

DOI: 10.13376/j.cblls/2015174

文章编号: 1004-0374(2015)10-1255-06

MicroRNAs调控干细胞的诱导与分化

蒋豆蔻^{1,2}, 李富荣^{1*}

(1 暨南大学第二临床医学院(深圳市人民医院)干细胞与细胞治疗重点实验室, 深圳 518020;

2 暨南大学医学院病理学与病理生理学系, 广州 510632)

摘要: 干细胞根据其所处的发育阶段可分为胚胎干细胞 (embryonic stem cell, ESCs) 和成体干细胞 (somatic stem cell), 具有自我复制能力和多向分化潜能, 因此, 被认为可修复、重建组织器官。近年有大量研究致力于诱导干细胞分化为各种成体细胞, 但诱导过程繁琐与分化效率低下一直困扰着科研人员。MicroRNAs (miRNAs) 是在真核生物中发现的一类内源性的具有调控功能的非编码 RNA, 其大小长约 20~25 个核苷酸。研究表明 miRNA 可通过抑制干细胞靶 mRNA 序列的翻译或者降解靶 mRNA 来调控干细胞的诱导与分化。因此, 调控 miRNAs 的表达水平可影响分化过程。现就 miRNA 调控干细胞向成体细胞分化的研究现状和机制作一综述。

关键词: microRNAs; 干细胞; 诱导多能干细胞; 分化

中图分类号: Q254; Q522 **文献标志码:** A

MicroRNAs regulate the induction and differentiation of stem cells

JIANG Dou-Kou^{1,2}, LI Fu-Rong^{1*}

(1 The Key Laboratory of Stem Cell and Cellular Therapy, The Second Clinical Medical College (Shenzhen People's Hospital) of Jinan University, Shenzhen 518020, China;

2 Department of Pathology and Pathophysiology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: According to the developmental stage, stem cells with the capacity of self-renewal and multilineage differentiation, can be divided into embryonic stem cells and somatic stem cells. It is generally considered that stem cells can repair tissues and organs. In recent years, there is a large amount of research on inducing stem cells into all kinds of somatic stem cells, but the researchers has been plagued by complicated induction process and low differentiation efficiency. MicroRNAs (miRNAs) are 20~25 nucleotide (nt) endogenous small non-coding RNAs that negatively regulate gene expression in eukaryote. Recent studies have shown that miRNA can repress the translation of target mRNAs or degrade it to regulate the induction and differentiation of stem cells, thus regulating the expression levels of miRNAs can affect the differentiation process. In this paper, the research status and mechanism of miRNAs in somatic stem cells were reviewed.

Key words: microRNAs; stem cells; induced pluripotent stem cell; differentiation

MicroRNA (miRNA) 是片段长度为 20~25 核苷酸 (nt) 的非编码单链 RNA 分子, 参与转录后基因表达调控。microRNA 的成熟经过以下阶段: 初级转录产物 (pri-miRNA) → 前体 miRNA (pre-miRNA) → 双链 miRNA → 单链 miRNA。首先, 在细胞核内, 具有发夹结构的 pri-miRNA 被 RNaseIII-Drosha 酶和 DGCR8 蛋白剪切加工成 pre-miRNA, pre-miRNA 有不完全配对茎环结构, 长度为 70~90 nt。随后,

pre-miRNA 通过质核转运蛋白 Exportin 5 和 Ran-GTP 由细胞核转运至细胞质。在细胞质内, 经过 Dicer 酶的剪切加工, pre-miRNA 被剪切成成熟的

收稿日期: 2015-03-24; 修回日期: 2015-05-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(81270857); 广东省自然科学基金项目(S2013010014832); 深圳市科技计划项目(201402018)

*通信作者: E-mail: frli62@163.com; Tel: 13312966272

双链 miRNA。随后双链解开, 其中一条被降解, 而另一条则与 RNA 诱导的沉默复合物 (RISC) 结合, 形成成熟的 miRNA, 发挥转录后基因表达调控的功能^[1]。通常, miRNA 的 5' 端的 2~8 个核苷酸序列与靶基因的 3' 非编码区互补配对^[2], 但 miRNA 同样能与靶基因的 5' 非编码区互补配对。互补配对后, miRNA 可抑制 mRNA 的翻译或者使 mRNA 降解^[1,3], 这取决于 miRNA 与靶基因的互补程度, 若完全互补配对, 则降解 mRNA; 若不完全互补配对, 则抑制其翻译。

