 microRNA 在实现转分化过程中有着明显的协同效应,并且转分化效率会在 NEUROD2、ASCL1 和 MYT1L (DAM) 等转录因子的共同作用下大幅提升。基因表达的单细胞水平分析显示,大多数诱导性细胞会表达皮质层的基因,并且不均一地表达兴奋性和抑制性神经元的细胞标记物。研究不仅揭示了 miR-9/9\* 和 miR-124 的协同作用,也进一步探索了细胞转分化过程中 microRNA (miR-9/9\*、miR-124) 和转录因子 (NEUROD2、ASCL1 和 MYT1L) 的相互促进、相辅相成的关系。后续研究中,VICTOR 等<sup>[9]</sup>将 miR-9/9\*、miR-124 与发育中的纹状体中高表达的四种转录因子 BCL11B、DLX1、DLX2 和 MYT1L 在人成纤维细胞中共表达,发现诱导细胞呈现出类似于脑部纹状体中型多棘神经元 (medium spiny neurons, MSNs) 的特征,并且移植到小鼠脑部后也表现出与天然 MSNs 相同的膜电位特征和功能,由此证明 microRNA 与转录因子可以诱导细胞转分化产生特定生理区域、特定类型的神经元。即使没有 miR-9,在脑部高表达的 miR-124 与其他转录因子同样能使细胞向神经元转分化。AMBASUDHAN 等<sup>[10]</sup>用已知的与决定神经元细胞谱系相关的 11 种转录因子和 1 种 microRNA (miR-124) 排列组合再转染人的成纤维细胞,最终确认了 BRN2、MYT1L 和 miR-124 的组合可以有效地将其转分化为神经元。转染病毒载体后第 15 天,细胞呈现出明显的神经元外形,并表达成熟神经元特异性分子标志 MAP2 和 NeuN。这些细胞也表现出成熟神经元的电生理学特性,包括自发性动作电位等,并且大多数为谷氨酸能神经元。该研究也提供了一个转录因子和 microRNA 的组合,并且在没有其他类型细胞共存的培养条件下成功实现了人成纤维细胞转分化为神经元。XUE 等<sup>[11]</sup>则发现一种在脑部发育过程中产生的 RNA 结合蛋白 PTB 可以与 miR-124 竞争位于 REST 元件之一 SCP1 的 3'-UTR 结合位点,通过调节 REST 复合物的活性抑制成纤维细胞向神经元的转分化,由此可知,通过其他物质调节 microRNA 或其靶基因的活性间接促进转分化也不失为一种研究思路。

### 1.2 间充质干细胞

microRNA 在骨髓间充质干细胞转分化为神经元的过程中扮演着重要角色<sup>[12]</sup>。JING 等<sup>[12]</sup>用慢病毒载体将 microRNA-9-1 转染到骨髓间充质干细胞,发现神经元特异性分子标志 MAP-2 的表达明显升高。ZHANG 等<sup>[13]</sup>发现,转染携带 microRNA-9 的慢病毒载体并用  $\beta$ -巯基乙醇诱导 6 d,大多数骨髓间充质干

细胞显示出典型的神经元形态学特征, 并且神经元特异性分子标志 NSE 和 MAP-2 的表达量显著升高。除直接促进细胞的转分化外, microRNA 也可以通过作用于靶基因对转分化的过程进行调节。DUAN 等<sup>[14]</sup>发现用二甲基亚砜 (DMSO) 和丁基羟基茴香醚 (BHA) 作用的骨髓间充质干细胞被诱导转分化为神经元的过程中基因 REST 显著下调, 而 miR-29a 的表达上升。双荧光酶报告基因分析显示, miR-29a 可以作用于 REST 并抑制其活性, 随后的 miR-29a 的基因敲除和过表达实验也证实了其对于 REST 的抑制和神经元特异性分子标志 NSE、Tau 表达的促进, 说明了 miR-29a 通过作用于靶基因 REST 调节骨髓间充质干细胞转分化为神经元。ZOU 等<sup>[15]</sup>在骨髓间充质干细胞中过表达 miR-124, 6 d 后发现细胞中  $\beta$ 3-tubulin 和 MAP-2 的表达量很高, 细胞也出现典型的神经突起。将 miR-124 诱导的细胞移植到脊髓损伤的大鼠体内, 发现移植处表达神经元分子标记 NF200 的细胞数目远多于对照组; BBB (Basso-Beattie-Bresnahan) 运动功能评分显示, 脊髓损伤后 14 d, 接受了 miR-124 诱导性细胞移植的大鼠后肢恢复显著增强。该研究将 microRNA 与细胞转分化应用到脊髓损伤恢复中, 为临床研究提供了新思路。WANG 等<sup>[16]</sup>发现敲除 miR-124 的脂肪间充质干细胞在转分化为神经元和胶质细胞时 NSE、Tuj-1 和 GFP 的 mRNA 表达明显降低, 三者为阳性的细胞比例分别下降了 18.6%、22.1% 和 25.4%; 同时, 这种 microRNA 也会影响转分化细胞的电生理学活性, 膜片钳技术显示, miR-124 敲除的转分化细胞在膜电位上显著降低。WU 等<sup>[17]</sup>在大鼠骨髓间充质干细胞中转入 miR-125b mimic 或 inhibitor, 并用  $\beta$ -巯基乙醇处理, 6 d 后, miR-125b mimic 组 mRNA 和蛋白水平的神经细胞特异性分子标志  $\beta$ 3-tubulin、MAP-2、NF、NSE、GFAP 和 Nestin 显著升高, 形态上也呈现出更明显的神经元样特征, 而 inhibitor 组的结果与其相反。值得注意的是, microRNA 对于转分化的作用也可以是抑制性的。WU 等<sup>[18]</sup>发现 miR-128 的过表达能明显抑制大鼠骨髓间充质干细胞表达 6 种神经细胞特异性分子, 并且与对照组相比, 诱导性细胞呈现出的神经元外形特征并不明显, 且数量很少。

