

• 综 述 •

MicroRNA-200 家族在中枢神经系统中的作用及其研究进展

胡小彤 张兵

【中图分类号】 R338.2 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2018)02-0218-03
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2018.02.027

MicroRNA 是一类内生的、长度为 20~24 个核苷酸的小 RNA。脊椎动物中 miRNA-200 家族包括 miR-200a、miR-200b、miR-200c、miR-141 和 miR-429 五种,它们作用于下游的 mRNA,调控相关蛋白的合成与降解,从而调节各种信号通路来影响相关生理及病理过程,在中枢神经系统中发挥重要作用。明确各种 miRNA-200 家族在机体中的作用及其机制可能为临床疾病的预防和治疗提供新的可行性方法。

1 microRNA-200 简介

miRNA 200 家族是 miRNA 中的一员,其在动物的进化中高度保守,存在于所有脊椎动物中,在无脊椎动物(如果蝇属)中则有与其同源的 miR-8 存在^[1]。在脊椎动物中 miRNA-200 家族包括 miR-200a、miR-200b、miR-200c、miR-141 和 miR-429 五种,它们分别来自 2 个基因簇,miR-200b/a/429 基因簇转录自小鼠 4 号染色体及人类 1p36 染色体的增强子;miR-200c/141 基因簇则转录自小鼠 6 号染色体及人类 12p13 染色体的增强子;2 个基因组的种子序列只有 1 个碱基不同,miR-200a 和 miR-141 的种子序列为 AACACUG,miR-200b、miR-200c 及 miR-429 的种子序列为 AAUA CUG^[2-3]。2 组种子序列的轻微不同导致他们调节不同数量的 mRNA^[4],经 Targetscan、microRNA、miRmap3 个软件预测,miR-200a 和 miR-141 的靶基因有 375 个,miR-200b、miR-200c 及 miR-429 的靶基因有 475 个,其中有 66 个为五种 miRNA 的共同靶基因,说明同一家族的不同 miRNA 主要作用于不同的靶基因^[5-7]。它最初与嗅觉神经发生和抑制癌症浸润有关^[8-9],后又发现其能发挥调节氧化应激等多种作用^[10-13]。

2 microRNA-200 在中枢神经系统中的作用

2.1 在缺血性脑卒中中的作用

Wei 等^[14]发现在 HT-22 细胞中抑制 miR-200a-3p、miR-200b-3p、miR-429 能够抑制缺氧/复氧引起的细胞死亡,并发现这种作用是通过降低活性氧(reactive oxygen species, ROS)的水平,增加 Bcl-2 和 p-Akt 的表达,减少 Bax 和

caspase-3 的表达来实现的。

Di 等则发现 miR-200 家族的可能结合靶点包括脯氨酰羟化酶 2(PHD2)mRNA 的 3'非翻译区,通过使其表达沉默,PHD2 能羟化缺氧诱导因子(HIF-1 α) 使其在氧供正常情况下蛋白降解。在缺氧状态下 HIF-1 α 迅速减少,脑卒中后 HIF-1 α 的激活能促进神经细胞的存活,HIF-1 α 失活则会增加脑损伤的发生。miR-200 家族的过表达能够增加脑卒中后 HIF-1 α 的表达,因此对脑卒中后的大脑具有保护作用^[15]。

脑缺血缺氧损伤后 reelin 蛋白能够提供保护作用,Stary 等^[16]用双荧光素酶法测定证实了 reelin 基因的 3'非翻译端是 miR-200c 的直接作用靶点,且脑中 miR-200c 水平的变化与 reelin 蛋白表达成反比。在小鼠脑局部短暂缺血模型中用 miR-200c 抑制剂对小鼠进行预处理,发现其能降低大脑中动脉栓塞后 miR-200c 的水平,导致脑梗死体积和神经功能损害的显著降低。因此,降低脑卒中后脑中 miR-200c 的含量是减轻脑卒中后脑损伤的一种潜在方法。

Lee 等^[17]采用栓塞小鼠大脑中动脉 15 min 或 120 min 的方法对小鼠进行缺血预处理或造成小鼠局脑缺血,3 h 或 24 h 后取材获得 RNA 样本,并选择性地 miRNA 转染到 Neuro-2a 细胞中,发现 miR-200 在缺血预处理后 3 h 含量显著增加,其中 miR-200b、miR-200c 和 miR-429 能够下调 HIF prolyl hydroxylase 2(HIF-PH2),具有显著的神经保护作用,可能在脑卒中未来的研究和治疗应用中发挥重要作用。

2.2 在神经细胞增殖、分化中的作用

miR-200a 曾被认为能通过作用于相应的基因来调节突触功能、神经发育和神经存活。Trim2 是 E3-泛素连接酶,在调节神经元极性和轴突生长中起重要作用。Jin 等人^[18]证实 miR-200a 能直接作用于 Trim2 蛋白的 mRNA 的 3'非翻译区,减少 Trim2 的表达,从而影响疾病进程。

