

综述

miRNA在脊髓损伤中病理生理作用的研究进展

Advance in the study of pathophysiological effects of miRNAs on spinal cord injury

李昊天,陈凌强,王 兵,杨 晋,龚志强,董俊杰,赵石好

(昆明医科大学第一附属医院骨科 650032 昆明市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2019.11.15

中图分类号:R322.81 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2019)-11-1046-06

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)常造成感觉、运动和自主功能的障碍^[1],主要包括原发性SCI和继发性损伤阶段^[2]。目前急性SCI的主要治疗方式是椎管减压手术^[3],但患者运动功能或感觉功能的恢复情况往往差强人意,因此需要对SCI的病理生理机制进行深入的探究,并联合应用多方面策略以促进功能恢复^[4]。微小核糖核酸(micro ribonucleic acid, miRNA)是一种由大约22个核苷酸构成的小型非编码RNA分子,通过转录后沉默或者刺激转录降解来影响细胞的生物学功能,并通过影响3'端未翻译区域来影响细胞分化,其异常表达可以在各种病理过程中观察到^[5,6]。越来越多的研究表明,miRNA参与SCI后的继发性损伤与修复过程。笔者对miRNA在SCI中病理生理作用的研究进展综述如下。

1 miRNA与SCI后炎症反应的关系

中枢神经系统损伤的预后与炎症损伤有关^[7],中性粒细胞、巨噬细胞/小胶质细胞和T细胞参与SCI后炎症反应的早期阶段,分别在SCI后1、7、9d能被检测到。损伤后60d炎症反应达到高峰,且上述三种细胞在损伤后180d尚能被检测^[8]。由此推断炎症细胞以及炎症因子、细胞因子、趋化因子等引起的炎症反应在SCI后各个阶段发挥着作用。

1.1 miRNA与小胶质细胞

活化的小胶质细胞可产生肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、诱导一氧化氮合成酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、 γ -干扰素(interferon- γ , IFN- γ)等促炎因子^[9]。Papa等^[10]研究发现经典激活(M1极化)的巨噬细胞/小胶质细胞是SCI后继发炎症损伤的诱因之一。

1.1.1 小胶质细胞极化 小胶质细胞能通过Toll样受体(Toll-like receptors, TLR)/髓样分化因子(myeloid differentiation factor 88, MyD88)信号通路介导坏死性凋亡,而M2表型有相反的功能——增强神经保护和再生能力^[11]。Louw等^[12]研究发现,相较M1表型而言,miR-124更能促进中枢神经系统(central nervous system, CNS)中小胶质细胞M2表型的极化,从而抑制SCI后炎症反应。Yip等^[13]发现二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)在啮齿动物脊髓挫伤模型的损伤后期(挫伤后35d)可促进小胶质细胞M2表型的极化,并可通过靶向miR-124减少小胶质细胞的髓吞噬作用来发挥神经保护作用。Kigerl等^[14]发现M1型巨噬细胞极化在SCI部位可被快速诱导并且维持,并抑制相对短暂的M2型极化反应,从而影响感觉轴突的再生。由于抗炎细胞因子的产生, M2巨噬细胞数量的增加导致免疫反应从辅助性T细胞-1为主转变为辅助性T细胞-2为主,进一步促进了局部小胶质细胞M2亚型的极化, SCI后运动功能的恢复^[15]。总之,小胶质细胞M2型极化对受损脊髓有益,对挽救残留的髓鞘和神经元产生积极作用。

1.1.2 炎症反应激活 核因子 κ B激酶 β 亚基抑制剂(inhibitor of nuclear factor κ B kinase- β , IKK β)通过作用于卫星胶质细胞参与了脊髓神经损伤后的炎症反应^[16]。Zhou等^[17]发现miR-199b在SCI后激活的BV2小胶质细胞中明显下降,而IKK β 相关mRNA和磷酸化p65蛋白水平则显著上升,其后续研究发现miR-199b过表达能够通过IKK β -核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)信号通路抑制小胶质细胞的激活。Leinders等^[18]通过外源性miR-132-3p的脊髓给药激活了脊髓背角中小胶质细胞,并发现miR-132-3p的外周巨噬细胞招募作用可激活神经炎症反应。Gaudet等^[19]通过体内实验发现小胶质细胞中miR-155可激活巨噬细胞的炎症程序及神经毒性作用,并能限制神经元固有的轴突生长能力。因此,miR-155的表达抑制可形成一种毒性更低、更有利于SCI后功能恢复的微环境。

1.2 miRNA与细胞因子

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:81660215)

