

微小核糖核酸与孤独症谱系障碍的研究进展

吕伟伟, 张光满, 许华斌

作者单位: 六安市第二人民医院检验科, 安徽 六安 237008

通信作者: 许华斌, 男, 主任检验技师, 研究方向为精神相关疾病发病机制及药物治疗研究, E-mail: xuhuabin2000@163.com

基金项目: 安徽省教育厅高校自然科学基金项目(KJ2017A911)

摘要: 孤独症谱系障碍(ASD)是一种以社会交往障碍、交流障碍、局限刻板的行为为特征的神经发育障碍疾病。虽然ASD病因未明,但是已有研究发现遗传因素在其发病中扮演重要作用,其发病涉及与脑功能和发育相关的多个基因。微小核糖核酸(miRNA)是转录后调控因子,在大脑发育、突触形成和突触可塑性以及记忆形成相关基因的微调中起关键作用。因此,越来越多的研究开始关注miRNA与ASD病理生理学之间的遗传和分子联系,这些发现显示出了miRNA作为ASD的生物标志物和治疗工具的潜力。该文就miRNA与ASD的研究进展作一综述。

关键词: 交流障碍; 孤独症谱系障碍; 微小核糖核酸; 生物标志物; 突触; 综述

Research progress on microRNA and autism spectrum disorders

LYU Weiwei, ZHANG Guangman, XU Huabin

Author Affiliation: Department of Clinical Laboratory, the Second People's Hospital of Lu'an, Lu'an, Anhui 237008, China

Abstract: Autism spectrum disorder (ASD) is a kind of neurodevelopmental disorder, which is characterized by social communication disorder, communication disorder and limited and stereotyped behavior. Although the pathogenesis of ASD is not clear, it has been found that genetic factors play an important role in the pathogenesis of ASD, which involves multiple genes related to brain function and development. MicroRNA (miRNA) is a type of post transcriptional regulatory factor, which plays a key role in the regulation of many genes, including regulation of genes related to brain development, memory formation, synapse formation and plasticity. Therefore, more and more researches begin to pay attention to the relationship between miRNA and the pathophysiology of ASD. These findings show the potential of miRNA as a biomarker and therapeutic tool of ASD. This paper reviews the research progress on miRNA and ASD.

Key words: Communication disorders; Autism disorders; MicroRNA; Biomarkers; Synapses; Reviews

孤独症谱系障碍(autism spectrum disorders, ASD),是一种与遗传因素相关的神经系统发育失调而引起的神经精神紊乱性疾病,存在社会交往障碍、语言交流障碍和刻板的兴趣与行为等是其主要临床症状,另外还可伴有其他多种临床症状,如智力障碍、癫痫等^[1]。ASD是这类疾病的总称,较严重的状况称为自闭症或经典自闭症谱系障碍,其他类型有阿斯伯格综合征和非特异的广泛性发育障碍等。虽然ASD病人各自的临床特征和严重程度不尽相同,但在社会各阶层和种族中都会出现,并且在各年龄段均会发病,特别是最近流行病学研究发现ASD的患病人数正在逐年增加,且男性远远多于女性^[2]。流行病学和遗传学研究证明,ASD是一种多基因遗传疾病,其遗传学因素主要集中在染色体异常和基因突变,包括基因拷贝数变异、点突变、连锁区域和microRNA(miRNA)等^[3]。

miRNA是一类具有组织和时间特异性表达的微小RNA分子,通过与靶基因的信使RNA(Messenger RNA, mRNA)特异性碱基配对结合,导致其降解或抑制其翻译,从而在转录后水平对靶基因进行精确调控^[4-6]。在神经系统中,miRNA参与中枢系统发育、神经元分化和突触塑形等过程,从而通过对突触可塑性的调节,参与学习、记忆的形成^[7]。因此miRNA与ASD关系密切,目前已有一些相关研究的报道。笔者就当前的miRNA与ASD的研究进展作一综述。

