

文献综述

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.002658

微小 RNAs-mRNAs 调控轴在脑缺血-再灌注损伤机制中的作用进展

李俊杰, 蒋海燕, 彭丽佳, 王 全, 邵建林
(昆明医科大学第一附属医院麻醉科, 昆明 650032)

【摘 要】脑缺血-再灌注损伤是缺血性脑卒中发生后出现的一种非常严重的并发症, 给患者的神经功能造成不可逆或永久性的损伤, 具有较高的致残率和死亡率。微小 RNAs(microRNAs, miRNAs)是一种小的内源性核糖核酸分子, 通过与 1 个或多个 mRNA 的 3'-UTR 端以序列特异性的方式杂交结合来抑制基因的翻译, 调控至少 1/3 的人类基因组表达。近年来, 越来越多的研究发现 miRNAs 能够通过调控下游的靶 mRNAs 参与细胞凋亡、氧化应激、神经炎症等脑缺血-再灌注损伤的病理过程, 对神经功能的损伤或保护具有重要作用。本文通过对 miRNAs-mRNAs 调控轴在脑缺血-再灌注损伤机制中的作用研究进行综述, 以加深对 miRNAs 在治疗缺血性脑血管病中的作用机制的认识。

【关键词】微小 RNAs; mRNAs; 脑缺血-再灌注损伤

【中图分类号】R743.31

【文献标志码】A

【收稿日期】2020-04-11

Advances in the role of microRNAs-mRNAs regulatory axis in the mechanism of cerebral ischemia-reperfusion injury

Li Junjie, Jiang Haiyan, Peng Lijia, Wang Quan, Shao Jianlin

(Department of Anesthesiology, The First Affiliated Hospital of Kunming Medical University)

【Abstract】Cerebral ischemia-reperfusion injury (CI-RI) is a very serious complication after ischemic stroke, which causes irreversible or permanent damage to the neurological function of patients and has a high disability rate and mortality. microRNAs(miRNAs) are small endogenous RNA molecules that inhibit the translation of target mRNAs and regulate the expression of at least one-third of the human genome by hybridizing with the 3'-UTR terminals of one or more mRNAs in a sequentially specific manner. In recent years, more and more studies have found that miRNAs can participate in the pathological process of CI-RI such as cell apoptosis, oxidative stress, neuroinflammation and so on by regulating the downstream target mRNAs, and play an important role in the injury or protection of nerve function. This paper reviews the research progress of miRNAs-mRNAs regulatory axis in the mechanism of CI-RI, and deepens the understanding of the mechanism of miRNAs in the treatment of ischemic cerebrovascular diseases.

【Key words】microRNAs; mRNA; cerebral ischemia-reperfusion injury

脑卒中是常见并多发的脑血管疾病之一, 在我国是致残率第一、致死率第二的高发疾病。其中, 缺血性脑卒中发生率较高, 约占脑卒中总发生率的 60%。随着我国老龄化进程的加快, 其发病率呈逐年上升趋势^[1]。脑卒中后血流再通会引起

某些缺血性脑组织进一步损伤或功能障碍, 称为脑缺血-再灌注损伤(cerebral ischemia-reperfusion injury, CI-RI)。再灌注损伤机制复杂, 再灌注后脑组织的损伤主要涉及细胞凋亡、氧化应激、炎症反应、兴奋性氨基酸毒性等病理过程^[2]。微小 RNAs(microRNAs, miRNAs)是一种小的内源性核糖核酸分子(由 21~25 个核苷酸组成), 通过与 1 个或多个 mRNA 的 3'-UTR 端以序列特异性的方式杂交结合来抑制基因的翻译, 调控至少 1/3 的人类基因组表达, 在细胞增殖和分化、凋亡、代谢和其他生物学过程中发挥关键作用^[3]。此外, miRNAs 与其靶 mRNAs 在脑肿瘤、脑外伤等中枢神经系统疾病发生

作者简介: 李俊杰, Email: 542119225@qq.com,

研究方向: 颅脑损伤的功能保护及康复治疗。

通信作者: 邵建林, Email: shaojl123@yeah.net。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 81760248, 81960250);

云南省应用基础研究计划重点资助项目(编号: 2018FA042)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20201013.1400.018.html>

(2020-10-14)

发展过程中也发挥了重要的调控作用^[4-5]。近年来,越来越多的研究发现 miRNAs 通过靶向调控 mRNAs 参与 CI-RI 损伤的病理生理过程。本文对近几年 miRNAs-mRNAs 调控轴在 CI-RI 中的作用及机制的研究进行归纳总结,为 miRNAs-mRNAs 调控对 CI-RI 的作用研究提供理论依据和参考。

细胞凋亡、氧化应激、炎症反应、兴奋性氨基酸毒性、细胞自噬及血脑屏障破坏等是 CI-RI 发生发展的主要病理生理机制,而大量的 miRNAs 可通过直接以 mRNAs 为靶点调控 mRNAs 的表达并广泛参与以上 CI-RI 的病理调控机制(表 1)。

