

雌激素受体 β 调控髓鞘损伤后少突胶质细胞发育的作用机制

韩莹¹, 欧志敏^{2*}

(1. 厦门大学附属第一医院, 福建 厦门 361003; 2. 厦门大学生命科学学院, 福建 厦门 361102)

摘要: 性别是影响少突胶质细胞发育的因素之一, 雌激素受体 β (ER β) 可能参与了少突胶质细胞的发育调控, 但其作用机理尚未明确。为阐明 ER β 如何调控少突胶质前体细胞的发育, 通过在原代培养的少突胶质前体细胞中过表达相关基因, 使用溶血性磷脂酰胆碱 (LPC) 诱导少突胶质细胞损伤, 以及荧光素酶报告基因等方法, 考察了少突胶质细胞中 ER β 如何调节细胞的分化, 以及 ER β 受到哪些因素的调控等。过表达 ER β 能够促进少突胶质前体细胞分化; LPC 诱导损伤后, *Olig2* 的表达水平与 ER β 负相关, 且过表达 *Olig2* 能够抑制细胞中 ER β 的表达水平; 同时, LPC 处理诱导 miRNA mmu-miR-219-2 的表达; mmu-miR-219-2 能够直接与 ER β 3'-UTR 结合并抑制其表达; 而 ER β 则通过与 G 蛋白偶联受体 *Gpr17* 基因启动子的结合, 抑制 *Gpr17* 基因的表达从而促进少突胶质前体细胞的成熟。综上, *Olig2*/mmu-miR-219-2/ER β /*Gpr17* 这一调控通路可能参与了少突胶质细胞发育过程的调控, 有望为临床上脱髓鞘疾病的治疗提供新的靶点。

关键词: 雌激素受体 β ; 少突胶质细胞; miRNA

中图分类号: R 582.2 **文献标志码:** A

髓鞘 (myelin sheath) 是包裹并保护轴突的一层脂肪组织, 它具有绝缘以及提高神经冲动的传导速度的作用, 在维持神经系统的正常功能中具有重要的作用^[1-3]。髓鞘由髓磷脂形成, 雪旺氏细胞 (schwann cells) 是外周神经系统髓磷脂的主要来源; 而在中枢神经系统中, 髓磷脂则主要来源于少突胶质细胞 (oligodendrocytes, OLs)。OLs 是神经胶质细胞的一种, 在中枢神经系统的髓鞘形成, 以及脱髓鞘疾病后的髓鞘再生的过程中具有重要作用。OLs 由少突胶质细胞前体细胞 (OPCs) 在胚胎发育期以及出生后早期发育成熟而形成。在发育早期, 一部分 OPCs 分化成熟成为 OLs, 形成髓鞘, 而其余的 OPCs 则保存在大脑实质组织

收稿日期: 2018-07-18 **录用日期:** 2018-10-24

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金(81601080)

***通信作者:** ouzm@xmu.edu.cn

中，以更新大脑中的成熟 OLs，或在髓鞘再生的过程中发育成熟为 OLs^[4, 5]。在髓鞘受到损伤时，OPCs 也具有发育为成熟 OLs 的能力，以修复受损的髓鞘^[6, 7]。脱髓鞘疾病（demyelination disease）是指神经纤维上的髓鞘结构受到损伤的疾病，它会使神经纤维功能显著受损，阻碍中枢神经系统的信号传导，使大脑和脊髓失去外周组织的控制，导致多部位的僵硬或功能的丧失，如多样性硬化症（MS）等^[8, 9]。

在机体内，有许多因素能够影响 OLs 的发育，如 G 蛋白偶联受体 17（Gpr17），Krueppel 样因子 6（KLF6），及色霉素解旋酶 DNA 结合蛋白 7（Chd7）等^[10-13]。据报道，性别也是影响 OLs 发育和髓鞘再生的因素^[14]。一些性激素参与调控新生 OPCs 的增殖和成熟。雌性激素通过与雌性激素受体的作用，延迟 OPCs 的细胞周期终止和增强髓鞘膜的形成^[15]。孕激素及其代谢中间物可以增强 OPCs 的增殖和分化^[16]。另外，有研究发现，相比于雄性，雌性小鼠虽然含有较低数目的 OLs 和髓鞘蛋白，但却显示出更快的 OLs 合成速度^[17]。小鼠实验发现，年轻小鼠的髓鞘再生能力没有表现出性别差异，但是在年老小鼠中，相比于雄鼠，雌鼠表现出更强的髓鞘增生能力^[18]。

