

- ry in aging mice[J]. *Kidney Int*, 2011, (3):79:966 – 976
- 6 Ferenbach DA, Ramdas V, Spencer N, *et al*. Macrophages expressing heme oxygenase – 1 improve renal function in ischemia/reperfusion injury[J]. *MolTher*, 2010,18(9):1706 – 1713
 - 7 Wang H, Garvin JL, D'Ambrosio MA, *et al*. Heme oxygenase metabolites inhibit tubuloglomerular feedback in vivo [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011,300(4):H1320 – H1326
 - 8 Singh P, Blantz RC, Rosenberger C, *et al*. Aberrant tubuloglomerular feedback and HIF – 1 α confer resistance to ischemia after subtotal nephrectomy[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012,23(3):483 – 493
 - 9 Kang K, Nan C, Fei D, *et al*. Heme oxygenase 1 modulates thrombomodulin and endothelial protein C receptor levels to attenuate septic kidney injury[J]. *Shock*, 2013,40(2):136 – 143
 - 10 南川川,费东生,康凯,等. 血红素氧合酶/一氧化碳系统对脓毒症大鼠肾脏功能及内皮素-1 表达的影响[J]. *中华医院感染学杂志*,2013,23(24):5929 – 5932
 - 11 Monu SR, Pesce P, Sodhi K, *et al*. HO – 1 induction improves the type – 1 cardiorenal syndrome in mice with impaired angiotensin II – induced lymphocyte activation[J]. *Hypertension*, 2013,62(2):310 – 316
 - 12 Zarjou A, Bolisetty S, Joseph R, *et al*. Proximal tubule H – ferritin mediates iron trafficking in acute kidney injury [J]. *J Clin Invest*, 2013,123(10):4423 – 4434
 - 13 Nakao A, Faleo G, Shimizu H, *et al*. Ex vivo carbon monoxide prevents cytochrome P450 degradation and ischemia/reperfusion injury of kidney grafts[J]. *Kidney Int*, 2008, 74(8):1009 – 1016
 - 14 Goebel U, Siepe M, Schwer CI, *et al*. Inhaled carbon monoxide prevents acute kidney injury in pigs after cardiopulmonary bypass by inducing a heat shock response[J]. *Anesth Analg*, 2010,111(1):29 – 37
 - 15 Zager RA, Johnson AC, Becker K. Plasma and urinary heme oxygenase – 1 in acute kidney injury[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23(1):1048 – 1057
 - 16 Kamimoto M, Mizuno S, Matsumoto K, *et al*. Hepatocyte growth factor prevents multiple organ injuries in endotoxemic mice through a heme oxygenase – 1 – dependent mechanism [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 380(2):333 – 337
 - 17 Wei Q, Hill WD, Su Y, *et al*. Heme oxygenase – 1 induction contributes to renoprotection by G – CSF during rhabdomyolysis – associated acute kidney injury[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2011,301(1):F162 – F170
 - 18 Cheng CF, Lian WS, Chen SH, *et al*. Protective effects of adiponectin against renal ischemiareperfusion injury via prostacyclin – PPAR α – heme oxygenase – 1 signaling pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2012, 227(4):239 – 249
 - 19 Nath KA. Human AKI and heme oxygenase – 1[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23(6):971 – 974

(收稿日期:2015 – 03 – 19)

(修回日期:2015 – 03 – 30)

microRNAs 在脑神经系统中的作用

向会尧 刘竞丽 宋承伟 蔡谋善

摘 要 microRNAs(miRNAs)是近年来医学科学研究的热点,而 miRNAs 在脑组织中含量丰富,随着研究的逐步深入,越来越多的证据表明其不仅在神经系统的发育、分化过程中发挥重要作用,而且与神经系统疾病息息相关,可能会成为神经系统疾病诊断和治疗的新的突破点。

