

· 论著 ·

DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2024.11.002

外泌体 miR-1246 对帕金森病的诊断价值

王晓蓓¹, 杨珊¹, 李亚晔¹, 杨新玲²✉

(1. 省部共建中亚高发病成因与防治国家重点实验室 新疆医科大学第二附属医院神经内科, 新疆乌鲁木齐 830063; 2. 新疆医科大学 新疆神经系统疾病研究重点实验室, 新疆乌鲁木齐 830017)

【摘要】 目的 探讨外泌体 miR-1246 对帕金森病 (PD) 的诊断价值。方法 收集 2022 年 9 月至 2023 年 4 月在新疆医科大学第二附属医院住院的 30 例 PD 患者 (PD 组) 和接受体检的 30 名健康对照者 (对照组) 的血清样本, 运用实时定量 PCR 分析外泌体中 miR-1246 的表达水平, 使用受试者操作特征 (ROC) 曲线评估 miR-1246 在 PD 诊断中的预测能力。用 1-甲基-4-苯基吡啶离子 (MPP⁺) 诱导 SH-SY5Y 细胞建立 PD 细胞模型, 通过 Cell Counting Kit-8 细胞毒性 (CCK-8) 实验确定 MPP⁺ 的最佳作用浓度, 并在成功建立的 PD 细胞模型中验证 miR-1246 的表达水平。利用 TargetScan、miRWalk、miRase 数据库对 miR-1246 的靶基因进行预测, 并进行基因本体论 (GO) 富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析。结果 PD 组与对照组在年龄、性别上具有可比性。与对照组相比, PD 组血清外泌体中 miR-1246 表达下调 [0.73 (0.20, 1.21) vs. 2.21 (1.00, 3.05), $P < 0.05$]。ROC 曲线分析显示 miR-1246 的曲线下面积为 0.88, 95% CI 为 0.77~0.99, 截断值为 0.98 (最佳截断值) 时的灵敏度为 76.74%、特异度为 95.00%。GO 富集分析表明靶基因作用机制涉及细胞连接组装、对肽激素的细胞反应、 γ -氨基丁酸突触、突触后膜、转录辅助激活蛋白结合方面, KEGG 富集分析涉及癌症中的糖蛋白通路、磷脂酰肌醇 3-激酶-蛋白激酶 B (PI3K-AKT) 信号通路、长寿调节途径、多巴胺能神经突触、肾素-血管紧张素系统 (RAS) 信号通路等。与正常 SH-SY5Y 细胞相比, 在 MPP⁺ 诱导的 PD 细胞模型中 miR-1246 的表达下调 (2.16 ± 1.69 vs. 22.18 ± 6.18 , $P < 0.05$)。结论 miR-1246 在 PD 患者血清外泌体及 PD 细胞模型中的表达下调, ROC 曲线分析证实 miR-1246 在 PD 的诊断中具有预测能力, 表明其或可作为 PD 的潜在生物标志物。

【关键词】 帕金森病; 血清外泌体; miR-1246; SH-SY5Y 细胞

Diagnostic value of exosomal miR-1246 for Parkinson's disease

WANG Xiaobei¹, YANG Shan¹, LI Yatan¹, YANG Xinling²✉

(1. State Key Laboratory of Pathogenesis, Prevention and Treatment of High Incidence Diseases in Central Asia, Department of Neurology, the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830063, China; 2. Xinjiang Key Laboratory of Nervous System Disease Research, Xinjiang Medical University, Urumqi 830017, China)

Corresponding author: YANG Xinling, E-mail: poplar862@sohu.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the diagnostic value of exosomal miR-1246 for Parkinson's disease (PD). **Methods** Serum samples were collected from 30 PD patients (PD group) and 30 healthy controls (control group) receiving physical examination in the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University from September 2022 to April 2023. The expression level of miR-1246 in exosomes was analyzed using real-time quantitative PCR. The predictive value of miR-1246 in the diagnosis of PD was assessed using the receiver operating characteristic (ROC) curves. SH-SY5Y cells were induced by 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP⁺) to establish a PD cell model. The optimal concentration of MPP⁺ was determined by CCK-8 assay, and the expression level of miR-1246 was verified in the MPP⁺-induced SH-SY5Y cell model. The target genes of miR-1246 were predicted using TargetScan, miRWalk, and miRase databases, and gene ontology (GO) analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) functional enrichment analysis were performed. **Results** Age and gender were matched between the PD and control groups. Compared with healthy controls, miR-1246 expression was significantly down-regulated in serum exosomes of PD patients [0.73 (0.20, 1.21)

收稿日期: 2024-05-24

基金项目: 省部共建中亚高发病成因与防治国家重点实验室开放课题项目 (SKL-HIDCA-2022-NKX3); 天山英才科技创新领军人才项目 (2022TSYCLJ0066)

作者简介: 王晓蓓, 副主任医师, 研究方向: 帕金森病的诊断与治疗, E-mail: 694624699@qq.com; 杨新玲, 通信作者, 主任医师, 研究方向: 帕金森病发病机制的研究, E-mail: poplar862@sohu.com

vs. 2.21 (1.00, 3.05), $P < 0.05$]. ROC curve analysis showed that the area under the ROC curve (AUC) of miR-1246 was 0.88 with a 95% CI of 0.77-0.99. When the cutoff value was 0.98 (optimum cutoff value), the sensitivity was calculated as 76.74% and the specificity was 95.00%. GO enrichment analysis indicated that the mechanism of action of target genes was involved with cellular junction assembly, cellular response to peptide hormones, GABA synapses, post-synaptic membranes, and transcriptional coactivator protein binding. KEGG signaling pathway was involved with glycoprotein pathway, PI3K-AKT signaling pathway, longevity regulation pathway, dopaminergic synapses, and RAS signaling pathway in cancer. In the MPP⁺-induced SH-SY5Y cell model, miR-1246 expression was significantly down-regulated compared with the control group (2.16 ± 1.69 vs. 22.18 ± 6.18 , $P < 0.05$).