雌激素（estrogen）在生理上包含 3 种不同的复合物：雌二酮、雌二醇、雌三醇。外部雌激素受体调节因子（SERMs）会在特异的组织中选择性激活雌激素受体 α （ER α ）和雌激素受体 β （ER β ），并发挥其相应的生理作用。利用实验性变态反应性脑脊髓炎（EAE）动物模型，许多研究发现在不同的小鼠品系中雌激素的处理能降低 EAE 的损伤程度^[19, 20]。在疾病发生后，雌三醇的处理也会明显地减缓 EAE 的进展^[21]。在人群中，患者体内激素水平的变化会影响 MS 的发病和进展，具体表现在 MS 在男女性间发病率及病情进展均存在差异^[22]。然而，OLs 中的 ER β 是否直接调节细胞的发育目前尚未明确。

在我们此前的研究工作中，我们发现 LPC 处理成熟少突胶质细胞会上调 *Olig2* 与 *Gpr17* 的表达水平，而 *Gpr17* 基因的缺失能够促进少突胶质前体细胞的成熟。在本研究中，我们发现 ER β 可能也参与了 *Olig2*-*Gpr17* 这个调节少突胶质前体细胞发育的信号通路。因而，我们将对 ER β 对 OLs 发育的影响进行探讨，并尝试阐明 OLs 中调控 ER β 表达水平的上游通路，以及介导 ER β 对 OLs 发育影响的分子机理，为临床上对脱髓鞘疾病的预防及治疗提供相应的参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

本研究中所使用小鼠（C57BL/6）购自上海斯莱克公司；RNA 提取分离所使用试剂盒购自 Tiangen（中国）公司；RNA 逆转录试剂盒所使用的试剂盒品牌为 TaKaRa（日本）；实时荧光定量 PCR（qRT-PCR）分析所使用的试剂盒购自全式金（中国）公司。实验中所用化学试剂均购自美国 Sigma-Aldridge 公司，所使用的 pCMX-Luc 载体来源于美国匹兹堡大学 Wen Xie 教授课题组，pGL3-basic 载体购自 Addgene 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞的培养及处理

HEK293T 细胞自 ATCC 购买；大鼠原代 OPCs 按照此前所报道的方法分离培养并诱导其分化成为成熟的 OLs^[10]。用 LPC（12.5 $\mu\text{mol/L}$ ）对成熟的 OLs 进行处理^[10]；在转染实验中，使用 Lipofectamine 3000（Life Technology）按照试剂盒使用说明中将相应质粒转染至 OPCs 中。

1.2.2 过表达及报告基因载体的构建

分别将 ER β , Olig2 及 mmu-MIR-219-2 的编码序列克隆至过表达载体 pCMX-PL2 中，构建其过表达质粒；将 ER β 3'-UTR 序列克隆至 pCMX-Luc 载体中，构建 ER β 3'-UTR 报告基因质粒；将 *Gpr17* 基因启动子（2.0 kb）序列克隆至 pGL3-basic 载体中，构建 *Gpr17* 启动子报告基因质粒。相关引物如表 1 所示。

表 1 载体构建所用引物

Tab. 1 Primers for vector construction

Gene	strand	Sequence (5' \rightarrow 3')
<i>ERβ</i>	Forward	AGTCTCGAGATGACATTCTACAGTCCTGCTG
	Reverse	GCAGAATTCTCACTGAGACTGTAGGTTCTGG
<i>ERβ 3'-UTR</i>	Forward	CCAGAATTCGGACAGACTACAGAGATGGTC
	Reverse	ACGGGATCCGATGACATAGCTTCAAGGAAG
Mmu-miR-21 9-2	Forward	ATACTCGAGGGTTACTCTAGGGACCCTTGG
	Reverse	TACAAGCTTGCACGAACCACATTCGGGTCC
<i>Gpr17</i> <i>promoter</i>	Forward	CAAGAGCTCAGCTTCCTCACCACCTAGACA
	Reverse	ACAGCTAGCAGGCCACTGAGTATCACAGA
<i>Olig2</i>	Forward	ATACTCGAGTTATGGACTCGGACGCCAGC
	Reverse	ATGGTACCTCACTTGGCGTCCGAGGT

1.2.3 双荧光素酶报告基因分析

使用双荧光素酶报告基因分析试剂盒（Promega）对荧光素酶活性进行分析，其操作均按照试剂盒中使用说明书进行。

1.2.4 总 RNA 的提取、逆转录及 Real-time PCR 分析

细胞总 RNA 提取及逆转录均根据试剂盒（Takara）中的使用说明书进行，qRT-PCR 分析采用 SYBR Green 染料法，使用 Bio-rad 公司的 qRT-PCR（CFX96）仪进行分析，以看家基因 *Gapdh* 作为内参。相关引物如表 2 所示。

