

· 综 述 ·

# 微 RNA 与阿尔茨海默病的关系及应用价值

陈筱山 综述, 晏 勇 审校

(重庆医科大学附属第一医院神经内科 400016)

**关键词:** 微 RNA; 阿尔茨海默病; 生物学特点; 病因

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.24.033

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)24-2538-04

微 RNA(micro RNA, miRNA)是长度为 20~24 个核苷酸(nt)的内源性非编码蛋白 RNA 基因。在动植物细胞中,通过与靶信使 RNA(messenger RNA, mRNA)的 3'端非编码序列(3'-uncooding region, 3'-UTR)相互作用,在翻译后水平抑制靶基因活性或降解靶基因来调节其表达的活性。miRNA 表达具有高度保守性、时序性和组织特异性。miRNA 在中枢神经系统广泛分布,对神经发育、分化、成熟发挥重要调节作用<sup>[1]</sup>。miRNA 功能异常与神经变性疾病有密切的关系。阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是常见的神经变性疾病,以记忆功能损害及认知功能障碍为主要表现,神经元丧失、老年斑(SP)形成和神经纤维缠结(NFT)为主要特征。研究表明,miRNA 功能异常与 AD 关系密切,可能作为诊断 AD 的生物标志物及可能的治疗靶点,本文就相关研究进展进行综述。

## 1 miRNA 的合成及生物学特点

**1.1 miRNA 的合成** 已经发现人类的 miRNA 超过 900 个,且这一数字还在不断更新。在胞核内,大部分 miRNA 被 RNA 聚合酶 II(RNA polymerase II, RnaseII)转录形成几千个 nt,内含发卡样结构的初级转录体(primary transcripts, pri-miRNA),之后在 RNA 聚合酶 III(RNA polymerase III, RnaseIII)Drosha 作用下产生约 70 nt 长的,包含发卡样 miRNA 前体(pre-miRNA),在 pre-miRNA 的 3'端有 2 nt 的悬垂(overhang)结构。悬垂结构被 Exportin-5 蛋白识别,转运 pre-miRNA 至胞质。在胞质中,pre-miRNA 被 RnaseIII 酶 Dicer 裂解,形成一个约含 21 nt 的成熟 miRNA 和它的卫星序列 miRNA\* 的 miRNA;miRNA\* 二倍体,在解旋酶作用下,成熟的 miRNA 被包含形成 RNA 诱导的沉默复合体(RNA induced silencing complex, RISC),同时 miRNA\* 被降解。在 RISC 和 Argonaute(Ago)蛋白作用下 miRNA 与靶 mRNA(target mRNA)结合。miRNA 5'端的 2~8 个残基被称为种子序列(seed sequence),含有与 mRNA 的 3'-UTR 的互补序列。根据 miRNA 与其目标 mRNA 序列互补性不同,目标 mRNA 可以被裂解、降解或翻译抑制。完全的序列互补造成 mRNA 降解,不完全的序列互补导致翻译抑制<sup>[2]</sup>。一种 miRNA 可以作用于上百个靶基因,据此估算,在动物中 miRNA 可以调节三分之一的蛋白质编码基因<sup>[3]</sup>。根据 miRNA 种子序列相似性的不同将 miRNA 分为不同的家族。不同物种间三分之一的 miRNA 是高度保守的,在鼠和人成熟 miRNA 间有大约 60%的保守序列被发现<sup>[4]</sup>。通过影响多种目标转录体和蛋白的表达,miRNA 在发育、分化、扩增、凋亡和代谢等多种细胞过程中发挥着重要作用。

**1.2 miRNA 的神经生物学特性** miRNA 在中枢神经系统内分布丰富并呈特异性表达,在脑、神经元发育、分化、神经元可塑性和神经元特异基因表达调节具有重要作用<sup>[4-5]</sup>。基因切除 Dicer 酶导致成熟 miRNA 缺失,在斑马鱼(zebrafish)Dicer 敲除模型中观察到严重的脑形态异常。敲除小鼠的 Dicer 基因

