

MiRNA-132 上调脑源性神经营养因子表达抑制 β -淀粉样蛋白诱导的神经元损伤研究

相蕾 任艳苹 宋毅军

【摘要】 研究背景 脑源性神经营养因子(BDNF)在阿尔茨海默病(AD)发病机制中发挥重要作用,微小RNA-132(miRNA-132)在神经元呈高表达,可以通过调控靶基因表达参与BDNF介导的神经发育过程。本研究旨在探讨阿尔茨海默病神经元模型中miRNA-132与BDNF的调控关系和神经保护作用。**方法** 体外培养海马神经元72h后慢病毒转染miRNA-132,并于体外培养第7天以 β -淀粉样蛋白(A β)处理制备阿尔茨海默病神经元模型;实时荧光定量聚合酶链反应观察对照组与AD组miRNA-132表达差异以及不同处理组BDNF mRNA表达变化,噻唑蓝法观察不同处理方式对细胞活性的影响。**结果** (1)AD组海马神经元miRNA-132($t = 13.888, P = 0.000$)和BDNF mRNA($t = -12.274, P = 0.000$)表达水平均低于对照组。(2)原代培养的海马神经元经慢病毒转染后倒置相差荧光显微镜可见绿色荧光蛋白,对照组($t = 16.135, P = 0.000$)和AD组($t = 8.656, P = 0.000$)转染过表达miRNA-132后均能上调BDNF mRNA表达。(3)AD组海马神经元活性降低($t = -6.023, P = 0.000$),AD组转染miRNA-132后神经元活性增强($t = 3.385, P = 0.007$),予以外源性BDNF共培养后神经元活性明显改善($t = 3.672, P = 0.004$)。**结论** 阿尔茨海默病神经元模型miRNA-132和BDNF表达水平均下降,miRNA-132可上调BDNF表达,提示miRNA-132和BDNF对阿尔茨海默病神经元模型具有神经保护作用,有望为阿尔茨海默病诊断与治疗提供新的视角。

【关键词】 微RNAs; 脑源性神经营养因子; 淀粉样 β 蛋白; 神经元; 聚合酶链反应; 细胞,培养的

The neuroprotective effect of miRNA - 132 against amyloid β - protein - induced neuronal damage via upregulation of brain-derived neurotrophic factor

XIANG Lei¹, REN Yan-ping², SONG Yi-jun²

¹Department of Neurology, Tianjin Huanhu Hospital, Tianjin 300350, China

²Department of Neurology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Corresponding author: SONG Yi-jun (Email: songyijun2000@126.com)

【Abstract】 Background Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) plays a crucial role in the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD). MicroRNA (miRNA)-132, which is widely expressed in neurons, is involved in BDNF-mediated neural development by regulating the expression of target gene. This study aims to investigate the effect of miRNA - 132 on BDNF and its neuroprotective effect. **Methods** The hippocampal neurons were transfected by miRNA-132 after 72 h *in vitro*, then exposed to amyloid β -protein (A β) on the 7th day to build AD models. The difference of miRNA-132 expression between AD group and control group was detected by real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (PCR). The alterations of BDNF mRNA were observed in the neurons of different groups. Finally, the cell viability was observed by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay in AD neurons transfected with miRNA - 132 or incubated with BDNF. **Results** 1) MiRNA-132 was significantly decreased ($t = 13.888, P = 0.000$), and the expression of BDNF mRNA was also reduced in AD group ($t = -12.274, P = 0.000$). 2) Green fluorescence

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2016.07.009

基金项目:卫生计生委国家临床重点专科建设项目;天津市应用基础与前沿技术研究计划项目(项目编号:14JJCZDJC35400);天津市应用基础与前沿技术研究计划项目(项目编号:14JCYBJC28300);天津滨海新区卫生局科技重点项目(项目编号:2013BWKZ003)

作者单位:300350 天津市环湖医院神经内科(相蕾);300052 天津医科大学总医院神经内科(任艳苹,宋毅军)

通讯作者:宋毅军(Email:songyijun2000@126.com)

was clearly visible by inverted phase-contrast fluorescence microscopy after transfected with miRNA-132. BDNF mRNA was upregulated when miRNA-132 overexpression both in control group ($t = 16.135, P = 0.000$) and AD group ($t = 8.656, P = 0.000$). 3) Cell viability was obviously decreased in neurons exposed to $A\beta$ ($t = -6.023, P = 0.000$), which was improved when transfected with miRNA-132 ($t = 3.385, P = 0.007$) or incubated with BDNF ($t = 3.672, P = 0.004$). **Conclusions** The expression of miRNA-132 and BDNF was reduced in neuronal AD model. MiRNA-132 played an important role on neuroprotection against $A\beta$ -induced neuronal damage via upregulation of BDNF. It could be expected to provide new perspective for the diagnosis and treatment of AD.

