

## • 综 述 •

## miR-21 与缺血性脑卒中的相关研究进展

张敏雪 张卓伯

【中图分类号】 R743.3    【文献标识码】 A    【文章编号】 1007-0478(2020)03-0391-04  
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2020.03.027

目前全球范围内脑卒中是致残和导致死亡的主要原因。脑卒中是一种发病率日益增长的非传染性疾病。脑卒中中最常见的亚型是缺血性脑卒中,它是指由颅内血栓形成或颅外血栓栓塞导致的神经功能缺损症状的一种疾病。但是,缺血性脑卒中的病理生理机制尚未明确,其中 MicroRNAs(miRNAs)近年来已成为缺血性脑卒中生物标志物的研究热点。在已报道的 miRNAs 中 MicroRNA-21(miR-21)尤为重要,许多研究结果显示它在缺血性脑卒中中表达水平升高,提示它在细胞增殖和凋亡中起着重要作用。基于最新的相关研究报道,本研究就 miR-21 与缺血性脑卒中的关系及可能的作用机制进行综述。

## 1 缺血性脑卒中

在中国每年脑卒中的死亡率已经超过心脏疾病<sup>[1]</sup>。脑卒中中最常见的亚型是缺血性脑卒中,约占 85%<sup>[2-3]</sup>,它是指主要由颅内血栓形成或颅外血栓栓塞导致的神经功能缺损症状的一种疾病。缺血性脑卒中的发生与多种因素相关,如动脉粥样硬化、高血压病、2 型糖尿病、高脂血症、高同型半胱氨酸血症、吸烟和饮酒等<sup>[4]</sup>。近年来,青少年的缺血性脑卒中患病率在逐年增加<sup>[5]</sup>,但目前尚无明确的治疗方法来逆转缺血性脑卒中,临床医生可早期识别、早期诊断,以便于快速治疗,避免严重并发症的发生<sup>[6]</sup>。目前在分子层面的研究虽已取得了巨大的进步,但仍有很大的研究空间<sup>[7]</sup>。

## 2 MicroRNAs 与 miR-21

MicroRNAs(miRNAs)是一类由内源基因编码的长度为 20~25 个核苷酸的非编码单链 RNA 分子。研究表明,20%以上的 miRNAs 在缺血脑组织中的表达会发生改变,这表明 miRNAs 在缺血性脑卒中的发病机制中起着重要作用<sup>[8-12]</sup>。最新研究表明,人血清中的 miRNAs 可用于区分缺血性脑卒中的病因分型<sup>[13]</sup>。细胞内的 miRNAs 通过影响动脉粥样硬化、血管生成和神经纤维损伤的靶基因表达来参与缺血性脑卒中的病理生理过程<sup>[14]</sup>;细胞外的 miRNAs 是细胞-细胞间的通信介质,其释放的分子进入细胞外基质发挥作用,该分子可作为有临床意义的生物标志物<sup>[15]</sup>。在缺血性脑卒中的研究中 miRNAs 已经在细胞水平、动物模型和

人类脑卒中患者中进行了研究。在 miRNAs 检测方面有两种主要的方法,即同时表达的多种 miRNAs 一同研究以及研究候选 miRNA(即深入地研究某一种 miRNA,研究它的靶点及生物学作用)。

其中 miR-21 作为一种重要的 miRNA,在缺血性脑卒中中发挥着重要作用。miR-21 位于第 17 号染色体 q23.2 区域上,液泡膜蛋白 1(VMP1)基因的下游<sup>[16]</sup>,与其他 miRNA 不同,miR-21 拥有独立的启动子区域,虽与跨膜蛋白 49 编码基因(TMEMP-49)重叠,但不受 TMEMP-49 启动子的调控,在其自身相对保守的启动子中独立转录<sup>[17]</sup>。miR-21 在许多疾病中的直接靶点是磷酸酶与张力蛋白同源蛋白(PTEN)<sup>[18-19]</sup>。研究表明,miR-21 对 PTEN 的抑制作用促进了蛋白激酶 b(AKT)信号转导,并对缺血再灌注和缺氧起保护作用<sup>[20]</sup>。进一步的研究表明,miR-21 在缺血性脑卒中患者血清中表达水平上调<sup>[21]</sup>,并可作为斑块稳定性的标记物<sup>[22]</sup>。

