

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.03.027

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2021.03.027>

· 综述 ·

MiRNAs 在成体神经发生中的作用

朱红梅¹, 张凤兰¹ 综述 戴海龙² 审校

- (1. 昆明医科大学分子临床医学研究院, 云南省干细胞和再生医学重点实验室, 昆明 650500;
2. 云南省心血管疾病重点实验室, 昆明医科大学附属延安医院心内科, 昆明 650051)

[摘要] 成年哺乳动物大脑仍然能够产生新生神经元的发现点燃了一个新的研究领域——神经发生。目前认为研究成年后的神经发生对进一步了解大脑功能和衰老, 脑肿瘤、神经系统退行性疾病的发病机制和治疗, 中枢神经系统的损伤修复等均具有重要的意义。成体神经发生是一个复杂的多步骤过程, 每个阶段都受细胞内在基因表达程序和细胞外微环境因素的精细调控。越来越多的证据表明miRNAs代表了一类转录后基因表达调控因子, 是控制成体神经发生的基因调控网络的重要组成部分。

[关键词] miRNA; 成体神经发生; 啮齿类动物; 基因调控

Role of miRNAs in adult neurogenesis

ZHU Hongmei¹, ZHANG Fenglan¹, DAI Hailong²

(1. Key laboratory of Stem Cell and Regenerative Medicine of Yunnan Province, Institute of Molecular and Clinical Medicine, Kunming Medical University, Kunming 650500; 2. Key Laboratory of Cardiovascular Disease of Yunnan Province, Department of Cardiology, Yan'an Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650051, China)

Abstract The finding that the adult mammalian brain is still capable of producing neurons has ignited a new field of research, namely neurogenesis. It is currently considered that the study of adult neurogenesis may contribute to further understanding of how to maintain the normal brain function and aging, pathogenesis and treatment of brain tumors, neurodegenerative diseases, as well as damage and repair of the central nervous system. In addition, adult neurogenesis is a complex multi-step process, each of which is finely regulated by cell-intrinsic gene expression and extra cellular microenvironmental factors. Accumulating evidence suggests miRNAs, which represent a class of post-transcriptional gene expression regulators, are a crucial part of the gene regulatory networks governing adult neurogenesis.

Keywords miRNAs; adult neurogenesis; rodent; genetic regulation

收稿日期 (Date of reception): 2019-09-18

通信作者 (Corresponding author): 戴海龙, Email: 46944404@qq.com

基金项目 (Foundation item): 云南省教育厅科学研究基金 (2015J055)。This work was supported by Scientific Research Fund Project of Yunnan Provincial Department of Education, China (2015J055).

神经干细胞(neural stem cells, NSCs)是一种存在于胚胎和成体中枢神经系统中具有自我更新和增殖能力且能够分化成神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞的细胞群^[1-2]。近年来大量研究发现,在整个生命过程中,有限数量的成体神经干细胞(adult NSCs, aNSCs)持续存在于哺乳动物大脑的特定脑区:脑室室管膜下区(sub-ventricular zone, SVZ)和海马齿状回颗粒下区(sub-granular zone of the dentate gyrus, SGZ)^[3-4]。这两个脑区的aNSCs通过不对称分裂为定向祖细胞或神经前体细胞(neural precursor cells, NPCs),并逐渐向功能区域迁移,在那里分化为成熟的新生神经元,并与其他神经元建立新突触联系,进而整合入现存的神经网络中发挥作用,这一系列的过程称为成体神经发生^[5]。成年哺乳动物的中枢神经系统终身存在神经发生的发现打破了传统观念对神经发生的认识:神经发生主要存在于哺乳动物胚胎发育期,而不存在于成年期。后续研究^[6]还发现成体神经发生的改变与许多病理状况有关,如缺血或癫痫诱导的损伤、情绪障碍、神经退行性疾病和脑肿瘤等。目前,成体神经发生已成为神经生物学和神经病学领域的研究热点。成体神经发生机制的探究将对解密衰老机制、延迟认知衰退、了解中枢神经系统疾病的病因和发掘内源性aNSCs的治疗潜力产生重大意义。

MicroRNA(miRNA)是一种广泛存在于真核生物中的内源性非编码小RNA,由基因组转录生成。成熟的miRNA长约22 nt,在转录后水平调控蛋白质的翻译过程。近年来,miRNA被认为是许多生物学过程的重要调控因子,几乎所有的发育、生理和疾病相关过程都受到miRNA的调节^[7]。如miRNA参与机体发育,调控干细胞的增殖和分化、神经系统/心血管系统/肿瘤等疾病以及衰老的发生发展等过程^[8]。因此,miRNA调控紊乱可能是人体多种疾病发生的潜在因素。如今miRNAs在神经系统生理和病理过程中的作用日益为研究人员所关注。

1 MiRNA 的生物合成、功能和特点

MiRNA的生物合成始于细胞核。在细胞核内,编码miRNA的基因由RNA聚合酶II或III转录生成初级转录本miRNA(pri-miRNA)。通过用Drosha和DGCR8蛋白酶消化将pri-miRNA剪切生成长度为70 nt带发夹环的前体miRNA(pre-miRNA)。随后pre-miRNA被核转运受体Exportin5转运至细胞质,并被细胞质内Dicer酶消化,剪切成双链

RNA(miRNA duplex)。双链体结构再通过解旋酶解开,最终生成具有19~23 bp的成熟单链miRNA。其中一条成熟的miRNA与Ago2蛋白形成RISC复合物并靶向作用于mRNA的3'非翻译区(3' untranslated region, 3'UTR),而另一条则会被降解^[9]。

随后成熟的单链miRNA通过5'端2~8位的种子序列(seed sequence)识别下游靶mRNA的3'UTR并与其结合,当miRNA序列与其靶mRNA序列完全互补性配对时,RISC复合物诱导下游靶mRNA降解,而当miRNA-mRNA序列不完全互补时,则抑制靶mRNA翻译为蛋白质,使靶蛋白的表达降低^[9-11]。

