

# 精神分裂症相关miRNA筛选及miR-320a调控 ITGB1机制研究

黄远帅<sup>1</sup> 周炜鑫<sup>1</sup> 彭 瑛<sup>1</sup> 程 松<sup>1</sup> 王开正<sup>1</sup> 白克镇<sup>1</sup> 易 姝<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>西南医科大学附属医院, 泸州 646000; <sup>2</sup>重庆市人民医院, 重庆 400014)

**摘要** 该文研究了精神分裂症(schizophrenia, Sz)患者血清中微小RNA(microRNA, miRNA)水平的变化, 寻找其作用靶点并进行机制探索。通过miRNA基因芯片分析4例患者、3例治愈患者及3例健康成年人血清中miRNA表达的差异。使用荧光定量PCR对59例患者及60例对照血清进行验证。通过生物信息学分析寻找靶点, 并在血清样本中检测; 最后, 在细胞水平进行miRNA调控靶点的功能研究。芯片筛选发现, miR-320a及miR-320b在初诊患者中呈低表达, 较治愈患者和健康人有显著性差异, 并在59例初诊患者和60例健康人对照血清中得到验证。生物信息学分析发现, 整合素 $\beta$ 1(integrin  $\beta$ 1, ITGB1)可能是miR-320a的作用靶点。ELISA结果发现, 患者血清中ITGB1的浓度比健康成年人血清中的浓度呈显著升高。细胞水平的研究发现, miR-320a模拟物可以下调ITGB1表达, miR-320a抑制剂可以上调ITGB1表达。荧光素酶实验证实, miR-320a可能通过结合于ITGB1 mRNA 3'UTR的特异性位点, 促使mRNA降解, 从而调控其表达。结果表明, miR-320a调控ITGB1的表达可能是Sz发病过程中的重要机制, 这一发现有可能为Sz的早期诊断和治疗提供新的候选靶点。

**关键词** miR-320a; 整合素 $\beta$ 1; 精神分裂症

## Screening of Schizophrenia Associated miRNA and the Mechanism of miR-320a Regulating Integrin $\beta$ 1

Huang Yuanshuai<sup>1</sup>, Zhou Weixin<sup>1</sup>, Peng Ying<sup>1</sup>, Cheng Song<sup>1</sup>, Wang Kaizheng<sup>1</sup>, Bai Kezhen<sup>1</sup>, Yi Shu<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>The Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China;

<sup>2</sup>People's Hospital of Chongqing, Chongqing 400014, China)

**Abstract** In this work, the miRNA profile in the serum of schizophrenia patients was analyzed. Targets of abnormal miRNAs and their regulatory mechanism were studied. MiRNA array was used to analyze the serum from 4 schizophrenia patients with no treatment, 3 cured patients and 3 healthy controls. The findings from array were confirmed by Real-time PCR in a larger cohort including 59 patients and 60 healthy controls. The miRNAs we interested were analyzed by bioinformatics tools. Their potential targets were studied by *in vitro* cellular experiments. miR-320a and miR-320b were found down-regulated in patients compared to cured patients and controls in miRNA array which was also confirmed by Real-time PCR in a larger cohort with 59 patients and 60 healthy controls. Integrin  $\beta$ 1 was found to be one of the targets of miR-320a. ELISA assay found that integrin  $\beta$ 1 concentration increased significantly in patients' serum and *in vitro* study confirmed that miR-320a targeted 3'UTR

收稿日期: 2015-11-26 接受日期: 2016-01-20

四川省卫生厅(批准号:120336)和泸州市科技局[批准号: 2012-S-37(11/29)]资助的课题

\*通讯作者。Tel: 023-63513940, E-mail: easybook@126.com

Received: November 26, 2015 Accepted: January 20, 2016

This work was supported by the Fund from Health Department of Sichuan Province (Grant No.120336) and Fund from Science and Technology Bureau of Luzhou [Grant No.2012-S-37(11/29)]

\*Corresponding author. Tel: +86-23-63513940, E-mail: easybook@126.com

网络出版时间: 2016-03-10 18:17:42

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20160310.1817.004.html>

of integrin  $\beta 1$  mRNA and reduced its expression. Our results demonstrated that miR-320a regulating its target integrin  $\beta 1$  might play an important role in schizophrenia pathogenesis, which could be a potential pathway for schizophrenia diagnosis and therapy.

