

# miR-143 在氧糖剥夺/再灌注引起的星形胶质细胞活化中的作用机制研究

张春燕, 殷晓芹, 邓爱清, 陈伯华\* (南通大学附属医院, 江苏 南通 226001)

**摘要:** 目的 探讨 miR-143/HIPK2 轴在氧糖剥夺/再灌注(oxygen-glucose deprivation/reperfusion, OGD/R)引起的星形胶质细胞活化中的作用。方法 星形胶质细胞 OGD/R 处理 0, 3, 6, 12 h, 应用 Western blotting 检测星形胶质细胞的活化标志物 GFAP 和蛋白激酶 HIPK2 表达, 实时荧光定量 PCR 检测 miR-143 水平变化, 免疫荧光染色检测 OGD/R 处理 6 h 后 GFAP 表达。对照组、OGD/R 模型组给予 Anti-Con 和 Anti-miR-143 干预, 应用 Western blotting 检测 GFAP 表达。采用荧光素酶报告基因技术验证 HIPK2 是否为 miR-143 的靶标分子。miR-143 和 miR-Con 以及 Anti-miR-143 和 Anti-miR-Con 分别转染星形胶质细胞, 应用 Western blotting 检测 HIPK2 表达。离体培养星形胶质细胞分为 5 个处理组, 分别为 Anti-Con 干预的对照组、Anti-Con 干预的 OGD/R 模型组、Anti-miR-143 干预的 OGD/R 模型组、Anti-miR-143 和 siRNA Con 共同干预的 OGD/R 模型组以及 Anti-miR-143 和 HIPK2 siRNA 共同干预的 OGD/R 模型组, 应用 Western blotting 检测 GFAP 表达。**结果** 与对照组相比, OGD/R 6 h 处理的星形胶质细胞 GFAP 表达增高至峰值( $P<0.01$ ), 该结果进一步被免疫荧光染色验证, HIPK2 表达下调至最低值( $P<0.001$ ), miR-143 表达增加( $P<0.01$ )。与 Anti-Con 干预的对照组相比, Anti-Con 干预的 OGD/R 模型组星形胶质细胞 GFAP 表达上调( $P<0.01$ ); 与 Anti-Con 干预的 OGD/R 模型组比, Anti-miR-143 干预的 OGD/R 模型组星形胶质细胞 GFAP 表达下调( $P<0.05$ )。miR-143 能明显抑制 HIPK2 基因活性, 但对其结合位点突变体没有显著抑制作用。与 Anti-miR-143 和 siRNA Con 共同干预的 OGD/R 模型组比, Anti-miR-143 和 HIPK2 siRNA 共同干预的 OGD/R 模型组星形胶质细胞 GFAP 表达水平上调( $P<0.05$ )。**结论** OGD/R 通过 miR-143/HIPK2 轴引起星形胶质细胞活化。

**关键词:** 氧糖剥夺/再灌注; miR-143; 星形胶质细胞; 炎症反应

中图分类号: R965.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2021)04-0391-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.04.002

引用本文: 张春燕, 殷晓芹, 邓爱清, 等. miR-143 在氧糖剥夺/再灌注引起的星形胶质细胞活化中的作用机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(4): 391-396.

