

· 综述 ·

microRNAs 在脊髓损伤中的研究进展

景文¹, 李生¹, 李永盛¹, 邱晓明^{2*}

(1. 定西市第二人民医院, 甘肃定西 743000; 2. 兰州大学第二医院, 甘肃兰州 730000)

摘要: 脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI) 的继发性病变如氧化应激、凋亡等会进一步加重神经功能损害。microRNAs (miRNAs) 是一类新型的小非编码 RNAs, 其通过沉默翻译或干扰靶 mRNAs 的表达调控蛋白质的产生和细胞功能。SCI 改变了氧化应激、炎症和凋亡等许多继发性损伤相关的 miRNAs 的表达。本综述旨在阐明 miRNAs 在脊髓损伤后凋亡及氧化应激中的最新研究进展, 指导 miRNAs 在脊髓损伤中的进一步研究。

关键词: microRNAs, 脊髓损伤, 凋亡, 氧化应激

中图分类号: R318 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2022) 02-0145-04

Research progress of microRNAs in spinal cord injury // JING Wen¹, LI Sheng¹, LI Yong-sheng¹, QIU Xiao-ming^{2*}. 1. The Second People's Hospital of Dingxi City, Dingxi 743000, China; 2. The Second Hospital, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

Abstract: Secondary lesions of spinal cord injury (SCI), such as oxidative stress and apoptosis, further aggravate the neurological impairment. The microRNAs (miRNAs) are a novel class of small non-coding RNAs that regulate protein production and cell function by silencing translation or interfering with the expression of target mRNAs. SCI alters the expression of miRNAs associated with many secondary injuries such as oxidative stress, inflammation and apoptosis. This review aims to clarify the latest research progress of miRNAs in apoptosis and oxidative stress secondary to spinal cord injury, and to provide a reference for further research of miRNAs in spinal cord injury.

Key words: microRNAs, spinal cord injury, apoptosis, oxidative stress

脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI) 是一种具有高致残率的严重中枢神经系统创伤, 可导致运动、感觉及自主神经功能的异常或丧失^[1]。全球每年的发病率约为 40~80/1 000 000, 由于发病率高、缺乏有效的治疗手段, 给患者、家庭及社会带来了巨大的经济负担^[2]。SCI 包括两个连续的发展过程: 原发性脊髓损伤和继发性脊髓损伤; 原发性脊髓损伤是直接由外力引起的组织破坏或撕裂, 可分为神经损坏和血管结构破坏^[3]。继发性脊髓损伤是在原发性损伤的基础上, 促炎因子、趋化因子和补体激活产物等被激活, 介导神经炎症反应、氧化应激及凋亡等^[4]。这些继发性的病理生理反应最终导致血脊髓屏障的破裂, 进一步恶化损伤部位的微环境, 使脊髓损伤的修复更加困难^[5]。然而目前为止, 没有有效干预措施可以阻止继发性脊髓损伤及诱导神经再生, 因而修复脊髓和恢复神经功能成为目前临床的一大难题。

microRNAs (miRNAs) 是一类由 18~25 个碱基组成的小非编码 RNAs, 其通过结合靶基因的 3'非编

码区 (UTR) 导致靶基因的降解或翻译抑制, 进而在转录后水平控制 mRNAs 表达、蛋白质产生和细胞功能^[6]。自 1993 年首次在秀丽线虫体内发现 miRNA 以来, miRNAs 在人体及动物模型中已开展了广泛的研究, 相关研究表明人体内的 miRNAs 至少 800 种^[7]。脊髓损伤改变了包括氧化应激、炎症和凋亡在内的许多继发性损伤相关的 miRNAs 的表达, 而 miRNAs 的差异表达会引起靶基因的改变进而调节细胞的功能。因此, miRNAs 是脊髓损伤后脊髓修复及神经功能恢复方面非常有前途的研究领域, 可为治疗脊髓损伤提供新的切入点。

本综述描述了近年来脊髓损伤相关 miRNAs 的研究进展, 重点阐述了凋亡及氧化应激相关 miRNAs 的作用。总结脊髓损伤中 miRNAs 的调控机制, 为进一步研究 miRNAs 在脊髓损伤中的作用提供方便。

