

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2009.00115

## miRNAs 在干细胞自我更新和分化中的调控作用

安洋, 安铁洙, 滕春波

东北林业大学生命科学学院发育生物学研究室, 哈尔滨 150040

**摘要:** 干细胞与 microRNAs(miRNAs)均为近年来研究的热点问题。干细胞是一类具有自我更新与多项分化潜能的细胞, 因与生物发育和癌症发生的密切联系而越来越受到人们的重视。miRNAs 是一类长约 22nt 的小分子非编码 RNA, 具有高度的种间保守性和时空特异性, 在转录后水平调节靶基因的表达, 是细胞内基因表达的基本调控机制之一。最近的一些研究表明, miRNAs 在干细胞的自我更新和分化过程中具有重要的调控作用。这些研究主要采用两种策略: (1) 缺失/突变干细胞中 miRNAs 合成途径必需酶(包括 Dicer1、Loqs、DGCR8、Argonaute 蛋白等), 通过细胞特性变化来研究其功能; (2) 直接筛选干细胞中的特异性 miRNAs 并研究其功能。针对干细胞中 miRNAs 的研究对深入了解干细胞自我更新和分化的机制以及干细胞的鉴定具有重要的意义。文章基于近年来的研究对干细胞相关的 miRNAs 进行了综述。

**关键词:** 干细胞; 干性维持; 分化; miRNAs

## miRNAs play an essential role in stem cell self-renewal and differentiation

AN Yang, AN Tie-Zhu, TENG Chun-Bo

Laboratory of Animal Development Biology, College of Life Science, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

**Abstract:** Stem cells and miRNAs are two of the most intriguing research topics in recent years. Stem cells with properties of self-renewal and multipotency are remarkable cells since they play key roles in animal development and tumorigenesis. microRNAs (miRNAs) are ~22nt non-coding RNAs, which have spatiotemporally specific expression patterns, and are highly conserved between species. Researchers have demonstrated that miRNAs can regulate gene expression at post-transcriptional level, and their action is one of the essential intracellular regulatory pathways. Recent evidence showed that miRNAs can regulate stem cells self-renewal and differentiation. The evidence mostly derived from the following research strategies: (1) deletion or mutation of the genes that encoding essential enzymes for miRNAs biogenesis, such as Dicer1, Loqs, DGCR8, and Argonaute; (2) screening of specific miRNAs from stem cells and investigation of their function. Comprehension of the miRNAs functions in stem cells is of great importance for further understanding their self-renewal and differentiation mechanism, as well as identification of stem cells. This paper reviews the potential roles of miRNAs in stem cellson the basis of recent researches.

**Keywords:** stem cells; stemness maintenance; differentiation; miRNAs

收稿日期: 2008-06-10; 修回日期: 2008-07-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 30670304)资助

作者简介: 安洋(1984-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 发育生物学。Tel: 0451-82191784; E-mail: AN.Yang\_public@gmail.com

通讯作者: 滕春波(1970-), 女, 副教授, 博士, 研究方向: 发育生物学。Tel: 0451-82191785; E-mail: chunboteng@yahoo.com

干细胞所具有的自我更新能力和多向分化潜能特性被统称为“干性(Stemness)”。具有干性的细胞根据来源不同可分为胚胎干细胞、造血干细胞、神经干细胞、生殖系干细胞、肌肉干细胞、表皮干细胞、胰腺干细胞等。这些细胞由于在多种疾病的治疗方面具有巨大的应用潜力而被广泛关注和研究。

干细胞研究中的关键问题之一是了解其干性维持和分化的机制。目前已经发现,一些信号传导途径、转录因子、染色体的表观修饰等均参与调节干细胞的自我更新和分化过程。干细胞干性维持中的关键信号通路包括 JAK-STAT、MAPK-ERK、PI3K、WNT、TGF $\beta$  以及 bFGF 等,这些信号通路主要通过调节一些干细胞内的关键转录因子如 Oct4、Sox2、Nanog 和 c-Myc 等的表达而起作用。另外, PcG 等染色质修饰因子通过对染色质寡聚化、染色质结构浓缩的抑制作用调节常染色质与异染色质间的转换,从而控制干细胞中基因的表达; DNA 甲基转移酶 Dnmt 与 CpG 岛结合蛋白 CGBP 等也可以通过调节 DNA 甲基化控制干细胞中某些重要基因的表达。这些信号通路、转录因子与其他调节基因独立或相互作用,形成了一个维持干细胞自我更新与分化的分子调控网络<sup>[1,2]</sup>。

最近的研究发现, microRNAs(miRNAs)在干细胞的干性维持和分化过程中也具有重要的作用。miRNAs 是一类长约 22 nt 的非编码小 RNA, 约占动物基因组总量的 1%, 在进化中高度保守, 其表达既具有时空特异性, 也具有组织和细胞特异性。miRNAs 可通过作用于靶基因的 3' UTR(3' 非翻译区)抑制其表达, 广泛地参与调节细胞增殖、分化、分泌和凋亡等生命活动<sup>[3]</sup>。目前对于 miRNAs 在干细胞中的作用主要有两种研究策略: (1)对 miRNAs 生物合成所必需的酶进行突变, 分析其在早期胚胎发育和干细胞分化中的整体作用; (2)直接从胚胎或组织干细胞中筛选干细胞特异性 miRNAs, 并分析其与干细胞干性维持和分化的关系。下面就这两方面的研究结果对 miRNAs 在干细胞中的作用进行综述。