关键词 microRNAs 神经系统疾病 缺血性脑血管病

中图分类号 R742 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.11.045

microRNAs 简称 miRNAs 或小 RNAs,是一类高度保守,长度约为 22 个核苷酸的内源性非编码单链小分子 RNA,广泛存在于植物、线虫、果蝇以及鼠和人等哺乳动物中,因其能够在转录后水平调控基因的表达而备受关注。miRNA 基因首先转录成没有特定

结构的前体 pri – miRNA,再由 Drosha 酶在核内加工,产生 60 ~ 80nt 的夹发样 pre – miRNA 中间体,进入胞质后由胞质内的 Dicer 酶加工,产生成熟的单链 miRNA。单链 miRNA 是 RNA 介导的沉默复合体(RNA – induced silencing complex, RISC)的组成部分,其功能是引导 RISC 作用于特定的 mRNA,按照碱基互补配对原则与靶 mRNA 的 3'端非翻译区(3' – UTR)序列相互识别,引起靶 mRNA 的降解和或翻译抑制^[1]。目前认为 miRNAs 直接调控基因组中 1/3 以上基因的表达,不仅参与脑组织的发育、神经元的分化和高

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81160168)

作者单位:443000 宜昌市第一人民医院(向会尧、宋承伟、蔡谋善);530021 南宁,广西医科大学第一附属医院(刘竞丽)

通讯作者:刘竞丽,教授,硕士生导师,电子信箱:lilicomet@163.com

级神经功能^[2]。同时越来越多的证据表明,miRNA 的表达异常与神经系统的多种疾病的发生、发展密切相关^[3,4]。

一、miRNAs 参与脑的发育

有研究表明已发现的 miRNAs 中有 70% 存在于脑组织,虽然目前对 miRNAs 调控神经系统发育及生理功能的机制尚不完全清楚,但研究表明大约有 20% ~ 40% 的 miRNAs 在脑的生长发育中发挥着重要的调控作用^[5,6]。这些存在于脑内的 miRNAs 直接参与了哺乳动物脑的发育、神经细胞分化以及突触的形成,一些 miRNAs 还通过与多聚核糖体结合的方式存在于神经元中。它们在脑的生长发育过程中表达的组织特异性和阶段特异性,对脑的生长发育及形态功能维持等方面有着极其重要的调控作用。Enciu 等^[7]在研究中枢神经系统的个体发育和系统发育时发现 Dicer 酶基因敲除后斑马鱼的中枢神经系统形态异常、神经细胞成熟缺陷,提示 miRNAs 可能在神经系统的发育中发挥重要作用。Schaefer 等^[8]进一步研究发现,选择性抑制分化成熟的小脑普肯耶细胞内 Dicer 酶后,该类细胞出现死亡、小脑萎缩并出现共济失调。同时 Kim 等^[9]也发现,选择性抑制小鼠脑组织细胞有丝分裂后期多巴胺能神经元中的 Dicer 酶,该类神经元即发生凋亡而丢失,小鼠出现运动障碍,这些都提示 miRNAs 在脑的发育过程中可能发挥重要作用。

二、miRNAs 对颅神经的作用

有报道显示 MiR - 497 通过抑制 Bcl - 2 和 Bcl - w 的表达促进缺血性神经元死亡,在缺血性脑损伤细胞凋亡的发病机制中起支持作用;下调小鼠脑组织中的 miR - 497 可以减少脑梗死面积、保护神经功能、改善局灶性脑缺血的神经系统预后^[10]。在大鼠短暂性脑缺血后,在脑组织中特异性表达的、参与脑和神经管发育的 miR - 134 和 miR - 124 分别被上调,这个过程可能与再灌注 24h 后受损脑细胞的再生有关^[11]。在缺血 4h 后进行抗 miR - 1 处理,可以显著减少成年雌性大鼠的大脑皮质的梗死体积;而给予抗 Let7 处理后可以显著减少皮质和纹状体的梗死体积,并保留感觉功能和大脑半球间的神经整合功能。此外,在星形胶质细胞中,miR - 181 调节 Bcl - 2 和 Mcl - 1 在线粒体功能障碍与氧糖剥夺情况下观察到的体外缺血性损伤中起作用,增加 miR - 181a 的表达量将会使大鼠脑缺血模型的损伤加重^[12]。

