

miRNA-146a靶向干预改善晚期APP/PS1双转基因模型小鼠认知功能的实验研究

麦 晖^{1,2}, 范炜豪¹, 陈雄金¹, 赵 斌^{1,2} (广东医科大学附属医院 1. 神经病学研究所; 2. 神经内科, 广东湛江 524001)

摘要: **目的** 探讨miRNA-146a靶向干预对晚期APP/PS1 (APP^{swe}/PSEN1^{dE9})双转基因小鼠认知功能的改善作用。**方法** 选用18月龄APP/PS1小鼠, 分为AD组、干预组(ADI组)、同月龄C57小鼠(CON组), 每组6只。ADI组小鼠给予miRNA-146a agomir 1 nmol, 隔日鼻腔给药, AD组和CON组小鼠用DEPCdiethyl pyrocarbonate代替, 30 d后, 采用Morris水迷宫、Y迷宫进行行为认知功能检测, 免疫荧光和ELISA检测海马内A β 含量的变化, 同时采用Western Blotting检测海马内tau蛋白异常磷酸化的变化。**结果** ADI组小鼠的逃避潜伏期随着训练次数逐渐下降, 与同龄AD组小鼠相比, 第2、3、4、5天的逃避潜伏期明显缩短, 在原平台所在象限停留时间及游泳路程百分比均明显增加($P < 0.05$ 或 0.01)。在Y迷宫自发性交替反应实验中, ADI组小鼠在新异臂的停留时间、穿越新异臂的次数比同龄AD组小鼠明显增加($P < 0.05$ 或 0.01)。ADI组小鼠与AD组比较, 海马区A β 、A β 42沉积斑数量显著降低, 两组海马可溶性及不可溶性A β 42含量的比较差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 0.01)。ADI组小鼠与AD组相比, 海马组织中P-tau S396、P-tau T181和P-tau T205蛋白异常磷酸化水平明显减少($P < 0.05$ 或 0.01)。**结论** miRNA-146a agomir靶向干预可改善晚期AD小鼠的行为和认知功能障碍, 降低AD小鼠海马区A β /A β 42蛋白的沉积及tau蛋白的异常磷酸化水平, 缓解AD病理、生理进程。

关键词: miRNA-146a agomir; 阿尔茨海默病; Morris水迷宫; A β ; tau

中图分类号: R 749

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2020)02-0142-07

Experimental study on miRNA-146a targeted intervention in the improvement of cognitive function in late APP/PS1 double transgenic model mice

MAI Hui^{1,2}, FAN Wei-hao¹, CHEN Xiong-jin¹, ZHAO Bin^{1,2} (1. Institute of Neurology; 2. Neurology Department, the Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, 524001 Zhanjiang, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of miRNA-146a targeted intervention in the improvement of cognitive function in late APP/PS1 double transgenic mice. **Methods** 18-month-old APP/PS1 mice were divided into the AD Group, intervention group (ADI Group) and the group of C57 mice with same month of age (CON Group), 6 mice in each group. The ADI Group was given nasally administered with 1 nmol miRNA-146a agomir every other day, which was replaced with DEPC (Diethyl pyrocarbonate) for the AD and CON Group. After 30 days, Morris water maze (MWM) and Y-maze were used to detect behavioral cognitive function, immunofluorescence and ELISA were used to detect the changes of A β content in hippocampus, and Western Blotting was used to detect the abnormal phosphorylation of tau protein in hippocampus. **Results** The ADI Group had the escape latency gradually reduced with the increase of training times, and had the escape latency on Day 2, 3, 4 and 5 significantly shortened and had the dwell time in the quadrant of the original platform and the percentage of swimming distance increased significantly compared with the Group AD at the same age ($P < 0.01$). In Y-maze spontaneous alternating reaction experiment, the ADI Group had the dwell time in new arm and the number of crossing the new arm significantly higher than the AD Group at the same age ($P < 0.05$ or 0.01). Compared with the AD Group, the ADI Group had the number of A β and A β 42 deposits in the hippocampus significantly decreased, and there was statistical difference in the content of soluble and insoluble A β 42 in hippocampus between the two groups ($P < 0.05$ or 0.01), and had the abnormal phosphorylation levels of P-tau S396, P-tau T181 and P-tau T205 in hippocampus significantly reduced ($P < 0.05$ or 0.01).

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(No.81271214, 81771161), 广东省医学科学技术研究基金项目(No.B2018043), 湛江市科技计划项目(No.2017B01117)

收稿日期: 2019-11-13; **修订日期:** 2020-01-10

作者简介: 麦 晖(1977-), 男, 博士, 副主任医师

Conclusion The miRNA-146a agomir targeted intervention can improve the behavioral and cognitive dysfunction in late AD mice, significantly reduce the deposition of A β /A β 42 protein and abnormal phosphorylation level of tau protein in hippocampus of AD mice, and alleviate the pathophysiological process of AD.

