

神经病学

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.002844

lncRNA/microRNA 调控中枢神经系统损伤后
神经干细胞增殖的研究进展

韩 昆, 马跃文

(中国医科大学附属第一医院康复医学科, 沈阳 110001)

【摘要】非编码 RNA(non-coding RNA, ncRNA)作为影响神经干细胞增殖的潜在靶点,近年来已成为研究改善中枢神经系统损伤的关键影响因素。虽然神经干细胞在成体神经组织中不易增殖,但由于 ncRNA 具有调控细胞更新的作用,且微小 RNA (microRNA, miRNA)与长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)之间作用方式具有复杂性与多样性,因此近年来二者成为调控神经干细胞增殖的研究热点。本文总结近年来 miRNA、lncRNA 及 miRNA 与 lncRNA 共同作用如何影响神经干细胞的增殖,并就目前研究的局限性进行深入分析,并阐述康复医学领域通过物理因子介导神经干细胞增殖的研究,为将来相关领域的研究提供方向。

【关键词】长链非编码 RNA;微小 RNA;非编码 RNA;神经干细胞;增殖;综述

【中图分类号】R742;R34;R49

【文献标志码】A

【收稿日期】2021-01-29

lncRNA/microRNA regulating the proliferation of neural stem cells
after central nervous system injury

Han Kun, Ma Yuewen

(Department of Rehabilitation Medicine, The First Hospital of China Medical University)

【Abstract】As a potential target that affects the proliferation of neural stem cells, non-coding RNA(ncRNA) has become a key influencing factor to improve the damage of central nervous system in recent years. Although neural stem cells are not easy to proliferate in adult neural tissues, ncRNA has the effect of regulating cell renewal, and the interaction between microRNA(miRNA) and long non-coding RNA(lncRNA) is complex and diverse. Therefore, in recent years, the two have become the hot spots of the study of regulating the proliferation of neural stem cells. This article summarizes how miRNA, lncRNA, and the combined effects of miRNA and lncRNA affect the proliferation of neural stem cells in recent years, and conducts an in-depth analysis of the limitations of current research, focusing on the studies of physical agents mediated neural stem cell proliferation in the field of rehabilitation medicine, providing a direction for future research in related fields.

【Key words】long non-coding RNA; microRNA; non-coding RNA; neural stem cells; proliferation; review

中枢神经系统损伤后恢复缓慢,不易再生,患者倍感痛苦并对其生活质量造成极大的困扰。因此促进中枢神经系统损伤后修复是目前神经病学和康复医学的研究热点。

干细胞自我更新并分化形成成熟细胞的能力拓展了细胞层面治愈疾病、帮助患者康复的可能。干细胞不仅存在于胚胎中而且存在于某些成体器官中,成年哺乳动物的中枢神

经系统中存在神经干细胞(neural stem cells, NSC)^[1]。NSC是一种具有自我更新能力的多能细胞,可以分化成多种潜在细胞系,如神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞^[2]。在成年哺乳动物大脑中,内源性 NSC 至少存在于侧脑室外侧壁的室管膜下区(sub ventricular zone, SVZ)和海马齿状回(dentate gyrus, DG)的颗粒下层(sub granular zone, SGZ)^[3-4]。脑损伤后,内源性静息状态的 NSC 活跃并参与脑修复过程。但是,自我修复过程通常是不充分且短暂的。Sorrells SF 等^[5]研究表明,随着年龄增长,神经发生急剧减少, DG 中的 NSC 与神经元前体细胞(neural precursor cells, NPC)的增殖分化达到几乎检测不到的水平。为了促进神经修复过程,过去十年关于促进内源性神经发生或应用外源性 NSC 的神经干细胞疗法研究显著增加。阐明影响 NSC 更新的分子生物学机制是促进脑损伤后恢复的关键。

近年研究表明,表观遗传的修饰性表达,如 DNA 的甲基

作者介绍:韩 昆, Email: khan@cmu.edu.cn,

研究方向:神经系统疾病康复。

通信作者:马跃文, Email: yuewen_m@sina.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:81871840);辽宁省重点研发计划指导计划资助项目(编号:2017225013);沈阳市科技计划人口与健康专项资助项目(编号:19-112-4-064)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20210514.0855.010.html>

(2021-05-17)

化、组蛋白的修饰和非编码 RNA(non-coding RNA, ncRNA) 的调控性表达是影响神经系统发育的重要因素^[6]。既往研究发现, 啮齿动物在出生前后 miR-124 在大脑中的表达十分丰富^[7]。因此本文就长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)、微小 RNA(microRNA, miRNA) 及其之间的调控网络对 NSC 更新、复制的影响进行综述, 着重阐述 miR-124 如何影响 NSC 的表观遗传及翻译, 并就目前利用物理因子通过介导 miRNA 调动内源性 NSC 使其有利于中枢神经损伤的恢复研究进行总结, 意在明晰成体内源性 NSC 的增殖分子机制, 以期对 NSC 增殖研究提供方向。

