

· 综 述 ·

microRNA 在阿尔茨海默病中的研究进展

侯伟丽, 马兰*

(哈尔滨医科大学附属第二医院老年病科, 哈尔滨 150001)

【摘 要】 随着阿尔茨海默病(AD)患病率的增加,明确AD发病机制成为医学界迫切需要解决的问题。microRNA(miRNA)参与了蛋白质合成的表观遗传调控,是一种与多种疾病(包括AD)状态相关的生物学标志。本文主要介绍了miRNA在AD中的研究进展,包括最近体内外实验中发现的其表达变化及调节通路,以及可保留神经系统miRNA分泌形态学的物质——外泌体。外泌体不仅可以提高miRNA检测率,还可通过炎症介质参与AD的损伤。

【关键词】 阿尔茨海默病;microRNA;外泌体

【中图分类号】 R749.1 **【文献标志码】** A **【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2020.09.163

Progress in research of microRNA in Alzheimer's disease

HOU Wei-Li, MA Lan*

(Department of Geriatrics, Second Affiliated Hospital, Harbin Medical University, Harbin 150001, China)

【Abstract】 With the increasing prevalence of Alzheimer's disease (AD), its pathogenesis has become an urgent problem in the medical community. microRNA involves in epigenetic regulation of protein synthesis and is a biological marker associated with a number of states, including AD. This paper mainly introduces progress made in the research of miRNA in AD in the respects of the newly discovered expression changes and regulatory pathways *in vivo* and *in vitro* and exosomes found recently to be able to preserve morphology of the miRNA secretion in the nervous system. The exosomes not only improve the detection rate of miRNA but also contribute to the damage in AD through inflammatory mediators.

【Key words】 Alzheimer's disease; microRNA; exosomes

This work was supported by Key Projects of Natural Science Foundation of Heilongjiang Province (ZD2018017).

Corresponding author: MA Lan, E-mail: lilyma70@163.com

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种以记忆衰退和认知功能下降为特征的神经退行性疾病,其病理主要表现为淀粉样斑块沉积、神经元变性、突触损伤等。AD发病机制目前尚不明确,可能有多种因素参与,如炎症、氧化应激、线粒体障碍、基因突变、环境等。研究发现microRNA功能异常与AD的发病机制密切相关。

1 microRNA 通过抑制靶 mRNA 调控基因表达

microRNA(miRNA)^[1,2]是一种内源性非编码基因,在高等真核生物中起着转录后调控和基因信息表达的作用,主要作用模式是通过识别结合靶信使RNA(mRNA)的3'-untranslation region(UTR)上的互补核糖核苷酸序列抑制mRNA的表达,参与调控。

每一个miRNA^[3]都有可能同时对数百个基因编码的mRNA,大多数miRNA表现出严格调控的表达模式,这种表达模式通常是组织特异性的,甚至是细胞特异性的,强调了miRNA在特定基因表达模式的时间、空间和发育阶段中的重要性。miRNA作为介导基因表达的mRNA的负调控因子而发挥作用,因此,上调miRNA可能会下调它们的靶mRNA,并下调这些mRNA编码的遗传信息的表达。神经系统中的miRNA形成一个复杂的基因表达调控网络,不仅包含正常的生理调控信息,还包含丰富的与神经退行性疾病(如AD)相关的神经生物学信息。后文从miRNA调节Aβ蛋白生成、参与突触损伤及AD病理改变影响miRNA正常表达3个方面阐述miRNA与AD的相互关系。

收稿日期: 2019-09-20; 接受日期: 2020-01-02

基金项目: 黑龙江省自然科学基金重点项目(ZD2018017)