表 2 qRT-PCR 分析所用引物
Tab. 2 Primers for qRT-PCR analysis

Gene	strand	Sequence (5'→3')
<i>ERβ</i>	Forward	GAAGCTGGCTGACAAGGAAAC
	Reverse	GAACGAGGTCTCGAGCAAAG
<i>Olig2</i>	Forward	ATCTTCCCTCCAGCACCTCCT
	Reverse	AGTCGCTTCATCTCCTCCAG
<i>Mbp</i>	Forward	ACACACAAGAACTACCCACTAC
	Reverse	GGTGTACGAGGTGTCACAAT
<i>Gpr17</i>	Forward	GGATAGAGAAGCACCTCAAGAA
	Reverse	CACGGTAGTGAAGCACATAGA
<i>Gapdh</i>	Forward	ACTCCCATTCTTCCACCTTTG
	Reverse	CCCTGTTGCTGTAGCCATATT

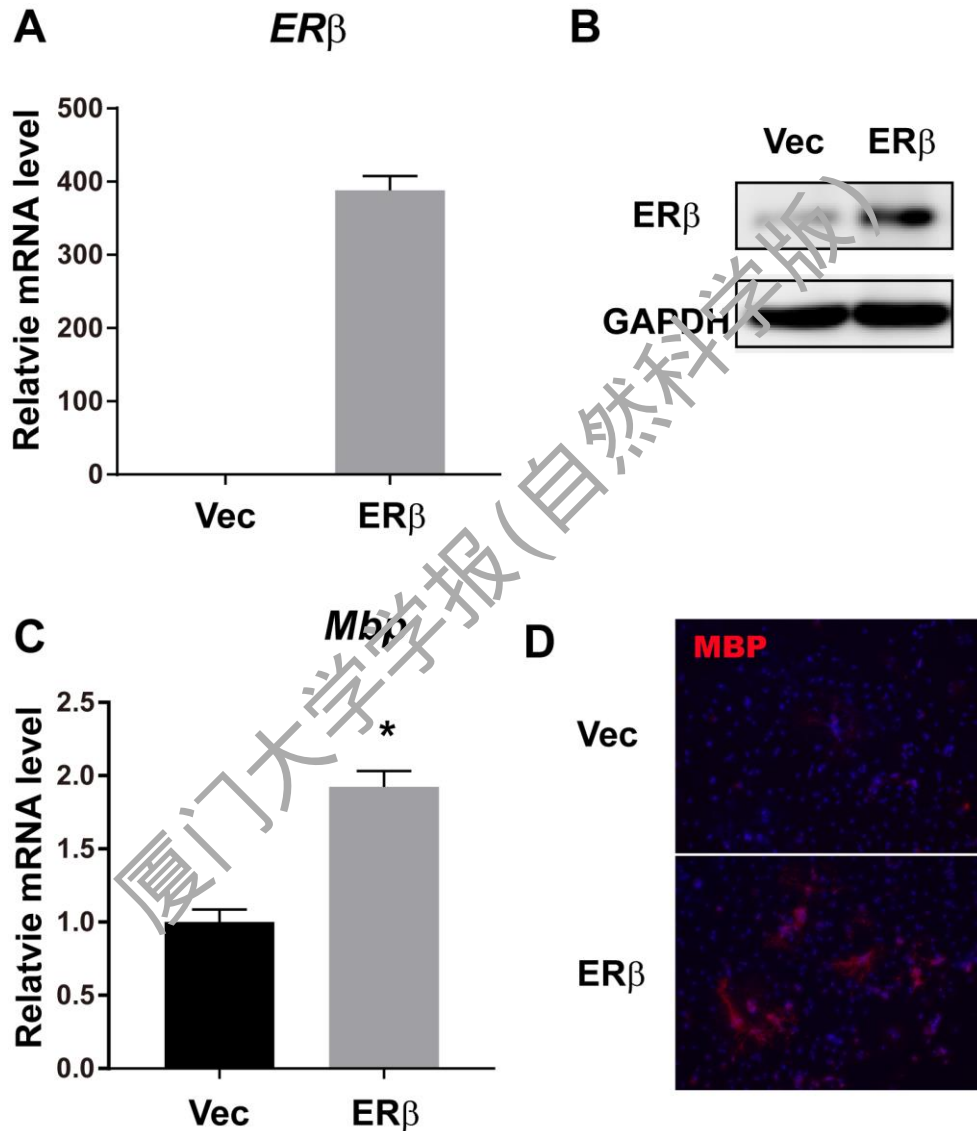
1.2.5 数据分析

实验均不少于 3 次重复，实验数据以平均值±标准差显示。根据实验数据性质，使用 SPSS18.0 分别对其进行方差分析（ANOVA）及组间 *t*-检验（Student's *t*-test）， $p < 0.05$ 表示差异具有显著性。

2 结果与分析

2.1 ERβ 对 OPCs 发育的影响

为了探讨 ER β 对 OPCs 发育的影响，将构建的 ER β 过表达质粒转入 OPCs 中检测细胞中成熟少突胶质细胞特异性标记物髓磷脂碱性蛋白 (*Mbp*) 表达水平的变化，结果显示 (图 1)：与空载体 (Vec) 转染对照相比，ER β 过表达细胞中 ER β 表达水平显著高于对照组，*Mbp* 表达水平显著上调 ($p < 0.05$)；*Mbp* 表达水平的提高提示 ER β 过表达 OPCs 的分化程度高于对照组 OPCs；通过免疫荧光染色可以观察到，过表达 ER β 的少突胶质前体细胞分化程度显著高于对照组。



