

微小 RNA 与脑缺血再灌注损伤发病机制的研究进展

杨莹 王超云

【摘要】 缺血再灌注损伤是指组织缺血一段时间后再恢复血液供应,其生理功能不但未能恢复,反而呈现更加严重的功能障碍,引发更加严重的机体损伤。目前学者们对缺血再灌注损伤的发病机制仍持不同的意见,现有的防治方法仍未能取得令人满意的效果。相关研究涉及的机制均存在局限性,且缺血再灌注损伤相关的调控通路间错综复杂的相互联系,严重影响了临床工作者对缺血再灌注损伤的认识及防治。因此近年来,学者们一直在寻找有效的治疗方法,经过多年的探索,学者们发现微小 RNA 有助于治疗脑缺血再灌注损伤,该文对微小 RNA 与脑缺血再灌注损伤的发病机制作一简要综述,以供同行们参考。

【关键词】 脑缺血再灌注损伤;病理机制;微小 RNA

Research progress on the relationship between microRNA and the pathogenesis of cerebral ischemia-reperfusion injury Yang Ying, Wang Chaoyun. Department of Pharmacy, Binzhou Medical University, Yantai 264003, China

Corresponding author, Wang Chaoyun, E-mail: ytwcy@163.com

【Abstract】 Ischemia-reperfusion (I/R) injury is defined as the blood supply restored after a certain period of tissue ischemia. The physiological function is not recovered but more severe tissue dysfunction occurs, leading to more severe organ injury. At present, scholars have different opinions on the pathogenesis of I/R injury. Current prevention and treatment cannot yield satisfactory outcomes. Previous studies related to the pathogenesis of I/R injury obtain limited findings. The complex interaction among I/R injury-related signaling pathways seriously affects the understanding, prevention and treatment of I/R injury. Hence, the researchers have been exploring effective approaches to treat I/R injury. Recently, microRNA has been proven to contribute to the treatment of cerebral I/R injury. In this paper, the relationship between microRNA and the pathogenesis of cerebral I/R injury is briefly reviewed, aiming to provide reference to the researchers.

【Key words】 Cerebral ischemia/reperfusion injury; Pathogenesis; microRNA

脑缺血再灌注损伤是一个复杂的过程,包括许多环节,例如线粒体损伤、钙超载、氧自由基的累积、炎症反应及细胞凋亡等^[1]。目前,该病发病率逐年升高,严重危害人类健康。脑是人体对缺氧最为敏感的器官,脑组织缺血将会导致局部脑组织及其功能的损害,短期不完全性缺血只引起可逆性损害,而长时间的完全缺血或严重缺血会引起梗死,且加重对脑组织的损伤。目前公认的引起脑缺血再灌注的病理生理机制有自由基增多、钙离子超载、炎症反应、兴奋性氨基酸毒性、细胞凋亡。

微小 RNA 是一类内源性的,长度约 21 ~ 27 个

核苷酸的单链非编码小 RNA,通过与靶基因 3' 非翻译区的碱基互补配对结合,使配对形成的 RNA 诱导沉默复合体,导致靶基因降解或翻译抑制^[2-3]。其也可以在基因的转录后阶段调控细胞的增殖、分化,与多种疾病都有相关性,也已成为临床研究热点。1 个微小 RNA 可以调控 1 个或多个靶基因,同时多个微小 RNA 也可以调控同一基因,所以微小 RNA 及其相应的靶基因能形成复杂的调控网络,共同发挥作用。目前,国内外学者普遍认为微小 RNA 对脑缺血再灌注损伤有明显的治疗效果,并进行了大量的研究报道,涉及的信号通路也