1 miRNA在神经系统中作用

大量研究表明miRNA在脑组织中大量存在,且在大脑发育、神经发生及功能中起着重要的作用^[8-9]。同时也发现,miRNA在神经系统中高表达,并与神经轴突再生相关^[10]。Li等^[11]研究发现51个miRNA、27个转录因子和59个靶标基因与神经轴突

再生相关,其中 hsa-miR-204-5p、hsa-miR-124-3p、hsa-miR-26a-5p、hsa-miR-16-5p、hsa-miR-17-5p 和 hsa-miR-15b-5p 在神经轴突再生过程中发挥重要作用。刘晓东等^[12]研究提示 miR-342-5p 与胶质细胞激活以及促进脊髓损伤修复再生密切相关。目前,在哺乳动物的脑组织中已发现大量的 miRNAs,如在鼠中发现的具有脑组织表达特异性的 miR-128,对 miR-128 研究表明它在神经元分化、凋亡、发生以及发育有一定的作用,说明 miRNA-128 与脑组织的发育以及功能等均相关^[13]。在孙丹等^[14]通过对小鼠研究发现 miR-132 和脑源性神经营养因子(BDNF)的表达有一定的相关性。猪的大脑在发育和形态等方面与人脑非常相似,通过研究发现胚胎猪中 miR-34c 和 miR-204 与大脑脑皮质折叠过程中的神经元迁移有关,在小鼠胚胎中同样被证实 miR-34c 和 miR-204 可以控制神经元迁移和皮质形态发生^[15]。

Dicer 酶是参与 miRNA 生物合成中重要的酶,敲除 Dicer 基因除了影响神经干细胞早期的分化,引起大脑体积缩小、皮质萎缩及神经炎症等异常外,还可影响 miRNA 生成。因此,研究人员可以通过敲除 Dicer 基因来观察 miRNA 在神经系统发育中的作用。Takacs 等^[16]研究发现敲除 Dicer 基因后,斑马鱼的神经系统就会出现明显的发育缺陷,当补充 miR-430 后这种缺陷引起的症状就会得到显著缓解。Pons-Espinal 等^[17]研究发现 Dicer 依赖性 miRNA 的丢失不影响成人海马神经干细胞增殖,但在体外分化时增加细胞凋亡。

miRNA 的失调已被验证与神经退行性疾病,如阿尔茨海默病^[18]、帕金森病^[19]、癫痫^[20]、肌萎缩侧索硬化^[21]等均有关。此外,研究还发现,已知的 miRNA 中有 70% 在中枢神经系统中表达,且不同类型的细胞有着不同的 miRNA 表达谱,参与神经系统相关疾病的发生发展^[10,22]。以上研究结果表明,miRNA 在神经系统的发育中扮演着非常重要的角色,miRNA 出现异常时往往会导致神经系统的发育和功能出现异常,从而引起一系列神经系统疾病。

2 miRNA 在 ASD 基因变异的作用

迄今为止,在人体中发现 2000 多种不同的 miRNAs。miRNA 常以单拷贝、多拷贝或基因簇等多种形式存在于基因组中,有固定的基因座位,其中 70%~90% 位于具有编码功能的 DNA 序列的间隔区,转录独立于其他基因。研究表明拷贝数变异(copy number variants, CNVs)是 ASD 中重要的遗传现象, CNVs 是一种广泛存在于人类基因组中的结构性变异,并且与复杂的神经发育障碍有关^[22,23]。

CNVs 主要包括 DNA 的重复和缺失两种方式,来源于家族遗传或者新生变异,研究表明位于染色体 7q11、15q11.2-13.3 和 16p11.2 区域的 3 个基因座位与 ASD 相关性较高^[24]。但这些研究仅仅只是从蛋白编码基因的变异上进行的研究,未对 miRNA 和 ASD 的相关性进行研究。miRNA 可通过调控基因的缺失或重复从而导致 CNVs,并进一步影响到靶基因的表达。这些能引起 CNVs 的 miRNAs 还可以影响其他关键位置的 miRNA 的合成和功能从而影响蛋白的表达。Pereanu 等^[25]研究发现 910 个自闭症相关基因中存在 2197 个 CNV 基因座。后期许多 CNV 研究已将 miRNA 基因与自闭症联系起来,包括:hsa-miR-1306, hsa-miR-185, hsa-miR-1286 和 hsa-miR-649 基因, hsa-miR-200a 和 hsa-miR-429, hsa-miR-200b 和 hsa-miR-149^[26]。总之,这些研究表明相应基因拷贝数变异引起的 miRNA 表达缺陷可能有助于解释 ASD 病因的假说。

