doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.20.049

miRNAs 生物合成过程的调控 *

濮龙军[1] 王 晶[1] 李鹏涛[1] 董 振[2] 郭华荣[1△]

（1 中国海洋大学海洋生命学院 山东 青岛 266003；2 西南大学家蚕基因组国家重点实验室 重庆 400716）

摘要：miRNAs 是一类短的（20-23nt）非编码的单链 RNA 分子，在转录后水平上通过抑制靶基因的表达而影响生物体的生长、发育以及癌症发生。miRNAs 的成熟需要一系列大型蛋白复合体参与的协同加工，目前对 miRNAs 生物合成过程调控的研究还处于初始阶段。本文主要综述了影响 miRNAs 的生物合成过程及活性的因素以及相关调控机制。癌症的发生通常伴随着异常的 miRNAs 表达谱，miRNAs 生物合成调控机制的深入研究必将为癌症的基因治疗技术以及新型疗法的开发提供重要的理论基础和指导意义。

关键词：miRNAs；生物合成；过程；调控；癌症

中图分类号：Q279 **文献标识码**：A **文章编号**：1673-6273（2014）20-3982-06

Regulation of miRNAs Biosynthesis Process*

PU Long-jun[1], WANG Jing[1], LI Peng-tao [1], DONG Zhen[2], GUO Hua-rong[1△]

(1Department of Marine Life,Ocean University of China, Qingdao, Shandong, 266003, China; 2 State Key Laboratory of Silkworm Genome Biology, Institute of Sericulture and Systems Biology, Southwest University, Chongqing, 400716, China)

ABSTRACT: MicroRNAs(miRNAs) are short(20-23-nucleotide), non-coding and single-stranded RNA molecules which regulate target gene expression at the post-transcriptional level to affect organisms' growth, development and cancer occurence. The maturity of miRNAs need a series of collaborative process mediated by large protein complexes and researches of miRNAs biosynthesis and activity controlare still in initial stage at present. This review mainly discusses the influencing factors of miRNAs biosynthesis and activity and relevant regulation mechanism. Cancer occurrence is usually accompanied by abnormal miRNAs expression profile, and further study for regulation mechanism of miRNAs biosynthesis will surely provide important theoretical basis and guidance for gene therapy of cancer and development of new technology.

Key words: miRNAs; Biosynthesis; Process; Regulation; Cancer

Chinese Library Classification(CLC): Q279 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2014)20-3982-06

前言

miRNAs 是一类短的（20-23nt）内源性单链 RNA 分子，由真核生物基因组中非蛋白编码区中 ncRNA 基因编码并在转录后水平调控靶基因表达[1]。成熟的 miRNAs 在 Ago 蛋白的引导下与 RNA 诱导的沉默复合体（RNA-Induced silencing complex，RISC）结合，通过 miRNAs 5’末端与靶 mRNA 3’非翻译区（3’UTR）形成碱基互补配对阻止靶 mRNA 的翻译的起始或蛋白链的延长[2,3]。另外有些靶 mRNA 由于 RISC 阻碍其翻译，后转运到加工小体（p-bodies）进行降解[4]。计算生物学预测人类 60% 的蛋白质编码基因的 3’UTR 区含有 miRNAs 的结合位点，同时蛋白质组学研究表明一种 miRNA 可能就存在几十种甚至上百种目标 mRNA[5,6]。细胞内许多信号传导通路都受到 miRNAs 的调控，miRNA 的异常表达会影响细胞的乃至整个个体的表型，如细胞的分化和增殖、代谢甚至与癌症的产生具有密不可分的关系。

在不同的生物体，组织，细胞类型以及发育时期，miRNAs 生物合成调控导致各异的 miRNAs 表达谱，这些不同的表达谱共同调控着整个基因网络的平衡。同基因组上蛋白编码基因一样，miRNAs 基因的转录也受到表观遗传因子以及转录因子的调控。而且 pri-miRNAs、pre-miRNAs 以及成熟的 miRNAs 表达水平的非一致性表明 miRNAs 在转录后水平上也具有一定的调控体系。近些年关于 miRNAs 的研究主要集中其介导的转录后水平上靶基因表达调控机制这一方面，miRNAs 的成熟以及生物合成过程调控的研究还处于初始阶段。综合近年来的研究成果，本文主要介绍 miRNAs 生物合成过程的调控因子以及调控机制两方面内容，如 Drosha 和 Dicer 活性调控因子、SNPs 的存在对 miRNAs 合成的调控等。

