

• 论 著 •

MicroRNA-143-3p 对缺糖缺氧的大鼠脑微血管内皮细胞的保护作用及机制

陈伯勇 高庆春 王玉周 潘梦秋 叶锦龙 周丽华

【摘要】 目的 探讨 MicroRNA-143-3p(miR-143-3p)对缺糖缺氧的大鼠脑微血管内皮细胞的保护作用及机制。**方法** 建立大鼠脑微血管内皮细胞(rBMECs)缺糖缺氧(OGD)损伤模型,分为正常培养组和 OGD 组,qRT-PCR 检测各组不同时间 rBMECs 中 miR-143-3p 的相对表达水平;干扰 rBMECs 中 miR-143-3p 表达的实验将细胞分为正常培养组、OGD 组、NC inhibitor + OGD 组和 miR-143-3p inhibitor + OGD 组,qRT-PCR 检测各组细胞中 miR-143-3p 相对表达水平;MTT、流式细胞术分别检测各组细胞的增殖、周期和凋亡情况。**结果** 与正常培养组比较,OGD 组 OGD 处理 2、4、6、8 和 10 h 后 rBMECs 中 miR-143-3p 相对表达水平明显上调,且呈明显上升趋势;转染 miR-143-3p inhibitor 能够显著降低 OGD 条件下 rBMECs 中 miR-143-3p 相对表达水平;与正常培养组比较,OGD 组细胞的增殖能力、周期转化能力显著降低,而细胞凋亡比例显著增加;与 NC inhibitor + OGD 组比较,miR-143-3p inhibitor + OGD 组细胞的增殖能力、周期转化能力显著增强,而细胞凋亡比例显著降低。**结论** OGD 处理显著抑制 rBMECs 的增殖、周期转化、促进凋亡;干扰 miR-143-3p 表达对 OGD 条件下的 rBMECs 具有保护作用。

【关键词】 脑卒中 缺糖缺氧 MicroRNA-143-3p 脑微血管内皮细胞

【中图分类号】 R743.31 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007-0478(2020)05-0561-06

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2020.05.001

Protective effect of miR-143-3p on brain microvascular endothelial cells with oxygen-glucose deprivation and its mechanism Chen Boyong*, Gao Qingchun*, Wang Yuzhou, et al. * Department of Neurology, the Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510260

【Abstract】 Objective To investigate the protective effect of microRNA-143-3p (miR-143-3p) on rat brain microvascular endothelial cells with oxygen-glucose deprivation (OGD) and its mechanism. **Methods** The rat brain microvascular endothelial cells (rBMECs) injury model induced by OGD was established. They were divided into normal culture group and OGD group, miR-143-3p expression levels in rBMECs of two groups at different time were detected by qRT-PCR. Interfering miR-143-3p expression in rBMECs, the experiment was divided into normal culture group, OGD group, NC inhibitor + OGD group and miR-143-3p inhibitor + OGD group. The relative expression levels of miR-143-3p in cells of four groups were detected by qRT-PCR. The cell proliferation, cycle and apoptosis in cells of four groups were assessed by MTT assay, flow cytometry assay, respectively. **Results** Compared with the normal culture group, the relative expression levels of miR-143-3p in rBMECs increased significantly after 2, 4, 6, 8 and 10 h after OGD treatment in OGD group, and showed a marked upward trend. Transfection of miR-143-3p inhibitor could significantly reduce miR-143-3p relative expression levels in rBMECs under OGD treatment. Compared with normal cultured group, the abilities of cell proliferation, cycle transformation in OGD group significantly decreased, while the apoptotic rate significantly increased. Compared with NC inhibitor + OGD group, the abilities of cell proliferation, cycle transformation in the miR-143-3p inhibitor + OGD group significantly increased, while the apoptotic rate significantly decreased. **Conclusion** OGD treatment significantly inhibited cell proliferation, cycle transformation of rBMECs, and promoted apoptosis. Interference miR-143-3p expression had protective effects on rBMECs under OGD conditions.

