

- Q-type calcium channels in the postmortem cerebellum of paraneoplastic cerebellar degeneration with Lambert-Eaton myasthenic syndrome. *Ann Neurol*, 2003, 53(1): 21-28.
- [21] Silveis P, Kinoshita A, De Leeuw B, et al. Paraneoplastic cerebellar ataxia due to autoantibodies against a glutamate receptor. *N Engl J Med*, 2000, 342(1): 21-27.
- [22] Becker E, Zuliani L, Pettingill R, et al. Contactin-associated protein-2 antibodies in non-paraneoplastic cerebellar ataxia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2012, 83(4): 437-440.
- [23] Titulaer MJ, Sofietti R, Dalmau J, et al. Screening for tumours in para neoplastic syndromes: report of an EFNS task force. *Eur J Neurol*, 2011, 18(1): 19-27.
- [24] Graus F, Delattre JY, Antoine JC, et al. Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2004, 75(8): 1135-1140.
- [25] Gabilondo I, Saiz A, Galan L, et al. Analysis of relapses in anti-NMDAR encephalitis. *Neurology*, 2011, 77(10): 996-999.

MicroRNA-34a 在神经系统疾病中的研究进展

黄春兰 综述 汤永红 审校

南华大学附属第二医院神经内科, 湖南省衡阳市 421001

摘要: microRNA 是一类具有调控功能的非编码 RNA; microRNA-34 a (miR-34a) 是其中的一种, 已经证实其在脑组织中广泛表达。最新研究表明, miR-34a 通过调控相应蛋白的表达, 调节脑组织中细胞的增殖、分化和凋亡, 从而广泛地参与到神经系统各类疾病如神经系统肿瘤、神经损伤、神经变性疾病等的发生、发展及修复过程, 发挥其独特的调控作用。本文就 miR-34a 在神经系统各类疾病的病理生理过程中的作用及相关机制做一简要综述。

关键词: microRNA-34 a; 神经系统肿瘤; 神经损伤; 神经变性疾病

microRNA 是一类长度约为 22 ~ 25 个核苷酸的单链短序列小 RNA, 它不编码蛋白质, 但能以其 5' 末端第 2 ~ 8 位核苷酸以非完全性碱基配对的方式结合于同源 mRNA 的 3' UTR (3' 非转译区), 通过抑制 mRNA 的表达或是诱导其降解, 对 mRNA 进行负性调控, 影响相关蛋白的生成^[1]。microRNA-34 a (miR-34a) 是 microRNA 的一种, 它在脑组织^[2]、心肌^[3]、肺^[4]、肝脏^[5]、前列腺^[6]等全身各部位组织中广泛表达。其编码基因定位于 1 号染色体长臂 3 区 6 带 (1p36), 染色体 (1p36) 部位的缺失可发生于多种肿瘤细胞中, 如神经母细胞瘤、肝癌、结直肠癌等^[7], 因此, miR-34a 常被用于研究在肿瘤发生中所起的作用; 此外, miR-34a 可以与多种基因的 mRNA 非特异性结合, 如 MYCN、BCL 2、SIRT 1、NOTCH 1、JAG 1、CCND 1、CDK 6 以及 E2F3 等^[8,9], 这些基因参与体内各种生物过程如肿

瘤发生及恶性转移、神经发生及分化、血管生成、细胞凋亡及坏死等, miR-34a 因此也被广泛地用于研究在各系统疾病的病理生理过程中所起的作用。迄今为止, 研究关于 miR-34a 在各系统疾病中的发病、诊断及治疗所发挥的作用已经得出了许多有价值的结论, 关于 miR-34a 在神经系统疾病中的作用的研究也正在如火如荼地开展, 本文将就 miR-34a 在神经系统相关疾病中的研究进展做一简要综述。

1 miR-34a 与神经系统肿瘤

神经母细胞瘤是儿科常见的神经系统恶性肿瘤, 占小儿肿瘤死亡率的 15%; 恶性胶质细胞瘤是成人最常见的恶性原发性颅内肿瘤, 诊断明确的恶性胶质细胞瘤平均生存期往往不超过 2 年。寻找有效的神经系统肿瘤治疗靶位及方法, 是肿瘤治疗的重大课题。研究证实 miR-34a 在人脑胶质细胞瘤组织中的表达水平低于正常脑组织, 在含有突变

基金项目: 湖南省科技厅计划项目 (2012FJ3104)

