DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20220193

·论　著·

微 RNA-219 通过 ERK 1/2 通路改善炎症所致新生 SD 大鼠脑内少突胶质细胞成熟障碍

张绍卿[1,2]，杜　敏[1,3]，刘　兰[1,4]，徐　颖[1,2*]
1. 重庆医科大学附属儿童医院麻醉科，重庆 400014
2. 国家儿童健康与疾病临床医学研究中心，重庆 400014
3. 儿童发育疾病研究教育部重点实验室，重庆 400014
4. 儿科学重庆市重点实验室，重庆 400014

［**摘要**］ **目的**　建立新生 SD 大鼠炎症模型，初步探究微 RNA-219（miR-219）促进少突胶质细胞成熟的机制。**方法**　将 60 只 SD 大鼠随机分为对照组、脂多糖（LPS）组（LPS 0.15 mg/kg 腹腔注射）、LPS＋miR-219 agomir 组（LPS 0.15 mg/kg 腹腔注射，miR-219 agomir 3 μL 侧脑室注射）、miR-219 antagomir 组（miR-219 antagomir 3 μL 侧脑室注射）和 LPS＋miR-219 agomir＋U0126 组（LPS 0.15 mg/kg 腹腔注射，miR-219 agomir 3 μL 侧脑室注射，U0126 30 mg/kg 腹腔注射）。于大鼠出生第 7 天和第 14 天处死后取脑组织，采用 qPCR 检测脑组织中 miR-219 及炎症因子 *IL-1β*、*TNF-α* 的 mRNA 表达水平，蛋白质印迹法检测少突胶质细胞成熟标志物髓鞘碱性磷脂蛋白（MBP）和 ERK 1/2 表达水平，免疫荧光检测大鼠胼胝体少突胶质细胞的数量。**结果**　与对照组相比，大鼠腹腔注射 LPS 后脑组织内 *IL-1β*、*TNF-α* mRNA 表达均升高（$P<0.01$），miR-219 表达减少（$P<0.01$）。与 LPS 组相比，在用 miR-219 agomir 提升大鼠脑内 miR-219 的表达后 MBP 和 ERK 1/2 蛋白表达均增加（$P<0.01$），胼胝体少突胶质细胞数量增加。与对照组相比，在用 miR-219 antagomir 降低大鼠脑内 miR-219 的表达后，MBP 和 ERK 1/2 蛋白表达均减少（$P<0.01$），胼胝体少突胶质细胞数量减少。用 ERK 1/2 通路抑制剂 U0126 处理后，miR-219 对少突胶质细胞的促成熟作用受到了抑制（$P<0.01$）。**结论**　在大鼠脑内 miR-219 对少突胶质细胞的促成熟作用是通过 ERK 1/2 通路发挥作用的。

［**关键词**］ 炎症；脑白质损伤；微 RNA-219；细胞外信号调控的激酶；少突胶质细胞
［**引用本文**］ 张绍卿，杜敏，刘兰，等. 微 RNA-219 通过 ERK 1/2 通路改善炎症所致新生 SD 大鼠脑内少突胶质细胞成熟障碍[J]. 海军军医大学学报，2023，44（12）：1429-1434. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20220193.

MicroRNA-219 promotes oligodendrocyte maturation through ERK 1/2 signaling pathway in inflammation model of neonatal SD rats

ZHANG Shaoqing[1,2], DU Min[1,3], LIU Lan[1,4], XU Ying[1,2*]
1. Department of Anesthesiology, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China
2. National Clinical Research Center for Child Health and Disorders, Chongqing 400014, China
3. Key Laboratory of Child Development and Disorders of Ministry of Education, Chongqing 400014, China
4. Chongqing Key Laboratory of Pediatrics, Chongqing 400014, China

［**Abstract**］ **Objective**　To establish an inflammation model in neonatal SD rats and to explore the mechanism by which microRNA-219 (miR-219) promotes oligodendrocyte maturation. **Methods**　Sixty SD rats were randomly assigned to control group, lipopolysaccharide［LPS］group (LPS 0.15 mg/kg, intraperitoneal injection), LPS＋miR-219 agomir group (LPS 0.15 mg/kg, intraperitoneal injection; miR-219 agomir 3 μL, intraventricular injection), miR-219 antagomir group (miR-219 antagomir 3 μL, intraventricular injection), or LPS＋miR-219 agomir＋U0126 group (LPS 0.15 mg/kg, intraperitoneal injection; miR-219 agomir 3 μL, intraventricular injection; U0126 30 mg/kg, intraperitoneal injection). The rats were sacrified on the 7th and 14th day of life and the brain tissue was harvested. The expression levels of miR-219 and inflammatory factors interleukin-1β (*IL-1β*) and tumor necrosis factor-α (*TNF-α*) mRNA were detected by quantitative polymerase chain reaction. The expression levels of myelin basic protein (MBP) and extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK 1/2) were detected by Western blotting. The number of oligodendrocytes in the corpus callosum was observed