表 1 miRNAs-mRNAs 轴在 CI-RI 病理过程中的调控机制

miRNAs	实验模型	CI-RI 后变化	靶 mRNAs	调控机制	参考文献
与凋亡相关					
miR-211	OGD/R MCAO/R	下调	PUMA	过表达后抑制靶基因,从而减少 Caspase-3 表达	[3]
miR-874-3p	OGD/R	下调	BMF BCL2L13	过表达后抑制促凋亡蛋白 BMF 和 BCL2L13 表达	[6]
miR-29a	OGD/R	下调	AQP4	过表达后抑制靶基因,从而促进 Bcl-2 和抑制 Bax 表达	[7]
miR-99b	OGD/R	上调	IGF1R	过表达后抑制靶基因,从而抑制细胞凋亡	[8]
miR-496	OGD/R	下调	BCL2L14	过表达后抑制促凋亡蛋白 BCL2L14 表达	[9]
miR-106-5p	OGD/R	上调	Mcl-1	抑制表达后促进靶基因,从而促进 Bcl-2 和抑制 Bax 表达	[10]
miR-544	MCAO/R	下调	IRAK4	过表达后抑制靶基因,从而促进 Bcl-2 和抑制 Bax 表达	[11]
miR-26a-5p	OGD/R MCAO/R	下调	DAPK1	过表达后抑制靶基因,从而促进 Bcl-2 和抑制 Caspase、Bax 表达	[12]
miR-138	OGD/R MCAO/R	上调	SIRT1	抑制表达后促进靶基因,从而促进 Bcl-2 和抑制 Bax 表达	[13]
miR-219a-5p	OGD/R MCAO/R	下调	Pde4d	过表达后抑制靶基因,从而促进 Bcl-2 和抑制 Bax 表达	[14]
miR-224-3p	OGD/R	上调	FIP200	抑制表达后促进靶基因,从而抑制 Caspase-3 表达	[15]
miR-155	OGD/R MCAO/R	上调	GATA3	抑制表达后促进靶基因,从而抑制 Caspase-3 表达	[16]
miR-429	OGD/R	上调	GATA4	抑制表达后促进靶基因,从而抑制 Caspase-3 表达	[17]
miR-10a	OGD/R	上调	PI3K	抑制表达后激活 PI3K/Akt/mTOR 信号通路,从而抑制 Caspase-3、Caspase-9 和 Bax 表达,促进 Bcl-2 表达	[18]
miR-137	OGD/R	下调	Notch1	过表达后抑制 Notch1/Hes1 信号通路,减少 Caspase-3 产生	[19]
miR-124	MCAO/R	下调	Ku70	过表达后作用于靶基因,抑制细胞凋亡	[20]
miR-223	OGD/R	上调	IGF1R	过表达后作用于靶基因,抑制细胞凋亡	[21]
miR-370	OGD/R MCAO/R	上调	SIRT6	抑制表达后促进靶基因表达,从而减少 Caspase-3 产生	[22]
miR-431	OGD/R MCAO/R	下调	Rho	过表达后作用于靶基因,抑制细胞凋亡	[23]
与氧化应激相关					
miR-144	OGD/R MCAO/R	上调	Nrf2	抑制表达后激活 Nrf2/ARE 抗氧化信号通路,减少 ROS、LDH 产生	[24]
miR-142-5p	OGD/R	上调	Nrf2	抑制表达后激活 Nrf2/ARE 抗氧化信号通路,减少 ROS、MDA,增加 SOD 产生	[25]
miR-153	OGD/R	上调	Nrf2	抑制表达后激活 Nrf2/ARE 抗氧化信号通路,减少 ROS、MDA,增加 SOD 产生	[26]
miR-93	MCAO/R	上调	Nrf2	抑制表达后激活 Nrf2/ARE 抗氧化信号通路,减少 ROS、MDA,增加 SOD 产生	[27]
miR-144-3p	OGD/R	下调	Brg1	过表达后抑制靶基因表达,激活 Nrf2/ARE 抗氧化信号通路,减少 ROS、GSH,增加 SOD 产生	[28]
miR-652	OGD/R MCAO/R	下调	NOX2	过表达后抑制靶基因表达,减少 ROS 产生	[29]
miR-124-5p	OGD/R MCAO/R	下调	NOX2	过表达后抑制靶基因表达,减少 ROS 产生	[30]

续表 1

miRNAs	实验模型	CI-RI 后变化	靶 mRNAs	调控机制	参考文献
miR-217	OGD/R	上调	SIRT1	抑制表达后促进靶基因表达,减少 ROS、MDA,增加 SOD 产生	[31]
miR-135a	OGD/R	上调	GSK-3 β	抑制表达后促进靶基因表达,减少 ROS、MDA,增加 SOD 产生	[32]
miR-7a-5p	MCAO/R	下调	α -Syn	过表达后抑制靶基因表达,减少 3-NT 产生	[33]
miR-375	MCAO/R	下调	Ctgf	过表达后抑制靶基因表达,减少 ROS、MDA,增加 SOD 产生	[34]
miR-29a	MCAO/R	下调	PUMA	过表达后抑制靶基因表达,减少 ROS、MMP 产生	[35]
miR-421	OGD/R	上调	MCL1	抑制表达后促进靶基因表达,减少 MDA,增加 SOD 产生	[36]
miR-224-3p	OGD/R	上调	FIP200	抑制表达后促进靶基因表达,减少 ROS 产生	[15]
与炎症反应相关					
miR-193b-3p	MCAO/R	上调	5-LOX	抑制靶基因表达,减少炎症介质 LTB4 和 LysLTs 表达	[37]
miR-223	MCAO/R	下调	NLRP3	过表达后抑制靶基因表达,减少炎症因子 IL-1 β 和 IL-18 表达	[38]
miR-19a-3p	OGD/R	上调	IGFBP3	抑制表达后促进靶基因表达,减少炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 产生	[39]
miR-155	OGD/R MCAO/R	上调	MafB	抑制表达后促进靶基因表达,减少炎症因子 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 和 iNOS 等产生	[40]
miR-211-5p	OGD/R MCAO/R	下调	COX-2	过表达后抑制靶基因表达,减少炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和促炎介质 PGD2 等产生	[41]
miR-338-5p	OGD/R MCAO/R	下调	Ctgf	过表达后抑制靶基因表达,减少炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 产生	[42]
miR-544	MCAO/R	下调	IRAK4	过表达后抑制靶基因表达,减少炎症因子 TNF- α 和 IL-1 β 表达,抑制小胶质细胞活化	[11]
miR-182-5p	OGD/R	下调	TLR4	过表达后抑制 TLR4 炎症通路,减少小胶质细胞 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 表达	[43]
miR-217	OGD/R	上调	SIRT1	抑制表达后促进靶基因表达,抑制 NF- κ B 炎症通路,减少炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 表达	[31]
miR-146a	MCAO/R	下调	IRAK1	过表达后抑制靶基因表达而抑制 NF- κ B 炎症通路,减少炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 表达	[44]
miR-22	MCAO/R	下调	NF- κ B	过表达后抑制 NF- κ B 炎症通路,减少炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 iNOS 表达	[45]
与兴奋性氨基酸毒性相关					
miR-107	MCAO/R	上调	GLT-1	抑制表达后促进靶基因表达,减少谷氨酸的兴奋性毒性作用	[46]
miR-1000	MCAO/R	下调	VGlut	过表达后抑制靶基因表达,抑制谷氨酸的兴奋性毒性作用	[47]
miR-223	MCAO/R	下调	GluR2 NR2B	过表达后抑制靶基因表达,减轻谷氨酸的兴奋性毒性损伤作用	[48]
与细胞自噬相关					
miR-30	OGD/R MCAO/R	下调	Beclin1	过表达后靶向抑制自噬相关蛋白 Beclin1 表达而抑制自噬	[49]
miR-298	OGD/R MCAO/R	下调	Act1	过表达后抑制靶基因表达,增加 Beclin1 生成而促进自噬	[50]
miR-138	OGD/R MCAO/R	下调	SIRT1	过表达后抑制靶基因表达,减少 LC3 II/LC3 I 和 Beclin1 生成而抑制自噬	[13]
miR-202-5p	OGD/R MCAO/R	下调	eIF4E	过表达后抑制靶基因表达,减少 LC3 II/LC3 I 生成而抑制自噬	[51]
miR-124	OGD/R MCAO/R	上调	PI3K	抑制表达后靶向促进 PI3K/AKT2 通路而抑制自噬	[52]
与血脑屏障功能相关					
miR-539	MCAO/R	下调	MMP-9	过表达后靶向抑制靶基因表达而增加细胞跨内皮电阻,降低 BBB 通透性	[53]
miR-21	MCAO/R	下调	MAP2K	过表达后抑制靶基因表达,从而抑制 MAPK 通路,减轻 BBB 损伤	[54]
miR-429	OGD/R	下调	Cxcl1	过表达后抑制靶基因表达,减轻脑微血管内皮细胞损伤	[55]
miR-149-5p	OGD/R MCAO/R	下调	SIPR2	过表达后抑制靶基因表达,从而抑制周细胞迁移,降低 BBB 通透性	[56]