(A, B) 转染过表达 ER β 载体后细胞中 ER β 表达水平升高；
 (C) 实时荧光定量 PCR 显示过表达 ER β 后少突胶质前体细胞中 *Mbp* 表达升高；
 (D) 免疫荧光染色显示过表达 ER β 后少突胶质前体细胞成熟度增加。* $p < 0.05$ ，下同。

图 1 ER β 诱导 OPCs 中 *Mbp* 基因表达

Fig. 1 ER β induced the expression level of *Mbp* in oligodendrocytes

2.2 受 LPC 损伤的 OLs 中 *ERβ* 表达水平的变化

在此基础上, 为探讨 *ERβ* 是否在 OLs 损伤及修复过程中具有促进髓鞘形成的作用, 在 LPC 诱导的 OLs 损伤模型中检测 *ERβ* 表达水平的变化。结果显示(图 2), 在 LPC(12.5 μmol/L) 处理后, *ERβ* 的表达水平呈时间依赖性降低, 72 h 时与 24~48 h 相比呈现显著差异($p < 0.05$)。OLs 受到损伤后少突胶质细胞转录因子-2 (*Olig2*) 的表达水平上升^[10]。*Olig2* 是少突胶质细胞发育过程中的重要调控因子, 具有促进 OPCs 发育成熟的作用。在本研究建立的 OLs 损伤模型中, LPC 处理后 *Olig2* 的表达水平呈时间依赖性上升, 与 *ERβ* 的表达水平呈负相关(图 2A)。而且, 在少突胶质前体细胞中过表达 *Olig2* 后, 细胞内 *ERβ* 表达水平下调, 进一步证明 *Olig2* 抑制 *ERβ* 的表达(图 2B)。