【Key words】 MicroRNAs; Brain-derived neurotrophic factor; Amyloid beta-protein; Neurons; Polymerase chain reaction; Cells, cultured

This study was supported by National Key Clinical Specialty Construction Project of China, Tianjin Research Program of Application Foundation and Advanced Technology (No. 14JCZDJC35400, 14JCYBJC28300), and Tianjin Binhai New Area of Major Support Project (No. 2013BWKZ003).

阿尔茨海默病(AD)的主要病理改变之一是神经炎症斑[NPs, 亦称老年斑(SPs)], 而 β -淀粉样蛋白($A\beta$)是老年斑的核心成分, 在阿尔茨海默病的发病过程中起关键作用。 $A\beta$ 聚集启动复杂多级联病理过程, 介导包括神经胶质增生、免疫炎症、氧化应激、细胞凋亡等多种生物学过程, 神经元缺失是其中一个主要特点^[1]。脑源性神经营养因子(BDNF)广泛分布于中枢神经系统, 在皮质和海马表达丰富, 是突触形成和维持突触可塑性的关键成分, 在阿尔茨海默病的发病机制中发挥重要作用。在阿尔茨海默病转基因动物模型和阿尔茨海默病患者脑组织中均发现BDNF表达异常, BDNF合成分泌障碍可以诱导 $A\beta$ 异常聚集, 导致认知功能下降^[2]。通过外源性注射或转基因方法上调BDNF表达可以改善学习记忆功能, 减少淀粉样斑块形成^[3]。近年来, 越来越多的研究显示, 微小RNA(miRNA)参与神经变性病分子调控机制。MiRNA-132在神经元中表达丰富, 受BDNF信号转导通路的调控, 参与BDNF介导的神经发育过程^[4-5], 而miRNA-132也可以通过上调或下调某些靶基因表达而间接影响BDNF表达^[6]。为阐明miRNA-132与BDNF的相互调控关系在阿尔茨海默病发病机制中的作用, 本研究在培养神经元中分析miRNA-132对BDNF表达变化的影响及其对 $A\beta$ 诱导的神经元损伤的作用, 以期对阿尔茨海默病的诊断与治疗提供新的靶点。

材料与方法

一、实验材料

1. 动物来源 健康孕 16~18 d Sprague-Dawley (SD)大鼠共 10 只, 由军事医学科学院实验动物中心提供[许可证号: SCXK-(军)2012-0004], 常温

(26 ℃)条件下饲养, 自然采光, 自由摄食、饮水。

2. 试剂与药品 BDNF 和 $A\beta_{1-42}$ 分别购自美国 Peprotech 和 Genemed 公司。含绿色荧光蛋白(GFP)表达 miRNA-132 的慢病毒由苏州吉玛基因股份有限公司构建包装。无血清 Neurobasal 培养基、DMEM/F12 培养基、胎牛血清(FBS)和 0.25% 胰蛋白酶均由美国 Gibco 公司提供。多聚赖氨酸和噻唑蓝(MTT)为美国 Sigma-Aldrich 公司产品。聚合酶链反应(PCR)引物和试剂盒均由上海吉玛制药技术有限公司提供。

3. 实验仪器 恒温二氧化碳孵化箱为德国 Heraeus 公司产品。Olympus IX-71 型倒置相差荧光显微镜由日本 Olympus 公司提供。超微量分光光度计购自美国 Thermo 公司。实时荧光定量 PCR 仪为美国 Bio-Rad 公司产品, 酶标仪由美国 Omega 公司提供。