第一作者简介:男(1995-),在读研究生,研究方向:脊柱外科的临床与基础研究

电话:(0871)65324888 E-mail:512218373@qq.com

通讯作者:陈凌强 E-mail:chenlingqiang@163.com

1.2.1 IL-1 受体相关激酶 (IL-1 receptor associated kinase-1, IRAK1)/TLR 途径 Xu 等^[20]在大鼠脊髓缺血再灌注损伤模型中发现, miR-497 过度表达明显减少了 IRAK1/TLR4 通路和环磷腺苷效应元件结合蛋白 (cAMP-response element binding protein, CREB) 的表达, 阻止了 TNF- α 、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、IL-18 和 IFN- γ 的产生。miR-146a 在 SCI 模型中的表达上调可减少 IRAK1/肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (tumor necrosis factor receptor associated factor-6, TRAF6) 的表达, 减少促炎症因子 IL-1、IL-6、IL-8 和 TNF- α 的释放^[21-23]。Toll 样受体衔接分子 2 (Toll-interleukin-1 receptor homology domain-containing adapter molecule-2, TICAM-2) 可介导 β -干扰素 (interferon- β , IFN- β) 的产生^[24, 25]。大鼠脊髓缺血再灌注损伤后 miR-27a 的表达下降可上调 TICAM-2, 抑制 TLR4/NF- κ B/IL-1 β 的激活, 减轻 TLR4 介导的继发性炎症损伤^[26]。

1.2.2 丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 途径 Yan 等^[27]在来源于 SCI 大鼠的小胶质细胞中发现 miR-325-3p 的过表达可通过表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)/MAPK 信号通路减少 TNF- α 和 IL-1 β 的释放。SCI 小鼠模型中 miR-30a-5p 的过表达可通过 MAPK/细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) 信号通路靶向调控 Neurod 1 基因, 明显减少 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-10 细胞因子的分泌^[28]。

1.2.3 NF- κ B 途径 Li 等^[29]在脂多糖诱导的 PC-12 细胞 SCI 模型中发现 miR-223 的下调可以抑制 NF- κ B 信号通路的激活, 减少 IL-1 β 、IL-6 以及 TNF- α 的表达, 保护 PC-12 细胞免受脂多糖诱导的炎症损伤。He 等^[30]通过 Allen's 法构建大鼠 SCI 模型发现, 脊髓中表达的 miR-136-5p 能负向调控 A20 蛋白, 正向调控磷酸化 NF- κ B, 其过表达能通过 NF- κ B/A20 信号途径促进 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、巨噬细胞炎症蛋白类 (macrophage inflammatory proteins, MIP-2) 和单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) 等炎症因子和趋化因子的 mRNA 和蛋白表达。

1.2.4 其他途径 Xie 等^[31]通过 C57/BL6 小鼠急性胸段脊髓挫伤模型中 miR-21 的敲除, 发现 miR-21 可通过蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB/Akt) 信号途径减少促炎症细胞因子转化生长因子 (transforming growth factor- β , TGF- β)、TNF- α 、IL-1 β , 增强脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 的转录, 从而促进 SCI 后神经再生。小鼠胸段脊髓挫伤模型中, miR-155 的低表达可减少 T 细胞、巨噬细胞和中性粒细胞的数量以及 IL-17A、IL-6 和 IL-23 的表达, 其作用机制是通过上调细胞因子信号抑制物 1 (suppressor of cytokine signaling 1, SOCS1) 减少树突细胞中的辅助性 T 细胞 17 (T helper cell 17, Th17) 极化细胞因子, 抑制 Th17 细胞分化, 最终促进

SCI 后运动功能的恢复^[32, 33]。Hu 等^[34]通过构建 miR-126 过表达的大鼠脊髓挫伤模型, 发现激活的内皮细胞表达的血管细胞粘附分子 1 (vascular cell adhesion molecule 1, VCAM1) 可调节内皮细胞粘附能力, miR-126 可通过负性调控 VCAM1 基因的表达来抑制 SCI 后白细胞浸润。

2 miRNA 与 SCI 后细胞凋亡的关系

细胞凋亡是细胞在发育或衰老过程中发生的程序性死亡过程, 是维持不同组织细胞数量的一种稳态机制, 但在组织损伤后也会被激活^[35]。SCI 继发性损伤中细胞死亡的部分原因是凋亡机制的激活, 目前围绕 SCI 后凋亡相关 miRNA 的研究已经有了充足的成果, 而如何将之与临床实践应用结合的研究将会为 SCI 的治疗提供新的方向与靶向目标。

