

• 论 著 •

miR-124-3p 通过靶向 Rab11a 缓解创伤性脑损伤引起的氧化应激和炎症反应^{*}

何买定,余慧敏,杨 伟,杨永花,苏文兵[△]

云南省曲靖市第一人民医院康复医学科,云南曲靖 655000

摘 要:**目的** 探讨微小 RNA-124-3p(miR-124-3p)/脑 Ras 相关蛋白 11a(Rab11a)分子轴在创伤性脑损伤(TBI)引起的氧化应激和炎症反应中的作用。**方法** 采用过氧化氢(H₂O₂)处理小鼠海马神经元(HT22)细胞构建 TBI 细胞模型,实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测 miR-124-3p 和含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 1(caspase 1)、白细胞介素 1β(IL-1β)、白细胞介素 18(IL-18)及肿瘤坏死因子 α(TNF-α)的表达水平;Western blot 检测硒蛋白 N1(SEPN1)、谷胱甘肽过氧化物酶 1(GPX1)和诱导型一氧化氮合酶(iNOS)蛋白的表达水平;双荧光素酶报告基因试验验证 miR-124-3p 和 Rab11a 之间的靶向调控关系;活性氧(ROS)检测试剂盒检测 ROS 水平。**结果** miR-124-3p 在 H₂O₂ 处理的 HT22 细胞中低表达($P<0.05$);过表达 miR-124-3p 明显抑制 H₂O₂ 诱导 HT22 细胞 SEPN1、GPX1 蛋白表达水平的下调($P<0.05$)和 iNOS 表达水平的上调($P<0.05$),以及炎症因子 caspase 1、IL-1β、IL-18 表达水平的上调($P<0.05$);双荧光素酶报告基因证实 miR-124-3p 靶向作用 Rab11a 并下调其表达($P<0.05$);实验进一步证实,与敲降 Rab11a 比较,同时敲降 miR-124-3p 和 Rab11a 可明显下调单独敲降 Rab11a 对 HT22 细胞氧化应激和炎症反应的抑制作用($P<0.05$)。**结论** miR-124-3p 通过靶向下调 Rab11a 抑制 H₂O₂ 诱导 HT22 细胞氧化应激和炎症反应。

关键词:创伤性脑损伤; 氧化应激; 炎症反应; 微小 RNA-124-3p; 脑 Ras 相关蛋白 11a

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.10.010

中图法分类号:R641

文章编号:1673-4130(2021)10-1195-05

文献标志码:A

Mechanism of miR-124-3p targeting Rab11a to alleviate oxidative stress and inflammatory response induced by traumatic brain injury^{*}

HE Maiding, YU Huimin, YANG Wei, YANG Yonghua, SU Wenbing[△]

Department of Rehabilitation Medicine, the First People's Hospital
of Qujing City, Qujing, Yunnan 655000, China

Abstract: Objective To explore the effect of microRNA-124-3p (miR-124-3p)/brain Ras-related proteins 11a (Rab11a) molecular axis on oxidative stress and inflammatory response induced by traumatic brain injury (TBI). **Methods** Construction of TBI cell model by treatment of mouse hippocampal neuron (HT22) cells with hydrogen peroxide (H₂O₂). The expression of miR-124-3p and cysteinyl aspartate specific proteinase 1 (caspase 1), interleukin-1β (IL-1β), interleukin-18 (IL-18) and tumour necrosis factor α (TNF-α) expression were detected by real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR). The expressions of selenoprotein N1 (SEPN1), glutathione peroxidase 1 (GPX1) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) in HT22 cells were detected by Western blot. Dual luciferase reporter assay validated the targeted regulatory relationship between miR-124-3p and Rab11a. The reactive oxygen species (ROS) level was detected by ROS detection kit. **Results** Low expression of miR-124-3p was observed in H₂O₂-treated HT22 cells ($P<0.05$). Over expression of miR-124-3p significantly inhibited the down-regulation of SEPN1 and GPX1, and up-regulation of iNOS expression, also up-regulation of inflammatory factors caspase 1, IL-1β and IL-18 induced by H₂O₂ treatment of HT22 cells ($P<0.05$). Dual luciferase reporter gene confirmed that miR-124-3p targeted Rab11a and down-regulated its expression ($P<0.05$). The experiment further confirmed that down-regulation of miR-124-3p and Rab11a simultaneously significantly down-regulated the inhibitory effect of sh-Rab11a on oxidative