## Study on the Mechanism of miR-143 in the Activation of Astrocytes Induced by Oxygen-glucose Deprivation/Reperfusion

ZHANG Chunyan, YIN Xiaoqin, DENG Aiqing, CHEN Bohua\* (Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To explore the effect of miR-143/HIPK2 axis on the astrocyte activation induced by oxygen-glucose deprivation/reperfusion(OGD/R). **METHODS** The expression of GFAP, an astrocyte specific activation marker, and HIPK2 protein kinase were detected by Western blotting, and the level of miR-143 was detected by real time PCR in astrocyte with OGD/R treatment for 0, 3, 6, 12 h. GFAP expression detected by immunofluorescence staining after OGD/R treatment for 6 h. The control group was transfected with Anti-Con and Anti-miR-143, also the OGD/R model group was transfected with Anti-Con and Anti-miR-143. The expression of GFAP was detected by Western blotting. The method of luciferase reporter gene was used to verify whether HIPK2 was the target of miR-143. Astrocytes were transfected with miR-143/miR-Con and Anti-miR-143/Anti-miR-Con followed by HIPK2 examination using Western blotting. Astrocytes cultured *in vitro* were divided into five treatment groups: control group with Anti-Con intervention, OGD/R model group with Anti-Con intervention, OGD/R model group with Anti-miR-143 intervention, OGD/R model group with Anti-miR-143 and siRNA Con cointervention, and OGD/R model group with Anti-miR-143 and HIPK2 siRNA cointervention. GFAP expression was detected by Western blotting. **RESULTS** Compared with the control group, GFAP expression in astrocytes increased to the peak value( $P<0.01$ ), confirmed by immunofluorescent staining HIPK2 expression decreased to the lowest value ( $P<0.001$ ), the expression of miR-143 in astrocytes increased after OGD/R 6 h treatment( $P<0.01$ ). Compared with control group with Anti-Con intervention, GFAP expression in OGD/R group with Anti-Con intervention was upregulated( $P<0.01$ ). Compared with OGD/R group with Anti-Con intervention, GFAP expression was downregulated in OGD/R group with Anti-miR-143 intervention( $P<0.05$ ). miR-143 significantly inhibited HIPK2 gene activity, but had no significant inhibitory effect on its binding site mutants. Compared with OGD/R group with Anti-miR-143 and siRNA Con cointervention, GFAP expression level in astrocytes in OGD/R group with Anti-miR-143 and HIPK2 siRNA cointervention was upregulated( $P<0.05$ ). **CONCLUSION** OGD/R induces activation of astrocytes through miR-143/HIPK2 axis.

**KEYWORDS:** oxygen-glucose deprivation/reperfusion; miR-143; astrocyte; inflammation

基金项目: 南通市科技计划项目(JCZ18061); 南通市药学会—常州四药医院药学科科研项目(ntyx1802)

作者简介: 张春燕, 女, 硕士, 主管药师 Tel: (0513)85052290 E-mail: ccyzhangntfy@163.com \*通信作者: 陈伯华, 男, 高级讲师 Tel: (0513)85052396 E-mail: chenbohua1966@126.com

缺血性脑卒中是现代社会常见的急性脑血管疾病之一,也是导致残疾的主要原因之一,给社会和家庭造成重大损失。现有脑卒中治疗方式以血管再通和药物治疗方式为主,但却面临再灌注损伤的风险,有可能进一步加重脑组织损伤或影响卒中后恢复过程。大量研究表明,中枢神经系统缺血再灌注损伤与中枢炎性反应、血脑屏障破坏、氧化应激等紧密相关<sup>[1-2]</sup>。因此如何恢复中枢神经系统功能,减轻卒中后炎症反应,挽救损伤的脑内细胞是卒中后恢复需要解决的首要难题。

星形胶质细胞是中枢神经系统的重要组成部分,也是脑卒中后中枢神经炎性反应的重要参与者。前期研究表明,脑卒中发生后,星形胶质细胞功能受损,营养因子分泌减少,炎性因子分泌增多,严重影响神经元的存活。脑卒中恢复期,轴突生长、突触可塑性或神经元再生,也影响星形胶质细胞活性和营养因子以及炎性因子的释放<sup>[3-4]</sup>。因此探究星形胶质细胞在脑卒中血管再灌注中的作用显得极为重要。

微小 RNA(microRNA, miRNA)是一类长度约 18~22 bp 的非编码 RNA 分子,广泛参与多种疾病的发生、发展。研究表明,脑卒中发生后脑内>20%的 miRNA 表达发生显著变化,提示 miRNA 可能在脑卒中过程发挥重要作用<sup>[5]</sup>。已有的研究表明,抑制 miR-143-3p(以下简称为 miR-143)表达能够减少神经元损伤<sup>[6]</sup>。然而,miR-143 是否通过调节星形胶质细胞功能,影响神经功能恢复还未见报道。

本研究采用原代星形胶质细胞体外氧糖剥夺/再灌注(oxygen-glucose deprivation/reperfusion, OGD/R)模型模拟脑卒中再灌注,同时导入外源性 miR-143 观察其对星形胶质细胞活化的调控作用。本研究进一步完善了星形胶质细胞在脑卒中过程发生病变的分子机制,同时也为脑卒中治疗提供新的策略。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

50 只出生 3 d 内的 C57BL/6 小鼠[南通大学实验动物中心,生产许可证号:SCXK(苏)2019-0001];DMEM 高糖培养基(批号:11965-092)、胎牛血清(批号:10100139C)、胰酶(批号:25200056)、青霉素-链霉素溶液双抗(批号:15140122)均购自 Gibco;24 孔细胞培养板、96 孔细胞培养板均购自耐思生物公司;RIPA 中强细胞裂解液(批号:

P0013C)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(批号:P0012)、ECL 发光试剂盒(批号:P0018FM)均购自碧云天;GFAP 抗体(批号:16825-1-AP)、HIPK2 抗体(批号:55408-1-AP)、GAPDH 抗体(批号:60004-1-Ig)、辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠二抗(批号:SA00001-1)、山羊抗兔二抗(批号:SA00001-2)均购自武汉三鹰;PVDF 膜(Millipore 公司);miR-143 慢病毒、Anti-miR-143 慢病毒、聚凝胺均购自汉恒生物公司;转染试剂(Santa Cruz,批号:sc-29528);HIPK2 siRNA(吉玛基因);实时荧光定量 PCR 试剂盒(诺唯赞公司,批号:MQ101-01);双荧光素酶报告载体质粒(锐博生物,批号:PMIR1001);荧光素酶报告基因检测试剂盒(Promega,批号:E2920)。

### 1.2 原代星形胶质细胞培养及 OGD/R 处理

出生 3 d 内小鼠,取出鼠脑后,置于湿润纱布上去除血丝。剪碎小鼠脑后,加入同等体积数目胰酶,37 °C 消化 10 min 后用含有 10%胎牛血清的培养基终止消化。悬液过滤,过滤后细胞悬液在 4 °C 1 200 r·min<sup>-1</sup> 条件下离心 5 min。弃上清,加入含有 10%胎牛血清的培养基重悬细胞,转移至培养瓶中。接种 2~3 d 后更换培养基。细胞贴壁生长 10 d 后,传代纯化星形胶质细胞。纯化的星形胶质细胞在 5%CO<sub>2</sub> 和 95%N<sub>2</sub> 条件下,使用无糖无血清培养基处理星形胶质细胞 3 h。3 h 后对星形胶质细胞进行复灌处理,培养条件更换为在 5% CO<sub>2</sub> 和 95%空气条件下,使用正常 10%血清浓度培养基对星形胶质细胞复灌处理。

### 1.3 miR-143 和 Anti-miR-143 慢病毒转染星形胶质细胞

星形胶质细胞进行计数并调整细胞浓度后每孔加入 0.5 μg 聚凝胺和 miR-143 或 Anti-miR-143 慢病毒以及对对照慢病毒,轻轻混匀,MOI 值为 1。将含有 miR-143/miR-Con 和 Anti-miR-143/Anti-miR-Con 慢病毒细胞悬液转移至 24 孔细胞培养板中,培养 24 h 后,收集细胞进行后续 Western blotting 检测 GFAP 和 HIPK2 表达。

### 1.4 HIPK2 siRNA 转染星形胶质细胞

星形胶质细胞加入无血清培养基后进行细胞计数并调整细胞浓度。每孔加入转染试剂 0.5 μL 和 10<sup>5</sup> 个细胞,静置 5 min 后,加入 siRNA Con 和 HIPK2 siRNA,培养细胞 24 h 后,收集细胞进行 Western blotting 检测 HIPK2 表达。

## 1.5 Anti-miR-143 慢病毒和 HIPK2 siRNA 共转染星形胶质细胞

星形胶质细胞进行计数并调整细胞浓度后先转染 Anti-miR-143/Anti-miR-Con 慢病毒, 培养 24 h 后对细胞进行换液并转染 siRNA Con 和 HIPK2 siRNA, 培养 24 h 后对细胞进行 OGD/R 处理。

## 1.6 Western blotting 检测蛋白表达

RIPA 裂解液处理原代星形胶质细胞, 4 °C 12 000 r·min<sup>-1</sup> 条件下离心 30 min, 转移上层清液。BCA 蛋白测定试剂盒对蛋白裂解产物进行蛋白定量。每个样品 25 μg 上样, SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳 80 V 恒压分离蛋白, 恒压 60 V 将蛋白转移至 PVDF 膜上。室温条件下, PVDF 膜置于 5% 的脱脂奶中封闭 1 h, 4 °C 孵育一抗(抗体稀释比例 GFAP 1 : 1 000; HIPK2 1 : 1 000; GAPDH 1 : 10 000)过夜。TBST 清洗 3 遍, 室温下孵育二抗(1 : 2 000)1 h。TBST 清洗 6 遍后, 均匀洒上 ECL 发光液, 采用化学发光凝胶成像系统曝光。利用 Image J 软件完成条带灰度值分析, 并与对应的 GAPDH 条带灰度值进行比较, 以相对值代表样品蛋白的相对表达量。

