

与 ADHD 相关的外周循环 microRNA 芯片筛选及分析

朱 萍 潘 景 张 帆 吴丽慧

摘 要 **目的** 采用基因芯片技术筛选注意缺陷多动障碍(attention-deficit hyperactivity disorder, ADHD)患儿外周血清中的差异非编码小 RNA(microRNA, miRNA)。**方法** 收集 ADHD 患儿血清样本 20 例,正常儿童 60 例,根据性别相同、年龄、身高和体重相仿的标准配对形成 1:3 的病例组。采用含有 2549 种人类 miRNA 探针的安捷伦公司的人 miRNA 芯片 V21.0(agilent human miRNA microarray V21.0)获取 ADHD 患儿与正常儿童的 miRNA 谱,将检测到的 miRNA 信号值进行配对 *T* 检验分析,筛选出表达差异有统计学意义的 miRNA,然后通过实时荧光定量 PCR 技术验证芯片结果。**结果** 芯片筛选结果显示,和正常儿童比较,ADHD 患儿血清中 miR-30d-5p, miR-19b-3p, miR-6085, miR-19b-3p, miR-6749-5p, miR-6826-5p, miR-3960 等 61 个 miRNA 比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),其中 fold change > 2 倍的有 miR-30d-5p (fold change = 0.48, $P = 0.002$)、miR-4655-3p (fold change = 0.43, $P = 0.002$) 和 miR-7641 (fold change = 0.47, $P = 0.02$),这些差异表达的 miRNA 在 20 例 ADHD 患儿外周血清中均降低,选择改变量超过两倍的 miR-30d-5p, miR-4655-3p, miR-7641 进行实时荧光定量 PCR 验证,结果与芯片一致。**结论** 与正常儿童比较,ADHD 患儿外周血清中,miR-30d-5p, miR-4655-3p 和 miR-7641 表达量降低,并且可能成为诊断 ADHD 的潜在指标。

关键词 注意缺陷多动障碍 非编码小 RNA 筛选

中图分类号 R749.94

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.05.015

MicroRNA Microarray Screening and Analysis of Circulating MicroRNAs Associated with ADHD. Zhu Ping, Pan Jing, Zhang Fan, et al. Bengbu Medical College, Anhui 312000, China

Abstract **Objective** To screen for differential microRNA in serum of children with Attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) by microarray analysis. **Methods** Twenty cases of serum samples from children with ADHD and 60 cases of normal children were collected. We paired ADHD children and normal children by a ratio of 1:3 according to same gender and age, height and weight were similar. The miRNA profile of children with ADHD and normal children were obtained by using Agilent's human miRNA chip V21.0 containing 2549 human miRNA probes. Paired *t*-test analysis was performed on the detected miRNA signal values to select statistical significance miRNAs, and then verify the chip results by RT-qPCR technology. **Results** The screening results of microarray showed that comparing with normal children, 61 miRNAs in the serum of children with ADHD, such as miR-30d-5p, miR-19b-3p, miR-6085, miR-19b-3p, miR-6749-5p, miR-6826-5p, miR-3960, etc., were differentially expressed ($P < 0.05$). Among them, fold change greater than 2 were miR-30d-5p (fold change = 0.48, $P = 0.002$), miR-4655-3p (fold change = 0.43, $P = 0.002$) and miR-7641 (fold change = 0.47, $P = 0.020$). These differentially expressed miRNAs were decreased in serum of 20 children with ADHD. Subsequently, we selected miR-30d-5p, miR-4655-3p, and miR-7641 with fold change greater than 2 for RT-qPCR verification, and the results were consistent with the chip. **Conclusion** The expression levels of miR-30d-5p, miR-4655-3p and miR-7641 were decreased in serum of children with ADHD compared with normal children, and may be potential indicators for the diagnosis of ADHD.

