

miRNA 在阿尔茨海默病发病机制中作用的研究进展

许韵晨,傅勤慧 综述 裴建 审校

上海中医药大学附属龙华医院针灸科,上海市 200032

摘 要:阿尔茨海默病(AD)是一种发病率较高的神经退行性疾病,可严重影响患者及家属的生活质量。miRNA 可通过调控 AD 中淀粉样蛋白前体(APP)、 β -分泌酶 1(BACE1)、tau 等生物标志物的表达和神经炎症相关的胶质细胞的激活影响 AD 的发病机制。本文综述近年来 miRNA 在 AD 发病机制中作用的研究,为进一步探索 miRNA 对 AD 诊断及治疗的策略提供依据和思路。

关键词:阿尔茨海默病;miRNA; β -淀粉样蛋白;tau

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.2019.06.020

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)的生物标志物在其发病、诊断和治疗的神经病理学机制中起着重要作用,2018 年美国阿尔茨海默病指南工作组提出了 AD 的生物学定义研究框架^[1],简称 AT(N) 诊断框架:“A”:脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF) β -淀粉样蛋白(β -amyloid, A β);“T”:CSF 磷酸化 tau 蛋白(P-tau);“N”:神经变性或神经元损伤的生物标志物,如 CSF 总 tau、神经丝轻链、神经颗粒等。通过对这些生物标志物生理病理学的研究,目前用于治疗 AD 的方法包括 β 和 γ 分泌酶抑制、tau 激酶抑制、A β 聚集抑制等,这些疗法均能暂时延缓发病或改善症状,尚无法从根源上为疾病提供疗效确切的治疗方法。

探索在认知功能衰退前便可识别神经功能衰退过程的生物标志物对临床早期诊断及治疗有着重要意义。近年来大量研究显示,miRNA 在神经元中异常表达,对认知功能有重要影响,其功能受损涉及到 AD 的病因和发病机制^[2],可直接或间接调控 A β 、tau 等 AD 相关的生物标志物。且由于 miRNA 相对分子质量小,能够通过血脑屏障,在外周

血中有稳定的表达^[3],可用标准实验室设备隔离检测,便于临床应用。因此,miRNA 对 AD 的发病机制和诊断研究等领域具有广阔的前景。本文依据近年来的研究成果,回顾 miRNA 在 AD 中作用的相关文献,探讨 miRNA 与 AD 相关的发病机制、临床诊断价值以及未来的应用前景。

1 AD 的发病机制

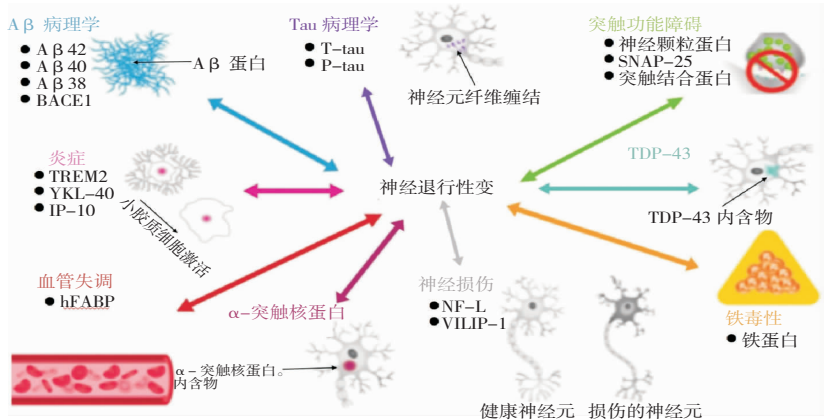
AD 作为一种神经退行性疾病,其主要的发病机制是由淀粉样蛋白前体(amyloid precursor protein, APP)经 β -分泌酶 1(BACE1)裂解,在 γ -分泌酶作用下,切割氨基酸位点产生纤维状的 A β 42 或 A β 40。A β 形成的神经炎症斑块和由高磷酸化的 tau 蛋白构成的神经原纤维缠结在神经元内积聚,破坏神经元之间的通讯和运输,并产生神经毒性,导致了 AD 神经病理学上的改变。神经炎症也参与了 AD 病理发展过程,小胶质细胞介导炎症因子和神经毒素的产生与释放参与炎症反应,加速神经细胞死亡。此外,通过调节 A β 和 tau 途径间接影响 AD 神经病理学机制的因素还包括血管失调、突触功能障碍、神经损伤等。见图 1。