**Keywords** miR-320a; integrin  $\beta 1$ ; schizophrenia

精神分裂症(schizophrenia, Sz)是精神疾病中最常见的疾病, 据2008年有关资料统计全世界的年发病率约0.015%, 并有逐年递增的趋势<sup>[1]</sup>。目前, 最棘手的问题是精神分裂症的发病机制不明确和早期诊断较困难<sup>[2]</sup>。本课题组对精神分裂症血清标记物的研究有一定基础<sup>[3]</sup>。近年来, 国际上对微小RNA(microRNA, miRNA)和精神分裂症关系的研究已经全面展开。MiRNA通过表观遗传学(epigenetics)机制调控细胞信号通路, 从而影响患者脑细胞功能。相关研究可能具有重要临床应用价值<sup>[4]</sup>。

最近的研究发现, 精神分裂症患者的外周血中有多种miRNA发生变化, 其中, 上调的有: miR-34a<sup>[5]</sup>、miR-130b<sup>[6]</sup>、miR-193a-3p<sup>[6]</sup>等; 下调的有: miR-107<sup>[7]</sup>、miR-98<sup>[8]</sup>、miR-183<sup>[8]</sup>等。MiRNA可能参与调控多条细胞信号通路, 影响细胞的生理功能, 与精神分裂症的发病有密切关系。本研究使用miRNA芯片筛选精神分裂初发患者、治愈者及健康人的血清, 然后使用Real-time PCR进行大规模病人与对照样本的检测。实验证实了miRNA320a和miRNA320b在患者外周血中的低表达, 并进一步发现miRNA320a可能负调控整合素 $\beta 1$ (integrin  $\beta 1$ , *ITGB1*)的mRNA, 进而影响其蛋白质浓度。该调控通路可为Sz的早期诊断和治疗提供潜在靶点。

## 1 材料与方法

### 1.1 病人样本与材料

本研究的病人外周血取自四川医科大学附属第一医院精神科2012年1月至2014年1月59例初诊为精神分裂症患者(Sz)、3例已治愈病人(Sz-H)和体检科60例正常体检者(H), 取3~5 mL, 及时离心分离血清, 200  $\mu$ L一管分装,  $-70^{\circ}\text{C}$ 保存。研究方案符合本院伦理委员会相关规定, 并经病人或家属及体检者充分知情, 自愿参加。初诊为精神分裂患者的纳入标准: 患者诊断标准符合国际精神疾病分类与诊断标准第10版(ICD-10), 首次发病, 未接受抗精神病药物治疗, 无自知力。排除标准: 脑器质性和躯体疾病所致的精神障碍患者。健康体检者为经体检未

发现任何疾病, 近3个月内未服用任何药物的成年人。试剂与耗材: miRNeasy Serum/Plasma试剂盒、miScript II RT试剂盒、miScript SYBR Green PCR试剂盒、miScript引物、miRNA模拟物、miRNA抑制剂均购自Qiagen公司, GeneChip miRNA 2.0芯片购自Affymetrix公司。Trizol购自Invitrogen公司。ITGB1 ELISA检测试剂盒购自北京华夏远洋科技有限公司。实验用抗体购自Abcam公司。SK-N-SH神经母细胞瘤细胞购自上海素尔生物科技有限公司。

### 1.2 miRNA芯片分析

待研究血清样本常温融化后经miRNeasy Serum/Plasma试剂盒提取miRNA。简述如下: 200  $\mu$ L血清加入1 mL QIAzol混匀孵育后, 加入1 mL氯仿进行萃取, 离心后, 上清经离心柱过柱, 洗脱获得miRNA。样品送博奥生物有限公司(北京), 使用Affymetrix公司的GeneChip miRNA 2.0芯片(完全覆盖Sanger miRBase 15.0版本131个物种的所有miRNA成熟体)检测各样品中miRNA表达谱。SAM(Significance Analysis of Microarrays)软件统计分析三组间差异表达的miRNA。

