

microRNA参与体细胞重编程诱导分化为神经细胞的研究进展

李媛媛^{1,2} 王跃嗣^{1,2*}

(¹滨州医学院药学院, 烟台 264003; ²滨州医学院医药研究中心, 烟台 264003)

摘要 神经退行性疾病是临床上常见的疾病, 目前其治疗只停留在药物治疗及手术治疗阶段。由于神经细胞是难以再生的一种细胞类型, 寻找替代神经细胞对神经退行性疾病移植治疗具有重要意义。现有研究表明, MSC(mesenchymal stem cell)、ESC(embryonic stem cell)或iPSC(induced pluripotent stem cell)能在体外分化为神经细胞, 干细胞治疗神经退行性疾病具有良好的临床前景, 但目前受到神经分化效率低、免疫排斥等因素的限制。研究显示, microRNA具有参与神经发育和分化等作用, 且具有重编程神经干细胞并治疗神经退行性疾病的能力。因此, 该文就microRNA参与体细胞的重编程诱导分化为神经细胞机制与作用等作一简要综述, 探讨microRNA对体细胞重编程调控作用和临床应用前景。

关键词 神经退行性疾病; microRNA; 神经干细胞; 重编程

Research Progress of microRNA Involved in Somatic Cells Reprogramming Induced to Differentiate into Neural Cells

Li Yuanyuan^{1,2}, Wang Yuesi^{1,2*}

(¹College of Pharmacy, Binzhou Medical University, Yantai 264003, China;

²Medicine and Pharmacy Research Center, Binzhou Medical University, Yantai 264003, China)

Abstract Neurodegenerative disease is a common clinical disease. The treatment of these diseases only stays in the stage of drug therapy and surgery. Since the nerve cell is difficult to regeneration, it is very important to develop a new source of nerve cells for transplantation in the treatment of these diseases. The studies have demonstrated that mesenchymal stem cell (MSC), embryonic stem cell (ESC) or induced pluripotent stem cell (iPSC) could differentiate into neural cells *in vitro*. Stem cell replacement treatment of neurodegenerative diseases will have excellent prospects. However, the limit of the low efficiency of nervous differentiation and the immune rejection has become an obstacle to the clinical application research. Studies have shown that microRNA (miRNA) has participation in nervous system development and differentiation and so on, and have the ability of reprogramming neural stem cells and treatment of neurodegenerative diseases. Therefore, this review makes a brief overview of miRNA involved in somatic cells reprogramming into neural cell's mechanisms and the roles of miRNA reprogramming in the clinical application prospects.

Keywords neurodegenerative diseases; microRNA; neural stem cell; reprogramming

收稿日期: 2016-03-10 接受日期: 2016-06-14

国家自然科学基金(批准号: 30801353)和山东省泰山学者支持计划资助的课题

*通讯作者。Tel: 0535-6913073, E-mail: wys7416@163.com

Received: March 10, 2016

Accepted: June 14, 2016

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.30801353) and the Taishan Scholars Support Program of Shandong Province

*Corresponding author. Tel: +86-535-6913073, E-mail: wys7416@163.com

网络出版时间: 2016-09-13 14:33:44

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20160913.1433.002.html>

随着社会的老龄化趋势日益明显,各种神经退行性疾病的人群发病率居高不下且有上升趋势。神经系统退行性疾病和神经系统损伤(如中风、脑缺血、脊髓损伤等)严重地威胁着人类的身体健康,包括神经系统损伤,这些疾病的病理表现无一例外都涉及到神经细胞的损伤和丢失。各种神经退行性疾病传统的内外科治疗只能缓解症状而不能阻止疾病的进一步发展,如果丢失的细胞得不到新生细胞的补充和修复,治愈的可能性将非常微小。近年来,细胞替代治疗的发展为神经系统病变的治疗带来了希望。

现有研究表明,间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)、胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)或诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)能够在体外分化为多种神经细胞,但存在伦理、免疫排斥、成瘤性以及定向分化效率较低等诸多问题,而且也存在实际操作困难和耗时较长等问题。因此,发展新的可移植的神经细胞获得方法已经是大势所趋。