通信作者: 马兰, E-mail: lilyma70@163.com

1.1 microRNA 调节 A β 蛋白的生成

A β 淀粉样斑块沉积在神经组织周围是 AD 的病理特征之一, 淀粉样蛋白前体蛋白 (amyloid protein precursor, APP) 是 A β 的前体蛋白, BACE1 (β -site amyloid precursor protein cleaving enzyme) 是将 APP 裂解为 A β 的一种裂解酶, 目前, 大多数研究表明 miRNA 主要通过 BACE1 的 mRNA 3'-UTR 结合来调控 BACE1^[4]。Lei 等^[5] 研究发现 miR-29c 在 AD 患者体内明显下调, 并在转染 miR-29c 的人类神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞实验证实 miR-29c 与 BACE1 mRNA 的 3'-UTR 结合使 BACE1 表达增加, BACE1 表达增加直接促成 A β 生成。Long 等^[6] 发现, 从 AD 患者分离的脑标本中 miR-339-5p 水平显著降低, BACE1 mRNA 的 3'-UTR 有 2 个 miR-339-5p 结合位点, 使用 miR-339-5p 模拟类似物可以显著抑制人胶质母细胞瘤细胞和人脑原代培养物中 BACE1 蛋白的表达。Wang 等^[7] 发现 miR-200a-3p 通过 3 个自身非翻译区调节 BACE 和蛋白激酶 cAMP-活化催化 β 亚基 (PRKACB) 的蛋白易位, 从而减少 A β 和 P-tau 蛋白的产生, 并且在体外培养细胞中 miR-200a-3p 的保护功能被过度表达的 BACE1 或 PRKACB 逆转, 认为 miR-200a-3p 可能通过 BACE1 或 PRKACB 参与 AD 病理过程。miRNA 还可与 mRNA 3'-UTR 结合, 调节 APP 的表达。Liu 等^[8] 测量了 APP/PS1 双转基因小鼠样本、轻度认知功能障碍 (mild cognitive impairment, MCI) 患者及 AD 患者脑脊液 (cerebrospinal fluid, CSF) 中的 miR-193b, 发现 miR-193b 过表达可抑制 APP 的 mRNA 和蛋白表达, 使用 miR-193b 的低聚核苷酸抑制剂可诱导 APP 上调, 并且发现 AD 患者及 MCI 患者 CSF 中 miR-193b 均下降, 在 AD 患者 CSF 中 miR-193b 和 A β 42 呈负相关。另外, Lu 等^[9] 发现在 APP/PS1 小鼠中 miR-138 通过抑制 ADAM10 (一种解离素和金属蛋白酶) 的表达, 促进 β 淀粉样蛋白 (A β) 生成, 诱导突触功能、学习记忆功能下降, 而过表达的 sirtuin 1 (Sirt1) 可改善 miR-138 对 ADAM10 的抑制。同时实验者发现在 A β -oligomer-treated N2a 细胞的细胞质中 circRNAHDAC9 (circHDAC9) 和 miR-138 两者表达呈负相关, CircHDAC9 充当了 miR-138 的缓冲体, 减少了 miR-138 的表达, 并扭转了 sirtuin1 和 A β 过表达的局面, 并且发现 AD 患者和 MCI 患者血清中 circHDAC9 均降低。

1.2 microRNA 参与突触损伤

突触损伤是 AD 的另一病理改变, 研究表明突触后蛋白 SHANK3 细胞骨架存在缺陷可导致突触

结构和功能的破坏, 可能至少部分是通过诱导核转录因子 κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B) 调控的促炎 miR (如 miR-34a) 介导的。Zhao 等^[10] 研究发现散发 AD 患者脑部上颞叶上皮层内 miR-34a 显著上调, 突触后元件富含脯氨酸的 SH3 和多锚蛋白重复结构域 SHANK3 蛋白显著下调。生物信息学、microRNA 芯片分析和 SHANK3-mRNA-3' UTR 荧光素酶报告基因检测证实了 miRNA-34a 在调控人类神经胶质细胞 SHANK3 表达中的重要性。另外突触后支架蛋白 SHANK3 和 TSPAN^[11,12] 蛋白水平下调可能共同导致神经精神疾病的神经退行。TSPAN 蛋白^[13,14] 是四聚体蛋白 (TSPAN) 超家族, 通常参与组织细胞间的相互作用、膜转运、区隔以及复杂蛋白网络的形成, 称为“四聚体蛋白网”, 具有神经活动依赖性突触形成和可塑性的功能, 并参与神经和视网膜变性。Jaber 等^[11] 研究散发性 AD 海马 CA1 RNA 池, 提出了 AD 中 miRNA-mRNA 偶联信号网络的改变, 发现上调 miR-34a 和 miR-146a 参与了 SHANK3 和 TSPAN-12 的下调。Zhao 等^[15] 发现 NF- κ B 敏感的 miR-34a 可能通过调节小胶质细胞 TREM2 蛋白表达的下调而诱导炎症性神经变性。四聚体蛋白 (TSPAN)^[16] 还可以调节 A β 前体蛋白 (APP) 的降解。

