

文章编号: 1004-0374(2013)01-0054-04

MicroRNAs与帕金森氏病

周小爽, 李 晔, 白 洁*

(昆明理工大学医学院, 昆明 650500)

摘要: 帕金森氏病 (Parkinson's disease, PD) 是中脑黑质多巴胺能神经元进行性减少的神经退行性疾病, 其发病机制尚不清楚。目前研究表明, α -共核蛋白、*Parkin* 等基因突变, 以及环境毒素、线粒体损伤与帕金森氏病有关。MicroRNAs 是小片段非编码 RNA, 通过转录后水平调节基因表达, 在神经细胞分化、增殖、凋亡中起重要作用。综述了 microRNAs 与 PD 的相关性, 并分析了 microRNAs 在 PD 病理生理过程中的作用。

关键词: 帕金森氏病; microRNAs; α -共核蛋白

中图分类号: Q522; R742.5

文献标志码: A

MicroRNAs and Parkinson's disease

ZHOU Xiao-Shuang, LI Ye, BAI Jie*

(Medical Faculty, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract: The Parkinson's disease (PD) is the neuronal degenerative disorder characterized by the progressive loss of dopaminergic neuron in substantia nigra of midbrain. The exact molecular mechanism is not yet clear. The studies showed that mutations of α -synuclein gene and *Parkin* gene, environmental toxins, as well as mitochondrial damage were related to PD. MicroRNAs are small non-coding RNAs that regulate gene expression through post-transcriptional regulation and play roles in the neuron differentiation, proliferation and apoptosis. The microRNAs with PD correlation, and analysis of the role of microRNAs in the pathophysiological process in PD were reviewed.

Key words: Parkinson's disease; microRNAs; α -synaptic nucleoprotein

1 帕金森氏病(Parkinson's disease, PD)和mi-croRNA

1.1 帕金森氏病

帕金森氏病 (Parkinson's disease, PD) 是中老年常见的神经系统退行性疾病, 主要症状为静止性震颤、运动迟缓和姿势平衡障碍等; 其病理表现为中脑黑质致密区多巴胺 (dopamine, DA) 能神经元进行性减少, 其中残留神经元的胞浆内出现嗜酸性包涵体 (Lewy 小体) 和 α -共核蛋白异常堆积。帕金森氏病的病因和发病机理目前尚不清楚, 但与遗传因素、环境因素有关。最近研究表明: microRNAs 与许多疾病的发生发展有关, 其中包括 PD。

1.2 MicroRNAs (MiRNAs)

MicroRNAs (MiRNAs) 是一类真核生物内源性的小分子单链 RNA, 长度为 18~25 nt, 通过与靶基

因 mRNA 3' 非编码区特异性的碱基配对, 能够引起靶 mRNA 的降解或翻译抑制, 从而对基因进行转录后表达调控。自最初在线虫中发现两个 miRNA 家族成员以来, 通过分子克隆和生物信息学等方法, 已在动物、植物、病毒及单细胞生物等鉴定出大约 1.8 万多种 miRNAs。MiRNAs 长度较短, 结构简单, 与干细胞分化及神经退行性疾病的发生发展密切相关, 在癌症、神经系统疾病等重大疾病治疗中具有治疗潜力。

在生物体内, miRNA 基因的生物合成过程首先是由 RNA 聚合酶 II (Pol II) 转录而生成含有茎

收稿日期: 2012-07-02; 修回日期: 2012-09-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(81160162)

*通信作者: E-mail: jiebai662001@yahoo.com.cn; Tel: 0871-5920761

环结构的初级 miRNA (primary miRNA, pri-miRNA)^[1]。Pri-miRNA 由 Droscha 酶处理成单个的 miRNA 前体 (recursor miRNA, pre-miRNA) 后, 在 exportin-5 作用下从细胞核转出到细胞质中^[2], 随后由 Dicer 酶切割加工成大约 22 nt 的 miRNA 双链体 (duplex)^[3]。双链体中的功能链进入 miRNA 诱导的沉默复合体 (miRNA-induced silencing complex, miRISC) 中, 通过碱基对相互作用指导复合物识别靶标分子的 3' 非翻译区 (3'untranslated regions, 3' UTRs), 对靶 mRNA 进行调控^[4]。随着 miRNAs 研究深入, 越来越多的研究表明, miRNAs 与帕金森病等多种神经退行性疾病有关^[5]。