Key words: miRNA-146a agomir; Alzheimer's disease; Morris water maze; A β ; tau

阿尔茨海默病(Alzheimer's Disease, AD)是发生于老年和老年前期的一种渐进性的神经退行性疾病,是老年人中最常见的痴呆性疾病。据统计,65岁以上老年人约有5%患有AD,至2015年我国AD患者超过900万人,患病人数居世界第一,预计至2050年我国老龄化人口将超过4亿人^[1]。AD发病后难以治愈,目前主要的疗法只限于短期缓解发病症状。临床药物如胆碱酯酶抑制剂或谷氨酸受体拮抗剂只能改善症状,不能彻底治愈,而治疗AD的药物临床试验进展不尽人意,AD的发病机制、实际治疗策略及新的治疗靶点均有待进一步研究^[2]。MicroRNA(miRNA)是一类在生命进程中具有保守性及稳定性的内源性非编码RNA。miRNA通常被认为是细胞命运的决定因素,是各种脑部疾病的关键调节因子,有望成为治疗神经退行性疾病的靶点^[2-3]。miRNA-146a是AD与炎症有关的一种miRNA,它可以调控先天免疫。AD脑解剖病理结果提示,在海马和颞叶皮层,miRNA-146a表达上调;而在未受影响的区域miRNA-146a水平保持不变^[4]。此外,miRNA-146a不仅参与调节先天免疫,还影响造血功能和细胞分化等^[5-6]。前期研究发现,miRNA-146a在AD发病过程中具有重要的作用,可能是AD的一个潜在新靶点^[7]。目前大众对AD的认识普遍不足,临床上确诊的AD患者大多已处于晚期,给社会和家庭带来了沉重的负担。本研究试图通过实验研究明确miRNA-146a是否能改善晚期APP/PS1双转基因模型小鼠的行为认知功能,是否为AD的潜在治疗靶点,为AD患者新型药物的研究提供新的思路。

1 材料和方法

1.1 试剂

miRNA-146a agomir 和 DEPC(diethyl pyrocarbonate)为广州艾基生物技术有限公司产品;A β 42 ELISA试剂盒为美国invitrogen公司产品;六氟异丙醇(HFIP)为美国Sigma公司产品;OCT包埋剂为美国樱花SAKURA公司产品;A β 抗体、A β 42抗体、P-tau T181、tau 46、 β -actin 抗体、HRP标记二抗为美国CST公司产品;Flour 488荧光二抗、DAPI(4',6-diamidino-2-phenylindole)、P-tau S396抗体、P-tau

T205抗体为英国abcam公司产品;脱脂奶粉为美国BD公司产品。

1.2 实验动物

SPF(specific pathogen free)级18月龄APP/PS1双转基因小鼠12只,18月龄相同背景非转基因野生型小鼠(C57BL/6型,简称C57小鼠)6只,均为雄性。试验动物由广东省实验动物中心提供,饲养于广东医科大学实验动物中心SPF级房,22~26℃,湿度为55%~65%,12 h光暗周期条件下饲养(早上7点打开照明装置,19时关闭照明装置),自由获取食物和水源。本实验已通过广东医科大学伦理委员会审核,遵循相应动物实验操作规范。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组 随机将18月龄AD小鼠分为AD组和ADI组(干预组),每组6只,18月龄C57小鼠6只作为CON组。

1.3.2 动物给药 实验动物按照Hanson等^[8]方法予小鼠鼻腔滴注给药。(1)将实验剂量1 nmol miRNA-146a agomir溶于24 μ L无酶的DEPC水中,冰盒中保存。(2)在正式实验前2周,用2.5 μ L移液枪给小鼠用生理盐水滴鼻。正式实验时,ADI组给予miRNA-146a agomir,每次1 μ L,两个鼻孔交替滴注,总量达8 μ L后,给予小鼠休息5 min,miRNA-146a agomir充分吸收后,再进行下一个轮回,3个轮回将24 μ L滴注完。隔天干预1次,共15次。AD组和CON组小鼠均给予同等体积的载体DEPC水。

1.3.3 Morris水迷宫检测 30 d给药结束后,全部小鼠开始进行Morris水迷宫测试,用于考察实验小鼠的学习记忆情况。Morris水迷宫行为检测系统由圆形水槽、平台和数据采集系统组成。(1)定位航行实验:定位航行实验用于测量小鼠对水迷宫学习和记忆的能力,共历时5 d,平台固定在NW象限下1 cm,每天每只小鼠连续训练4次。训练时每次将小鼠从不同象限边缘中点位置面向池壁放入水中,观察并记录小鼠在90 s内找到平台的时间(平台上停留时间超过10 s),即为逃避潜伏期。如果小鼠在90 s内未能找到平台则人为引导至平台,停留10 s后移开,逃避潜伏期记为90 s。每次训练完后,用干毛巾擦干小鼠,防止低体温造成的应激干扰结果。