1.3 AD 病理改变影响 microRNA 正常表达

Sierksma 的团队^[17] 检测 APPtg (APPswe/PS1L166P) 小鼠和 TAUtg (THY-Tau22) 小鼠海马区的 miRNA 变化, 发现 6 种 miRNA (miR-10a-5p, miR-142a-5p, miR-146a-5p, miR-155-5p, miR-211-5p, miR-455-5p) 都上调, 并且其中 4 个 (miR-142a-5p, miR-146a-5p, miR-155-5p 和 miR-455-5p) 在 AD 患者脑组织海马区也发生改变, 然而, 在其野生型幼鼠 (APPwt 和 TAUwt) 中上调这些 miRNA 并不会引起与 AD 相关的认知障碍, 说明 A β 和 tau 蛋白会干扰神经中某些 miRNA 的正常调控功能。大量研究^[18,19] 分析了 AD 患者大脑中 miRNA 的表达水平, 发现海马、额叶皮质、小脑、脑脊液等脑组织中 miRNA 表达水平会随着 AD 的进展而改变。

2 体外实验证实调节 microRNA 表达可以改善认知损伤

Duan 等^[20] 在 AD 小鼠模型中发现 miR-25 通过核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid-2-related factor 2, Nrf2) 信号通路下调 Krtippel 样转录因子 (krtippel-like transcription factor, KLF2), 加重海马神经元损伤, 促进细胞凋亡, 但同时 miRNA 也可

以具有保护神经组织的作用,如 Yang 等^[21]对注射 Aβ25-35 的模拟 AD 大鼠进行研究发现 miR-196a 下调,向 AD 大鼠注射 miR-196a 可以改善 AD 大鼠的认知功能障碍,并且上调的 miR-196a 通过下调 LRIG3 激活 PI3K/Akt 通路,减轻海马组织神经元损伤,改善 AD 的认知损伤。Kumar 等^[22]通过荧光素酶报告基因检测证实了 miR-455-3p 与 APP 基因的 3'UTR 结合,继而在转染 miR-455-3p 的突变 APP 细胞中发现突触基因的 mRNA 和蛋白水平均升高,线粒体数量减少,但线粒体长度增加,并观察到 miR-455-3p 可降低线粒体分裂蛋白(DRP1 和 FIS1)的表达,增加融合蛋白(OPA1、Mfn1 和 Mfn2)的表达。基于这些观察,作者猜想 miR-455-3p 可以调控 APP,并对突变的 APP 诱导的 AD 线粒体和突触异常具有保护作用。

Zhao 的研究组^[15]在原代培养的应激性人类神经胶质细胞(human neuroglial cell, HNG 细胞)中发现 TREM2 下调,添加一种 AM-34a 可以将 TREM2 的下调挽救至稳态水平,抗 miRNA(adeno-associated viral vector, AM)在提高我们对炎症性神经退行性疾病发病机制的认识和制定有效的基于 AM 的治疗策略方面的潜力可能是巨大的。在散发性 AD 患者新皮质和应激性 HNG 细胞原代共培养中^[23-25],促炎 miR-146a 均显著上调,在初步实验中,利用病毒载体传递(adeno-associated viral vector, AVV)系统进行抗 miR-146a(AM-146a)的治疗策略,可以提高衰老 5xFAD AD 模型小鼠的认知功能。

