

DOI: 10.13376/j.cblls/2022124

文章编号: 1004-0374(2022)09-1116-10

## miRNAs靶向调控A $\beta$ 生成的机制研究进展

杞燕梅<sup>1</sup>, 苏建培<sup>2</sup>, 汪旭<sup>1</sup>, 郭锡汉<sup>1\*</sup>

(1 云南师范大学生命科学学院, 生物能源持续开发与利用教育部工程研究中心, 昆明 650500; 2 昆明市第二人民医院老年一科, 昆明 650500)

**摘要:** miRNAs 是一类内源性的、长度为 19~24 nt 的非编码 RNA, 可特异性地靶向基因并在转录后调控基因的表达, 在发育和组织内稳态中发挥重要的调节作用。近期, 越来越多的证据表明部分 miRNAs 的异常表达在衰老和阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 等神经退行性疾病中起关键作用。作为 AD 患者最显著的病理特征和 AD 发生发展的主导因素之一,  $\beta$  淀粉样蛋白 ( $\beta$ -amyloid protein, A $\beta$ ) 的大量产生与 miRNAs 的表达异常息息相关。A $\beta$  由淀粉样前体蛋白 (APP) 经  $\beta$ -分泌酶 (BACE1) 和  $\gamma$ -分泌酶 (其催化亚基为 PSEN1) 剪切而成。此外,  $\alpha$ -分泌酶 (ADAM10) 可与  $\beta$ -分泌酶竞争性剪切 APP, 从而抑制 A $\beta$  的产生。本文就靶向调控 *APP*、*BACE1*、*PSEN1* 和 *ADAM10* 基因表达的 miRNAs 及其作用机制的研究进展进行综述, 为今后探索 AD 的临床诊断手段和潜在的治疗靶点提供理论依据。

**关键词:** miRNAs; 淀粉样前体蛋白;  $\beta$ -分泌酶;  $\gamma$ -分泌酶;  $\alpha$ -分泌酶

**中图分类号:** R741 **文献标志码:** A

## Targeted regulation of A $\beta$ generation by miRNAs: the current advances

QI Yan-Mei<sup>1</sup>, SU Jian-Pei<sup>2</sup>, WANG Xu<sup>1</sup>, GUO Xi-Han<sup>1\*</sup>

(1 School of Life Science, Engineering Research Center of Sustainable Development and Utilization of Biomass Energy, Ministry of Education, Yunnan Normal University, Kunming 650500, China; 2 Department of Geriatrics, Kunming Second People's Hospital, Kunming 650500, China)

**Abstract:** The microRNAs (miRNAs), a class of endogenous non-coding RNAs with a length of 19-24 nt, can specifically bind to the mRNA of target genes and regulate the expression of target genes at the post-transcriptional level. Through fine tuning gene expression, miRNAs play critical roles in physiological development and tissue homeostasis. miRNAs expression significantly alters during cellular aging and neurodegeneration. Recently, increasing evidence has revealed some of the de-expressed miRNAs exert essential roles in aging and neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease (AD). As the most significant pathological feature of AD brain and a risk factor for AD initiation and development, increased production of  $\beta$ -amyloid protein (A $\beta$ ) is tightly associated with miRNA de-expression. A $\beta$  is produced from a stepwise cleavage of the amyloid precursor protein (APP), which is mediated by  $\beta$ -secretase (BACE1) and  $\gamma$ -secretase (its catalytic subunit PSEN1). In addition,  $\alpha$ -secretase (ADAM10) can compete with BACE1 to cleave APP, thereby reducing A $\beta$  production in this pathway. Herein, we summarize the miRNAs that can specifically target and regulate the expression of *APP*, *BACE1*, *PSEN1* and *ADAM10*, and discuss the underlying molecular mechanisms. Understanding this biological process may provide a framework to explore the potential clinical diagnostic methods and therapeutic targets for AD.

**Key words:** miRNAs; amyloid precursor protein;  $\beta$ -secretase;  $\gamma$ -secretase;  $\alpha$ -secretase

收稿日期: 2022-03-28; 修回日期: 2022-06-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(31860301, 31900410); 云南省基础研究计划(202001AU070055); 云南师范大学优秀青年学者项目

\*通信作者: E-mail: guo\_xihan@163.com

miRNAs是一种内源性的、长度为19~24 nt的非编码RNA,存在于从植物到动物的各类真核生物中,一般通过特异性识别靶基因mRNA的3'非翻译区(3'-UTR)上的互补序列,以转录后调控的方式调控基因表达。miRNAs生物合成包括:miRNAs基因在细胞核中转录为初级miRNAs(pri-miRNAs)并经过RNA聚合酶III切割成前体miRNAs(pre-miRNAs),后者通过核内转运蛋白exportin 5从细胞核输出到细胞质。pre-miRNAs与三体复合物(Dicer酶和双链RNA结合蛋白T在细胞质中相互作用,后被调节蛋白AGO2招募形成)结合后被切割成22 nt的双链miRNAs,后者在AGO2的作用下产生成熟的单链miRNAs。成熟的miRNAs主要通过两个途径参与转录后调控:(1)miRNAs与RISC(RNA沉默复合物)结合,靶向目的片段;(2)AGO2介导mRNA降解、抑制翻译起始和延伸<sup>[1]</sup>。

研究显示miRNAs在神经退行性疾病、心血管疾病、肿瘤等疾病的发生和发展中起着重要作用<sup>[2-4]</sup>。AD是一种最常见的神经退行性疾病,通常由轻度认知障碍(mild cognitive impairment, MCI)演变而来。AD表现为认知能力下降和记忆功能恶化,其主要病理特征为微管相关蛋白tau过度磷酸化形成的神经纤维缠结和A $\beta$ 过度沉积形成的淀粉样斑块<sup>[5]</sup>。A $\beta$ 级联假说<sup>[6]</sup>是目前AD发病的主流假说之一,该假说认为A $\beta$ 聚集是诱发AD的主要原因。在病理情况下,APP通过淀粉样生成途径降解,经 $\beta$ -分泌酶1(BACE1)和 $\gamma$ -分泌酶切割产生A $\beta$ 。

虽然近些年来A $\beta$ 级联假说遭到了挑战,但是近期一项利用单克隆抗体Donanemab特异性清除A $\beta$ 的临床试验表明,Donanemab可显著性减缓早期AD患者认知和日常功能衰退<sup>[7]</sup>,证实A $\beta$ 在AD的发生发展过程中可能发挥着决定性作用。因此,A $\beta$ 生成的分子过程、结构基础以及寻找可特异性抑制或调控A $\beta$ 生成的分子靶点成为AD领域的研究重点。本文系统性地介绍了参与调控A $\beta$ 生成的miRNAs及其相应的靶基因,可为今后AD的临床诊断治疗寻找潜在靶点提供理论依据。