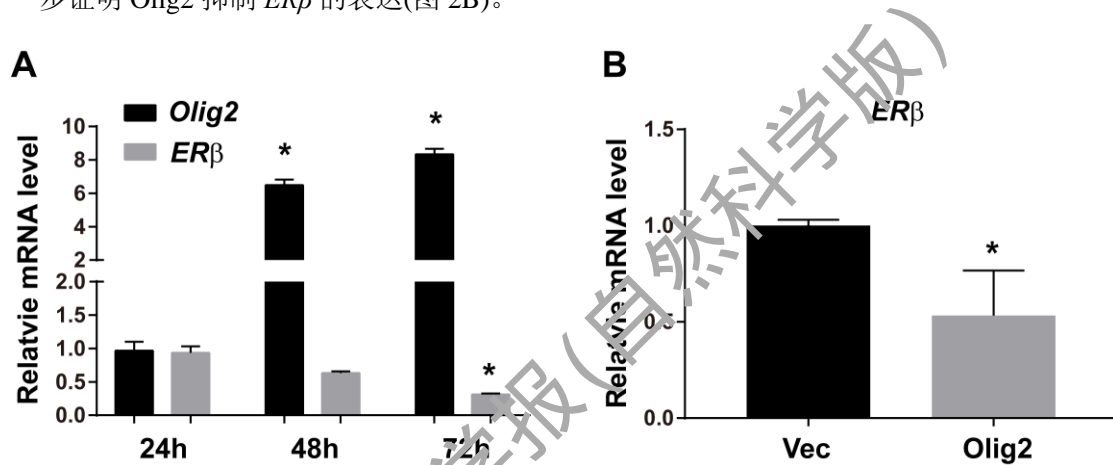


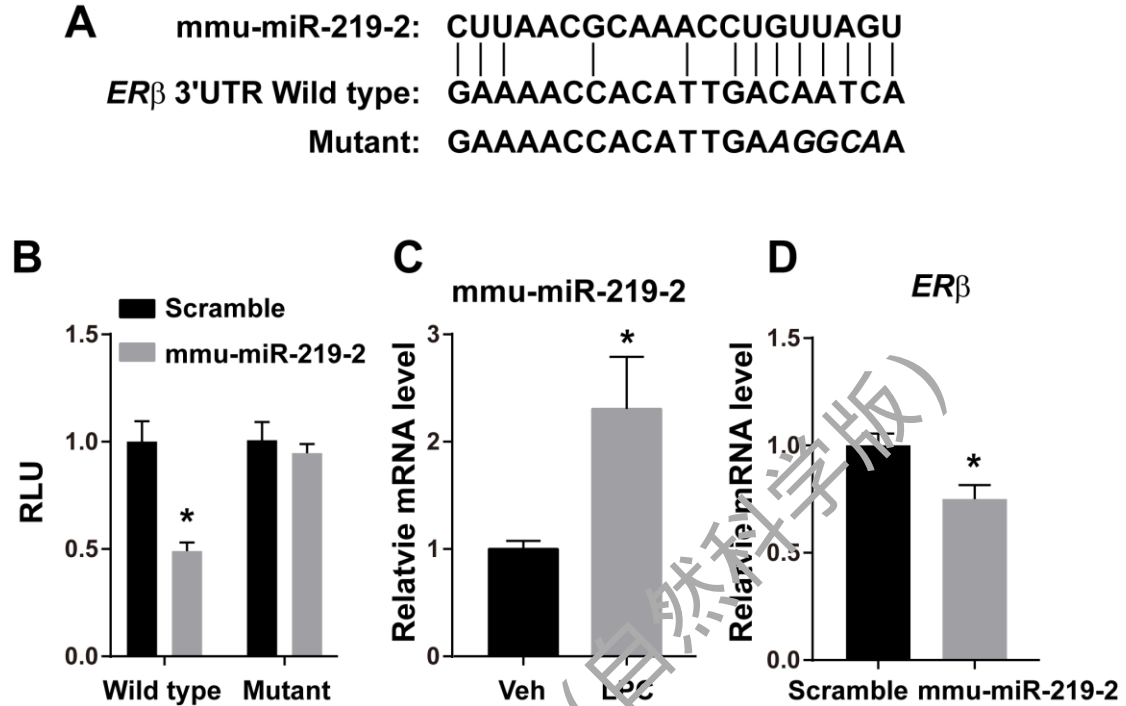
图 2 LPC 损伤 OLs 中 *Olig2* 与 *ERβ* 表达水平

Fig. 2 The expression levels of *Olig2* and *ERβ* in LPC-injured oligodendrocytes

2.3 Mmu-miR-219-2 对 *ERβ* 表达水平的调控

为了阐明 LPC 处理如何抑制 *ERβ* 的表达水平, 尝试筛选与 *ERβ* 3'-UTR 相结合的 miRNA 分子。通过 Microcosm Targets 在线数据库 (<http://www.ebi.ac.uk/enright-srv/microcosm/cgi-bin/targets/v5/search.pl>) 分析发现 Mmu-miR-219-2 可能与 *ERβ* 3'-UTR 相结合, 结合位点如图 3(A) 所示。为了检测 Mmu-miR-219-2 是否能够下调 *ERβ* 的表达, 构建了过表达 Mmu-miR-219-2 的质粒与 *ERβ* 3'-UTR 的报告基因质粒, 并共转染至 HEK293T 细胞中, 同时构建了 mmu-miR-219-2 的结合位点突变的 *ERβ* 3'-UTR 的报告基因突变质粒 (Mutant) 作为对照。如图 3(B) 所示, 转入 Mmu-miR-219-2 后 *ERβ* 3'-UTR 的报告基因的荧光素酶活性受到显著抑制 ($p < 0.05$), 而当 *ERβ* 3'-UTR 中 Mmu-miR-219-2 的结合位点突变后, Mmu-miR-219-2 对荧光素酶活性

的抑制作用消失 (B)。LPC 处理后, 少突胶质细胞中 mmu-miR-219-2 表达水平升高 (图 3C); 而在少突胶质前体细胞中过表达 mmu-miR-219-2 后, *ERβ* 的表达水平则受到了抑制 (图 3D)。这些结果提示 Mmu-miR-219-2 可能特异性下调 *ERβ* 的表达水平。



(A) Mmu-miR219-2 与 *ERβ* 3' UTR 的序列比对;

(B) 报告基因实验 (RLU: Relative-luciferase unit, Scramble: 阴性对照);

(C) LPC 处理诱导 mmu-miR-219-2 表达;

(D) 过表达 mmu-miR-219-2 抑制 *ERβ* 表达。

图 3 mmu-miR219-2 作用于 *ERβ* 3' UTR 序列

Fig. 3 Mmu-miR219-2 interacted with *ERβ* 3' UTR.

2.4 Olig2 诱导 mmu-miR-219-2 表达水平

根据我们前期的 Chip-Seq 结果分析^[10], 显示 Olig2 能与 mmu-miR-219-2 基因结合, 且其结合水平在 LPC 处理后上升 (图 4), 与此同时, 组蛋白乙酰化赖氨酸 27 (H3K27Ac) 与 mmu-miR-219-2 基因结合亦随之上升。H3K27Ac 结合水平的上升提示了该基因的转录水平提升。由此, 可推测 Olig2 可能在 LPC 损伤的 OLs 中诱导 Mmu-miR-219-2 的表达。

