

• 论 著 •

miR-451/MIF 信号通路在脑出血后 血脑屏障破坏中的作用

白霜 陈施玲 张格 刘霞 陈丹阳 唐洲平 唐颖馨

【摘要】 目的 观察脑出血后微小 RNA-451 (MicroRNA, miR-451)/巨噬细胞迁移抑制因子 (Macrophage migration inhibitory factor, MIF) 信号通路的变化及其对血脑屏障紧密连接的影响。**方法** 体外培养人脑微血管内皮细胞 (Human brain microvascular endothelial cells, hBMECs), 随机分为对照组和血红素组; 对照组细胞给予常规培养基, 血红素组细胞的培养基中加入 60 μ M 血红素分别培养 12、24 和 48 h, 实时荧光定量聚合酶链反应 (Polymerase chain reaction, PCR) 检测各组各时间点 miR-451 转录水平; 体外培养 hBMECs 细胞, 随机分为空白组、血红素组、阴性模拟物组和 miR-451 模拟物组, 培养 24 h; 酶联免疫吸附法 (Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 检测各组培养基上清中 MIF 分泌水平, 实时荧光定量 PCR 检测各组 MIF mRNA 的转录水平及紧密连接相关蛋白 [咬合蛋白 Occludin、闭合蛋白 Claudin 和闭合小环蛋白 1 (Zonula occluden-1, ZO-1)] mRNA 的转录水平。**结果** hBMECs 细胞培养基中加入 60 μ M 血红素分别作用 12、24 和 48 h 后各时间点的 miR-451 转录水平均低于同时时间点的对照组 (P 均 < 0.05), 且 24 h 时 miR-451 转录水平最低。各组 hBMECs 细胞培养 24 h 后血红素组培养基上清中的 MIF 蛋白的水平 and 细胞内 MIF mRNA 的转录水平均高于空白组 (P 均 < 0.05); miR-451 模拟物组上清中的 MIF 蛋白水平和细胞内 MIF mRNA 的转录水平均低于阴性模拟物组 (P 均 < 0.05)。各组 hBMECs 细胞培养 24 h 后血红素组的细胞内 Occludin mRNA、Claudin-5 mRNA 和 Zo-1 mRNA 的转录水平低于空白组 ($P < 0.05$), miR-451 模拟物组细胞内 Occludin mRNA、Claudin-5 mRNA 和 Zo-1 mRNA 的转录水平均高于阴性模拟物组 ($P < 0.05$)。**结论** miR-451/MIF 信号通路可能参与了脑出血后血脑屏障紧密连接的破坏, 给予外源性补充 miR-451 模拟物可能有助于维持血脑屏障的完整性。

【关键词】 微小 RNA 巨噬细胞迁移抑制因子 脑出血 血脑屏障

【中图分类号】 R741 R741.02 R743.34 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007-0478(2022)04-0305-06

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2022.04.001

The role of miR-451/MIF signaling pathway in the disruption of blood-brain barrier after intracerebral hemorrhage Bai Shuang, Chen Shiling, Zhang Ge, et al. Department of Neurology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030

【Abstract】 Objective To investigate the role of microRNA-451 (miR-451)/macrophage migration inhibitory factor (MIF) signal pathway in tight junctions of blood-brain barrier (BBB) after cerebral hemorrhages. **Methods** Human brain microvascular endothelial cells (hBMECs) were cultured and randomly divided into the control group and the hemin group. hBMECs were cultured with normal medium or medium with 60 Mm hemin for 12 h, 24 h, or 48 h. Transcriptional levels of miR-451 were detected by real-time PCR (RT-PCR). hBMECs were cultured for 24 h and randomly divided into the blank control group, hemin group, NC mimic group, and miR-451 mimic group. MIF protein in the supernatant of each group was detected by ELISA and transcriptional levels of MIF mRNA, Occludin mRNA, Claudin-5, and ZO-1 mRNA were detected by RT-PCR. **Results** Transcriptional levels of miR-451 in the hemin group were lower than those in the control group after 12 h, 24 h, and 48 h treatment with hemin (all $P < 0.05$). The MIF level in the supernatant of hemin group was higher than that in the control group ($P < 0.05$), and the transcription level of MIF mRNA in hB-

基金项目:国家自然科学基金(编号为 81873750、82071330、92148206)

作者单位:430030 武汉,华中科技大学同济医学院附属同济医院神经内科[白霜 陈施玲 张格 刘霞 陈丹阳 唐洲平 唐颖馨(通信作者)]