Key words ADHD; MicroRNA; Screen

注意缺陷多动障碍(attention-deficit hyperactivity disorder, ADHD)是以注意力不集中、活动过度、冲

动为特征的一种神经行为障碍,并伴有认知障碍和学习困难^[1]。在全球儿童中的发生率约 3%~5%,而 60%~80% 患儿的症状可持续至青少年或者成年,是儿童常见的神经精神障碍之一。目前 ADHD 的发病机制与病因比较复杂,还尚不明确,但多数研究者认为是遗传因素与环境因素相互作用的结果,同时也与大脑结构与功能异常有关。ADHD 的主要诊断依据美国精神病学会《精神障碍诊断与统计手册》第 5 版

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81271505,81571359)

作者单位:233000 蚌埠医学院(朱萍、张帆、吴丽慧);312000

绍兴市妇幼保健院(潘景);325000 浙江省人民医院、杭州医学院附属人民医院(吴丽慧)

通讯作者:吴丽慧,教授,主任医师,博士生导师,电子信箱: cindy5620@126.com

(DSM - V) 儿童 ADHD 临床诊断标准,即问卷调查的方式^[1]。目前还没有可靠的分子诊断标记。

非编码小 RNA (microRNA, miRNA) 通常源于 1 个大小约为 1000bp 的长链 RNA 初始转录产物 (pri - miRNA), pri - miRNA 分子在细胞中经过双链 RNA 特异性 RNase III - droscha 的作用下形成 70 ~ 100nt 具有茎环结构的前体 microRNA (pre - miRNA)。Pre - miRNA 在 exportin - 5 的作用下转运至胞质中,被另一个双链 RNA 特异性 RNase III - dicer 识别,进一步切割成为成熟 miRNA。miRNA 与肿瘤、心血管疾病、糖尿病、人类遗传性疾病甚至神经系统重大疾病的发生、发展密切相关。在中枢神经系统中 miRNA 含量特别丰富,其功能涉及神经发育、分化、退行性变、凋亡等,同时也涉及记忆、精神发育迟缓等方面,但 miRNA 在神经发育与活动中的作用还存在广泛的未知性^[2,3]。研究报道帕金森综合征患者的血清中 miR - 133b,脑皮质组织中 miR - 205,表达量是显著降低的;重度抑郁患者外周血中 miR - 132 表达量增加,并且是通过结合在甲基 - CpG 结合蛋白 (MeCP2) 和脑源性神经营养因子 (BDNF) 的 mRNA 上的 3' 非翻译区 (3' UTR),使 MeCP2、BDNF 表达下降,从而影响重度抑郁症的发生、发展^[4-6]。因此笔者猜测,和正常儿童比较,ADHD 患儿外周循环中是否可能存在一组 miRNA 表达量有显著性差异,这些改变的 miRNA 可能成为 ADHD 潜在的诊断标记,故本研究采用 miRNA 芯片技术筛选出在 ADHD 患儿外周血清中差异表达的 miRNA。

对象与方法

1. 研究对象:实验样本来自 2015 年 10 月 ~ 2016 年 2 月在笔者医院就诊的 ADHD 患儿 20 例,符合实验标准的健康儿童 60 例。按照年龄和性别配对形成 ADHD 儿童:正常儿童 = 1:3 的病例组 20 对。(1) 病例组 (ADHD) 儿童纳入标准:① 6 ~ 18 岁儿童;② 根据美国精神病学学会《精神障碍诊断与统计手册》第 5 版 (DSM - V) 儿童 ADHD 临床诊断标准,排除精神发育迟缓、品行障碍、情绪障碍、学习障碍及各种精神疾病等;③ 通过详细的体格检查、神经系统检查、精神状态检查与相关实验室辅助检查,排除躯体疾病及神经系统疾病;④ 智商 > 70;⑤ 班主任综合评定认为在语文和数学方面无明显的学习困难,期末考试成绩在全班平均成绩减 1 个标准差以上;⑥ 近 2 周内未使用精神药物治疗。(2) 对照组 (非 ADHD 组) 儿童的纳入标准:通过详细的体格检查、神经系统检查、精神状

况检查与相关实验室辅助检查,排除精神发育迟缓、品行障碍、情绪障碍、学习障碍及各种精神疾病,排除躯体疾病及神经系统疾病的健康儿童。该研究遵守《赫尔辛基宣言》,通过了笔者医院医学伦理学委员会批准。该研究的目的、方法、可能后果及健康保证均向儿童监护人交待清楚,所有监护人均签署知情同意书。