2 MiRNAs作用机理和帕金森氏病

2.1 MiRNAs和 α -共核蛋白基因

α -共核蛋白在 PD 发病机理中具有重要作用^[6]。 α -共核蛋白过表达会导致神经元损伤和特定的多巴胺能神经细胞死亡, 导致 PD 特异性症状^[7]。 α -共核蛋白点突变和 α -共核蛋白表达增高都会增加 PD 的发病率。研究发现, miR-7^[8-9] 和 miR-153^[8,10] 可调节 α -共核蛋白的表达水平。miR-7 通过下调 α -共核蛋白表达来对抗氧化应激和神经元死亡, miR-153 可降低 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶 (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP) 所导致的 α -共核蛋白增加。由此可见, miRNAs 通过调节 α -共核蛋白表达水平影响多巴胺能神经元存活, 与 PD 发生过程密切相关, 因此, 可作为 PD 治疗的潜在靶点。然而, miRNAs 调节 α -共核蛋白的研究较少, 它们在 PD 发病中的分子机理还有待进一步研究。

2.2 MiRNAs和ROS

活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 及 Ca^{2+} 信号通路与多种神经系统疾病的发生有关^[11]。在阿尔茨海默病、亨廷顿病、帕金森病中, ROS 增加引起细胞外 Ca^{2+} 内流, 从而激活谷氨酸受体导致神经兴奋性毒性作用和细胞凋亡^[12]。ROS 增加和线粒体复合物 I 活性下降在 PD 发病机制中起着重要作用, 在 PD 小鼠模型中注射超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 类似物可以减轻 PD 小鼠的病理变化^[13]。在 PD 病理表现中, 杏仁核、黑质、小脑、前额叶中 miR-133b、miR-34b 和 miR-34c 表达下降。此外, 在分化的 SHSY-5Y 细胞中敲除 miR-34b、miR-34c, 伴随着线粒体功能改变、氧化应激产生和细胞死亡^[14]。所以, miRNAs 与神经细

胞的氧化应激及 PD 的发生密切相关。

2.3 MiRNAs在神经系统中的表达

在 Sanger 中心数据库中, 已有来自不同物种的 1.8 万多种 miRNAs, 其中 2 109 种为人源, 且大部分在脑组织中表达。在脑组织中, 大约有 20%~40% miRNAs 与脑发育相关; 某些家族 miRNAs 伴随大脑皮层发育过程中, 表达量发生显著变化, 进而时序性调控大脑发育。在小鼠脑发育过程中, miRNAs 的表达也有一定时序性; 在神经细胞分化过程中, 前体细胞中的 miRNAs 家族能有顺序的表达^[15]。对果蝇体内 miRNAs 靶基因的预测表明, 神经系统中的 miRNAs 可能与神经细胞的分化、神经的连接、细胞形态和黏附以及突触的可塑性有关。并且, 在哺乳动物神经元中, 一些 miRNAs 存在于翻译调控中介的多聚核糖体中。由此可见, miRNAs 的调控功能成为基因精确表达的翻译后调控机制^[16]。

2.4 MiRNAs在帕金森氏病中的表达

对 PD 病变组织和正常组织的总 miRNAs 进行反转录 PCR, 然后分析 miRNAs 表达情况。其中 224 个 miRNAs 前体中, pre-miR7-2、-99a、-130、-133b、-136、-224、-143 以及 pre-let7a-1 在脑部富集。与正常组织相比, pre-miR-133b 在 PD 病变组织中的表达下降了 83.3% 以上。其他几种在中脑表达水平较高的前体 miRNAs, 在 PD 组织中亦呈低表达, 如 pre-miR-218-2、-15b、-101-1、-107、-335、-345^[17]。相反, pre-miR-132 在 PD 病变脑组织表达上调了 70 多倍^[18]; 同样, miR-196a2^[19] 和 miR-433^[20] 也与 PD 密切相关。然而, miRNAs 下调可能是由于中脑多巴胺能神经元进行性减少造成的, 这些 miRNAs 如何参与 PD 发病过程还有待于进一步研究。

