



专家简介:陈照立,教授,博士研究生导师,军事科学院军事医学研究院环境医学与作业医学研究所研究员;中华医学会高原医学分会委员,全军高原医学与寒区医学专业委员会常务委员,全军军事环境医学重点实验室常务副主任;主要从事高原高寒等特殊环境因素损伤分子机制与防控技术研究;承担有国家重点研发计划项目、国家自然科学基金项目、军队后勤科研重点项目等多项重大课题;获天津市科技进步奖一等奖1项,发表SCI收录期刊论文30余篇、核心期刊论文86篇;获得国家发明专利29项,参编专著2部。Email: zhaolichen@126.com

MicroRNA-210 在缺血性脑卒中的作用研究进展

张岭¹, 厉彦超², 赵笑颜³, 于岩⁴, 周津⁴, 陈照立¹

1. 军事科学院军事医学研究院环境医学与作业医学研究所,天津 300050;2. 中国人民解放军 32397 部队;3. 中国人民解放军总医院医学创新研究部;4. 联勤保障部队第 983 医院

[摘要] 缺血性脑卒中是我国成年人致残和死亡的主要原因之一,可导致脑细胞和组织缺血缺氧性损害,引发机体神经功能障碍。其病因复杂,发病率高,预后差,一直是临床医学研究的重点。然而,目前脑卒中治疗方法仍然有限,机制尚且不明。MicroRNA-210 是一种短核苷酸链,以转录后的方式调节蛋白质表达,具有治疗缺血性脑卒中的潜力。在神经细胞中, MicroRNA-210 参与缺血性脑卒中的抗炎反应、抗凋亡作用、抑制氧化应激、促进神经可塑性和血管生成,发挥神经保护作用,这将为缺血性脑卒中的治疗提供有效靶点和干预策略。

[关键词] 卒中;微 RNAs;缺氧诱导因子 1, α 亚基;缺氧缺血,脑;综述

DOI: 10.3969/J.issn.1672-6790.2023.02.003

Research progress on the role of MicroRNA-210 in ischemic stroke

Zhang Ling*, Li Yanchao, Zhao Xiaoyan, Yu Yan, Zhou Jin, Chen Zhaoli

* Tianjin Institute of Environmental and Operational Medicine, Tianjin 300050, China

Corresponding author: Chen Zhaoli, Email: zhaolichen@126.com

[Abstract] Ischemic stroke is one of the main causes of disability and death in adults in China, which can lead to ischemic and hypoxic damage of brain cells and tissues, and cause neurological dysfunction. Its complex etiology, high incidence and poor prognosis have always been the focus of clinical medical research. However, the treatment of stroke is still limited, and the research mechanism is still unknown. MicroRNA-210 is a short nucleotide chain that regulates protein expression in a post-transcriptional manner and has the potential to treat ischemic stroke. In neurocytes, MicroRNA-210 is involved in the anti-inflammatory response, anti-apoptotic effect, inhibition of oxidative stress, promotion of neuronal plasticity and angiogenesis in ischemic stroke, and exerts neuroprotective effects, which will provide effective targets and intervention strategies for the treatment of ischemic stroke.

[Keywords] Stroke; MicroRNAs; Hypoxia-inducible factor 1, α subunit; Hypoxia-ischemia, brain; Review

作者简介:张岭,主治医师,Email:469529368@qq.com

通信作者:陈照立,教授,博士研究生导师,Email:zhaolichen@126.com

1 脑缺血病理生理学基础

脑卒中是一种由多种原因导致脑血管受损,引起局灶性或整体脑细胞和组织缺血缺氧性损害,进而引发神经功能障碍甚至死亡的疾病。随着社会老龄化的发展,其发病率呈上升趋势^[1-2]。根据流行病学推测,2010年全球脑梗死患者为3 300万人,到2030年将增加到7 700万人^[3]。

当大脑因动脉堵塞或破裂而血流受阻时,就会发生脑卒中。动脉闭塞引起的缺血性脑卒中占所有脑卒中的75%~80%,是发病和死亡的主要原因。它通常影响大脑中动脉^[4]。大动脉闭塞的主要原因包括血栓形成、栓塞和全局性缺血^[5]。小动脉闭塞导致基底神经节和皮下白质出现小范围缺血性病变^[6]。

不同脑区对脑卒中敏感性不同,缺血性损伤类型也存在差异。例如,由全脑缺血引起的脑损伤的病理生理学不同于局灶性缺血引起的^[7]。全脑缺血持续几分钟,在再灌注充足的情况下,神经元损伤明显延迟,且主要影响脆弱神经元。相比之下,局灶性缺血是长期持续的,也可能是永久性的,早期会影响被阻塞动脉供血区域,随后侵入半暗带区^[8]。脑缺血半暗区相对缺血核心区,在其周围的脑组织缺血后,血液供应减少,但依靠脑侧支循环,在一定时限内可以恢复血流,神经元可恢复功能。但长期缺血,可导致不可逆脑损伤,严重者还可导致神经退行性病变,表现为认知障碍。研究表明,脑卒中幸存者患阿尔茨海默病的风险增加1倍^[9-10]。