三、miRNAs 的脑组织髓鞘再生作用

近年来研究表明,特异性表达的 miRNAs 如 miR - 219、miR - 138、miR - 9、miR - 23 和 miR - 19b 参与少突胶质细胞分化和髓鞘再生的调节,以及在脱髓鞘相关性疾病的发病机制中其重要作用,如多发性硬化、缺血性脑卒中、脑白质营养不良等^[13]。特别是 miR - 19b 在增加少突胶质细胞的数目中起着重要作用;miR - 19b 增加蛋白激酶的磷酸化,但它不会影响其总蛋白水平,蛋白激酶 1/2 抑制剂可以抑制 miR - 19b 介导的少突胶质前体细胞增殖^[14]。miR - 145、miR - 132、miR - 200 和 miR - 182 是缺血性脑卒中发病机制的关键,在脑缺血时 miRNAs 通过作用于其下游的靶点超氧化物歧化酶 - 2 导致蛋白质表达量增加,从而保护受损的脑组织^[15]。miR - 132 调节甲基 - CpG 结合蛋白 2,在预处理的大脑皮质表达下降。在小鼠脑皮质下调的 miR - 132 诱导迅速增加超氧化物歧化酶 - 2 的蛋白水平,而不是 mRNA 水平;早期激活的 miR - 200 家族的成员通过 PHD2 mRNA 使缺氧诱导因子 1 α 沉默改善神经细胞生存^[13]。

四、miRNAs 的疾病诊治作用

1. miRNAs 与缺血性脑血管疾病:缺血性脑血管病是全世界引起残疾和死亡最常见和最重要的原因。然而目前尚无一种神经保护剂在Ⅲ期临床实验中证实有显著疗效。因此,寻找新的有效的治疗方法已迫在眉睫。脑组织在受到缺血、缺氧等有害刺激时,可启动内源性抗缺血和抗氧化机制,从而保护濒临死亡的神经细胞,促进神经功能的恢复。这种机体固有的内源性神经保护机制对限制缺血脑组织的损伤、促进脑组织修复和再生均起着十分重要的作用。但是,在缺乏任何外源性干预的情况下,内源性神经保护存在启动缓慢、保护性介质含量低和持续时间有限等不足。近年来随着对 miRNAs 研究的逐步深入,发现其可能在促进内源性缺血耐受的保护机制中起重要作用,因此 miRNAs 有可能成为缺血性脑血管病治疗的新的突破点^[16]。Rink 等^[17]在研究缺血性脑卒中的病因时,从各个危险因素中都找出了相关的 miRNAs:miR - 21、miR - 126 与动脉粥样硬化;miR - 33、miR - 125a - 5p 与高脂血症;miR - 155 与高血压;miR - 222、miR - 210 与斑块破裂等。Liu 等^[18]在研究缺血性脑卒中自发性恢复的动物模型中发现所有差异表达的 miRNAs 共计 346 个,与急性期(0 ~ 24h)相比,miR - 21、miR - 142 - 3P、miR - 142 - 5P、miR