3 通过外泌体可以提高 microRNA 的检测率

研究发现外泌体可以保留神经细胞分泌的形态学,其中包括分泌的 miRNA,故通过外泌体可以提高 miRNA 的检测率,为进一步研究提供便利。外泌体^[26,27]是一种从所有细胞中脱落的内胚体衍生的小泡,含有原细胞的各种分子成分,包括脂类、蛋白质和核酸,这些成分随细胞的健康状况和病理状态而变化。神经细胞^[26]能够在生理和病理条件下分泌外泌体,其中核酸和蛋白质的变化能够作为某种状态的功能表征,外泌体可以保留神经细胞分泌的形态学这一特征使得外泌体介导的 miRNA 成为 AD 的一个重要的生物标志物。神经系统源性外泌体(neuronal derived-exosomes, NDEs)^[28]可通过免疫吸附方法分离并使用 ELISA 从血浆中测得。这种对外泌体亚群的创新性分离^[29]引起人们对使用 NDEs 作为 AD 等神经退行性疾病的生物标志物的兴趣,从血浆样本中富集 NDEs 的能力使得分析与 AD 发

病机制相关的多种神经递质蛋白成为可能。

Goetzl 等^[30]2016 年通过连续沉淀和免疫化学吸附方法,发现人血浆中富集的星形胶质细胞衍生外泌体(astrocytes derived-exosomes, ADEs)含有比血浆 NDEs 高得多的星形胶质细胞生物标志物——谷氨酰胺合成酶和胶质纤维酸性蛋白(glia fibrillary acidic protein, GFAP),并发现 AD 患者 ADEs 中 BACE-1 和 sAPPβ 水平显著高于对照组;2018 年发现 AD 患者 A1 型星形胶质细胞来源的 ADEs 中 C4b 和 Bb 浓度的升高^[31],结果支持 A1 型星形胶质细胞来源的经典和替代炎症补体途径参与 C3b 和 C5b-C9 TCC 的产生,表明 A1 型星形胶质细胞可能产生炎症介质,并通过 ADEs 将其传递给其他中枢神经系统(central nervous system, CNS)细胞,导致了神经元和突触的损害。Fernandes 等^[32]证明,转染瑞典突变体 APP695 (SHSwe)的 SH-SY5Y 细胞显著表达炎症标志物以及 APP 和 Aβ1-40, APP 和 Aβ1-40 引起的炎症介质会触发时间依赖性的小胶质细胞活化表型,最终导致 miR-21 外泌体穿梭。这项工作有助于更深入地了解不同类型细胞的外泌体都可能作为 AD 神经炎症介质的载体,同时也揭示外泌体是神经炎症的参与者和影响者之一。

4 结 语

microRNA 在 AD 的调控机制研究更细化、更深入,调控通路愈加明朗,外泌体作为 miRNA 载体为血液检测 miRNA 提供更精确结果,为血液检测 AD 生物标志物提供平台。随着对外泌体介导的神经通路理解的加深,利用外泌体将某些治疗性核酸转运到受体细胞可能成为 AD 的一种潜在治疗途径。因 microRNA 有严格调控表达模式,未来可以探索在 AD 不同病程阶段(如无症状期、轻度认知功能障碍期及痴呆期)、大脑不同部位 miRNA 表达浓度的改变以及相应的调节通路是什么,只是这将是庞大、复杂、连续且困难的工作,科学探索任重道远,期待新的发现。

【参考文献】

- [1] Fransquet PD, Ryan J. microRNA as a potential blood-based epigenetic biomarker for Alzheimer's disease[J]. Clin Biochem, 2018, 58:5-14. DOI: 10.1016/j.clinbiochem. 2018. 05. 020.
- [2] Rahman ME, Islam R, Islam S, et al. miRAN: a reliable approach for improved classification of precursor microRNA using Artificial Neural Network model[J]. Genomics, 2012, 99(4): 189-194. DOI: 10.1016/j.ygeno. 2012. 02. 001.
- [3] Pu M, Chen J, Tao Z, et al. Regulatory network of miRNA on its target: coordination between transcriptional and post-transcriptional regulation of gene expression[J]. Cell Mol Life Sci, 2019,