【Key words】 Stroke Oxygen-glucose deprivation MicroRNA-143-3p Brain microvascular endothelial cells

脑卒中是世界范围内导致死亡和残疾的主要疾病之一,并伴有脑缺血或缺氧等症状^[1]。脑卒中可表现为缺血性或出血性,其中缺血性脑卒中占有脑卒中的 80% 以上,缺血性脑卒中主要是由于脑动脉血栓或栓塞性闭塞所引起的,这也是造成患者长期残疾的主要原因^[2]。脑卒中具有较高发病率、致残率、病死率的特点,给患者的身心健康与生活质量带来了严重的影响^[3]。脑缺血或缺氧会导致作为血脑屏障重要结构的脑微血管内皮细胞(BMECs)间的连接发生破坏,细胞体积缩小、凋亡、通透性改变等结构和功能受到破坏,从而引起脑细胞损伤和脑组织破坏,造成脑功能紊乱^[4]。越来越多的证据表明,保持脑微血管内皮细胞的存活、再生以及抑制凋亡可以减轻缺血或缺氧引起的血脑屏障损伤^[5]。MicroRNA(miRNA)是一类长度为 18~22 个核苷酸的单链小分子非编码 RNA,在细胞分化、器官发育、基因表达、细胞增殖、凋亡等生理病理过程中起着至关重要的作用,与心脑血管疾病、肿瘤等疾病的发生发展有着密切的关系^[6]。已有研究证实如 miR-21-5p^[7]、miR-130a^[8] 等 miRNAs 在缺血性脑卒中中发挥着重要的作用。miR-143-3p 是一种与多种疾病相关的特殊 miRNA。最近研究表明 miR-143-3p 不仅包括与年龄相关的肌肉再生缺陷、胃癌、结直肠癌和食管鳞状细胞癌相关^[9],还在冠心病发展中起着重要的作用^[10]。然而,到目前为止 miR-143-3p 影响脑卒中进展的具体分子机制尚不清楚。本研究拟体外培养大鼠脑微血管内皮细胞(rBMECs),通过氧糖剥夺实验建立细胞缺糖缺氧(OGD)损伤模型,研究 miR-143-3p 在 OGD 条件下对 rBMECs 的作用机制,为脑缺血防治、寻求新靶点提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 主要实验试剂和仪器

大鼠脑微血管内皮细胞(rBMECs)由广州莱德联康生物科技有限公司从大鼠脑中分离、培养并提供;DMEM 细胞培养液、胎牛血清、1%青霉素/链霉素购于美国 Gibco 公司;MTT 检测试剂盒购于上海碧云天公司;NC inhibitor 和 miR-143-3p inhibitor 序列购于上海吉玛基因公司;细胞周期、凋亡检

测试剂盒购于南京凯基生物公司;Lipofectamine 2000 转染试剂、Trizol 试剂购于美国 Invitrogen 公司;miRNA 逆转录试剂盒、TaqMan MicroRNA 定量 PCR 试剂盒购于美国 ABI 公司;全自动酶标仪购于美国 Thermo 公司;流式细胞仪购于美国 BD 公司;三气培养箱购于日本三洋公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和 OGD 损伤模型的构建

用含有 10% FBS、1% 青霉素/链霉素的 DMEM 培养液培养 rBMECs,然后将细胞置于 37 °C 含 5% CO₂ 条件下进行培养,当细胞进入指数增长时吸出培养液,用胰酶消化,PBS 漂洗细胞 3 次并计数;正常培养组加入完全培养液以 1×10^6 个/mL 的密度接种于 6 孔板中,将细胞置于 37 °C 含 5% CO₂ 条件下进行培养。缺糖缺氧(OGD)组加入无糖 DMEM 培养液,将细胞置于 1% O₂、94% N₂、5% CO₂ 的三气培养箱中培养 0、2、4、6、8、10 h;分别取各组细胞,用 qRT-PCR 检测 miR-143-3p 的相对表达水平。

1.2.2 细胞转染和实验分组

用含有 10% FBS、1% 青霉素/链霉素的 DMEM 培养液培养 rBMECs,然后将细胞置于 37 °C 含 5% CO₂ 条件下进行培养,当细胞进入指数增长时收集细胞进行 NC inhibitor 或 miR-143-3p inhibitor 转染,具体步骤按照 Lipofectamine 2000 转染试剂说明书进行。将细胞分为正常培养组(BMECs):细胞正常条件下培养;OGD 组:细胞 OGD 处理 6 h;NC inhibitor + OGD 组:细胞转染 NC inhibitor 后进行 OGD 处理 6 h;miR-143-3p inhibitor + OGD 组:细胞转染 miR-143-3p inhibitor 后进行 OGD 处理 6 h。

