

. 综 述 .

microRNA 在中枢神经系统神经再生中作用

李泓江 孙兆良 杨西涛 综述 冯东福 审校

【关键词】 中枢神经系统;轴突再生;microRNA

【文章编号】 1009-153X(2016)10-0646-03 【文献标志码】 A 【中国图书资料分类号】 R 338

中枢神经系统神经损伤后再生困难主要由内在再生能力低下和外部抑制性环境所致。微小 RNA (microRNA, miRNA) 是神经元内调控轴突生长能力的重要因子,也可以通过调节外部再生抑制因子发挥作用。本文就 miRNA 在中枢神经系统再生中作用进行综述。

1 miRNA 与神经再生

miRNA 是一类大小约 22 个碱基的内源性非编码单链 RNA 分子,参与基因转录后的表达调控^[1]。miRNA 来源于蛋白质编码基因间隔区或其内含子,其原始转录产物 (pri-miRNA) 经 RNase III (位于细胞核中的 Drosha 酶和细胞质中的 Dicer 酶) 加工后,与细胞质大分子蛋白结合形成 RNA 诱导沉默复合物,与靶基因 mRNA 3' 非编码区互补配对,导致 mRNA 降解和/或翻译受阻,最终负向调节靶基因表达^[2]。这种结合并不需要两者完全互补配对,因此一种 miRNA 可以同时调控多种基因表达,而同一靶基因又可能受多个 miRNA 调控^[3]。不同 miRNA 对神经再生调节作用不同,既可通过与靶基因 RhoA 结合激活 ERK1/2 和 PI3K/Akt 信号通路来促进神经再生^[4],也可通过抑制 Sema3A 介导 caspase-3 和 p38MAPK 信号通路来促进神经再生^[5]。

2 促进神经再生的 miRNA

2.1 miR-133b 在肿瘤的发生、发展过程中受到广泛关注,其表达失调可导致多种肿瘤发生,如肺癌、胃癌、结肠癌、前列腺癌等^[6]。在中枢神经系统中,

miR-133b 除了影响神经元的分化和退化外,也对轴突生长发挥重要调节作用。miR-133b 在脊髓损伤和卒中后表达增高,能够促进功能恢复^[7]。Lu 等^[4]发现过表达 miR-133b 的神经元轴突明显延长,而降低 miR-133b 的表达轴突长度明显缩短。miR-133b 可与 RhoA 结合,通过激活 ERK1/2 和 PI3K/Akt 信号通路,发挥促进轴突生长作用^[8]。也有报道显示,miR-133b 能够逆转硫酸软骨素蛋白多糖对轴突生长的抑制作用^[4]。这些研究说明 miR-133b 可以通过提高神经元内在再生能力和抑制损伤微环境等不同途径促进轴突生长。

2.2 miR-30b 在维持正常生理过程中发挥重要作用,其表达异常可诱发多种神经系统疾病^[9]。而在神经损伤修复过程中,miR-30b 参与轴突生长的调控。视神经损伤后 miR-30b 表达升高,第 3 天达到高峰,之后迅速降低,第 7 天基本回到正常水平^[5]。miR-30b 可与 Sema3A 的 UGUUUACA 序列结合调节其表达,而 Sema3A 通过与神经毡蛋白 1 (neuropilin-1, NRP-1) 受体结合诱导丛状蛋白 A1 (plexin A1, PlexA1) 结构改变,激活下游信号通路,从而抑制轴突延伸^[10]。Han 等^[5]将重组腺相关病毒介导 miR-30b 类似物转染视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cells, RGCs), 结果发现 Sema3A 表达降低的同时 NRP-1 和 PlexA1 表达也降低, RGCs 轴突出现延长;使用 miR-30b 抑制剂后, Sema3A、NRP-1 和 PlexA1 表达均升高, RGCs 轴突则出现短缩。这些研究表明 miR-30b 可能通过抑制 Sema3A, 减少 NRP-1 和 PlexA1, 进而促进轴突延伸。此外,通过转染 miR-30b 类似物来维持 miR-30b 处于高表达水平,结果发现 p-p38MAPK 和 caspase-3 的表达降低, RGCs 凋亡减少,而抑制 miR-30b 则出现相反的结果。这表明 miR-30b 可能通过抑制 Sema3A 减弱 caspase-3 和 p38MAPK 信号通路效应,进而减少 RGCs 凋亡。此外, Sema3A 还可以抑制巨噬细胞的

