

微小 RNA-146b-5p 在小胶质细胞糖氧剥夺/复氧损伤中的作用与机制

黄松^{1,2} 汪雷^{1,2,*} 周有东^{1,2} 胡火军^{1,2} 董元训^{1,2} 马金阳^{1,2}

[中图分类号] R363 [文献标识码] A [文章编号] 1005-1740(2022)01-0035-06

【摘要】 目的:探究微小 RNA-146b-5p (miR-146b-5p)在小胶质细胞糖氧剥夺/复氧损伤(OGD/R)中的作用及机制。方法:建立小鼠小胶质细胞系 EOC 13.31 的 OGD/R 模型。将 miR-146b-5p 模拟物、miR-146b-5p 抑制剂及相应的阴性对照,分别转染至 EOC 13.31 细胞中,然后再分别进行 OGD/R 处理,分别命名为 OGD/R+miR-146b-5p mimic 组、OGD/R+miR-146b-5p inhibitor 组、OGD/R+NC mimic 组和 OGD/R+NC inhibitor 组,以常规培养的细胞为对照组(Control 组),只行 OGD/R 处理的细胞为 OGD/R 组,48h 后检测相关指标。实时定量反转录聚合酶链反应(qRT-PCR)检测 miR-146b-5p 表达;采用细胞计数试剂盒-8(CCK-8)检测细胞存活率;原位末端标记法(TUNEL)检测细胞凋亡率;酶联免疫吸附法(ELISA)测定超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、丙二醛(MDA)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)和白细胞介素-6(IL-6)含量;蛋白免疫印迹法(Western blotting)检测 TRAF6 蛋白表达;生物信息学和双荧光素酶报告基因实验分析 miR-146b-5p 和 TRAF6 之间的关系。结果:与 Control 组相比,OGD/R 组中 miR-146b-5p 表达显著下调($P<0.01$),TRAF6 蛋白表达显著上调($P<0.01$)。与 OGD/R+NC mimic 组比较,OGD/R+miR-146b-5p mimic 组细胞存活率显著增高,凋亡率显著降低,MDA 含量显著降低,SOD、CAT 含量显著增高,TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 含量显著降低,含 TRAF6-WT 的荧光素酶活性显著降低,TRAF6 蛋白表达显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与 OGD/R+NC inhibitor 组比较,OGD/R+miR-146b-5p inhibitor 组细胞的存活率显著降低,凋亡率显著升高,MDA 含量显著增高,SOD、CAT 含量显著降低,TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 含量显著升高,TRAF6 蛋白表达显著增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论:miR-146b-5p 通过靶向 TRAF6 促进小胶质细胞 OGD/R 模型细胞存活,抑制细胞凋亡,减轻氧化应激和炎症反应。

【关键词】 miR-146b-5p; TRAF6; 糖氧剥夺/复氧损伤; 氧化应激; 炎症反应

The Role and Mechanism of MicroRNA-146b-5p in Glucose and Oxygen Deprivation/Reoxygenation Injury of Microglia

HUANG Song^{1,2}, WANG Lei^{1,2,*}, ZOU You-dong^{1,2}, HU Huo-jun^{1,2}, DONG Yuan-xun^{1,2}, MA Jin-yang^{1,2}

¹ Institute of Neurology, China Three Gorges University, Yichang 443002, China; ² Yichang Central People's Hospital, Yichang 443003, China; * Corresponding author

【Abstract】 Objective: To explore the mechanism of microRNA-146b-5p (miR-146b-5p) in microglia glucose deprivation/reoxygenation injury (OGD/R). **Method:** An OGD/R model of mouse microglia cell line EOC 13.31 was established, and miR-146b-5p mimic, miR-146b-5p inhibitor and corresponding controls were transfected into EOC 13.31 cells and then treated with OGD/R. The expression of miR-146b-5p was detected by real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR); cell counting kit-8 (CCK-8) was used to detect cell viability; in situ end labeling (TUNEL) was used to detect cell apoptosis rate; enzyme-linked immunosorbent assay

