

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.03.030

网络首发 http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20190114.1031.010.html(2019-01-15)

microRNA 在脊柱脊髓损伤中作用的研究现状与进展*

李贺祥¹, 丛岩¹, 王佳瑶¹, 邱涛¹综述, 王春庆^{2△}审校

(1. 贵州医科大学临床医学院, 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学附属医院创伤骨科, 贵阳 550004)

【摘要】 脊髓损伤(SCI)是当今全球性的医学难题之一,致残率及病死率极高,当前临床治疗手段有限且疗效欠佳。SCI后复杂的病理生理过程使得神经功能障碍进一步加重,脊髓再生和功能恢复困难。近年来的研究发现,基因表达的改变在SCI中起到了重要作用,microRNA(miRNA)是一类在转录后水平负性调控基因表达的非编码单链RNA小分子,是基因表达调控的重要机制之一,在细胞分化、生长、增殖和神经活动等多种神经生物学过程及病理过程中起重要作用。在SCI后miRNA主要通过调节中性粒细胞和炎症反应通路在炎症应答中起到了重要作用;在细胞凋亡过程中,因miRNA表达的改变可能同时刺激和抑制凋亡而显得其功能复杂;miRNA也可作用于星形胶质细胞调节胶质瘢痕的进程,在促使神经元存活、轴突生长和促进SCI部位再生进程中发挥重要作用。总之,对神经系统疾病中miRNA作用机制的研究不仅为基因治疗SCI的研究提供了一种新的思路,miRNA本身也可能成为临床治疗SCI的潜在靶点。

【关键词】 微RNAs; 脊髓损伤; 脊柱损伤; 基因表达; 新靶点**【中图分类号】** R651.2**【文献标识码】** A**【文章编号】** 1671-8348(2019)03-0479-04

作为中枢神经系统中较为严重的创伤之一,脊髓损伤(SCI)是脊柱骨折的严重并发症^[1]。其早期主要有因损伤组织缺血、水肿、氧自由基形成及炎症反应等多种因素联合作用引起的暂时性或永久性的病理生理改变,最终可导致肢体运动和感觉能力丧失^[2],目前尚无令人满意的疗法^[3]。最近有研究表明,SCI的继发性损伤和损伤后神经再生过程受到microRNA(miRNA)的显著调控,对与SCI相关的miRNA的研究可以提高对疾病进程的认识,从而为临床医生提供治疗SCI及预测临床预后的机会^[4]。

miRNA是一种长度约为22个核苷酸的非编码小分子RNA,具有在转录水平调控基因表达的功能。作为转录调节者,miRNA能调控蛋白质的合成,因此可以调控疾病和发育的每一个进程。miRNA涉及调节生理条件下神经系统的发育及功能完善的每一个过程,包括神经细胞正常形态结构的维持、轴突生长、突触可塑性、功能及形态维持等方面^[5]。此外,miRNA还参与病理条件下SCI过程,且在某些方面反映出损伤的严重程度^[6]。既往的研究表明,miRNA可能参与了神经退行性变,提示miRNA表达的改变也可能参与了包括脊髓在内的创伤后继发的中枢神经系统损伤^[7],YUNTA等^[8]通过构建创伤型SD大鼠SCI模型,并对SCI后不同时间点大鼠miRNA的表达进行生物信息学分析,结果证明了miRNA的表达变化参与了包括炎症反应、细胞凋亡及星形胶质细胞

增生等多个SCI病理生理过程^[9]。现就miRNA在SCI中作用的研究现状及进展综述如下。

1 miRNA与SCI后炎症反应

SCI是因原发性损伤和炎症反应引发的继发性损伤所共同导致的创伤性疾病^[10],在急慢性SCI的发病机制及神经、组织损伤等重要环节的炎症反应中发挥着主要调控作用,也是继发二次损伤的关键条件之一^[11]。近期研究发现SCI后炎症相关miRNA会发生表达改变,提示这些miRNA可能在调控炎症反应介导的继发性损伤环节起到关键作用^[12]。