1 脊髓损伤的病理生理

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2022.02.10

作者简介: 景文, 主治医师, 研究方向: 脊髓损伤及椎间盘退变, (电话)18219712084, (电子信箱)1619977832@qq.com

* 通信作者: 邱晓明, (电子信箱)norman.hawk@126.com

脊髓损伤是一种高致残率的严重中枢神经系统创伤,主要病理生理特征是脊髓受到外力、挤压等外界打击后,引起以大量炎症细胞介导的炎症反应为主体的继发性损伤,并出现缺血、水肿、缺氧和胶质瘢痕等细胞功能改变,加重了残存神经细胞的死亡^[3]。脊髓损伤引起的炎症、氧化应激及凋亡反应是造成脊髓功能难以恢复的重要原因,对脊髓损伤的预后至关重要。脊髓损伤后,活化的小胶质细胞和血液中浸润的巨噬细胞无法区分,形成中枢神经系统损伤特有的小胶质/巨噬细胞群,亦是脊髓损伤后最重要的炎症细胞^[8]。活性氧和超氧化物的激活引起氧的化应激反应不仅会导致大量神经元的死亡,同时破坏血管内皮、胶原纤维支架等,进一步恶化损伤部位的局部微环境,抑制了神经元的再生和神经功能的恢复^[5]。因此,控制继发性损伤是治疗脊髓损伤提高神经功能恢复的重要途径。

2 miRNAs 的产生及功能

microRNAs (miRNAs) 是一类由 18~25 个碱基组成的小非编码 RNAs。在细胞核中, miRNA 基因被 RNA 聚合酶 II 或 III 转录生成 pri-miRNA。这些 pri-miRNA 表现出茎环夹的功能二级结构,并被核 RNase III 酶 Drosha/DGCR8 裂解,从而释放 pre-miRNA。然后, pre-miRNA 将被运输到细胞质中;在细胞质中 pre-miRNA 被进一步处理产生约 22 个碱基的 miRNA 双链,只有成熟的 miRNA 链被整合到沉默复合体中,并以沉默复合体的形式存在^[9]。而另一条链被降解。

成熟的 miRNAs 可以与目标 mRNAs 的 3' 端 UTR 结合,导致 mRNAs 降解或翻译抑制,进而引起蛋白质结构或细胞功能的改变^[6]。研究表明,一个 miRNA 可以靶向多种不同的 mRNAs,同时一个 mRNAs 可以被不同的 miRNAs 调控^[10]。此外,一个给定的 miRNA 在同一个 mRNA 中可能有多个结合位点,从而增加其整体作用^[11]。

3 miRNAs 对脊髓损伤后凋亡的调控作用

脊髓损伤后,神经元微环境发生改变,如神经营养因子缺失、炎症因子增加、趋化因子和补体激活产物激活等会导致神经元的凋亡^[12]。研究表明, miRNAs 在神经元凋亡过程中起着重要作用,其中有些 miRNAs 促进神经元的凋亡反应,抑制脊髓损伤的修

复。例如 Cao 等^[13]建立脊髓损伤小鼠模型后检测到 miR-99b-5p 表达增高,并通过荧光素梅报告实验发现 miR-99b-5p 通过 mTOR 促进神经元的凋亡;而注射 miR-99b-5p 抑制剂后损伤部位凋亡反应减轻。另一项研究,发现大鼠脊髓损伤后 miR-125b 表达升高并促进凋亡相关因子 caspase-3 的表达,而 miR-125b 抑制剂可抑制损伤部位的细胞凋亡^[14]。与此类似, Liu 等^[15]研究发现脊髓损伤后 miR-223 的表达增高并促进神经元凋亡,而给予 miR-223 抑制剂可改善这一现象。这几项研究说明脊髓损伤后 miRNAs 的差异表达会引起神经元的进一步损伤。