Conclusions The expression level of miR-1246 is down-regulated in serum exosomes of PD patients and in PD cell models. ROC curve analysis confirms the predictive value of miR-1246 in the diagnosis of PD, suggesting that it may serve as a potential biomarker for PD.

【Key words】 Parkinson's disease; Serum exosome; miR-1246; SH-SY5Y cell

帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 是一种常见的神经退行性疾病, 其特征是多巴胺能神经元的逐渐丧失, 尤其是在大脑的黑质区域^[1]。PD 的发病率随年龄增长而增加, 且随着全球人口老龄化的日益加重, PD 患者的数量将持续上升。PD 的主要临床表现包括静止性震颤、肌僵直、运动迟缓和姿势平衡障碍, 这些症状严重降低患者的生活质量^[2,3]。尽管 PD 的确切病因尚未完全明了, 但研究表明, PD 的发生可能是遗传和环境因素共同导致的结果^[3]。目前, PD 的诊断主要依赖于临床症状和神经学检查, 缺乏早期特异性生物标志物, 这使得疾病的早期诊断、治疗和干预面临巨大挑战^[4]。此外, 目前 PD 的治疗主要侧重于缓解症状, 而非阻止疾病的进展, 这进一步凸显了开发新治疗策略的必要性^[5,7]。外泌体是细胞间通信的重要介质, 近年来其在疾病诊断和治疗中的潜力受到广泛关注。外泌体是一类直径 30~150 nm 的囊泡, 能够携带蛋白质、脂质和核酸, 包括微小 RNA (microRNA, miR) 等生物分子, 通过细胞外泌的方式在细胞间传递信息^[8]。在神经退行性疾病中, 外泌体的异常表达可能与疾病的发生发展密切相关^[9,10]。miR 是一类小的非编码 RNA 分子, 对多种生物学过程发挥重要作用^[11]。本课题组通过测序发现 PD 患者血清外泌体中 miR-1246 较对照组表达下调, 但 miR-1246 在 PD 中的具体作用及其通过外泌体传递的机制尚不明确。因此, 本研究旨在探讨血清外泌体中 miR-1246 的表达情况, 并评估其作为 PD 早期诊断生物标志物的潜力。通过深入分析 miR-1246 在外泌体中的作用, 以期 PD 的早期识别、疾病监测和治疗提供新的视角和策略。

1 对象与方法

1.1 研究对象

纳入 2022 年 9 月至 2023 年 4 月在新疆医科大学第二附属医院神经内科住院的 30 例患者, 其中男 18 例、女 12 例, 年龄 (67.70 ± 6.64) 岁, Hoehn-Yahr (H-Y) 分级 2.5 (1.5, 3), 帕金森综合评分量表 (unified Parkinson's disease rating scale, UPDRS III) (26.73 ± 11.37) 分。PD 组纳入标准如下: ①临床资料及实验室检查资料完整; ②至少由 2 名经验丰富的神经内科医师进行严格的神经系统检查, 依据英国脑库 PD 诊断标准诊断为原发性 PD^[12]。排除标准如下: ①服用吩噻嗪类、噻吨类、丁酰苯类药物所致的帕金森综合征; ②近 6 个月内出现脑血管疾病、颅脑外伤、中枢神经系统感染、帕金森叠加综合征; ③既往有颅脑肿瘤、颅脑转移瘤; ④近 6 个月血常规提示白细胞数量超过正常值; ⑤近 6 个月患自身免疫性疾病, 甲状腺功能出现异常; ⑥存在慢性感染病史; ⑦近 6 个月内曾应用抗生素及其他抑制免疫药物; ⑧近 3 个月有重大外伤史及重要器官手术史; ⑨既往曾出现肝、肾损害及心功能异常。同期纳入在新疆医科大学第二附属医院体检的 30 名健康志愿者作为对照组, 其中男 19 名、女 11 名, 年龄 (64.55 ± 7.27) 岁。2 组的性别、年龄比较差异均无统计学意义 (P 均 > 0.05)。本研究通过新疆医科大学第二附属医院医学伦理委员会的批准 (批件号: 2022H029), 所有研究对象知情同意。

1.2 材料

SH-SY5Y 细胞 (武汉普诺赛生物有限公司), 外泌体总 RNA 提取试剂盒 (广州 Magen 生物有限

公司), 实时荧光定量 PCR (real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR) 试剂盒及引物 (锐博生物有限公司), MEM/F12 培养基 (武汉普诺赛生物有限公司), 胎牛血清及胰蛋白酶 (美国 GIBCO 公司), 1-甲基-4-苯基吡啶离子 (1-methyl-4-phenylpyridinium MPP⁺) (美国 Sigma 公司), Trizol (美国 Invitrogen 公司), 氯仿、异丙醇、乙醇、无酶水 (国药集团化学试剂有限公司), 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline PBS)、Tris 盐含吐温 20 缓冲液 (Tween 20-tris-buffered saline TBST) (武汉博士德生物工程有限公司); Cell Counting Kit-8 细胞毒性 (CCK-8) 试剂盒 (日本同仁化学), CD9 抗体 (美国 Abcam 公司), HRP 标记德抗兔二抗 (美国 Proteintech 公司), 低速离心机 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司), CP100MX 超速离心机 (日本日立公司), RT-qPCR 仪 (美国 BIO-RAD 公司), 化学发光仪 (广州誉维生物科技仪器有限公司), 透射电镜 (日本日立公司)。

