

· 综 述 ·

microRNA 在神经元发育和可塑性中的作用

徐 瑞¹综述,赵吉清^{2△}审校

(第三医学大学:1. 学员旅二队;2. 军事预防医学院防化医学教研室,重庆 400038)

关键词: microRNA; 神经元发育; 可塑性

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.17.061

中图分类号: R338.1

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)17-2379-03

microRNA 对于神经元的发育、分化、功能和可塑性方面具有重要意义。一方面,成熟 microRNA 可与靶 mRNA 分子配对抑制其转录后的翻译或直接降解 mRNA,以调节相关靶基因的转录和表达,进而调控神经元的发育、分化。另一方面,当神经元受到刺激时,可以通过 microRNA 加速一些蛋白质的合成来应答,同时调节突触的可塑性。本文主要就 microRNA 对神经发育及可塑性的影响进行综述。

1 microRNA 与神经元发育分化

神经发育过程是精确调控多种基因功能的过程,研究显示 microRNA 参与了神经系统的发育分化。目前已在神经干细胞中发现了一些高表达和差异表达的 microRNAs,参与调控神经干细胞的自我更新和分化过程。miR-124 在神经干细胞中的表达很低,它的内源性靶基因包括层黏连蛋白 g1 基因(laminin g1)和整合素 b1 基因(integrin b1)在神经干细胞中高表达;而在神经元中低表达 miR-124 可能是通过抑制 laminin g1 和 integrin b1 的表达使神经干细胞发育为成熟神经元^[1]。miR-124 在分化神经元和成熟神经元中高表达,可在神经元的分化过程中促进轴突生长,此作用可能与 miR-124 对细胞骨架的调控有关^[2]。

miR-92b 主要在神经干细胞中表达^[3],可能参与维持神经干细胞的特性。在神经干细胞中过表达 miR-124、miR-128 和 miR-9 可降低星型胶质细胞的分化比率,抑制 miR-9 或(和) miR-124 表达可促进细胞分化。miR-9 和 miR-124 还可通过抑制信号传导及转录激活因子 3(STAT3)的磷酸化而维持神经干细胞特性^[4]。

在神经祖细胞和非神经细胞中 RE1 沉默转录因子(RE1 silencing transcription factor, REST)活化能抑制神经元特异性基因的表达。REST 通过抑制 miR-124 和 miR-9 的表达,从而抑制离子通道蛋白、突触蛋白和其他神经元特异性蛋白的表达,而这些都是神经元分化所必需的^[5]。最近的研究表明,miR-124 能直接抑制羧基端小结构域磷酸酶 1(SCP1),而 SCP1 是 REST 发挥抑制神经元基因表达的必需成分,因此 miR-124 能间接地抑制 REST 的活性^[6]。这表明存在一种负反馈机制:在非神经元和神经元前体细胞中,神经元特异性基因(包括 miR-124)的表达是被 REST 和 SCP1 抑制的,随着细胞向神经元方向分化以及 REST 受转录抑制,miR-124 通过在转录后水平抑制 REST 辅助因子 SCP1 的表达而快速终止 REST 的生物功能。

在脊椎动物神经系统的发育中,神经祖细胞从增殖转换成分化,同时伴随有神经祖细胞专一性 Swi/Snf 类 BAF(npBAF)染色质重塑复合物组分的改变,形成神经发育和树突形成所必

需的神经元专一性 BAF(nBAF)复合物。研究发现在发育转换中,BAF 亚基之一 BAF53a 与 BAF53b 的交换受两个 microRNA(miR-9 和 miR-124)的调节。BAF53a 在神经祖细胞增殖中起重要作用,在小鼠脑发育中的神经元内的表达下调,BAF53a 的表达关闭才能产生 BAF53b。

miR-124 和 miR-9 可以通过选择性的抑制 BAF53a 的表达,从而调控 BAF53b 的表达,而后者可以诱导神经元前体细胞向不同方向分化。所以 miR-124 的缺失将导致胚胎干细胞不向神经元方向分化^[7]。