1 miRNAs-mRNAs 轴与 CI-RI 后细胞凋亡

凋亡是细胞在生理或病理状态下的一种程序性死亡方式,主要受抗凋亡和促凋亡 2 种凋亡相关蛋白调节。miRNAs-mRNAs 轴在凋亡相关蛋白调控中发挥重要作用,通过促进或抑制促凋亡或抗凋亡蛋白的表达来促进或抑制 CI-RI 后神经细胞的凋亡。B 细胞淋巴瘤-2(B cell lymphoma-2, Bcl-2)家族蛋白在调节细胞凋亡中起核心作用,包括抗凋亡蛋白(如 Bcl-2 和 Bcl-XL)、促凋亡蛋白(如 Bax 和 Bak)和 Bcl-2 同源域 3(BH3)蛋白(如 Bad、Bid 和 Bim)^[6]。Zheng YY 等^[7]研究发现,在氧糖剥夺/复氧复糖(oxygen-glucose deprivation/reoxygenation, OGD/R)——CI-RI 的体外细胞模型中,miR-29a 的表达明显降低,过表达 miR-29a 可通过靶向抑制水通道蛋白 4(aquaporin, AQP4)的表达促进 Bcl-2、抑制 Bax 的生成而减少神经细胞的凋亡。Qi DB 等^[8]研究表明,过表达 miR-99b 可以靶向抑制 1 型胰岛素样生长因子受体(type 1 insulin-like growth factor receptor, IGF1R)的表达来促进 Bcl-2 和抑制 Bax 的生成。同样的,过表达 miR-496 可以直接靶向抑制 BCL2L14(Bcl-2 促凋亡蛋白家族成员)的表达而减少 OGD/R 诱导的细胞凋亡^[9]。此外, Jiang DX 等^[6]研究证实,上调 miR-874-3p 可直接以 BMF 和 BCL2L13 两个促凋亡蛋白家族成员为靶基因,抑制其表达而减少 OGD/R 所致的细胞凋亡。Li PF 等^[10]研究发现,miR-106b-5p 在 OGD/R 处理的神经细胞中表达明显上调,并通过靶向抑制 Mcl-1(Bcl-2 抗凋亡蛋白家族成员)的表达使 Bax 生成增加而促进凋亡。在 CI-RI 的常用体内动物模型——大脑中动脉闭塞-再灌注(middle cerebral artery occlusion-reperfusion, MCAO/R)损伤模型中, Fang R 等^[11]研究发现,过表达 miR-544 通过靶向抑制白介素 1 受体相关激酶 4(interleukin 1 receptor related kinase 4, IRAK4)的表达减少 Bax 和增加 Bcl-2 生成而抑制小鼠脑组织神经元凋亡。在细胞 OGD/R 和大鼠 MCAO/R 模型研究中,上调 miR-26a-5p 能够靶向抑制死亡相关蛋白激酶 1(death-related protein kinase 1, DAPK1)的表达来抑制 Bax 和促进 Bcl-2 生成来减少细胞凋亡^[12];而下调 miR-138 通过靶向促进去乙酰化酶 1(sirtuin1, SIRT1)的表达抑制 Bax 和促进 Bcl-2 生成^[13]。Lu MY 等^[14]研究发现,过表达 miR-219a-5p 通过靶向抑制磷酸二酯酶 4D(phosphodiesterase 4D, Pde4d)的表达而抑制细胞凋亡。

半胱氨酸蛋白酶(cysteine protease, Caspase)家族是促进凋亡的重要蛋白家族,也是各种凋亡途径的共同通路。Deng YM 等^[15]研究证实,上调 miR-224-3p 通过靶向抑制 FAK 家族相互作用蛋白 200(FAK family interacting protein 200, FIP200)的表达抑制 Caspase-3 生成从而减轻 OGD/R 所致的神经元凋亡。GATA 结合蛋白(GATA)与转录因子 GATA 结

