

综述

中枢神经系统原位细胞转分化的研究进展

王红涛^{1,*}, 栗毅喆¹, 付启冉², 张梦怡¹, 李虎^{1,*}

新乡医学院¹生命科学技术学院; ²基础医学院, 新乡 453003

摘要: 中枢神经损伤会导致神经元不可逆的缺失和胶质瘢痕的形成, 给患者造成神经功能的障碍。再生医学认为补充缺失的神经元可能是修复损伤最理想的方法。近些年研究显示, 多种成熟的细胞经过重编程后可以转分化为功能神经元。因此研究者将内源的胶质细胞进行原位重编程产生功能神经元, 用于神经损伤修复及神经退行性疾病的治疗, 该方法展现出开发潜力和独特优势。本文就当前中枢神经系统胶质细胞原位转分化研究进行了总结归纳, 重点介绍可进行原位转分化的胶质细胞的类型、特征和转分化研究进展, 为开发新的神经损伤治疗策略及进一步临床应用提供理论依据。

关键词: 转分化; 原位; 在体; 反应性胶质细胞

中图分类号: Q421; Q254; R741.05

Progress on *in situ* cell transdifferentiation in central nervous system

WANG Hong-Tao^{1,*}, LI Yi-Zhe¹, FU Qi-Ran², ZHANG Meng-Yi¹, LI Hu^{1,*}

¹School of Life Science and Technology; ²School of Basic Medical Sciences, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, China

Abstracts: Central nervous system injury leads to irreversible neuronal loss and glial scar formation, which ultimately results in persistent neurological dysfunction. Regenerative medicine suggests that replenishing missing neurons may be an ideal approach to repair the damage. Recent researches showed that many mature cells could be transdifferentiated into functional neurons by reprogramming. Therefore, reprogramming endogenous glia *in situ* to produce functional neurons shows great potential and unique advantage for repairing neuronal damage and treating neurodegenerative diseases. The present review summarized the current research progress on *in situ* transdifferentiation in the central nervous system, focusing on the cell types, characteristics and research progress of glial cells that could be transdifferentiated *in situ*, in order to provide theoretical basis for the development of new therapeutic strategies of neuronal injury and further clinical application.

Key words: transdifferentiation; *in situ*; *in vivo*; reactive glia

中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 损伤后的修复一直是生物医学研究的热点和难点, 由于神经元损伤后缺乏再生能力, 创伤性损伤和神经退行性疾病对 CNS 的危害尤为严重^[1-3]。目前临床上还缺乏改善病情的疗法, 神经元再生可能是补充缺失的神经元并恢复其功能的理想方法^[4]。近年来干细胞移植研究为神经损伤治疗开辟了新的途径^[5], 用病人的自体细胞诱导产生的多能干细胞不仅解决

了伦理学问题, 还避免了免疫排斥^[6]。但用于自体移植的干细胞准备时间长^[7], 会导致错过最佳治疗时间。细胞移植还可能对 CNS 造成二次伤害, 还有形成肿瘤的风险^[8]。最近对内源性的神经胶质细胞及其前体细胞进行原位重编程, 转分化为功能神经元, 用于神经损伤修复及神经退行性疾病的治疗方法展现出了巨大的发展潜力和独特的优势^[9-12]。

最早在 1979 年, Taylor 等用不同浓度的 5- 氮杂

Received 2018-10-08 Accepted 2018-11-12

*Corresponding authors. WANG Hong-Tao: Tel: +86-373-3831859; E-mail: wanghongtao8618@126.com. LI Hu: Tel: +86-373-3831859; E-mail: lihuxinxiang@126.com