［**收稿日期**］ 2022-03-06　　［**接受日期**］ 2022-09-02
［**基金项目**］ 重庆市科学技术委员会民生项目（cstc2018jscx-msybX0104）. Supported by People's Livelihood Project of Chongqing Science and Technology Committee (cstc2018jscx-msybX0104).
［**作者简介**］ 张绍卿，硕士生. E-mail: 625601734@qq.com
* 通信作者（Corresponding author）. Tel: 023-63632143, E-mail: xvyingxy3066@126.com

by immunofluorescence. **Results**　Compared with the control group, the expression levels of *IL-1β* and *TNF-α* mRNA were significantly increased after intraperitoneal injection of LPS in rats (both $P<0.01$), and the expression of miR-219 was significantly decreased ($P<0.01$). Compared with the LPS group, the expression levels of MBP and ERK 1/2 were significantly increased after miR-219 agomir was used to enhance the expression of miR-219 in the brain of rats (both $P<0.01$), with increased oligodendrocytes in the corpus callosum. Compared with the control group, the expression levels of MBP and ERK 1/2 were significantly decreased after miR-219 antagomir was used to reduce the expression of miR-219 in the brain of rats (both $P<0.01$), with decreased oligodendrocytes in the corpus callosum. After treatment with the ERK 1/2 pathway inhibitor U0126, the maturation promoting effect of miR-219 on oligodendrocytes was significantly inhibited ($P<0.01$). **Conclusion**　miR-219 can promote the maturation of oligodendrocytes in rat brain through the ERK 1/2 pathway.

［**Key words**］ inflammation; white matter injury; microRNA-219; extracellular signal-regulated kinase; oligodendrocytes

［**Citation**］ ZHANG S, DU M, LIU L, et al. MicroRNA-219 promotes oligodendrocyte maturation through ERK 1/2 signaling pathway in inflammation model of neonatal SD rats[J]. Acad J Naval Med Univ, 2023, 44(12): 1429-1434. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20220193.

新生儿感染往往导致脑损伤的发生，并且伴随少突胶质细胞（oligodendrocyte，OL）成熟障碍和髓鞘形成受损[1]。OL 在中枢神经系统中的主要作用是促进髓鞘生成，若其成熟发生障碍则会引起髓鞘生成障碍，发生脱髓鞘疾病，导致认知、行为和感觉功能下降[2]。miRNA 是一类小的非编码 RNA 分子，由许多真核生物表达，能调节体内大多数生物学进程[3-4]。微 RNA-219（microRNA-219，miR-219）可以调控少突胶质祖细胞的分化，并在已成熟的 OL 中大量表达[5-7]，在脊髓损伤等脱髓鞘疾病动物模型脑部过表达 miR-219 可以促进 OL 成熟，但相关机制并不明确[5-6]。本研究在模拟炎症的新生 SD 大鼠侧脑室注射 miR-219 agomir（一种 miR-219 模拟物），同时于空白对照的新生 SD 大鼠侧脑室注射 miR-219 antagomir（一种 miR-219 拮抗物），观察 OL 的成熟情况并探究 miR-219 促进 OL 成熟的机制，为临床治疗新生儿感染所致脑损伤提供新的线索。

1　材料和方法

1.1　*材料*　脂多糖（lipopolysaccharide，LPS；上海希格玛高技术有限公司），miR-219 agomir 和 miR-219 antagomir［生工生物工程（上海）股份有限公司］，反转录和 qPCR 试剂（美国 MCE 公司），TRIzol（美国 Invitrogen 公司），全蛋白质提取试剂盒（江苏凯基生物技术股份有限公司），β 微管蛋白抗体、髓鞘碱性磷脂蛋白（myelin basic protein，MBP）抗体、ERK 1/2 抗体（美国 Cell Signaling Technology 公司），TRITC 荧光二抗、FITC 荧光二抗和山羊抗兔 IgG H&L［艾博抗（上海）贸易有限公司］，BCA 试剂盒、ERK 1/2 通路抑制剂 U0126（上海碧云天生物技术有限公司）。