1 lncRNA 与 miRNA 的简介

1.1 lncRNA

lncRNA 是一种重要的、长度大于 200 nt 的新型非编码 RNA。lncRNA 的数量可能超过蛋白质转录本 mRNA 的数量。由于转录过程中的选择性剪接使 lncRNA 的序列保守性和表达水平低于蛋白编码基因, 但是越来越多的证据证实, 尽管表达水平有限, lncRNA 在许多生物学过程中仍具有关键作用且发挥多种功能。lncRNA 能够参与基因表达的表观遗传调控^[8-9]。其在生长和发育中调控着各种水平的基因表达, 如表观遗传修饰^[10]、转录^[11]、RNA 剪接^[12]、蛋白质组装^[13]等作用。

1.2 miRNA

miRNA 是一种由内源性基因编码的、长度在 22~25 nt 的多功能非编码 RNA。在细胞核内, miRNA 基因组 DNA 转录产生可达 1 000 nt 的初级 miRNA(primary miRNA, pri-miRNA), 然后在特异性核酸酶 Class III RNase(Drosha) 和其辅助因子 Pasha 共同作用下在细胞核中切割成 70~100 nt、具有发卡结构的前体 miRNA(miRNA precursor, pre-miRNA), 这些 pre-miRNA 通过 Exportin-5 蛋白转运出细胞核, 并被第二个双链核酸酶 Dicer 剪切成 22~25 nt 的成熟 miRNA^[14]。

miRNA 通过与 mRNA 的 3'-非编码区(3'-UTR)部分互补性结合, 引导 RNA 诱导沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC)来调节靶 mRNA 的稳定性及其翻译, 在转录水平降解 mRNA 和抑制其翻译, 从而调节下游蛋白质的表达^[14]。

2 miRNA 对 NSC 增殖作用的影响

在大脑中能够表达大量的 miRNA。越来越多的证据表明, miRNA 对于大脑发育和神经元功能至关重要。为了不同调控之间的相互协调, 大脑皮层的发育需要基因和 miRNA 之间的协调表达, 这些基因和 miRNA 在功能上趋同, 以保持适当的分化状态。研究表明啮齿动物在胚胎新皮质中的 miRNA 表达参与调控新皮层的功能^[15-16]。这些研究结果提示, 新皮层发育过程中基因表达是动态变化的, 以及不同 miRNA 之间的作用是协同或者拮抗的。对 miRNA 转录过程中核心成分(如 Dicer 和 DGCR8)的条件性敲除研究表明, miRNA 在中枢神经系统发育过程中起至关重要的作用。此外, 缺失特定 miRNA 的小鼠反映出不同的 miRNA 在影响神经发育过程中

的不同功能。目前已经认为 miRNA 能够调节细胞功能, 例如神经祖细胞的分化、增殖和凋亡。

下面将单独介绍几种已有报道的 miRNA, 特别是 miR-124 在控制 NSC 的静息与增殖状态中所起的作用至关重要。

2.1 miR-124

miR-124 是在成年大脑中特异性表达的最丰富、最具特色的 miRNA 之一^[17]。研究发现, 出生前后 miR-124 在大脑中的表达十分丰富^[18]。

miR-124 可以通过调节靶基因来调节 NSC 的增殖。Jiao SJ 等^[19]利用双荧光素酶报告基因发现 miR-124 与 DACT1 特异性结合, miR-124 的过表达促进 NSC 增殖, miR-124 通过靶向抑制 DACT1 来激活 Wnt/ β -catenin 途径, 促进神经元增殖并诱导 NSC 分化。Wei CX 等^[20]研究表明, miR-124 能够与 PAX3-mRNA 的 3'-UTR 特异性结合抑制 PAX3 的表达而促进 TUBB3 表达, 从而促进 NSC 分化, miR-124 过表达能够激活 PI3K/Akt 和 GSK3 β 途径促进神经元存活和抑制凋亡。同样, Wang J 等^[21]通过将 agomiR-124 注射到已构建的脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)大鼠脊髓背根神经节内, 14 d 后发现显著抑制神经元的减少与星形胶质细胞的激活。他们的研究同时发现, miR-124 能够抑制 Tal1 基因表达, 抑制此基因能够促进 NSC 增殖并抑制其分化。

另有研究表明, miR-124 通过作用于影响细胞增殖的信号通路进而影响细胞增殖。Cui Y 等^[22]在脊髓损伤的小鼠中发现, miR-124 过表达能够促进脊髓神经祖细胞(spinal cord neural precursor cells, SC-NPC)向神经元分化, 并且 miR-124 过表达能够激活 Wnt/ β -catenin 通路从而促进其增殖。

Saraiva C 等^[23-24]通过构建中风的体外模型评估神经保护和神经源性反应, 发现富含 miR-124 的纳米颗粒能够减少氧糖剥夺(oxygen-glucose deprivation, OGD)后的细胞死亡并在体内进行验证, 发现 miR-124 能够促进 SVZ 区域的 NSCs 增殖并向神经元分化。

Åkerblom M 等^[25]通过 miR-124 海绵构建抑制 miR-124 的表达模型, 发现小鼠 SVZ 区域的神经元表达减少取而代之的是神经胶质细胞, 相反, miR-124 过表达能够促进干细胞由 SVZ 区域向嗅球(olfactory bulb, OB)方向迁移。