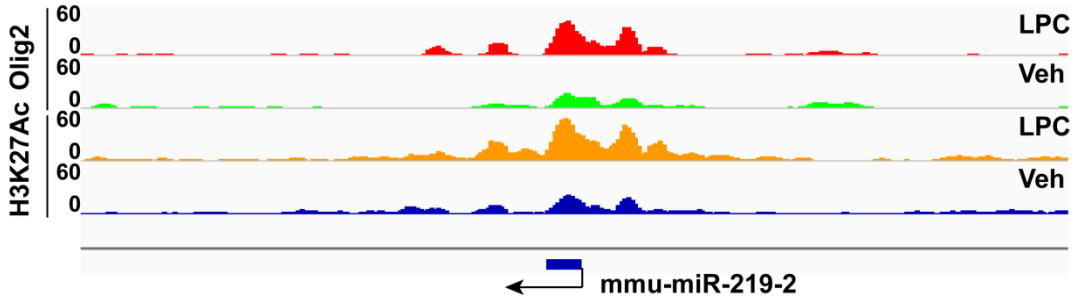
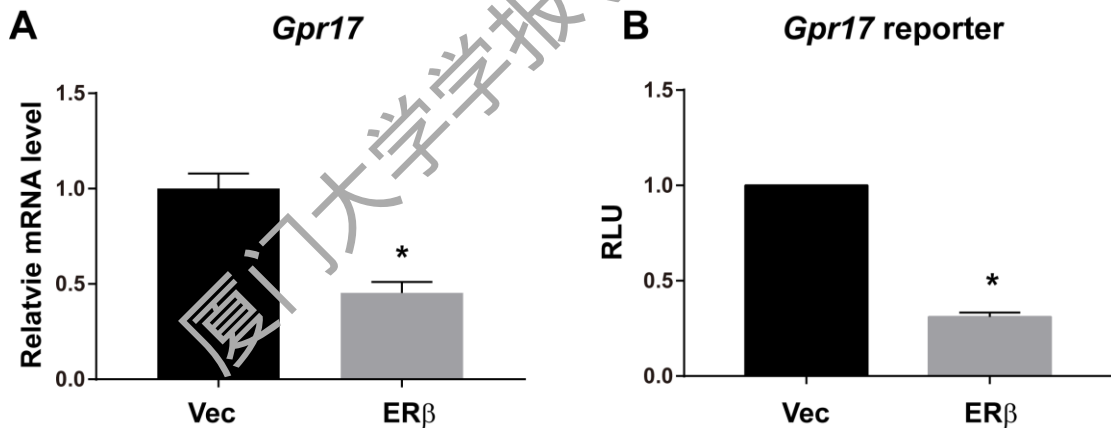


图4 Chiq-Seq 分析显示 LPC 处理对 Olig2、H3K27Ac 与 mmu-miR-219-2 基因结合的影响

Fig. 4 Influence on recruitments of Olig2 and H3K27Ac to the mmu-miR-219-2 gene loci revealed by Chiq-Seq analysis

2.5 ER β 对 *Gpr17* 表达水平的调控

我们前期研究发现 G 蛋白偶联受体 *Gpr17* 是促进 OLs 发育成熟的重要因子^[10]。如图 5 (A)所示, 在 OLs 中过表达 *ER β* 后, *Gpr17* 的表达水平显著降低 ($p < 0.05$)。在 *Gpr17* 的启动子中, 我们发现了 *ER β* 的结合元件 (TGAACAa; TCGCCA)。因此, 进一步构建了含有 *Gpr17* 基因启动子的报告基因质粒。如图 5 (B) 所示, 双荧光素酶报告基因实验结果显示, 过表达 *ER β* 能够显著抑制 *Gpr17* 启动子的活性 ($p < 0.05$)。



(A) OLs 中过表达 *ER β* 抑制 *Gpr17* mRNA 表达;

(B) *ER β* 抑制 *Gpr17* 基因启动子活性。

图5 *ER β* 对 OLs 中 *Gpr17* 基因表达水平的抑制作用

Fig. 5 The expression level of *Gpr17* in oligodendrocytes inhibited by *ER β*

4 讨论与结论

性别是影响 OLs 发育的因素之一。雌激素处理可能通过降低 EAE 小鼠模型中的炎症反应而对髓鞘起保护作用^[19, 20]。此外，雌激素会抑制 LPC 损伤带来的小胶质细胞激活^[23]。在体内，ER β 是少突胶质细胞中主要表达的雌激素受体亚型，而 ER α 在少突胶质细胞中几乎不表达^[24]。因此，可以认为 ER β 是 OLs 中介导雌激素作用的主要分子。