近年来发现, miRNA 参与干细胞的转录后调控, 影响干细胞的分化和增殖, 调控特异性 miRNA 的表达水平, 可以诱导干细胞向特定组织细胞分化。可以说, miRNA 在某种程度上决定了干细胞的命运^[4,5], 这为疾病的治疗提供了新技术与新思路, 有重要价值。本文就近几年 miRNA 调控干细胞向成体细胞分化方面的研究进展作一综述。

1 miRNA 诱导干细胞向胰岛β细胞分化

2011 年, Chen 等^[6]首次发现, 诱导人 ESCs 形成的胰岛素样细胞团中高表达 miR-186、miR-199a 和 miR-339。之后, Wei 等^[7]用 D'Amour 报道的五步法方案在体外经历 24 d 模仿人类胰腺的发育, 检测胰腺特异性相关的 miRNAs 动态变化发现, miR-34a 的表达水平于第 6~8 天降到最小值之后又逐渐上升; miR-375 和 miR-7 的表达水平于分化第 4 天开始升高, 第 8 天达到峰值; miR-146a 持续下降, 至 12 天降至最低值。这表明 miR-34a 可能在形成胰腺祖细胞过程中发挥重要作用, miR-146a、miR-7、miR-375 可能作用于形成胰岛素分泌细胞的过程。miR-375 可利用蛋白激酶 A 通路限制 RNA 聚合酶 II 与 miR-375 启动子的结合^[8-10], 胰腺发育过程中的两个重要的转录因子 Pdx1 和 NeuroD1 也可共同作用于 miR-375 调节其表达^[11], 以此调节胰岛β细胞的功能。于是, Lahmy 等^[12]在没有其他调节因子的作用下, 将携带 miR-375 的慢病毒载体转染人 ESCs 形成拟胚体, 并诱导其向分泌胰岛素的β样细胞分化。形态学显示形成了与成熟胰岛样团簇类似的小芽样聚集, 双硫腺染色呈猩红色; 免疫荧光染色显示抗胰岛素抗体、抗 C 肽抗体阳性; 定量 PCR 显示分化中晚期 (14~21 d) 与未分化细胞相关的 *Foxa2*、*Oct4* 基因低表达, β 细胞相关基因 *HNF4a*、*Pdx1*、*Nkx6.1*、*Pax6* 高表达, 晚期 (21 d) 胰岛素和 *Glut2* 的高表达说明成熟的胰岛素分泌细

胞形成, 21 d 时在 25 mmol/L 高浓度刺激下胰岛素分泌量为 $(52.23 \pm 7.15) \mu\text{IU/mL}$ 。次年, Lahmy 等^[13]又首次成功诱导 hiPSCs 分化为葡萄糖反应型、胰岛素分泌型的胰岛β细胞。他们将携带 miR-375 前体序列的慢病毒载体转染 hiPSCs, 48 h 后绿色免疫荧光染色发现转导效率约为 80%, 第 21 天时, 在 20 mmol/L 浓度葡萄糖刺激下, 其胰岛素分泌量达到峰值 $(3.21 \pm 0.31) \text{ ng}/10^6$, 并且甲苯磺丁脲和卡巴胆碱可促进其分泌胰岛素, 而硝苯地平会抑制其分泌, 说明诱导产生的胰岛β细胞调节胰岛素的释放的信号通路与生理性信号通路一致。2014 年, Shaer 等^[14]在无生长因子作用下, 将 miR-186 和 miR-375 分别通过化学转染 hiPSCs, 流式细胞术检测 24 h 后转染效率为 29.44%, 定量 PCR 检测 miR-186 和 miR-375 的表达水平分别增长到 10^7 倍和 10^9 倍, 转染后 3 天形成胰岛素样细胞。而用细胞因子诱导的实验组, 在第 31 天才形成胰岛素样细胞。在 16.7 mmol/L 高浓度葡萄糖刺激下, 转染 miR-186、转染 miR-375 和细胞因子诱导的实验组胰岛素分泌量分别为 $11.3 \mu\text{IU/mL}$ 、 $12.16 \mu\text{IU/mL}$ 和 $390.9 \mu\text{IU/mL}$ 。由此可见, 用 miR-186 和 miR-375 诱导产生胰岛素样细胞比用生长因素诱导更加快捷, 但面临胰岛素分泌量过低的问题。随后, Shaer 等^[15]又将 miR-375 通过化学转染人类胎盘基蜕膜的 MSCs, 转染后 24 h, miR-375 的表达水平增加到 3 981.23 倍, 96 h 内转染效率达到峰值 49.16%; 第 6 天, 细胞形态学呈胰岛细胞样改变; 第 4~7 天, 胰腺特异性转录因子出现高表达, 在 16.7 mmol/L 高浓度葡萄糖刺激下, 胰岛素分泌量最高达 $(39.57 \pm 0.51) \mu\text{IU/mL}$ 。