1.3 方法

1.3.1 血清外泌体的提取与鉴定

PD 组于入院后第 2 日清晨、对照组于体检当日清晨分别取静脉血 10 mL, 3 000 × *g* 离心 15 min, 取血清。采用超速离心法提取血清外泌体, 通过投射电子显微镜观察提取的外泌体形态确定是否提取成功, 采用蛋白免疫印迹法检测外泌体标记蛋白 CD9。

1.3.2 SH-SY5Y 细胞培养

SH-SY5Y 细胞培养基由 15% 的 MEM/F12 完全培养基组成, 具体配制为: 7.5 mL 澳洲胎牛血清 + 0.5 mL 青霉素 - 链霉素双抗和 42 mL MEM/F12 基础培养基混合而成。细胞被分为 2 个实验组: 一组作为正常对照组, 维持在常规培养条件下; 另一组则使用 MPP⁺ 进行处理, 以建立 PD 的细胞模型。

1.3.3 miR-1246 水平测定

使用离心柱提取血清外泌体的总 RNA。使用 Trizol 法提取 2 组细胞的 RNA, 使用锐博生物 RT-qPCR 试剂盒将分离的 RNA 逆转录为 cDNA 后进行 RT-qPCR, miR-1246 以 U6 为内参, 表达水平用 2^{-ΔΔCt} 法分析。本研究中用于 RT-qPCR 的引物序列见表 1。

1.3.4 CCK-8 细胞活力检测

计数确定所需 SH-SY5Y 细胞数量, 在 96 孔板的每孔中加入 100 μL 含有 5 000 个细胞的细胞悬液, 在细胞培养箱中培养 24 h。随后, 向培养孔中分别加入不同浓度的 MPP⁺ (分别为 0、0.25、0.50、1.00、2.00 mmol/L), 每个浓度设置 6 个复孔作为重复, 继续孵育 24 h。之后每孔加入 10 μL 的 CCK-8 溶液, 避光处理, 继续孵育 2 h。使用酶标仪测定各孔的吸光度, 测定波长为 450 nm。将测得的吸光度值减去仅含培养基的阴性对照孔的吸光度值, 最后对不同 MPP⁺ 浓度下的吸光度值进行统计分析, 以评估 MPP⁺ 对细胞活性的影响。

1.3.5 生物信息学分析

使用 TargetScan (<https://www.targetscan.org/>)、miRDB (<https://www.mirdb.org/>)、miRWalk (<http://mirwalk.umm.uni-heidelberg.de/>) 数据库预测 miR-1246 的结合位点以及与 mRNA 的相互作用。对这些靶 mRNA 进行基因本体论 (gene ontology, GO) 富集分析和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 富集分析。

1.4 统计学方法

使用 SPSS 26.0 处理数据。对于符合正态分布的连续型变量, 采用 $\bar{x} \pm s$ 描述, 并采用独立样本 *t* 检验进行组间比较。如果变量不符合正态分布, 采用 *M* (*P*₂₅, *P*₇₅) 表示, 组间比较采用 Mann-

表 1 用于 RT-qPCR 的引物序列

Table 1 Primers for RT-qPCR

引物	引物序列 (5' → 3')
H-U6	
逆转录	AACGCTTCACGAATTTGCGT
正向	CTCGCTTCGGCAGCACAT
反向	AACGCTTCACGAATTTGCGT
hsa-miR-1246	
逆转录	CTCAACTGGTGTCTGGAGTTCGGCAATTCAGTTGAGCCATCTTT
正向	TAACACTGTCTGGTAAAGATGGCTC
反向	CTCAACTGGTGTCTGGAGTC

Whitney *U* 检验。组间性别差异采用 χ^2 检验。为了评估 miR-1246 的诊断价值，进行受试者操作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线分析，选择具有最大约登指数的点作为最佳临界值，图表的制作采用 GraphPad Prism 8.0 软件。双侧 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外泌体鉴定

本研究成功提取了外泌体，外泌体在透射电镜 (transmission electron microscopy, TEM) 下呈现非常明显的膜结构，为大小不一的凹半球样，见

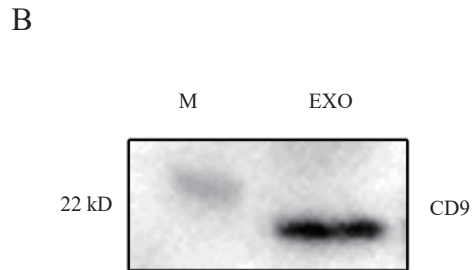
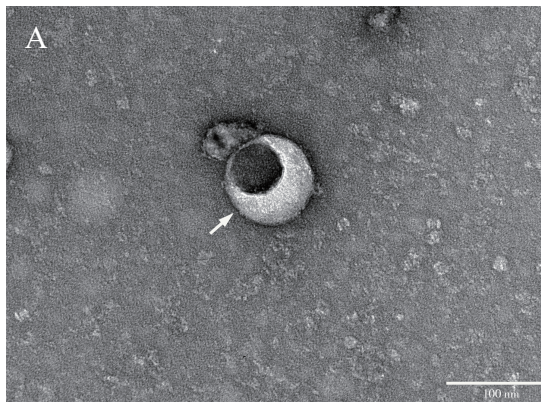
图 1A。CD9 在外泌体上呈阳性表达，见图 1B。

