

miRNA - 9 参与脑卒中调控的研究进展

王莹 李胜男 胡幸娟 黄少婷 吴钊淳 何嘉文 李友

摘要 脑卒中是一种常见的脑血管疾病,也是威胁人类健康最严重的疾病之一。目前溶栓及机械介入取栓等治疗方案已广泛运用于临床医疗,但由于狭窄的时间窗限制以及可能发生的并发症等难题,需要进一步探究脑卒中发生、发展过程中的分子机制,期望能提供更有有效的预防策略和更安全的治疗方案。miRNA 是一类能够特异性结合 mRNA 的低分子 RNA,研究表明,miRNA - 9 是一种与神经功能相关的 miRNA,参与调控了神经细胞的增殖、凋亡和细胞周期等生物学过程,因此它可能在脑卒中的发生、发展过程中起重要作用。本文就 miRNA - 9 在脑卒中发病过程中参与调控的分子机制做一综述。

关键词 miRNA - 9 脑卒中 内质网应激 凋亡 炎症 神经再生 血管重塑

中图分类号 R74

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2022.12.005

miRNA 是一类长度约为 18 ~ 24 个核苷酸的低分子非编码 RNA,能够通过特异性结合 mRNA 的 3' - 非翻译区来调节基因的转录及表达以完成神经元的增殖和分化功能,是脑卒中发生的病因和病理进程中的关键因子。据研究统计,缺血性脑卒中发生中有超过 20% 的 miRNA 发生了变化^[1]。其中 miRNA - 9 在大脑中高度富集,它不仅参与了神经系统的发育过程,还参与调控细胞增殖、分化、凋亡、炎症等多种生物学过程。

脑卒中是脑血管在各种因素的作用下,突然破裂出血或者栓塞、梗死、缺血,而造成的一系列临床症状。主要包括出血性脑卒中和缺血性脑卒中两种类型^[2]。据不完全统计,我国脑卒中患者中约有 30% 的患者死亡,剩余 70% 的患者存在不同程度的残疾^[3]。研究表明,miRNA - 9 与脑卒中发生、发展过程密切相关。在大鼠的脑缺血再灌注(cerebral ischemia/reperfusion, I/R)模型中,脑梗死部位缺血组织中的 miRNA - 9 水平表达显著降低^[4,5]。在体外神经细胞的氧 - 葡萄糖剥夺/复氧(oxygen - glucose deprivation/reperfusion, OGD/R)模型中,miRNA - 9 的表达也呈明显降低趋势;将 miRNA - 9 的模拟物转染入细胞可有效逆转 OGD/R 模型中细胞活力的抑制作用,表明其对 OGD/R 诱导的神经细胞功能性损伤具

有保护作用^[6]。以上研究证实,miRNA - 9 参与脑卒中的调控过程并且可减轻缺血缺氧诱导下神经元细胞的损伤。既往研究发现,miRNA - 9 参与调控神经系统的分子机制异常复杂,包括内质网应激、细胞凋亡、炎症发生、神经修复及血管重塑等,这些生物学过程均与脑卒中的发生、发展及治疗修复存在密切联系。

一、miRNA - 9 参与内质网应激过程

内质网(endoplasmic reticulum, ER)是机体重要的蛋白质合成和加工场所,当细胞发生缺血缺氧等病理过程时,内质网可能会发生应激反应从而会影响相关蛋白质的正常合成。ER 应激是缺血引起的重要因素,特定的 ER 应激抑制剂已被证明可减轻大鼠缺血/再灌注引起的海马神经元损伤^[6,7]。因此研究 ER 应激的机制可能对缺血性脑卒中的治疗提供新的视角。Chi 等^[6]研究发现,在 I/R 模型中,内质网应激相关蛋白(ERMP1、GRP78、p - PERK、p - eIF2 α 和 CHOP)的表达均明显上调,而在细胞中过表达 miRNA - 9 可明显下调内质网应激相关蛋白的表达。内质网金属蛋白酶 1(endoplasmic reticulum metalloproteinase - 1, ERMP1)是一种锌结合蛋白酶,其定位于 9p24 号染色体,是内质网应激的重要介质。Chi 等^[6]研究发现,miRNA - 9 通过直接靶向 ERMP1 负调节 ERMP1 的表达从而降低 OGD 处理后的细胞中的 ER 应激反应。相反地,过表达 ERMP1 可逆转 miRNA - 9 诱导的 ER 应激的保护作用^[8]。miRNA - 9 对缺血性损伤的保护作用可能与靶向 ERMP1 介导的 ER 应激有关,并且通过靶向 ERMP1,使 ER 应激失活来保