MECs of hemin group was higher than that of the control group ($P < 0.05$). The MIF protein in the supernatant of miR-451 mimic group was lower than that in the NC mimic group ($P < 0.05$). The transcription level of MIF mRNA in hBMECs of miR-451 mimic group was lower than that in the NC mimic group ($P < 0.05$). The transcription levels of Occludin mRNA, Claudin-5 mRNA, and ZO-1 mRNA of hBMECs in the hemin group were lower than those in the control group (all $P < 0.05$). The transcription levels of Occludin mRNA, Claudin-5 mRNA and ZO-1 mRNA of hBMECs in miR-451 mimic group were higher than those in NC mimic group (all $P < 0.05$). **Conclusion** The miR-451/MIF signaling pathway may be involved in the destruction of tight junctions of BBB after intracerebral hemorrhage. Exogenous supplementation of miR-451 mimics may help maintain the integrity of the BBB.

【Key words】 MicroRNA Macrophage migration inhibitory factor Cerebral hemorrhages Blood brain barrier

脑出血是指原发性脑实质血管破裂,其损伤机制主要包括血肿占位效应和继发性脑损伤。脑出血后的继发性脑损伤机制复杂,其中包括由各种原因导致的血脑屏障损伤^[1]。血脑屏障由脑毛细血管的内皮、基膜和星形胶质细胞的血管周足等构成。脑毛细血管内皮细胞是构成血脑屏障的主要结构,其结构基础为紧密连接^[2]。紧密连接的构成主要有3种,分别为跨膜蛋白、胞质附着蛋白和细胞骨架,其中主要的跨膜蛋白为咬合蛋白 Occludin 和闭合蛋白 Claudin,另外还有膜的外周蛋白闭合小环蛋白 1 (Zonula occluden-1, ZO-1)^[3]。微小 RNA (MicroRNA, miRNA) 是长度为 18~25 nt 的非编码 RNA,其可通过碱基互补配对的方式导致 mRNA 的剪切降解或抑制 mRNA 的翻译,进而调控靶基因的表达^[4]。miR-451 是肿瘤抑制因子,参与调控血管内皮功能,抑制血管新生^[5-6]。巨噬细胞迁移抑制因子 (Macrophage migration inhibitory factor, MIF) 是 miR-451 的靶向分子,miR-451 通过靶向调节 MIF 而发挥其生物学作用^[7-8]。本研究拟从细胞研究层面模拟观察脑出血后 miR-451/MIF 信号通路的变化及其对紧密连接的影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与材料

人脑微血管内皮细胞 (Human brain microvascular endothelial cells, hBMECs) 购于上海传秋生物科技有限公司;杜尔贝科改良伊格尔培养基 (Dulbecco's modification of Eagle's medium, DMEM) 高糖培养基购于美国 Hyclone 公司;胎牛血清 (Fetal bovine serum, FBS)、L-谷氨酰胺、青链霉素购于美国 Gibco 公司;氯化血红素购于美国 Sigma 公司;分化抗原簇 31 (Cluster of differentia-

tion 31, CD31) 兔抗小鼠单抗体购于美国 Cell signaling technology 公司;4, 6-联脒-2-苯基吲哚 (4, 6-Diamidino-2-Phenylindole, DAPI)、细胞计数试剂盒-8 (Cell counting kit-8, CCK-8) 试剂盒购于翌圣生物科技 (上海) 有限公司;Trizol RNA 提取试剂 Fast King 一步法反转录-荧光定量试剂盒、Super Real 荧光定量预混试剂增强版 SYBR Green 试剂盒购于天根生化科技 (北京) 有限公司;miR-451 模拟物 (miR-451 mimic, 451 mimic) 和阴性对照模拟物 (Negative control mimic, NC mimic) 购于广州锐博生物技术有限公司;ELASA 试剂盒购于武汉伊莱瑞特生物科技有限公司;Lipofectamine 3000 转染试剂、荧光定量 PCR 仪购于赛默飞世尔科技公司。PCR 引物由北京擎科生物科技有限公司设计合成:miR-451 正向引物序列 TGGAAACCGTTAC CATTACTGAGTT, 反向引物序列 CAGTCGTCGCACCCTCC;MIF 正向引物序列 CTTTGTACCGTCCTCCGGTC, 反向引物序列 CGTTCGTGCCGCTAAAAGTC;Occludin 正向引物序列 AGAAGGCTGATGCCAAGTTGT, 反向引物序列 TGCTCACAGAGGTTTGGCTT;Claudin-5 正向引物序列 TGTCGCAGAAGTACGAGCTG, 反向引物序列 TCTTCTTGTCGTAGTCGCCG;ZO-1 正向引物序列 CGGGACTGTTGGTATTGGCT, 反向引物序列 ACCTCAAATGCACCCCCATT。