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2016.10.030

基金项目:国家自然科学基金(8140080424;81401587)

作者单位:201999 上海,上海交通大学医学院附属第九人民医院神经外科(李泓江、孙兆良、杨西涛、冯东福)

通讯作者:冯东福, E-mail: feng_df@yahoo.com

髓鞘吞噬作用,进而阻碍损伤神经再生修复^[11]。然而,miR-30b 与 Sema3A 结合是否能够介导巨噬细胞的髓鞘吞噬作用进而影响神经再生尚不清楚。

2.3 miR-26a 是参与哺乳动物神经系统轴突再生的生理调节剂^[12]。成年小鼠体内过表达 miR-26a 可以促进神经元轴突再生,而抑制内源性 miR-26a 则阻碍轴突再生。通过生物信息学方法发现 miR-26a 与靶基因 GSK-3 β 结合有关,敲除 GSK-3 β 基因或阻断 GSK-3 β 功能可促进轴突再生^[13]。通过药物抑制 GSK-3 β 或条件性敲除 GSK-3 β 能够促进脊髓损伤后轴突生长^[14]。通过生化和功能研究进一步证实,再生相关的转录因子 Smad1 是 GSK-3 β 的下游分子,发挥调节轴突再生的构建作用。

2.4 miR-320 在结肠癌、乳腺癌和胆管癌等多种肿瘤中表达下调,通过抑制细胞增殖和侵袭等方式抑制肿瘤进展。研究发现,miR-320 与轴突再生密切相关。将 pri-miR-320 质粒转染至 Neuro-2a 细胞后,神经细胞轴突长度较对照组增加 130%。采用生物信息学方法发现,miR-320 可与靶基因环磷酸腺苷调节的磷酸化蛋白-19 (cAMP-regulated phosphoprotein 19, ARPP-19) 结合,而 ARPP-19 抑制蛋白质磷酸酶-2A 活性,抑制轴突生长^[15]。研究发现转染 miR-320 类似物至 Neuro-2a 细胞,ARPP-19 mRNA 及蛋白水平均降低。这表明过表达 miR-320 可以降低 ARPP-19 的表达,增强蛋白质磷酸酶-2A 活性,进而减少 Neuro-2a 细胞数目、增加轴突长度。

2.5 miR-132 在神经系统表达丰富,对树突形成和突触功能具有重要调节作用^[16,17]。条件性敲除 Dicer 酶后,小鼠背根神经节轴突长度明显缩短、轴突延伸速率降低。Hancock 等^[18]进行功能缺失分析发现,使用 miR-132 抑制剂后轴突长度明显缩短,与条件性敲除 Dicer 酶结果一致;过表达 miR-132 后轴突延伸长度增加 37%。进一步研究发现,miR-132 可以与靶基因 Ras-GTP 酶激活蛋白 1,调节轴突生长。当 miR-132 过表达时,Ras-GTP 酶激活蛋白 1 mRNA 及蛋白水平降低,轴突长度增加;而抑制 miR-132 后,则作用相反。

3 抑制神经再生的 miRNA

3.1 miR-138 在皮层发育过程中,内源性 miR-138 表达逐渐升高,在成年期达到高峰。分别转染 miR-138 类似物、miR-138 抑制剂至皮层神经元,过表达 miR-138 明显抑制轴突生长,而抑制 miR-138 明显促进轴突生长。Liu 等^[19]发现在成年小鼠背根