2.2 PD 组与对照组血清外泌体中 miR-1246 的表达

PD 组患者血清外泌体中 miR-1246 的相对表达量为 0.73 (0.20, 1.21)，对照组为 2.21 (1.00, 3.05)，2 组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)，见图 2。

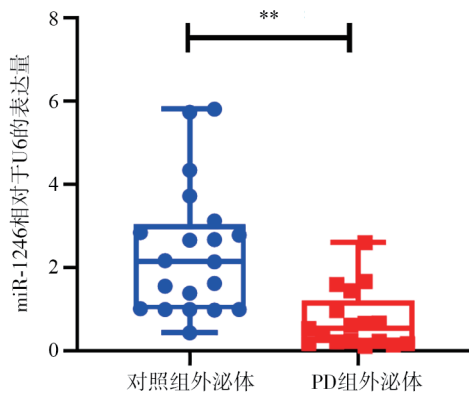
2.3 血清外泌体 miR-1246 的 ROC 曲线

构建 ROC 曲线评估 miR-1246 作为生物标志物在区分 PD 患者与健康者方面的性能。miR-1246 ROC 曲线的曲线下面积 (area under the curve, AUC) 为 0.88，95%CI 为 0.77~0.99 ($P < 0.05$)，见图 3。根据约登指数选择最佳截断值 0.98 时的灵敏度为 76.74%，特异度为 95.00%。



注：A 为血清外泌体透射电镜 (标尺为 100 nm)；B 为蛋白免疫印迹法检测外泌体表面标志物 CD9 呈阳性表达 (M 为 marker, EXO 为外泌体)。

图 1 外泌体鉴定
Figure 1 Identification of exosomes



注：** 为 $P < 0.01$ 。

图 2 PD 组与对照组血清外泌体中 miR-1246 的表达
Figure 2 Expression of miR-1246 in serum exosomes of PD group and control group

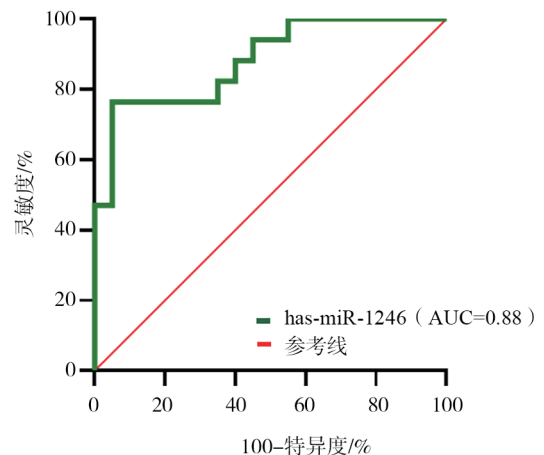


图 3 miR-1246 的 ROC 曲线
Figure 3 ROC curve of miR-1246

2.4 采用 CCK-8 实验筛选 MPP⁺ 最佳造模浓度

使用 MPP⁺ 处理 SH-SY5Y 细胞，构建 PD 细胞模型。0 mmol/L 浓度组贴壁细胞多，细胞间连接紧密，经 MPP⁺ 处理后，贴壁细胞数量减少，细胞皱缩成圆形或椭圆形，细胞间距增加，见图 4。不

同浓度 MPP⁺ 作用的 SH-SY5Y 细胞存活率均低于 0 mmol/L 浓度组且 SH-SY5Y 细胞的活力随着 MPP⁺ 浓度的增加而降低，见图 5。最终根据 CCK8 实验结果选择 1.00 mmol/L 的 MPP⁺ 持续作用 24 h 作为最适宜的实验条件。