在神经元始祖细胞(NPC)和少突胶质细胞始祖细胞(OPC)中 Santra 等^[19]发现 miR-200a 能作用于 Grb2,阻断 EGFR/Grb2/Ras/MEK/ERK/c-Jun 信号通路,抑制增殖,进而诱导 MBP(存在于成熟的少突胶质细胞)合成和 OPC 的分化(c-Jun 激活能负性调节 MBP 合成)。miR-200a 抑制 FOG2 和 PTEN(PI3K 抑制剂),间接激活 AKT 及下游信号分子,促进分化,促进 MBP 合成雷帕霉素受体蛋白(mTOR),抑制凋亡(MDM2)。miR-200a 也可以直接抑制 p53,减轻脑缺血后神经细胞凋亡率。

Buller 等^[20]则发现在 OPC 的培养基中 miR-200 能直接

基金项目:国家自然科学基金(项目批准号为 81372026)

作者单位:150086 哈尔滨医科大学附属第二医院黑龙江省麻醉与危重病重点实验室[胡小彤 张兵(通信作者)]

作用于血清应答因子(SRF)的3'非翻译端,抑制其表达并抑制 OPC 的分化;同样在 PC12 神经元细胞中 Pandey 等^[21]人证实 miR-200 家族能够直接作用于 SOX2 和 KLF4,增加其表达,并能够促进神经元分化,而降低其表达则促进神经元的增殖。

2.3 在胶质细胞瘤中的作用

脑的发育和神经元的分化都需要 SIM2-s, Su 等^[22]在实验中发现相比于正常脑组织,胶质瘤细胞中 miR-200a 的表达水平降低。SIM2-s 是 miR-200a 的靶目标,所以 miR-200a 的表达水平降低将导致胶质瘤细胞中 SIM2-s 表达上升。因此,miR-200a 可以成为胶质瘤的治疗手段之一。

在一些类型的肿瘤中可以观察到 miR-200b 的过表达特别是在体外神经胶质瘤细胞中,miR-200b 靶向作用于 CREB1 基因并抑制肿瘤细胞的生长^[23],但是在人体神经胶质瘤中这种相关性尚未得到证实。

2.4 在中枢神经系统中的其他作用

Lee 等^[24]对处于活跃期和深眠期的地鼠脑组织分别进行 microRNA 基因芯片分析,发现在深眠期 miR-200 家族含量降低。在 SHSY5Y 细胞中用特定的发夹结构抑制剂作用于相应的 miRNA 增加许多蛋白的泛素化作用,从而能够增加球形蛋白的结合作用。向 SHSY5Y 细胞中转染 miR-200 的类似物使其过表达能降低结合作用。该结果有力地说明了 miR-200 家族与泛素化修饰过程有关。miR-200 家族被抑制时 SHSY5Y 细胞对糖氧剥夺模型引起的细胞死亡耐受能力增加;导入 miR-200 类似物时则更加敏感。但目前还不能确定这种保护或者损害作用源自 miR-200 家族抑制剂(类似物)的直接作用,还是 miR-200 含量变化引起的泛素化修饰蛋白的改变。

Jadhav 等^[25]证明了 miRNA-200b 在小胶质细胞中表达,并通过调节分裂素激活的蛋白激酶通路来调节小胶质细胞的炎症应答反应过程,包括炎症因子的分泌、NO 的产生、小胶质细胞的迁移和神经元的存活。

在 N171-82Q 小鼠亨廷顿舞蹈病(Huntington's disease HD)模型中 Jin 等^[18]发现 miR-200a 和 miR-200c 能够调节突触功能、神经发育和神经存活。改变 miR-200a 和 miR-200c 的表达可以改变神经元可塑性和神经元存活的相关蛋白,进一步研究也表明可以扰乱 HD 发病机制中若干 miRNA 的表达,这将为 HD 的治疗提供新的治疗方法。

He 等^[26]利用实时 PCR 基因芯片分析法在唐氏综合征 Ts65Dn 小鼠模型的脑组织中测得多种 miRNA 的表达量发生变化,其中 miR-200 家族表达下调最明显,但其如何在唐氏综合征的发生发展过程中起到作用尚未得到阐明。Boese 等^[27]在小鼠狂犬病模型中也发现了相同问题。

3 小结

综上所述,miR-200 家族在缺血性脑卒中神经元的增殖、分化,胶质细胞瘤及其他中枢神经系统疾病中的保护作用已经被逐渐认识,但具体作用机制还有待进一步研究。因其生物制剂价格昂贵,如何将其广泛应用于临床疾病的预防、检测及治疗或许将成为下一阶段的研究重点。

