

- (1): 49-57.
- [27] Harriott AM, Gold MS. Serotonin Type 1D Receptors (5HTR) are differentially distributed in nerve fibres innervating craniofacial tissues. *Cephalalgia*, 2008, 28(9): 933-944.
- [28] Yu Weihua, Sun Shanguan. Changes in noradrenergic neurons in the rat locus coeruleus after brain injury. *Chin Crit Care Med*, 2007, 27(3): 232-234.
- [29] Alba-Delgado C, Borges G, Sanchez-Blazquez P, et al. The function of alpha-2-adrenoceptors in the rat locus coeruleus is preserved in the chronic constriction injury model of neuropathic pain. *Psychopharmacology (Berl)*, 2012, 221(1): 53-65.
- [30] Feeney DM, De Smet AM, Rai S. Noradrenergic modulation of hemiplegia: facilitation and maintenance of recovery. *Restor Neurol Neurosci*, 2004, 22(3-5): 175-190.

## MicroRNAs 对创伤性脑损伤的影响及机制

于鹏 综述 江荣才 审校  
天津医科大学总医院神经外科 天津 300052

**摘要:** 创伤性脑损伤 (Traumatic Brain Injury, TBI) 危害大,但是对其发病机制还远未被充分了解。microRNAs (miRNAs) 是有调控功能的非编码 RNA。最新研究表明 miRNAs 广泛存在于脑组织中。TBI 后无论是在人或鼠的脑中多种 miRNAs 的表达发生改变,且 TBI 后不同时间点的 miRNAs 表达丰度存在差异。而且,现已确定部分 miRNAs 可通过调控相应蛋白表达,从而调控脑组织中细胞增殖、凋亡和分化等功能。TBI 的损伤机制较多,包括 TBI 后的炎症、血管生成及细胞毒性等。现以证实 miRNAs 与上述过程有关联。本文结合相关文献就 miRNAs 对 TBI 的影响及机制予以阐述。

**关键词:** MicroRNAs; 创伤性脑损伤; 炎症; 血管生成; 细胞毒性作用

miRNAs 是在真核生物中发现的一类内源性的具有调控功能的非编码 RNA,其大小长约 20~25 个核苷酸。成熟的 miRNAs 是由较长的初级 RNA 经过一系列核酸酶 (Dicer) 的剪切而产生的,随后组装进 RNA 诱导的沉默复合体,通过碱基互补配对的方式识别靶 mRNA,并根据互补程度的不同指导蛋白质的合成。

TBI 是常见病, TBI 后会出现继发性脑损伤,涉及氧自由基的形成,氧化应激,炎症,坏死,凋亡,轴突的损伤,并以细胞及突触的退化而告终。目前已发现数种 miRNAs 与上述过程有关联,如 miRNA-21 可以调节肿瘤坏死因子- $\alpha$  家族中的 Fas ligand 蛋白 (FASLG)。miRNA-497 可参与抗凋亡蛋白 (Bcl2, Bclw) 的调节。有资料表明 miRNA-378 可以通过抑制半胱天冬酶来减少缺血引起的细胞凋亡<sup>[1]</sup>。尽管 miRNAs 关于创伤性脑损伤的报道尚少,尚处于起步阶段,但了解 miRNAs 在 TBI 中的作

用机制,对于探索 TBI 的诊治策略具有重要意义。

### 1 miRNAs 与创伤性脑损伤的关系

有人检测到在 TBI 鼠模型的海马中,有 31~50 种 miRNAs 表达下调和 16~35 种表达上调。这些 miRNAs 参与细胞分化、增殖等功能。进一步研究发现: TBI 后不同时间点的同种 miRNA 表达变化并不相同, miRNAs 的表达差异以伤后 24 小时最常见。而伤后 7 天, 75% 的 miRNAs 表达水平恢复正常。伤后 7 小时,与神经元的发育相关的 miRNA-9 上调明显,与干细胞分化相关的 miRNA-290 上调最显著。相反,参与转录因子 Mef2C 调节的 miRNA-27b 则下调; 伤后 24 小时,抑制细胞凋亡的 miRNA-34a 明显上调<sup>[2,3]</sup>。同样是在 TBI 鼠模型中,伤后星形胶质细胞中 miRNA-21 持续上调。该 miRNA 可调节星形胶质细胞的大小和胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP) 的表达<sup>[4]</sup>。星形胶质细胞增生有助于伤口的恢复,而下