可以导致神经变性和中脑的多巴胺神经元、小脑的 Purkinje 细胞以及新皮层神经元等神经元亚细胞死亡。在皮层和海马中 Dicer 酶的缺失影响细胞和组织形态、轴突导向和凋亡<sup>[2]</sup>。更多研究发现 miRNA 干扰中枢神经系统关键调节过程,参与神经干细胞分化、神经突增生和突触形成。

在秀丽线虫(*C. elegans*),miRNA 是保持味觉神经元特异性所必需的;在果蝇(*Drosophila*)中,miRNA 维持色觉受体正确分化;在脊椎动物中,miRNA 则在突触水平参与突触可塑性和学习等更复杂的机制<sup>[5-6]</sup>。

人脑通过突触组成复杂的神经网络,突触数量和结构的调节是记忆产生的基本机制。新蛋白合成需要某些形式长时程记忆的建立,在一些情况下新合成的蛋白来自于神经过程内局部 mRNA 的翻译。一部分 mRNA 位于树突杆和棘突上,这些部位有从树突和兴奋性突触来源、富含小肌动蛋白的突起。研究发现 miRNA 对树突局部 mRNA 的翻译控制功能,miRNA 参与轴突局部蛋白合成的调节。如分布在海马神经元轴突树突复合体中的脑特异性 miR-134 通过抑制 Lim 区域包含蛋白激酶-1(Lim-domain-containing protein kinase 1, Limk-1)的翻译调节突触的可塑性<sup>[7]</sup>。下调 Limk-1 蛋白合成限制树突棘的生长,限制兴奋性突触发育。而当神经元暴露给脑源性神经营养因子后,Limk-1 和 miR-134 的相互作用减低。miR-138 是另一种分布于树突的脑特异性 miRNA,通过抑制在轴突和相关膜控制蛋白棕榈化状态的酶酰基蛋白硫酯酶-1(APT-1)的表达,负性调节树突棘的形态。

研究表明神经特异性 miRNA 在鼠中枢神经胚胎发育和分化中的作用。其中,miRNA-9 和 miRNA-124 与神经形成特别相关。体外实验中,它们过度表达造成星型胶质细胞分化差,而抑制 miRNA-9 或者抑制二者导致神经元数目减少。在小鼠中,miRNA-9 在胚胎期大脑皮层中丰富表达,在海马水平参与了 Cajal-Retzius 细胞的正确分化,这种分化至少部分通过 SATA3 磷酸化至 TYR705 介导<sup>[8]</sup>。miRNA-124 是中枢神经系统内丰富表达的 miRNA 之一。在人和鼠中,miRNA 编码的、位于 3 个不同染色体上的 3 个基因被确认。在鼠中,3 个基因相伴重叠翻译。miRNA-124 从最初神经元前体持续到最终分化细胞都可以检测到,与 RE-1 沉默转录因子(RE-1 silencing transcription factor)相互作用,而 RE-1 沉默转录因子具有在神经元中抑制神经特异性基因的作用。在翻译后水平,miR-124 具有选择性剪切抑制剂的作用,抑制 RNA 结合蛋白 PTBR1,从而产生神经特异性转录体。除了促进神经元特异性基因表达,Yu 等<sup>[9]</sup>研究发现在鼠胚胎肿瘤中 miR-124 参与了神经突形成和神经元分化。其他如 miRNA-125、miRNA-128、miRNA-133、miRNA-388 等也与神经突增生和神经分化有关<sup>[10]</sup>。