神经损伤后过表达 miR-138 可以明显抑制轴突再生。有研究发现,沉默信息调节因子 2 相关酶 1 (silent mating type information regulation 2 homolog 1, SIRT1),一种 NAD 依赖的组蛋白去乙酰化酶,是 miR-138 的靶基因,且 SIRT1 可以正性调控轴突生长^[20]。使用电转染技术将 miR-138 类似物转入成熟神经元中,SIRT1 蛋白表达水平降低,轴突明显缩短。对成年小鼠进行轴突横切术后,将 miR-138 类似物电转入其背根神经节细胞,轴突也明显缩短。Liu 等^[19]进一步发现 SIRT1 可以通过与 pre-miR-138 的上游调控序列直接结合抑制 miR-138 表达,进而调节轴突再生。这表明 miR-138 和 SIRT1 可能通过形成一个负反馈调节回路来调节轴突再生过程。

3.2 Let-7 miRNA 是最早在秀丽隐杆线虫发现的 miRNA 之一,是线虫时序性发育的关键性调控因子,在进化上高度保守^[21]。Let-7 与 Lin28 形成双负反馈的信号通路,即 Lin28/Let-7 轴,该搭档分子被认为是经典的发育调节子,参与调控细胞增殖、分化、凋亡、免疫应答、肿瘤发生及转移等多种生理病理过程^[22]。研究发现 let-7 miRNA 与靶基因神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) 结合,可以调节神经再生^[23]。Li 等^[24]分别转染 let-7 类似物和 let-7 抑制剂至共培养的雪旺细胞和背根神经节细胞中,过表达 let-7 后雪旺细胞增殖率减少 50%,且显著抑制背根神经节轴突生长;而抑制 let-7 后细胞增殖率提高 3~4 倍,且明显促进背根神经节轴突生长。分别转染 let-7 类似物和 let-7 抑制剂至雪旺细胞中,NGF 的 mRNA 水平没有明显变化,但 let-7 过表达组 NGF 的蛋白水平明显降低,let-7 抑制剂组 NGF 的蛋白水平明显升高。这些结果表明 let-7 miRNA 可能通过与靶基因 NGF 结合使其翻译受阻进而调节轴突生长。此外,通过酶联免疫吸附试验进一步发现,let-7 过表达可以明显减少雪旺细胞分泌 NGF,而 let-7 抑制剂则增加雪旺细胞分泌 NGF。这些研究表明 let-7 miRNA 对轴突再生可能具有双向调节作用,一方面通过影响轴突内在生长能力抑制轴突再生,另一方面通过改变微环境促进轴突再生。

目前认为,miRNA 对相关再生蛋白的调控被认为是通过协同作用完成的,即多个 miRNA 可以协同控制某一基因。神经再生是一个复杂的过程,往往由多个 miRNA 共同作用调控,而非单个 miRNA 发挥作用的结果。因此,通过充分发挥 miRNA 协同调控功能提高内在再生能力,改善损伤微环境,将有望成为神经损伤后再生的新靶标。

