

急性重型颅脑创伤患者外周血微小 RNA 和白细胞介素-1 表达变化及分子机制研究

蒋达锦 王晨秋 吴杰 陈君 李严

【摘要】 目的 探讨急性重型颅脑创伤患者血清白细胞介素-1 α 和1 β (IL-1 α 和IL-1 β)表达变化以及外周血单个核细胞微小RNA(miRNA)相对表达量,并探讨其分子机制。方法 采用生物学信息软件TargetScan Release 7.1分析调控IL-1 α 和IL-1 β 基因的miRNA;酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清IL-1 α 和IL-1 β 表达变化,逆转录-聚合酶链反应检测外周血单个核细胞miRNA相对表达量;双荧光素酶报告基因载体验证基因之间相互作用。结果 IL-1 α 是miRNA-24-3p调控的靶基因,IL-1 β 是miRNA-383-3p调控的靶基因。急性重型颅脑创伤患者血清IL-1 α [(4.09 \pm 2.32) ng/L对(0.56 \pm 0.02) ng/L; $t=124.369$, $P=0.030$]和IL-1 β [(3.99 \pm 1.73) ng/L对(0.89 \pm 0.03) ng/L; $t=163.123$, $P=0.010$]水平高于正常对照者。急性重型颅脑创伤患者外周血miRNA-24-3p和miRNA-383-3p相对表达量为23%和17%,IL-1 α 和IL-1 β 基因相对表达量为390%和420%。双荧光检测显示,各处理组细胞IL-1 α 基因($F=40154.000$, $P=0.000$)和IL-1 β 基因($F=4015.000$, $P=0.003$)表达量差异有统计学意义,其中miRNA-24-3p组细胞IL-1 α 基因表达量低于空白对照组($P=0.000$)、miRNA-24-3p抑制剂组($P=0.023$)、阴性对照组($P=0.023$)和阴性抑制剂组($P=0.023$),miRNA-383-3p组细胞IL-1 β 基因表达量低于空白对照组($P=0.000$)、miRNA-383-3p抑制剂组($P=0.000$)、阴性对照组($P=0.000$)和阴性抑制剂组($P=0.000$);经过转染克隆IL-1 α -mut-3'UTR和IL-1 β -mut-3'UTR质粒后,各处理组细胞IL-1 α 基因($F=72.400$, $P=0.001$)和IL-1 β 基因($F=37.000$, $P=0.000$)表达量差异有统计学意义,但miRNA-24-3p组细胞IL-1 α 基因表达量与空白对照组、miRNA-24-3p抑制剂组、阴性对照组和阴性抑制剂组差异无统计学意义(均 $P>0.05$),miRNA-383-3p组细胞IL-1 β 基因表达量与空白对照组、miRNA-383-3p抑制剂组、阴性对照组和阴性抑制剂组差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。结论 急性重型颅脑创伤患者血清IL-1 α 和IL-1 β 水平高于正常对照者,其作用机制可能是IL-1 α 基因受miRNA-24-3p负性调控,IL-1 β 基因受miRNA-383-3p的负性调控。

【关键词】 颅脑损伤; 微RNAs; 白细胞介素1; 基因; 转染; 逆转录聚合酶链反应; 细胞,培养的

Expression and molecular mechanism of microRNA and interleukin-1 in peripheral blood of patients with acute severe traumatic brain injury

JIANG Da-jin, WANG Chen-qiu, WU Jie, CHEN Jun, LI Yan

Department of Neurosurgery, BenQ Medical Center of Suzhou, Suzhou 210019, Jiangsu, China

Corresponding author: WANG Chen-qiu (Email: 3188391178@qq.com)

【Abstract】 Objective To investigate the expression change of serum interleukin-1 α (IL-1 α) and interleukin-1 β (IL-1 β) concentrations and relative expression of microRNA (miRNA) in peripheral blood mononuclear cell (PBMC) of patients with acute severe traumatic brain injury (sTBI) and its molecular mechanism. **Methods** TargetScan Release 7.1 software was used to analyze miRNA regulating IL-1 α and IL-1 β genes. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect expressions of serum IL-1 α and IL-1 β . Reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to detect miRNA relative expression of PBMC. Dual-Luciferase Reporter Assay System was constructed to verify the interaction between genes. **Results** IL-1 α was the target gene regulated by miRNA-24-3p, and IL-1 β was the target gene regulated by miRNA-383-3p. Compared with control group, the concentrations of serum IL-1 α [(4.09 \pm