## 1 miRNAs 的生物合成机制

miRNAs 起源于较长的初级转录物(Pri-miRNAs), 在细胞核中被 RNase 型核酸内切酶 Drosha 及其辅酶(如人类中的 DGCR8 或果蝇中的

Pasha)加工成 60~75 nt 的发卡状前体(Pre-miRNAs), 随后由转运蛋白运输到细胞质中。细胞质中的发卡结构前体被另一种 RNase 型核酸内切酶 Dicer 及其辅助因子(如人类的 TRBP/PACT 和果蝇的 Loquacious(Loqs)等)剪切加工成为成熟的 miRNAs, 在 Argonautes 蛋白引导下结合到 RNA 诱导的沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC)上, 并由 RISC 介导其与靶 mRNAs 结合, 通过抑制靶 mRNA 的翻译或降解靶 mRNA 起作用<sup>[4,5]</sup>。

## 2 miRNAs 合成必需酶功能缺失突变与干细胞的关系

### 2.1 Dicer 缺失突变体的研究

Dicer 包含了两种同工酶: Dicer1 和 Dicer2。Dicer1 是 miRNAs 加工成熟所必需的, 而 Dicer2 在 siRNAs 合成过程中必不可少。有研究认为 Dicer1 的缺失可以完全阻断 miRNAs 合成通路<sup>[6]</sup>。对小鼠 *Dicer1* 基因敲除后发现, 胚胎在发育早期阶段死亡, 胚胎不表达胚胎干细胞(ESCs)标记分子 Oct4<sup>[7]</sup>, 特异性地敲低小鼠胚胎中的 *Dicer1* 基因可以同时引起 Oct4 等相关基因表达的下降<sup>[8]</sup>, 暗示 Dicer1 及其加工合成的 miRNAs 在胚胎早期发育时调节干细胞的自我更新。另外, Dicer 敲除的 ESCs 不能在裸鼠中形成嵌合体 and 畸胎瘤, 向胚状体的分化也受到影响, 不能形成内胚层和中胚层, 说明这些 ESCs 失去了分化的能力<sup>[9,10]</sup>, 暗示 Dicer 可能通过其合成的 miRNAs 控制干细胞的定向分化。对这些 ESCs 所作的进一步分析发现, 双链 RNAs 的表达严重下降, 着丝粒随体处的重复序列不再沉默, 染色体臂间区 DNA 甲基化明显下降, 说明 Dicer 加工后的 miRNAs 对干细胞的作用可能是通过调控异染色质的表观修饰来实现的<sup>[9,10]</sup>。

在组织干细胞中突变 Dicer1 也能对它们产生显著影响。Dicer1 突变的成体小鼠表皮毛囊不能产生正常毛干, 且毛囊缺乏干细胞标记分子, 并开始退化。在胚胎发育第 7 d, 重要信号分子 Shh 和 Notch1 的表达消失<sup>[11]</sup>, 这提示了 Dicer1 及 miRNAs 对于表皮和毛囊发育中干细胞的干性维持是非常重要的。Dicer1 突变的果蝇生殖系干细胞(GSCs)也无法维持自我更新, 因而从干细胞巢中快速丢失<sup>[12]</sup>。研究者

进一步发现,这种快速丢失是由于从 G<sub>1</sub> 期向 S 期的转变被延迟引起的<sup>[13]</sup>。因而,果蝇 GSCs 中发现的 miRNAs 可使干细胞跨过细胞周期的 G<sub>1</sub>/S 检验点并在一个较长的时间内持续分裂。但到目前为止,该现象只在果蝇中发现,因而不能认为 miRNAs 是所有干细胞周期的通用调控因子。

另外,现在发现并非所有组织干细胞的增殖和分化都受到 Dicer 敲除的影响。如条件敲除小鼠附肢芽中 Dicer 可引起发育的延迟,附肢较小,但没有检测到附肢形态的改变和组织特异性分化的丧失<sup>[14]</sup>。这说明 Dicer 敲除后,干细胞(或至少部分干细胞)未失去组织特异性分化的能力。Cobb 等<sup>[15]</sup>在 T 细胞发育早期条件敲除 Dicer1 后,也发现 Dicer 对于 CD4/CD8 世系分化而言并非必需。因此, Dicer 及其介导的 miRNAs 合成通路对于早期 ESCs 干性维持和分化十分重要,但对某些组织干细胞世系分化中特定基因的表达的影响则有限。