胞昔处理小鼠成纤维细胞, 将其诱导分化为具有相应表型的肌细胞、脂肪细胞或软骨细胞^[13], 为细胞转分化的可行性提供了实验证据。到 1987 年, Davis 等将肌分化抗原 (myogenic differentiation antigen, MyoD) 表达在小鼠成纤维细胞中使其转分化为成肌细胞^[14], 打开了表达转录因子实现细胞类型转化的新领域。到 21 世纪初, 大量体外研究将不同来源的细胞转分化为功能神经元, 如 2010 年 Vierbuchen 等人将小鼠中胚层的成纤维细胞转分化成外胚层的诱导神经元 (induced neurons, iNs), 这是第一次实现细胞间跨胚层的转化^[15]; 来源于鼠大脑皮层的星形胶质细胞强制表达胚胎发育中指导神经发生的转录因子时, 可以转化为谷氨酸能神经元^[16]或多巴胺能神经元^[17]; 通过表达不同的转录因子, 人的原代真皮成纤维细胞也被直接重编程为功能性神经元^[18]或五羟色胺能神经元^[19]。这些体外细胞转分化的研究为神经元再生提供了坚实的理论基础, 但要应用于临床还需要通过细胞移植来实现, 在时效性和安全性上还存在问题^[20], 而将损伤部位的细胞转分化为功能神经元大大缩减了神经元再生的步骤和时间, 因而展现出良好的发展潜力和独特的优势。

CNS 主要由神经元和胶质细胞组成, 因此胶质

细胞是原位转分化产生神经元的重要细胞来源。最新研究表明, 人类 CNS 中胶质细胞与神经元总的数量相当^[21], 胶质细胞的总体积大约占据了脑和脊髓的一半^[22]。但是胶质细胞种类丰富, 包括星形胶质细胞、少突胶质细胞、室管膜胶质细胞、小胶质细胞等。当哺乳动物的神经系统受损或发生疾病时, 通常还会产生反应性胶质细胞 (reactive glia)^[23, 24], 包括小胶质细胞、NG2 (neuron-glia antigen 2) 胶质细胞和反应性星形胶质细胞。目前研究中, 原位转分化的细胞主要来自成熟的星形胶质细胞、反应性星形胶质细胞和 NG2 胶质细胞 (图 1), 本文主要对这三种细胞原位转分化研究现状和在体转分化策略 (表 1) 进行综述, 以期为进一步临床治疗策略及进一步临床应用提供理论依据。

1 成熟的星形胶质细胞转分化

星形胶质细胞在哺乳动物脑内分布广泛, 人脑中星形胶质细胞占胶质细胞总量的 19%~40%, 仅次于少突胶质细胞 (45%~75%)^[21]。星形胶质细胞的主要作用包括: (1) 为神经组织提供营养物质; (2) 支撑血管内皮细胞, 共同形成血脑屏障; (3) 维持神经细胞外微环境的稳态; (4) 参与神经损伤的修

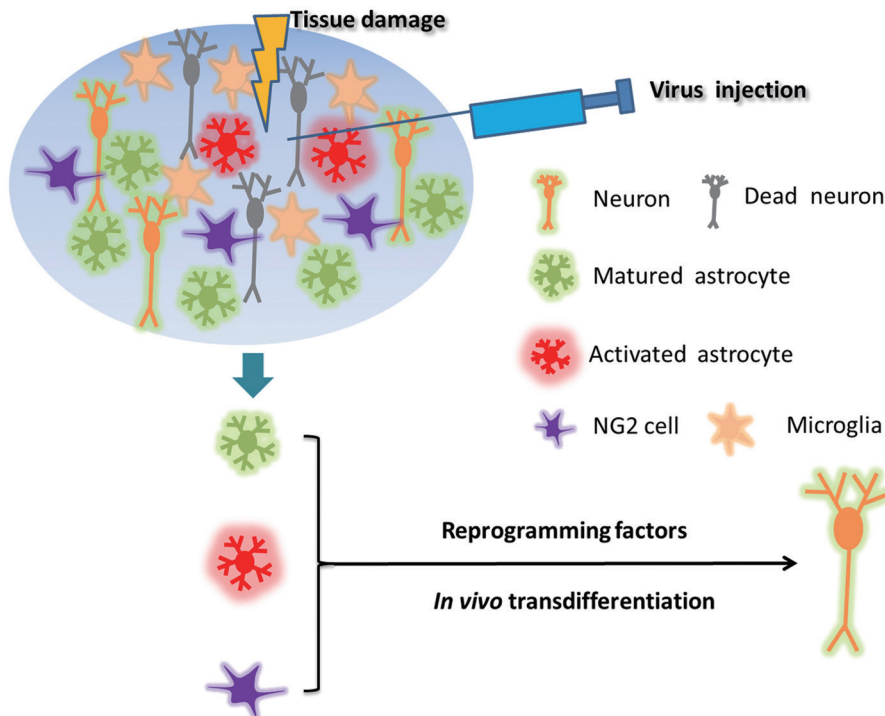


图 1. 胶质细胞原位转分化示意图

Fig. 1. Schematic depiction of glia transdifferentiation *in situ*. Gliocytes can be reprogrammed into functional neurons in the damaged brain by using different reprogramming factors.