收稿日期: 2014-02-14; 修回日期: 2014-05-23

作者简介: 黄春兰 (1988-), 女, 在读研究生, 主要从事脑血管病的相关研究。

通讯作者: 汤永红 (1962-), 男, 主任医师, 教授, 硕士生导师, 主要从事脑血管病及神经干细胞移植的相关研究。

型 p 53 基因的瘤组织中的表达水平要低于野生型 p 53 基因的瘤组织^[10], 这表明 miR-34a 参与了神经系统肿瘤的发生、发展过程, 并且提示其表达水平的高低可能与肿瘤的恶性程度有一定的相关性。研究者们通过上调体内神经母细胞瘤组织中 miR-34a 的表达水平, 发现其不仅可以明显地减少瘤体的增长体积, 而且还可以显著延长负瘤鼠的生存时间^[11]; 进一步研究 miR-34a 对离体的肿瘤细胞活性的影响, 结果证实 miR-34a 可以明显地抑制肿瘤细胞的增殖能力、诱导细胞周期阻滞、降低细胞存活及细胞迁移能力, 但却意外地发现正常的星形胶质细胞的活性不受 miR-34a 的影响^[12], 这表明 miR-34a 有一定的抗肿瘤作用。但为何正常星形胶质细胞的存活不受影响呢? Sotillo 等^[13]证实 miR-34a 对肿瘤组织的作用与肿瘤细胞表达 myc 蛋白水平有一定的相关性, 肿瘤组织表达 myc 水平越高, 则其作用越明显。而正常的星形胶质细胞 myc 蛋白的表达水平不升高, 这可能是 miR-34a 对正常的星形胶质细胞的存活没有影响的原因之一。因此, miR-34a 可能是一个潜在的抗神经系统肿瘤治疗的靶点, 通过其介导肿瘤细胞死亡, 不仅可以达到杀伤肿瘤细胞的目的, 而且可以避免伤害神经组织内的其他正常细胞如星形胶质细胞等。

那么, miR-34a 是通过什么样的机制在神经系统肿瘤中发挥抗增殖作用的呢? 研究证实, 神经母细胞瘤肿瘤细胞内 miR-34a 的过表达可以下调 MAP 3K 9 信号通路, 使下游蛋白如 STAT 3 及 p 38 蛋白的磷酸化水平降低^[11]。我们已经知道索拉菲尼等抗癌药物的效应机制之一就是使 STAT 3 等蛋白质去磷酸化失活^[14]。因而下调 MAP 3K 9 信号通路是 miR-34a 发挥抑制肿瘤作用的机制之一。此外, miR-34a 可以直接结合到恶性胶质瘤细胞 NOTCH 1 mRNA 的 3' UTR, 调节 NOTCH 1 信号通路, 从而抑制肿瘤细胞增殖及诱导肿瘤细胞凋亡^[15]。miR-34a 还可以通过与神经母细胞瘤肿瘤细胞中的 YY 1 以非完全性碱基配对的方式结合, 从而抑制 YY1 基因的表达^[16]。YY 1 是细胞内广泛存在的一个转录因子, 它通过负性调控 p 53 基因的表达, 参与细胞增殖、抗凋亡、肿瘤发生及恶性转移等生物过程。Tivnan 等^[17]发现外源性导入 miR-34a 至神经母细胞瘤组织后, 其能抑制 MYCN 基因的表达, 导致受其下调的下游蛋白——组织金属蛋白酶抑制剂-2 (TIMP-2) 表达增高, TIMP-2 在

肿瘤组织中发挥抗新生血管形成的作用。这表明 miR-34a 不仅可以通过多条通路以抑制细胞增殖、诱导凋亡等方式直接发挥抗肿瘤作用, 还可以通过抑制瘤体内血管网的形成, 导致瘤体营养供应障碍而间接发挥抗肿瘤作用。

总之, 目前已经有明确的证据证明 miR-34a 参与了神经系统肿瘤的发生发展过程, 并且具有一定的抗肿瘤作用, 这提示 miR-34a 可能是一个有前景的抗癌治疗靶点。但是, 目前我们得到的关于 miR-34a 在神经系统肿瘤的发生、发展以及治疗作用的研究结果几乎均来源于动物实验, 很少有与其相关的临床证据。因此未来我们需要进一步开展相关的临床实验, 验证其有效性及临床实用价值。