## 2.2 其他 miRNAs 生物合成必需酶缺失突变体的研究

除 Dicer 外, miRNAs 生物合成的其他必需酶突变后也会对干细胞的干性维持和分化产生严重影响。敲除雌性果蝇中 Dicer 酶辅因子 Loqs 的基因发现,突变体中检测不到 GSCs,说明雌性 GSCs 的维持需要 Loqs,暗示 miRNAs 在果蝇 GSCs 自我更新中起到调控作用<sup>[16]</sup>。

Drosha 及其辅因子 DGCR8 也是 miRNAs 生物合成必需的。在 ESCs 中敲除 DGCR8 后发现, DGCR8 突变的 ESCs 与敲除 Dicer1 的 ESCs 虽然都发生了分化缺陷,但二者的表型有很大不同。DGCR8 突变的 ESCs 不表达分化细胞标记物,多能干细胞标记分子表达没有完全下调, ESCs 仍具有产生克隆的能力,而且敲除 DGCR8 的 ESCs 在培养 16 d 后仍然能持续生长分化,说明干细胞没有消失<sup>[17]</sup>。敲除 Dicer1 和敲除 DGCR8 两种 ESCs 的差异表现,说明 ESCs 中 miRNAs 可能会绕过 DGCR8 进行加工,或者 Dicer 可有不依赖于 miRNAs 的功能。

Piwi 是 Argonaute 蛋白家族的重要成员,作为 RISC 的核心成分,对于 miRNAs 发挥功能有重要作用。Piwi 缺失突变与 Loqs 缺失突变的情况很相似,在 Piwi 突变的卵巢中, GSCs 不能分裂而是分化为成

包囊细胞,使得卵巢中的 GSCs 消失<sup>[18]</sup>,说明 Piwi 在维持 GSCs 自我更新中具有重要作用。Argonaute 另一亚家族成员 Argonaute1(AGO1)在生殖系中的过表达可导致 GSCs 过度增殖,而它的缺失会引起 GSCs 的缺失<sup>[19]</sup>,在果蝇中抑制 AGO1 的表达同抑制 Dicer1 的表达一样,都会引起胚胎死亡<sup>[20]</sup>,由此也可推测 miRNAs 对维持 GSCs 自我更新和抑制 GSCs 向包囊干细胞的分化有重要作用。

上述 miRNAs 生物合成必需酶的敲除和缺失突变体研究间接地证明了 miRNAs 与多种干细胞之间的关系,暗示 miRNAs 在干细胞自我更新、分裂分化中可能具有重要的调控作用。但这种方法尚无法回答哪些 miRNAs 在干细胞中起作用、如何起作用的问题,对于这类问题的回答需要直接分析干细胞中的 miRNAs 成员及其功能。

## 3 直接筛选干细胞中特异的 miRNAs 并分析其功能

直接筛选胚胎或组织干细胞中特异的 miRNAs 并分析其功能是研究 miRNAs 与干细胞干性维持和分化关系的最直接有效的手段。通过 Northern 杂交、克隆、芯片和实时定量荧光 PCR 等方法,人们已经对 ESCs 和多种组织干细胞中的 miRNAs 表达谱进行了研究。

### 3.1 ESCs 中的 miRNAs

目前,在 ESCs 中已发现大约 110 000 个 miRNAs 拷贝,大多数 miRNAs 定位于 6 个基因座,其中 4 个基因座与细胞周期调控和癌症相关<sup>[21]</sup>。小鼠和人 ESCs 中发现了十几个特异表达且进化保守的 miRNAs(表 1),综合起来包括 3 大簇: miR-290 簇、miR-302 簇和 miR-371 簇<sup>[22-24]</sup>,其中小鼠 ESCs 中特异的是 miR-290 和 miR-302 簇,人 ESCs 中特异的是 miR-302 和 miR-371 簇,此外,近期的芯片数据发现 miR-200c 也是人 ESCs 特有的<sup>[25]</sup>。在人、小鼠和狗 ESCs 特异的 miRNAs 中, miR-302 簇的某些成员(miR-302b、miR-302c 和 miR-367)是相同的,并且人和鼠的 miR-302 簇与斑马鱼的 miR-403 簇是同源的<sup>[20, 26, 27]</sup>,说明这类 miRNAs 对干细胞的作用是种间保守的。

表 1 人和小鼠 ESCs 表达的 miRNAs

来源	ESCs 特异表达的 miRNAs	分化时上调的 miRNAs	分化时下调的 miRNAs
hESCs	miR-302 簇(miR-302a, miR-302b, miR-302c, miR-302d 和 miR-367) miR-371 簇(包括 miR-371, miR-372, miR-373, 和 miR-373*) miR-200	miR-199a, miR-372, miR-122, miR-152, miR-10a, miR-340, miR-363, miR-26a, miR-26b, miR-130a, miR-30d, miR-146b, miR-92, miR-93, miR-17M	let-7a, miR-302a, miR-222, miR-21, miR-221, miR-594, miR-302b, miR-744, miR-373, miR-302c, miR-296, miR-494, miR-367, miR-154, miR-29c, miR-143
mESCs	miR-302 簇(miR-302a, miR-302b, miR-302c, miR-302d 和 miR-367) miR-290 簇(miR-290, miR-291, miR-292, miR-293, miR-294, 和 miR-295) miR-183	miR-207, miR-499, miR-526a, miR-346, miR-384, miR-325, miR-410, let-7d*, miR-330, miR-412	miR-20b, miR-106a, miR-127, miR-292-3p, miR-379, miR-140, miR-9, miR-93, miR-142-3p, miR-140*

