

脑损伤后星形胶质细胞的重编程及意义

李欣 杜瑶 冉利 周宁娜*

(云南中医药大学药理教研室, 昆明 650500)

摘要 脑损伤后神经元的死亡及凋亡使脑组织功能受损, 是患者出现肢体、语言功能障碍等后遗症的主要原因。因此, 修复受损脑组织的神经元是治疗的关键。近年研究表明, 星形胶质细胞能发生重编程转化为神经元, 其重编程的方式有去分化和转分化两种。去分化主要在体外诱导星形胶质细胞形成神经球, 但这种神经球移植回体内后并不能产生神经元。转分化方式, 包括直接转分化和间接转分化。间接转分化过程产生新生神经元的周期较长, 且存在形成肿瘤的风险; 直接转分化尤其是体内的直接转分化方式既避免了细胞移植的复杂过程, 又能避免间接转分化方式形成肿瘤的风险, 是脑损伤后新生神经元最安全有效的方法。该文就正常星形胶质细胞与脑损伤后反应性星形胶质细胞的重编程的机制和意义进行综述。

关键词 脑损伤; 星形胶质细胞; 重编程; 神经元

The Role of Astrocyte Reprogramming in Brain Injury

LI Xin, DU Yao, RAN Li, ZHOU Ningna*

(Department of Pharmacology, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

Abstract The neuron death and apoptosis after brain injury lead to limb, language and cognitive dysfunction. Therefore, it is critical to repair neuron after brain injury. Recent research shows that astrocyte can be converted into neuron through reprogramming, including dedifferentiation and trans-differentiation, which opens a new avenue for neuron repair. The dedifferentiation induces astrocytes to form neurosphere *in vitro* but cannot develop into functional neurons after being transplanted *in vivo*. Trans-differentiation includes direct trans-differentiation and indirect lineage reprogramming. While the indirect lineage reprogramming needs very long time to generate neurons and have the risk of tumorigenesis, *in vivo* direct trans-differentiation could be the safe and effective method to induce neurogenesis. This article reviewed the role of astrocyte or reactive astrocyte reprogramming in neurorepair.

Keywords brain injury; astrocyte; reprogramming; neuron

脑损伤是神经外科常见疾病, 包括脑卒中和脑创伤等, 具有高致死率、高致残率及高复发率, 严重威胁人类的健康^[1]。在中枢神经系统内, 不同区域的细胞对损伤的耐受各不相同, 神经元是对脑损伤最

为敏感的细胞^[2]。由于神经元不可增殖、耐受性差等特性, 发生脑损伤后神经元的死亡及凋亡是导致神经功能障碍的主要原因。目前临床上治疗脑损伤的药物均不能有效地阻止神经元的死亡及凋亡, 因

收稿日期: 2019-01-02 接受日期: 2019-04-04

国家自然科学基金(批准号: 81860714)、云南省应用基础研究计划重点项目(批准号: 2016FA035)和云南中医药领军人才项目资助的课题

*通讯作者。Tel: 13987161160, E-mail: zhningna@ynutcm.edu.cn

Received: January 2, 2019 Accepted: April 4, 2019

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81860714), the Applied Basic Research Key Project of Yunnan (Grant No.2016FA035), and the Leading Talent Project from the Health and Family Planning Commission of Yunnan Province

*Corresponding author. Tel: +86-13987161160, E-mail: zhningna@ynutcm.edu.cn

网络出版时间: 2019-09-30 10:22:28

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190930.1022.006.html>

此导致脑组织永久性的损伤,患者出现肢体、语言功能障碍等后遗症,严重影响生活质量,这一治疗瓶颈一直未能突破。

星形胶质细胞(astrocyte, Ast)是脑组织中数量最多神经胶质细胞类型,大约是神经元数量的4倍^[3]。生理条件下, Ast主要是在神经元及其突起间作为填充物,支持神经网络的结构,同时为神经元提供代谢底物和营养支持,清除胞内外释放的谷氨酸,维持神经内环境的稳定^[4], Ast也是神经元活动与血管系统通信的媒介^[5]。研究发现, Ast能在转录因子、小分子化合物及微RNA(mircoRNA, miRNA)诱导下发生重编程(cell reprogramming)转化为神经元或神经母细胞(neuroblast)^[6-10]。脑损伤后Ast发生活化,称为反应性星形胶质细胞(reactive astrocyte, RA)。RA可在不导入其他调控因素的情况下,发生重编程形成神经球或转分化为神经元^[11-14],对脑损伤的治疗无疑是一个新希望。本文对近年来Ast及RA的重编程进行综述,以期探讨RA重编程的意义,为脑损伤的治疗提供理论基础。