表1. 成年小鼠中枢神经系统中的原位转分化
Table 1. *In situ* transdifferentiation in adult mouse CNS

Cell type	Environment	Reprogramming factor	Vectors used	Transdifferentiated neurons	References
Astrocyte	Intact striatum	SOX2	LV	Neuroblast	28
	Intact spinal cord	SOX2	LV	Neuroblast	29, 30
	Striatum	Ascl1+Brn2a+Myt11	LV	Neurons	31
	Midbrain, striatum and cortex	Ascl1	AAV	Neurons	32
	Striatum	NeuroD1	AAV	Neurons	34
Reactive astrocyte	Parkinsonian mouse, striatum	NeuroD1+Ascl1+			
	GFAP-positive astrocytes	Lmx1a and miR218	LV	Dopaminergic neurons	39
	Punctured cortex	NeuroD1	RV	Glutamate neurons	38
NG2 glia	Wounded cortex	NeuroD1	RV	Glutamate neurons and GABAergic neurons	38
	Wounded cortex	Sox2 or Sox2+Ascl1	RV	Neurons	47
	Striatum	Ascl1+Lmx1a+Nurr1	AAV	Neurons	48

AAV: adeno-associated virus; LV: lentivirus; RV: retrovirus.

复和胶质瘢痕的形成；(5) 调节神经突触信号的传递。一般情况下健康脑组织中成熟的星形胶质细胞不会分裂增殖，而且在体外培养条件下也不具有干细胞的多能性^[25]。

早在2002年，Götz实验室用逆转录病毒载体使体外培养的星形胶质细胞表达Pax6后产生了神经元^[26]，随后又使用neurogenin-2和Mash1将出生后早期的星形胶质细胞在体外转分化为了神经元^[27]。Zhang实验室利用慢病毒介导Sox2的表达将小鼠纹状体和脊髓损伤部位原有的星形胶质细胞重编程为神经母细胞^[28-30]，而这些神经母细胞在神经营养因子或组蛋白去乙酰化酶抑制剂的处理下分化为了成熟的神经元，并整合进局部的神经网络发挥功能。2013年Torper等人使用Cre-loxP策略也实现了原位的星形胶质细胞向神经元的转分化^[31]。他们将两侧带有反向loxP序列的转录因子Ascl1、Brn2a、Myt11的开放阅读框分别构建到慢病毒载体上，然后同时注射到星形胶质细胞标志性蛋白GFAP启动子驱动Cre表达的小鼠纹状体内，使这些转录因子在成熟的星形胶质细胞中表达，并使其转分化为了NeuN阳性的神经元。借助GFAP启动子驱动的腺相关病毒表达载体，Liu等人实现了Ascl1单个转录因子诱导中脑、纹状体以及感觉皮层中的星形胶质细胞在体转分化为神经元^[32]，他们还在体外培养的星形胶质细胞上用BrdU标记新生细胞的方法，证明转分化的细胞不是新生的，而是成熟星形胶质细胞直接转分化的结果。有意思的是，Noristani等在小鼠脊髓损伤模型中发现成熟的星形胶质细胞在

损伤发生后，能自发转分化为神经前体细胞，然后产生GABA能的中间神经元^[33]。通过RNA-seq对转分化的神经前体细胞分析，发现纤维母细胞生长因子受体Fgfr4的表达明显增强，说明该基因可能对星形胶质细胞向神经元转化起重要作用^[33]。Brulet等于2017年报道使用静脉注射AAV9表达NeuroD1可以将少量的纹状体星形胶质细胞转分化为神经元，但是效率比较低^[34]。总的来说，成熟的星形胶质细胞数量优势明显，可以为转分化提供细胞来源，但是转分化后是否会影响原来的功能有待进一步研究。