此外,研究者还发现,一些已知的致癌 miRNAs (miR-17-3pN、miR-17-5pN、miR-18、miR-19a、miR-19b、miR-20、miR-25、miR-92、miR-93、miR-106b 等)在 ESCs 和其随后分化成的胚状体细胞中大量表达,而在成体组织细胞中表达量下降<sup>[24]</sup>,说明这些 miRNAs 也可能是 ESCs 干性维持所必需的。经预测,Oct4、Sox2 和 Nanog(3 种 ESCs 标志性转录因子)可分别或共同启动 miR-137 和 miR-301 等 14 个 miRNAs 的基因的表达<sup>[28]</sup>,虽然这些预测的 miRNAs 不是 ESCs 中特异表达的,但它们也很可能参与到 ESCs 干性维持的调控网络中。

通过比较人类和小鼠 ESCs 以及分化的胚状体中 miRNA 的表达谱,研究者发现了大量干细胞分化时差异表达的 miRNAs,这些 miRNAs 可能在干细胞分化中起重要作用<sup>[24, 29, 30]</sup>。

目前经实验验证在 ESCs 增殖和分化中起作用的 miRNAs 还很少。已经确知的是,miR-290 家族可通过抑制 *Rbl2l*(转录抑制因子)而调节 ESCs 中新合成 DNA 的甲基化;miR-134 可通过调控 *Nanog* 与 *LRHI*(Oct4 和小鼠 ESCs 生长的正向调控因子)以促进小鼠 ESCs 向外胚层分化<sup>[31]</sup>。此外,果蝇胚胎中表达量最大的 miRNAs 家族(包括 miR-2、miR-6、miR-11、miR-13 和 miR-308)可抑制 ESCs 的凋亡<sup>[32]</sup>。其他 miRNAs 对 ESCs 的作用还有待进一步研究探明。

### 3.2 组织干细胞中的 miRNAs

研究者很早就发现,在线虫中 lin-4、let-7 及其家族成员 miR-48、miR-84 和 miR-241 在组织干细胞分化中具有重要作用<sup>[20]</sup>。在众多组织干细胞中,成肌细胞、神经干细胞和造血干细胞中 miRNAs 的研究较为深入。

#### 3.2.1 成肌细胞中的 miRNAs

与成肌细胞干性维持和分化相关的 miRNAs 主要有 miR-1 家族(包括 miR-1-1、miR-1-2 和 miR206)、miR-133 家族(包括 miR-133a-1、miR-133a-2 和 miR-133b)、miR-181、miR-24、miR-26a 以及 miR-214 等,它们与本身的调控因子及靶基因形成了一个成肌细胞自我更新与分化的调控网络<sup>[30, 33]</sup>。其中,miR-1 家族的单一成员和 miR-133 家族的单一成员往往位于同一双顺反子内<sup>[34]</sup>,因而有着相同的转录模式(图 1)。然而,值得注意的是,实验证明 miR-1 家族受 MyoD 和 MEF2 调控,以 *Hand2*、*HDAC4* 为靶,抑制增殖并促进成肌细胞的分化,有助于肌肉形成。相反的是,miR-133 家族虽然也受 MyoD、MEF2 和 SRF 调控,却又以 *SRF* 为靶,从而促进增殖,维持成肌细胞的干性。这两个受相同转录因子调控但作用相反的 miRNAs 如何在成肌细胞干性维持和分化的过程中维持微妙的平衡关系还需进一步研究。



### 3.2.2 神经干细胞中的 miRNAs

迄今为止,已在神经干细胞中发现了一些高表达和差异表达的 miRNAs,这些 miRNAs 在神经干细胞的自我更新和分化过程中起到重要的调控作用。

miR-92b 主要在神经干/祖细胞中表达<sup>[35]</sup>,可能跟神经干细胞的维持相关。在神经干/祖细胞中过表达 miR-124、miR-128 和 miR-9 可降低星形胶质细胞的分化,单独抑制 miR-9 的表达或同时抑制 miR-124 可导致神经分化。研究者进一步发现,miR-9 和 miR-124 可通过抑制信号传导及转录激活因子 3(STAT3)的磷酸化而维持神经干细胞干性<sup>[36]</sup>。

然而,研究者近来发现,鸡神经管中神经祖细胞维持所必需的层粘连蛋白 $\gamma$ 1 和整联蛋白 $\beta$ 1 基因都是 miR-124 的靶<sup>[37]</sup>。另外,miR-124 也可通过抑制小 C-末端结构域磷酸酶 1 (Small C-terminal domain phosphatase 1, *SCP1*)而促进神经发生<sup>[38]</sup>。miR-124 的表达还受到 RE1 沉默转录因子(RE1 silencing transcription factor, REST)的调控,在非神经细胞和神经祖细胞中 REST 抑制 miR-124 的表达;当祖细胞向成体神经元分化时,REST 离开 *mir-124* 基因座,恢复 miR-124 的表达<sup>[39]</sup>。这些又说明 miR-124 在神经干细胞分化中起作用。miR-124 在神经干细胞干性维持与分化中矛盾性作用既体现了 miR-124 对神经干细胞作用的复杂性,又提示它可能是干细胞干性维持与分化平衡中的重要一环,但对于 miR-124 如何在复杂的调控过程中起作用尚需进一步研究。