## 1 APP及其降解产生A $\beta$ 的途径

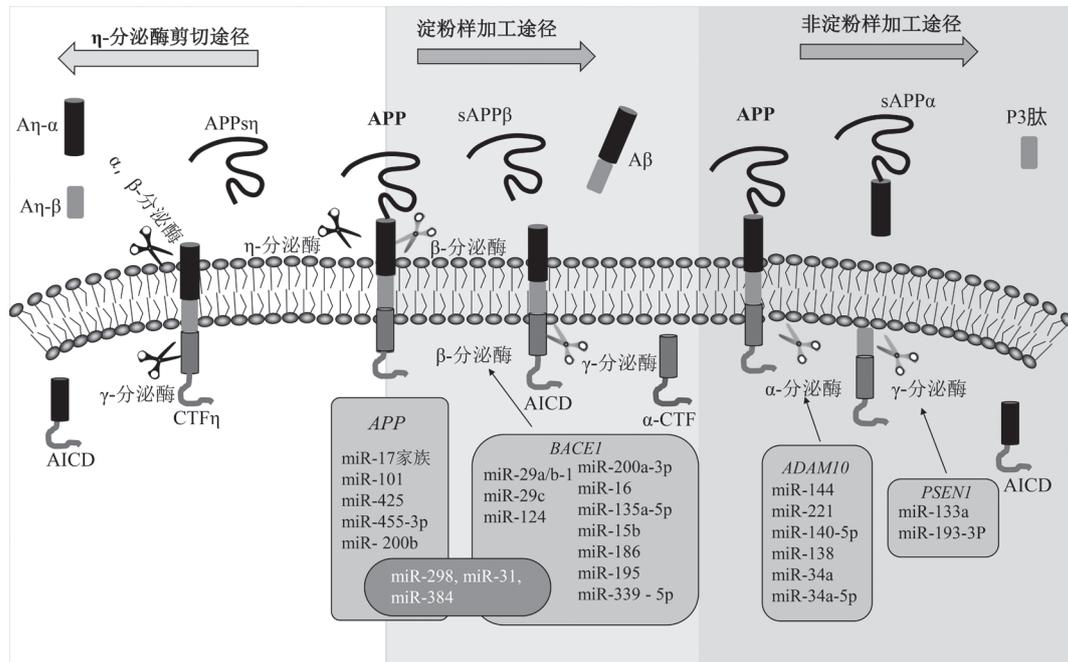
人类APP基因位于21号染色体q21.3,在大部分组织中均有表达<sup>[8]</sup>。在中枢神经系统中,神经元的轴突、星形胶质细胞以及少突胶质细胞的胞浆或胞膜上都有APP的表达<sup>[9]</sup>。APP主要通过两个途径降解,涉及三类不同的分泌酶: $\alpha$ -、 $\beta$ -和 $\gamma$ -分

泌酶(图1)。在非淀粉样生成途径下,APP被 $\alpha$ -分泌酶和 $\gamma$ -分泌酶加工产生可溶性C端片段 $\alpha$ ( $\alpha$ -CTF,又称C83)、APP胞内结构域(AICD)和p3肽;在淀粉样生成途径下,APP被 $\beta$ -分泌酶切割产生 $\beta$ -CTF(又称C99),后者被 $\gamma$ -分泌酶切割成AICD和A $\beta_{48/49}$ 。随后, $\gamma$ -分泌酶进一步从A $\beta_{48/49}$ 的C端进行修剪,产生大量可变长度的A $\beta$ (38~43个氨基酸),其中80%~90%为A $\beta_{40}$ ,5%~10%为A $\beta_{42}$ ,以及少量的A $\beta_{38}$ 和A $\beta_{43}$ <sup>[10]</sup>。A $\beta_{42}$ 较A $\beta_{40}$ 疏水性强,神经毒性高并且比A $\beta_{40}$ 聚集得更快。有研究者使用冷冻电镜解析了AD患者大脑中A $\beta_{42}$ 的高分辨率结构,发现A $\beta_{42}$ 具有两种不同的亚型:I型A $\beta_{42}$ 主要存在于在散发性AD中,II型A $\beta_{42}$ 在家族性AD中最常见<sup>[11]</sup>。

此外,Willem等<sup>[12]</sup>在APP胞外域中发现了一个 $\eta$ -分泌酶切割位点,经切割可释放出一个短的可溶性sAPP- $\eta$ 胞外域和APP-CTF $\eta$ 。APP-CTF $\eta$ 在细胞膜外的部分被 $\alpha$ -或 $\beta$ -分泌酶切割产生A $\eta$ - $\alpha$ 或A $\eta$ - $\beta$ 肽,其中A $\eta$ - $\alpha$ 具有强烈抑制海马神经元活动的作用,而CTF $\eta$ 在细胞膜的部分被 $\gamma$ -分泌酶剪切产生AICD<sup>[13]</sup>。研究表明抑制 $\beta$ -分泌酶的活性可降低A $\beta$ 的水平,进而使APP向 $\eta$ -分泌酶切割途径降解,造成海马神经元活性的减弱<sup>[12]</sup>。因此,在生理状态下APP的三种降解途径处于动态平衡中。

研究发现,miRNAs主要通过靶向调控APP、BACE1( $\beta$ -分泌酶)、PSEN1( $\gamma$ -分泌酶催化亚基)和ADAM10( $\alpha$ -分泌酶)的表达参与调控A $\beta$ 的生成。 $\alpha$ -分泌酶(又称ADAM10)在APP的 $\alpha$ 位点切割APP并产生分泌型胞外域sAPP $\alpha$ <sup>[14]</sup>。 $\beta$ -分泌酶(又称BACE1)是由501个氨基酸组成的I型跨膜天门冬氨酸酶,属于胃蛋白酶家族和逆转录病毒天门冬氨酸酶家族,在胰腺和脑神经元内表达量高,且脑内活性较强。而 $\gamma$ -分泌酶由PSEN1、APH-1、PEN-2和Nicastrin构成,主要参与APP和Notch等跨膜蛋白的剪切和降解过程。 $\gamma$ -分泌酶与AD的发生、发展密切相关:一方面其催化的是A $\beta$ 生成的终末阶段,另一方面它是决定A $\beta_{40}$ /A $\beta_{42}$ 比例的关键酶<sup>[15]</sup>。

在生理状态下,脑内A $\beta$ 的产生与清除保持动态平衡;在病理状态下,A $\beta$ 代谢发生异常而沉积于脑内,对已分化和成熟神经元具有显著的毒性作用<sup>[16-17]</sup>。因此,Hardy等<sup>[18-19]</sup>于1992年提出著名的A $\beta$ 级联假说,认为A $\beta$ 的大量聚集是诱发AD的主要原因。



APP通过三个途径降解,包括 $\eta$ -分泌酶剪切途径、非淀粉样生成途径、淀粉样生成途径。在 $\eta$ -分泌酶剪切途径下,APP被 $\eta$ -分泌酶切割释放APP $\eta$ 胞外域,该胞外域脱落后经 $\alpha$ -或 $\beta$ -分泌酶切割产生A $\eta$ - $\alpha$ 或A $\eta$ - $\beta$ 肽,而CTF $\eta$ 在细胞膜的部分被 $\gamma$ -分泌酶剪切产生AICD;在非淀粉样生成途径下,APP被 $\alpha$ -分泌酶和 $\gamma$ -分泌酶加工产生 $\alpha$ -CTF、AICD和P3肽;在淀粉样生成途径下,APP被 $\beta$ -分泌酶切割产生 $\beta$ -CTF,之后被 $\gamma$ -分泌酶切割成AICD和A $\beta$ 。