2.2 miR-138-5p

影响 NSC 增殖的另一个重要 miRNA 是 miR-138-5p。TRIP6 分子是影响 NSC 增殖与自我更新的重要分子, 研究表明 miR-138-5p 与 TRIP6 分子的表达成负相关, 即 miR-138-5p 的过表达能够抑制 TRIP6 分子的表达从而抑制 NSC 增殖^[26]。

2.3 miR-9

miR-9 是一种高度保守并且在胚胎与成年脑发育时期特异性表达的 miRNA。miR-9 在控制神经干细胞维持和增殖中具有调节功能, 其能够抑制孤儿核受体 Tailless 样蛋白(tailless-like protein, TLX)表达, 从而减少 NSCs 增殖及过早分化^[27]。TLX 则抑制 miR-9 pri-miRNA 的表达。在成年斑马鱼大脑中, 发现 miR-9 在静息状态下的 NSC 表达增加。研究表明, 在静息状态下, miR-9 被转运到细胞核, 通过 Notch 信号触发级联反应, 使 NSC 保持静息状态而抑制 NSC 增殖, 随着 NSC 的衰老, miR-9 的表达量也会增加^[28]。

2.4 miRNA lethal-7b

miRNA lethal-7b(let-7b)的表达与 Hmga2 基因的表达呈负相关趋势,Hmga2 基因的表达产物 HMGA2 蛋白作为增强子的组成部分,调节基因的表达,HMGA2 通过抑制 Ink4a/Arf 基因的表达从而增强胎儿和成体 NSC 的增殖能力,然而 Hmga2 的表达受 let-7b 调控。随着年龄增长,let-7b 表达增加,从而抑制 Hmga2 基因表达,抑制 NSC 增殖^[29]。因此 let-7b/Hmga2 的调控表达能够影响 NSC 的自我更新和衰老。

2.5 miR-204

Lepko T 等^[30]研究表明,静息状态下的 NSC 中 miR-204 表达水平最高。当研究者向小鼠体内注射 miR-204 antagomiR (antimiR-124)时,过低表达的 miR-204 能够解除 SVZ 区域的 NSC 静息状态,并促进 NSCs 的增殖活化和神经细胞的增多;与此同时,鉴于 SVZ 区域的 NSC 位于脑室侧壁上,与脑脊液直接接触,研究者发现 miR-204 是由脉络丛释放进入脑脊液循环中从而调控 NSC 的静息与增殖。

2.6 miR-34a

虽然近几年绝大多数研究发现,miR-34a 参与调控 NSC 分化,但也有研究者发现 miR-34a 能够影响 NSC 增殖。廖伟等^[31]研究发现,脑缺血后 1 d、3 d、7 d 时的 SD 大鼠 SVZ 区域的 Nestin+细胞计数逐渐增加,miR-34a 的表达量变化趋势与 Nestin+细胞数量的变化趋势相吻合,且二者具有相关性,因此可以认为,在脑缺血性中风发生后,miR-34a 的过表达可以调控内源性 NSC 的增殖。

2.7 miR-135a-5p

令人惊讶的是,运动能够调控某些 miRNA 的表达。Pons-Espinal M 等^[32]研究发现,增加体育锻炼后,小鼠 DG 区域的 NPC 明显增殖,且伴随 miR-135a-5p 表达量明显降低;同样的,抑制 miR-135a-5p 的表达能够激活静息状态下的 NPC,增加神经发生,但并不会引起星形胶质细胞增加。总之,研究表明运动也可以通过介导 miRNA 的表达来调控 NSC 增殖。

2.8 miR-126

miR-126 对 NSC 增殖的影响同样需要引起注意。既往研究发现,体外促进 NSC 增殖的培养中,miR-126 的表达量明显增加。Zhang QJ 等^[33]研究发现,将 miR-126 模拟物转移到人源性 NSC 中促使其过表达,结果显示 NSCs 明显增殖并且减少其凋亡。有趣的是,近年来也有研究者发现 miR-126 通过与基因 EGFL7 相互作用来抑制体外培养的原代 NSC 增殖,同时 miR-126 的过表达能够抑制人脐静脉内皮细胞的成管效应来抑制大鼠脑损伤后的神经恢复^[34]。

2.9 miR-106b 与 miR-25

miR-106b 与 miR-25 在脑中的表达并不典型,其主要作用是调节神经外组织的增殖与分化。众所周知 miR-106b 是致癌的,具有促进癌细胞增殖的作用。然而,近几年有研究者通过高通量测序等手段发现,miR-106b 与 miR-25 在胚胎期与出生后早期表达量明显增加^[35]。Xia XH 等^[36]研究发现,在胚胎期与出生前后 miR-106b 表达量的变化趋势与 Nestin 蛋白表达量的变化趋势一致,具有促进 NSC 增殖的作用,同时抑制 miR-106b 表达后 NSC 数量减少并开始分化,说明 miR-106b 能够抑制 NSC 分化并促进其增殖。此结论与以研究癌症细胞增殖为目的的结果相符合^[37]。此结果说明 miR-106b 在不同类型的干细胞上具有类似功能。