## 3 miR-21 与缺血性脑卒中

### 3.1 细胞水平

研究者通过建立小鼠神经母细胞瘤(N2A)建立缺氧-葡萄糖剥夺(OGD)模型,发现 miR-21 对 OGD 和复氧的 N2A 具有抗凋亡作用<sup>[23]</sup>;同时发现 miR-21 的过表达通过下调 FASLG 来对缺血性神经元起保护作用<sup>[24]</sup>,说明 miR-21 是一种很强的抗凋亡因子,对缺血性神经元具有保护作用,可作为急性缺血性脑卒中的早期诊断指标。然而,有研究表明 miR-21 抑制剂对神经元的凋亡没有影响<sup>[7]</sup>。miR-21 在缺血-再灌注(I/R)和缺氧-再灌注(H/R)诱导的心肌损伤中具有抗凋亡作用,在 I/R 和 H/R 期间,miR-21 通过抑制磷酸酶和 PTEN 的表达而上调 Akt 的信号活性,进一步抑制半胱氨酸蛋白酶-3(caspase-3)的表达。以上研究表明 miR-21 对 I/R 和 H/R 所致的心肌损伤和脑卒中药物的治疗可能有潜在价值<sup>[20]</sup>。

有报道指出,miR-21 已成为 miRNA 介导的抗动脉粥样硬化治疗的重要标志物。miR-21 通过抑制磷酸酶和 PTEN 的表达,促进 BCL2 的表达以调节血管平滑肌细胞(VSMC)的生长和存活,最终促进细胞存活和增殖<sup>[25-27]</sup>。miR-21 通过减少细胞凋亡,促进增殖,增加新内膜的形成,在调节 VSMC 的表型中也发挥关键作用<sup>[25]</sup>。除了对 VSMC 的影响外,miR-21 还参与了内皮细胞介导的血管生成调控机制,这些研究表明 miR-21 可能在动脉粥样硬化和缺血性脑卒中

的发病机制中发挥重要作用<sup>[28-29]</sup>。

### 3.2 动物模型

在动物模型研究中 Buller 等人研究发现大脑中动脉闭塞动物模型(MCAO)中缺血脑组织边缘区 miR-21 的表达水平明显高于对侧正常脑组织,说明 miR-21 对缺血性神经元可能有保护作用<sup>[24]</sup>。另有报道,研究者以糖尿病合并缺血性脑卒中大鼠为研究对象,发现 miR-21 的外源性过度表达可以负向调节程序性细胞死亡因子 4(PDCD4),以促进神经细胞再生,抑制神经细胞凋亡,改善大鼠的神经功能缺损状态,从而促进再灌注<sup>[30]</sup>。

为了探究 miR-21 对脑 I/R 损伤模型大鼠神经功能和血脑屏障通透性的影响,研究者通过研究 MAPK 信号通路试图寻找新的治疗靶点。他们发现上调 miR-21 可以减少神经功能缺损和脑水肿的严重程度,减少梗死面积以及血脑屏障通透性的破坏程度<sup>[31]</sup>。研究结果表明,通过抑制 MAPK 信号通路的激活,上调 miR-21 表达可以恢复神经功能,减少血脑屏障通透性的破坏,从而减轻脑缺血再灌注损伤<sup>[32]</sup>。

### 3.3 人体

在人类研究中不能模拟实验性缺血性脑卒中,只有有卒中症状的患者才可能参与不同体液的 miRNA 采样,如血液及衍生物和脑脊液等被用于人类脑卒中的研究。缺血性脑卒中患者和动脉粥样硬化患者的 miR-21 水平显著升高,其可能作为动脉粥样硬化和缺血性脑卒中的新型生物标志物<sup>[21]</sup>。

研究表明,无症状的颈动脉粥样硬化患者中 miR-21 表达水平增高,miR-221 表达水平下降。同时发现脑卒中患者和无症状的颈动脉粥样硬化患者具有相似的 miRNA 谱,这提示血清 miR-21 和 miR-221 的变化可能发生在动脉粥样硬化的早期阶段。因此,miR-21 和 miR-221 水平可能是预测临床动脉粥样硬化的新的独立生物标志物<sup>[21]</sup>。