(2)空间搜索实验:空间搜索实验用于测量小鼠学会寻找平台后,对平台空间位置记忆的能力。实验第6天时撤除平台,选SE象限将小鼠面向池壁放入水中,记录90 s内小鼠穿越平台所在位置次数、在平台所在象限的停留时间及游泳路程百分比。

1.3.4 Y迷宫检测 Y迷宫主要应用于动物的辨别性学习、工作记忆和参考记忆的测试。Y迷宫用医用有机板制作,内外壁贴黑色胶纸,共3个臂,各臂夹角为120°,每一臂尺寸为30 cm×8 cm×15 cm(长×宽×高),中央处各有1个可移动的隔板,在迷宫各个臂内贴上不同的几何图形,作为视觉标记。每个Y迷宫的3个臂被随机设为新异臂、起始臂和其他臂。新异臂:在实验的第一阶段即训练时期用隔板挡住,在第二阶段即测试期打开;起始臂:小鼠进入迷宫所在的臂。整个实验过程中起始臂和其他臂都是一直打开,动物可以自由出入。迷宫内铺垫木屑,每次训练或测试结束后,混匀各个臂的木屑,以防止动物残留气味干扰。迷宫上方1.5 m处安置摄像头,全过程录像。检测小鼠自发性交替反应和空间识别能力。

1.3.5 小鼠海马组织样品的准备 磁共振检测完成后,各组小鼠用10%水合氯醛(按照0.35 mL/100 g)腹腔注射,麻醉后心脏右心耳小剪刀剪开小口,左心室快速灌注4℃预冷的生理盐水,至右心耳流出清亮液体,肝脏发白后,改用4℃预冷4%多聚甲醛快速灌注,随后断头取脑,脑组织沿矢状面一分为二。其中一侧脑组织迅速分离出海马组织置于-80℃保存备用,进行后续分析;另一侧脑组织置于4℃预冷的4%多聚甲醛-PBS(phosphate buffer saline)溶液(pH=7.4)中固定过夜,OTCB包埋,然后按冠状面将组织切成25 μm厚的冰冻薄片,用贴片法将脑片吸附于防脱片玻片上,按不同实验组将片放置于切片盒-80℃低温冰箱保存备用。

1.3.6 免疫荧光检测 冰冻切片免疫荧光检测小鼠颅内Aβ/Aβ₄₂蛋白含量。具体步骤如下:将脑组织片从-80℃冰箱取出,放置在片架上置入37℃温箱30 min,用免疫组化笔做好标记后置入玻璃染缸中给予PBS(pH 7.2~7.4),室温下洗3次,每次5 min。随后加10%同源羊血清(与二抗同来源)于湿盒中常温封闭1 h。封闭结束后将其中的封闭液吸干,滴加一抗,置入湿盒中4℃冰箱孵育过夜。第2天,从4℃冰箱中取出湿盒,室温下复温1 h,随之置入玻璃染缸中给予PBS,室温下洗3次,每次5 min。避光用移液枪滴加配制好的荧光二抗(采用封闭液稀释),后将湿盒

置入37℃恒温箱中孵育1 h,从温箱取出后予PBS室温下洗3次,每次5 min。待片子干后,滴加DAPI,避光室温孵育3 min,随后置入玻璃染缸中室温下PBS洗3次,每次5 min,风干后加入放猝灭剂并盖上玻片。TCS SPE5 莱卡共聚焦显微镜下观察海马区荧光表达情况。Aβ一抗1:100稀释、Aβ₄₂一抗1:1 600稀释,二抗均按1:1 000稀释。

1.3.7 ELISA法检测Aβ₄₂含量 按照说明书要求进行ELISA检测Aβ₄₂含量,具体步骤如下:从-80℃冰箱取出各月龄小鼠每个样本海马组织(约30 mg),冲洗干净后,按每100 mg样本加入含1×蛋白水解酶抑制剂1.0 mL的PBS进行匀浆,4℃15 000 r/min离心30 min后收集上清,分装、标记。在离心后的沉淀物中加入1 g/L六氟异丙醇200 mL后震荡混匀,离心收集上清,分装、标记。然后按照操作手册分别检测可溶性和不可溶性Aβ₄₂水平。

