

• 综 述 •

环状 RNAs 的功能及其与缺血性脑卒中关系的研究进展

徐璐 王丽华 卢晓宇 王健健 张荟雪

【中图分类号】 R743.3 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2021)05-0575-03
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2021.05.016

缺血性脑卒中可引起脑组织严重功能障碍,具有发病率、致死率、致残率、复发率较高等特点。环状 RNAs(Circular RNA, CircRNAs)是一种通过特定外显子环化产生的进化保守的非编码 RNA。据报道, CircRNAs 富集于多个器官中,在大脑中尤为丰富,这表明 CircRNAs 可能参与了大脑的生理和病理过程。本研究结合国内外研究现状对 CircRNAs 与缺血性脑卒中的关系做一综述。

脑卒中是世界范围内导致死亡和残疾的主要原因之一,脑卒中带来的较高发病率和病死率给社会和家庭带来沉重的经济和精神负担^[1]。全球每年有 1500 万人罹患脑卒中,其中缺血性脑卒中占总病例的 80% 以上。缺血性脑卒中主要由血栓或斑块形成引起的脑动脉闭塞所致,导致脑组织的血液供应减少,从而使脑组织氧气和葡萄糖供应不足^[2]。此外,大量的免疫细胞、细胞因子和蛋白质参与其中,导致一系列反应包括血脑屏障(Blood brain barrier, BBB)破坏、氧化应激、缺血后免疫、炎症反应、细胞凋亡、自噬和神经血管损伤和重建^[3]。CircRNAs 最初被认为是剪接的异常产物^[4]。然而,最近有研究发现其在神经元中具有丰富且特异性的表达,并且在神经元分化过程中呈现动态表达^[5]。随着对 CircRNAs 研究的深入, CircRNAs 与缺血性脑卒中之间的关联逐渐被揭示。

1 CircRNAs 的功能及其在大脑中的特征

CircRNAs 在结构上不同于其他类型的非编码 RNA,其头部 3' 和尾部 5' 端共价结合并形成 1 个闭环结构^[6]。1976 年在与 RNA 病毒相关的一项研究中首次通过电子显微镜鉴定了 CircRNAs^[7]。当时,生物技术还不够先进,无法验证 CircRNAs 的水平及功能。但是,新出现的证据表明 CircRNAs 在哺乳动物中水平很高,并且比线性 RNA 稳定,这可能是由于其共价闭环结构使其能够抵抗 RNA 核酸外切酶^[8-9]。另外,编码 1 个物种的 CircRNAs 的基因极可能编码其他物种中的 CircRNAs,这表明不同物种之间的 CircRNAs 在进化上是保守的^[10]。

CircRNAs 是通过 RNA 聚合酶从前 mRNA 序列转录而来的^[11]。有研究表明,大多数 CircRNAs 显示出复杂的组织、细胞特异性表达模式,并且比起其他器官,脑组织中的 CircR-

NAs 更为丰富,这也为 CircRNAs 在神经系统疾病中的潜在作用提供了线索^[5,12]。有研究者对包括脑、肝、肺、心脏和睾丸在内的不同小鼠组织中的 CircRNAs 进行了深度测序,发现 CircRNAs 存在于所有组织中,且其丰度在脑部最高^[12-13]。You 等^[12]比较了海马突触神经递质小体或神经纤维中 CircRNAs 的丰度与整个海马匀浆或主要包含海马体部细胞的显微解剖层中观察到的 CircRNAs 的丰度,发现大多数 CircRNAs 确实富含 2 个突触部分之一或全部。Agnieszka 等^[5]发现,与全脑裂解物和细胞质比较, CircRNAs 在所有表达截止点上都富含突触神经小体。还有研究表明, CircRNAs 的表达在神经元中受到发育调控,并且 CircRNAs 的表达变化与其宿主线性转录物无关。此外, Agnieszka 等从解剖的脑组织或神经元分化的细胞系中检查了 29 个人/小鼠 RNA 测序数据集,发现某些 CircRNAs 的表达是动态且独立于其线性转录体的,这意味着 CircRNAs 在脑部的表达受到调节^[5]。由于进化中的保守性通常暗示功能性,因此许多研究分析了脊柱动物中的 CircRNAs 序列的保守性;他们发现,与剪接位点比较, CircRNAs 头尾连接处的外显子序列具有更高的保守性^[13]。但是, CircRNAs 在不同物种之间显示出很大的差异, Guo^[6]等研究表明,在人类细胞系中检测到 20% 的小鼠 CircRNAs。这也与另一项研究结果一致,该研究显示在小鼠神经管中鉴定的 CircRNAs 的 23.6% 也在大鼠的神经管中表达。然而, Memczak 等^[14]的研究发现,只有 4% 的小鼠 CircRNAs 在人类样品中被鉴定出。根据以上研究推测 CircRNAs 对脑部功能的完整性至关重要。