脑缺血引发的一系列症状,主要是由脑能量供应中断引起,造成组织损伤,导致广泛的神经元死亡。其病理生理机制包括:①兴奋性神经毒性:缺血后细胞膜去极化失调,大量钙离子(Ca²⁺)内流,引起神经递质的异常释放,其中包括谷氨酸、γ-氨基丁酸(GABA)、乙酰胆碱等。脑缺血可诱导能量供应障碍,神经递质积聚,产生毒性作用^[11]。②线粒体能量障碍:三磷酸腺苷(ATP)耗竭,导致能量和蛋白质合成障碍。缺氧后,无氧糖酵解增加,乳酸产生增多,导致细胞酸中毒,离子膜泵功能障碍,细胞膜通透性增加,最终可导致细胞死亡^[12]。③自由基释放过多:脑缺血后氧自由基产生增多,氧自由基的一个来源是花生四烯酸,由Ca²⁺激活的磷脂酶A2产生,另一途径来自黄嘌呤氧化酶,Ca²⁺内流可使黄嘌呤脱氢酶转化为黄嘌呤氧化酶,作用于氧气(O₂),产生氧离子(O²⁻)。自由基过多可引起磷

脂过氧化反应,破坏细胞膜完整性和DNA结构,造成细胞死亡^[13]。除上述病理机制外,还可导致炎症反应、细胞凋亡、氧化应激增多以及神经可塑性异常等。

2 MicroRNA / miR-210 的生物学功能和作用

MicroRNAs(miRNAs)是一种短核苷酸链非编码RNA,以转录后的方式调节蛋白质表达,在调节基因表达方面发挥着重要作用,且因体积小优势,能够调节多个靶基因,在提高卒中治愈率上具有很大的前景。成熟的miRNAs是长度为21~22的单链核苷酸,可与靶mRNA的3'UTR结合,导致翻译抑制和mRNA降解^[14]。miRNAs被细胞核内的RNA聚合酶II/III转录成大RNA前体(Pri-miRNA)。Pri-miRNA被RNase III酶加工成大约70个发夹状结构的核苷酸,再通过miRNA运输蛋白5(Exportin 5)将Pri-miRNA输出到细胞质中。经过RNase III酶处理后,装载到Argonaute(Ago)蛋白中。成熟的miRNA将Ago-miRNA复合物作为靶向标志作用于mRNA,使miRNA成为理想的治疗靶点^[15]。

MiRNAs是各种细胞活动的强大调节因子,易被缺氧诱导,并参与调控细胞生长、炎症反应、兴奋性毒性、细胞增殖和分化、迁移和凋亡过程(见图1)。研究表明,MiRNAs在血浆、血清、尿液和脑脊液中均有表达,是许多疾病的诊断、治疗和预后的生物标志物^[16]。生物信息学分析^[17]显示,关联评分最高的MiRNAs调控网络由10个MiRNAs组成,其中包括缺氧相关分子MiRNA-210(miR-210)。

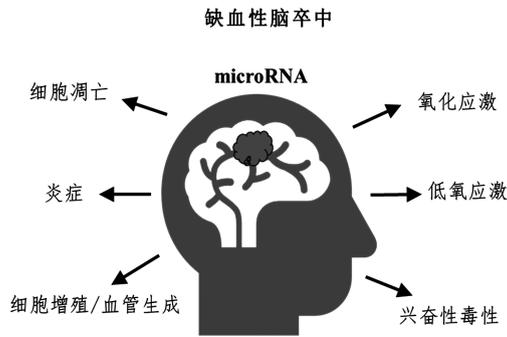


图1 MicroRNA 参与调节细胞生物学过程

miR-210参与调控很多疾病的发生发展过程,例如脑缺血、肿瘤、心肌梗死和缺血性皮肤创伤等,且miR-210参与调节细胞分裂、DNA损伤反应、线粒体氧化代谢和血管生成^[18]。其中,miR-210在脑缺血疾病中被广泛研究,一是由于miR-210对缺血

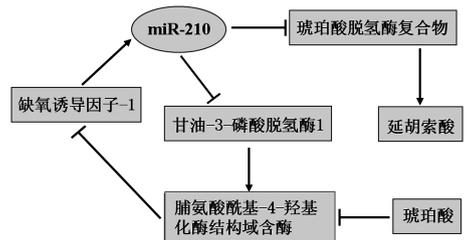
缺氧条件高度敏感,与缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α) 相互作用^[19];二是 miR-210 通过调控下游分子参与各种生物学信息网络;三是 miR-210 在血清^[20]、多种组织和细胞中表达,在人体和动物试验中均能被检测,有利于为脑缺血病理机制研究提供理论基础,为临床治疗提供有效靶点和干预手段。

3 miR-210 与 HIF-1 α 在缺血性脑卒中中的关系

缺血性脑卒中发生时,局部脑组织出现缺血缺氧性坏死,可诱发大脑神经损伤,包括神经结构缺损和功能失调等。研究^[20]表明,miR-210 和 HIF-1 α 对缺血缺氧高度敏感,并验证了其在缺血性脑卒中可作为关键的生物标志物,为缺血性疾病的治疗提供有效靶点。