以上研究均能较快捷地产生胰岛素分泌细胞, 为糖尿病的治疗提供了前景, 但是整体分化效率低下和胰岛素分泌量不足, 以及分化过程中宿主基因畸变和突变的问题仍然棘手。

2 miRNA 诱导干细胞向成骨及成软骨细胞分化

2.1 诱导干细胞向成软骨细胞分化

2011 年, Yang 等^[16]用转化生长因子β3 (transforming growth factor-β3, TGF-β3) 诱导 MSCs 向成软骨细胞分化, 定量 PCR 显示分化过程中 miR-145 表达水平逐渐降低。将 miR-145 前体转染 MSCs 使 miR-145 过表达后, 成软骨形成标记物 *Col2a1*、*Agcl*、*COMP*、*Col9a2* 和 *Col11a1* 表达水平降低, *Sox9* 蛋白表达降低。生物信息学分析预测 *Sox9* 基因可能

为 miR-145 的靶基因, 且 Sox9 在调节软骨形成过程中起到重要作用^[17-18]。为了进一步证实预测, 将 Sox9 基因克隆至荧光素酶报告基因载体, 与 miR-145 前体共转染人胚肾 293 细胞株, 荧光素酶报告基因检测显示荧光素酶表达显著降低, 说明 Sox9 是 miR-145 的靶基因。同样地, Lee 等^[19]通过微球培养法将人骨髓 MSCs 诱导分化为软骨细胞, 用微阵列分析显示 miR-495 表达水平降低, 之后他们运用与 Yang 等^[16]相似的方案证实 Sox9 基因为 miR-495 的靶基因。随后, Guerit 等^[20]发现, 成软骨分化的过程中 miR-29a 的表达水平逐渐降低, 与此同时, 成软骨特异性表达的转录物蛋白多聚糖 (ACAN) 和 II 型胶原蛋白表达水平升高。将 miR-29a 前体通过脂质体转染 MSCs, ACAN、II 型胶原蛋白和 Sox9 表达水平降低, 说明 miR-29a 可抑制软骨分化。根据生物信息分析预测做进一步机制研究, 克隆 FOXO3A 至荧光素酶报告基因载体证实, FOXO3A 是 miR-29a 的靶基因。

2.2 诱导干细胞向成骨细胞分化

2014 年, Xie 等^[21]在诱导 MSCs 成骨分化过程中转染 miR-31, 定量 PCR 显示成骨特异性基因 Runx2、BSP、Ocn、Osx 表达量减少了 50% 以上, 而转染了 miR-31 抑制物的实验组则增加了 1.5 倍, 说明 miR-31 抑制成骨分化。荧光素酶报告基因检测显示 SATB2 为 miR-31 的靶基因, 将过表达 SATB2 的质粒转染 MSCs, 发现与成骨特异性相关的基因表达增加了 150%, 而敲除 SATB2 的实验组相关基因表达降低了 50%, 证实 SATB2 为 miR-31 的靶基因。2014 年, Cheung 等^[22]发现胎儿股骨的骨干部位成软骨基因高表达, 骨骺部位成骨基因高表达, 且经微阵列分析显示不同部位表达不同的 microRNA: miR-146a-5p、miR-301b、miR-138 在骨骺高表达, miR-143、miR146a、miR-34a、miR-145 在骨干高表达。Cheung 等根据 Baek 等^[23]和 Mirmalek-Sani 等^[24]的报道, 研究了 miR-146a 的机制, 推测 SMAD2、SMAD3 可能为 miR-146a 的靶基因。于是, 他们将 miR-146a 的模拟物经化学试剂瞬时转染骨骺细胞后发现, miR-146a 使 SMAD3 和 SMAD2 表达水平分别下降了 65% 和 35%, 证实了预测。