2.1 促进凋亡的 miRNA

Fas 相关磷酸酯酶 (Fas associated phosphatase 1, FAP-1) 的改变被证明是细胞凋亡敏感性降低的原因^[36]。在活性氧刺激下构建的小鼠小胶质细胞 (BV-2 细胞) 损伤模型中, miR-200c 的过表达通过对 FAP-1 进行负性调控, 升高 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2 associated X protein, Bax) 和 Bcl-2 样蛋白 11 (Bcl-2 like protein 11, Bcl2l11) 表达, 抑制 Bcl-2 的蛋白活性^[37]。胸髓横断大鼠的脊髓组织中, miR-15b 可负向靶作用于抗凋亡基因 Bcl-2, 其促凋亡作用与 Caspase-3、Caspase-8 和 Caspase-9 表达增加有关^[38]。在取自 C57BL/6 小鼠的脊髓神经元细胞中发现, miR-199a 过表达可抑制神经元中成纤维细胞生长因子 1 (fibroblast growth factor 1, FGF1) 的表达, 从而抑制细胞增殖, 促进细胞凋亡^[39]。Fan 等^[40]也发现 SCI 后 miR-214-3p 表达上调, 抗凋亡蛋白 Bcl-2 样蛋白 2 (Bcl-2 like protein 2, Bcl2l2) 表达下调。在脊髓缺血再灌注损伤中, 低氧环境可通过低氧诱导因子-1 (hypoxia inducible factor-1, HIF-1) 途径上调人类神经细胞系 AGE1.HN 细胞中 miR-204 的表达, 减少 Bcl-2 抗凋亡蛋白的表达^[41]。

2.2 抑制凋亡的 miRNA

Zhu 等^[42]的研究表明, MicroRNA-494 能抑制同源性磷酸酶-张力蛋白 (phosphatase and tensin homolog, PTEN), 加强 Akt/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 通路来增强 SCI 后功能恢复、减少组织损伤和抑制细胞凋亡。miR-21 通过负相关调控 PTEN 和程序性细胞凋亡因子 4 (programmed cell death 4, PDCD4) 途径, 促进神经修复, 提高神经存活率, 且抑制 TNF- α 家族的配体成员——Fas 配体 (Fas ligand, FasL), 降低 Caspase-7 和 Caspase-9 的 mRNA 表达水平^[38, 43, 44]。促凋亡相关基因, 如 ERK、Bax、Bcl-2、Bcl-xL、Caspase-3 的低表达水平都与 CREB 的下调有关, miR-497 过度表达能显著减少 CREB 的表达^[20]。miR-124 则可作用于 p53 家族细胞凋亡刺激蛋白的抑制成员, 下调 p53 基因的表达, 引起线粒体自噬, 从而在脊髓缺血再灌注损伤后起到神经保

护及抗凋亡作用^[45]。miR-199a-5p 通过负调控内皮素转换酶 1(endothelin converting enzyme 1, ECE1)促进 Bcl-2 表达,抑制 Caspase-9、c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)、磷酸化 ERK,介导神经元的增殖,保护神经元^[46]。

3 miRNA 与 SCI 后氧化应激的关系

人体的大部分能量是由氧和氢在线粒体内氧化磷酸化过程中酶控制的反应产生的。在这种酶还原氧气产生能量的过程中,会形成少量的自由基^[47]。过量自由基可损伤脊髓神经元、胶质细胞和微血管细胞,引起继发性损伤^[48]。以 SCI 后的 miRNA 表达水平及功能作为切入点,可以为分析 SCI 中的氧化与抗氧化关系及理解 SCI 的发展过程提供新的思路。

miR-372 能抑制一氧化氮合酶相互作用蛋白(nitric oxide synthase interacting protein, NOSIP)的表达^[7]。NOSIP 是一种对神经干细胞自我更新和神经发生相关的重要因素^[49],通过抑制一氧化氮合酶减少一氧化氮合成, NOSIP 的表达抑制可导致脊髓组织中一氧化氮含量增加,进而加剧 SCI 后的氧化应激反应^[50]。血红素加氧酶-1(heme oxygenase 1, HO-1)在过氧化氢诱导的脊髓氧化应激损伤中,可上调神经元细胞 miR-137 的表达,下调氧化应激后 MAPK/JNK3 通路的磷酸化水平,从而抑制神经细胞的凋亡与坏死,但是 miR-137 抑制剂在缺少 H₂O₂ 刺激的情况下只会略微增加神经元细胞凋亡,说明 miR-137 在正常情况下对于神经元的存活只起次要作用^[51]。miR-30a-5p 通过 MAPK/ERK 信号通路靶向 Neurod 1 基因,同时增加硒蛋白 N1(selenoprotein type N1, SEPNI)、硫氧还蛋白样蛋白(thioredoxin-like protein 1, TXNLI)和谷胱甘肽过氧化物酶 1(glutathione peroxidase 1, GPX1)在小鼠模型损伤脊髓中的表达,起到增强氧自由基清除、改善损伤后氧化应激的作用^[28]。