部分 miRNAs 在脊髓损伤后的差异表达会抑制神经元的凋亡,起到促进神经功能恢复的作用。PI3K/AKT 信号轴的激活是调节凋亡蛋白表达的重要途径,许多调控凋亡的分子都通过 PI3K/AKT 信号轴调控细胞凋亡。脊髓损伤中 miRNAs 也可通过 PI3K/AKT 通路调节神经元的凋亡反应。研究报道在脊髓损伤模型中 miR-34a, miR-92b-3p, miR-29a, miR-181d-5p 等均可通过激活 PI3K/AKT 通路抑制脊髓损伤后的神经元凋亡,促进脊髓损伤的修复^[12, 16, 17]。此外,中枢神经系统富集的 miR-21 及 miR-124 也在脊髓损伤后的抗凋亡过程中发挥重要作用^[7]。研究发现在脊髓损伤动物及细胞模型中 miR-21 的表达明显上调,并可通过靶向调控目的基因 PDCD4、PTEN 等抑制凋亡反应,有利于神经功能的恢复^[18]。Song 等^[19]在脊髓损伤大鼠模型中发现 miR-124 表达升高,并通过激活 Wnt/ β -catenin 抑制凋亡,改善脊髓损伤。除此之外,还有部分 miRNAs 例如 miR-let7、miR-98 等既可促进凋亡又可抑制凋亡^[20]。由此可见, miRNAs 是调控凋亡反应的关键分子。

总之, miRNAs 在脊髓损伤后通过不同机制调控凋亡反应,既可以正调控也可以负调控。因此通过靶向 miRNAs 抑制脊髓损伤后凋亡可作为临床治疗脊髓损伤的切入点。

4 miRNAs 对脊髓损伤后氧化应激的调控作用

脊髓损伤往往伴随着炎症反应,与此同时反应性氧化物 (reactive oxidative species, ROS) 如自由基及超氧阴离子等会明显增加并引发氧化应激反应,进一步加重脊髓损伤。研究发现 miRNAs 在脊髓损伤后氧化应激反应过程中发挥重要作用,本文分促进氧化应激和抑制氧化应激两个方面叙述。部分 miRNAs 在脊

髓损伤中的差异表达促进氧化应激反应。例如 Zhu 等^[21]建立脊髓损伤小鼠模型后发现 miR-219-5p 表达降低,并在损伤后第7 d 降到最低,而此时的氧化应激反应最明显,给小鼠注射 miR-219-5p 模拟物后损伤部位的炎症及氧化应激反应明显改善。另一项研究用 H₂O₂ 诱导 PC₁₂ 细胞建立氧化应激模型后发现 miR-26a 表达升高并通过 PI3K/AKT 和 MEK/ERK 通路调节 PC₁₂ 细胞的氧化应激反应^[22]。而有些 miRNAs 可抑制氧化应激反应,促进脊髓损伤后的修复。如 Dai 等^[23]在脊髓损伤小鼠模型中发现 miR-137 模拟物可改善氧化应激及炎症反应,双荧光素酶报告实验发现 NEUROD4 是 miR-137 的靶基因,即 miR-137 通过靶向 NEUROD4 调节氧化应激反应。另有研究报道 miR-30a-5p 可通过 MAPK/ERK 信号轴、miR-25 可通过 WNT/ β -catenin 信号轴调节氧化应激促进脊髓损伤的修复^[24]。由此可见,miRNAs 的改变可以成为改善氧化应激的切入点。TLR/NF- κ B 通路的激活会引起细胞的氧化应激反应,在脊髓损伤中多种 miRNAs 可通过 TLR/NF- κ B 调节氧化应激。Zhang 等^[25]通过 H₂O₂ 作用于 C8-D1A 和 C8-B4 细胞及双荧光素酶报告实验证明了 miR-27a-3p 可通过下调 TLR4 抑制氧化应激及炎症反应。除此之外,研究表明 miR-146a 和 miR-940 也通过 TLR/NF- κ B 信号轴调节脊髓损伤的氧化应激反应^[26]。因此可以以 TLR 为出发点发掘更多氧化应激相关的 miRNAs。

在 ceRNA 网中, lncRNAs 与 miRNAs 相互作用可调节脊髓损伤后的氧化应激。在体外研究中发现 lncRNA ANRIL 过表达通过靶向抑制 miR-499a 激活 PI3K/AKT/mTOR/P70S6K 信号轴加重 PC₁₂ 细胞的过氧化氢损伤^[27];而 lncRNA SNHG16 可通过上调 miR-423-5p 抑制过氧化氢诱导的 PC₁₂ 细胞损伤^[28]。体内实验发现 lncRNA MALAT1 通过调节 miR-199b/IKK β /NF- κ B 信号通路参与脊髓损伤后小胶质细胞炎症及氧化应激反应^[29]。然而, lncRNAs 和 miRNAs 在脊髓损伤中的作用机制仍待进一步研究。

