

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.12.007

miR-181c-5p 在颅内动脉瘤中通过靶向 PTPN4 调节 血管平滑肌细胞的机制研究 *

彭浩 王义彪 刘朝晖 陈健龙 张茂[△]

(海南省人民医院 / 海南医学院附属海南医院神经外科 海南 海口 570000)

摘要 目的:探讨 miR-181c-5p 在颅内动脉瘤血管平滑肌细胞(VSMC)表型调节中的生物学功能及其潜在的调控机制。**方法:**采用实时荧光定量聚合酶链式反应(RT-qPCR)检测 miR-181c-5p mRNA 在颅内动脉瘤(IA)患者血清中的表达水平。采用药物细胞毒性实验(CCK8)、集落形成、transwell 迁移和流式细胞仪检测过表达 miR-181c-5p 介导的 VSMC 细胞表型的变化。采用双荧光素酶报告基因检测 miR-181c-5p 的潜在靶标。**结果:**IA 患者血清中的 miR-181c-5p 表达水平高于健康体检者($P<0.05$)。miR-181c-5p 的过表达显著抑制了 VSMC 增殖、克隆形成和迁移,同时刺激了细胞凋亡($P<0.05$)。PTPN4 被证实是 miR-181c-5p 的直接靶标,而 miR-181c-5p 的过表达导致 PTPN4 在 VSMC 中低表达。**结论:**miR-181c-5p / PTPN4 介导的 VSMC 表型调节可能部分导致 IA 病变。

关键词:miR-181c-5p; 血管平滑肌细胞; PTPN4; 表型调节

中图分类号:R-33; R739.41 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)12-2230-05

Study on the Mechanism of miR-181c-5p Regulating Vascular Smooth Muscle Cells by Targeting PTPN4 in Intracranial Aneurysms*

PENG Hao, WANG Yi-biao, LIU Zhao-hui, CHEN Jian-long, ZHANG Mao[△]

(Department of Neurosurgery, Hainan Provincial People's Hospital/Hainan Hospital Affiliated to Hainan Medical College,
Haikou, Hainan, 570000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the biological function of miR-181c-5p in the phenotypic regulation of intracranial aneurysm vascular smooth muscle cells (VSMC) and its potential regulatory mechanism. **Methods:** Real time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) was carried out to determine the miR-181c-5p and PTPN4 mRNA expression levels in serum of patients with intracranial aneurysm (IA). The changes overexpression of miR-181c-5p-mediated VSMC cell phenotypes were used to detect by cell counting Kit-8 (CCK8), colony formation, transwell migration and flow cytometry. Double luciferase reporter gene was performed to examine the potential target of miR-181c-5p. **Results:** The expression of miR-181c-5p in the serum of IA patients was higher than that of healthy subjects ($P<0.05$). The overexpression of miR-181c-5p significantly inhibited the proliferation, clone formation and migration of VSMC, and stimulated apoptosis ($P<0.05$). PTPN4 was proved to be a direct target of miR-181c-5p, and overexpression of miR-181c-5p resulted in low expression of PTPN4 in VSMC. **Conclusion:** miR-181c-5p/PTPN4-mediated VSMC phenotypic regulation may partially lead to IA lesions.

Key words: miR-181c-5p; Vascular smooth muscle cells; PTPN4; Phenotypic modulation

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R739.41 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)12-2230-05

前言

颅内动脉瘤(IA)也称为脑动脉瘤,是动脉管腔中的局部异常扩张,全球患病率达 2-5%。通常大多数 IA 不会破裂^[1],但是,一旦脑血管破裂,蛛网膜下腔出血(SAH)将灾难性地发生,导致高致残率和致死率,构成了严重的全球健康威胁^[2,3]。尽管 SAH 外科治疗取得了长足的进步,但在过去的几十年中,临床效果并未得到明显改善^[4-6]。当前的研究表明,IA 的形成和发展

与血管平滑肌细胞(VSMC)介导的血管炎症和变性密切相关^[7-9]。因此,充分了解 VSMC 表型调节的遗传病理将有利于对 IA 患者进行风险评估。MicroRNA(miRNA)是内源性 22 nt 的非编码 RNA,通过抑制靶基因表达功能性参与细胞调节。体内和体外研究表明,miRNA 通过调节 VSMC 参与 IA 形成和进展^[10,11]。关于 miR-181c-5p,相关的研究已经发现脑和心肌中高 miR-181c-5p 水平具有促炎和 / 或促凋亡的特性^[12]。更重要的是,高通量测序表明 miR-181c-5p 可调节炎症相关的基质金