体细胞重编程(somatic cell reprogramming)是指已经分化成熟的体细胞在特定的条件下被逆转还原到全能性或多能性的一种状态,并形成新个体或形成多能性干细胞的过程。体细胞重编程诱导多功能干细胞是一项革命性的技术^[1]。目前,研究学者已经成功地利用转录因子Oct4(octamer-binding transcription factor 4)、Sox2(SRY-box 2)、c-Myc、Klf4重编程成纤维细胞转化成诱导多能干细胞(iPSC)^[2],开启了细胞重编程的时代。神经干细胞(neural stem cell, NSC)是指具有分化为神经细胞、星形胶质细胞和少突胶质细胞的能力,能自我更新并能提供大量脑组织细胞的细胞群。它具有可生成神经组织、自我更新能力、可通过不对称细胞分裂产生新的细胞等特性。神经干细胞同时受微环境的影响与调控,它不仅为其提供营养支持,而且NSC自身还可以增殖、移行至损伤部位并分化进行修复。有研究者利用单个转录因子Oct4重编程人的血细胞为神经祖细胞^[3]。前期研究表明,用Sox2、c-Myc等转录因子重编程体细胞形成的多能干细胞容易具有成瘤性,不利于进行临床疾病治疗研究。有研究显示,利用microRNA(miRNA)可协助转录因子Oct4、Sox2、Klf4成功诱导皮肤细胞转变成iPSC,并能显著提高iPS诱导效率。miRNA是一种公认的非编码核糖核酸,平均长度为22核苷酸,能调控基因表达的

功能,不能编码蛋白质,但能够与miRNA 3'端非翻译区(3' untranslated regions, 3'UTR)结合,调节其稳定性并调控蛋白质的表达。miRNA参与调节许多细胞过程,包括细胞增殖、分化、凋亡、发育以及癌症发生等。一些miRNA可参与调节神经干细胞的命运和分化^[4]。如果利用miRNA重编程人的成纤维细胞形成神经干细胞,既避免了细胞成瘤性的弊端,又可避免免疫排斥反应,因此具有重要的临床应用前景。本文综述了miRNA参与重编程及其在神经系统中的作用,探讨了miRNA用于诱导神经细胞分化和细胞替代治疗的前景。

1 miRNA参与重编程

人类诱导多能干细胞(hiPSC)可以分化成为任何类型的细胞,为从心血管到阿尔茨海默病等多种疾病的疾病建模中进行的药物研发和替代细胞疗法提供了巨大的潜力。相比胚胎干细胞来说,iPSC没有伦理问题,因此,从Takahashi等^[5]发现iPSC起就有了潜在的、巨大的临床应用前景。

1.1 miRNA参与核移植诱导体细胞重编程

核移植技术可用来探讨单细胞发育和重编程潜能,它无需经过正常发育阶段就可改变基因组,将已经分化的基因组重新编程,使其获得全能性从而重新激活胚胎发育^[6]。在研究核移植重编程过程中,发现有miR-34可参与重编程过程,表达模式与组蛋白修饰、细胞凋亡、核移植卵裂成活率和胚胎形成密切相关^[7]。这些研究结果提示,miRNA作为表观遗传调控重要组成部分可能在核移植诱导的重编程过程中具有重要作用。

1.2 miRNA参与iPSC重编程

许多研究已经证实,外源性的转录因子可以重编程体细胞到多能状态。miRNA作为一种调控因子,也参与体细胞的多能重编程过程。在鼠胚胎干细胞的形成和分化过程中,miR-290在ESC分化和周期调控中发挥重要作用,受此启发,研究者利用miRNAs取代转录因子c-Myc,把小鼠皮肤细胞利用Oct4、Sox2、Klf4和miRNA成功转变成iPSC^[2]。

有研究显示,miRNA可协助转录因子Oct4、Sox2、Klf4成功诱导皮肤细胞转变成iPSC,并能显著提高iPSC诱导效率。因此,miRNA能够过表达或抑制某些基因改变的风险,并且能提高诱导iPS效率。研究显示,miRNA包括miR-200、miR-130/301/721和

miR-302家族已经被证明可在重编程过程中被激活,但激活程度和激活的时间不一致^[8-10]。miR-302家族在重编程中激活不仅需要与Oct4结合,而且需要组蛋白脱甲基酶和中介质维生素C补充^[11]。

另外,miRNA也参与调节ESC重编程过程。在ESC中存在高表达的miR-302等miRNA,有利于维持ESC的多能性。一些研究小组报道在缺乏外源性的转录因子时,单独或者组合miRNA可直接诱导体细胞重编程形成诱导多能干细胞^[12-15]。