2.32) ng/L vs. (0.56 ± 0.02) ng/L; $t = 124.369$, $P = 0.030$] and IL-1 β [(3.99 ± 1.73) ng/L vs. (0.89 ± 0.03) ng/L; $t = 163.123$, $P = 0.010$] in sTBI group were significantly higher. In sTBI group, the relative expressions of miRNA-24-3p and miRNA-383-3p in PBMC were 23% and 17%, and the relative expressions of IL-1 α and IL-1 β were 390% and 420%. Dual-Luciferase Reporter Assay System showed the expressions of IL-1 α ($F = 40\ 154.000$, $P = 0.000$) and IL-1 β ($F = 4015.000$, $P = 0.003$) had significant difference in different groups. The expression of IL-1 α in miRNA-24-3p group was significantly lower than that in control group ($P = 0.000$), miRNA-24-3p inhibitor group ($P = 0.023$), negative control group ($P = 0.023$) and negative inhibitor group ($P = 0.023$). The expression of IL-1 β in miRNA-383-3p group was significantly lower than that in control group ($P = 0.000$), miRNA-383-3p inhibitor group ($P = 0.000$), negative control group ($P = 0.000$) and negative inhibitor group ($P = 0.000$). After transfected with clone IL-1 α -mut-3'UTR and IL-1 β -mut-3'UTR plamid, there were significant differences in different groups on expressions of IL-1 α ($F = 72.400$, $P = 0.001$) and IL-1 β ($F = 37.000$, $P = 0.000$). However, the expression of IL-1 α in miRNA-24-3p group had no significant difference with control group, miRNA-24-3p inhibitor group, negative control group and negative inhibitor group ($P > 0.05$, for all), and the expression of IL-1 β in miRNA-383-3p group had no significant difference with control group, miRNA-383-3p inhibitor group, negative control group and negative inhibitor group ($P > 0.05$, for all). **Conclusions** The concentrations of IL-1 α and IL-1 β in serum of sTBI patients are higher than that of normal controls. The mechanism may be that IL-1 α is negatively regulated by miRNA-24-3p and IL-1 β is negatively regulated by miRNA-383-3p.

【Key words】 Craniocerebral trauma; MicroRNAs; Interleukin - 1; Genes; Transfection; Reverse transcriptase polymerase chain reaction; Cells, cultured

急性颅脑创伤(TBI)患者存在明显的氧化应激反应和炎症反应,过度激活的炎症反应使脑血管通透性增加、白细胞释放增多、补体激活等,导致炎症因子瀑布性爆发,加重脑组织二次损伤^[1-7]。微小RNA(miRNA)是包含19~23个核苷酸的非编码单链小分子RNA,通过结合其靶基因mRNA的3'非翻译区(3'UTR)以抑制mRNA降解或翻译,从而调控靶基因表达^[8]。研究显示,miRNA与脑缺血的发生与发展密切相关,某些miRNA参与脑缺血后炎症反应、氧化应激反应、兴奋性神经毒性、神经元凋亡等病理生理学过程^[9]。我们课题组的前期研究显示,黄体酮可以减少急性颅脑创伤患者血清炎症因子的产生,降低颅内压,改善预后^[10]。本研究旨在观察急性颅脑创伤患者外周血白细胞介素-1(IL-1)和外周血单个核细胞(PBMC)miRNA表达变化,以为揭示其分子机制提供理论依据。

资料与方法

一、临床资料

1. 纳入标准 (1)男性。(2)年龄为16~70岁。(3)创伤至入院时间<6h。(4)重型颅脑创伤[Glasgow昏迷量表(GCS)评分 \leq 8分],并经头部CT证实存在脑挫裂伤、蛛网膜下隙出血(SAH)、脑出血等病变。(5)本研究经江苏省苏州明基医院道德伦理委员会审核批准,所有患者或其家属均知情同意