1miRNAs 的生物合成过程

真核生物中 miRNAs 基因在基因组上广泛分布，大约 50% 的 miRNAs 基因分布在非编码 RNA 转录区，研究表明这类 miRNAs 基因可能存在独立的启动子进行转录[7]。另外大约 40%的 miRNAs 起源于蛋白质编码区的内含子中[8]，这些基因同内含子的转录方向一致且大部分与蛋白质编码基因共转录

* 基金项目：国家自然科学基金项目（31172391）

作者简介：濮龙军（1990-），男，硕士研究生，主要研究方向：分子细胞生物学，E-mail:pulongjun_cool@126.com

△通讯作者：郭华荣，女，副教授，主要研究方向：分子细胞生物学，E-mail: huarongguo@ouc.edu.cn

（收稿日期：2013-11-02 接受日期：2013-12-01）

[9]。以果蝇为研究对象发现大部分 miRNAs 由 RNA 聚合酶Ⅱ转录且同 mRNA 一样转录出的产物 5’端具有甲基化的帽子，3’端具有多聚腺苷酸尾巴[10,11]。,许多 miRNAs 基因是以成簇串联的形式排列在基因组上且串联的 miRNAs 基因数目为 2-19 不等,通常这些成簇基因由一个共同的启动子转录成多顺反子[12]。最近,song 等人[13]发现在老鼠中发现 *miR-433* 以及 *miR-127* 这种以成簇形式存在的 miRNAs 基因也可以单独进行转录。

miRNAs 基因进化具有保守性,转录后的 miRNAs 序列含两个有序的核酸内切酶位点，即 RNaseⅢ家族中的 Dorsha 和 Dicer 酶切位点。miRNAs 的生物合成过程主要包括以下几个步骤[12]:(1)miRNAs 基因经 RNA 聚合酶Ⅱ转录形成初级转录产物(pri-miRNAs);(2)pri-miRNAs 在 Dorsha 蛋白的作用下形成一个含 60-100 个核苷酸且具有发夹结构的前体 miRNAs(pre-miRNA);(3)pre-miRNAs 在 exportin-5 和 Ran-GTP 的作用下，由细胞核转运到细胞质中。由细胞质中 Dicer 识别 pre-miRNA 的双链部分将其茎环基部的两圈螺旋解开，随后 Dicer 对两条链均进行切割将前体 miRNAs 的其余部分切除，生成一个大约为 22 nt 的 5’端磷酸化、3’端有 2nt 突出的不完全配对双链 RNA 中间体。(4)成熟的 miRNAs* 继而被降解,成熟的 miRNAs 结合到 RISC 上参与靶基因的表达调控。最近很多研究表明 miRNAs 生物合成的每一步都有精密的调控机制参与从而影响其在生物体内的表达模式。

2 miRNA 基因转录水平调控

miRNAs 的成熟需要复杂的加工过程，也就意味着 miRNAs 的加工存在多层次的调控。其中 RNA 聚合酶Ⅱ的转录是一个重要的合成过程调控点,RNA 聚合酶受到广泛的调控而结合到特异的启动和终止原件上选择性的表达特异的 miRNAs。这个过程涉及很多转录调控因子，如 c-Myc、p53 以及 miRNAs 基因启动子的甲基化。

2.1 c-Myc 的调控

原癌基因 c-Myc 编码的蛋白是一类具有转录激活区,非特异 DNA 结合区,核靶序列,碱性区,螺旋一环一螺旋(HLH)及亮氨酸拉链区的转录因子。人体中 *c-Myc* 基因控制着 10-15% 的基因表达以调控细胞的生长与凋亡[14],许多癌细胞中 *c-Myc* 基因均表达异常且伴有相关基因不同程度地转录激活或抑制[15]。最近研究表明,*c-Myc* 也具有调控 miRNA 基因表达的功能[16,17]，如 C-Myc 能结合到启动子的 E-boxes 上活化 *miR-17-92* 的转录[16]。癌细胞中 *c-Myc* 基因的活化导致 *miR-17-92* 的高表达以及 *c-Myc* 对 *E2F1* 转录的促进作用表明了 *c-Myc* 通过同时调控 miRNA 和 mRNA 的表达来共同控制细胞周期的。除了活化相关基因的转录外,*c-Myc* 还可以减弱一些肿瘤抑制 miRNAs 基因的表达[17]。在淋巴瘤细胞中外源表达 *c-Myc* 蛋白基因抑制的 miRNAs 能够减缓细胞生长,表明 *c-Myc* 表达异常诱导肿瘤发生的一个重要机制就是通过下调一系列相关的 miRNAs 基因的表达来实现的[17]。同时,Chang 等人[18]发现 *c-Myc* 能够促进 *Lin-28B* 的转录从而实现 *Lin-28B* 在转录后水平上抑制 *let-7* 家族成员的表达。