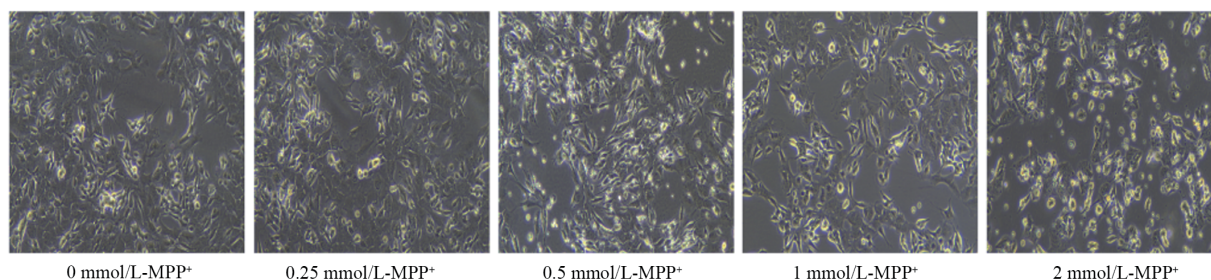


图 4 MPP⁺ 处理 SH-SY5Y 细胞后细胞形态学特征

Figure 4 Morphological characteristics of SH-SY5Y cells after MPP⁺ treatment

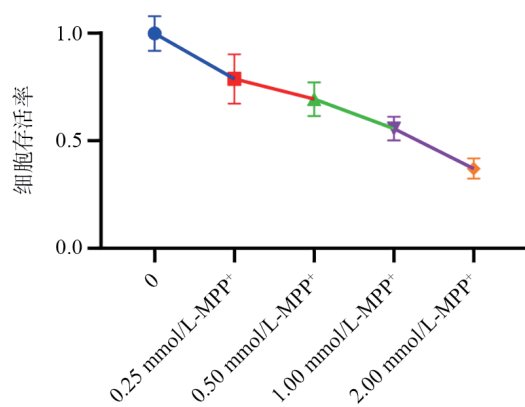


图 5 MPP⁺ 处理 SH-SY5Y 细胞后细胞存活率

Figure 5 Cell survival rate was analyzed after MPP⁺ treatment of SH-SY5Y cells

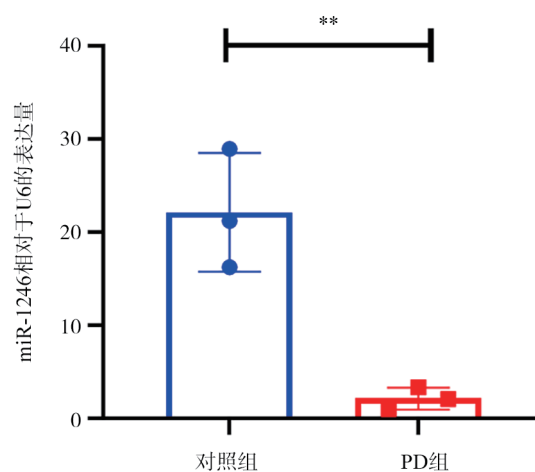
2.5 RT-qPCR 检测细胞中 miR-1246 表达水平

SH-SY5Y 细胞用 1 mmol/L MPP⁺ 处理后，提取 RNA，逆转录为 cDNA 进行 RT-qPCR 检测，PD 组 miR-1246 相对表达量较对照组低 (2.17 ± 1.19 vs. 22.18 ± 6.39)，比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)，见图 6。

2.6 miR-1246 靶基因的 GO、KEGG 富集分析

GO 富集分析显示，miR-1246 的靶基因可能涉及细胞连接组装、细胞对肽激素的响应、 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 突触、突触后

膜、转录辅助激活结合蛋白方面，见图 7。KEGG 富集分析显示 miR-1246 靶基因可能参与的信号通路包括癌症中蛋白聚糖路径、磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinases, PI3K) - 蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT) 信号通路、长寿调节途径、多巴胺能神经突触、肾素 - 血管紧张素系统 (renin-angiotensin system, RAS) 信号通路，见图 8。



注：** 为 $P < 0.01$ 。

图 6 PD 细胞模型与正常 SH-SY5Y 细胞中 miR-1246 的表达水平

Figure 6 Expression level of miR-1246 in PD cell model and normal SH-SY5Y cells

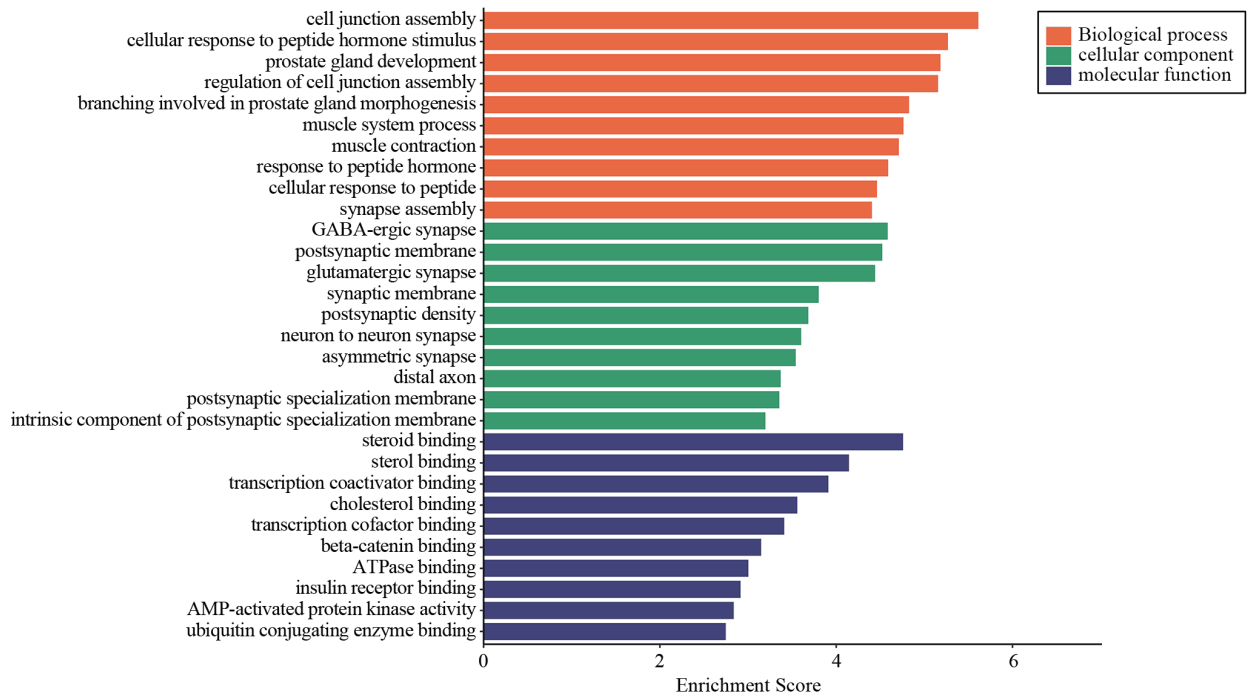


图7 miR-1246 靶基因的 GO 富集分析结果
Figure 7 GO enrichment analysis of miR-1246 target genes