现在还不清楚 BAF53a 的抑制是否需要 miR-124 和 miR-9 的同时参与。miR-9 在发育中比 miR-124 表达的更早,所以在发育的某一个限定时期内可能导致 BAF53a 的抑制。另外,这种双重调控可能比单独 miR-124 或 miR-9 引起 BAF53a 翻译受抑制的时期要长。miR-124 和 miR-9 也已经被证实了在树突的伸长中有着积极的作用。海马神经元中由于 BAF53a 突变导致的 miR-124 和 miR-9 异位表达阻止了 BAF53a 的下调,促进了 KCl 诱导的树突生长。但是,野生型的 BAF53a 没有这种作用^[7-8]。

多聚嘧啶核苷酸序列结合蛋白(PTPB)可以控制 mRNA 的翻译进而控制蛋白质的合成方向。目前已经证实 PTPB1 和 PTPB2 在调控干细胞向神经方向分化方面有重要作用,PTPB1 可以调控干细胞向非神经元方向分化,PTPB2 则相反,调控干细胞向神经方向分化。而 PTPB1 的表达受到 miR-124 的抑制,miR-124 通过下调 PTPB1 来调节神经元的分化^[9]。

2 microRNA 与突触可塑性

突触可塑性与突触内相关蛋白质的合成有关。大量的实验证实了 microRNA 对于突触的功能有重要作用。而且突触的活性可以诱导或抑制一些 microRNA 的表达。海马区化学性长时程增强(LTP)和代谢型谷氨酸受体依赖的长时程抑制(LTD)的诱导均可导致 microRNA 的表达上调,从而抑制突触内相关蛋白质的过度合成^[10]。突触可塑性常与树突棘的形成、脱落、扩张和萎缩等形态变化相伴发生。

2.1 活性依赖的调节 脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)和突触活动可以通过转录因子 cAMP 应答元件结合蛋白(CREB)来激活 miR-132 的转录。miR-132 可以抑制 p250GAP(一种可以激活 GTP 酶从而调控 Rac1/PAK1 途径的蛋白质)的表达^[11]。在成熟神经元的培养中,活性依赖的 miR-132 转录促进树突棘的形成及微小兴奋性突触后电流(mEPSCs)的发生。p250GAP 是调节 miR-132 功能的重要物质^[12]。此外,p250GAP 3'UTR 有多个供其他 microRNA 结合的 microRNA 调控元件(MRE),提示了这些激活

△ 通讯作者,电话:13228683215。

的 microRNA 和 miR-132 一起抑制了 p250GAP 的表达。另外基因敲除和转基因小鼠模型也证实了 miR-132 的功能^[13]。miR-125b 也可以调节树突的分支和神经元自发活性。海马神经元中过度表达的 miR-125b 可调节树突棘的形态以及减少 mEPSCs 的频率和振幅。相反,如果消耗内源性的 miR-125b 会导致树突轴突变短和 mEPSC 的频率增加。已经证明 NMDA 受体的亚基 NR2A 是 miR-125b 的靶点^[12]。

2.2 空间调节 转录调节和转录后调节的区别之一在于发生在不同的亚细胞域。已经证明成熟的 microRNA 在突触前和突触后都存在,神经元可以利用 microRNA 以一种空间调节的方式快速调控靶基因,回应突触活性改变,这种调节有助于突触反应和突触强度调节。

2.2.1 突触前 microRNA 在秀丽隐杆线虫 (*C. elegans*) 和海生动物 *Aplysia* 中,可以发现突触前神经元中末端存在着 miR-124 和 miR-338。轴突中的 miR-338 可以通过调节轴突内细胞色素 C 氧化酶 IV 来调节能量代谢。而 miR-124 存在于 *Aplysia* 的突触前感觉神经元内,反复释放 5-羟色胺可以产生生长时程易化 (LTF)。而在感觉神经元 miR-124 的过度表达则可以阻断 LTF;相反,miR-124 抑制则可以诱导 LTF。miR-124 介导的抑制 LTF 的机制可能是抑制了 CREB1 的表达。突触前神经元内的 microRNA 的可能作用是通过调节肌动蛋白细胞骨架从而来调控神经递质的释放。miR-375 (一种在大脑和胰岛内都表达的 microRNA) 能抑制重组胰岛素样生长因子 1 的表达间接支持这一观点^[14-15]。