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81571157)

作者单位:524002 湛江,广东医科大学附属医院神经病学研究所、广东省衰老相关心脑血管疾病重点实验室

通信作者:李友,硕士生导师,副研究员,电子邮箱:youliS05@163.

com

护缺血性脑损伤。

二、miRNA - 9 参与凋亡过程

凋亡引起的脑神经元细胞功能丧失是缺血性脑卒中最突出的病理变化。细胞凋亡是细胞程序性死亡,它在缺血性脑卒中等病理条件下被激活^[9]。神经元在坏死核周围的局部缺血半暗带中血流相对充足,因此仍能保持基本的活性代谢和功能^[10]。既往研究发现,缺血性半暗带中的神经元细胞在缺血性脑卒中有概率恢复,然而由于时间窗的限制,患者容易错过最佳治疗时间,因此抑制神经元细胞凋亡成为治疗脑卒中及改善脑卒中预后的一种新的方向^[11]。有研究发现,miRNA - 9 在啮齿动物的神经源性区域中高表达^[12]。

Bcl2l11 是一种与凋亡相关的因子,参与调控神经细胞的凋亡过程^[13],拮抗抗凋亡蛋白的表达,激活促凋亡蛋白 Bax 从而发挥作用^[14]。lncRNA TUG1 与许多神经系统疾病的发病机制有关,参与调控神经细胞的增殖、凋亡和侵袭等过程^[15,16]。Wei 等^[5]研究发现,Bcl2l11 在缺血脑组织 MCAO 模型和 OGD 模型中均表达增加。miRNA - 9 可以靶向调控 Bcl2l11,抑制 miRNA - 9 的表达导致缺血性脑组织 Bcl2l11 的表达增加,进而促进神经元细胞凋亡。Chen 等^[11]揭示了在缺血脑组织 MCAO 模型和 OGD 模型中 lncRNA TUG1 表达增加;miRNA - 9 表达降低。过表达 lncRNA TUG1 可抑制 miRNA - 9 的表达从而增加 Bcl2l11 的表达,最终促进神经元细胞的凋亡。敲除 lncRNA TUG1 可增加 miRNA - 9 表达进而抑制 Bcl2l11 的表达最终减弱细胞凋亡。

三、miRNA - 9 参与调控炎症过程

炎症是脑血管疾病尤其是缺血性脑卒中的发生、发展过程中继发性损伤机制的重要因素^[17]。研究表明,缺血后神经炎症是缺血性脑卒中及其长期预后的重要决定因素^[18]。在缺血性脑损伤中,受损组织、坏死细胞、碎片和 ROS 共同引发了炎症反应。这些触发因素导致小胶质细胞激活和大量炎性细胞因子的释放。小胶质细胞是中枢神经系统中的固有先天免疫巨噬细胞,它们在脑损伤后高度激活^[19]。炎性细胞因子释放引发了缺血后炎症并加重原发性脑损伤。

NF - κ B1 是一种异聚转录因子,参与促炎性细胞因子的激活,调控促炎性细胞因子(如 TNF - α 、IL - 1 β 和 iNOS)的产生从而引起炎症反应和神经元死亡^[20]。Nampoothiri 等^[21]研究指出,在体外细胞实

验构建的 OGD 模型中,通过定量测定促炎性细胞因子如 NF - κ B1、TNF - α 、IL - 1 β 和 iNOS 的 mRNA 表达,发现这些促炎性细胞因子的表达均升高,分别转染 miRNA - 9 模拟物和葡萄糖胺进入细胞后这些促炎性细胞因子的表达均降低。有研究也发现,过表达 miRNA - 9 可通过抑制 NF - κ B1 与降低 TNF - α 和 IL - 1 β 的表达而减少了局部/全身的炎症反应^[20-22]。促炎性细胞因子水平的降低反映出上调 miRNA - 9 可能减轻了 OGD/R 后神经元死亡的急性炎症反应。

四、miRNA - 9 参与神经元存活与再生

一些在脑组织中高表达的 miRNA 可以调节神经元增殖和分化的生物学过程^[23]。调节这些 miRNA 的活性可能对缺血性脑卒中有重要的治疗意义。近年来研究的重心已经转为了神经元细胞的恢复,这种策略有助于改善缺血性脑卒中后的神经功能恢复^[24]。ATP 是存在于所有代谢活跃细胞中的细胞活力的标志物,可以诱导神经元细胞的增殖和分化。Nampoothiri 等^[21]研究发现,转染 miRNA - 9 模拟物后的神经元细胞内 ATP 水平明显增加,并且 miRNA - 9 上调直接增加了暴露于 OGD/R 的细胞中的 ATP 水平,这些结果进一步印证了 miRNA - 9 可以提高神经元细胞的增殖和分化功能。研究发现,miRNA - 9 和组蛋白脱乙酰基酶 4 (HDAC4) 在缺血性脑卒中后的神经损伤中有较强的相关性^[25]。