1.2　*动物分组与处理*　将 60 只新生 SD 大鼠随机分为 5 组：对照组、miR-219 antagomir 组、LPS 组、LPS＋miR-219 agomir 组和 LPS＋miR-219 agomir＋U0126 组，每组 12 只。3 组炎症模型 SD 大鼠出生 24 h 后腹腔注射 0.15 mg/kg LPS，连续 2 d；对照组和 miR-219 antagomir 组则在相同时间腹腔注射等体积生理盐水。LPS＋miR-219 agomir 和 LPS＋miR-219 agomir＋U0126 组大鼠，腹腔注射 LPS 12 h 后，定位于大鼠前囟后 0.6 mm、中线左（右）0.8 mm、颅骨下 2.4 mm 使用微量注射器注射 miR-219 agomir，将注射体积设置为 3 μL，注射速度设置为 3 μL/min，留针 1 min。U0126（30 mg/kg）溶于 DMSO，并于侧脑室注射 miR-219 agomir 前 30 min 腹腔注射。miR-219 antagomir 的注射方法与 miR-219 agomir 相同。

分别于大鼠出生后 7 d 和 14 d 断头处死大鼠，于冰上迅速剥离脑组织并一分为二，一份冻存于－80 ℃，另一份用 4% 多聚甲醛溶液固定。

1.3　*qPCR 检测脑组织炎症因子 IL-1β 和 TNF-α 的 mRNA 表达水平*　取－80 ℃冻存的脑组织，采用 TRIzol 法提取总 RNA，根据试剂使用说明书反转录成 cDNA，再进行 qPCR 扩增。*IL-1β* 上游引物序列为 5′-CCAGCTTCAAATCTCACAGCAG-3′，下游引物序列为 5′-CTTCTTTGGGTATTGCTTGGGATC-3′；*TNF-α* 上游引物序列为 5′-TTCCGAATTCACTGGAGCCTCGAA-3′，下游引物序列为 5′-TGCACCTCAGGGAAGAATCTGGA-3′；内参基因 *GAPDH* 上游引物序列为 5′-TGAAGCAGGCATCTGAGGG-3′，下游引物序列为 5′-CGAAGGTGGAAGAGTGGGAG-3′。qPCR 反应条件：95 ℃

3 min；95 ℃ 30 s、55 ℃ 20 s，40 个循环。所用引物均由生工生物工程（上海）股份有限公司合成。

1.4　qPCR 检测脑组织 miR-219 表达水平　以上述 cDNA 为模板采用 qPCR 扩增 miR-219，miR-219 上游引物序列为 5′-AGGCGCATTGATTGTCCAA-ACG-3′，下游引物序列为 5′-ATCCAGTGCAGGG-TCCGAGG-3′；内参基因 *U6* 上游引物序列为 5′-GCAGCTACCTCAGTGCA-3′，下游引物序列为 5′-GCGAACGCAGGAATTTGTGT-3′。qPCR 反应条件：95 ℃ 10 min；95 ℃ 2 s、60 ℃ 20 s、70 ℃ 10 s，40 个循环。所用引物均由生工生物工程（上海）股份有限公司合成。

1.5　蛋白质印迹法检测 OL 标志物 MBP 和 ERK 1/2 通路蛋白表达水平　取－80 ℃冻存的脑组织，按全蛋白质提取试剂盒说明书提取蛋白质，用 BCA 法测蛋白质浓度。取 40 μg 蛋白质用 SDS-PAGE 分离，转至 PVDF 膜上（105 V、105 min）；用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h，TBST 洗 3 次，每次 5 min；加 MBP、ERK 1/2 抗体（稀释比例均为 1 ∶ 1 000）于 4 ℃摇床孵育 14 h，TBST 洗 3 次，每次 5 min；加山羊抗兔 IgG H&L（稀释比例为 1 ∶ 3 000）于 26 ℃孵育 1.5 h，TBST 洗 5 次，每次 3 min。显影后用 ImageJ 软件对条带灰度值进行分析。

1.6　免疫荧光法检测髓脂体成熟 OL 数量　取 4% 多聚甲醛溶液固定的脑组织制成冰冻切片，将冰冻切片用山羊血清封闭 30 min；吸弃山羊血清，PBS 洗 2 次，加 MBP 和 ERK 1/2 抗体（稀释比例均为 1∶200）于 4 ℃湿盒孵育 24 h，PBS 洗 3 次；用 TRITC 荧光二抗和 FITC 荧光二抗（稀释比例均为 1 ∶ 500）室温孵育 2 h，PBS 洗 3 次；用 DAPI 染核，PBS 洗 3 次。采用荧光淬灭剂封片，在荧光显微镜下观察。

1.7　统计学处理　应用 SPSS 24.0 软件进行统计学分析。数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，采用 Dunnett's *t* 检验进行组间比较，检验水准（α）为 0.05。