二、实验方法

1. 原代海马神经元培养 参照前期研究^[7], 分离 SD 孕鼠胚胎双侧海马组织, 0.125% 胰蛋白酶消化 15 min, 含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基终止消化、充分吹打, 以 $500 \times 10^3/\text{ml}$ 密度接种于以多聚赖氨酸预包被的培养皿和 96 孔板中; 37 ℃、5% 二氧化碳孵化箱维持培养 6 h; 基础培养基全量换为含 2% B27 无血清 Neurobasal 培养基, 每 3 天半量换液。10 只孕鼠分别进行 10 次海马细胞培养, 每次可以培养 10~15 盘神经元, 每次培养以完全随机化分组方法于培养后 72 h 取 6~8 盘神经元进行转染, 无论转染或未转染神经元均于培养第 7 天予不同药物进行处理。

2. 神经元转染过表达 miRNA-132 海马神经元培养 72 h 后以感染复数(MOI)值为 20 在 Neurobasal

培养基中加入经稀释的病毒颗粒 20 μ l, 24 h 后以 Neurobasal 培养基全量换液;再继续培养至转染 > 72 h, 倒置相差荧光显微镜下观察绿色荧光蛋白表达, 以绿色荧光确定转染率。慢病毒 miRNA-132 包含 miRNA - 132 - 3p 序列为 UAACAGUCUA CAGCCAUGGUCG, 阴性对照 (NC) 慢病毒序列为 TTCTCCGAACGTGTACGTTTC。

3. 神经元药物处理 按照 Costa 等^[8]的研究方法, 将 $A\beta_{1-42}$ 溶解孵化制备成 $A\beta_{1-42}$ 寡聚体, 再以 0.50 μ mol/L $A\beta_{1-42}$ 孵育神经元 24 h 进行观察, 以空白细胞外液孵育作为对照。按照前期研究 BDNF 孵育方法^[9], 提取 RNA 或进行细胞活性检测前 10 min 滴加 100 ng/ml BDNF 2 μ l 孵育神经元。然后采用随机区组方法将海马神经元分为正常对照组 (对照组)、 $A\beta$ 处理组 (AD 组)、正常对照转染 miRNA-132 组 (Control + miRNA - 132)、 $A\beta$ 处理神经元转染 miRNA-132 组 (AD + miRNA-132)、正常对照转染阴性对照组 (Control + NC)、 $A\beta$ 处理神经元转染阴性对照组 (AD + NC) 和 $A\beta$ 处理神经元与 BDNF 共培养组 (AD + BDNF)。

4. 实时荧光定量聚合酶链反应检测神经元 miRNA-132 和 BDNF mRNA 表达变化 原代海马神经元培养至第 7 天, TRIzol 法提取不同处理组神经元总 RNA, 分光光度计鉴定 RNA 浓度和纯度。反应条件为 50 $^{\circ}$ C 预热 2 min、95 $^{\circ}$ C 预变性 30 s, 循环为 94 $^{\circ}$ C 变性 10 s、60 $^{\circ}$ C 退火 20 s、72 $^{\circ}$ C 延伸 20 s, 共计 40 个循环; 绘制融解曲线, $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目的基因/内参基因比值。特异性引物为 BDNF 正向引物序列: 5'-TGTGACAGTATTAGCGAGTGGT-3', 反向引物序列: 5'-CGATTGGGTAGTTCGGCATT-3'; 内参照物甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 正向引物序列: 5'-TCCATGACAACCTTGGCATTGTGG-3', 反向引物序列: 5'-GTTGCTGTTGAAGTCGCAGGAGAC-3'; miRNA - 132 正向引物序列: 5'-CCAGCATAACAGTCTACAGCCA-3', 反向引物序列: 5'-TATGGTTGTTACGACTCCTTCAC-3'; 内参照物 U6 小核 RNA (snRNA) 正向引物序列: 5'-ATTGGAACGATACAGAGAAGATT-3', 反向引物序列: 5'-GGAACGCTTCACGAATTTG-3'。

5. MTT 法分析神经元活性 通过 MTT 法检测海马神经元内活性线粒体脱氢酶水平以确定细胞活性。不同处理组神经元滴加 0.50 mg/ml MTT 溶液 10 μ l, 37 $^{\circ}$ C 5% 二氧化碳培养箱中孵育 2~4 h。反

应产物采用酶联免疫吸附试验 (ELISA), 于 570 nm 波长酶标仪测定吸光度值 (A 值), 减去背景吸光度值, 测试结果以其与对照组比值表示。

三、统计分析方法

采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据处理与分析。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, Levene 法行方差齐性检验, 两样本均数的比较采用两独立样本的 *t* 检验; 多个样本均数的比较采用单因素方差分析, 两两比较行 LSD-*t* 检验。以 $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、原代培养海马神经元 β -淀粉样蛋白诱导 miRNA-132 和 BDNF mRNA 表达下调