[作者单位] ¹ 三峡大学神经病学研究所,宜昌 443002; ² 宜昌市中心人民医院,宜昌 443003; * 通讯作者, E-mail: onedy@sina.com
本文 2021-06-20 收到, 2022-01-05 修回

(ELISA) was used to detect the levels of superoxide substance dismutase (SOD), catalase (CAT), malondialdehyde (MDA), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin 1 β (IL-1 β) and interleukin 6 (IL-6); Western blotting method was used to detect the expression of TRAF6 protein; bioinformatics and dual luciferase reporter gene experiments was used to analyze the relationship between miR-146b-5p and TRAF6. **Results:** Compared with the control group, the expression of miR-146b-5p in OGD/R was down-regulated ($P < 0.01$), and the expression of TRAF6 protein was up-regulated ($P < 0.01$). Compared with the OGD/R+NC mimic group, the survival rate of the cells in the OGD/R+miR-146b-5p mimic group was significantly increased ($P < 0.01$), the apoptosis rate was significantly reduced ($P < 0.01$), and the content of MDA was significantly reduced ($P < 0.05$), the content of SOD and CAT were significantly increased ($P < 0.01$), and the content of TNF- α , IL-1 β and IL-6 were significantly decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), the luciferase activity of TRAF6-WT was significantly reduced ($P < 0.01$), and the expression of TRAF6 protein was significantly reduced ($P < 0.01$). Compared with the OGD/R+NC inhibitor group, the survival rate of the cells in the OGD/R+miR-146b-5p inhibitor group was significantly reduced ($P < 0.01$), the apoptosis rate was significantly increased ($P < 0.05$), and the content of MDA was significantly increased ($P < 0.01$), the content of SOD and CAT were significantly reduced ($P < 0.01$, $P < 0.05$), the content of TNF- α , IL-1 β and IL-6 were significantly increased ($P < 0.01$, $P < 0.05$), the expression of TRAF6 protein was significantly increased ($P < 0.01$), and the differences were statistically significant. **Conclusion:** miR-146b-5p can promote the survival rate of ODG model of microglial cells, inhibit cell apoptosis, and reduce oxidative stress and inflammatory response by targeting TRAF6.

【Key words】 MiR-146b-5p; TRAF6; Glucose oxygen deprivation/reoxygenation injury; Oxidative stress; Inflammatory response

缺血性脑卒中是常见的脑血管疾病, 占有脑卒中的 80%^[1]。神经炎症被认为是缺血性脑损伤中一种重要的病理生理因素。研究表明, 过度激活的小胶质细胞能够释放炎症细胞因子和加重氧化应激反应, 从而导致神经元凋亡^[2-4]。因此, 抑制小胶质细胞活化是目前减轻缺血性脑损伤的重要研究方向。MicroRNA(miRNA)是一种长度在 22nt 左右的小型非编码 RNA, 可通过与靶基因的 3' 非编码区(3'-UTR)结合对 mRNA 的表达进行调控^[5]。目前越来越多的研究表明, miRNA 是多种疾病发展过程中的关键调控因子。例如, miR-146b-5p 能够通过调控基质金属蛋白酶 1(MMP1)的表达来抑制胶质瘤细胞的侵袭及转移^[6]; miR-146b-5p 可以通过调节肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素(IL)抑制乳腺癌进展^[7]; miR-146b-5p 可以通过 TRAF6/NF- κ B 信号通路抑制子痫前期母胎界面的炎症反应^[8]。然而, miR-146b-5p 在小胶质细胞糖氧剥夺/复氧(OGD/R)损伤中的作用机制尚不完全清楚, 因此, 本研究通过建立小胶质细胞 OGD/R 体外模型, 分析 miR-146b-5p 的表达和作用, 并探究其潜在机制。