2　结　果

2.1　LPS 导致大鼠全身炎症反应并使其脑组织内 miR-219 表达降低　大鼠腹腔注射 LPS 后脑组织内 *IL-1β* mRNA（1.34±0.12 vs 0.31±0.07）和 *TNF-α* mRNA（1.46±0.21 vs 0.46±0.03）的表达与对照组相比均升高，而 miR-219 表达减少（0.42±0.12 vs 1.40±0.05），差异均有统计学意义（$P<0.01$）。

2.2　miR-219 agomir 可促进 OL 成熟　qPCR 和蛋白质印迹法检测结果显示，与 LPS 组大鼠对比，LPS＋miR-219 agomir 组大鼠脑组织内 miR-219、MBP、ERK 1/2 表达均升高（$P<0.01$，图 1），免疫荧光法检测结果显示大鼠髓脂体 OL 数量增加（图 2）。

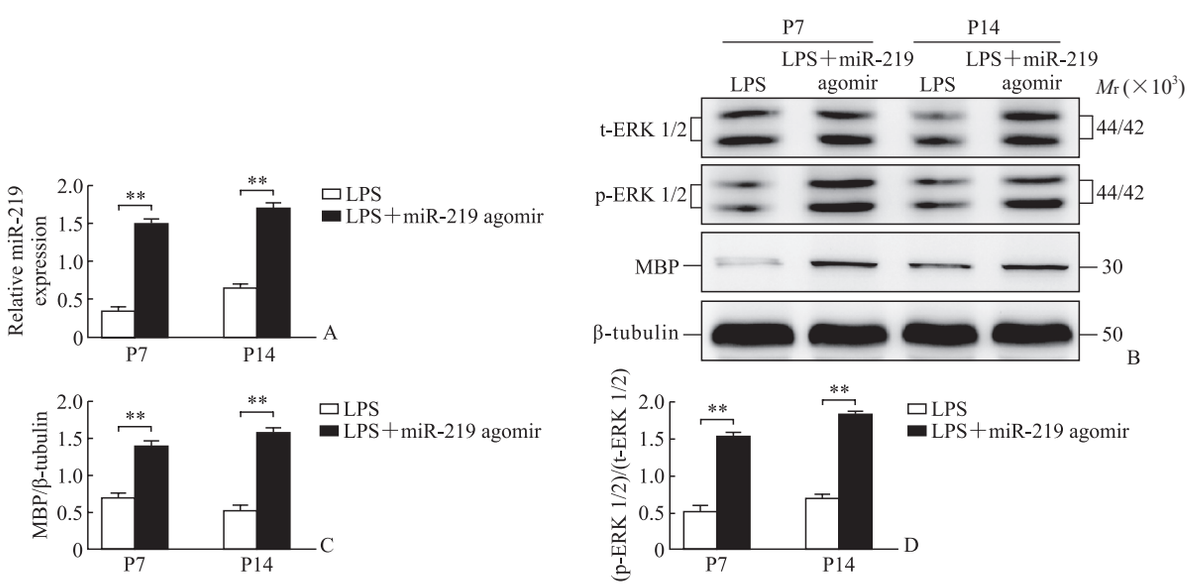

图 1　miR-219 agomir 干预前后炎症模型 SD 大鼠脑组织中 miR-219、MBP、ERK 1/2 的表达

Fig 1　Expression of miR-219, MBP, and ERK 1/2 in brain tissue of SD rats of inflammation model before and after intervention with miR-219 agomir

A: Expression of miR-219 detected by quantitative polymerase chain reaction; B-D: Expression of MBP and ERK 1/2 detected by Western blotting. $^{**}P<0.01$. $n=6, \bar{x}\pm s$. miR-219: MicroRNA-219; MBP: Myelin basic protein; ERK 1/2: Extracellular signal-regulated kinase 1/2; LPS: Lipopolysaccharide; t-ERK 1/2: Total ERK 1/2; p-ERK 1/2: Phosphorylated ERK 1/2; P7: Postnatal day 7; P14: Postnatal day 14.