并签署知情同意书。

2. 排除标准 (1)复合伤。(2)创伤后出现低氧血症。(3)既往有低血压、肝肾功能障碍等严重器质性病变。

3. 一般资料 (1)急性重型颅脑创伤组(sTBI组):选择2016年5月1日-2017年12月31日在江苏省苏州明基医院神经外科住院治疗的急性重型颅脑创伤患者共50例,均为男性;年龄16~70岁,平均(51.00 ± 2.30)岁;创伤至入院时间2~6h,平均(3.50 ± 0.80)h;致伤原因为脑挫裂伤10例(20%),颅内血肿20例(40%),蛛网膜下隙出血20例(40%);入院时GCS评分为1~8分,平均(5.00 ± 0.05)分。(2)正常对照组(对照组):选择同期在我院进行体格检查的健康志愿者50例,均为男性;年龄15~55岁,平均(28.60 ± 1.30)岁。两组受试者年龄差异具有统计学意义($t = 123.000$, $P = 0.010$)。

二、研究方法

1. 生物学信息分析 通过UCSC基因浏览器(美国加州大学Santa Cruz分校)查找IL-1 α 和IL-1 β 全基因组序列,然后采用TargetScan Release 7.1软件(http://www.targetscan.org/vert_71/)在线分析调控IL-1 α 和IL-1 β 基因的miRNA。

2. 标本采集及相关指标检测 sTBI组患者分别于入院时和伤后6h采集外周静脉血5ml,对照组受试者血液标本由我院体检中心提供,以3000 × g离

心 5 min, 取上清液, 于 -70 °C 保存备用; 采用 Ficoll 细胞分离试剂 (北京冬璞泰和科技有限责任公司) 分离外周血单个核细胞, 严格按照试剂说明书进行操作; 采用酶联免疫吸附试验 (ELISA, 上海酶联生物科技有限公司) 检测外周血 IL-1 α 和 IL-1 β 表达变化, 严格按照试剂盒说明书进行操作。重复试验 3 次, 取平均值。

3. 细胞培养和转染 (1) 细胞培养: 人胚肾细胞 293 (HEK293) 购自中国科学院生物化学与细胞生物学研究所, 经分离、体外培养、鉴定和扩增传代, 传至第 3 代。置于 37 °C、含 5% 二氧化碳 (CO₂) 的饱和湿度培养箱中培养, 培养基为含 10% 胎牛血清 (FBS) 的 RPMI-1640 培养基 [赛默飞技术 (北京) 有限公司], 每 2 ~ 3 天以 0.25% 胰蛋白酶消化传代培养, 选择呈对数生长期且台盼蓝染色拒染率 > 95% 的 HEK293 细胞。(2) 细胞转染: 以 500 μ l opti-MEN 溶液稀释 20 μ l 脂质体 5 min, 再以 500 μ l opti-MEN 溶液稀释 20 μ l 模拟物 5 min, 二者混合, 轻轻吹打均匀后室温静置 20 min, 以不含胎牛血清的 DMEM 培养液将培养皿中细胞清洗干净, 再向培养皿中加入 3 ml 不含胎牛血清的 DMEM 培养液转染细胞。

4. 实时逆转录-聚合酶链反应检测 IL-1 α 和 IL-1 β 基因相对表达量 (1) 试剂与仪器: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH)、U6 小核 RNA (snRNA) 购自美国 Sigma-Aldrich 公司, Trizol 溶液购自美国 Invitrogen Gibco 公司, Oligo (dT) 18 Primer、10 mmol/L dNTP 溶液、RNase 抑制剂、RNA 酶抑制剂、M-MLV 逆转录酶、5 \times Buffer 溶液、SYBR Prime Script-RT Reagent Kit 试剂盒购自美国 Promega 公司, OptimaL-100XP 型超高速冷冻离心机购自美国 Beckman Coulter 公司, Multiscan MK3 分光光度计购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司, GeneAmp PCR System 2400 型 PCR 扩增仪购自美国 PE 公司。(2) 实时逆转录-聚合酶链反应 (RT-PCR): 采用 Trizol 法提取细胞总 RNA, 于 260 nm 波长处测定 RNA 含量, 以 GAPDH、U6 snRNA 作为内参照物, miRNA-24-3p 正向引物序列 5'-ACACTCCAGCTGGGTGGCTCAGTTCAGC-3'、反向引物序列 5'-CTCAACTGGTGTCTGGAGTTCGGCAATTCAGTTGAGCTGTTCT-3', miRNA-383-3p 正向引物序列为 5'-ATCCAGTGCCTGTCGTG-3'、反向引物序列 5'-CTCAACTGGTGTCTGGAGTTCGGCAATTCAGTTGAGTCTGACCA-3', GAPDH 正向引物序列为 5'-