2 缺血性脑卒中的发生机制

缺血性脑卒中是 1 个动态过程,在此过程中邻近缺血区的神经元会发生坏死。缺血性脑卒中机制很复杂,目前已认识到的损伤机制包括代谢紊乱、炎症、细胞凋亡和缺血半暗带^[15-17]。Huang 等^[18]研究表明,将烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(Nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺)与还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)结合使用可以在缺血性脑卒中的细胞模型和动物模型中提供更多的神经保护作用。缺血性脑卒中可诱发炎症级联反应的激活,其引起的先天性和适应性免疫系统的激活导致外周白细胞大量迁移到大脑中,从而触发局灶性炎症反应,促进脑组织坏死,使临床结局恶化^[19]。有研究表明细胞凋亡促进缺血性脑损伤,含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(CysteinyI aspartate specific proteinase,

基金项目:国家自然科学基金-青年科学基金(81901277)

作者单位:150081 哈尔滨医科大学附属第二医院神经内科[徐璐(哈尔滨医科大学在读硕士研究生)王丽华 卢晓宇 王健健 张荟雪(通信作者)]

Caspase)-6 和 Caspase-8 与神经元有关,缺血性脑卒中后的细胞凋亡和 Caspase-6 或 Caspase-8 抑制可减轻缺血性脑卒中引起的神经元损伤^[20]。另外,据报道中脑星形胶质细胞源性神经营养因子(Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor, MANF)可通过抑制 caspase-3 的裂解来预防缺血性脑损伤引起的神经元凋亡^[21]。缺血半暗带通常被描述为缺血性脑卒中患者的缺血核心与正常区域之间的组织。神经保护治疗的最终目标是缩小缺血半暗带,如果不及治疗,随之而来的如细胞凋亡、炎症、梗死将在半暗带内发展^[22]。先前基于实验性缺血性脑卒中模型的研究表明,半暗带的去极化与梗死体积呈正相关,这表明抑制梗死灶周围去极化可能是改善脑梗死不良结局的治疗策略。

3 CircRNAs 与缺血性脑卒中的关系

Bai 等^[23]使用了急性缺血性脑卒中患者的血浆以及小鼠缺血性脑卒中模型进行研究,结果表明在患者血浆和小鼠模型中环状 RNA DLGAP4 (Circular RNA DLGAP4, circDLGAP4) 均增加。此外, circDLGAP4 被证明通过抑制 HECT 域 E3 泛素蛋白酶 1 (HECT domain E3 ubiquitin protein ligase 1, HECTD1) 的表达来抑制微小 RNA-143 (MicroRNA-143, miR-143) 的活性;他们还发现 circDLGAP4 的过表达可以显著减少神经功能缺损,减少梗死面积并减轻缺血性脑损伤。短暂性大脑中动脉闭塞后小鼠脑卒中模型的 BBB 变化表明 circDLGAP4 参与了脑缺血,为脑缺血的治疗提供了新的靶点。基于经受短暂大脑中动脉闭塞的小鼠模型,研究者使用了 CircRNAs 芯片和实时聚合酶链式反应 (Polymerase chain reaction, PCR) 鉴定在不同时间点即再灌注 6、12、24 h 后的 CircRNAs 表达模式,结果表明较对照组有 283 个 circRNAs 发生了改变,其中 16 个候选 RNA 在脑缺血后的 3 个再灌注时间点均发生了改变。此外,已验证这 16 个 CircRNAs 带有大量微小 RNA (MicroRNA, miRNA) 的结合位点。根据生物信息学分析,这些鉴定出的 CircRNAs 在功能上与缺血性脑卒中的病理生理学有关^[24]。还有研究是基于小鼠海马神经元细胞系中的乏氧葡萄糖/再给氧 (Oxygen-glucose deprivation/Reoxygenation, OGD/R) 模型进行的,通过使用 CircRNAs 微阵列鉴定 CircRNAs 表达谱的变化,结果在 OGD/R 模型中鉴定出 2 个上调的 CircRNAs 和 13 个下调的 CircRNAs;在这 15 个 CircRNAs 中 Mmu-CircRNA-015947 可能参与细胞凋亡、代谢及免疫相关途径,这表明 Mmu-CircRNA-015947 可能在缺血性脑卒中的发生机制中起作用^[25]。缺血性脑卒中的主要原因是血栓阻塞脑血管,这是脑血管动脉粥样硬化的常见结果。据报道, circRNA ANRIL 可通过加剧内皮细胞的炎症并增高甘油三酯 (Triglyceride, TG)、低密度脂蛋白 (Low density lipoprotein, LDL)、白介素 (Interleukin, IL-1), IL-6、基质金属蛋白酶 (Matrix metalloproteinase, MMP-9) 和 C-反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 的水平来促进动脉粥样硬化的进展^[26]。