- 76(3): 441–451. DOI: 10.1007/s00018-018-2940-7.
- [4] Iranifar E, Seresht BM, Momeni F, *et al.* Exosomes and microRNAs: new potential therapeutic candidates in Alzheimer disease therapy[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(3): 2296–2305. DOI: 10.1002/jcp.27214.
- [5] 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.
- [6] Long JM, Ray B, Lahiri DK. microRNA-339-5p down-regulates protein expression of beta-site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1 (BACE1) in human primary brain cultures and is reduced in brain tissue specimens of Alzheimer disease subjects[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(8): 5184–5198. DOI: 10.1074/jbc.M113.518241.
- [7] Wang L, Liu J, Wang Q, *et al.* microRNA-200a-3p mediates neuroprotection in Alzheimer-related deficits and attenuates amyloid-beta overproduction and Tau hyperphosphorylation *via* coregulating BACE1 and PRKACB[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10:806. DOI: 10.3389/fphar.2019.00806.
- [8] 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. DOI: 10.3892/mmr.2014.2484.
- [9] Lu Y, Tan L, Wang X. Circular HDAC9/microRNA-138/Sirtuin-1 pathway mediates synaptic and amyloid precursor protein processing deficits in Alzheimer's disease[J]. *Neurosci Bull*, 2019, 35(5): 877–888. DOI: 10.1007/s12264-019-00361-0.
- [10] Zhao Y, Jaber VR, Lebeauf A, *et al.* microRNA-34a (miRNA-34a) mediated down-regulation of the post-synaptic cytoskeletal element SHANK3 in sporadic Alzheimer's disease (AD)[J]. *Front Neurol*, 2019, 10:28. DOI: 10.3389/fneur.2019.00028.
- [11] Jaber V, Zhao Y, Lukiw WJ. Alterations in micro RNA-messenger RNA (miRNA-mRNA) coupled signaling networks in sporadic Alzheimer's disease (AD) hippocampal CA1[J]. *J Alzheimers Dis Parkinsonism*, 2017, 7(2): pii:312. DOI: 10.4172/2161-0460.1000312.
- [12] Alexandrov PN, Zhao Y, Jaber V, *et al.* Deficits in the proline-rich synapse-associated SHANK3 protein in multiple neuropsychiatric disorders[J]. *Front Neurol*, 2017, 8:670. DOI: 10.3389/fneur.2017.00670.
- [13] Termini CM, Gillette JM. Tetraspanins function as regulators of cellular signaling[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2017, 5:34. DOI: 10.3389/fcell.2017.00034.
- [14] Saint-Pol J, Eschenbrenner E, Dornier E, *et al.* Regulation of the trafficking and the function of the metalloprotease ADAM10 by tetraspanins[J]. *Biochem Soc Trans*, 2017, 45(4): 937–944. DOI: 10.1042/BST20160296.
- [15] Zhao YH, 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. DOI: 10.1097/WNR.0b013e32835fb6b0.
- [16] Seipold L, Saftig P. The emerging role of tetraspanins in the proteolytic processing of the amyloid precursor protein[J]. *Front Mol Neurosci*, 2016, 9: 149. DOI: 10.3389/fnmol.2016.00149.
- [17] Sierksma A, Lu A, Salta E, *et al.* Deregulation of neuronal miRNAs induced by amyloid-beta or TAU pathology[J]. *Mol Neurodegener*, 2018, 13(1): 54. DOI: 10.1186/s13024-018-0285-1.
- [18] Cheng L, Quek CY, Sun X, *et al.* The detection of microRNA associated with Alzheimer's disease in biological fluids using next-generation sequencing technologies[J]. *Front Genet*, 2013, 4: 150. DOI: 10.3389/fgene.2013.00150.
- [19] Kumar S, Reddy PH. Are circulating microRNAs peripheral biomarkers for Alzheimer's disease? [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1862(9): 1617–1627. DOI: 10.1016/j.bbadis.2016.06.001.