2 反应性星形胶质细胞转分化

星形胶质增生出现在很多损伤情况下，如神经退行性疾病、神经炎症以及急性神经损伤^[35]。此时，部分星形胶质细胞形态变得肥大，GFAP和波形蛋白(vimentin)的表达显著升高，这些细胞被称为反应性星形胶质细胞^[36]。它们与神经前体细胞和发育中的放射状胶质细胞表达共同的标记蛋白，如巢蛋白(nestin)、波形蛋白和脑脂结合蛋白(brain lipid binding protein, BLBP)^[23, 35]。在严重创伤和中风等脑损伤模型中，损伤部位周围会出现一定比例的溴脱氧尿苷(BrdU)标记的反应性星形胶质细胞，说明反应性星形胶质细胞有增殖能力。部分反应性星形胶质细胞在体外神经球培养条件下也展示了自我更新能力和分化为其他类型细胞的多能性^[37]。反应性星形胶质细胞这些特性吸引了神经再生领域众多研究者的目光，将其重编程为功能神经元成为了研

究热点。

反应性星形胶质细胞是形成损伤部位胶质瘢痕的主要细胞，它是原位转分化的重要研究对象。2014年 Guo 等将表达 *NeuroD1* 的逆转录病毒载体转入小鼠皮层刺伤部位，使损伤处的反应性星形胶质细胞转分化为成熟的神经元^[38]。他们还将表达 *NeuroD1* 的逆转录病毒注射到阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 小鼠模型的皮层内，不仅观察到反应性星形胶质细胞转分化为 NeuN 阳性的神经元，而且通过免疫组化的方法观察到这些神经元形成了谷氨酸能和 GABA 能的突触连接，还在体外培养脑片上检测到转分化神经元的电生理特性，确定了它们与周围神经元形成了功能性连接^[38]。在帕金森小鼠模型中，Arenas 和同事利用慢病毒将三种参与神经元分化的转录因子 *NeuroD1*、*Ascl1*、*Lmx1a* 以及一种多巴胺能神经元特异性的 microRNA——miR218 表达在纹状体损伤处 GFAP 阳性的星形胶质细胞中，将其转分化为多巴胺能神经元，并且第一次证明了重编程的神经元能够在行为学水平上改善小鼠的步态异常等帕金森病理症状^[39]。

3 NG2胶质细胞转分化

NG2 胶质细胞，又称多突胶质细胞 (polydendrocytes)，是特异表达硫酸软骨素蛋白多糖 (chondroitin sulfate proteoglycans, CSPG) 并具有增殖能力的一类细胞，在发育和成熟的中枢神经系统 (CNS) 中广泛分布^[40]，约占成年中枢神经系统细胞总数的 5%~8%^[41]。研究表明 NG2 细胞由不同亚群组成，主要产生少突胶质细胞，被认为是少突胶质前体细胞 (oligodendrocyte precursor cells, OPCs)。但借助于体内细胞谱系追踪技术，NG2 胶质细胞还能在胚胎期分化为星形胶质细胞，或在特定的脑区产生神经元^[42, 43]。而在体外培养的 NG2 细胞更是表现出了多能性，它们还能够形成有自我更新能力的神经球，最后分化为能够产生动作电位和形成突触输入的 GABA 能神经元^[44]。另外，电生理学分析表明，NG2 细胞表现出既区别于被动胶质模式又区别于神经元特性的复杂生理模式^[45]。

神经损伤和神经退行性病变会诱导 NG2 细胞大量增殖^[46]，参与胶质瘢痕的形成，并促进髓鞘再生。因此，NG2 细胞也是非神经细胞向神经细胞原位转分化的重要细胞来源。利用 NG2 启动子驱动成年小鼠皮层损伤处的 NG2 细胞特异表达 *NeuroD1*

