

· 基础研究 ·

深低温停循环大海马区差异性 miRNAs 表达变化及机制探讨

王小华, 吉冰洋, 孙燕华, 朱 贤, 陈 燕, 王世磊, 刘晋萍, 龙 村

[摘要]:目的 深低温停循环(DHCA)是复杂先天性心脏病矫治手术期间应用的一项重要技术。然而 DHCA 后的脑损伤严重但其分子机制尚不清楚。最近研究提示 microRNAs(miRNAs)涉及各种脑损伤的发生及进展。本研究利用 miRNAs 基因芯片技术检测小猪 DHCA 脑损伤模型中的 miRNAs 表达变化,探讨脑损伤 miRNA 转录后调节机制。**方法** 6 只小猪(体重 2.0~2.5 kg)构建 DHCA 模型,三只 DHCA 组,三只假手术组,取海马组织提取总 RNA 进行 miRNAs 芯片分析,后行 qRT-PCR 验证,生物信息学分析一系列 miRNAs 涉及的脑部疾病。预测特异性 miRNAs 的潜在靶点,而后通过分子功能注释系统(MAS)对预测靶点进行基因本体注释系统(GO)功能分析及京都基因与基因组百科全书分析系统(KEGG)探讨涉及的信号通路。**结果** 结果 DHCA 后,海马区有 35 个 miRNAs 表达改变。13 个 miRNAs 显著上调(包括 miR-23a, miR-27a, miR-182 等),22 个 miRNAs 显著下调(包括 miR-10b, miR-200c, miR-210, miR-150 等)。对这些 miRNAs 靶点预测的生物信息学分析揭示多个靶点和生物功能涉及 DHCA 的病理生理过程,其中包括信号转导,转录调节,凋亡和炎症反应。**结论** DHCA 后脑损伤涉及一系列 miRNAs 的表达改变,为其损伤机制的研究提供了新的理论依据和研究思路。

[关键词]: 深低温停循环;脑损伤;microRNA;基因芯片;生物信息学分析

[中图分类号]:R654.1 **[文献标识码]:** A **[文章编号]:**1672-1403(2012)02-0114-06

Identification and modulation of microRNA in hippocampus during deep hypothermic circulatory arrest

Wang Xiao-hua, Ji Bing-yang, Sun Yan-hua, Zhu Xian, Chen Yan, Wang Shi-lei, Liu Jin-ping, Long Cun

Department of Cardiopulmonary bypass; Cardiovascular Institute and Fu Wai Hospital, CAMS and PUMC, Beijing 100037, China

Corresponding author: Ji Bing-yang, Email: dr.ji.cpb@gmail.com

[Abstract]: Objective The cerebral injury after deep hypothermia and circulatory arrest (DHCA) is serious problem and a few is known about its molecular mechanism. In this study, we constructed the DHCA piglet model to investigate expression profile of miRNAs associated with DHCA brain injury. **Methods** Six male piglets (2.0-2.5 kg) were randomly divided into the DHCA group and the Sham group, hippocampus were harvested for miRNA microarray analysis. All microarray data were analyzed by Significance Analysis of Microarrays (SAM), and this result was further confirmed by qRT-PCR assay, biological information analysis to predict the target of the panels of miRNAs, then the GO analysis to find the function of the target by MAS. **Results** Thirty-five miRNAs were differentially expressed in hippocampus after DHCA procedure. Thirteen miRNAs (miR-23a, miR-27a, miR-182, et al) were significantly up-regulated and twenty-two miRNAs (miR-10b, miR-200c, miR-210, miR-150, et al) were down-regulated in DHCA hippocampus. Bioinformatic analysis of the predicted targets for this panel of miRNAs revealed multiple protein targets, biological processes and functions involved in pathophysiology of DHCA cerebral injury including signal transduction, transcriptional regulation, apoptosis, and inflammatory. **Conclusion** DHCA cerebral injury involves a set of miRNAs dysregulated. MiR-10b, miR-200c, miR-210, miR-150, miR-23a, et al play important role in regulate cerebral injury.