基金项目:上海市科学技术委员会科研计划重点项目(18401970500; 16401970300);上海市卫计委重点项目[Zy(2018-2020)-CCCX-1106]

收稿日期:2019-06-18; **修回日期:**2019-12-06

作者简介:许韵晨(1993-),女,主要从事神经系统疾病临床评价及机制研究。傅勤慧(1978-),女,主任医师,副教授,硕士生导师,主要从事神经系统疾病临床评价及机制研究。E-mail:xuyunchen1993@163.com。

通信作者:裴建(1965-),男,主任医师,教授,博士生导师。研究方向:神经系统疾病临床评价及机制研究。E-mail:longhuaacup@aliyun.com。



注:此图出自参考文献^[4] Molinuevo JL, Ayton S, Batrla R, et al. Current state of Alzheimer's fluid biomarkers[J]. Acta Neuropathol, 2018, 136(6): 821 – 853.

图1 与AD病理机制相关的流体生物标志物

2 失调的 miRNA 在 AD 发病中的作用

miRNA 是内源性的 20 ~ 24 核苷酸非编码 RNA,通过转录降解或翻译抑制转录后沉默来调节大多数基因的表达。失调的 miRNA 通过对靶蛋白

的调控作用影响 AD 的病程进展,通过近年来前人对 miRNA 在 AD 患者靶蛋白的研究,总结出了失调的 miRNA 及其与 AD 相关的靶蛋白。见表 1。

表1 失调的 miRNA 与其相关的靶蛋白

miRNA	表达水平	靶蛋白	研究对象	调节通路	引用的文献
miR-193b	下调	APP	血液/CSF	增加 APP 表达	[6]
miR-101			大鼠细胞	增加 APP 表达	[7]
miR-124			AD 模型果蝇	调节 APP 外显子剪接	[9]
miR-29c	下调	BACE1	SH-SY5Y 细胞	调节 BACE1 表达	[12]
miR-195			SAMP8 小鼠/ N2a/WT 细胞	增加 BACE1 蛋白水平	[14]
miR-124			PC12 细胞	促进 Aβ 合成及细胞损伤	[13]
mir-219	下调	tau	AD 模型果蝇	抑制 tau 合成	[18]
miR-132/212			AD/FTLD 模型小鼠	增加 tau 的表达和磷酸化	[17]
miR-34a	上调		SH-SY5Y/M17D 细胞	促进内源性 tau 的表达	[16]
mir-128			大鼠细胞	调节 tau 的降解和聚集	[19]
miR-125b			原代神经元细胞	促进 tau 的磷酸化	[22]
miR-26b		Cdk5	大鼠神经元细胞	激活 tau 磷酸化激酶	[20]
miR-922	上调	UCHL1	SH-SY5Y 和 HEK-293T 细胞	促进 tau 的磷酸化	[21]
mir-34a	上调	TREM2	海马 CA1	导致先天免疫缺陷和炎症变性	[23]
mir-155	上调	T 细胞	小鼠细胞	调节 T 细胞功能	[25]
mir-181	下调	HMGB1	小鼠原代星形胶质细胞	导致促炎因子增加和细胞衰老	[26]