在原代海马神经元中加入 $A\beta$ 共孵育后制备阿尔茨海默病神经元模型, 实时荧光定量 PCR 反应显示, AD 组细胞 miRNA-132 ($P = 0.000$, 表 1) 和 BDNF mRNA ($P = 0.000$; 表 2, 3) 表达水平均低于对照组。

二、过表达 miRNA-132 上调 BDNF mRNA 表达

经体外培养的海马神经元经慢病毒转染过表达 miRNA-132, 转染 72 h 后倒置相差荧光显微镜观察显示, 神经元成功转染表达绿色荧光蛋白 (图 1); 若收集细胞提取 RNA 前倒置相差荧光显微镜观察呈绿色荧光的神经元不足 50%, 该盘细胞弃用不再进行下一步实验。转染率方面, Control + NC 组或 AD + NC 组与其未转染组相比, BDNF mRNA 表达差异均无统计学意义 ($P = 0.711, 0.938$); 而转染 miRNA - 132 后 BDNF mRNA 表达水平升高 ($P = 0.000, 0.000$; 表 2, 3)。表明过表达 miRNA-132 可上调海马神经元 BDNF mRNA 表达水平, 而非转染本身引起的 BDNF mRNA 表达变化。

三、过表达 miRNA-132 或外源性脑源性神经营养因子抑制 β -淀粉样蛋白诱导的神经元损伤

MTT 法显示, $A\beta$ 孵育制备阿尔茨海默病神经元模型海马神经元活性低于对照组 ($P = 0.000$; 表 4, 5)。在 AD 模型基础上过表达 miRNA-132 后与 AD 组相比, MTT 值增加 ($P = 0.007$); 予以外源性 BDNF 后 MTT 值亦高于 AD 组 ($P = 0.004$; 表 4, 5)。

讨 论

$A\beta$ 诱导的体外神经元模型已经广泛应用于阿尔茨海默病研究中^[10]。本研究在这一模型中发现 miRNA-132 和 BDNF 表达下调, 通过转染技术过表

表 1 A β 诱导阿尔茨海默病神经元模型与对照组海马神经元 miRNA-132 表达水平的比较($\bar{x} \pm s, \%$)**Table 1.** Comparison of miRNA - 132 expression in hippocampal neurons between AD and control groups ($\bar{x} \pm s, \%$)

Group	N	MiRNA-132	t value	P value
Control	6	100.03 \pm 12.94	13.888	0.000
AD	6	23.29 \pm 3.96		

AD, Alzheimer's disease, 阿尔茨海默病; miRNA, microRNA, 微小 RNA

表 2 不同处理组海马神经元 BDNF mRNA 表达水平的比较($\bar{x} \pm s, \%$)**Table 2.** Comparison of BDNF mRNA expression in hippocampal neurons among different groups ($\bar{x} \pm s, \%$)

Group	N	BDNF mRNA	F value	P value
Control	6	100.68 \pm 12.51	181.256	0.000
AD	6	22.96 \pm 9.17		
Control + NC	6	97.32 \pm 17.61		
AD + NC	6	22.62 \pm 4.27		
Control + miRNA-132	6	239.68 \pm 17.00		
AD + miRNA-132	6	99.85 \pm 19.73		

AD, Alzheimer's disease, 阿尔茨海默病; NC, negative control, 阴性对照; miRNA, microRNA, 微小 RNA; BDNF, brain - derived neurotrophic factor, 脑源性神经营养因子

表 3 不同处理组海马神经元 BDNF mRNA 表达水平的两两比较**Table 3.** Paired comparison of BDNF mRNA expression level in hippocampal neurons among different groups

Paired comparison	t value	P value
Control: AD	-12.274	0.000
Control: Control + NC	0.381	0.711
Control: Control + miRNA-132	16.135	0.000
AD: AD + NC	0.081	0.938
AD: AD + miRNA-132	8.656	0.000

AD, Alzheimer's disease, 阿尔茨海默病; NC, negative control, 阴性对照; miRNA, microRNA, 微小 RNA

达 miRNA-132 后可观察到 miRNA-132 具有上调 BDNF 表达之作用,而且无论是通过 miRNA-132 增加 BDNF 表达或外源性补充 BDNF 均能够抑制阿尔茨海默病模型诱导的神经元损伤。