### 1.3 其他细胞

在体外诱导成人视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 细胞转分化为神经元样细胞, 实验组经诱导后 RPE 细胞长出轴突样突起并相互连接成网状, 呈现典型的神经元细胞形态, 经过 MAP-2、NF200 及 Pax6 比较, 差异有统计学意义, 说明体外诱导成人 RPE 细胞出现神经元样细胞是一种可行的诱导方法<sup>[19]</sup>。自从第一位科学家报道小鼠胚胎成纤维细胞可以被成功地转化为成熟神经元之后, 更多的成年小鼠和人类体细胞被直接转分化成了有功能的神经元, 还有肝细胞<sup>[20]</sup>、周细胞<sup>[21]</sup>和尿液中的细胞<sup>[22]</sup>也都可以成功转分化。这些将有可能为采用细胞替换疗法治疗人类神经退行性疾病提供一个新的资源。

## 2 结论与展望

与传统的转录因子诱导相比, 由于 microRNA 在自然状态下便可稳定存在于细胞内并可在细胞之间转移, 故用 microRNA 作为转分化的诱导物不仅可以规避 DNA 整合到细胞基因组的风险, 同时其成熟体进入细胞也不会引发天然免疫反应<sup>[23]</sup>。除成纤维细胞和间充质干细胞外, 其他类型的细胞在 microRNA 作用下转分化为神经元有待于进一步探索, 特别是同属神经系统的星形胶质细胞。胶质疤痕是神经损伤 (包括脑损伤和脊髓损伤) 病理过程中的普遍性结果, 神经系统损伤区的坏死产物被吞噬细胞清除后, 坏死区边缘将被大量星形胶质细胞占据<sup>[24]</sup>。如果能将胶质疤痕中的大量星形胶质细胞转分化成为有功能的神经元, 不仅可以排除胶质疤痕带来的神经胶质阻碍, 而且更能有效地促进神经系统功能重建。在体内, LIU 等<sup>[25]</sup>已经成功地通过单个转录因子 Ascl1 将小鼠中脑星形胶质细胞转分化为有功能的神经元, 为神经损伤的治疗带来了曙光。而基于前文所述的免疫学和基因组上的安全性, microRNA 在星形胶质

细胞转分化为神经元和神经损伤康复中扮演的角色应当引起更多的关注。通过星形胶质细胞和神经元中高表达基因预测可能对它们产生调节的 **microRNA**，并通过类似于转录因子研究中的“鸡尾酒”疗法寻找出最优的组合，这或许是今后研究的一个可行思路。