1.2 方法

1.2.1 hBMECs 细胞培养及传代 取购置的 hBMECs (T25 培养瓶内) 平放于 37 °C、5% CO₂ 的恒温培养箱中缓冲 2 h;弃去其中培养液,再加入 5 mL 完全培养基 (88% DMEM 高糖 + 10% FBS + 1% 青链霉素 + 1% L-谷氨酰胺);置于 37 °C、5% CO₂ 的恒温培养箱中培养,每 2 d 半量换液;待细胞长满瓶底

80%~90%,以 1:3 的比例传代。

1.2.2 hBMECs 细胞鉴定 将无菌小圆玻片放入 24 孔板,1 片/孔;将传代 2 次后的 hBMECs 以 1×10^5 /mL 密度接种于 24 孔板;当细胞融合度达 60%~70%时吸弃培养基,磷酸缓冲盐溶液(Phosphate buffer saline,PBS)清洗 5 min \times 3 次;加入 4%甲醛固定 20 min,PBS 清洗 5 min \times 3 次;加入 CD31 一抗(1:100 稀释)4℃孵育过夜,PBS 清洗 5 min \times 3 次;加入花青素 3(Cyanine 3,Cy3)抗兔荧光二抗,室温孵育 1 h;复染 DAPI 5 min,PBS 清洗 5 min \times 3 次;100%甘油封片,荧光显微镜下观察拍照;计数 20 倍镜下随机 5 个视野下的 CD31(+)细胞数,取其平均值为 CD31 阳性率。

1.2.3 血红素实验水平判断 取处于对数生长期的 hBMECs 细胞,消化后用完全培养基重悬,以 1×10^5 /mL 密度接种于 96 孔板内,100 μ L/孔;另选 5 孔设置为空白孔(不接种细胞,仅加同样体积的完全培养基);于 37℃、5% CO₂ 培养箱内培养 24 h;取 100 mM 血红素储存液,用 DMEM 高糖培养基分别稀释为 5、10、20、30、40、50、60 及 70 μ M;吸弃旧培养基,将含有上述不同水平血红素的全培养基加入 96 孔板内,每个水平设置 5 个重复孔;另选 5 孔设置为对照孔,加入不含血红素的全培养基;将 96 孔板置于 37℃、5% CO₂ 培养箱内培养 24 h;采用 CCK8 试剂盒检测各组细胞活力,用酶标仪测定 450 nm 各孔的光密度(Optical density,OD)。细胞活力(%) = (OD_{血红素孔} - OD_{空白孔}) / (OD_{对照孔} - OD_{空白孔}) \times 100%,以细胞活力下降 50%为细胞受损判断标准。根据细胞活力,选择本研究的最适宜血红素实验水平。

1.2.4 miR-451 转录水平检测 取处于对数生长期的 hBMECs 细胞,消化后用完全培养基重悬,以 1×10^5 /mL 密度接种于 6 孔板内,2 mL/孔;随机分为对照组和血红素组,血红素组分 12、24 和 48 h 共 3 个亚组,每组设置 5 个重复孔;对照组细胞给予常规全培养基,血红素组给予加入实验水平血红素的全培养基;6 孔板置于 37℃、5% CO₂ 培养箱,分别培养 12、24 和 48 h;Trizol 提取细胞总 RNA,实时荧光定量 PCR 检测各组各时间点 miR-451 转录水平。

1.2.5 MIF 分泌及 mRNA 转录水平检测 取处于对数生长期的 hBMECs 细胞,消化后用完全培养基重悬,以 1×10^5 /mL 密度接种于 6 孔板内,2 mL/孔;随机分为空白组(给予完全培养基培养)、

血红素组(给予完全培养基 + 实验水平的血红素培养)、阴性模拟物组(Lipo 3000 转染 50 nM 阴性模拟物后给予完全培养基 + 实验水平的血红素培养)和 miR-451 模拟物组(Lipo 3000 转染 50 nM miR-451 模拟物后给予完全培养基 + 实验水平的血红素培养),每组设置 5 个重复孔;6 孔板置于 37℃、5% CO₂ 培养箱,培养 24 h;取各组培养基的上清,ELISA 法检测 MIF 分泌水平;Trizol 提取细胞总 RNA,实时荧光定量 PCR 检测各组 MIF mRNA 的转录水平。