HIF-1 α 是氧敏感转录因子家族的第一个成员,并几乎涉及所有缺血性疾病^[21]。在正常的氧分压下,HIF-1 α 在 2 个特定的脯氨酸残基上被脯氨酰基-4-羟化酶结构域含酶 (PHD) 羟化,抑制蛋白泛素化和蛋白体降解^[22]。在缺氧条件下,PHD 被抑制,HIF-1 α 降解减少,积累增加,从而转移到细胞核。进入细胞核后,HIF-1 α 与 HIF-1 β 形成二聚体 (HIF/FIH),并结合到靶基因启动子的特定缺氧反应元件序列,调节多种基因的转录,以维持组织、细胞在缺氧条件下的内环境稳定^[23]。

研究^[19]表明,急性缺血缺氧后,HIF-1 α 可以诱导 miR-210 表达,并可以逆向反馈,即 HIF-1 α 使 miR-210 表达上调,进而诱导 HIF-1 α 蛋白稳定,形成双向调控。缺氧后,HIF-1 α 表达增加,HIF-1 α 通过结合 miR-210 启动子的特定位点,激活其表达^[24]。而 miR-210 通过 2 种机制反馈 HIF-1 α 正向调控回路,一种机制是作用于它的直接靶向标记甘油-3-磷酸脱氢酶 1 样酶 (GPD1L)。在常氧条件下,HIF-1 α 水平较低时,少量的 miR-210 会导致 GPD1L 蛋白水平升高和 PHD 活性增强,降低 HIF-1 α 稳定性。当氧分压降低时,HIF-1 α 表达增加,促进 miR-210 上调,引起 GPD1L 蛋白表达减少,PHD 活性受到抑制,导致 HIF-1 α 稳定性增加^[25]。另一种机制是 miR-210 调节氧化磷酸化。Puisségur 等^[26]研究已证实,琥珀酸脱氢酶复合物 (SDHD) 的 D 亚基是 miR-210 的靶向标记。缺氧后,miR-210 抑制 SDHD 积累增加^[27],这是 PHD 的抑制剂 (见图 2)。当然,HIF-1 α 与 miR-210 之间的调控通路和作用随缺血缺氧时间以及脑卒中严重程度不同,可能出现差异。



注:←为正向反馈调节;┊为负反馈调节。

图 2 调节缺氧诱导因子-1 的正、负反馈回路

4 miR-210 在缺血性脑卒中中的作用

4.1 miR-210 参与脑卒中的抗炎症反应 缺血性脑卒中引起氧气和能量耗竭,诱发炎症反应,导致严重的脑损伤。而炎症反应是脑组织缺血缺氧后导致神经血管损伤和高通透性的主要病理变化,主要是由各种促炎细胞因子、趋化因子和大脑神经胶质细胞,包括小胶质细胞的激活引起的。研究^[28]表明,脑缺血后内皮细胞损伤,进而影响神经细胞产生微囊泡,囊泡中的蛋白质和 miRNAs 调节急性细胞因子反应。在这一过程中,miR-210 参与抗炎症反应,在缺血性脑卒中中发挥重要作用^[29]。

Kieran 等^[30]研究证实,miR-210 在胶质星形胶质细胞中表达上调,但在慢性脑卒中病变周围的胶质星形胶质细胞中表达降低,且 miR-210 能够促进星形胶质细胞糖酵解,增加乳酸生成,减少炎症细胞因子的释放,促进抗炎转录和翻译信号,说明 miR-210 在炎症反应中发挥神经保护作用,这可能是脑卒中后保证神经元存活的关键。

4.2 miR-210 参与脑卒中的抗凋亡作用 凋亡是多细胞生物中最常见的程序性细胞死亡形式,可通过内在或外在途径诱导。细胞凋亡早期的形态变化是细胞收缩和细胞质凝结,随后是核膜破裂和形成,这些特征在脑卒中后神经元中存在^[31]。研究表明,缺血性脑损伤诱导的细胞凋亡涉及线粒体功能障碍、谷氨酸兴奋性神经递质释放、活性氧聚积、DNA 链破坏和自噬增强等^[32]。在这一过程中,miR-210 受缺氧调控,发挥细胞抗凋亡的作用^[33-36],抑制 miR-210 会导致细胞凋亡^[37]。

研究已证实,miR-210 介导的相关分子起抗凋亡作用,包括 E2F 转录因子 3 (E2F3)^[37],蛋白酪氨酸磷酸酶 PTP1B (PTPN1)^[38],caspase-8 相关蛋白-2 (Casp8AP-2)^[34] 以及线粒体相关凋亡诱导因子 3 (AIFM3)^[39]。另一项研究^[40]表明,miR-210 可能通过靶向抗凋亡蛋白 B 淋巴细胞瘤-2 基因 (BCL2) 介