1.2.3 qRT-PCR 检测 miR-143-3p 的相对表达水平

收集各组细胞,PBS 洗涤细胞 3 次,加入 Trizol 试剂提取各组细胞样本中的总 RNA,按照 miRNA 逆转录试剂盒说明书将 miRNA 逆转录成 cDNA,并以此 cDNA 为模板,TaqMan microRNA 定量 PCR 试剂盒检测 miR-143-3p 相对表达水平。定量 PCR 反应程序:95 °C 预变性 5 min,95 °C 10 s,60 °C 30 s,共 40 个循环。以 U6 作为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方

法计算 miR-143-3p 的相对表达水平。

1.2.4 MTT 法检测细胞增殖

将上述 4 组细胞接种量按每孔 2 000 个细胞/100 μ L 接种至 96 孔板中,各组细胞设置 3 个复孔,随后将细胞置于 OGD 处理 6 h,正常条件下培养 0、24、48、72 h 后将 10 μ L MTT 溶液加入每孔,37 $^{\circ}$ C 含 5% CO_2 条件下继续培养 4 h;再将 100 μ L Formazan 溶解液加入每孔,相同条件下继续培养 2 h 后用酶标仪检测细胞在 570 nm 波长下的吸光度;以时间为横坐标,吸光度值为纵坐标绘制细胞增殖曲线。

1.2.5 流式细胞仪检测细胞周期

将上述 4 组细胞接种量按 1×10^6 个/mL 接种至 6 孔板中,各组细胞设置 3 个复孔,随后将细胞置于 OGD 处理 6 h,正常条件下培养 48 h 后流式细胞术检测细胞周期。细胞周期检测按照试剂盒说明书进行。简而言之,培养 48 h 后收集细胞,PBS 漂洗细胞 3 次后再次收集细胞,然后将细胞用预冷的 70%乙醇在 25 $^{\circ}$ C 条件下固定 2 h;接下来 PBS 漂洗细胞 3 次,然后加入 25 μ g/mL 的 propidium iodide (PI)和 1 μ g/mL 的 RNase,在 37 $^{\circ}$ C 黑暗条件下染色 0.5 h;采用流式细胞术测定不同时期细胞的百分比。

1.2.6 流式细胞仪检测细胞凋亡

将上述 4 组细胞接种量按 1×10^6 个/mL 接种至 6 孔板中,各组细胞设置 3 个复孔,随后将细胞置于 OGD 处理 6 h,正常条件下培养 48 h 后流式细胞术检测细胞凋亡。细胞凋亡检测按照试剂盒说明书进行。简而言之,培养 48 h 后收集细胞,PBS 漂洗细胞 3 次后再次收集细胞,然后将细胞重悬于 500 μ L 的绑定缓冲液中,然后加入 5 μ L Annexin V-FITC 和 5 μ L propidium iodide,在 25 $^{\circ}$ C 黑暗中条件下染色 0.5 h;流式细胞术检测细胞凋亡百分率。

1.2.7 统计学处理

采用 SPSS 22.0 软件;数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,2 组比较采用 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 OGD 处理对 rBMECs 中 miR-143-3p 相对表达水平的影响

QRT-PCR 显示,与正常培养组比较,OGD 处理 2、4、6、8 和 10 h(5 个时间点)细胞中 miR-143-3p

相对表达水平明显上调($P < 0.001$),呈上升趋势。其中 OGD 处理 6、8 和 10 h 细胞中 miR-143-3p 相对表达水平上调变化无显著差异($P > 0.05$),因此选取 OGD 处理 6 h 为后续实验处理时间(图 1)。