本研究中对 ER β 在 OLs 中的具体作用及分子机制进行了初步的探讨。结果显示，在少突胶质前体细胞中过表达 ER β 能够促进细胞的发育成熟，与此前所报道的 ER β 的配体 2,3-bis(4-hydroxyphenyl)-propionitrile (DPN) 的确能有效促进少突胶质细胞的发育和髓鞘修复这一发现相一致^[25]。在此基础上，我们进一步探索 ER β 通过哪些因素调节了少突胶质前体细胞的发育。此前，我们已发现 Gpr17 是抑制少突胶质前体细胞成熟的因子之一^[10]。Gpr17 能够激活少突胶质前体细胞中的 Gi 信号通路，抑制细胞中 cAMP 水平而抑制细胞的成熟^[10]。在 LPC 处理后少突胶质细胞中，Gpr17 的表达水平上升^[10]，但 ER β 的表达水平下降，两者呈负相关关系。在 Gpr17 基因的启动子中，我们发现了 ER β 的结合位点，并通过实验证明了 ER β 可能对 Gpr17 的表达水平具有负调控作用。该部分结果证明了 ER β 对少突胶质前体细胞发育成熟的促进作用可能是通过其对 Gpr17 基因表达的抑制作用而实现。

在少突胶质细胞中，ER β 的表达水平同样可能受到其他因素的调节。我们再次在 LPC 处理的少突胶质细胞模型中寻找能够调控 ER β 的表达水平的相关通路。根据我们此前的分析显示，少突胶质细胞中 mmu-miR-219-2 在 LPC 处理后表达水平上调。而在本实验中，我们进一步发现 mmu-miR-219-2 能够与 ER β 3' UTR 的序列产生相互作用，从而抑制 ER β 的表达。mmu-miR-219-2 的表达水平则受到了少突胶质细胞中重要的转录因子 Olig2 所调控。Olig2 通过与 mmu-miR-219-2 基因启动子的结合，调节了 mmu-miR-219-2 基因的表达。根据我们此前的报道，Olig2 也能够直接调节 Gpr17 基因的表达^[10]。因而，我们认为 Olig2 可能同时存在对 Gpr17 表达水平的直接调节以及由 ER β 介导的间接调节两种方式。

综上所述，本研究发现了 Olig2/ mmu-miR-219-2/ ER β /Gpr17 这一参与了 OLs 发育成熟的调控通路，有望为临床上对脱髓鞘疾病的预防及治疗提供相应的理论依据及参考。

参考文献:

- [1] AKTAS O, KIESEIER B, HARTUNG H P. Neuroprotection, regeneration and immunomodulation: broadening the therapeutic repertoire in multiple sclerosis [J]. Trends in Neurosciences, 2010, 33(3): 140-152.

- [2] FRANKLIN R J. Remyelination of the demyelinated CNS: the case for and against transplantation of central, peripheral and olfactory glia [J]. *Brain Research Bulletin*, 2002, 57(6): 827-832.
- [3] FANCY S P, CHAN J R, BARANZINI S E, et al. Myelin regeneration: a recapitulation of development? [J]. *Annual Review of Neuroscience*, 2011, 34: 21-43.
- [4] KANG S H, FUKAYA M, YANG J K, et al. NG2+ CNS glial progenitors remain committed to the oligodendrocyte lineage in postnatal life and following neurodegeneration [J]. *Neuron*, 2010, 68(4): 668-681.
- [5] TRIPATHI R B, RIVERS L E, YOUNG K M, et al. NG2 glia generate new oligodendrocytes but few astrocytes in a murine experimental autoimmune encephalomyelitis model of demyelinating disease [J]. *The Journal of Neuroscience*, 2010, 30(48): 16383-16390.
- [6] FRANKLIN R J, FRENCH-CONSTANT C. Remyelination in the CNS: from biology to therapy [J]. *Nature Reviews Neuroscience*, 2008, 9(11): 839-855.
- [7] PFEIFFER S E, WARRINGTON A E, BANSAL R. The oligodendrocyte and its many cellular processes [J]. *Trends in Cell Biology*, 1993, 3(6): 191-197.
- [8] BERGER J, MOSER H W, FORSS-PETTER S. Leukodystrophies: recent developments in genetics, molecular biology, pathogenesis and treatment [J]. *Current Opinion in Neurology*, 2001, 14(3): 305-312.
- [9] TRAPP B D, PETERSON J, RANSOHOFF K M, et al. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis [J]. *The New England Journal of Medicine*, 1998, 338(5): 278-285.
- [10] OU Z, SUN Y, LIN L, et al. Olig2-Targeted G-Protein-Coupled Receptor Gpr17 Regulates Oligodendrocyte Survival in Response to Lysolecithin-Induced Demyelination [J]. *The Journal of Neuroscience*, 2016, 36(41): 10560-10573.
- [11] LAITMAN B M, ASP L, MARIANI J N, et al. The Transcriptional Activator Kruppel-like Factor-6 Is Required for CNS Myelination [J]. *PLoS Biology*, 2016, 14(5): e1002467.
- [12] DOI T, OGATA T, YAMAUCHI J, et al. Chd7 Collaborates with Sox2 to Regulate Activation of Oligodendrocyte Precursor Cells after Spinal Cord Injury [J]. *The Journal of Neuroscience*, 2017, 37(43): 10290-10309.
- [13] HE D, MARIE C, ZHAO C, et al. Chd7 cooperates with Sox10 and regulates the onset of CNS myelination and remyelination [J]. *Nature Neuroscience*, 2016, 19(5): 678-689.
- [14] SWAMYDAS M, BESSERT D, SKOFF R. Sexual dimorphism of oligodendrocytes is mediated by differential regulation of signaling pathways [J]. *Journal of Neuroscience Research*, 2009, 87(15): 3306-3319.