参 考 文 献

- [1] Wheeler BM, Heimberg AM, Moy VN, et al. The deep evolution of metazoan microRNAs[J]. *Evol Dev*, 2009, 11(1): 50-68.
- [2] Brabletz S, Brabletz T. The ZEB/miR-200 feedback loop—a motor of cellular plasticity in development and cancer? [J]. *EMBO Rep*, 2010, 11(9): 670-677.
- [3] Feng X, Wang Z, Fillmore R, et al. MiR-200, a new star miRNA in human cancer[J]. *Cancer Lett*, 2014, 344(2): 166-173.
- [4] Uhlmann S, Zhang JD, Schwäger A, et al. miR-200bc/429 cluster targets PLCgamma1 and differentially regulates proliferation and EGF-driven invasion than miR-200a/141 in breast cancer[J]. *Oncogene*, 2010, 29(30): 4297-4306.
- [5] Friedman RC, Farh KK, Burge CB, et al. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs[J]. *Genome Res*, 2009, 19(1): 92-105.
- [6] Betel D, Wilson M, Gabow A, et al. The microRNA. org resource: targets and expression[J]. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(Database issue): D149-D153.
- [7] Vejnar CE, Zdobnov EM. MiRmap: comprehensive prediction of microRNA target repression strength[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(22): 11673-11683.
- [8] Choi PS, Zakhary L, Choi WY, et al. Members of the miRNA-200 family regulate olfactory neurogenesis[J]. *Neuron*, 2008, 57(1): 41-55.
- [9] Gregory PA, Bert AG, Paterson EL, et al. The mir-200 family and mir-205 regulate epithelial to mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SIP1[J]. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(5): 593-601.
- [10] Marsit CJ, Eddy K, Kelsey KT. MicroRNA responses to cellular stress[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(22): 10843-10848.
- [11] Wang Z, Liu Y, Han N, et al. Profiles of oxidative stress-related microRNA and mRNA expression in auditory cells[J]. *Brain Res*, 2010, 1346(8): 14-25.
- [12] Magenta A, Cencioni C, Fasanaro P, et al. miR-200c is upregulated by oxidative stress and induces endothelial cell apoptosis and senescence via ZEB1 inhibition [J]. *Cell Death Differ*, 2011, 18(10): 1628-1639.
- [13] Mateescu B, Batista L, Cardon M, et al. miR-141 and miR-200a act on ovarian tumorigenesis by controlling oxidative stress response[J]. *Nat Med*, 2011, 17(12): 1627-1635.
- [14] Wei R, Zhang R, Xie Y, et al. Hydrogen suppresses hypoxia/Reoxygenation-Induced cell death in hippocampal neurons through reducing oxidative stress[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 36(2): 585-598.
- [15] Di Y, Lei Y, Yu F, et al. MicroRNAs expression and function in cerebral ischemia reperfusion injury[J]. *J Mol Neurosci*, 2014, 53(2): 242-250.
- [16] Stary CM, Xu L, Sun X, et al. MicroRNA-200c contributes to injury from transient focal cerebral ischemia by targeting Reelin[J]. *Stroke*, 2015, 46(2): 551-556.
- [17] Lee ST, Chu K, Jung KH, et al. MicroRNAs induced during ischemic preconditioning[J]. *Stroke*, 2010, 41(8): 1646-1651.
- [18] Jin J, Cheng Y, Zhang Y, et al. Interrogation of brain miRNA and mRNA expression profiles reveals a molecular regulatory

- network that is perturbed by mutant huntingtin[J]. *J Neurochem*, 2012, 123(4):477-490.
- [19] Santra M, Chopp M, Santra S, et al. Thymosin beta 4 up-regulates miR-200a expression and induces differentiation and survival of rat brain progenitor cells[J]. *J Neurochem*, 2016, 136(1):118-132.
- [20] Buller B, Chopp M, Ueno Y, et al. Regulation of serum response factor by miRNA-200 and miRNA-9 modulates oligodendrocyte progenitor cell differentiation[J]. *Glia*, 2012, 60(12):1906-1914.
- [21] Pandey A, Singh P, Jauhari A, et al. Critical role of the miR-200 family in regulating differentiation and proliferation of neurons[J]. *J Neurochem*, 2015, 133(5):640-652.
- [22] Su Y, He Q, Deng L, et al. MiR-200a impairs glioma cell growth, migration, and invasion by targeting SIM2-s[J]. *Neuroreport*, 2014, 25(1):12-17.
- [23] Peng B, Hu S, Jun Q, et al. MicroRNA-200b targets CREB1 and suppresses cell growth in human malignant glioma[J]. *Mol Cell Biochem*, 2013, 379(1/2):51-58.
- [24] Lee YJ, Johnson KR, Hallenbeck JM. Global protein conjugation by ubiquitin-like-modifiers during ischemic stress is regulated by microRNAs and confers robust tolerance to ischemia[J]. *PLoS One*, 2012, 7(10):e47787.
- [25] Jadhav SP, Kamath SP, Choolani M, et al. microRNA-200b modulates microglia-mediated neuroinflammation via the cJun/MAPK pathway[J]. *J Neurochem*, 2014, 130(3):388-401.
- [26] He XJ, Xiao Y, Zhang Q, et al. Detection and functional annotation of misregulated microRNAs in the brain of the Ts65Dn mouse model of Down syndrome[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2013, 126(1):108-113.
- [27] Boese AS, Saba R, Campbell K, et al. MicroRNA abundance is altered in synaptoneuroosomes during prion disease[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2016, 71:13-24.

(2017-04-12 收稿)