近年研究表明,阿尔茨海默病患者 BDNF 表达水平降低,同时在阿尔茨海默病转基因动物模型 A β 沉积的主要部位皮质和海马中同样也发现 BDNF 表达下调^[2],本研究对阿尔茨海默病神经元模型的观察得到与上述研究一致的结论,进一步证实 A β 可诱导 BDNF 表达下调。BDNF 对维持神经系统生理功能十分重要,神经元突起生长、突触可塑性及大脑

高级神经活动如学习记忆行为均需 BDNF 的参与。BDNF 主要通过酪氨酸激酶受体 B(TrkB) 结合,激活一系列下游信号转导通路,以维持细胞内钙离子稳态平衡并调控神经元存活和突触可塑性^[11]。近年有文献报道,大脑神经元 BDNF 表达水平较低的区域神经原纤维缠结形成(NFTs)增加^[12]。BDNF 还能减少 A β 的异常沉积,本研究在体外神经元中发现 BDNF 对 A β 诱导的神经元损伤具有抑制作用。予动物模型外源性 BDNF 能够改善其学习记忆功能、减少淀粉样斑块形成,修复 A β 诱导的突触损伤;而且有研究显示,血浆中高水平的 BDNF 能够延迟健康人群发生认知功能障碍的时间^[3,13]。这些研究结果均提示 BDNF 表达变化在阿尔茨海默病发病机制中的重要作用,有望成为阿尔茨海默病治疗之靶点,但外源性 BDNF 涉及生物稳定性的问题,因此,如何精确调控内源性 BDNF 的表达成为目前研究之重点。

微小 RNA 在神经系统表达丰富,主要通过转录机制调控蛋白编码基因的表达,调节神经系统的病理生理学过程,超过半数的基因均受微小 RNA 的调控,因此,在神经变性病中已经发现许多微小 RNA 作为疾病的诊断和治疗工具^[14]。有研究显示,miRNA-132 在神经变性病中的表达水平降低^[15],Lau 等^[16]在 41 例晚发型阿尔茨海默病患者的海马和前额叶皮质中发现 miRNA-132 表达水平明显降低,Wong 等^[17]在 29 例患者的颞叶皮质和海马 CA1 区神经元中也得到相同结果。这些研究预测 miRNA-132 可能通过调控淀粉样蛋白的基因网络影响阿尔茨海默病的疾病进程。本研究在体外细胞模型中也观察到 miRNA-132 表达水平降低,而且进一步通过细胞转染技术过表达 miRNA-132 证实 miRNA-132 可以上调 BDNF 表达。有研究显示,miRNA-132 可以通过不同的靶蛋白如 p250 GTP 酶激活蛋白(GAP)、甲基化 CpG 结合蛋白 2(MeCP2)和孤儿核受体 Nurr1 调控 BDNF 的表达而影响神经发育过程^[6,18],但是在阿尔茨海默病模型中尚无 miRNA-132 与 BDNF 相互调控关系的研究。A β 具有细胞毒性作用,能增强炎症反应和氧化应激反应,诱导细胞死亡。本研究结果显示,无论过表达 miRNA-132 还是予外源性 BDNF 均能够抑制 A β 诱导的神经元损伤,进一步说明 miRNA-132 通过上调 BDNF 在阿尔茨海默病神经元模型中的表达水平从而发挥神经保护作用。微小 RNA 在神经变性病的

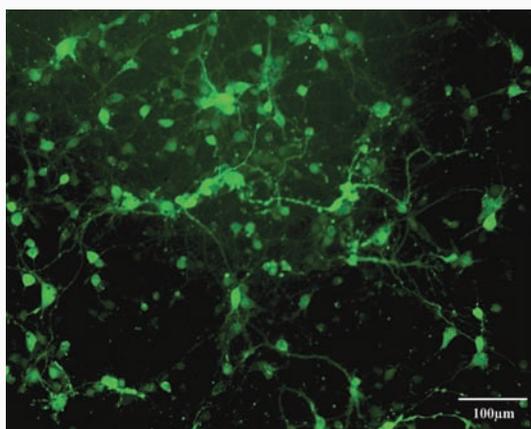


图 1 倒置相差荧光显微镜观察显示, 转染 72 h 后大多数海马神经元呈绿色荧光, 提示转染成功

Figure 1 Hippocampal neuronal cells were clearly visible by inverted phase - contrast fluorescence microscopy at 72 h post - transfection, which suggested effective transfection.