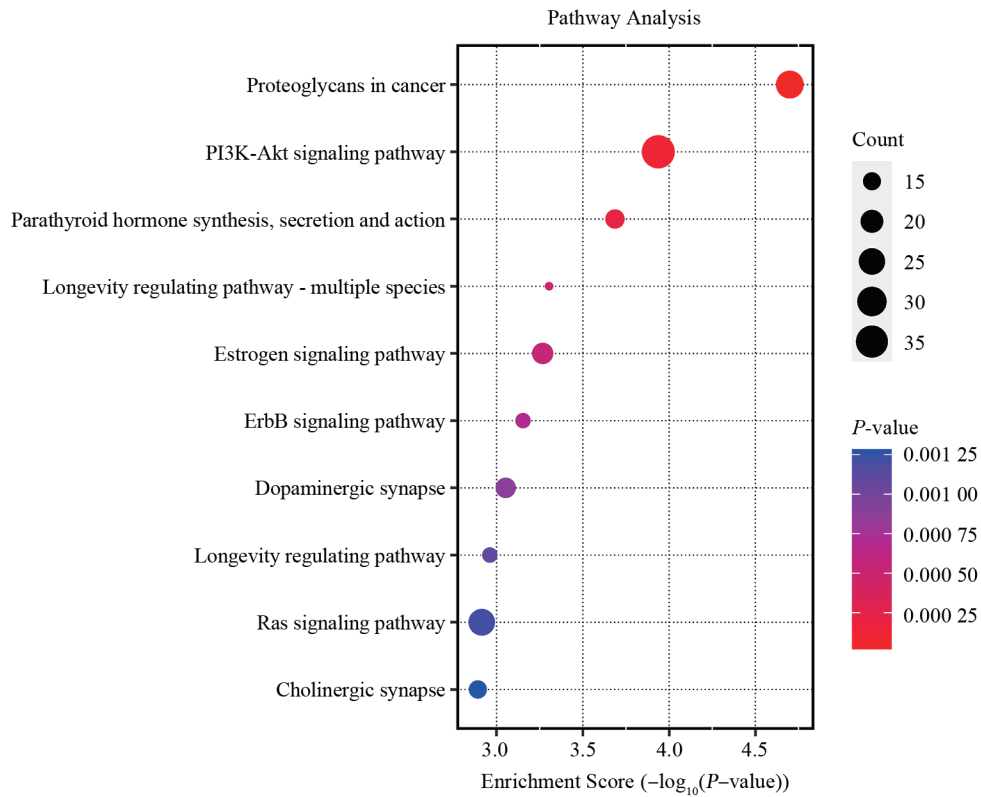


图8 miR-1246 靶基因的 KEGG 富集分析结果
Figure 8 KEGG enrichment analysis of miR-1246 target genes

3 讨论

PD是一种神经退行性疾病,全球约有1 000万患者,是全球第二大常见退行性疾病^[13-14]。PD导致患者多巴胺能神经元死亡,影响其运动能力,还可能引起其认知与情绪障碍,降低生活质量。PD的病理特征包括黑质区多巴胺神经元减少和 α -突触核蛋白形成的路易体,这些均导致患者出现动作缓慢等运动障碍以及非运动症状^[15-16]。由于PD的早期诊断困难,生物标志物对于提高其诊断准确性至关重要^[17]。

近年来,外泌体 miR 在 PD 中的潜在作用受到广泛关注。外泌体是一种特殊的分泌性纳米囊泡,能够携带蛋白质、脂质、RNA 等生物分子,在中枢神经系统及其外周循环中自由穿梭^[18-19]。它们在促进错误折叠蛋白的扩散、激活免疫细胞以及加速神经退行性疾病进展方面发挥作用^[10, 20]。研究表明,PD 患者的血清和脑脊液中外泌体 miR 的表达模式与健康对照组存在显著差异,具有 PD 生物标志物的潜力^[21]。例如,miR-7 能够抑制编码 α -突触核蛋白的 mRNA 的转录,其缺失可能导致 α -突触核蛋白的上调、聚集和多巴胺能神经元的丢失^[22]。其他如 miR-19b、miR-124、miR-221、miR-29c 等在血清中的表达也已被报道与 PD 相关^[23-27]。

根据前期研究成果,本研究对 miR-1246 与 PD 的关系做了深入分析,以探讨其对 PD 的诊断价值。结果显示,本研究提取到的外泌体与已知的形态特征相一致,证实提取成功^[28]。进一步对 PD 患者和对照组血清外泌体中的 miR-1246 表达情况进行了比较分析,发现 PD 组血清外泌体中 miR-1246 的相对表达量低于对照组,ROC 曲线分析显示 miR-1246 具有较高的诊断准确性。上述结果提示 miR-1246 在外泌体中的表达水平能够以较高的准确度区分 PD 患者和健康个体。

为了模拟 PD 的病理环境,本研究使用不同浓度的 MPP⁺ 处理 SH-SY5Y 细胞,观察到随着 MPP⁺ 浓度的增加,细胞形态发生变化,细胞存活率降低,表明 MPP⁺ 诱导的细胞毒性具有剂量依赖性,在 1 mmol/L MPP⁺ 处理 24 h 的条件下,miR-1246 的表达较对照组下调,这可能与神经退行性变过程中的特定分子机制有关。miR-1246 可能通过靶向特定的 mRNA,调节与 PD 相关的信号通路。既往研究显示 miR-1246 在肾癌、结肠癌、乳腺癌、肺癌、宫颈癌和肝癌等多种癌症中起一定作用^[29-32],