编码miRNA的基因在基因组中有多种存在形式:单顺反子、多顺反子。其中,多顺反子簇可通过重复事件由miRNA同源物组成或由不同种子家族的miRNA组成。可见,一个miRNA可以与一个或多个靶基因的UTR结合,而一个靶基因也可以受多个miRNA调控。近年来大量研究^[12]发现:甚至一个miRNA可以调控上百个下游靶基因。因此,miRNA和下游靶基因之间可以形成多元和复杂的调控网络。此外,miRNA还具有组织特异性和时空特异性^[7-8,12],说明miRNA参与生物体的发育、生理和疾病病理过程的基因调控,具有重要的研究价值。

2 成体神经发生

在成年哺乳类动物脑内,主要在SVZ-RMS-OB系统和海马齿状回系统存在持续的神经发生。虽然在其他脑区也发现了成体神经发生,如新皮层、纹状体、杏仁核和黑质,但是只有在受损的大脑中,才会存在持续的神经发生^[13]。对新生细胞亚群的鉴定和定量是成体神经发生研究的核心问题,目前对SVZ区和SGZ区的细胞亚群及神经发生的过程在啮齿动物中得到了最广泛的研究^[6,14]。下文以啮齿类动物为例详细介绍。

2.1 成年啮齿动物 SVZ 区: 结构、细胞亚群分布及神经发生的过程

SVZ为胼胝体以下环绕侧脑室外侧壁的薄层条带状结构,在侧脑室外侧壁正对纹状体处其结构最为明显,侧脑室前角的最前部也属于SVZ^[15-16]。该区主要有A、B、C和E细胞,其中E细胞为室管膜细胞(ependymal cells, EC),是一种高度分化的单层上皮细胞,无分裂能力,具有绒毛结构,将SVZ区与室管膜区分隔开^[17]。其余3种为前体细胞,即B型GFAP⁺祖细胞、C型过渡性增殖祖细胞[又叫短暂扩充细胞(transient amplifying

cells)]和A型迁移性神经母细胞^[3]。在正常生理条件下, B型细胞能够缓慢地分裂产生快速分裂的C型细胞, 该细胞沿侧脑室的侧壁成簇分布, 是SVZ区增殖最活跃的细胞, 可快速分裂为A型细胞。A型细胞是SVZ区数量最多的一种细胞, 表达微管相关蛋白及与迁移相关的分子标志物DCX和PSA-NCAM(也为早期神经元标志物), 能调节aNSCs的定向迁移(PSA-NCAM阳性A细胞占主导作用)和分化(DCX阳性A细胞占主导作用)^[18-19]。

从SVZ区产生的A细胞沿着嘴侧迁移流(rostral migratory stream, RMS)经过5~9 d切线迁移至嗅球(olfactory bulb, OB)的中央区(即室管膜下层, subependymal layer, SEL), 此时的细胞形态简单, 仅具有一个明显的主突起和一个小的尾状突起; 随后抵达SEL区的A细胞离开细胞链, 分别朝周边的颗粒细胞层(granule cell layer, GCL)及球旁细胞层(glomerular layer, GL)径向迁移。4 d后抵达GCL及GL, 停止迁移, 并在那里分化为成熟的GABA能颗粒中间神经元、多巴胺能或者谷氨酸能球旁中间神经元^[15,20]。其中抵达GCL的细胞, 形成一个向僧帽细胞层延伸的简单树突结构但树突棘很少, 到第30天才分化为成熟的功能神经元, 具有完整的成熟颗粒细胞的形态, 产生较多的树突棘^[21-22]。研究^[23]发现: 约95%的新生神经元分化为颗粒细胞, 仅少数分化为球旁细胞。在新生颗粒细胞的分化和成熟过程中, RMS是由特定的细胞形成的管状迁移路径, 主要由两种细胞组成, 即神经母细胞(PSA-NCAM⁺和DCX⁺A细胞)与星型胶质细胞(GFAP⁺B细胞)^[24]。B型祖细胞对有丝分裂不敏感, 长期处于静止状态, 为邻近细胞提供黏着基板^[25], 在迁移过程中包绕A细胞^[24]。在SVZ-RMS-OB系统中, 起连接SVZ与OB的桥梁作用, 以便A细胞在RMS的道路上铺路一边沿路迁移, 最终抵达OB。

2.2 成年啮齿动物海马 DG 区: 结构、细胞亚群分布及神经发生的过程

海马被认为是参与学习、记忆和情绪信息处理等高级神经活动的关键脑区。成年啮齿动物海马, 在结构上可分为海马回和齿状回(dentate gyrus, DG)两部分。海马回包括CA1、CA2、CA3, 主要由锥体神经元组成; 而DG则包括分子层(molecular layer, ML)、颗粒细胞层(granule cell layer, GCL)、颗粒下区(subgranular zone, SGZ)及门区(Hilus), 主要由颗粒细胞组成^[3]。成体海马神经发生主要位于DG区的SGZ, 该区主要存在3种神经前体细胞^[3,5]: 1型海马前体细胞由aNSCs缓慢分

裂产生, 主要表达GFAP, Nestin和Sox2, 呈放射状穿过整个颗粒细胞层并在内分子层形成分支, 并与脉管系统紧密接触; 2型海马前体细胞不表达GFAP, 主要由2个亚群组成——2a(表达Mash1和Sox2)、2b(表达NeuroD1)。据报道: 2型细胞是由1型细胞产生的, 其存在时间较短, 可快速增殖并产生3型细胞。3型细胞是迁移性的神经母细胞, 表达PSA-NCAM和DCX。在有限次数的细胞分裂后, 3型细胞退出细胞周期, 短距离迁移至海马GCL, 并在那里分化为谷氨酸能海马齿状回颗粒神经元, 产生树突和轴突, 其发出的树突可延伸入海马的分子层, 轴突与CA3区靶神经元的树突, 形成功能性突触联系, 整合到海马功能的神经环路中^[26]。CA3区是海马产生长期增强的关键部位, 因而海马DG区的神经发生对空间学习与认知记忆有重要作用。

根据细胞的特定形态和特异性分子标志物的表达, 发现SVZ与DG区的NSCs和NPCs类似: 分为径向神经胶质样NSCs(SVZ为B型细胞; SGZ为1型细胞)产生快速分裂的定向中间祖细胞(SVZ为C型细胞; SGZ为2型细胞), 然后产生成神经细胞(SVZ为A型细胞, SGZ为3型细胞)^[6]。成体神经发生的过程包括aNSCs的维持和增殖、细胞命运决定神经元分化、迁移、存活、新生神经元的成熟和功能整合。据报道^[27], 这些不同的阶段过程都受到细胞内在基因表达程序和环境因素的特定控制, miRNAs在成体神经发生有关的基因调控网络中扮演重要角色。