图1 miRNAs调控APP的切割过程示意图

## 2 调控APP表达的miRNAs

miRNAs对APP的调控方式主要为负调控。Hébert等<sup>[20]</sup>和Delay等<sup>[21]</sup>发现miR-17家族的miR-106b、miR-17-5p和miR-20a可在神经细胞系中靶向调控APP的表达,向N2a和SK-N-SH细胞以瞬时转染的方式过表达目标miRNAs可显著降低细胞内APP的水平,表明miR-17家族在神经元的发育和分化期间与APP之间存在着密切的关系。两个独立的研究表明,miR-101负向调控APP表达,且miR-101的高表达可减少大鼠海马神经元中A $\beta$ 的积累<sup>[22-23]</sup>。Hu等<sup>[24]</sup>发现miR-425的表达水平与AD患者不同脑区A $\beta$ 聚集呈负相关,这表明miR-425可能与APP加工和A $\beta$ 产生的负调控有关。进一步研究发现miR-425靶向调控APP,miR-425缺陷将激活APP的淀粉样蛋白加工途径,并导致小鼠突触可塑性受损和认知障碍。Kumar等<sup>[25]</sup>在N2a细胞中验证了miR-455-3p靶向调控APP。向N2a细胞共转染带有miR-455-3p和APP<sup>swe/ind</sup>基因的质粒,结果显示与对照组相比实验组APP蛋白表达降低,经ELISA检测分析发现实验组N2a细胞内A $\beta$ <sub>40</sub>、A $\beta$ <sub>42</sub>显著减少,表明miR-455-3p具有保护效应,可对

抗APP的异常加工,同时减少A $\beta$ 的生成量。

Liu等<sup>[26]</sup>分析了APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>ΔE9</sup>小鼠和野生型(C57BL/6J)小鼠海马的miRNAs表达谱,发现AD小鼠中miR-200b表达下调;他们在AD患者脑脊液中也发现miR-200b表达显著下调且miR-200b直接靶向APP;之后用A $\beta$ <sub>42</sub>处理SH-SY5Y细胞,发现A $\beta$ <sub>42</sub>可以下调miR-200b的表达,进而使得APP表达上升,最终增加A $\beta$ <sub>42</sub>生成。同年,该作者在SH-SY5Y细胞中发现过表达miR-193b可抑制APP表达,而miR-193b抑制剂可上调APP表达;同时,他们发现AD小鼠血样以及AD和MCI患者脑脊液中miR-193b均下降,且在AD患者脑脊液中miR-193b和A $\beta$ <sub>42</sub>呈负相关<sup>[27]</sup>。这些证据表明,通过靶向APP,miR-193b可能在AD的发生发展中起作用,提示miR-193b有可能成为一种新的、非侵袭性的、以血液为基础的AD生物标志物。

## 3 调控BACE1表达的miRNAs

研究表明衰老的人类、小鼠及大鼠的大脑内BACE1的表达和活性增加<sup>[23]</sup>。尽管BACE1表达的改变与AD发生风险相关,但是人们对BACE1表达调控AD病理过程的分子机制知之甚少。

在分子层面, miR-16、miR-135a-5p、miR-15b均通过靶向 *BACE1* 3'-UTR 而降低 AD 细胞模型中 A $\beta$  的积累<sup>[28-30]</sup>。Long 等<sup>[31]</sup>证明 miR-339-5p 通过靶向 *BACE1* 的 3'-UTR, 抑制人脑胶质母细胞瘤和人原代脑细胞培养物中 *BACE1* 的表达, 表明 miR-339-5p 可调节 *BACE1* 在人脑细胞中的表达, 向该培养物转染 miR-339-5p 模拟物后 A $\beta$  水平显著降低; 接着, 作者发现 miR-339-5p 在尸检的 AD 患者脑样本中表达下调, 提示 miR-339-5p 可能是控制 *BACE1* 表达和 A $\beta$  生成的内源性分子网络的主要参与者。miR-124 是哺乳动物神经系统中的一种特殊 miRNA, 其在正常的脑组织中表达丰富, 而在 AD 患者脑内其水平逐渐降低<sup>[32]</sup>。另外, An 等<sup>[33]</sup>证明 miR-124 靶向 *BACE1* 的 3'-UTR 抑制其表达, 而降低 miR-124 表达可显著提高神经元细胞的 *BACE1* 蛋白水平; 他们进一步研究发现 miR-124 的下调减轻了 A $\beta_{42}$  诱导的 SH-SY5Y 细胞的活力丢失和凋亡, 表明 miR-124 在 AD 模型细胞中是 *BACE1* 的强负性调节因子, 可能参与 AD 的发病机制。

在动物模型中, Zhu 等<sup>[34]</sup>用生物信息学的方法预测了 miR-195 可以靶向 *BACE1* 3'-UTR, 且该 miRNA 在 SAMP8 小鼠中负调控 *BACE1* 蛋白表达, 最终减少 A $\beta_{40}$  和 A $\beta_{42}$  的产生。Kim 等<sup>[35]</sup>为了确定在衰老大脑中特异表达的 miRNAs, 比较了 2、6、13、24 月龄的 C57BL/6J 小鼠大脑中的 100 个 miRNAs, 结果发现 13、24 月龄的小鼠与 2 月龄的小鼠相比, 大脑皮层中 miR-186 的表达下调; miR-186 在 3.5 月龄的 C57BL/6J 小鼠的多个脑亚区广泛表达, 且与星形胶质细胞相比 miR-186 在神经元中的表达相对较高, 表明 miR-186 可能在神经元中有突出的作用; 进一步研究发现 miR-186 可以靶向 *BACE1*, 向 7PA2-*APP*<sup>swE</sup> 细胞转染 miR-186 模拟物后 *BACE1* 和 A $\beta$  表达量显著降低。该结果表明在衰老过程中, miR-186 水平的降低可能导致大脑中 *BACE1* 蛋白的上调, 从而通过增加 A $\beta$  而提高个体的 AD 风险。此外, Wang 等<sup>[36]</sup>在 *APP*<sup>swE</sup>/*PSEN1*<sup>ΔE9</sup> 小鼠、SH-SY5Y-*APP*<sup>swE</sup> 细胞、SAMP8 小鼠和 AD 患者血液中均观察到 miR-200a-3p 的表达相比于对照组显著下调。向 SH-SY5Y-*APP*<sup>swE</sup> 细胞转染 miR-200a-3p 模拟物, 发现 miR-200a-3p 抑制了 A $\beta_{42}$  的产生。进一步研究发现 miR-200a-3p 通过靶向 *BACE1* 降低 A $\beta_{42}$  过度产生, 从而发挥神经保护作用。