* 基金项目:海南省 2018 年重点研发计划项目(ZDYF2018114)

作者简介:彭浩(1982-),男,博士,副主任医师,研究方向:脑血管病,E-mail: haopenghaopenghp@163.com

[△] 通讯作者:张茂(1974-),男,本科,主任医师,研究方向:脑血管病,E-mail: zm02205@163.com

(收稿日期:2020-11-24 接受日期:2020-12-17)

属蛋白酶 2(MMP2),而且在 IA 患者中已检测 miR-181c-5p 呈高表达,并且参与血管重塑过程^[13]。因此,本研究假设 miR-181c-5p 在涉及 IA 病变的 VSMC 行为改变中起关键作用。PTPN4 基因编码是一种在多种细胞内能够广泛检测到的非受体蛋白酪氨酸磷酸酶。PTPN4 参与了细胞增殖、凋亡、细胞周期停滞和致癌转化,一项体外实验证实 PTPN4 在小脑突触可塑性和运动学习中起关键作用^[14]。最近一项关于心肌缺血再灌注损伤的研究表明,miR-181c-5p / PTPN4 信号传导在 H9C2 心肌细胞中起促凋亡作用^[12]。因此,PTPN4 在大脑中表达提示 miR-181c-5p / PTPN4 信号传导可能在 IA 形成和进展中起着重要的作用。本研究检测了 IA 患者血清中 miR-181c-5p 的表达水平,并评估了 miR-181c-5p 过表达对 VSMC 的作用及其相关机制,探讨 miRNA 作为 IA 生物标志物或治疗靶标的意义。

1 材料与方法

1.1 材料和质粒构建

血管平滑肌细胞(VSMC)购于自武汉大学细胞收藏中心。Ham's F-12K 培养基和 lipofectamine 3000 由 Themofisher 公司提供。miR-181c-5p mimics、NC mimics、miR-181c-5p inhibitor mimics、NC inhibitor mimics 由 Genepharma 公司提供。实时荧光定量聚合酶链式反应(RT-qPCR)相关试剂和 Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit 购于 Invitrogen 公司。由武汉天一辉远公司构建 psiCHECK2-PTPN4-WT (WT)和 psiCHECK2-PTPN4-MUT(MUT)质粒,将 PTPN4 的 3'UTR 和突变体 3'UTR 的序列插入到 psiCHECK2 荧光素酶报告载体来获得。

1.2 标本采集和细胞培养

2016 年 4 月至 2018 年 4 月期间,从海南省人民医院选取初次入院且影像学确诊为 IA 的 60 例患者,其中男 35 例,女 25 例,年龄(41.35±5.31)岁。纳入标准:经颅脑血管核磁(MRA)/头颈部非创伤性血管成像技术(CTA)检查提示为颅内动脉瘤,并经数字减影血管造影术(DSA)确诊,年龄≥20 岁,临床资料完整者。排除标准:心、肝、肾、肺功能障碍患者,三个月内接受造影的患者。选取自同期体检的 61 例健康体检者作为对照,其中女 26 例,男 35 例,年龄(40.15±2.31)岁。两组性别和年龄比较无明显差异($P>0.05$)。提取血清并在-80℃冷冻保存。该研究方案已获得海南省人民医院伦理委员会的批准,并获得了知情同意书。将 VSMC 接种于含有 5%FBS 的 Ham's F-12K 培养基中,在 37℃-5%CO₂ 培养箱中进行传代培养,以备后续实验。

1.3 实验分组和转染

根据实验需要,处理细胞分为正常生长细胞组(Normal cells 组)、miR-181c-5p mimics 组(miR-181c-5p 组)、NC mimics 组(NC 组),后面两组分别转染 miR-181c-5p mimics 和 NC mimics。转染按照 invitrogen 手册中的说明,使用 lipofectamine 3000 转染细胞,然后收集细胞用于下一步细胞功能测定。