3 MiRNA 与成体神经发生

人和啮齿类动物的脑组织富含miRNA的表达, miRNA在大脑不同解剖学区域分布具有特异性, 如miR-218, miR-221, miR-222, miR-26a, miR-128a/b, miR-138和let-7c在成年小鼠海马中特异性表达^[28]; miRNA的表达还具有细胞特异性, 如miR-124和miR-128主要表达于成熟神经元而在神经胶质细胞中不表达, miR-23局限性表达于星型胶质细胞中^[29]; miR-92b在NSCs或NPCs中特异性表达^[30]。MiR-125b和miR-93在SVZ区NSCs或NPCs中大量表达^[31]。MiRNA在成体神经发生相关的脑区和细胞亚群中表达, 提示miRNA可能与成体神经发生相关。

对miRNA功能作用的研究首先是通过miRNA生物合成过程中必需酶的敲除实验进行的。在过去的十多年中对Dgcr8和Dicer酶的敲除已被广泛研究, 发现Dgcr8和Dicer等位基因双敲除

(Dgcr8^{-/-}和Dicer^{-/-})的小鼠均会导致胚胎致死, 胚胎神经干细胞均具有体外增殖能力但不能分化为成熟体细胞^[32-34]。以上研究说明miRNA在发育早期胚胎干细胞的存活和分化中扮演了重要的角色。由于基因双敲除的小鼠表现出严重的表型, Ouchi等^[35]通过对成年Dgcr8^{+/-}小鼠(该小鼠按预期的孟德尔比率出生, 可育, 且具有正常的预期寿命)及同窝对照Dgcr8^{+/+}小鼠的SVZ区及海马体组织, 进行细胞培养和组织切片的BrdU和NeuN免疫荧光染色, 观察神经干细胞的增殖和神经元的分化能力, 结果表明Dgcr8^{+/-}导致成年海马DG区NPCs的增殖和神经元分化减少, 使成体神经发生能力受损, 而SVZ区则未受影响。可见, miRNA在成体海马神经发生中扮演重要角色。此外, 近年来通过对单个miRNA过表达或抑制的研究, 发现了许多miRNA在调节SVZ和SGZ区成体神经发生中起重要作用。

4 MiRNA 调控成体神经发生

MiRNA主要通过调控其下游靶基因在aNSCs/NPCs和神经元中的表达来影响成体神经发生过程中的不同阶段。

4.1 特定 miRNA 调控啮齿类动物 SVZ-RMS-OB 系统成体神经发生

随着研究的深入, 已发现许多特异性miRNA主要与编码关键转录调节因子的靶mRNA相互作用来调节SVZ区成体神经发生的不同阶段, 包括aNSCs的增殖、神经元分化、细胞命运决定和迁移(表1)。

MiR-9和Let-7b通过靶向干细胞调节因子TLX

和细胞周期调节因子细胞周期蛋白D1(cyclin D1)负向调控aNSCs的增殖和正向调控神经元分化。据文献^[43]报道, TLX在SVZ区B型细胞中表达特别多, 在调节aNSCs的维持和自我更新中具有关键作用。随后Zhao等^[36,38]的研究发现: 在小鼠aNSCs中miR-9和Let-7b通过抑制TLX和其下游的效应分子cyclin D1的表达, 减少细胞周期进程来抑制aNSCs增殖和促进神经元分化。同时, Let-7b还可靶向另一转录因子Hmga2, 下调Hmga2的表达, 抑制前脑aNSCs的增殖。Let-7b和它的靶分子Hmga2相互作用调控aNSCs的自我更新和衰老^[39]。

MiR-9和miR-25通过靶向作用于年龄和长寿因子FoxO家族成员正向调控aNSCs的增殖和神经元分化。据报道, FoxO是跨物种发现的进化上保守的长寿因子, 在机体衰老过程中具有支持组织长期再生的潜能。在神经系统中, FoxO维持成体神经干细胞的储备和终身神经发生^[44]。FoxO家族成员FoxO1特异性表达于SVZ区的NSCs和NPCs。MiR-9通过负向调控转录因子FoxO1的表达促进神经元分化, 在此过程中FoxO1与Notch信号通路下游基因的转录因子CSL直接相互作用来影响神经元分化^[37]。Renault等^[45]研究发现FoxO家族另一成员FoxO3也特异性表达于成年小鼠的SVZ和SGZ的NSCs和NPCs, 是胰岛素/IGF信号通路的下游分子。FoxO3通过精确控制细胞周期重新进入的基因程序来调节NSCs稳态, 防止其过度增殖和异常分化, 以维持NSCs的储备, 预防NSCs过早耗竭来对抗长寿物种的大脑衰老。FoxO3可以直接调节miR-106b~25家族成员miR-25。Brett等^[42]通过miR-25的功能缺失和获得研究, 发现miR-25促进体外培养的前脑aNSCs的增殖并可能通过靶向作用于FoxO3 mRNA。

表1 与SVZ-RMS-OB系统成体神经发生相关的miRNA

Table 1 MiRNAs modulating adult neurogenesis in the SVZ-RMS-OB system

MiRNA	靶点	在成体神经发生中的作用	参考文献
MiR-9	TLX	抑制aNSCs增殖、促进神经元分化	[36]
	FoxO1	促进神经元分化	[37]
Let-7b	TLX, cyclin D1	通过减少细胞周期进程来抑制aNSCs增殖, 促进分化	[38]
	Hmga2	抑制胚胎和成体NSCs的自我更新能力	[39]
MiR-124	SOX9	促进细胞周期退出和神经元分化	[18]
MiR-137(表观调控因子MeCP2的下游靶点)	Ezh2	促进aNSCs的增殖、抑制神经元分化	[40]
MiR-19	Rapgef2	促进成年新生神经元的迁移	[41]
MiR-106b~25 cluster (miR-25)	FoxO3	促进aNSCs的增殖	[42]