### 1.3 Real-time PCR检测

miRNA的荧光定量PCR分析: 上述方法提取的miRNA, 经初步定量, 取使用miScript II RT Kit(Qiagen公司)进行逆转录。反应体系组成: 4  $\mu$ L 5 $\times$ miScript HiSpec缓冲液, 2  $\mu$ L 10 $\times$ miScript Nucleics Mix, 2  $\mu$ L逆转录酶混合物, 约10  $\mu$ L miRNA, 无RNA酶水补至20  $\mu$ L, 逆转录成熟miRNA。反应条件:  $37^{\circ}\text{C}$  60 min;  $95^{\circ}\text{C}$  5 min。逆转录产物使用miScript SYBR Green PCR Kit(Qiagen公司)联合miRNA特异性miScript Primer(Qiagen公司)进行定量PCR分析, snRNA RNU6B(U6)为内参miRNA。反应体系组成: 12.5  $\mu$ L 2 $\times$ QuantiTect SYBR Green PCR混合液, 2.5  $\mu$ L 10 $\times$ miScript通用引物, 2.5  $\mu$ L 10 $\times$ miScript特异性引物(miR-320a、miR-320b及U6), 2.5  $\mu$ L 5倍稀释的cDNA模板, 5  $\mu$ L去离子水。反应条件:  $95^{\circ}\text{C}$  15 min,  $94^{\circ}\text{C}$  15 s,  $55^{\circ}\text{C}$  30 s,  $70^{\circ}\text{C}$  35 s(采集荧光信号), 40个循环。

靶基因mRNA的定量PCR分析:经处理后的SK-N-SH细胞系,使用Trizol提取总RNA后,紫外可见分光光度计定量,再经TAKARA PrimeScript RT试剂盒(TaKaRa公司)逆转录。逆转录反应体系组成:2  $\mu$ L 5 $\times$ PrimeScript<sup>TM</sup> RT混合液,2  $\mu$ L RNA(500 ng),无RNA酶水补足10  $\mu$ L。反应条件:37  $^{\circ}$ C 15 min,85  $^{\circ}$ C 5 s,4  $^{\circ}$ C保存。用SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq<sup>TM</sup> II(TaKaRa公司)进行定量PCR检测,引物:ITGB1-P1:5'-ATG CCT ACT TCT GCA CGA TG-3',ITGB1-P2:5'-TGT AAA TGT CTG TGG CTC CC-3',ITGB2-P1:5'-CAT TGG CTT CGG GTC CTT CG-3',ITGB2-P2:5'-GC CGT CAT CAG TGG CAA ACA-3';内参基因:HPRT-P1:5'-CTT TGC TGA CCT GCT GGA TTAC-3',HPRT-P2:5'-ATC TTT GGA TTA TAC TGC CTG ACC-3'。荧光定量PCR反应体系:10  $\mu$ L 2 $\times$ SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq II,上下游引物(10  $\mu$ mol/L)各1  $\mu$ L,1:5稀释的cDNA 4  $\mu$ L,5  $\mu$ L去离子水。PCR循环参数:95  $^{\circ}$ C 5 min;95  $^{\circ}$ C 25 s,60  $^{\circ}$ C 30 s(收集荧光),35个循环。PCR相关实验在ABI-Veriti普通PCR仪以及ABI-7500荧光定量PCR仪上完成,实验结果使用2<sup>- $\Delta\Delta C_t$</sup> 进行标准化计算。

#### 1.4 生物信息学分析

通过在线工具<sup>[9]</sup>进行差异表达miRNA靶点预测,并根据PubMed文献搜索,寻找属于精神分裂症

#### 1.5 ELISA血清蛋白检测

按ELISA标准化操作流程检测血清中ITGB1浓度。每孔加入待检血清100  $\mu$ L,设置空白对照、阴阳性对照以及不同浓度ITGB1标准品对照,37  $^{\circ}$ C 1 h孵育,清洗3次;加入酶标抗体100  $\mu$ L,37  $^{\circ}$ C 1 h孵育后,清洗3次;加入显色液100  $\mu$ L,37  $^{\circ}$ C 0.5 h孵育,加入终止液100  $\mu$ L。根据各标准品孔的读数进行的计算样本内ITGB1的浓度。每个样本进行3孔重复检测。

#### 1.6 细胞内转染miR-320a及miR-320b模拟物、抑制剂

Qiagen公司的miR-320a、miR-320b模拟物及抑制剂配制后,使用HiPerFect Transfection Reagent(Qiagen公司)进行转染细胞。具体操作如下:人神经母细胞瘤细胞(SK-N-SH)3 $\times$ 10<sup>4</sup>/孔,接种于12孔板内,过夜培养后,使用HiPerFect转染试剂每孔转染0.6  $\mu$ L

20  $\mu$ mol/L的模拟物或6  $\mu$ L 20  $\mu$ mol/L的抑制剂,72 h后进行Trizol总RNA提取及RIPA细胞裂解液收集蛋白。