导缺氧诱导的成神经细胞瘤细胞凋亡而具有促凋亡功能。同时,在嗜铬细胞中,过表达 miR-210 增加了 BCL2 水平,抑制了细胞凋亡^[41]。miR-210 还通过靶向 HIF-1 α 途径抑制缺氧诱导的细胞凋亡,并通过铁硫簇支架同源物 2 (ISCU2) 和蛋白酪氨酸磷酸酶-非受体 2 (PTPN2) 促进脂肪源性干细胞的增殖和迁移,从而达到不同的治疗效果^[42]。miR-210 可以在多种细胞体系中表达,参与抗凋亡过程,逆转其脑缺血损伤。

4.3 miR-210 参与脑卒中的抑制氧化应激反应

缺血性脑卒中由于脑血流丧失,引起神经功能受损,从而导致永久性脑损伤。随着栓塞或原位血栓的形成导致大脑动脉阻塞,随之引发氧气和能量供应中断^[43]。缺氧引起的活性氧(ROS)过度释放,体内固有的抗氧化能力不足以中和 ROS,不能保持内源性氧化还原平衡时,就会发生氧化应激,这一过程在缺血性卒中脑损伤的病理改变中起着至关重要的作用^[44]。当氧化应激发生时,ROS 可通过脂质、蛋白质和核酸的氧化损伤导致细胞毒性,对脑组织的结构和功能产生有害效应^[45]。因此,氧化应激是神经元功能障碍和死亡的因素,氧化应激可引起神经元凋亡、炎症信号通路激活、血脑屏障损伤,促进神经退行性变和细胞死亡^[46-47]。

缺血性脑卒中后 ROS 大量产生,其机制较为复杂,包括线粒体呼吸链氧化磷酸化中断、厌氧糖酵解、Ca²⁺ 内流、一氧化氮合酶激活等^[48]。线粒体是 ROS 产生和细胞死亡的主要场所,在呼吸的电子转移中产生超氧阴离子自由基^[49]。研究^[50]表明,活性氧也可以激活 HIF-1 α ^[19],进而促进 miR-210 表达,在脑缺血损伤中减少氧化应激的发生,这可能由于 miR-210 通过电子传递链调节线粒体代谢或抑制促凋亡基因表达,如 PTPN1。另有研究^[51]表明,miR-210 抑制铁硫簇组装蛋白 ISCU1/2、细胞色素 C 氧化酶 10 (COX10)^[52] 表达,减轻严重缺氧损伤下的线粒体能量代谢作用。在大鼠的缺血脑组织中,抑制 miR-210 表达可减少缺氧导致的超氧化物产生^[51]。

4.4 miR-210 保护脑神经可塑性损伤 在缺血缺氧时,神经网络受损,患者会出现失语、感觉障碍,后期还可能运动障碍和认知障碍^[53]。而神经环路可塑性经历了从神经祖细胞产生神经元,轴突和树突的生长以及突触的形成和重塑过程。脑卒中的发生、发展乃至后期运动康复,神经可塑性均存在动态变化。这一过程涉及多种分子信号通路,其中脑源

性神经营养因子(BDNF)作为突触的重要靶点^[54],参与神经可塑性调控,促进神经元分化、细胞存活以及神经再生,是脑缺血以及卒中后关键的靶分子^[55-56]。在大脑中动脉闭塞(MCAO)大鼠中,磷酸化-细胞外调节蛋白激酶1/2(Phospho-ERK1/2)和 BDNF、血管内皮生长因子(VEGF)和神经生长因子(NGF)的表达显著降低^[57]。激活神经元 ERK1/ERK2-BDNF 信号通路可以促进神经新生,实现神经保护作用。相反,急性缺血性脑卒中患者血清 BDNF 水平明显低于健康人群,且 BDNF 缺乏可导致严重的脑卒中^[58]。

Zeng 等^[59]在研究中首次发现 BDNF 和 miRNAs 在缺血性脑卒中中的关系,该研究首先检测了缺血性脑卒中患者的 miRNA 基因谱,通过硅片分析发现了缺氧相关分子 miR-210,且 BDNF 是 miR-210 的直接靶标。研究表明,过表达 miR-210 后,缺血小鼠大脑中的微血管密度和神经元祖细胞数量增加,有效恢复缺血小鼠的神经损伤行为,改善脑卒中长期治疗的效果^[59]。miR-210 可以正向调节 BDNF,miR-210 的上调增加了正常和缺血小鼠大脑中 BDNF/proBDNF 蛋白的表达,从而在脑缺血中发挥神经保护作用^[60]。同时,也可以通过激活 BDNF/TrkB 通路部分减少神经元活性氧过度释放,减少神经元凋亡,促进神经突生长,减轻 MCAO 小鼠神经功能缺损^[61]。而当脑卒中患者康复后,其 BDNF 表达增高^[57]。

miR-210 在神经元高表达,乃至突触后的树突棘^[62]。除上述机制外,ephA2 (EFNA3) 信号通路参与调节轴突延伸和树突形态^[63],目前已被证实 miR-210 可以通过靶向 EFNA3 促进外周小鼠神经元轴突再生^[64]。表明 miR-210 在神经可塑性方面发挥重要的调节作用,且能够缓解缺血缺氧导致的神经可塑性损伤,是脑缺血治疗、诊断的重要生物标志物。