[Key words]: Deep hypothermic circulatory arrest; Cerebral injury; MicroRNAs; Bioinformatics analysis

作者单位: 100037 北京, 中国医学科学院 北京协和医学院
阜外心血管病医院体外循环科[王小华(在读博士)]

通讯作者: 吉冰洋, E-mail: dr.ji.cpb@gmail.com

深低温停循环(deep hypothermic circulatory arrest, DHCA)是婴幼儿复杂心血管异常矫治手术中

的一项必要技术^[1]。DHCA 能够引起神经功能异常,例如,缺血性中风,颅内出血,舞蹈症,惊厥及神经精神功能不良^[2]。DHCA 条件下心脏术后认知功能不良术后 3 个月高达 25%,术后 1 年高达 15%^[3-4]。长时间的 DHCA 会对年轻患者产生远期的不良效应,特别是新生患儿,导致这些损伤的可能因素,包括缺血再灌注、体外循环 (cardiopulmonary bypass, CPB) 后的炎症反应和免疫反应、低温和复温,而这些因素部分的是由于分子水平的改变,例如转录和翻译介导^[5]。然而, DHCA 诱导的神经损伤的确切的分子机制还不清楚。已有研究报道 DHCA 后海马区的基因表达改变,在神经损伤的病原学方面起着重要作用^[6]。而 DHCA 脑损伤后触发的 mRNA 及蛋白表达的改变进一步加深了研究者对脑损伤机制的理解^[7]。然而, mRNA 的表达水平和其调节的蛋白产物之间可能并不一致,转录后水平的调节是基因调节的“微调螺母”,目前的研究对于 DHCA 后的脑损伤转录后调节水平还是一片空白。MicroRNAs (miRNAs) 是 22 nt 左右的非编码 RNAs 分子,是内源性的基因表达调节剂。许多 miRNAs 涉及凋亡、神经发生、低温及血管再生^[8-11]。最近有研究发现, miRNAs 可能在神经退行性变中扮演重要角色^[12]。一些 miRNAs 还涉及几种神经系统疾病和损伤,例如,创伤性脑损伤、脑梗塞、中风等^[13-15]。一项最近的研究发现,与急性脑损伤相关的 miRNAs 改变也会导致随后更多的慢性脑部疾病^[13]。

本研究的目的建立幼猪的 DHCA 脑损伤模型,检测海马区 miRNAs 的差异化表达改变,寻找涉及脑损伤的 miRNAs,分析其靶点及功能,从而更加全面理解 DHCA 的脑损伤机制。

1 材料与方法

1.1 动物分组及深低温停循环模型的建立

经伦理委员会批准,选择 7~8 天的新生猪 (2.0~2.5 kg) 6 只,3 只 DHCA 组,另 3 只假手术组,全麻插管机械通气,麻醉后升主动脉插动脉管,右心房插静脉管建立体外循环。降温到 18℃ 维持 60 min 停循环状态,随后复温到 37℃,复温时间约 45 min,复温结束后撤除体外循环,维持麻醉 60 min 后,处死动物取海马组织立即放于 -80℃ 液氮中保存。假手术组动物只开胸不做体外循环。

1.2 总 RNA 提取及 miRNA 芯片杂交

总 RNA 提取是应用 mirVana miRNA 分离试剂盒 (Ambion, Austin, TX, USA),应用 ND-1000 分光光度计于 A260/A280 确定总 RNA 的浓度和纯度。于 1% 的

甲醛变性胶中确定总 RNA 的完整性。利用 GeneChip miRNA Array version 2.0 (Affymetrix, Santa Clara, CA, USA) 进行 miRNA 芯片分析。芯片探针来源于 Sanger miRNA database (V. 15)。此芯片探针包括来自 131 个物种的 15 664 个成熟 miRNA 序列。所有的寡核苷酸探针在芯片上均重复三次。对照靶点包括 95 个背景探针,22 个寡核苷酸探针,人的 5.8 s rRNA 作为杂交控制对照。芯片实验过程参照制造商推荐的方案。1 μg 总 RNA 用 Biotin FlashTag Biotin Labeling Kit (Affymetrix, CA, USA) 标记,并于杂交炉 (Hybridization Oven 640, Affymetrix, CA, USA) 中 48℃, 60 rpm 杂交 16 h。应用 fluidics script FS450_0003 (Affymetrix, CA, USA) 进行染色, Scanner 3000 7G (Affymetrix GeneChip System GCS 3000) 进行荧光扫描。miRNA 探针的极端值的定义按照制造商推荐的标准,并进一步应用 miRNA QC Tool 软件 (www.affymetrix.com) 对扫描结果进行归一化,正常化处理和质量控制。每一个点的信号强度由总强度减去局部背景计算得出。原始资料应用 SAM 软件 (SAM, version 3.02, Stanford University, CA, USA) 进行分析确定显著差异表达的 miRNAs。应用阈值 ≥ 1.5 和 ≤ -1.5 倍数变化来选择差异性表达的基因,且滤过率 (filter data rate, FDR) 显著性水平 $< 5\%$ 。应用 CLUSTER 3.0 软件的校正资料功能对原始资料进行对数转换和实验处理水平及基因水平的层次聚类。Java Treeview (Stanford University School of Medicine, Stanford, CA, USA) 运行环境中构建 miRNA 表达分析热图。