2. 标本收集:ADHD 儿童和正常儿童采血前休息 20 ~ 30min,通过肘静脉采血 4ml,室温静置 1h,4℃ 10000r/min,离心 10min,用取样器将上清液 (血清) 吸取到无菌试管,血清标本储存于 -80℃ 冰箱。

3. microRNA 芯片筛选差异表达 microRNA:所有样本都用 miRcute 血清/血浆 miRNA 提取分离试剂盒 (北京天根生化公司) 抽提总 RNA,使用美国 Agilent 公司人 miRNA 芯片 V21.0 (agilent human miRNA microarray V21.0) 测试各组 microRNA 的表达量,该微阵列取自 miRBase 21 版数据库,包含 2549 条人类 miRNA 的探针。每一张载玻片上包含 8 个单独的微阵列,每个具有 1900 个功能。阵列包括 48 个阴性对照,用于估计荧光背景和背景差异,每个微阵列的样品量为 100ng,用 Cy3 标记后,每张载玻片经 XDR Scan (PMT100, PMT5) 扫描得到信号。打开 agilent scan control software 扫描芯片获得 miRNA 的信号图像,用 agilent feature extraction (AFE) software version 10.7.1.1 分析可以得到所有的芯片和 miRNA 信号值。这些信号经消除背景后登陆 SBC analysis system (<http://sas.ebioservice.com>) 进行统计分析。选择 hsa - miR - 1273g - 3p 为内参,因为,① 在所有样本内均有检出;② 标准差 (SD) 较小,在样本间变化幅度小;③ 平均信号值较高,一般认为 > 30 的信号值 (log2 后约为 > 5) 相对更可靠,因此选用该内参进行校正。

4. 实时荧光定量 PCR (real - time quantitative PCR) 验证:(1) 引物设计:对改变量 > 2 倍的 miRNA 进行实时荧光定量 PCR 验证,根据 miRNA 序列设计引物 (引物由苏州泓迅生物科技股份有限公司合成,miR - 30d - 5p 反转录引物:5' - GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGCACTGGATACGACCTTCCA - 3',检测引物:5' - GTTGTGTAACATCC - 3'; miR - 4655 - 3p 反转录引物:5' - GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGCACTGGATACGACCCCCG - G - 3',检测引物:5' - TGTTGACCCTCGTCA - 3'; miR - 7641 反转录引物:5' - GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGCACTGGATACGACGCTTAG - 3',

检测引物:5′-CTCGTTTGATCTCGG-3′;内参 miR-1273g-3p 反转录引物:5′-GTCGTATCCAGTG-CAGGGTCCGAGGTATTCCGACTGGATACGACCTCAG-GC-3′,检测引物:5′-TCTAGTAACCACTGCACTC-3′,这 4 个 miRNA 在进行 PCR 检测时均用 miR-223a 作为反向互补链 5′-GTGCAGGGTCCGAGGT-3′)。(2) RT:将抽提的血清总 RNA 通过反转录酶(M-MLV,日本 TaKaRa 公司)获得 cDNA。RT 体系及条件为:先加样 I 体系(RNA 5μl,无菌水 5μl,反转录引物 1μl,内参引物 1μl)混匀后,反应条件为 70℃,10min,冰上 5min;再加样 II 体系(5×RT buffer 4μl,10mol/L dNTP 1μl,无菌水 2μl,M-MLV 1μl)混匀后,反应条件为 30℃ 10min,42℃ 60min,70℃ 10min。(3) 定量 PCR:cDNA 通过探针法实时监测 PCR 过程,最后用 2^{-ΔΔCt}法对基因表达进行相对定量。定量 PCR 体系及条件:2×Taqman Mix(CW0932S,康为世纪)5μl,引物(40μmol/L)0.0625μl+0.0626μl,通用探针 0.125μl,无菌水 3.25μl,cDNA1.5μl,反应条件 95℃ 预变性 10min,95℃ 15s,60℃ 1min。50 个循环。