2.5 帕金森氏病中转录后调节的作用

在 PD 病理生理过程中, 转录后调控起着重要作用, DJ-1 基因的转录后调控与散发性 PD 有关^[21]。转录抑制因子 Thor, 即果蝇同源哺乳动物真核起始因子 4E-结合蛋白 (4E binding protein, 4E-BP), 亦与 PD 有关。在果蝇的实验中, 如果 4E-BP 表达增加, 则能抑制 *Parkin* 和 *PINK1* 基因突变所致 PD 表现及多巴胺能神经元退行性改变, 而且 4E-BP 的活性可以被富亮氨酸激酶 2 (leucine rich repeat kinase-2, LRRK2) 的显性突变所抑制^[22]。另有研究表明, LRRK2 具有磷酸化 4E-BP 的 T37/T46 位点的作用, 这一作用与多巴胺能神经元功能的维持密切相

关^[23]。此外, LRRK 还具有调节 miRNAs 表达的作用^[24]。这些研究表明转录后调控与 PD 密切相关。

2.6 MiRNAs 和多巴胺能神经元发育

多巴胺能神经元减少是 PD 发生的关键, 这为细胞代替治疗提供了理论基础^[25]。许多研究表明: miRNAs 有助于神经元和未成熟神经元的生存和分化, 但不适合神经前体细胞的早期阶段^[26]。在神经元分化过程中, miR-124 调节细胞骨架重建进而调节神经突触生长。miR-124 的表达影响了 RhoGTP 酶家族成员细胞分裂周期蛋白 42 (cell division cycle protein 42, Cdc42) 和 Rac1, 有组成活性的 Cdc42 和 Rac1 可以抵消 miRNAs 的促神经突触生长作用, 其中 miRNAs 是通过多聚嘧啶核苷酸结合蛋白 1 (polypyrimidine tract-binding protein 1, PTBP1) 影响 Cdc42 的选择性剪切活性^[27]。同样, miR-9 能改变体外培养的胚胎干细胞分化为神经元和胶质细胞的比例, Zhao 等^[28]发现电穿孔向胚胎内导入 miR-9 引发了神经元提前分化。

Dicer 酶在 miRNAs 生物合成中具有重要的作用。Kim 等^[18]在体外培养的胚胎干细胞 (embryonic stem cell, ES 细胞) 分化成多巴胺能神经元这一过程中, 抑制 Dicer 酶合成可使 miRNAs 完全缺失, ES 细胞分化成多巴胺能神经元或神经元受损。Dicer 酶缺失导致小鼠胚胎干细胞死亡, 并且抑制了细胞分化, 导致大量多巴胺能神经元缺失。此外, 小鼠源 miRNAs 能够促进 Dicer 酶缺失的多巴胺能神经元分化^[18]。在小鼠体内, 敲除 Dicer 导致中脑、小脑和下颞畸形。Dicer 缺失导致中脑中酪氨酸羟化酶阳性细胞几乎消失, 并且通过标记部分成熟的多巴胺能神经元实验证明, 多巴胺能神经元分化受到抑制^[29]。由此可见, miRNAs 在中脑多巴胺能神经元分化中起着重要作用。

Cuellar 等^[30]成功制作了多巴胺能神经元 Dicer 基因敲除小鼠的模型, 虽然该系小鼠可发育至成年, 但具有典型的 PD 样表现, 通过 DNA 杂交印迹技术 (southern blot) 实验发现, 在 10~12 周的该系小鼠新纹状体神经元中, miR-124a、miR-132 和 miR-134 表达明显减少, 特别是 miR-124a 在新纹状体中的表达近 90% 被抑制。由于新纹状体中 Dicer 酶的缺失, 导致了特定 miRNAs 表达减少, 从而促进了 PD 的发展。在哺乳动物神经元中, miR-124 抑制非神经元基因表达, 从而诱导神经再生^[31]。miR-124 除了对脑的形成发生有重要调节作用外, 还是脑中含量最丰富的 miRNAs 之一, 也是识别 3'UTR