【参考文献】

- [1] 肖 伟. 微小RNA与眼底疾病[J]. 中华实验眼科杂志, 2013, 31(9): 897-901.
- [2] Flynt AS, Lai EC. Biological principles of microRNA-mediated regulation: shared themes amid diversity [J]. Nat Rev Genet, 2008, 9(11): 831-842.
- [3] Friedman RC, Farh KK, Burge CB, *et al.* Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs [J]. Genome Res, 2009, 19(1): 92-105.
- [4] Lu X C, Zheng J Y, Tang L J, *et al.* MiR-133b Promotes neurite outgrowth by targeting RhoA expression [J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 35(1): 246-258.
- [5] Han F, Huo Y, Huang CJ, *et al.* MicroRNA-30b promotes axon outgrowth of retinal ganglion cells by inhibiting Semaphorin3A expression [J]. Brain Res, 2015, 1611: 65-73.
- [6] Li X, Wan X, Chen H, *et al.* Identification of miR-133b and RB1CC1 as independent predictors for biochemical recurrence and potential therapeutic targets for prostate cancer [J]. Clin Cancer Res, 2014, 20(9): 2312-2325.
- [7] Xin H, Li Y, Liu Z, *et al.* MiR-133b promotes neural plasticity and functional recovery after treatment of stroke with multipotent mesenchymal stromal cells in rats via transfer of exosome-enriched extracellular particles [J]. Stem Cells, 2013, 31(12): 2737-2746.
- [8] Fu Q, Hue J, Li S. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs promote axon regeneration via RhoA inhibition [J]. J Neurosci, 2007, 27(15): 4154-4164.
- [9] Mellios N, Galdzicka M, Ginns E, *et al.* Gender-specific reduction of estrogen-sensitive small RNA, miR-30b, in subjects with schizophrenia [J]. Schizophr Bull, 2012, 38(3): 433-443.
- [10] Zylbersztejn K, Petkovic M, Burgo A, *et al.* The vesicular SNARE Synaptobrevin is required for Semaphorin 3A axonal repulsion [J]. J Cell Biol, 2012, 196(1): 37-46.
- [11] Syed Y A, Hand E, Mobius W, *et al.* Inhibition of CNS remyelination by the presence of semaphorin 3A [J]. J Neurosci, 2011, 31(10): 3719-3728.
- [12] 左 乔, 许家军. MicroRNA在神经系统不同部位特异分布及其在神经损伤再生中的变化和作用[J]. 生理科学进展, 2011, 4(4): 261-268.
- [13] Jiang JJ, Liu CM, Zhang BY, *et al.* MicroRNA-26a supports mammalian axon regeneration in vivo by suppressing GSK3 beta expression [J]. Cell Death Dis, 2015, 6: e1865.
- [14] Liz MA, Mar FM, Santos TE, *et al.* Neuronal deletion of GSK3beta increases microtubule speed in the growth cone and enhances axon regeneration via CRMP-2 and independently of MAP1B and CLASP2 [J]. BMC Biol, 2014, 12: 47.
- [15] Liu D, Zheng HY, Luo ZZ, *et al.* Effect of PP-2A on neurite outgrowth in neuronal cells [J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2010, 46(8): 702-707.
- [16] Wanet A, Tachenay A, Arnould T, *et al.* miR-212/132 expression and functions: within and beyond the neuronal compartment [J]. Nucleic Acids Res, 2012, 40(11): 4742-4753.
- [17] Siegel G, Saba R, Schratt G. microRNAs in neurons: manifold regulatory roles at the synapse [J]. Curr Opin Genet Dev, 2011, 21(4): 491-497.
- [18] Hancock M L, Preitner N, Quan J, *et al.* MicroRNA-132 is enriched in developing axons, locally regulates Rasal mRNA, and promotes axon extension [J]. J Neurosci, 2014, 34(1): 66-78.
- [19] Liu CM, Wang RY, Saijilafu, *et al.* MicroRNA-138 and SIRT1 form a mutual negative feedback loop to regulate mammalian axon regeneration [J]. Genes Dev, 2013, 27(13): 1473-1483.
- [20] Guo W, Qian L, Zhang J, *et al.* Sirt1 overexpression in neurons promotes neurite outgrowth and cell survival through inhibition of the mTOR signaling [J]. J Neurosci Res, 2011, 89(11): 1723-1736.
- [21] 段冉冉, 李燕飞, 贾延劼. Let-7家族在阿尔茨海默病发病机制中的作用[J]. 国际生物医学工程杂志, 2013, 36(5): 307-310.
- [22] Thornton JE, Gregory RI. How does Lin28 let-7 control development and disease [J]? Trends Cell Biol, 2012, 22(9): 474-482.
- [23] Zou Y, Chiu H, Zinovyeva A, *et al.* Developmental decline in neuronal regeneration by the progressive change of two intrinsic timers [J]. Science, 2013, 340(6130): 372-376.
- [24] Li S, Wang X, Gu Y, *et al.* Let-7 microRNAs regenerate peripheral nerve regeneration by targeting nerve growth factor [J]. Mol Ther, 2015, 23(3): 423-433.

(2016-03-12收稿, 2016-04-14修回)