4. 统计学方法:芯片结果选择内参 miR1273g-3p 在所有样本内的中位值为基准,将所有信号值减去该值。把对照组 3 个信号值取平均值后与 ADHD 患儿组进行配对 *T* 检验,实时荧光定量 PCR 结果也采用配对 *T* 检验分析,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. microRNA 芯片初筛结果:同对照组 60 例健康儿童比较,在年龄相仿、性别一致的情况下,ADHD 患儿血清中 miR-30d-5p、miR-19b-3p,miR-6085、miR-19b-3p、miR-6749-5p、miR-6826-5p、miR-3960 等 61 个 microRNA 的表达量在 20 例 ADHD 患儿中均有改变(表 1)。其中改变量>2 倍即 fold change<0.5 的是 miR-30d-5p,miR-4655-3p 和 miR-7641,表 1 中前 3 个,这 3 个 miRNA 在各样本中的信号值(图 1),上方文本为样本编号,左侧文本为 microRNA(探针)编号,每一行代表 1 个基因(探针),每一列表示 1 个样本。颜色越红代表 miRNA 在对应样本中的表达量越高,颜色越蓝代表 miRNA 在对应样本中的表达量越低。

表 1 ADHD 相关的外周循环 microRNA 芯片筛选

名称	<i>P</i>	相对倍数	名称	<i>P</i>	相对倍数
hsa-miR-4655-3p	0.000	0.432	hsa-miR-5195-3p	0.004	0.753
hsa-miR-7641	0.026	0.471	hsa-miR-4532	0.016	0.754
hsa-miR-30d-5p	0.003	0.484	hsa-miR-2392	0.000	0.757
hsa-miR-6085	0.001	0.533	hsa-miR-6775-5p	0.008	0.760
hsa-miR-25-3p	0.005	0.533	hsa-miR-3202	0.001	0.764
hsa-miR-19b-3p	0.002	0.537	hsa-miR-6124	0.003	0.768
hsa-miR-6749-5p	0.003	0.559	hsa-miR-130a-3p	0.028	0.773
hsa-miR-762	0.005	0.564	hsa-miR-6087	0.044	0.775
hsa-miR-642b-3p	0.003	0.577	hsa-miR-4499	0.040	0.786
hsa-miR-4687-3p	0.008	0.604	hsa-miR-3679-5p	0.029	0.786
hsa-miR-6826-5p	0.000	0.617	hsa-miR-4270	0.012	0.788
hsa-miR-3960	0.001	0.617	hsa-miR-6090	0.034	0.796
hsa-miR-6789-5p	0.011	0.622	hsa-miR-4281	0.040	0.800
hsa-miR-3196	0.001	0.660	hsa-miR-6088	0.003	0.805
hsa-miR-4741	0.011	0.673	hsa-miR-642a-3p	0.049	0.806
hsa-miR-6769b-5p	0.027	0.679	hsa-miR-29a-3p	0.040	0.816
hsa-miR-6869-5p	0.014	0.687	hsa-miR-6812-5p	0.013	0.823
hsa-miR-6833-5p	0.007	0.690	hsa-miR-6768-5p	0.002	0.828
hsa-miR-5787	0.027	0.692	hsa-miR-23a-3p	0.024	0.837
hsa-miR-423-5p	0.009	0.693	hsa-miR-6891-5p	0.024	0.850
hsa-miR-16-5p	0.021	0.697	hsa-let-7d-3p	0.026	0.853
hsa-miR-320b	0.037	0.706	hsa-miR-8072	0.039	0.854
hsa-let-7i-5p	0.044	0.707	hsa-miR-4271	0.004	0.855
hsa-miR-320c	0.001	0.715	hsa-miR-557	0.009	0.865
hsa-miR-4534	0.010	0.717	hsa-miR-7109-5p	0.002	0.883
hsa-miR-4516	0.027	0.720	hsa-miR-3656	0.036	0.922
hsa-miR-5739	0.035	0.723	hsa-miR-6803-5p	0.006	0.941
hsa-miR-6727-5p	0.011	0.726	hsa-miR-139-5p	0.028	0.989
hsa-miR-6126	0.014	0.726	hsa-miR-2861	0.047	0.994
hsa-miR-4739	0.007	0.744	hsa-miR-638	0.027	0.997
hsa-miR-4530	0.017	0.746			