3 lncRNA 对 NSC 增殖作用的影响

尽管目前已经发现了数千种 lncRNA,但是相较于 miRNA,能够控制 NSC 行为的 lncRNA 却较少。

Wnt/ β -catenin 通路被认为是影响 NSC 增殖的关键通路^[38]。Neat1 是 Wnt/ β -catenin 的关键调节子^[39]。在 SCI 中,Neat1 的过度表达促进 NSC 向神经元方向分化,促进 NSC 增殖并抑制细胞凋亡。相反,敲低 Neat1 会抑制神经元分化,抑制 NSC 增殖,促进细胞凋亡^[22]。然而,在精神分裂症患者的大脑中 Neat1 表达下降,引起少突胶质细胞数量减少^[40]。

Ramos AD 等^[41]研究发现 lncRNA Pnky 是保守的,在人和啮齿动物脑中共同表达,Pnky 的表达下降能够促进胚胎和出生后 NSC 向神经元方向分化且 NSC 数量减少,Pnky 与一种 RNA 剪接因子 PTBP1 相互作用,共同维持 NSC 的数量与分化。

Lu GL 等^[42-43]研究发现,利用七氟烷抑制 NSC 增殖后,lncRNA WNT5A-AS 和 lncRNA Gadd45a 表达上调,敲低 lncRNA WNT5A-AS 和 lncRNA Gadd45a 后能够解除七氟烷抑制 NSC 增殖的影响。这一结果表明 lncRNA WNT5A-AS 和 lncRNA Gadd45a 的表达下调能够促进 NSC 增殖。

Zhang WQ 等^[44]研究发现,在食蟹猴胚胎期抑制长寿蛋白 SIRT6 后引起幼猴在出生后数小时内死亡,且长寿蛋白能够引起 lncRNA H19 过表达,且 H19 能够抑制神经系统发育。

此外,值得关注的是 lncRNA 也参与脑部血管生成,即 SVZ 和 SGZ 中的 NSC 迁移至缺血区以恢复缺血性中风后的血液供应^[45-46]。利用 OGD 模型与大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)的小鼠模型模拟脑卒中,发现 lncRNA MAG3 的表达明显增加,利用 MAG3 siRNA 敲除 MAG3 后可以降低 MCAO 小鼠的梗死面积和脑水肿量并增加小鼠的神经行为评分,MAG3 的表达降低能够触发 Notch 途径和 Wnt/ β -catenin 信号传导途径促进血管生成^[47-49]。而 lncRNA MALAT1 的作用与 MAG3 相反。同样利用 OGD 与 MCAO 模型模拟脑卒中,MALAT1 的表达量均明显增加(在 OGD 中,实验组比对照组高 6.05 倍)^[50]。MALAT1 基因敲除相较于对照组有较大的脑梗死面积,较差的神经系统评分以及 MCAO 后感觉运动功能下降^[51]。小鼠 MALAT1 基因敲除降低视网膜的血管生长,此结论与以研究癌症血管生成为目的的结果一致^[52]。

综上,各种 lncRNA 对 NSC 增殖的影响见表 1。

表 1 各种 lncRNA 对 NSC 增殖的影响

lncRNA	对 NSC 增殖的影响	参考文献
Neat1	促进 NSC 增殖 促进少突胶质细胞生成	[22, 40]
Pnky	抑制 NSC 分化 抑制 NSC 数目减少	[41]
WNT5A-AS	抑制 NSC 增殖	[42-43]
Gadd45a	抑制 NSC 增殖	
H19	抑制 NSC 增殖	[44]
MAG3	抑制神经发生	[47-49]
MALAT1	促进神经发生	[50-51]

4 lncRNA 与 miRNA 之间的相互调节网络

4.1 lncRNA 作为竞争性内源 RNA 影响 miRNA

除了 lncRNA 与 miRNA 分别调控 NSC 的增殖、凋亡与分化外, lncRNA 也可以调节 miRNA 的表达。Salmena L 等^[53]提出了竞争性内源 RNA (competitive endogenous RNA, ceRNA) 假说, 由于 miRNA 能够与 mRNA 特异性结合从而导致 mRNA 降解, 影响下游的表达, 因此 lncRNA 能够通过 3'-UTR 的组件吸附 miRNA, 作为 miRNA 的海绵, 避免 miRNA 与靶 mRNA 结合, 从而影响细胞增殖、分化与凋亡过程^[54]。

Zhang L 等^[55]通过抑制小鼠的 lncRNA Riken-201 和 Riken-203, 发现抑制了小鼠胚胎干细胞的神经分化和 NSC 的自我更新。此外, Rik-201 和 Rik-203 分别起 ceRNA 作用, 分别抑制 miR-96 和 miR-467a-3p 的功能, 并进一步调节神经分化, Rik-203 和 Rik-201 的基因敲除引起十分明显的脑发育迟缓。

Long L 等^[56]研究发现, 在 NSC 分化为神经元和星形胶质细胞诱导细胞的过程中, miR-204-5p 的表达随时间增加。lncRNA ADNCR 是 miR-204-5p 的 ceRNA, ADNCR 的过表达抑制了 NSC 中 miR-204-5p 的表达, 从而导致 NSC 的增殖增强和神经分化受抑制。同样的, Zhou Y 等^[57]研究发现, lncRNA-AK048794 作为 miR-592 的海绵影响小鼠 NSC 的增殖与分化。

