

• 综 述 •

MicroRNAs 与脑血管病研究最新进展

刘湘玉 杨剑文

【中图分类号】 R743 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2018)01-0092-03

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2018.01.025

脑血管病是当今世界严重影响人类生活质量及威胁人类生命的疾病,它是指各种原因导致的脑血管性疾病的总称,包括脑卒中、脑血管性痴呆、颅内血管畸形、颅内异常血管网病等。微小 RNA(microRNA, miR)是机体自身合成的一类长约 20~25 个核苷酸的单链非编码 RNA 分子,它通过分解或抑制靶 RNA,从而调控转录后基因的表达。据统计,约 1% 的人类已知基因可能编码 miRNAs,而 miRNAs 可能调控人类基因组中 1%~30% 的基因,由于其强大、特异的基因调控能力,现已广泛应用于基因功能的基础研究和人类疾病模型的研究,包括药物靶标的筛选、候选药物的潜在副作用分析、基因治疗的测试和功能缺失筛选等。迄今为止,没有有效的工具来控制与脑血管病相关的病理生理过程,因此 miRNAs 被认为是未来脑血管病治疗的一个非常有前途的目标。

1 microRNAs

microRNA 是在 1993 年由 Lee 等^[1]首次在线虫中将其发现,当时命名为 Lin-4。后来研究者们又陆续报道了从线虫、果蝇、斑马鱼、人类等发现了类似 Lin4 的微小 RNA 分子^[2],并将其命名为 microRNA,继而成为生物学领域的重大发现之一。经过大量的实验证明,microRNA 家族广泛的存在于生物体,在皮肤、脑、肺、肿瘤、骨髓、脾等组织器官中均有其存在的痕迹,并发现其参与神经系统疾病、心血管疾病、造血障碍、炎症反应等诸多疾病的发生机制、诊治及预后^[3-6]。microRNA 有一个庞大的家族,拥有成千上万的家庭成员。

2 microRNAs 的结构和分布

microRNAs 的结构呈茎环状,它高表达于神经细胞、恶性肿瘤细胞、B 淋巴细胞、肺,在肝细胞、视网膜细胞、骨骼肌细胞、脾、造血前体细胞等均有存在的痕迹,暗示它在上述细胞的增殖、分化、发育、代谢及死亡的过程中有着不可估量的作用,调节其水平,对相关疾病的诊疗及预后有很大意义

3 microRNAs 的生物学特性

microRNAs 广泛存在于真核生物及病毒中,成熟的

miRNA 的 5' 端有一磷酸基团,3' 端为羟基,使其与其他类型的 RNA 相鉴别。其生物学特性表现为(1)它不编码蛋白质,自身不具备开放阅读框架,广泛存在于真核生物中;(2)它的总长度相差无几,但其 3' 端可有 1-2 个碱基的长度变化^[7]。除此之外,它还具有高度保守性(即各种 miRNA 都能在其他种系中找到同源体)、时序表达差异性(即在生物发育的各个阶段有不同的 miRNA 表达)和组织表达特异性(即在不同组织中有不同类型的 miRNA 表达)等特征。

4 microRNA 在脑血管疾病中的研究进展

4.1 microRNA 与缺血性脑卒中

缺血性脑卒中是由于各种诱因引起脑血管狭窄或完全阻塞而导致缺血区的低氧状态、葡萄糖饥饿、自由基蓄积,在临床上表现为一过性或永久性的脑功能障碍。它是中老年人常见的脑血管病,其发病率及病死率随人口老龄化逐年攀升,现患病率为 110~180/10 万,年死亡率约为 80~412/10 万,目前我国缺血性脑卒中患者 500 余万人,其病死率约 40%,致残率高达 80%,已成为我国城市和农村人口的第一位致残和死亡原因。因此,对缺血性脑卒中的防治势在必行。