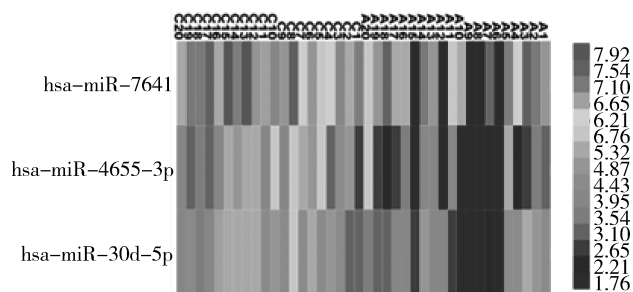


图1 miR-30d-5p、miR-4655-3p、miR-7641 热图

2. 实时荧光定量 PCR 验证: 将实验组 (20 例 ADHD 患儿) 和对照组 (60 例健康儿童) 的芯片结果表达量改变 >2 倍的 miR-30d-5p、miR-4655-3p 和 miR-7641 在上述 80 例样本中进行实时荧光定量 PCR 验证, 结果显示, 和对照组比较, miR-30d-5p、miR-4655-3p 和 miR-7641 在 ADHD 患儿外周血清中相对表达量降低 ($P=0.000$), 与芯片筛选出的 miRNA 在 ADHD 中的表达趋势一致 (图 2)。

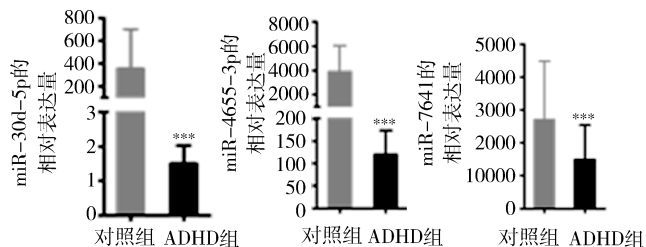


图2 被筛选的 miRNA 在 ADHD 中的表达趋势

A. miRNA-30d-5p 的相对表达量; B. miRNA-4655-3p 的相对表达量; C. miRNA-7641 的相对表达量

讨 论

ADHD 是儿童最常见的神经精神障碍之一, 主要表现为注意力不集中、多动和冲动, 可分为注意力缺陷型、多动/冲动型和混合型, 发病可延续到成年。美国儿科学会 (American Academy of Pediatrics, AAP) 2011 年版 ADHD 指南指出, 初级保健医生应当认识到 ADHD 是一种慢性状态, 有着特殊的保健需要, 若没有维持长期治疗, 将会造成很大影响。其原因在于其有发展为破坏和过度冒险行为, 品行障碍, 学习困难, 情感问题的潜在风险, 而这些非核心症状将影响到儿童各个方面如学业成就、成长及生活质量, 给自身、学校、家庭和社会带来极大负面影响^[7]。迄今为止, ADHD 的发病机制和病因未能完全清楚, 大多数研究者认为中枢神经系统中多巴胺能、5-羟色胺能 (5-HT)、去甲肾上腺素能的异常表达是 ADHD 的主要发病机制, 而 ADHD 的主要诊断也是依据量表

的形式, 无分子诊断标记^[8~10]。

miRNA 参与控制许多细胞/分子过程, 如细胞凋亡、增殖和分化^[11, 12]。近年来, 研究发现 miRNA 在中枢神经系统中含量特别丰富, 其功能涉及神经发育、分化、退行性变、凋亡等, 同时也涉及记忆、精神发育迟缓等方面。本课题组首先利用 ADHD 大鼠模型 SHR 和正常对照模型 Wistar Kyoto (WKY) 大鼠比较, 测得 SHR 的脑前额区 (PFC) 存在半乳糖凝集素 3 (Galectin-3) 及 miR-let-7d 的表达异常, 并且发现 miR-let-7d 直接作用于 Galectin-3 的 3' UTR 从而负性调控 Galectin-3 的表达, 同时 Galectin-3 的降低能抑制 TH 的表达, 而 TH 是多巴胺代谢过程的关键酶^[13]。为此笔者进一步收集了 35 例 ADHD 患儿和 35 例门诊体检儿童, 检测到血清 miR-let-7d 的水平在 ADHD 组明显高于对照组; 在所收集到的 ADHD 患儿中, 混合型占 60% 之多, 因此推测 miR-let-7d 的高表达在混合型可能更加突出^[14]。笔者还利用 ADHD 大鼠模型发现了和对照组 WKY 大鼠比较, SHR 的前额皮质区域的 miR-34c*、miR-138、miR-138*、miR-296 和 miR-494 表达显著下降, 经过启动子序列分析和活性测定, 确定了糖皮质激素受体 (Nr3c1) 能够使 miR-34c*、miR-138-1、miR-296 和 miR-494 基因的启动子活性及其转录得到抑制。同时测得在 SHR 的 PFC 中, Nr3c1 表达异常升高。另一方面, 笔者还通过荧光素酶报告得到 miR-34c*、miR-138、miR-138*、miR-296 和 miR-494 能结合在转录因子 Bhlhb2 (Bhlhe40) 信使 RNA (mRNA) 的 3' 非翻译区上, 从而抑制了 Bhlhb2 基因的表达。同样地, Bhlhb2 表达在 ADHD 模型 SHR 的 PFC 中也显著高于对照。