合而发挥作用。Jing HY 等^[16]研究发现, OGD/R 后神经细胞 miR-155 明显上调,并通过靶向抑制 GATA3 的表达促进 Caspase-3 的生成,从而加重细胞凋亡。另有研究表明,miR-429 上调则以 GATA4 为靶基因增加 Caspase-3 的产生而促进 OGD/R 诱导的神经元凋亡^[17]。Wang JZ 等^[18]研究表明,抑制 miR-10a 表达能直接靶向作用于磷脂酰肌醇-3 激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K),从而激活 PI3K/Akt/mTOR 信号通路,下调 Caspase-3 和 Caspase-9 的表达,抑制 OGD/R 诱导的神经细胞凋亡。Shi FK 等^[19]研究发现,过表达 miR-137 抑制了靶基因 Notch1 表达,从而抑制 Notch1/Hes1 信号通路,减少 OGD/R 后海马神经细胞中 Caspase-3 生成。此外,在小鼠 PC12 神经细胞 OGD/R 模型和 MCAO/R 模型中,过表达 miR-211 都能够抑制 p53 正向凋亡调控因子(p53 upregulated modulator of apoptosis, PUMA)表达而减少 Caspase-3 生成,抑制细胞凋亡^[3]。

许多 miRNAs 也能通过直接作用于靶基因而抑制 CI-RI 后的细胞凋亡。Zhu F 等^[20]研究发现,上调 miR-124 靶向抑制 Ku70 的表达,从而减少大鼠 MCAO/R 后脑组织中神经细胞的凋亡。下调 miR-223 则以 IGF1R 为靶基因促进 OGD/R 后神经元的增殖和抑制凋亡^[21]。抑制 miR-370 的表达可以靶向促进去乙酰化酶 6(sirtuin1, SIRT6)的表达而抑制 CI-RI 后神经细胞的凋亡^[22]。Rho 是小分子 GTPase 超家族的一员,在细胞生化调控中起重要作用, Han XR 等^[23]研究发现,miR-431 能靶向抑制 Rho 的表达而抑制 OGD/R 和 MCAO/R 诱导的大鼠海马神经元凋亡。

2 miRNAs-mRNAs 轴与 CI-RI 后氧化应激

CI-RI 后活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)等氧化物质大量生成及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)等抗氧化物质的生成减少往往给缺血部位的神经细胞带来不可逆的氧化性损伤,最终导致细胞死亡。近年大量研究发现,许多 miRNAs 能调控其靶基因参与 CI-RI 诱导的氧化应激反应,促进或抑制神经细胞的氧化应激损伤。核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor-E2-related factor 2, Nrf2)/抗氧化反应元件(antioxidant reaction components, ARE)信号通路是细胞抗氧化应激反应的关键通路^[24]。Wang N 等^[25]研究发现,抑制 miR-142-5p 的表达直接以 Nrf2 为靶基因激活 Nrf2/ARE 信号通路,增加 SOD,减少 MDA,从而减轻 OGD/R 诱导的氧化应激损伤。Ji Q 等^[26]研究表明,在海马神经元 OGD/R 模型中,下调 miR-153 能以 Nrf2 为靶基因激活 Nrf2/ARE 信号通路保护神经元免受氧化应激损伤。在大鼠 MCAO/R 损伤模型中,下调 miR-144^[24]和 miR-93^[27]能靶向促进 Nrf2 的表达,激活 Nrf2/ARE 通路来减少 ROS 的生成对抗缺血脑组织的氧化应激损伤。Li YR

等^[28]研究发现,下调 miR-144-3p 以 Brahm 相关基因 1(brahm related gene, Brg1) 为靶点上调 Nrf2 的表达,减轻 OGD/R 所致的氧化应激损伤。NADPH 氧化酶 2(NADPH-oxidase 2, NOX2)是促进氧化应激反应的一种重要蛋白酶。研究发现,在体内和体外 CI-RI 实验模型中,过表达 miR-652 和 miR-124-5p 均能直接以 NOX2 为靶基因抑制其表达,从而抑制 ROS 的产生,减轻氧化应激损伤^[29-30]。

此外,在 OGD/R 处理的神经细胞中,miR-217 表达明显上调,并通过靶向抑制 SIRT1 促进 ROS、MDA 和抑制 SOD 的生成,加重氧化应激损伤^[31];miR-224-3p 表达上调通过靶向抑制 FIP200 促进 ROS 的生成^[32];而 miR-135a 上调则通过靶向抑制糖原合成激酶 3 β (glycogen synthesis kinase3 β , GSK-3 β)来促进 ROS 和抑制 SOD 的产生,加重神经细胞的氧化损伤^[32]。在 MCAO/R 处理的动物模型中,miR-7a-5p 表达明显下调,通过以 α -Synuclein(α -Syn)为靶基因,促进小鼠缺血脑组织中 3-硝基酪氨酸(3-nitrotyrosine, 3-NT)的生成,加重组织氧化损伤^[33];miR-375 表达下调以结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, Ctgf)为靶基因促进大鼠脑组织中 ROS 和 MDA 的产生^[34];而 miR-29a 的表达下调靶向促进凋亡调控因子 PUMA 的表达增加了大鼠脑组织中氧化物质基质金属蛋白(matrix metalloprotein, MMP)和 ROS 的产生^[35]。Yue YH 等^[36]研究发现,抑制 miR-421 的表达通过靶向促进髓细胞白血病 1(myeloid cell leukemia 1, MCL1)的表达增加了 SOD 和减少了 MDA 的生成,减轻了氧化应激损伤。