2 miR-34a 与神经系统损伤

随着对 miR-34a 研究的不断深入, miR-34a 在神经系统损伤性疾病中的作用也逐渐被证实。多发性硬化 (multiple sclerosis, MS) 是神经系统的一种慢性炎性损伤性疾病, 以多部位的髓鞘脱失为特征。通过分析急性期 MS 患者脑组织中 miRNAs 表达谱与正常脑组织的区别, 发现有 3 种能够与吞噬抑制信号分子 CD47 的 mRNA 3' UTR 结合的 miRNAs 的表达明显上调^[18], miR-34a 就是其中之一。进一步实验证实, 病变区 miR-34a 的高表达通过下调 CD47 的表达, 促进了吞噬细胞对髓鞘的吞噬作用, 进而加重神经系统的损伤。

miR-34a 除了参与慢性神经系统损伤性疾病的发病过程, 在急性神经系统损伤所导致的神经元死亡过程中也发挥一定作用。癫痫是一种反复发作性的脑部疾病, 每次痫性发作后均伴随有神经元的损伤。尽管最初已经有实验证实, 癫痫发作不会引起脑组织中 miRNAs 表达谱发生改变^[19]。但新近的研究却得出了截然不同的结论。Sano 等^[20]发现, 痫性发作后, 脑组织中的 miR-34a 表达上调。且其表达水平的变化具有一定的规律性: 痫性发作后 2 h, 大脑 CA3 区脑组织中 miR-34a 的表达达到高峰, 之后逐渐下降, 6 h 左右恢复到正常水平; 相比之下, 损害程度较轻的 CA1 区, miR-34a 于痫性发作后 2 h 开始升高, 6 h 达峰, 之后逐渐降至正常。这证明 miR-34a 参与了癫痫继发性神经元死亡的病理过程。实验结果不一致的原因可能是痫性发作过程中, miRNAs 变化的速率比较快, 在较短的时间内就恢复正常水平, 不易被察觉。

一方面, miR-34a 参与神经系统损伤性疾病的

病理过程,导致损伤程度的加重或是病变区域的增加,另一方面,miR-34a 又可以调控神经损伤的再生修复过程。坐骨神经损伤后,miR-34a 可以通过使施万细胞内与分化有关的基因发生沉默,使施万细胞保持更多的干细胞特性,加速增殖过程,促进髓鞘再生,从而参与周围神经的再生修复,并维持再生修复的微环境^[21]。也有实验证实,miR-34a 可以调节突触结合蛋白-1 及突触融合蛋白-1A 的表达^[22],从而对神经损伤后神经元的生长及神经元突触联系进行调控。除此之外,miR-34a 还通过影响兴奋性突触后电位对神经元的功能进行调控^[23]。

3 miR-34a 与神经变性疾病

miRNAs 已经被证实能够调节细胞周期及细胞凋亡,诸多神经变性疾病病灶区神经组织内的 miRNAs 表达谱均发生改变,因而 miRNAs 的功能紊乱可能是神经变性疾病的发病机制之一。研究证实 miR-34a 在帕金森病(Parkinson's disease, PD)、亨廷顿病(Huntington's disease)、肌萎缩侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)等神经变性疾病病灶区神经组织内的表达变化并不具有差异性,但是在阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)病变脑组织内及血液中的表达水平却发生了显著的改变,这似乎证明 miR-34a 在除 AD 外的常见神经变性疾病中并不发挥主要作用。AD 脑皮质中 miR-34a 的含量明显高于正常脑皮质^[22],并且在 AD 患者的血液中,其单核细胞表达的 miR-34a 含量也明显高于正常患者^[24],这证明 miR-34a 参与了 AD 的病理过程,并且在病灶局部以及循环系统中均表达异常。

但是,miR-34a 的升高究竟是 AD 的发病因素还是病变后继发性升高的保护性因素呢?经研究,皮质中高表达的 miR-34a 可以直接抑制 Bcl-2 的翻译^[22],从而减少病灶中 Bcl-2 蛋白的含量。Bcl-2 是我们已知的一个 AD 的保护性因子,它可以抑制 APP 和 Tau 蛋白的剪切,从而减少神经原纤维缠结和细胞外淀粉样蛋白的沉积,以此发挥抑制神经元凋亡和减缓 AD 进程的作用^[25]。Kiko 等^[26]也检测到 AD 患者脑脊液及血浆中 miR-34a 的含量低于正常者,似乎暗示皮质中高表达的 miR-34a 如同淀粉样蛋白一样不能分泌到血浆及脑脊液中进行降解,从而导致了 AD 病变的进展。这么看来,脑组织中 miR-34a 的升高是 AD 的一个致病因素。但是,也有研究发现 AD 病变组织内高表达的 miR-