为了进一步观察 Bhlhb2 在 SHR 体内的作用, 与对照组比较, 敲除 Bhlhb2 基因能显著改善 SHR 的活动过度^[15]。这些研究结果表明, Nr3c1-Bhlhb2 轴失调参与了注意力缺陷和多动症的发展。结合本课题之前研究, 认为存在一组 miRNA 在 ADHD 上是有表达差异的, 笔者想从 ADHD 患儿获得直接的证据。故本研究通过基因芯片技术, 在年龄和性别一样的条件下, ADHD 患儿外周血清中有 61 个 miRNA 较正常儿童降低, 取 fold change >2 倍的 miR-30d-5p、miR-4655-3p、miR-7641 进行实时荧光定量 PCR 验证, 趋势同芯片结果一致。但是这些差异 miRNA 与 ADHD 之间的相互作用还有待进一步研究, 有研究报道 miR-30d-5p 在阿尔兹海默症患者外周血中

表达量升高,并且与亨廷顿舞蹈病有关,目前还没有研究 miR - 4655 - 3p 与 miR - 7641 在神经系统疾病的报道^[16,17]。笔者猜测这些差异 miRNA 可能通过调控靶基因来影响 ADHD 的病情发展。

综上所述,miR - 30d - 5p、miR - 4655 - 3p 和 miR - 7641 在 ADHD 患者外周血清中降低明显,因此认为这 3 个 miRNA 有可能作为临床诊断 ADHD 的指标之一,但是由于本研究中样本数量有限,后续实验笔者将扩大样本量,验证结果的可靠性,以及差异 miRNA 是否会随着 ADHD 病情好转或者药物治疗后表达量改变,有待后续追踪随访情况。同时笔者将着重于预测靶基因,查阅相关文献分析靶基因功能,探讨 miRNA 靶基因与 ADHD 之间可能存在的潜在关系。

参考文献

- 1 Austerman J. ADHD and behavioral disorders: assessment, management, and an update from DSM - 5 [J]. *Cleve Clin J Med*, 2015, 82 (11 Suppl 1): 2 - 7
- 2 Nguyen LS, Fregeac J, Bole - Feysot C, *et al.* Role of miR - 146a in neural stem cell differentiation and neural lineage determination: relevance for neurodevelopmental disorders [J]. *Mol Autism*, 2018, 9: 38
- 3 Zhang W, Zeng X, Zeng L. Functional analysis of microRNAs in neurogenesis during mouse cortical development [J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1680:191 - 203
- 4 Zhao N, Jin L, Fei G, *et al.* Serum microRNA - 133b is associated with low ceruloplasmin levels in Parkinson's disease [J]. *Parkinsonism Relat Disord*, 2014, 20(11):1177 - 1180
- 5 Cho HJ, Jin SM, Parisiadou L, *et al.* MicroRNA - 205 regulates the expression of Parkinson's disease - related leucine - rich repeat kinase 2 protein [J]. *Hum Mol Genet*, 2013, 22(3):608 - 620
- 6 Su M, Hong J, Zhao Y, *et al.* MeCP2 controls hippocampal brain - derived neurotrophic factor expression via homeostatic interactions with microRNA132 in rats with depression [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12 (4):5399 - 5406