端 miRNAs 中的最普遍元件之一^[32]。

已知 miR-133b 在中脑多巴胺能神经元特异表达, 在 PD 中脑黑质区 miR-133b 的表达缺失, 如果 miR-133b 的表达被抑制, 则导致 Pitx3 缺失状态下酪氨酸羟化酶和多巴胺转运体的活性不能诱导^[18], 这一研究证明了 miR-133b 在中脑多巴胺能神经元的重要作用。Wang 等^[33]对 729 个帕金森家庭中的 1 089 位帕金森患者和 1 165 位非帕金森个体的研究发现, 成纤维细胞生长因子 20 (fibroblast growth factor, FGF20) mRNA 3'UTR 端 miR-433 结合位点缺失可导致 FGF20 表达增加, 并且表现有 α -synuclein 表达增加, 表明 miR-433 可以负性调节 FGF20 表达, 从而抑制 PD 的发生和发展。

3 总结

综上所述, miRNAs 在多巴胺能神经元的分化、增殖、凋亡过程中起着重要作用, 与帕金森病的发生、发展密切相关。由此可见, miRNAs 在 PD 中的作用会越来越明显。由于 PD 的发病机制的复杂性, 以及 miRNAs 的表达亦受多种因子的调节, miRNAs 如何对 PD 发病的相关分子进行调节应需进一步深入研究。总之, miRNAs 其片段小, 结构简单, 容易合成, 因此, 通过其调节 PD 发病相关分子的表达很可能成为治疗 PD 的新策略。

[参 考 文 献]

- [1] Lee Y, Ahn C, Han J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature*, 2003, 425(6956): 415-9
- [2] Lund E, Güttinger S, Calado A, et al. Nuclear export of microRNA precursors. *Science*, 2004, 303(5654): 95
- [3] Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, et al. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature*, 2001, 409(6818): 363-6
- [4] Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*, 2009, 136(2): 215-33
- [5] Enciu AM, Popescu BO, Gheorghisan-Galateanu A. MicroRNAs in brain development and degeneration. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(3): 2243-52
- [6] Venda LL, Cragg SJ, Buchman VL, et al. α -Synuclein and dopamine at the crossroads of Parkinson's disease. *Trends Neurosci*, 2010, 33(12): 559-68
- [7] Mouradian MM. MicroRNAs in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*, 2012, 46(2): 279-84
- [8] Junn E, Lee KW, Jeong BS, et al. Repression of α -synuclein expression and toxicity by microRNA-7. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(31): 13052-7
- [9] Schmid RS, Graff RD, Schaller MD, et al. NCAM stimulates the Ras-MAPK pathway and CREB phosphoryla-