## 1.7 实时荧光定量 PCR 检测星形胶质细胞 miR-143 表达水平

OGD/R 处理 0, 3, 6, 12 h 的星形胶质细胞样品按照试剂盒操作提取总 RNA, 并检测 miR-143 水平。miR-143 引物序列: 正向引物 5'-GGGGTGAGATGAAGCACTG-3'; 反向引物 5'-CAGTGCGTGTCGTGGAGT-3'。内参基因 U6 引物序列: 5'-CTCGCTTCGGCAGCAC-3'; 下游引物 5'-AACGCTTCACGAA TTTGCGT-3'。程序如下: 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 10 s, 60 °C 退火 20 s, 72 °C 延伸 1 s, 40 个循环。

## 1.8 荧光素酶报告基因

原代星形胶质细胞转染含有 HIPK2 3'-UTR 始荧光素酶报告基因基因检测。海肾荧光信号与和突变的 HIPK2 3'-UTR 双荧光素酶报告载体质粒。转染完成 48 h 后, 按 Promega 试剂盒操作, 以萤火虫荧光信号值与海肾荧光信号值的比值为各组最终的数值。

## 1.9 免疫荧光染色

原代星形胶质细胞经 4% 多聚甲醛室温固定 30 min 后用含 0.1% TritonX-100 和 0.02% BSA 的穿孔液对细胞打孔 15 min; 5% BSA 封闭 1 h, 4 °C 孵育一抗(GFAP 1 : 200)过夜; 次日 PBS 清洗后标记荧光二抗(1 : 1 000) 1 h, 用 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)室温染核 5 min; 封片后用荧光显微镜扫描。

## 1.10 统计学分析

采用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析, 数值均采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 2 组间比较采用 *t* 检验进行显著性分析, 多组间比较采用 ANOVA 进行显著性分析, 以 *P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 OGD/R 处理对星形胶质细胞 GFAP 和 miR-143 表达的影响

原代星形胶质细胞 OGD/R 处理后, 与对照组相比, GFAP 蛋白表达显著上调, 且在复灌 6 h 达到峰值(*P* < 0.01), 见图 1A。该结果通过免疫荧光染色得到进一步验证, 见图 1B。实时荧光定量 PCR 结果表明, 与对照组相比, 炎症相关 miRNA 分子 miR-143 在星形胶质细胞 OGD/R 后表达同样随时间依赖性上调(*P* < 0.01), 见图 1C。

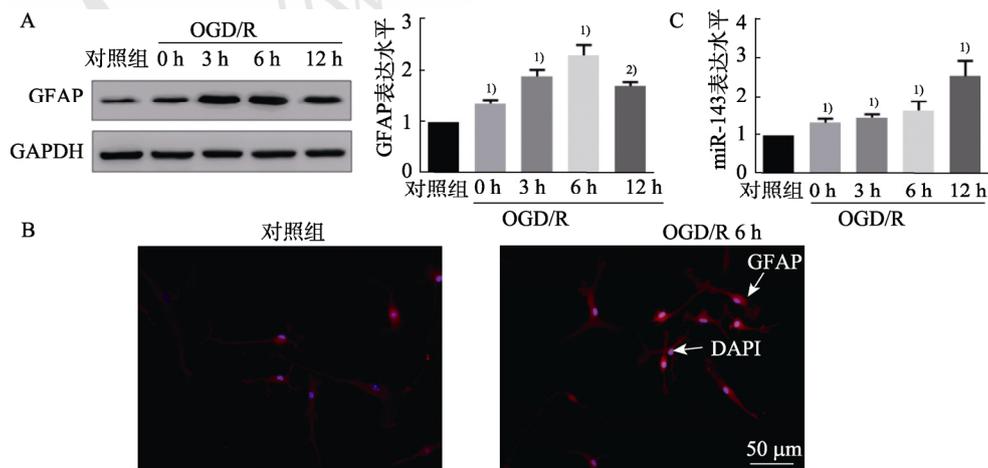


图 1 GFAP 和 miR-143 在星形胶质细胞 OGD/R 处理后的表达变化

A—Western blotting 检测 GFAP 表达水平; B—免疫荧光检测 GFAP 表达; C—实时荧光定量 PCR 检测 miR-143 表达; 与对照组比较, <sup>1)</sup>*P* < 0.01, <sup>2)</sup>*P* < 0.001。

**Fig. 1** Expression changes of GFAP and miR-143 in astrocyte after OGD/R treatment

A—expression level of GFAP determined by Western blotting; B—expression of GFAP determined by immunofluorescent staining; C—expression of miR-143 determined by real time PCR; compared with the control group, <sup>1)</sup>*P* < 0.01, <sup>2)</sup>*P* < 0.001.