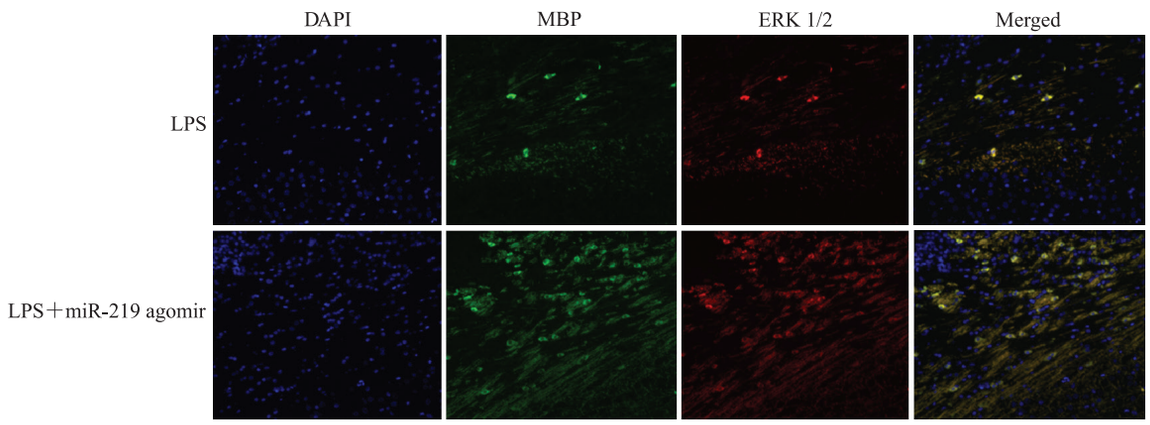

图 2　免疫荧光法检测 miR-219 agomir 干预前后炎症模型 SD 大鼠胼胝体少突胶质细胞（20×）

Fig 2　Oligodendrocytes in corpus callosum of SD rats of inflammation model before and after intervention with miR-219 agomir detected by immunofluorescence (20×)

miR-219: MicroRNA-219; LPS: Lipopolysaccharide; DAPI: 4',6-diamidino-2-phenylindole; MBP: Myelin basic protein; ERK 1/2: Extracellular signal-regulated kinase 1/2.

2.3　miR-219 antagomir 可抑制 OL 成熟　qPCR 和蛋白质印迹法检测结果显示，与对照组大鼠对比，miR-219 antagomir 组大鼠脑组织内 miR-219、MBP、ERK 1/2 表达均降低（$P<0.01$，图 3）；免疫荧光法检测结果显示大鼠胼胝体 OL 数量减少（图 4）。

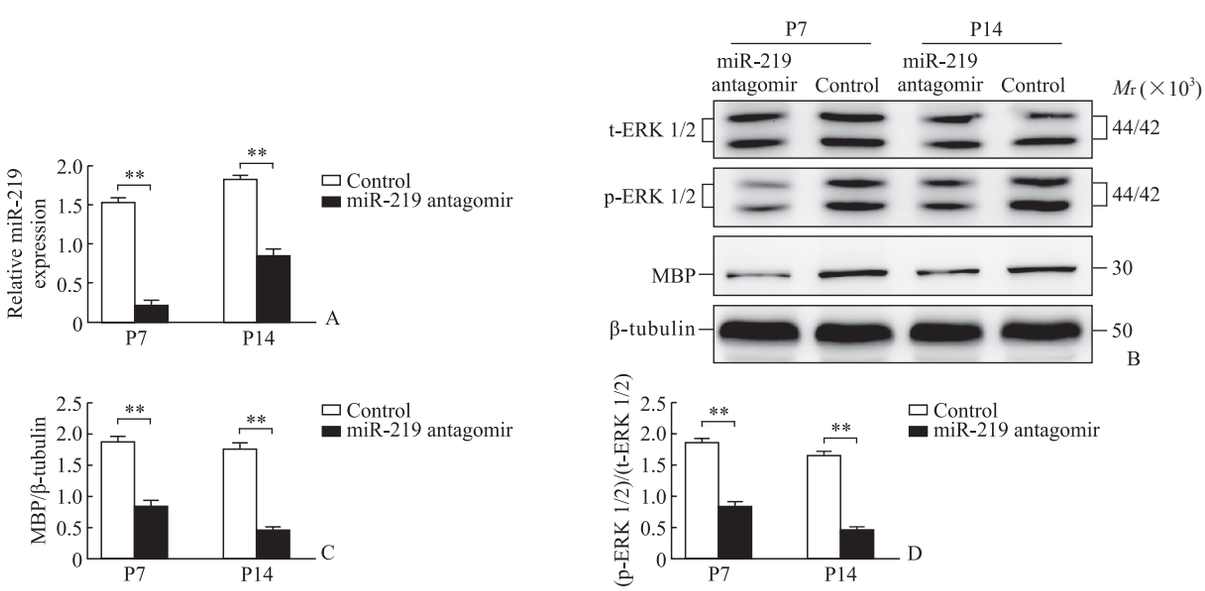

图 3　miR-219 antagomir 干预前后 SD 大鼠脑组织中 miR-219、MBP、ERK 1/2 的表达

Fig 3　Expression of miR-219, MBP, and ERK 1/2 in SD rat brain tissue before and after intervention with miR-219 antagomir

A: Expression of miR-219 detected by quantitative polymerase chain reaction; B-D: Expression of MBP and ERK 1/2 detected by Western blotting. $^{**}P<0.01$. $n=6$, $\bar{x}\pm s$. miR-219: MicroRNA-219; MBP: Myelin basic protein; ERK 1/2: Extracellular signal-regulated kinase 1/2; t-ERK 1/2: Total ERK 1/2; p-ERK 1/2: Phosphorylated ERK 1/2; P7: Postnatal day 7; P14: Postnatal day 14.