1.3 qRT-PCR 验证 miRNA 表达

从差异表达的基因中,选择 2 个表达变化显著的 miRNA (miR-10b, miR-200c, miR-150, miR-23a),采用实时定量 RT-PCR 行进一步验证。应用 SYBR FAST Qpcr Kit Master Mix (2 ×) Universal (KAPA Biosystem, USA) 逆转录试剂盒,以 U6 为内参,以 $2 - \Delta \Delta Ct$ 计算实验组与对照组相对表达量。逆转录过程:分别取 1 μg 上述各组海马组织样本的总 RNA 作为初始模板,以及 0.5 μl U6 RT 引物 (10 μM), 2 μl miRNA RT 引物 (10 μM), 2 μl dNTP (2.5 mM), DEPC 水定容到 14.5 μl, 70℃ 水浴 5 min, 冰浴 2 min, 再加入 5 × 缓冲液 4 μl, RNase 抑制剂 0.5 μl, 及 TIANScript M-MLV 1 μl, 继续反转录程序: 42℃, 50 min; 95℃, 5 min。miRNA 实时定量 RT-PCR 反应体系包括 1 μl cDNA 模板 (即 RT 产物), (2 ×) SYBR FAST Qpcr Kit Master Mix 10 μl, 正向引物, 反向引物各 0.4 μl。每个检测样本做 3 个复

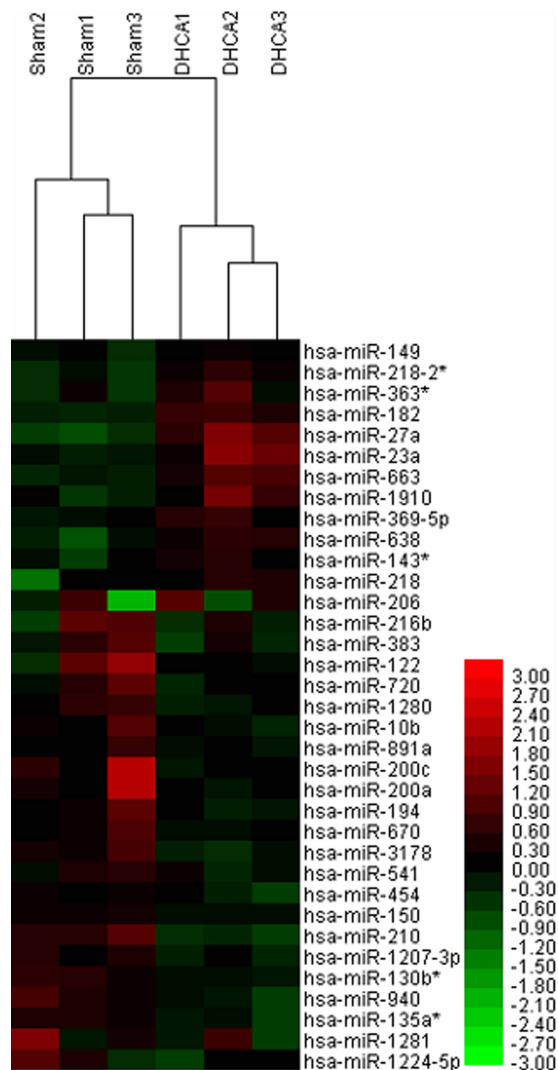
孔, 在 Roche LightCycler 480 Real Time PCR 仪 (Roche, Switzerland) 上进行实时定量 PCR。反应条件: 95°C 3 min, 95°C 3 s 45 个循环, 60°C 20 s, 72°C 1 s。LIMS/Bar - Code 进行结果分析。为减小因 RNA 浓度定量误差和 RNA 逆转录效率误差等的影响, 所得数据用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式校正, 用校正后的值判定各样本中目的 miRNAs 的表达量的差异。