3 miRNA 诱导干细胞向心血管系统分化

3.1 诱导干细胞向血管内皮细胞分化

Kane 等^[25]和 Wang 等^[26]在诱导人类 ESCs 以

及 hiPSCs 分化为血管内皮细胞的过程中, 监测 miRNAs 动态表达变化发现, 与血管生成相关的 miRNAs, 如 miR-let-7b、miR-7f、miR-27b、miR-100、miR-125a-5p、miR-126、miR-130a、miR-133a、miR-133b、miR-137、miR-149、miR-181a、miR-210、miR-296 和 miR-296-5p 表达水平增高, 而与血管抑制相关的 miRNAs, 如 miR-20a、miR-20b、miR-221 和 miR-222 则降低。2013 年, van Mil 等^[27]报道在人类心肌祖细胞成血管分化的过程中, 定量 PCR 监测显示 miR-1 表达水平显著增高。将 3 nmol/L、30 nmol/L、100 nmol/L 等 3 种浓度的 miR-1 转染 hCMPCs 后, 血管生成呈现出浓度依赖性, 血管长度增加 1.5 倍, 管径大小增加 3.5 倍; 当浓度为 30 nmol/L 时, 内皮细胞特异性表达的 KDR/VEGFR-2 和血管平滑肌细胞特异性表达的 α SMA 较未转染 miR-1 的对照组分别增加 20 倍和 10 倍, 说明 miR-1 可促进血管的形成。因 Spred1 可负调节血管的生成^[28-29], 荧光素酶报告基因检测证实 Spred1 基因是 miR-1 的靶基因。Luo 等^[30]等利用微阵列分析发现, miR-200C 和 miR-150 在干细胞分化为内皮细胞过程中表达上调。miR-200C 和 miR-150 前体序列转染 ESCs 后, 可上调内皮细胞特异性基因 vWF、VEGFR2、CD144、CD146 的表达水平和血管内皮细胞的 CD146 阳性细胞数量^[31-32]; 但将 miR-200C 和 miR-150 前体序列转染分化完全的内皮细胞, 发现其对内皮细胞的增殖无明显作用。荧光素酶报告检测证实, ZEB1 基因为 miR-200C 和 miR-150 的靶基因。之后, 他们建立体外鸡胚模型, 转染 miR-200C、miR-150 后进一步说明 miR-200C、miR-150 在血管形成中发挥重要作用。Bernardini 等^[33]在胶原蛋白 IV 和血管内皮生成因子 (VEGF) 作用下诱导 iPSCs 分化为内皮细胞系, 分化过程中 miR-21 呈现高表达。将 miR-21 转染 iPSCs, 过表达的 miR-21 可促进管腔样结构的形成, 酶联免疫吸附反应发现 TGF- β 2 表达上调, 并且经 TGF- β 2 处理后的 iPSCs, 官腔形成能力提高。因为 TGF- β 2/SMAD3 通路可调节 TGF- β 依赖的内皮细胞的分化, SMAD3 是 TGF- β 2 的下游效应分子^[34-35], 在使用 SMAD3 拮抗剂后发现, 无论 TGF- β 2 是否存在, 血管内皮钙黏蛋白表达均显著降低, 说明 TGF- β 2 和 SMAD3 通路可能共同作用于 VEGF 的分泌, 影响内皮细胞系的分化。据 Wang 等^[36]和 Zhao 等^[37]报道, 子痫前期患者蜕膜来源的 MSCs (decidua-derived MSCs, dMSCs) 中高表达 miR-494。Chen 等^[38]