1.4 药物细胞毒性实验(CCK8)和克隆形成实验

将 VSMC 按照 1×10^3 / 孔的浓度接种到 96 孔板中,继续培养 24 h、48 h 和 72 h。然后将含有 10 μ L CCK8 溶液的 Ham's F-12K 培养基添加到每个孔中,随后进行 4 h 细胞孵育,

分光光度计检测并记录细胞 452 nm 的 OD 值。每组重复三次,绘制生长曲线。胰蛋白酶消化后,将 VSMC 以 500 个细胞 / 孔的密度接种在六孔板中,孵育两周后,将细胞用 4%多聚甲醛固定并用 0.5%结晶紫溶液染色。连续培养 2 小时后,统计集落数。

1.5 Transwell 细胞迁移测定

将具有多孔聚碳酸酯膜的 Transwell 插入物(Corning Inc)置于 24 孔板中。下隔室充满 2.6 mL 含 40%FBS 的 Ham's F-12K 培养基。将总共 1×10^5 个制备的细胞置于上隔室中,并在 transwell 板上培养。在标准条件下培养 2 天后,计数并在显微镜下记录滤膜下侧的细胞。

1.6 流式细胞仪分析

细胞转染 24 小时后,PBS 清洗三遍,离心收集细胞重新悬于 100 μ L binding buffer 中,继续加入 50 μ L Annexin V-FITC 混合在 4 度冰箱避光孵育 30 分钟,再次加入 150 μ L Binding Buffer 和 2 μ L PI,混匀后上样分析。

1.7 RNA 分离和 RT-qPCR

通过 TRIzol 方法从 IA 患者的血清或指定的 VSMC 中提取 RNA。使用 oligo-dT 或茎环引物反转录获得 cDNA,然后利用 SYBR GREEN qPCR Super Mix 试剂盒进行 qPCR。PCR 产物经 1.5%琼脂糖鉴定后 miR-181c-5p 或 PTPN4GAPDH 和 U6 分别用作表达内参,按照 $\Delta \Delta$ CT 法计算目标基因的相对表达量。

1.8 荧光素酶报告基因检测

将 65-75%饱和度 VSMC 与报告质粒和 miR-181c-5p 模拟物、NC 抑制剂、抑制剂或抑制剂 NC 共转染。转染后 2 天,按照 Promega 手册所述,使用荧光素酶测定试剂评估荧光素酶强度。

1.9 统计学分析

采用 SPSS 25.0 进行数据分析,计量资料符合正态分布、具备方差齐性以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用方差分析,两两比较采用 LSD-t 检验。以率(%)表示计数资料,采用 χ^2 检验或校正 χ^2 检验。所有统计均采用双侧检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 miR-181c-5p 在 IA 患者血清中的表达

为了初步测试 miR-181c-5p 在 IA 病变中的功能,通过 RT-qPCR 测量其在 IA 患者血清中的表达水平。结果显示:IA 患者中 miR-181c-5p 表达水平为(6.24±0.75),高于健康体检者的(1.96±0.46),差异有统计学意义($t=37.909, P=0.000$)。

2.2 miR-181c-5p 过表达对 VSMC 增殖和集落形成率有抑制作用

接下来,本研究进一步评估了 miR-181c-5p miRNA 过表达是否对 VSMC 有影响。通过 RT-qPCR,本研究证实了 miR-181c-5p 转染成功($P<0.05$)(图 1A)。CCK8 实验结果表明,与 Normal cells 组或 NC 组的 VSMC 增殖率相比,过表达 miR-181c-5p 的 VSMC 增殖率显著降低($P<0.05$)(图 1B)。随后的集落形成分析表明,过表达 miR-181c-5p 还能显著抑制 VSMC 的集落形成能力($P<0.05$)(图 1C 和 1D)。细胞迁移实验表明,在过表达 miR-181c-5p 的细胞中,VSMC 的迁移能力受到严重损害($P<0.05$)(图 1E 和 1F)。此外,流式细胞仪结果显示,与两个对照组相比,过表达 miR-181c-5p 的 VSMC 的凋亡率显著增加($P<0.05$)(图 2)。