1.3.8 Western blotting检测 按等质量取已提纯的海马组织蛋白30 μg进行SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,接着将目标蛋白从凝胶中转移至PDVF(polyvinylidene fluoride)膜上,用TBST(Tris-Buffered Saline Tween-20)溶液洗涤:每次5 min,共3次;将PVDF膜放入5%脱脂奶粉溶液中常温封闭2 h(摇床中慢摇);用1%的脱脂奶粉稀释一抗(兔抗P-tau S396, 1:500稀释;兔抗P-tau T205, 1:1 000稀释;兔抗P-tau T181, 1:500稀释;兔抗tau46, 1:500稀释;内参β-actin, 1:1 000稀释),4℃摇床过夜;次日常温复温40 min,用TBST洗涤3次,每次5 min;洗完后用1%的脱脂奶粉稀释二抗(HRP标记的羊抗兔二抗, 1:20 000稀释),37℃摇床孵育2 h。用TBST溶液洗涤3次,每次10 min;暗房避光,ECL法化学发光显影、定影。胶片曝光后用扫描仪进行条带扫描,灰度分析结果。

1.4 统计学处理

采用Graphpad Prism 6.0统计软件进行分析。数据以均数±标准差表示,采用one-way ANOVA及 q 检验分析各组样品数值间的差异。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 行为学检测结果

2.1.1 Morris水迷宫检测结果 如图1A所示,在定位航行训练实验中,随着训练时间的增加,各组小鼠找到平台的时间(即逃避潜伏期)逐渐缩短。与AD

组小鼠相比, ADI组小鼠在定位航行实验2、3、4、5 d的逃避潜伏期明显缩短, 定位巡航运动轨迹也同样明显缩短, 差异均有统计学意义($P < 0.01$)。图1B~D所示, 与AD组小鼠相比, ADI组小鼠在原平台所在象限停留时间及游泳路程百分比都明显增加, 差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 0.01); 而穿越原平台次数虽略有增多, 但差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.1.2 Y迷宫方法检测结果 在自发交替反应中, ADI组小鼠正确率较同月龄AD组小鼠虽略有增加, 但差异无统计学意义($P > 0.05$); ADI组小鼠在新异臂的停留时间以及在穿越新异臂的次数均比同月龄AD组小鼠明显增加, 差异有统计学意义($P < 0.05$ 或