^{*} 基金项目:云南省临床重点专科建设项目(2018—04);云南省康复临床医学中心建设项目(ZX2019-04-02)。

作者简介:何买定,女,副主任医师,主要从事骨折术后康复及神经功能重塑研究。 [△] 通信作者, E-mail: suwenbing10000@126.com。

本文引用格式:何买定,余慧敏,杨伟,等. miR-124-3p 通过靶向 Rab11a 缓解创伤性脑损伤引起的氧化应激和炎症反应[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(10): 1195-1199.

stress and inflammatory response in HT22 cells compared with down-regulated Rab11a alone ($P<0.05$).
Conclusion miR-124-3p inhibits H_2O_2 -induced oxidative stress and inflammatory response in HT22 cells by down-regulating Rab11a.

Key words: traumatic brain injury; oxidative stress; inflammatory response; microRNA-124-3p; brain Ras-related proteins 11a

创伤性脑损伤(TBI)是一种由于外部原因引起的颅脑损伤,当脑组织挫伤后,大量炎症因子释放,氧自由基过载引起海马神经元细胞氧化应激,进一步促进TBI的发展^[1-2],因此,深入探讨引起神经元细胞氧化应激和炎性反应的分子机制,对临床治疗TBI极为重要。研究发现,微小RNA(miRNA)在TBI引起的氧化应激和炎性反应中具有重要调控作用^[3-5],其中miR-124-3p在TBI后表达下调,上调miR-124-3p能抑制炎症因子释放,缓解TBI的发展^[6]。脑Ras相关蛋白11a(Rab11a)是一种小分子GTP酶,主要参与调节细胞内吞再循环过程,近年有研究发现Rab11a能促进TBI的发展进程^[7],但有关miR-124-3p通过调控Rab11a表达缓解TBI引起的氧化应激和炎性反应的研究,目前鲜有报道。为此,本研究将重点探讨miR-124-3p/Rab11a分子轴在TBI引起的氧化应激和炎性反应中的作用,为临床治疗TBI提供一定研究方向。

1 材料与方法

1.1 细胞与主要试剂 小鼠海马神经元(HT22)细胞为BNCC细胞库产品(中国北纳),DMEM培养基和GeneJET RNA 纯化试剂盒为Thermo Fisher公司产品(美国);SYBR Green qPCR 主混合液购自 Med Chem Express 公司(美国);qPCR HifairTM III 1st Strand cDNA 化学合成超混合液购自上海翊圣生物科技有限公司;PCR 引物、miR-124-3p mimic/inhibitor 由GenePharma 公司构建(中国);pmirGLO 荧光素酶靶表达载体及Dual-Luciferase[®] 报告检测系统购自Promega 公司(美国);活性氧(ROS)活性测定试剂盒购于AmyJet Scientific 公司(中国);免疫印迹一抗及二抗均购自Abcam 公司(英国)。

1.2 方法

1.2.1 HT22 细胞的培养、过氧化氢(H_2O_2)处理及转染 将HT22 细胞置于含10%胎牛血清的DMEM 培养基中,在37℃、5% CO_2 条件的培养箱中培养,取对数生长期细胞为空白对照组(BC 组);取10 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 加入HT22 细胞培养基中处理12 h,为氧化应激对照组(OSC 组);HT22 细胞在 H_2O_2 处理后,根据LipofectamineTM 2000 检测试剂盒说明书转染miR-124-3p mimic、sh-Rab11a 和 sh-Rab11a + miR-124-3p inhibitor,分别为miR-124-3p mimic 组、sh-Rab11a 组和 sh-Rab11a + miR-124-3p inhibitor 组。设3 个复孔,转染48 h 后置荧光显微镜下观察细