表 4 不同处理组海马神经元细胞活性的比较($\bar{x} \pm s, \%$)

Table 4. Comparison of cell viability of hippocampal neurons among different groups ($\bar{x} \pm s, \%$)

Group	N	Cell viability	F value	P value
Control	6	100.04 ± 7.47	12.771	0.000
AD	6	57.62 ± 15.55		
AD + miRNA-132	6	85.65 ± 13.02		
AD + BDNF	6	86.52 ± 11.39		

AD, Alzheimer's disease, 阿尔茨海默病; miRNA, microRNA, 微小 RNA; BDNF, brain-derived neurotrophic factor, 脑源性神经生长因子。The same for table below

表 5 不同处理组海马神经元细胞活性的两两比较

Table 5. Paired comparison of cell viability of hippocampal neurons among different groups

Paired comparison	t value	P value
Control: AD	-6.023	0.000
AD: AD + miRNA-132	3.385	0.007
AD: AD + BDNF	3.672	0.004

研究中尚处于起步阶段, 本研究提供的证据支持 miRNA-132 在阿尔茨海默病中的神经保护作用, 有望成为阿尔茨海默病诊断的生物学标志物和治疗新靶点。

参 考 文 献

[1] Saad Y, Segal D, Ayali A. Enhanced neurite outgrowth and branching precede increased amyloid - β - induced neuronal apoptosis in a novel Alzheimer's disease model. J Alzheimers Dis, 2015, 43:993-1006.
 [2] Francis BM, Kim J, Barakat ME, Fraenkl S, Yucel YH, Peng S, Michalski B, Fahnestock M, McLaurin J, Mount HT. Object

recognition memory and BDNF expression are reduced in young TgCRND8 mice. Neurobiol Aging, 2012, 33:555-563.
 [3] Shin MK, Kim HG, Baek SH, Jung WR, Park DI, Park JS, Jo DG, Kim KL. Neuropep - 1 ameliorates learning and memory deficits in an Alzheimer's disease mouse model, increases brain-derived neurotrophic factor expression in the brain, and causes reduction of amyloid beta plaques. Neurobiol Aging, 2014, 35: 990-1001.
 [4] Remenyi J, Hunter CJ, Cole C, Ando H, Impey S, Monk CE, Martin KJ, Barton GJ, Hutvagner G, Arthur JS. Regulation of the miR - 212/132 locus by MSK1 and CREB in response to neurotrophins. Biochem J, 2010, 428:281-291.
 [5] Hancock ML, Preitner N, Quan J, Flanagan JG. MicroRNA-132 is enriched in developing axons, locally regulates Rasa1 mRNA, and promotes axon extension. J Neurosci, 2014, 34:66-78.
 [6] Klein ME, Lioy DT, Ma L, Impey S, Mandel G, Goodman RH. Homeostatic regulation of MeCP2 expression by a CREB - induced microRNA. Nat Neurosci, 2007, 10:1513-1514.
 [7] Cai H, Wu QJ, Zhu YX, Zhao W, Li B, Song YJ. Study of miRNA - 212 regulating BDNF/TrkB signaling pathway in epileptic neuron model. Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi, 2014, 14:972-978. [蔡浩, 吴秋静, 朱延霞, 赵文, 李斌, 宋毅军. 神经元癫痫模型 miRNA-212 对 BDNF/TrkB 信号转导通路影响的研究. 中国现代神经疾病杂志, 2014, 14:972-978.]
 [8] Costa RO, Lacor PN, Ferreira IL, Resende R, Auberson YP, Klein WL, Oliveira CR, Rego AC, Pereira CM. Endoplasmic reticulum stress occurs downstream of GluN2B subunit of N - methyl - D - aspartate receptor in mature hippocampal cultures treated with amyloid- β oligomers. Aging Cell, 2012, 11:823-833.
 [9] Xie W, Song YJ, Li D, Pan LP, Wu QJ, Tian X. The suppression of epileptiform discharges in cultured hippocampal neurons is regulated via alterations in full-length tropomyosin-related kinase type B receptors signalling activity. Eur J Neurosci, 2014, 40:2564-2575.
 [10] Kanno H, Kawakami Z, Tabuchi M, Mizoguchi K, Ikarashi Y, Kase Y. Protective effects of glycycomarin and procyanidin B1, active components of traditional Japanese medicine yokukansan, on amyloid β oligomer-induced neuronal death. J Ethnopharmacol, 2015, 159:122-128.
 [11] Song JH, Yu JT, Tan L. Brain-derived neurotrophic factor in Alzheimer's disease: risk, mechanisms, and therapy. Mol Neurobiol Dec, 2015, 52:1477-1493.
 [12] Liu X, Ye K, Weinschenker D. Norepinephrine protects against amyloid- β toxicity via TrkB. J Alzheimers Dis, 2015, 44:251-260.
 [13] Chen WR, Yan YN, Cui HL, Li XY. Effects of tenuigenin on the expression of brain - derived neurotrophic factor and its receptor tyrosine protein kinase B in the hippocampus of Alzheimer's disease model rats. Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi, 2014, 14:421-426. [陈伟荣, 燕毅男, 崔红丽, 李新毅. 远志总皂苷对阿尔茨海默病模型大鼠海马脑源性神经生长因子及酪氨酸蛋白激酶 B 表达的影响. 中国现代神经疾病杂志, 2014, 14:421-426.]
 [14] Yates LA, Norbury CJ, Gilbert RJ. The long and short of microRNA. Cell, 2013, 153:516-519.
 [15] Hébert SS, Wang WX, Zhu Q, Nelson PT. A study of small RNAs from cerebral neocortex of pathology-verified Alzheimer's disease, dementia with lewy bodies, hippocampal sclerosis, frontotemporal lobar dementia, and non - demented human controls. J Alzheimers Dis, 2013, 35:335-348.
 [16] Lau P, Bossers K, Janky R, Salta E, Frigerio CS, Barbash S, Rothman R, Sierksma AS, Thathiah A, Greenberg D, Papadopoulou AS, Achsel T, Ayoubi T, Soreq H, Verhaagen J, Swaab DF, Aerts S, De Strooper B. Alteration of the microRNA