## 2.2 miR-143 调控星形胶质细胞活化

Western blotting 结果显示,与 Anti-Con 干预的对照组相比, Anti-Con 干预的 OGD/R 组星形胶质细胞 GFAP 表达上调( $P<0.01$ );与 Anti-Con 干预的 OGD/R 组比较, Anti-miR-143 干预的 OGD/R 组星形胶质细胞 GFAP 表达下调( $P<0.05$ )。结果见图 2。

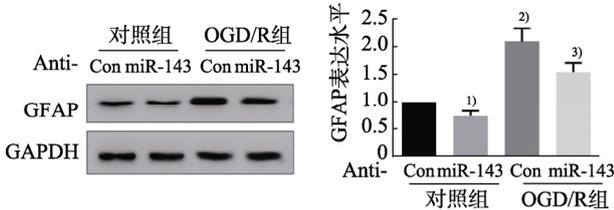


图 2 miR-143 对 OGD/R 6 h 处理下星形胶质细胞 GFAP 表达的影响

与 Anti-Con 干预的对照组比较, <sup>1)</sup> $P<0.05$ , <sup>2)</sup> $P<0.01$ ; 与 Anti-Con 干预的 OGD/R 组比较, <sup>3)</sup> $P<0.05$ 。

Fig. 2 Effect of miR-143 on the expression of GFAP in astrocytes treated with OGD/R for 6 h

Compared with control group with Anti-Con intervention, <sup>1)</sup> $P<0.05$ , <sup>2)</sup> $P<0.01$ ; compared with the OGD/R group with Anti-Con intervention, <sup>3)</sup> $P<0.05$ 。

## 2.3 miR-143 下游靶基因预测

使用 TargetScan 预测 miR-143 下游靶基因。软件分析结果显示, HIPK2 mRNA 3'端非翻译区与 miR-143 存在结合位点,提示两者存在较高的结合可能。此外,荧光素酶报告基因试验表明, miR-143 促进 HIPK2 mRNA 的降解。结果见图 3。

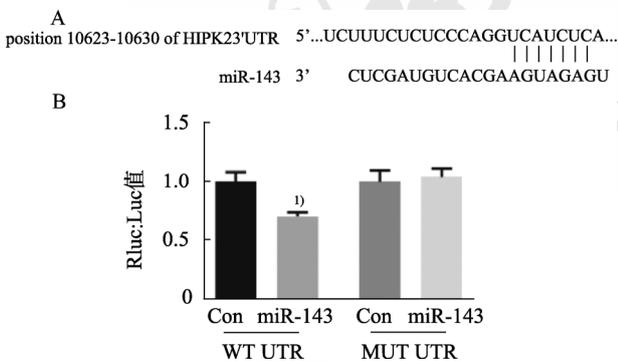


图 3 miR-143 与 HIPK2 mRNA 3'端非翻译区结合与 Con 组比较, <sup>1)</sup> $P<0.01$ 。

Fig. 3 miR-143 binded to 3' untranslated region of HIPK2 mRNA

Compared with the Con group, <sup>1)</sup> $P<0.01$ 。

## 2.4 OGD/R 处理引起星形胶质细胞 HIPK2 表达下调

Western blotting 检测潜在下游分子 HIPK2 的表达,与对照组相比,原代星形胶质细胞 OGD/R 处理 0, 3, 6, 12 h, HIPK2 蛋白表达显著下调,且在复灌 6 h 降至最低值( $P<0.001$ )。结果见图 4。

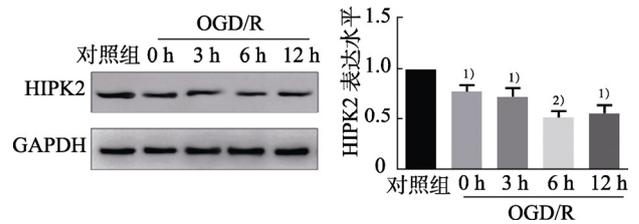


图 4 HIPK2 在星形胶质细胞 OGD/R 处理后表达变化与对照组比较, <sup>1)</sup> $P<0.01$ , <sup>2)</sup> $P<0.001$ 。