-146a 在缺血性脑卒中恢复期(48 ~ 168h)大幅上调,而 miR-224、miR-324-3 β 、miR-196a/b/c 的表达则显著下调。

2. miRNAs 与神经系统变性性疾病:阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种以神经纤维缠结和老年斑为病理学特征的神经退行性变, β -淀粉样蛋白通过多种途径导致 tau 蛋白高度磷酸化并在神经元中沉积是 AD 的主要病因之一。随着 miRNAs 研究的逐步深入,越来越多的证据表明 miRNAs 也参与了 AD 的发病机制。2007 年 Lukiw 等^[19]第 1 次在 AD 中发现了 miRNAs 的改变,此后大规模的基因研究表明 AD 的 miRNAs 改变不仅存在于大脑组织,血液、脑脊液中也有改变^[20-22]。Delay 等^[23]研究发现在 AD 中存在特异性表达的 miRNAs,包括 miR-29、miR-15、miR-107、miR-181、miR-146、miR-9、miR-101 和 miR-106,其可能直接调控 AD 相关基因 BACE1 和 APP 的表达。Bert 等^[20]进一步进行体外实验发现 miR-29a、miR-29b-1 可以显著下调 BACE1;Nunez-Iglesias 等^[22]同样进行体外实验发现 miR-106b、miR-101 也可以显著下调 APP。Nelson 等^[21]研究发现阿尔茨海默病患者颞叶皮质 miR-107 表达水平与神经纤维缠结及老年斑病理改变呈负相关,虽然这种负相关在个别患者中不明显,但这一研究为 miRNAs 作为疾病的诊断工具提供了新的思路。

3. miRNAs 与神经系统运动障碍性疾病:帕金森病(Parkinson disease, PD)多见于中老年人,以黑质多巴胺能神经元变性缺失、 α -突触核蛋白异常堆积、富含亮氨酸激酶 2(LRRK2)等为病理特征。Harraz 等^[24]对 PD 患者和健康人的 RNA 进行反转录 PCR 后分析 miRNAs 发现总计 224 个 miRNAs 前体中有 8 个在脑部富集(pre-let7a-1、pre-miR7-2、-99a、-130、-133b、-136、-224a、-143);其中在正常人中脑高表达的 pre-miR-218-2、-15b、-101-1、-107、-335、-345 在 PD 患者中表现出明显下调,这些下调的 miRNAs 可能导致了多巴胺能神经元的缺失,参与了 PD 的发病机制。Junn 等^[25]研究发现 miR-7 可以在 α -突触核蛋白 mRNA 3'UTR 区表达从而负性调节蛋白质表达,减少多巴胺能神经元对氧化应激的敏感度;PD 的动物模型也证实 miR-7 的表达水平明显下降,提示 miR-7 可以通过此路径参与 PD 病的发病机制。Gehrke 等^[26]发现 LRRK2 可以通过 miRNAs 通路抑制 let-7、miR-184 表达,使

下游的 α -突触核蛋白高表达而致病。Collins 等^[27]研究后表示 miRNAs 可能是 PD 的一个潜在治疗靶点,但是使 miRNAs 成为临床治疗手段还有很长的路要走。

4. miRNAs 与神经系统肿瘤:MiRNAs 在肿瘤发生、发展、侵袭、转移中起重要作用,相关领域的研究已取得很多成果,为 miRNA 在肿瘤诊断和治疗中的应用奠定了基础。Ciafre 等在研究 miRNAs 在脑胶质细胞瘤中的基因表达谱时发现肿瘤中心部位的组织与肿瘤周边正常组织的 miRNAs 的表达存在明显差异,其中 9 种 miRNAs 表达上调,4 种表达下调。同时, Jennifer 等 miRNA-21 在脑胶质细胞瘤中呈高表达,他们将胶质细胞瘤和其他颅内原发肿瘤(间变星形细胞瘤、少突胶质细胞瘤、髓母细胞瘤)与正常的脑组织的 miRNA-21 表达量进行比较,显示肿瘤细胞内 miRNA-21 的表达量明显高于正常脑组织,以胶质母细胞瘤最明显,它的 miRNA-21 的表达量是正常脑组织的 5 ~ 100 倍。研究还显示,miRNA-21 在胶质细胞瘤中起抗凋亡作用,它的高表达下调了凋亡相关基因的表达,从而抑制细胞凋亡,进而引起肿瘤细胞异常增生。