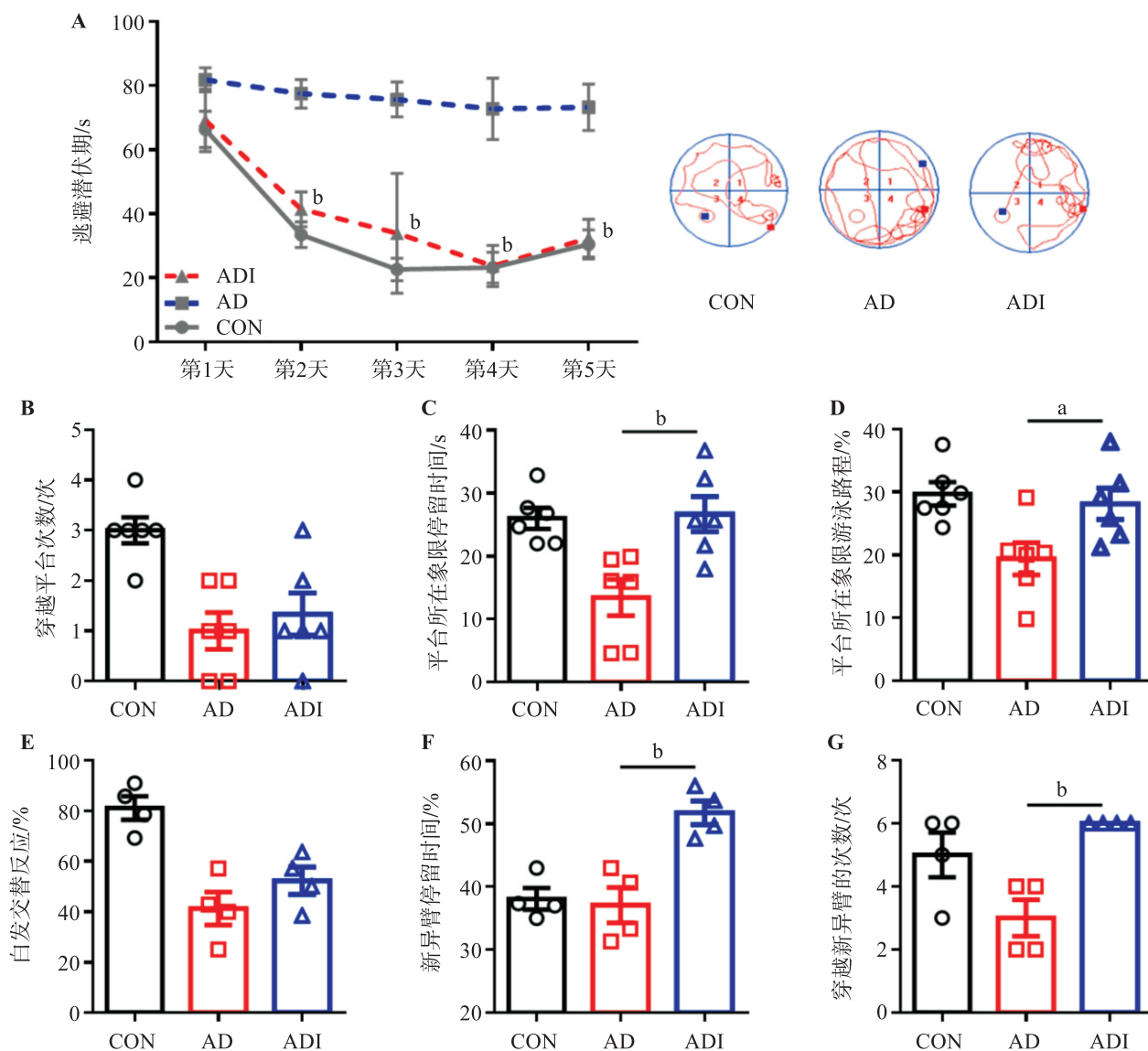
0.01)。详见图1E~G。

2.2 miRNA-146a agomir对APP/PS1小鼠脑组织A β 和A β_{42} 沉积的影响

ADI组小鼠与AD组比较, 海马区A β 和A β_{42} 沉积斑数量(绿色荧光)均显著降低(图2A), 两组海马可溶性和不可溶性A β_{42} 含量的比较差异亦有统计学意义($P < 0.05$ 或 0.01 , 图2B~C)。

2.3 miRNA-146a agomir对APP/PS1小鼠海马区tau蛋白异常磷酸化水平的影响

如图3所示, AD组小鼠与CON组相比, 海马组织中P-tau S396、P-tau T181和P-tau T205蛋白异常磷酸化水平明显增加; ADI组小鼠与AD组相比, 海



A. 小鼠在Morris水迷宫定位巡航实验中找到平台的时间及轨迹图; B. 小鼠在Morris水迷宫穿越平台次数; C. 小鼠在Morris水迷宫平台象限的停留时间; D. 小鼠在Morris水迷宫平台象限的游泳路程百分比; E. 小鼠在Y迷宫自发性交替反应的结果; F. 小鼠在Y迷宫新异臂的停留时间; G. 小鼠在Y迷宫穿越新异臂的次数; 与AD组比较: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$

图1 18月龄3组小鼠行为学检测结果

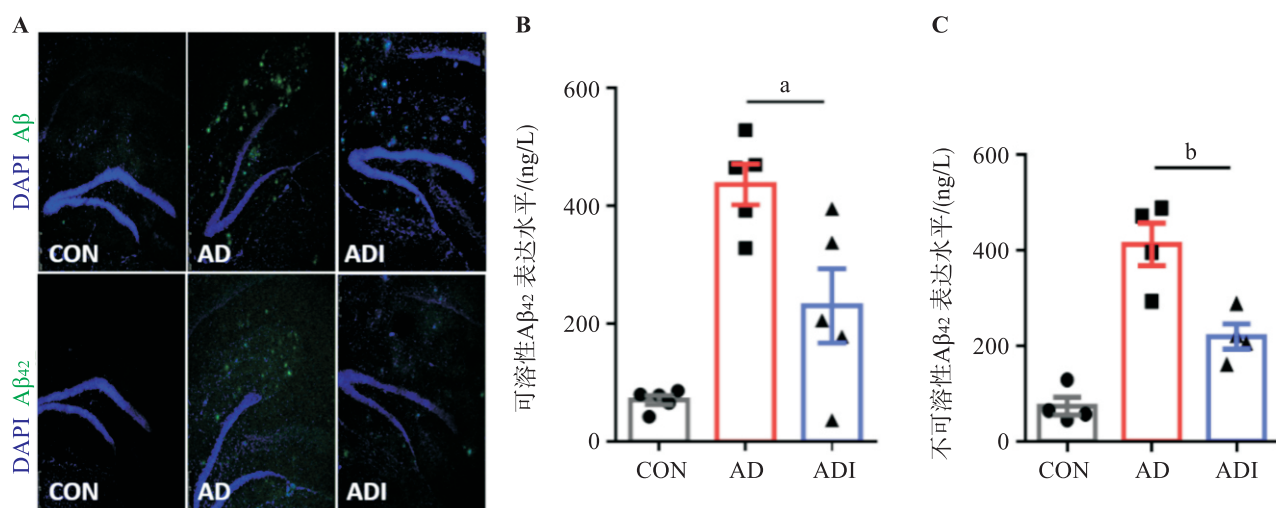
马海马组织中P-tau S396、P-tau T181和P-tau T205蛋白异常磷酸化水平明显减少,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 0.01)。