氧化应激在脊髓损伤后继发性损伤过程中发挥重要作用,抑制氧化应激可作为治疗继发性损伤的重要途径,上述研究表明 miRNAs 在氧化应激过程中扮演着重要角色,所以 miRNAs 可作为研究调节氧化应激反应的靶点,促进脊髓损伤的修复。

本综述主要从脊髓损伤的病理生理、miRNAs 的产生及功能、miRNAs 对脊髓损伤后凋亡及氧化应激的调节作用几个方面阐述了脊髓损伤中 miRNAs 的最新研究进展。总结了 miRNAs 在脊髓损伤后的调节作

用及作为调节靶点在脊髓损伤治疗中的潜在作用,为 miRNAs 在脊髓损伤中的研究提供参考。本文的参考数据主要来源于动物及细胞实验,有一定的参考价值。但相对于人体的复杂系统而言还是有一定的不同,因此将这些理论运用于人体还有待进一步的研究。

生物信息学的分析表明, miRNAs 的潜在靶点参与了脊髓损伤相关的多种病理生理过程,包括炎症、凋亡、氧化应激等。研究发现,脊髓损伤部位 miRNAs 的变化很大程度上是由受损脊髓细胞表达改变所致,同时也受到损伤部位免疫细胞的浸润和损伤后特定神经细胞死亡和迁移的影响。因此研究 miRNAs 在脊髓损伤中的作用机制有助于通过调节 miRNAs 治疗脊髓损伤。

由于中枢神经系统结构的复杂性,并且神经元属永久性细胞,再生能力差,所以脊髓损伤后的恢复及治疗仍是临床的一大难题。随着新 miRNAs 的不断发现和深入研究,越来越多的 miRNAs 被证明在脊髓损伤后异常表达,与脊髓损伤的发生、发展密切相关,一些 miRNAs 可能成为脊髓损伤的有效治疗靶点。然而 miRNAs 在脊髓损伤过程中的直接作用机制仍没有研究清楚,有待进一步探索。

参考文献

- [1] Lee BB, Cripps RA, Fitzharris M, et al. The global map for traumatic spinal cord injury epidemiology: update 2011, global incidence rate [J]. *Spinal Cord*, 2014, 52 (2): 110-116.
- [2] Nakano N, Nakai Y, Seo TB et al. Effects of bone marrow stromal cell transplantation through CSF on the subacute and chronic spinal cord injury in rats [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (9): e73494.
- [3] Lin L, Lin H, Bai S, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) improved functional recovery of spinal cord injury partly by promoting axonal regeneration [J]. *Neurochem Int*, 2018, 115 (1): 80-84.
- [4] Li LM, Li JB, Zhu Y, et al. Soluble complement receptor type 1 inhibits complement system activation and improves motor function in acute spinal cord injury [J]. *Spinal Cord*, 2010, 48 (1): 105-111.
- [5] Yu D, Wang Y, Bi Y, et al. Salvianolic acid A ameliorates the integrity of blood-spinal cord barrier via miR-101/Cul3/Nrf2/HO-1 signaling pathway [J]. *Brain Res*, 2017, 1657 (2): 279-287.
- [6] Friedman RC, Farh KK, Burge CB, et al. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs [J]. *Genome Res*, 2009, 19 (1): 92-105.
- [7] Ning B, Gao L, Liu RH, et al. microRNAs in spinal cord injury: potential roles and therapeutic implications [J]. *Int J Biol Sci*, 2014, 10 (9): 997-1006.