## 2 miRNA 与 AD 的关系

**2.1 AD 的病因** 尽管多种分子病变在 AD 中被发现,但 AD

的病因尚未完全明确,其中,约占 AD 发病 1% 的家族型 AD 与淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor peptide, APP) 基因、早老素基因 (presenilin, PS) 突变有关,而超过 90% 的散发性 AD 病因不明。散发性 AD 与家族性 AD 病理变化与造成的认知功能障碍相似。APP 和淀粉样蛋白 ( $A\beta$ ) 代谢异常的“ $A\beta$  瀑布学说”是 AD 发病的关键,主要影响海马和皮层区域,造成早期的轴突及神经元功能障碍、形成由异常聚集的  $A\beta$  和主要由 tau 蛋白组成的神经元纤维缠结 (NFT) 构成的  $A\beta$  斑块。AD 的发病还与炎症、凋亡、细胞周期异常、线粒体功能障碍、血管因素等多种因素有关。miRNA 可以调节  $A\beta$  病因相关的各个环节,如  $A\beta$  代谢和炎症、凋亡等基因都可能做为 miRNA 作用的靶点,参与并调节 AD 的病理进程。

$A\beta$  沉积是老年斑的主要成分,是 AD 发病的最主要病理变化之一, $A\beta$  是由 APP 经过淀粉样物质途径和非淀粉样物质途径代谢产生。在淀粉样物质途径中,APP 在  $\beta$  位淀粉样前体蛋白裂解酶 1 ( $\beta$ -site APP cleaving enzyme 1, BACE-1) 作用下形成 C99, C99 做为底物在  $\gamma$  分泌酶作用下形成不溶、有毒性的  $A\beta$ , 其中  $A\beta$  42 最易于形成纤维聚集。其中 BACE-1 是调节  $A\beta$  生成的限速酶。因此,miRNA 对与  $A\beta$  代谢的 APP 及 BACE-1 的 mRNA 的调节成为研究热点。

**2.2 miRNA 与 APP** 由于 APP 在 AD 发病中的重要作用,在许多研究中被作为 miRNA 的靶 mRNA。Ryusuke 等<sup>[11]</sup> 发现在秀丽线虫中,做为 APP 类似物的 *apl-1* 功能在不同发育阶段受到 *let-7* 家族 miRNA 的基因调节。Patel 等<sup>[12]</sup> 和 Hébert 等<sup>[13]</sup> 体外实验证实 miR-106a, miR-520c 以及 miR-106 家族的 miR-17-p, miR-20a 和 miR-106b 与人类 APP 相关。在转染的人类 HEK-293 细胞中,miR-106a 和 miR-520c 负性调节包含 APP 的 3'-UTR 区域预测靶 miRNA 序列的基因表达。与未转染靶 miRNA 序列的细胞相比,在人细胞株中高表达的 miR-106a 和 miR-520c 降低内源性 50% 的 APP 水平<sup>[12]</sup>。在发育鼠脑和原代神经元中,后转录水平高表达的 miR-20a, miR-17-p 和 miR-106b 与增高的 APP 水平相关<sup>[13]</sup>。Vilardo 等<sup>[14]</sup> 在大鼠原代海马神经元中证实 APP 水平通过 miRNA/RISC 途径被调节,沉默 Ago2 表达增加 APP 蛋白水平,运用定点突变的方法,证实 miR-101 的反应元件 (responsive elements, RE) 在 APP 3'-UTR 区,抑制内源性 miR-101 表达增加 APP 水平,而慢病毒方法介导的过度表达的 miR-101 则显著降低海马神经元 APP 和  $A\beta$  水平。而 Justin 等<sup>[15]</sup> 也证实给人类 Hela 细胞 miR-101 明显降低 APP 水平,而给 miR-101 的反义抑制剂则出现相反的效果,在阻断 miR-101 和 APP 3'-UTR 的靶 mRNA 升高 APP 水平。

miRNA 除了对 APP 基因的转录后调节外,还参与了对神经元 mRNA 的微调 (fine-tuning) 即选择性剪接。有研究表明体内实验中,后有丝分裂神经元缺乏 miRNA 与 APP 的外显子 7 和 8 的包含有关,miR-124 的异常表达可以逆转这种现象<sup>[16]</sup>。在删除 miR-124 目标基因的内源性多聚嘧啶束结合蛋白 1 (PTBP1) 后可以出现同样的效果。神经特异性的 miR-124 在 AD 脑中表达下调,说明特殊的 miRNA 参与了神经元的 APP 选择性剪接。