1 材料与方法

1.1 细胞

小鼠小胶质细胞系 EOC 13.31(CRL-2468)购

微循环学杂志
2022 年第 32 卷第 1 期

自美国 ATCC^[9]。

1.2 试剂与仪器

原位末端标记染色(TUNEL)试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)ELISA 试剂盒、丙二醛(MDA)ELISA 试剂盒、过氧化氢酶(CAT)ELISA 试剂盒、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)ELISA 试剂盒、白细胞介素-1 β (IL-1 β)ELISA 试剂盒和白细胞介素-6(IL-6)ELISA 试剂盒均购自武汉赛培生物科技有限公司; CCK-8 试剂盒购自美国 GpBio 公司; DMEM 培养基购自美国 Gibco 公司; Lipofectamine 2000 转染试剂盒、PCR 反转录试剂盒均购自美国 Invitrogen 公司; BCA 蛋白试剂盒购自美国 Pierce 公司; TRAF6 抗体购自英国 Abcam 公司; MultiskanTM FC 酶标仪购自美国 ThermoFisher 公司; BX63 自动荧光显微镜购自日本 Olympus 公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养和 OGD/R 模型建立: 将小胶质细胞系 EOC 13.31 放置于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中, 于 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 的培养箱中培养。再将细胞置于 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂, 95% N₂ 缺氧箱中培养 2.5h 后, 转入正常培养环境中复氧从而建立 OGD/R 模型, 以常规条件培养的细胞为 Control 组, OGD/R 处理的细胞为 OGD/R 组, 48h 后收集细胞用于后续实验。

基础与实验



1.3.2 细胞分组及处理:将 miR-146b-5p 模拟物、模拟物阴性对照、miR-146b-5p 抑制剂和抑制剂阴性对照分别转染至 EOC 13.31 细胞中,然后再分别进行 OGD/R 处理,记为 OGD/R + miR-146b-5p mimic 组、OGD/R + NC mimic 组、OGD/R + miR-146b-5p inhibitor 组和 OGD/R + NC inhibitor 组,转染 48h 后,进行后续相关指标的检查。

1.3.3 实时荧光定量(qRT-PCR)检测 miR-146b-5p 的表达:使用 TRIzol 试剂提取 OGD/R 模型中总 RNA,并用 PrimeScript™ RT 试剂盒将其逆转录成 cDNA,使用 SYBR-Green PCR 试剂和 ABI 7500 FAST Real-Time PCR 仪进行 qRT-PCR。以 U6 为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法评估 miR-146b-5p 的表达水平。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	引物序列
miR-146b-5p	上游:5'-GCG CAG TGA GAA CTG AAT TCC A-3'
	下游:5'-AGT GCG TGT CGT GGA GTC G-3'
U6	上游:5'-CGA TAC AGA GAA GAT TAG CAT GGG-3'
	下游:5'-AAC GCT TCA CGA ATT TGC GT-3'

1.3.4 CCK-8 检测细胞活力:收集各转染组细胞,以每孔 1×10^3 个细胞密度接种到 96 孔板中孵育 48h,每孔加入 $15 \mu\text{l}$ CCK-8 试剂, 37°C 孵育 4h,检测 490nm 波长处每个孔的 OD 值。根据 CCK-8 试剂盒说明书操作,计算细胞存活率。

1.3.5 TUNEL 检测细胞凋亡率:收集各转染组细胞上清液,PBS 洗涤一次。用免疫染色固定液固定细胞 30-60min,PBS 洗涤一次。加入免疫染色洗涤液,冰浴孵育 2min。在样品上加 TUNEL 检测液, 37°C 避光孵育 1h,PBS 洗涤 3 次。用抗荧光淬灭封片液封片后荧光显微镜下观察,随机选取 5 个视野,计算细胞凋亡率。