不尽相同。

一、脑缺血再灌注损伤的发病机制

1. 自由基与脑缺血再灌注损伤

自由基在脑缺血再灌注损伤的过程中发挥重要作用,其中两大类主要的自由基是活性氧和活性氮。

机体内的活性氧会产生氧化应激,主要是由于机体内的氧化与抗氧化物质的不平衡引起的。在此过程中,机体内多种酶的活性会发生改变,如黄嘌呤氧化酶,超氧化物歧化酶等,均会使活性氧大量聚集。而脑是人体对缺氧最为敏感的器官,对氧化应激极其敏感,易产生大量的活性氧,造成神经元损伤^[4]。在生理条件下,活性氧可以作为氧化还原信号分子,具有重要的生物学功能。例如,活性氧可以增强蛋白激酶 C 依赖的兴奋性突触后电位,也可以抑制中枢神经系统中多巴胺的释放。然而,缺血再灌注损伤诱导的活性氧如果过度积累,则会导致缺血脑组织的损伤。近几十年来,研究者们已深入调查了活性氧在脑缺血再灌注损伤中的作用,在缺血再灌注损伤中,活性氧的积累能激活炎症因子,诱导脂质过氧化,并易于通过血脑屏障和扩大梗死。另外,当体内活性氧的产生大大超出机体的清除能力时,其会攻击生物大分子。线粒体是活性氧的主要来源和促凋亡作用靶点。所以保护好线粒体则能够减轻脑缺血再灌注损伤^[5]。

活性氮在脑缺血再灌注损伤中的主要表现形式是一氧化氮和过氧亚硝基阴离子,低氧环境能使诱生型一氧化氮合酶生成增多,使氧化基团副产物如亚硝酸盐等生成增加,进一步导致细胞损伤;同时高浓度的一氧化氮也能使众多的线粒体呼吸酶失活。在脑缺血或脑缺血再灌注损伤过程中,一氧化氮能够与超氧阴离子快速反应,以有限的扩散速率生成过氧亚硝基阴离子,而过氧亚硝基阴离子易于渗透到脂质双层,介导酪氨酸残基的硝化,抑制酪氨酸磷酸化,进而影响细胞信号转导。因此,活性氧不仅是脑缺血再灌注损伤的关键因素,也是缺血再灌注的重要药物靶点。

2. 钙离子超载与脑缺血再灌注损伤

在脑缺血再灌注损伤的早期,钙离子超载是引起脑细胞损伤的关键,神经细胞内钙离子浓度升高既是脑损伤的结果,也是脑损伤进一步加重的始动因子。脑缺血再灌注损伤之后,神经细胞内过量的钙离子会激活钙依赖性酶促蛋白,产生细胞毒性反应。研究表明,在脑缺血过程中会出现能量代谢障

碍,导致细胞 ATP 缺乏,经过一系列连锁反应致细胞内钙超载,从而造成脑损伤。

同时钙离子引起再灌注损伤的病理机制也十分重要。在脑缺血时,谷氨酸会在突触处大量堆积,激活了 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体,细胞膜去极化,造成钙离子内流加剧,损伤神经元,同时激活细胞内的细胞溶解途径。在正常情况下,细胞外的钙离子浓度远远高于细胞内,这个浓度梯度主要靠钙离子的通透性和钙泵来维持。细胞内高钙离子的另一主要原因是离子泵不能正常运转,电压门控型钙通道开放,促使钙离子大量内流^[6]。所以有学者认为,我们可以通过抑制电压门控型钙通道来保护神经元细胞。

二、微小 RNA 在脑缺血再灌注中的研究

目前已知,成熟的微小 RNA 可以通过部分互补或完全互补与下游靶基因的微小 RNA 结合,这些小分子也可以被释放到血液循环中,调节多种基因的表达。有学者提出,微小 RNA 也能调节血管形成因子,例如微小 RNA-210 介导的内皮细胞血管的形成与其诱导的线粒体新陈代谢有关^[7]。

1. 微小 RNA 在脑组织中的表达

近年来,学者们从动物组织中分离出多种微小 RNA,超过一半的微小 RNA 可以在脑组织中表达。这些微小 RNA 能够调节大脑皮层的突触和神经元细胞,对神经系统的功能起调控作用,也会影响缺血再灌注损伤。比如在脑缺血再灌注 24 h 后微小 RNA-206、微小 RNA-145、微小 RNA-155、微小 RNA-290 蛋白表达增加,而微小 RNA-221、微小 RNA-27a、微小 RNA-218、微小 RNA-137 蛋白表达下降。近年来有文献报道,在脑中高表达的微小 RNA 也有区域差异性,例如微小 RNA-let-7g、微小 RNA-92b、微小 RNA-146b 等在大鼠海马区的表达明显高于大脑皮层;微小 RNA-206、微小 RNA-497 在小脑中高表达,而微小 RNA-132、微小 RNA-212 在小脑中则低表达。不同的微小 RNA 在脑中参与的生理调控机制不尽相同,具体的机制还需进一步探讨。