4 miRNA 与 SCI 后痛觉异常的关系

4.1 神经性疼痛

神经性疼痛是一种慢性疼痛,主要是由损伤和神经功能失调引起,其特征是感觉异常、痛觉过敏和异常性疼痛^[52]。神经性疼痛具有较高的发生率,镇痛药和电神经刺激等外科干预方式的疗效往往不尽人意^[53]。因此,针对 SCI 产生的神经性疼痛的 miRNA 靶向治疗具有重要的研究意义。

Im 等^[54]发现,在 SCI 小鼠的损伤脊髓组织中,miR-23b 过表达能有效下调 NADPH 氧化酶 4(NADPH oxidase 4, NOX4),并抑制 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)能神经元的凋亡,最终使谷氨酸脱羧酶 65/67 表达正常,从而减轻 SCI 小鼠的神经性疼痛。Zhang 等^[55]使用脊髓神经结扎(spinal nerve ligation, SNL)构建鼠类神经性疼痛模型,发现脊髓背根神经节中 miR-142-3p 的表达显著降

低,miR-142-3p 的过表达可通过下调高迁移率族蛋白 B1(High mobility group box 1, HMGB1)抑制神经炎症和神经性疼痛。Yan 等^[56]也在 SNL 大鼠的脊髓小胶质细胞中发现 miR-32-5p 明显上调,miR-32-5p 敲除能通过调节双特异性磷酸酶 5(Dual-specificity phosphatase 5, Dusp5)抑制神经性疼痛的发展。神经性疼痛产生的具体机制研究内容尚少,进一步探究 SCI 后神经性疼痛的分子生物学机制,寻找新的治疗靶点,将有助于缓解神经性疼痛,改善患者生活质量。

4.2 中枢敏化

SCI 后痛觉纤维的激活可以使脊髓内的神经回路敏感,引起中枢敏化,从而造成慢性神经性疼痛这一 SCI 的常见后果^[57]。中枢敏化的产生与维持很大程度上取决于受体、离子通道和细胞内信号通路的异常表达^[58]。

4.2.1 N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartic acid, NMDA)受体相关 脊髓是疼痛处理的一个关键部位^[59],脊髓中的 NMDA 受体激活通常被认为是导致神经损伤介导中枢敏化和痛感行为的开始。MicroRNA-182-5p 通过对酪氨酸蛋白激酶 type-B 受体 1(ephin type-b receptor 1, EPHB1)的负相关调控来影响 CCI 导致的痛觉过敏,两者共同受到 NMDA 受体的调控,EPHB1 的激活也可增强 NMDA 受体的活性,NMDA 受体、EPHB1 和 MicroRNA-182-5p 的相互作用造成神经痛觉过敏恶性循环^[60]。Jiang 等^[61]在 SNL 小鼠模型中发现,脊髓背角神经元中 miR-186-5p 上调能通过负性调控 C-X-C 型趋化因子配体 13(C-X-C motif ligand 13, CXCL13)蛋白的表达来减轻 NMDA 受体参与的 CXCR5/ERK 途径诱导的中枢敏化。

4.2.2 AMPA 受体相关 在大鼠坐骨神经慢性压迫损伤模型中, α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸(α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid, AMPA)因亚单位重组以及 AMPA 受体 2(AMPA Receptor 2, GluA2)的缺失导致脊髓胶状质中一组特定的谷氨酸能突触发生可塑性改变,从而作用于抑制性神经元,减少其驱动并因此减少脊髓中的抑制性张力,促进中枢敏化的产生^[62]。由外周神经慢性压迫性损伤引起的脊髓内 miRNA 及相关突触的变化可促进中枢敏化,而有关脊髓压迫性损伤研究内容尚少,其是否具有类似的效应有待进一步的探索^[63]。Leinders 等^[18]通过向大鼠脊髓鞘内注射 miR-132-3p 模拟物,发现 miR-132-3p 过表达可下调脊髓 AMPA 受体亚单位 AMPA 受体 1(AMPA Receptor 1, GluA1)的表达,并可以引起机械性痛觉过敏以及热痛觉过敏,因此 miR-132-3p 可能具有促进痛觉过敏的作用。有研究发现 miR-132 在脂多糖介导的 PC-12 细胞损伤模型中表达下调^[63],那么 miR-132 的表达情况在 SCI 的体内实验中会有何改变,其下调在继发性 SCI 中是否具有抑制中枢敏化的作用,这些内容有待深入的研究。