2.2 相关转录因子调控网络

蛋白编码基因的组织特异性表达谱受复杂的转录因子调控网络控制从而决定特定的组织中细胞的分化与生长状况。同样地,miRNAs 的表达也存在组织特异性，而且这种特异性的表达也受到多种转录因子的调控。.

最近 van rooij 等[19]发现血清应答因子(SRF)肌细胞增强因子 2(MEF2)与肌细胞特异性的螺旋 - 环 - 螺旋结构转录因子的协作,如 Myf-5、MyoD 以及 Myogenin[20]能够促进几种肌细胞特异性的 miRNAs 的转录,包括 *miR-1, -133, -206,* and *-208*。Fukao 等人的研究结果表明肌细胞中 *miR-223* 基因被转录因子 C/EBP 和 PU.1 激活[21]。在一些组织特异性的 miRNAs 的负调控中,一些转录因子也起到重要调控作用。如 miR-124 在脑中是过量表达的,通常 RE1 转录沉默因子(REST)会结合到基因的启动子上抑制其表达 [22]。同时生物信息学分析表明 miRNAs 对转录调控因子存在普遍的偏好性,表明 miRNAs 的组织特异性的表达调控涉及复杂的调控因子网络[23]。

2.3 表观遗传调控

蛋白质编码基因存在很大程度的表观遗传调控,这种调控机制对 miRNAs 基因的转录调控同样适用。癌细胞中抑癌基因 DNA 序列甲基化异常经常发生，同时发现几个 miRNAs 基因如 *miR-9-1, -193a, -137, -342, -203 and -34b/c* 的超甲基化现象十分明显[24,25]。研究表明肺腺癌细胞中 *let-7a-3* 位点的低甲基化状态导致 *let-7a-3* 基因的高表达能引起相关癌基因转录水平的升高[26]。miRNAs 的启动子区域还受到组蛋白修饰的调控,组蛋白脱乙酰化酶抑制蛋白被报道能够上调一系列 miRNAs 表达[27,28]。另外，在用组蛋白脱乙酰化抑制酶处理的乳腺癌细胞系 SKBr3 中发现 32 中成熟的 miRNAs 表达量都显著下调[29]。在正常的发育个体中,组蛋白 H3 56 号赖氨酸的乙酰化可引起多个与胚胎干细胞全能性相关的基因表达以及 13 个 miRNAs 的高表达[30]。

3 Drosha/ Dicer 活性调控

miRNAs 基因经过转录形成 pri-miRNAs 后需要经过一系列转录后的加工过程才能形成成熟的 miRNA。许多转录后的加工因子参与该过程且每个加工因子都是一个重要的调控点,通过调控因子活性从而实现成熟 miRNAs 的正常表达。

3.1 Drosha 活性的调节

Drosha 是一种 RNase Ⅲ，与双链 RNA 结合蛋白(double-stranded RNA binding protein,DGCR8）一起构成蛋白复合体将 pri-miRNAs 加工剪切成 pre-miRNAs。然而,Drosha 和 DGCR8 组成的复合体经常被发现存在于更大的复合体中,这些复合体还含有 DEAD-box RNA 解旋酶 P68 (DDX5), P72 (DDX17), Smad 蛋白,P53,核因子 90,45(NF90,NF45),KH 型剪接调节蛋白(*KSRP*)等[31]。