1 星形胶质细胞重编程的机制

细胞重编程是指在一定条件下成体细胞的记忆被擦除,重新程序化产生新的表型和功能,导致细胞的命运发生变化的过程^[15]。细胞命运依赖于胚胎发育的不同阶段的转录因子的作用。调控Ast重编程的转录因子为原神经基因(proneural gene),这些转录因子通过招募(recruit)其他转录启动子或抑制子诱导或抑制特异性靶基因调控重编程^[16-17]。例如,转录因子Ngn2或Ascl1是接近目标区域染色质的先驱因素(pioneer factors),能够招募其他转录启动子诱导神经元基因转录^[16-17]。Ngn2和Ascl1也是碱性螺旋-环-螺旋蛋白(basic-helix-loop-helix, bHLH)家族的成员, bHLH的蛋白结构域主要与基因序列结构域E-box(CAN NTG)结合形成异源二聚体结构^[18]。Ngn2主要与CAG ATG位点结合^[16],通过诱导NeuroD转录因子家族的蛋白表达^[19],产生谷氨酸能神经元^[20]。Ascl1则主要与CAGCTG位点结合^[18],通过诱导Dlx基因的转录,产生GABA能神经元^[20]。

除了转录因子外, Ast神经源性程序的自发性激活也是引起重编程的重要因素^[16]。Ast自发性重编程是在病理情况下发生的,这表明损伤后的微环境存在支持Ast神经源性程序激活的信号^[13,21]。其

激活是一个多步骤(multi-step)的过程,即自发性神经源性程序首先被激活但不具有神经源性,此后神经源性程序再被激活才具有神经发生能力,最终转化为神经元^[17]。研究发现,在脑损伤后的RA中*Shh*(sonic hedgehog)基因表达上调,促进RA的增殖及神经球的形成,选择性删除*Shh*信号通路中关键蛋白smo后,可减弱RA的体内增殖及体外形成神经球的能力^[22]。另外, Spees课题组^[23]研究发现,在RA中用*γ*-secretase抑制剂*N*-[*N*-(3,5-difluorophenacetyl)-*l*-alanyl]-*S*-phenylglycine *t*-butylester(DAPT)干预或敲除Notch1受体,会减少增殖及表达巢蛋白(nestin)的RA数量,表明Notch信号通路在RA干细胞应答中起重要作用;进一步研究发现,在RA源性的神经母细胞和增殖细胞簇的自发出现过程中, Notch受体和胞内结构域NICD显著减少,提示抑制Notch信号通路可开启RA的神经源性程序^[24]。

2 星形胶质细胞重编程的方式

重编程的方式有去分化(dedifferentiation)和转分化(trans-differentiate)两种。

去分化是指已经分化的细胞在一定条件下失去表型特征逆转为干细胞,可进一步增殖分化为成熟细胞^[15,25]。RA在体外培养条件下能形成神经球^[11-12],神经球是神经干细胞体外扩增培养的一般表现形式,具有自我更新能力和多向分化潜能,能分化为神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞^[26](图1)。

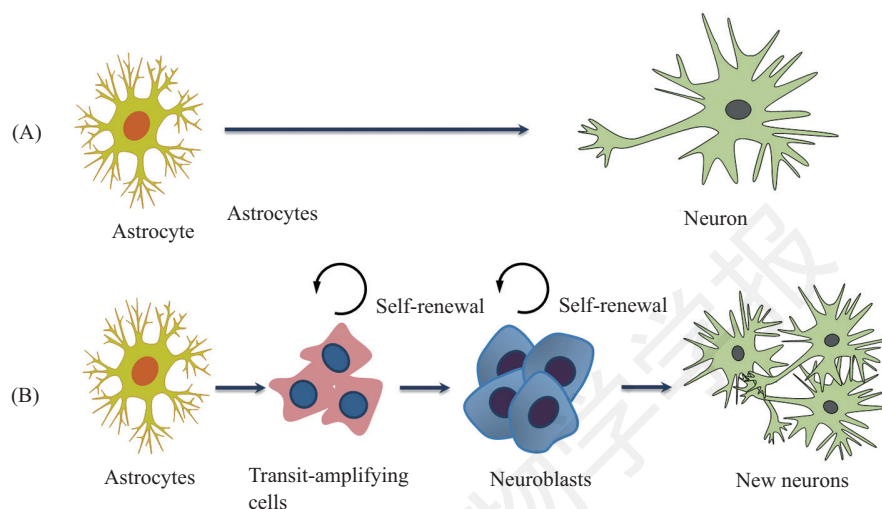
转分化指一种胚层来源的细胞或多能干细胞向同胚层或不同胚层来源的另一种成体细胞或多能干细胞转化的过程^[15,25],转分化也称谱系重编程(lineage reprogramming)^[27-28]。Ast的转分化分为直接转分化(direct trans-differentiation, DT)和间接谱系转化(indirect lineage reprogramming, ILC)^[29](图2)。Ast直接转分化可直接转化为神经元。间接谱系转化是将Ast退回到更早的状态,达到可塑的中间过渡态(intermediate state),通过扩增形成神经母细胞(neuroblasts)并在适宜条件下转化成神经元^[30]。

与去分化不同的是, Ast间接谱系转化的整个过程没有建立多能状态(pluripotent)^[27]。直接转分化与间接谱系转化相比,直接转分化既可在体内发生也可在体外发生,而间接谱系转化主要在体内发生,并且直接转分化能够降低肿瘤形成的可能性,加快转化速度和提高转化速率^[31]。



图1 星形胶质细胞的去分化

Fig.1 Astrocyte dedifferentiation



A: 星形胶质细胞的直接转分化; B: 星形胶质细胞的间接谱系转化。

A: astrocyte direct trans-differentiation; B: astrocyte indirect lineage reprogramming.