组蛋白脱乙酰基酶 4 (HDAC4) 是 II a 类特异性 HDAC,其在缺血性脑卒中发生过程中可穿梭于细胞核和细胞质之间,在缺血应激条件下,HDAC4 从细胞质转移到细胞核从而介导神经元死亡^[26]。Nampoothiri 等^[21]预测 miRNA - 9 和 HDAC4 是缺血性脑卒中后导致的神经损伤的重要调节剂,之后进一步证明 miRNA - 9 可负调节 HDAC4 的表达,反之降低 HDAC4 的表达并减轻体外缺血性损伤。葡萄糖胺可结合 HDAC4 降低 HDAC4 水平并提高 OGD 后细胞中 miRNA - 9 的表达。因此葡萄糖胺可作为 miRNA - 9 上调的合适低分子替代物。通过研究葡萄糖胺替代 miRNA - 9 疗法,证实了 miRNA - 9 模拟物和葡萄糖胺能缓解神经元凋亡和坏死,促进 OGD 后神经元存活和细胞增殖,并且对 OGD 后神经突生长有很明显的促生长作用^[21]。Litke 等^[27]研究发现,神经突触长度的增加可能与 HDAC4 的失活和 miRNA - 9 的上调有关,聚集的核 HDAC4 可使神经元树突的长度急剧

减少。因此,通过调节低分子 miRNA - 9 的表达可控制缺血性脑卒中神经元的存活与再生修复。

五、miRNA - 9 参与血管生成/血管重塑

研究表明,miRNA - 9 参与调节血管生成过程。血管生成是缺血性脑卒中组织自我修复的重要有益事件。大量新生血管可为缺血组织提供充足的氧气与营养供给,可有效改善缺血性脑卒中患者的神经功能恢复效果。调节血管生成过程的 miRNA 已被用作治疗缺血性脑卒中的潜在策略。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在缺血性脑卒中中具有重要治疗潜力^[28]。Bcl - 2 是一种抗凋亡蛋白,过表达 Bcl - 2 会抑制由缺血性脑卒中引起的神经元细胞死亡^[29]。Nampoothiri 等^[21]研究发现,VEGF 和 Bcl - 2 共同表达可抑制缺血性脑细胞凋亡,在脑细胞缺血模型中,抑制 miRNA - 9 降低了 VEGF 和 Bcl - 2 的表达,相应地,过表达 miRNA - 9 促进了 VEGF 表达,因此 miRNA - 9 可能通过调控 VEGF 进而增加血管生成。由此可见,miRNA - 9 在神经发育的不同阶段发挥了不同的作用。

综上所述,miRNA - 9 参与调控了缺血性脑卒中的内质网应激、凋亡、炎症、神经再生及血管重塑等过程,是缺血性脑卒中研究进展中的重要分子,它揭示了缺血性脑卒中潜在的发病机制,并为缺血性脑卒中的治疗提供了更多的研究方向和思路。但目前的研究局限于动物和体外细胞实验,未来需要进一步探究人体组织中 miRNA - 9 的作用机制。