3 miRNAs-mRNAs 轴与 CI-RI 后炎症反应

炎症反应是造成 CI-RI 后脑组织继发性损伤的主要原因之一,脑缺血-再灌注后,大量细胞因子和炎性介质的生成通过诱发炎症级联瀑布效应加重了缺血部位脑组织的损伤,miRNAs-mRNAs 调控轴在 CI-RI 后神经炎症反应的过程中发挥了重要调控作用。Chen ZH 等^[37]研究发现,在大鼠 MCAO/R 模型中,CI-RI 后 miR-193b-3p 的表达明显升高,并通过靶向抑制 5-脂氧合酶(5-lipoxygenase, 5-LOX)的表达降低大鼠缺血脑组织中炎症介质白三烯 B4(leukotriene B4, LTB4)和半胱氨酸白三烯(cysteine leukotriene, CysLTs)的产生,抑制炎症反应。Sha R 等^[38]研究表明,电针治疗能通过上调 miR-223 而靶向抑制核苷酸结合域样受体 3 (nucleotide-binding domain-like receptor 3, NLRP3) 的表达减少 MCAO/R 大鼠脑组织中细胞因子白介素 (interleukin, IL)-1 β 和 IL-18 的生成,从而改善 CI-RI。过表达 miR-544 则通过靶向抑制白介素-1 受体相关激酶 4(interleukin-1 receptor associated kinase 4, IRAK4)的表达减少 MCAO/R 小鼠缺血脑组织中 IL-1 β 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的生成,同时抑制小胶质细胞的活化^[39]。Chai ZH 等^[39]研究发现,下调

miRNA-19a-3p 的表达通过靶向上调胰岛素样生长因子结合蛋白 3(insulin-like growth factor binding protein 3, IGFBP3) 的表达而抑制 CI-RI 后炎症因子的产生。另有研究表明,下调 miR-155 的表达通过靶向促进肌腱膜纤维肉瘤癌基因 B (musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene B, MafB) 的表达而抑制 CI-RI 后的炎症反应^[40]。Peng Z 等^[41]研究证实,过表达 miR-211-5p 以环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)为靶基因,抑制 CI-RI 后 IL-1 β 、TNF- α 等的产生,减轻缺血脑组织的炎症反应。Yi XJ 等^[42]研究发现,过表达 miR-338-5p 以 Ctgf 为靶基因抑制其表达,降低炎症介质的产生,改善 CI-RI。

Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4)是重要的炎症反应信号通路受体。Wang J 等^[43]研究表明,在 OGD/R 诱导的小胶质细胞中,过表达 miR-182-5p 通过以 TLR4 为靶基因抑制其表达而减少 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的释放,减轻细胞 CI-RI。NF- κ B 是位于 Toll 样受体下游参与炎症信号通路、激活炎症反应的一种重要蛋白质复合物,核因子- κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B)信号通路也是最常见的炎症反应信号通路之一。Rao GF 等^[31]研究证实,抑制 miR-217 的表达通过以 SIRT1 为靶基因抑制了胞核 NF- κ B 的表达,从而减少 OGD/R 诱导的神经元中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的生成。在小鼠 MCAO/R 模型中,上调 miR-146a 能靶向抑制白介素-1 受体相关激酶 1(interleukin-1 receptor associated kinase 1, IRAK1) 的表达而抑制 NF- κ B 的产生,减轻缺血脑组织的炎性损伤^[44]。Yu HY 等^[45]研究发现,过表达 miR-22 直接靶向抑制 NF- κ B 的表达,从而减少 MCAO/R 模型大鼠缺血脑组织中炎症因子 IL-6、TNF- α 和诱导型一氧化氮合成酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)的产生,抑制炎症反应。

4 miRNAs-mRNAs 轴与 CI-RI 后兴奋性氨基酸毒性作用

CI-RI 后脑组织中兴奋性氨基酸的神经毒性作用明显增强,兴奋性氨基酸如谷氨酸的大量释放及其相关受体数目的增多都会给缺血部位神经细胞产生毒性作用,造成细胞死亡。相关研究发现,miRNAs-mRNAs 调控轴能够影响 CI-RI 后神经细胞内兴奋性氨基酸及相关受体的表达。Yang ZB 等^[46]研究发现,紫草酸镁 B(magnesium lithospermate B, MLB)治疗 MCAO/R 损伤的大鼠后,通过下调 miR-107 靶向促进谷氨酸转运蛋白 1(glutamate transporter 1, GLT-1)表达,从而降低缺血脑组织中谷氨酸(glutamate, GLU)蓄积,减轻其神经毒性作用。Verma P 等^[47]研究表明,过表达 miR-1000 能够靶向抑制囊泡膜谷氨酸转运体(vesicular glutamate transporter, VGlut)表达,抑制谷氨酸对神经元的兴奋性毒性作用。Harras MM 等^[48]对小鼠短暂全脑缺血再灌注损伤的研究发现,上调 miR-223 能通过谷氨酸受体亚单位 GluR2 和 NR2B 3'-