3 讨论

AD是一种错综复杂的多病因和多发病机制的神经退行性疾病,由多个基因、通路以及蛋白的失调引起,到目前为止其发病机制尚不明确。研究表明,神经内分泌免疫网络失调也是AD发病的机制之一,且在AD的发病机制中处于核心地位^[9-10]。身体的免疫系统炎症与AD密切相关,而先天免疫系统对脑代谢、神经保护和修复等方面是至关重要的。一旦免疫系统和炎症信号途径被激活,机体就会产生过量的氧自由基,同时促炎性细胞因子以及前列腺素也会大量表达,进而引发炎症级联反应, A β 异常沉积及tau过度磷酸化,最终导致突触降解和神经

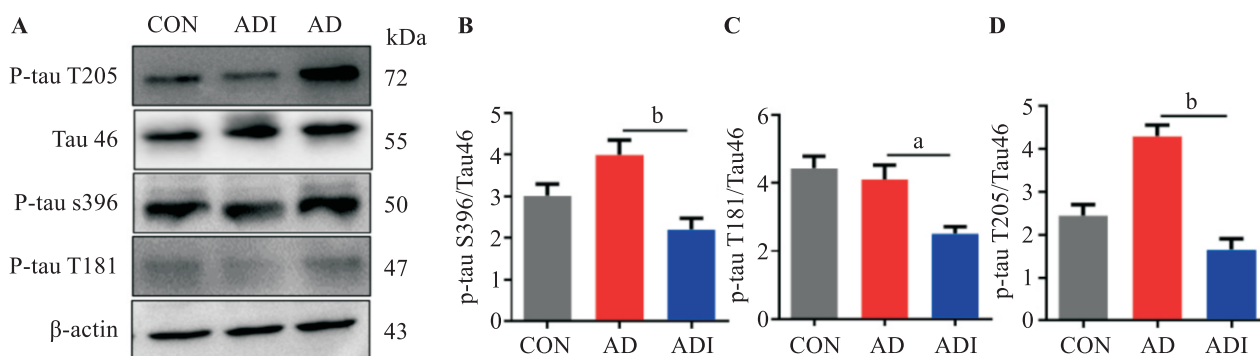
元死亡,从而导致神经退行性疾病和AD的发生和进展^[10-12]。

miRNAs已经成为基因表达的关键调控因子,并且被证明可影响多种细胞生物学过程,包括增殖、分化、存活和迁移等^[13-15]。中枢神经系统中也有自己独特的miRNA,参与神经系统疾病的生理、病理及生物反馈过程,如神经细胞发育、胶质细胞增生、神经细胞凋亡及坏死等。在AD患者海马中检测到多种miRNA,如miRNA-16、miRNA-34c、miRNA-107、miRNA-128a和miRNA-146a^[3,16]。miRNA-146a免疫炎症相关的靶基因,包括IRAK1、TRAF6、CXCR4、CFH、COX2、ROCK1、EGFR、Notch1和STAT1^[17-18],参与了多种病理、生理过程和疾病相关的免疫炎症反应^[5,19-21]。miRNA-146a还可作用于APP金属蛋白酶10(ADAM10)的关键调节因子跨膜四旋TSPAN12,从而影响A β 的代谢^[22]。而 β 样淀粉



A. 小鼠脑组织海马区冰冻荧光切片A β /A β ₄₂的沉积情况(蓝色代表细胞核染色,绿色代表A β /A β ₄₂沉积斑染色); B.小鼠脑组织海马可溶性A β ₄₂ ELISA的检测结果; C.小鼠脑组织海马不溶性A β ₄₂ ELISA的检测结果;与AD组比较:^a $P<0.05$,

图2 miRNA-146a agomir干预后APP/PS1小鼠脑组织海马区A β 的沉积情况



A. 18月龄组小鼠海马P-tau S396蛋白、P-tau T181蛋白、P-tau T205蛋白表达条带情况; B. P-tau S396蛋白灰度值比较结果; C. P-tau T181蛋白灰度值比较结果; D. P-tau T205蛋白灰度值比较结果;与AD组比较:^a $P<0.05$,^b $P<0.01$