4.5 miR-210 促进脑卒中后血管生成 血管新生是现有血管的延伸或细化而形成新血管的生理基础,是脑损伤后脑组织修复和重塑的重要过程。内皮细胞的增殖和血管生成是脑梗死后大脑恢复的关键。血管新生障碍是缺血性脑损伤发生发展中的常见表现,这一过程中内皮细胞受到多种血管生成刺激因子的调节。而 miRNA 作为重要的调节因子,参与缺血性脑卒中血管生成的调控^[65]。研究发现,在缺血性脑卒中患者^[66]、大脑中动脉闭塞大鼠^[67]和氧-葡萄糖剥夺/复氧人脐静脉内皮细胞^[68]中,检

测到血管生成相关 miRNA 表达谱变化,其中 miR-210 是关键的差异基因^[42]。

miR-210 通过 VEGF 信号通路促进血管生成^[69]。研究证实,在缺血/再灌注模型中,如大脑中动脉闭塞^[42]缺血,miR-210 随缺血时间的延长呈先升高后降低的趋势^[70]。miR-210 过表达能够增强微血管密度,恢复局灶性血管生成,改善神经行为^[59]。在动物模型中,miR-210 促进了内皮细胞和神经前体细胞增殖,并正向调控下游血管生成因子^[71]。miR-210 还可以通过上调 Notch1 表达诱导内皮细胞迁移,并在基底膜上形成毛细血管样结构促进血管生成^[42]。体外实验中也证实,miR-210 可以通过调控 ephrin-A3 (EFNA3) 促进 VEGF 介导的内皮细胞迁移和毛细血管形成,并促进上皮细胞增殖和血管生成^[72]。预后良好的脑卒中患者 miR-210 水平明显高于预后不良的脑卒中患者^[73]。

5 展望

miR-210 是缺氧应激分子,在缺血缺氧脑损伤中通过抗炎症反应、抗凋亡作用、抑制氧化应激、促进神经元可塑性和血管生成等机制(见图3),对脑卒中发挥了潜在的神经保护作用。miR-210 还可以调控下游靶基因,包括 HIF1- α 、EFNA3、ISCU2、COX10、SDHD、BDNF 等在不同信号通路和机制中参与多种生物过程,从而一定程度地逆转脑缺血损伤。最新研究也提出可以通过外泌体形成新的内源性传递系统,实现将治疗性 miR-210 分子包裹并安全有效地作用于靶细胞^[70]。在未来的研究中,可以发挥 miR-210 体积小、应用广的优势,将 miR-210 作

为一种有效的神经保护因子,结合纳米技术将药物精准输送至损伤细胞,希望该治疗方法在临床研究中取得新的进展,为脑缺血的治疗提供新的策略。

参考文献

- [1] HE J, ZHANG Y, XU T, et al. Effects of immediate blood pressure reduction on death and major disability in patients with acute ischemic stroke; the CATIS randomized clinical trial [J]. *JAMA*, 2014, 311(5):479-489.
- [2] OKON M, ADEBOBOLA N I, JULIUS S, et al. Stroke incidence and case fatality rate in an urban population [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2015, 24(4):771-777.
- [3] BÉJOT Y, DAUBAIL B, GIROUD M. Epidemiology of stroke and transient ischemic attacks: current knowledge and perspectives [J]. *Rev Neurol (Paris)*, 2016, 172(1):59-68.
- [4] FEIGIN V L, NGUYEN G, CERCY K, et al. Global, regional, and country-specific lifetime risks of stroke, 1990 and 2016 [J]. *N Engl J Med*, 2018, 379(25):2429-2437.
- [5] CAMPBELL B, DE SILVA D A, MACLEOD M R, et al. Ischaemic stroke [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2019, 5(1):70.
- [6] IADECOLA C, DUERING M, HACHINSKI V, et al. Vascular cognitive impairment and dementia; JACC scientific expert panel [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 73(25):3326-3344.
- [7] SIESJÖB K, KATSURA K, ZHAO Q, et al. Mechanisms of secondary brain damage in global and focal ischemia; a speculative synthesis [J]. *J Neurotrauma*, 1995, 12(5):943-956.
- [8] TUO Q Z, ZOU J J, LEI P. Rodent models of vascular cognitive impairment [J]. *J Mol Neurosci*, 2021, 71(5):1-12.
- [9] KUŽMA E, LOURIDA I, MOORE S F, et al. Stroke and dementia risk; a systematic review and meta-analysis [J]. *Alzheimers Dement*, 2018, 14(11):1416-1426.
- [10] TOLEDO J B, ARNOLD S E, RAIBLE K, et al. Contribution of cerebrovascular disease in autopsy confirmed neurodegenerative disease cases in the National Alzheimer's Coordinating Centre [J]. *Brain*, 2013, 136(Pt 9):2697-2706.
- [11] LAI T W, ZHANG S, WANG Y T. Excitotoxicity and stroke; identifying novel targets for neuroprotection [J]. *Prog Neurobiol*, 2014, 115:157-188.
- [12] AN H, ZHOU B, JI X. Mitochondrial quality control in acute ischemic stroke [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2021, 41(12):3157-3170.
- [13] CHOUGHANI E T, PELL V R, GAUDE E, et al. Ischaemic accumulation of succinate controls reperfusion injury through mitochondrial ROS [J]. *Nature*, 2014, 515(7527):431-435.
- [14] SALIMINEJAD K, KHORRAM KHORSHID H R, SOLEYMANI FARD S, et al. An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5):5451-5465.
- [15] TURCHINOVICH A, WEIZ L, LANGHEINZ A, et al. Characterization of extracellular circulating microRNA [J]. *Nucleic Acids Res*,