CCACCCATGGCAAATTCATGGCA-3'、反向引物序列为 5'-TCTAGACGGCAGGTCAGGTCCAC-3', U6 snRNA 正向引物序列为 5'-ATCCAGTGCCTGTCGTG-3'、反向引物序列 5'-TGCTTAAGGCAGTGTATTGTT-3', IL-1 β 正向引物序列 5'-GCTGCCAATGGCTCTAATG-3'、反向引物序列 5'-GGAGACTGCACTGGAGTACT-3', IL-1 α 正向引物序列和反向引物序列为 5'-CCAGGATGAGGACCCAAGCA-3' 和 5'-TGCCGACCATTGCTGTTTCG-3'。采用 SYBR Prime Script-RT Reagent Kit 试剂盒行 RT-PCR 反应, 反应条件为 96 °C 5 min、94 °C 10 s、56 °C 20 s、70 °C 30 s、75 °C 20 s, 共 40 个循环, 反应体系共计 50 μ l。采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算目的基因相对表达量, 其中 $\Delta\Delta$ Ct = 目的基因 Ct - 内参基因 Ct。

5. 构建双荧光素酶报告基因载体和荧光活性检测 (1) 试剂与仪器: KOD Plus Neo DNA 聚合酶和 DNA 凝胶回收试剂盒为日本 Toyobo 公司产品, DpnI 酶由美国 Promega 公司提供, 高纯质粒小量提取试剂盒和 T4 DNA 连接酶为日本 TaKaRa 公司产品, Dual-Luciferase 双荧光素酶报告基因检测系统购自美国 Promega 公司。(2) 双荧光素酶报告基因载体和荧光活性检测: 将 HEK293 细胞分为空白对照组、miRNA 组 [miRNA-24-3p 组和 miRNA-383-3p 组 (各 20 μ mol/L)]、miRNA 抑制剂组 [miRNA-24-3p 抑制剂组和 miRNA-383-3p 抑制剂组 (各 20 μ mol/L)]、阴性对照组和阴性对照抑制剂组 (各 20 μ mol/L)。提取外周血单个核细胞基因组 DNA 作为 PCR 扩增模板, 取 IL-1 α 和 IL-1 β 基因 3'UTR 序列, 扩增引物分别添加 Xho 正向引物序列和 Not 反向引物序列酶切位点, Xho 正向引物序列为 5'-CCGCTCGAGACGCTTCTCAA AACTGGACAG-3'、Not 反向引物序列为 5'-ATAAGAATGCGGCCGCTCATTTAATTTAAGC-TATTTATTTTC-3', Xho 和 Not 双酶切上述 PCR 产物, 再将扩增片段连接至 psiCHECK-2 载体, 连接产物转化感受态 DH5a 大肠杆菌, 均匀涂抹至蓝白斑筛选平板表面, 完全吸收后倒置于温箱、37 °C 孵育过夜, 再于 4 °C 静置数小时, 酶切鉴定正确的阳性克隆行基因测序, 采用双荧光检测^[11]。

三、统计分析方法

本研究数据采用 SPSS 13.0 统计软件进行处理与分析。计数资料以相对数构成比 (%) 或率 (%) 表

表 1 sTBI 组与对照组受试者血清 IL-1 α 和 IL-1 β 水平的比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

Table 1. Comparison of serum IL-1 α and IL-1 β concentrations between sTBI patients and controls ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

Group	N	IL-1 α	IL-1 β
Control	50	0.56 \pm 0.02	0.89 \pm 0.03
sTBI	50	4.09 \pm 2.32	3.99 \pm 1.72
<i>t</i> value		124.369	163.123
<i>P</i> value		0.030	0.010

sTBI, severe traumatic brain injury, 重型颅脑创伤; IL-1 α , interleukin-1 α , 白细胞介素-1 α ; IL-1 β , interleukin-1 β , 白细胞介素-1 β

表 2 各处理组细胞 IL-1 α 表达量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2. Comparison of IL-1 α expressions in cells of different groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	miRNA-24-3p + IL-1 α -3'UTR	miRNA-24-3p + IL-1 α -mut-3'UTR
Control (1)	1.000 \pm 0.000	1.000 \pm 0.000
miRNA-24-3p (2)	0.250 \pm 0.001	0.990 \pm 0.001
miRNA-24-3p inhibitor (3)	0.990 \pm 0.002	0.990 \pm 0.001
Negative control (4)	0.980 \pm 0.001	1.000 \pm 0.000
Negative inhibitor (5)	0.980 \pm 0.002	1.000 \pm 0.000
<i>F</i> value	40 154.000	72.400
<i>P</i> value	0.000	0.001

miRNA, microRNA, 微小 RNA; IL-1 α , interleukin-1 α , 白细胞介素-1 α ; 3'UTR, 3'untranslated region, 3'非翻译区。The same for Table 3