MiR-124 靶向神经胶质发生关键调节因子 Sox9 调控 SVZ 区的 aNSCs 的细胞命运决定。Sox9 在 NSCs/NPCs 和星型胶质细胞中表达但不表达于 A 型细胞和神经元, 是导致 NSCs 从神经发生转变为神经胶质发生的关键调控分子^[46]。敲除内源性 miR-124 可维持纯化的 SVZ 区 NSCs 分裂为 NPCs, 而 miR-124 的过表达促进未成熟神经元(即 A 型细胞)分化。SVZ 细胞中 Sox9 过表达消除了神经元的产生。相反, Sox9 敲低导致神经发生增加和神经胶质发生减少。因此 miR-124 抑制 Sox9 的表达, 促进神经元分化, 使成体神经发生增加^[18]。

最近, miR-19 被确定在神经元迁移中发挥关键作用。MiR-19 过表达时, SVZ 产生的 A 细胞覆盖了 RMS 内更长的距离。此过程中 miR-19 通过靶向 Rapgef2 调节 RAP 蛋白的活性来调节细胞迁移, 导致成年新生的神经元迁移增加^[41]。

此外, miRNA 还可与表观遗传调控相互作用, 调控 aNSCs 的增殖和分化。据 Szulwach 等^[47]报道, miR-137 通过负向调控甲基化转移酶多梳蛋白家族成员 Ezh2 的表达来促进小鼠前脑组织中的 aNSCs 增殖和抑制分化。但该调控机制十分复杂, miR-137 的过表达导致 Ezh2 表达减少和 aNSC 的表观遗传状态的改变, 促进 aNSCs 增殖并抑制 aNSC 分化。但 aNSCs 中的 miR-137 的表达又受 MeCP2 (DNA 甲基-CpG 结合蛋白) 介导的表观遗传调控, MeCP2 可与 NPCs 转录因子 SOX2 相互作用抑制 miR-137 表达, 使 miR-137 的表达量降低促进 aNSCs 的分化。可见, miR-137 可与转录因子和表观调控因子间形成多因素参与的复杂闭合反馈回路, 精细调控 aNSCs 的增殖和分化。

据近期研究^[48]报道, miRNA 还可靶向自噬相关基因, 与自噬交互作用, 调控成体神经发生。

4.2 特定 miRNA 调控啮齿类动物海马 DG 区成体神经发生

目前对 miRNA 调控海马成体神经发生已有较多的研究, 发现 miRNA 几乎参与调控了海马成体神经发生的所有过程(表 2)。

4.2.1 MiRNA 调控 aNSCs 的维持和增殖

控制 aNSCs 的数量和功能对维持干细胞库并确保终生神经发生的适当水平至关重要。大多数 aNSCs 是静止的, 激活状态下的 aNSCs 产生的新生子代 NSCs 近 80% 死于细胞凋亡^[40]。海马神经源性生态位(hippocampal neurogenic niche)需要确保有有限

的 NSCs 储备以对整个生命过程中不断变化的刺激作出正确的反应, 维持脑功能。目前认为有两种方式可维持 aNSCs 库: 1) 控制 aNSCs 的增殖率和细胞分裂; 2) 维持 aNSCs 静止, 后者在海马成体神经发生中尚未报道。已鉴定 miR-184、miR-9 和 miR-25 与转录因子和表观遗传调节因子相互作用, 形成调控环路, 参与海马神经源性生态位 aNSCs 的维持^[42,52]。

MiR-184 通过与上游表观调控因子 MBD1 和下游 Notch 信号通路相关蛋白 Numb1 相互作用, 维持海马 DG 区的 aNSCs 库。已报道^[56-57] Notch 信号通路是维持神经源性能力的关键途径, 它通过其阻遏蛋白 Numb1 的不对称表达驱动 NSCs 的不对称分裂, 形成 NSC 和 NPC 两个不同的子细胞, 在它们分化之前通过有限增殖扩增 NSCs 和 NPCs 库。在 NSCs 中 Numb1 的缺乏将导致其对称分裂和增殖增加, 消耗 NSCs 库。据 Liu 等^[52]报道: miR-184 下调 Numb1 的表达, 驱动 NSCs 的对称分裂。NSCs 中 miR-184 的表达又受到甲基-CpG 结合蛋白 MBD1 的表观遗传水平调控。提高 miR-184 的表达水平, 通过靶向 Numb1 促进 NSCs 增殖和抑制神经谱系的进展, 而 MBD1 表观调控抑制 miR-184 的表达水平则允许 NSCs 分化。它们相互作用形成 MBD1-miR-184-Numb1 调控通路, 控制 aNSCs 的数量和功能。

MiR-9 与干细胞调节因子 TLX 形成负反馈环, 严格控制 NSCs 和 NPCs 的增殖以维持海马 DG 区的 aNSCs 库。MiR-9 在成体脑内表达丰富, 负性调控 TLX 的表达, 同时 TLX 又可通过反馈抑制控制 miR-9 表达。MiR-9 过表达下调 TLX 的表达, 抑制 aNSCs 增殖和促进神经元分化, 而 miR-9 敲低则促进 aNSCs 增殖^[36]。

MiR-25 可能与 aNSCs 静止状态维持相关的调控因子 FoxO3 形成反馈回路, 维持成年海马神经源性能力。FoxO3 最初被鉴定为胰岛素/IGF 信号通路下游的年龄和寿命相关因子^[58], 对于维持 SVZ 和 SGZ 中的静息 aNSC 是必要的^[45], 且能直接调节 miR106b-25 基因簇的表达。Brett 等^[42]发现 miR106b-25 基因簇中的 miR-25 对前脑 aNSCs 的增殖能力至关重要, 敲低 miR-25 抑制体外培养的前脑 aNSCs 的增殖, 过表达 miR-25 则促进 aNSCs 增殖。同时, 该研究还预测 miR-25 靶向 FoxO3 mRNA, 由此推测 miR-25 和 FoxO3 可能形成调节 aNSCs 自我更新能力的反馈回路。只不过该猜想还没有通过实验验证。