LIU等^[13]通过生物信息学分析显示,一些炎症介质基因,如肿瘤坏死因子(TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)和细胞间黏附分子1(ICAM-1)是miR-411、miR-99a、miR-34a、miR-384-5p和miR-30b-5p的潜在靶基因,在SCI后表达下调,这表明SCI后miRNA本身及其潜在靶基因的表达都发生变化,而这些靶基因正是编码以SCI为发病基础的炎症、氧化损伤和凋亡等相关蛋白的基因。SCI发生后会同促发炎症反应,炎症细胞因子如TNF- α 、IL-6、IL-1 β 及花生四烯酸代谢产物等水平在6h内明显上升^[14],当这些因子位于SCI中心处并高度表达时,miR-223也在同一损伤区域明显高表达,提示SCI中miR-223与炎症因子参与的炎症反应存在相关性^[15-16];JEE等^[17]在正常小鼠脊髓中注射miR-20a,发现在小鼠脊髓组织中发生炎症反应,并因此导致神经元死亡,整个病程与人因创伤

* 基金项目:贵州省科技合作计划(ih20157409)。 作者简介:李贺祥(1991-),住院医师,硕士,主要从事脊柱脊髓损伤方面的研究。

△ 通信作者,E-mail:wangchq87@163.com。

导致的 SCI 相似;JEE 还将 miR-20a 抑制剂注射到小鼠 SCI 部位使 miR-20a 表达沉默,后期发现小鼠后肢活动日渐恢复,且该组神经元死亡较少,这表明 miR-20a 不仅参与了 SCI 后炎症反应过程,同时也与损伤后功能恢复有关。miR-126 是在血管内皮细胞中高度富集的 miRNA,既往研究证实其在 SCI 后表达下调^[18]。HU 等^[18]在创伤型大鼠 SCI 模型中,通过上调 miR-126 的水平能够促进血管新生,抑制白细胞外渗进入损伤脊髓,因此,目前的研究表明,miR-126 在 SCI 后促进血管生成和抑制炎症进展中发挥了重要作用。在 SCI 中,由于炎症反应所引起的继发性损伤会再一次加重对机体的打击^[19],miRNA 在调控炎症因子和炎性介质所介导的继发性损伤中起关键性作用,有望成为治疗 SCI 的一种潜在途径。

2 miRNA 与 SCI 后细胞凋亡

细胞凋亡是基因调控的细胞自主有序的死亡形式之一,SCI 后广泛出现神经细胞凋亡现象,它是 SCI 后影响损伤修复的一个关键因素,尤其是继发性损伤。早期研究证实,SCI 后发生神经细胞死亡现象并不是 SCI 的直接作用而是因为继发了细胞凋亡^[20]。因此,抑制 SCI 后神经细胞的凋亡对促进早期神经功能恢复进而改善机体预后有着重要意义。已有文献报道在小鼠 SCI 后出现 miR-486 水平上调^[21],NeuroD6 水平下调^[22]。NeuroD6 是一种神经保护基因,与神经元分化和氧化应激反应相关^[23]。当抑制 miR-486 表达后,NeuroD6 的蛋白水平升高,提示 miR-486 可调控 NeuroD6 的基因水平而发挥抑制凋亡并改善运动功能的作用。同样,miR-20a 被证实可通过调控凋亡相关蛋白进而影响脊髓及运动功能的恢复^[1,23]。HU 等^[24]通过构建创伤型 SD 大鼠 SCI 模型,利用微阵列分析数据筛选出最明显表达上调的 miR-21 作为目标 miRNA,研究其功能,并通过鞘内注射 antagomir-21 使 miR-21 表达沉默,HU 发现与阴性对照组比较,antagomir-21 干预组在 SCI 后细胞凋亡显著增加。在许多疾病和细胞类型中,促凋亡基因 Fas 配体(FasL),磷酸酶和张力蛋白同源物(PTEN)及程序性细胞死亡蛋白 4(PDCD4)被证明是 miR-21 的直接靶点。HUANG 等^[25]在对川芎嗪(TMP)在 SCI 中的保护作用机制的研究中发现,TMP 改善运动功能恢复和减少细胞凋亡的作用机制可能为 TMP 上调了 miR-21 的表达,同时抑制了 FasL、PDCD4 和 PTEN 的表达。这些结果提示 miR-21 在调控 SCI 后继发性细胞死亡中发挥了重要作用,而 miR-21 的保护作用可能是其对促凋亡基因调控的结果。ZHU 等^[26]的研究也揭示了 miR-494 通过调控磷酸酶张力蛋白基因(PTEN)/蛋白激酶 B(Akt)/雷帕霉素靶蛋白(mTOR)通路在 SCI 大鼠中起到神经保护作用。有