1.2.6 紧密连接相关蛋白的 mRNA 转录水平检测 空白对照组、血红素组、阴性模拟物组和 miR-451 模拟物组细胞培养 24 h 后用 Trizol 提取细胞总 RNA,实时荧光定量 PCR 检测各组紧密连接相关蛋白的 mRNA 转录水平,包括膜蛋白咬合蛋白 Occludin、闭合蛋白 Claudin-5 及外周胞浆蛋白闭合小环蛋白 1(zonulaoccludens 1,ZO-1)水平。

1.2.7 统计学处理

采用 SPSS 20.0 软件。符合正态分布以及方差齐性的计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,2 组间比较采用独立样本均数 t 检验;4 组间比较采用方差分析,组间两两比较采用 SNK- q 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 hBMECs 细胞培养及鉴定

镜下可见培养的 hBMECs 贴壁生长,呈长梭形或楔形。血管内皮细胞表面标记物 CD31 免疫荧光染色显示,细胞表达 CD31 的阳性率为 (92.5 \pm 2.2)%,可用于后续实验(图 1)。

2.2 血红素最适宜实验水平

CCK8 试剂盒检测不同水平血红素作用下的细胞活力显示,加入的血红素水平为 60 μ M 时细胞活力下降近最接近 50%(图 2)。所以,选择 60 μ M 血红素作为后续实验的水平。

2.3 不同时间点 miR-451 转录水平比较

60 μ M 血红素分别作用 12、24 和 48 h 后各时间点 hBMECs 细胞内的 miR-451 转录水平均低于同时时间点的对照组(P 均 < 0.05),且 24 h 时 miR-451 转录水平最低(图 3)。即血红素刺激可降低体外培养的 hBMECs 细胞内的 miR-451 转录水平,且作用 24 h 时水平降低幅度最大,故选择血红素作用 24 h 作为后续实验的观察时间点。