miRNA 基因中的多态性很罕见,人类大约只有 10% 的前体 miRNAs 和 1% 的 miRNAs 有单核苷酸多态性(SNPs)^[27-28]。此外,在这区域之外的前体 miRNA 基因变异也可能影响 miRNA 的表达和成熟^[29-30]。例如,人类编码 miR-125a 基因中 G-U 变异显著地阻断了前体 miRNAs 的合成,并降低了 miRNA 介导的表达^[31]。Olde Loohuis 等^[32]在自闭症大鼠模型中发现 miR-181c 和 miR-30d 呈高表达,选择性抑制 miR-181c 的功能可减缓神经突触生长。Bahi^[33]研究发现在大鼠齿状回内过表达 miR-124 将加重自闭症样症状,认为 miR-124 有望成为自闭症治疗的新靶点。Mor 等^[34]在自闭症病人前额皮质中则观察到 miR-142-5p、miR-142-3p、miR-451a、miR-144-3p、miR-21-5p 等多种 miRNAs 异常表达,通过生物信息学分析,发现 miR-21-5p 可作用于催产素受体基因,使之在脑组织中表达减少,影响自闭症病人的生长发育。进一步地支持了 miRNAs 在 ASD 中基因变异的假说。

以上两类基因作为疾病发生共同的遗传基础,在环境因素和表观遗传异常的作用下导致神经发育、神经元可塑性、突触功能和神经环路等异常,最终导致自闭症症状的出现^[35]。

3 miRNA 在 ASD 诊断和治疗中的作用

随着 miRNA 在 ASD 发病机制研究的不断深入,目前已初步证明,miRNA 在 ASD 的发病过程中扮演着重要作用。自 2008 年以来,研究者对采集自 ASD 病人的不同组织、血液和细胞进行了研究,发现均存在一些 miRNAs 在其中异常表达。如 Jyonouchi 等

人^[36]的研究发现 miRNA 表达与 ASD 行为症状的变化以及 ASD 合并炎症的严重程度相关,并检测到的 miRNA 表达的变化以及 ASD PBMo 的细胞因子水平的变化,表明这些变化可能导致 PTEN 介导的信号传导途径的失调。这可能反过来影响 ASD 的行为症状。Tamara 等^[37]通过研究发现在 ASD 病人中有 7 个 miRNAs 有着显著改变:miR-34c-5p, miR-92a-2-5p, miR-145-5p 和 miR-199a-5p 被上调和 miR-27a, miR-19-b-1-5p 和 miR-193a-5p 被下调,miR-199a-5p 和 miR-92a-2a 的上调以及 miR-193a 和 miR-27a 的下调能反过来影响 SIRT1、HDAC2 和 PI3K/Akt-TSC: mTOR 信号通路。此外,MeCP2 是 miR-199a-5p 的靶标,并参与 Rett 综合征(RTT),这可能解释了患有该综合征的女性病人的自闭症表型。Hirsch 等^[38]在自闭症儿童外周血中发现 miR-134-5p 和 miR-138-5p 的表达显著增加。另外,通过高通量实时 qPCR 对从 8 名病人和 6 名对照活组织检查的嗅黏膜干细胞(OMSC)中提取的 miRNA 进行 miRNA 分析发现 4 种 miRNAs 发生改变,miR-146a 上调,miR-221、miR-654-5p 和 miR-656 三个下调,miR-146a 过表达影响星形胶质细胞谷氨酸摄取能力和神经元树突状树突^[39]。由于 miRNA 在大多数组织、血液和细胞中具有较好的稳定性和可检测性,应用 miRNA 作为一些疾病诊断的潜在生物标志物已逐渐成为研究热点^[40-43]。虽然目前关于 miRNA 在 ASD 中的研究还存在一定的分歧,但后期在更严谨的实验设计和大样本研究后,必然会有更多的 miRNAs 被发现,从而利用多种 miRNAs 组合进行检测 ASD 将成为可能^[37]。