研究发现在 SCI 大鼠鞘内注射 antagomir-223 能够显著抑制细胞凋亡和促使 SCI 后大鼠后肢运动功能恢复。因为 antagomir-223 能够显著降低促凋亡蛋白 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)相关 X 蛋白(Bax)和重组人半胱天冬酶 3(caspase-3)的表达水平,并调节抗凋亡的 Bcl-2 蛋白水平及谷氨酸受体 2(GluR2)的表达,这表明通过抑制 miR-223 的表达在 SCI 后功能恢复、血管生成和抗凋亡等方面起到重要作用^[27]。此外,一些凋亡相关基因如 caspase-3、钙蛋白酶(calpain)1、calpain 2、Bcl-2、c-Myc 和凋亡诱导因子基因都可能是一些 SCI 后下调的 miRNA(如 miR-124,miR-235-3p,miR-137,miR-30b-3p)和上调的 miRNA(如 miR-1,miR-15b,miR-34,miR-145)的潜在靶基因。而抗凋亡相关基因包括 Bcl2-1 和 Bcl2-2 基因等可能是 SCI 后一些被上调的基因如 miR-21,miR-146a,miR-20a,miR-145,miR-214,miR-674-5p,miR-15b,miR-17,miR-206 和 miR-672 的潜在靶基因^[28]。也有一些 miRNA 如 let7/miR-98 家族,其表达改变对凋亡的影响仍有争议,因为他们对细胞凋亡作用根据情况不同而有所变化。此前发布的研究表明,大多数这类 miRNA 是通过 P53 和 Akt 通路或沉默关键细胞凋亡的分子,如 caspases-3、caspases-9、Fas/CD95、c-Myc 或 Bcl-2 蛋白家族的几个成员发挥调节细胞凋亡作用的^[14]。

3 miRNA 与 SCI 后神经再生与修复

SCI 后中枢神经系统自我修复和再生能力有限,而脊髓与机体的感觉和运动功能相关,因此研究如何促进损伤后神经元再生、神经功能恢复显得尤为重要。作为内源性调控因子的 miRNA,具备调控超过 1/3 的人类基因的非编码小分子 RNA 的能力^[29]。因此,靶向 miRNA 调控可以有效地促进 SCI 的修复。当前关于 miRNA 在神经细胞轴突间作用的研究很多,YU 等^[30]在斑马鱼脊髓横断损伤后检测到再生的脑干神经元中的 miR-133b 水平上调,使 miR-133b 水平下调后斑马鱼运动功能及神经再生情况明显减弱。生物信息分析和靶基因预测提示 RhoA 蛋白为 miR-133b 的可能靶基因,在斑马鱼 SCI 后出现 RhoA 基因水平上调,且这种上调的基因能够使损伤后运动功能恢复减弱^[31]。miR-133b 在 SCI 的作用机制中一个重要的关键性因素是通过其 mRNA 直接作用降低 RhoA 蛋白水平来实现的^[32]。SCI 后 miR-133b 可通过对 RhoA 蛋白的调控影响轴突再生从而在损伤修复及功能恢复过程中发挥作用。陈琨等^[3]研究中证实了 miR-152 在 SCI 中的重要作用是促进了神经轴突的生长。在 YI 等^[33]的研究中,miR-155 表达缺失促进了 SCI 后髓鞘修复过程,可用于 SCI 和其他中枢神经系统疾病治疗的新靶点^[34]。OBERNOSTERER 等^[35]报道表明,在神经系统中高表达的 miR-138 在调