- [20] Duan Q, Si E. MicroRNA-25 aggravates A β 1-42-induced hippocampal neuron injury in Alzheimer's disease by downregulating KLF2 *via* the Nrf2 signaling pathway in a mouse model[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(9): 15891–15905. DOI: 10.1002/jcb.28861.
- [21] Yang K, Feng S, Ren J, *et al.* Upregulation of microRNA-196a improves cognitive impairment and alleviates neuronal damage in hippocampus tissues of Alzheimer's disease through downregulating LRIG3 expression[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(10): 17811–17821. DOI: 10.1002/jcb.29047.
- [22] Kumar S, Reddy AP, Yin X, *et al.* Novel microRNA-455-3p and its protective effects against abnormal APP processing and amyloid beta toxicity in Alzheimer's disease[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865(9): 2428–2440. DOI: 10.1016/j.bbadis.2019.06.006.
- [23] Lukiw WJ, Zhao Y, Cui JG. An NF-kappaB-sensitive micro RNA-146a-mediated inflammatory circuit in Alzheimer disease and in stressed human brain cells[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(46): 31315–31322. DOI: 10.1074/jbc.M805371200.
- [24] Pogue AI, Li YY, Cui JG, *et al.* Characterization of an NF-kappaB-regulated, miRNA-146a-mediated down-regulation of complement factor H (CFH) in metal-sulfate-stressed human brain cells[J]. *J Inorg Biochem*, 2009, 103(11): 1591–1595. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2009.05.012.
- [25] Cui JG, Li YY, Zhao Y, *et al.* Differential regulation of interleukin-1 receptor-associated kinase-1 (IRAK-1) and IRAK-2 by microRNA-146a and NF-kappaB in stressed human astroglial cells and in Alzheimer disease[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(50): 38951–38960. DOI: 10.1074/jbc.M110.178848.
- [26] Vella LJ, Hill AF, Cheng L. Focus on extracellular vesicles: exosomes and their role in protein trafficking and biomarker potential in Alzheimer's and Parkinson's disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(2): 173. DOI: 10.3390/ijms17020173.
- [27] Properzi F, Ferroni E, Poleggi A, *et al.* The regulation of exosome function in the CNS: implications for neurodegeneration[J]. *Swiss Med Wkly*, 2015, 145: w14204. DOI: 10.4414/smw.2015.14204.
- [28] Fianadaca MS, Kapogiannis D, Mapstone M, *et al.* Identification of preclinical Alzheimer's disease by a profile of pathogenic proteins in neurally derived blood exosomes: a case-control study[J]. *Alzheimers Dement*, 2015, 11(6): 600–607. DOI: 10.1016/j.jalz.2014.06.008.
- [29] Winston CN, Goetzl EJ, Akers JC, *et al.* Prediction of conversion from mild cognitive impairment to dementia with neuronally derived blood exosome protein profile[J]. *Alzheimers Dement (Amst)*, 2016, 3: 63–72. DOI: 10.1016/j.dadm.2016.04.001.
- [30] Goetzl EJ, Mustapic M, Kapogiannis D, *et al.* Cargo proteins of plasma astrocyte-derived exosomes in Alzheimer's disease[J]. *FASEB J*, 2016, 30(11): 3853–3859. DOI: 10.1096/fj.201600756R.
- [31] Goetzl EJ, Schwartz JB, Abner EL, *et al.* High complement levels in astrocyte-derived exosomes of Alzheimer disease[J]. *Ann Neurol*, 2018, 83(3): 544–552. DOI: 10.1002/ana.25172.
- [32] Fernandes A, Ribeiro AR, Monteiro M, *et al.* Secretome from SH-SY5Y APPS cells trigger time-dependent CHME3 microglia activation phenotypes, ultimately leading to miR-21 exosome shuttling[J]. *Biochimie*, 2018, 155: 67–82. DOI: 10.1016/j.biochi.2018.05.015.