miR-29 家族由 miR-29a、miR-29b、miR-29c 组成。Hébert 等<sup>[37]</sup>研究了散发性 AD 患者前颞叶皮

质 miRNAs 表达谱, 发现 AD 患者大脑中 miR-29 和 miR-9 表达下调。他们用 HEK293-*APP*<sup>swE</sup> 细胞证明 miR-29a/b-1 与 *BACE1* 3'-UTR 相结合, 抑制 miR-29a/b-1 表达将增加内源性 *BACE1* 蛋白水平, 导致 A $\beta$  沉积。体外实验也表明 miR-29a/b-1 靶向 *BACE1* 3'-UTR 并且抑制 *BACE1* 的表达<sup>[38-39]</sup>。Zong 等<sup>[40]</sup>发现 miR-29c 在 *APP*<sup>swE</sup>/*PSEN1*<sup>ΔE9</sup> 小鼠脑内高表达, 而向 SH-SY5Y 和 HEK 293T 细胞中过表达 miR-29c 后, *BACE1* 的表达显著下调。在 miR-29c 过表达小鼠中, *BACE1* 表达量也显著下调, 且 miR-29c 转基因小鼠大脑皮质原代培养物中的 A $\beta_{40}$  显著低于正常小鼠。Lei 等<sup>[41]</sup>研究发现 miR-29c 的表达在 AD 患者体内明显下调, 并在转染了 miR-29c 模拟物的 SH-SY5Y 细胞中证实 miR-29c 与 *BACE1* 3'-UTR 结合使后者表达降低, 从而减少 A $\beta$  生成。以上结果提示, miR-29 家族可能是 *BACE1* 蛋白表达的内源性调节因子。

## 5 共同调控 *APP* 和 *BACE1* 表达的 miRNAs

Chopra 等<sup>[42]</sup>证明了 miR-298 可靶向 *APP* 和 *BACE1*, 向人脑混合培养物转染 miR-298 模拟物可显著降低 A $\beta_{40}$  和 A $\beta_{42}$  生成量。Barros-Viegas 等<sup>[43]</sup>发现 AD 患者大脑中 miR-31 显著降低, 并且验证了 miR-31 靶向 *APP* 和 *BACE1* 3'-UTR; 作者将 miR-31 前体序列在 HEK293、HT-22 细胞中过表达, 发现 *APP* 和 *BACE1* 表达均有所降低。为了探究体内过表达 miR-31 是否可以改善 AD 动物模型的认知缺陷, 将过表达 miR-31 的慢病毒载体定向注射到 13 月龄的 3 × Tg-AD (*PSEN1*<sup>M146V</sup>、*APP*<sup>swE</sup>、*Tau*<sup>P301L</sup>) 雌鼠海马区, 4 个月后经 T-迷宫等行为学测试发现 miR-31 过表达组小鼠的认知能力有所改善, 且免疫组化分析发现过表达 miR-31 显著减少了小鼠海马和下丘脑 A $\beta_{42}$  的沉积, 表明 miR-31 介导的 *APP* 和 *BACE1* 的调节可能成为治疗 AD 的方法之一。Liu 等<sup>[44]</sup>发现 MCI 和 AD 患者血浆中的 miR-384 水平与对照组相比显著降低。基于此, 他们在 HEK293 细胞中验证了 miR-384 靶向 *APP* 和 *BACE1*, 而在 SH-SY5Y 细胞中过表达 miR-384 可抑制 *APP* 和 *BACE1* 的表达。同时, 他们发现 AD 患者血清和脑脊液中 miR-384 与 A $\beta_{42}$  呈负相关, 提示 miR-384 可能参与 AD 患者脑内 A $\beta_{42}$  的产生。

## 6 调控 *PSEN1* 表达的 miRNAs

miRNA 与 *PSEN1* 的之间研究目前还处于起步

阶段,主要集中在肿瘤方面。例如,Chen等<sup>[45]</sup>发现 miR-133a 靶向 *PSENI* 抑制胃癌细胞生长、迁移和上皮-间充质转化的过程。Deng等<sup>[46]</sup>证明 miR-193a-3p 通过调节 *PSENI* 基因的表达可抑制膀胱癌的多重耐药。而在神经系统和 AD 领域,靶向调控 *PSENI* 的 miRNAs 尚未见报道。

## 7 调控 *ADAM10* 表达的 miRNAs

因为 APP 的淀粉样生成途径和非淀粉样生成途径是一个相互竞争的过程(图 1),通过提高  $\alpha$ -分泌酶的表达使 APP 主要通过非淀粉样生成途径被降解,从而竞争性地减少 A $\beta$  产生已成为 AD 研究的重要内容<sup>[47]</sup>。在 AD 患者中,ADAM10 表达降低与 A $\beta$  的增多和聚集相关,但是其分子机制尚不明确。

Manzine等<sup>[48]</sup>分析了 AD 患者和对照个体血液中 700 个 miRNAs,发现 AD 患者大脑中 miR-144-5p、miR-221 和 miR-374 表达下调,且这三个 miRNAs 靶向调控 *ADAM10*。其中,过表达 miR-221 的 SH-SY5Y 细胞内 ADAM10 蛋白水平降低,而降低 miR-221 的表达则可增加 ADAM10 蛋白水平。Sun等<sup>[49]</sup>证明 miR-144 靶向调节 *ADAM10*:在 N2a 细胞中表达和敲低 miR-144 后,蛋白质印迹显示过表达组细胞内 ADAM10 表达水平显著低于对照组,敲低组结果反之。此外,在 N2a 细胞中过表达或敲低 *ADAM10* 可显著减少或增加 A $\beta_{42}$ 。综合两个实验表明 miR-144 通过上调 ADAM10 的表达促进 A $\beta_{42}$  的积累,从而诱导认知功能障碍。Cheng等<sup>[50]</sup>证明 miR-144 是一种 ADAM10 负调节因子,miR-144 的上调导致 ADAM10 蛋白的表达降低而产生更多的 A $\beta$ ,提示 miR-144、*ADAM10* 和 A $\beta$  之间存在一种反馈调控机制。

Akhter等<sup>[51]</sup>发现 AD 患者死后大脑中的 miR-140-5p 表达增多;同时,作者证明了 miR-140-5p 靶向 *ADAM10* 的 3'-UTR,从而降低其表达。Lu等<sup>[52]</sup>在 *APP<sup>swE</sup>/PSENI<sup>ΔE9</sup>* 小鼠中发现 miR-138 的水平随着年龄依赖性升高,同时发现 miR-138 可抑制该小鼠的 ADAM10 表达,促进 A $\beta_{42}$  的产生,并诱发突触功能下降和增加学习记忆障碍。Cosin-Tomá等<sup>[53]</sup>发现 miR-34a-5p 与脑脊液中 A $\beta_{42}$  水平呈显著正相关。Sarkar等<sup>[54]</sup>证实了 miR-34a 靶向调节 *ADAM10*,miR-34a 过表达小鼠的 ADAM10 表达下降,并且出现严重的认知障碍。