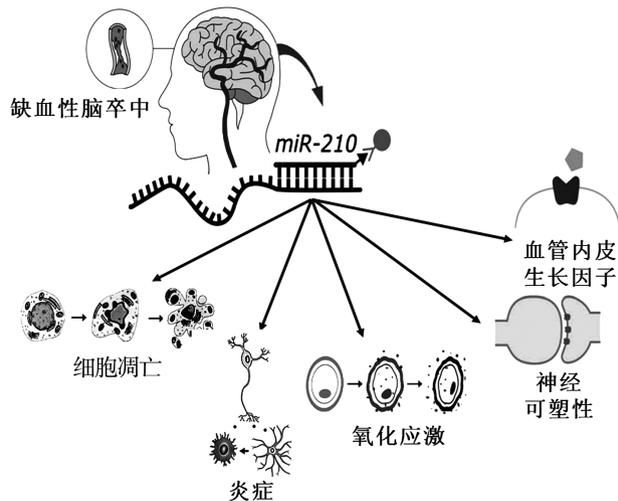


图3 miR-210 在缺血性脑卒中中的调控作用

- 2011, 39(16):7223-7233.
- [16] WANG Y, MA Z, KAN P, et al. The diagnostic value of serum miRNA-221-3p, miRNA-382-5p, and miRNA-4271 in ischemic stroke [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2017, 26(5):1055-1060.
- [17] JOLANA L, KAMIL D. The role of microRNA in ischemic and hemorrhagic stroke [J]. *Curr Drug Deliv*, 2017, 14(6):816-831.
- [18] IVAN M, HUANG X. miR-210: fine-tuning the hypoxic response [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2014, 772:205-227.
- [19] GRECO S, GAETANO C, MARTELLI F. HypoxamiR regulation and function in ischemic cardiovascular diseases [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 21(8):1202-1219.
- [20] RAHMATI M, FERNS G A, MOBARRA N. The lower expression of circulating miR-210 and elevated serum levels of HIF-1 α in ischemic stroke; possible markers for diagnosis and disease prediction [J]. *J Clin Lab Anal*, 2021, 35(12):e24073. DOI:10.1002/jcla.24073.
- [21] PRABHAKAR N R, SEMENZA G L. Adaptive and maladaptive cardiorespiratory responses to continuous and intermittent hypoxia mediated by hypoxia-inducible factors 1 and 2 [J]. *Physiol Rev*, 2012, 92(3):967-1003.
- [22] IVAN M, KONDO K, YANG H, et al. HIF α targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation; implications for O₂ sensing [J]. *Science*, 2001, 292(5516):464-468.
- [23] MAHON P C, HIROTA K, SEMENZA G L. FIH-1: a novel protein that interacts with HIF-1 α and VHL to mediate repression of HIF-1 transcriptional activity [J]. *Genes Dev*, 2001, 15(20):2675-2686.
- [24] KULSHRESHTHA R, FERRACIN M, WOJCIK S E, et al. A microRNA signature of hypoxia [J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(5):1859-1867.
- [25] KELLY T J, SOUZA A L, CLISH C B, et al. A hypoxia-induced positive feedback loop promotes hypoxia-inducible factor 1 α stability through miR-210 suppression of glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1-like [J]. *Mol Cell Biol*, 2011, 31(13):2696-2706.
- [26] PUISSÉGUR M P, MAZURE N M, BERTERO T, et al. miR-210 is overexpressed in late stages of lung cancer and mediates mitochondrial alterations associated with modulation of HIF-1 activity [J]. *Cell Death Differ*, 2011, 18(3):465-478.
- [27] SELAK M A, ARMOUR S M, MACKENZIE E D, et al. Succinate links TCA cycle dysfunction to oncogenesis by inhibiting HIF- α prolyl hydroxylase [J]. *Cancer Cell*, 2005, 7(1):77-85.
- [28] UPADHYA R, ZINGG W, SHETTY S, et al. Astrocyte-derived extracellular vesicles: Neuroreparative properties and role in the pathogenesis of neurodegenerative disorders [J]. *J Control Release*, 2020, 323:225-239.
- [29] HUANG L, MA Q, LI Y, et al. Inhibition of microRNA-210 suppresses pro-inflammatory response and reduces acute brain injury of ischemic stroke in mice [J]. *Exp Neurol*, 2018, 300:41-50.
- [30] KIERAN N W, SURESH R, DORION M F, et al. MicroRNA-210 regulates the metabolic and inflammatory status of primary human astrocytes [J]. *J Neuroinflammation*, 2022, 19(1):10.