4.2 miRNA 调控 lncRNA 的表达

目前针对 miRNA 调控 lncRNA 的表达进而影响 NSC 增殖的研究报道较少。Cui Y 等^[22]研究发现 lncRNA Neat1 在调节 SC-NPC 向神经元方向分化及其凋亡和迁移过程中起重要作用。此外, 他们还证明 miR-124 的过表达导致 Neat1 表达升高, miR-124 通过 miR-124/Neat1 信号轴参与调节 SC-NPC 的细胞功能。

5 多种物理因子疗法通过介导 miRNA 对 NSC 增殖作用的影响

物理因子促进中枢神经损伤后, NSC 增殖的研究目前主要集中在 miRNA 方向。下面介绍几种物理因子通过“物理因子刺激-miRNA-NSC 增殖轴”调控 NSC 增殖的研究进展。

5.1 经颅磁刺激

Peng JJ 等^[58]利用重复经颅磁刺激 (repetitive transcranial magnetic stimulation, rTMS) 研究发现, 在大鼠脑缺血模型 MCAO 中给予 10 Hz rTMS 导致 miR-25 表达明显增强, miR-25 的靶基因 p57 的表达明显降低。既往研究证明, 可被 miR-25 抑制的 p57 是周期蛋白依赖性激酶 (cyclin-dependent kinases, Cdk) 的抑制剂, 其结合 Cdk 以调节细胞周期中不同阶段之间的转变, 从而达到调节细胞周期的目的。因此, 研究者们提出 rTMS 可能增加 miR-25 的表达以抑制其靶基因 p57, 从而促进成体 NSC 增殖和抑制细胞周期的停滞。此外, 研究者们还发现, 当 miR-25 被抑制时, 位于 SVZ 的 NSC 的增殖也被阻断。总之, 研究者们发现, rTMS 主要激活 miR-25/p57 信号通

路, 以达到调控局灶性脑缺血后成体 NSC 增殖的目的。Liu H 等^[59]利用高频磁刺激进行了相应的实验, 结果表明在局灶性脑缺血大鼠中, miR-106b 在高频 rTMS 干预后能够促进大鼠体内的 NSC 增殖, 其作用效果与剂量变化成正比。有趣的是, 2 组研究者在体外的实验结果显示, rTMS 干预后 miR-25 变化趋势与 miR-106b 的趋势并不相同, 因此可以推测 rTMS 通过介导 miR-25 引起 NSC 的增殖可能存在较为复杂的调控机制。

5.2 电针

电针疗法作为一种将传统针刺医学和现代康复手段相结合的物理因子疗法目前被广泛应用于神经康复领域。前文已述, miR-9 能够促使 NSC 维持在静息状态而抑制其增殖, miR-9 的表达量下调能够引起 NSC 增殖。黄佳等^[60]利用 SD 大鼠造模, 构建 MCAO 模型。研究发现电针 SD 大鼠曲池、足三里穴可以引起大鼠 SVZ 区的 Nestin+ 细胞增加, 并引起 miR-9 表达量下调, 结果说明电针曲池、足三里可以通过下调 miR-9 的表达促进 SVZ 区的 NSC 增殖。同样, 柳维林等^[61]通过对 MCAO 大鼠给予电针疗法, 利用 1 Hz/20 Hz 疏密波电针刺激足三里、曲池二穴探讨电针疗法对脑缺血后 NSC 增殖分化作用的影响, 研究人员利用 BrdU 替代胸腺嘧啶 (T) 掺入正在复制的 DNA 分子中, 用于标记正在复制的细胞, 结果发现, 脑缺血后 7 d, 大鼠缺血灶周围 miR-34a 表达量明显增加, 而进行电针干预后 miR-34a 的表达量进一步上调, 与 BrdU+/GFAP+ 细胞增加趋势一致。这一结果说明电针能够促进脑缺血再灌注损伤大鼠 miR-34a 过表达, 从而促进 NSC 增殖与分化。张立锋等^[62]研究表明 MCAO 造模 7 d 后大鼠病灶区域的 miR-363 表达量明显降低并且凋亡蛋白 Caspase-3 的表达量明显增加; 利用 100 Hz/2 Hz 疏密波电针进行干预后, 相较于对照组, 实验组脑梗死面积减小、Caspase-3 表达量下降及 miR-363 表达量明显上升, 实验结果表明电针能通过调控 miR-363/Caspase-3 的表达调控神经细胞的凋亡。上述研究皆表明, 电针疗法能够促进 NSC 细胞增殖、减少神经细胞凋亡, 从而起到治疗脑局灶性梗死的作用。

6 讨论与展望

NSC 的发现打破了之前神经系统不可再生的认识。利用物理因子等治疗方式促进脑损伤患者内源性 NSC 的增殖并向神经元方向分化以替代受损神经元, 改善患者的神经功能, 提高其生存质量是目前我们的研究目标。

近些年来在康复医学领域利用某些物理因子作为治疗方式干预 NSC 增殖与分化的研究较为丰富, 如 TMS、电针等物理刺激皆有报道具有促进 NSC 增殖的作用, 但绝大多数研究仅仅局限于外源性物理性刺激能够激活促内源性 NSC 增殖的信号通路。然而近些年的研究表明, NSC 的发展方向是一个精准控制的过程, 绝不仅仅是受单一信号通路的影响, 它依赖复杂的调控网络, 该网络从表观遗传延伸到翻译水平, 并涉及细胞外微环境的变化。