1.3.6 ELISA 检测 MDA、SOD、CAT、TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 含量:收集细胞上清液与 RIPA 裂解液均浆离心,按照 ELISA 试剂盒说明书操作,测定细胞中 MDA、SOD、CAT、TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的含量。

1.3.7 双荧光素酶报告基因实验:通过双荧光素酶报告基因实验对 miR-146b-5p 与 TRAF6 之间的靶向关系进行验证。将含 miR-146b-5p 互补结合位点的野生(WT)型和突变型(MUT)TRAF6 片段扩增并克隆到荧光素酶报告载体中,构建 TRAF6 野生型(TRAF6-WT)载体和 TRAF6 突变型(TRAF6-

微循环学 杂志
2022 年第 32 卷第 1 期

MUT)载体。使用 Lipofectamine 000™ 将 TRAF6-WT 和 TRAF6-MUT 分别与 miR-146b-5p mimic, miR-NC mimic 共转染至 EOC 13.31 细胞系,随后进行 OGD/R 处理。转染 48h 后,按照说明,在 Dual-Luciferase® Reporter Assay System 上测定各组细胞荧光素酶活性。

1.3.8 Western blotting 检测 TRAF6 蛋白表达:收集各组细胞,用 RIPA 裂解缓冲液提取细胞中总蛋白,使用 BCA 法对蛋白进行定量,10% SDS-PAGE 电泳分离转移至 PVDF 膜上,5% 脱脂牛奶封闭 1h,加入 TRAF6 一抗(1:1 000)和 GAPDH (1:2 000)共同孵育过夜,TBST 洗膜,加入二抗(1:1 000)孵育 1h 后使用 ECL 化学发光试剂盒进行显影。以 GAPDH 作为内参对照。采用图像分析软件 ImageJ 分析 TRAF6 蛋白条带的灰度值。以 TRAF6 蛋白灰度值与 GAPDH 蛋白条带灰度值的比值来定量 TRAF6 蛋白的相对表达水平。

1.4 统计学处理

使用 SPSS 22.0 统计学软件分析本研究中的数据,所有实验重复三次。所有计量数据以均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间均数比较采用单因素方差分析,两组间比较使用两独立样本 *t* 检验,使用 GraphPad Prism 8.0 软件作图。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-146b-5p 和 TRAF6 在 OGD/R 模型中的表达

与 Control 组细胞相比,OGD/R 组细胞中 miR-146b-5p 的表达显著降低($P < 0.01$),TRAF6 蛋白的表达显著增高($P < 0.01$),差异均有统计学意义。见表 2、图 1。

表 2 两组细胞中 miR-146b-5p 和 TRAF6 蛋白表达水平($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	miR-146b-5p	TRAF6
Control 组	1.04 \pm 0.12	1.02 \pm 0.10
OGD/R 组	0.53 \pm 0.06 ¹⁾	1.63 \pm 0.16 ¹⁾
<i>t</i> 值	6.58	5.60

注:与 Control 组比较,¹⁾ $P < 0.01$

2.2 miR-146b-5p 对 OGD/R 细胞增殖和凋亡的影响

基础与实验 ▶

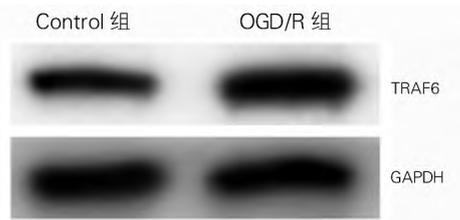


图1 Control组和OGD/R组TRAF6蛋白表达
(Westren blotting)

与 OGD/R + NC mimic 组相比, OGD/R + miR-146b-5p mimic 组细胞存活率显著增高($t=8.322, P<0.01$), 凋亡率显著降低($t=8.356, P<0.01$); 与 OGD/R + NC inhibitor 组相比, OGD/R +

miR-146b-5p inhibitor 组细胞的存活率显著降低($t=9.593, P<0.01$), 凋亡率显著升高($t=3.781, P<0.01$), 差异均有统计学意义。见表3、图2。