**2.3 miRNA 与 BACE-1** BACE-1 作为  $A\beta$  代谢途径中的限速酶,在  $A\beta$  产生中起着关键作用,也成为 AD 治疗研究中关注的靶点。Wang 等<sup>[17]</sup> 研究发现 miR-107 在 AD 组中,甚至 AD 的发病早期即出现显著降低。在 AD 的进展过程中,BACE-1 mRNA 水平随着 miR-107 水平减少而增加。生物信息学及荧光素酶分析方法证实 miR-107 与 BACE-1 的 3'-UTR mRNA

序列结合。Hébert 等<sup>[18]</sup> 检测了 5 例散发性 AD 患者的前额叶皮层的 miRNA 表达,发现包括 miR-9, miR-29b, miR-181 在内的 13 种 miRNA 丰富表达,在鼠脑衰老过程中 BACE-1 的水平降低,与之相关的 miR-29a, miR-29b1 增高。体外实验中,对培养细胞的荧光素酶分析证实 miR-29a, miR-29b1 与 BACE-1 的 3'-UTR 相关。Bossonneault 等<sup>[19]</sup> 在鼠 AD 模型中发现 BACE-1 的蛋白水平与 miR-298 和 miR-328 呈负相关性,进一步运用鼠细胞株也证实了这些 miRNA 与 BACE-1 mRNA 3'-UTR 结合位点结合。

**2.4 miRNA 与其他靶 mRNA** 除了 BACE-1 和 APP 之外,也有对神经元中其他的功能不明的转录体的研究。Lukiw 等<sup>[20]</sup> 研究了作为炎症反应抑制因子的补体因子 H (complement factor H, CFH), 结果发现在 AD 患者脑中,神经元、胶质细胞共培养时,miR-146a 水平上调而 CFH 水平下调,miR-146a 与 CFH 的 3'-UTR 直接作用。而 Wang 等<sup>[21]</sup> 研究发现在 APP swe/PS 双转基因 AD 模型鼠皮层中,miR-34a 水平高表达,进一步的序列分析表明 miR-34a 与 Bcl-2 的 3'-UTR 呈反相关,在 SH-SY5Y 细胞中 miR-34a 的表达直接抑制 Bcl-2 的翻译,而敲除 miR-34a 后 Bcl-2 的水平升高,说明异常的 miR-34a 通过 Bcl-2 参与了 AD 的病理过程。Wang 等<sup>[22]</sup> 研究发现,利用同样的双转基因 AD 动物模型 miR-106b 和转化生长因子  $\beta$ II 型受体 (TGF- $\beta$ II, T $\beta$ RII) 异常表达,进一步序列分析证实 miR-106b 与 T $\beta$ RII 的 3'-UTR 结合并呈反相关性,说明异常的 miR-106b 通过 T $\beta$ RII 参与了 AD 的病理过程。

Shioya 等<sup>[23]</sup> 使用实时定量 PCR 发现在 AD 患者脑中与神经元生长、引导轴突生长的神经元导航因子 (neurone navigator 3, NAV3) 的 mRNA 水平升高并伴 miR-29a 水平显著降低,进一步使用荧光素酶分析方法证实 miR-29a 下调 NAV3 的水平,而在 AD 患者额叶皮层的锥体神经元中 NAV3 表达增高,此项研究说明在 AD 患者脑中,下调的 miR-29a 水平可能通过增加 NAV3 表达影响神经变性进程。