#### 1.7 荧光素酶报告基因检测

将ITGB1 3'UTR的miR-320a三个识别位点的区域片段一起或分别克隆入pmiR-RB-Report载体,经测序确认,命名为:ITGB1-BS1+2+3-Report(片段区域:No.1-715 bp)或ITGB1-BS1-Report(片段区域:No.1-255 bp)、ITGB1-BS2-Report(片段区域:No.200-525 bp)、ITGB1-BS3-Report(片段区域:No.510-715 bp)。按5 $\times$ 10<sup>4</sup> HEK293细胞/孔,接种于12孔板内,过夜培养后,每孔使用1  $\mu$ L Lipfectamine 2000,转染200 ng以上Report载体和50 ng Renilla载体,培养24 h。细胞经PBS清洗,加入200  $\mu$ L PLB液,裂解15 min。每一检测样本取20  $\mu$ L裂解产物入96孔白色发光板的检测孔,加入100  $\mu$ L LAR II液,荧光分光光度计上进行检测Luciferase活性,然后每孔加入100  $\mu$ L Stop&Glo液,再次读取Renilla活性。使用Luciferase/Renilla比较不同处理细胞的荧光素酶活性。每一样本进行3孔重复检测,实验进行3次重复。

#### 1.8 Western blot检测

各处理组细胞经冰冷PBS洗3次,使用RIPA裂解液[20 mmol/L TrisHCl, pH7.5, 150 mmol/L NaCl, 10 mL/L Triton X-100, 1 g/L SDS, 100 mL/L甘油, 1 mmol/L EDTA, 1 $\times$ Proteinase抑制剂Cocktail(Roche)]裂解细胞,冰上孵育20 min,裂解产物4  $^{\circ}$ C, 13 000 r/min离心30 min,上清液即为细胞蛋白提取物。使用Bio-Rad protein assay试剂测定提取物蛋白浓度,进行Western blot检测蛋白,每泳道上样50  $\mu$ g。Anti-ITGB1抗体(Abcam ab179471) 1:1 000稀释,4  $^{\circ}$ C孵育过夜,Anti-beta Actin抗体(Abcam ab189073) 1:2 000稀释,室温孵育3 h。实验重复3次。

#### 1.9 统计学分析

数据使用Graph Pad Prism 4.0进行统计分析和作图,分析方法为方差分析及LSD-*t*检验, $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 miR-320a及miR-320b在患者外周血中的高表达及大批量临床样本的验证

4例Sz初诊患者血清(Sz)、3例治愈患者血清(Sz-H)及3例健康成年人血清(H)提取的miRNA经芯片分析,热图见图1A。其中,miR-320a及miR-320b



在初诊患者血清中呈显著低表达, 健康成年人及治愈患者血清内表达较高(表1及图1B)。由于治愈患者血清较难收集, 后续验证实验中未采用该实验组。我们选用56个Sz血清与60个H血清, 进行miR-320a及miR-320b定量PCR检测。初诊患者相对于健康成年血清中miR-320a与miR-320b呈显著下调( $P<0.05$ , 图1C和图1D)。

## 2.2 生物信息学分析结果及ELISA检测血清中浓度

经文献搜索, 整合素家族成员在Sz病人的血小板中呈高表达<sup>[10]</sup>, 并在大脑的发育、神经回路的成熟及神经可塑性方面都有重要意义<sup>[11]</sup>。Targetsan在线工具分析结果提示, *ITGB1* 3'UTR有三个miR-320a的潜在作用靶点, 所在位置见图2A, 本研究中将它们分别命名为BS1、BS2和BS3。我们推测, *ITGB1*有可能受miR-320a调控, 在Sz的发病中发挥一定作用。