收稿日期: 2013-10-12; 修回日期: 2013-12-17

作者简介: 于鹏 (1988-), 男, 天津医科大学总医院在读研究生, 主要从事脑创伤研究。

通讯作者: 江荣才 (1969-), 男, 主任教授, 博士生导师, 主要从事脑损伤及血管生成方面研究。

调 miRNA-21 表达则可以促进星形胶质细胞的过度增大<sup>[5]</sup>。上述研究说明了 TBI 后的 miRNA 表达变化在全脑组织中广泛发生,而且具有时间特异性。另外,有证据表明,影响颗粒蛋白前体 (pro-granulin, PGRN) 或颗粒蛋白 (granulin, GRN) 表达的 miRNA-107 在 TBI 后 24 小时其水平明显下调,同时检测到 GRN 表达上调。由于 GRN 参与伤口愈合,miRNA-107 水平的变化与 TBI 后神经修复的关系值得进一步研究<sup>[6]</sup>。

其他研究者也在动物实验中证实脑外伤后有多种 miRNAs 表达发生变化,并且检测到 miRNA-let-7i 在脑组织和脑脊液中均上调,而且通过使用分层聚类分析证实,该 miRNA 参与调控多种蛋白和神经炎症因子的表达<sup>[7]</sup>。Redell 等人则通过检测 TBI 患者的外周血证实,TBI 后 miRNA-16,miRNA-26a,miRNA-92a,miRNA-638 和 miRNA-765 表达异常<sup>[8]</sup>。进一步研究表明:脑脊液与外周血中的 miRNA 相比,能够检测出特异性的 miRNA,并且相同的 miRNA 含量并不相同,从而为通过外周血的 miRNA 来诊断 TBI 提供了依据<sup>[9]</sup>。

另外,Redell 等人通过检测 TBI 患者外周血中 miRNA 发现:以健康人为对照,TBI 后,52 种 miRNAs 表达发生变化:33 种上调,19 种下调,其中 8 种 miRNAs 仅在 TBI 患者外周血中被检测到,而健康人血中则没有。用 miRNA 微阵列结合实时定量 PCR 对以上结果进行统计学分析,并以 Area Under roc Curve (AUC) 来推测 miRNAs 变化与 TBI 伤情的关系,结果提示 miRNA-16,miRNA-92a 及 miRNA-765 是重型 TBI 的良好生物标记物<sup>[10]</sup>。

但是,迄今为止 miRNAs 在 TBI 的作用机制研究还多限于动物实验阶段,主要关注 TBI 后 miRNAs 量的变化及其相关分子调控关系。由于一种 miRNAs 往往可调控多个 mRNA 的转录,而一种 mRNA 的转录也往往受到多个 miRNAs 的调控,已知的 miRNAs 在 TBI 中的作用还有待进一步明确,亟待更多更深入的研究<sup>[11]</sup>。

## 2 miRNAs 参与 TBI 的可能机制

现已知多种 miRNAs 与 TBI 后继发的炎症反应、血管生成和细胞毒性均有密切关系(表 1,2)。

### 2.1 炎症

miRNA-155 是一种在血细胞中含量丰富的 miRNA,但在永久性脑缺血大鼠模型的海马组织和外周血中,其表达均下调<sup>[12]</sup>。这提示 miRNA-155

可能被用于诊断 TBI。此外,使用敲除 miRNA-155 的小胶质细胞的基质培养原代神经元可以降低小胶质细胞激活引起的神经细胞死亡率。而抗氧化剂可以逆转脂多糖引起的 miRNA-155 升高。因此有理由认为,miRNA-155 可能参与调节炎症反应,抑制 miRNA-155 表达可能改善脑损伤患者预后<sup>[13]</sup>。

miRNA-1224 可以调节肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ),提示 miRNA-1224 可能参与了炎症反应<sup>[14]</sup>。相关地,miRNA-124 能诱导小胶质细胞从炎症状态转换到静息状态,从而推论 miRNA-124 参与调控中枢神经系统炎症反应。另有证据显示 miRNA-155,miRNA-414,miRNA-104,miRNA-125,miRNA-146 和 miRNA-21 均参与调控巨噬细胞炎症因子的表达,并被证实可在活化的巨噬细胞中表达增加<sup>[15,16]</sup>。其中,miRNA-21 在脑缺血组织中的小胶质细胞中含量下降,且被证实该下调具有神经保护功能<sup>[17]</sup>。综上所述,有理由推测上述 miRNAs 与中枢神经系统特异的炎性反应细胞——小胶质细胞有着相互调控作用,即参与了中枢神经系统的炎症反应调节。