### 3 miRNA 在 AD 中的应用

**3.1 miRNA 作为 AD 诊断的标志物** 已有研究表明在 AD 患者死后的脑标本中 miRNA 的异常表达。而 AD 患者脑脊液中磷酸化 tau 蛋白,总 tau 蛋白升高以及下降的  $A\beta$ 42 可以作为 AD 诊断的早期生物学标志物<sup>[24]</sup>。脑中及其体液中相关表达异常的 miRNA 是否可以作为 AD 诊断的生物学标志物? Hyman 等<sup>[25]</sup> 研究发现与 16 例正常年老对照组比较,16 例 AD 患者单核细胞 miR-34a 和 miR-181b 的表达显著增高。Cogswell 等<sup>[26]</sup> 的研究表明在 AD 患者中 miRNA 不仅在中枢神经系统表达异常,而且在其脑脊液中也有异常表达。在 Braak 分级 5~6 级的 AD 患者小脑、海马和额中沟区发现 miR-9, miR-132 下调。在 AD 脑脊液中 miR-146b 水平下调而在脑中丰富的 miR-138 则在较高的水平表达。在人单核细胞中,miR-146a 负性调节 Toll 样受体 (Toll like receptor, TLR) 和激酶信号途径,是判断肺鳞状细胞癌预后因子,但是它在神经细胞中的作用还不清楚。在大鼠海马神经元中,miR-138 负性调节树突形状而对神经元非常重要<sup>[27]</sup>,但是,miR-138 的改变是否仅发生在 AD 或其他神经变性疾病中需要进一步的研究。因为神经元或者其他神经细胞胞质中 miRNA 和细胞外的 miRNA 的变化及相关性等尚不明确,因此,还不能将 miRNA 作为确诊 AD 的生物标志物。

**3.2 miRNA 与 AD 的治疗** miRNA 在 AD 中的异常表达导致神经损失及病变,因此,调节表达与疾病相关的异常 miRNA,可以改变疾病的进展,使 miRNA 可能成为治疗疾病的潜

在靶点。运用特殊修饰的反义寡核苷酸即反 miRNA 可以调节在疾病中过高表达的 miRNA<sup>[28]</sup>。Krützfeldt 等<sup>[29]</sup>报道化学合成的寡核苷酸 Antagomirs 可以在小鼠体内沉默特异 miRNA。通过静脉注射 Antagomirs 后可以对抗多种 miRNA, 在肝脏、心脏、肺、肾、肌肉中相应的 miR-16、miR-122、miR-192 和 miR-194 均明显降低。在同样的研究组<sup>[30]</sup>, 体内注射时鼠中枢神经系统的 miRNA 水平并没有沉默, 而给皮层局部注射后则出现沉默 miRNA 的效果。除了直接抑制的方法, 还有通过下调 miRNA 的生物合成的间接的方法。例如四环素诱导的 shRNA 被用来下调 miRNA 合成过程的关键酶 Droscha 和 Dicer, 但是下调这一途径可能对所有 miRNA 都有作用。另一方面, 一些下调的 miRNA 促进疾病进展, 如在一些肿瘤中 miRNA 水平下降, 说明这种 miRNA 可能具有抑制肿瘤作用。这时可以增加成熟的 miRNA 至相应的组织细胞中, 在这种状态下, 使用小干扰 RNA (siRNA) 的合成 RNA 复合体, 模拟 miRNA 二倍体从而被 RISC 复合体识别, 这种复合体通过装载成熟 miRNA 的序列特征成为内源性 miRNA<sup>[31]</sup>。由于稳定性及释放策略等困难这一方法在体内的效果仍需进一步研究。

#### 4 展 望

由于一种 miRNA 可以作用于多个靶 RNA, 多种 miRNA 可以作用于同一个靶 RNA, 而不同 miRNA 之间存在相互作用, 形成了复杂的 miRNA 网络。而 Schonrock 等<sup>[32]</sup>研究表明, 在给鼠海马神经元 A $\beta$ 42 刺激后, 神经元 miRNA 水平明显表达异常。因此, 对于异常表达的 miRNA 是导致 AD 发病还是 AD 病变继发的 miRNA 异常, 即如何造成异常 miRNA, 这一问题目前还不能回答。说明目前 miRNA 与 AD 的研究尚处于初步阶段, 其详细的调节机制需要更多的深入研究。但是, 随着高通量 miRNA 芯片、生物信息学等技术的发展及应用, 越来越多与 AD 相关的具有调节作用的 miRNA 及其调节机制会被发现, 相信会给 AD 的早期诊断与治疗提供更多新的方法和靶标。