UTR靶点来降低 GluR2 和 NR2B 水平,保护脑细胞免受短暂性全脑缺血-再灌注诱导的兴奋性毒性损伤。

5 miRNAs-mRNAs 轴与 CI-RI 后细胞自噬

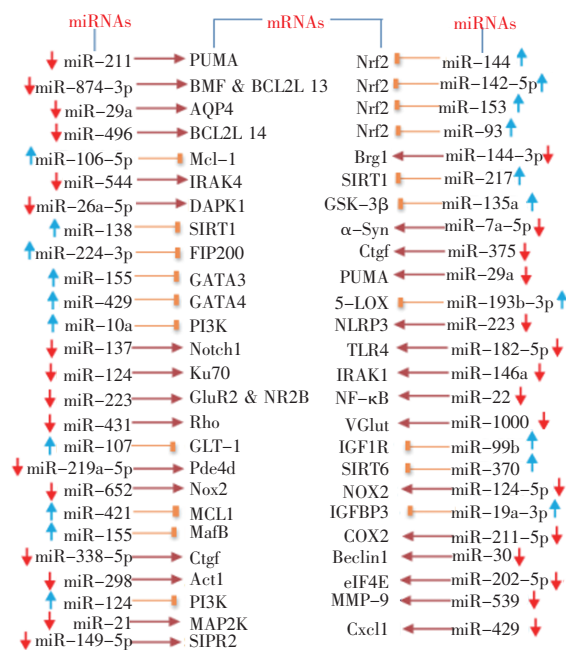
自噬对维持细胞内环境的稳定具有重要作用。近年研究表明,自噬参与 CI-RI 的病理过程,越来越多的研究证实 miRNAs-mRNAs 轴能调控 CI-RI 后神经细胞的自噬,对 CI-RI 产生不同影响。Wang P 等^[49]研究表明,下调 miR-30a 的表达以自噬相关基因 Beclin1 为靶基因,促进 CI-RI 后 Beclin1 介导的神经细胞自噬,改善 CI-RI。Sun HX 等^[50]研究发现,过表达 miR-298 通过靶向抑制 NF- κ B 激活剂 1(Act1)的表达而促进 Beclin1 介导的细胞自噬,加重了 CI-RI。Tian F 等^[13]通过体内实验共同证实,过表达 miR-138 通过靶向抑制 SIRT1 表达,降低 LC3 II/LC3 I 和 Beclin1 蛋白表达,最终抑制神经细胞自噬而改善 CI-RI。Li B 等^[51]研究发现,在细胞 OGD/R 模型和大鼠 MCAO/R 模型中,过表达 miR-202-5p 以真核翻译启动因子 4E(eukaryotic translation initiation factor 4E, eIF4E)为靶点抑制其表达从而使 LC3 II/LC3 I 蛋白表达降低,抑制细胞自噬,改善神经功能。Miao W 等^[52]研究表明,miR-124 以 PI3K 为直接靶基因参与 CI-RI 损伤过程,下调 miR-124 可以上调 PI3K 表达,从而激活 PI3K/AKT2 信号通路抑制 CI-RI 后神经细胞的自噬作用,发挥神经保护效应。

6 miRNAs-mRNAs 轴与 CI-RI 后血脑屏障功能

血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)功能受损是 CI-RI 的主要病理现象之一。CI-RI 可引起 BBB 破坏,进一步增加脑血管通透性,加重脑梗死^[53]。miRNAs-mRNAs 轴对 BBB 的通透性也具有调控作用。Fan F 等^[53]研究发现,在大鼠 MCAO/R 损伤模型中,过表达 miR-539 能靶向抑制基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)表达,通过伊文思蓝染色荧光检测发现 BBB 的通透性明显降低,表明 miR-539-MMP-9 轴能减轻 CI-RI 对 BBB 的破坏。Yao XF 等^[54]研究证实,过表达 miR-21 通过靶向抑制丝裂原激活蛋白激酶 3(mitogen activated protein kinase 3, MAP2K3)的表达而抑制 MAPK 信号通路,降低 MMP-9 的产生,对 CI-RI 后 BBB 的损伤具有保护作用。脑微血管内皮细胞、周细胞等是 BBB 的重要构成部分,对维持 BBB 的稳定具有重要作用。Leng J 等^[55]通过体外实验研究发现,上调 miR-429 表达能通过靶向抑制趋化因子 Cxcl1 的表达而减轻 OGD/R 诱导的脑微血管内皮细胞损伤。Wan Y 等^[56]研究表明,过表达 miR-149-5p 通过靶向抑制鞘氨醇-1-磷酸受体 2(sphingosine-1-phosphate receptor 2, S1PR2)表达而抑制周细胞迁移,减少 BBB 渗漏,降低 CI-RI 后 BBB 的通透性。

7 结 语

CI-RI 机制比较复杂,细胞凋亡、氧化应激、炎症反应、兴奋性氨基酸毒性作用、细胞自噬和 BBB 功能受损等病理损伤过程相互交错或促进,从而加重脑组织缺血后的再灌注损伤。通过 3'-UTR 双荧光素酶报告基因实验验证的 miRNAs 对 mRNAs 的靶向调控网络广泛参与脑缺血-再灌注损伤(图 1)。miRNAs-mRNAs 轴的调控作用几乎囊括 CI-RI 所有的病理机制过程,为 CI-RI 治疗带来广阔的前景。然而,miRNAs 及其靶基因的种类和功能纷繁复杂,离临床应用应用还有很长的路要走,还需进行更多更深入的研究去探索。



注: ↓和 ↑分别表示脑缺血-再灌注损伤后 miRNAs 表达“上调”和“下调”; —和 -分别表示“促进”和“抑制”

图 1 参与 CI-RI 的 miRNAs-mRNAs 调控网络示意图

参 考 文 献

- [1] 秦莉花, 黄 娟, 李 晟, 等. 脑卒中流行病学及与性激素的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(20): 5099-5103.
- [2] Qin LH, Huang J, Li S, et al. Epidemiology of stroke and its correlation with sex hormones[J]. Chin J Gerontol, 2018, 38(20): 5099-5103.
- [3] Hong P, Li FX, Gu RN, et al. Inhibition of NLRP3 inflammasome ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury in diabetic mice[J]. Neural Plast, 2018, 2018: 9163521.
- [4] Liu WY, Miao YQ, Zhang L, et al. miR-211 protects cerebral is-