- [8] Zhao CL, Cui HA, Zhang XR. MiR-543-5p inhibits inflammation and promotes nerve regeneration through inactivation of the NF- κ B in rats after spinal cord injury [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 3 (1): 39-46.
- [9] Shi ZJ, Zhou HX, Lu L, et al. The roles of microRNAs in spinal cord injury [J]. *Int J Neurosci*, 2017, 127 (12): 1104-1115.
- [10] Jin L, Wu Z, Xu W, et al. Identifying gene expression profile of spinal cord injury in rat by bioinformatics strategy [J]. *Molecular Biol Rep*, 2014, 41 (5): 3169-3177.
- [11] Bhalala OG, Srikanth M, Kessler JA. The emerging roles of microRNAs in CNS injuries [J]. *Nat Rev Neurol*, 2013, 9 (6): 328-339.
- [12] Liao Q, Ming JH, Hu GL, et al. MiR-34a inhibits spinal cord injury and blocks spinal cord neuron apoptosis by activating phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/AKT pathway through targeting CD47 [J]. *Curr Neurovasc Res*, 2019, 16 (4): 373-381.
- [13] Cao F, Liu T, Sun S, et al. The role of the miR-99b-5p/mTOR signaling pathway in neuroregeneration in mice following spinal cord injury [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16 (6): 9355-9360.
- [14] Şaker D, Sencar L, Yılmaz D M, et al. Relationships between microRNA-20a and microRNA-125b expression and apoptosis and inflammation in experimental spinal cord injury [J]. *Neurol Res*, 2019, 41 (1): 1-10.
- [15] Liu D, Huang Y, Jia C, et al. Administration of antagomir-223 inhibits apoptosis, promotes angiogenesis and functional recovery in rats with spinal cord injury [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2015, 35 (4): 483-491.
- [16] Chen Z, Li Z, Jiang C, et al. MiR-92b-3p promotes neurite growth and functional recovery via the PTEN/AKT pathway in acute spinal cord injury [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234 (2): 23043-23052.
- [17] Yin H, Shen L, Xu C, et al. Lentivirus-mediated overexpression of miR-29a promotes axonal regeneration and functional recovery in experimental spinal cord injury via PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. *Neurochem Res*, 2018, 43 (11): 2038-2046.
- [18] Zhang T, Ni S, Luo Z, et al. The protective effect of microRNA-21 in neurons after spinal cord injury [J]. *Spinal Cord*, 2019, 51 (1): 141-149.
- [19] Song M, Zhang Y, Zhou C, et al. MiR-124 improves spinal cord injury in rats by activating the Wnt/beta-catenin signaling pathway [J]. *Panminerva Med*, 2019, 62 (4): 275-278.
- [20] Yunta M, Nieto-Diaz M, Esteban FJ, et al. MicroRNA dysregulation in the spinal cord following traumatic injury [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (4): e34534.
- [21] Zhu Y, Xu Q, Sha WP, et al. MiR-219-5p promotes spinal cord injury recovery by inhibiting NEUROD2-regulated inflammation and oxidative stress [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23 (1): 37-43.
- [22] Liu N, Fan M. Protective functions of salivianolic acid B in PC-12 cells against hydrogen peroxide-triggered damage by mediation of microRNA-26a [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47 (1): 4030-4037.
- [23] Dai J, Xu LJ, Han GD, et al. MiR-137 attenuates spinal cord injury by modulating NEUROD4 through reducing inflammation and oxidative stress [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 22 (7): 1884-1890.
- [24] Fu X, Shen Y, Wang W, et al. MiR-30a-5p ameliorates spinal cord injury-induced inflammatory responses and oxidative stress by targeting Neurod 1 through MAPK/ERK signaling [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2018, 45 (1): 68-74.
- [25] Zhang P, Li LQ, Zhang D, et al. Over-expressed miR-27a-3p inhibits inflammatory response to spinal cord injury by decreasing TLR4 [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22 (17): 5416-5423.
- [26] Lv ZC, Cao XY. Effects of MiR-146a on repair and inflammation in rats with spinal cord injury through the TLR/NF- κ B signaling pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23 (11): 4558-4563.
- [27] Guo Z, Li L, Gao Y, et al. Overexpression of lncRNA ANRIL aggravated hydrogen peroxide-disposed injury in PC-12 cells via inhibiting miR-499a/PDCD4 axis-mediated PI3K/Akt/mTOR/p70S6K pathway [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47 (1): 2624-2633.
- [28] Liu H, Chen B, Zhu Q. Long non-coding RNA SNHG16 reduces hydrogen peroxide-induced cell injury in PC-12 cells by up-regulating microRNA-423-5p [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47 (1): 1444-1451.
- [29] Zhou HJ, Wang LQ, Wang DB, et al. Long noncoding RNA MALAT1 contributes to inflammatory response of microglia following spinal cord injury via the modulation of a miR-199b/IKK β /NF- κ B signaling pathway [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2018, 315 (1): 52-61.

(收稿:2021-05-20)
(同行评议专家:李忠海)
(本文编辑:宁桦)