Wu 等研究者通过 qRT-PCR 发现,缺血性脑卒中患者血清中的 miR-21 水平显著增高,认为 miRNAs 已成为缺血性脑卒中的潜在生物标志物<sup>[33]</sup>。另有研究表明,在小动脉闭塞的脑卒中患者中 miR-21 的表达水平升高更为明显<sup>[34]</sup>。有研究者通过比较缺血性脑卒中患者体内 4 种血清 miRNAs(包括 miR-23b-3p, miR-29b-3p, miR-181a-5p 和 miR-21-5p)的表达水平,发现缺血性脑卒中患者 NIHSS 评分越高,4 种 miRNAs 水平越高。他们推测,血清 miRNAs 水平的改变可能源于大脑皮层或海马的缺氧/缺血受损的神经元,并认为缺血性脑卒中患者血清 miRNAs 水平升高可能会加重神经元功能损害的血清学反应<sup>[33]</sup>。同时发现,可以通过 miR-23b-3p, miR-29b-3p 和 miR-21-5p 的表达水平上调清楚地区分缺血性脑卒中和短暂性脑缺血发作患者,提示 miR-21 可能是缺血性脑卒中和短暂性脑缺血患者的生物学标志物<sup>[33]</sup>。另有研究证明,miR-21-5p 联合 miR-30a-5p 可作为识别缺血性脑卒中超急性期、亚急性期以及恢复期的敏感生物标志物,其研究结果为临床医生早期诊断提供了新的参考,并提示两种生物标志物在溶栓治疗中的可能价值<sup>[35]</sup>。

众所周知,颅内动脉粥样硬化(ICAS)是缺血性脑卒中最常见的病因,它是慢性全身炎症和局部炎症的动态不稳定

过程<sup>[36-38]</sup>。Gaudet 等人发现 miR-21 可作为缺血性脑卒中的抗炎标志物<sup>[39]</sup>。Markus 等人研究发现 miR-21 与血管炎症晚期和斑块稳定性相关,表明它可能是血管增生性疾病如动脉粥样硬化和缺血性脑卒中的新型治疗靶点<sup>[40]</sup>。

## 4 临床意义和未来前景

通常血清中存在的 miRNAs 具有判断疾病预后和诊断的生物标志物的潜力。miRNAs 可作为许多疾病的无创型生物标志物如心血管疾病、癌症、糖尿病、脑卒中等<sup>[18-19,23,41]</sup>。对于许多危及生命的疾病如缺血性脑卒中等临床迫切需要无创型生物标记物,已证明 microRNAs 在无创生物标志物和抗肿瘤药物方面可能具有一定的应用价值。因此,探讨血清中 miRNAs 水平变化作为缺血性脑卒中生物标志物的临床价值是非常大的。据了解,70%的 miRNAs 存在于脑细胞中,其中许多 miRNA 如 miR-9、miR-124 a、miR-124 b、miR-135 和 miR-219<sup>[42]</sup> 仅见于脑组织中。

许多研究证明 miR-21 在脑卒中的病理生理过程中起着至关重要的作用,然而我们仍然需要大量的实验来探究 miR-21 在缺血性脑卒中的潜在作用<sup>[20-21,23-24,43-44]</sup>。目前,缺血性脑卒中的诊断是基于临床表现和影像学。然而 miR-21 在缺血性脑卒中的相关实质性进展以及临床中的应用将来也可以协助临床医生更精确、快速地诊断和治疗缺血性脑卒中。

已有研究发现 miR-21 参与了多种类型的脑卒中如缺血性脑卒中、脑出血、蛛网膜下腔出血等,它是细胞中的独特部分,可作为疾病预后、诊断和治疗的潜在生物标记物。miR-21 的表达是通过激活额外的信号通路,促进了不同类型脑卒中的发生和发展。同时还有许多关于抗 miRNA 寡核苷酸(AMOs)的研究,它是一种有效抑制 miRNAs 的寡核苷酸<sup>[45-46]</sup>,故 AMOs 对脑卒中患者 miR-21 的功能研究也是很重要的,今后我们还需要在 AMOs 上得到更多的验证结果,从而进一步证明 miR-21 可以作为治疗不同类型脑卒中的药物。