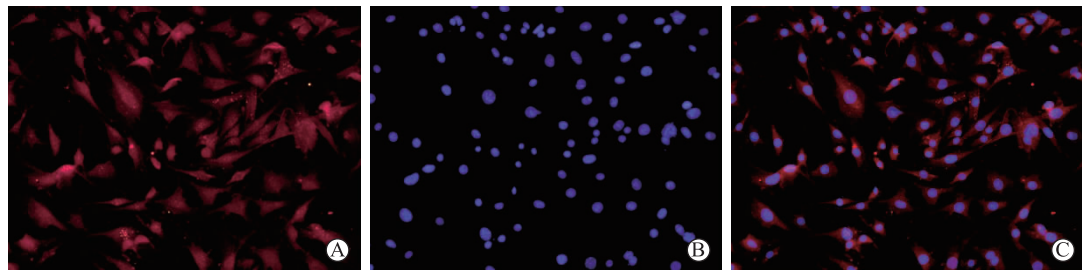


图1 hBMECs 细胞 CD31 免疫荧光染色鉴定(免疫荧光染色×200 倍) A 为红色荧光为 CD31;B 为蓝色荧光为 DAPI;C 为合成图

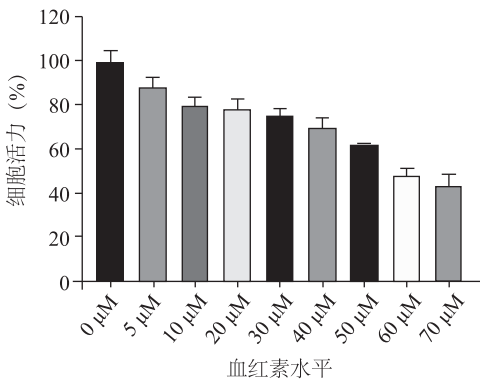


图2 不同血红素水平作用后的 hBMECs 细胞活力

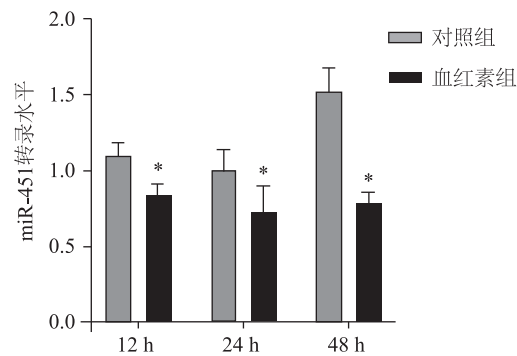


图3 60 μM 血红素作用不同时间后 hBMECs 细胞内 miR-451 转录水平的变化 与同时间点的对照组比较, * $P<0.05$

2.4 各组 MIF 分泌及 mRNA 转录水平比较

ELASA 法检测显示, 各组在不同条件下培养 24 h 后血红素组上清中的 MIF 蛋白水平高于空白组($P<0.05$), 即血红素刺激后 hBMECs 细胞分泌的 MIF 蛋白表达水平升高; miR-451 模拟物组上清中的 MIF 蛋白水平低于阴性模拟物组($P<0.05$), 即上调 miR-451 可降低 hBMECs 细胞 MIF 的分泌水平; 血红素组和阴性模拟组上清中的 MIF 蛋白水平无明显差异($P>0.05$)(图 4)。

实时荧光定量 PCR 检测显示, 各组在不同条件下培养 24 h 后血红素组 hBMECs 细胞内 MIF

mRNA 的转录水平高于空白组($P<0.05$), 即血红素刺激后 hBMECs 细胞中 MIF mRNA 转录水平升高; miR-451 模拟物组 hBMECs 细胞内 MIF mRNA 的转录水平低于阴性模拟物组($P<0.05$), 即上调 miR-451 可抑制 MIF mRNA 的转录; 血红素组和阴性模拟组 hBMECs 细胞内 MIF mRNA 的转录水平无明显差异($P>0.05$)(图 4)。

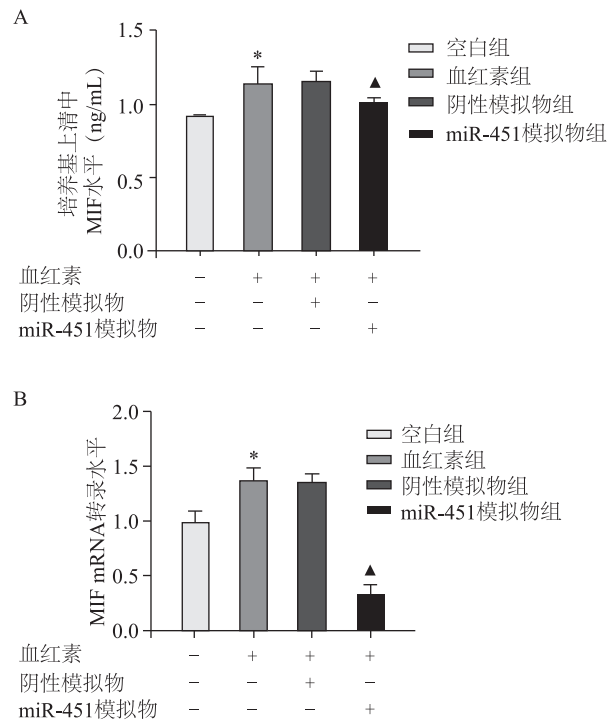


图4 各组 hBMECs 细胞培养基上清中 MIF 蛋白及 hBMECs 细胞内 MIF mRNA 转录水平比较 A 为各组 hBMECs 细胞培养基上清中 MIF 蛋白水平比较; B 为各组 hBMECs 细胞内 MIF mRNA 转录水平比较; 与空白组比较, * $P<0.05$; 与阴性模拟物组比较, ▲ $P<0.05$

2.5 紧密连接相关蛋白的 mRNA 转录水平比较

实时荧光定量 PCR 检测显示, 各组在不同条件下培养 24 h 后血红素组的细胞内 Occludin mRNA, Claudin-5 mRNA 和 Zo-1 mRNA 的转录水平

均低于空白组(均 $P<0.05$),即血红素刺激后 hBMECs 细胞中紧密连接蛋白 mRNA 的转录水平降低;miR-451 模拟物组细胞内 Occludin mRNA, Claudin-5 mRNA 和 Zo-1 mRNA 的转录水平均高于阴性模拟物组(均 $P<0.05$),即上调 miR-451 可促进 hBMECs 细胞中紧密连接蛋白 mRNA 的转录水平;血红素组和阴性模拟组 hBMECs 细胞内 Occludin mRNA, Claudin-5 mRNA 和 Zo-1 mRNA 的转录水平无明显差异($P>0.05$)(图 5)。