总之,miRNAs 作为一个新的研究方向在神经系统才刚刚起步,人们对其在神经系统中的作用的认识也还不够深入,但是随着研究的逐步深入,越来越多的令人欣喜的证据表明 miRNAs 参与了多种神经生物学进程,如神经再生、分化以及生长、增殖、凋亡等;同时 miRNAs 的异常表达被证实与多种中枢神经系统疾病密切相关。目前 miRNAs 研究的热点主要集中在对其特异性作用靶点的预测然后进行体内外验证,但是 miRNAs 与靶 mRNA 组成了一个复杂的调控网络,因为某一特定 miRNA 分子可以与多个 mRNAs 分子结合而调控多种蛋白质表达。反之,不同 miRNAs 分子也可结合到同一个 mRNA 分子上协同调控某个蛋白质分子表达,所以迫切需要一种新的检测手段来确定到底是那些 miRNAs 在神经系统中起关键作用。相信随着对 miRNAs 认识的逐步深入,其对神经系统的作用会越来越明朗。

参考文献

- 1 Dominique LO, Marjorie PP, Lise - Andr EEG, *et al.* MicroRNAs in gene regulation: when the smallest governs it all[J]. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2006, 2006
- 2 Miller S, Yasuda M, Coats JK, *et al.* Disruption of dendritic translation of CaMKII α impairs stabilization of synaptic plasticity and memory consolidation[J]. Neuron, 2002, 36(3): 507 - 519

- 3 Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell,2004,116(2):281-297
- 4 Omran A, Elimam D, Shalaby S, *et al.* MicroRNAs: a light into the “Black Box” of neuropediatric diseases? [J]. Neuromolecular Medicine,2012,14(4):244-261
- 5 Fineberg SK, Kosik KS, Davidson BL. MicroRNAs potentiate neural development[J]. Neuron,2009,64(3):303-309
- 6 Presutti C, Rosati J, Vincenti S, *et al.* Non coding RNA and brain [J]. BMC Neuroscience,2006,7(Suppl 1):S5
- 7 Enciu A, Popescu BO, Gheorghisan - Galateanu A. MicroRNAs in brain development and degeneration[J]. Molecular Biology Reports, 2012,39(3):2243-2252
- 8 Schaefer A, O’Carroll DON, Tan CL, *et al.* Cerebellar neurodegeneration in the absence of microRNAs[J]. Journal of Experimental Medicine,2007,204(7):1553-1558
- 9 Kim J, Inoue K, Ishii J, *et al.* A MicroRNA feedback circuit in mid-brain dopamine neurons[J]. Science,2007,317(5842):1220-1224
- 10 Yin KJ, Deng Z, Huang H, *et al.* miR - 497 regulates neuronal death in mouse brain after transient focal cerebral ischemia[J]. Neurobiol Dis,2010,38(1):17-26
- 11 Cao X, Pfaff SL, Gage FH. A functional study of miR - 124 in the developing neural tube[J]. Genes Dev,2007,21(5):531-536
- 12 Ouyang YB, Lu Y, Yue S, *et al.* miR - 181 targets multiple Bcl - 2 family members and influences apoptosis and mitochondrial function in astrocytes[J]. Mitochondrion,2012,12(2):213-219
- 13 Li JS, Yao ZX. MicroRNAs: novel regulators of oligodendrocyte differentiation and potential therapeutic targets in demyelination - related diseases[J]. Mol Neurobiol,2012,45(1):200-212
- 14 Budde H, Schmitt S, Fitzner D, *et al.* Control of oligodendroglial cell number by the miR - 17 - 92 cluster[J]. Development,2010,137(13):2127-2132
- 15 Dharap A, Vemuganti R. Ischemic pre - conditioning alters cerebral microRNAs that are upstream to neuroprotective signaling pathways [J]. J Neurochem,2010,113(6):1685-1691
- 16 Dharap A, Vemuganti R. Ischemic pre - conditioning alters cerebral