血清中*ITGB1* ELISA检测发现, Sz患者浓度高于健康成年人, 统计学具有显著性差异( $P<0.05$ , 图

2B)。

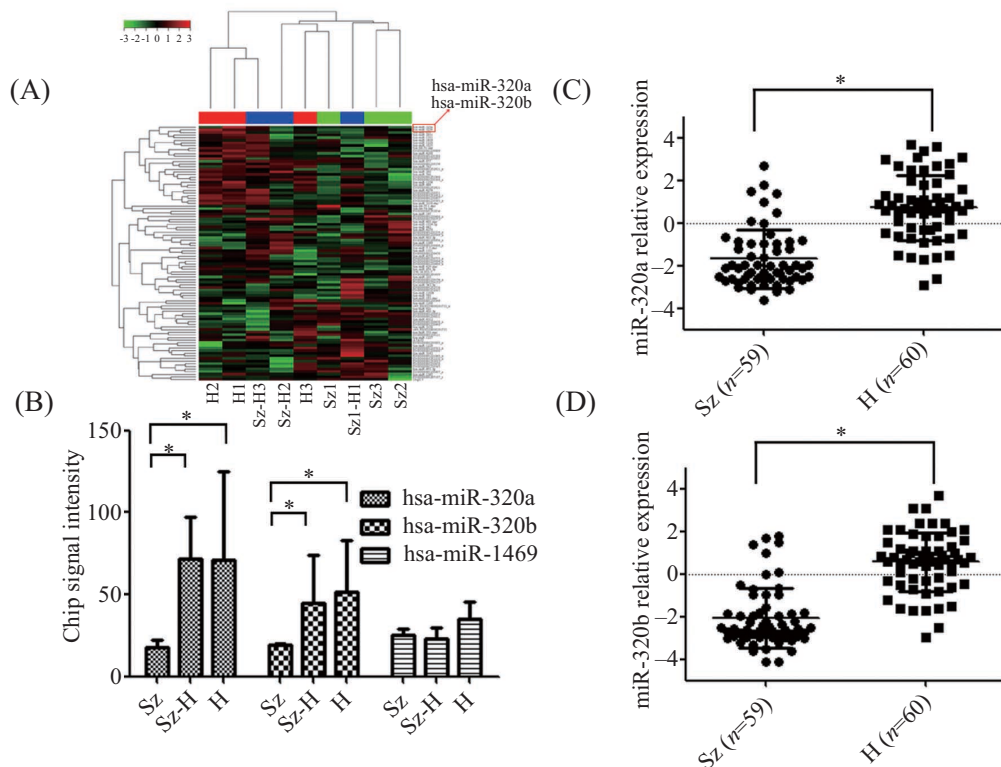
## 2.3 模拟物及抑制剂转染细胞后的*ITGB1*表达结果

人神经瘤母细胞系转染miR-320a的模拟物或抑制剂后, *ITGB1*的mRNA水平出现了显著的下调或上调, 而转染miR-320b的模拟物和抑制剂对*ITGB1* mRNA水平的影响不明显(图2C)。结果提示, miR-320a可能通过识别*ITGB1*的3'UTR, 使*ITGB1* mRNA稳定性下降。

免疫印迹试验同样提示, *ITGB1*蛋白水平受转染的miR-320a模拟物下调; 受miR-320a抑制剂上调(图2D)。

## 2.4 模拟物及抑制剂对*ITGB1* 3'UTR的调控能力影响

将*ITGB1* 3'UTR的三个识别位点(BS1、BS2、BS3)区域的基因序列分别或一起克隆入pmiR-RB-Report载体, 并与miR-320a模拟物或抑制剂共转染HER293细胞。实验显示, 转染miR-320a模拟物对*ITGB1*-BS1+2+3-Report的荧光素酶活性抑制效果最



A: 芯片结果热图; B: 部分芯片数据的柱状图; C: Sz与H血清样本的miR-320a定量检测; D: Sz与H血清样本的miR-320b定量检测。Sz: 未治疗的初诊患者; Sz-H: 治愈的患者; H: 健康成年人。\* $P<0.05$ 。

A: heatmap of chip result; B: part of the chip result shown by bar chart; C: quantitative analysis of miR-320a in Sz and H serum specimens; D: quantitative analysis of miR-320b in Sz and H serum specimens. Sz: schizophrenia patients without treatments; Sz-H: cured schizophrenia patients; H: healthy adults.\* $P<0.05$ .