### 3.2.3 造血干细胞中的 miRNAs

通过分析人类造血干祖细胞中的 mRNA 和 miRNA 的表达谱,并经计算预测及部分实验检测发现,在早期干/祖细胞阶段,miR-17、miR-24、miR-146、miR-155、miR-128 和 miR-181 可能对造血干细胞有维持作用;miR-16、miR-103 和 miR-107

可阻断晚期祖细胞的分化;而 miR-221、miR-222 和 miR-223 很可能调控最终的造血分化<sup>[40]</sup>。

已有证据表明,miR-520h 通过抑制 *ABCG2* 的表达,促进造血干细胞向祖细胞的分化<sup>[41]</sup>。造血干/祖细胞中异位表达 miR-181 可促使 B 细胞的分化,但对 T 细胞影响不显著,相反 miR-142 和 miR-223 主要使 T 细胞世系增加<sup>[42]</sup>。

CD34+ 的造血祖细胞中表达的 miR-221 和 miR-222 以干细胞因子受体 *c-Kit* 为靶进而阻止内皮细胞的迁移、增殖和血管形成,还可抑制红细胞的产生<sup>[43,44]</sup>;而 miR-24 可通过降低其靶基因 *ALK4* (Activin type I receptor)诱导的 Smad2 磷酸化从而调控红细胞的分化<sup>[45]</sup>。miR-233 的启动子可以受到两个转录因子 NFI-A 与 C/EB Palpha 的竞争性地结合,其中 NFI-A 可以抑制 miR-223 的表达,而 C/EBP $\alpha$  则可促进其表达从而促进粒细胞的产生<sup>[46]</sup>。

在造血祖细胞向单核细胞分化成熟过程中,转录因子 AML1 结合于 miR-17-5p、miR-20a 和 miR-106a 所在基因簇的启动子,抑制这 3 个 miRNAs 的转录,相反 miR-17-5p、miR-20a 和 miR-106a 也可以 *AML1* 为靶,进而下调巨噬细胞集落刺激因子,抑制单核细胞的分化成熟<sup>[47]</sup>,这说明该 miRNAs 簇与 AML1 构成了造血祖细胞增殖分化的反馈回路。

### 3.2.4 其他干细胞中的 miRNAs

除了上述 3 种研究相对深入的组织干细胞外,研究者对于其他组织干细胞中 miRNAs 的作用也取得了一定的了解。例如,miR-125b 可抑制间充质干细胞 ST2 的增殖,并进一步抑制成骨细胞的分化<sup>[48]</sup>。miR-26a 可通过抑制 *Smad1* 来调控脂肪干细胞向成骨世系的分化<sup>[49]</sup>。miR-203 可抑制 *P63* (维持干细胞干性的调节因子),从而促进表皮干细胞的分化等等<sup>[50]</sup>。但迄今为止,这方面的研究还很有限,有待于进一步的探索。

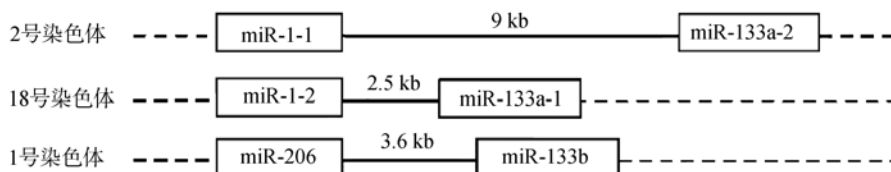


图1 双顺反子形式存在的肌肉特异性 miRNAs

#### 4 干细胞中 miRNAs 研究存在的问题与展望

对于 miRNAs 在干细胞中的作用的研究也已获得了一些非常重要的结果, 但对于各种干细胞中 miRNAs 的功能分析才刚刚开始。在 miRNAs 合成必需酶缺失实验中, 敲除 Dicer1 尽管是最为广泛采取的研究方案, 但至今尚无法确定 Dicer1 是否只参与 miRNAs 的合成过程, Dicer1 缺失是否能真正反映细胞中 miRNAs 的功能变化。敲除 miRNAs 合成途径的其它组分也存在类似的问题。

尽管通过不同的实验手段在各种干细胞中已经鉴定出大量特异表达的 miRNAs, 但对其真正的功能却了解不多。对于许多干细胞相关的 miRNAs 仅能根据其表达丰度、与细胞状态的关系, 以及运用生物信息学方法预测靶基因进行推测, 并不能反应其真实的生理功能。要透彻了解某一 miRNA 与干细胞增殖分化的相关性仍需更多深入的实验研究和大量实验数据积累。