2.1 miRNA 调节 Aβ

在 AD 患者的脑中积累的 Aβ,是由 BACE1 和 γ - 分泌酶对 APP 的蛋白水解切割产生的。AD 病理学与 APP 表达增加、APP 加工异常、BACE1 活性增加和 Aβ 清除率改变等有关。

2.1.1 miRNA 调控 APP 转录物调节 Aβ APP 经蛋白酶裂解后产生具有毒性作用的 Aβ,其表达水平可以在基因组、转录或翻译以及降解率上进行调

节^[5]。研究显示 APP 受 miRNA 的调节,miR-193b 在痴呆患者的 CSF 中表达水平降低,与 Aβ42 呈负相关。过表达的 miR-193b^[6] 可以通过结合 3' 非翻译区(3' -UTR)衰减其 mRNA 和蛋白表达来抑制 APP 的表达,而其抑制剂寡核苷酸可诱导 APP 上调。miR-101^[7] 的抑制增加了海马神经元中 APP 的水平,而慢病毒介导的 miR-101 过表达则可以显著降低 APP 和 Aβ。且 miR-101 还参与 APP 对促

炎细胞因子 IL-1 β 的调节,在神经病理学条件下发挥作用。

APP 的异常神经元剪接可导致 A β 增多。miR-124 在 AD 脑中下调^[8],通过降低神经细胞系中内源性多嘧啶结合蛋白 1 的水平,导致 APP 外显子 7 和 8 的异常剪接^[9],其结果影响了神经细胞功能的获得和丧失。而重新引入的 miR-124 通过 Notch 信号通路在 AD 果蝇中发挥神经保护作用,改善 AD 果蝇的爬升能力和学习能力并可延长其寿命,表明 miR-124 在 AD 分子病理学中的重要作用^[10]。

2.1.2 miRNA 调控 BACE1 AD 脑中 BACE1 的表达水平增高,酶活性增加^[11],其对 APP 的切割是 A β 形成速率的决定步骤。

体内外 BACE1 活性与 miR-29 家族的调节密切相关^[12]。下调的 miR-29c 通过在人和小鼠细胞系中靶向其 3'-UTR 直接上调 BACE1 的 mRNA 和蛋白水平,并促进 APP 的积累。而操作上调 miR-29c 可显著降低人神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞 BACE1 和 APP 的蛋白水平^[13]。miR-124 通过靶向操纵 BACE1 成为一种 AD 过程中细胞死亡的调控因子,其表达与神经毒性所致的细胞死亡有关^[14],而通过上调 miR-124 则可降低 BACE1 和内源性 A β 的产生来防止细胞死亡。miR-195 的水平与 AD 小鼠的 BACE1 蛋白水平呈负相关,而其在 N2a/WT 细胞中过表达则可通过抑制 BACE1 的翻译调节 A β 的产生^[15]。

2.2 miRNA 调控 tau 蛋白

tau 病理学与任何调节其代谢过程的破坏有关,tau 过度磷酸化可能是由 tau 激酶的上调或异常表达,磷酸酶的下调、突变,tau 的共价修饰等引起的^[16]。

2.2.1 miRNA 调控 tau mRNA 表达和代谢 miRNA 可以直接调节 tau 的 mRNA 和蛋白质水平。miR-34a 在 AD 患者脑组织和血液单核细胞中表达上调,研究发现,在长 tau 3'-UTR 亚型中具有 miR-34a 的结合位点,可以控制内源性 tau 的表达^[17],影响 tau 的积累和聚集。miR-132/212 在 AD 等 tau 蛋白病中被下调,小鼠 miR-132/212 的缺乏直接靶向 tau mRNA 来调节其表达,导致 tau 表达增加,磷酸化和聚集。而用 miR-132 模拟物治疗 AD 小鼠可恢复部分记忆功能和 tau 代谢功能^[18]。