随着 miRNA 在 ASD 中研究的不断深入,以 miRNA 作为 ASD 治疗靶点的可行性逐渐进入人们的视野。miRNA 是一种可以调节整体通路的小分子,可以通过对 miRNA 进行上调或下调来调节整个通路,使得 miRNA 成为自闭症理想的治疗靶点成为可能。另外,多数 miRNA 在啮齿动物和人之间 100% 同源^[44],因此,可以使用动物模型进行广泛的临床前功效、毒性和药代动力学研究和评价。因此,关于 ASD 基于 miRNA 治疗方案研究将会成为以后研究的热点。

4 小结和展望

miRNA 作为一种近期发现的、涉及几乎所有生物学进程的小分子 RNA,其生物学功能也日益被阐明。近一些年,随着 ASD 的发病率逐渐上升,分子遗传学发病机制成为研究的焦点,随着全基因组测序技术以及基因关联研究逐渐应用,发现很多基因

的变异,特别是 miRNA 的异常表达,都在 ASD 的病人中出现相关联的临床表征。因此,随着越来越多的 miRNA 被研究,新功能不断被发现,与疾病发生、发展相关的 miRNA 逐渐被鉴别出来,这些 miRNAs 将可能成为 ASD 治疗的新靶点和诊断的生物标志物。然而,关于 ASD 中 miRNA 的研究还有很多问题等待解决:①miRNA 如何在整个发育中的空间和时间上差异表达;②在发育期的不同阶段,细胞如何发挥它们的作用;③在 ASD 中介导 miRNA 调节的分子机制是什么?因此,后期还需要大样本以及更加严谨的实验设计来研究 miRNA 与 ASD 的关系,为疾病的诊断和治疗带来新的希望。

参考文献

- [1] 张安易,金星明,马骏.学龄前期及学龄期孤独症谱系障碍儿童脑结构异常的研究[J].中国当代儿科杂志,2019,21(8):749-753.
- [2] HAMAD AF, ALESSI-SEVERINI S, MAHMUD SM, et al. Annual trends in prevalence and incidence of autism spectrum disorders in Manitoba preschoolers and toddlers: 2004-2015[J]. Can J Public Health, 2019, 110(4):476-484.
- [3] ALONSO-GONZALEZ A, CALAZA M, RODRIGUEZ-FONTENLA C, et al. novel gene-based analysis of ASD GWAS: insight into the biological role of associated genes[J]. Front Genet, 2019, 10: 733.
- [4] 黄珊,王亚利,王中卫,等.基于调控网络构建的食管鳞状细胞癌放疗抵抗核心 miRNA/mRNA 鉴定[J].山西医科大学学报, 2019, 50(11):1492-1498.
- [5] 张珊珊,蒲超,张翼,等.微小RNA-503在急性脑梗死病人血清中的表达及对胰岛素样生长因子1受体信号通路的调控[J].安徽医药,2019,23(11):2146-2151.
- [6] 余艳玲.血清 miRNA-125b 与 miRNA-21 联合检测对前列腺癌的诊断价值[J].安徽医药,2018,22(12):2390-2393.
- [7] 郭佳宝,陈炳霖,朱毅,等. MicroRNA 在外周神经损伤所致神经病理性疼痛中的作用[J].中国疼痛医学杂志,2019,25(4):243-250.
- [8] MANCUSO R, AGOSTINI S, MARVENTANO I, et al. NCAM1 is the Target of miRNA-572: validation in the human oligodendroglial cell line[J]. Cell Mol Neurobiol, 2018, 38(2):431-440.
- [9] MERITXELL PE, CATERINA G, MARZI MJ, et al. MiR-135a-5p is critical for exercise-induced adult neurogenesis[J]. Stem cell reports, 2019 12(6):1298-1312.
- [10] 魏红辉,何明骏,牛威,等.抑郁症外周血 circRNA 的生物信息学分析[J].中华行为医学与脑科学杂志,2017,26(5):421-425.
- [11] SU LN, SONG XQ, XUE ZX, et al. Network analysis of microRNAs, transcription factors, and target genes involved in axon regeneration[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2018, 19(4):293-304.
- [12] 刘晓东,王艺儒,吕金阳,等.皮质脊髓束损伤后胶质细胞激活相关 microRNA 的筛选与验证[J].解剖学报,2018,49(1):14-19.
- [13] 毛国超,张越林,任鹏宇,等.小鼠缺血性脑卒中后 microRNA-128 的表达及其对 p38 α MAPK 调控作用的研究[J].东南大学