1.3 miRNA参与神经细胞的发育分化与重编程过程

一些miRNA在胚胎干细胞和神经干细胞的增殖、分化及细胞周期过程中发挥重要作用,如miR-302/367、miR-9/9*和miR-124家族等。有研究显示,可利用miR-302和Oct4、NR2F2(nuclear receptor subfamily 2 group F member 2)形成的环路来控制人类胚胎干细胞的多能性和向神经分化^[16-17]。与此同时,人们研究发现,利用miR-302/367可联合Sox2、Klf4、c-Myc、SV40LT一起将鼠的成纤维细胞重编程诱导为神经祖细胞^[18-19]。Ambasudhan等^[20]研究发现,在一定的条件下,利用miR-124和两个转录因子(Myf11、Brn2)一起作为转录因子的组合能够把人的成纤维细胞重编程为功能型的神经细胞。这些重编程形成的神经细胞具有与正常神经细胞类似的形态,且基因表达谱与自发性动作电位也与正常神经细胞类似,并能移植存活。研究显示,在人类的成纤维细胞中过表达miR-302/367,联合神经细胞特定miRNA(miR-124和miR-9/9*)一起能重编程诱导成纤维细胞转换为神经细胞,这种诱导的神经细胞具备多种特定神经细胞标志物阳性以及具备神经细胞膜电位的特点^[21]。

将神经细胞中高表达的miR-9/9*和miR-124联合导入Ascl1、Myf11和NeuroD2可以有效重编程人的成纤维细胞形成诱导的神经细胞^[22],添加转录因子NeuroD2可提高转化率。

2 miRNA对神经系统的作用

2.1 miRNA对神经干细胞的调控作用与重编程诱导

神经干细胞对于神经系统的修复来说是一种非常理想的细胞类型。有文献报道,miR-146和Notch1在神经干细胞的增殖和分化中占据重要的

作用。miR-146过表达能够促进神经干细胞的增殖,转染的miR-146能够增加NSC分化为GFAP(glial fibrillary acidic protein)阳性细胞的百分率,促进胶质细胞的分化^[23]。

在人类诱导性多能干细胞向神经干细胞分化过程当中,miRNA作为一个很重要的调控因子起作用。研究显示,人的iPSC分化为神经干细胞过程中,miR-34a、miR-9、miR-200b呈现一定的动态变化,miR-200b对不同来源的神经干细胞均能起到一定的调控分化作用^[24]。

由于miRNA在神经干细胞中具有调控增殖和分化的作用,人们利用miRNA进行神经干细胞的重编程,试图解决整合重编程对细胞核的影响,从而解决重编程使用转录因子和病毒所致的成瘤性。Yu等^[25]研究发现,在用Sox2重编程人类成人成纤维形成PAX6(paired box 6)/Nestin阳性NSC过程中,如果抑制let-7b表达可大幅度提高NSC的诱导效率。而单独使用Sox2重编程成纤维细胞为NSC的效率则较低。

上述研究表明,利用miRNA可有效提高重编程转换为hiNSCs的效率,将来如果研究成功,可直接利用miRNA进行重编程形成神经干细胞,完全避免整合重编程,这为临床治疗神经疾病提供了一种很好的新的细胞来源。

2.2 miRNA对神经细胞分化的调控作用与重编程诱导

事实上,越来越多的研究发现,miRNA在神经发生的多个过程中起作用,包括自我更新、迁移、成熟过程以及神经回路功能构建。研究显示,神经细胞分化过程中,miRNA可在空间上暂时表达以及调控重要的调节元件来控制神经干细胞维持以及神经细胞分化之间的平衡^[26]。目前研究表明,人类成纤维细胞可以不通过增殖的干细胞阶段而直接重编程为神经细胞。研究显示,miR-124和miR-9在大脑中含量丰富而且在神经细胞早期的形成中具有重要作用,这是神经细胞命运决定的重要因素,且在神经细胞树突以及突触的形成过程中也非常重要^[27-28]。miR-9能够通过平衡FoxP1的表达水平来修改脊髓特定运动神经细胞类型^[29]。另外,miR-9和miR-124一起联合转录因子NeuroD2,重编程成纤维细胞形成神经细胞^[22],miR-9和miR-124组合可增强重编程转换效率和转换成神经细胞的成熟度。单独使用转录因子则不能够顺利地转化形成神经细胞。此外,