通过微阵列芯片技术发现小鼠胚胎成纤维细胞中 DEAD-box RNA 解旋酶 P68 (DDX5) 和 P72(DDX17) 的基因的敲除可阻止大约 35%(266 miRNAs 被检测)的 miRNAs 的成熟。同时 *p68/p72* 敲除导致细胞中 pre-miRNA 降低,而 pri-miRNAs 的表达水平不变，细胞提取物的体外试验发现 Drosha 活性衰减,RNA- 免疫沉淀的体内试验发现 Drosha 被阻止与 pri-miR-199a 结合执行加工功能[32]。Fukuda 等人还发现在 *p68/p72* 缺陷型的小鼠胚胎细胞内表达 *p68/p72* 能够实现有效的营救，即能够促进 Drosha 对胞内许多 miRNAs 的加工剪切[33]。*p68/p72* 已知能与多种蛋白相互作用,所以他们可能作为一种支架蛋白聚集更多的蛋白因子到 Drosha/DGCR8 复合体上[34,35]。 最近的研究表明,*p68/p72* 与其他蛋白的结合也能调节

Drosha 对特定 pri-miRNAs 的加工。Smads 是一类在转化生长因子 -β (TGF-β)家族信号级联放大过程中起信号传导作用的蛋白。利用酵母双杂交系统发现 Smads 蛋白与 P68 相互作用从而推断其可能参与 Drosha 的加工过程调节[36]。后来通过免疫共沉淀以及 RNA-CHIP 技术发现，经过转化生长因子 -β (TGF-β) 和骨形成蛋白（BMPs),Smads 蛋白结合在位于 *pri-mi-21* 发夹结构上的 Drosha/P68 的复合体中 [37]，同时发现 Smads 蛋白能够促进 Drosha 复合体与 *pri-mi-21* 的结合从而对其进行加工剪切。最近通过免疫共沉淀技术发现,同 Smads 蛋白相似,P53 作为一种肿瘤抑制蛋白能与 Drosha 及 p68 复合体相互作用,体外试验证明加入 P53 能够增强 Drosha 对 pri-miRNAs 的加工,而 p53 的突变体阻止 Drosha 复合体的组装[38]。同时,Drosha 的加工剪切还能够被雌激素受体（ER）刺激的 *p68/p72* 依耐性机制所阻止,如这种调控作用可以阻止 *miR-16, miR-125a, miR-143, miR-145, and miR-195* 等的加工[39]。

研究发现[40] Drosha/DGCR8 复合体与 NF45、NF90 蛋白也存在相互作用且这两种蛋白具有调控 miRNA 加工的作用。Sakamoto(2009)等人[41]在 293T 细胞中过量表达 NF90/NF45 导致 pri-let-7a-1, pri-miR-21, and pri-miR-15az16-1 的积累，但相应成熟的 miRNAs 没有改变，同时体外试验发现了同 Drosha 相比,NF45/NF90 与 pri-let-7a-1 具有更高的亲和力从而推测 NF45/NF90 是通过减少 Drosha/DGCR8 与 pri-miRNAs 接触机会来调控 miRNAs 加工效率的。

Pri-miRNAs 分子中存在一个环状区域，最近的研究表明 KH 型剪接调节蛋白(KSRP)能与 pri-miRNAs 环状区中富含鸟嘌呤位点相互作用[42]。Trabucchi 等人[42]还发现在 HeLa 细胞中瞬时敲除 KSRP 显著地阻止了一些成熟 miRNA 的表达水平。同时在 Drosha 以及 Dicer 蛋白复合体中均存在 KSRP, 表明 KSRP 能同时促进 Drosha 以及 Dicer 参与的 miRNAs 转录后加工过程。

有趣的是近几年研究者发现 Drosha 介导的 pri-miRNAs 的加工剪切对有些 miRNAs 的成熟不是必需的，即这些 miRNAs 可跳过 Drosha 的加工步骤，这类 miRNAs 也称 mitron。Mitron 起源于蛋白质编码区中的内含子中,经过蛋白质 mRNA 转录后的加工剪切从中释放出来,经过 lariat debranching 酶作用形成 pre-miRNAs 类似的发夹结构,然后绕过 Drosha 蛋白复合体的加工被直接转运到细胞质中进行 Dicer 加工[43,44]。这种 miRNAs 已在多个物种中被报道,如哺乳动物、黑蝠、果蝇、线虫等[43,45]。

3.2 Dicer 活性的调节

Dicer 是 RNase III 家族中特异识别双链 RNA 的一种,在真核生物体进化中高度保守。在 miRNAs 合成加工过程中,Dicer 与相关的蛋白因子相互作用加工剪切由细胞核转运出来的双链 pre-miRNAs。目前发现与 Dicer 相互作用的蛋白因子主要有 TAR RNA 结合蛋白（TRBP）、蛋白激酶 R 激活蛋白(PACT)以及 Ago2[46-48]。