4.2.3 阿片受体相关 Xu 等^[64]通过 SNL 的方法增加了模型大鼠受损的背根神经节中 DNA 甲基转移酶 3A(DNA

methyltransferase 3A, Dnmt3a) 的表达, 下调 miR-143 表达。在受损背根神经节中 miR-143mimics 的应用可以逆转 SNL 的效应, 并增加疼痛相关基因(如 Oprm1)及其编码的阿片样 μ 受体的表达, 抑制中枢敏化, 促进吗啡的镇痛作用。针对脊髓中阿片类受体的研究或许会为 SCI 后中枢敏化引起的疼痛提供新的治疗思路。

4.2.4 离子通道相关 Hains 等^[65]在 SD 大鼠脊髓挫伤模型中利用原位杂交和免疫细胞化学等方法首次发现 Nav1.3 通道在脊髓背角的痛觉神经元中上调, 并引起多重感受痛觉神经元的过度兴奋, Nav1.3 的反义寡聚脱氧核苷酸可降低多重感受痛觉神经元的兴奋性并减轻 SCI 后的机械性痛觉异常和热痛觉过敏。电压门控钠通道 Nav1.3 在免疫荧光中被植物凝集素 (isolectin B4, IB4) 与降钙素基因相关肽 (calcitonin gene related peptide, CGRP) 双重标记, 后两者是痛感信息传输相关 C 纤维的标志物, 说明 Nav1.3 在痛觉敏化中起着至关重要的作用, SNL 大鼠模型中 miR-30b 与 Nav1.3 在脊髓背根神经节中有着共结合位点, miR-30b 的过表达能够通过抑制电压依赖性钠通道 $\alpha 3$ 亚基 (voltage-gated sodium channel $\alpha-3$ subunit, SCN3A) 下调 Nav1.3, 并减轻 SNL 后神经性疼痛^[66]。此外, miR-30b 还可以通过靶向电压依赖性钠通道 α 亚基 9 (voltage-gated sodium channel α subunit 9, SCN9A) 基因调控电压门控型钠离子通道 Nav1.7 的表达, 从而改善痛觉过敏^[67]。Sakai 等^[68]在 SNL 大鼠受损的背根神经节处发现 miR-7a 的表达明显下调, 且 miR-7a 过表达可通过靶向作用于 SCN3C 基因, 抑制电压门控钠通道 $\beta 2$ 亚基的表达, 从而使痛觉神经元的持续高兴奋性正常化, 起到抑制中枢敏化的作用。Favereaux 等^[69]也发现单个 miR-103 分子能同时结合 L 型 Cav1.2 钙通道 (Cav1.2-comprising L-type calcium channel, Cav1.2-LTC) 的三个亚基, 并阻止它们结合形成 Cav1.2-LTC, miR-103 的鞘内应用能通过抑制痛觉超敏来缓解 SNL 介导的疼痛。

5 总结

目前大量的研究发现 miRNA 与 SCI 的病理生理过程密切相关, 由 miRNA 介导的病理生理反应在 SCI 各个阶段发挥着不同的作用, miRNA 能通过作用于不同的信号通路及靶向基因同时参与到 SCI 后的多个病理过程中。但目前仍有许多 miRNA 的功能尚未被研究揭示, 有关 SCI 具体发病机制的研究仍然值得关注, 更多的 miRNA 还有待发现, 还需要更多的研究来证明 SCI 相关的 miRNA 的功能和靶点。新的 miRNA 及其靶向作用目标的功能研究能够更好地帮助人们了解 SCI 的发病机制。同时 lncRNA、circRNA 等非编码 RNA 与 miRNA 之间是否存在生物学联系、存在何种联系, 对于这种联系的研究能够为 SCI 研究提供新的思路及线索, 并为 SCI 的治疗提供新的治疗靶点和治疗方法。