总之, 目前针对干细胞中 miRNAs 的研究尚处于起步阶段, 还有大量的相关 miRNAs 有待于发现, 而已发现的干细胞特异表达的 miRNAs 也需要大量实验进行功能研究。在此基础上, 将 miRNAs 作用与转录因子调控和表观遗传调控等相结合, 才能全面地了解干细胞自我更新和多向分化潜能的分子机制, 揭开其干性维持之谜。

#### 参考文献(References):

- [1] Rao M. Conserved and divergent paths that regulate self-renewal in mouse and human embryonic stem cells. *Dev Biol*, 2004, 275(2): 269–286.[\[DOI\]](#)
- [2] Liu N, Lu M, Tian X, Han Z. Molecular mechanisms involved in self-renewal and pluripotency of embryonic stem cells. *J Cell Physiol*, 2007, 211(2): 279–286.[\[DOI\]](#)
- [3] Song L, Tuan RS. MicroRNAs and cell differentiation in mammalian development. *Birth Defects Res C Embryo Today*, 2006, 78(2): 140–149.[\[DOI\]](#)
- [4] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, 116(2): 281–297.[\[DOI\]](#)
- [5] Zeng Y. Principles of micro-RNA production and maturation. *Oncogene*, 2006, 25(46): 6156–6162.[\[DOI\]](#)
- [6] Lee YS, Nakahara K, Pham JW, Kim K, He Z, Sontheimer EJ, Carthew RW. Distinct roles for *Drosophila* Dicer1 and Dicer2 in the siRNA/miRNA silencing pathways. *Cell*, 2004, 117(1): 69–81.[\[DOI\]](#)
- [7] Bernstein E, Kim SY, Carmell MA, Murchison EP, Alcorn H, Li MZ, Mills AA, Elledge SJ, Anderson KV, Hannon GJ. Dicer is essential for mouse development. *Nat Genet*, 2003, 35(3): 215–217.[\[DOI\]](#)
- [8] Cui XS, Shen XH, Kim NH. Dicer1 expression in preimplantation mouse embryos: Involvement of Oct3/4 transcription at the blastocyst stage. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 352(1): 231–236.[\[DOI\]](#)
- [9] Kanellopoulou C, Muljo SA, Kung AL, Ganesan S, Drapkin R, Jenuwein T, Livingston DM, Rajewsky K. Dicer-deficient mouse embryonic stem cells are defective in differentiation and centromeric silencing. *Genes Dev*, 2005, 19(4): 489–501.[\[DOI\]](#)
- [10] Murchison EP, Partridge JF, Tam OH, Cheloufi S, Hannon GJ. Characterization of Dicer-deficient murine embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(34): 12135–12140.[\[DOI\]](#)
- [11] Andl T, Murchison EP, Liu F, Zhang Y, Yunta-gonzalez M, Tobias JW, Andl CD, Seykora JT, Hannon GJ, Millar SE. The miRNA-processing enzyme dicer is essential for the morphogenesis and maintenance of hair follicles. *Curr Biol*, 2006, 16(10): 1041–1049.[\[DOI\]](#)
- [12] Jin Z, Xie T. Dcr-1 maintains *Drosophila* ovarian stem cells. *Curr Biol*, 2007, 17(6): 539–544.[\[DOI\]](#)
- [13] Hatfield SD, Shcherbata HR, Fischer KA, Nakahara K, Carthew RW, Ruohola-baker H. Stem cell division is regulated by the microRNA pathway. *Nature*, 2005, 435(7044): 974–978.[\[DOI\]](#)
- [14] Harfe BD, McManus MT, Mansfield JH, Hornstein E, Tabin CJ. The RNaseIII enzyme Dicer is required for morphogenesis but not patterning of the vertebrate limb. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(31): 10898–10903.[\[DOI\]](#)
- [15] Cobb BS, Nesterova TB, Thompson E, Hertweck A, O'Connor E, Godwin J, Wilson CB, Brockdorff N, Fisher AG, Smale ST, Merkenschlager M. T cell lineage choice and differentiation in the absence of the RNase III enzyme Dicer. *J Exp Med*, 2005, 201(9): 1367–1373.[\[DOI\]](#)
- [16] Forstemann K, Tomari Y, Du T, Vagin VV, Denli A M, Bratu DP, Klattenhoff C, Theurkauf WE, Zamore P D. Normal microRNA maturation and germ-line stem cell maintenance requires Loquacious, a double-stranded RNA-binding domain protein. *PLoS Biol*, 2005, 3(7): e236.[\[DOI\]](#)
- [17] Wang Y, Medvid R, Melton C, Jaenisch R, Blüthgen R. DGCR8 is essential for microRNA biogenesis and silenc-