但目前关于 miR-1246 与神经退行性疾病之间的直接联系的研究相对较少。为探讨 miR-1246 在神经退行性疾病中的具体作用和机制,本研究采用了多种生物信息学工具和数据库,以期获得更全面和深入的分析结果。通过 TargetScan、miRWalk、miRase 的综合分析,预测了一系列潜在的靶基因,这些基因可能在 miR-1246 的调控下发挥作用,GO 富集分析揭示了这些靶基因在生物学过程中的多种作用机制,miR-1246 可能在细胞间的相互作用和组织结构的形成、参与调节细胞对外部信号的感应和应答、神经系统的抑制性突触传递中起关键作用,在转录辅助激活结合蛋白的富集中,miR-1246 可能在转录调控网络环节扮演重要角色。KEGG 信号通路分析进一步揭示了 miR-1246 在多种生物学通路中的潜在作用,包括 miR-1246 可能通过蛋白聚糖通路在肿瘤的发展和转移中发挥作用,可能通过 PI3K-AKT 信号通路在细胞生长、增殖、分化和存活中起调控作用,也可能与长寿调节途径中的衰老和寿命调控有关,此外,在神经系统功能中,miR-1246 可能多巴胺能神经突触的富集中发挥重要作用。由此可见,miR-1246 在细胞生物学和病理生理学中可能扮演了多种角色,上述发现为未来的实验研究提供了重要的线索和理论基础,有助于深入理解 miR-1246 在 PD 发病中的作用,并可能为其治疗提供新的靶点。

尽管本研究显示 miR-1246 具有成为 PD 的生物标志物的潜力,但由于样本量较少,可能会限制结果的普适性,未来的研究需要在更大的样本量和不同人群中进行验证,以进一步评估 miR-1246 的诊断效能和临床应用价值。此外,考虑到 miR 可通过外泌体在 PD 患者颅内与血液循环中传递,为了提高研究结果的准确性,后续拟从患者脑脊液或血液中筛选中枢来源的外泌体进行分析,以进一步验证此次研究的结果。本研究提示,探索 miR-1246 与其他已知 PD 生物标志物的联合使用效果,可能有助于进一步提高 PD 的诊断准确性和早期识别能力。未来的研究可以进一步通过验证预测靶基因以及通过细胞、动物模型深度探讨 miR-1246 的具体作用,从而为 PD 治疗策略的革新提供参考。

参 考 文 献

[1] BLOEM B R, OKUN M S, KLEIN C. Parkinson's disease [J].