后使其转分化为神经元，而且大部分是谷氨酸能的兴奋性神经元，小部分为 GABA 能的抑制性神经元^[38]。当单独表达 *Sox2* 或联合 *Ascl1* 表达在小鼠创伤皮层的 NG2 细胞中后，也能够产生具有电生理活性和抑制性突触连接的神经元^[47]。另外，使用 Cre-loxP 策略在 NG2-Cre 小鼠纹状体中组合表达转录因子 *Ascl1*、*Lmx1a* 和 *Nurr1* 也能使增殖的 NG2 细胞转分化为功能神经元，表达兴奋性神经元标志蛋白 VGlut1 或者抑制性神经元标志蛋白 GAD65/67，并且借助狂犬病毒逆向示踪技术证明转分化的神经元可以整合到神经网络中^[48]。该实验室进一步研究表明，将促神经分化转录因子 (*Ascl1*, *Ngn2*, *NeuroD1*) 和多巴胺神经元命运基因 (*Lmx1a*, *Nurr1*, *FoxA2*, *En1*) 进行不同组合表达在纹状体 NG2 细胞，能够影响转分化神经元的表型，其中 9.03%~27.01% 的重编程细胞都表达 GAD65/67，大部分是小清蛋白阳性的中间神经元，还有少部分 ChAT、NPY 和 CTIP2 阳性的重编程神经元，但每个组合均未诱导产生 VGlut1 阳性的细胞^[49]。这些实验室的研究表明在不同的转录因子诱导下，NG2 细胞不仅可以转分化为兴奋性神经元或抑制性神经元，还可以分化为更细分亚型的神经元。

4 讨论与展望

当神经损伤发生时，首先小胶质细胞被激活，快速向损伤处迁移，并进一步激活胶质反应和免疫反应^[50]；NG2 胶质细胞在损伤早期也会发生增殖^[51]，而星形胶质细胞反应较晚，其形态会变得复杂，基因表达发生改变，产生反应性星形胶质细胞^[37]；最后神经干细胞从干细胞巢 (室管膜下区和齿状回区) 向损伤部位迁移。从上面的过程可以看出，反应性胶质细胞异质性大，不同的损伤引起的细胞活化程度不同，不同区域的胶质细胞活化反应也不一样，选择哪种细胞进行转分化以及选择哪些转录因子诱导其转分化能达到最佳恢复效果，还需要大量实验验证。目前的研究中使用的方法可能会同时对多种细胞进行重编程，如使用逆转录病毒工具表达 *NeuroD1* 时可以对有增殖能力的反应性星形胶质细胞和 NG2 细胞进行转分化^[38]，采用 GFAP 启动子会驱动成熟星形胶质细胞和反应性星形胶质细胞的基因表达，所以更精确的细胞类型操作工具有待开发，以确证转分化的准确性。

反应性胶质细胞是一把双刃剑，由它们构成的

胶质瘢痕在早期能够防止损伤范围的扩大，阻止细菌和毒素的侵袭，释放神经营养因子，对损伤部位外周的细胞起到保护作用；但形成的瘢痕又阻碍了神经元迁移和轴突的再生，这些细胞还会释放神经抑制因子，阻碍了受损部位功能的恢复^[36, 52]。因此对于实施转分化的时间点的选择还有待进一步研究，以达到最佳的治疗效果。

目前原位转分化研究基本都需要借助病毒载体将基因带入目的细胞，这对该方法的安全性提出了挑战。近些年随着基因治疗中缺陷型病毒载体的发展，腺相关病毒表现出良好的安全性，有广阔的临床应用前景。另外，小分子化合物组合诱导胶质细胞向神经元转分化也取得成功^[53, 54]，但能否实现原位细胞转分化还有待研究。已报道在脊髓损伤中存在胶质细胞自发转分化为神经元的现象^[33]，因此给予合适的神经营养因子也可能起到促进转分化的作用。这些研究优化了原位转分化技术，推动了该技术向临床治疗的转化进程。总之，原位细胞转分化为功能性神经元为中枢神经损伤提供了新思路，为临床治疗神经退行性疾病提供了新的治疗途径，为再生医学提供了新的理论。