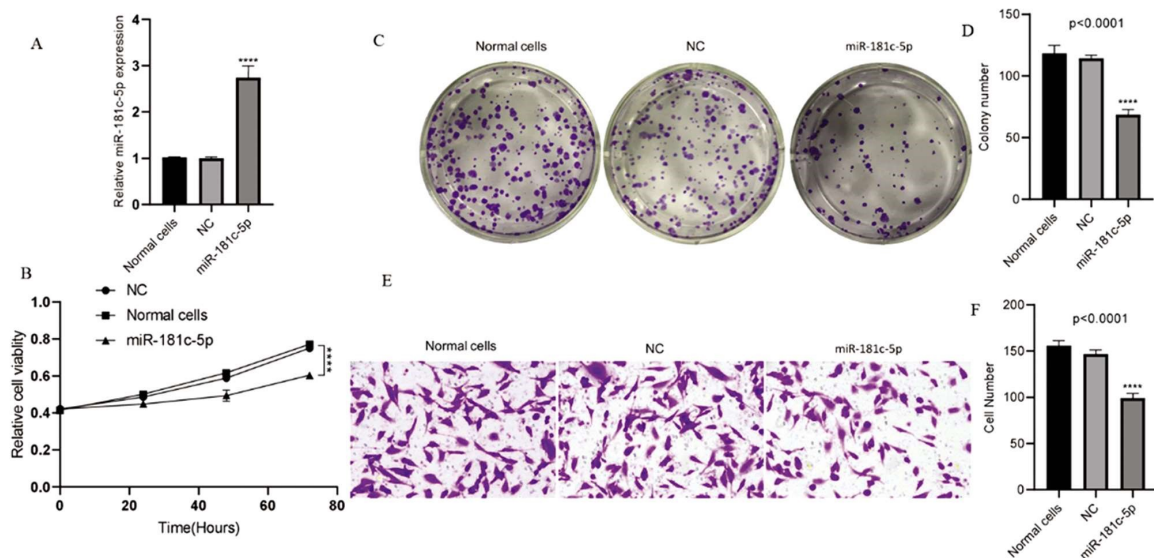


图 1 miR-181c-5p 过表达抑制 VSMC 增殖、集落形成和迁移能力

Fig.1 Overexpression of miR-181c-5p inhibits VSMC proliferation, colony formation and migration

Note: A: RT-qPCR was used to detect the transfection efficiency of miR-181c-5p overexpression in VSMC; B: CCK8 experimental results; C: Results of colony formation analysis; D: Overexpression of miR-181c-5p significantly inhibited the colony forming ability of VSMC; E: Results of cell migration experiment; F: Overexpression of miR-181c-5p significantly inhibited the migration of VSMC.

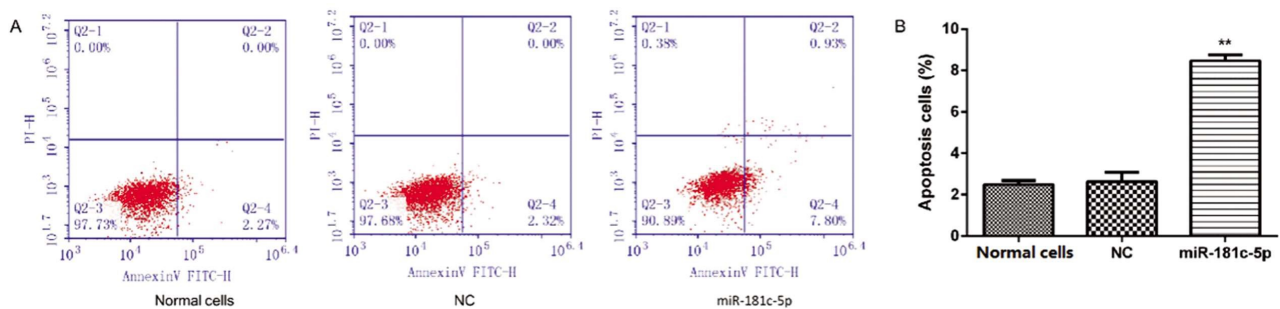


图 2 miR-181c-5p 促进 VSMC 凋亡

Fig.2 miR-181c-5p promotes VSMC apoptosis

Note: A: Flow cytometry results; B: The apoptosis rate of VSMC overexpressing miR-181c-5p was significantly increased.