#### 参考文献:

- [1] Fiore R, Siegel G, Schrott G. MicroRNA function in neuronal development, plasticity and disease[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1779(8): 471-478.
- [2] Christensena M, Schrott GM. MicroRNA involvement in developmental and functional aspects of the nervous system and in neurological diseases[J]. *Neurosci Letters*, 2009, 466(2): 55-62.
- [3] Lewis BP, Burge CB, Bartel DP, et al. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets[J]. *Cell*, 2005, 120(1): 15-20.
- [4] Roush S, Slack FJ. The let-7 family of microRNAs[J]. *Trends Cell Biol*, 2008, 18(10): 505-516.
- [5] 徐瑞, 赵吉清. MicroRNA 在神经元发育和可塑性中的作用[J]. *重庆医学*, 2010, 39(17): 2379-2381.
- [6] Bushati N, Cohen SM. MicroRNAs in neurodegeneration[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2008, 18(3): 292-296.
- [7] Schrott GM, Tuebing F, Nigh EA, et al. A brain-specific microRNA regulates dendritic spine development[J]. *Nature*, 2006, 439(7074): 283-289.
- [8] Shibata M, Kurokawa D, Nakao H, et al. MicroRNA-9 modulates Cajal-Retzius cell differentiation by suppressing Foxg1 expression in mouse medial pallium[J]. *J Neurosci*, 2008, 28(41): 10415-10421.
- [9] Yu JY, Chung KH, Deo M, et al. MicroRNA miR-124 regulates neurite outgrowth during neuronal differentiation[J]. *Exp Cell Res*, 2008, 314(14): 2618-2633.
- [10] Enciu AM, Popescu BO, Gheorghisan-Galateanu A. MicroRNAs in brain development and degeneration[J]. *Mol Biol Rep*, 2011, [Epub ahead of print].
- [11] Ryusuke N, Zhou F, Li C, et al. The expression of the Alzheimer's amyloid precursor protein-like gene is regulated by developmental timing microRNAs and their targets in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Develop Biol*, 2008, 315: 418-425.
- [12] Patel N, Hoang D, Miller N, et al. MicroRNAs can regulate human APP levels[J]. *Mol Neurodegener*, 2008, 3: 3-10.
- [13] Hébert SS, Horré K, Nicolai L, et al. MicroRNA regulation of Alzheimer's Amyloid precursor protein expression[J]. *Neurobiol Dis*, 2009, 33(3): 422-428.
- [14] Vilardo E, Barbato C, Ciotti MT, et al. MicroRNA-101 regulates amyloid precursor protein expression in hippocampal neurons[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(24): 18344-18351.
- [15] Justin LM, Lahiri DK. MicroRNA-101 downregulates Alzheimer's amyloid-b precursor protein levels in human cell cultures and is differentially expressed[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 404(4): 889-895.
- [16] Smith P, Hashimi A, Girard J, et al. In vivo regulation of amyloid precursor protein neuronal splicing by microRNAs[J]. *J Neurochem*, 2011, 116(2): 240-247.
- [17] Wang XW, Rajeev BW, Stromberg AJ, et al. The expression of microRNA miR-107 decreases early in Alzheimer's disease and may accelerate disease progression through regulation of  $\beta$ -Site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1[J]. *J Neurosci*, 2008, 28(5): 1213-1223.
- [18] Hébert SS, Horré K, Nicolai L, et al. Loss of microRNA cluster miR-29a/b-1 in sporadic Alzheimer's disease correlates with increased BACE1/beta-secretase expression[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(17): 6415-6420.
- [19] Boissonneault V, Plante I, Rivest S, et al. MicroRNA-298 and MicroRNA-328 regulate expression of mouse  $\beta$ -Amyloid precursor protein-converting Enzyme 1 [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(4): 1971-1981.
- [20] Lukiw WJ, Zhao Y, Cui JG, et al. An NF-kappaB-sensitive micro RNA-146-mediated inflammatory circuit in Alzheimer's disease and in stressed human brain cells[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(46): 33312-33315.
- [21] Wang X, Liu P, Zhu H, et al. MiR-34a, a microRNA up-regulated in a double transgenic mouse model of Alzheimer's disease, inhibits Bcl-2 translation[J]. *Brain Res Bull*, 2009, 80(4-5): 268-273.
- [22] Wang H, Liu J, Zong Y, et al. MiR-106b aberrantly expressed in a double transgenic mouse model for Alzheimer's disease targets TGF- $\beta$  type II receptor[J]. *Brain Res*, 2010, 1357: 166-174.