34a 可以与 Tau 蛋白 mRNA 的 3' UTR 结合,从而有效抑制内源性 Tau 蛋白的生成^[27],抑制神经原纤维缠结,进而减缓 AD 的发展进程。也就是说,miR-34a 的升高是 AD 的一个保护性因素。两者的结论截然不同。导致这种差异的原因可能是 miR-34a 是一种转录后调节因子,miR-34a 通过与 mRNA 的 3' UTR 非特异性结合,对 Bcl-2 等保护性蛋白、Tau 蛋白等致病性蛋白的生成都可以进行调节。但是在 AD 的发病过程中 miR-34a 的致病作用和保护作用究竟哪一个占主导地位,目前尚无统一的观点。

miR-34a 在 AD 的病变早期表现出在脑组织及血液中异常表达的现象,如若能够进一步证实其在病理过程中表达的稳定性,以及脑部病变程度与血液中 miR-34a 表达水平的相关性,并通过足够样本量的临床检测证实其高表达对 AD 早期诊断的代表性,应用 miR-34a 作为早期诊断 AD 的生物标记将极具临床价值。此外,由于 miR-34a 具有调节 Tau 蛋白生成的作用,这也为进一步研究通过增强 miR-34a 抑制神经原纤维缠结作为治疗 AD 的新手段开辟了道路。

4 结语

从首次发现 miR-34a 至今,在不足 10 年的时间里,研究者们已经从分子结构、体内外发挥作用的方式、与各系统疾病的关系等各个方面对 miR-34a 进行了全方位的了解。也证实 miR-34a 在神经系统众多疾病如神经系统肿瘤、神经系统损伤、神经退行性疾病等的病理生理过程中发挥作用。甚至在神经功能调节紊乱性疾病如精神分裂症的发病及治疗过程中也发现 miR-34a 在其中扮演着重要角色^[28]。但是在神经系统常见疾病如脑梗死、脑出血等脑血管病的发病过程中,miR-34a 是否也参与了疾病发生发展的重要环节,却很少有研究涉及。值得一提的是,最近有学者发现,在心梗发生后,miR-34a 通过下调乙醛脱氢酶-2 促进缺血心肌发生凋亡^[29],证实了 miR-34a 在缺血再灌注损伤的发生发展过程中也具有重要作用。这提示我们,研究 miR-34a 在脑缺血再灌注损伤中的作用及其相关机制将有助于我们在探索治疗脑血管病的高效疗法上找到新的突破。

参 考 文 献

- [1] Peters L, Meister G. Argonaute proteins: mediators of RNA silencing. *Mol Cell*, 2007, 26(5): 611-623.
- [2] Gao H, Zhao H, Xiang W. Expression level of human miR-

