

MicroRNAs 在阿尔茨海默病的发病机制方面的研究进展

陈阳 张卓伯

【中图分类号】 R742 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2021)06-0702-03

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2021.06.021

阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)是一种神经系统变性疾病,影响了世界上很大一部分老年人,且数量逐年增长。尽管流行,但对该疾病的病因仍然知之甚少,现在几乎没有有效的治疗方法。目前认为淀粉蛋白前体蛋白(Amyloid precursor protein, APP)异常断裂、 β 淀粉蛋白(β -amyloid, A β)的沉积和神经纤维缠结(Neurofibrillary tangles, NFT)是已知的 AD 发病的病理基础和监管机制的靶点。众所周知,过度磷酸化的微管相关蛋白(Microtubule-associated protein tau, Tau)及异常的脂质代谢在 AD 的发生与发展中起着重要的作用。同时,神经炎症作为众多神经系统疾病病理学机制的重要靶点,也与 AD 的发病机制密不可分。长期以来 AD 中的非编码小分子 RNA(Micro ribonucleic acid, MicroRNAs)表达差异及其与 AD 发病机制的关系一直是人们关注的焦点。本研究将探讨 MicroRNAs 在 AD 发病机制中的作用,进而探索 AD 治疗的新方向。

AD 是一种以近期记忆力减退为主要临床表现的进行性神经退行性疾病,占有痴呆患者病因的 60%~80%^[1]。已经发现,与 A β 产生密切相关的三种蛋白质基因突变是早发性 AD 患者的常见病理表型,这提示 A β 在该疾病发病机制中起着关键性的作用。神经元内过度磷酸化的 Tau 蛋白形成的神经元纤维缠结(NFT)的聚集是 AD 另 1 个重要病理学标志。NFT 的聚集主要是由于 Tau 蛋白的聚集具有异常的翻译后修饰,包括增加的磷酸化和乙酰化。最近的研究表明该蛋白的异常修饰可导致树突棘中错误折叠的 Tau 蛋白富集,从而干扰神经传递^[2]。尽管 A β 和 NFT 结构是 AD 公认的标志性的病理基础,但 AD 是一种多因素疾病,涉及许多细胞类型和病理生理途径。A β 肽聚集体与许多途径有关,包括线粒体功能障碍、氧化损伤、钙流入过多、脂质失调、突触功能障碍、细胞凋亡和神经炎症^[3]。总的来说,这些结果都表明 AD 是一种复杂的疾病,涉及多种相互关联的途径和细胞类型,暗示了共同调节机制在该疾病发展和未来治疗中的潜在作用。

MicroRNA(又称 miRNA)是一种内源性的非编码 RNA,由 20~24 个核苷酸序列组成,它可以结合 mRNA 中编码蛋白质基因的核苷酸序列,通过转录物降解或翻译抑制作用,从而指导转录后沉默,在众多生物学事件中起着关键性的作用,包括发育、增殖、信号转导和造血谱系分化等^[4]。在人类基因组中已经发现 2000 多种 miRNA,并且随着研究

的不断进展,它的数量还在不断增加,这说明了 miRNA 在基因调控中的重要作用。具体而言,miRNA 在神经元中高度表达,在神经元分化、突触形成和可塑性过程中起着关键性的作用。越来越明显的是,miRNA 对更高的认知功能具有深远的影响,其功能的受损与多种神经系统疾病和病症的病因有着密切的联系,包括 AD、帕金森病(Parkinson's disease, PD)、肌萎缩性侧索硬化(Amyotrophic lateral sclerosis, ALS)和亨廷顿病(Huntington's disease, HD)^[5]。过去的 10 年在 AD 研究中越来越多的证据表明,miRNA 的改变可能会很大程度上影响 AD 进程。

1 miRNA 与 A β

淀粉样级联假说作为 AD 发病机制之一,它说明了几乎所有导致 AD 神经退行性变的分子和亚细胞都是通过 A β 聚合物的初始聚集所触发。由 β -分泌酶(β -secretase, BACE1)和 γ -分泌酶对淀粉蛋白前体蛋白(APP)进行蛋白水解而产生的 A β 肽,在 AD 患者大脑中积累。APP 基因突变是 AD 早期遗传的危险因素,它能改变 γ -分泌酶活性,最终导致 APP 的生成增加,增加 A β 聚集或降低 A β 裂解^[6]。通过调节 APP 表达和参与 A β 加工的其他酶,主要是 BACE1,现已有证据显示 miRNA 通过调节 BACE1, APP 的表达来参与 A β 的调控,达到影响 AD 病理学的作用^[7]。