2.4　U0126 对 OL 成熟的影响　蛋白质印迹法检测结果显示，用 ERK 1/2 通路抑制剂 U0126 处理后，大鼠脑组织内 ERK 1/2、MBP 蛋白表达均减少（$P<0.01$，图 5），表明 miR-219 对 MBP 表达的促进作用因 ERK 1/2 通路被抑制而减弱。

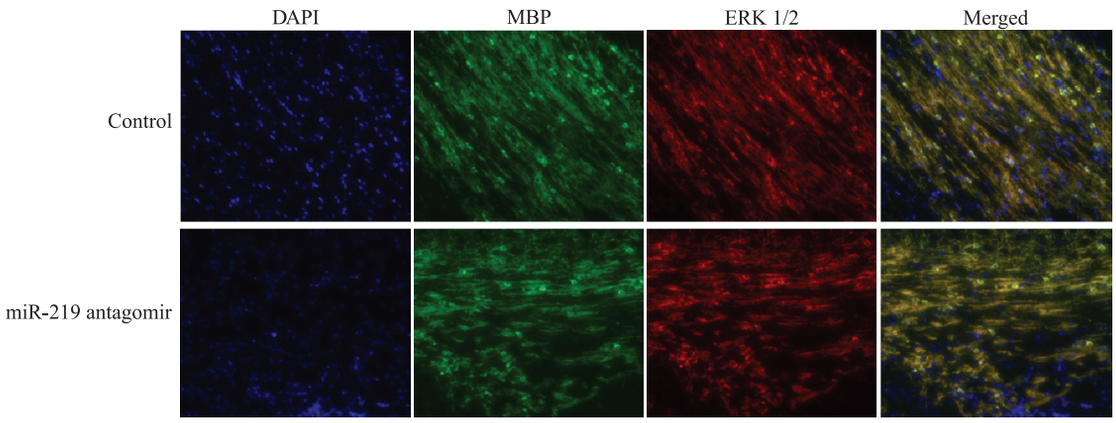

图 4　免疫荧光法检测 miR-219 antagomir 干预前后大鼠胼胝体少突胶质细胞（20×）

Fig 4　Oligodendrocytes of rat corpus callosum before and after intervention with miR-219 antagomir detected by immunofluorescence (20×)

miR-219: MicroRNA-219; DAPI: 4',6-diamidino-2-phenylindole; MBP: Myelin basic protein; ERK 1/2: Extracellular signal-regulated kinase 1/2.