将 miR-494 模拟物化学转染 dMSCs 后发现, dMSCs 的生长受到抑制, 处于 G₁ 期的细胞减少, 处于 S 期的增加, 与细胞周期相关的基因 CDK6 和 CCND1 表达水平显著降低。细胞迁移试验和管腔形成试验发现, 过表达的 miR-494 通过抑制血管内皮生长因子分泌从而抑制 dMSCs 的迁移和毛细血管的形成。

3.2 诱导干细胞向心肌细胞分化

Cai 等^[39]在诱导 MSCs 向心肌细胞分化时发现 miR-124 显著降低。模拟心脏微环境的体外实验发现, 转染了 miR-124 的 MSCs 在向成血管分化的过程中, 心钠肽、脑钠肽和钾离子通道蛋白 KCNJ1、KCND2、KCND3、KCNA5 表达水平受到抑制, 说明 miR-124 不仅调控心肌特异性蛋白的表达, 还影响其电生理学特性。通过生物信息学分析预测 *STAT3* 为 miR-124 的靶基因, 且 *STAT3* 基因在 MSCs 的自我更新、转分化和旁分泌效应中发挥了重要的作用^[40-41]。通过荧光素酶报告基因检测证实, *STAT3* 基因为 miR-124 的靶位点, miR-124 能显著抑制 *STAT3* 基因的表达。

4 miRNA 诱导干细胞向神经细胞分化

2011 年, Jing 等^[42]将 miR-9 通过慢病毒载体转染骨髓 MSCs, 转染 96 h 后病毒感染效率达到 80% 左右, 将转染后的干细胞置于含 β -羟基乙醇的培养基中诱导其分化为神经细胞。转染后神经细胞特异性标记物微管结合蛋白 2 (MAP-2) 的表达水平明显增加, Notch-1 的表达水平明显下降。因 Notch 信号通路参与 MSCs 向神经细胞的分化, Notch-1 是该信号通路的重要组成部分, 提示 miR-9 可能通过 Notch 通路调控神经元的分化^[43]。2012 年, Han 等^[44]同样将 miR-9 转染 MSCs, 最优转染效率为 50%。过表达的 miR-9 使锌指蛋白 521 表达水平下降, 因锌指蛋白 521 可有效促进 ESCs 向神经元的分化^[45], 构建荧光素酶报告质粒后证实 miR-9 可通过调节锌指蛋白 521 的表达促进干细胞向神经细胞分化。miR-125b 在成熟的神经元中高表达, 在胶质细胞中低表达。于是 Wu 等^[48]用 β -巯基乙醇 (BME) 诱导骨髓 MSCs 分化为神经元样细胞, 并转染 miR-125b 模拟物^[46-47]。转染后细胞体收缩并呈多边形样改变, 神经突形成局部的网状结构。转染第 6 天定量 PCR 显示, 神经细胞标记物 b3 tubulin、MAP-2、NF、NSE、GFAP 和 Nestin 的表达量升高, 但在缺乏 BME 的条件下, miR-125b 无法顺利诱导

分化, 因此, miR-125b 的靶基因不是该分化过程的启动基因。Wang 等^[49]指出, MSCs 分化为神经元后, miR-128 的表达水平仅为分化前的 0.07 倍。于是, Wu 等^[50]用表皮生长因子 (EGF) 和碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF) 诱导 MSCs 向神经元样细胞分化, 并从形态学变化、神经元特异性标志物表达量方面证实, 下调 miR-128 的表达可诱导分化, 并且 miR-128 与 *Wnt3a* 基因表达水平负相关。因为在 MSCs 向神经元分化的过程中, 涉及到 Wnt 信号通路的参与, 构建含 *Wnt3a* 基因的荧光素酶报告基因载体证实了 *Wnt3a* 基因为 miR-128 的靶基因^[51]。2015 年, Mondanizadeh 等^[52]在用两步法诱导脂肪细胞来源的 MSCs 分化为神经元细胞时发现 miR-124 表达水平增高, 并通过双荧光素酶报告检测分析证实 *Sp1* 为 miR-124 的靶基因。Zou 等^[53]首次报道了 miR-124 的体内试验, 将 miR-124 通过慢病毒载体转染骨髓 MSCs 后, 缺氧无糖损伤诱导细胞凋亡, 转染了 miR-124 的实验组细胞凋亡率为 (5 \pm 1)%, 远低于对照组 (35 \pm 4)% 的凋亡率。构建小鼠脊髓损伤模型, 并在损伤的 30 min 内将 miR-124 移植入损伤区域, 6 d 后发现损伤区域大量细胞神经元标志物神经微丝蛋白 -200 (neurofilament-200, NF-200) 免疫反应性呈阳性。脊髓损伤后的 6 周内, Basso-Beattie-Bresnahan 运动功能评定脊髓损伤小鼠后肢运动功能显著提高。