2.2.2 突触后 microRNA microRNA 和 RNA 诱导基因沉默复合物 (RISC) 一直被认为参与了突触后应答的调节。突触后 microRNA 作用机制可能是建立一个对刺激产生及时和局限的反应。Dicer, Argonaute 和 FMRP 存在于成熟神经元的树突内,功能研究证明 RISC 在神经肌肉接头处调节突触的形成,而且 Dicer 和 Armitage 的变异将影响突触长期可塑性。miR-138 (一种在突触小体里大量存在的 microRNA) 被发现可以抑制乙酰蛋白硫脂酶 (APT-1) 的表达,而 ATP-1 可以通过作用于 RhoA-ROCK 途径使树突棘的体积变小。神经元活性可以通过转录激活因子 MEF2 的作用产生从 miR-379 到 410 的一系列突触后 microRNA。这些长片段的初级 microRNA 可以被剪切成许多不同的 microRNA,包括 miR-134。miR-134 存在于成熟的海马神经元的树突棘中,可以通过下调 RNA 结合蛋白 Pumilio2 来调节树突的生长。miR-134 可降低 Lim 结构域激酶 (Lim-domain-containing protein kinase, Limk1) 基因的表达,减小树突棘的大小而不影响树突棘的数目。而 BDNF 可以阻断 miR-134 的作用,激活 Limk1 蛋白的合成,从而使树突棘体积变大^[16-17]。

2.3 RISC 复合物的调节 蛋白质组学与 mRNA 水平的分析表明在 mRNA 基因沉默期间蛋白质和 mRNA 水平明显相关。mRNA 水平的变化最终导致蛋白质丰度的变化。翻译抑制、退化或 mRNA 的切割导致的 mRNA 基因沉默与 microRNA 有关。micro RNA 和 Ago2 配对结合能对目标 mRNA 进行切割,而抑制或降解 mRNA。有研究推测翻译的抑制将导致 mRNA 的降解,这种模式是否涉及其他的 microRNA 仍待定。亦有研究发现通过 RISC 核心成分 GW182/hTNRC6 的作用将导致 mRNA 的降解。在果蝇中发现 GW182 并不需要靶点被 Argonaute 识别,但当其作为 RISC 的一部分时,它直接和真核起始因子 4G (eIF4G) 竞争多聚腺苷酸结合蛋白 1 (PABPC1),而 GW182-PABPC1 可以阻断 Cap 依赖的翻译,引

起脱腺苷化复合物 CAF1/Not1/CCR4 的募集,在体外通过脱腺苷化使靶基因失去稳定性^[18-20]。

翻译的抑制更适合远端的树突或轴突。RISC 在突触转录物转运到末梢期间利用 RNA 结合蛋白 FMRP 或 CPEB 代替 CAF1/Not1/CCR4 复合体来抑制翻译。而且 FMRP 在突触形成过程中发挥重要作用,是 RISC 的一个 *bone fide* 亚基。同样 CPEB 依赖 mRNA 转录物的调节在多种生物里 (包括 *Aplysia*、*Drosophila* 和哺乳动物) 都与突触的可塑性和记忆有关^[21-22]。

microRNA 合成的每一步都受到调控,包括 microRNA 前体合成,剪切成成熟的 microRNA,对 RNA 的编辑以及 microRNA 与靶基因的结合。如在视交叉核上分离到一些 microRNA,包括 miR-132 和 miR-219 可以调控昼夜节律^[23-24]。