3 讨论

血脑屏障损伤是脑出血后继发性脑损伤的重要机制之一。hBMECs 是组成脑微血管腔面的单层扁平上皮样细胞,是血脑屏障的主要组成成分^[9]。血红素是血红蛋白的重要组成部分。因此,本研究选择体外培养 hBMECs,给予血红素刺激,从细胞研究层面模拟研究脑出血后血脑屏障破坏及其机制。

本研究免疫细胞荧光染色显示体外培养 hBMECs 细胞 CD31 的阳性率为 $(92.5 \pm 2.2)\%$,即培养细胞的纯度超过 90%,可用于后续实验研究。细胞活力检测显示,60 μM 血红素作用 24 h 后 hBMECs 细胞活力下降最接近 50%,该水平可作为后续实验的水平。

miR-451 最早由人脑垂体 RNA 中提取并命名,位于染色体 17q 11.2^[10-11]。生物信息学分析显示,miR-144/451 基因簇与上皮细胞分化过程密切相关,参与血管内皮生长因子信号通路^[12]。miR-451 可抑制人脐静脉内皮细胞的增殖、迁移和血管形成;也可减少肿瘤的血管新生^[6]。但是,有关脑出血后 miR-451 与脑微血管内皮的关系、与血脑屏障的关系,目前国内外尚无相关研究。本研究结果显示,60 μM 血红素作用 12、24 和 48 h 后各时间点 hBMECs 细胞内的 miR-451 转录水平均低于同时时间点的对照组(P 均 <0.05),且 24 h 时 miR-451 转录水平最低。因此,选择血红素作用 24 h 作为后续实验的观察时间点。

MIF 是 miR-451 的下游靶标,miR-451 通过靶向调控 MIF,抑制肿瘤细胞的增殖和迁移^[7-8]。如通过靶向 MIF 下调 miR-451 可改善缺氧处理的脐静脉细胞的迁移、侵袭和成管^[7];miR-451 通过靶向 MIF 来抑制鼻咽癌细胞生长和侵袭^[13]等。本研究结果首次证实,在模拟脑出血的体外研究中血红素刺激可导致 hBMECs 细胞分泌的 MIF 蛋白水平升高,hBMECs 细胞内 MIF mRNA 的转录水平也升高;通过转染 miR-451 模拟物来提高细胞内 miR-451 水平后 hBMECs 细胞分泌的 MIF 蛋白水平降