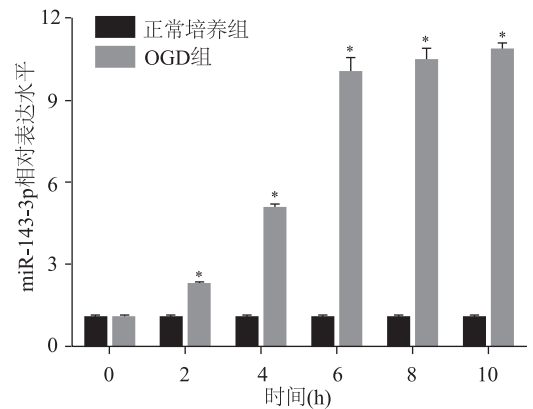


图 1 QRT-PCR 检测正常培养或 OGD 处理后各时间点 rBMECs 中 miR-143-3p 的相对表达水平 与正常培养组比较,* $P < 0.001$

2.2 转染 miR-143-3p inhibitor 对 rBMECs 中 miR-143-3p 相对表达水平的影响

QRT-PCR 显示,与正常培养组比较,OGD 组细胞中 miR-143-3p 相对表达水平显著上调($P < 0.001$)。与 NC inhibitor + OGD 组比较,miR-143-3p inhibitor + OGD 组细胞中 miR-143-3p 相对表达水平显著下调($P < 0.001$)(图 2)。

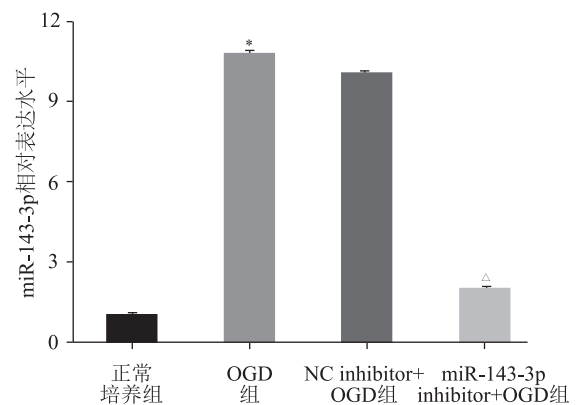


图 2 QRT-PCR 检测各组 rBMECs 中 miR-143-3p 的相对表达水平 与正常培养组比较,* $P < 0.001$;与 NC inhibitor + OGD 组比较, $\Delta P < 0.001$

2.3 干扰 miR-143-3p 表达对 OGD 处理后 rBMECs 增殖的影响

MTT 显示,细胞 OGD 处理后培养 24、48 和 72 h 这 3 个时间点时,与正常培养组比较,OGD 组细

胞的吸光度值随时间延长而没有相应地逐步升高,但与对照组差值幅度逐渐增大,其中 OGD 处理后培养 72 h 表现最显著($P<0.01$)。与转染 NC inhibitor + OGD 组比较,转染 miR-143-3p inhibitor + OGD 组 48 和 72 h 细胞的吸光度值随时间延长而逐渐上升($P<0.01$),且幅度逐渐增大,其中培养 72 h 表现最显著(图 3)。

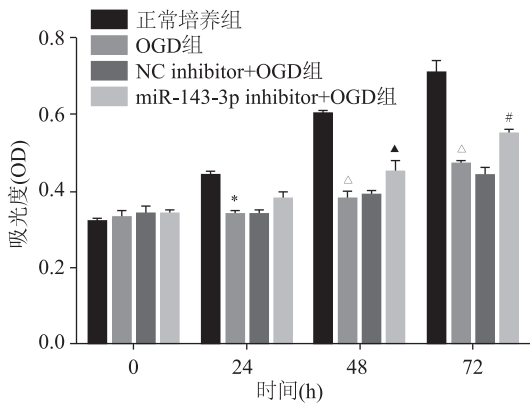


图3 干扰 miR-143-3p 表达对 OGD 处理后 rBMECs 增殖的影响 与正常培养组比较, * $P<0.01$, $\Delta P<0.001$; 与 NC inhibitor + OGD 组比较, $\blacktriangle P<0.05$, $\# P<0.01$

2.4 干扰 miR-143-3p 表达对 OGD 处理后 rBMECs 周期的影响

与正常培养组比较,OGD 组细胞 G1 期细胞比例增加,而 S 期细胞比例减少($P<0.05$);与 NC in-

hibitor + OGD 组比较,miR-143-3p inhibitor + OGD 组 G1 期细胞比例减少,而 S 期细胞比例增加($P<0.05$)(图 4)。