在产生人类 tau 的果蝇模型中,miR-219 的减少可加剧 tau 的毒性,而过表达的 miR-219 则可以部

分废除毒性效应,证明 miR-219 可在体内调节 tau。后在哺乳动物细胞模型中,miR-219 与 tau mRNA 的 3'-UTR 结合,并在转录后水平抑制 tau 合成^[19],从而沉默 tau 表达,干扰神经纤维变性过程。另一种影响 tau mRNA 水平的机制是破坏降解过程,使 tau 以泛素丝的形式在神经元中积聚。BAG2/Hsp70 复合物与微管相连,能捕获 tau 并将其传递给蛋白酶体,从而实现泛素降解。上调的 miR-128 通过调控 BAG2 作用于 tau 的降解途径进而导致神经变性^[20],由此可见,tau 的产生和降解都可能与 miRNA 的调控有关。

2.2.2 miRNA 调控 tau 磷酸化 tau 磷酸化受到激酶的调节。Cdk5 是一种与 tau 磷酸化、细胞周期调节和有丝分裂后神经元死亡有关的主要激酶。上调的 miR-26b 直接作用于视网膜母细胞瘤蛋白,下游信号转导促凋亡转录靶点,导致 Cdk5 被激活,引起 DNA 复制和细胞周期异常进入,增加了 tau 磷酸化,最终导致神经细胞的凋亡和细胞死亡^[21]。

在人类细胞系中显示,miR-922 可通过下调可溶性泛素羧基末端水解酶 L1 (ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1, UCHL1) 来增加 tau 磷酸化^[22],UCHL1 在 AD 患者的大脑中减少,其水平与神经纤维缠结数成负相关。在原代神经元中,miR-125b 的过度表达可导致 tau 的高磷酸化和 Cdk5、p35 的信号上调,通过将 miR-125b 注射到小鼠海马中可损伤其联想学习能力,并导致体内 tau 磷酸化的增加^[23]。

2.3 miRNA 调节神经炎症

AD 病理与大脑中的免疫机制有错综复杂的联系。神经炎症主要通过活化的胶质细胞和反应星形胶质细胞进行。在病理情况下髓样细胞 TREM2 产生的细胞类型,可导致小胶质细胞被激活并释放促炎因子。

在散发性 AD 的海马 CA1 的样本中,TREM2 的表达下调。其作用机制与 NF- κ B 介导的 miRNA-34a 调节 AD 患者的 TREM2 蛋白水平下调有关^[24],该表观遗传机制可导致先天免疫缺陷和炎症性神经变性。在 AD 动物模型中,miR-155 的上调导致由 A β 激活的小胶质细胞和星形胶质细胞活化增加^[25],从而促进炎症介质的产生,且该途径发生在细胞外 A β 聚集物出现之前,提示如 A β 低聚物等较简单的 A β 物种可能参与早期神经炎症的发生。miR-155 还可以通过调节 T 细胞功能作用于 AD 免疫相关途径^[26]。

炎性细胞因子的脑浓度升高与 AD 发病机制有关, mir-181 含量减少可导致促炎症细胞因子的显著增加, 而其过表达则导致星型胶质细胞中的抗炎细胞因子 IL-10 水平的增加^[27], 提示 mir-181 在炎症及神经系统损伤中的作用。此外, mir-181 还与细胞衰老密切相关, 其表达可通过调控调节蛋白 p63 和 Sirt1 的水平, 诱导增生的角质形成使细胞过早衰老^[28]。

3 小结与展望

自 2003 年以来, 几乎没有新的药物被批准用于治疗 AD^[29], 而现有的治疗大都是短期有限的治疗效果。针对 AD 不同方面的药物目前正在开发和临床试验中, 但 A β 体内表达已成为最广泛验证和最具说服力的治疗指标^[30]。近期白藜芦醇的药物二期临床研究通过调节 miR-155 介导的免疫信号通路控制 tau 蛋白过度磷酸化、神经炎症、BACE1 活性和 A β 积聚^[31], 且耐受性良好, 不良反应较轻, 显示出较好的临床治疗的前景, 为药物调节 miRNA 在 AD 发病机制中产生作用提供了一种方法。