- tion in neuronal cells. *J Neurobiol*, 1999, 38(4): 542-58
- [10] Doxakis E. Post-transcriptional regulation of alpha-synuclein expression by mir-7 and mir-153. *J Biol Chem*, 2010, 285(17): 12726-34
- [11] Ermak G, Davies KJ. Calcium and oxidative stress: from cell signaling to cell death. *Mol Immunol*, 2002, 38(10): 713-21
- [12] Mattson MP. Excitotoxic and excitoprotective mechanisms. *Neuromol Med*, 2003, 3(2): 65-94
- [13] Chen P, Chen Z, Li A, et al. Catalytic metalloporphyrin protects against paraquat neurotoxicity *in vivo*. *Biomed Environ Sci*, 2008, 21(3): 233-8
- [14] Minones-Moyano E, Porta S, Escaramis G, et al. MicroRNA profiling of Parkinson's disease brains identifies early downregulation of miR-34b/c which modulate mitochondrial function. *Hum Mol Genet*, 2011, 20(15): 3067-78
- [15] Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Townsend M, et al. Microarray analysis of microRNA expression in the developing mammalian brain. *Genome Biol*, 2004, 5(9): R68
- [16] Kim J, Krichevsky A, Grad Y, et al. Identification of many microRNAs that copurify with polyribosomes in mammalian neurons. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(1): 360-5
- [17] Harraz MM, Dawson TM, Dawson VL. MicroRNAs in Parkinson's disease. *J Chem Neuroanat*, 2011, 42(2): 127-30
- [18] Kim J, Inoue K, Ishii J, et al. A MicroRNA feedback circuit in midbrain dopamine neurons. *Science*, 2007, 317(5842): 1220-4
- [19] Haixia D, Hairong D, Weixian C, et al. Lack of association of polymorphism in miRNA-196a2 with Parkinson's disease risk in a Chinese population. *Neurosci Lett*, 2012, 514(2): 194-7
- [20] Schmitt I, Wullner U, van Rooyen JP, et al. Variants in the 3'UTR of SNCA do not affect miRNA-433 binding and α -synuclein expression. *Eur J Hum Genet*, 2012 [Epub ahead of print]
- [21] Blackinton J, Kumaran R, van der Brug MP, et al. Post-transcriptional regulation of mRNA associated with DJ-1 in sporadic Parkinson disease. *Neurosci Lett*, 2009, 452(1): 8-11
- [22] Tain LS, Mortiboys H, Tao RN, et al. Rapamycin activation of 4E-BP prevents parkinsonian dopaminergic neuron loss. *Nat Neurosci*, 2009, 12(9): 1129-35
- [23] Imai Y, Gehrke S, Wang HQ, et al. Phosphorylation of 4E-BP by LRRK2 affects the maintenance of dopaminergic neurons in *Drosophila*. *EMBO J*, 2008, 27(18): 2432-43
- [24] Grunblatt E. Parkinson's disease: molecular risk factors. *Parkinsonism Relat Disord*, 2012, 18 Suppl 1: S45-8
- [25] Laguna Goya R, Kuan WL, Barker RA. The future of cell therapies in the treatment of Parkinson's disease. *Expert Opin Biol Ther*, 2007, 7(10): 1487-98
- [26] De Pietri Tonelli D, Pulvers JN, Haffner C, et al. MiRNAs are essential for survival and differentiation of newborn neurons but not for expansion of neural progenitors during early neurogenesis in the mouse embryonic neocortex. *Development*, 2008, 135(23): 3911-21
- [27] Makeyev EV, Zhang J, Carrasco MA, et al. The microRNA miR-124 promotes neuronal differentiation by triggering brain-specific alternative pre-mRNA splicing. *Mol Cell*, 2007, 27(3): 435-48
- [28] Zhao C, Sun G, Li S, et al. A feedback regulatory loop involving microRNA-9 and nuclear receptor TLX in neural stem cell fate determination. *Nat Struct Mol Biol*, 2009, 16(4): 365-71
- [29] Huang T, Liu Y, Huang M, et al. Wnt1-cre-mediated conditional loss of Dicer results in malformation of the midbrain and cerebellum and failure of neural crest and dopaminergic differentiation in mice. *J Mol Cell Biol*, 2010, 2(3): 152-63
- [30] Cuellar TL, Davis TH, Nelson PT, et al. Dicer loss in striatal neurons produces behavioral and neuroanatomical phenotypes in the absence of neurodegeneration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(14): 5614-9
- [31] Lim LP, Lau NC, Garrett-Engle P, et al. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. *Nature*, 2005, 433(7027): 769-73
- [32] Xie X, Lu J, Kulbokas EJ, et al. Systematic discovery of regulatory motifs in human promoters and 3' UTRs by comparison of several mammals. *Nature*, 2005, 434(7031): 338-45
- [33] Wang G, van der Walt JM, Mayhew G, et al. Variation in the miRNA-433 binding site of FGF20 confers risk for Parkinson disease by overexpression of α -synuclein. *Am J Hum Genet*, 2008, 82(2): 283-9