- [31] LINNIK M D, ZOBRIST R H, HATFIELD M D. Evidence supporting a role for programmed cell death in focal cerebral ischemia in rats [J]. *Stroke*, 1993, 24(12):2002-2009.
- [32] TUO Q Z, ZHANG S T, LEI P. Mechanisms of neuronal cell death in ischemic stroke and their therapeutic implications [J]. *Med Res Rev*, 2022, 42(1):259-305.
- [33] KULSHRESHTHA R, FERRACIN M, WOJCIK S E, et al. A microRNA signature of hypoxia [J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(5):1859-1867.
- [34] KIM H W, HAIDER H K, JIANG S, et al. Ischemic preconditioning augments survival of stem cells via miR-210 expression by targeting caspase-8-associated protein 2 [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(48):33161-33168.
- [35] NIE Y, HAN B M, LIU X B, et al. Identification of MicroRNAs involved in hypoxia-and serum deprivation-induced apoptosis in mesenchymal stem cells [J]. *Int J Biol Sci*, 2011, 7(6):762-768.
- [36] MUTHARASAN R K, NAGPAL V, ICHIKAWA Y, et al. microRNA-210 is upregulated in hypoxic cardiomyocytes through Akt-and p53-dependent pathways and exerts cytoprotective effects [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011, 301(4):H1519-H1530.
- [37] GOU D, RAMCHANDRAN R, PENG X, et al. miR-210 has an antiapoptotic effect in pulmonary artery smooth muscle cells during hypoxia [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2012, 303(8):L682-L691.
- [38] HU S, HUANG M, LI Z, et al. MicroRNA-210 as a novel therapy for treatment of ischemic heart disease [J]. *Circulation*, 2010, 122(11 Suppl):124-131.
- [39] YANG W, SUN T, CAO J, et al. Downregulation of miR-210 expression inhibits proliferation, induces apoptosis and enhances radiosensitivity in hypoxic human hepatoma cells in vitro [J]. *Exp Cell Res*, 2012, 318(8):944-954.
- [40] CHIO C C, LIN J W, CHENG H A, et al. MicroRNA-210 targets antiapoptotic Bcl-2 expression and mediates hypoxia-induced apoptosis of neuroblastoma cells [J]. *Arch Toxicol*, 2013, 87(3):459-468.
- [41] QIU J, ZHOU X Y, ZHOU X G, et al. Neuroprotective effects of microRNA-210 against oxygen-glucose deprivation through inhibition of apoptosis in PC12 cells [J]. *Mol Med Rep*, 2013, 7(6):1955-1959.
- [42] LOU Y L, GUO F, LIU F, et al. miR-210 activates notch signaling pathway in angiogenesis induced by cerebral ischemia [J]. *Mol Cell Biochem*, 2012, 370(1/2):45-51.
- [43] HERPICH F, RINCON F. Management of acute ischemic stroke [J]. *Crit Care Med*, 2020, 48(11):1654-1663.
- [44] KAHLES T, BRANDES R P. NADPH oxidases as therapeutic targets in ischemic stroke [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2012, 69(14):2345-2363.
- [45] NATHAN C, DING A. SnapShot: Reactive Oxygen Intermediates (ROI) [J]. *Cell*, 2010, 140(6):951-951, e2.
- [46] CASAS A I, GEUSS E, KLEIKERS P, et al. NOX4-dependent neuronal autotoxicity and BBB breakdown explain the superior sensitivity of the brain to ischemic damage [J]. *Proc Natl Acad Sci U S*