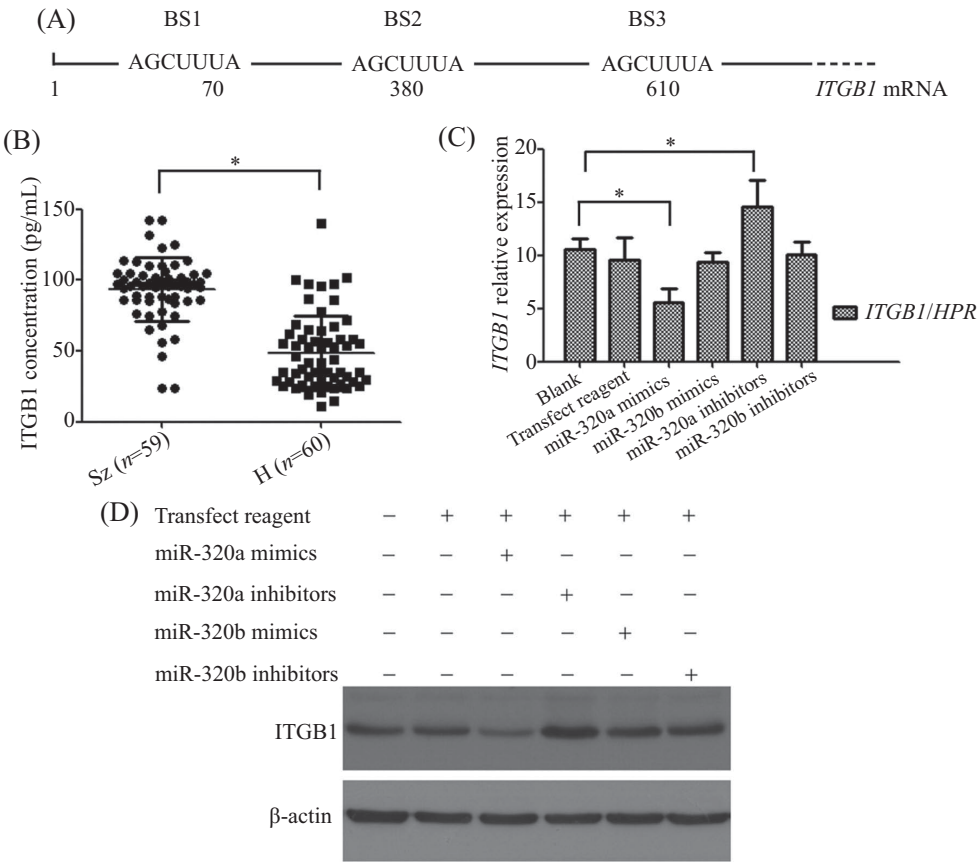
图1 芯片结果及荧光定量PCR验证

Fig.1 Chip results and Real-time PCR validation

表1 芯片中相关miRNA的信号值  
Table 1 miRNA signal from chip analysis

| 病人分组   | 编号    | 性别  | 年龄  | hsa-miR-320a | hsa-miR-320b | hsa-miR-1469 |
|--------|-------|-----|-----|--------------|--------------|--------------|
| Groups | No.   | Sex | Age |              |              |              |
| Sz     | Sz1   | M   | 19  | 23.69        | 18.90        | 19.72        |
|        | Sz2   | M   | 27  | 18.91        | 20.39        | 27.81        |
|        | Sz3   | F   | 17  | 14.67        | 19.60        | 27.80        |
|        | Sz4   | F   | 24  | 14.46        | 18.99        | 26.29        |
| Sz-H   | Sz-H1 | M   | 36  | 84.19        | 31.69        | 19.35        |
|        | Sz-H2 | F   | 27  | 88.52        | 78.07        | 30.77        |
|        | Sz-H3 | F   | 28  | 41.98        | 23.95        | 18.09        |
| H      | H1    | F   | 33  | 67.09        | 54.58        | 35.76        |
|        | H2    | M   | 46  | 126.46       | 81.32        | 45.04        |
|        | H3    | M   | 32  | 18.94        | 17.79        | 25.02        |

Sz: 未治疗的初诊患者; Sz-H: 治愈的患者; H: 健康成年人; M: 男性; F: 女性。  
Sz: schizophrenia patients without treatments; Sz-H: cured schizophrenia patients; H: healthy adults; M: male; F: female.