2 miRNA 与 BACE1

BACE1 的活性是 AD 病理机制中的关键因素,因为 BACE1 切割 APP 是形成 A β 的第一步和限速步骤。事实上,在散发型的 AD 患者大脑中发现了 BACE1 表达水平和酶活性的增高。关于 BACE1 研究最深入的 miRNA 是 miR-29 家族。从不同的前体加工而成的 miR-29 家族成员包括 3 个主要的成熟 miRNA,分别称为 hsa-miR-29a, hsa-miR-29b 和 hsa-miR-29c。已经发现 miR-29c 通过在人和小鼠细胞系中靶向 BACE1 的 3'-UTR 位点,可以直接调节 BACE1 的表达^[8]。miR-29 家族的其他两个成员(miR-29a 和 miR-29b)表达水平在 AD 患者大脑中显着降低。它们的减少与异常增高的 BACE1 蛋白水平有关^[9]。有研究显示,在 AD 患者脑中解除调节并且可以直接在体外靶向 BACE1 的其他 miRNA 是 miR-339-5p, miR-195 和 miR-107。在人类全基因组血清的 miRNA 表达研究中 AD 患者血清中的 miR-98-5-p 表达水平增高。后来在 APP 过度表达的 AD 小鼠模型中发现 miR-98 有促进 A β 积累的作用^[10]。miR-98-5-p 通过靶向

调节分选连接蛋白 6 (Sorting nexin 6, SNX6), 从而增加了 BACE1 的活性和 $A\beta_{42}$ 的积累^[11]。SNX 蛋白是调节内质体运输和蛋白质分类的连接蛋白 Nexin 家族的成员。SNX6 参与 BACE1 的逆行转运, 它的减少导致了 BACE1 增加和 $A\beta_{42}$ 积累。总而言之, miR-98-5p 通过调节依赖 SNX6 的 $A\beta_{42}$ 生成而促进 AD 的发病。

3 miRNA 与 APP

早在 2008 年从秀丽隐杆线虫研究中发现了 miRNA 可以调控 APP mRNA, miRNA let-7 能够调控蠕虫 APP 的同源物淀粉状蛋白 β 前体样蛋白 1 (Amyloid beta precursor-like protein 1, APL-1)。同年, Patel 等人发现在人类基因组中 APP 也受 miRNA 调节, 由于 miR-106a 和 miR-520c 的过表达导致 APP mRNA 的翻译抑制, 从而显著降低了 APP 水平^[12]。从那时起大量其他 miRNA 已被证明可在体外直接调节人细胞中的 APP mRNA。这些 miRNA 包括 miR-20a 家族的全部成员、miR-19 和 miR-106a/b, miR-101 等。在他们的研究中通过荧光素酶测定法确认了 miR-20a, miR-17, miR-147, miR-323-3p, miR-644 和 miR-153 均可在体外调节 APP 的表达^[13]。miR-153 是 APP 和 APP 样蛋白 2 (Amyloid beta precursor-like protein 2, APLP2) 的重要转录后调节剂, 两者均和 AD 的神经病理学相关。miR-153 可以在多种神经元组织中特异性表达, 其中水平最高的区域为中脑、皮质和海马^[14]。作为大脑特定的 miRNA 之一, miR-153 被认为在维持正常脑功能和脑发育中发挥着重要的作用。体内研究已经确定了 miR-153 在 APP 和 APLP2 mRNA 的 3'UTR 上的结合位点, 并证实 miR-153 具有抑制 APP 和 APLP2 表达的作用^[15]。有研究发现, miRNA 也与 APP 选择性剪接的调控有关。此外, APP 的异常神经元剪接与 $A\beta$ 的产生增加有关。同一项研究显示, 在神经元细胞系中 miRNA 具有敲除多嘧啶束结合蛋白 1 (Polypyrimidine tract binding protein 1, PTB1) 的作用, PTB1 可以改变 APP 的外显子 7 和 8 的剪接, 而 PTB1 本身受 miR-124 调控。在培养的神经元中发现 AD 大脑中的 miR-124 下调。上述研究表明, 丰富的特异性 miRNA 的异位表达与 APP 剪接作用相关^[16]。