表3 各组细胞存活率及凋亡率($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	存活率	凋亡率
OGD/R+NC mimic 组	100.00 ± 0.00	53.27 ± 5.12
OGD/R+miR-146b-5p mimic 组	159.46 ± 12.36 ¹⁾	25.74 ± 2.52 ¹⁾
OGD/R+NC inhibitor 组	100.00 ± 0.00	49.61 ± 4.98
OGD/R+miR-146b-5p inhibitor 组	63.39 ± 6.61 ²⁾	67.85 ± 6.71 ²⁾

注:与 OGD/R+NC mimic 组比较,¹⁾ $P<0.01$;与 OGD/R+NC inhibitor 组比较,²⁾ $P<0.01$

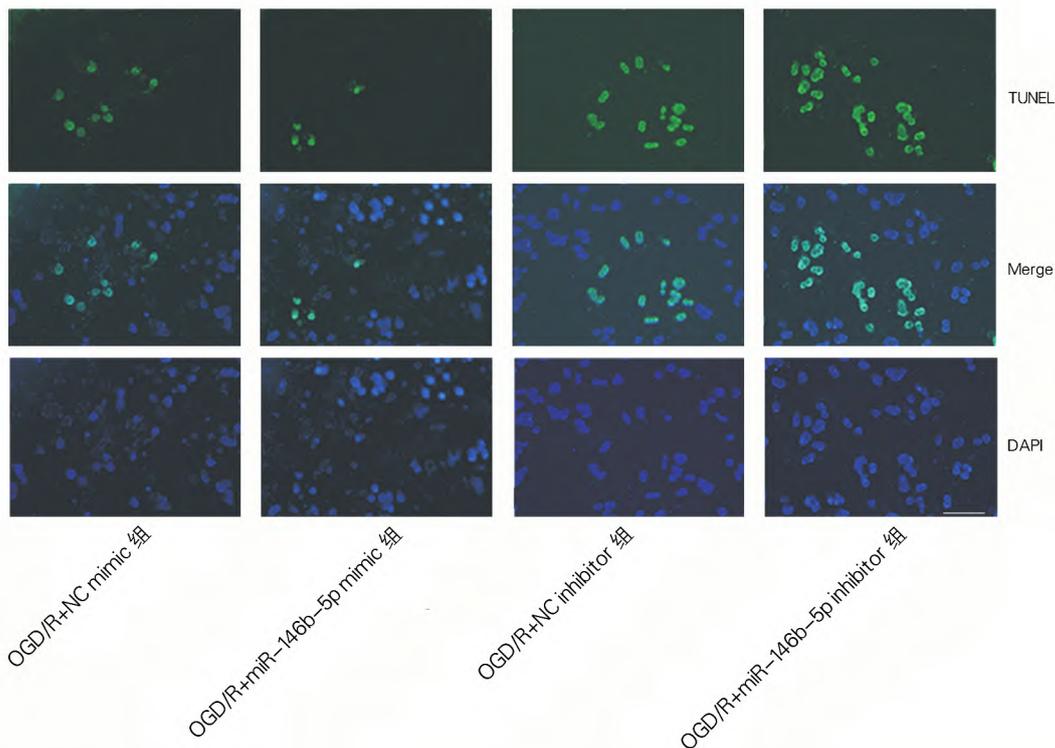


图2 各组细胞 TUNEL 荧光染色图像(比例尺 75 μ m)

2.3 miR-146b-5p 对 OGD/R 模型氧化应激和炎症反应的影响

与 OGD/R + NC mimic 组相比, OGD/R + miR-146b-5p mimic 组细胞中 MDA 含量显著降低($t=13.080, P<0.01$), SOD、CAT 含量显著增高($t=6.907, 5.376, P<0.01$), TNF- α , IL-1 β , IL-6 含量显著降低($t=3.383, 4.476, 7.561, P<0.05$ 或 P