- [23] Shioya M, Obayashi S, Tabunok H, et al. Aberrant microRNA expression in the brains of neurodegenerative diseases; miR-29a decreased in Alzheimer disease brains targets neurone navigator 3[J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2010, 36(4): 320-330.
- [24] Humpel C. Identifying and validating biomarkers for Alzheimer's disease[J]. *Trends in Biotechnology*, 2011, 29(1): 26-32.
- [25] Schipper HM, Maes OC, Chertkow HM, et al. MicroRNA expression in Alzheimer blood mononuclear cells[J]. *Gene Regul Syst Bio*, 2007, 1: 263-274.
- [26] Cogswell JP, Ward J, Taylor IA, et al. Identification of miRNA changes in Alzheimer's disease brain and CSF yields putative biomarkers and insights into disease pathways[J]. *J Alzheimer's Dis*, 2008, 14(1): 27-41.
- [27] Sigel G, Obrenosterer G, Fiore R, et al. A functional screen implicates microRNA-138-dependent regulation of the dephosphorylation enzyme ATP1 in dendritic spine morphogenesis[J]. *Net Cell Biol*, 2009, 11: 706-715.
- [28] Rossbach M. Small non-coding RNAs as novel therapeutics[J]. *Curr Mol Med*, 2010, 10(4): 361-368.
- [29] Krützfeldt J, Rajewsky N, Braich R, et al. Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs'[J]. *Nature*, 2005, 438(7068): 685-689.
- [30] Krützfeldt J, Kuwajima S, Braich R, et al. Specificity, duplex degradation and subcellular localization of antagomirs[J]. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35(9): 2885-2892.
- [31] van Rooij J, Marshall WS, Olson EN. Toward microRNA-based therapeutics for heart disease: the sense in antisense[J]. *Circ Res*, 2008, 103(9): 919-928.
- [32] Schonrock N, Ke YD, Humphreys D, et al. Neuronal MicroRNA deregulation in response to Alzheimer's disease amyloid- $\beta$ [J]. *Plos One*, 2010, 5(6): e11070-e11076.
- (收稿日期: 2011-10-21 修回日期: 2012-02-16)

• 综 述 •

## 对免疫性血小板减少症发病机制及治疗的研究进展

胡成琳 综述, 陈 林<sup>△</sup> 审校

(重庆医科大学附属第二医院血液科 400010)

**关键词:** 免疫性血小板减少症; 病因; 机制; 治疗

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2012.24.034

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)24-2541-04

免疫性血小板减少症 (immune thrombocytopenia, ITP) 是一种获得性的自身免疫性出血性疾病。发病率约为 (5~10)/10 万人口, 65 岁以上老年人发病率有升高趋势。男女发病率相近, 育龄期女性发病率高于同年龄段男性。临床表现主要以广泛的皮肤黏膜出血为主, 也可出现危及生命的内脏出血, 出血风险随年龄增加而增加。ITP 的临床出血症状与血小板数量减少的程度不一致, 部分患者仅有血小板减少, 没有出血症状。2007 年 ITP 国际工作组将“特发性血小板减少性紫癜” (idiopathic thrombocytopenic purpura) 正式更名为“ITP”, 国内最近发表的 ITP 中国专家共识也将该病正式更名为“原发免疫性血小板减少症”<sup>[1]</sup>。