表 3 各处理组细胞 IL-1 α 表达量的两两比较*

Table 3. Paired comparison of IL-1 α expressions in cells of different groups*

Paired comparison	miRNA-24-3p + IL-1 α -3'UTR	miRNA-24-3p + IL-1 α -mut-3'UTR
(1) (2)	0.000	0.060
(2) (3)	0.023	0.539
(2) (4)	0.023	0.070
(2) (5)	0.023	0.070

**P* value, *P* 值

示, 采用 χ^2 检验。呈正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用两独立样本的 *t* 检验; 各处理组荧光活性的比较, 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、生物信息学分析

采用 TargetScan Release 7.1 软件进行预测, 结果显示, IL-1 α 是 miRNA-24-3p 调控的靶基因, IL-1 β

是 miRNA-383-3p 调控的靶基因。

二、外周血白细胞介素-1 α 和 1 β 表达变化

ELISA 法显示, sTBI 组患者外周血 IL-1 α ($P = 0.030$) 和 IL-1 β ($P = 0.010$) 水平均高于对照组且差异有统计学意义 (表 1)。

三、外周血单个核细胞微小 RNA、IL-1 α 和 IL-1 β 基因相对表达量

RT-PCR 法显示, 急性重型颅脑创伤患者外周血 miRNA-24-3p 和 miRNA-383-3p 相对表达量分别为 23% 和 17%, IL-1 α 和 IL-1 β 基因相对表达量分别为 390% 和 420% (设定对照组基因相对表达量为 100%)。

四、微小 RNA 调控 IL-1 α 和 IL-1 β 基因表达变化

双荧光法显示, 各处理组细胞 IL-1 α 基因 ($P = 0.000$) 和 IL-1 β 基因 ($P = 0.003$) 表达量差异有统计学意义, 其中 miRNA-24-3p 组细胞 IL-1 α 基因表达量低于空白对照组 ($P = 0.000$)、miRNA-24-3p 抑制剂组 ($P = 0.023$)、阴性对照组 ($P = 0.023$) 和阴性抑制剂组 ($P = 0.023$) 且差异有统计学意义, miRNA-383-3p 组细胞 IL-1 β 基因表达量低于空白对照组 ($P = 0.000$)、miRNA-383-3p 抑制剂组 ($P = 0.000$)、阴性对照组 ($P = 0.000$) 和阴性抑制剂组 ($P = 0.000$) 且差异有统计学意义, 表明 miRNA-24-3p 通过结合 IL-1 α 基因 3'UTR、miRNA-383-3p 通过结合 IL-1 β 基因 3'UTR, 改变细胞荧光活性 (表 2~5)。经转染克隆 IL-1 α -mut-3'UTR 和 IL-1 β -mut-3'UTR 质粒后, 各处理组细胞 IL-1 α 基因 ($P = 0.001$) 和 IL-1 β 基因 ($P = 0.000$) 表达量差异有统计学意义, miRNA-24-3p 组细胞 IL-1 α 基因表达量与空白对照组、miRNA-24-3p 抑制剂组、阴性对照组和阴性抑制剂组差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$), miRNA-383-3p 组细胞 IL-1 β 基因表达量与空白对照组、miRNA-383-3p 抑制剂组、阴性对照组和阴性抑制剂组差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$), 表明 miRNA-24-3p 不能通过结合 IL-1 α 基因 3'UTR、miRNA-383-3p 不能通过结合 IL-1 β 基因 3'UTR, 改变细胞荧光活性, 结合位点突变完全 (表 2~5)。

讨 论

急性颅脑创伤后肿瘤坏死因子 (TNF) 和白细胞介素的大量生成促进炎症因子聚集和激活, 增强中性粒细胞和单核细胞的粘附作用, 导致脑血管结构和血-脑屏障 (BBB) 破坏, 进一步加剧脑组织损害,