- Lancet, 2021, 397 (10291): 2284-2303. DOI: 10.1016/S0140-6736 (21) 00218-x.
- [2] TOLOSA E, GARRIDO A, SCHOLZ S W, et al. Challenges in the diagnosis of Parkinson's disease [J]. Lancet Neurol, 2021, 20 (5): 385-397. DOI: 10.1016/S1474-4422 (21) 00030-2.
- [3] ELSWORTH J D. Parkinson's disease treatment: past, present, and future [J]. J Neural Transm (Vienna), 2020, 127 (5): 785-791. DOI: 10.1007/s00702-020-02167-1.
- [4] WARNECKE T, LUMMER C, REY J W, et al. Parkinson's disease [J]. Inn Med (Heidelb), 2023, 64 (2): 131-138. DOI: 10.1007/s00108-022-01444-3.
- [5] YASUHARA T. Neurobiology research in Parkinson's disease [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21 (3): 793. DOI: 10.3390/ijms21030793.
- [6] KOBYLECKI C. Update on the diagnosis and management of Parkinson's disease [J]. Clin Med, 2020, 20 (4): 393-398. DOI: 10.7861/clinmed.2020-0220.
- [7] XU W M, LI A, CHEN J J, et al. Research development on exosome separation technology [J]. J Membr Biol, 2023, 256 (1): 25-34. DOI: 10.1007/s00232-022-00260-y.
- [8] ABD EL GWAD A, MATBOLI M, EL-TAWDI A, et al. Role of exosomal competing endogenous RNA in patients with hepatocellular carcinoma [J]. J Cell Biochem, 2018, 119 (10): 8600-8610. DOI: 10.1002/jcb.27109.
- [9] YAN Y Q, PU J L, ZHENG R, et al. Different patterns of exosomal α -synuclein between Parkinson's disease and probable rapid eye movement sleep behavior disorder [J]. Eur J Neurol, 2022, 29 (12): 3590-3599. DOI: 10.1111/ene.15537.
- [10] LIU C, WANG Y, LI J W, et al. MiR-184 mediated the expression of ZNF865 in exosome to promote procession in the PD model [J]. Mol Neurobiol, 2024, 61 (6): 3397-3408. DOI: 10.1007/s12035-023-03773-2.
- [11] HAYES M T. Parkinson's disease and Parkinsonism [J]. Am J Med, 2019, 132 (7): 802-807. DOI: 10.1016/j.amjmed.2019.03.001.
- [12] SHIMO Y, HATTORI N. Parkinson's disease and it's look-alike [J]. Rinsho Shinkeigaku, 2020, 60 (12): 815-821. DOI: 10.5692/clinicalneuro.001459.
- [13] FRANK C, CHIU R, LEE J. Parkinson disease primer, part 1 : diagnosis [J]. Can Fam Physician, 2023, 69 (1): 20-24. DOI: 10.46747/cfp.690120.
- [14] 潘琪, 张旺明, 罗非, 等. 6-羟基多巴胺单侧帕金森病模型大鼠丘脑腹内侧核的放电活动 [J]. 实用医学杂志, 2022, 38 (3): 324-329. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2022.03.012.
- PAN Q, ZHANG W M, LUO F, et al. Alterations of firing activity of the ventromedial thalamic nucleus in rats with unilateral 6-OHDA lesions [J]. J Pract Med, 2022, 38 (3): 324-329. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2022.03.012.
- [15] CHU Y, HIRST W D, FEDEROFF H J, et al. Nigrostriatal tau pathology in Parkinsonism and Parkinson's disease [J]. Brain, 2024, 147 (2): 444-457. DOI: 10.1093/brain/awad388.
- [16] 张永志, 张立庄, 刘义晗, 等. 帕金森病合并不宁腿综合征患者临床特征及影响因素分析 [J]. 暨南大学学报 (自然科学与医学版), 2023, 44 (5): 513-520. DOI: 10.11778/j.jdx.20230118.
- ZHANG Y Z, ZHANG L Z, LIU Y H, et al. Analysis of clinical characteristics and influencing factors of patients with Parkinson's disease complicated with restless legs syndrome [J]. J Jinan Univ (Nat Sci Med Ed), 2023, 44 (5): 513-520. DOI: 10.11778/j.jdx.20230118.
- [17] JIANG C, HOPFNER F, KATSIKOU DI A, et al. Serum neuronal exosomes predict and differentiate Parkinson's disease from atypical Parkinsonism [J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2020, 91 (7): 720-729. DOI: 10.1136/jnnp-2019-322588.
- [18] LIU L, LI Y, PENG H, et al. Targeted exosome coating genechem nano complex as "nanoscavenger" for clearing α -synuclein and immune activation of Parkinson's disease [J]. Sci Adv, 2020, 6 (50): eaba3967. DOI: 10.1126/sciadv.aba3967.
- [19] YANG J, LUO S, ZHANG J, et al. Exosome-mediated delivery of antisense oligonucleotides targeting α -synuclein ameliorates the pathology in a mouse model of Parkinson's disease [J]. Neurobiol Dis, 2021, 148 : 105218. DOI: 10.1016/j.nbd.2020.105218.
- [20] FERRAGUT CARDOSO A P, BANERJEE M, NAIL A N, et al. miRNA dysregulation is an emerging modulator of genomic instability [J]. Semin Cancer Biol, 2021, 76 : 120-131. DOI: 10.1016/j.semcancer.2021.05.004.
- [21] LIU H, SHEN L, ZHAO H, et al. Parkinson's disease patients combined with constipation tend to have higher serum expression of microRNA 29c, prominent neuropsychiatric disorders, possible RBD conversion, and a substandard quality of life [J]. Neurol Sci, 2023, 44 (9): 3141-3150. DOI: 10.1007/s10072-023-06793-x.
- [22] YAO Y, ZHAO Z, ZHANG F, et al. MicroRNA-221 rescues the loss of dopaminergic neurons in a mouse model of Parkinson's disease [J]. Brain Behav, 2023, 13 (3): e2921. DOI: 10.1002/brb3.2921.
- [23] LIN D, ZHANG H, ZHANG J, et al. α -synuclein induces neuroinflammation injury through the IL6ST-AS/STAT3/HIF-1 α axis [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24 (2): 1436. DOI: 10.3390/ijms24021436.
- [24] SALAH M, SHAHEEN I, EL-SHANAWANY P, et al. Detection of miR-1246, miR-23a and miR-451 in sera of colorectal carcinoma patients: a case-control study in Cairo University hospital [J]. Afr Health Sci, 2020, 20 (3): 1283-1291. DOI: 10.4314/ahs.v20i3.33.
- [25] CHEN Q, LIN H, DENG X, et al. MiR-1246 promotes anti-apoptotic effect of mini- α A in oxidative stress-induced apoptosis in retinal pigment epithelial cells [J]. Clin Exp Ophthalmol, 2020, 48 (5): 682-688. DOI: 10.1111/ceo.13751.
- [26] ANGELOPOULOU E, PAUDEL Y N, PIPERI C. miR-124 and Parkinson's disease: a biomarker with therapeutic potential [J]. Pharmacol Res, 2019, 150 : 104515. DOI: 10.1016/j.phrs.2019.104515.
- [27] ZAMANIAN M Y, IVRAGHI M S, GUPTA R, et al. miR-221 and Parkinson's disease: a biomarker with therapeutic potential [J]. Eur J Neurosci, 2024, 59 (2): 283-297. DOI: 10.1111/ejn.16207.

- [28] LIAO J M, ZHOU X, ZHANG Y, et al. MiR-1246 : a new link of the p53 family with cancer and Down syndrome[J]. Cell Cycle, 2012, 11 (14) : 2624-2630. DOI: 10.4161/cc.20809.
- [29] ALI H, MALIK M Z, ABU-FARHA M, et al. Global analysis of urinary extracellular vesicle small RNAs in autosomal dominant polycystic kidney disease[J]. J Gene Med, 2024, 26 (2) : e3674. DOI: 10.1002/jgm.3674.
- [30] XIE B, LI L, ZHANG Z, et al. MicroRNA-1246 by targeting AXIN2 and GSK-3 β overcomes drug resistance and induces apoptosis in chemo-resistant leukemia cells[J]. J Cancer, 2021, 12 (14) : 4196-4208. DOI: 10.7150/jca.58522.
- [31] WU L, ZUO N, PAN S, et al. The exosomal miR-1246 of laryngeal squamous cell carcinoma induces polarization of M2 type macrophages and promotes the invasiveness of laryngeal squamous cell carcinoma[J]. J Oncol, 2022, 2022 : 4424221. DOI: 10.1155/2022/4424221.
- [32] 倪玮, 周继勤, 凌亚亭, 等. 神经干细胞条件培养液对帕金森病模型神经元损伤的保护作用 [J]. 江苏大学学报 (医学版), 2023, 33 (4): 284-291. DOI: 10.13312/j.issn.1671-7783.y220087.
- NI W, ZHOU J Q, LING Y T, et al. Protective effect of neural stem cell-conditioned medium on neuronal injury in Parkinson's disease model[J]. J Jiangsu Univ (Med Ed), 2023, 33 (4): 284-291. DOI: 10.13312/j.issn.1671-7783.y220087.

(责任编辑: 洪悦民)