network during the progression of Alzheimer's disease. EMBO Mol Med, 2013, 5:1613-1634.

[17] Wong HK, Veremeyko T, Patel N, Lemere CA, Walsh DM, Esau C, Vandenburg C, Krichevsky AM. De-repression of FOXO3a death axis by microRNA - 132 and - 212 causes neuronal apoptosis in Alzheimer's disease. Hum Mol Genet, 2013, 22:3077-3092.

2013, 22:3077-3092.

[18] Lungu G, Stoica G, Ambrus A. MicroRNA profiling and the role of microRNA - 132 in neurodegeneration using a rat model. Neurosci Lett, 2013, 553:153-158.

(收稿日期:2016-05-03)

· 临床医学图像 ·

鞍区颗粒细胞瘤

doi: 10.3969/j.issn.1672-6731.2016.07.016

Granular cell tumor of the sellar region

YAN Xiao-ling

Department of Pathology, Tianjin Huanhu Hospital, Tianjin 300350, China (Email: ll934065@126.com)

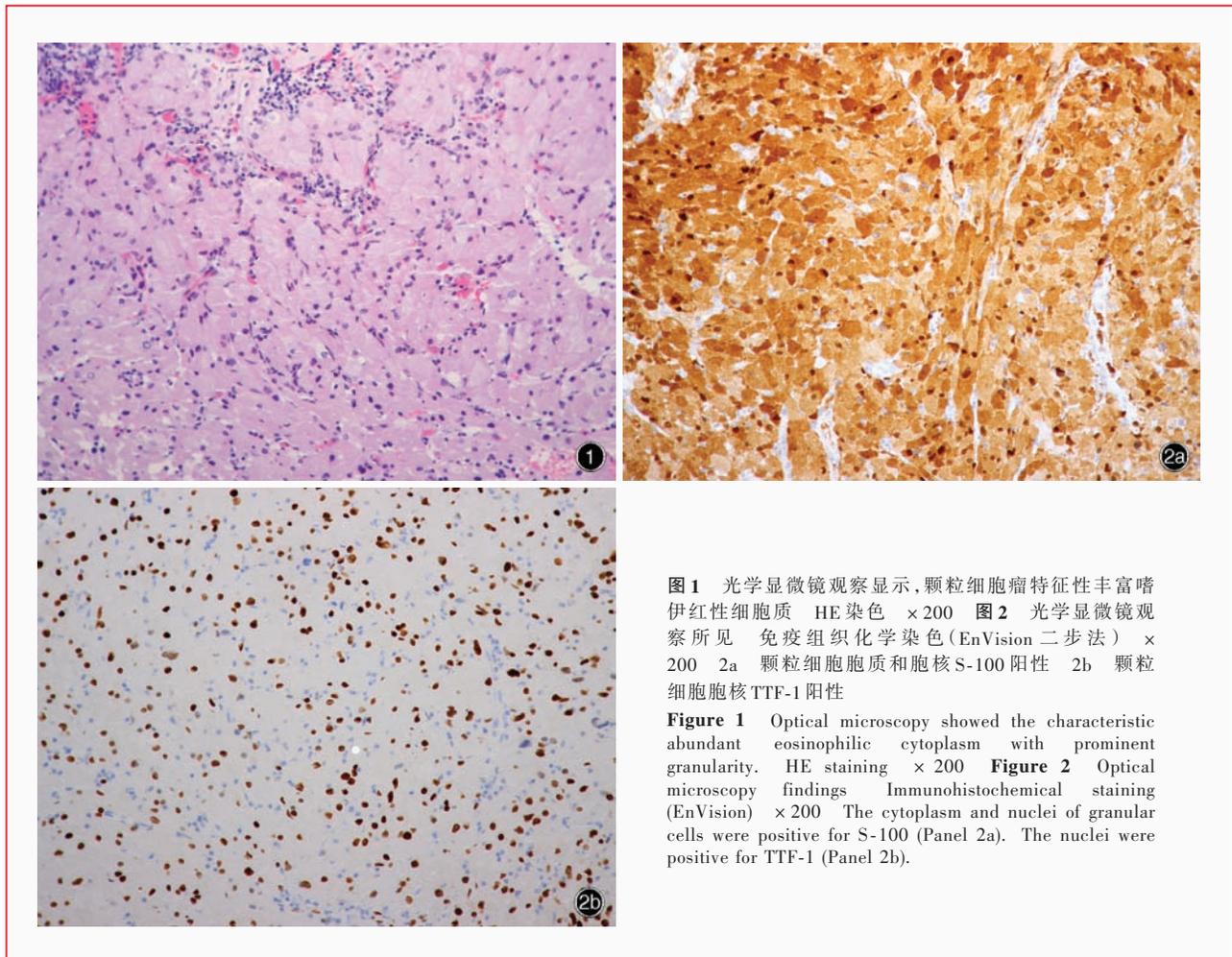