增加转录因子Ascl1和Myt1l能够提高转化效率和神经细胞的成熟度, 但如果没有miR-9和miR-124的参与, 只单纯添加转录因子重编程神经细胞是无效的。研究证明, 在重编程形成神经细胞的过程中, miR-9和miR-124是决定因素^[20,30]。

除此以外, miR-9/9*、miR-124和转录因子BCL11B、DLX1、DLX2、Myt1l一起能重编程人的成纤维细胞生成丰富的神经细胞^[31]。有报道称, 多聚嘧啶结合区结合蛋白的抑制能有效调节miR-124诱导成纤维生长功能性的神经细胞^[32]。也有研究表明, miR-302/367与miR-9/124的协同作用可重编程成纤维细胞诱导为神经细胞, 单独的miR-302/367的表达不能重编程成纤维细胞生成神经细胞^[33]。

2.3 miRNA对神经胶质细胞的调控作用与重编程诱导

研究显示, 许多miRNA也参与胶质细胞再生过程, 包括星形胶质细胞再生和少突胶质细胞再生。实验证明, miR-125b能够调节星形胶质细胞再生和少突胶质细胞增殖, 在少突胶质细胞中, 敲除Dicer能够导致修复的少突胶质细胞的分化, 这能够被少突胶质细胞特定miR-219的异位表达部分修复, 同时, miR-219和miR-338通过抑制PDGFR α 、Sox6、FoxJ3、ZFP238和Hes5来促进少突胶质细胞的分化^[34]。研究显示, 在miR-17-92族群中的miR-19b能够通过调节Akt信号促进少突胶质祖细胞的扩增, 而且miR-7能够通过调节神经细胞分化基因PAX6和NeuroD4的靶点来增加少突胶质细胞的产生。最新研究表明, miRNA作为一种新的转录因子在少突胶质细胞的分化和中枢神经系统的髓鞘形成中起关键作用。研究者在小鼠中删除miR-17-92, 导致了少突胶质细胞在体内的数目减少。结果表明, miRNA途径是确定少突胶质细胞数量至关重要的环节, miR-17-92族群是在这个过程的关键^[35]。

星形胶质细胞在正常和病理中枢神经系统功能中扮演了重要的角色, 星形胶质细胞是K⁺体内平衡、神经递质吸收、突触形成和血脑屏障调节的核心。在大脑发育过程中, miR-29在星形胶质细胞中要比在神经细胞中表达强烈, 且在细胞培养过程中, miR-29a在星形胶质细胞中也是高度表达的^[36]。星形胶质细胞在神经系统疾病中是胶质伤痕和脑外伤重要的部分, 在体内有胶质细胞转分化为神经细胞对于胶质伤痕是非常重要的。因此, Ghasemi-

Kasman等^[37]通过利用miR-302/367结合VPA(valproic acid)(组蛋白去乙酰基酶抑制剂)重编程人和鼠的星形胶质细胞诱导为神经细胞来修复治疗不同的神经疾病。实验证实, miRNA是在中枢神经系统中的特定区域表达, miRNA参与中枢神经系统发展和与细胞死亡的信号通路、突触功能以及一些神经疾病^[34]。上述研究说明, 在神经系统的特定功能中miRNA扮演着重要的角色。这些都证明了miRNA在神经胶质细胞中扮演了重要角色。

基于上述研究结果, 我们可以通过研究来调整这些miRNA的表达情况, 从而来预测或治疗相应神经系统的疾病。

3 展望

miRNAs应用于神经系统中的研究近年来取得了一些进展, 但miRNA在神经细胞重编程过程中的作用于机制是一个复杂的网络化的协作过程, 目前仍然有大量的问题需要深入探索。重编程神经细胞的潜在未来价值是可以建立长期稳定传代的个体特异的细胞系, 用来对患者进行个体化细胞治疗, 同时也可提供细胞模型用于药物筛选, 进行精准医疗。更重要的是, 相对普通转录因子, miRNA重编程形成的神经细胞可能不具有致癌性和伦理问题, 因此具有巨大的潜在临床应用前景。与此同时, 在体细胞重编程中, miRNA作用机制的研究是一个新的领域, 对其在细胞重编程过程中的作用机制了解不多。例如, miRNAs上游和下游的调节分子是哪些? miRNAs与一般转录因子相比, 哪些因素可影响重编程神经细胞的效率? 如何获得最为高效和安全的重编程细胞等问题尚未获得答案。因此, 必须更加深入理解miRNA重编程过程以及发展与完善创新的技术, 这些依然是重编程领域不可避免的研究问题。