图2 星形胶质细胞的转分化及谱系重编程

Fig.2 Astrocyte trans-differentiation or lineage reprogramming

3 正常星形胶质细胞重编程

正常星形胶质细胞需在导入特定转录因子或 miRNA 等诱导因素后可转化为特异性神经元(表1)。

3.1 正常Ast体外重编程

Berninger等^[32]分离出生后5~7天小鼠大脑皮层的Ast, 分别利用携带*Ngn2*和*Dlx2*基因的逆转录病毒转染Ast, 导入*Ngn2*基因的Ast能够直接转分化为谷氨酸能神经元, 转分化率约为70%, 而导入*Dlx2*基因的Ast则主要产生GABA能神经元, 转分化率约为36%。这些新生神经元具有电生理特性, 能产生动作电位, 并且在培养1个月左右能形成突触, 具有功能性^[32-33]。该课题组^[34-35]的研究还发现, 大鼠乳鼠皮层的Ast在*Ngn2*的诱导下能直接转分化为谷氨酸能神经元, 转化率约为90%, 新生神经元也能产生动作电位, 并具有功能性。Chen研究组^[14]利用逆转录病毒将*NeuroD1*基因导入体外培养的人Ast中, 在适宜条件培养5天后, 90%的Ast在转分化为谷氨酸能神经元和GABA能神经元。此外, Ast的转化率具有一定的区域差异, 如Li等^[6]研究发现, 过表达转录

因子*Brn2*可诱导小鼠原代Ast转分化为功能性神经元, 并且不同大脑区域的Ast转分化率不同, 皮层区域Ast的转分化率大于海马区域大于中脑(midbrain)区域。除上述转录因子外, Ast也能在miRNA作用下发生直接转分化。Javan等^[8]用miRNA302/367(miR-302/367)-GFP的慢病毒转染人Ast后, 转染后的Ast直接转分化为神经元。

但利用病毒感染过表达转录因子重编程RA的方式存在操作复杂、诱发肿瘤风险等缺点, 其临床的应用前景受到了限制。近期已有报道体外利用系列小分子化合物可将星形胶质细胞重编程为神经元。Chen等^[9]利用MCM组合(LDN193189、SB431542、TTNPB、Tzv、CHIR99021、valproic acid、DAPT、SAG和Purmo), 按顺序先后处理人Ast, 这种处理方法可激活神经信号通路, 在8~10天内成功地将67%的星形胶质细胞重编程为神经元, 这些转分化的神经元中约有88%为谷氨酸神经元, 8%为GABA能神经元, 可存活超过5个月, 并能形成功能性突触网络。将这些新生神经元移植到小

鼠的脑内,可存活超过1个月,并能整合到小鼠神经局部环路中^[9]。Pei等^[36]也证实,小分子化合物(ISX-9、i-Bet151、valproic acid、forskolin、Chir99021、Repsox)能够诱导70%的人Ast直接转化为神经元,这些转分化的神经元中有70%为谷氨酸能神经元,7%为胆碱能神经元,将其移植回小鼠脑内能够存活1个月以上。

不同的小分子化合物有着不同的作用,干预转分化的不同阶段,如激活或抑制信号通路的传导、促进神经细胞形态形成,增强转分化率等。在Ast向神经元的转化过程中,不同的小分子组合可诱导不同来源的细胞转分化,如VCR(valproic acid、Chir99021和Repsox)可诱导小鼠源Ast转分化为神经元,转分化率约为25%,若诱导人源Ast就不能使其形态发生变化^[37],需再加入forskolin、i-Bet151和ISX-9,才可使细胞形态改变,转分化率约为70%,这些转分化的神经元中有70%为谷氨酸能神经元,7%为胆碱能神经元^[36];另外,MCM组合可诱导胎儿脑Ast转分化,转分化率约为67%,这些转分化的神经元中约有88%为谷氨酸神经元,8%为GABA能神经元,但若用MCM组合诱导成人脑Ast转分化,将会导致大量细胞死亡^[9]。

3.2 正常Ast体内重编程

Niu等^[10]研究发现,小鼠脑组织中Ast导入转录因子SOX2后,SOX2的强制性异位表达可使Ast转分化为神经母细胞(induced adult neuroblast, iANBs),利用神经营养因子BDNF或组蛋白去乙酰化抑制剂可诱导分化为成熟神经元。分化产生的神经元可以根据需要,调整转录因子的表达产生不同亚型神经元,SOX2诱导Ast的过程为间接谱系转化^[7,10]。Cheng等^[38]把表达Ascl1的腺病毒表达载体导入到转基因小鼠脑组织Ast内,Ascl1的过表达可使Ast直接转化为GABA能神经元,用免疫荧光染色技术检测,发现过表达Ascl1的Ast在转分化为神经元期间未表达神经祖细胞(neural progenitor cell)标记物,也没有进入扩增状态,表明Ast在体内可发生直接转分化。miRNA也能诱导Ast的直接转分化,把携带miR-302/367-GFP的慢病毒注射到小鼠纹状体内,纹状体内的Ast直接转分化为神经元^[39]。