Lee 和 *Chendrimada* 等人发现在 Dicer 蛋白复合体中去除 TRBP/ PACT 中的任何一种蛋白因子都会导致 Dicer 蛋白复合体的稳定性的降低[48,49]。同时在许多癌细胞中发现了 TRBP 蛋白的肽段缺失突变体、相应的 miRNAs 表达水平的降低以及 Dicer 蛋白复合体显著地不稳定性[50],表明 Dicer 与 TRBP 的相互作用对 Dicer 蛋白复合体是十分重要的。后来又发现这种与 Dicer 蛋白复合体结合 TRBP 蛋白通常是处于磷酸化状态的.在 HeLa 细胞中表达拟磷酸化的 TRBP 导致一些促生作用的 miRNAs 的表达水平提高,如 *miR-17*、*miR-20a*、*miR-92*[51]。

Ago2 是 Ago 家族蛋白(Ago1-4)的一种,且该蛋白具有 RNA 裂解活性。研究表明在体内 Ago2 与 Dicer 以及 TRBP/PACT 相结合形成 RISC 装载复合体（RLC）催化 pre-miRNAs 的断裂以及组装到 RISC 复合体上 [49]。体外由 Dicer、TRBP 及 Ago2 组成的复合体能有效的行驶 pre-miRNAs 的断裂功能[52,53]。*Diederichs* 和 *Haber* 等人[54]发现异位表达 Ago2 基因能够增加一些 miRNAs 的表达，如 *miR-215, miR-17-5p, miR-23b, and miR-92*.然而目前对 Ago2 具体的调控机制以及特异性还不清楚。此外,Lin28 在细胞质中含量较高以及体外试验中加入纯化的 Lin28 可以降低 *let-7* 与 Dicer 的相互作用表明在 Drosha 加工过程中起作用的 Lin-28 在 Dicer 对 *let-7* 家族 miRNAs 加工过程中同样起到一定调控作用。

最近 Blerta 等人[55]发表了关于 miRNAs 合成加工过程调控的另一重要成果。他们发现一种新型的甲基转移酶 BCDIN3D 能够使 pre-miRNAs 的 5'磷酸末端的氧负离子甲基化,这种甲基化的形式阻止了 Dicer 对其进行剪切从而达到调节体内 miRNAs 表达水平的作用。同时在乳腺癌细胞内发现这种 BCDIN3D 异常表达，导致许多 miRNAs 水平降低,如 *miR-10b*,*miR-21*,*miR-125b*,*miR-145*,*miR-155*。

研究表明还存在许多未知的蛋白因子调控 Dicer 的活性[56],同时 Dicer 自身转录表达是一个重要的调控点。生物信息学分析发现 Dicer 基因的 5'UTR 区含有一个可变剪切的外显子,Dicer 在不同组织中存在一定的特异性,其 mRNA 不同剪切方式可影响不同组织中其翻译效率从而调控 miRNAs 的加工。

4 Exportin-5-Ran-GTP 介导的 pre-miRNA 转运调控

含发夹结构的 pre-miRNAs 首先在细胞核中合成，在 Exportin-5 转运蛋白以及 GTPase-Ran 的作用下由细胞核运送到细胞质中[57]。Exportin 正确结合到 pre-miRNAs 需要至少 16bp 形成的双链 RNA 结构,同时经过 Drosha 加工形成的 pre-miRNAs 3'末端突出能增强 Exportin-5 与双链 RNA 结构的相互作用[58,59]。Exportin-5 的敲除试验引起细胞质中 miRNAs 水平降低[57]。反之,Exportin-5 的过量表达可以增强 miRNAs 的活性以及表达量[60]。,Drosha 蛋白复合体的加工以及 Exportin-5 自身的表达调控直接影响 Exportin-5 的转运效率以及后续的合成过程。