表 4 各处理组细胞 IL-1 β 表达量的比较($\bar{x} \pm s$)Table 4. Comparison of IL-1 β expressions in cells of different groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	miRNA-383-3p + IL-1 β -3'UTR	miRNA-383-3p + IL-1 β -mut-3'UTR
Control (1)	1.000 \pm 0.000	0.964 \pm 0.001
miRNA-383-3p (2)	0.290 \pm 0.001	0.933 \pm 0.002
miRNA-383-3p inhibitor (3)	0.990 \pm 0.001	0.975 \pm 0.004
Negative control (4)	1.000 \pm 0.000	0.979 \pm 0.003
Negative inhibitor (5)	1.000 \pm 0.000	0.982 \pm 0.002
F value	4015.000	37.000
P value	0.003	0.000

miRNA, microRNA, 微小 RNA; IL-1 β , interleukin-1 β , 白细胞介素-1 β ; 3'UTR, 3'untranslated region, 3'非翻译区。The same for Table 5

表 5 各处理组细胞 IL-1 β 表达量的两两比较*Table 5. Paired comparison of IL-1 β expressions in cells of different groups*

Paired comparison	miRNA-383-3p + IL-1 β -3'UTR	miRNA-383-3p + IL-1 β -mut-3'UTR
(1) (2)	0.000	0.764
(2) (3)	0.000	0.567
(2) (4)	0.000	0.080
(2) (5)	0.000	0.090

*P value, P 值

并导致脑脊液和血清多种细胞因子表达变化,细胞因子在急性颅脑创伤后继发性脑组织损害中发挥重要作用^[1-13]。IL-1系单核细胞产生的多肽,主要包括 IL-1 α 和 IL-1 β 两种异构体,血清 IL-1水平与急性颅脑创伤严重程度呈正相关关系^[14-15]。研究显示,颅脑创伤后 IL-1 β 广泛参与脑组织破坏、水肿形成等多种病理生理学过程^[16]。本研究结果显示,sTBI组患者血清 IL-1 α 和 IL-1 β 水平以及外周血单个核细胞 IL-1 α 和 IL-1 β 基因相对表达量均高于对照组,提示 IL-1 α 和 IL-1 β 参与急性颅脑创伤后炎症反应的发生,但具体分子机制尚待进一步研究。

晚近研究显示,miRNA与缺血性脑组织损害的发生与发展密切相关,一些 miRNA参与脑缺血后炎症反应、氧化应激反应、兴奋性神经毒性、细胞凋亡等病理生理学过程,且血液循环中特定 miRNA表达变化有助于缺血性脑组织损害的诊断和预后^[8-9]。本研究进一步探讨 IL-1 α 和 IL-1 β 参与急性颅脑创伤后炎症反应的分子机制,sTBI组外周血单个核细胞 miRNA-24-3p和 miRNA-383-3p相对表达量(23%和 17%)低于对照组(100%),且 miRNA-24-3p通过结

合 IL-1 α 基因 3'UTR 发挥调控作用、miRNA-383-3p 通过结合 IL-1 β 基因 3'UTR 发挥调控作用,提示 miRNA-24-3p和 miRNA-383-3p分别负性调控 IL-1 α 和 IL-1 β 基因表达,并影响外周血单个核细胞 IL-1 α 和 IL-1 β 的产生和释放。研究显示,miRNA-146a通过下调 IL-1受体激活激酶的免疫活性而抑制 Toll样受体 2和 4(TLR2和 TLR4)表达,减轻脑缺血后 TLR信号转导通路激活导致的脑组织损害,从而发挥神经保护作用^[17]。脑卒中患者血清 miRNA-210水平显著降低,尤其是脑卒中后 7和 14天,miRNA-210的诊断灵敏度为 88.3%^[18-19];且脑卒中预后良好患者血清 miRNA-210水平高于预后不良患者^[20],提示 miRNA-210是急性缺血性卒中临床诊断和预后评价的新型、敏感性较高的生物学标志物。

综上所述,急性重型颅脑创伤患者血清 IL-1 α 和 IL-1 β 高于正常对照者,作用机制可能是 IL-1 α 和 IL-1 β 基因受 miRNA-24-3p和 miRNA-383-3p的负性调控。miRNA-24-3p和 miRNA-383-3p参与急性重型颅脑创伤的炎症反应,故二者可能成为急性重型颅脑创伤患者预后评价的潜在生物学标志物。