Fig. 4 Expression change of HIPK2 in astrocytes after OGD/R treatment

Compared with the control group, <sup>1)</sup> $P<0.01$ , <sup>2)</sup> $P<0.001$ 。

## 2.5 miR-143 调控 HIPK2 表达

与过表达 Con 组比较,过表达 miR-143 组下调星形胶质细胞 HIPK2 表达( $P<0.05$ );与 Anti-Con 组比较, Anti-miR-143 组上调星形胶质细胞 HIPK2 表达( $P<0.05$ )。结果表明 HIPK2 受 miR-143 负调控。结果见图 5。

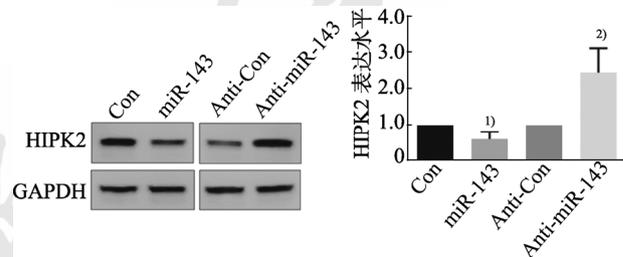


图 5 星形胶质细胞转染 miR-143 和 Anti-miR-143 对 HIPK2 表达的影响

与 Con 组比较, <sup>1)</sup> $P<0.05$ ; 与 Anti-Con 组比较, <sup>2)</sup> $P<0.05$ 。

Fig. 5 Effects of miR-143 and Anti-miR-143 transfected astrocytes on the expression of HIPK2

Compared with the Con group, <sup>1)</sup> $P<0.05$ ; compared with the Anti-Con group, <sup>2)</sup> $P<0.05$ 。

## 2.6 HIPK2 siRNA 敲减效率验证

为探究下一步 HIPK2 在星形胶质细胞活化中的作用,设计合成 HIPK2 siRNA。Western blotting 结果显示,与 Con siRNA 组比较, HIPK2 siRNA 组星形胶质细胞 HIPK2 蛋白的表达降低( $P<0.001$ )。结果见图 6。

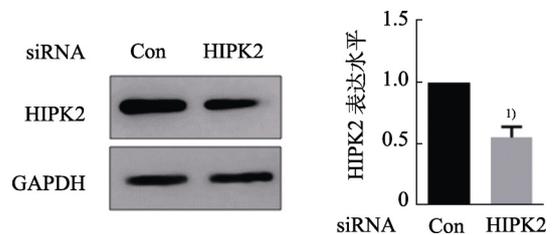


图 6 HIPK2 siRNA 对星形胶质细胞 HIPK2 表达的作用与 Con siRNA 组比较, <sup>1)</sup> $P<0.001$ 。

Fig. 6 Effect of HIPK2 siRNA on the expression of HIPK2 in astrocytes

Compared with the Con siRNA group, <sup>1)</sup> $P<0.001$ 。

## 2.7 miR-143/HIPK2 参与星形胶质细胞活化

Western blotting 结果显示, 与 Anti-Con 干预的对照组相比, Anti-Con 干预的 OGD/R 模型组星形胶质细胞 GFAP 表达上调( $P<0.01$ ); 与 Anti-Con 干预的 OGD/R 模型组比较, Anti-miR-143 干预的 OGD/R 模型组星形胶质细胞 GFAP 表达下调( $P<0.05$ ); 与 Anti-Con 干预的 OGD/R 模型组比较, Anti-miR-143 和 siRNA Con 干预的 OGD/R 模型组星形胶质细胞 GFAP 表达下调( $P<0.05$ ); 与 Anti-miR-143 和 siRNA Con 共同干预的 OGD/R 模型组比较, Anti-miR-143 和 HIPK2 siRNA 共同干预的 OGD/R 模型组星形胶质细胞 GFAP 表达水平上调( $P<0.05$ ), 表明 OGD/R 通过 miR-143/HIPK2 轴引起星形胶质细胞活化。结果见图 7。