2. 微小 RNA 在脑缺血再灌注中的调控作用

研究表明,在中枢神经系统中存在着多种微小 RNA,它们与神经系统的分化和生物学功能密切相关,而且这些微小 RNA 也会参与到中枢神经系统的调控网络中^[8]。在神经系统中,存在着大量的神经胶质细胞,当发生脑缺血或脑组织损伤时,小胶质细胞会被激活,释放出多种促炎症因子和神经

毒性因子,对神经元造成不可逆转的损伤。因此,我们可以通过抑制小胶质细胞的激活来减轻脑组织的损伤。比如,在脑缺血引发的促小胶质细胞激活的过程中,微小 RNA-181c 能直接调控 TNF- α 的表达,参与小胶质细胞介导的凋亡。微小 RNA 在脑缺血再灌注中的调控机制不尽相同,还有的微小 RNA 是参与缺血后的神经再生调节、星形胶质细胞的凋亡等^[9]。

2.1 微小 RNA 参与脑缺血再灌注中小胶质细胞的激活

脑缺血时,损伤的细胞会释放出大量的促炎症因子,同时神经系统中的小胶质细胞受刺激也会由静息状态变为活化状态,进一步释放出有害物质,损伤神经元细胞。在此过程中,许多微小 RNA 会参与其中,通过抑制小胶质细胞的活化来减轻脑组织的损伤。

目前,已有大量文献报道,微小 RNA-let-7c 可以调控胶质细胞激活引发的炎症反应从而影响肿瘤细胞的生长^[10]。微小 RNA-let-7c-5p 对脑缺血损伤有保护作用,主要是由于其直接靶向 Caspase-3 而发挥抗炎作用,同时抑制了小胶质细胞的激活。

微小 RNA-155 也是微小 RNA 家族中的成员,其可参与多种炎症反应。最近研究结果显示,在小鼠体内注入微小 RNA-155 抑制剂可以减少小鼠缺血后的脑梗死区,减少组织损伤,改善组织功能恢复。此外,微小 RNA-155 抑制剂也能改变远端大脑中动脉闭塞中几种细胞因子基因的表达^[11]。有研究表明,微小 RNA-155 具有多功能,参与了炎症和免疫等多种生物学过程。在神经小胶质细胞受刺激后,微小 RNA-155 的表达迅速上调,抑制了微小 RNA-155 后,一氧化氮的产生以及炎症细胞因子、诱导型一氧化氮合酶的表达也明显减少,对神经细胞起保护作用。Ship1、Socs-1 是微小 RNA-155 的靶蛋白,可以通过对相关通路的研究为脑缺血再灌注的治疗提供依据。

2.2 微小 RNA 参与脑缺血后的神经再生调节

血管新生相关缺血性疾病的研究大部分集中于心肌梗死、肿瘤等领域,但缺血性脑卒中后血管新生的研究并不多见。目前,微小 RNA-210 已成为国内学者研究血管新生的热门目标,并且体外实验也验证了微小 RNA-210 可以结合其靶基因 Ephrin-A3,使内皮细胞迁移,促进新生毛细血管生成^[12]。

2014 年有学者首次提出微小 RNA-296 是脑缺血梗死后血管新生的正调控因子之一^[13]。形成结

构完整且有生物学功能的血管,管腔化过程是必不可少的。而微小 RNA-296 的过表达可明显促进血管内皮细胞形成管腔样结构,达到促进血管新生的作用。

2.3 其他的微小 RNA 在脑缺血中的调控

微小 RNA-185 是近几年新发现的微小 RNA,在动物的不同组织细胞中广泛表达,在肿瘤、神经发育、脂质代谢中起着不可或缺的作用,此外其还参与血管生成、缺血性卒中过程^[14]。微小 RNA-185 已经被证实在多种疾病的发生发展中起着重要的调控作用,其可通过调节下游靶基因 NTRK3 等起治疗作用。目前,大部分国内外学者对微小 RNA-185 缺乏深入研究,但赵凯涛等^[16]已证实在缺血再灌注损伤的大鼠大脑皮层微小 RNA-185 的蛋白表达量明显高于正常大鼠的相同区域,故提出可以通过抑制微小 RNA-185 的表达来减少脑缺血损伤。