2.3 miR-181c-5p 在 VSMC 靶向调控 PTPN4 的表达

为了阐明导致 VSMC 行为变化的潜在分子机制,本研究通过 TargetScan 在线程序筛选 miR-181c-5p 可以识别的下游靶基因,选择 PTPN4 作为靶基因进行后续研究。采用 psiCHECK2-PTPN4-WT (WT) 或 psiCHECK2-PTPN4-MUT (MUT)和 miR-181c-5p、miR-181c-5p inhibitor mimics 或它们的阴性对照共转染了 VSMC。如图 3 所示,miR-181c-5p mimics 显著降低了使用 PTPN4 3'UTR 转染的 VSMC 的荧光素酶活性,而在突变型(MUT)荧光素酶活性中未发现任何改变。进一步的 RT-qPCR 结果也支持:miR-181c-5p 表达的增强明显抑制了 VSMC 中 PTPN4 的表达,该结果表明 miR-181c-5p 和 PTPN4 之间存在负调控。

3 讨论

随着计算机断层扫描(CT)和磁共振成像(MRI)在临床中的广泛应用,越来越多颅内动脉瘤被发现^[15-17]。据报道,在中国 35-75 岁的人群中,颅内动脉瘤破裂的患病率为 7%。尽管发病率较低,但动脉瘤破裂的后果却很严重,据报道出血早期的死亡率为 40%,再出血率高达 60%-70%^[18]。颅内动脉瘤的发生与

颈动脉曲折等动脉病变引起的动脉壁脆弱性病变有关。目前,颅内动脉瘤的治疗方式主要有血管内栓塞和开颅夹闭术^[19,20]。因此,研究以 IA 病理学为基础的疾病干预方式具有极其重要的临床意义。细胞凋亡是细胞程序性死亡的一种方式,是维持生物体细胞动态平衡的关键过程。目前已经发现细胞凋亡导致的血管重构在血管疾病中起着重要作用^[21]。有研究表明在颅内动脉瘤病例样本中或者动物模型中观察到了过度凋亡的发生^[22,23]。在血管内皮细胞过度凋亡降低了动脉壁强度,从而导致 IA 的产生以及破裂,所以血管内皮细胞凋亡参与的血管重塑在颅内动脉瘤发生中起着重要的作用。近年来的研究表明 miRNA 异常表达导致血管壁的中层变薄并对血管张力和重塑产生逐步影响^[24],所以本研究主要研究了 miR-181c-5p 对 VSMC 细胞增殖和凋亡的影响。

本研究结果发现,miR-181c-5p 的过度表达导致了 PTPN4 功能的丧失,从而抑制了 VSMC 增殖并促进了 VSMC 凋亡,这为 IA 治疗提供了新的思路。RT-qPCR 分析表明,与健康体检者相比,IA 患者血清中 miR-181c-5p 的表达水平更高。miR-181c-5p 已在大脑中被广泛检测到,并已证明参与神经可塑性调节网络^[25,26]。此外,Siedlecki-Wullich 等人还鉴定了阿尔