<0.01); 与 OGD/R + NC inhibitor 组相比, miR-146b-5p inhibitor 组细胞中 MDA 含量显著增高($t=6.460, P<0.01$), SOD、CAT 含量显著降低($t=6.326, 4.449, P<0.01$), TNF- α , IL-1 β 和 IL-6 含量显著升高($t=5.154, 3.905, 6.467, P<0.05$ 或 $P<0.01$), 差异均有统计学意义。见表4、表5。

表 4 各组细胞氧化应激指标水平($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	MDA(nmol/mg)	SOD(U/ml)	CAT(U/mg)
OGD/R+NC mimic 组	11.71 ± 0.12	83.21 ± 8.33	9.36 ± 0.94
OGD/R+miR-146b-5p mimic 组	6.62 ± 0.67 ¹⁾	152.75 ± 15.32 ¹⁾	14.75 ± 1.46 ¹⁾
OGD/R+NC inhibitor 组	10.21 ± 0.11	82.43 ± 8.31	9.27 ± 0.93
OGD/R+miR-146b-5p inhibitor 组	16.34 ± 1.64 ²⁾	47.36 ± 4.81 ²⁾	5.31 ± 0.51 ²⁾

注:与 OGD/R+NC mimic 组比较,¹⁾ $P < 0.01$;与 OGD/R+NC inhibitor 组比较,²⁾ $P < 0.01$

表 5 各组细胞炎症反应指标水平($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	TNF- α (pg/ml)	IL-1 β (pg/ml)	IL-6(pg/ml)
OGD/R+NC mimic 组	17.74 ± 1.81	6.26 ± 0.62	6.45 ± 0.65
OGD/R+miR-146b-5p mimic 组	13.33 ± 1.35 ¹⁾	4.31 ± 0.43 ¹⁾	3.23 ± 0.33 ²⁾
OGD/R+NC inhibitor 组	17.65 ± 1.76	6.32 ± 0.63	6.34 ± 0.64
OGD/R+miR-146b-5p inhibitor 组	27.34 ± 2.74 ⁴⁾	8.76 ± 0.88 ³⁾	9.24 ± 0.93 ³⁾

注:与 OGD/R+NC mimic 组比较,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与 OGD/R+NC inhibitor 组比较,³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$

2.4 miR-146b-5p 与 TRAF6 的关系

通过 TargetScan 数据库发现,miR-146b-5p 与 TRAF6 的 3'UTR 区存在互补结合位点(图 3)。双荧光素酶报告实验结果表明,与 OGD/R + NC mimic 组相比,OGD/R + miR-146b-5p mimic 组中含 TRAF6-WT 的荧光素酶活性显著降低($P < 0.01$),而对含 TRAF6-MUT 组则无影响($P > 0.05$),见表 6。Western blotting 结果表明,与 OGD/R + NC mimic 组相比,OGD/R + miR-146b-5p mimic 组 TRAF6 蛋白表达显著降低($t = 7.723, P < 0.01$);OGD/R + NC inhibitor 组相比,OGD/R + miR-146b-5p inhibitor 组 TRAF6 蛋白表达显著增加($P < 0.01$),差异有统计学意义。见图 4、表 7。

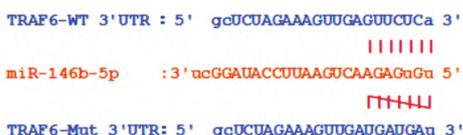


图 3 miR-146b-5p 与 TRAF6 存在结合位点

表 6 两组 TRAF6 双荧光素酶活性($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	TRAF6-WT	TRAF6-MUT
OGD/R+NC mimic 组	1.04 ± 0.11	1.01 ± 0.10
OGD/R+miR-146b-5p mimic 组	0.47 ± 0.06 ¹⁾	0.96 ± 0.10
<i>t</i> 值	7.879	0.612