1.4 差异表达的 miRNAs 的生物功能分析和预测靶基因的生物信息学分析 我们的研究目的是识别一些涉及脑损伤的特异性 miRNAs, 然后分析影响并参与 DHCA 后脑损伤长期预后的神经系统疾病类型。对芯片分析发现的差异性表达的 miRNAs 进行生物信息学分析, 应用 PubMed 和 HMDD 发现于脑部疾病相关的 miRNAs, 以及涉及脑损伤的 miRNAs。PicTar 和 TargetScan (release 4.2) 用于识别 miR - 10b, miR - 200c, miR - 210, miR - 23a, 和 - 150 等的潜在靶点。靶基因的 MiRanda 中的 10% 用于进一步的分析。MAS 用于进一步功能分析, MAS 整合了多种生物功能分析网络, GO, KEGG, 及 Bio-Carta 等等。通过这些分析构建 miRNA 的靶基因的通路、功能、调节网络。

2 结果

2.1 MiRNA 芯片结果: 为了全面的了解 DHCA 后 miRNAs 表达改变, 由于大多数的 miRNAs 在各个物种之间是保守的, 人源性异种杂交探针数目远远超越猪的探针数量。Affymetrix 的基因芯片 (miRNA 2.0) 包含多种物种在一张芯片, 能够发挥异源性杂交的优势。总 RNA, A260/280 > 2.0, 提示提取总 RNA 的纯度高, 污染少。甲醛变性胶电泳发现 28S:18S RNA 条带亮度大于 2:1, 条带清晰。DHCA 与假手术组芯片结果行 SAM 数据分析。以表达倍数 > 1.5, 筛选出 35 个差异表达的 miRNA, 包括 13 个上调的 miRNAs (miR - 23a, miR - 27a 等) 和 22 个下调的 miRNAs (miR - 10b, miR - 200c, miR - 210 等)。详见 DHCA 和假手术组的海马组织产生差异的 miRNAs 表达的聚类分析图, 见图 1。

2.2 茎环引物行差异表达的 miRNAs 的 qRT - PCR 验证 我们从 35 个差异性表达的 miRNAs 中随机选择了 13 个 miRNAs, 用茎环引物的 qRT - PCR 方法对所有样本进行分析。首先测定了 2 个 miRNAs 先前报道在中风和缺血性脑损伤中表达改变的 miRNAs, 在炎症反应和氧化应激的背景下, 验证了 miR - 150 和 miR - 200c。另外, 验证了 miR - 23a 的表达, 它与 miR - 663 有一个相同的靶点。结果表



注: 图中红色表示 miRNA 表达上调, 绿色表示 miRNA 表达下调。

图 1 DHCA 相关脑损伤差异性表达的 miRNA 聚类分析图

述在图 4 中。最终, 对凋亡相关的 miRNAs, miR - 891a, miR - 670, miR - 541, miR - 454, miR - 135a*, miR - 130b* 和 miR - 182 进行验证。这些 miRNAs 具有与芯片结果相似的表达趋势。

2.3 芯片结果的生物信息学分析以及差异表达的 miRNA 靶基因和生物功能分析: 在我们的研究中有 35 个 miRNA 改变, 其中 14 个 HMDD 中没有记录, 8 个在 PubMed 中没有记录, 6 个在先前研究的神经系统疾病中有描述, 见表 1。一共有 11 个 miRNA 在脑部相关性疾病中没有报道 (miR - 149, miR - 218 - 2*, miR - 206, miR - 369 - 5p, miR - 216b, miR - 383, miR - 720, miR - 143*, miR - 1224 - 5p, miR - 1207 - 3p 和 miR - 1280)。而且, 5 个 miRNAs