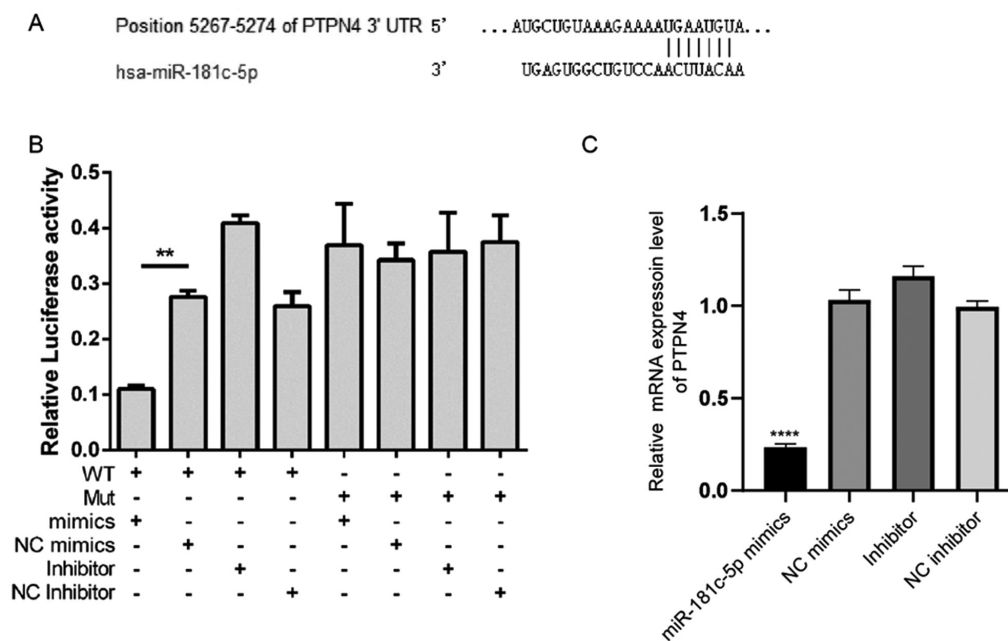


图3 PTPN4 是 miR-181c-5p 的靶标

Fig.3 PTPN4 was the target of miR-181c-5p

Note: A: Targetscan predicted that the binding site of miR-181c-5p was 3'UTR of PTPN4; B: Overexpression of miR-181c-5p significantly reduced the luciferase activity of VSMC transfected with psiCHECK2-PTPN4-WT(WT) vector; C: miR-181c-5p inhibited the expression of relative PTPN4 mRNA in VSMC.

茨海默氏病早期的各种可靠生物标志物,包括 miR-181c-5p 的上调^[27]。Ge 等人还证明了 miR-181c-5p 在大鼠心肌细胞 H9C2 细胞系中的抗增殖和凋亡作用^[12]。值得注意的是,最近发表的高通量数据预测表明 miR-181c-5p 可能通过与炎症相关基因相互作用,在颅内动脉瘤发生过程中起到一定作用^[28],但是,其具体作用机制仍不清楚。在本研究中,CCK8、集落形成和迁移分析表明,miR-181c-5p 的过表达可显著抑制 VSMC 增殖、克隆形成能力和迁移。此外,流式细胞仪分析显示,miR-181c-5p 的上调促进了 VSMC 凋亡。本研究表明,miR-181c-5p 可能会对 VSMC 的生长产生负面影响,这有助于研究 IA 的发病发展。

本研究筛选了一系列与 miR-181c-5p 相关的靶基因,集中研究了 PTPN4,因为它是 PTP 家族的成员,并参与各种细胞过程,例如细胞生长,凋亡和致癌转化。此外,冠状动脉结扎大鼠模型证明 miR-181c-5p 和 PTPN4 表达之间存在负调控^[12]。作为其指示的靶基因之一,PTPN4 通过与 miR-181c-5p 负调控加重心肌缺血再灌注损伤^[12]。虽然 PTPN4 作为一种非受体蛋白酪氨酸磷酸酶,参与许多生物细胞过程。但是,很少报道 PTPN4 在正常人细胞中的作用。Ge 和 Liu 的研究阐述了 miR-181c-5p 或 miR-208a 通过降低 PTPN4 表达在心肌细胞中发挥促凋亡作用^[12,29]。Prehaud 的研究在神经元中也观察到 PTPN4 介导的抗凋亡作用^[30]。在本研究中,荧光素酶实验证明 PTPN4 是 VSMC 中 miR-181c-5p 的靶标。随后的 RT-qPCR 分析也证实,在过度表达 miR-181c-5p 的 VSMC 中 PTPN4 表达降低,从而导致细胞凋亡并抑制细胞生长,最终导致 IA 破裂。

综上所述,本研究证明 miR-181c-5p 过表达通过抑制 PTPN4 的表达,从而抑制 VSMC 细胞的增殖、克隆形成和迁移能力,同时刺激了细胞凋亡。因此,miR-181c-5p 可能是治疗 IA

病变的有效治疗靶点。

参考文献(References)