* * *

致谢：本综述受河南省高等学校重点科研项目计划(No. 17A180012)资助。

参考文献

- 1 Dekmak A, Mantash S, Shaito A, Toutonji A, Ramadan N, Ghazale H, Kassem N, Darwish H, Zibara K. Stem cells and combination therapy for the treatment of traumatic brain injury. *Behav Brain Res* 2018; 340: 49–62.
- 2 Wyss-Coray T. Ageing, neurodegeneration and brain rejuvenation. *Nature* 2016; 539(7628): 180–186.
- 3 Mrak RE, Griffin ST, Graham DI. Aging-associated changes in human brain. *J Neuropathol Exp Neurol* 1997; 56(12): 1269–1275.
- 4 Barker RA, Barrett J, Mason SL, Bjorklund A. Fetal dopaminergic transplantation trials and the future of neural grafting in Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 2013; 12(1): 84–91.
- 5 Snyder EY, Teng YD. Stem cells and spinal cord repair. *N Engl J Med* 2012; 366(20): 1940–1942.
- 6 Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126(4): 663–676.
- 7 Okano H, Nakamura M, Yoshida K, Okada Y, Tsuji O, Nori S, Ikeda E, Yamanaka S, Miura K. Steps toward safe cell therapy using induced pluripotent stem cells. *Circ Res* 2013; 112(3): 523–533.
- 8 Knoepfler PS. Deconstructing stem cell tumorigenicity: a roadmap to safe regenerative medicine. *Stem Cells* 2009; 27(5): 1050–1056.
- 9 Li H, Chen G. *In vivo* reprogramming for CNS repair: regenerating neurons from endogenous glial cells. *Neuron* 2016; 91(4): 728–738.
- 10 Smith DK, He M, Zhang CL, Zheng JC. The therapeutic potential of cell identity reprogramming for the treatment of aging-related neurodegenerative disorders. *Prog Neurobiol* 2017; 157: 212–229.
- 11 Mollinari C, Zhao J, Lupacchini L, Garaci E, Merlo D, Pei G. Transdifferentiation: a new promise for neurodegenerative diseases. *Cell Death Dis* 2018; 9(8): 830.
- 12 Gascon S, Masserdotti G, Russo GL, Gotz M. Direct neuronal reprogramming: achievements, hurdles, and new roads to success. *Cell Stem Cell* 2017; 21(1): 18–34.
- 13 Taylor SM, Jones PA. Multiple new phenotypes induced in 10T12 and 3T3 cells treated with 5-azacytidine. *Cell* 1979; 17(4): 771–779.
- 14 Davis RL, Weintraub H, Lassar AB. Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblasts. *Cell* 1987; 51(6): 987–1000.
- 15 Vierbuchen T, Ostermeier A, Pang ZP, Kokubu Y, Sudhof TC, Wernig M. Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors. *Nature* 2010; 463(7284): 1035–1041.
- 16 Heinrich C, Blum R, Gascon S, Masserdotti G, Tripathi P, Sanchez R, Tiedt S, Schroeder T, Gotz M, Berninger B. Directing astroglia from the cerebral cortex into subtype specific functional neurons. *PLoS Biol* 2010; 8(5): e1000373.
- 17 Addis RC, Hsu FC, Wright RL, Dichter MA, Coulter DA, Gearhart JD. Efficient conversion of astrocytes to functional midbrain dopaminergic neurons using a single polycistronic vector. *PLoS One* 2011; 6(12): e28719.
- 18 Ambasadhan R, Talantova M, Coleman R, Yuan X, Zhu S, Lipton SA, Ding S. Direct reprogramming of adult human fibroblasts to functional neurons under defined conditions. *Cell Stem Cell* 2011; 9(2): 113–118.
- 19 Vadodaria KC, Mertens J, Paquola A, Bardy C, Li X, Jappelli R, Fung L, Marchetto MC, Hamm M, Gorris M, Koch P, Gage FH. Generation of functional human serotonergic neurons from fibroblasts. *Mol Psychiatry* 2016; 21(1): 49–61.
- 20 Morizane A, Doi D, Kikuchi T, Okita K, Hotta A, Kawasaki T,