4 miRNA 与 Tau

Tau 是一种多功能的大脑蛋白, 并且在人大脑中的含量非常丰富。在各种脑病变中 Tau 都是以神经纤维形式积聚的蛋白质^[6]。Tau 蛋白的高磷酸化导致 Tau 从微管分离, 在神经纤维缠结中聚合成对的螺旋状和直丝状。Tau 从细胞内锚定点、微管和细胞骨架分离都会发生 Tau 自聚集, 并影响正常神经元和轴突结构。神经元、突触功能障碍和错误折叠的蛋白质反应都和 AD 的神经病理学相关^[17]。几项研究表明 miRNA 可以直接调节 Tau 表达, 其中之一是 miR-34a, 它通过特异性靶向多聚腺苷酸化 (Polyadenylation, APA) 的较长变体来调节 Tau 表达。人和啮齿动物的 Tau 3'-UTR 包含 2 个聚腺苷酸化信号。有研究发现, miR-34a 在长 Tau 3'-UTR 亚型中具有结合位点, 并证明 miR-34a 可以

抑制内源性 Tau 的表达^[18]。miR-132/miR-212 簇也与 Tau 表达的调节相关。史密斯等表明小鼠神经元中的 miR-132/miR-212 缺乏导致 Tau 磷酸化和聚集的增加。他们证明, 删除 miR-132/miR-212 会在表达内源性或人类突变型 Tau 的小鼠中诱导 Tau 聚集, 这与自噬功能障碍有关; 相反, 用 miR-132 模拟物可以治疗 AD 小鼠的部分记忆功能和 Tau 的恢复^[19]。同时, 在另一项研究中该 miRNA 的缺失会损害学习和记忆能力^[20]。

5 miRNA 与神经炎症

小胶质细胞在中枢神经系统内能够引发神经炎症, 并且可以产生级联反应。在静息状态下根据脑内细胞因子反应和环境可以将小胶质细胞分化为 M1 和 M2 两种表型。M1 表型通过促进炎症级联反应引发了神经破坏作用, 而 M2 表型通过抑制炎症反应起到了神经保护作用^[21]。 $A\beta$, Tau 蛋白的磷酸化、NFT 的形成可以激活小胶质细胞转换成更多的 M1 细胞表型, 然而有研究显示增加的 M1/M2 比率可以导致神经功能紊乱^[22]。已知参与神经炎症的几种 miRNA 的转录均受转录因子- κ B, (Nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 调控。NF- κ B 是免疫和压力诱导的转录因子。在正常生理情况下乙酰胆碱可阻断炎症诱导的 NF- κ B 活性。然而, 在 AD 中乙酰胆碱的产生严重受损。Zaho 等人发现了一种 miRNA 可以控制 NF- κ B 的活性, 即 miR-34a, 它在 AD 患者的海马 CA1 区域上调。在他们的研究中小鼠神经胶质细胞的相关试验结果显示, miR-34a 调节小胶质细胞受体在髓样细胞 2 上表达的触发受体 (Triggering receptor expressed on myeloid cells 2, TREM2)。这一发现证实了 TREM2 的罕见杂合变体与 AD 风险的显著增加有密切的联系^[23]。

6 miRNA 与脂质代谢

脂质代谢与 AD 之间的相互联系是在 1993 年发现的, 当时载脂蛋白 E (Apolipoprotein E, APOE) 基因的等位基因 All4 被确定为 AD 的危险因素, 并且至今仍是已知最强的 AD 遗传危险因素。最近有研究者开始研究关于 AD 脂质体内稳态的 miRNA 调节机制, 目前有许多 miRNA 调控胆固醇代谢的研究, 研究已将 miR-33 对脂质代谢的调节 (主要是通过抑制 ATP 结合盒转运蛋白 A1 (Recombinant ATP binding cassette transporter A1, ABCA1)) 与 AD 的发病机制联系起来^[24]。ABCA1 是一种膜结合蛋白, 在脂蛋白 (High-density lipoprotein, HDL) 形成过程中可以将外排的胆固醇和磷脂介导到低密度脂蛋白上, 并通过降低 $A\beta$ 的水平参与 AD 病理学的形成^[25]。特别是, miR-33 在人的神经元细胞系以及小鼠神经元和原代星形胶质细胞中均显示出在体外直接调节 ABCA1^[26-27]; 另一个调节 ABCA1 的 miRNA 是 miR-106b, 它在 AD 小鼠的神经元培养基中过表达, 导致分泌的 $A\beta$ 明显增加。这种增加是由 ABCA1 介导的 $A\beta$ 产量增加和阻止 $A\beta$ 清除引起的; 还显示出 ABCA1 和胆固醇代谢受 miR-758 的调节; 有研究表明这种 miRNA 可能对 AD 发生、发展的调控具有重要意义^[27]。许多其他的