- [1] 袁陆涛. 颅内动脉瘤的流行病学研究现状[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2011, 38(6): 587-590
- [2] Maumus-Robert S, Debette S, Bérard X, et al. Risk of Intracranial Aneurysm and Dissection and Fluoroquinolone Use: A Case-Time-Control Study[J]. Stroke, 2020, 51(3): 994-997
- [3] Ding X, Zhao S, Zhang Q, et al. Exome sequencing reveals a novel variant in NFX1 causing intracranial aneurysm in a Chinese family[J]. J Neurointerv Surg, 2020, 12(2): 221-226
- [4] Wang J, Ji Y, Jiang L, et al. Analysis of factors influencing hospital-acquired infection in postoperative patients with intracranial aneurysm [J]. BMC Neurol, 2019, 19(1): 332
- [5] Gory B, Berge J, Bonafé A, et al. Flow Diverters for Intracranial Aneurysms: The DIVERSION National Prospective Cohort Study[J]. Stroke, 2019, 50(12): 3471-3480
- [6] Hallikainen J, Lindgren A, Savolainen J, et al. Periodontitis and gingival bleeding associate with intracranial aneurysms and risk of aneurysmal subarachnoid hemorrhage[J]. Neurosurg Rev, 2020, 43(2): 669-679
- [7] Gao G, Zhang Y, Chao Y, et al. miR-4735-3p regulates phenotypic modulation of vascular smooth muscle cells by targeting HIF-1-mediated autophagy in intracranial aneurysm [J]. J Cell Biochem, 2019, 120(12): 19432-19441
- [8] Wang Y, Wang Y, Li Y, et al. Decreased expression of circ_0020397 in intracranial aneurysms may be contributing to decreased vascular smooth muscle cell proliferation via increased expression of miR-138 and subsequent decreased KDR expression [J]. Cell Adh Migr, 2019, 13(1): 220-228
- [9] Miyata T, Minami M, Kataoka H, et al. Osteoprotegerin Prevents In-

- tracranial Aneurysm Progression by Promoting Collagen Biosynthesis and Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation[J]. J Am Heart Assoc, 2020, 9(17): e015731
- [10] 彭浩, 赵建农, 陈健龙, 等. miRNA-29b 在颅内动脉瘤组织中的表达变化及意义[J]. 山东医药, 2017, 57(5): 29-32
- [11] Liao B, Zhou MX, Zhou FK, et al. Exosome-Derived MiRNAs as Biomarkers of the Development and Progression of Intracranial Aneurysms[J]. J Atheroscler Thromb, 2020, 27(6): 545-610
- [12] Ge L, Cai Y, Ying F, et al. miR-181c-5p Exacerbates Hypoxia/Re-oxygenation-Induced Cardiomyocyte Apoptosis via Targeting PTPN4 [J]. Oxid Med Cell Longev, 2019, 19(17): 1957920
- [13] Cao DW, Liu MM, Duan R, et al. The lncRNA Malat1 functions as a ceRNA to contribute to berberine-mediated inhibition of HMGB1 by sponging miR-181c-5p in poststroke inflammation [J]. Acta Pharmacol Sin, 2020, 41(1): 22-33
- [14] Xiao X, He QH, Yu LY, et al. Structure-based optimization of salt-bridge network across the complex interface of PTPN4 PDZ domain with its peptide ligands in neuroglioma [J]. Comput Biol Chem, 2017, 66(2): 63-68
- [15] Zopf D, Lennartz S, Pennig L, et al. Virtual monoenergetic images and post-processing algorithms effectively reduce CT artifacts from intracranial aneurysm treatment[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 6629
- [16] Acar T, Karakas AB, Ozer MA, et al. Building Three-Dimensional Intracranial Aneurysm Models from 3D-TOF MRA: a Validation Study[J]. J Digit Imaging, 2019, 32(6): 963-970
- [17] Kim S, Chung J, Cha J, et al. Usefulness of high-resolution three-dimensional proton density-weighted turbo spin-echo MRI in distinguishing a junctional dilatation from an intracranial aneurysm of the posterior communicating artery: a pilot study [J]. J Neurointerv Surg, 2020, 12(3): 315-319
- [18] Li MH, Chen SW, Li YD, et al. Prevalence of unruptured cerebral aneurysms in Chinese adults aged 35 to 75 years: a cross-sectional study[J]. Ann Intern Med, 2013, 159(8): 514-521
- [19] 黄波, 刘耀华, 潘磊, 等. 颅内动脉瘤夹闭术、血管内栓塞术治疗颅内动脉瘤的疗效及安全性研究[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(9): 1788-1792
- [20] 黄春波, 杨瑞生, 李庆安, 等. 血管内栓塞与开颅夹闭术治疗颅内破裂动脉瘤[J]. 中国临床神经外科杂志, 2018, 23(3): 184-186
- [21] 左乔, 唐海双, 张小曦, 等. 骨形成蛋白 2 通过上调磷酸化 Smad1/5 促进大鼠颅内动脉瘤血管平滑肌细胞凋亡[J]. 中华神经外科杂志, 2020, 36(5): 509-515
- [22] 郭予大, 林晓凤, 邹朝霞, 等. 颅内动脉瘤组织超微结构及 MMP-9 表达相关调控机制的研究 [J]. 中华神经外科杂志, 2008, 24(7): 521-524
- [23] 吴明星, 张东, 张岩, 等. 颅内动脉瘤壁细胞凋亡观察[J]. 山东医药, 2009, 49(10): 24-25
- [24] Supriya M, Christopher R, Indira Devi B, et al. Circulating MicroRNAs as Potential Molecular Biomarkers for Intracranial Aneurysmal Rupture[J]. Mol Diagn Ther, 2020, 24(3): 351-364
- [25] Chen CZ, Li L, Lodish HF, et al. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation[J]. Science, 2004, 303(5654): 83-86
- [26] Ma J, Lin X, Chen C, et al. Circulating miR-181c-5p and miR-497-5p Are Potential Biomarkers for Prognosis and Diagnosis of Osteoporosis[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2020, 105(5): dgz300
- [27] Siedlecki-Wulich D, Català-Solsona J, Fàbregas C, et al. Altered microRNAs related to synaptic function as potential plasma biomarkers for Alzheimer's disease[J]. Alzheimers Res Ther, 2019, 11(1): 46
- [28] Huang Q, Huang QY, Sun Y, et al. High-Throughput Data Reveals Novel Circular RNAs via Competitive Endogenous RNA Networks Associated with Human Intracranial Aneurysms [J]. Med Sci Monit, 2019, 25(29): 4819-4830
- [29] Liu A, Sun Y, Yu B. MicroRNA-208a Correlates Apoptosis and Oxidative Stress Induced by H₂O₂ through Protein Tyrosine Kinase/Phosphatase Balance in Cardiomyocytes[J]. Int Heart J, 2018, 59(4): 829-836
- [30] Prehaud C, Wolff N, Terrien E, et al. Attenuation of rabies virulence: takeover by the cytoplasmic domain of its envelope protein[J]. Sci Signal, 2010, 3(105): ra5