- Hayashi T, Onoe H, Shiina T, Yamanaka S, Takahashi J. Direct comparison of autologous and allogeneic transplantation of iPSC-derived neural cells in the brain of a non-human primate. *Stem Cell Reports* 2013; 1(4): 283–292.
- 21 von Bartheld CS, Bahney J, Herculano-Houzel S. The search for true numbers of neurons and glial cells in the human brain: A review of 150 years of cell counting. *J Comp Neurol* 2016; 524(18): 3865–3895.
- 22 Azevedo FA, Carvalho LR, Grinberg LT, Farfel JM, Ferretti RE, Leite RE, Jacob Filho W, Lent R, Herculano-Houzel S. Equal numbers of neuronal and nonneuronal cells make the human brain an isometrically scaled-up primate brain. *J Comp Neurol* 2009; 513(5): 532–541.
- 23 Pekny M, Nilsson M. Astrocyte activation and reactive gliosis. *Glia* 2005; 50(4): 427–434.
- 24 Burda JE, Sofroniew MV. Reactive gliosis and the multicellular response to CNS damage and disease. *Neuron* 2014; 81(2): 229–248.
- 25 Ge WP, Miyawaki A, Gage FH, Jan YN, Jan LY. Local generation of glia is a major astrocyte source in postnatal cortex. *Nature* 2012; 484(7394): 376–380.
- 26 Heins N, Malatesta P, Cecconi F, Nakafuku M, Tucker KL, Hack MA, Chapouton P, Barde YA, Götz M. Glial cells generate neurons: the role of the transcription factor Pax6. *Nat Neurosci* 2002; 5(4): 308–315.
- 27 Berninger B, Costa MR, Koch U, Schroeder T, Sutor B, Grothe B, Götz M. Functional properties of neurons derived from *in vitro* reprogrammed postnatal astroglia. *J Neurosci* 2007; 27(32): 8654–8664.
- 28 Niu W, Zang T, Zou Y, Fang S, Smith DK, Bachoo R, Zhang CL. *In vivo* reprogramming of astrocytes to neuroblasts in the adult brain. *Nat Cell Biol* 2013; 15(10): 1164–1175.
- 29 Su Z, Niu W, Liu ML, Zou Y, Zhang CL. *In vivo* conversion of astrocytes to neurons in the injured adult spinal cord. *Nat Commun* 2014; 5: 3338.
- 30 Wang LL, Su Z, Tai W, Zou Y, Xu XM, Zhang CL. The p53 pathway controls SOX2-mediated reprogramming in the adult mouse spinal cord. *Cell Rep* 2016; 17(3): 891–903.
- 31 Torper O, Pfisterer U, Wolf DA, Pereira M, Lau S, Jakobsson J, Björklund A, Grealish S, Parmar M. Generation of induced neurons via direct conversion *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110(17): 7038–7043.
- 32 Liu Y, Miao Q, Yuan J, Han S, Zhang P, Li S, Rao Z, Zhao W, Ye Q, Geng J, Zhang X, Cheng L. Ascl1 converts dorsal midbrain astrocytes into functional neurons *in vivo*. *J Neurosci* 2015; 35(25): 9336–9355.
- 33 Noristani HN, Sabourin JC, Boukhaddaoui H, Chan-Seng E, Gerber YN, Perrin FE. Spinal cord injury induces astroglial conversion towards neuronal lineage. *Mol Neurodegener* 2016; 11(1): 68.
- 34 Brulet R, Matsuda T, Zhang L, Miranda C, Giacca M, Kaspar BK, Nakashima K, Hsieh J. NEUROD1 instructs neuronal conversion in non-reactive astrocytes. *Stem Cell Reports* 2017; 8(6): 1506–1515.
- 35 Sofroniew MV, Vinters HV. Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol* 2010; 119(1): 7–35.
- 36 Robel S, Berninger B, Götz M. The stem cell potential of glia: lessons from reactive gliosis. *Nat Rev Neurosci* 2011; 12: 88–104.
- 37 Buffo A, Rite I, Tripathi P, Lepier A, Colak D, Horn AP, Mori T, Gotz M. Origin and progeny of reactive gliosis: A source of multipotent cells in the injured brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(9): 3581–3586.
- 38 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.
- 39 Rivetti di Val Cervo P, Romanov RA, Spigolon G, Masini D, Martin-Montanez E, Toledo EM, La Manno G, Feyder M, Pifl C, Ng YH, Sanchez SP, Linnarsson S, Wernig M, Harkany T, Fisone G, Arenas E. Induction of functional dopamine neurons from human astrocytes *in vitro* and mouse astrocytes in a Parkinson's disease model. *Nat Biotechnol* 2017; 35(5): 444–452.
- 40 Dawson MR, Politio A, Levine JM, Reynolds R. NG2-expressing glial progenitor cells: an abundant and widespread population of cycling cells in the adult rat CNS. *Mol Cell Neurosci* 2003; 24(2): 476–488.
- 41 Dawson MR, Levine JM, Reynolds R. NG2-expressing cells in the central nervous system: are they oligodendroglial progenitors? *J Neurosci Res* 2000; 61(5): 471–479.
- 42 Rivers LE, Young KM, Rizzi M, Jamen F, Psachoulia K, Wade A, Kessar N, Richardson WD. PDGFRA/NG2 glia generate myelinating oligodendrocytes and piriform projection neurons in adult mice. *Nat Neurosci* 2008; 11(12): 1392–1401.
- 43 Guo F, Ma J, McCauley E, Bannerman P, Pleasure D. Early postnatal proteolipid promoter-expressing progenitors produce multilineage cells *in vivo*. *J Neurosci* 2009; 29(22): 7256–7270.
- 44 Belachew S, Chittajallu R, Aguirre AA, Yuan X, Kirby M, Anderson S, Gallo V. Postnatal NG2 proteoglycan-expressing progenitor cells are intrinsically multipotent and generate functional neurons. *J Cell Biol* 2003; 161(1): 169–186.
- 45 Kronenberg G, Wang LP, Geraerts M, Babu H, Synowitz M, Vicens P, Lutsch G, Glass R, Yamaguchi M, Baekelandt V, Debyser Z, Kettenmann H, Kempermann G. Local origin and activity-dependent generation of nestin-expressing pro-