- A, 2017, 114(46):12315-12320.
- [47] KLEINSCHNITZ C, GRUND H, WINGLER K, et al. Post-stroke inhibition of induced NADPH oxidase type 4 prevents oxidative stress and neurodegeneration [J]. *PLoS Biol*, 2010, 8(9): e1000479. DOI:10.1371/journal.pbio.1000479.
- [48] ALLEN C L, BAYRAKTUTAN U. Oxidative stress and its role in the pathogenesis of ischaemic stroke [J]. *Int J Stroke*, 2009, 4(6): 461-470.
- [49] REN J X, LI C, YAN X L, et al. Crosstalk between oxidative stress and ferroptosis/oxytosis in ischemic stroke: possible targets and molecular mechanisms [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021; 6643382. DOI:10.1155/2021/6643382.
- [50] NUNOMURA A, PERRY G. RNA and oxidative stress in Alzheimer's disease; focus on microRNAs [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020; 2638130. DOI:10.1155/2020/2638130.
- [51] CHAN S Y, ZHANG Y Y, HEMANN C, et al. MicroRNA-210 controls mitochondrial metabolism during hypoxia by repressing the iron-sulfur cluster assembly proteins ISCU1/2 [J]. *Cell Metab*, 2009, 10(4): 273-284.
- [52] CHEN Z, LI Y, ZHANG H, et al. Hypoxia-regulated microRNA-210 modulates mitochondrial function and decreases ISCU and COX10 expression [J]. *Oncogene*, 2010, 29(30): 4362-4368.
- [53] EYILETEN C, WICKI Z, DE ROSA S, et al. MicroRNAs as diagnostic and prognostic biomarkers in ischemic stroke: a comprehensive review and bioinformatic analysis [J]. *Cells*, 2018, 7(12): 249.
- [54] COLUCCI-D'AMATO L, SPERANZA L, VOLPICELLI F. Neurotrophic factor BDNF, Physiological functions and therapeutic potential in depression, neurodegeneration and brain cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(20): 7777.
- [55] MANG C S, CAMPBELL K L, ROSS C J, et al. Promoting neuroplasticity for motor rehabilitation after stroke: considering the effects of aerobic exercise and genetic variation on brain-derived neurotrophic factor [J]. *Phys Ther*, 2013, 93(12): 1707-1716.
- [56] EYILETEN C, SHARIF L, WICKI Z, et al. The relation of the brain-derived neurotrophic factor with MicroRNAs in neurodegenerative diseases and ischemic stroke [J]. *Mol Neurobiol*, 2021, 58(1): 329-347.
- [57] ABOUTALEB N, FAEZI M, NASSERI MALEKI S, et al. Conditioned medium obtained from mesenchymal stem cells attenuates focal cerebral ischemia reperfusion injury through activation of ERK1/ERK2-BDNF signaling pathway [J]. *J Chem Neuroanat*, 2019, 97: 87-98.
- [58] MIRANDA M, MORICI J F, ZANONI M B, et al. Brain-derived neurotrophic factor: a key molecule for memory in the healthy and the pathological brain [J]. *Front Cell Neurosci*, 2019, 13: 363.
- [59] ZENG L L, HE X S, LIU J R, et al. Lentivirus-mediated overexpression of MicroRNA-210 improves long-term outcomes after focal cerebral ischemia in mice [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2016, 22(12): 961-969.
- [60] TIAN H, ZHAO Y, DU C, et al. Expression of miR-210, miR-137, and miR-153 in patients with acute cerebral infarction [J]. *Biomed Res Int*, 2021; 4464945. DOI:10.1155/2021/4464945.
- [61] XU X, ZHANG H, LI J, et al. Combination of EPC-EXs and NPC-EXs with miR-126 and miR-210 overexpression produces better therapeutic effects on ischemic stroke by protecting neurons through the Nox2/ROS and BDNF/TrkB pathways [J]. *Exp Neurol*, 2023, 359: 114235. DOI:10.1016/j.expneurol.2022.114235.
- [62] WATTS M, WILLIAMS G, LU J, et al. MicroRNA-210 regulates dendritic morphology and behavioural flexibility in mice [J]. *Mol Neurobiol*, 2021, 58(4): 1330-1344.
- [63] CANG J, KANEKO M, YAMADA J, et al. Ephrin-as guide the formation of functional maps in the visual cortex [J]. *Neuron*, 2005, 48(4): 577-589.
- [64] HU Y W, JIANG J J, YAN G, et al. MicroRNA-210 promotes sensory axon regeneration of adult mice in vivo and in vitro [J]. *Neurosci Lett*, 2016, 622: 61-66.
- [65] SUÁREZ Y, FERNÁNDEZ-HERNANDO C, YU J, et al. Dicer-dependent endothelial microRNAs are necessary for postnatal angiogenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(37): 14082-14087.
- [66] TIEDT S, PRESTEL M, MALIK R, et al. RNA-Seq identifies circulating miR-125a-5p, miR-125b-5p, and miR-143-3p as potential biomarkers for acute ischemic stroke [J]. *Circ Res*, 2017, 121(8): 970-980.
- [67] JEYASEELAN K, LIM K Y, ARMUGAM A. MicroRNA expression in the blood and brain of rats subjected to transient focal ischemia by middle cerebral artery occlusion [J]. *Stroke*, 2008, 39(3): 959-966.
- [68] WU C C, CHEN Y C, CHANG Y C, et al. Human umbilical vein endothelial cells protect against hypoxic-ischemic damage in neonatal brain via stromal cell-derived factor 1/C-X-C chemokine receptor type 4 [J]. *Stroke*, 2013, 44(5): 1402-1409.
- [69] MENG Z Y, KANG H L, DUAN W, et al. MicroRNA-210 promotes accumulation of neural precursor cells around ischemic foci after cerebral ischemia by regulating the SOCS1-STAT3-VEGF-C Pathway [J]. *J Am Heart Assoc*, 2018, 7(5): e005052. DOI:10.1161/JAHA.116.005052.
- [70] ZHANG H, WU J, WU J, et al. Exosome-mediated targeted delivery of miR-210 for angiogenic therapy after cerebral ischemia in mice [J]. *J Nanobiotechnology*, 2019, 17(1): 29.
- [71] ZENG L, HE X, WANG Y, et al. MicroRNA-210 overexpression induces angiogenesis and neurogenesis in the normal adult mouse brain [J]. *Gene Ther*, 2014, 21(1): 37-43.
- [72] FASANARO P, D'ALESSANDRA Y, DI STEFANO V, et al. MicroRNA-210 modulates endothelial cell response to hypoxia and inhibits the receptor tyrosine kinase ligand Ephrin-A3 [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(23): 15878-15883.
- [73] RUAN L, WANG B, ZHUGE Q, et al. Coupling of neurogenesis and angiogenesis after ischemic stroke [J]. *Brain Res*, 2015, 1623: 166-173.