4 脑损伤后反应性星形胶质细胞重编程

脑损伤后,RA可在不导入其他调控因素的情况下即发生重编程,但导入转录因子等调控因素则可提高

其重编程效率或诱导特异性神经元类型的转化(表1)。

4.1 脑损伤后RA体外重编程

在脑损伤刺激下,终末分化的RA重新进入细胞周期,发生增殖,并能够去分化产生具有多向分化能力和自我更新能力的神经球。研究表明,脑损伤如皮质针刺(stab wound)和大脑中动脉栓塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)后,分离出损伤区域的RA,在悬浮培养条件下仅有少数的RA能够形成神经球,这种神经球称为Ast源性的干细胞(reactive astrocyte-derived neural stem/progenitor cells, Rad-NSCs),可在体外传代2~3次,其中有42% Rad-NSCs能分化为Ast、少突胶质细胞及神经元,将Rad-NSCs移植回乳鼠体内28天,再从乳鼠体内分离出来仍能克隆传代并三向分化,但在乳鼠体内不能产生神经元^[11-12]。

4.2 脑损伤后RA体内重编程

体内环境与体外环境存在差异,Frisen等^[13]研究发现,RA能在体内发生间接谱系转化:用YFP标记Ast的转基因小鼠,在MCAO后对脑组织进行免疫荧光染色,发现超过70% YFP标记的Ast在受损后2天能表达神源性转录因子Ascl1,2周后Ascl1⁺的Ast聚集形成细胞簇(cluster),表达神经母细胞(neuroblast)标记物DCX,7周后约有31% DCX⁺的细胞簇分化为NeuN⁺的神经元。而Sun等^[39-40]报道,在MCAO后RA能够发生直接转分化产生神经元:MCAO后给大鼠注射表达GFP的pGfa2-eGFP质粒标记Ast,用免疫荧光技术对组织切片进行检测,发现仅有47% RA从受损第3天开始表达神经干细胞标记物Nestin及神经元转录因子PaX6,第7天开始表达未成熟神经元标记物Tuj-1,14和28天表达神经元标记物NeuN,转化的神经元中有超过90%的细胞膜上有多巴胺或谷氨酸受体,并且这些神经元具备与正常脑组织中神经元一样的合成和释放神经递质的能力。但皮质针刺伤后,小鼠脑内RA需在转录因子NeuroD1的调控下直接转分化为神经元,这些新生神经元能产生动作电位,并能形成正常的神经回路^[14]。

5 目前存在的问题及未来研究的方向

根据文献回顾分析,Ast或RA均可发生重编程转化为神经元,对于脑损伤后的神经修复具有积极的意义,但是仍有许多问题亟待解决。首先,脑损伤后RA可去分化产生具有多向分化潜能及自我更新能力的神经球,但只有5% RA能够发生去分化^[11-12],

表1 正常星形胶质细胞和反应性星形胶质细胞的重编程

Table 1 The normal astrocyte and reactive astrocyte reprogramming

体内/体外 <i>In vivo/in vitro</i>	起始细胞 Original cell	重编程类型 Reprogramming type	目标细胞 Target cell	诱导因素 Inducing factor	参考文献 Reference
Normal brain					
<i>In vitro</i>	Mouse Ast	DT	GABAergic neuron Glutamate neuron	Ngn2, Dlx2	[32]
<i>In vitro</i>	Rat Ast	DT	Glutamate neuron	Ngn2	[35]
<i>In vitro</i>	Human Ast	DT	GABAergic neuron	NeuroD1	[14]
<i>In vitro</i>	Mouse Ast	DT	GABAergic neuron Serotonin neuron Glutamate neuron	Brn2	[6]
<i>In vitro</i>	Human Ast	DT	GABAergic neuron Glutamate neuron	miR-302/367	[8]
<i>In vitro</i>	Human Ast	DT	Glutamate neuron Serotonin neuron	ISX-9, i-Bet151, valproic acid, forskolin, Chir99021, Repsox	[36]
<i>In vitro</i>	Human Ast	DT	Glutamate neuron GABAergic neuron	LDN193189, SB431542, TTNPB, Tzv, CHIR99021, VPA, DAPT, SAG, Purmo	[9]
<i>In vivo</i>	Mouse Ast	ILC	neuron	SOX2	[7]
<i>In vivo</i>	Mouse Ast	DT	GABAergic neuron	Ascl1	[38]
<i>In vivo</i>	Mouse Ast	DT	neuron	miR-302/367	[8]
Injured brain					
<i>In vitro</i>	Mouse RA	Dedifferentiation	neurosphere	Stab wound	[11]
<i>In vitro</i>	Mouse RA	Dedifferentiation	neurosphere	MCAO	[12]
<i>In vivo</i>	Mouse RA	ILC	neuron	MCAO	[13]
<i>In vivo</i>	Rat RA	DT	neuron	MCAO	[39,41]
<i>In vivo</i>	Mouse RA	DT	neuron	Stab wound and NeuroD1	[14]

DT: 直接转分化; ILC: 间接谱系转化。

DT: direct trans-differentiation; ILC: indirect lineage reprogramming.