- toplasmic astrocytes in CA1. *Brain Struct Funct* 2007; 212(1): 19–35.
- 46 Sellers DL, Maris DO, Horner PJ. Postinjury niches induce temporal shifts in progenitor fates to direct lesion repair after spinal cord injury. *J Neurosci* 2009; 29(20): 6722–6733.
- 47 Heinrich C, Bergami M, Gascon S, Lepier A, Vigano F, Dimou L, Sutor B, Berninger B, Gotz M. Sox2-mediated conversion of NG2 glia into induced neurons in the injured adult cerebral cortex. *Stem Cell Reports* 2014; 3(6): 1000–1014.
- 48 Torper O, Ottosson DR, Pereira M, Lau S, Cardoso T, Grealish S, Parmar M. *In vivo* reprogramming of striatal NG2 glia into functional neurons that integrate into local host circuitry. *Cell Rep* 2015; 12(3): 474–481.
- 49 Pereira M, Birtele M, Shrigley S, Benitez JA, Hedlund E, Parmar M, Ottosson DR. Direct reprogramming of resident NG2 glia into neurons with properties of fast-spiking parvalbumin-containing interneurons. *Stem Cell Reports* 2017; 9(3): 742–751.
- 50 Hanisch UK, Kettenmann H. Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nat Neurosci* 2007; 10(11): 1387–1394.
- 51 Kang SH, Fukaya M, Yang JK, Rothstein JD, Bergles DE. NG2⁺ CNS glial progenitors remain committed to the oligodendrocyte lineage in postnatal life and following neurodegeneration. *Neuron* 2010; 68(4): 668–681.
- 52 Silver J, Miller JH. Regeneration beyond the glial scar. *Nat Rev Neurosci* 2004; 5(2): 146–156.
- 53 Zhang L, Yin JC, Yeh H, Ma NX, Lee G, Chen XA, Wang Y, Lin L, Chen L, Jin P, Wu GY, Chen G. Small molecules efficiently reprogram human astroglial cells into functional neurons. *Cell Stem Cell* 2015; 17(6): 735–747.
- 54 Gao L, Guan W, Wang M, Wang H, Yu J, Liu Q, Qiu B, Yu Y, Ping Y, Bian X, Shen L, Pei G. Direct generation of human neuronal cells from adult astrocytes by small molecules. *Stem Cell Reports* 2017; 8(3): 538–547.