参考文献 (References)

- 1 Woltjen K, Kim SI, Nagy A. The piggyBac transposon as a platform technology for somatic cell reprogramming studies in mouse. *Methods Mol Biol* 2016; 1357: 1-22.
- 2 Wang Y, Baskerville S, Shenoy A, Babiarz JE, Baehner L, Blelloch R. Embryonic stem cell-specific microRNAs regulate the G₁-S transition and promote rapid proliferation. *Nat Genet* 2008; 40(12): 1478-83.
- 3 Lee JH, Mitchell RR, McNicol JD, Shapovalova Z, Laronde S, Tanasijevic B, *et al.* Single transcription factor conversion of human blood fate to NPCs with CNS and PNS developmental capacity. *Cell Rep* 2015; 11(9): 1367-76.

- 4 Stevanato L, Hicks C, Sinden JD. Differentiation of a human neuralstem cell line on three dimensional cultures, analysis of microRNA and putative target genes. *J Vis Exp* 2015; doi: 10.3791/52410.
- 5 Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126(4): 663-76.
- 6 Narbonne P, Miyamoto K, Gurdon JB. Reprogramming and development in nuclear transfer embryos and in interspecific systems. *Curr Opin Genet Dev* 2012; 22(5): 450-8.
- 7 Wang B, Wang Y, Zhang M, Du Y, Zhang Y, Xing X, *et al.* MicroRNA-34c expression in donor cells influences the early development of somatic cell nuclear transfer bovine embryos. *Cell Repgram* 2014; 16(6): 418-27.
- 8 Li Z, Yang CS, Nakashima K, Rana TM. Small RNA-mediated regulation of iPS cell generation. *EMBO J* 2011; 30(5): 823-34.
- 9 Liao B, Bao X, Liu L, Feng S, Zovoilis A, Liu W, *et al.* MicroRNA cluster 302-367 enhances somatic cell reprogramming by accelerating a mesenchymal-to-epithelial transition. *Biol Chem* 2011; 286(19): 17359-64.
- 10 Polo JM, Anderssen E, Walsh RM, Schwarz BA, Nefzger CM, Lim SM, *et al.* A molecular roadmap of reprogramming somatic cells into iPS cells. *Cell* 2012; 151(7): 1617-32.
- 11 Wang T, Chen K, Zeng X, Yang J, Wu Y, Shi X, *et al.* The histone demethylases Jhdm1a/1b enhance somatic cell reprogramming in a vitamin-C-dependent manner. *Cell Stem Cell* 2011; 9(6): 575-87.
- 12 Anokye-Danso F, Trivedi CM, Juhr D, Gupta M, Cui Z, Tian Y, *et al.* Highly efficient miRNA-mediated reprogramming of mouse and human somatic cells to pluripotency. *Cell Stem Cell* 2011; 8(4): 376-88.
- 13 Lin SL, Chang DC, Chang-Lin S, Lin CH, Wu DT, Chen DT, *et al.* Mir-302 reprograms human skin cancer cells into a pluripotent ES-cell-like state. *RNA* 2008; 14(10): 2115-24.
- 14 Miyoshi N, Ishii H, Nagano H, Haraguchi N, Dewi DL, Kano Y, *et al.* Reprogramming of mouse and human cells to pluripotency using mature microRNAs. *Cell Stem Cell* 2011; 8(6): 633-8.
- 15 Lin SL, Chang DC, Lin CH, Ying SY, Leu D, Wu DT. Regulation of somatic cell reprogramming through inducible mir-302 expression. *Nucleic Acids Res* 2011; 39(3): 1054-65.
- 16 Wang J, Park JW, Drissi H, Wang X, Xu RH. Epigenetic regulation of miR-302 by JMJD1C inhibits neural differentiation of human embryonic stem cells. *Biol Chem* 2014; 289(4): 2384-95.
- 17 Rosa A, Brivanlou AH. A regulatory circuitry comprised of miR-302 and the transcription factors OCT4 and NR2F2 regulates human embryonic stem cell differentiation. *EMBO J* 2011; 30(2): 237-48.
- 18 Kim J, Efe JA, Zhu S, Talantova M, Yuan X, Wang S, *et al.* Direct reprogramming of mouse fibroblasts to neural progenitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(19): 7838-43.