## 8 AD 患者血液中调节 A $\beta$ 生成的 miRNAs 表达发生改变

由于传统的脑脊液检测等方法对患者的创伤较大,在 AD 早期阶段或 AD 的诊断和治疗中找到一种低创且可靠的 AD 生物标志物至关重要。研究发现,miRNAs 在中枢神经系统中大量表达且表现出高度的时间和空间特异性,主要与神经细胞形成、分化和突触可塑性有关<sup>[38]</sup>。一些研究表明含有 miRNAs 的微囊泡可以通过血脑屏障进入外周血<sup>[39]</sup>。同时,有证据证明 miRNAs 在血液中稳定表达,且血源性的 miRNAs 可作为一种非侵入性生物标志物,适用于各类病理状态(包括 AD)<sup>[40]</sup>。Serpente等<sup>[55]</sup>分离了 AD 患者神经来源的血浆微囊泡并鉴定了其中 754 种 miRNAs,发现其中 miR-23a-3p、miR-223-3p 和 miR-190a-5p 水平与对照组比较显著上调,而 miR-100-3p 水平显著下调。

AD 特异表达的 miRNAs 与 A $\beta$  成像技术的结合是未来十分有前景的非侵入性的 AD 诊断工具。例如,Vergallo等<sup>[56]</sup>发现靶向 *BACE1* 的 miR-15b,其在外周血中的含量与认知正常个体大脑 A $\beta$  含量成负相关,提示 miR-15b 具有作为 AD 临床筛查的标志物的潜能。一项 AD 患者血清分析研究结果表明,由 12 种 miRNAs 组成的循环 miRNAs 频谱对 AD 诊断的准确率高达 85.7%<sup>[57]</sup>。Hajri等<sup>[58]</sup>比较了对照组和 AD 组血浆中的 miR-4422 和 miR-3714 的表达量,结果显示与对照组相比,AD 组 miR-4422 显著下降;同时,他们发现 miR-4422 可靶向 *BACE1*,降低 miR-4422 将增加 A $\beta$  的生成量。

综上所述,靶向调控 A $\beta$  生成的 miRNAs 在 AD 患者外周血中均存在明显的表达改变(表 1),提示这些特异性的 miRNAs 可作为一类潜在的早期 AD 诊断和风险评估标志物。

## 9 基于靶向 A $\beta$ 生成的 miRNAs 所开展的临床前试验

Barros-Viegas等<sup>[43]</sup>用 3×Tg-AD 小鼠进行临床前试验,他们将慢病毒包装的 miR-31 过表达质粒注射到小鼠海马区,发现试验组小鼠 A $\beta$  的沉积显著减少,且行为学测试结果表明 miR-31 过表达组小鼠的认知能力有所改善。Zhang等<sup>[59]</sup>的相似研究证明 miR-188-3p 靶向 *BACE1* 并使其表达降低:向 5×FAD 小鼠 (*APP<sup>K670N/M671L</sup>*、*APP<sup>D716V</sup>* 和 *APP<sup>V717I</sup>* 以及 *PSENI<sup>M146L</sup>* 和 *PSENI<sup>L286V</sup>*) 海马区注射过表达 miR-

188-3p的慢病毒, 8周后, 5 $\times$ FAD小鼠海马中 miR-188-3p的含量持续上升, 且通过抑制 *BACE1* 的表达降低了小鼠脑内总 A $\beta$  和 A $\beta_{42}$  浓度; 为确定 miR-188-3p 的过度表达是否能够改善空间学习和记忆, 作者进行了 Morris 水迷宫测试, 结果显示过表达 miR-188-3p 的小鼠在水迷宫试验中认知能力明显改善, 提示 miR-188-3p 可能具有改善 AD 患者认知功能的作用。此项研究具有重要的意义, 为以后将其他靶向调控 A $\beta$  生成的 miRNAs 用于临床前试验甚至临床试验奠定了基础。

## 10 总结与展望

AD 是一种最常见的与年龄相关的神经退行性疾病, 其发病机制复杂且目前尚未揭示。A $\beta$  级联假说作为主流假说之一, 解析 A $\beta$  沉积机制且降低其表达成为研究 AD 的核心。靶向调控 A $\beta$  生成已然成为 miRNAs 调节 AD 发生和发展的作用机制之一。本文重点总结了可直接靶向调控 A $\beta$  生成通路关键基因的 miRNAs。

当前, 大部分研究还停留在细胞和动物中的分子机制研究, 少部分开展了临床前试验。目前, 尚未有研究将靶向调控 A $\beta$  生成的 miRNAs 运用于临床试验, 这可能是因为: (1) 尚未找到在生物流体中的表达水平可代表脑组织水平的 miRNAs, 分析脑组织样本中 miRNAs 表达水平存在一定的困难, 一般通过脑活检或是在 AD 患者去世后才能获得, 而脑活检损伤较大, miRNAs 在死后个体大脑中的半衰期相对较短 (只有 1~3 h<sup>[60]</sup>); (2) 因单个 miRNA 能同时调节多个靶基因 (最多达数百个), 目前并没有大的病例对照筛选并鉴定出具有 AD 特异性的 miRNAs; (3) 缺乏可高效地将 miRNAs 输送到靶器官且保持其活性的方法。最近的一项研究在诱导 A $\beta$  病理的大鼠模型中使用工程外泌体传递 miR-29, 显示出小鼠记忆缺陷显著改善<sup>[61]</sup>。然而, 该方法在人体中是否同样适用还需进一步探究。

近年来, 大量研究表明 miRNAs 表达失调与 A $\beta$  沉积增加和清除受损紧密相关, 而 miRNAs 在人循环系统中可被检测到。因此, 将 miRNAs 作为 AD 诊断过程的生物标志物备受关注。不同研究团队的数据之间存在很大差异, 包括缺乏标准的方法学, AD 脑组织和生物流体中 miRNAs 表达存在显著的异质性、复杂性, 且大部分研究都是小样本量的研究。如何从已有的数据中提取有效信息, 使其为 AD 的预测、评估、诊断服务是亟需解决的问题

之一。此外, 目前仅有一项研究试图寻找可用于预测 MCI 转化为 AD 的特异性 miRNAs<sup>[62]</sup>。因此, 应在这方面继续投入研究力量来进一步挖掘 miRNAs 的临床应用潜能。

除此之外,  $\gamma$ -分泌酶、 $\eta$ -分泌酶作为 APP 降解过程中的重要限速酶, miRNAs 参与调控这两个酶的研究尚未报道。AD 作为一种发病机制复杂的疾病, 对参与 A $\beta$  生成相关的酶及其相关调控因子进行深入研究具有重要意义。另外, 大量靶向调控 A $\beta$  生成的 miRNAs 在 AD 患者中表现出上调或下调 (表 1), 但其分子机制仍不明确。lncRNAs、circRNAs、假基因及 mRNAs 作为 miRNAs 的海绵发挥作用。有证据表明 lncRNA 参与 AD 的病理过程, 包括 A $\beta$  的生成、神经纤维缠结、突触的丢失和神经元的死亡<sup>[63]</sup>。系统性研究 lncRNA-miRNA-mRNA 互作网络将更好地解析 AD 发病机制及治疗策略。因此, lncRNAs 是否调控靶向 A $\beta$  生成的 miRNAs 将成为 AD 研究的一个新方向。