参 考 文 献

- [1] Shi LX, Ma ZJ, Wang QT, Zhang LY, Sun XQ, Zhang WC, Wang CH. The effect of Xuebijing injection on multiple organ functions in patients with acute severe craniocerebral injury[J]. Zhongguo Shi Yong Shen Jing Ji Bing Za Zhi, 2017, 20:11-14. [史立信, 马志军, 王清涛, 张林燕, 孙夏青, 张文超, 王传海. 血必净注射液对急性重症颅脑损伤患者多器官功能的影响[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2017, 20:11-14.]
- [2] Li F, Tian BF, Wei XB, Feng B, Zhang CM, Xiao W. Clinical study on the changes of peripheral inflammatory markers and oxidative stress during post-acute and chronic phase after severe traumatic brain injury[J]. Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi, 2018, 18:128-133. [李峰, 田冰峰, 魏小兵, 冯波, 张春满, 肖伟. 重型颅脑创伤急性期和慢性期外周炎症反应标志物和氧化应激临床研究[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2018, 18:128-133.]
- [3] Li M. Effect of adjuvant ganglioside sodium therapy on nerve injury degree as well as cytokines and humoral immunity in patients with acute severe craniocerebral injury[J]. Hainan Yi Xue Yuan Xue Bao, 2017, 23:53-56. [李明. 神经节苷脂钠辅助治疗对急性重型颅脑损伤患者神经损伤程度及细胞因子、体液免疫的影响[J]. 海南医学院学报, 2017, 23:53-56.]
- [4] Huang Q, Xu H, Xiao QS. Clinical research of different analgesia methods on perianesthetic pain of patients with moderate and severe craniocerebral injury who have emergency operation[J]. Euro Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(3 Suppl): 88-92.
- [5] Jiang H. Changes of serum inflammatory factors in patients with acute craniocerebral injury and their clinical significance[J]. Zhongguo Shi Yong Yi Kan, 2015, 42:87-89. [姜虹. 急性颅脑损伤患者血清炎症因子的变化及其临床意义[J]. 中国实用医