同样 RISC 复合物中的蛋白质成分可能也参与调节。现已证明了 RISC 复合物和次级溶酶体或多泡体 (MVB) 之间有功能联系,发现部分 GW182, Ago2 和 microRNA 在果蝇和哺乳动物细胞中可以分割 MVB,这样就可以阻断 MVB 和溶酶体的融合,导致 GW182 在细胞质内的聚集,从而增加沉默作用。这就揭示了 RISC 复合物受到溶酶体的反作用,这也许是一种自身的稳态调节。可能 RISC 复合物的活性需要其组成成分的更新和再生来维持酶的活性^[25]。

但是神经元的活动是怎么通过降解 RISC 来去抑制一些转录产物,同时又通过同一 microRNA 途径来抑制另外的一些靶基因? 在活性依赖的脱抑制作用下,刺激引起 RISC 蛋白降解和重塑可能是一个局部且快速的反应。相反,由 microRNA 引起的转录上调引起的反应可能与神经元的发育和突触可塑性有关。miR-132 和 miR-134 表达的上调可能相对缓慢,这是因为要经历 microRNA 前体转录的激活、合成、运输和装配到 RISC 这个过程。由于 miR-134 的靶产物 (如 LIMK1) 的去抑制引起的即时变化,可能分别在 miR-132 和 miR-134 引起 p250GAP 和 Pumilio2 的抑制介导下,还会有更多持久的反应。当研究了大量的被 microRNA 调控的转录物后,有理由相信有的作用靶点参与短时间的效应,有的参与长时间的反应。对神经元活动暂时的控制或多步的反应可以为细胞提供快速应对周围环境的变化的能力,同时又能通过对蛋白质合成的改变来适应这些变化。

参考文献:

- [1] Cao X, Pfaff SL, Gage FH, et al. A functional study of miR-124 in the developing neural tube [J]. *Genes Dev*, 2007, 21(5): 531.
- [2] Yu JY, Chung KH, Deo M, et al. MicroRNA miR-124 regulates neurite outgrowth during neuronal differentiation [J]. *Exp Cell Res*, 2008, 314(14): 2618.
- [3] Kapsimali M, Kloosterman WP, de Bruijn E, et al. MicroRNAs show a wide diversity of expression profiles in the developing and mature central nervous system [J]. *Genome Biol*, 2007, 8(8): R173.
- [4] Krichevsky AM, Sonntag KC, Isacson O, et al. Specific microRNAs modulate embryonic stem cell-derived neurogenesis [J]. *Stem Cells*, 2006, 24(4): 857.
- [5] Conaco C, Otto S, Han JJ, et al. Reciprocal actions of REST and a microRNA promote neuronal identity [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103: 2422.
- [6] Visvanathan J, Lee S, Lee B, et al. The microRNA miR-