在脑损伤中首次被涉及 miR - 3178, miR - 940, miR - 218, miR - 27a 和 miR - 1281。为了进一步发掘 miRNA 靶基因及其功能,我们进行了进一步分析。由于 miRNAs 能作用于几百个靶基因,我们应用 PicTar, TargetScan 和 MiRanda 预测到调节 miRNAs 的 439 个潜在的靶基因。对这些靶基因的 GO 生物学注释,从生物过程和分子功能进行分析。73 个生物学过程中有 12 个有显著性的过表达,包括神经系统发育,细胞增生的负向调节,细胞黏附,细胞周期静止,细胞分化,突出形成调节,神经元凋亡的负向调节,凋亡,在急性炎症反应期间负向调节呼吸暴发,轴突导向,自然杀伤细胞介导的细胞毒性的易损

态),50 个分子功能中有 5 个在 GO 分析中有变化 (Ca 离子的结合,转录因子活性,胰岛素样生长因子受体结合,谷氨酸钠转运体活动,神经营养结合,Notch 结合)。由于猪的靶基因功能分析是很有限的,我们利用人的基因与猪的基因的相似性,构建了靶点和信号通路网络,涉及炎症反应,神经退行性变,神经营养因子,抑郁症,凝血级联反应,轴突发育,凋亡,缺血和血管再生,见图 2。

3 讨论

近年来深低温停循环下的手术不断增加,但是手术后的脑损伤的风险并未减少,脑损伤的机制也

表 1 差异性表达的 miRNA 涉及的神经系统相关性疾病

差异性表达的 miRNA	上调/下调	涉及的神经系统疾病
miR - 23a	上调	自闭症 ^[16] , 儿童神经发育障碍 ^[17] , 脑缺血 ^[18]
miR - 182	上调	学习障碍 ^[19] , 炎症反应 ^[20]
miR - 663	上调	自闭症 ^[16]
miR - 10b	下调	神经母细胞瘤 ^[21] , 凋亡 ^[22-23]
miR - 150	下调	炎症反应 ^[20]
miR - 194	下调	再灌注损伤 ^[24]
miR - 200c	下调	大脑缺血预处理 ^[25] , 炎症反应 ^[26] , 氧化应激 ^[27]
miR - 720	下调	脊髓发育不良综合征 ^[28]
miR - 210	下调	短暂脑缺血 ^[29] , 急性大脑缺血 ^[30] , 脑缺氧 ^[31]