2.5 干扰 miR-143-3p 表达对 OGD 处理后 rBMECs 凋亡的影响

与正常培养组比较,OGD 组凋亡细胞的比例显著增加($P<0.001$);与 NC inhibitor + OGD 组比较,miR-143-3p inhibitor + OGD 组凋亡细胞比例减少($P<0.001$)(图 5)。

3 讨论

脑卒中是人类死亡的第三大原因,给患者和社会带来沉重社会和经济负担,其病理生理机制十分复杂,包括神经再生、抑制细胞凋亡、神经炎症反应和血管再生等^[11],涉及到分子机制上的多层级联介导,其部分调节是通过转录后的活性调节^[12]。因此,对脑卒中基因转录后调控的研究具有重要的临床意义。

miR-143-3p 在许多疾病中通过干扰靶基因的转录后翻译发挥重要作用,Yang 等^[13]人发现 miR-143-3p 在类风湿性关节炎组织中表达上调,促进类风湿性关节炎的细胞凋亡。Li 等^[14]研究发现沉默 miR-143-3p 促进 SPRY 3 表达及激活下游 P38、ERK 和 JNK 通路表达可减轻心肌梗死模型小鼠的

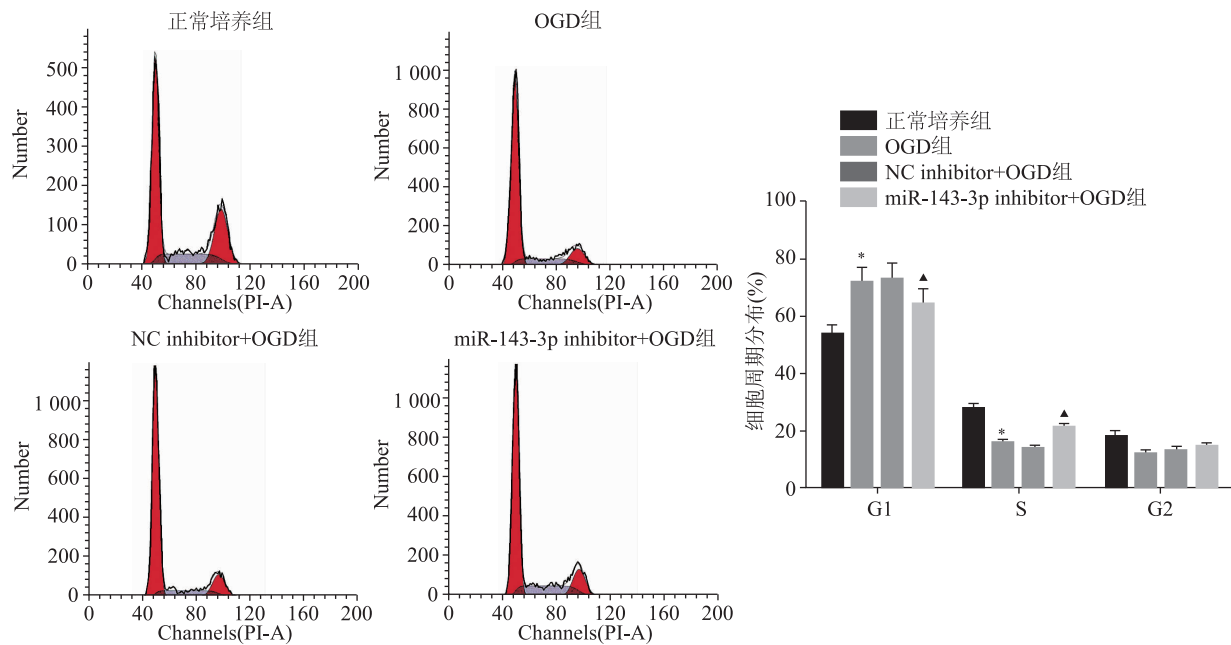


图4 干扰 miR-143-3p 表达对 OGD 处理后 rBMECs 周期的影响 与正常培养组比较, * $P<0.05$;与 NC inhibitor + OGD 组比较, $\blacktriangle P<0.05$