6 参考文献

1. Ramer LM, Ramer MS, Bradbury EJ. Restoring function after spinal cord injury: towards clinical translation of experimental strategies[J]. Lancet Neurol, 2014, 13(12): 1241-1256.
2. Ahuja CS, Fehlings M. Concise review: bridging the gap: novel neuroregenerative and neuroprotective strategies in spinal cord injury[J]. Stem Cells Transl Med, 2016, 5(7): 914-924.
3. Mattiassich G, Gollwitzer M, Gaderer F, et al. Functional outcomes in individuals undergoing very early(<5h) and early(5-24h) surgical decompression in traumatic cervical spinal cord injury: analysis of neurological improvement from the austrian spinal cord injury study[J]. J Neurotrauma, 2017, 34(24): 3362-3371.
4. Xia Y, Zhao T, Li J, et al. Antisense vimentin cDNA combined with chondroitinase ABC reduces glial scar and cystic cavity formation following spinal cord injury in rats [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 377(2): 562-566.
5. Wang WT, Zhao YN, Han BW, et al. Circulating microRNAs identified in a genome-wide serum microRNA expression analysis as noninvasive biomarkers for endometriosis[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2013, 98(1): 281-289.
6. Zhang Z, Pan B, Lv S, et al. Integrating microRNA expression profiling studies to systematically evaluate the diagnostic value of microRNAs in pancreatic cancer and validate their prognostic significance with the cancer genome atlas data [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 49(2): 678-695.
7. Zhou W, Yuan T, Gao Y, et al. IL-1 β -induces NF- κ B and upregulates microRNA-372 to inhibit spinal cord injury recovery[J]. J Neurophysiol, 2017, 117(6): 2282-2291.
8. Yunta M, Nieto-Díaz M, Esteban FJ, et al. MicroRNA dysregulation in the spinal cord following traumatic injury [J]. PloS one, 2012, 7(4): e34534.
9. Zhou X, He X, Ren Y. Function of microglia and macrophages in secondary damage after spinal cord injury[J]. Neural Regen Res, 2014, 9(20): 1787-1795.
10. Papa S, Caron I, Erba E, et al. Early modulation of pro-inflammatory microglia by minocycline loaded nanoparticles confers long lasting protection after spinal cord injury[J]. Biomaterials, 2016, 75(1): 13-24.
11. Fan H, Zhang K, Shan L, et al. Reactive astrocytes undergo M1 microglia/macrophage-induced necroptosis in spinal cord injury[J]. Mol Neurodegener, 2016, 11(1): 14.
12. Louw AM, Kolar MK, Novikova LN, et al. Chitosan polyplex mediated delivery of miRNA-124 reduces activation of microglial cells in vitro and in rat models of spinal cord injury[J]. Nanomedicine, 2016, 12(3): 643-653.
13. Yip PK, Bowes AL, Hall JCE, et al. Docosahexaenoic acid reduces microglia phagocytic activity via miR-124 and induces neuroprotection in rodent models of spinal cord contusion injury[J]. Hum Mol Genet, 2019, 28(14): 2427-2448.