且这些神经球移植回成年鼠、乳鼠或胎鼠体内, 虽能存活一个月以上, 但不能产生神经元^[12]。因此利用去分化产生神经球移植回体内的方法, 用于脑损伤的治疗可行性较低。在小分子化合物的诱导下Ast可直接定向转分化为谷氨酸能神经元或GABA能神经元或胆碱能神经元, 转化率大约为70%, 且这些新生神经元移植回鼠脑内具有神经元电生理特性, 并能够整合到局部神经环路中, 形成突触^[9,36]。与RA去分化相比, Ast直接转分化为神经元再移植回体内的方法似乎更具有可行性, 但Ast需在含血清的培养基中培养, 在临床上血清可能是导致人体感染的物质^[41], 并且由于在培养过程中起始细胞(original cell)的基因异质性、重编程精确性及培养时间等原因, 其产生子代神经细胞的效率和质量仍然受到质疑^[42]。体外重编程对理论研究和作用机制研究有一定意义, 但在临床转化应用上尚需进一步研究。相比之下, 直接在体内将内源性的Ast转分化

为所需神经元是脑损伤后获得新生神经元最简单、直接的方法^[22]。

脑损伤后RA在体内的重编程, 不仅能缩短转化时间, 而且能避免细胞准备及细胞移植的复杂过程^[41-42], 是细胞替代治疗中简单的、应用前景广泛的技术。RA间接谱系转化在损伤急性期(0~3天)开始发生, 产生神经元需要约7周时间^[13](图3); 而RA直接转分化产生新生神经元的过程是2~3周^[14,22,39](图3), 比间接谱系转化时间明显缩短, 而且间接谱系转化过程中产生的神经母细胞有致癌性, 会增加肿瘤形成的风险^[43], 因此RA的体内直接转分化在实际应用上更安全可靠。值得注意的是, 虽有47% RA能表达神经干/祖细胞标记物Nestin, 但只有12% Nestin⁺ RA能发生直接转分化^[40]。此外, 损伤后2周左右损伤区域胶质限制(glia limitans)形成, RA重编程形成神经元的所需的时间较胶质限制形成的时间长, 因而胶质限制可能成为神经新生(neurogenesis)的主要障碍^[44](图

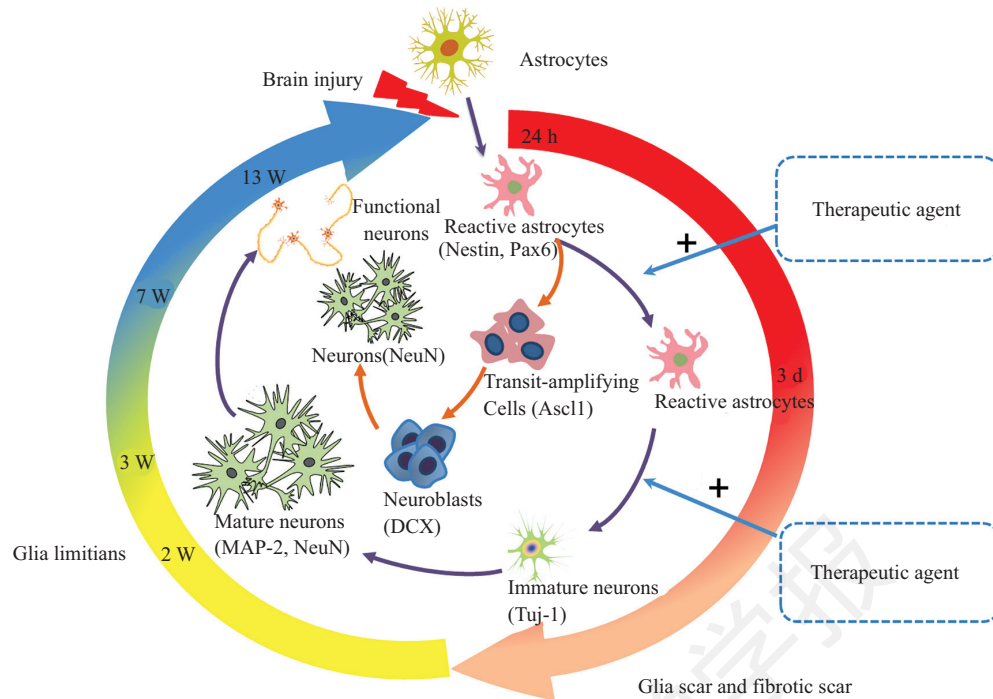


图3 脑损伤后胶质瘢痕的形成及星形胶质细胞的转分化

Fig.3 Scar formation and reactive astrocyte trans-differentiation after brain injury