- 报(医学版), 2017, 36(2): 182-187.
- [14] 孙丹, 王淑坤, 丁康, 等. ALS转基因小鼠脊髓中miRNA-132表达减少BDNF表达增加[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2019, 28(1): 14-18.
 - [15] VEN MT, VEN ST, REHBERG K, et al. Cortical Morphogenesis during embryonic development is regulated by miR-34c and miR-204[J]. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2017, 10(5): 31-41.
 - [16] TAKACS CM, GIRALDEZ AJ. miR-430 regulates oriented cell division during neural tube development in zebrafish [J]. *Developmental Biology*, 2016, 409(2): 442-450.
 - [17] PONS-ESPINAL M, GASPERINI C, MARZI MJ, et al. MiR-135a-5p is critical for exercise-induced adult neurogenesis [J]. *Stem Cell Reports*, 2019, 12(6): 1298-1312.
 - [18] 臧贵勇, 潘开昌, 龙友国, 等. 基于mRNA-miRNA相互作用网络研究阿尔茨海默病机理[J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(6): 2776-2782.
 - [19] ELISA C, KAI P, MAMELI G, et al. Differential expression of miRNA 155 and miRNA 146a in Parkinson's disease patients [J]. *Neurological Sci*, 2018, 13: 1-4.
 - [20] TANG C, WANG H, WU H, et al. The MicroRNA expression profiles of human temporal lobe epilepsy in HS ILAE type 1 [J]. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 2019, 39(3): 461-470.
 - [21] ROHM M, MAY C, MARCUS K, et al. The microRNA miR-375-3p and the tumor suppressor NDRG2 are involved in sporadic amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2019, 52(6): 1412-1426.
 - [22] YANG Y, JIN ZJ, WANG J, et al. Copy number variation and neural pathway analysis of children with autism spectrum disorder from a large Han Chinese population-based cross-sectional study [J]. *Research in Autism Spectrum Disorders*, 2018, 51: 66-74.
 - [23] NAPOLI E, RUSSO S, CASULA L, et al. Array-CGH Analysis in a cohort of phenotypically well-characterized individuals with "Essential" autism spectrum disorders [J]. *J Autism Dev Disord*, 2018, 48(2): 442-449.
 - [24] MORENO-DE-LUCA D, SANDERS SJ, WILLSEY AJ, et al. Using large clinical data sets to infer pathogenicity for rare copy number variants in autism cohorts [J]. *Mol Psychiatry*, 2013, 18(10): 1090-1095.
 - [25] PEREANU W, LARSEN EC, DAS I, et al. AutDB: a platform to decode the genetic architecture of autism [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): D1049-1054. DOI: 10.1093/nar/gkx1093.
 - [26] MARRALE M, ALBANESE NN, CALÌ F, et al. Assessing the impact of copy number variants on miRNA genes in autism by Monte Carlo simulation [J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e90947. DOI: 10.1371/journal.pone.0090947.
 - [27] IWAI N, NARABA H. Polymorphisms in human pre-miRNAs [J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 2005, 331(4): 1439-1444.
 - [28] SAUNDERS MA, LIANG H, LI WH. Human polymorphism at microRNAs and microRNA target sites [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2007, 104(9): 3300-3305.