### 2.2 血管生成

近 10 余年来,研究者已经确认血管生成是脑损伤后神经修复与再生的关键因素。通过抑制 miRNA 剪切酶 Dicer,可以减少血管生成。其中,miRNA let-7 可能具有调控血管生成功能<sup>[18]</sup>。在对人脐静脉内皮细胞的研究中发现:miRNA-221 和 miRNA-222 通过调节一种干细胞因子受体 c-kit 的表达来调节血管生成<sup>[19]</sup>。miRNA-221 可以阻止内皮细胞形成管样结构和迁移,且推测该功能与抗血管同源基因 GAX 的表达增加有关<sup>[20]</sup>。miRNA-126 是公认的血管调控因素,它被证实能调控血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF),从而参与血管生成调节。miRNA-200,miRNA-320 与 miRNA-126 一样,也具有重要的血管生成调控功能<sup>[21]</sup>。通过将 miRNA-126 导入间充质干细胞以促进血管生成,可检测到细胞外信号调节蛋白 (extracellular signal-regulated kinase ERK) 和蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB) 等的表达升高,据此,可初步推测 miRNA-126 可能通过调节 AKT/ERK 相关通路来调节血管生成<sup>[22]</sup>。miRNA-92a 在内皮细胞中过度表达可以阻止血管生成,而抑制 miRNA-92a 表达则可促进血管生成和损伤组织的恢复<sup>[23]</sup>。已有研究证实,眼内注射 miRNA-31,miRNA-150 和

miRNA-184 的前体 RNA 可以明显抑制新生血管形成<sup>[24]</sup>。而 miRNA-132 是一种在正常内皮中不存在,却在血管生成活跃时高表达的 miRNA,其可促进血管生成<sup>[25]</sup>。miRNA-27b, miRNA-126, miRNA-17-92 cluster, miRNA-130a, miRNA-210, miRNA-378 和 miRNA-296 均有潜在的促血管形成作用。而 miRNA-328, miRNA-92a 和 miRNA-214 则有抑制血管形成作用<sup>[26]</sup>。还有证据显示,上调 VEGF 含量可诱导 miRNA-155, miRNA-191, miRNA-21, miRNA-18a, miRNA-17-5p 和 miRNA-20a 等表达,显然这些 miRNA 和血管生成相关<sup>[27]</sup>。而在脑缺血组织中上调的 miRNA-885-3p,通过分层聚类分析而获知它可能调节血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor-A, VEGFA),也同样参与血管生成<sup>[28]</sup>。尽管 miRNA-377 尚未被证实可直接调控血管生成,但它可诱导纤维蛋白(fibronectin)表达,而后者是新生血管延伸所必须的物质。

表 1 本文涉及主要 miRNAs 在 TBI 后的变化及可能参与损伤机制

MiRNA	TBI 后的变化	参与调节的蛋白	可能参与生物过程
MiRNA-21	上升	FASLG	细胞凋亡,信号传导
MiRNA-497	上升	BCL2, BCLW	细胞凋亡,神经保护
MiRNA-378	—	半胱天冬酶	细胞凋亡
MiRNA-34a	上升	生长特异性停滞蛋白 1 (Growth arrest specific 1, GAS1)	抑制细胞凋亡
MiRNA-27b	下降	MeI2c	转录
MiRNA-21	上升	GFAP	星形胶质细胞大小
MiRNA-107	下降	PCRN, GRN	伤口愈合
MiRNA-1224	—	TNF- $\alpha$	炎症
MiRNA-221/222	—	ckit	血管生成
MiRNA-126	—	VEGF	血管生成
MiRNA-855-3p	上升	VEGFA	血管生成
MiRNA-320a	上升	AQP	脑水肿

表 2 本文涉及可能参与 TBI 的 miRNAs

TBI 相关机制	可能涉及 miRNAs
炎症	MiRNA-155 MiRNA-1224 MiRNA-124 MiRNA-414
	MiRNA-104 MiRNA-125 MiRNA-146 MiRNA-21
	MiRNA-let-7 MiRNA-221/222 MiRNA-126
	MiRNA-200 MiRNA-320 MiRNA-92a MiRNA-31
	MiRNA-150 MiRNA-184 MiRNA-132 MiRNA-27b
血管生成	MiRNA-17-92 MiRNA-130a MiRNA-210 MiRNA-378
	MiRNA-296 MiRNA-328 MiRNA-214 MiRNA-155
	MiRNA-191 MiRNA-21 MiRNA-18a MiRNA-17-5p
	MiRNA-20a MiRNA-855-3p MiRNA-377
	MiRNA-21 MiRNA-497 MiRNA-378 MiRNA-320a
神经细胞毒性作用	