5 单核苷酸多态性(SNP)影响 miRNAs 合成过程

SNP 是基因组水平上由于单个核苷酸变异而引起的 DNA 序列的多态性。miRNAs 基因中的 SNPs 以及 pri-miRNAs 序列中点突变都会改变 pri-miRNAs 的二级结构从而影响 miRNAs 的加工。*Duan* 等人 [61] 通过系统生物学的方法在 227 个人类 miRNAs 基因中鉴定了 323 个 SNPs 位点,, 利用 miR-125a 基因中的一个 SNP 位点,将两种分别带有 mi-125a 前体突变基因的质粒转染到 HEK293T 细胞中,其中一个能产生成熟的 miRNA-125a，另一种 miRNA 的加工被阻止在 pri-miRNA 向 pre-miRNA 转变的过程中，表明 SNP 的存在影响了 Drosha/DGCR8 复合体与 pri-miRNAs 的结合效率。后来在肺癌

细胞又发现含有 C/T SNP 位点的 *miR-196a* 前体表达水平相当,然而成熟的 *miR-196a* 的含量存在很大的差异,表明 SNPs 的存在也能改变 pre-miRNAs 的加工效率,可能是通过影响了 pre-miRNAs 的出核运输或 Dicer 的加工而实现的 [62]。同时,miRNAs 靶基因的 3'UTR 的 SNP 位点引起的 mRNA 结构的改变能影响其与 miRNA 的结合从而使得 miRNAs 功能丧失。综上所述,SNPs 的存在对 miRNAs 的加工以及功能执行具有重要意义。

6 RNA 编辑对 miRNAs 加工的调控

miRNAs 基因序列上 SNPs 对 miRNAs 的加工合成具有重要的调控作用,同时研究也发现 miRNAs 基因转录本上由腺苷脱氨酶(ADARs)作用引起的 RNA 编辑也会影响 miRNAs 的加工过程。这种酶作用于双链 RNA 结构将腺苷转换成次黄嘌呤核苷[63-65]。*Luciano* 等人[66]第一次在 pri-miR-22 中报道了这种形式的 RNA 编辑且编辑的位点位于 Drosha 剪切位点附近。另外 *Yang* 等人 [67] 发现在体外 pri-miR-142 也能被 ADAR1 和 ADAR2 作用而进行 RNA 编辑,且这种腺苷位点转变成次黄嘌呤核苷位点的 RNA 编辑形式导致 HEK293 细胞中 pri-miR-142 的 Drosha 加工过程受阻。ADAR 编辑也能阻止 Dicer 蛋白复合体的加工效率。pri-miR-151 在体外经过 ADAR1 处理后发现编辑的 pre-miR-151 得到了积累,表明 ADAR1 的处理不是影响 pri-miRNA 到 pre-miRNA 的加工而是阻止了 pre-miRNA 向成熟的 miRNA 转变,尽管 Dicer-TRBP 复合体与 pre-miRNA 之间存在有效的结合,但是 pre-miRNA 的剪切以及成熟 miRNA 的释放过程被阻止。同时 ADAR 主要存在于细胞核内,表明其靶位点主要存在于 pri-miRNA 以及未转运出核的 pre-miRNA 上。

7 结语

miRNA 的生物合成需要经历多个蛋白复合体的协同加工,如特定序列的剪切、出核运输以及将成熟 miRNA 组装到 RISC 复合体上等。越来越多的研究表明这些加工过程的每一步都是一个重要的合成调控点。

现在清楚地知道一些蛋白(P53, SMADs)调控 miRNAs 基因的转录,而一些蛋白调控因子(KSRP)参与 miRNAs 基因转录后产物的稳定。一些特定的 miRNAs 的调控还需要转录后水平上复杂的调控网络,这种调控的结果可能是产生一个应对细胞环境变化的快速应答机制以作用特定的 mRNA 控制相关基因的表达。

越来越多的研究发现与正常的细胞相比,异常的 miRNAs 表达谱是许多癌细胞的一个重要特征,主要表现为细胞内几乎所有 miRNAs 表达水平的降低 [68-70],然而肿瘤细胞中具体的 miRNAs 合成调控机制还不清楚。同时,miRNAs 生物合成过程的紊乱也会导致细胞的癌症发生。Kumar 等人[71]发现 Drosha、DGCR8 或 Dicer 的敲除能促进正常细胞向肿瘤细胞转化,表明癌细胞中 miRNAs 的表达异常与其加工调控缺陷有关。癌细胞中 miRNAs 表达调控将成为研究癌症发生的一个重要的着眼点,miRNAs 的异常表达及调控机制可能会成为新型癌症治疗方法的理论基础。在不久的将来,基于 small RNA 基因沉默技术的治疗将成为科学和临床上研究的热点,然而 small RNA 行使功能更多的是依赖于内在的 miRNA 作用路径。因此清楚地了解 miRNAs 的合成调控过程将是开发并成功应用基于 RNAi 技术药物的先决条件。