近年来的研究表明, lncRNA 与 miRNA 在 NSC 的增殖过程中起至关重要的作用。但是仅通过目前这些研究, 想要从表观遗传层面理解 NSC 增殖仍然是管中窥豹。当前所面对

的局限性有:ncRNA 对 NSC 增殖作用的研究相对单一,大多数研究者只局限于探讨 miRNA 或者 lncRNA 等某一类 ncRNA 对 NSC 增殖作用的影响,且具体机制仍然研究的不充分,某些影响因素仍然停留在假说层面;目前关于 lncRNA 与 miRNA 之间形成共同调控网络,影响 NSC 的增殖的相关研究鲜有报道。事实上,ncRNA 对 NSC 的增殖作用的影响绝不仅仅是单一分子的作用。即使近年来也有个别研究描述了 lncRNA 作为 miRNA 海绵而发挥着作用,但这些关于 ncRNA 影响神经系统的研究多为单一性研究,且基于 lncRNA-miRNA-mRNA 的调控网络对于 NSC 的增殖是否具有广泛影响,目前尚不清楚。

可以肯定的是,ncRNA 作为一种影响转录水平的重要调节剂,将会持续影响对 NSC 增殖方向的探索。未来,仍需进一步就 lncRNA-miRNA 调控网络对 NSC 的增殖进行多层次的研究,为脑损伤后的临床治疗提供更多依据。

参 考 文 献

- [1] Urbán N, Blomfield IM, Guillemot F. Quiescence of adult mammalian neural stem cells: a highly regulated rest[J]. *Neuron*, 2019, 104(5): 834–848.
- [2] Huang L, Zhang LB. Neural stem cell therapies and hypoxic-ischemic brain injury[J]. *Prog Neurobiol*, 2019, 173: 1–17.
- [3] Zhang RL, Zhang ZG, Wang L, et al. Activated neural stem cells contribute to stroke-induced neurogenesis and neuroblast migration toward the infarct boundary in adult rats[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2004, 24(4): 441–448.
- [4] Grochowski C, Radzikowska E, Maciejewski R. Neural stem cell therapy: brief review[J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2018, 173: 8–14.
- [5] Sorrells SF, Paredes MF, Cebrian-Silla A, et al. Human hippocampal neurogenesis drops sharply in children to undetectable levels in adults[J]. *Nature*, 2018, 555(7696): 377–381.
- [6] Yao B, Christian KM, He C, et al. Epigenetic mechanisms in neurogenesis[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2016, 17(9): 537–549.
- [7] Kawahara H, Imai T, Okano H. microRNAs in neural stem cells and neurogenesis[J]. *Front Neurosci*, 2012, 6: 30.
- [8] Peng M, Mo YZ, Wang YA, et al. Neoantigen vaccine: an emerging tumor immunotherapy[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 128.
- [9] Ren DX, Hua YZ, Yu BY, et al. Predictive biomarkers and mechanisms underlying resistance to PD1/PD-L1 blockade cancer immunotherapy[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 19.
- [10] Lian Y, Xiong F, Yang LT, et al. Long noncoding RNA AFAP1-AS1 acts as a competing endogenous RNA of miR-423-5p to facilitate nasopharyngeal carcinoma metastasis through regulating the Rho/Rac pathway[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 253.
- [11] Wang WX, Zhou RY, Wu YW, et al. PVT1 promotes cancer progression via microRNAs[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 609.
- [12] Jin K, Wang SF, Zhang YZ, et al. Long non-coding RNA PVT1 interacts with MYC and its downstream molecules to synergistically promote tumorigenesis[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(21): 4275–4289.
- [13] Fan CM, Tang YY, Wang JP, et al. Long non-coding RNA LOC284454 promotes migration and invasion of nasopharyngeal carcinoma via modulating the Rho/Rac signaling pathway[J]. *Carcinogenesis*, 2019, 40(2): 380–391.
- [14] Gebert LFR, MacRae IJ. Regulation of microRNA function in animals[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(1): 21–37.