## 5 结束语

总之,miRNAs 就像经典基因一样,是从细胞核进化而来并运送到细胞质中,并通过靶向 3'-非翻译区(3'-UTR)来处理和调控靶基因信使 RNA(mRNA),从而抑制基因的表达。许多研究表明,microRNAs 可以作为包括神经系统疾病在内的多种疾病的预后、诊断和治疗靶点。在报道的 miRNAs 中 miR-21 是许多疾病如脑卒中、癌症、高血压病、糖尿病、神经紊乱等的一个重要的生物标记物。通过以上的研究,我们可以了解到 miR-21 在缺血性脑卒中起着至关重要的作用。miR-21 可促进细胞增殖,抗细胞凋亡,抑制疾病进展,提示 miR-21 可作为判断缺血性脑卒中预后、诊断和治疗的潜在指标。此外,关于 miR-21 在缺血性脑卒中的许多新的研究将决定未来的研究方向和临床验证,未来我们还需要进行更多明确具体的实验来进行进一步的探究。

## 参 考 文 献

- [1] Liu L, Wang D, Wong KS, et al. Stroke and stroke care in China: huge burden, significant workload, and a National priority [J]. *Stroke*, 2011, 42(12): 3651-3654.
- [2] Beal CC. Gender and stroke symptoms: a review of the current literature[J]. *Journal of Neuroscience Nursing*, 2010, 42(2): 80-87.
- [3] Chen PH, Gao S, Wang YJ, et al. Classifying ischemic stroke, from TOAST to CISS[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2012, 18(6): 452-456.
- [4] Goldstein LB, Adams R, Becker K, et al. Primary prevention of ischemic stroke: A statement for healthcare professionals from the Stroke Council of the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2001, 103(1): 163-182.
- [5] 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.
- [6] Balami JS, Chen RL, Buchan AM. Stroke syndromes and clinical management [J]. *QJM-An International Journal of Medicine*, 2013, 106(7): 607-615.
- [7] Liu WS, Chen XS, Zhang Y. Effects of microRNA-21 and microRNA-24 inhibitors on neuronal apoptosis in ischemic stroke [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(7): 3179-3187.
- [8] Saito Y, Saito H. MicroRNAs in cancers and neurodegenerative disorders[J]. *Front Genet*, 2012(3): 194.
- [9] Rink C, Khanna S. MicroRNA in ischemic stroke etiology and pathology[J]. *Physiol Genomics*, 2011, 43(10): 521-528.
- [10] Jickling GC, Ander BP, Zhan XH, et al. microRNA expression in peripheral blood cells following acute ischemic stroke and their predicted gene targets[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e99283.
- [11] Bhalala OG, Srikanth M, Kessler JA. The emerging roles of microRNAs in CNS injuries[J]. *Nat Rev Neurol*, 2013, 9(6): 328-339.
- [12] Sun Y, Gui H, Li Q, et al. MicroRNA-124 protects neurons against apoptosis in cerebral ischemic stroke[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2013, 19(10): 813-819.
- [13] Gui YX, Xu ZP, Jin T, et al. Using extracellular circulating microRNAs to classify the etiological subtypes of ischemic stroke [J]. *Transl Stroke Res*, 2019, 10(4): 352-361.
- [14] Soreq H, Wolf Y. NeurimmiRs: microRNAs in the neuroimmune interface[J]. *Trends Mol Med*, 2011, 17(10): 548-555.
- [15] Empel VP, Windt LJ, Martins PA. Circulating miRNAs: reflecting or affecting cardiovascular disease? [J]. *Curr Hypertens Rep*, 2012, (14): 498-509.
- [16] Sekar D, Basam V, Krishnan R, et al. Methylation dependent miR-510 in prostate cancer: a novel upcoming candidate for prostate cancer[J]. *Gene Reports*, 2016, (4): 70-73.
- [17] Tian L, Shan W, Zhang Y, et al. Up-regulation of miR-21 expression predicate advanced clinicopathological features and poor prognosis in patients with non-small cell lung cancer[J]. *Pathol Oncol Res*, 2016, 22(1): 161-167.
- [18] Sekar D, Shilpa BR, Das AJ. Relevance of microRNA 21 in different types of hypertension[J]. *Curr Hypertens Rep*, 2017, 19(7): 57.