- 7 Tarver J, Daley D, Sayal K. Attention - deficit hyperactivity disorder (ADHD): an updated review of the essential facts [J]. *Child Care Health Dev*, 2014, 40(6):762 - 774
- 8 Wankerl B, Hauser J, Makulska - Gertruda E, *et al.* Neurobiology of attention deficit hyperactivity disorder [J]. *Fortschr Neurol Psychiatr*, 2014, 82(1):9 - 29
- 9 Maitra S, Sarkar K, Sinha S, *et al.* The dopamine receptor D5 may influence age of onset: an exploratory study on indo - caucasoid ADHD subjects [J]. *J Child Neurol*, 2016, 31(10):1250 - 1256
- 10 Park S, Lee JM, Kim JW, *et al.* Associations between serotonin transporter gene (SLC6A4) methylation and clinical characteristics and cortical thickness in children with ADHD [J]. *Psychol Med*, 2015, 45(14):3009 - 3017
- 11 Mirzaei HR, Sahebkar A, Mohammadi M, *et al.* Circulating microRNAs in hepatocellular carcinoma: potential diagnostic and prognostic biomarkers [J]. *Curr Pharm Des*, 2016, 22(34):5257 - 5269
- 12 Salarinia R, Sahebkar A, Peyvandi M, *et al.* Epi - drugs and Epi - miRs: moving beyond current cancer therapies [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2016, 16(9):773 - 788
- 13 Salvatore MF. ser31 tyrosine hydroxylase phosphorylation parallels differences in dopamine recovery in nigrostriatal pathway following 6 - OHDA lesion [J]. *Neurochem*, 2014, 129(3):548 - 558
- 14 Wu LH, Peng M, Yu M, *et al.* Circulating MicroRNA let - 7d in attention - deficit/hyperactivity disorder [J]. *Neuromolecular Med*, 2015, 17(2):137 - 146
- 15 Wu LH, Cheng W, Yu M, *et al.* Nr3C1 - bhlhb2 axis dysregulation is involved in the development of attention deficit hyperactivity [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(2):1196 - 1212
- 16 Satoh J, Kino Y, Niida S. MicroRNA - seq data analysis pipeline to identify blood biomarkers for Alzheimer's disease from public data [J]. *Biomark Insights*, 2015, 10:21 - 31
- 17 Díez - Planelles C, Sánchez - Lozano P, Crespo MC, *et al.* Circulating microRNAs in Huntington's disease: emerging mediators in metabolic impairment [J]. *Pharmacol Res*, 2016, 108:102 - 110

(收稿日期:2018 - 08 - 28)

(修回日期:2018 - 09 - 14)

(上接第 58 页)

- 16 Furfaro AL, Traverso N, Domenicotti C, *et al.* The Nrf2/HO - 1 axis in cancer cell growth and chemoresistance [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016:1958174
- 17 Tsai JR, Wang HM, Liu PL, *et al.* High expression of heme oxygenase - 1 is associated with tumor invasiveness and poor clinical outcome in non - small cell lung cancer patients [J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2012, 35(6):461 - 471
- 18 Noh SJ, Bae JS, Jamiyandorj U, *et al.* Expression of nerve growth factor and heme oxygenase - 1 predict poor survival of breast carcinoma patients [J]. *BMC Cancer*, 2013, 13:516
- 19 Huang J, Guo P, Ma D, *et al.* Overexpression of heme oxygenase - 1

induced by constitutively activated NF - kappaB as a potential therapeutic target for activated B - cell - like diffuse large B - cell lymphoma [J]. *Int J Oncol*, 2016, 49(1):253 - 264

- 20 Mayerhofer M, Gleixner KV, Mayerhofer J, *et al.* Targeting of heat shock protein 32 (Hsp32)/heme oxygenase - 1 (HO - 1) in leukemic cells in chronic myeloid leukemia: a novel approach to overcome resistance against imatinib [J]. *Blood*, 2008, 111(4):2200 - 2210
- 21 Cerny - Reiterer S, Meyer RA, Herrmann H, *et al.* Identification of heat shock protein 32 (Hsp32) as a novel target in acute lymphoblastic leukemia [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(5):1198 - 1211

(收稿日期:2018 - 07 - 18)

(修回日期:2018 - 08 - 16)