### [参考文献] (References)

- [1] MASIP M, VEIGA A, IZPISÚA BELMONTE J C, et al. Reprogramming with defined factors: from induced pluripotency to induced transdifferentiation[J]. *Molecular Human Reproduction*, 2010, 16(11): 856-868.
- [2] DAVIS R L, WEINTRAUB H, LASSAR A B. Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblasts[J]. *Cell*, 1987, 51(6): 987-1000.
- [3] VIERBUCHEN T, OSTERMEIER A, PANG Z P, et al. Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors[J]. *Nature*, 2010, 463(7284): 1035-1041.
- [4] SIMEONOV K P, UPPAL H. Direct reprogramming of human fibroblasts to hepatocyte-like cells by synthetic modified mRNAs[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e100134.
- [5] LIU B, LI J, CAIRNS M J. Identifying miRNAs, targets and functions[J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2012, 15(1): 1-19.
- [6] LIM L P, LAU N C, GARRETT-ENGELE P, et al. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs[J]. *Nature*, 2005, 433(7027): 769-773.
- [7] TIAN L, PRABHAKARAN M P, RAMAKRISHNA S. Strategies for regeneration of components of nervous system: scaffolds, cells and biomolecules[J]. *Regenerative Biomaterials*, 2015, 2(1): 31-45.
- [8] YOO A S, SUN A X, LI L, et al. MicroRNA-mediated conversion of human fibroblasts to neurons[J]. *Nature*, 2011, 476(7359): 228-231.
- [9] VICTOR M, RICHNER M, HERMANSTYNE T, et al. Generation of human striatal neurons by microRNA-dependent direct conversion of fibroblasts[J]. *Neuron*, 2014, 84(2): 311-323.
- [10] AMBASUDHAN R, TALANTOVA M, COLEMAN R, et al. Direct reprogramming of adult human fibroblasts to functional neurons under defined conditions[J]. *Cell Stem Cell*, 2011, 9(2): 113-118.
- [11] XUE Y, OUYANG K, HUANG J, et al. Direct conversion of fibroblasts to neurons by reprogramming PTB-regulated microRNA circuits[J]. *Cell*, 2013, 152(1): 82-96.
- [12] JING L, JIA Y, LU J, et al. MicroRNA-9 promotes differentiation of mouse bone mesenchymal stem cells into neurons by Notch signaling[J]. *Neuroreport*, 2011, 22(5): 206-211.
- [13] ZHANG G, WANG J, JIA Y, et al. MicroRNA-9 promotes the neuronal differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells by activating autophagy[J]. *Neural Regeneration Research*, 2015, 10(2): 314-320.
- [14] DUAN P, SUN S, LI B, et al. miR-29a modulates neuronal differentiation through targeting REST in mesenchymal stem cells[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e97684.
- [15] ZOU D, CHEN Y, HAN Y, et al. Overexpression of microRNA-124 promotes the neuronal differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. *Neural Regeneration Research*, 2014, 9(12): 1241-1248.
- [16] WANG Y, WANG D, GUO D. MiR-124 promote neurogenic transdifferentiation of adipose derived mesenchymal stromal cells partly through RhoA/ROCK1, but not ROCK2 signaling pathway[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0146646.
- [17] WU R, WANG N, LI M, et al. Experimental study on the facilitative effects of miR-125b on the differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells into neuron-like cells[J]. *Cell Biology International*, 2013, 37(8): 812-819.
- [18] WU R, TANG Y, ZANG W, et al. MicroRNA-128 regulates the differentiation of rat bone mesenchymal stem cells into neuron-like cells by Wnt signaling[J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2014, 387(1-2): 151-158.
- [19] 金怡轩, 张少冲, 郑健樑, 等. Y27632 体外诱导视网膜色素上皮细胞转分化为神经元样细胞的初步研究[J]. *中华眼底病杂志*, 2011, 27 (3): 275-277.  
JIN Y X, ZHANG S C, ZHENG J L, et al. Y27632 induce trans-differentiation from retinal pigment epithelial cells into

- neuron-like cells *in vitro*[J]. Chinese Journal of Ocular Fundus Diseases, 2011, 27(3): 275-277. (in Chinese)
- [20] MARRO S, YANG N. Transdifferentiation of mouse fibroblasts and hepatocytes to functional neurons[J]. Methods in Molecular Biology, 2014, 1150(1150): 237.
- [21] KAROW M, SÁNCHEZ R, SCHICHOR C, et al. Reprogramming of pericyte-derived cells of the adult human brain into induced neuronal cells[J]. Cell Stem Cell, 2012, 11(4): 471-476.
- [22] KIM J Y, CHUN S Y, PARK J S, et al. Laminin and platelet-derived growth factor-BB promote neuronal differentiation of human urine-derived stem cells[J]. Tissue Engineering & Regenerative Medicine, 2018, 15(2): 195-209.
- [23] SHENOY A, BLELLOCH R. MicroRNA induced transdifferentiation[J]. F1000 Biology Reports, 2012, 4: 3.
- [24] LEAL-FILHO M B. Spinal cord injury: from inflammation to glial scar[J]. Surgical Neurology International, 2011, 2: 112.
- [25] LIU Y, MIAO Q, YUAN J, et al. Ascl1 converts dorsal midbrain astrocytes into functional neurons *in vivo*[J]. Journal of Neuroscience, 2015, 35(25): 9336-9355.