- 刊, 2015, 42:87-89.]
- [6] Li N, Cheng JC, Qi YL, Wang SP, Zhang WJ, Sun LD, Shao XA. The expression difference of interleukin-6 in serum and cerebrospinal fluid of patients with acute craniocerebral injury and its significance[J]. *Bengbu Yi Xue Yuan Xue Bao*, 2015, 40:752-753.[李娜, 程晋成, 齐一龙, 王水平, 张文娟, 孙灵迪, 邵先安. 急性颅脑损伤患者脑脊液和血清 IL-6 差异表达及其意义[J]. *蚌埠医学院学报*, 2015, 40:752-753.]
- [7] Zhang J, Liu J, Song RY, Wang JN, Wan Q. Effects of TNF-alpha and IL-6 on acute myocardial dysfunction after severe craniocerebral injury[J]. *Hebei Yi Yao*, 2017, 39:3400-3402. [张剑, 刘君, 宋闰宇, 王敬娜, 万琦. TNF- α 和 IL-6 对重症颅脑损伤后急性心肌功能损害的影响[J]. *河北医药*, 2017, 39:3400-3402.]
- [8] Maffioletti E, Tardito D, Gennarelli M, Bocchio-Chiavetto L. Microspies from the brain to the periphery: new clues from studies on microRNAs in neuropsychiatric disorders[J]. *Front Cell Neurosci*, 2014, 8:75-78.
- [9] Palumbo S, Miracco C, Pirtoli L, Comincini S. Emerging roles of microRNA in modulating cell-death processes in malignant glioma[J]. *J Cell Physiol*, 2014, 229:277-286.
- [10] Wu J, Jiang DJ, Li Y, Chen J, Wang CQ. Effects of progesterone on serum markers, intracranial pressure and prognosis in patients with acute severe craniocerebral injury[J]. *Shen Jing Sun Shang Yu Gong Neng Chong Jian*, 2017, 12:581-582.[吴杰, 蒋达锦, 李严, 陈君, 王晨秋. 黄体酮对急性重型颅脑损伤患者血清标志物、颅内压和预后的影响[J]. *神经损伤与功能重建*, 2017, 12:581-582.]
- [11] He JH, Li BX, Han ZP, Zou MX, Wang L, Lv YB, Zhou JB, Cao MR, Li YG, Zhang JZ. Snail-activated long non-coding RNA PCA3 up-regulates PRKD3 expression by miR-1261 sponging, thereby promotes invasion and migration of prostate cancer cells[J]. *Tumour Biol*, 2016, 12:16163-16176.
- [12] Liang RQ, Ding XS. Research progress of inflammatory factors and neurological deficits in ischemic stroke[J]. *Shen Jing Sun Shang Yu Gong Neng Chong Jian*, 2011, 6:147-151.[梁汝庆, 丁新生. 炎症因子与缺血性卒中神经损伤研究进展[J]. *神经损伤与功能重建*, 2011, 6:147-151.]
- [13] Liu JB. Clinical study on acute severe craniocerebral injury complicated with cerebral vasospasm[J]. *Zhongguo Ji Xu Yi Xue Jiao Yu*, 2016, 8:67-68.[刘金宝. 急重型颅脑损伤并发脑血管痉挛的临床治疗研究[J]. *中国继续医学教育*, 2016, 8:67-68.]
- [14] Song RY, Wang JN, Zhang J, Liu J. The relation of TNF-alpha and IL-6 with acute myocardial dysfunction after severe craniocerebral injury[J]. *Yang Sheng Bao Jian Zhi Nan*, 2017, 47:211.[宋闰宇, 王敬娜, 张剑, 刘君. 重症颅脑损伤后 TNF- α 及 IL-6 与急性心肌功能损害关系探讨[J]. *养生保健指南*, 2017, 47:211.]
- [15] Yan EB, Hellewell SC, Bellander BM, Agyapomaa DA, Morganti-Kossmann MC. Post-traumatic hypoxia exacerbates neurological deficit, neuroinflammation and cerebral metabolism in rats with diffuse traumatic brain injury[J]. *J Neuroinflammation*, 2011, 8:147.
- [16] Deng YL. Curative effect of ganglioside sodium for adjuvant therapy on acute severe craniocerebral injury[J]. *J Acute Dis*, 2017, 6:18-22.
- [17] Zhang L, Chopp M, Liu X, Teng H, Tang T, Kassis H, Zhang ZG. Combination therapy with VELCADE and tissue plasminogen activator is neuroprotective in aged rats after stroke and targets microRNA-146a and the toll-like receptor signaling pathway[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32:1856-1864.
- [18] Zhou GQ, Chen XS, Shi N, Tian BF. Relationship among microRNA-124, Treg cells and IL-10 expression in the peripheral blood of patients with traumatic brain injury[J]. *Shen Jing Sun Shang Yu Gong Neng Chong Jian*, 2016, 11:518-520.[周贵勤, 陈新寿, 师宁, 田冰锋. 颅脑损伤患者外周血 miRNA-124 与 Treg 细胞和 IL-10 表达的关系[J]. *神经损伤与功能重建*, 2016, 11:518-520.]
- [19] Zhang L, Zhang ZG, Buller B, Jiang J, Jiang Y, Zhao D, Liu X, Morris D, Chopp M. Combination treatment with VELCADE and low-dose tissue plasminogen activator provides potent neuroprotection in aged rats after embolic focal ischemia[J]. *Stroke*, 2010, 41:1001-1007.
- [20] Zeng L, Liu J, Wang Y, Wang L, Weng S, Tang Y, Zheng C, Cheng Q, Chen S, Yang GY. MicroRNA-210 as a novel blood biomarker in acute cerebral ischemia[J]. *Front Biosci (Elite Ed)*, 2011, 3:1265-1272.

(收稿日期:2018-10-12)

Fourth Festival of Neuroscience of British Neuroscience Association 2019

Time: April 14-17, 2019

Venue: Dublin, Ireland

Website: <http://meetings.bna.org.uk/bna2019/>

In April 14-17, 2019, at the Convention Centre Dublin (CCD), the British Neuroscience Association (BNA), in partnership with Neuroscience Ireland (NI) and the British Society for Neuroendocrinology (BSN), will host its fourth Festival of Neuroscience.

The first Festival (BNA2013 in London) set the template for a completely novel forum, where other organizations with an interest in brain research were invited to join the BNA to create a cross-disciplinary and celebratory neuroscience event, bringing together fundamental research with clinical expertise and public engagement as well. Subsequent Festivals (BNA2015 in Edinburgh, BNA2017 in Birmingham) confirmed the success and popularity of this innovation; each attracted 1150-1500 delegates, a remarkable thirty partner organisations have taken part to date, and each has created a genuinely diverse and stimulating mix of neuroscientific interests.