用来操控 miRNA 表达的技术有反义 mRNA^[32]和 RNAi^[33]技术, 其作为治疗剂具有的主要优点是可以靶向多个基因, 可以对整个疾病途径产生影响, 尤其是 AD 这类有众多复杂致病因素的疾病。同样值得注意的是, 这种多靶向的特征也带来了脱靶效应的风险, 因此, miRNA 治疗 AD 的研究仍处于早期阶段, 需要进一步确定 AD 患者失调的 miRNA, 并提高特定异常表达的 miRNA 靶向治疗精准度, 使 miRNA 成为一种新型的 AD 诊断和治疗策略。

参 考 文 献

- [1] Jack CR, Bennett DA, Blennow K, et al. NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease [J]. *Alzheimer Dement*, 2018, 14(4): 535-562.
- [2] Goodall EF, Heath PR, Bandmann O, et al. Neuronal dark matter: The emerging role of microRNAs in neurodegeneration [J]. *Front Cell Neurosci*, 2013, 7(40): 178.
- [3] Leidinger P, Backes C, Deutscher S, et al. A blood based 12-miRNA signature of Alzheimer disease patients [J]. *Gen Biol*, 2013, 14(7): 1-16.
- [4] Molinuevo JL, Ayton S, Batrla R, et al. Current state of Alzheimer's fluid biomarkers [J]. *Acta Neuropathol*, 2018, 136(6): 821-853.
- [5] Weiner MW. Dementia in 2012: Further insights into Alzheimer disease pathogenesis [J]. *Nat Rev Neurol*, 2013, 9(2): 65-66.
- [6] Liu CG, Song J, Zhang YQ, et al. MicroRNA-193b is a regulator of amyloid precursor protein in the blood and cerebrospinal fluid derived exosomal microRNA-193b is a biomarker of Alzheimer's disease [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(5): 2395-2400.
- [7] Vilardo E, Barbato C, Ciotti MT, et al. MicroRNA-101 regulates amyloid precursor protein expression in hippocampal neurons [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(24): 18344-18351.
- [8] Yuan L, Wan C, Zhang D, et al. The Role of miR-124 in Drosophila Alzheimer's Disease Model by Targeting Delta in Notch Signaling Pathway [J]. *Curr Mol Med*, 2015, 15(10): 980-989.
- [9] Smith P, Al Hashimi A, Girard J, et al. In vivo regulation of amyloid precursor protein neuronal splicing by microRNAs [J]. *J Neurochem*, 2011, 116(2): 240-247.
- [10] Qin X, Wang Y, Paudel HK. Early Growth Response 1 (Egr-1) Is a Transcriptional Activator of β -Secretase 1 (BACE-1) in the Brain [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(42): 22276-22287.
- [11] Yang G, Song Y, Zhou X, et al. MicroRNA-29c targets β -site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1 and has a neuroprotective role in vitro and in vivo [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(2): 3081-3088.
- [12] Lei X, Lei L, Zhang Z, et al. Downregulated miR-29c correlates with increased BACE1 expression in sporadic Alzheimer's disease [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(2): 1565-1574.
- [13] Fang M, Wang J, Zhang X, et al. The miR-124 regulates the expression of BACE1/ β -secretase correlated with cell death in Alzheimer's disease [J]. *Toxicol Letters*, 2012, 209(1): 94-105.
- [14] Zhu HC, Wang LM, Wang M, et al. MicroRNA-195 down-regulates Alzheimer's disease amyloid- β production by targeting BACE1 [J]. *Brain Res Bull*, 2012, 88(6): 596-601.
- [15] Zeng K, Li M, Hu J, et al. Ginkgo biloba extract EGb761 attenuates Hyperhomocysteinemia-induced AD like tau hyperphosphorylation and cognitive impairment in rats [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2018, 15(1): 89-99.
- [16] Dickson JR, Kruse C, Montagna DR, et al. Alternative polyadenylation and miR-34 family members regulate tau expression [J]. *J Neurochem*, 2013, 127(6): 739-749.
- [17] Smith PY, Hernandez-Rapp J, Jolivet F, et al. miR-132/212 deficiency impairs tau metabolism and promotes pathological aggregation in vivo [J]. *Human Mol Genet*, 2015, 24(23): 6721-6735.