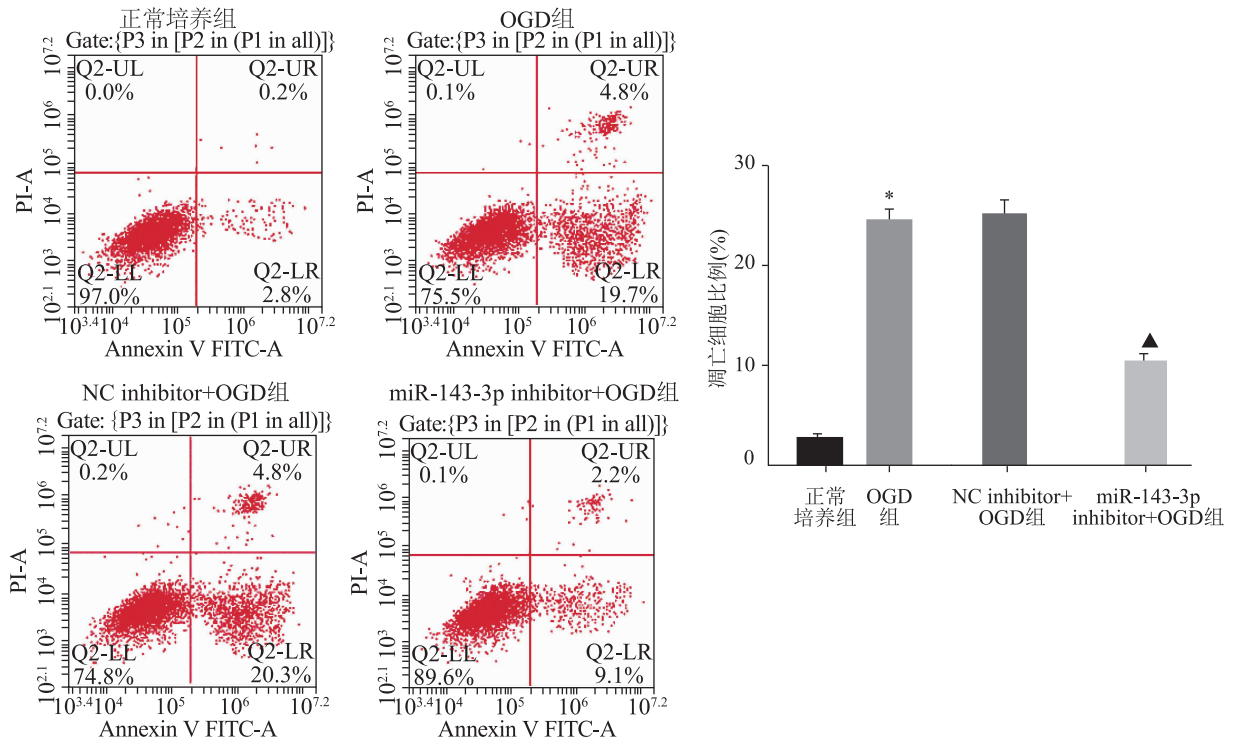


图5 干扰 miR-143-3p 表达对 OGD 处理后 rBMECs 凋亡的影响 与正常培养组比较, * $P < 0.001$; 与 NC inhibitor + OGD 组比较, ▲ $P < 0.001$

纤维化瘢痕。Liu 等^[10]研究干扰 miR-143-3p 表达通过靶向 KLLN 诱导抑制血管平滑肌细胞的增殖和迁移,并促进凋亡,延缓冠心病的发展。然而,miR-143-3p 在脑卒中的作用及其机制尚不清楚。本研究发现 rBMECs 经 OGD 处理后细胞中的 miR-143-3p 相对表达水平显著上升,并且还与作用呈时间相关性,这结果与 Liu 等在兔冠心病模型中表达相似,提示 miR-143-3p 表达水平与脑微血管内皮细胞缺氧缺糖有着密切关系。随后本研究发现干扰 rBMECs 中 miR-143-3p 表达能够促进 OGD 条件下 rBMECs 的增殖,改善 OGD 处理诱导的 rBMECs 的凋亡。以上这些结果表明干扰 rBMECs 中 miR-143-3p 表达对 OGD 处理的 rBMECs 发挥保护作用。