参考文献

- Bhalala OG, Srikanth M, Kessler JA. The emerging roles of microRNAs in CNS injuries[J]. *Nature Reviews Neurology*, 2013, 9(6): 328 - 339
- 马蓉, 徐弘扬, 杨锡彤, 等. 急性脑卒中治疗的研究进展[J]. *重庆医学*, 2019, 48(6): 1010 - 1013
- 王伟伟, 徐家萍, 张浩亮, 等. 老年急性脑梗死患者静脉溶栓后发生早期神经功能恶化的影响因素分析[J]. *血栓与止血学*, 2022, 28(3): 364 - 366
- Wang N, Yang L, Zhang H, *et al.* MicroRNA - 9a - 5p alleviates ischemia injury after focal cerebral ischemia of the rat by targeting ATG5 - mediated autophagy[J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2018, 45(1): 78 - 87
- Wei N, Xiao L, Xue R, *et al.* MicroRNA - 9 mediates the cell apoptosis by targeting Bcl2l11 in ischemic stroke[J]. *Molecular Neurobiology*, 2016, 53(10): 6809 - 6817
- Chi L, Jiao D, Nan G, *et al.* miR - 9 - 5p attenuates ischemic stroke through targeting ERMP1 - mediated endoplasmic reticulum stress[J]. *Acta Histochemica*, 2019, 121(8): 151438
- Anuncibay - Soto B, Pérez - Rodríguez D, Santos - Galdiano M, *et al.* Salubrin and robenacoxib treatment after global cerebral ischemia. Exploring the interactions between ER stress and inflammation[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2018, 151: 26 - 37
- Grandi A, Santi A, Campagnoli S, *et al.* ERMP1, a novel potential oncogene involved in UPR and oxidative stress defense, is highly expressed in human cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(39): 63596
- Vandenabeele P, Galluzzi L, Vanden Berghe T, *et al.* Molecular mechanisms of necroptosis: an ordered cellular explosion[J]. *Nature reviews Molecular Cell Biology*, 2010, 11(10): 700 - 714
- Liu S, Levine SR, Winn HR. Targeting ischemic penumbra Part II: selective drug delivery using liposome technologies[J]. *Journal of Experimental Stroke & Translational Medicine*, 2011, 4(1): 16
- Chen S, Wang M, Yang H, *et al.* LncRNA TUG1 sponges microRNA - 9 to promote neurons apoptosis by up - regulated Bcl2l11 under ischemia[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2017, 485(1): 167 - 173
- Coolen M, Katz S, Bally - Cuif L. miR - 9: a versatile regulator of neurogenesis[J]. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2013, 7: 220
- Strasser A. The role of BH3 - only proteins in the immune system[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2005, 5(3): 189 - 200
- Kuwana T, Bouchier - Hayes L, Chipuk JE, *et al.* BH3 domains of BH3 - only proteins differentially regulate Bax - mediated mitochondrial membrane permeabilization both directly and indirectly[J]. *Molecular Cell*, 2005, 17(4): 525 - 535
- Zhang E, He X, Yin D, *et al.* Increased expression of long noncoding RNA TUG1 predicts a poor prognosis of gastric cancer and regulates cell proliferation by epigenetically silencing of p57[J]. *Cell Death & Disease*, 2016, 7(2): e2109
- Sun J, Ding C, Yang Z, *et al.* The long non - coding RNA TUG1 indicates a poor prognosis for colorectal cancer and promotes metastasis by affecting epithelial - mesenchymal transition[J]. *Journal of Translational Medicine*, 2016, 14(1): 1 - 10
- Chamorro A, Hallenbeck J. The harms and benefits of inflammatory and immune responses in vascular disease[J]. *Stroke*, 2006, 37(2): 291 - 293
- Pan J, Palmateer J, Schallert T, *et al.* Novel humanized recombinant T cell receptor ligands protect the female brain after experimental stroke[J]. *Translational Stroke Research*, 2014, 5(5): 577 - 585
- Hoehn BD, Palmer TD, Steinberg GK. Neurogenesis in rats after focal cerebral ischemia is enhanced by indomethacin[J]. *Stroke*, 2005, 36(12): 2718 - 2724
- Qian D, Wei G, Xu C, *et al.* Bone marrow - derived mesenchymal stem cells (BMSCs) repair acute necrotized pancreatitis by secreting microRNA - 9 to target the NF - κ B1/p50 gene in rats[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 1 - 17
- Nampoothiri SS, Rajanikant GK. miR - 9 upregulation integrates post - ischemic neuronal survival and regeneration in vitro[J]. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 2019, 39(2): 223 - 240
- Bazzoni F, Rossato M, Fabbri M, *et al.* Induction and regulatory function of miR - 9 in human monocytes and neutrophils exposed to