miRNA 也与 AD 中的脂质代谢受损有关。其中包括 miR-137, miR-181c, miR-9 和 miR29a/b, 它们靶向丝氨酸棕榈酰转移酶(Serine palmitoyl transferase, SPT), 它是神经酰胺水平的调节剂, 在 AD 脑中上调并直接介导 A β 水平^[28]。

7 结束语

众所周知, AD 的早期诊断非常困难, 但是及时确诊该疾病可以提供早期干预, 给予相应的护理计划, 更好地对症处置, 节省医疗成本。研究者一直在寻找针对 AD 早期阶段可靠且有效的生物标记物, 由于 miRNA 存在于生物体中, 并且它具有很高的稳定性, 因此被人们认为是很好的候选者^[29]。目前, 阿尔茨海默病仍然是无法治愈的疾病。针对该疾病不同方面的多种药物正在开发和临床测试中, 但是到目前为止还没有药物被证明既安全又有效。在很大程度上这种治疗缺陷源于我们对疾病发病机理了解的欠缺。miRNA 作为治疗靶点的 1 个主要优点是它们可以靶向多个基因, 从而可能对整个疾病的发生和发展产生潜在影响^[30]。这对于 AD 这样的复杂多因素疾病可能具有重要意义。在 AD 患者中 miRNA 治疗的研究仍处于早期阶段。miRNA 靶点识别具有复杂性, 这意味着在考虑将其用于治疗之前必须对 miRNA 靶标有更深入的了解。