大量研究表明 miR-143-3p 通过抑制不同的靶基因的表达来调控细胞的功能,参与疾病的病理过程。比如在卵巢癌中 miR-143-3p 通过调控 TAK1 的表达抑制癌细胞增殖、迁移和侵袭能力;在结肠直肠癌中 miRNA-143-3p 通过调节 catenin- $\delta 1$ 的表达来阻碍癌细胞的生物学功能^[15-16];在三阴性乳腺癌细胞中过表达 miR-143-3p 通过与抑制靶基因 LIM domain kinase 1 表达能够引起细胞 G0/G1 阻滞,细胞也出现明显凋亡现象^[17]。这些研究结果与本研

究结果都说明 miR-143-3p 在一定程度上有保护细胞免受外界损伤的作用。最近也有研究表明 miR-143-3p 参与了炎症分子的调节^[18]。然而众所周知炎症反应在脑卒中氧化损伤过程中也有发生。另外,miR-143-3p 参与了 LncRNA-SARCC 和 MMP-13 中肾细胞癌的调节,MMP 为脑缺血中的 1 个重要调节因子^[19]。所以,本研究推测 miR-143-3p 通过多种途径来影响缺血性脑卒中的发病和预后。我们后续将对 miR-143-3p 缺糖缺氧的保护机制做进一步研究。

目前,miRNA 已经成为脑卒中发病和预后的重要的转录后调控基因表达因子,它通过目标基因沉默或者介导 mRNA 降解来参与基础细胞的功能。miRNAs 通过改变线粒体功能,调节神经细胞存活和凋亡的关键因子来参与脑缺血再灌注损伤的发生和发展,包括线粒体膜电位的变化、氧化应激反应下 ROS 产生以及能量代谢诱导细胞凋亡等^[20]。比如通过介导 PTEN/PI3K/AKT 轴、MIR-130A 可以预防脑 I/R 损伤^[8],抑制 miR-217 的表达能够保护神经元免受缺血性损伤^[21]。miR-27b 抑制与 AMPK 结合对神经元损伤有修复作用^[22-23]。在脑缺血小鼠脑中 MicroRNA-126-3p 和 MicroRNA-126-5p 通过抑制 PTPN9 表达来调节 AKT 和 ERK

信号通路,促进血管和神经生成,并进一步改善神经功能^[24]。miRNA-155 敲除或者抑制后能够减少脑卒中的炎症反应,有效提高 BBB 的完整性,维护 BBB 的生理功能正常^[25]。以上结果提示 miRNA 可能是治疗脑缺血的 1 个有效的靶基因。

综上所述,干扰 miR-143-3p 表达能够促进 OGD 条件下的 rBMECs 的增殖、周期转化、抑制凋亡,具有保护作用。本研究结果表明 miR-143-3p 可能为脑卒中干预治疗提供潜在的靶点。

参 考 文 献

- [1] Campbell BC, Mitchell PJ, Kleinig TJ, et al. Endovascular therapy for ischemic stroke with perfusion-imaging selection[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(11): 1009-1018.
- [2] Meschia JF, Brodt T. Ischaemic stroke[J]. *Eur J Neurol*, 2018, 25(1): 35-40.
- [3] Guzik A, Bushnell C. Stroke epidemiology and risk factor management[J]. *Continuum (Minneapolis)*, 2017, 23(1): 15-39.
- [4] Li Z, Liang G, Ma T, et al. Blood-brain barrier permeability change and regulation mechanism after subarachnoid hemorrhage[J]. *Metab Brain Dis*, 2015, 30(2): 597-603.
- [5] 张宏兵, 孙小祥, 罗秀琴, 等. 丁苯酚对缺氧缺血条件下大鼠微血管内皮细胞保护作用的分子机制研究[J]. *解放军医药杂志*, 2019, 31(1): 1-5.
- [6] Mo YY. MicroRNA regulatory networks and human disease[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2012, 69(21): 3529-3531.
- [7] Ge X, Huang S, Gao H, et al. MiR-21-5p alleviates leakage of injured brain microvascular endothelial barrier in vitro through suppressing inflammation and apoptosis[J]. *Brain Res*, 2016, 1650: 31-40.
- [8] Zheng TT, Shi Y, Zhang J, et al. MiR-130a exerts neuroprotective effects against ischemic stroke through PTEN/PI3K/AKT pathway[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 117: 109117.
- [9] He ZY, Yi J, Liu XL, et al. MiR-143-3p functions as a tumor suppressor by regulating cell proliferation, invasion and epithelial-mesenchymal transition by targeting QKI-5 in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Mol Cancer*, 2016, 15(1): 51.
- [10] Liu HD, Xiong W, Liu F, et al. Significant role and mechanism of microRNA-143-3p/KLLN axis in the development of coronary heart disease[J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(6): 3610-3619.
- [11] Lee JH, Wei ZZ, Cao WY, et al. Regulation of therapeutic hypothermia on inflammatory cytokines, microglia polarization, migration and functional recovery after ischemic stroke in mice[J]. *Neurobiol Dis*, 2016, 96: 248-260.
- [12] Eyileten C, Wicik Z, De Rosa SA, et al. MicroRNAs as diagnos-