节神经生长和神经再生过程中起到关键性作用。SCI 可导致星形胶质细胞增生,星形胶质细胞增生是 SCI 早期的增生性反应,可修复受损的血脑屏障和随后的增生性反应并最终形成胶质瘢痕。胶质瘢痕的形成限制了损伤范围的扩增,但其增生却使得轴突的伸长受限。BHALALA 等^[36] 在 小 鼠 SCI 模 型 中 发 现,星形胶质细胞病变附近检测到高水平的 miR-21,而未受伤的脊髓星形胶质细胞表达区检测到的 miR-21 却是低水平的,星形胶质细胞中 miR-21 过表达能使 SCI 星形胶质细胞肥大反应减弱。在星形胶质细胞中应用 miRNA 海绵技术抑制 miR-21 不但会增强肥大反应,还增加了病变部位神经轴突密度。研究 miR-21 在 SCI 后纤维化瘢痕形成的重要作用及机制,将可能为促进 SCI 后轴突再生和功能恢复的治疗目标^[37]。

4 总结与展望

大量研究证据表明 miRNA 在 SCI 后复杂的病理生理过程(如炎症反应、神经生长、增殖和凋亡)中起到了重要的调控作用,如今更多与 SCI 有关的 miRNA 还有待发现,相关证据和资料也亟待收集。随着各项基因检测技术的迅速发展,基因调控的研究不断深入,关于 miRNA 的基础研究越来越多。有更多的研究者们参与进来,探讨如何通过合理有效调控与 SCI 靶向相关的 miRNA 的表达,而实现其对 SCI 更好地预防、诊断及治疗价值。干预 miRNA 的表达对减少 SCI 继发性损伤及神经功能恢复改善有重要意义,可能成为治疗 SCI 的有效靶点,可为探索新的临床治疗 SCI 及其他病症的治疗方法提供新思路、新技术与新途径。