此外, miRNAs 的生物合成、释放和摄取可能与转运所需的外泌体复合物相关, 且已从外泌体中鉴定出 miRNAs (即外泌体 miRNAs)。外泌体被邻近或远处的细胞摄取, 其内部的 miRNAs 可调节或干扰细胞微环境<sup>[64]</sup>。由于外泌体可以穿过血脑屏障, 携带促炎因子和 miRNAs 的外泌体可以进入大脑并被小胶质细胞接收导致小胶质细胞活化, 进而加剧炎症<sup>[65]</sup>。一些外泌体 miRNAs 可以靶向调控与 APP 加工、tau 磷酸化, 以及线粒体和凋亡相关的基因, 从而调节神经退行性疾病的发生发展<sup>[66]</sup>。再者, 外泌体中也发现了 A $\beta$ <sup>[67]</sup>, 且外泌体可以在神经元和神经胶质细胞之间转运 A $\beta$  或 tau、细胞因子、miRNAs, 并改变受体细胞的生理机能以及调节 A $\beta$  清除和突触活动<sup>[65]</sup>。因此, 探究外泌体 miRNAs 是否参与调控 A $\beta$  的生成, 有助于人们全方位理解 miRNAs 调节 A $\beta$  的机制。

值得注意的是, 部分 miRNAs 虽然没有直接靶向调控该通路, 但是也被发现与 A $\beta$  含量密切相关。例如, miRNA-132 的直接靶基因是 *SIRT1*, 但是它可以间接抑制 A $\beta$  产生, 并且 AD 患者大脑组织中 miRNA-132 表达量与 A $\beta$  含量呈负相关<sup>[68]</sup>。将 miR-132 模拟物注射到 *APP<sup>NL-GF/NL-GF</sup>* 小鼠脑室, 可诱导海马体齿状回区神经细胞增殖和分化并显著改善小鼠的记忆<sup>[69]</sup>。由于 A $\beta$  可抑制神经发生, miR-132 是否通过降低 A $\beta$  改善 AD 小鼠神经发生值得进一步深入研究。

表1 参与调控A $\beta$ 生成的miRNAs相关研究结果总结

miRNAs	靶基因	对A $\beta$ 生成的影响			实验模型	AD患者中miRNA的表达变化	参考文献
		A $\beta$ <sub>40</sub>	A $\beta$ <sub>42</sub>	总A $\beta$			
miR-17家族 (miR-17、miR-17-5p、miR-106b、miR-20a)	<i>APP</i>	-	-	-	HEK 293T细胞、HeLa细胞、N2a细胞、SK-N-SH细胞	miR-106b↓	[21]
miR-101	<i>APP</i>	-	-	↓	大鼠海马神经元、HeLa细胞、HEK293T细胞、U373细胞、SK-N-SH细胞、PC12细胞、NT2/D1神经元、C57BL/6N小鼠、SH-SY5Y细胞	-	[22-23]
miR-425	<i>APP</i>	↓	-	-	PC12细胞、 <i>APP</i> <sup>swc</sup> / <i>PSEN1</i> <sup>ΔE9</sup> 小鼠、miR-425 <sup>+/-</sup> 小鼠	↓	[24]
miR-455-3p	<i>APP</i>	↓	↓	-	N2a细胞	-	[25]
miR-200b	<i>APP</i>	-	↓	-	<i>APP</i> <sup>swc</sup> / <i>PSEN1</i> <sup>ΔE9</sup> 小鼠、SH-SY5Y细胞、HEK293细胞	↓	[26]
miR-193b	<i>APP</i>	-	↓	-	SH-SY5Y细胞、 <i>APP</i> <sup>swc</sup> / <i>PSEN1</i> <sup>ΔE9</sup> 小鼠	↓	[27]
miR-16	<i>BACE1</i>	-	-	↓	PC12细胞、N2a细胞、HEK293细胞	-	[28]
miR-135a-5p	<i>BACE1</i>	-	-	↓	<i>APP</i> <sup>swc</sup> / <i>PSEN1</i> <sup>ΔE9</sup> 小鼠、C57BL/6J小鼠	-	[29]
miR-339-5p	<i>BACE1</i>	↓	↓	-	HeLa细胞、U373 MG细胞、原代人胎脑混合细胞、U373细胞	↓	[30]
miR-195	<i>BACE1</i>	↓	↓	-	SAMP8小鼠、SAMR1小鼠、HEK293细胞、N2a细胞、N2a- <i>APP</i> <sup>swc</sup> 细胞	-	[34]
miR-186	<i>BACE1</i>	-	-	↓	N2a细胞、7PA2细胞、野生型C57BL/6J小鼠	-	[35]
miR-200a-3p	<i>BACE1</i>	↓	-	-	<i>APP</i> <sup>swc</sup> / <i>PSEN1</i> <sup>ΔE9</sup> 小鼠、HEK293细胞SH-SY5Y- <i>APP</i> <sup>swc</sup> 细胞、SAMP8小鼠	↓	[36]
miR-298	<i>APP</i> 、 <i>BACE1</i>	↓	↓	-	U373细胞、人脑原代混合培养物	↓	[42]
miR-31	<i>APP</i> 、 <i>BACE1</i>	-	↓	-	3×Tg-AD ( <i>PSEN1</i> <sup>M146V</sup> 、 <i>APP</i> <sup>swc</sup> 、 <i>Tau</i> <sup>P301L</sup> ) 雌鼠、HT-22细胞、SH-SY5Y细胞	↓	[43]
miR-384	<i>APP</i> 、 <i>BACE1</i>	-	↓	-	HEK293细胞、SH-SY5Y细胞、 <i>APP</i> <sup>swc</sup> / <i>PSEN1</i> <sup>ΔE9</sup> 小鼠	-	[44]
miR-34a	<i>ADAM10</i>	-	-	↑	<i>miR-34a</i> <sup>+/-</sup> 小鼠	↑	[53]
miR-34a-5p	<i>ADAM10</i>	-	↑	-	AD患者血浆、脑脊液	↑	[54]

注：“↑”表示上调，“↓”表示下调，“-”表示无相关数据

编码 miRNAs 的基因突变、基因多态性可影响 miRNAs 的靶点进而增加患 AD 的风险<sup>[70]</sup>。然而，只有少部分研究者把焦点聚集到 miRNAs 本身。例如，Chopra 等<sup>[42]</sup>发现 miR-298 靶向调控 *APP* 和 *BACE1*，从而降低人脑混合培养物中 A $\beta$ <sub>40</sub> 和 A $\beta$ <sub>42</sub> 的表达量。进一步研究发现，位于 miR-298 前体序列下游 1.9-kb 的单核苷酸多态性位点 rs79259988 与个体脑脊液中 A $\beta$ <sub>42</sub> 浓度降低密切相关。这就提示，聚焦 miRNAs 基因本身或许可为解析 miRNAs 在个体间表达差异的原因及其在 AD 中的作用机制开辟新方向。

#### [参 考 文 献]

- [1] Cao T, Zhen XC. Dysregulation of miRNA and its potential therapeutic application in schizophrenia. *CNS Neurosci Ther*, 2018, 24: 586-97
- [2] Hébert SS, Papadopoulou AS, Smith P, et al. Genetic ablation of *Dicer* in adult forebrain neurons results in abnormal tau hyperphosphorylation and neurodegeneration. *Hum Mol Genet*, 2010, 19: 3959-69
- [3] Schonrock N, Matamales M, Ittner LM, et al. MicroRNA networks surrounding APP and amyloid- $\beta$  metabolism -- implications for Alzheimer's disease. *Exp Neurol*, 2012, 235: 447-54
- [4] Shin D, Shin JY, Mcmanus MT, et al. *Dicer* ablation in oligodendrocytes provokes neuronal impairment in mice.