- [18] Santa-Maria I, Alaniz M, Renwick N, et al. Dysregulation of microRNA-219 promotes neurodegeneration through post-transcriptional regulation of tau [J]. J Clin Invest, 2015, 125(2): 681-686.
- [19] Carrettiero DC, Hernandez I, Neveu P, et al. The Co-chaperone BAG2 Sweeps Paired Helical Filament- Insoluble Tau from the Microtubule [J]. J Neurosci, 2009, 29(7): 2151-2161.
- [20] Absalon S, Kochanek DM, Raghavan V, et al. MiR-26b, Upregulated in Alzheimer's Disease, Activates Cell Cycle Entry, Tau-Phosphorylation, and Apoptosis in Postmitotic Neurons [J]. J Neurosci, 2013, 33(37): 14645-14659.
- [21] Zhao ZB, Wu L, Xiong R, et al. MicroRNA-922 promotes tau phosphorylation by downregulating ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 (UCHL1) expression in the pathogenesis of Alzheimer's disease [J]. Neuroscience, 2014, 275: 232-237.
- [22] Banzhaf-Strathmann J, Benito E, May S, et al. MicroRNA-125b induces tau hyperphosphorylation and cognitive deficits in Alzheimer's disease [J]. EMBO J, 2014, 33(15): 1667-1680.
- [23] Zhao Y, Bhattacharjee S, Jones BM, et al. Regulation of TREM2 expression by an NF- κ B-sensitive miRNA-34a [J]. Neuroreport, 2013, 24(6): 318-323.
- [24] Guedes JR, Custodia CM, Silva RJ, et al. Early miR-155 upregulation contributes to neuroinflammation in Alzheimer's disease triple transgenic mouse model [J]. Human Mol Genet, 2014, 23(23): 6286-6301.
- [25] Song J, Lee JE. miR-155 is involved in Alzheimer's disease by regulating T lymphocyte function [J]. Front Aging Neurosci, 2015, 30(7): 61.
- [26] Hutchison ER, Kawamoto EM, Taub DD, et al. Evidence for miR-181 involvement in neuroinflammatory responses of astrocytes [J]. Glia, 2013, 61(7): 1018-1028.
- [27] Melino G, Saintigny G, Mahé C, et al. p63-microRNA feedback in keratinocyte senescence [J]. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie, 2013, 140(12): S623-S624.
- [28] Godyń J, Jończyk J, Panek D, et al. Therapeutic strategies for Alzheimer's disease in clinical trials [J]. Pharmacol Rep, 2016, 68(1): 127-138.
- [29] Selkoe DJ, Hardy J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years [J]. EMBO Molecular Medicine, 2016, 8(6): 595-608.
- [30] Kou X, Chen N. Resveratrol as a Natural Autophagy Regulator for Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease [J]. Nutrients, 2017, 24(9): 927.
- [31] Christopher AF, Kaur RP, Kaur G, et al. MicroRNA therapeutics: Discovering novel targets and developing specific therapy [J]. Perspect Clin Res, 2016, 7(2): 68-74.
- [32] Li YF, Cheng YF, Huang Y, et al. Phosphodiesterase-4D Knock-Out and RNA Interference-Mediated Knock-Down Enhance Memory and Increase Hippocampal Neurogenesis via Increased cAMP Signaling [J]. J Neurosci, 2011, 31(1): 172-183.