5 展望

综上所述, 不同干细胞表达特异性的 miRNA, 特异性的 miRNA 可调控干细胞的分化, 提高分化效率。通过 miRNA 诱导干细胞的定向分化, 使其分化为所需组织的成体细胞, 从而替代功能缺失的细胞, 为临床上许多疾病的治疗提供了新选择。伴随着 miRNA 在干细胞领域中的研究, miRNA 的功能及机制得到了更深的阐述。如前所述, miRNA 在胰腺、心肌、神经、成骨、成软骨细胞的分化过程中, 都扮演着重要的作用。通过调控诱导过程中特异性 miRNA 的表达水平从而干预相应的靶基因, 影响分化进程。然而, 还有很多问题困扰着研究人员, 比如干细胞体外诱导过程繁琐、耗费昂贵, 分化后效率低、成熟度差, 有成瘤性风险, 体内实验还需要进一步探索研究, 这些问题都困扰临床应用, 需要进一步阐明 miRNA 对干细胞调控的机制, 攻克一些技术难关。尽管如此, 这项研究为临床疾病的治疗提供了新思路 and 策略, 相信它会带来广阔的

前景。

[参 考 文 献]

- [1] Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, et al. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature*, 2001, 409(6818): 363-6
- [2] Wightman B, Ha I, Ruvkun G. Post-transcriptional regulation of heterochromic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell*, 1993, 75(5): 855-62
- [3] Rana TM. Illuminating the silence: understanding the structure and function of smallRNAs. *Nature Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(1): 23-36
- [4] Ren J, Jin P, Wang E, et al. MicroRNA and gene expression patterns in the differentiation of human embryonic stem cells. *J Transl Med*, 2009, 7: 20
- [5] Makeyev EV, Maniatis T. Multilevel regulation of gene expression by microRNAs. *Science*, 2008, 319(5871): 1789-90
- [6] Chen BZ, Yu SL, Singh S, et al. Identification of microRNAs expressed highly in pancreatic islet-like cell clusters differentiated from human embryonic stem cells. *Cell Biol Int*, 2011, 35 (1): 29-37
- [7] Wei R, Yang J, Liu GQ, et al. Dynamic expression of microRNAs during the differentiation of human embryonic stem cells into insulin-producing cells. *Gene*, 2013, 518(2): 246-55
- [8] Poy MN, Eliasson L, Krutzfeldt J, et al. A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion. *Nature*, 2004, 432(7014): 226-30
- [9] El Ouaamari A, Baroukh N, Martens GA, et al. miR-375 targets 3'-phosphoinositide-dependent protein kinase-1 and regulates glucose-induced biological responses in pancreatic β -cells. *Diabetes*, 2008, 57(10): 2708-17
- [10] Keller DM, Clark EA, Goodman RH, et al. Regulation of microRNA-375 by cAMP in pancreatic β -cells. *Mol Endocrinol*, 2012, 26(6): 989-99
- [11] Keller DM, McWeeny S, Arsenlis A, et al. Characterization of pancreatic transcription factor Pdx-1 binding sites using promoter microarray and serial analysis of chromatin occupancy. *J Biol Chem*, 2007, 282(44): 32084-92
- [12] Lahmy R, Soleimani M, Sanati MH, et al. Pancreatic islet differentiation of human embryonic stem cells by microRNA overexpression. *J Tissue Eng Regen Med*, 2013 [Epub ahead of print]
- [13] Lahmy R, Soleimani M, Sanati MH, et al. miRNA-375 promotes β pancreatic differentiation in human induced pluripotent stem (hiPS) cells. *Mol Biol Rep*, 2014, 41(4): 2055-66
- [14] Shaer A, Azarpira N, Karimi MH, et al. Differentiation of human induced pluripotent stem cells into insulin-like cell clusters with miR-186 and miR-375 by using chemical transfection. *Appl Biochem Biotechnol*, 2014, 174(1): 242-58