tic and prognostic biomarkers in ischemic Stroke-A comprehensive review and bioinformatic analysis[J]. *Cells*, 2018, 7(12): 249.

- [13] Yang Z, Wang JF, Pan ZZ, et al. miR-143-3p regulates cell proliferation and apoptosis by targeting IGF1R and IGFBP5 and regulating the Ras/p38 MAPK signaling pathway in rheumatoid arthritis[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(4): 3781-3790.
- [14] Li C, Li J, Xue K, et al. MicroRNA-143-3p promotes human cardiac fibrosis via targeting sprouty3 after myocardial infarction[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2019, 129: 281-292.
- [15] Ding XH, Dui JY, Mao K, et al. MicroRNA-143-3p suppresses tumorigenesis by targeting catenin-delta 1 in colorectal cancer[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 3255-3265.
- [16] Shi HJ, Shen HM, Xu J, et al. MiR-143-3p suppresses the progression of ovarian cancer[J]. *Am J Transl Res*, 2018, 10(3): 866-874.
- [17] Li DF, Hu JS, Song HM, et al. miR-143-3p targeting LIM domain kinase 1 suppresses the progression of triple-negative breast cancer cells[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(5): 2276-2285.
- [18] Zhou Z, Dong Y, Zhou H, et al. MiR-143-3p directly targets GLUT9 to reduce uric acid reabsorption and inflammatory response of renal tubular epithelial cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 517(3): 413-420.
- [19] Zhai W, Sun Y, Guo C, et al. LncRNA-SARCC suppresses renal cell carcinoma(RCC) progression via altering the androgen receptor(AR)/miRNA-143-3p signals[J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(9): 1502-1517.
- [20] Hu YE, Deng H, Xu SX, et al. MicroRNAs regulate mitochondrial function in cerebral Ischemia-Reperfusion injury[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(10): 24895-24917.
- [21] Rao G, Zhang W, Song S. MicroRNA217 inhibition relieves cerebral ischemia/reperfusion injury by targeting SIRT1[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20(2): 1221-1229.
- [22] Cheng XL, Kan PC, Ma ZL, et al. Exploring the potential value of miR-148b-3p, miR-151b and miR-27b-3p as biomarkers in acute ischemic stroke[J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(6): BSR20181033.
- [23] Shin JH, Park YM, Kim DH, et al. Ischemic brain extract increases SDF-1 expression in astrocytes through the CXCR2/miR-223/miR-27b pathway[J]. *Biochimica et Biophysica Acta-Gene Regulatory Mechanisms*, 2014, 1839(9): 826-836.
- [24] Qu MJ, Pan JJ, Wang LP, et al. MicroRNA-126 regulates angiogenesis and neurogenesis in a mouse model of focal cerebral ischemia[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, 16: 15-25.
- [25] Zhang WW, Wang LP, Pang XC, et al. Role of microRNA-155 in modifying neuroinflammation and gamma-aminobutyric acid transporters in specific central regions after post-ischaemic seizures[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(8): 5017-5024.

(2019-10-05 收稿)