目前,在细胞中还存在许多未知的 miRNAs 表达水平调控因子,发现并解释这些调控因子的存在方式以及作用机制将是未来一段时间 miRNAs 合成调控领域的研究核心以及亟待解决的问题。

参 考 文 献(References)

[1] Bartel, DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297

[2] Pillai RS, Bhattacharyya SN, Artus CG, et al. Inhibition of translational initiation by Let-7 MicroRNA in human cells [J]. Science, 2005, 309(5740): 1573-1576

[3] Humphreys DT, Westman BJ, Martin DI, et al. MicroRNAs control translation initiation by inhibiting eukaryotic initiation factor 4E/cap and poly(A) tail function[J]. ProcNatlAcad Sci USA, 2005, 102(47): 16961-16966

[4] Bhattacharyya SN, Habermacher R, Martine U, et al. Relief of microRNA-mediated translational repression in human cells subjected to stress[J]. Cell, 2006, 125(6): 1111-1124

[5] Selbach M, Schwanhausser B, Thierfelder N, et al.Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs[J]. Nature, 2008, 455:58-63

[6] Friedman RC, Farh KK, Burge CB, et al. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs[J]. Genome Res ,2009, 19:92-105

[7] Saini HK, Griffiths-Jones S, Enright AJ. Genomic analysis of human microRNA transcripts[J]. ProcNatl Acad Sci USA, 2007, 104(45):17719-17724

[8] Baskerville S, Bartel DP. Microarray profiling of microRNAs reveals frequent coexpression with neighboring miRNAs and host genes[J]. RNA, 2005, 11: 241-247

[9] Rodriguez A, Griffiths-Jones S, Ashurst JL, et al. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units [J]. Genome Res, 2004, 14: 1902-1910

[10] Lee Y, Kim M, Han JJ, et al. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II[J]. EMBO J, 2004, 23: 4051-4060

[11] Cai X, Hagedorn CH, Cullen BR. Human microRNAs are processed from capped, polyadenylated transcripts that can also function as [49] Chendrimada TP, Gregory RI, Kumaraswamy E, et al. TRBP recruits the Dicer complex to Ago2 for microRNA processing and gene silencing[J]. Nature, 2005, 436: 740-744

[11] Cai X, Hagedorn CH, Cullen BR. Human microRNAs are processed from capped, polyadenylated transcripts that can also function as mRNAs[J]. RNA, 2004, 10: 1957-1966

[12] Brandi ND, Akiko H. Regulation of MicroRNA Biogenesis: A miRiad of mechanisms[J]. Cell Communication and Signaling, 2009, 7(1): 18-40

[13] Song G, Wang L. MiR-433 and miR-127 arise from independent overlapping primary transcripts encoded by the miR-433-127 locus [J]. PLoS ONE, 2008, 3(10): e3574

[14] Eilers M, Eisenman RN. Myc's broad reach [J]. Genes Dev, 2008, 22: 2755-2766

[15] Meyer N, Penn LZ. Reflecting on 25 years with MYC [J]. Nat Rev Cancer, 2008, 8: 976-990

[16] O'Donnell KA, Wentzel EA, Zeller KI, et al. c-Myc-regu lated microRNAs modulate E2F1 expression[J]. Nature, 2005, 435: 839-8

43

[17] Chang TC, Yu D, Lee YS, et al. Widespread microRNA repression by Myc contributes to tumorigenesis[J]. Nat Genet ,2008, 40(1): 43-50

[18] Chang TC, Zeitels LR, Hwang HW, et al. Lin-28B transactivation is necessary for Myc-mediated let-7 repression and proliferation [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(9): 3384-3389

[19] Van Rooij E, Liu N, Olson EN. MicroRNAs flex their muscles [J]. Trends Genet, 2008, 24(4): 159-166

[20] Black BL, Olson EN. Transcriptional control of muscle development by myocyte enhancer factor-2 (MEF2) proteins [J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 1998, 14(1): 167-196

[21] Fukao T, Fukuda Y, Kiga K, et al. An evolutionarily conserved mechanism for microRNA-223 expression revealed by microRNA gene profiling[J]. Cell, 2007, 129(3): 617-631