## 2.3 神经细胞毒性作用

中枢神经损伤常引起继发性毒性物质的释放。例如神经递质,离子,液体的聚集效应均可引起神经毒性反应。在短暂阻断的大脑中动脉动物模型中发现了多种 miRNA 表达异常,其中 miRNA-21 表达上调,而该 miRNA 被证实可以作用于 TNF- $\alpha$  家族的 FASLG,具有神经保护作用。脑缺血的体外实验则证实,miRNA-497 伴随着氧糖的剥夺而上调,该 miRNA 上调又伴随着细胞死亡的增加和抗凋亡蛋白 (Bcl2, Bclw) 的下降。还有资料表明 miRNA-378 可以通过抑制半胱天冬酶来减少缺血引起的细胞凋亡<sup>[1]</sup>。

中枢神经损伤后的脑水肿,由细胞内水分子出入不平衡所引起,水分子在细胞的出入,则由定位于细胞膜上的水通道蛋白(aquaporin, AQP)所控制。AQP4 和 AQP1 在星形胶质细胞中表达,对脑水肿中细胞内液体的清除起重要作用。Sepramaniam 等人证实,抑制 miRNA-320a 表达能够减少脑梗死面积,同时伴随着 AQP4 和 AQP1 的表达增加。通过检测脑水肿病人外周血中的 miRNA-320 发现:miRNA-320 含量下降。综上所述,现已初步证实 miRNA-320a 可调控 AQP4 和 AQP1,从而证实了 miRNA-320 可能参与脑水肿的过程<sup>[29]</sup>。

## 3 结语

microRNAs 的发现加深了人们对于细胞和分子水平的微观调控的理解。miRNAs 在 TBI 后的中枢神经系统组织修复与再生中具有重要调节作用。但是,miRNA 种类繁多,不同 miRNA 的功能可能有重叠之处,同一种细胞分子生物学功能可能涉及到多种 miRNA 调控,而且 miRNAs 还可能具有种属特异性,来自动物实验的结果很难付诸于人体研究。但是,鉴于 miRNAs 强大的对于 mRNA 调控功能,深入研究 miRNAs 在 TBI 继发性脑损伤中的表达变化特点,可能为开发 TBI 诊治新策略带来希望。

## 参 考 文 献

- [1] Jeyaseelan K, Lim KY, Armugam K. MicroRNA expression in the blood and brain of rats subjected to transient focal ischemia by middle cerebral artery occlusion, "Stroke, 2008, 39(3): 959-966.
- [2] Redell JB, Liu Y, Dash PK. Traumatic brain injury alters expression of hippocampal microRNAs: potential regulators of multiple pathophysiological processes. J Neurosci Res, 2009, 87(6): 1435-1448.
- [3] Hu Z, Yu D, Almeida-Suhett C et al. Expression of miR-