- [15] Shaer A, Azarpira N, Vahdati A, et al. miR-375 induces human decidua basalis-derived stromal cells to become insulin-producing cells. *Cell Mol Biol Lett*, 2014, 19(3): 483-99
- [16] Yang B, Guo H, Zhang Y, et al. MicroRNA-145 regulates chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells by targeting Sox9. *PLoS One*, 2011, 6(7): e21679
- [17] Ikeda T, Kamekura S, Mabuchi A, et al. The combination of SOX5, SOX6, and SOX9 (the SOX trio) provides signals sufficient for induction of permanent cartilage. *Arthritis Rheum*, 2004, 50(11): 3561-73
- [18] Zeng L, Kempf H, Murtaugh LC, et al. Shh establishes an Nkx3.2/Sox9 autoregulatory loop that is maintained by BMP signals to induce somitic chondrogenesis. *Genes Dev*, 2002, 16(15): 1990-2005
- [19] Lee S, Yoon DS, Paik S, et al. microRNA-495 inhibits chondrogenic differentiation in human mesenchymal stem cells by targeting Sox9. *Stem Cells Dev*, 2014, 23(15): 1798-808
- [20] Guerit D, Brondello JM, Chuchana P, et al. FOXO3A regulation by miRNA-29a controls chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells and cartilage formation. *Stem Cells Dev*, 2014, 23(11): 1195-205
- [21] Xie Q, Wang Z, Bi X, et al. Effects of miR-31 on the osteogenesis of human mesenchymal stem cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 446(1): 98-104
- [22] Cheung KS, Sposito N, Stumpf PS, et al. MicroRNA-146a regulates human foetal femur derived skeletal stem cell differentiation by down-regulating SMAD2 and SMAD3. *PLoS One*, 2014, 9(6): e98063
- [23] Baek D, Villen J, Shin C, et al. The impact of microRNAs on protein output. *Nature*, 2008, 455(7209): 64-71
- [24] Mirmalek-Sani SH, Tare RS, Morgan SM, et al. Characterization and multipotentiality of human fetal femur-derived cells: Implications for skeletal tissue regeneration. *Stem Cells*, 2006, 24(4): 1042-53
- [25] Kane NM, Meloni M, Spencer HL, et al. Derivation of endothelial cells from human embryonic stem cells by directed differentiation analysis of microRNA and angiogenesis *in vitro* and *in vivo*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(7): 1389-97
- [26] Wang L, Su W, Du W, et al. Gene and microRNA profiling of human induced pluripotent stem cell-derived endothelial cells. *Stem Cell Rev*, 2015, 11(2): 219-27
- [27] van Mil A, Vrijssen KR, Goumans MJ, et al. MicroRNA-1 enhances the angiogenic differentiation of human cardiomyocyte progenitor cells. *J Mol Med: Berl*, 2013, 91(8): 1001-12
- [28] Wakioka T, Sasaki A, Kato R, et al. Spred is a Sprouty-related suppressor of Ras signalling. *Nature*, 2001, 412(6847): 647-51
- [29] Taniguchi K, Kohno R, Ayada T, et al. Spreds are essential for embryonic lymphangiogenesis by regulating vascularendothelial growth factor receptor 3 signaling. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(12): 4541-450
- [30] Luo Z, Wen G, Wang G, et al. MicroRNA-200C and -150 play an important role in endothelial cell differentiation and vasculogenesis by targeting transcription repressor ZEB1. *Stem Cells*, 2013, 31(9): 1749-62