Lcn-2 是 Lipocalin 蛋白超家族中的重要成员之一,在多种动物组织中广泛存在,可以参与细胞对铁的摄取。在脑缺血时,星形胶质细胞受到损伤,其中的海马区域会高表达 Lcn-2^[17]。微小 RNA-138 可以直接靶向 Lcn-2,其低表达会上调 Lcn-2 表达,提高细胞对铁的摄入量,导致细胞渗透压的改变或铁中毒,最终影响细胞的增殖能力,进而诱导细胞凋亡,对机体造成损伤^[18]。因此可以调控微小 RNA-138 的表达减轻脑缺血区域的损伤。

微小 RNA 可通过相关的自噬途径调控内皮祖细胞的正常自噬水平及其存活、抑制低氧诱导的线粒体自噬,可以达到治疗脑血管疾病的作用。例如微小 RNA-137 通过抑制线粒体自噬受体 FUNDC1 和 NIX 的表达进而抑制低氧诱导的线粒体自噬^[19]。

三、诊断脑血管疾病的微小 RNA 生物标志物

近年来越来越多的研究表明,微小 RNA 与血管疾病密切相关,并且在血管疾病的诊断和预后中扮演着重要的角色。例如在脑缺血再灌注过程中,微小 RNA-221 的表达下调,Tsai 等^[20]的实验结果显示,在缺血性脑卒中患者外周血清中,微小 RNA-221 的表达量明显低于健康人,所以微小 RNA-221 可以成为缺血性脑病的生物标志物。有学者应用高通量测序技术检测出微小 RNA-127、微小 RNA-99b、微小 RNA-320 等 19 个微小 RNA 在小动脉闭塞性脑卒中患者血浆中表达上调,而微小 RNA-451 等 5 个微小 RNA 则表达下调,这些均可以作为脑血管疾病的生物学标志物。

四、微小 RNA 在脑缺血再灌注损伤中的应用

社会的快速发展,使人们承受了更多的生理、心理负担,使得缺血性脑损伤的发病率逐年升高,找到有效的治疗方法刻不容缓。从近几年的研究进展来看,治疗脑缺血的方法有以下几种:①抑制一氧化氮的过量生成;②抑制细胞凋亡;③应用新型化合物,例如 5D 化合物;④近年来提出的调控微小 RNA 的相关通路,这为以后治疗脑缺血开辟了一条新路。

2015 年有学者首次报道了在脑缺血缺氧后微小 RNA-376b-5p 与血管新生的关系,并提出微小 RNA-376b-5p 可能通过调控 HIF-I-VEGF-Notch 信号通路来参与抑制血管新生的过程,因此可以通过降低微小 RNA-376b-5p 的表达促进血管新生。促进血管新生是一种改善脑组织血流供应的有效方法,也是近几年来学者研究的热点之一。

缺血性脑损伤时,微小 RNA-124 的表达也会发生明显改变,其可以靶向多种目标基因,但具体的调控机制尚未明确,其可能通过调节 Usp-14 增加缺血后神经血管重塑,调控 Bcl-2、Bcl-x 和 iASPP 等抗凋亡蛋白来调节脑缺血时的细胞凋亡,激活 Notch 信号通路促进神经再生,促进 DNA 修复等以减轻对脑组织的损伤。

五、展 望

脑缺血再灌注损伤是极其复杂的过程,发病机制也有多种,至今仍存在多项争议。目前的相关研究主要集中在动物模型的建立之上,如动脉线栓模型、转基因小鼠模型等。微小 RNA 在脑缺血再灌注中的作用越来越受到重视,未来将有更多的微小 RNA 会被学者们发现,为临床治疗脑缺血再灌注损伤提供有力的理论基础,为脑缺血再灌注的防治提供实际应用价值。

参 考 文 献

[1] 王红梅,贺永贵,伊红丽,李海波. 脑缺血再灌注损伤发生机制及治疗进展. 河北联合大学学报(医学版), 2014, 16 (02): 186-188.

[2] Kim BK, Kim I, Yoon SK. Identification of miR-199a-5p target genes in the skin keratinocyte and their expression in cutaneous squamous cell carcinoma. J Dermatol Sci, 2015, 79 (2): 137-147.