表2 与海马DG区成体神经发生相关的miRNAs

Table 2 MiRNAs modulating adult neurogenesis in the DG of hippocampus

MiRNA	靶点	在成体神经发生中的作用	参考文献
MiR-9	TLX	抑制aNSCs增殖、促进神经元分化	[36]
Let-7b	TLX, cyclin D1	通过减少细胞周期进程来抑制aNSCs增殖, 促进分化	[38]
MiR-137	Ezh2	促进aNSCs的增殖、抑制神经元分化	[47]
	Mib-1	抑制成年海马新生神经元的树突生长和树突棘形成, 限制新生神经元的树突复杂性	[49]
	BCL2L13	抑制NSCs/NPCs的凋亡	[50]
MiR-124	BCL2L13	抑制NSCs/NPCs的凋亡	[50]
	Lhx2	促进海马颗粒神经元的存活及轴突的正常发育	[51]
MiR-184	Numb1	驱动aNSCs的对称分裂, 促进aNSCs的自我更新和增殖, 消耗aNSCs池	[52]
MiR-106b~25 cluster(miR-25)	FoxO3(预测)	促进aNSCs的增殖	[42]
MiR-17~92 cluster	Sgk1	促进aNSC增殖和新生神经元分化并挽救应激诱导的神经发生损伤	[53]
MiR-195	Mbd1	促进aNSCs的增殖、抑制神经元分化	[54]
MiR-19	Rapgef2	促进成年海马新生神经元的迁移	[41]
MiR-15a(表观调控因子MeCP2的下游靶点)	Bdnf	抑制成年海马新生神经元的树突成熟	[55]
MiR-132(转录因子CREB的下游靶点)		促进成年海马新生神经元的树突成熟	[23]

4.2.2 MiRNA 调控神经元分化

海马SGZ区激活的aNSCs经历数轮增殖后分化为3型细胞, 并进一步成熟为齿状回颗粒细胞。目前已发现几个miRNA在成体神经发生过程中调控aNSCs从增殖向神经元分化转变。其中miR-9, Let-7b和miR-137在成年海马DG区和SVZ区调控神经元分化的机制一致。

MiR-17-92基因簇靶向血清和糖皮质激素诱导蛋白激酶-1(Sgk1)正向调节海马DG区新生成体神经元分化。Sgk1是参与细胞应激反应的糖皮质激素受体信号通路的下游效应因子。通过研究miR-17~92基因簇的功能缺失和功能获得, 发现它通过下调Sgk1的表达促进海马DG区aNSC增殖和新生神经元分化, 并挽救应激诱导的神经发生损伤^[53]。同时还发现在慢性应激下miR-17~92的表达下调, 这提示miR-17-92是应激受损的海马神经发生的生理效应分子, 并显示出miRNAs可作为疾病分子诊断和治疗的潜能。

MiR-195和MBD1形成负反馈调节环调节海马DG区aNSC分化。MBD1在神经元中高表达, 在

aNSCs中表达水平较低, 可以通过与神经干细胞分裂原FGF2的启动子结合或抑制miR-184的表达促进神经元的分化, 在海马成体神经发生中起重要作用^[52,59]。Liu等^[54]证明MBD1直接抑制aNSC中miR-195的表达, 反过来过表达miR-195则抑制MBD1的表达。MiR-195功能缺失和功能获得研究显示: 抑制内源性miR-195水平促进aNSCs的神经元分化, 过表达miR-195抑制神经元分化。

4.2.3 MiRNA 调控海马新生神经元的迁移

在成年哺乳类动物脑中的NSCs分化的大部分子细胞, 都要经过一定距离的迁移才能到达功能部位。位于SVZ区的NSCs需长距离迁移至功能区域(OB颗粒细胞层), 而位于SGZ区的NSCs则短距离即可迁移至功能区域(海马颗粒细胞层)。目前对成体产生的颗粒细胞引导至颗粒细胞层中的最终归巢位点的分子机制及其迁移方式尚未完全阐明。据报道^[60], 成年出生的DG区3型细胞首先沿着SGZ的血管系统进行切向迁移, 然后径向迁移到达颗粒细胞层。虽然已经证明miRNA可以调节发育过程及胚胎期神经发生中神经元的迁移^[61],

但目前仅有一项研究专门评估了miRNA在成年脑内神经元迁移过程的影响^[41]。该研究发现miR-19过表达促进了体外培养的海马NPCs的细胞迁移。MiR-19通过靶向Rapgef2调节RAP蛋白的活性来促进新生颗粒细胞向颗粒细胞层迁移, 导致成年新生神经元的迁移增加。

4.2.4 MiRNA 调控海马新生神经元的存活

尽管在成体神经发生期间每天可产生大量的新生细胞, 但大多数未成熟神经元要经历凋亡选择, 缺乏突触输入的神经元会选择性凋亡, 与传入神经元建立强突触连接的细胞才能存活并分化为成熟神经元, 以保障DG中新生神经元的数量^[62-63]。经研究发现某些miRNA参与这一过程。

通过靶向破坏miR-124a的主要来源Rncr3, 可导致DG中凋亡细胞数量显著增加但不影响NSCs/NPCs的增殖, 以及颗粒细胞的轴突发育异常。还观察到miR-124a对Lhx2的下调可抑制颗粒细胞的凋亡并促进神经突向外生长, 说明miR-124的抗凋亡功能对DG区神经元的成熟和存活至关重要^[51]。已知Bcl-2家族和caspase家族蛋白质是目前发现的两类重要的凋亡调控蛋白。最近的一项研究^[50]发现: caspase-3上游促凋亡蛋白BCL2L13在成年海马DG中的nestin-GFP⁺细胞中表达, 并且优先在PSA-NCAM⁺/nestin-GFP⁺(即3型细胞)的细胞亚群中表达。MiR-124和miR-137协同作用抑制BCL2L13的表达, 控制海马DG区NSCs/NPCs中caspase-3活性和细胞色素C的释放, 从而减少NSCs和3型细胞的凋亡, 使更多新生神经元存活。

4.2.5 MiRNA 调控海马新生神经元的成熟

aNSCs的分化和成体神经发生的关键步骤是神经元成熟。在成年海马DG中未成熟的3型细胞到达颗粒细胞层后, 延伸其树突和轴突, 并与先前存在的神经网络建立正确的新突触接触, 标志着新生神经元发育成熟。此过程受复杂的分子机制调控, 这个过程的失调常见于神经发育障碍性疾病。目前发现几种miRNAs参与海马成体神经发生过程中新生神经元的成熟, 包括树突和轴突生长、树突棘的发育、突触形成和神经回路整合等过程。