- [15] Kim J, Krichevsky A, Grad Y, et al. Identification of many microRNAs that copurify with polyribosomes in mammalian neurons[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(1): 360–365.
- [16] Wang ZF, Yao H, Lin S, et al. Transcriptional and epigenetic regulation of human microRNAs[J]. *Cancer Lett*, 2013, 331(1): 1–10.
- [17] Ponomarev ED, Veremeyko T, Barteneva N, et al. microRNA-124 promotes microglia quiescence and suppresses EAE by deactivating macrophages via the C/EBP- α -PU.1 pathway[J]. *Nat Med*, 2011, 17(1): 64–70.
- [18] Smirnova L, Gräfe A, Seiler A, et al. Regulation of miRNA expression during neural cell specification[J]. *Eur J Neurosci*, 2005, 21(6): 1469–1477.
- [19] Jiao SJ, Liu YL, Yao YB, et al. miR-124 promotes proliferation and neural differentiation of neural stem cells through targeting DACT1 and activating Wnt/ β -catenin pathways[J]. *Mol Cell Biochem*, 2018, 449(1/2): 305–314.
- [20] Wei CX, Ren LF, Li K, et al. The regulation of survival and differentiation of neural stem cells by miR-124 via modulating PAX3[J]. *Neurosci Lett*, 2018, 683: 19–26.
- [21] Wang J, Li HT, Chen LQ, et al. mRNA profiling for miR-124-mediated repair in spinal cord injury[J]. *Neuroscience*, 2020, 438: 158–168.
- [22] Cui Y, Yin YY, Xiao ZF, et al. LncRNA Neat1 mediates miR-124-induced activation of Wnt/ β -catenin signaling in spinal cord neural progenitor cells[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 400.
- [23] Saraiva C, Talhada D, Rai A, et al. microRNA-124-loaded nanoparticles increase survival and neuronal differentiation of neural stem cells *in vitro* but do not contribute to stroke outcome *in vivo*[J]. *PLoS One*, 2018, 13(3): e0193609.
- [24] Saraiva C, Paiva J, Santos T, et al. microRNA-124 loaded nanoparticles enhance brain repair in Parkinson's disease[J]. *J Control Release*, 2016, 235: 291–305.
- [25] Åkerblom M, Sachdeva R, Barde I, et al. microRNA-124 is a subventricular zone neuronal fate determinant[J]. *J Neurosci*, 2012, 32(26): 8879–8889.
- [26] Wang J, Li JX, Yang J, et al. microRNA-138-5p regulates neural stem cell proliferation and differentiation *in vitro* by targeting TRIP6 expression[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(5): 7261–7266.
- [27] Pascale E, Beclin C, Fiorenzano A, et al. Long non-coding RNA T-UCstem1 controls progenitor proliferation and neurogenesis in the postnatal mouse olfactory bulb through interaction with miR-9[J]. *Stem Cell Reports*, 2020, 15(4): 836–844.
- [28] Katz S, Cussigh D, Urbán N, et al. A nuclear role for miR-9 and argonaute proteins in balancing quiescent and activated neural stem cell states[J]. *Cell Rep*, 2016, 17(5): 1383–1398.
- [29] Stappert L, Klaus F, Brüstle O. microRNAs engage in complex circuits regulating adult neurogenesis[J]. *Front Neurosci*, 2018, 12: 707.
- [30] Lepko T, Pusch M, Müller T, et al. Choroid plexus-derived miR-204 regulates the number of quiescent neural stem cells in the adult brain[J]. *EMBO J*, 2019, 38(17): e100481.
- [31] 廖伟, 张雷英, 刘鹏, 等. 脑缺血后大鼠室管膜下区 miR-34a 及其相关靶基因 Sirt1, Nr1f2 的动态表达及意义[J]. *中华神经医学杂志*, 2019, 18(5): 447–452.
- Liao W, Zhang LY, Liu P, et al. Dynamic expression and significance of