[3] Liang CY, Wang YB, Murota Y, Yukiko Murota, Liu X, Smith D, Siomi MC, Liu QH. TAF11 assembles the RISC loading complex to enhance RNAi efficiency. Mol Cell, 2015, 59 (5): 807-818.

[4] 常虹,卢祖能.微小 RNA-151a-3p 对大鼠脑缺血再灌注神

经损伤的影响及其机制. 中华实验外科杂志, 2016, 33 (3): 678-681.

[5] 闫晓英,姜亚磊,狄烱,孟天娇,金宏,齐玲. 脑缺血损伤后 Ca^{2+} 超载引起神经细胞凋亡的机制. 吉林医药学院学报, 2013, 34 (4): 277-280.

[6] 王晓平,倪京满. 脑缺血再灌注损伤的研究及药物治疗进展. 中国新药杂志, 2016, 25 (6): 659-691.

[7] 葛曙雄,王涌. 微小 RNA 与肿瘤微环境. 新医学, 2016, 47 (1): 7-11.

[8] 黄立刚. miRNA-29c 通过靶向调控凋亡基因 Birc2 和 Bak1 参与电刺激小脑顶核在大鼠脑缺血再灌注损伤中的神经保护作用. 广西: 广西医科大学, 2015.

[9] 刘利群. MicroRNA-34b-5p 调控发育期惊厥后海马星形胶质细胞凋亡及其机制的研究. 湖南: 中南大学, 2014.

[10] Zhan M, Qu Q, Wang G, Zhou HH. Let-7c sensitizes acquired cisplatin-resistant A549 cells by targeting ABCC2 and Bcl-XL. Die Pharmazie, 2013, 68 (12): 955-961.

[11] Caballero-Garrido E, Pena-Philippides JC, Lordkipanidze T, Bragin D, Yang YR, Erhardt EB, Roitbak T. In vivo inhibition of miR-155 promotes recovery after experimental mouse stroke. J Neurosci, 2015, 35 (36): 12446-12464.

[12] Zeng L, He X, Wang Y, Tang Y, Zheng C, Cai H, Liu J, Wang Y, Fu Y, Yang GY. MicroRNA-210 overexpression induces angiogenesis and neurogenesis in the normal adult mouse brain. Gene Ther, 2014, 21 (1): 37-43.

[13] 冯洁. MicroRNA-296 对脑缺血梗死后血管新生的调控机制研究. 湖南: 中南大学, 2014.

[14] Hou JY, Liu L, Zhu Q, Wu YB, Tian Bei, Cui L, Liu Y, Li XM. MicroRNA-185 inhibits angiogenesis in human microvascular endothelial cells through targeting stromal interaction molecule 1. Cell Biol Int, 2016, 40 (3): 318-328.

[15] Li SH, Su SY, Liu JL. Differential regulation of microRNAs in patients with ischemic stroke. Curr Neurovasc Res, 2015, 12 (3): 214-221.

[16] 赵凯涛,杨婷,郝明华,吕彦,王双,陈会生. miR-185 与 Apha-1 在大鼠脑缺血再灌注损伤的表达变化及调控关系. 解放军医药杂志, 2016, 28 (3): 13-17.

[17] 于澎,颜秀丽,黄朔,吴江,奚国华,华雅,董铭. 脑出血后星形胶质细胞表达铁蛋白 LCN2. 中风与神经疾病杂志, 2013, 30 (7): 598-601.

[18] 杨明环,张波,汤祥军,张力,罗杰. microRNA-138 在大鼠脑缺血再灌注神经损伤中的作用与机制研究. 湖北医药学院学报, 2015, 34 (4): 347-352.

[19] Wang P, Liang J, Li Y, Li J, Yang X, Zhang X, Han S, Li S, Li J. Down-regulation of miRNA-30a alleviates cerebral ischemic injury through enhancing beclin1-mediated autophagy. Neurochem Res, 2014, 39 (7): 1279-1291.

[20] Tsai PC, Liao YC, Wang YS, Lin HY, Lin RT, Hank Juo SH. Serum microRNA-21 and microRNA-221 as potential biomarkers for cerebrovascular disease. J Vasc Res, 2013, 50 (4): 346-354.

(收稿日期: 2017-08-30)
(本文编辑: 洪悦民)