MiR-137和miR-15a负向调控成年海马新生齿状颗粒细胞的树突成熟^[51,64]。Smrt等^[49]对脑特异表达的miR-137在成年海马中表达的细胞亚群谱系分析发现: miR-137在NSCs和神经元中均有表达, 但在神经元中富集。对其进行功能缺失和功能获得分析发现, miR-137主要通过靶向抑制泛素连接酶Mib1的表达来影响神经突向外生长和树突分支,

限制新生神经元的树突复杂性和形态发生。MiR-15a是一种在MeCP2缺陷的NSCs和神经元中上调的miRNA, 是脑源性神经营养因子BDNF表达的调节因子。经大量研究^[65]发现BDNF是神经元成熟的有效神经营养因子。高水平的miR-15a通过抑制BDNF的表达来抑制神经元成熟。使用miR-15a的抑制剂可挽救MeCP2缺陷神经元中的神经元成熟缺陷^[55]。

MiR-132和miR-124正向调控成年海马新生齿状颗粒细胞的树突成熟^[51,66]。已知cAMP应答元件结合蛋白(cAMP response element-binding protein, CREB)是一种重要的转录因子, 对神经元突触可塑性的调节及树突的生长具有重要作用^[64], 同时还参与调控了成体海马神经发生的多个过程: CREB功能缺失会损害树突发育, 降低神经源性转录因子NeuroD和神经元微管相关蛋白的表达, 并危及新生神经元的存活^[67]。据Magill等^[66]报道: 转录因子CREB激活miR-212/132基因座的表达, 该基因位点产生两个miRNA: miR-132和miR-212。敲除miR-212/132基因座减少新生海马神经元的树突长度和树枝状结构, 而表达Cre的新生神经元具有明显的树突表型。此外, miR-132是miR-212/132簇产生的主要microRNA, 应用miR-132的抑制剂后在很大程度上阻止了CREB对树突成熟的影响。该研究表明miR-132促进成年海马新生神经元的树突成熟, 同时miR-132的调控作用受上游转录因子CREB调控。Sanuki等^[51]发现miR-124可以正向调节轴突和树突分支。敲除miR-124的主要来源Rncr3会导致严重的神经元畸形和异常的轴突发芽, 通过靶向Lhx2介导这些作用。

5 结语

与啮齿类动物成体神经发生相关的miRNA作用的靶点分子主要是一些转录因子、表观调控因子、分泌因子和细胞内外信号通路, 它们之间可相互作用形成反馈调控环路。在此调控网络中, 每种miRNA可靶向调控多种基因的表达, 不同的miRNA也可以作用于相同的靶点分子。靶点分子在大脑SVZ和SGZ区的细胞亚群定位和作用决定上游的调控分子miRNA在成体神经发生的不同阶段中的功能表现。同理, miRNAs在SVZ和SGZ区的细胞亚群定位也能预测其在成体神经发生中的潜在作用。若miRNA及其靶点分子在神经元中表达或富集, 则在神经发生中的调控作用与新生神经元的成熟有关; 若miRNA及其靶点分子在特定的

NSCs和NPCs中表达,则在神经发生中的调控作用多与aNSCs的维持和增殖(B型和1型细胞)、细胞命运决定(C型和2型细胞增殖和分化)和迁移(A型和3型细胞)有关;若同时在NSCs/NPCs和神经元中表达,则可调控成体神经发生的多个过程(如研究较广的miR-124)。

随着成体神经发生不同阶段的作用机制的逐步揭示,miRNAs在疾病中的研究价值日益凸显,筛选与疾病相关的miRNAs及其靶基因的表达水平的改变仍旧是该领域的研究焦点。其次,目前miRNAs的下游靶点分子一直被高度关注,但对上游调节因子以及不同miRNAs之间的交互作用的研究则较少。未来仍需进一步完成以miRNAs为中心的NSCs的全面的调控网络的研究,这将有助于阐明神经发生的分子机制。此外,对生理条件下aNSCs正常神经发生和行为表现之间的联系以及神经发生缺陷导致相应疾病的病理表现和特征,值得进一步研究,以针对性治疗由成体神经发生不同阶段障碍引起的疾病,使治疗具有更强的靶向性。最后,考虑到人类的寿命比啮齿类动物要长,且尚不清楚啮齿类动物成年新生神经元的成熟及其与现存神经网络的功能整合的时间进程在人类中是否具有可比性,人类多能细胞来源的3D培养系统可能成为未来成体神经发生研究的一个良好的体外模型。