3)。可见,虽然在脑损伤后可能启动RA转分化为神经元的内源性修复机制,但其修复能力是有限的,促进RA这一内源性修复的能力至关重要。

目前,利用转录因子和miRNA在体内诱导RA转分化为神经元虽取得了一定成果^[7-8,36],但由于转分化的转录因子在各种类型的癌症中高度表达,若在体内增加转录因子的表达可能增加遗传改变的风险^[44-47],并且转录因子的引入病毒需要作为载体。病毒载体有两种即整合病毒及非整合病毒,整合病毒如逆转录病毒,其通过整合到宿主基因组中,从而推动转录因子的表达,但逆转录病毒整合后,存在插入突变(insertional mutagenesis)、转基因激活(transgene reactivation)和残留表达(residual expression)的风险^[27];非整合病毒如腺病毒虽然相对更安全,但转染效率较低,且对病毒滴度的要求较高,有时还需重复转染^[27,48-49]。除此之外,直接转染miRNA效率虽高,但目前miRNA的导入需要病毒作为载体,且稳定性较低,需要多次转染^[27]。利用转录因子或miRNA促进RA转分化的内源性修复机制,在动物实验中可行,但在临床上有潜在的风险。因此,研发化合物或生物工程产物促进RA转分化率,加快转分化速度,以促进内源性修复的能力,对受损区域的修复有重要作用。

迄今为止,非基因重编程的方法有两种,一种是以miRNA或蛋白的形式递送重编程因子,另一种是利用小分子化合物诱导重编程^[27]。第一种方法的优点是不需要病毒作为载体,避免了插入突变、转基因激活和残留表达的风险。但miRNA在体内半衰期非常短,通常几天就能被降解。因此,重复转染、大量修饰、长序列miRNA等问题,使miRNA的使用成本较高^[27];以蛋白质的形式将重编程转录因子递送到细胞中的方法耗时较长,效率非常低^[50-51]。因此,在Ast的重编程中没有采用以miRNA或蛋白的形式递送重编程因子的方法。利用小分子化合物诱导重编程被认为是目前比较理想的方法^[19],优点是:分子量小,可迅速扩散到细胞膜上,以便到达细胞内的作用部位^[52],易于合成、保存、成本较低^[53-54],在诱导重编程过程不需要引入外源基因,可替代所有用于重编程的转录因子^[47,55],重编程效率及安全性较高,改变浓度和组合方式能精确诱导重编程,且能定向转分化为特定的神经元等优点^[56]。因此,小分子化合物具有诱导内源性细胞在体内修复和再生的潜能,利用小分子诱导Ast重编程的方法尚待在体内证明。

参考文献 (References)