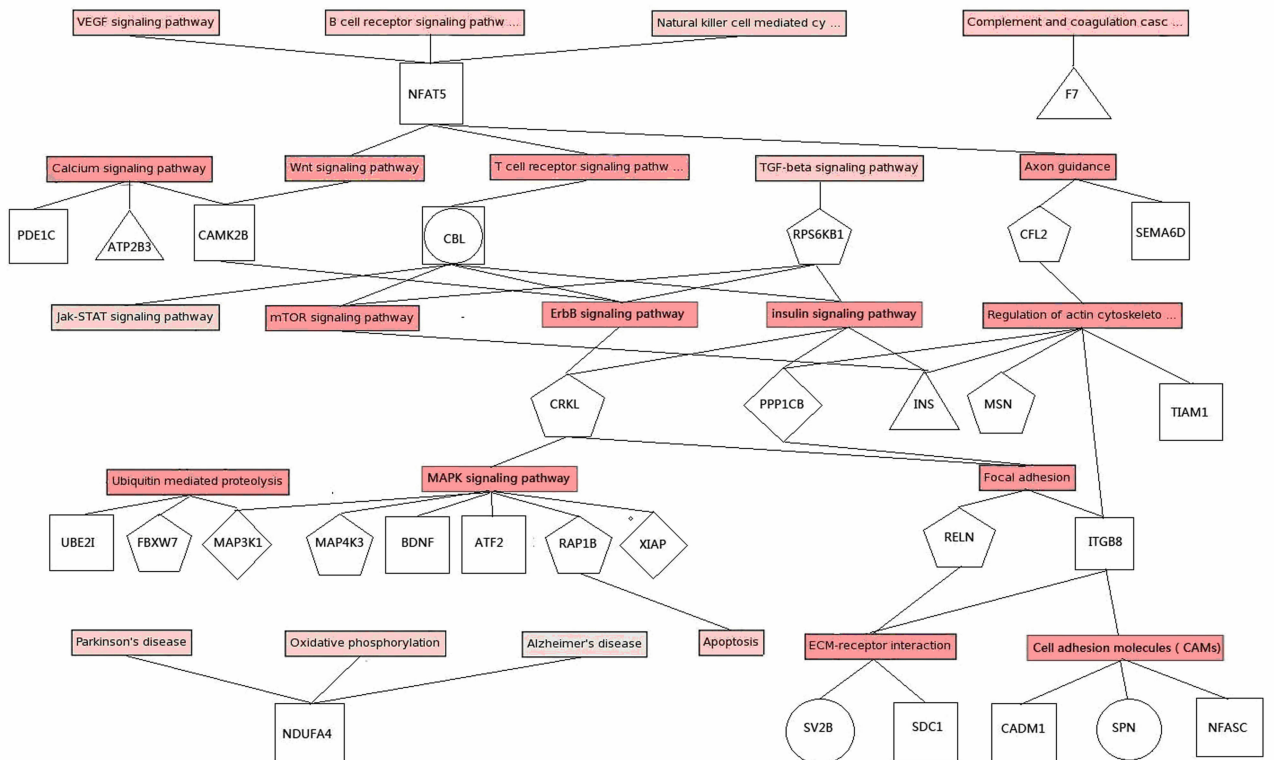


图 2 DHCA 差异性表达的 miRNA 涉及的靶点及信号通路

没有完全的认识,与普通神经外科的脑损伤相比,深低温停循环后的脑损伤多因素作用是其显著特点。有体外异物接触产生的炎症反应,凝血功能紊乱机制,以及停循环后复灌的缺血再灌注损伤,低温及复温损伤的参与。单纯的解决其中的一个问题并不能完全改变 DHCA 脑损伤的现状。简单的说 DHCA 后的脑损伤是多种损伤多种因素共同作用的结果。这一特点直接影响到 DHCA 后脑损伤的发生、发展、病理、临床及预后。因此,找到影响 DHCA 后脑损伤的关键性的调节作用的共同分子,这对于明确 DHCA 后脑损伤的发病机制和认知功能及相关脑功能的预防、治疗及康复具有重要意义。人类有超过三分之一的基因受 miRNA 调控,其在多种生物学过程中发挥重要作用,能精确的调控基因表达的作用。

本研究中发现,在海马样本的芯片分析中有 35 个 miRNAs 表达改变,包括 miR - 210, miR - 10b, miR - 200c, miR - 150 等(图 1)。miR - 210 参与神经系统疾病状态,如急性脑缺血和脑部低氧^[11,31]。Liu 等发现在大鼠大脑中动脉阻断的短暂缺血模型中,海马区 miR - 210 有 1.6 倍的下调^[29]。Chai 等显示在 293T 细胞中 miR - 10b 强有力的表达诱导较高的磷酸化 ERK 水平,提示 miR - 10b 调节 RAS 信号通路^[23]。miR - 10b 可能靶向 RAS 信号通路的其他分子,例如 RHOC, RAP2A, PTEN 和 RHOV 来调节 RAS 信号通路^[23]。miR - 10b 在神经细胞分化过程中具有重要角色通过直接靶向 NCOR2,从而反过来诱导初始和继发转录改变的级联反应,包括 MYCN 的下调^[21]。近年来的研究表明 miR - 200c 具有神经保护功能^[25],在我们的研究中 miR - 200c 显著性的降低提示 DHCA 的脑损伤由于降低了保护因子的作用。在氧化应激条件下,miR - 200c 和其他 miR - 200 家族成员表达增加并下调 ZEB1 它是 ROS 诱导凋亡和衰老的关键角色^[26],miR - 200c 是氧化应激诱导的生物反应的重要因子^[27]。Vasilescu 发现在脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的炎症反应中 miR - 150 显著降低。miR - 150 的表达水平与主要的免疫反应基因如肿瘤坏死因子 - α (TNF - α),白介素(IL) - 10 和 IL - 18 相关。而且 miR - 150 潜在的靶点,在涉及免疫系统功能的基因表达处高度富集^[20]。在环三次甲基三硝胺(RDX)诱导的小鼠大脑中 miRNAs 表达改变,包括 miR - 10b, miR - 23a, miR - 27a 等,于我们研究中的 miRNA 表达变化水平相一致^[32]。