参考文献

- English D, Sharma NK, Sharma K, et al. Neural stem cells-trends and advances[J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114(4): 764-772.
- Smalley E. Neural stem cell trailblazer stem cells folds[J]. *Nat Biotechnol*, 2016, 34(7): 677-678.
- Lazarov O, Mattson MP, Peterson DA, et al. When neurogenesis encounters aging and disease[J]. *Trends Neurosci*, 2010, 33(12): 569-579.
- Seidel D, Obendorf J, Englich B, et al. Impedimetric real-time monitoring of neural pluripotent stem cell differentiation process on microelectrode arrays[J]. *Biosens Bioelectron*, 2016, 86: 277-286.
- Murao N, Noguchi H, Nakashima K. Epigenetic regulation of neural stem cell property from embryo to adult[J]. *Neuroepigenetics*, 2016, 5: 1-10.
- Pino A, Fumagalli G, Bifari F, et al. New neurons in adult brain: distribution, molecular mechanisms and therapies[J]. *Biochem Pharmacol*, 2017, 141: 4-22.
- Flynt AS, Lai EC. Biological principles of microRNA-mediated regulation: shared themes amid diversity[J]. *Nat Rev Genet*, 2008, 9(11): 831-842.
- Sun K, Lai EC. Adult-specific functions of animal microRNAs[J]. *Nat Rev Genet*, 2013, 14(8): 535-548.
- Reddy PH, Tonk S, Kumar S, et al. A critical evaluation of neuroprotective and neurodegenerative microRNAs in Alzheimer's disease[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 483(4): 1156-1165.
- Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions[J]. *Cell*, 2009, 136(2): 215-233.
- Stappert L, Klaus F, Brustle O. MicroRNAs engage in complex circuits regulating adult neurogenesis[J]. *Front Neurosci*, 2018, 12: 707.
- Cao DD, Li L, Chan WY. MicroRNAs: key regulators in the central nervous system and their implication in neurological diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(6): 842.
- Gould E. How widespread is adult neurogenesis in mammals?[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2007, 8(6): 481-488.
- Kempermann G, Song H, Gage FH. Neurogenesis in the adult hippocampus[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2015, 7(9): a018812.
- Alvarez-Buylla A and Garcia-Verdugo JM. Neurogenesis in adult subventricular zone[J]. *J Neurosci*, 2002, 22(3): 629-634.
- Doetsch F, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Cellular composition and three-dimensional organization of the subventricular germinal zone in the adult mammalian brain[J]. *J Neurosci*, 1997, 17(13): 5046-5061.
- Hamilton LK, Joppé SE, M Cochard L, et al. Aging and neurogenesis in the adult forebrain: what we have learned and where we should go from here[J]. *Eur J Neurosci*, 2013, 37(12): 1978-1986.
- Cheng LC, Pastrana E, Tavazoie M, et al. miR-124 regulates adult neurogenesis in the subventricular zone stem cell niche[J]. *Nat Neurosci*, 2009, 12(4): 399-408.
- Farioli-Vecchioli S, Ceccarelli M, Sarauilli D, et al. Tis21 is required for adult neurogenesis in the subventricular zone and for olfactory behavior regulating cyclins, BMP4, Hes1/5 and Ids[J]. *Front Cell Neurosci*, 2014, 8: 98.
- Poser SW, Chenoweth JG, Colantuoni C, et al. Concise review: reprogramming, behind the scenes: noncanonical neural stem cell signaling pathways reveal new, unseen regulators of tissue plasticity with therapeutic implications[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2015, 4(11): 1251-1257.
- Geraerts M, Eggermont K, Hernandez-Acosta P, et al. Lentiviral vectors mediate efficient and stable gene transfer in adult neural stem cells in vivo[J]. *Hum Gene Ther*, 2006, 17(6): 635-650.
- Petreaun L, Alvarez-Buylla A. Maturation and death of adult-born olfactory bulb granule neurons: role of olfaction[J]. *J Neurosci*, 2002, 22(14): 6106-6113.
- Lledo PM, Saghatelian A. Integrating new neurons into the adult

- olfactory bulb: joining the network, life-death decisions, and the effects of sensory experience[J]. *Trends Neurosci*, 2005, 28(5): 248-254.
24. Cayre M, Canoll P, Goldman JE. Cell migration in the normal and pathological postnatal mammalian brain[J]. *Prog Neurobiol*, 2009, 88(1): 41-63.
25. Nam SC, Kim Y, Dryanovski D, et al. Dynamic features of postnatal subventricular zone cell motility: a two-photon time-lapse study[J]. *J Comp Neurol*, 2007, 505(2): 190-208.
26. Zhao C, Teng EM, Summers RG Jr, et al. Distinct morphological stages of dentate granule neuron maturation in the adult mouse hippocampus[J]. *J Neurosci*, 2006, 26(1): 3-11.
27. Bielefeld P, Mooney C, Henshall DC, et al. miRNA-mediated regulation of adult hippocampal neurogenesis; implications for epilepsy[J]. *Brain Plast*, 2017, 3(1): 43-59.
28. Bak M, Silahdaroglu A, Moller M, et al. MicroRNA expression in the adult mouse central nervous system[J]. *RNA*, 2008, 14(3): 432-444.
29. Smirnova L, Grafe A, Seiler A, et al. Regulation of miRNA expression during neural cell specification[J]. *Eur J Neurosci*, 2005, 21(6): 1469-1477.
30. Kapsimali M, Kloosterman WP, de Bruijn E, et al. MicroRNAs show a wide diversity of expression profiles in the developing and mature central nervous system[J]. *Genome Biol*, 2007, 8(8): R173.
31. Lattanzi A, Gentner B, Corno D, et al. Dynamic activity of miR-125b and miR-93 during murine neural stem cell differentiation in vitro and in the subventricular zone neurogenic niche[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e67411.
32. Kanellopoulou C, Muljo SA, Kung AL, et al. Dicer-deficient mouse embryonic stem cells are defective in differentiation and centromeric silencing[J]. *Genes Dev*, 2005, 19(4): 489-501.
33. Liu Z, Skamagki M, Kim K, et al. Canonical microRNA activity facilitates but may be dispensable for transcription factor-mediated reprogramming[J]. *Stem Cell Reports*, 2015, 5(6): 1119-1127.
34. Wang Y, Medvid R, Melton C, et al. DGCR8 is essential for microRNA biogenesis and silencing of embryonic stem cell self-renewal[J]. *Nat Genet*, 2007, 39(3): 380-385.
35. Ouchi Y, Banno Y, Shimizu Y, et al. Reduced adult hippocampal neurogenesis and working memory deficits in the Dgcr8-deficient mouse model of 22q11.2 deletion-associated schizophrenia can be rescued by IGF2[J]. *J Neurosci*, 2013, 33(22): 9408-9419.
36. Zhao C, Sun G, Li S, et al. A feedback regulatory loop involving microRNA-9 and nuclear receptor TLX in neural stem cell fate determination[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2009, 16(4): 365-371.
37. Kim DY, Hwang I, Muller FL, et al. Functional regulation of FoxO1 in neural stem cell differentiation[J]. *Cell Death Differ*, 2015, 22(12): 2034-2045.
38. Zhao C, Sun G, Li S, et al. MicroRNA let-7b regulates neural stem cell proliferation and differentiation by targeting nuclear receptor TLX signaling[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(5): 1876-1881.
39. Nishino J, Kim I, Chada K, et al. Hmga2 promotes neural stem cell self-renewal in young but not old mice by reducing p16Ink4a and p19Arf expression[J]. *Cell*, 2008, 135(2): 227-239.
40. Sierra A, Encinas JM, Deudero JJ, et al. Microglia shape adult hippocampal neurogenesis through apoptosis-coupled phagocytosis[J]. *Cell Stem Cell*, 2010, 7(4): 483-495.
41. Han J, Kim HJ, Schafer ST, et al. Functional implications of miR-19 in the migration of newborn neurons in the adult brain[J]. *Neuron*, 2016, 91(1): 79-89.
42. Brett JO, Renault VM, Rafalski VA, et al. The microRNA cluster miR-106b~25 regulates adult neural stem/progenitor cell proliferation and neuronal differentiation[J]. *Aging (Albany NY)*, 2011, 3(2): 108-124.
43. Shi Y, Chichung Lie D, Taupin P, et al. Expression and function of orphan nuclear receptor TLX in adult neural stem cells[J]. *Nature*, 2004, 427(6969): 78-83.
44. Ro SH, Liu D, Yeo H, et al. FoxOs in neural stem cell fate decision[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2013, 534(1-2): 55-63.
45. Renault VM, Rafalski VA, Morgan AA, et al. FoxO3 regulates neural stem cell homeostasis[J]. *Cell Stem Cell*, 2009, 5(5): 527-539.
46. Stolt CC, Lommes P, Sock E, et al. The Sox9 transcription factor determines glial fate choice in the developing spinal cord[J]. *Genes Dev*, 2003, 17(13): 1677-1689.
47. Szulwach KE, Li X, Smrt RD, et al. Cross talk between microRNA and epigenetic regulation in adult neurogenesis[J]. *J Cell Biol*, 2010, 189(1): 127-141.
48. Piracs K, Petri R, Jakobsson J. Crosstalk between microRNAs and autophagy in adult neurogenesis: implications for neurodegenerative disorders[J]. *Brain Plast*, 2018, 3(2): 195-203.
49. Smrt RD, Szulwach KE, Pfeiffer RL, et al. MicroRNA miR-137 regulates neuronal maturation by targeting ubiquitin ligase mind bomb-1[J]. *Stem Cells*, 2010, 28(6): 1060-1070.
50. Schouten M, Fratantoni SA, Hubens CJ, et al. MicroRNA-124 and -137 cooperativity controls caspase-3 activity through BCL2L13 in hippocampal neural stem cells[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 12448.
51. Sanuki R, Onishi A, Koike C, et al. miR-124a is required for hippocampal axogenesis and retinal cone survival through Lhx2 suppression[J]. *Nat Neurosci*, 2011, 14(9): 1125-1134.
52. Liu C, Teng ZQ, Santistevan NJ, et al. Epigenetic regulation of miR-184 by MBD1 governs neural stem cell proliferation and differentiation[J]. *Cell Stem Cell*, 2010, 6(5): 433-444.
53. Jin J, Kim SN, Liu X, et al. miR-17-92 cluster regulates adult hippocampal neurogenesis, anxiety, and depression[J]. *Cell Rep*, 2016, 16(6): 1653-1663.
54. Liu C, Teng ZQ, McQuate AL, et al. An epigenetic feedback regulatory