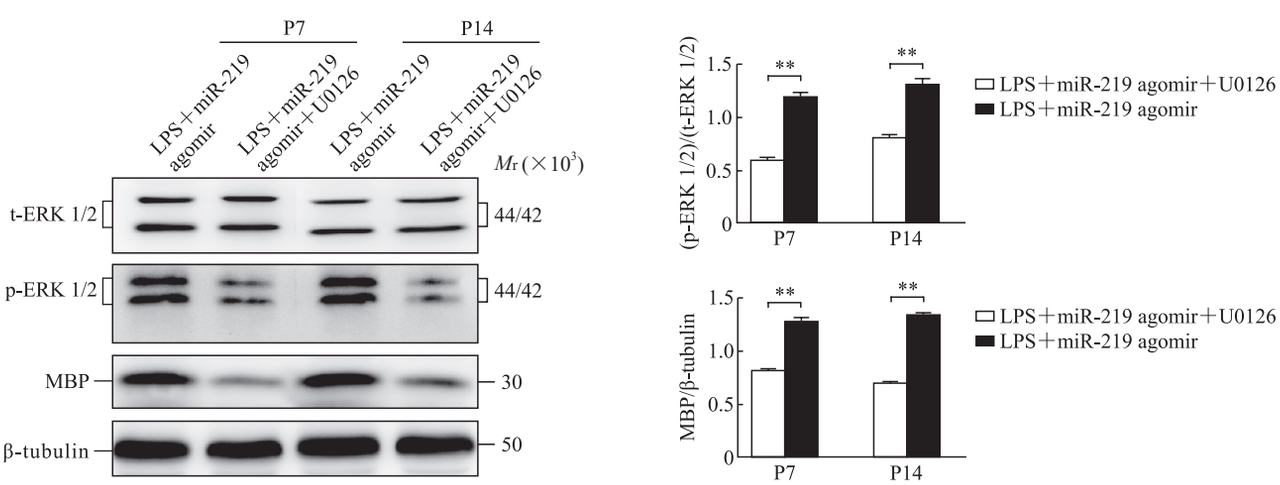

图 5　蛋白质印迹法检测各组大鼠脑组织内 MBP 和 ERK 1/2 蛋白的表达水平

Fig 5　Protein expression of MBP and ERK 1/2 in rat brain tissue of each group detected by Western blotting

U0126 is an inhibitor of ERK 1/2 pathway. $^{**}P<0.01$. $n=6$, $\bar{x}\pm s$. MBP: Myelin basic protein; ERK 1/2: Extracellular signal-regulated kinase 1/2; t-ERK 1/2: Total ERK 1/2; p-ERK 1/2: Phosphorylated ERK 1/2; LPS: Lipopolysaccharide; miR-219: MicroRNA-219; P7: Postnatal day 7; P14: Postnatal day 14.

3　讨　论

新生儿免疫系统尚未成熟，极易遭受各种感染[8]。相关研究显示，新生儿的急性和慢性炎症都可以导致脑损伤[9-10]。新生儿感染导致的脑损伤类型虽多种多样，但都伴随 OL 成熟障碍，因此，炎症被认为是 OL 成熟发生障碍的主要原因之一[8,11]。OL 分布于中枢神经系统有髓神经纤维之间，构成髓鞘，其主要功能是形成 MBP、维持和保护神经元的正常功能[12-14]。OL 发育异常会使髓鞘形成受损，进而导致中枢神经系统多种疾病如多发性硬化、脑白质损伤等，甚至可能引发精神类疾病[2]。

miRNA 是一类内生的、长度为 20～24 个核苷酸的 RNA，在体内各个系统中具有多种重要的调节作用[15-16]。相关研究显示，miR-219、miR-338 等在 OL 的分化过程中表达量急剧增加，尤其是 miR-219，作为 OL 特有表达的 miRNA 在 OL 分化过程中表达达到峰值[5-6]。在体外实验及脊髓损伤动物模型中，miR-219 可以促进少突胶质祖细胞分化为成熟的 OL，从而促进髓鞘再生，改善疾病的症状[6,17-18]。本实验结果也证实，在新生 SD 大鼠炎症模型中 miR-219 表达降低，过表达 miR-219 可以促进 OL 成熟，而抑制 miR-219 表达后 OL 的成熟受到了抑制。

ERK 1 和 ERK 2 是 MAPK 家族的成员，能影响 OL 的增殖和分化[19]。在缺血缺氧性疾病中，ERK 通路的激活可以促进少突胶质祖细胞分化为成熟的 OL；在模拟精神压力性疾病小鼠的海马区，激活 5- 羟色胺以抑制 ERK 通路的活性后海马区 OL 的分化遭受损害[20-21]。但在炎症导致的脑损伤尤其是动物实验中，ERK 通路的作用研究相对较少。本实验结果证实，在炎症新生大鼠脑内随着 miR-219 表达增多 ERK 1/2 活性增加，促进了 OL 成熟，而用 U0126 抑制 ERK 1/2 活性后 miR-219 对 OL 的促成熟作用受到抑制；并且在空白新生大鼠脑内随着 miR-219 表达减少 ERK 1/2 活性减弱，OL 成熟受到抑制。

综上所述，miR-219 可以改善由炎症导致的新生 SD 大鼠脑部 OL 成熟障碍，且这一作用是通过 ERK 1/2 通路而发挥的。本研究结果为早产儿脑损伤的治疗研究提供了新的线索。

［参 考 文 献］

［1］ SCHNEIDER J, MILLER S P. Preterm brain injury: white matter injury[J]. Handb Clin Neurol, 2019, 162: 155-172. DOI: 10.1016/B978-0-444-64029-1.00007-2.

［2］ VAN TILBORG E, HEIJNEN C J, BENDERS M J, et al. Impaired oligodendrocyte maturation in preterm infants: potential therapeutic targets[J]. Prog Neurobiol, 2016, 136: 28-49. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2015.11.002.

［3］ TAO J, XIA L, CAI Z, et al. Interaction between microRNA and DNA methylation in atherosclerosis[J]. DNA Cell Biol, 2021, 40(1): 101-115. DOI: 10.1089/dna.2020.6138.