参考文献

- [1] 宋庆鑫,张帆,王琨,等. miRNA 在急性脊髓损伤病理生理调节机制中的作用研究进展[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2013,23(11):1022-1024.
- [2] SAUGSTAD J A. MicroRNAs as effectors of brain function with roles in ischemia and injury, neuroprotection, and neurodegeneration[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2010,30(9):1564-1576.
- [3] 陈琨. 小鼠脊髓损伤后 microRNA-152 对神经元突起再生作用和机制的研究[D]. 西安:第四军医大学,2014.
- [4] MARTIROSYAN N L, CAROTENUTO A, PATEL A, et al. The role of microRNA markers in the diagnosis, treatment, and outcome prediction of spinal cord injury[J]. Front Surg, 2016,3(2):56.
- [5] NING B, GAO L, LIU R H, et al. microRNAs in spinal cord injury: potential roles and therapeutic implications[J]. Int J Biol Sci, 2014,10(9):997-1006.
- [6] ZHAO Y, ZHANG H, ZHANG D, et al. Loss of microRNA-124 expression in neurons in the peri-lesion area in mice with spinal cord injury[J]. Neural Regen Res, 2015, 10(7):1147-1152.
- [7] LIU N K, XU X M. MicroRNA in central nervous system trauma and degenerative disorders[J]. Physiol Genomics, 2011,43(10):571-580.
- [8] YUNTA M, NIETO-DÍAZ M, ESTEBAN F J, et al. MicroRNA dysregulation in the spinal cord following traumatic injury[J]. PLoS One, 2012,7(4):e34534.
- [9] NIETO-DIAZ M, ESTEBAN F J, REIGADA D A, et al. MicroRNA dysregulation in spinal cord injury: causes, consequences, and therapeutics[J]. Front Cell Neurosci, 2014,8(9):53.
- [10] GADANI S P, WALSH J T, LUKENS J R, et al. Dealing with danger in the CNS: the response of the immune system to injury[J]. Neuron, 2015,87(1):47-62.
- [11] OUDEGA M. Inflammatory response after spinal cord injury[J]. Exp Neurol, 2013,250(4):151-155.
- [12] SHI Z J, ZHOU H X, LU L, et al. The roles of microRNAs in spinal cord injury[J]. Inter J Neurosci, 2017,127(12):1104-1115.
- [13] LIU N K, WANG X F, LU Q B, et al. Altered microRNA expression following traumatic spinal cord injury[J]. Exp Neurol, 2009,219(2):424-429.
- [14] MALDONADO-BOUCHARD S, PETERS K, WOLLER S A, et al. Inflammation is increased with anxiety- and depression-like signs in a rat model of spinal cord injury[J]. Brain Behav Immun, 2016(51):176-195.
- [15] IZUMI B, NAKASA T, TANAKA N, et al. MicroRNA-223 expression in neutrophils in the early phase of secondary damage after spinal cord injury[J]. Neurosci Lett, 2011,492(2):114-118.
- [16] SHI L B, TANG P F, ZHANG W, et al. Naringenin inhibits spinal cord injury-induced activation of neutrophils through miR-223[J]. Gene, 2016,592(1):128-133.
- [17] JEE M K, JUNG J S, IM Y B, et al. Silencing of miR20a is crucial for Ngn1-mediated neuroprotection in injured spinal cord[J]. Hum Gene Ther, 2012,23(5):508-520.
- [18] HU J Z, ZENG L, HUANG J H, et al. miR-126 promotes angiogenesis and attenuates inflammation after contusion spinal cord injury in rats[J]. Brain Res, 2015(1608):191-202.
- [19] 孙超,李波,郭巍,等. 炎症因子对脊髓损伤作用的研究进展[J]. 中华实验外科杂志, 2016,33(7):1877-1880.
- [20] BARINAGA M. New view of spinal cord injury[J]. Science, 1996,274(5292):1466.
- [21] JEE M K, JUNG J S, CHOI J I, et al. MicroRNA 486 is a potentially novel target for the treatment of spinal cord injury[J]. Brain, 2012,135(Pt 4):1237-1252.
- [22] UITTENBOGAARD M, BAXTER K K, CHIARAMELLO A. The neurogenic basic helix-loop-helix transcription factor NeuroD6 confers tolerance to oxidative stress by triggering an antioxidant response and sustaining the mitochondrial biomass[J]. ASN Neuro, 2010,2(2):e00034.

- [23] LIU X J, ZHENG X P, ZHANG R, et al. Combinatorial effects of miR-20a and miR-29b on neuronal apoptosis induced by spinal cord injury[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(4): 3811-3818.
- [24] HU J Z, HUANG J H, ZENG L, et al. Anti-apoptotic effect of microRNA-21 after contusion spinal cord injury in rats[J]. *J Neurotrauma*, 2013, 30(15): 1349-1360.
- [25] HUANG J H, CAO Y, ZENG L, et al. Tetramethyl pyrazine enhances functional recovery after contusion spinal cord injury by modulation of MicroRNA-21, FasL, PDCD4 and PTEN expression[J]. *Brain Res*, 2016, 1648 (Pt A): 35-45.
- [26] ZHU H G, XIE R, LIU X D, et al. MicroRNA-494 improves functional recovery and inhibits apoptosis by modulating PTEN/AKT/mTOR pathway in rats after spinal cord injury[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017(92): 879-887.
- [27] LIU D, HUANG Y, JIA C, et al. Administration of antagonism-223 inhibits apoptosis, promotes angiogenesis and functional recovery in rats with spinal cord injury[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2015, 35(4): 483-491.
- [28] BAK M, SILAHTAROGLU A, MOLLER M, et al. MicroRNA expression in the adult mouse central nervous system[J]. *RNA*, 2008, 14(3): 432-444.
- [29] BHALALA O G, SRIKANTH M, KESSLER J A. The emerging roles of microRNAs in CNS injuries[J]. *Nat Rev Neurol*, 2013, 9(6): 328-339.
- [30] YU Y M, GIBBS K M, DAVILA J, et al. MicroRNA miR-133b is essential for functional recovery after spinal cord injury in adult zebrafish[J]. *Eur J Neurosci*, 2011, 33(9): 1587-1597.
- [31] SUNG J K, MIAO L, CALVERT J W, et al. A possible role of RhoA/Rho-kinase in experimental spinal cord injury in rat[J]. *Brain Res*, 2003, 959(1): 29-38.
- [32] THEIS T, YOO M, PARK C S, et al. Lentiviral delivery of miR-133b improves functional recovery after spinal cord injury in mice[J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(6): 4659-4671.
- [33] YI J, WANG D, NIU X, et al. MicroRNA-155 deficiency suppresses Th17 cell differentiation and improves locomotor recovery after spinal cord injury[J]. *Scand J Immunol*, 2015, 81(5): 284-290.
- [34] GAUDET A D, MANDREKAR-COLUCCI S, HALL J C, et al. miR-155 deletion in mice overcomes neuron-intrinsic and neuron-extrinsic barriers to spinal cord repair[J]. *J Neurosci*, 2016, 36(32): 8516-8532.
- [35] OBERNOSTERER G, LEUSCHNER P J, ALENIOUS M, et al. Post-transcriptional regulation of microRNA expression[J]. *RNA*, 2006, 12(7): 1161-1167.
- [36] BHALALA O G, PAN L, SAHNI V, et al. microRNA-21 regulates astrocytic response following spinal cord injury[J]. *J Neurosci*, 2012, 32(50): 17935-17947.
- [37] LIU R H, NING B. Interaction of mi R-21 and TGF- β /SMADs signaling pathway affects the formation of fibrotic scars after spinal cord injury[J]. *NRR*, 2015, 10(12): 1961.