- [19] Sekar D, Venugopal B, Sekar P, et al. Role of microRNA 21 in diabetes and associated/related diseases [J]. *Gene*, 2016, 582(1): 14-18.
- [20] Yang Q, Yang K, Li A. microRNA-21 protects against ischemia-reperfusion and hypoxia-reperfusion-induced cardiocyte apoptosis via the phosphatase and tensin homolog/akt-dependent mechanism[J]. *Mol Med Rep*, 2014, 9(6): 2213-2220.
- [21] Tsai PC, Liao YC, Wang YS, et al. Serum microRNA-21 and microRNA-221 as potential biomarkers for cerebrovascular disease[J]. *J Vasc Res*, 2013, 50(4): 346-354.
- [22] Koroleva IA, Nazarenko MS, Kucher A. Role of microRNA in development of instability of atherosclerotic plaques[J]. *Biochemistry*, 2017, 82(11): 1380-1390.
- [23] Zhou J, Zhang J. Identification of miRNA-21 and miRNA-24 in plasma as potential early stage markers of acute cerebral infarction[J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(2): 971-976.
- [24] Buller B, Liu X, Wang X, et al. MicroRNA-21 protects neurons from ischemic death[J]. *FEBS J*, 2010, 277(20): 4299-4307.
- [25] Ji R, Cheng Y, Yue J, et al. MicroRNA expression signature and antisense-mediated depletion reveal an essential role of MicroRNA in vascular neointimal lesion formation[J]. *Circ Res*, 2007, 100(11): 1579-1588.
- [26] Harmalkar M, Upraity S, Kazi S, et al. Tamoxifen-Induced cell death of malignant glioma cells is brought about by Oxidative-Stress-Mediated alterations in the expression of BCL2 family members and is enhanced on miR-21 inhibition[J]. *J Mol Neurosci*, 2015, 57(2): 197-202.
- [27] Li Y, Yan L, Zhang W, et al. MiR-21 inhibitor suppresses proliferation and migration of nasopharyngeal carcinoma cells through down-regulation of BCL2 expression [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(6): 3478-3487.
- [28] Heusschen R, Van Gink M, Griffioen AW. MicroRNAs in the tumor endothelium: Novel controls on the angioregulatory switchboard [J]. *Biochimica et Biophysica Acta-Reviews on Cancer*, 2010, 1805(1): 87-96.
- [29] Suarez Y, Sessa WC. MicroRNAs as novel regulators of angiogenesis[J]. *Circ Res*, 2009, 104(4): 442-454.
- [30] Guo YB, Ji TF, Zhou HW, et al. Effects of microRNA-21 on nerve cell regeneration and neural function recovery in diabetes mellitus combined with cerebral infarction rats by targeting PDCD4[J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(3): 2494-2505.
- [31] Min XL, Wang TY, Cao Y, et al. MicroRNAs: a novel promising therapeutic target for cerebral ischemia/reperfusion injury? [J]. *Neural Regen Res*, 2015, 10(11): 1799-1808.
- [32] Yao X, Wang Y, Zhang D. MicroRNA-21 confers neuroprotection against cerebral Ischemia-Reperfusion injury and alleviates Blood-Brain barrier disruption in rats via the MAPK signaling pathway[J]. *Journal of Molecular Neuroscience*, 2018, 65(1): 43-53.
- [33] Wu J, Fan CL, Ma LJ, et al. Distinctive expression signatures of serum microRNAs in ischaemic stroke and transient ischaemic attack patients[J]. *Thromb Haemost*, 2017, 117(5): 992-1001.
- [34] Tan KS, Armugam A, Sepramaniam S, et al. Expression profile of microRNAs in young stroke patients[J]. *PLoS One*, 2009, 4(11): e7689.
- [35] Wang W, Li DB, Li RY, et al. Diagnosis of hyperacute and acute ischaemic stroke: the potential utility of exosomal MicroR-