胞的转染效果。

1.2.2 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测 miR-124-3p 和炎症因子 mRNA 的表达 采用RNA 提取试剂盒提取各组细胞的总RNA,用反转录试剂盒对总RNA 进行反转录,反转录反应体系(20 μL):10 μL 变性后反应液、4 μL 5 $\times$ PrimeScript 缓冲液、0.5 μL RNase Inhibitor、1.0 μL PrimeScript RTase、4.5 μL d H_2O 。反转录反应条件:30℃ 10 min;45℃ 60 min,40 个循环。根据SYBR Green qPCR 主混合液试剂盒说明书检测mRNA 的表达,以U6 为检测miR-124-3p 的内参对照,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为检测炎症因子的内参对照。引物序列见表1。RT-qPCR 反应体系(20 μL):2.0 μL 反转录产物、10.0 μL SYBR Green qPCR 主混合液、0.4 μL ROX Reference Dye、上下游引物(10 $\mu\text{mol/L}$)各0.8 μL 、6.0 μL d H_2O 。RT-qPCR 反应条件:95℃ 5 min;94℃ 变性30 s,60℃ 退火30 s,35 个循环。试验结果用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算,每个实验重复3 次。

表 1 各项靶标的引物

靶标	引物
GAPDH	F:5'-TGATTCTACCCACGGCAAGTT-3' R:5'-TGATGGGTTTCCCATTGATGA-3'
caspase 1	F:5'-TCGAGCCAGAATGAGGACTG-3' R:5'-GATGATGTTGGCAGCAATGG-3'
IL-1 β	F:5'-CTGGTGCATTCTGACCTTGC-3' R:5'-GGTCCATCTCCTTGGTCTGC-3'
IL-18	F:5'-GACTGGCTGTGACCCATCTGTGA-3' R:5'-TTGTGTCTCGGCACACGTTTC-3'
TNF- α	F:5'-GAGACAGATGTGGGGTGTGA-3' R:5'-GTCACTCGGGGTCGAGAAG-3'
U6	F:5'-CTTCGGCAGCACATATACTAAAT-3' R:5'-AATATGGAACGCTTCACGA-3'
miR-124-3p	F:5'-CCCCCTCTGCGTGTTCACAG-3' R:5'-CCTCTCTTGGCATTACCCGC-3'

注:F 为正向引物,R 为反向引物;caspase 1 为天冬氨酸蛋白水解酶 1;IL-1 β 为白细胞介素 1 β ;IL-18 为白细胞介素 18;TNF- α 为肿瘤坏死因子 α 。

1.2.3 Western blot 检测 Rab11a 及氧化应激相关蛋白的表达 收集各组细胞提取总蛋白,并检测硒蛋白 N1(SEPN1)、谷胱甘肽过氧化物酶 1(GPX1)和诱导型一氧化氮合酶(iNOS)蛋白表达水平;SDS-PAGE

分离蛋白条带后,采用半干转膜法进行转膜,用 5% 脱脂奶粉避光室温孵育 1 h,加入一抗(1:1 000),4 ℃ 条件下孵育并过夜;弃去一抗,洗膜缓冲液洗涤后,加入二抗(1:2 000),37 ℃ 避光孵育 1 h 后,采用增强化学发光(ECL)液进行显膜色,凝胶成像仪曝光观察,拍照记录,并用 Image J 软件进行灰度定量分析。

1.2.4 ROS 活性检测 收集处理后的各组细胞(2×10^5 个/mL)重悬于稀释好的 DCFH-DA 溶液中,于 37 ℃、5% CO₂ 细胞培养箱内培养 20 min;培养期间颠倒混匀 4~5 次;取出细胞后,采用无血清培养基洗涤 3 次;采用 500 μL 无血清培养基,加入到 96 孔板中,并吹打,在荧光酶标仪激发波长 488 nm 处和发射波长 525 nm 处检测荧光强度。

1.2.5 双荧光素酶报告基因试验验证 miR-124-3p 对 Rab11a 的靶向调控 扩增 Rab11a 基因 3'-UTR 片段,将 miR-124-3p 与 Rab11a 结合部位的序列及其突变体序列插入到 pmirGLO 荧光素酶靶表达载体构建载体,将 miR-124-3p mimic 与 pmirGLO-Rab11a-WT/MUT 重组质粒,对照组与 Lipofectamine™ 2000 脂质体混合后转染 HEK 293T 细胞,转染 48 h 后,根据 Dual-Luciferase® 报告检测系统检测荧光素