- microRNAs that are upstream to neuroprotective signaling pathways [J]. Journal of Neurochemistry,2010,113(6):1685-1691
- 17 Rink C, Khanna S. MicroRNA in ischemic stroke etiology and pathology[J]. Physiological Genomics,2011,43(10):521-528
- 18 Liu FJ, Lim KY, Kaur P, *et al.* MicroRNAs involved in regulating spontaneous recovery in embolic stroke model[J]. PLoS One,2013,8(6):e66393
- 19 Lukiw WJ. Micro - RNA speciation in fetal, adult and Alzheimer’s disease hippocampus[J]. Neuroreport,2007,18(3):297-300
- 20 Bert SE, Horr EK, Nicola IL, *et al.* Loss of microRNA cluster miR - 29a/b - 1 in sporadic Alzheimer’s disease correlates with increased BACE1/MYM\beta MYM - secretase expression[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences,2008,105(17):6415-6420
- 21 Nelson PT, Wang W. MiR - 107 is reduced in Alzheimer’s disease brain neocortex: validation study[J]. Journal of Alzheimer’s Disease, 2010,21(1):75-79
- 22 Nunez - Iglesias J, Liu C, Morgan TE, *et al.* Joint genome - wide profiling of miRNA and mRNA expression in Alzheimer’s disease cortex reveals altered miRNA regulation[J]. PLoS One,2010,5(2):e8898
- 23 Delay C, Mandemakers W, Bert SE. MicroRNAs in Alzheimer’s disease[J]. Neurobiology of Disease,2012,46(2):285-290
- 24 Harraz MM, Dawson TM, Dawson VL. MicroRNAs in Parkinson’s disease[J]. Journal of Chemical Neuroanatomy,2011,42(2):127-130
- 25 Junn E, Lee K, Jeong BS, *et al.* Repression of α - synuclein expression and toxicity by microRNA - 7 [J]. PNAS,2009,106(3):13052-13057
- 26 Gehrke S, Imai Y, Sokol N, *et al.* Pathogenic LRRK2 negatively regulates microRNA - mediated translational repression [J]. Nature, 2010,466(7306):637-641
- 27 Collins LM, Toulouse AE, Connor TJ, *et al.* Contributions of central and systemic inflammation to the pathophysiology of Parkinson’s disease[J]. Neuropharmacology,2012,62(7):2154-2168

(收稿日期:2015-03-15)

(修回日期:2015-03-23)

(上接第 97 页)

- 13 Brodoefel H, Tsiflikas I, Kramer U, *et al.* Accuracy of automated attenuation - based 3 - dimensional segmentation: in the analysis of left ventricular function compared with magnetic resonance imaging[J]. Tex Heart Inst, 2012, 39(1):36
- 14 秦悦洋, 赵瑞虹, 刘小云, 等. 实时三维超声评价心肌梗死患者介入术后心脏整体及局部收缩功能[J]. 中国实用医药, 2009, 4(9):110-111
- 15 刘君, 高磊, 傅向华, 等. 溶栓后早期经皮冠状动脉介入治疗对急性心肌梗死后心肌灌注及心室重构的影响[J]. 中国急救医学, 2014, 9:825-828
- 16 Gu HJ, Gao CB, Gong JL, *et al.* Comparative proteomic analysis in left ventricular remodeling following myocardial infarction in rats[J]. 生物医学与环境科学:英文版, 2012, 25(1):117-123

- 17 何宁,任敏,田家玮,等. 斑点追踪技术评价急性心肌梗死患者介入治疗前后左心室运动的同步性[J]. 中华超声影像学杂志, 2012, 7:558-561
- 18 Chen OD, Wu WC, Jiang Y, *et al.* Assessment of the morphology and mechanical function of the left atrial appendage by real - time three - dimensional transesophageal echocardiography[J]. 中华医学杂志:英文版, 2012, 125(19):3416-3420
- 19 Lid Y, Liang L, Cao GK, *et al.* Real - time three - dimensional echocardiographic evaluation of left ventricular systolic synchronicity in patients with chronic heart failure: comparison with tissue doppler imaging [J]. J Clin Ultrasound, 2012, 40(7):410-418

(收稿日期:2014-12-30)

(修回日期:2015-01-15)