(收稿日期:2018-07-21 修回日期:2018-10-01)

(上接第 478 页)

- [18] WANG J, CUI Z, LU J, et al. Circulating antibodies against thrombospondin type- I domain-containing 7A in Chinese patients with idiopathic membranous nephropathy[J]. *Clin J Am Soci Nephrol*, 2017, 12(10): 1642-1651.
- [19] KUO M W, WANG C H, WU H C, et al. Soluble THSD7A is an N-Glycoprotein that promotes endothelial cell migration and tube formation in angiogenesis[J]. *PLoS One*, 2011, 6(12): e29000.
- [20] VIVARELLI M, EMMA F, PELLE T, et al. Genetic homogeneity but IgG subclass-dependent clinical variability of alloimmune membranous nephropathy with anti-neutral endopeptidase antibodies[J]. *Kidney Int*, 2015, 87(3): 602-609.
- [21] RONCO P, DEBIEC H. Pathophysiological advances in membranous nephropathy: time for a shift in patient's care[J]. *Lancet*, 2015, 385(9981): 1983-1992.
- [22] TOMAS N M, BECK L H, MEYER-SCHWESINGER C, et al. Thrombospondin type-1 domain-containing 7A in idiopathic membranous nephropathy[J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(24): 2277-2287.
- [23] GOEDEL M, GRAHAMMER F, HUBER T B. Thrombospondin type-1 domain-containing 7A in idiopathic membranous nephropathy[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(11): 1073.
- [24] TOMAS N M, HOXHA E, REINICKE A T, et al. Autoantibodies against thrombospondin type 1 domain-containing 7A induce membranous nephropathy[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(7): 2519-2532.
- [25] 程虹, 谌贻璞. 需尽快开展诊断特发性膜性肾病的两项检验[J]. *中华检验医学杂志*, 2016, 39(12): 873-875.
- [26] STAHL P R, HOXHA E, WIECH T, et al. THSD7A expression in human cancer[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2017, 56(4): 314-327.
- [27] BECK J. Membranous nephropathy and malignancy[J]. *Semin Nephrol*, 2010, 30(6): 635-644.
- [28] HOXHA E, WIECH T, STAHL PR, et al. A mechanism for cancer-associated membranous nephropathy[J]. *N Engl J Med*, 2016, 374(20): 1995-1996.

(收稿日期:2018-06-18 修回日期:2018-09-25)