然而,在临床试验中缺血性脑卒中的治疗对于发病后对缺血区的血运重建,对炎症反应、自由基蓄积、兴奋性氨基酸毒性、钙超载、细胞毒性等的控制作用显得尤为重要。经过大量研究表明,miR-126、miR-17~92 基因簇、miR-130a、miR-296、miR-210、miR-21、miR-31、miR-378、miR-27b、miR-429、miR-221/222、miR-34a、miR-217、Let-7 家族、miR-10a、miR-320、miR-424、miR-143/145、miR-26a 等均有促进血管新生,重建缺血区血液循环的作用^[8-10]。韩滨等^[11]研究发现,miR-24、-124、-132 和 -194 靶向 AChE 可能具有调节缺血性脑卒中患者体内炎症的功能。Zeng 等^[12-13]分别检测了不同亚型(包括大动脉粥样硬化性脑卒中、心源性脑卒中、血管腔隙性脑卒中)的急性缺血性脑卒中 3、7、14 d 的血清 miR-210 水平,表明不同亚型的缺血性脑卒中患者的血清 miR-210 水平没有明显差异,而血清 miR-210 水平却与患者的预后有明显的相关性,血清 miR-210 水平越高,预后越好。在多年后也表明 miR-210 在低氧状态下会表达上调,从而加强缺氧后受损血管的自我修复能力,而在急性缺血性脑卒中患者血液及脑组织中的 miR-210 水平均明显下降,提示大脑缺血缺氧后受损血管的自身修复能力明显下降。

有研究也发现,急性缺血性脑卒中患者外周血 miR-

210、miR-145、miR-21、miR-223、miR-497、miR-15a 等水平均明显升高,并与相关炎性指标如 IL-10 和 TNF- α /IL-10 等均呈正相关,提示部分成熟 miRNA 表达增加可促使机体炎性反应^[14]。Jia 等^[15]对 146 例急性缺血性脑卒中患者和 96 例无脑卒中病史、心肌梗死或周围血管疾病的对照者分别检查了 9 个先前报道的脑卒中相关 miRNA(miR-21、-23a、-29b、124、145、210、221、223、146-483-5p)水平,结果显示血清 miR-145 水平显著升高,而 miR-23a、-221 的表达水平却下降。血清 miR-145 水平与超敏 C 反应蛋白、白细胞介素 6 均呈正相关,进一步表明 miR-145 促进炎症反应。Li 等^[16]研究表明,缺血性脑卒中患者 miR-145 的水平与对照组相比无显著差异,而缺血组与对照组相比 miR-146a 和 miR-185 的水平,却明显下降,这进一步明确得出 miR-146a 水平只是在缺血的急性阶段下降,而在其他阶段均表现为升高;对于 miR-185 而言则不同,它在急性与非急性期均表现为下降。与此同时,也证明了 miR-146a 与 miR-185 是与炎症相关的 miRNAs。

在动物实验中同样也有相关报道,如 Liu 等^[17]研究发现 miR-335 通过调节低氧诱导因子 1 α 的表达来降低小鼠脑缺血模型和大鼠脑缺血模型的细胞死亡。Ouyang 等^[18]发现对小鼠侧脑室注射 miR-181 阻断剂能有效减少脑梗死面积,保护缺血半暗带。基础治疗也已经证明侧脑室注射 let7f 阻断剂对小鼠脑缺血再灌注损伤具有保护作用^[19]。Caballero Garrido 等证明在雄性小鼠脑缺血再灌注后静注 miR-155 抑制剂能减轻脑组织损伤,提高雄性小鼠功能恢复^[20]。

与此同时还有陆续报道,Yang 等^[21]证明 miR-107、-128b 和-153 水平在缺血性脑卒中患者中显著升高。Sepramaniam 等^[22]则在另一项研究中表明在急性缺血性脑卒中 1~7 d miR-125b-2*, -27a*, -422a, -488 和-627 水平会显著升高。Tan 等^[23]收集 18~49 岁的缺血性脑卒中患者,发病时间 2~24 个月,没有或只有最小的危险因素,收集其血液发现 miR-25*, -34b, -483-5p, -498 水平均下调。