注:与 OGD/R+NC mimic 组比较,¹⁾ $P < 0.01$

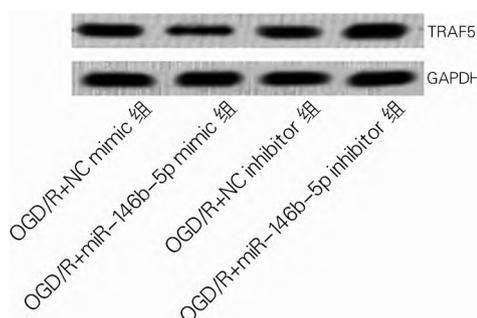


图 4 各转染组中 TRAF6 的蛋白表达水平(Western blotting)

表 7 各组 TRAF6 蛋白相对表达量($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	TRAF6 蛋白
OGD/R+NC mimic 组	1.03 ± 0.10
OGD/R+miR-146b-5p mimic 组	0.51 ± 0.06 ¹⁾
OGD/R+NC inhibitor 组	1.02 ± 0.10
OGD/R+miR-146b-5p inhibitor 组	2.01 ± 0.19 ²⁾

注:与 OGD/R+NC mimic 组比较,¹⁾ $P < 0.01$;与 OGD/R+NC inhibitor 组比较,²⁾ $P < 0.01$

3 讨论

缺血性脑损伤的发病率和致死率极高,因此,缺血性脑损伤的基础和临床研究一直是研究和关注的热点。缺血性脑损伤中最重要的病理机制之一就是炎症反应和氧化应激^[10]。抑制炎症反应和氧化应激对减少缺血性脑损伤具有重要意义。

众所周知,小胶质细胞是大脑中主要的免疫细胞,小胶质细胞的激活被认为是神经炎症反应的一个特征,参与多种脑疾病的发病机制。研究表明,

基础与实验 ▶

mRNA 作为内源性 RNA,主要通过形成功能性 miRNA 诱导的沉默复合物来抑制 mRNA 翻译或诱导其降解,进而参与到生理反应的调节中^[11,12]。miR-146b-5p 在神经胶质瘤中抑制了神经胶质瘤的增殖并促进其凋亡^[13]。另外,在新生儿缺血性脑病中,miR-146b-5p 靶向 IRAK1,可降低炎症因子和氧化应激的表达,减轻神经元损伤^[14]。本次研究发现 miR-146b-5p 在小胶质细胞 OGD/R 模型中显著下调,miR-146b-5p 模拟物可显著促进小胶质细胞 OGD/R 模型细胞增殖并抑制细胞凋亡、炎症反应和氧化应激。miR-146b-5p 抑制剂则显示出相反的效果。生物信息学和双荧光素酶报告基因实验显示在小胶质细胞 OGD/R 模型中,TRAF6 是 miR-146b-5p 的下游靶基因。TRAF6 是 TRAF 家族中的一员,在催化反应中可以通过硫酯键与泛素结合,并将泛素传递到相应底物,从而参与一系列信号转导。TRAF6 与免疫和中枢神经系统疾病(如卒中,

颅脑外伤,神经退行性疾病和神经性疼痛)密切相关,研究报道 TRAF6 可以通过 Toll 受体 4(TLR4)和 NF- κ B/MAPK 信号通路,在免疫和炎症反应中起着非常重要的作用^[15,16]。TRAF6 通过抑制自噬和促进氧化应激影响了蛛网膜下腔出血后早期脑损伤的程度^[17]。本研究发现在小胶质细胞 OGD/R 模型中,miR-146b-5p 可与 TRAF6 结合并负向调控 TRAF6 的表达。