- proinflammatory signals[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009, 106(13): 5282–5287
- 23 Nampoothiri SS, Rajanikant GK. Decoding the ubiquitous role of microRNAs in neurogenesis [J]. *Molecular Neurobiology*, 2017, 54(3): 2003–2011
- 24 Cramer SC. Treatments to promote neural repair after stroke[J]. *Journal of Stroke*, 2018, 20(1): 57
- 25 Yuan H, Denton K, Liu L, *et al.* Nuclear translocation of histone deacetylase 4 induces neuronal death in stroke[J]. *Neurobiology of Disease*, 2016, 91: 182–193
- 26 Nampoothiri SS, Fayaz SM, Rajanikant GK. A novel five – node feed – forward loop unravels miRNA – gene – TF regulatory relationships in ischemic stroke [J]. *Molecular Neurobiology*, 2018, 55(11): 8251–8262
- (上接第 17 页)
- 18 Zile MR, Lindenfeld J, Weaver FA, *et al.* Baroreflex activation therapy in patients with heart failure with reduced ejection fraction[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 76(1): 1–13
- 19 Lindenfeld J, Gupta R, Grazette L, *et al.* Response by sex in patient – centered outcomes with baroreflex activation therapy in systolic heart failure[J]. *JACC Heart Fail*, 2021, 9(6): 430–438
- 20 Halbach M, Abraham WT, Butter C, *et al.* Baroreflex activation therapy for the treatment of heart failure with reduced ejection fraction in patients with and without coronary artery disease[J]. *Int J Cardiol*, 2018, 266: 187–192
- 21 Dell’oro R, Gronda E, Seravalle G, *et al.* Restoration of normal sympathetic neural function in heart failure following baroreflex activation therapy: final 43 – month study report [J]. *J Hypertens*, 2017, 35(12): 2532–2536
- 22 Reddy YNV, Obokata M, Wiley B, *et al.* The haemodynamic basis of lung congestion during exercise in heart failure with preserved ejection fraction[J]. *Eur Heart J*, 2019, 40(45): 3721–3730
- 23 Barnes RJ, Bower EA, Rink TJ. Haemodynamic responses to stimulation of the splanchnic and cardiac sympathetic nerves in the anesthetized cat[J]. *J Physiol*, 1986, 378: 417–436
- 24 Fudim M, Boortz – Marx RL, Ganesh A, *et al.* Splanchnic nerve block for chronic heart failure[J]. *JACC Heart Fail*, 2020, 8(9): 742–752
- 25 Fudim M, Patel MR, Boortz – Marx R, *et al.* Splanchnic nerve block mediated changes in stressed blood volume in heart failure[J]. *JACC Heart Fail*, 2021, 9(4): 293–300
- 26 Fudim M, Ganesh A, Green C, *et al.* Splanchnic nerve block for decompensated chronic heart failure: splanchnic – HF[J]. *Eur Heart J*, 2018, 39(48): 4255–4256
- 27 Malek F, Gajewski P, Zymlinski R, *et al.* Surgical ablation of the right greater splanchnic nerve for the treatment of heart failure with preserved ejection fraction: first – in – human clinical trial[J]. *Eur J Heart Fail*, 2021, 23(7): 1134–1143
- 28 Parati G, Esler M. The human sympathetic nervous system; its relevance in hypertension and heart failure[J]. *Eur Heart J*, 2012, 33(9): 1058–1066
- 29 Sharp TE, Polhemus DJ, Li Z, *et al.* Renal denervation prevents heart failure progression via inhibition of the renin – angiotensin system [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 72(21): 2609–2621
- 30 Chen WJ, Liu H, Wang ZH, *et al.* The impact of renal denervation on the progression of heart failure in a canine model induced by right ventricular rapid pacing[J]. *Front Physiol*, 2019, 10: 1625
- 31 Polhemus DJ, Trivedi RK, Gao J, *et al.* Renal sympathetic denervation protects the failing heart via inhibition of neprilysin activity in the kidney[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2017, 70(17): 2139–2153
- 32 Booth LC, Schlaich MP, Nishi EE, *et al.* Short – term effects of catheter – based renal denervation on cardiac sympathetic drive and cardiac baroreflex function in heart failure[J]. *Int J Cardiol*, 2015, 190: 220–226
- 33 Fukuta H, Goto T, Wakami K, *et al.* Effects of catheter – based renal denervation on heart failure with reduced ejection fraction: a systematic review and Meta – analysis[J]. *Heart Fail Rev*, 2017, 22(6): 657–664
- 34 Fukuta H, Goto T, Wakami K, *et al.* Effects of catheter – based renal denervation on heart failure with reduced ejection fraction: a Meta – analysis of randomized controlled trials[J]. *Heart Fail Rev*, 2022, 27(1): 29–36
- 35 Kresoja KP, Rommel KP, Fengler K, *et al.* Renal sympathetic denervation in patients with heart failure with preserved ejection fraction [J]. *Circ Heart Fail*, 2021, 14(3): e007421
- 36 Conceicao – Souza GE, Pego – Fernandes PM, Cruz F, *et al.* Left cardiac sympathetic denervation for treatment of symptomatic systolic heart failure patients: a pilot study[J]. *Eur J Heart Fail*, 2012, 14(12): 1366–1373
- 37 Chin A, Ntsekhe M, Viljoen C, *et al.* Rationale and design of a prospective study to assess the effect of left cardiac sympathetic denervation in chronic heart failure[J]. *Int J Cardiol*, 2017, 248: 227–231

(收稿日期: 2022 – 03 – 01)

(修回日期: 2022 – 04 – 10)

(收稿日期: 2022 – 03 – 21)

(修回日期: 2022 – 04 – 07)