酶活性。

1.3 观察指标 比较各组 miR-124-3p 表达、SEPNI、iNOS 和 GPX1 蛋白表达,以及 caspase 1、白细胞介素 1β(IL-1β)、白细胞介素 18(IL-18)、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)和 ROS 水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行数据处理及统计分析,采用 GraphPad Prism 7.0 软件进行绘图。两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用方差分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 过表达 miR-124-3p 对 H₂O₂ 处理细胞的氧化应激和炎症因子水平的影响 与 BC 组比较,OSC 组中 miR-124-3p 表达、SEPNI 和 GPX1 蛋白表达下调,但 caspase 1、IL-1β、IL-18、TNF-α、iNOS 蛋白表达和 ROS 水平上调,差异均有统计学意义($P<0.05$)。与 OSC 组比较,miR-124-3p mimic 组中 miR-124-3p 表达上调,SEPNI 和 GPX1 蛋白表达上调,而 caspase 1、IL-1β、IL-18、TNF-α、iNOS 蛋白表达和 ROS 水平下调,差异均有统计学意义($P<0.05$)。miR-124-3p mimic 组与 BC 组比较,所有检测指标水平差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 2 和图 1。

表 2 过表达 miR-124-3p 对 H₂O₂ 处理 HT22 细胞的氧化应激和炎症因子水平的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	miR-124-3p	caspase 1	IL-1β	IL-18	TNF-α
BC 组	1.00±0.050	1.00±0.040	1.00±0.070	1.00±0.050	1.00±0.030
OSC 组	0.52±0.072 [*]	1.52±0.072 [*]	1.47±0.052 [*]	1.62±0.067 [*]	1.52±0.072 [*]
miR-124-3p mimic 组	0.98±0.046 [#]	1.05±0.057 [#]	0.99±0.028 [#]	0.98±0.033 [#]	1.02±0.029 [#]
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

组别	ROS	iNOS 蛋白	SEPNI 蛋白	GPX1 蛋白
BC 组	1.00±0.060	1.00±0.040	1.00±0.060	1.00±0.050
OSC 组	1.48±0.051 [*]	1.52±0.063 [*]	0.53±0.052 [*]	0.49±0.072 [*]
miR-124-3p mimic 组	0.98±0.033 [#]	0.98±0.028 [#]	1.01±0.050 [#]	1.01±0.045 [#]
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 BC 组比较,^{*} $P<0.05$;与 OSC 组比较,[#] $P<0.05$; *P* 为 3 组间方差分析结果。

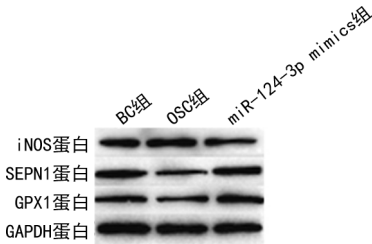


图 1 过表达 miR-124-3p 抑制 H₂O₂ 处理 HT22 细胞产生氧化应激相关蛋白表达

2.2 miR-124-3p 靶向调控 Rab11a 的表达 从 star-Base 数据库预测发现 Rab11a 是 miR-124-3p 潜在下游靶基因(图 2A)。与 BC 组比较,miR-124-3p mimic 组中野生型 Rab11a 的 mRNA 和蛋白的表达降低,差

异有统计学意义($P<0.05$),突变型 Rab11a 中 mRNA 差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3 和图 2。

表 3 相对荧光强度和 Rab11a 表达水平($\bar{x}\pm s$)

组别	WT 荧光强度	MUT 荧光强度	Rab11a
BC 组或 OSC 组	1.00±0.080	1.02±0.039	1.00±0.070
miR-124-3p mimic 组	0.55±0.043 [*]	0.98±0.033	0.47±0.060 [#]
<i>P</i>	0.001	0.242	0.001

注:与 BC 组比较,^{*} $P<0.05$;与 OSC 组比较,[#] $P<0.05$ 。

2.3 miR-124-3p 通过下调 Rab11a 抑制 H₂O₂ 处理 HT22 细胞氧化应激和炎症反应 与 OSC 组比较,sh-Rab11a 组中 Rab11a、iNOS 蛋白、ROS、caspase 1、IL-1β、IL-18 及 TNF-α 水平下调,SEPNI 和 GPX1 蛋