总之,本研究发现 miR-146b-5p 通过负向调控 TRAF6 蛋白表达水平保护小胶质细胞 OGD/R 损伤,该研究为小胶质细胞 OGD/R 损伤提供了一个潜在的靶点。 ◀

本文第一作者简介:

黄松(1981-),男,汉族,硕士,副主任医师,研究方向:神经病学,脑血管病

参 考 文 献

- Katan M, Luft A. Global burden of stroke[J]. *Semin Neurol*, 2018,38(2):208-211.
- Zhao SC, Ma LS, Chu ZH, et al. Regulation of microglial activation in stroke[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2017,38(4):445-458.
- Perera MN, Ma HK, Arakawa S, et al. Inflammation following stroke[J]. *Journal of Clinical Neuroscience*, 2006, 13(1):1-8.
- Atsushi M, Yenari MA. Anti-inflammatory targets for the treatment of reperfusion injury in stroke[J]. *Front Neurol*, 2017, 7(8):467.
- El Gazzar M, McCall CE. MicroRNAs regulatory networks in myeloid lineage development and differentiation: regulators of the regulators[J]. *Immunol Cell Biol*, 2012,90(6):587-593.
- 李艳艳,于石柱,王 虔,等. miR-146b-5p 对胶质瘤 TJ905 细胞生长的抑制作用及其机制探讨[J]. *中国肿瘤临床*, 2012, 39(13):877-881.
- 唐志金,于海文,沈 华. 血清 miR-139-5p、miR-146b-5p 水平在乳腺癌诊断中的临床价值[J]. *检验医学与临床*, 2020,17(21):3080-3083,3088.
- 陈芳荣,吴栋才,陈小菊. miR-146a-5p 抑制 TRAF6/NF- κ B 信号通路影响滋养细胞的炎症反应[J]. *海南医学院学报*, 2021, 27(6):410-415.
- Jen HI, Lin ZY, Guo JX, et al. The effects of divalent cation-chelated prion fibrils on the immune response of EOC 13.31 microglia cells[J]. *Cells*, 2020, 9(10):2285.
- 朱志远,卢国辉,叶勇义,等. miR-124 通过 p38 α 抑制小胶质细胞分泌促炎细胞因子[J]. *中华神经医学杂志*, 2016,15(6):563-568.
- Chen YJ, Nguyen HM, Maezawa I, et al. The potassium channel KCa3.1 constitutes a pharmacological target for neuroinflammation associated with ischemia/reperfusion stroke[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2016,36(12):2146-2161.
- Ameres SL, Zamore PD. Diversifying microRNA sequence and function[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013,14(8):475-488.
- Li Y, Wang Y, Yu L, et al. miR-146b-5p inhibits glioma migration and invasion by targeting MMP16[J]. *Cancer Lett*, 2013,339(2):260-269.
- Yang G, Zhao Y. Overexpression of miR-146b-5p ameliorates neonatal hypoxic ischemic encephalopathy by inhibiting IRAK1/TRAF6/TAK1/NF- α B signaling[J]. *Yonsei Med J*, 2020, 61(8):660-669.
- Tian YS, Zhong D, Liu QQ, et al. Upregulation of miR-216a exerts neuroprotective effects against ischemic injury through negatively regulating JAK2/STAT3-involved apoptosis and inflammatory pathways[J]. *J Neurosurg*, 2018,130(3):977-988.
- Dou Y, Tian X, Zhang J, et al. Roles of TRAF6 in central nervous system[J]. *Current Neuropharmacology*, 2018, 16(9):1306-1313.
- Walsh MC, Lee J, Choi Y. Tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 (TRAF6) regulation of development, function, and homeostasis of the immune system[J]. *Immunological Reviews*, 2015, 266(1):72-92.
- Dou Y, Shen H, Feng D, et al. Tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 participates in early brain injury after subarachnoid hemorrhage in rats through inhibiting autophagy and promoting oxidative stress[J]. *Journal of Neurochemistry*, 2017, 142(3):478-492.