- miR-34a and its related target genes Sirt1 and Nrf2 in the subventricular zone of rats after cerebral ischemia[J]. *Chin J Neuromed*, 2019, 18(5): 447-452.
- [32] Pons-Espinal M, Gasperini C, Marzi MJ, et al. miR-135a-5p is critical for exercise-induced adult neurogenesis[J]. *Stem Cell Reports*, 2019, 12(6): 1298-1312.
- [33] Zhang QJ, Zeng S, Quan CY, et al. Induction function of miR-126 in survival and proliferation in neural stem cells[J]. *Med Sci Monit*, 2015, 21: 3023-3027.
- [34] Li Q, Cheng K, Wang AY, et al. microRNA-126 inhibits tube formation of HUVECs by interacting with EGFL7 and down-regulating PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 116: 109007.
- [35] Brett JO, Renault VM, Rafalski VA, et al. The microRNA cluster miR-106b~25 regulates adult neural stem/progenitor cell proliferation and neuronal differentiation[J]. *Aging (Albany NY)*, 2011, 3(2): 108-124.
- [36] Xia XH, Lu HF, Li CH, et al. miR-106b regulates the proliferation and differentiation of neural stem/progenitor cells through Tp53inp1-Tp53-Cdkn1a axis[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 282.
- [37] Shi DM, Bian XY, Qin CD, et al. miR-106b-5p promotes stem cell-like properties of hepatocellular carcinoma cells by targeting PTEN via PI3K/Akt pathway[J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11: 571-585.
- [38] Marchetti B. Wnt/ β -catenin signaling pathway governs a full program for dopaminergic neuron survival, neurorescue and regeneration in the MPTP mouse model of Parkinson's disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(12): 3743.
- [39] Geng WZ, Guo X, Zhang LR, et al. Resveratrol inhibits proliferation, migration and invasion of multiple myeloma cells via NEAT1-mediated Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 107: 484-494.
- [40] Katsel P, Roussos P, Fam P, et al. The expression of long noncoding RNA NEAT1 is reduced in schizophrenia and modulates oligodendrocytes transcription[J]. *NPJ Schizophr*, 2019, 5(1): 3.
- [41] Ramos AD, Andersen RE, Liu SJ, et al. The long noncoding RNA Pnky regulates neuronal differentiation of embryonic and postnatal neural stem cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2015, 16(4): 439-447.
- [42] Lu GL, Zhao W, Rao DD, et al. Knockdown of long noncoding RNA WNT5A-AS restores the fate of neural stem cells exposed to sevoflurane via inhibiting WNT5A/Ryk-ROS signaling[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118: 109334.
- [43] Lu GL, Xu HL, Zhao W, et al. Upregulation of long noncoding RNA Gadd45a is associated with sevoflurane-induced neurotoxicity in rat neural stem cells[J]. *Neuroreport*, 2018, 29(8): 605-614.
- [44] Zhang WQ, Wan HF, Feng GH, et al. SIRT6 deficiency results in developmental retardation in cynomolgus monkeys[J]. *Nature*, 2018, 560(7720): 661-665.
- [45] Osman AM, Porritt MJ, Nilsson M, et al. Long-term stimulation of neural progenitor cell migration after cortical ischemia in mice[J]. *Stroke*, 2011, 42(12): 3559-3565.
- [46] Hart RP, Goff LA. Long noncoding RNAs: central to nervous system development[J]. *Int J Dev Neurosci*, 2016, 55: 109-116.
- [47] You D, You H. Repression of long non-coding RNA MEG3 restores nerve growth and alleviates neurological impairment after cerebral ischemia-reperfusion injury in a rat model[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 111: 1447-1457.
- [48] Liu J, Li Q, Zhang KS, et al. Downregulation of the long noncoding RNA Meg3 promotes angiogenesis after ischemic brain injury by activating Notch signaling[J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(10): 8179-8190.
- [49] Yan HL, Yuan JP, Gao LK, et al. Long noncoding RNA MEG3 activation of p53 mediates ischemic neuronal death in stroke[J]. *Neuroscience*, 2016, 337: 191-199.
- [50] Zhang J, Yuan L, Zhang X, et al. Altered long noncoding RNA transcriptomic profiles in brain microvascular endothelium after cerebral ischemia[J]. *Exp Neurol*, 2016, 277: 162-170.
- [51] Zhang XJ, Tang XL, Liu K, et al. Long noncoding RNA Malat1 regulates cerebrovascular pathologies in ischemic stroke[J]. *J Neurosci*, 2017, 37(7): 1797-1806.
- [52] Michalik KM, You XT, Manavski Y, et al. Long noncoding RNA MALAT1 regulates endothelial cell function and vessel growth[J]. *Circ Res*, 2014, 114(9): 1389-1397.
- [53] Salmena L, Poliseno L, Tay Y, et al. A *CeRNA* hypothesis: the Rosetta stone of a hidden RNA language?[J]. *Cell*, 2011, 146(3): 353-358.
- [54] Botla SK, Savant S, Jandaghi P, et al. Early epigenetic downregulation of microRNA-192 expression promotes pancreatic cancer progression[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(14): 4149-4159.
- [55] Zhang L, Xue ZY, Yan J, et al. LncRNA Riken-201 and Riken-203 modulates neural development by regulating the Sox6 through sequestering miRNAs[J]. *Cell Prolif*, 2019, 52(3): e12573.
- [56] Long L, Zeng C, Chen HL, et al. ADNCR modulates neural stem cell differentiation and proliferation through the regulation of TCF3 expression[J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(15): 927.
- [57] Zhou Y, Dai QS, Zhu SC, et al. AK048794 maintains the mouse embryonic stem cell pluripotency by functioning as an miRNA sponge for miR-592[J]. *Biochem J*, 2016, 473(20): 3639-3654.
- [58] Peng JJ, Sha R, Li MX, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation promotes functional recovery and differentiation of human neural stem cells in rats after ischemic stroke[J]. *Exp Neurol*, 2019, 313: 1-9.
- [59] Liu H, Li GH, Ma CL, et al. Repetitive magnetic stimulation promotes the proliferation of neural progenitor cells via modulating the expression of miR-106b[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(6): 3631-3639.
- [60] 黄佳, 郑慧, 姚建宁, 等. microRNA-9 调控室管膜下区干细胞增殖在电针治疗局灶性脑缺血中的作用[J]. *中国康复理论与实践*, 2016, 22(11): 1252-1258.
- Huang J, Zheng Y, Yao JN, et al. Effect of microRNA-9 regulating stem cell proliferation in subventricular zone on electroacupuncture for focal cerebral ischemia[J]. *Chin J Rehabil Theory Pract*, 2016, 22(11): 1252-1258.
- [61] 柳维林, 郑慧, 金婷婷, 等. 电针调控 microRNA-34a 对缺血再灌注损伤大鼠内源性神经干细胞分化的影响[J]. *中国康复理论与实践*, 2019, 25(2): 162-171.
- Liu WL, Zheng Y, Jin TT, et al. Effect of electroacupuncture on neural stem cell differentiation via regulating microRNA-34a in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *Chin J Rehabil Theory Pract*, 2019, 25(2): 162-171.
- [62] 张立峰, 孙先越, 张晓丹, 等. microRNA363 在缺血性脑损伤中的表达及头电针调控作用研究[J]. *针灸临床杂志*, 2018, 34(11): 54-57.
- Zhang LF, Sun XY, Zhang XD, et al. microRNA363 expression in ischemic brain injury and the regulation of scalp electroacupuncture[J]. *J Clin Acupunct Moxibust*, 2018, 34(11): 54-57.