白表达上调,差异均有统计学意义($P<0.05$)。与 sh-Rab11a 组比较,sh-Rab11a+miR-124-3p inhibitor 组中 Rab11a、iNOS 蛋白、ROS、caspase 1、IL-1 β 、IL-18 表达上调,TNF- α 、SEPN1 和 GPX1 蛋白表达下调,差

异均有统计学意义($P<0.05$)。sh-Rab11a+miR-124-3p inhibitor 组与 OSC 组比较,所有检测指标差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 4 和图 3。

表 4 miR-124-3p 通过 Rab11a 对 H₂O₂ 诱导 HT22 细胞产生氧化应激和炎症反应的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	Rab11a	caspase 1	IL-1 β	IL-18
OSC 组	1.00 $\pm$ 0.070	1.00 $\pm$ 0.030	1.00 $\pm$ 0.070	1.00 $\pm$ 0.050
sh-Rab11a 组	0.49 $\pm$ 0.029 *	0.62 $\pm$ 0.029 *	0.49 $\pm$ 0.028 *	0.52 $\pm$ 0.034 *
sh-Rab11a+miR-124-3p inhibitor 组	1.02 $\pm$ 0.039 #	0.96 $\pm$ 0.056 #	1.02 $\pm$ 0.035 #	0.95 $\pm$ 0.039 #
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

组别	TNF- α	ROS	iNOS 蛋白	SEPN1 蛋白	GPX 蛋白
OSC 组	1.00 $\pm$ 0.040	1.00 $\pm$ 0.060	1.00 $\pm$ 0.070	1.00 $\pm$ 0.050	1.00 $\pm$ 0.090
sh-Rab11a 组	0.46 $\pm$ 0.043 *	0.46 $\pm$ 0.044 *	0.66 $\pm$ 0.046 *	1.48 $\pm$ 0.034 *	1.68 $\pm$ 0.034 *
sh-Rab11a+miR-124-3p inhibitor 组	1.01 $\pm$ 0.056 #	0.98 $\pm$ 0.033 #	0.98 $\pm$ 0.033 #	0.96 $\pm$ 0.043 #	1.02 $\pm$ 0.038 #
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 OSC 组比较,* $P<0.05$;与 sh-Rab11a 组比较,# $P<0.05$;P 为 3 组间方差分析结果。

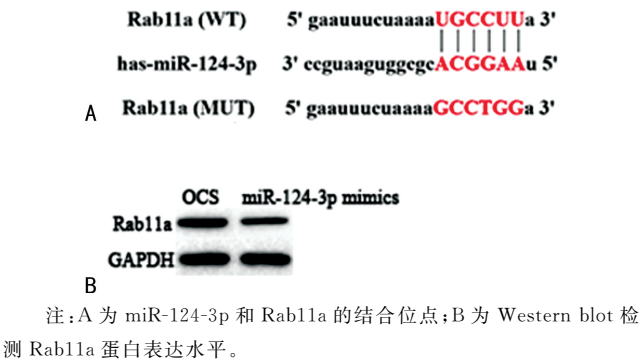


图 2 miR-124-3p 下调 Rab11a 的表达

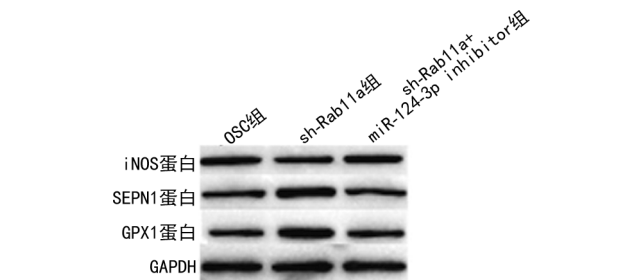


图 3 miR-124-3p 通过下调 Rab11a 抑制 H₂O₂ 处理 HT22 细胞产生氧化应激相关蛋白表达

3 讨 论

TBI 是一种神经外科常见急重症,其发生率占全身各部位创伤的 9%~21%,病死率及致残率处于全身各部位创伤首位^[8-9]。当脑组织挫伤、颅脑结构被破坏后,血脑屏障失去功能,外周血循环中的中性粒细胞、单核巨噬细胞等浸入受损脑组织,启动一连串分子反应,诱导大量炎症因子长时间释放,氧自由基过载并堆积造成活性氧与抗氧化系统之间的平衡失调^[10-11],致使海马神经元细胞等多种细胞发生氧化应激和炎症反应,进一步引起继发性脑损伤^[12-13]。本研