- 1 Khoshnam SE, Winlow W, Farzaneh M, Farbood Y, Moghaddam

- HF. Pathogenic mechanisms following ischemic stroke. *Neuro Sci* 2017; 38(7): 1167-86.
- 2 Becerra-Calixto A, Cardona-Gomez GP. The role of astrocytes in neuroprotection after brain stroke: potential in cell therapy. *Front Mol Neurosci* 2017; 10: 88.
- 3 Lent R, Azevedo FA, Andrade-Moraes CH, Pinto AV. How many neurons do you have? Some dogmas of quantitative neuroscience under revision. *Eur J Neurosci* 2012; 35(1): 1-9.
- 4 Pekny M, Pekna M. Astrocyte reactivity and reactive astrogliosis: costs and benefits. *Physiol Rev* 2014; 94(4): 1077-1098.
- 5 Nuriva M, Hirase H. Involvement of astrocytes in neurovascular communication. *Prog Brain Res* 2016; 225: 41-62.
- 6 Zhu X., Zhou W, Jin H, Li T. Brn2 alone is sufficient to convert astrocytes into neural progenitors and neurons. *Stem Cells Dev* 2018; 27(11): 736-44.
- 7 Niu W, Zang T, Smith DK, Vue TY, Zou Y, Bachoo R, *et al.* SOX2 reprograms resident astrocytes into neural progenitors in the adult brain. *Stem Cell Reports* 2015; 4(5): 780-94.
- 8 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.
- 9 Zhang L, Yin JC, Yeh H, Ma NX, Lee G, Chen XA, *et al.* Small molecules efficiently reprogram human astroglial cells into functional neurons. *Cell Stem Cell* 2015; 17(6): 735-47.
- 10 Niu W, Zang T, Zou Y, Fang S, Smith DK, Bachoo R, *et al.* *In vivo* reprogramming of astrocytes to neuroblasts in the adult brain. *Nat Cell Biol* 2013; 15(10): 1164-75.
- 11 Buffo A, Rite I, Tripathi P, Lepier A, Colak D, Horn AP, *et al.* Origin and progeny of reactive gliosis: A source of multipotent cells in the injured brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(9): 3581-6.
- 12 Shimada, IS., LeComte MD., Granger JC., Quinlan NJ, Spees JL. Self-renewal and differentiation of reactive astrocyte-derived neural stem/progenitor cells isolated from the cortical peri-infarct area after stroke. *J Neurosci* 2012; 32(23): 926-40.
- 13 Magnusson JP, Goritz C, Tatarishvili J, Dias DO, Smith EM, Lindvall O, *et al.* A latent neurogenic program in astrocytes regulated by Notch signaling in the mouse. *Science* 2014; 346(6206): 237-40.
- 14 Guo Z, Zhang L, Wu Z, Chen Y, Wang F, Chen G. *In vivo* direct reprogramming of reactive glial cells into functional neurons after brain injury and in an Alzheimer's disease model. *Cell stem cell* 2014; 14(2): 188-202.
- 15 庞希宁, 付小兵. 干细胞与再生医学. 北京: 人民卫生出版社, 2014.
- 16 Smith DK, Yang J, Liu ML, Zhang CL. Small molecules modulate chromatin accessibility to promote neurog2-mediated fibroblast-to-neuron reprogramming. *Stem Cell Reports* 2016; 7(5): 955-69.
- 17 Boda E, Nato G, Bufo A. Emerging pharmacological approaches to promote neurogenesis from endogenous glial cells. *Biochem Pharmacol* 2017; (17): 30453-7.
- 18 Gascon S, Masserdotti G, Ruso GL, Götz M. Direct neuronal reprogramming: achievements, hurdles, and new roads to success. *Cell Stem Cell* 2017; 21(1): 18-34.
- 19 Torper O, Gotz M. Brain repair from intrinsic cell sources: Turning reactive glia into neurons. *Prog Brain Res* 2017; 230: 69-97.
- 20 Masserdotti G, Gillontin S, Sutor B, Drechsel D, Irmeler M, Jørgensen HF, *et al.* Transcriptional mechanisms of proneural factors and REST in regulating neuronal reprogramming of astrocytes. *Cell Stem Cell* 2015; 17(1): 74-88.
- 21 Luzzati F, Nato G, Oboti L, Vigna E, Rolando C, Armentano M, *et al.* Quiescent neuronal progenitors are activated in the juvenile guinea pig lateral striatum and give rise to transient neurons. *Development* 2014; 141(21): 4065-75.
- 22 Sirko S, Beherendt G, Johansson AP, Tripathi P, Costa M, Bek S, Heinrich C, *et al.* Reactive glia in the injured brain acquire stem cell properties in response to sonic hedgehog.[corrected]. *Cell Stem Cell* 2013; 12(4): 426-39.
- 23 Shimada IS, Borders A, Aronshtam A, Spees JL. Proliferating reactive astrocytes are regulated by notch-1 in the peri-infarct area after stroke. *Stroke* 2011; 42(11): 3231-7.
- 24 Marumo T, Takagi Y, Muraki K, Hashimoto N, Miyamoto S, Tanigaki K. Notch signaling regulates nucleocytoplasmic Olig2 translocation in reactive astrocytes differentiation after ischemic stroke. *Neurosci Res* 2013; 75(3): 204-9.
- 25 桑建利. 细胞生物学. 第1版. 北京: 科学出版社, 2016, 385.
- 26 Minovi A, Aguado A, Brunert D, Kurtenbach S, Dazert S, Hatt H, *et al.* Isolation, culture optimization and functional characterization of stem cell neurospheres from mouse neonatal olfactory bulb and epithelium. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2017; 274(8): 3071-85.
- 27 Cieslar-Pobuda A, Knoflach V, Ringh MV, Stark J, Likus W, Siemianowicz K, *et al.* Transdifferentiation and reprogramming: Overview of the processes, their similarities and differences. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 2017; 1864 (7): 1359-69.
- 28 Amamoto R, Arlotta P. Development-inspired reprogramming of the mammalian central nervous system. *Science* 2014; 343(6170): 1239882.
- 29 付艳宾, 龙媛, 谢欣. 全化学诱导体细胞重编程和转分化. 生命科学(Fu Yanbing, Long Yuan, Xie Xin. Recent progress in chemical-induced somatic cell reprogramming and trans-differentiation. *Chinese Bulletin of Life Sciences*) 2016; 28(8): 941-8.
- 30 Magnusson JP, Frisen J. Stars from the darkest night: unlocking the neurogenic potential of astrocytes in different brain regions. *Development* 2016; 143(7): 1075-86.
- 31 Yang N, Ng YH, Pang ZP, Südhof TC, Wernig M. Induced neuronal cells: how to make and define a neuron. *Cell stem cell* 2011; 9(6): 517-25.
- 32 Heinrich C, Gotz M, Berninger B. Reprogramming of postnatal astroglia of the mouse neocortex into functional, synapse-forming neurons. *Methods Mol Biol* 2012; 814: 485-98.
- 33 Heinrich C, Blum R, Gascon S, Masserdotti G, Tripathi P, Sánchez R, *et al.* Directing astroglia from the cerebral cortex into subtype specific functional neurons. *PLoS Biol* 2010; 8(5): e1000373.
- 34 Sher F, Boddeke E, Copray S. Ezh2 expression in astrocytes induces their dedifferentiation toward neural stem cells. *Cell Reprogram* 2011; 13(1): 1-6.
- 35 Blum R, Heinrich C, Sanchez R, Lepier A, Gundelfinger ED, Berninger B, *et al.* Neuronal network formation from reprogrammed early postnatal rat cortical glial cells. *Cerebral Cortex* 2011; 21(2): 413-24.
- 36 Gao L, Guan W, Wang M, Wang H, Yu J, Liu Q, *et al.* Direct