图1 光学显微镜观察显示,颗粒细胞瘤特征性丰富嗜伊红性细胞质 HE染色 ×200 图2 光学显微镜观察所见 免疫组织化学染色(EnVision 二步法) ×200 2a 颗粒细胞胞质和胞核S-100阳性 2b 颗粒细胞胞核TTF-1阳性

Figure 1 Optical microscopy showed the characteristic abundant eosinophilic cytoplasm with prominent granularity. HE staining ×200 Figure 2 Optical microscopy findings Immunohistochemical staining (EnVision) ×200 The cytoplasm and nuclei of granular cells were positive for S-100 (Panel 2a). The nuclei were positive for TTF-1 (Panel 2b).

颗粒细胞瘤由体积较大的上皮样细胞或梭形细胞构成,起源于神经垂体或漏斗,由于肿瘤细胞富含溶酶体,胞质呈颗粒状、嗜伊红染色,发生于鞍区者一般为良性(WHO I级),进展缓慢。与垂体细胞瘤、梭形细胞嗜酸细胞瘤相同,颗粒细胞胞核表达甲状腺转录因子-1(TTF-1),提示此3种肿瘤可能组成独立疾病实体的1个谱系。组织学形态观察,肿瘤组织由致密排列的多角形细胞构成,胞质丰富、呈嗜伊红性(图1);典型结构呈结节状,亦可呈片状、梭形或束状排列;可见小灶性泡沫细胞,胞核较小、核仁不明显;血管周围淋巴细胞聚集是鞍区颗粒细胞瘤的特点。颗粒细胞胞质CD68、α1-抗胰蛋白酶阳性,胞质和胞核S-100蛋白(S-100)阳性(图2a),胞核TTF-1阳性(图2b)。

(天津市环湖医院病理科阎晓玲供稿)