- NAs and their cooperative regulation of the pathophysiology in traumatic brain injury. *PloS one* , 2012 , 7( 6 ) : e39357.
- [4] Lei P , Li Y , Chen X , Yang S , et al. Microarray based analysis of microRNA expression in rat cerebral cortex after traumatic brain injury. *Brain Res* , 2009 , 1284 : 191–201.
- [5] Sofroniew MV. Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation. *Trends Neurosci* , 2009 , 32 ( 12 ) : 638–647.
- [6] Wang WX , Wilfred BR , Madathil SK , et al. MiR-107 regulates Granulin /Progranulin with implications for traumatic brain injury and neurodegenerative diseases. *Am J Pathol* , 2010 , 177( 1 ) : 334–345.
- [7] Balakathiresan N , Bhomia M. MicroRNA let-7i is a promising serum biomarker for blast-induced traumatic brain injury. *J Neurotra* , 2012 , 29( 7 ) : 1379–1387.
- [8] Redell JB , Moore AN , Ward NH , 3rd , et al. Human traumatic brain injury alters plasma microRNA levels. *J Neurotra* , 2010 , 27( 12 ) : 2147–2156.
- [9] Burgos KL , Javaherian A , Bompreszi R , et al. Identification of extracellular miRNA in human cerebrospinal fluid by next-generation sequencing. *Rna* , 2013 , 19( 5 ) : 712–722.
- [10] Redell JB , Moore AN , Ward NH 3rd , et al. Human traumatic brain injury alters plasma microRNA levels. *J Neurotra* , 2010 , 27( 12 ) : 2147–2156.
- [11] Saatman KE , Feeko KJ , Pape RL , et al. Differential behavioral and histopathological responses to graded cortical impact injury in mice. *J Neurotrauma* , 2006 , 23 ( 8 ) : 1241–1253.
- [12] Liu DZ , Tian Y , Ander BP , et al. Brain and blood microRNA expression profiling of ischemic stroke , intracerebral hemorrhage , and kainate seizures. *J Cereb Blood Flow Metab* , 2010 , 30( 1 ) : 92–101.
- [13] Tili E , Michaille JJ , Adair B , et al. Resveratrol decreases the levelsof miR-155 by upregulating miR-663 , a microRNA targeting JunB and JunD. *Carcinogenesis* , 2010 , 31( 9 ) : 1561–1566.
- [14] Niu Y , Mo D , Qin L , et al. Lipopolysaccharide-induced miR-1224 negativelyregulates tumour necrosis factor- $\alpha$  gene expression by modulating Sp1. *Immunology* , 2011 , 133( 1 ) : 8–20.
- [15] Alam MM , O' Neill LA. MicroRNAs and the resolution phase ofinflammation in macrophages. *Eur J Immunol* , 2011 , 41 ( 9 ) : 2482–2485.
- [16] Ponomarev ED , Veremeyko T , Barteneva N , et al. MicroRNA-124 promotes microglia quiescence and suppressesEAE by deactivating macrophages via the C/EBP- $\alpha$ -PU.1 pathway. *Nat Med* , 2011 , 17( 1 ) : 64–70.
- [17] Bhalala OG , Pan L , Sahni V , et al. microRNA-21 regulates astrocytic response following spinal cord injury. *J Neurosci* , 2012 , 32( 50 ) : 17935–17947.
- [18] Kuehnbacher A , Urbich C , Zeiher AM , et al. Role of Dicer and Drosha for endothelial microRNA expression and angiogenesis. *Circ Res* , 2007 , 101( 1 ) : 59–68.
- [19] Poliseno L , Tuccoli A , Mariani L , et al. MicroRNAs modulate the angiogenic properties of HUVECs. *Blood* , 2006 , 108( 9 ) : 3068–3071.
- [20] Chen Y , Banda M , Speyer CL , et al. Regulation of the expression and activity of the antiangiogenic homeobox gene GAX /MEOX2 by ZEB2 and microRNA-221. *Mol Cell Biol* , 2010 , 30( 15 ) : 3902–3913.
- [21] Khorram O , Han G , Bagherpour R , et al. Effect of maternal undernutrition on vascular expression of micro and messenger RNA in newborn and aging offspring. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* , 2010 , 298 : R1366.
- [22] Chen JJ , Zhou SH. Mesenchymal stem cells overexpressing MiR-126 enhance ischemic angiogenesis via the AKT/ERK-related pathway. *Cardiol J* , 2011 , 18( 6 ) : 675–681.
- [23] Ponomarev ED , Veremeyko T , Barteneva NS. Visualization and quantitation of the expression of microRNAs and their target genes in neuroblastoma single cells using imaging cytometry. *BMC Res Notes* , 2011 , 4 : 517.
- [24] Shen J , Yang X , Xie B , et al. MicroRNAs regulate ocular neovascularization. *Mol Ther* , 2008 , 16 ( 7 ) : 1208–1216.
- [25] Anand S , Majeti BK , Acevedo LM , et al. MicroRNA-132-mediated loss of p120RasGAP activates the endothelium to facilitate pathological angiogenesis. *Nat Med* , 2010 , 16 ( 8 ) : 909–914.
- [26] Suarez Y , Sessa WC. MicroRNAs as novel regulators of angiogenesis. *Circ Res* , 2009 , 104( 4 ) : 442–454.
- [27] Suarez Y , Fernandez-Hernando C , Yu J , et al. Dicer-dependent endothelial microRNAs are necessary for postnatal angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* , 2008 , 105( 37 ) : 14082–14087.
- [28] Hunsberger JG , Fessler EB , Wang Z , et al. Post-insult valproic acid-regulated microRNAs: potential targets for cerebral ischemia. *Am J Transl Res* , 2012 , 4( 3 ) : 316–332.
- [29] Sepramaniam S , Armugam A , Lim KY et al. MicroRNA 320a functions as a novel endogenousmodulator of aquaporins 1 and 4 as well as a potential therapeutic target in cerebral ischemia. *J Biol Chem* , 2010 , 285 ( 38 ) : 29223–29230.