图3 miRNA-146a agomir干预后APP/PS1小鼠海马中tau蛋白磷酸化情况

蛋白在脑内沉积对神经细胞的毒性是AD发病的关键因素^[23]。近年来也有研究认为A β 是tau的上游调节途径,其毒性引起tau功能异常。换言之,tau过度磷酸化通常被认为是淀粉样变性的结果,而不是该疾病发病机制中的一个独立事件^[24]。反之异常磷酸化的tau也可增加A β 的毒性^[25],两者相辅相成。

Morris水迷宫是目前评价动物学习与记忆的应用最广范的模型,可用于测试实验动物对空间位置觉和方向觉(空间定位)的学习记忆能力。Y迷宫实验模型用来研究啮齿类动物的空间识别记忆能力。相对于被动回避等实验,这种迷宫利用了啮齿类动物对新异环境天然探究的自然习性,不需要动物学习任何的规则来趋利避害,能够有效地反映动物对新异环境的识别记忆能力。在本研究中2个迷宫测试结果均有力证实了miRNA-146a agomir 靶向干预后,明显改善了晚期AD模型小鼠的行为认知能力。分子层面上,我们发现干预后的AD模型小鼠其海马区A β 、A β ₄₂蛋白的沉积及tau蛋白的异常磷酸化水平与AD正常小鼠相比明显降低。结合目前公认的AD典型神经退行性病变的主要表现为:(1)学习记忆力功能减退及损伤;(2)不同脑区(包括海马、皮质等)A β 聚集形成老年斑(SP);(3)tau蛋白过度磷酸化聚集形成神经原纤维缠结(NFTs);(4)大量神经元损伤和数目的减少,突触功能紊乱以及严重的轴突和树突骨架的破坏^[26-27]。某种程度上可以说,miRNA-146a agomir干预后全面缓解了AD模型小鼠的病理、生理进程,在活体动物实验中表现为行为认知能力得到明显改善。

综上所述,miRNA-146a agomir靶向干预可改善晚期AD小鼠的行为认知功能障碍,降低AD小鼠海马区A β 、A β ₄₂蛋白的沉积及tau蛋白的异常磷酸化水平,缓解AD病理、生理进程。本研究为寻找AD治疗的新靶点提供了新的线索和思路。

参考文献:

- [1] ALZHEIMER'S ASSOCIATION. 2016 Alzheimer's disease facts and figures[J]. *Alzheimers Dement*, 2016,12(4): 459-509.
- [2] MIYA SHAIK M, TAMARGO I A, ABUBAKAR M B, et al. The role of microRNAs in Alzheimer's disease and their therapeutic potentials[J]. *Genes (Basel)*, 2018, 9(4): 1-36.
- [3] GUPTA P, BHATTACHARJEE S, SHARMA A R, et al. Mirnas in Alzheimer disease a therapeutic perspective[J]. *Curr Alzheimer Res*, 2017,14(11): 1198-1206.
- [4] SETHI P, LUKIW W J. MicroRNA abundance and stability in human brain: Specific alterations in Alzheimer's disease temporal lobe neocortex[J]. *Neurosci Lett*, 2009, 459(2): 100-104.
- [5] MAGILNICK N, REYES E Y, WANG W L, et al. miRNA-146a-traf6 regulatory axis controls autoimmunity and myelopoiesis, but is dispensable for hematopoietic stem cell homeostasis and tumor suppression[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(34): E7140-E7149.
- [6] LABBAYE C, TESTA U. The emerging role of miRNA-146a in the control of hematopoiesis, immune function and cancer[J]. *J Hematol Oncol*, 2012(5): 1-10.
- [7] CUI L, LI Y, MA G, et al. A functional polymorphism in the promoter region of microRNA-146a is associated with the risk of Alzheimer disease and the rate of cognitive decline in patients[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e89019.
- [8] HANSON L R, FINE J M, SVITAK A L, et al. Intranasal administration of CNS therapeutics to awake mice[J]. *J Vis Exp*, 2013,74: 6-15.
- [9] BOHRMANN B, BAUMANN K, BENZ J, et al. Gantenerumab: A novel human anti-a β antibody demonstrates sustained cerebral amyloid- β binding and elicits cell-mediated removal of human amyloid- β [J]. *J Alzheimer's Dis*, 2012, 28(1): 49-69.
- [10] 蔡志友, 秦碧勇, 赵斌. 炎症在阿尔茨海默病发病机制中担当了什么样的角色[J]. *广东医学院学报*, 2015, 33(1): 1-5.
- [11] TANABE C, HOTODA N, SASAGAWA N, et al. Adam19 is tightly associated with constitutive Alzheimer's disease app alpha-secretase in A172 cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 352(1): 111-117.
- [12] ASAI M, HATTORI C, SZABÓ B, et al. Putative function of adam9, adam10, and adam17 as app-secretase[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 301(1): 231-235.
- [13] OLDE LOOHUIS N F, KOS A, MARTENS G J, et al. MicroRNA networks direct neuronal development and plasticity[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2012, 69(1): 89-102.
- [14] AMBROS V. The functions of animal microRNAs[J]. *Nature*, 2004,431: 350-355.
- [15] EHEHALT R, KELLER P, HAASS C, et al. Amyloidogenic processing of the Alzheimer beta-amyloid precursor protein depends on lipid rafts[J]. *J Cell Biol*, 2003, 160(1): 113-123.
- [16] MULLER M, KUIPERIJ H B, CLAASSEN J A, et al. MicroRNAs in Alzheimer's disease: Differential expression in hippocampus and cell-free cerebrospinal fluid[J]. *Neurobiol Aging*, 2014, 35(1): 152-158.
- [17] MASTROIANNI J, STICKEL N, ANDRLOVA H, et al. miRNA-146a controls immune response in the melanoma microenvironment[J]. *Cancer Res*, 2019, 79(1): 183-195.
- [18] WANG L L, HUANG Y, WANG G, et al. (下转第152页)