- 34a correlates with glioma grade and prognosis. *J Neurooncol*, 2013, 113(2): 221-228.
- [3] Boon RA, Iekushi K, Lechner S, et al. MicroRNA-34a regulates cardiac ageing and function. *Nature*, 2013, 495(7439): 107-110.
- [4] Wang X, Dong K, Gao P, et al. microRNA-34a sensitizes lung cancer cell lines to DDP treatment independent of p53 status. *Cancer Biother Radiopharm*, 2013, 28(1): 45-50.
- [5] Callegari E, Elamin BK, Sabbioni S, et al. Role of microRNAs in hepatocellular carcinoma: a clinical perspective. *Oncotargets Ther*, 2013, 6: 1167-1178.
- [6] Yamamura S, Saini S, Majid S, et al. MicroRNA-34a Modulates c-Myc Transcriptional Complexes to Suppress Malignancy in Human Prostate Cancer Cells. *PLoS One*, 2012, 7(1): e29722.
- [7] Bagchi A, Mills AA. The quest for the p36 tumor suppressor. *Cancer Res*, 2008, 68(8): 2551-2556.
- [8] 于鹏, 江荣才. MicroRNAs 对创伤性脑损伤的影响及机制. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2013, 40(5-6): 449-452.
- [9] Chen X, Zhou JY, Zhou JY. MicroRNA-34a: Role in Cancer and Cardiovascular Disease. *Curr Drug Targets*, 2014, 15(4): 361-373.
- [10] Gao H, Zhao H, Xiang W. Expression level of human miR-34a correlates with glioma grade and prognosis. *J Neurooncol*, 2013, 113(2): 221-228.
- [11] Tivnan A, Tracey L, Buckley PG, et al. MicroRNA-34a is a potent tumor suppressor molecule in vivo in neuroblastoma. *BMC Cancer*, 2011, 11: 33.
- [12] Li Y, Guessous F, Zhang Y, et al. MicroRNA-34a inhibits glioblastoma growth by targeting multiple oncogenes. *Cancer Res*, 2009, 69(19): 7569-7576.
- [13] Sotillo E, Laver T, Mellert H, et al. Myc overexpression brings out unexpected antiapoptotic effects of miR-34a. *Oncogene*, 2011, 30(22): 2587-2594.
- [14] Chai H, Luo AZ, Weerasinghe P, et al. Sorafenib downregulates ERK/Akt and STAT3 survival pathways and induces apoptosis in a human neuroblastoma cell line. *Int J Clin Exp Pathol*, 2010, 3(4): 408-415.
- [15] Li WB, Ma MW, Dong LJ, et al. MicroRNA-34a targets notch1 and inhibits cell proliferation in glioblastoma multiforme. *Cancer Biol Ther*, 2011, 12(6): 477-483.
- [16] Chen QR, Yu LR, Tsang P, et al. Systematic proteome analysis identifies transcription factor YY1 as a direct target of miR-34a. *J Proteome Res*, 2011, 10(2): 479-487.
- [17] Tivnan A, Orr WS, Gubala V, et al. Inhibition of Neuroblastoma Tumor Growth by Targeted Delivery of MicroRNA-34a Using Anti-Disialoganglioside GD2 Coated Nanoparticles. *PLoS One*, 2012, 7(5): e38129.
- [18] Junker A, Krumbholz M, Eisele S, et al. MicroRNA profiling of multiple sclerosis lesions identifies modulators of the regulatory protein CD47. *Brain*, 2009, 132: 3342-3352.
- [19] Hu K, Zhang C, Long L, et al. Expression profile of microRNAs in rat hippocampus following lithium-pilocarpine-induced status epilepticus. *Neurosci Lett*, 2011, 488(3): 252-257.
- [20] Sano T, Reynolds JP, Jimenez-Mateos EM, et al. MicroRNA-34a upregulation during seizure-induced neuronal death. *Cell Death Dis*, 2012, 3: e287.
- [21] Viader A, Chang LW, Fahrner T, et al. MicroRNAs modulate Schwann cell response to nerve injury by reinforcing transcriptional silencing of dedifferentiation-related genes. *J Neurosci*, 2011, 31(48): 17358-17369.
- [22] Agostini M, Tucci P, Killick R, et al. Neuronal differentiation by TAp73 is mediated by microRNA-34a regulation of synaptic protein targets. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(52): 21093-21098.
- [23] Agostini M, Tucci P, Steinert JR, et al. microRNA-34a regulates neurite outgrowth, spinal morphology, and function. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(52): 21099-21104.
- [24] Schipper HM, Maes OC, Chertkow HM, et al. MicroRNA Expression in Alzheimer Blood Mononuclear Cells. *Gene Regul Syst Bio*, 2007, 1: 263-274.
- [25] Cui S, Sun Y, Liu C. Effect of bushenyisui formula on brain tissue apoptosis and Bcl-2 in beta-amyloid protein-induced Alzheimer's disease rat models. *J Tradit Chin Med*, 2012, 32(4): 646-650.
- [26] Kiko T, Nakagawa K, Tsuduki T, et al. MicroRNAs in Plasma and Cerebrospinal Fluid as Potential Markers for Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*, 2014, 39(2): 253-259.
- [27] Dickson JR, Kruse C, Montagna DR, et al. Alternative polyadenylation and miR-34 family members regulate tau expression. *J Neurochem*, 2013, 127(6): 739-749.
- [28] Hunsberger JG, Fessler EB, Chibane FL, et al. Mood stabilizer-regulated miRNAs in neuropsychiatric and neurodegenerative diseases: identifying associations and functions. *Am J Transl Res*, 2013, 5(4): 450-464.
- [29] Fan F, Sun A, Zhao H, et al. MicroRNA-34a promotes cardiomyocyte apoptosis post myocardial infarction through down-regulating aldehyde dehydrogenase 2. *Curr Pharm Des*, 2013, 19(27): 4865-4873.