- chemia/reperfusion injury by inhibiting cell apoptosis[J]. Bioengineered, 2020, 11(1): 189–200.
- [4] Liu ZY, Wang JY, Li YJ, et al. microRNA-153 regulates glutamine metabolism in glioblastoma through targeting glutaminase[J]. Tumour Biol, 2017, 39(2): 1010428317691429.
- [5] You WD, Tang QL, Wang L, et al. Alteration of microRNA expression in cerebrospinal fluid of unconscious patients after traumatic brain injury and a bioinformatic analysis of related single nucleotide polymorphisms[J]. Zhonghua Chuang Shang Za Zhi, 2016, 19(1): 11–15.
- [6] Jiang DX, Sun XH, Wang SW, et al. Upregulation of miR-874-3p decreases cerebral ischemia/reperfusion injury by directly targeting BMF and BCL2L13[J]. Biomedicine Pharmacother, 2019, 117: 108941.
- [7] Zheng YY, Pan CF, Chen ML, et al. miR-29a ameliorates ischemic injury of astrocytes *in vitro* by targeting the water channel protein aquaporin 4[J]. Oncol Rep, 2019, 41(3): 1707–1717.
- [8] Qi DB, Wang W, Zhang Y, et al. miR-99b regulates cerebral ischemia neuronal injury through targeting IGF1R[J]. Panminerva Med, 2020[Epub ahead of print]. DOI:10.23736/S0031-0808.20.03920-8.
- [9] Yao XX, Yao R, Yi JP, et al. Upregulation of miR-496 decreases cerebral ischemia/reperfusion injury by negatively regulating BCL2L14[J]. Neurosci Lett, 2019, 696: 197–205.
- [10] Li PF, Shen MH, Gao F, et al. An antagomir to microRNA-106b-5p ameliorates cerebral ischemia and reperfusion injury in rats via inhibiting apoptosis and oxidative stress[J]. Mol Neurobiol, 2017, 54(4): 2901–2921.
- [11] Fang R, Zhao NN, Zeng KX, et al. microRNA-544 inhibits inflammatory response and cell apoptosis after cerebral ischemia reperfusion by targeting IRAK4[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(17): 5605–5613.
- [12] Wei R, Zhang L, Hu W, et al. Long non-coding RNA AK038897 aggravates cerebral ischemia/reperfusion injury via acting as a ceRNA for miR-26a-5p to target DAPK1[J]. Exp Neurol, 2019, 314: 100–110.
- [13] Tian F, Yuan C, Yue HM. miR-138/SIRT1 axis is implicated in impaired learning and memory abilities of cerebral ischemia/reperfusion injured rats[J]. Exp Cell Res, 2018, 367(2): 232–240.
- [14] Lu MY, Wu JR, Liang RB, et al. Upregulation of miR-219a-5p decreases cerebral ischemia/reperfusion injury *in vitro* by targeting Pde4d[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2020, 29(6): 104801.
- [15] Deng YM, Ma GT, Dong QH, et al. Overexpression of miR-224-3p alleviates apoptosis from cerebral ischemia reperfusion injury by targeting FIP200[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(10): 17151–17158.
- [16] Jing HY, Liu LY, Jia Y, et al. Overexpression of the long non-coding RNA Oprm1 alleviates apoptosis from cerebral ischemia-reperfusion injury through the Oprm1/miR-155/GATA3 axis[J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2019, 47(1): 2431–2439.
- [17] Xiao J, Kong RR, Hu JY. Inhibition of microRNA-429 attenuates oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced neuronal injury by promoting expression of GATA-binding protein 4[J]. Neuroreport, 2018, 29(9): 723–730.
- [18] Wang JZ, Wang AL, He HB, et al. Trametenolic acid B protects against cerebral ischemia and reperfusion injury through modulation of microRNA-10a and PI3K/Akt/mTOR signaling pathways[J]. Biomedicine Pharmacother, 2019, 112: 108692.
- [19] Shi FK, Dong ZL, Li HL, et al. microRNA-137 protects neurons against ischemia/reperfusion injury through regulation of the Notch signaling pathway[J]. Exp Cell Res, 2017, 352(1): 1–8.
- [20] Zhu F, Liu JL, Li JP, et al. microRNA-124(miR-124) regulates Ku70 expression and is correlated with neuronal death induced by ischemia/reperfusion[J]. J Mol Neurosci, 2014, 52(1): 148–155.
- [21] Feng SJ, Zhang XQ, Li JT, et al. miRNA-223 regulates ischemic neuronal injury by targeting the type 1 insulin-like growth factor receptor(IGF1R)[J]. Folia Neuropathol, 2018, 56(1): 49–57.
- [22] Ruan ZF, Xie M, Gui SJ, et al. miR-370 accelerated cerebral ischemia reperfusion injury via targeting SIRT6 and regulating Nrf2/ARE signal pathway[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2020, 36(9): 741–749.
- [23] Han XR, Wen X, Wang YJ, et al. Protective effects of microRNA-431 against cerebral ischemia-reperfusion injury in rats by targeting the Rho/Rho-kinase signaling pathway[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(8): 5895–5907.
- [24] Chu SF, Zhang Z, Zhou X, et al. Ginsenoside Rg1 protects against ischemic/reperfusion-induced neuronal injury through miR-144/Nrf2/ARE pathway[J]. Acta Pharmacol Sin, 2019, 40(1): 13–25.
- [25] Wang N, Zhang LM, Lu Y, et al. Down-regulation of microRNA-142-5p attenuates oxygen-glucose deprivation and reoxygenation-induced neuron injury through up-regulating Nrf2/ARE signaling pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 89: 1187–1195.
- [26] Ji Q, Gao JB, Zheng Y, et al. Inhibition of microRNA-153 protects neurons against ischemia/reperfusion injury in an oxygen-glucose deprivation and reoxygenation cellular model by regulating Nrf2/HO-1 signaling[J]. J Biochem Mol Toxicol, 2017, 31(7): 21905.
- [27] Wang P, Liang XY, Lu YJ, et al. microRNA-93 downregulation ameliorates cerebral ischemic injury through the Nrf2/HO-1 defense pathway[J]. Neurochem Res, 2016, 41(10): 2627–2635.
- [28] Li YR, Zhao YL, Cheng MK, et al. Suppression of microRNA-144-3p attenuates oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced neuronal injury by promoting Brg1/Nrf2/ARE signaling[J]. J Biochem Mol Toxicol, 2018, 32(4): e22044.
- [29] Zuo ML, Wang AP, Song GL, et al. miR-652 protects rats from cerebral ischemia/reperfusion oxidative stress injury by directly targeting NOX2[J]. Biomedicine Pharmacother, 2020, 124: 109860.
- [30] Wu YK, Yao J, Feng K. miR-124-5p/NOX2 axis modulates the ROS production and the inflammatory microenvironment to protect against the cerebral I/R injury[J]. Neurochem Res, 2020, 45(2): 404–417.
- [31] Rao GF, Zhang WF, Song SG. microRNA-217 inhibition relieves cerebral ischemia/reperfusion injury by targeting SIRT1[J]. Mol Med Rep, 2019, 20(2): 1221–1229.