## 3 讨论

中枢神经系统炎症反应是众多脑内疾病所共有的特征, 不同细胞参与炎症反应的方式也不尽相同。脑卒中相关研究表明, 星形胶质细胞在其中扮演积极角色。缺血条件下, 星形胶质细胞上调众多神经营养因子, 能够保护神经元生存, 修复突触结构<sup>[7]</sup>。同时, 脑卒中后神经元可以释放受损的线粒体, 并将其转移到星形胶质细胞中进行处理和循环。这种交换线粒体的能力可能代表了中枢神经系统中细胞间信号传递的一种潜在模式<sup>[8]</sup>。此外, 也有研究者表示, 脑卒中发生后, 有一部分星形胶质细胞出现返祖现象, 并进一步分化为神经元, 重新构建神经连接网络<sup>[9]</sup>。因此, 保护卒中后星形胶质细胞, 防止过度活化的星形胶质细胞死亡显得极为重要。研究发现, 星形胶质细胞在

单纯 OGD 后, GFAP 表达上调, 这表明细胞复灌前已经发生活化。复灌后星形胶质细胞 GFAP 表达进一步升高, 提示 OGD/R 进一步引起星形胶质细胞活化且星形胶质细胞活化在 OGD/R 6 h 达到峰值。因此, 后续实验对星形胶质细胞采用 OGD/R 6 h 进行。

众所周知, 星形胶质细胞活化与脑内炎症反应息息相关。另有研究表明, miR-143 在疾病发生中与炎症反应密切相关<sup>[10]</sup>。因此, 笔者试图检测脑内的 miR-143 在 OGD/R 后的星形胶质细胞上是否发生变化。实验结果证实 miR-143 在 OGD/R 中调控星形胶质细胞的活化。星形胶质细胞在单纯 OGD 刺激后也发生活化, 这与 NLRP3 等炎症相关分子表达上升有关, miR-143 作为炎症相关 miRNA, 在 OGD 后上调, 也很有可能参与该过程炎症反应。

为了进一步筛选可能参与 OGD/R 引起星形胶质细胞活化的下游分子, 使用 TargetScan 预测 miR-143 的下游靶基因。预测结果显示, miR-143 与 HIPK2 mRNA 3'端非翻译区存在结合位点。为验证这一猜想, 通过荧光素酶报告基因及细胞转染的方法证明 miR-143 能够负调控 HIPK2 表达。因此, 试图使用 HIPK2 siRNA 逆转 Anti-miR-143 降低星形胶质细胞活化的作用, 结果显示, miR-143 通过 HIPK2, 调节 OGD/R 引起的星形胶质细胞活化, 但不排除这一过程还存在其他下游靶基因参与调节星形胶质细胞活化。已被报道的 miR-143 下游靶基因众多, 如 TAK1、HIF-1 $\alpha$  等都被证明受 miR-143 调控, 参与机体的炎症反应<sup>[11-12]</sup>。

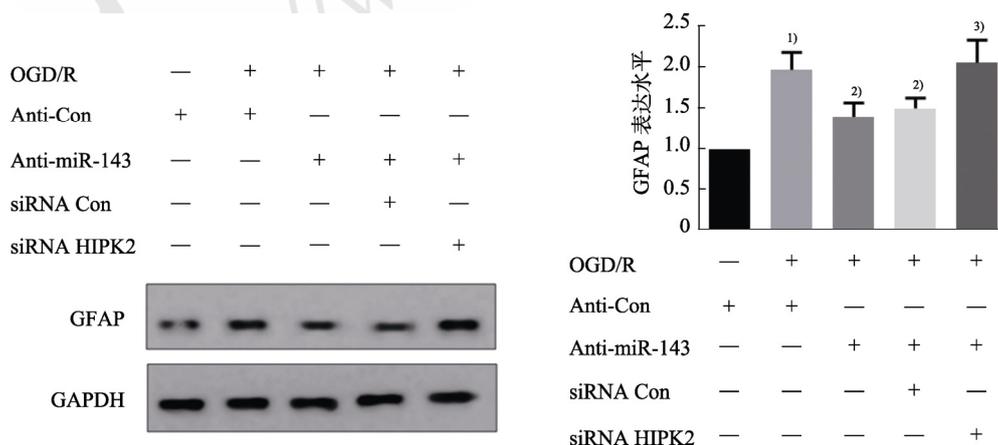


图 7 miR-143/HIPK2 轴在 OGD/R 诱导的星形胶质细胞活化的作用

与 Anti-Con 干预的对照组比较, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; 与 Anti-Con 干预的 OGD/R 模型组比较, <sup>2)</sup> $P<0.05$ ; 与 Anti-miR-143 干预的 OGD/R 模型组比较, <sup>3)</sup> $P<0.05$ 。

Fig. 7 Effect of miR-143/HIPK2 axis on astrocyte activation induced by OGD/R

Compared with the control group with Anti-Con intervention, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; compared with the OGD/R model group with Anti-Con intervention, <sup>2)</sup> $P<0.05$ ; compared with the OGD/R model group with Anti-miR-143 intervention, <sup>3)</sup> $P<0.05$ .