近年来, 对 ITP 的研究取得了一系列重要进展, 本文根据目前的指导方针、文献综述、临床试验和专家共识, 就 ITP 的病因与发病机制做一综述。

### 1 病因与发病机制

ITP 于 1735 年由德国汉诺威的 Werlhof 定义为出血和紫癜的一个临床综合征, 之后血小板在止血中的作用、脾脏在 ITP 中的作用相继提出, 但 ITP 的发病机制一直难以弄清。在这段时间 Werlhof 的疾病被命名为“特发性血小板减少性紫癜”。20 世纪后期, ITP 的自身免疫性因素得到认同, 出现了“免疫性血小板减少症”的描述。目前, ITP 发病机制可以概括为体液和细胞免疫介导的血小板过度破坏; 体液和细胞免疫介导的巨核细胞数量和质量异常, 血小板生成不足<sup>[1]</sup>。

**1.1 免疫因素** 1951 年, Evans 提出 ITP 存在自身免疫机制, 同年 Harrington 提出 ITP 患者的血清中存在抗血小板因子。2007 年, Emmerich 等<sup>[2]</sup> 发现 ITP 患者 B 淋巴细胞刺激因

子 (B-cell activating factor, BAFF) 水平高于正常对照组, 提出 BAFF 可能是导致 ITP 的重要因素之一。同时, ITP 患者体内出现大量 IgG 型自身抗体, 自身抗体与血小板表面糖蛋白相结合 (包括 GP II b-III a, GP I b-IX, GP I a-II a 等), 形成抗原抗体复合物, 被巨噬细胞摄取后在脾脏中破坏。但实验证明不是所有患者均能检测到血小板相关抗体, 并非所有 ITP 患者的血浆或血清都能引起正常人血小板减少。随着研究的深入, 学者发现在 ITP 患者体内同样存在细胞免疫异常。Chang 等<sup>[3]</sup> 对 ITP 患者 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> 调节性 T 细胞 (Treg) 水平按疾病活动期、治疗未缓解期及治疗缓解期 3 个阶段进行检测, 结果提示活动期和治疗未缓解期细胞水平明显低于治疗缓解期及正常人水平。Treg 具体作用机制尚不十分明确, 可能有以下几点。

**1.1.1 Th1 过度活化, Th3 活性降低, Th17 协同 Th1 细胞的作用** 大量研究证实辅助性 T 细胞 (Th) 与 ITP 的发生有重大关系。多数研究认为, ITP 患者呈 Th1 优势反应模式, 而 Th1 优势反应除可促进抗体产生外, 还能直接促进淋巴细胞的细胞毒作用。1996 年 Semple 首次发现在小儿 ITP 患者体内出现 Th1 细胞异常活化, 相继有大量研究证实慢性 ITP 患者存在 Th1/Th2 比例升高的情况, 从而引起的 ITP 的病理改变。Th1 细胞主要分泌 IFN- $\gamma$ , Th3 细胞通过分泌 TGF- $\beta_1$  发挥作用。Th17 细胞是一类新的 CD4<sup>+</sup> T 细胞亚群, 通过分泌 IL-17 发挥作用。研究证实 Th17 细胞与多种自身免疫性疾病有关。在 ITP 患者体内 Th17 细胞比例升高, 并且与 Th1 细胞水平呈正相关。Wang 等<sup>[4]</sup> 研究证实, ITP 患者 TGF- $\beta_1$  的表达减少、IFN- $\gamma$  浓度增加, TGF- $\beta_1$  水平与血小板计数呈正相关, 在慢性 ITP 患者 IL-17 和 IFN- $\gamma$  水平呈正相关, 从而指出, IL-17 和

<sup>△</sup> 通讯作者, Tel: (023) 63693354; E-mail: chenlinqc@sina.com。