我们对 DHCA 后脑损伤的海马区差异性表达 miRNAs 预测的靶点进行了进一步的分析(miR -

210, miR - 10b, miR - 200c, miR - 23a, 和 miR - 150), 并揭示靶基因和通路在 DHCA 脑损伤病理生理过程中的作用,包括免疫炎症反应(B 细胞受体信号通路。自然杀伤细胞记到的细胞裂解,T 细胞受体信号通路),缺血与血管再生(VEGF 信号通路),神经退行性变(胰岛素信号通路,帕金森和阿尔兹海默病),神经营养因子(MAPK 信号通路,Erb 信号通路),抑郁症(Wnt 信号通路,Jak - STAT 信号通路,mTOR 信号通路),凝血级联反应(补体和凝血级联反应),凋亡,轴突发育(轴突导向),细胞完整性(actin 细胞骨架调节,CAM, FA, ECM)(图 2)。

本研究为 miRNAs 在 DHCA 脑损伤病原学发生重要作用的解析打开了大门,为 DHCA 后新的神经保护策略的提供了新的方向。进一步的研究将着眼于差异性表达的 miRNA 的特异性靶蛋白的结合,用于治疗性干预及转化医学的药物治疗。

参考文献:

- [1] Amir G, Ramamoorthy C, Riemer RK, *et al*. Neonatal brain protection and deep hypothermic circulatory arrest: pathophysiology of ischemic neuronal injury and protective strategies [J]. *Ann Thorac Surg*, 2005, 80(5): 1955 - 1964.
- [2] Gaynor JW, Nicolson SC, Jarvik GP, *et al*. Increasing duration of deep hypothermic circulatory arrest is associated with an increased incidence of postoperative electroencephalographic seizures [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2005, 130(5): 1278 - 1286.
- [3] Roach GW, Kanchuger M, Mangano CM, *et al*. Adverse cerebral outcomes after coronary bypass surgery. Multicenter Study of Perioperative Ischemia Research Group and the Ischemia Research and Education Foundation Investigators [J]. *N Engl J Med*, 1996, 335(25): 1857 - 1863.
- [4] Newman MF, Kirchner JL, Phillips - Bute B, *et al*. Longitudinal assessment of neurocognitive function after coronary - artery bypass surgery. [J]. *N Engl J Med*, 2001, 344(6): 395 - 402.
- [5] Clancy RR, McGaurn SA, Wernovsky G, *et al*. Risk of seizures in survivors of newborn heart surgery using deep hypothermic circulatory arrest [J]. *Pediatrics*, 2003, 111(3): 592 - 601.
- [6] Allen JG, Weiss ES, Wilson MA, *et al*. Hawley H. Seiler Resident Award. Transcriptional profile of brain injury in hypothermic circulatory arrest and cardiopulmonary bypass [J]. *Ann Thorac Surg*, 2010, 89(6): 1965 - 1971.
- [7] Sheikh AM, Barrett C, Villamizar N, *et al*. Proteomics of cerebral injury in a neonatal model of cardiopulmonary bypass with deep hypothermic circulatory arrest [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2006, 132(4): 820 - 828.
- [8] Numakawa T, Richards M, Adachi N, *et al*. MicroRNA function and neurotrophin BDNF [J]. *Neurochem Int*, 2011, 59(5): 551 - 558.