参 考 文 献

- [1] Lane CA, Hardy J, Schott JM. Alzheimer's disease[J]. *European Journal of Neurology*, 2018, 25(1): 59-70.
- [2] Nation DA, Sweeney MD, Montagne A, et al. Blood-brain barrier breakdown is an early biomarker of human cognitive dysfunction[J]. *Nat Med*, 2019, 25(2): 270-276.
- [3] Tiwari S, Atluri V, Kaushik A, et al. Alzheimer's disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics[J]. *Int J Nano-medicine*, 2019, 14(14): 5541-5554.
- [4] Khoshnam SE, Winlow W, Farbood Y, et al. Emerging roles of microRNAs in ischemic stroke: as possible therapeutic agents[J]. *J Stroke*, 2017, 19(2): 166-187.
- [5] Kou X, Chen D, Chen N. The regulation of microRNAs in alzheimer's disease[Z], 2020; 288.
- [6] Li W, Li X, Xin X, et al. MicroRNA-613 regulates the expression of brain-derived neurotrophic factor in Alzheimer's disease[J]. *Biosci Trends*, 2016, 10(5): 372-377.
- [7] Stakos DA, Stamatelopoulou K, Bampatsias D, et al. The alzheimer's disease Amyloid-Beta hypothesis in cardiovascular aging and disease: JACC focus seminar[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 75(8): 952-967.
- [8] Imbimbo BP, Watling M. Investigational BACE inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2019, 28(11): 967-975.
- [9] Wang Z, Xu P, Chen B, et al. Identifying circRNA-associated-ceRNA networks in the hippocampus of A β 1-42-induced Alzheimer's disease-like rats using microarray analysis[J]. *Aging*, 2018, 10(4): 775-788.
- [10] Hu YK, Wang X, Li L, et al. MicroRNA-98 induces an Alzheimer's disease-like disturbance by targeting insulin-like growth factor 1[J]. *Neurosci Bull*, 2013, 29(6): 745-751.
- [11] Li Q, Li X, Wang L, et al. miR-98-5p Acts as a target for alzheimer's disease by regulating A β production through modulating SNX6 expression[J]. *J Mol Neurosci*, 2016, 60(4): 413-420.
- [12] Luo Q, Chen Y. Long noncoding RNAs and Alzheimer's disease[J]. *Clin Interv Aging*, 2016, 11(11): 867-872.
- [13] Li S, Yan Y, Jiao Y, et al. Neuroprotective effect of osthole on neuron synapses in an alzheimer's disease cell model via up-regulation of MicroRNA-9[J]. *J Mol Neurosci*, 2016, 60(1): 71-81.
- [14] Zhao J, Liu X, Xia W, et al. Targeting amyloidogenic processing of APP in alzheimer's disease[Z], 2020; 137.
- [15] Wang SW, Deng LX, Chen HY, et al. MiR-124 affects the apoptosis of brain vascular endothelial cells and ROS production through regulating PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(2): 498-505.
- [16] Zhu H, Wang J, Shao Y, et al. Catalpol May improve axonal growth via regulating miR-124 regulated PI3K/AKT/mTOR pathway in neurons after ischemia[Z], 2019; 306.
- [17] Takeda S. Progression of alzheimer's disease, tau propagation, and its modifiable risk factors[J]. *Neurosci Res*, 2019, 141(10): 36-42.
- [18] Zhao Y, Jaber VR, Lebeauf A, et al. microRNA-34a(miRNA-34a)mediated down-regulation of the post-synaptic cytoskeletal element SHANK3 in sporadic alzheimer's disease(AD). *front neuro*[Z], 2019; 28.
- [19] Kang Q, Xiang Y, Li D, et al. MiR-124-3p attenuates hyperphosphorylation of Tau protein-induced apoptosis via caveolin-1-PI3K/Akt/GSK3 β pathway in N2a/APP695swe cells[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(15): 24314-24326.
- [20] Hansen KF, Sakamoto K, Aten S, et al. Targeted deletion of miR-132/-212 impairs memory and alters the hippocampal transcriptome[J]. *Learn Mem*, 2016, 23(2): 61-71.
- [21] Ozben T, Ozben S. Neuro-inflammation and anti-inflammatory treatment options for Alzheimer's disease[J]. *Clin Biochem*, 2019, 72(6): 87-89.
- [22] Ransohoff RM. A polarizing question: do M1 and M2 microglia exist? [J]. *Nat Neurosci*, 2016, 19(9): 987-991.
- [23] Guerreiro R, Wojtas A, Bras J, et al. TREM2 variants in Alzheimer's disease[J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(2): 117-127.
- [24] Uddin MS, Kabir MT, Al Mamun A, et al. APOE and alzheimer's disease: evidence mounts that targeting APOE4 May combat alzheimer's pathogenesis[J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56(4): 2450-2465.
- [25] Liu Q, Zhang H, Lin J, et al. C1q/TNF-related protein 9 inhibits the cholesterol-induced Vascular smooth muscle cell phenotype Switch and cell dysfunction by activating AMP-dependent kinase[J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(11): 2823-2836.
- [26] Kim J, Yoon H, Horie T, et al. microRNA-33 regulates ApoE lipidation and amyloid- β metabolism in the brain[J]. *J Neurosci*, 2015, 35(44): 14717-14726.
- [27] Jan A, Karasinska JM, Kang MH, et al. Direct intracerebral delivery of a miR-33 antisense oligonucleotide into mouse brain increases brain ABCA1 expression[J]. *Neurosci Lett*, 2015, 598(3): 66-72.
- [28] Toth P, Tarantini S, Csiszar A, et al. Functional vascular contributions to cognitive impairment and dementia: mechanisms and Consequences of cerebral autoregulatory dysfunction, endothelial impairment, and neurovascular uncoupling in aging[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2017, 312(1): H1-H20.
- [29] Weldon FJ, Morales-Scheihing D, Manwani B, et al. Alzheimer's disease and MicroRNA; miRNA as diagnostic biomarkers and potential therapeutic targets[J]. *Neuromolecular Med*, 2019, 21(4): 369-390.
- [30] Weller J, Budson A. Current understanding of Alzheimer's disease diagnosis and treatment[Z], 2018; 7.