4.2 microRNA 与出血性脑卒中

出血性脑卒中又称脑出血,是指非外伤性脑实质内出血,发病率为每年 60~80/10 万,在我国约占全部脑卒中的 20%~30%。虽然脑出血发病率低于脑梗死,但其致死率却明显高于后者,急性期病死率为 30%~40%。尽管国内针对脑出血与 miRNA 的研究不多,但国外最新研究表明脑出血与 miRNA 的表达异常相关。

在临床试验中 Guo 等^[24]研究发现 miR-27a、-365、-50 和-34c-3p 水平在脑出血患者中显著升高,加重脑出血后脑水肿的发生、发展等。Wang 等^[25]研究表明脑出血患者血清 miR-130a 水平会上升,它加重脑出血患者的神经功能缺损、减少血脑屏障的破坏,而抑制 miR-130a 水平,将减少患者的脑水肿;同时证明 miR-130a 水平与患者血肿周围水肿体积呈正相关,是评估患者预后的一种生物标记物。Zhu 等^[26]表明 miR-126、-46a、-let-7a 和-26a 水平与对照组相比,脑出血患者显著降低,表明 miR-126、-46a、-let-7a 和-26a 水平对脑出血患者起神经保护作用。

在动物模型中 Yuan 等^[27]在大鼠侧脑室注射 miR-367,

模拟体内 miR-367 水平显著升高,会出现对 NF- κ B、IL-6、TNF- α 等炎症因子的明显抑制现象,并与此同时改善脑功能及神经系统症状;同样的, Kim 等^[28]也验证了 miR-let7c 具有与上述 Yuan 等实验相同的神经保护作用。2015 年 Yang 等证明过表达 miR-223 会减轻脑水肿,同样也抑制脑出血患者的炎症反应。Müller, Stylli 等^[29-31]研究证明 miR-30a、miR-143、miR-451 等均可能是蛛网膜下腔出血的有意义的标志物。Xu 等^[32]在小鼠脑出血模型中利用糖皮质激素通过靶向 miR-155 /SoCS-1 通路抑制炎症反应。

4.3 microRNA 与脑底异常血管网病

脑底异常血管网又称烟雾病,是颈内动脉虹吸部及大脑前动脉、大脑中动脉起始部严重狭窄或闭塞,软脑膜动脉、穿通动脉等小血管代偿增生形成脑底异常血管网为特征的一种脑血管疾病。而 microRNA 与脑底异常血管网病又有着怎样的交集呢? Zhao 等^[33]通过对 49 例烟雾病患者和 110 例不同类型的脑血管病(烟雾病除外)患者进行 PCR 检测 let-7 家族水平,证明烟雾病患者血清 Let-7c 表达明显增加,并验证其作用靶点可能为 3'UTR of RNF213。因此,let-7c 可能为烟雾病诊断的潜在生物标志物。根据基因芯片分析两混合血清标本 MMD 患者和对照组发现了 94 个差异表达的 miRNAs,其中 50 个上调和 44 个下调的 miRNAs。在 1 个独立的 MMD 队列实时 PCR 证实血清 miR-106b、miR-130a、miR-126、miR-140-3p、miR-320d、miR-29c、miR-let-7i 等 50 个 miRNAs 增加超过对照组 2 倍,血清 miR-125a-3p、-3648、-125-3p、-4299、-3198、-1224-5p、-3156、-1469、-1182、-557、-3149 等 44 个 miRNAs 显著下调(与对照组比较,小于 2 倍)^[34]。microRNA 与脑底异常血管网病国内外的报道相对较少,有待进一步深入。