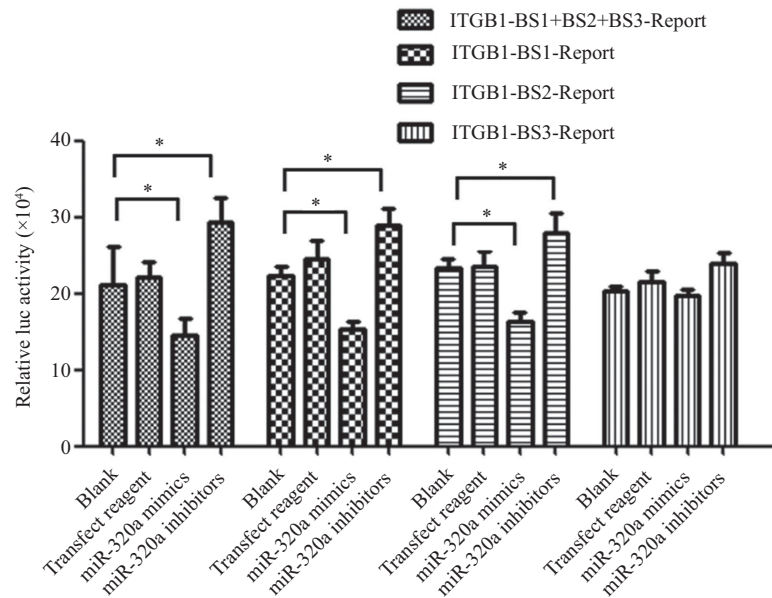


A: *ITGB1* 3'UTR miR-320a结合位点图; B: Sz与H血清样本的ITGB1浓度检测; C: 细胞处理后的*ITGB1* mRNA表达检测; D: 细胞处理后的ITGB1免疫印迹检测。\* $P<0.05$ 。  
A: diagram of miR-320a binding sites in *ITGB1* 3'UTR; B: ITGB1 concentrations in Sz and H serum specimens; C: *ITGB1* mRNA levels in cells after treatments; D: Western blot results of cells after treatments. \* $P<0.05$ .

图2 miRNA功能实验  
Fig.2 Functional study of the interested miRNA

明显, 对ITGB1-BS1-Report、ITGB1-BS2-Report有一定程度抑制, 但对ITGB1-BS3-Report的效果不明显。当细胞转染抑制剂后, 得到类似的效应(图3)。

3 讨论  
细胞外基质(extracellular matrix, ECM)为细胞外微环境的重要组成成分, 与中枢神经系统的发育,



\* $P < 0.05$ .

图3 荧光素酶活性检测  
Fig.3 Luciferase activity assay

神经回路的成熟及神经可塑性等重要生理功能密切相关<sup>[11]</sup>。神经回路的成熟障碍如神经元间连接不稳定等是Sz发病的主要病理生理机制。其中, 围神经元网络组织(perineuronal net, PNN)和Reelin蛋白质是与之相关的重要胞外基质成分<sup>[12]</sup>。PNN可通过维持兴奋和抑制传输之间的平衡, 稳定突触间的接触。在Sz患者的尸体解剖脑组织标本中, PNN成分呈明显的下降, 其中, 如聚集蛋白聚糖、多能聚糖、基质金属蛋白酶等出现了异常表达<sup>[13]</sup>。Reelin蛋白质在患者部分大脑区域呈低表达, 提示可能和谷氨酸盐代谢有关<sup>[14]</sup>。

整合素(integrins)是ECM的重要成分, 和 $\beta$ 亚基组成的二聚体, 具有双向传导细胞内外信号功能的跨膜受体蛋白。整合素与肿瘤细胞的很多功能相关, 如侵袭、转移、耐药、自噬等<sup>[15]</sup>。整合素在中枢神经系统中的功能研究也有开展。研究发现, 整合素在缺陷性休克后大脑内上皮细胞的血管生成反应中发挥作用, 可能成为临床治疗的作用靶点<sup>[16]</sup>。整合素与神经系统疾病的相关性研究已有报道<sup>[11]</sup>, 但在Sz中有关整合素的研究较少。2002年, 有研究发现, Sz病人的外周血中有整合素 $\alpha$ (IIb) $\beta$ (IIIa)显著升高, 并认为可能与Sz病人心血管疾病高发有关<sup>[10]</sup>, 其具体的作用机制不明确。本研究具有类似的发现: Sz患者血清中ITGB1浓度显著高于健康成年人血清。

有趣的是, 本研究运用芯片分析发现了miR-320a与miR-320b浓度显著改变, 并通过生物信息检索, 推测ITGB1的表达有可能受miR-320a的调控。这一发现可能具有辅助临床诊断的潜力。关注治疗过程中它们的浓度变化, 对精神疾病的治疗评估也具有潜在的临床应用价值。

本研究在细胞水平首次证实了miR-320a可能是通过结合于ITGB1 mRNA 3'UTR的结合位点调控ITGB1的蛋白质水平。荧光素报告基因实验发现, 70 bp位点(BS1)和380 bp位点(BS2)起主要功能, 而610 bp位点(BS3)功能较弱。可能是由于miRNA对靶序列的识别, 需要一定空间结构域, 本研究所克隆的610 bp(BS3)位点序列比较短, 造成识别困难。芯片研究发现, miR-320b在Sz病人血清中呈较高水平, 但其模拟物和抑制剂在细胞水平对ITGB1并没有明显的调控作用。经生物信息学检索, 未发现ITGB1 mRNA 3'UTR具有miR-320b的特异性结合位点, 这与实验结果相符。从另一角度讲, miR-320b的阴性结果, 证明了miR-320a对ITGB1的调控具有较高特异性。