- Ann Neurol, 2009, 66: 843-57
- [5] Masters CL, Bateman R, Blennow K, et al. Alzheimer's disease. Nat Rev Dis Primers, 2015, 1: 15056
- [6] Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. Science, 2002, 297: 353-6
- [7] Mintun MA, Lo AC, Duggan Evans C, et al. Donanemab in early Alzheimer's disease. N Engl J Med, 2021, 384: 1691-704
- [8] Nalivaeva NN, Turner AJ. The amyloid precursor protein: a biochemical enigma in brain development, function and disease. FEBS Lett, 2013, 587: 2046-54
- [9] Xu DE, Zhang WM, Yang ZZ, et al. Amyloid precursor protein at node of Ranvier modulates nodal formation. Cell Adh Migr, 2014, 8: 396-403
- [10] 严敏, 汪旭, 郭锡汉. 早老蛋白1功能缺失性突变导致家族性阿尔茨海默病的研究进展. 浙江大学学报(医学版), 2020, 49: 13
- [11] Yang Y, Arseni D, Zhang W, et al. Cryo-EM structures of amyloid- $\beta$  42 filaments from human brains. Science, 2022, 375: 167-72
- [12] Willem M, Tahirovic S, Busche MA, et al.  $\eta$ -Secretase processing of APP inhibits neuronal activity in the hippocampus. Nature, 2015, 526: 443-7
- [13] Ludewig S, Korte M. Novel insights into the physiological function of the APP (gene) family and its proteolytic fragments in synaptic plasticity. Front Mol Neurosci, 2016, 9: 161
- [14] Saftig P, Lichtenthaler SF. The  $\alpha$  secretase ADAM10: a metalloprotease with multiple functions in the brain. Prog Neurobiol, 2015, 135: 1-20
- [15] Sheng B, Gong K, Niu Y, et al. Inhibition of  $\gamma$ -secretase activity reduces A $\beta$  production, reduces oxidative stress, increases mitochondrial activity and leads to reduced vulnerability to apoptosis: implications for the treatment of Alzheimer's disease. Free Radic Biol Med, 2009, 46: 1362-75
- [16] Guo Z, Chen Y, Mao YF, et al. Long-term treatment with intranasal insulin ameliorates cognitive impairment, tau hyperphosphorylation, and microglial activation in a streptozotocin-induced Alzheimer's rat model. Sci Rep, 2017, 7: 45971
- [17] Kanekiyo T, Liu CC, Shinohara M, et al. LRP1 in brain vascular smooth muscle cells mediates local clearance of Alzheimer's amyloid- $\beta$ . J Neurosci, 2012, 32: 16458-65
- [18] Hardy J, Allsop D. Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. Trends Pharmacol Sci, 1991, 12: 383-8
- [19] Hardy J A, Higgins GA. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. Science, 1992, 256: 184-5
- [20] Hébert SS, Horré K, Nicolai L, et al. MicroRNA regulation of Alzheimer's amyloid precursor protein expression. Neurobiol Dis, 2009, 33: 422-8
- [21] Delay C, Calon F, Mathews P, et al. Alzheimer-specific variants in the 3'UTR of amyloid precursor protein affect microRNA function. Mol Neurodegener, 2011, 6: 70
- [22] Long JM, Lahiri DK. MiR-101 downregulates Alzheimer's amyloid- $\beta$  precursor protein levels in human cell cultures and is differentially expressed. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 404: 889-95
- [23] Vilardo E, Barbato C, Ciotti M, et al. MiR-101 regulates amyloid precursor protein expression in hippocampal neurons. J Biol Chem, 2010, 285: 18344-51
- [24] Hu YB, Zhang YF, Ren RJ, et al. microRNA-425 loss mediates amyloid plaque microenvironment heterogeneity and promotes neurodegenerative pathologies. Aging Cell, 2021, 20: e13454
- [25] Kumar S, Reddy AP, Yin X, et al. Novel miR-455-3p and its protective effects against abnormal APP processing and amyloid  $\beta$  toxicity in Alzheimer's disease. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2019, 1865: 2428-40
- [26] Liu CG, Wang JL, Li L, et al. MiR-135a and -200b, potential Biomarkers for Alzheimer's disease, regulate  $\beta$  secretase and amyloid precursor protein. Brain Res, 2014, 1583: 55-64
- [27] Liu CG, Song J, Zhang YQ, et al. MiR-193b is a regulator of amyloid precursor protein in the blood and cerebrospinal fluid derived exosomal miR-193b is a biomarker of Alzheimer's disease. Mol Med Rep, 2014, 10: 2395-400
- [28] Zhong Z, Yuan K, Tong X, et al. MiR-16 attenuates  $\beta$ -amyloid-induced neurotoxicity through targeting  $\beta$ -site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1 in an Alzheimer's disease cell model. Neuroreport, 2018, 29: 1365-72
- [29] Li J, Wang H. MiR-15b reduces amyloid- $\beta$  accumulation in SH-SY5Y cell line through targetting NF- $\kappa$ B signaling and BACE1. Biosci Rep, 2018, 38: BSR20180051
- [30] 丁宇, 田密, 刘建锋等. *APP<sup>w/e</sup>/PS <sup>$\Delta$ E9</sup>*双转基因小鼠脑组织miRNA的表达. 南方医科大学学报, 2012, 32: 1280-1284
- [31] Long JM, Ray B, Lahiri DK. MiR-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 Biol Chem, 2014, 289: 5184-98
- [32] Krichevsky AM, King KS, Donahue CP, et al. A microRNA array reveals extensive regulation of microRNAs during brain development. RNA, 2003, 9: 1274-81
- [33] An F, Gong G, Wang Y, et al. MiR-124 acts as a target for Alzheimer's disease by regulating BACE1. Oncotarget, 2017, 8: 114065-71
- [34] Zhu HC, Wang LM, Wang M, et al. MiR-195 downregulates Alzheimer's disease amyloid- $\beta$  production by targeting *BACE1*. Brain Res Bull, 2012, 88: 596-601
- [35] Kim J, Yoon H, Chung DE, et al. MiR-186 is decreased in aged brain and suppresses BACE1 expression. J Neurochem, 2016, 137: 436-45
- [36] Wang L, Liu J, Wang Q, et al. MiR-200a-3p mediates neuroprotection in Alzheimer-related deficits and attenuates amyloid-beta overproduction and tau hyperphosphorylation via coregulating BACE1 and PRKACB. Front Pharmacol, 2019, 10: 806