- loop involving microRNA-195 and MBD1 governs neural stem cell differentiation[J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e51436.
55. Gao Y, Su J, Guo W, et al. Inhibition of miR-15a promotes BDNF expression and rescues dendritic maturation deficits in MeCP2-deficient neurons[J]. *Stem Cells*, 2015, 33(5): 1618-1629.
56. Liu J, Sato C, Cerletti M, et al. Notch signaling in the regulation of stem cell self-renewal and differentiation[J]. *Curr Top Dev Biol*, 2010, 92: 367-409.
57. Shen Q, Zhong W, Jan YN, et al. Asymmetric Numb distribution is critical for asymmetric cell division of mouse cerebral cortical stem cells and neuroblasts[J]. *Development*, 2002, 129(20): 4843-4853.
58. Martins R, Lithgow GJ, Link W. Long live FOXO: unraveling the role of FOXO proteins in aging and longevity[J]. *Aging Cell*, 2016, 15(2): 196-207.
59. Li X, Barkho BZ, Luo Y, et al. Epigenetic regulation of the stem cell mitogen Fgf-2 by Mbd1 in adult neural stem/progenitor cells[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(41): 27644-27652.
60. Sun GJ, Zhou Y, Stadel RP, et al. Tangential migration of neuronal precursors of glutamatergic neurons in the adult mammalian brain[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(30): 9484-9489.
61. Rajman M, Schrat G. MicroRNAs in neural development: from master regulators to fine-tuners[J]. *Development*, 2017, 144(13): 2310-2322.
62. Encinas JM, Michurina TV, Peunova N, et al. Division-coupled astrocytic differentiation and age-related depletion of neural stem cells in the adult hippocampus[J]. *Cell Stem Cell*, 2011, 8(5): 566-579.
63. Kim WR, Sun W. Programmed cell death during postnatal development of the rodent nervous system[J]. *Dev Growth Differ*, 2011, 53(2): 225-235.
64. Deisseroth K, Bito H, Tsien RW. Signaling from synapse to nucleus: postsynaptic CREB phosphorylation during multiple forms of hippocampal synaptic plasticity[J]. *Neuron*, 1996, 16(1): 89-101.
65. Deogracias R, Yazdani M, Dekkers MP, et al. Fingolimod, a sphingosine-1 phosphate receptor modulator, increases BDNF levels and improves symptoms of a mouse model of Rett syndrome[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(35): 14230-14235.
66. Magill ST, Cambronne XA, Luikart BW, et al. microRNA-132 regulates dendritic growth and arborization of newborn neurons in the adult hippocampus[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(47): 20382-20387.
67. Jagasia R, Steib K, Englberger E, et al. GABA-cAMP response element-binding protein signaling regulates maturation and survival of newly generated neurons in the adult hippocampus[J]. *J Neurosci*, 2009, 29(25): 7966-7977.

本文引用: 朱红梅, 张凤兰, 戴海龙. MiRNAs在成体神经发生中的作用[J]. 临床与病理杂志, 2021, 41(3): 663-672. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.03.027

Cite this article as: ZHU Hongmei, ZHANG Fenglan, DAI Hailong. Role of miRNAs in adult neurogenesis[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2021, 41(3): 663-672. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.03.027