究采用 H₂O₂ 处理 HT22 细胞,发现 caspase 1、IL-1 β 、IL-18、TNF- α 及 ROS 水平均明显升高,氧化应激相关蛋白 SEPN1 和 GPX1 表达降低,而 iNOS 蛋白表达水平上调,表明 H₂O₂ 处理能促进 HT22 细胞产生氧化应激和炎症反应。此结果与 ZHANG 等^[10]研究一致,且本研究以此为基础构建 TBI 细胞模型,进一步探讨 miR-124-3p/Rab11a 分子轴对 TBI 引起的氧化应激和炎症反应的作用。

非编码 miRNA 在近年来的研究中多次被报道参与了原发性和继发性 TBI 的发展进程,并通过自身水平变化促进或缓解 TBI 由原发性向继发性的恶性转变^[14]。此外,miRNA 也被证实在 TBI 氧化应激和炎症反应中具有重要调节作用,如 LV 等^[15]研究发现上调 miR-let-7c-5p 能抑制 caspase 3、IL-1 β 等炎症因子释放,缓解继发性 TBI 发展;miR-124-3p 在发生 TBI 后呈低表达,过表达 miR-124-3p 能靶向调控下游蛋白表达,抑制神经元发生炎症反应^[16-17]。本研究采用 H₂O₂ 处理 HT22 细胞构建 TBI 细胞模型,发现在氧化应激和炎症反应环境中,miR-124-3p 明显低表达,过表达 miR-124-3p 能恢复由 H₂O₂ 诱导的炎症因子 caspase 1、IL-1 β 和 IL-18,以及 SEPN1、GPX1 和 iNOS 蛋白的特异性表达。本研究结果与 VUOKILA 等^[16]的研究结论一致,此外还进一步证实,过表达 miR-124-3p 能下调 ROS 水平,从而缓解 HT22 细胞所产生的氧化应激。

Rab11a 属于小 GTPase 超家族的 Rab 家族,是一种小分子 GTP 酶,主要参与细胞内吞再循环过程。研究发现,Rab11a 参与调节自噬的早、晚期,可促进神经元细胞的自噬^[18]和炎症因子的分泌^[19-20],进一步介导继发性 TBI 的发展。本研究通过生物信息学预

测发现 Rab11a 是 miR-124-3p 的潜在靶基因。H₂O₂ 处理 HT22 细胞后, HT22 细胞中 Rab11a 高表达, 且 Rab11a 能够促进 HT22 细胞氧化应激和炎性反应, 此结果与 POEHLER 等^[18]的研究结论一致。此外本研究进一步证实, miR-124-3p 通过靶向下调 Rab11a 能下调炎症因子 caspase 1、IL-1 β 、IL-18 及 ROS 水平, 上调 SEPNI 和 GPX1 蛋白的表达, 并下调 iNOS 蛋白水平, 从而缓解 HT22 细胞的氧化应激和炎性反应。

综上所述, 本研究通过模拟体内 TBI 产生氧化应激和炎性反应环境, 从细胞水平证实, miR-124-3p 通过靶向下调 Rab11a 的表达水平, 从而缓解 TBI 引起的氧化应激和炎性反应。