- ing of embryonic stem cell self-renewal. *Nat Genet*, 2007, 39(3): 380–385.[\[DOI\]](#)
- [18] Cox DN, Chao A, Baker J, Chang L, Qiao D, Lin H. A novel class of evolutionarily conserved genes defined by piwi are essential for stem cell self-renewal. *Genes Dev*, 1998, 12(23): 3715–3727.[\[DOI\]](#)
- [19] Yang L, Chen D, Duan R, Xia L, Wang J, Qurashi A, Jin P, Chen D. Argonaute 1 regulates the fate of germline stem cells in *Drosophila*. *Development*, 2007, 134(23): 4265–4272.[\[DOI\]](#)
- [20] Alvarez-garcia I, Miska EA. MicroRNA functions in animal development and human disease. *Development*, 2005, 132(21): 4653–4662.[\[DOI\]](#)
- [21] Calabrese JM, Seila AC, Yeo GW, Sharp PA. RNA sequence analysis defines Dicer's role in mouse embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(46): 18097–18102.[\[DOI\]](#)
- [22] Houbaviy HB, Dennis L, Jaenisch R, Sharp PA. Characterization of a highly variable eutherian microRNA gene. *RNA*, 2005, 11(8): 1245–1257.[\[DOI\]](#)
- [23] Houbaviy HB, Murray MF, Sharp PA. Embryonic stem cell-specific MicroRNAs. *Dev Cell*, 2003, 5(2): 351–358.[\[DOI\]](#)
- [24] Chen C, Ridzon D, Lee CT, Blake J, Sun Y, Strauss WM. Defining embryonic stem cell identity using differentiation-related microRNAs and their potential targets. *Mamm Genome*, 2007, 18(5): 316–327.[\[DOI\]](#)
- [25] Lakshmipathy U, Love B, Goff LA, Jornsten R, Graichen R, Hart RP, Chesnut JD. MicroRNA expression pattern of undifferentiated and differentiated human embryonic stem cells. *Stem Cells Dev*, 2007, 16(6): 1003–1016.[\[DOI\]](#)
- [26] Stadler BM, Ruohola-baker H. Small RNAs: Keeping stem cells in line. *Cell*, 2008, 132(4): 563–566.[\[DOI\]](#)
- [27] Hayes B, Fagerlie SR, Ramakrishnan A, Baran S, Harkey M, Graf L, Bar M, Bendoraite A, Tewari M, Torok-storb B. Derivation, characterization, and in vitro differentiation of canine embryonic stem cells. *Stem Cells*, 2008, 26(2): 465–473.[\[DOI\]](#)
- [28] Boyer LA, Lee TI, Cole MF, Johnstone SE, Levine SS, Zucker JP, Guenther MG, Kumar RM, Murray HL, Jenner RG, Gifford DK, Melton DA, Jaenisch R, Young RA. Core transcriptional regulatory circuitry in human embryonic stem cells. *Cell*, 2005, 122(6): 947–956.[\[DOI\]](#)
- [29] Morin RD, O'Connor MD, Griffith M, Kuchenbauer F, Delaney A, Prabhu AL, Zhao Y, McDonald H, Zeng T, Hirst M, Eaves CJ, Marra MA. Application of massively parallel sequencing to microRNA profiling and discovery in human embryonic stem cells. *Genome Res*, 2008, 18(4): 610–621.[\[DOI\]](#)
- [30] Callis TE, Chen JF, Wang DZ. MicroRNAs in skeletal and cardiac muscle development. *DNA Cell Biol*, 2007, 26(4): 219–225.[\[DOI\]](#)
- [31] Tay YM, Tam WL, Ang YS, Gaughwin PM, Yang H, Wang W, Liu R, George J, Ng HH, Perera RJ, Lufkin T, Rigoutsos I, Thomson AM, Lim B. MicroRNA-134 modulates the differentiation of mouse embryonic stem cells, where it causes post-transcriptional attenuation of Nanog and LRH1. *Stem Cells*, 2008, 26(1): 17–29.[\[DOI\]](#)
- [32] Leaman D, Chen PY, Fak J, Yalcin A, Pearce M, Unnerstall U, Marks DS, Sander C, Tuschl T, Gaul U. Antisense-mediated depletion reveals essential and specific functions of microRNAs in *Drosophila* development. *Cell*, 2005, 121(7): 1097–1108.[\[DOI\]](#)
- [33] Callis TE, Chen JF, Wang DZ. MicroRNAs in skeletal and cardiac muscle development. *DNA Cell Biol*, 2007, 26(4): 219–225.[\[DOI\]](#)
- [34] van Rooij E, Liu N, Olson EN. MicroRNAs flex their muscles. *Trends Genet*, 2008, 24(4): 159–166.[\[DOI\]](#)
- [35] Kapsimali M, Kloosterman WP, de Bruijn E, Rosa F, Plasterk RH, Wilson SW. MicroRNAs show a wide diversity of expression profiles in the developing and mature central nervous system. *Genome Biol*, 2007, 8(8): R173.[\[DOI\]](#)
- [36] Krichevsky AM, Sonntag KC, Isacson O, Kosik KS. Specific microRNAs modulate embryonic stem cell-derived neurogenesis. *Stem Cells*, 2006, 24(4): 857–864.[\[DOI\]](#)
- [37] Cao X, Pfaff SL, Gage FH. A functional study of miR-124 in the developing neural tube. *Genes Dev*, 2007, 21(5): 531–536.[\[DOI\]](#)
- [38] Visvanathan J, Lee S, Lee B, Lee JW, Lee SK. The microRNA miR-124 antagonizes the anti-neural REST/SCP1 pathway during embryonic CNS development. *Genes Dev*, 2007, 21(7): 744–749.[\[DOI\]](#)
- [39] Conaco C, Otto S, Han JJ, Mandel G. Reciprocal actions of REST and a microRNA promote neuronal identity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(7): 2422–2427.[\[DOI\]](#)
- [40] Georgantas RW, Hildreth R, Morisot S, Alder J, Liu CG, Heimfeld S, Calin GA, Croce CM, Civin CI. CD34+ hematopoietic stem-progenitor cell microRNA expression and function: a circuit diagram of differentiation control. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(8): 2750–2755.[\[DOI\]](#)
- [41] Liao R, Sun J, Zhang L, Lou G, Chen M, Zhou D, Chen Z, Zhang S. MicroRNAs play a role in the development of human hematopoietic stem cells. *J Cell Biochem*, 2008,