［4］ MA Q, DASGUPTA C, LI Y, et al. Inhibition of microRNA-210 provides neuroprotection in hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats[J]. Neurobiol Dis, 2016, 89: 202-212. DOI: 10.1016/j.nbd.2016.02.011.

［5］ JI J, SUN Y Q, ZHA Z, et al. Bu Shen Yi Sui capsules promote remyelination by regulating microRNA-219 and microRNA-338 in exosomes to promote oligodendrocyte precursor cell differentiation[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 2022: 3341481. DOI: 10.1155/2022/3341481.

［6］ HARRIS V K, STARK J, VYSHKINA T, et al. Phase Ⅰ trial of intrathecal mesenchymal stem cell-derived neural progenitors in progressive multiple sclerosis[J]. EBioMedicine, 2018, 29: 23-30. DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.02.002.

［7］ NAZARI B, NAMJOO Z, MORADI F, et al. miR-219 overexpressing oligodendrocyte progenitor cells for treating compression spinal cord injury[J]. Metab Brain Dis, 2021, 36(5): 1069-1077. DOI: 10.1007/s11011-021-00701-y.

［8］ NOVAK C M, OZEN M, BURD I. Perinatal brain injury: mechanisms, prevention, and outcomes[J]. Clin Perinatol, 2018, 45(2): 357-375. DOI: 10.1016/j.clp.2018.01.015.

［9］ LEAVY A, JIMENEZ MATEOS E M. Perinatal brain injury and inflammation: lessons from experimental murine models[J]. Cells, 2020, 9(12): 2640. DOI: 10.3390/cells9122640.

［10］ RISBROUGH V B, VAUGHN M N, FRIEND S F. Role of inflammation in traumatic brain injury-associated risk for neuropsychiatric disorders: state of the evidence and where do we go from here[J]. Biol Psychiatry, 2022, 91(5): 438-448. DOI: 10.1016/j.biopsych.2021.11.012.

［11］ STEPHENSON J, NUTMA E, VAN DER VALK P, et al. Inflammation in CNS neurodegenerative diseases[J]. Immunology, 2018, 154(2): 204-219. DOI: 10.1111/imm.12922.

［12］ KIPP M. Oligodendrocyte physiology and pathology function[J]. Cells, 2020, 9(9): 2078. DOI: 10.3390/cells9092078.

［13］ KUHN S, GRITTI L, CROOKS D, et al. Oligodendrocytes in development, myelin generation and beyond[J]. Cells, 2019, 8(11): 1424. DOI: 10.3390/cells8111424.

［14］ ROSKO L, SMITH V N, YAMAZAKI R, et al. Oligodendrocyte bioenergetics in health and disease[J]. Neuroscientist, 2019, 25(4): 334-343. DOI: 10.1177/1073858418793077.

［15］ KITTELMANN S, MCGREGOR A P. Modulation and evolution of animal development through microRNA regulation of gene expression[J]. Genes, 2019, 10(4): 321. DOI: 10.3390/genes10040321.

［16］ WU Y, LI Q, ZHANG R, et al. Circulating microRNAs: biomarkers of disease[J]. Clin Chim Acta, 2021, 516: 46-54. DOI: 10.1016/j.cca.2021.01.008.

［17］ INOJOSA H, PROSCHMANN U, AKGÜN K, et al. A focus on secondary progressive multiple sclerosis (SPMS): challenges in diagnosis and definition[J]. J Neurol, 2021, 268(4): 1210-1221. DOI: 10.1007/s00415-019-09489-5.

［18］ INAMURA N, GO S, WATANABE T, et al. Reduction in miR-219 expression underlies cellular pathogenesis of oligodendrocytes in a mouse model of Krabbe disease[J]. Brain Pathol, 2021, 31(5): e12951. DOI: 10.1111/bpa.12951.

［19］ GONSALVEZ D, FERNER A H, PECKHAM H, et al. The roles of extracellular related-kinases 1 and 2 signaling in CNS myelination[J]. Neuropharmacology, 2016, 110(Pt B): 586-593. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2015.04.024.

［20］ XIE Y, ZHANG X, XU P, et al. Aberrant oligodendroglial LDL receptor orchestrates demyelination in chronic cerebral ischemia[J]. J Clin Invest, 2021, 131(1): e128114. DOI: 10.1172/JCI128114.

［21］ KUROKAWA K, TAKAHASHI K, MIYAGAWA K, et al. Activation of 5-HT_{1A} receptor reduces abnormal emotionality in stress-maladaptive mice by alleviating decreased myelin protein in the ventral hippocampus[J]. Neurochem Int, 2021, 151: 105213. DOI: 10.1016/j.neuint.2021.105213.

［本文编辑］　尹　茶