5 microRNA 治疗应用的策略

目前 microRNA 在脑血管疾病尤其是在脑卒中这一领域研究已经很深入,并且将其作为脑血管疾病的靶位点已经成为热点,现针对其的治疗策略无非两种方向:其一,通过抗 miRNA 技术降低其高表达例如 miR-181a、miR-200c 等,在缺血性脑卒中后表达异常升高,加重缺血后神经损伤、脑梗死面积、炎症反应等,利用抗 miRNA 技术(包括反义核苷酸抑制剂法和 miRNA 诱饵打靶法)抑制 miRNA,从而减少卒中损伤;其二,通过 miRNA 模拟技术增高其表达:一些 microRNA 对神经系统表现为明显的保护作用,将其过表达可以达到相关的治疗作用。当然,以上的治疗现在还仅限于相关动物的研究,还未真正应用于临床,相信随着科技的发展,对 microRNA 研究的进一步深入,未来有希望将 microRNA 应用于临床,为脑血管病患者减少许多痛苦。

6 展 望

随着科学事业的蓬勃发展,近年来对 microRNA 的研究已经取得重大突破,microRNA 的成员不断被发现,microRNA 家族不断在壮大,其生物学功能也进一步被阐明,但是 microRNA 的研究还有许多值得探讨的地方,如 microRNA

的靶基因的寻找、microRNAs 之间的相关性、microRNA 与疾病发生、发展之间的作用机制等仍是 microRNA 研究领域的重点与难点。但是相信随着对 microRNA 的不断深入,总有一天 microRNA 会运用于基因治疗、基因沉默及基因表达的调控上,为脑血管病的患者带来福音。