(上接第 2266 页)

- [23] Wang Z, Bai Z, Qin X, et al. Aberrations in Oxidative Stress Markers in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Systematic Review and Meta-Analysis [J]. Oxid Med Cell Longev, 2019, 34(9):1712323-1712324
- [24] Chico L, Modena M, Lo Gerfo A, et al. Cross-talk between pathogenic mechanisms in neurodegeneration: the role of oxidative stress in Amyotrophic Lateral Sclerosis [J]. Arch Ital Biol, 2017, 155(4): 131-141
- [25] Kihira T, Okamoto K, Sakurai I, et al. Lifestyle Changes and Oxidative Stress in a High-incidence Area of Amyotrophic Lateral Sclerosis in the Southwestern Kii Peninsula, Japan [J]. Intern Med, 2017, 56(12): 1497-1506
- [26] Duarte ML, Iared W, Oliveira ASB, et al. Ultrasound versus electromyography for the detection of fasciculation in amyotrophic lateral sclerosis: systematic review and meta-analysis [J]. Radiol Bras, 2020, 53(2): 116-121
- [27] Cengiz B, Kuruoğlu R. A new parameter to discriminate amyotrophic lateral sclerosis patients from healthy participants by motor cortical excitability changes[J]. Muscle Nerve, 2020, 61(3): 354-362
- [28] de la Rubia JE, Drehmer E, Platero JL, et al. Efficacy and tolerability of EH301 for amyotrophic lateral sclerosis: a randomized, double-blind, placebo-controlled human pilot study[J]. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener, 2019, 20(1-2): 115-122
- [29] 周光宁, 林铃芳, 陈霞, 等. 肌萎缩侧索硬化症患者血清氧化应激标志物与神经功能、肌电图特征、脑脊液神经标志物的相关性[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(7): 670-673
- [30] 秦星, 靳娇婷, 胡芳芳, 等. 肌萎缩侧索硬化症 CMAP 波幅与 ALS-FRS-r 评分的相关性分析 [J]. 西安交通大学学报 (医学版), 2018, 39(5): 634-638