- [37] Hébert SS, Horr  K, Nicolai L, et al. Loss of microRNA cluster miR-29a/b-1 in sporadic Alzheimer's disease correlates with increased BACE1/ $\beta$ -secretase expression. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105: 6415-20
- [38] Deng Y, Ding Y, Hou D. Research status of the regulation of miRNA on BACE1. *Int J Neurosci*, 2014, 124: 474-7
- [39] Kole AJ, Swahari V, Hammond SM, et al. MiR-29b is activated during neuronal maturation and targets BH3-only genes to restrict apoptosis. *Genes Dev*, 2011, 25: 125-30
- [40] Zong Y, Wang H, Dong W, et al. MiR-29c regulates BACE1 protein expression. *Brain Res*, 2011, 1395: 108-15
- [41] Lei X, Lei L, Zhang Z, et al. Downregulated miR-29c correlates with increased BACE1 expression in sporadic Alzheimer's disease. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8: 1565-74
- [42] Chopra N, Wang R, Maloney B, et al. MiR-298 reduces levels of human amyloid- $\beta$  precursor protein (APP),  $\beta$ -site APP-converting enzyme 1 (BACE1) and specific tau protein moieties. *Mol Psychiatry*, 2021, 26: 5636-57
- [43] Barros-Viegas AT, Carmona V, Ferreira E, et al. MiR-31 improves cognition and abolishes amyloid- $\beta$  pathology by targeting APP and BACE1 in an animal model of Alzheimer's disease. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 19: 1219-36
- [44] Liu CG, Wang JL, Li L, et al. MiR-384 regulates both amyloid precursor protein and  $\beta$ -secretase expression and is a potential biomarker for Alzheimer's disease. *Int J Mol Med*, 2014, 34: 160-6
- [45] Chen XB, Li W, Chu AX. MiR-133a inhibits gastric cancer cells growth, migration, and epithelial-mesenchymal transition process by targeting presenilin 1. *J Cell Biochem*, 2019, 120: 470-80
- [46] Deng H, Lv L, Li Y, et al. The miR-193a-3p regulated PSEN1 gene suppresses the multi-chemoresistance of bladder cancer. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852: 520-8
- [47] Vassar R, Bennett BD, Babu-Khan S, et al.  $\beta$ -secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science*, 1999, 286: 735-41
- [48] Manzine PR, Pelucchi S, Horst MA, et al. MiR-221 targets ADAM10 mRNA and is downregulated in Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*, 2018, 61: 113-23
- [49] Sun L, Zhao M, Zhang J, et al. MiR-144 promotes  $\beta$ -amyloid accumulation-induced cognitive impairments by targeting ADAM10 following traumatic brain injury. *Oncotarget*, 2017, 8: 59181-203
- [50] Cheng C, Li W, Zhang Z, et al. MiR-144 is regulated by activator protein-1 (AP-1) and decreases expression of Alzheimer disease-related disintegrin and metalloprotease 10 (ADAM10). *J Biol Chem*, 2013, 288: 13748-61
- [51] Akhter R, Shao Y, Shaw M, et al. Regulation of ADAM10 by miR-140-5p and potential relevance for Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 2018, 63: 110-9
- [52] Lu Y, Tan L, Wang X. Circular HDAC9/miR-138/Sirtuin-1 pathway mediates synaptic and amyloid precursor protein processing deficits in Alzheimer's disease. *Neurosci Bull*, 2019, 35: 877-88
- [53] Cos n-Tomás M, Antonell A, Llad  A, et al. Plasma miR-34a-5p and miR-545-3p as early biomarkers of Alzheimer's disease: potential and limitations. *Mol Neurobiol*, 2017, 54: 5550-62
- [54] Sarkar S, Engler-Chiurazzi EB, Cavendish JZ, et al. Overexpression of miR-34a induces rapid cognitive impairment and Alzheimer's disease-like pathology. *Brain Res*, 2019, 1721: 146327
- [55] Serpente M, Fenoglio C, D'anca M, et al. MiRNA profiling in plasma neural-derived small extracellular vesicles from patients with Alzheimer's Disease. *Cells*, 2020, 9: 1443
- [56] Vergallo A, Lista S, Zhao Y, et al. MiR-15b and miR-125b are associated with regional A $\beta$ -PET and FDG-PET uptake in cognitively normal individuals with subjective memory complaints. *Transl Psychiatry*, 2021, 11: 78
- [57] Zhao X, Kang J, Svetnik V, et al. A machine learning approach to identify a circulating microRNA signature for Alzheimer disease. *J Appl Lab Med*, 2020, 5: 15-28
- [58] Hajjri SN, Sadigh-Eteghad S, Mehrpour M, et al.  $\beta$ -amyloid-dependent miRNAs as circulating biomarkers in Alzheimer's disease: a preliminary report. *J Mol Neurosci*, 2020, 70: 871-7
- [59] Zhang J, Hu M, Teng Z, et al. Synaptic and cognitive improvements by inhibition of 2-AG metabolism are through upregulation of miR-188-3p in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci*, 2014, 34: 14919-33
- [60] Tudek A, Schmid M, Jensen TH. Escaping nuclear decay: the significance of mRNA export for gene expression. *Curr Genet*, 2019, 65: 473-6
- [61] Jahangard Y, Monfared H, Moradi A, et al. Therapeutic effects of transplanted exosomes containing miR-29b to a rat model of Alzheimer's disease. *Front Neurosci*, 2020, 14: 564
- [62] Tao Y, Han Y, Yu L, et al. The predicted key molecules, functions, and pathways that bridge mild cognitive impairment (MCI) and Alzheimer's disease (AD). *Front Neurol*, 2020, 11: 233
- [63] Ma N, Tie C, Yu B, et al. Identifying lncRNA-miRNA-mRNA networks to investigate Alzheimer's disease pathogenesis and therapy strategy. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12: 2897-920
- [64] Sun Z, Shi K, Yang S, et al. Effect of exosomal miRNA on cancer biology and clinical applications. *Mol Cancer*, 2018, 17: 147
- [65] Kaur S, Verma H, Dhiman M, et al. Brain exosomes: friend or foe in Alzheimer's disease? *Mol Neurobiol*, 2021, 58: 6610-24
- [66] Soares Martins T, Trindade D, Vaz M, et al. Diagnostic and therapeutic potential of exosomes in Alzheimer's disease. *J Neurochem*, 2021, 156: 162-81
- [67] Rosas-Hernandez H, Cuevas E, Raymick JB, et al. Characterization of serum exosomes from a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res*, 2019, 16: 388-95
- [68] Hernandez-Rapp J, Rainone S, Goupil C, et al. MiR-132/212 deficiency enhances A $\beta$  production and senile

- plaque deposition in Alzheimer's disease triple transgenic mice. *Sci Rep*, 2016, 6: 30953
- [69] Walgrave H, Balusu S, Snoeck S, et al. Restoring miR-132 expression rescues adult hippocampal neurogenesis and memory deficits in Alzheimer's disease. *Cell Stem Cell*, 2021, 28: 1805-21.e8
- [70] Ghanbari M, Ikram MA, de Looper HWJ, et al. Genome-wide identification of microRNA-related variants associated with risk of Alzheimer's disease. *Sci Rep*, 2016, 6: 28387