 - [29] LI L, MENG T, JIA Z, et al. Single nucleotide polymorphism associated with nonsyndromic cleft palate influences the processing of miR-140 [J]. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 2010, 152A(4): 856-862.
 - [30] SUN G, YAN J, NOLTNER K, et al. SNPs in human miRNA genes affect biogenesis and function [J]. *RNA*, 2009, 15(9): 1640-1651.
 - [31] DUAN R, PAK C, JIN P. Single nucleotide polymorphism associated with mature miR-125a alters the processing of pri-miRNA [J]. *Human Molecular Genetics*, 2007, 16(9): 1124-1131.
 - [32] OLDE LOOHUIS NF, KOLE K, GLENNON JC, et al. Elevated microRNA-181c and microRNA-30d levels in the enlarged amygdala of the valproic acid rat model of autism [J]. *Neurobiol Dis*, 2015, 80: 42-53.
 - [33] BAHİ, AMINE. Sustained lentiviral-mediated overexpression of microRNA124a in the dentate gyrus exacerbates anxiety- and autism-like behaviors associated with neonatal isolation in rats [J]. *Behavioural Brain Research*, 2016: 311: 298-308.
 - [34] MOR M, NARDONE S, SAMS DS, et al. Hypomethylation of miR-142 promoter and upregulation of microRNAs that target the oxytocin receptor gene in the autism prefrontal cortex [J]. *Molecular Autism*, 2015, 6(1): 46.
 - [35] PEÇA J, TING J, FENG G. SnapShot: autism and the synapse [J]. *Cell*, 2011, 147(3): 706, 706.
 - [36] JYONOUCHI H, GENG L, STRECK DL, et al. MicroRNA expression changes in association with changes in interleukin-1 β /interleukin10 ratios produced by monocytes in autism spectrum disorders: their association with neuropsychiatric symptoms and comorbid conditions (observational study) [J]. *J Neuroinflammation*, 2017, 14(1): 229.
 - [37] VACCARO T, SORRENTINO JM, SALVADOR S, et al. Alterations in the microRNA of the blood of autism spectrum disorder patients: effects on epigenetic regulation and potential biomarkers [J]. *Behav Sci (Basel)*, 2018, 8(8) DOI: 10.3390/bs8080075.
 - [38] HIRSCH MM, DECKMANN I, FONTES-DUTRA M, et al. Behavioral alterations in autism model induced by valproic acid and translational analysis of circulating microRNA [J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 115: 336-343.
 - [39] NGUYEN LS, LEPLUX M, MAKHLOUF M, et al. Profiling olfactory stem cells from living patients identifies miRNAs relevant for autism pathophysiology [J]. *Mol Autism*, 2016, 7: 1.
 - [40] 罗丹, 李华东. miR-125b-5p在乙型肝炎相关肝病患者血清中的表达及临床意义 [J]. 中国医师杂志, 2019, 21(8): 1168-1172.
 - [41] 谢媚媚, 潘敏, 龚裕强. miR-29c在慢性肾脏病患者血清中的表达及临床意义研究 [J]. 浙江医学, 2019, 41(15): 1633-1635, 1644.
 - [42] 周璇, 李占潮. 基于生物信息学的乳腺癌miRNA生物标志物的筛选 [J]. 广东药学院学报, 2017, 33(3): 412-414, 419.
 - [43] 袁冬妹, 吴思英, 黄素丽, 等. 血浆miRNA表达与儿童急性淋巴细胞白血病的关联研究 [J]. 中华流行病学杂志, 2017, 38(9): 1252-1258.
 - [44] VAN ROOIJ E, KAUPPINEN S. Development of microRNA therapeutics is coming of age [J]. *EMBO Molecular Medicine*, 2014, 6(7): 851-864.

(收稿日期: 2019-11-19, 修回日期: 2020-01-12)