- generation of human neuronal cells from adult astrocytes by small molecules. *Stem Cell Reports* 2017; 8(3): 538-47.
- 37 Cheng L, Gao L, Guan W, Mao J, Hu W, Qiu B, *et al.* Direct conversion of astrocytes into neuronal cells by drug cocktail. *Cell Res* 2015; 25(11):1269-72.
- 38 Liu Y, Miao Q, Yuan J, Han S, Zhang P, Li S, *et al.* Ascl1 converts dorsal midbrain astrocytes into functional neurons *in vivo*. *J Neurosci* 2015; 35(25): 9336-55.
- 39 Duan CL, Liu CW, Shen SW, Yu Z3, Mo JL1,2,4, Chen XH, *et al.* Striatal astrocytes transdifferentiate into functional mature neurons following ischemic brain injury. *Glia* 2015; 63(9): 1660-70.
- 40 Shen S W, Duan CL, Chen XH, Wang YQ, Sun X, Zhang QW, *et al.* Neurogenic effect of VEGF is related to increase of astrocytes transdifferentiation into new mature neurons in rat brains after stroke. *Neuropharmacology* 2016; 108: 451-61.
- 41 Yamashita T, Abe K. Recent progress in cell reprogramming technology for cell transplantation therapy. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 2016; 56(3): 97-101.
- 42 Broccoli V, Rubio A, Taverna S, Yekhelef L. Overcoming the hurdles for a reproducible generation of human functionally mature reprogrammed neurons. *Exp Biol Med (Maywood)* 2015; 240(6): 787-94.
- 43 康文博, 张赛, 梁海乾. 星形胶质细胞转分化为神经元的研究进展. *天津医药 (Kang Wenbo, Zhang Sai, Liang Haiqian. Research progress of transforming astrocytes into neurons. Tianjin Medical Journal)* 2015; 43(6): 694-7.
- 44 Kawano H, Kimura-Kuroda J, Komuta Y, Yoshioka N, Li HP, Kawamura K, *et al.* Role of the lesion scar in the response to damage and repair of the central nervous system. *Cell Tissue Res* 2012; 349(1): 169-80.
- 45 Ben-David U, Benvenisty N. The tumorigenicity of human embryonic and induced pluripotent stem cells. *Nat Rev Cancer* 2011; 11(4): 268-77.
- 46 Fishman VS, Shnayder TA, Orishchenko KE, Bader M, Alenina N, Serov OL. Cell divisions are not essential for the direct conversion of fibroblasts into neuronal cells. *Cell Cycle* 2015; 14(8): 1188-96.
- 47 Xu J, Du Y, Deng H. Direct lineage reprogramming: strategies, mechanisms, and applications. *Cell stem cell* 2015; 16(2): 119-34.
- 48 Okita K, Nakagawa M, Hyenjong H, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. *Science* 2008; 322 (5903): 949-53.
- 49 Zhou W, Freed CR. Adenoviral gene delivery can reprogram human fibroblasts to induced pluripotent stem cells. *Stem Cells* 2009; 27(11): 2667-74.
- 50 Kim D, Kim CH, Moon JI, Bader M, Alenina N, Serov OL. Generation of human induced pluripotent stem cells by direct delivery of reprogramming proteins. *Cell Stem Cell* 2009; 4(6): 472-6.
- 51 Zhou H, Wu S, Joo JY, Zhu S, Han DW, Lin T, *et al.* Generation of induced pluripotent stem cells using recombinant proteins. *Cell Stem Cell* 2009; 4(6): 381-4.
- 52 Ma X, Kong L, Zhu S. Reprogramming cell fates by small molecules. *Protein Cell* 2017; 8 (5): 328-48.
- 53 Cao N, Huang Y, Zhang J, Spencer CI, Zhang Y, Fu JD, *et al.* Conversion of human fibroblasts into functional cardiomyocytes by small molecules. *Science* 2016; 302(6290): 1216-20.
- 54 Ye J, Ge J, Zhang X, Cheng L, Zhang Z, He S, *et al.* Pluripotent stem cells induced from mouse neural stem cells and small intestinal epithelial cells by small molecule compounds. *Cell Res* 2016; 26(1): 34-45.
- 55 Federation AJ, Bradner JE, Meissner A. The use of small molecules in somatic-cell reprogramming. *Trends Cell Biol* 2014; 24(3): 179-87.
- 56 Qin H, Zhao A, Fa X. Small molecules for reprogramming and transdifferentiation. *Cell Mol Life Sci* 2017; 74(19): 3553-75.