- 104(3): 805–817. [\[DOI\]](#)
- [42] Chen CZ, Li L, Lodish HF, Bartel DP. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. *Science*, 2004, 303(5654): 122–83–86. [\[DOI\]](#)
- [43] Felli N, Fontana L, Pelosi E, Botta R, Bonci D, Facchiano F, Liuzzi F, Lulli V, Morsilli O, Santoro S, Valtieri M, Calin GA, Liu CG, Sorrentino A, Croce CM, Peschle C. MicroRNAs 221 and 222 inhibit normal erythropoiesis and erythroleukemic cell growth via kit receptor down-modulation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(50): 18081–18086. [\[DOI\]](#)
- [44] Kuehnbacher A, Urbich C, Dimmeler S. Targeting microRNA expression to regulate angiogenesis. *Trends Pharmacol Sci*, 2008, 29(1): 12–15. [\[DOI\]](#)
- [45] Wang Q, Huang Z, Xue H, Jin C, Ju XL, Han JD, Chen YG. MicroRNA miR-24 inhibits erythropoiesis by targeting activin type I receptor ALK4. *Blood*, 2008, 111(2): 588–595. [\[DOI\]](#)
- [46] Fazi F, Rosa A, Fatica A, Gelmetti V, De M M, De Marchis ML, Nervi C, Bozzoni I. A minicircuitry comprised of microRNA-223 and transcription factors NFI-A and C/EBPalpha regulates human granulopoiesis. *Cell*, 2005, 123(5): 819–831. [\[DOI\]](#)
- [47] Fontana L, Pelosi E, Greco P, Racanicchi S, Testa U, Liuzzi F, Croce CM, Brunetti E, Grignani F, Peschle C. MicroRNAs 17-5p-20a-106a control monocytopenia through AML1 targeting and M-CSF receptor upregulation. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(7): 775–787. [\[DOI\]](#)
- [48] Mizuno Y, Yagi K, Tokuzawa Y, Kanesaki-yatsuka Y, Suda T, Katagiri T, Fukuda T, Maruyama M, Okuda A, Amemiya T, Kondoh Y, Tashiro H, Okazaki Y. miR-125b inhibits osteoblastic differentiation by down-regulation of cell proliferation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 368(2): 267–272. [\[DOI\]](#)
- [49] Luzi E, Marini F, Sala SC, Tognarini I, Galli G, Brandi ML. Osteogenic differentiation of human adipose tissue-derived stem cells is modulated by the miR-26a targeting of the SMAD1 transcription factor. *J Bone Miner Res*, 2008, 23(2): 287–295. [\[DOI\]](#)
- [50] Yi R, Poy MN, Stoffel M, Fuchs E. A skin microRNA promotes differentiation by repressing 'stemness'. *Nature*, 2008, 452(7184): 225–229. [\[DOI\]](#)

## • 遗传咨询 •

### 红绿色盲的产前检测

问: 我已怀孕 2 个月左右, 我的父亲是红绿色盲, 我的母亲正常, 我是红绿色盲基因携带者, 我的丈夫正常, 我们想要一个正常的宝宝, 请问, 胎儿红绿色盲基因检测应在孕期什么时候进行呢?

答: 红绿色盲(protanopia and deuteranopia), 属 X 染色体隐性遗传病, 红与绿色觉基因定位于 Xq28。正常 X 染色体上有一个红色觉基因(RCP)与多个结构相同的绿色觉基因(GCP)串联排列, 相应基因点突变、部分或全部缺失, 或者基因重排, 导致不同程度的色弱或色盲。根据您提供的资料, 您生育一个男孩患病几率为 1/2, 不遗传几率为 1/2; 如果生育一个女孩, 1/2 正常, 1/2 为携带者。可以选择在妊娠 10 周左右采取绒毛或 16~20 周取羊水进行基因诊断, 但目前国内开展红绿色盲基因检查的医院并不多。

(中国科学院遗传与发育生物学研究所 李巍、张喆)