鉴于 miR-143 在炎性反应,尤其在脑卒中过程中的重要作用,miR-143 极有可能成为临床诊断的生物标志物,或者疾病的新治疗靶标<sup>[13]</sup>。但是 miRNA 下游靶基因众多,使用 miRNA 作为疾病治疗手段,存在某些不确定因素,可能引起不良反应,这也应该引起研究者的足够重视。

综上所述,miR-143/HIPK2 轴调节 OGD/R 引起的星形胶质细胞活化,这一结论进一步肯定了 miRNA 和星形胶质细胞在脑卒中过程中的重要作用,同时也为脑卒中再灌注的愈后提供新的潜在用药靶点。

## REFERENCES

- [1] LIU W L, WANG X, ZHENG Y, et al. Electroacupuncture inhibits inflammatory injury by targeting the miR-9-mediated NF- $\kappa$ B signaling pathway following ischemic stroke[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(2): 1618-1626.
- [2] MA J Y, CHU S L. Mechanism of hydroxysafflor yellow A ameliorating ischemia stroke: A literature review[J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2019, 36(8): 1012-1017.
- [3] CEKANAVICIUTE E, BUCKWALTER M S. Astrocytes: Integrative regulators of neuroinflammation in stroke and other neurological diseases[J]. *Neurotherapeutics*, 2016, 13(4): 685-701.
- [4] CHENG X, YANG H, YANG Y L, et al. Signaling pathway changes and potential therapeutic targets in astrocytes after ischemic stroke[J]. *Chin J New Drugs*(中国新药杂志), 2017, 26(7): 749-754.
- [5] TIEDT S, PRESTEL M, MALIK R, et al. RNA-seq identifies circulating miR-125a-5p, miR-125b-5p, and miR-143-3p as potential biomarkers for acute ischemic stroke[J]. *Circ Res*, 2017, 121(8): 970-980.
- [6] ZENG X Z, LIU N, ZHANG J, et al. Inhibition of miR-143 during ischemia cerebral injury protects neurones through recovery of the hexokinase 2-mediated glucose uptake[J]. *Biosci Rep*, 2017, 37(4): 1-9.
- [7] KARTHIKEYAN A, PATNALA R, JADHAV S P, et al. MicroRNAs: Key players in microglia and astrocyte mediated inflammation in CNS pathologies[J]. *Curr Med Chem*, 2016, 23(30): 3528-3546.
- [8] HAYAKAWA K, ESPOSITO E, WANG X H, et al. Transfer of mitochondria from astrocytes to neurons after stroke[J]. *Nature*, 2016, 535(7613): 551-555.
- [9] MO J L, LIU Q, KOU Z W, et al. MicroRNA-365 modulates astrocyte conversion into neuron in adult rat brain after stroke by targeting Pax6[J]. *Glia*, 2018, 66(7): 1346-1362.
- [10] LI J, LI K S, CHEN X Y. Inflammation-regulatory microRNAs: Valuable targets for intracranial atherosclerosis[J]. *J Neurosci Res*, 2019, 97(10): 1242-1252.
- [11] HUANG F T, PENG J F, CHENG W J, et al. MiR-143 targeting TAK1 attenuates pancreatic ductal adenocarcinoma progression via MAPK and NF- $\kappa$ B pathway *in vitro*[J]. *Dig Dis Sci*, 2017, 62(4): 944-957.
- [12] HE M, ZHAN M, CHEN W, et al. MiR-143-5p deficiency triggers EMT and metastasis by targeting HIF-1 $\alpha$  in gallbladder cancer[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42(5): 2078-2092.
- [13] JI Q H, JI Y H, PENG J W, et al. Increased brain-specific MiR-9 and MiR-124 in the serum exosomes of acute ischemic stroke patients[J]. *PLoS One*, 2016, 11(9): 1-14.

收稿日期: 2020-02-28  
(本文责编: 沈倩)