- [7] GANYANI T, FAES C, CHOWELL G, et al. Assessing inference of the basic reproduction number in an SIR model incorporating a growth-scaling parameter[J]. *Stat Med*, 2018, 37(29): 4490-4506.
- [8] 李贻芬. 传染病传播模型的探究及优化运用[J]. *通化师范学院学报(自然科学)*, 2019, 40,(4): 26-31.
- [9] 武文韬, 柏如海, 李达宁, 等. 广东省新型冠状病毒肺炎疫情流行趋势的初步预测[EB/OL]. *暨南大学学报(自然科学与医学版)*, 2020:<http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1282.n.20200212.1132.004.html>. [Epub ahead of print].
- [10] 沈海迪, 万振凯. 基于指数平滑法的动态预测机制[J]. *计算机技术与发展*, 2017, 27(7): 6-9.
- [11] 朱奕奕, 赵琦, 冯玮, 等. 应用指数平滑法预测上海市甲型病毒性肝炎发病趋势[J]. *中国卫生统计*, 2013, 30(1): 31-36.
- [12] 唐广心, 张飞飞, 鲁苇葭, 等. 指数平滑法在麻疹发病率预测中的应用[J]. *实用预防医学*, 2018, 25(6): 757-759.
- [13] 柏如海, 董琬月, 石莹, 等. 有效控制措施下新型冠状病毒流行趋势模拟[J]. *医学新知*, 2020, 30(2): 8-12.
- [14] CAO Z D, ZHANG Q P, LU X, et al. Incorporating human movement data to improve epidemiological estimates for 2019-nCoV[J]. *BMJ*, 2020: <https://doi.org/10.1101/2020.02.07.20021071>. [Epub ahead of print].

~~~~~

(上接第147页)

- The potential role of microRNA-146 in Alzheimer's disease: Biomarker or therapeutic target?[J]. *Med Hypotheses*, 2012, 78(3): 398-401.
- [19] PATERSON M R, KRIEGEL A J. miRNA-146a/b: A family with shared seeds and different roots[J]. *Physiol Genomics*, 2017, 49(4): 243-252.
- [20] MANN M, MEHTA A, ZHAO J L, et al. An nf-kappab-microRNA regulatory network tunes macrophage inflammatory responses[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 851.
- [21] SU W, ALOI M S, GARDEN G A. MicroRNAs mediating cns inflammation: Small regulators with powerful potential [J]. *Brain Behav Immun*, 2016, 52: 1-8.
- [22] LI Y Y, CUI J G, DUA P, et al. Differential expression of miRNA-146a-regulated inflammatory genes in human primary neural, astroglial and microglial cells[J]. *Neurosci Lett*, 2011, 499(2): 109-113.
- [23] HUANG Y, MUCKE L. Alzheimer mechanisms and therapeutic strategies[J]. *Cell*, 2012, 148(6): 1204-1222.
- [24] LLORET A, FUCHSBERGER T, GIRALDO E, et al. Molecular mechanisms linking amyloid beta toxicity and tau hyperphosphorylation in Alzheimers disease[J]. *Free Radic Biol Med*, 2015, 83: 186-191.
- [25] BLOOM G S. Amyloid-beta and tau: The trigger and bullet in Alzheimer disease pathogenesis [J]. *JAMA Neurol*, 2014, 71(4): 505-508.
- [26] BALLARD C, GAUTHIER S, CORBETT A, et al. Alzheimer's disease[J]. *The Lancet*, 2011, 377(9770): 1019-1031.
- [27] STOKIN G B, LILLO C, FALZONE T L, et al. Axonopathy and transport deficits early in the pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. *Science*, 2005, 307(5713): 1282-1288.