本研究证实, Sz患者血清中miR-320a水平发生显著变化, 其可通过结合于ITGB1 mRNA 3'UTR对靶基因进行表达调控。这为Sz发病机制的研究添加了一些新思路, 在对更多临床样本进行分析的基础

上, 此项发现有可能为Sz早期诊断和治疗研究提供潜在的靶点。

### 参考文献 (References)

- 1 Tandon R, Keshavan MS, Nasrallah HA. Schizophrenia, “just the facts” what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. *Schizophr Res* 2008; 102(1/2/3): 1-18.
- 2 Oertel-Knochel V, Bittner RA, Knochel C, Prvulovic D, Hampel H. Discovery and development of integrative biological markers for schizophrenia. *Prog Neurobiol* 2011; 95(4): 686-702.
- 3 姜 伟, 王开正, 白克镇, 邓 剑, 蔡美珠. 精神分裂症患者血清蛋白标志物的临床应用研究. *中国神经精神疾病杂志*(Jiang Wei, Wang Kaizheng, Deng Jian, Cai Meizhu, Bai Kezhen. Study on the clinical application of serum protein markers in schizophrenia patients. *Chinese Journal of Nervous and Mental Disease*) 2008; 34(1): 27-30.
- 4 Hommers LG, Domschke K, Deckert J. Heterogeneity and individuality: microRNAs in mental disorders. *J Neural Transm (Vienna)* 2015; 122(1): 79-97.
- 5 Lai CY, Yu SL, Hsieh MH, Chen CH, Chen HY, Wen CC, *et al.* MicroRNA expression aberration as potential peripheral blood biomarkers for schizophrenia. *PLoS One* 2011; 6(6): e21635.
- 6 Wei H, Yuan Y, Liu S, Wang C, Yang F, Lu Z, *et al.* Detection of circulating miRNA levels in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2015; 172(11): 1141-7.
- 7 Gardiner E, Beveridge NJ, Wu JQ, Carr V, Scott RJ, Tooney PA, *et al.* Imprinted DLK1-DIO3 region of 14q32 defines a schizophrenia-associated miRNA signature in peripheral blood mononuclear cells. *Mol Psychiatry* 2012; 17(8): 827-40.
- 8 Rizos E, Siafakas N, Katsantoni E, Skourti E, Salpeas V, Rizos I, *et al.* Let-7, mir-98 and mir-183 as biomarkers for cancer and schizophrenia [corrected]. *PLoS One* 2015; 10(4): e0123522.
- 9 Agarwal V, Bell GW, Nam JW, Bartel DP. Predicting effective microRNA target sites in mammalian mRNAs. *Elife* 2015; 4: e05005.
- 10 Walsh MT, Ryan M, Hillmann A, Condren R, Kenny D, Dinan T, *et al.* Elevated expression of integrin alpha(IIb) beta(IIIa) in drug-naive, first-episode schizophrenic patients. *Biol Psychiatry* 2002; 52(9): 874-9.
- 11 Lubbers BR, Smit AB, Spijker S, van den Oever MC. Neural ECM in addiction, schizophrenia, and mood disorder. *Prog Brain Res* 2014; 214: 263-84.
- 12 Mauney SA, Athanas KM, Pantazopoulos H, Shaskan N, Passeri E, Berretta S, *et al.* Developmental pattern of perineuronal nets in the human prefrontal cortex and their deficit in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2013; 74(6): 427-35.
- 13 Pietersen CY, Mauney SA, Kim SS, Lim MP, Rooney RJ, Goldstein JM, *et al.* Molecular profiles of pyramidal neurons in the superior temporal cortex in schizophrenia. *J Neurogenet* 2014; 28(1/2): 53-69.
- 14 Folsom TD, Fatemi SH. The involvement of Reelin in neurodevelopmental disorders. *Neuropharmacology* 2013; 68: 122-35.
- 15 de Franceschi N, Hamidi H, Alanko J, Sahgal P, Ivaska J. Integrin traffic - the update. *J Cell Sci* 2015; 128(5): 839-52.
- 16 Guell K, Bix GJ. Brain endothelial cell specific integrins and ischemic stroke. *Expert Rev Neurother* 2014; 14(11): 1287-92.