- [9] Cho JA, Park H; Lim EH, *et al.* MicroRNA expression profiling in neurogenesis of adipose tissue – derived stem cells [J]. *J Genet*, 2011, 90(1): 81 – 93.
- [10] Truettner JS, Alonso OF, Bramlett HM, *et al.* Dietrich WD. Therapeutic hypothermia alters microRNA responses to traumatic brain injury in rats [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2011, 31(9): 1897 – 1907.
- [11] Fiedler J, Thum T. MicroRNAs Looping Around Angiogenesis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(11): 2367 – 2368.
- [12] Saugstad JA. MicroRNAs as effectors of brain function with roles in ischemia and injury, neuroprotection, and neurodegeneration [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2010, 30(9): 1564 – 1576.
- [13] Madathil SK, Nelson PT, Saatman KE, *et al.* MicroRNAs in CNS injury: potential roles and therapeutic implications [J]. *Bioessays*, 2011, 33(1): 21 – 26.
- [14] Weng H, Shen C, Hirokawa G, *et al.* Plasma miR – 124 as a biomarker for cerebral infarction [J]. *Biomed Res*, 2011, 32(2): 135 – 141.
- [15] Tan JR, Koo YX, Kaur P, *et al.* microRNAs in stroke pathogenesis [J]. *Curr Mol Med*, 2011, 11(2): 76 – 92.
- [16] Talebizadeh Z, Butler MG, Theodoro MF. Feasibility and relevance of examining lymphoblastoid cell lines to study role of microRNAs in autism [J]. *Autism Res*, 2008, 1(4): 240 – 50.
- [17] Sarachana T, Zhou R, Chen G, *et al.* Investigation of post – transcriptional gene regulatory networks associated with autism spectrum disorders by microRNA expression profiling of lymphoblastoid cell lines [J]. *Genome Med*, 2010, 2(4): 23.
- [18] Siegel C, Li J, Liu F, *et al.* miR – 23a regulation of X – linked inhibitor of apoptosis (XIAP) contributes to sex differences in the response to cerebral ischemia [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(28): 11662 – 11667.
- [19] Smalheiser NR, Lugli G, Rizavi HS, *et al.* MicroRNA expression in rat brain exposed to repeated inescapable shock: differential alterations in learned helplessness vs. non – learned helplessness [J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2011, 14(10): 1315 – 1325.
- [20] Vasilescu C, Rossi S, Shimizu M, *et al.* MicroRNA fingerprints identify miR – 150 as a plasma prognostic marker in patients with sepsis [J]. *PLoS One*, 2009, 4(10): e7405.
- [21] Foley NH, Bray I, Watters KM, *et al.* MicroRNAs 10a and 10b are potent inducers of neuroblastoma cell differentiation through targeting of nuclear receptor corepressor 2 [J]. *Cell Death Differ*, 2011, 18(7): 1089 – 1098.
- [22] Chai G, Liu N, Ma J, *et al.* MicroRNA – 10b regulates tumorigenesis in neurofibromatosis type 1 [J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(9): 1997 – 2004.
- [23] Bourguignon LY, Wong G, Earle C, *et al.* Hyaluronan – CD44 interaction promotes c – Src – mediated twist signaling, microRNA – 10b expression, and RhoA/RhoC up – regulation, leading to Rho – kinase – associated cytoskeleton activation and breast tumor cell invasion [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(47): 36721 – 36735.
- [24] Godwin JG, Ge X, Stephan K, *et al.* Identification of a microRNA signature of renal ischemia reperfusion injury [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(32): 14339 – 14344.
- [25] Lee ST, Chu K, Jung KH, *et al.* MicroRNAs induced during ischemic preconditioning [J]. *Stroke*, 2010, 41(8): 1646 – 1651.
- [26] Xiong M, Jiang L, Zhou Y, *et al.* MiR – 200 family regulates TGF – β 1 – induced renal tubular epithelial to mesenchymal transition through Smad pathway by targeting ZEB1 and ZEB2 expression [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2012, 302(3): F369 – 379.
- [27] Magenta A, Cencioni C, Fasanaro P, *et al.* miR – 200c is up-regulated by oxidative stress and induces endothelial cell apoptosis and senescence via ZEB1 inhibition [J]. *Cell Death Differ*, 2011, 18(10): 1628 – 1639.
- [28] Borze I, Scheinin I, Siitonen S, *et al.* miRNA expression profiles in myelodysplastic syndromes reveal Epstein – Barr virus miR – BART13 dysregulation [J]. *Leuk Lymphoma*, 2011, 52(8): 1567 – 1573.
- [29] Liu DZ, Tian Y, Ander BP, *et al.* Brain and blood microRNA expression profiling of ischemic stroke, intracerebral hemorrhage, and kainate seizures [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2010, 30(1): 92 – 101.
- [30] Zeng L, Liu J, Wang Y, *et al.* MicroRNA – 210 as a novel blood biomarker in acute cerebral ischemia [J]. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2011, 3: 1265 – 1272.
- [31] Pulkkinen K, Malm T, Turunen M, *et al.* Hypoxia induces microRNA miR – 210 in vitro and in vivo ephrin – A3 and neuronal pentraxin 1 are potentially regulated by miR – 210 [J]. *FEBS Lett*, 2008, 582(16): 2397 – 2401.
- [32] Zhang B, Pan X. RDX induces aberrant expression of microRNAs in mouse brain and liver [J]. *Environ Health Perspect*, 2009, 117(2): 231 – 240.

(收稿日期: 2012-01-12)

(修订日期: 2012-03-14)