- [15] BARRATT H E, BUDNICK H C, PARRA R, et al. Tamoxifen promotes differentiation of oligodendrocyte progenitors in vitro [J]. *Neuroscience*, 2016, 319: 146-154.
- [16] LABOMBARDA F, GONZALEZ S, LIMA A, et al. Progesterone attenuates astro- and microgliosis and enhances oligodendrocyte differentiation following spinal cord injury [J]. *Experimental Neurology*, 2011, 231(1): 135-146.
- [17] CERGHET M, SKOFF R P, BESSERT D, et al. Proliferation and death of oligodendrocytes and myelin proteins are differentially regulated in male and female rodents [J]. *The Journal of Neuroscience*, 2006, 26(5): 1439-1447.
- [18] LI W W, PENDERIS J, ZHAO C, et al. Females remyelinate more efficiently than males following demyelination in the aged but not young adult CNS [J]. *Experimental Neurology*, 2006, 202(1): 250-254.
- [19] HAGHMORAD D, SALEHIPOUR Z, NOSRATABADI R, et al. Medium-dose estrogen ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis in ovariectomized mice [J]. *Journal of Immunotoxicology*, 2016, 13(6): 885-896.
- [20] KHALAJ A J, YOON J, NAKAI J, et al. Estrogen receptor (ER) beta expression in oligodendrocytes is required for attenuation of clinical disease by an ERbeta ligand [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(47): 19125-19130.
- [21] KIM S, LIVA S M, DALAL M A, et al. Estriol ameliorates autoimmune demyelinating disease: implications for multiple sclerosis [J]. *Neurology*, 1999, 52(6): 1230-1238.
- [22] AIRAS L. Hormonal and gender-related immune changes in multiple sclerosis [J]. *Acta neurologica Scandinavica*, 2015, 132(199): 62-70.
- [23] BENEDEK C, ZHANG J, BODHANKAR S, et al. Estrogen induces multiple regulatory B cell subtypes and promotes M2 microglia and neuroprotection during experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Journal of Neuroimmunology*, 2016, 293: 45-53.
- [24] ZHANG Z, CERGHET M, MULLINS C, et al. Comparison of in vivo and in vitro subcellular localization of estrogen receptors alpha and beta in oligodendrocytes [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2004, 89(3): 674-684.
- [25] KUMAR S, PATEL R, MOORE S, et al. Estrogen receptor β ligand therapy activates PI3K/Akt/mTOR signaling in oligodendrocytes and promotes remyelination in a mouse model of multiple sclerosis [J]. *Neurobiol Dis*, 2013, 56:131-144.

The mechanistic study on the role of estrogen receptor β in the regulation of oligodendrocyte maturation after myelin injury

HAN Ying¹, OU Zhimin^{2*}

(1. The First Hospital Affiliated to Xiamen University, Xiamen 361003, China; 2. School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361102, China)

Abstracts: Gender is a related factor in the development of oligodendrocytes. The estrogen receptor β (ER β) may play a role in this regulation. However, the underlying mechanism remains unclear. We try to reveal mechanism about how ER β regulate the development of oligodendrocytes. We used methods including overexpressing some related genes in the primary culture of oligodendrocytes, inducing injury in oligodendrocytes by lysolecithin (LPC) treatment, and dual-luciferase reporter assays, to find out how does ER β regulate the development of oligodendrocytes, and the factors that modulate the expression of ER β . Overexpression of ER β promoted maturation of the oligodendrocyte precursor cells; Upon LPC injury, the expression levels of *Olig2* and *ER β* were negatively correlated. Overexpression of *Olig2* inhibited the level of *ER β* in the oligodendrocyte precursor cells; meanwhile, the expression level of miRNA mmu-miR-219-2 was induced by LPC injury. Mmu-miR-219-2 inhibited the expression level of *ER β* through a direct interaction with its 3'-UTR region. Further, ER β bound to the promoter region of the G-protein coupled receptor *Gpr17* and reduced its gene expression, accelerating the maturation of the oligodendrocyte precursor cells. Our current study revealed an *Olig2*/mmu-miR-219-2/ER β /*Gpr17* signaling pathway that participated in the regulation of oligodendrocyte development, which might potentially provide a novel therapeutic target for the demyelination diseases in clinical.

Keywords: estrogen receptor β ; oligodendrocytes; miRNA