参考文献

- [1] BATSAIKHAN B, WANG J Y, SCERBA M T, et al. Post-Injury neuroprotective effects of the Thalidomide analog 3, 6'-Dithiothalidomide on traumatic brain injury [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(3): 502-508.
- [2] 王嘉炜. 炎症反应和氧化应激在创伤性颅脑损伤中的作用及 CHPG 和葛根素对其干预效果的研究[D]. 南京: 南京大学, 2013.
- [3] SAJJA V S, JABLONSKA A, HAUGHEY N, et al. Sphingolipids and microRNA changes in blood following blast traumatic brain injury: an exploratory study[J]. *J Neurotrauma*, 2018, 35(2): 353-361.
- [4] YAN J, BU X, LI Z, et al. Screening the expression of several miRNAs from TaqMan Low Density Array in traumatic brain injury: miR-219a-5p regulates neuronal apoptosis by modulating CCNA2 and CACUL1[J]. *J Neurochem*, 2019, 150(2): 202-217.
- [5] 孙婷怡, 刘良, 刘子龙. microRNA 在创伤性脑损伤的研究进展[J]. *中国法医学杂志*, 2013, 28(6): 484-487.
- [6] HUANG S, GE X, YU J, et al. Increased miR-124-3p in microglial exosomes following traumatic brain injury inhibits neuronal inflammation and contributes to neurite outgrowth via their transfer into neurons[J]. *FASEB J*, 2018, 32(1): 512-528.
- [7] LI D, HUANG S, ZHU J, et al. Exosomes from MiR-21-5p-increased neurons play a role in neuroprotection by suppressing rab11a-mediated neuronal autophagy in vitro after traumatic brain injury[J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 1871-1885.
- [8] REISNER A, RALSTON A K, VATS A, et al. Commentary: guidelines for the management of pediatric severe traumatic brain injury, third edition: update of the brain trauma foundation guidelines, executive summary [J]. *Neurosurgery*, 2019, 85(2): E384-E385.
- [9] 张小年, 张皓. 创伤性颅脑损伤国内研究进展[J]. *中国康*

- 复理论与实践, 2008, 14(2): 101-104.
- [10] ZHANG H M, CHEN W, LIU R N, et al. Notch inhibitor can attenuate apparent diffusion coefficient and improve neurological function through downregulating NOX2-ROS in severe traumatic brain injury[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 12: 3847-3854.
- [11] WU P, ZHAO H, GOU X, et al. Targeted delivery of polypeptide nanoparticle for treatment of traumatic brain injury[J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14: 4059-4069.
- [12] LIU S, JIN R, XIAO A Y, et al. Induction of neuronal PI3K γ contributes to endoplasmic reticulum stress and Long-Term functional impairment in a murine model of traumatic brain injury [J]. *Neurotherapeutics*, 2019, 16(4): 1320-1334.
- [13] SKOP N B, SINGH S, ANTIKAINEN H, et al. Subacute transplantation of native and genetically engineered neural progenitors seeded on microsphere scaffolds promote repair and functional recovery after traumatic brain injury [J]. *ASN Neuro*, 2019, 11: 1759091419830186.
- [14] KO J, HEMPHILL M, YANG Z J, et al. Multi-dimensional mapping of brain-derived extracellular vesicle MicroRNA biomarker for traumatic brain injury diagnostics [J]. *J Neurotrauma*, 2020, 37(22): 2424-2434.
- [15] LV J, ZENG Y, QIAN Y, et al. MicroRNA let-7c-5p improves neurological outcomes in a murine model of traumatic brain injury by suppressing neuroinflammation and regulating microglial activation [J]. *Brain Res*, 2018, 1685: 91-104.
- [16] VUOKILA N, LUKASIUK K, BOT A M, et al. miR-124-3p is a chronic regulator of gene expression after brain injury[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75(24): 4557-4581.
- [17] LI D, HUANG S, YIN Z, et al. Increases in miR-124-3p in microglial exosomes confer neuroprotective effects by targeting FIP200-Mediated neuronal autophagy following traumatic brain injury[J]. *Neurochem Res*, 2019, 44(8): 1903-1923.
- [18] POEHLER A M, XIANG W, SPITZER P, et al. Autophagy modulates SNCA/ α -synuclein release, thereby generating a hostile microenvironment[J]. *Autophagy*, 2014, 10(12): 2171-2192.
- [19] JIANG C, LIU Z, HU R, et al. Inactivation of Rab11a GTPase in macrophages facilitates phagocytosis of apoptotic neutrophils [J]. *J Immunol*, 2017, 198(4): 1660-1672.
- [20] YAN Z, WANG Z G, SEGEV N, et al. Rab11a mediates vascular Endothelial-Cadherin recycling and controls endothelial barrier function[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2016, 36(2): 339-349.