- [32] Liu XB, Li M, Hou MS, et al. microRNA-135a alleviates oxygen-glucose deprivation and reoxygenation-induced injury in neurons through regulation of GSK-3 β /Nrf2 signaling[J]. J Biochem Mol Toxicol, 2018, 2018; e22159.
- [33] Kim T, Mehta SL, Morris-Blanco KC, et al. The microRNA miR-7a-5p ameliorates ischemic brain damage by repressing α -synuclein[J]. Sci Signal, 2018, 11(560): eaat4285.
- [34] Ou JY, Kou L, Liang LY, et al. miR-375 attenuates injury of cerebral ischemia/reperfusion via targetting Ctgf[J]. Biosci Rep, 2017, 37(6): BSR20171242.
- [35] Ouyang YB, Xu LJ, Lu Y, et al. Astrocyte-enriched miR-29a targets PUMA and reduces neuronal vulnerability to forebrain ischemia[J]. Glia, 2013, 61(11): 1784-1794.
- [36] Yue YH, Zhao HW, Yue YY, et al. Downregulation of microrna-421 relieves cerebral ischemia/reperfusion injuries; involvement of anti-apoptotic and antioxidant activities[J]. Neuromolecular Med, 2020, 22(3): 411-419.
- [37] Chen ZH, Yang JQ, Zhong JJ, et al. microRNA-193b-3p alleviates focal cerebral ischemia and reperfusion-induced injury in rats by inhibiting 5-lipoxygenase expression[J]. Exp Neurol, 2020, 327: 113223.
- [38] Sha R, Zhang B, Han XH, et al. Electroacupuncture alleviates ischemic brain injury by inhibiting the miR-223/NLRP3 pathway[J]. Med Sci Monit, 2019, 25: 4723-4733.
- [39] Chai ZH, Gong JB, Zheng PD, et al. Inhibition of miR-19a-3p decreases cerebral ischemia/reperfusion injury by targeting IGFBP3 *in vivo* and *in vitro*[J]. Biol Res, 2020, 53(1): 17.
- [40] Zhang L, Liu C, Huang C, et al. miR-155 knockdown protects against cerebral ischemia and reperfusion injury by targeting MafB[J]. Biomed Res Int, 2020, 2020: 6458204.
- [41] Peng Z, Li MM, Tan XD, et al. miR-211-5p alleviates focal cerebral ischemia-reperfusion injury in rats by down-regulating the expression of COX2[J]. Biochem Pharmacol, 2020, 177: 113983.
- [42] Yi XJ, Fang Q, Li LJ. microRNA-338-5p alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury by targeting connective tissue growth factor through the adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase/mammalian target of rapamycin signaling pathway[J]. Neuroreport, 2020, 31(3): 256-264.
- [43] Wang J, Xu ZM, Chen XF, et al. microRNA-182-5p attenuates cerebral ischemia-reperfusion injury by targeting Toll-like receptor 4[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 505(3): 677-684.
- [44] Chu B, Zhou YD, Zhai H, et al. The role of microRNA-146a in regulating the expression of IRAK1 in cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2018, 96(6): 611-617.
- [45] Yu HY, Wu MC, Zhao P, et al. Neuroprotective effects of viral overexpression of microRNA-22 in rat and cell models of cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. J Cell Biochem, 2015, 116(2): 233-241.
- [46] Yang ZB, Luo XJ, Ren KD, et al. Beneficial effect of magnesium lithospermate B on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats involves the regulation of miR-107/glutamate transporter 1 pathway[J]. Eur J Pharmacol, 2015, 766: 91-98.
- [47] Verma P, Augustine GJ, Ammar MR, et al. A neuroprotective role for microRNA miR-1000 mediated by limiting glutamate excitotoxicity[J]. Nat Neurosci, 2015, 18(3): 379-385.
- [48] Harraz MM, Eacker SM, Wang XQ, et al. microRNA-223 is neuroprotective by targeting glutamate receptors[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109(46): 18962-18967.
- [49] Wang P, Liang J, Li Y, et al. Down-regulation of miRNA-30a alleviates cerebral ischemic injury through enhancing beclin 1-mediated autophagy[J]. Neurochem Res, 2014, 39(7): 1279-1291.
- [50] Sun HX, Zhong D, Wang C, et al. miR-298 exacerbates ischemia/reperfusion injury following ischemic stroke by targeting Act1[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 48(2): 528-539.
- [51] Li B, Huang Z, Meng J, et al. miR-202-5p attenuates neurological deficits and neuronal injury in MCAO model rats and OGD-induced injury in Neuro-2a cells by targeting eIF4E-mediated induction of autophagy and inhibition of Akt/GSK-3 β pathway[J]. Mol Cell Probes, 2020, 51: 101497.
- [52] Miao W, Yan Y, Bao TH, et al. Ischemic postconditioning exerts neuroprotective effect through negatively regulating PI3K/Akt2 signaling pathway by microRNA-124[J]. Biomedicine Pharmacother, 2020, 126: 109786.
- [53] Fan F, Yang J, Xu YJ, et al. miR-539 targets MMP-9 to regulate the permeability of blood-brain barrier in ischemia/reperfusion injury of brain[J]. Neurochem Res, 2018, 43(12): 2260-2267.
- [54] Yao XF, Wang YH, Zhang DY. microRNA-21 confers neuroprotection against cerebral ischemia-reperfusion injury and alleviates blood-brain barrier disruption in rats via the MAPK signaling pathway[J]. J Mol Neurosci, 2018, 65(1): 43-53.
- [55] Leng J, Liu W, Li L, et al. microRNA-429/Cxcl1 axis protective against oxygen glucose deprivation/reoxygenation-induced injury in brain microvascular endothelial cells[J]. Dose Response, 2020, 18(2): 1559325820913785.
- [56] Wan Y, Jin HJ, Zhu YY, et al. microRNA-149-5p regulates blood-brain barrier permeability after transient middle cerebral artery occlusion in rats by targeting S1PR2 of pericytes[J]. FASEB J, 2018, 32(6): 3133-3148.

(责任编辑:唐秋姗)