NA-21-5p and MicroRNA-30a-5p[J]. Cerebrovasc Dis, 2018, 45(5/6):204-212.

[36] ArenillasJF,Álvarez - sabin J, Molina CA, et al. Progression of symp-tomatic intracranial large artery atherosclerosis is as-sociated with aprotinflammatory state and impaired fibrinolysis [J]. Stroke,2008,39(5):1456-1463.

[37] FadiniGP, Simoni F, Cappellari R, et al. Pro-inflammatory mon-ocyte-macrophage polarization imbalance in human hyperchol-esterolemia andatherosclerosis [J]. Atherosclerosis, 2014, 237 (2):805-808.

[38] Jin R, Liu L, Zhang S, et al. Role of inflammation and its medi-ators in acute ischemic stroke[J]. J Cardiovasc Transl Res, 2013, 6(5):834-851.

[39] GaudetAD, Fonken LK, Watkins LR, et al. MicroRNAs: roles in regulating neuroinflammation[J]. Neuroscientist, 2018, 24 (3):221-245.

[40] MarkusB, GroteK, WorschM, et al. Difffferential expression of microRNAs in endarterectomy specimenstaken from patients with asymptomatic and symptomatic carotid plaques[J]. PLoS One, 2016, 11(9):e0161632.

[41] Krishnan R, Mani P, Sivakumar PA, et al. Expression and methylation of circulating microRNA-510 in essential hyper-tension[J]. Hypertension Research, 2017, 40(4):361-363.

[42] SempereLF, Freemantle S, Pitha-Rowe I, et al. Expression profiling of mammalian microRNAs uncovers a subset of brain-expressed microRNAs with possible roles in murine and human neuronal difffferentiation[J]. Genome Biol, 2004, 5(3): R13.

[43] Yan HL, Rao J, Yuan JP, et al. Long non-coding RNA MEG3 functions as a competing endogenous RNA to regulate ischemic neuronal death by targeting miR-21/PDCD4 signaling pathway [J]. Cell Death Dis, 2017, 8(12):3211.

[44] Liu FJ, Lim KY, Kaur P, et al. microRNAs involved in regula-ting spontaneous recovery in embolic stroke model[J]. PLoS One, 2013, 8(6):e66393.

[45] TrangP, Medina PP, Wiqqin JF, et al. Regression of murine lung tumors by the let-7 microRNA [J]. Oncogene, 2010, 29 (11):1580-1587.

[46] LiY, Zhu X, Gu J, et al. Anti-miR-21 oligonucleotide sensitizes leukemic K562 cells to Arsenic trioxide by inducing apoptosis [J]. Cancer Sci, 2010, 101(4):948-954.

(2019-10-17 收稿)

(上接第 390 页)

针对SCN4A基因进行PCR-Sanger测序结果如下:

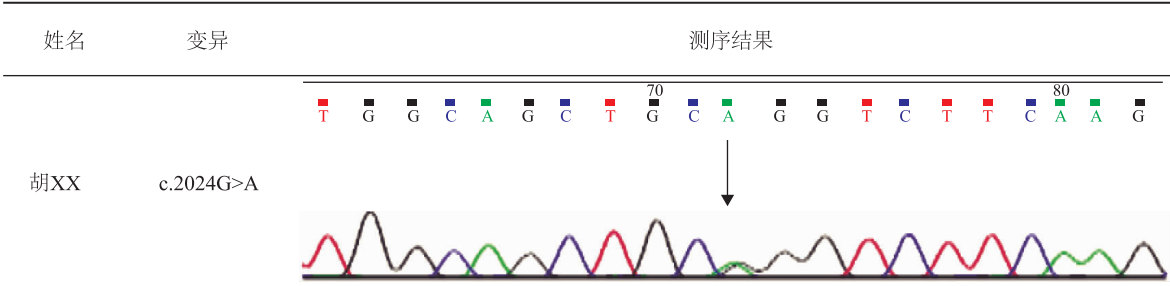


图 1 基因检测显示 1 个可疑突变位点:SCN4A 基因外显子 13 存在c. 2024G>A(p. Arg675Gln)杂合变异

临床考虑 NPP,最后基因检测确诊,因目前致病基因特异性位点仍不完全明确,检测基因阴性时仍不能排除。有研究发现不同基因突变导致的周期性麻痹的运动试验具有不同特点,因此在不具备基因检测手段的情况下运动试验对周期性麻痹分子学诊断有一定指导意义。

2.4 治疗

预防治疗:避免劳累、高钾饮食、饱餐等诱因,有研究显示辅酶 Q10 可以减少周期性麻痹的发作频率。发作期治疗:静脉注射 10%葡萄糖酸钙或静脉滴入大量生理盐水可使部分患者症状改善。危重治疗:出现呼吸肌麻痹患者应及时给

予机械通气。

2.5 小结

该患者无家族史,为散发病例,发作前期有明显诱因,发作期临床表现典型,此次发病出现持续性肌无力,经补充葡萄糖酸钙及钠盐后症状缓解,基因检测提示 R675Q 杂合突变,为 NPP 致病基因位点,诊断明确,该患者成年首发该病,是否提示 NPP 散发型较遗传型始发病年龄晚,仍待进一步研究。

(2019-10-30 收稿)