参 考 文 献

- [1] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*[J]. *Cell*, 1993, 75(5): 843-854.
- [2] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. *Cell*, 2004, 116(2): 281-297.
- [3] Moon JM, Xu L, Giffard RG. Inhibition of microRNA-181 reduces forebrain ischemia-induced neuronal loss[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2013, 33(12): 1976-1982.
- [4] Chu B, Wu T, Miao L, et al. MiR-181a regulates lipid metabolism via IDH1[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 8801.
- [5] 延佳佳, 朱晓明. miR-181a 的研究进展[J]. *Chin J Clinicians*, 2013, 12: 5449-5451.
- [6] Xu LJ, Ouyang YB, Xiong X, et al. Post-stroke treatment with miR-181 antagomir reduces injury and improves long-term behavioral recovery in mice after focal cerebral ischemia[J]. *Exp Neurol*, 2015, 264: 1-7.
- [7] 王丽娟, 凌英会, 张晓东, 等. microRNA 调控动物发育的研究进展[J]. *家畜生态学报*, 2012, 33(6): 103-106.
- [8] 曹小雨, 杨秀芬. 微 RNAs 与脑缺血/再灌注损伤的关系及其机制影响的研究进展[J]. *医学综述*, 2016, 22(16): 3128-3133.
- [9] 杨子岩, 晏贤春, 赵星成, 等. 微小 RNAs 与新生血管形成[J]. *心脏杂志*, 2015, 27(1): 102-105, 109.
- [10] 张婷婷, 谢谦, 邵家骧, 等. [10]MicroRNAs 与脑卒中的研究进展[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2012, 4(1): 1-10.
- [11] 韩滨, 马晓峰, 张超. 急性脑卒中患者外周血单个核细胞来源的 AChE 相关的 microRNAs 的表达变化[J]. *天津医药*, 2016, 44(10): 1251-1254.
- [12] Zeng L, Liu J, Wang Y, et al. MicroRNA-210 as a novel blood biomarker in acute cerebral ischemia[J]. *Front Biosci (Elite Ed)*, 2011, 3(4): 1265-1272.
- [13] Zeng L, Liu J, Wang Y, et al. Cocktail blood biomarkers: prediction of clinical outcomes in patients with acute ischemic stroke[J]. *Eur Neurol*, 2013, 69(2): 68-75.
- [14] 曹琳, 姚平波, 张平, 等. 急性脑梗死患者外周血 microRNA 表达及其与炎症细胞因子的相关性[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2015, 23(3): 277-280.
- [15] Jia L, Hao F, Wang W, et al. Circulating miR-145 is associated with plasma high-sensitivity C-reactive protein in acute ischemic stroke patients[J]. *Cell Biochem Funct*, 2015, 33(5): 314-319.
- [16] Li SH, Su SY, Liu JL. Differential regulation of microRNAs in patients with ischemic stroke[J]. *Curr Neurovasc Res*, 2015, 12(3): 214-221.
- [17] Liu FJ, Kaur P, Karolina DS, et al. MiR-335 regulates Hif-1 α to reduce cell death in both mouse cell line and rat ischemic models[J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0128432.
- [18] Ouyang YB, Lu Y, Yue S, et al. miR-181 regulates GRP78 and influences outcome from cerebral ischemia in vitro and in vivo [J]. *Neurobiol Dis*, 2012, 45(1): 555-563.
- [19] Selvamani A, Sathyan P, Miranda RC. An antagomir to MicroRNA let7f promotes neuroprotection in an ischemic stroke model[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e32662.
- [20] Caballero-Garrido E, Pena-Philippides JC, Lordkipanidze T, et al. In vivo inhibition of miR-155 promotes recovery after experimental mouse stroke[J]. *J Neurosci*, 2015, 35(36): 12446-12464.
- [21] Yang ZB, Li TB, Zhang Z, et al. The diagnostic value of circulating brain-specific MicroRNAs for ischemic stroke[J]. *Intern Med*, 2016, 55(10): 1279-1286.
- [22] Sepramaniam S, Tan JR, Tan KS, et al. Circulating microRNAs as biomarkers of acute stroke[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(1): 1418-1432.
- [23] Tan JR, Tan KS, Koo YX, et al. Blood microRNAs in low or no risk ischemic stroke patients[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(1): 2072-2084.
- [24] Guo D, Liu J, Wang W, et al. Alteration in abundance and compartmentalization of inflammation-related miRNAs in plasma after intracerebral hemorrhage[J]. *Stroke*, 2013, 44(6): 1739-1742.
- [25] Wang MD, Wang Y, Xia YP, et al. High serum MiR-130a levels are associated with severe perihematomal edema and predict adverse outcome in acute ICH[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(2): 1310-1321.
- [26] Zhu Y, Wang JL, He ZY, et al. Association of altered serum micrornas with perihematomal edema after acute intracerebral hemorrhage[Z], 2015: e0133783.
- [27] Yuan B, Shen H, Lin L, et al. MicroRNA367 negatively regulates the inflammatory response of microglia by targeting I-RAK4 in intracerebral hemorrhage[Z], 2015: 206.
- [28] Kim JM, Lee ST, Chu K, et al. Inhibition of let7c microRNA is neuroprotective in a rat intracerebral hemorrhage model[Z], 2014: 0097946.
- [29] Yang Z, Zhong L, Xian R, et al. MicroRNA-223 regulates inflammation and brain injury via feedback to NLRP3 inflammasome after intracerebral hemorrhage[J]. *Mol Immunol*, 2015, 65(2): 267-276.
- [30] Muller AH, Povlsen GK, Bang-Berthelsen CH, et al. Regulation of microRNAs miR-30a and miR-143 in cerebral vasculature after experimental subarachnoid hemorrhage in rats[J]. *BMC Genomics*, 2015, 16(1): 1-8.
- [31] Styli SS, Adamides AA, Koldej RM, et al. miRNA expression profiling of cerebrospinal fluid in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage [J]. *J Neurosurg*, 2017, 126(4): 1131-1139.
- [32] Xu HF, Fang XY, Zhu SH, et al. Glucocorticoid treatment inhibits intracerebral hemorrhage? induced inflammation by targeting the microRNA 155/SOCS 1 signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(4): 3798-3804.
- [33] Zhao S, Gong Z, Zhang J, et al. J stroke cerebrovasc Dis[J]. doi: 10. 1016/j. jstrokecerebrovasdis, 2015, 24(8): 1709-1714.
- [34] Dai D, Lu Q, Huang Q, et al. Serum miRNA signature in Moyamoya disease[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e102382.