14. Kigerl KA, Gensel JC, Ankeny DP, et al. Identification of two distinct macrophage subsets with divergent effects causing either neurotoxicity or regeneration in the injured mouse spinal cord[J]. *J Neurosci*, 2009, 29(43): 13435-13444.
15. Ma SF, Chen YJ, Zhang JX, et al. Adoptive transfer of M2 macrophages promotes locomotor recovery in adult rats after spinal cord injury[J]. *Brain Behav Immun*, 2015, 45(1): 157-170.
16. Lim H, Lee H, Noh K, et al. IKK/NF- κ B-dependent satellite glia activation induces spinal cord microglia activation and neuropathic pain after nerve injury[J]. *Pain*, 2017, 158(9): 1666-1677.
17. Zhou HJ, Wang LQ, Xu QS, et al. Downregulation of miR-199b promotes the acute spinal cord injury through IKK β -NF- κ B signaling pathway activating microglial cells[J]. *Exp Cell Res*, 2016, 349(1): 60-67.
18. Leinders M, Üceyler N, Pritchard RA, et al. Increased miR-132-3p expression is associated with chronic neuropathic pain[J]. *Exp Neurol*, 2016, 283(Pt A): 276-286.
19. Gaudet AD, Mandrekar-Colucci S, Hall JCE, et al. miR-155 deletion in mice overcomes neuron-intrinsic and neuron-extrinsic barriers to spinal cord repair[J]. *J Neurosci*, 2016, 36(32): 8516-8532.
20. Xu M, Wang HF, Zhang YY, et al. Protection of rats spinal cord ischemia-reperfusion injury by inhibition of MiR-497 on inflammation and apoptosis: possible role in pediatrics[J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 81: 337-344.
21. Wei J, Wang J, Zhou Y, et al. MicroRNA-146a contributes to SCI recovery via regulating TRAF6 and IRAK1 expression[J]. *Biomed Res Int*, 2016, 2016: 4013487.
22. Chu B, Zhou Y, Zhai H, et al. The role of microRNA-146a in regulating the expression of IRAK1 in cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2018, 96(6): 611-617.
23. Song F, Zeng K, Liao L, et al. Schizandrin inhibits microglia-mediated neuroinflammation through inhibiting TRAF6-NF- κ B and Jak2-Stat3 signaling pathways [J]. *PLoS One*, 2016, 11(2): e0149991.
24. Enokizono Y, Kumeta H, Funami K, et al. Structures and interface mapping of the TIR domain-containing adaptor molecules involved in interferon signaling[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(49): 19908-19913.
25. Oshiumi H, Sasai M, Shida K, et al. TIR-containing adapter molecule (TICAM)-2, a bridging adapter recruiting to Toll-like receptor 4 TICAM-1 that induces interferon- β [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(50): 49751-49762.
26. Li XQ, Lv HW, Wang ZL, et al. MiR-27a ameliorates inflammatory damage to the blood-spinal cord barrier after spinal cord ischemia: reperfusion injury in rats by downregulating TICAM-2 of the TLR 4 signaling pathway[J]. *J Neuroinflammation*, 2015, 12: 25.
27. Yan P, Wu X, Liu X, et al. A causal relationship in spinal cord injury rat model between microglia activation and EGFR/MAPK detected by overexpression of MicroRNA-325-3p[J]. *J Mol Neurosci*, 2019, 68(2): 181-190.
28. Fu X, Shen Y, Wang W, et al. MiR-30a-5p ameliorates spinal cord injury-induced inflammatory responses and oxidative stress by targeting NeuroD 1 through MAPK/ERK signalling[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2018, 45(1): 68-74.
29. Li R, Yin F, Guo Y, et al. Angelica polysaccharide protects PC-12 cells from lipopolysaccharide-induced injury via down-regulating microRNA-223 [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 108: 1320-1327.
30. He J, Zhao J, Peng X, et al. Molecular mechanism of MiR-136-5p targeting NF- κ B/A20 in the IL-17-mediated inflammatory response after spinal cord injury[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 44(3): 1224-1241.
31. Xie W, Yang S, Zhang Q, et al. Knockdown of MicroRNA-21 promotes neurological recovery after acute spinal cord injury[J]. *Neurochem Res*, 2018, 43(8): 1641-1649.
32. Yi J, Wang D, Niu X, et al. Micro RNA-155 deficiency suppresses Th17 cell differentiation and improves locomotor recovery after spinal cord injury[J]. *Scand J Immunol*, 2015, 81(5): 284-290.
33. Jablonski KA, Gaudet AD, Amici SA, et al. Control of the inflammatory macrophage transcriptional signature by miR-155[J]. *PLoS One*, 2016, 11(7): e0159724.
34. Hu J, Zeng L, Huang J, et al. miR-126 promotes angiogenesis and attenuates inflammation after contusion spinal cord injury in rats[J]. *Brain Res*, 2015, 1608(1): 191-202.
35. Sobrido-Cameán D, Barreiro-Iglesias A. Role of caspase-8 and Fas in cell death after spinal cord injury[J]. *Front Mol Neurosci*, 2018, 11: 101.
36. Schickel R, Park SM, Murmann AE, et al. miR-200c regulates induction of apoptosis through CD95 by targeting FAP-1[J]. *Mol Cell*, 2010, 38(6): 908-915.
37. Yu DS, Lv G, Mei XF, et al. MiR-200c regulates ROS-induced apoptosis in murine BV-2 cells by targeting FAP-1[J]. *Spinal Cord*, 2015, 53(3): 182-189.
38. Liu G, Keeler BE, Zhukareva V, et al. Cycling exercise affects the expression of apoptosis-associated microRNAs after spinal cord injury in rats[J]. *Exp Neurol*, 2010, 226(1): 200-206.
39. Lv H. lncRNA-Map2k4 sequesters miR-199a to promote FGF1 expression and spinal cord neuron growth[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 490(3): 948-954.
40. Fan Y, Wu Y. Tetramethylpyrazine alleviates neural apoptosis in injured spinal cord via the downregulation of miR-214-3p[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 94: 827-833.
41. Wang X, Li J, Wu D, et al. Hypoxia promotes apoptosis of neuronal cells through hypoxia-inducible factor-1 α -