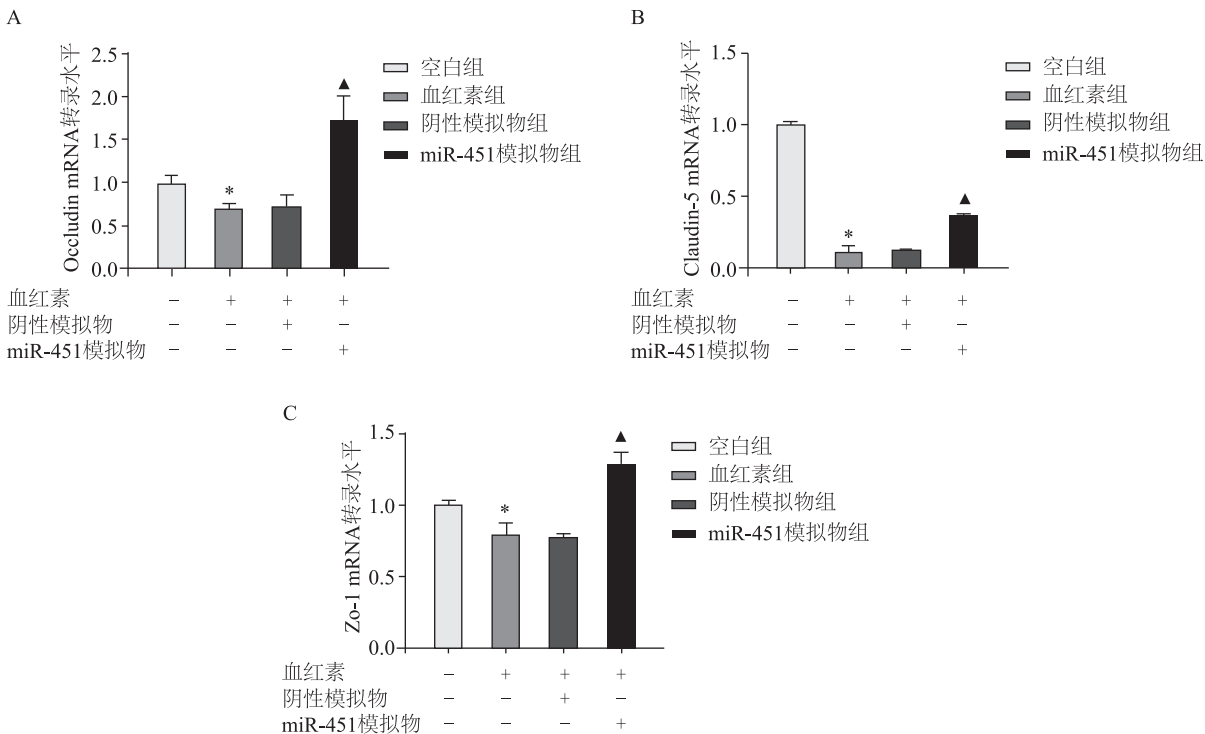


图 5 A-C 为各组 hBMECs 细胞内 Occludin mRNA, Claudin-5 mRNA 和 Zo-1 mRNA 转录水平比较 与空白组比较, * $P<0.05$; 与阴性模拟物组比较, ▲ $P<0.05$

低, MIF mRNA 的转录水平也降低, 均低于阴性模拟物组 (P 均 < 0.05)。这提示调控 miR-451 的水平可以改变其下游靶标 MIF 的表达水平。

紧密连接是血脑屏障的结构和功能基础, 调控水、离子和大分子物质的跨膜转运^[2]。最早被发现的紧密连接蛋白 Occludin 是一种跨膜调节蛋白, 能改变细胞间的通透性^[14]。Occludin 与胞浆中的 ZO-1 蛋白结合, 形成紧密连接的基本结构^[15]。后来发现的跨膜蛋白 Claudin 形成了紧密连接的初级结构, 与 Occludin 蛋白一起进一步加强紧密连接的牢固性^[16]。紧密连接能使血脑屏障的细胞旁通透性降低, 跨膜电阻升高, 对维持血脑屏障的完整性起到重要作用^[17]。紧密连接的损伤程度能在一定程度上反映血脑屏障受损程度。有研究发现, 脑梗死患者体内 MIF 水平升高^[18]; 动物和细胞研究显示, 脑梗死模型鼠体内 MIF 水平升高, 脑梗死体积增大, 体外培养的脑内皮细胞的紧密连接受损; MIF 拮抗剂 ISO-1 能降低 MIF 水平, 减小梗死体积^[18-19]。还有研究显示, miRNA-451/MIF 及其下游信号通路参与了帕金森病认知功能障碍的形成, 导致血脑屏障损伤是其中的机制之一^[20]。但上述有关机制在脑出血中的研究尚属空白。

本研究首次发现在体外模拟脑出血的培养环境中 hBMECs 细胞内 miR-451 转录水平降低, 其下游靶标 MIF 蛋白表达和 mRNA 转录水平均升高, 紧密连接蛋白 Occludin mRNA, Claudin-5 mRNA 和 Zo-1 mRNA 的转录水平均降低, 提示脑出血可导致血脑屏障的紧密连接受损。给予外源性 miR-451 模拟物提高 hBMECs 细胞内 miR-451 水平后其下游靶标 MIF 蛋白表达和 mRNA 转录水平均降低, 紧密连接蛋白 Occludin mRNA, Claudin-5 mRNA 和 Zo-1 mRNA 的转录水平均升高, 而紧密连接的损伤程度可能降低。

综上所述, 本研究结果提示 miR-451/MIF 信号通路可能参与了脑出血后紧密连接的破坏及其导致的血脑屏障损伤, 给予外源性补充 miR-451 模拟物可能有助于减轻脑出血导致的紧密连接损伤, 有利于维护血脑屏障的完整性, 可能是潜在的药物治疗靶点, 为脑出血的治疗提供了新的探索思路。但本研究存在一些局限性, 如研究仅停留在细胞水平, 仅检测了 mRNA 转录水平的变化, 后续需要完善动物实验, 检测蛋白表达水平及功能检测。同时, miRNA 是新兴的治疗靶点, 但目前仍处于初步研究阶