- [31] Shi S, Gronthos S. Perivascular niche of postnatal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp. *J Bone Miner Res*, 2003, 18(4): 696-704
- [32] Schwab KE, Gargett CE. Co-expression of two perivascular cell markers isolates mesenchymalstem-like cells from human endometrium. *Hum Reprod*, 2007, 22(11): 2903-11
- [33] Di Bernardini E, Campagnolo P, Margariti A, et al. Endothelial lineage differentiation from induced pluripotent stem cells is regulated by MicroRNA-21 and transforming growth factor β 2 (TGF- β 2) pathways. *J Biol Chem*, 2014, 289(6): 3383-93
- [34] Kurpinski K, Lam H, Chu J, et al. Transforming growth factor- β and Notch signaling mediate stem cell differentiation into smooth muscle cells. *Stem Cells*, 2010, 28(4): 734-42
- [35] Massague J, Chen YG. Controlling TGF- β signaling. *Genes Dev*, 2000, 14(6): 627-44
- [36] Wang Y, Fan H, Zhao G, et al. MiR-16 inhibits the proliferation and angiogenesis regulating potential of mesenchymal stem cells in severe pre-eclampsia. *FEBS J*, 2012, 279(24): 4510-24
- [37] Zhao G, Zhou X, Chen S, et al. Differential expression of microRNAs in decidua-derived mesenchymal stem cells from patients with pre-eclampsia. *J Biomed Sci*, 2014, 21: 81
- [38] Chen S, Zhao G, Miao H, et al. MicroRNA-494 inhibits the growth and angiogenesis-regulating potential of mesenchymal stem cells. *FEBS Lett*, 2015, 589(6): 710-17
- [39] Cai B, Li J, Wang J, et al. microRNA-124 regulates cardiomyocyte differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells via targeting STAT3 signaling. *Stem Cells*, 2012, 30(8): 1746-55
- [40] Arminan A, Gandia C, Bartual M, et al. Cardiac differentiation is driven by NKX2.5 and GATA4 nuclear translocation in tissue-specific mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev*, 2009, 18(6): 907-18
- [41] Xu H, Yang YJ, Qian HY, et al. Rosuvastatin treatment activates JAK-STAT pathway and increases efficacy of allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in infarcted hearts. *Circ J*, 2011, 75(6): 1476-85
- [42] Jing L, Jia Y, Lu J. MicroRNA-9 promotes differentiation of mouse bone mesenchymalstem cells into neurons by Notch signaling. *Neuroreport*, 2011, 22(5): 206-11
- [43] Lathia JD, Mattson MP, Cheng A. Notch: from neural development to neurological disorders. *J Neurochem*, 2008, 107(6): 1471-81
- [44] Han R, Kan Q, Sun Y, et al. MiR-9 promotes the neural differentiation of mouse bone marrow mesenchymal stem cells via targeting zinc finger protein 521. *Neurosci Lett*, 2012, 515(2): 147-52
- [45] Shibata M, Nakao H, Kiyonari H, et al. MicroRNA-9 regulates neurogenesis in mouse telencephalon by targeting multiple transcription factors. *Neurosci Lett*, 2012, 515(2): 147-52
- [46] Smirnova L, Grafe A, Seiler A, et al. Regulation of miRNA expression during neural cell specification. *Eur J Neurosci*, 2005, 21(6): 1469-77
- [47] Wienholds E, Kloosterman WP, Miska E, et al. microRNA expression in zebrafish embryonic development. *Science*, 2005, 309(5732): 310-11
- [48] 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. *Cell Biol Int*, 2013, 37(8): 812-19
- [49] Wang JJ, Wang CF, Dang W, et al. Expression of miR-124 and miR-128 in the process of bone marrow stromal cells differentiating into neural cells. *Chn J Histochem Cytochem*, 2010, 19(3): 222-4
- [50] 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. *Mol Cell Biochem*, 2014, 387(1-2): 151-8
- [51] Yanjie J, Jiping S, Yan Z, et al. Effects of notch-1 signaling pathway on differentiation of marrow mesenchymal stem cells into neurons *in vitro*. *Neuroreport*, 2007, 18(14): 1443-7
- [52] Mondanizadeh M, Arefian E, Mosayebi G, et al. MicroRNA-124 regulates neuronal differentiation of mesenchymal stem cells by targeting *Sp1* mRNA. *J Cell Biochem*, 2015, 116(6): 943-53
- [53] Zou D, Chen Y, Han Y, et al. Overexpression of microRNA-124 promotes the neuronal differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Neural Regen Res*, 2014, 9(12): 1241-48