- microRNA-204-B-cell lymphoma-2 pathway [J]. *Exp Biol Med*, 2016, 241(2): 177-183.
42. Zhu H, Xie R, Liu X, et al. MicroRNA-494 improves functional recovery and inhibits apoptosis by modulating PTEN/AKT/mTOR pathway in rats after spinal cord injury [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 92: 879-887.
43. He F, Ren Y, Shi E, et al. Overexpression of microRNA-21 protects spinal cords against transient ischemia[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2016, 152(6): 1602-1608.
44. Hu JZ, Huang JH, Zeng L, et al. Anti-apoptotic effect of microRNA-21 after contusion spinal cord injury in rats[J]. *J Neurotrauma*, 2013, 30(15): 1349-1360.
45. Liu K, Yan L, Jiang X, et al. Acquired inhibition of microRNA-124 protects against spinal cord ischemia-reperfusion injury partially through a mitophagy-dependent pathway [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2017, 154(5): 1498-1508.
46. Bao N, Fang B, Lv H, et al. Upregulation of miR-199a-5p protects spinal cord against ischemia/reperfusion-induced injury via downregulation of ECE1 in rat [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2018, 38(6): 1293-1303.
47. Valko M, Leibfriz D, Moncol J, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39(1): 44-84.
48. Hall ED. Antioxidant therapies for acute spinal cord injury [J]. *Neurotherapeutics*, 2011, 8(2): 152-167.
49. Hoffmeister M, Krieg J, Ehrke A, et al. Developmental neurogenesis in mouse and *Xenopus* is impaired in the absence of Nosip[J]. *Dev Biol*, 2017, 429(1): 200-212.
50. Tomuschat C, O'Donnell AM, Coyle D, et al. NOS-interacting protein(NOSIP) is increased in the colon of patients with Hirschsprungs's disease[J]. *J Pediatr Surg*, 2017, 52(5): 772-777.
51. Wang S, Zhang T, Yang Z, et al. Heme oxygenase-1 protects spinal cord neurons from hydrogen peroxide-induced apoptosis via suppression of Cdc42/MLK3/MKK7/JNK3 signaling[J]. *Apoptosis*, 2017, 22(3): 449-462.
52. Gaskin DJ, Richard P. The economic costs of pain in the United States[J]. *J Pain*, 2012, 13(8): 715-724.
53. D'ammando A, Messina G, Franzini A, et al. Peripheral nerve field stimulation for chronic neuropathic pain: a single institution experience[J]. *Acta Neurochir*, 2016, 158(4): 767-772.
54. Im YB, Jee MK, Choi JI, et al. Molecular targeting of NOX4 for neuropathic pain after traumatic injury of the spinal cord[J]. *Cell Death Dis*, 2012, 3: e426.
55. Zhang Y, Mou J, Cao L, et al. MicroRNA-142-3p relieves neuropathic pain by targeting high mobility group box 1 [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(1): 501-510.
56. Yan T, Zhang F, Sun C, et al. miR-32-5p-mediated Dusp5 downregulation contributes to neuropathic pain [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495(1): 506-511.
57. Huang YJ, Grau JW. Ionic plasticity and pain: the loss of descending serotonergic fibers after spinal cord injury transforms how GABA affect pain [J]. *Exp Neurol*, 2019, 306: 105-116.
58. Latremoliere A, Woolf CJ. Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity [J]. *J Pain*, 2009, 10(9): 895-926.
59. Guo D, Hu J. Spinal presynaptic inhibition in pain control [J]. *Neuroscience*, 2014, 283(1): 95-106.
60. Zhou X, Zhang C, Zhang C, et al. MicroRNA-182-5p regulates nerve injury-induced nociceptive hypersensitivity by targeting ephrin type-b receptor 1[J]. *Anesthesiology*, 2017, 126(5): 967-977.
61. Jiang BC, Cao DL, Zhang X, et al. CXCL13 drives spinal astrocyte activation and neuropathic pain via CXCR5 [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(2): 745-761.
62. Chen Y, Derkach VA, Smith PA. Loss of Ca^{2+} -permeable AMPA receptors in synapses of tonic firing substantia gelatinosa neurons in the chronic constriction injury model of neuropathic pain[J]. *Exp Neurol*, 2016, 279(1): 168-177.
63. Zhang G, Liu Y, Xu L, et al. Resveratrol alleviates lipopolysaccharide-induced inflammation in PC-12 cells and in rat model[J]. *BMC Biotechnol*, 2019, 19(1): 10.
64. Xu B, Cao J, Zhang J, et al. Role of MicroRNA-143 in nerve injury-induced upregulation of Dnmt3a expression in primary sensory neurons[J]. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10: 350.
65. Hains BC, Klein JP, Saab CY, et al. Upregulation of sodium channel Nav1.3 and functional involvement in neuronal hyperexcitability associated with central neuropathic pain after spinal cord injury[J]. *J Neurosci*, 2003, 23(26): 8881-8892.
66. Su S, Shao J, Zhao Q, et al. MiR-30b attenuates neuropathic pain by regulating voltage-gated sodium channel Nav1.3 in rats[J]. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10: 126.
67. Shao J, Cao J, Wang J, et al. MicroRNA-30b regulates expression of the sodium channel Nav1.7 in nerve injury-induced neuropathic pain in the rat[J]. *Mol Pain*, 2016, 12(1): 1-13.
68. Sakai A, Saitow F, Miyake N, et al. miR-7a alleviates the maintenance of neuropathic pain through regulation of neuronal excitability[J]. *Brain*, 2013, 136(9): 2738-2750.
69. Favereaux A, Thoumine O, Bouali-Benazzouz R, et al. Bidirectional integrative regulation of Cav1.2 calcium channel by microRNA miR-103: role in pain[J]. *EMBO J*, 2011, 30(18): 3830-3841.

(收稿日期:2019-05-17 末次修回日期:2019-07-08)

(本文编辑 李伟霞)