段, miRNA 治疗的研究和应用仍需要人类基因组学与蛋白质组学的不断完善和进步。

参 考 文 献

- [1] Xi T, Jin F, Zhu Y, et al. MicroRNA-126-3p attenuates blood-brain barrier disruption, cerebral edema and neuronal injury following intracerebral hemorrhage by regulating PIK3R2 and Akt[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 494(1/2): 144-151.
- [2] Hashimoto Y, Campbell M. Tight junction modulation at the blood-brain barrier: Current and future perspectives[J]. Biochim Biophys Acta Biomembr, 2020, 1862(9): 183298.
- [3] Lochhead JJ, Yang J, Ronaldson PT, et al. Structure, function, and regulation of the Blood-Brain barrier tight junction in central nervous system disorders[J]. Front Physiol, 2020, 11: 914-930.
- [4] Suzuki HI, Young RA, Sharp PA. Super-Enhancer-Mediated RNA processing revealed by integrative MicroRNA network analysis[J]. Cell, 2017, 168(6): 1000-1014. e15.
- [5] Li L, Gao R, Yu Y, et al. Tumor suppressor activity of miR-451: Identification of CARF as a new target[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 375.
- [6] Liu X, Zhang A, Xiang J, et al. miR-451 acts as a suppressor of angiogenesis in hepatocellular carcinoma by targeting the IL-6R-STAT3 pathway[J]. Oncol Rep, 2016, 36(3): 1385-1392.
- [7] Li Q, Li Y, Zhang D, et al. Downregulation of microRNA-451 improves cell migration, invasion and tube formation in hypoxia-treated HUVECs by targeting MIF[J]. Mol Med Rep, 2019, 20(2): 1167-1177.
- [8] Mamoori A, Gopalan V, Lu CT, et al. Expression pattern of miR-451 and its target MIF (macrophage migration inhibitory factor) in colorectal cancer[J]. J Clin Pathol, 2017, 70(4): 308-312.
- [9] Stone NL, England TJ, O'sullivan SE. A novel transwell blood brain barrier model using primary human cells[J]. Front Cell Neurosci, 2019, 13: 230-240.
- [10] Zhu H, Wu H, Liu X, et al. Role of MicroRNA miR-27a and miR-451 in the regulation of MDR1/P-glycoprotein expression in human cancer cells[J]. Biochem Pharmacol, 2008, 76(5): 582-588.
- [11] Guo R, Gu J, Zhang Z, et al. MiR-451 promotes cell proliferation and metastasis in pancreatic cancer through targeting CAB39[J]. Biomed Res Int, 2017, 2017: 2381482.
- [12] 聂伟伟, 唐林, 韦凤, 等. miR-144/451 基因簇调控网络的生物信息学分析[J]. 医学研究生学报, 2012, 25(3): 229-233.
- [13] Liu N, Jiang N, Guo R, et al. MiR-451 inhibits cell growth and invasion by targeting MIF and is associated with survival in nasopharyngeal carcinoma[J]. Mol Cancer, 2013, 12(1): 123.
- [14] Zhang Y, Li X, Qiao S, et al. Occludin degradation makes brain microvascular endothelial cells more vulnerable to reperfusion injury in vitro[J]. J Neurochem, 2021, 156(3): 352-366.
- [15] Schwyer C, Shamipour S, Pranjic-Ferscha K, et al. Mechanosensation of tight junctions depends on ZO-1 phase separation and flow[J]. Cell, 2019, 179(4): 937-952. e18.
- [16] Van Itallie CM, Anderson JM. Claudin interactions in and out of the tight junction[J]. Tissue Barriers, 2013, 1(3): e25247.
- [17] Greene C, Campbell M. Tight junction modulation of the blood brain barrier: CNS delivery of small molecules[J]. Tissue Barriers, 2016, 4(1): e1138017.
- [18] Abdullahi W, Tripathi D, Ronaldson PT. Blood-brain barrier dysfunction in ischemic stroke: targeting tight junctions and transporters for vascular protection[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2018, 315(3): C343-C356.
- [19] Yc L, Tsai YH, Tang SC, et al. Cytokine MIF enhances Blood-Brain barrier permeability: impact for therapy in ischemic stroke[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 743.
- [20] 高玉元. miRNA-451/MIF 通路介导脑微血管损伤在帕金森病认知障碍发生中的作用及机制研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2018.

(2021-12-24 收稿)