- 124 antagonizes the anti-neural REST/SCP1 pathway during embryonic CNS development [J]. *Genes Dev*, 2007, 21(7):744.
- [7] Yoo AS, Staahl BT, Chen L, et al. MicroRNA-mediated switching of chromatin-remodelling complexes in neural development[J]. *Nature*, 2009, 460:642.
- [8] Otto SJ, McCorkle SR, Hover J, et al. A new binding motif for the transcriptional repressor REST uncovers large gene networks devoted to neuronal functions[J]. *J Neurosci*, 2007, 27:6729.
- [9] Giraldez A J, Cinalli R M, Glasner M E, et al. MicroRNAs regulate brain morphogenesis in zebrafish [J]. *Science*, 2005, 308(5723):833.
- [10] Park CS, Tang SJ. Regulation of microRNA expression by induction of bidirectional synaptic plasticity [J]. *J Mol Neurosci*, 2009, 38(1):50.
- [11] Vo N, Klein ME, Varlamova O, et al. A cAMP-response element binding protein-induced microRNA regulates neuronal morphogenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102:16426.
- [12] Edbauer D, Neilson JR, Foster KA, et al. Regulation of synaptic structure and function by FMRP-associated microRNAs miR-125b and miR-132 [J]. *Neuron*, 2010, 65:373.
- [13] Shaked I, Meerson A, Wolf Y, et al. MicroRNA-132 potentiates cholinergic anti-inflammatory signaling by targeting acetylcholinesterase [J]. *Immunity*, 2009, 31:965.
- [14] Aschrai A, Schwechter AD, Mameza MG, et al. MicroRNA-338 regulates local cytochrome oxidase IV mRNA levels and oxidative phosphorylation in the axons of sympathetic neurons [J]. *J Neurosci*, 2008, 28:12581.
- [15] Rajasethupathy P, Fiumara F, Sheridan R, et al. Characterization of small RNAs in aplysia reveals a role for miR-124 in constraining synaptic plasticity through CREB [J]. *Neuron*, 2009, 63:803.
- [16] Siegel G, Obernosterer G, Fiore R, et al. A functional screen implicates microRNA-138 dependent regulation of the depalmitoylation enzyme APT1 in dendritic spine morphogenesis [J]. *Nat Cell Biol*, 2009, 11:705.
- [17] Fiore R, Khudayberdiev S, Christensen M, et al. Mef2-mediated transcription of the miR379-410 cluster regulates activity-dependent dendritogenesis by fine-tuning Pumilio2 protein levels [J]. *EMBO J*, 2009, 28:697.
- [18] Fabian MR, Mathonnet G, Sundermeier T, et al. Mammalian miRNA RISC recruits CAF1 and PABP to affect PABP-dependent deadenylation [J]. *Mol Cell*, 2009, 35:868.
- [19] Jinek M, Fabian MR, Coyle SM, et al. Structural insights into the human GW182-PABC interaction in microRNA-mediated deadenylation [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 17:238.
- [20] Zekri L, Huntzinger E, Heimstadt S, et al. The silencing domain of GW182 interacts with PABPC1 to promote translational repression and degradation of microRNA targets and is required for target release [J]. *Mol Cell Biol*, 2009, 29:6220.
- [21] Holtz J, Pasquinelli AE. Uncoupling of lin-14 mRNA and protein repression by nutrient deprivation in *Caenorhabditis elegans* [J]. *RNA*, 2009, 15:400.
- [22] Jin P, Zarnescu DC, Ceman S, et al. Biochemical and genetic interaction between the fragile X mental retardation protein and the microRNA pathway [J]. *Nat Neurosci*, 2004, 7:113.
- [23] Kadener S, Menet JS, Sugino K, et al. A role for microRNAs in the *Drosophila* circadian clock [J]. *Genes Dev*, 2009, 23:2179.
- [24] Yang M, Lee JE, Padgett RW, et al. Circadian regulation of a limited set of conserved microRNAs in *Drosophila* [J]. *BMC Genomics*, 2008, 9:83.
- [25] Rybak A, Fuchs H, Hadian K, et al. The let-7 target gene mouse lin-41 is a stem cell specific E3 ubiquitin ligase for the miRNA pathway protein Ago2 [J]. *Nat Cell Biol*, 2009, 11:1411.

(收稿日期:2010-01-18 修回日期:2010-03-09)

• 综 述 •

新生儿胆红素脑病早期诊断的研究进展

余 楠 综述, 韦 红 审校

(重庆医科大学附属儿童医院 400014)

关键词: 新生儿; 高胆红素血症; 黄疸; 脑病; 中毒性脑损伤; 早期; 诊断

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.17.062

中图分类号: R722.17

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)17-2381-04

新生儿黄疸是临床最常见的症状之一, 大部分新生儿黄疸均较轻微。部分新生儿可发生重症高胆红素血症(neonatal severe hyperbilirubinemia)引起胆红素脑病(bilirubin encephalopathy)或核黄疸(kernicterus), 严重影响新生儿的生存率和生存质量, 早期诊断和治疗胆红素脑病尤为重要。本文就胆红

素脑病早期诊断的研究进展情况综述如下。

1 流行病学调查

美国对 35 周以上的新生儿重症高胆红素血症发生的危险因素做了调查研究^[1]。(1)主要危险因素: ①出院前血清总胆红素水平(TSB)和经皮测胆红素水平(TcB)在高危区内(High Intermediate Risk Zone)(图 1); ②生后 24 h 内出现黄疸; ③母