4 CircRNAs 参与其他神经系统疾病

现已发现 CircRNAs 与许多其他神经系统疾病有关如

阿尔兹海默症、帕金森病、多发性硬化和精神分裂症^[27]。全基因组关联研究表明, CircRNA 与单核苷酸多态性和神经系统疾病之间存在联系。 α -突触核蛋白是 miR-7 的靶基因,其过表达与帕金森病的发展相关,并且 miR-7-CiRS-7 相互作用可能与帕金森病有关^[28]。Linda 等^[29]研究发现,一些 CircRNAs 来源于基因位点,这些基因位点与异常的神经发育表型具有遗传联系如 FBXW7, DOPEY2 和 RMST。此外,在某些形式的散发性肌萎缩性侧索硬化 (Amyotrophic lateralizing sclerosis, ALS) 中发现了 RBP TDP-430 的胞质积累。Maria 等^[30]发现,由于脱支酶 1 活性的降低,内含套索蛋白的细胞质增加可有效抑制人神经元细胞系和原代大鼠神经元中的 TDP-43 毒性,这提示使用 CircRNAs 可作为 ALS 的潜在治疗手段。另外,在重度抑郁症 (Major depressive disorder, MDD) 患者的外周血单核细胞中发现了一些差异表达的 CircRNAs。与健康对照组比较,在 MDD 患者中被下调的 Hsa_CircRNA_103636 在抗抑郁方案治疗 8 周后发生了显著改变,这表明 Hsa_CircRNA_103636 可能是诊断和治疗 MDD 的新型潜在标志物^[31]。

5 总结与展望

CircRNAs 在缺血性脑卒中的过程中参与了神经炎症、BBB 损伤、神经胶质细胞活化、神经元死亡和动脉粥样硬化的形成。大量研究表明, CircRNAs 可能是缺血性脑卒中的诊断、治疗、预测预后的理想靶标。目前,对 CircRNAs 与缺血性脑卒中之间的研究尚处于起步阶段。但是,随着临床和实验技术的进步以及对 CircRNAs 及其相关作用途径的深入研究, CircRNAs 有望成为预防和诊治缺血性脑卒中的新靶点。

参 考 文 献

- [1] Johnson CO, Nguyen M, Roth GA, et al. Global, regional, and National burden of stroke, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016[J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18(5): 439-458.
- [2] Woodruff TM, Thundiyil J, Tang SC, et al. Pathophysiology, treatment, and animal and cellular models of human ischemic stroke[J]. *Mol Neurodegener*, 2011, 6(1): 11.
- [3] Mo Y, Sun YY, Liu KY. Autophagy and inflammation in ischemic stroke[J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15(8): 1388-1396.
- [4] Nigro JM, Cho KR, Fearon ER, et al. Scrambled exons[J]. *Cell*, 1991, 64(3): 607-613.
- [5] Rybak-Wolf A, Stottmeister C, Glažar P, et al. Circular RNAs in the mammalian brain are highly abundant, conserved, and dynamically expressed[J]. *Mol Cell*, 2015, 58(5): 870-885.
- [6] Guo JU, Agarwal V, Guo HL, et al. Expanded identification and characterization of mammalian circular RNAs[J]. *Genome Biol*, 2014, 15(7): 409.
- [7] Sanger HL, Klotz G, Riesner D, et al. Viroids are single-stranded covalently closed circular RNA molecules existing as highly base-paired rod-like structures[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1976, 73(11): 3852-3856.
- [8] Rong D, Sun H, Li Z, et al. An emerging function of circRNA-miRNAs-mRNA axis in human diseases[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(42): 73271-73281.

(下转第 584 页)