- 19 Kim HS, Kim J, Jo Y, Jeon D, Cho YS. Direct lineage reprogramming of mouse fibroblasts to functional midbrain dopaminergic neuronal progenitors. *Stem Cell Res* 2014; 12(1): 60-8.
- 20 Ambasadhan R, Talantova M, Coleman R, Yuan X, Zhu S, Lipton SA, *et al.* Direct reprogramming of adult human fibroblasts to functional neurons under defined conditions. *Cell Stem Cell* 2011; 9(2): 113-8.
- 21 Gao Z, Zhu X, Dou Y. The miR-302/367 cluster: A comprehensive update on its evolution and functions. *Open Biol* 2015; 5(12): 150138.
- 22 Yoo AS, Sun AX, Li L, Shcheglovitov A, Portmann T, Li Y, *et al.* MicroRNA-mediated conversion of human fibroblasts to neurons. *Nature* 2011; 476(7359): 228-31.
- 23 Xiao WZ, Lu AQ, Liu XW, Li Z, Zi Y, Wang ZW. Role of miRNA-146 in proliferation and differentiation of mouse neural stem cells. *Bios Rep* 2015; doi: 10.1042/BSR20150088.
- 24 Katoh Y, Katoh M. Hedgehog signaling, epithelial-to-mesenchymal transition and miRNA (review). *Int J Mol Med* 2008; 22(3): 271-5.
- 25 Yu KR, Shin JH, Kim JJ, Koog MG, Lee JY, Choi SW, *et al.* Rapid and efficient direct conversion of human adult somatic cells into neural stem cells by HMGA2/let-7b. *Cell Rep* 2015; doi: 10.1016/j.celrep.
- 26 Nicklas S, Okawa S, Hillje AL, Gonzalez-Cano L, Del Sol A, Schwamborn JC. The RNA helicase DDX6 regulates cell-fate specification in neural stem cells via miRNAs. *Nucleic Acids Res* 2015; 43(5): 2638-54.
- 27 Bartel DP. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116(2): 281-97.
- 28 Barik S. An intronic microRNA silences genes that are functionally antagonistic to its host gene. *Nucleic Acids Res* 2008; 36(16): 5232-41.
- 29 Bian S, Xu TL, Sun T. Tuning the cell fate of neurons and glia by microRNAs. *Curr Opin Neurobiol* 2013; 23(6): 928-34.
- 30 Pang ZP, Yang N, Vierbuchen T, Ostermeier A, Fuentes DR, Yang TQ, *et al.* Induction of human neuronal cells by defined transcription factors. *Nature* 2011; 476(7359): 220-3.
- 31 Victor MB, Richner M, Hermanstynne TO, Ransdell JL, Sobieski C, Deng PY, *et al.* Generation of human striatal neurons by microRNA-dependent direct conversion of fibroblasts. *Neuron* 2014; 84(2): 311-23.
- 32 Xue Y, Ouyang K, Huang J, Zhou Y, Ouyang H, Li H, *et al.* Direct conversion of fibroblasts to neurons by reprogramming PTB-regulated microRNA circuits. *Cell* 2013; 152(1/2): 82-96.
- 33 Artyomov MN, Meissner A, Chakraborty AK. A model for genetic and epigenetic regulatory networks identifies rare pathways for transcription factor induced pluripotency. *PLoS Computat Biol* 2010; 6(5): e1000785.
- 34 Dugas JC, Cuellar TL, Scholze A, Ason B, Ibrahim A, Emery B, *et al.* Dicer1 and miR-219 Are required for normal oligodendrocyte differentiation and myelination. *Neuron* 2010; 65(5): 597-611.
- 35 Budde H, Schmitt S, Fitzner D, Opitz L, Salinas-Riester G, Simons M. Control of oligodendroglial cell number by the miR-17-92 cluster. *Development* 2010; 137(13): 2127-32.
- 36 Ouyang YB, Xu L, Yue S, Liu S, Giffard RG. Neuroprotection by astrocytes in brain ischemia: Importance of microRNAs. *Neurosci Lett* 2014; 565: 53-8.
- 37 Ghasemi-Kasman M, Hajikaram M, Baharvand H, Javan M. MicroRNA-mediated *in vitro* and *in vivo* direct conversion of astrocytes to neuroblasts. *PLoS One* 2015; 10(6): e0127878.