[22] Conaco C, Otto S, Han JJ, et al. Reciprocal actions of RESTand a microRNA promote neuronal identity [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(7): 2422-2427

[23] Shalgi R, Lieber D, Oren M, et al. Global and local architecture of the mammalian microRNA-transcription factor regulatory network [J]. PLoS Comput Biol, 2007, 3(7): e131

[24] Lujambio A, Esteller M. How epigenetics can explain human metastasis: a new role for microRNAs [J]. Cell Cycle , 2009, 8(3): 377-382

[25] Lujambio A, Calin GA, Villanueva A, et al. A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis[J]. Proc Natl Acad Sci USA , 2008, 105(36): 13556-13561

[26] Brueckner B, Stresemann C, Kuner R, et al. The human let-7a-3 locus contains an epigenetically regulated microRNA gene with oncogenic function[J]. Cancer Res, 2007, 67: 1419-1423

[27] Nasser MW, Datta J, Nuovo G, et al. Down-regulation of micro-RNA-1 (miR-1) in lung cancer. Suppression of tumorigenic property of lung cancer cells and their sensitization to doxorubicin-induced apoptosis by miR-1 [J]. J Biol Chem, 2008, 283: 33394-33405

[28] Saito Y, Liang G, Egger G, et al. Specific activation of microRNA-127 with downregulation of the proto-oncogene BCL6 by chromatin-modifying drugs in human cancer cells[J]. Cancer Cell, 2006, 9(6):435-443

[29] Scott GK, Mattie MD, Berger CE, et al. Rapid alteration of microRNA levels by histone deacetylase inhibition [J]. Cancer Res, 2006, 66: 1277-1281

[30] Xie W, Song C, Young NL, et al. Histone h3 lysine 56 acetylation is linked to the core transcriptional network in human embryonic stem cells[J]. Mol Cell ,2009, 33(4): 417-427

[31] Gregory RI, Yan KP, Amuthan G, et al. The Microprocessor complex mediates the genesis of MicroRNAs[J]. Nature, 2004, 432: 235-240

[32] Fukuda T, Yamagata K, Fujiyama S, et al. DEAD-box RNA helicase subunits of the Drosha complex are required for processing of rRNA and a subset of microRNAs[J]. Nat Cell Biol, 2007, 9: 604-611

[33] Izabella SP, Selvi D, Bart JK, et al. MicroRNAs, macrocontrol: Regulation of miRNA processing[J]. RNA, 2010, 16: 1087-1095

[34] Fuller-Pace FV, Ali S. The DEAD box RNA helicases p68 (Ddx5) and p72 (Ddx17): novel transcriptional co-regulators[J]. Biochem Soc Trans, 2008, 36(6): 609-612

[35] Fuller-Pace FV. DExD/H box RNA helicases: multifunctional proteins with important roles in transcriptional regulation [J].Nucleic Acids Res, 2006, 34(15): 4206-4215

[36] Warner DR, Bhattacherjee V, Yin X, et al. Functional interaction between Smad, CREB binding protein, and p68 RNA helicase[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 324(1): 70-76

[37] Davis BN, Hilyard AC, Lagna G, et al. SMAD proteins control DROSHA-mediated microRNA maturation [J]. Nature, 2008, 454: 56-61

[38] Suzuki HI, Yamagata K, Sugimoto K, et al. Modulation of microRNA processing by p53[J]. Nature, 2009, 460: 529-533

[39] Yamagata K, Fujiyama S, Ito S, et al. Maturation of microRNA is hormonally regulated by a nuclear receptor[J]. Mol Cell, 2009, 36(2): 340-347

[40] Gregory RI, Yan KP, Amuthan G, et al. The Microprocessor complex mediates the genesis of MicroRNAs[J]. Nature, 2004, 432: 235-240

[41] Sakamoto S, Aoki K, Higuchi T, et al. The NF90-NF45 complex functions as a negative regulator in the microRNA processing pathway[J]. Mol Cell Biol, 2009, 29(13): 3754-3769

[42] Trabucchi M, Briata P, Garcia-Mayoral M, et al. The RNA-binding protein KSRP promotes the biogenesis of a subset of microRNAs[J]. Nature, 2009, 459: 1010-1014

[43] Okamura K, Hagen JW, Duan H, et al. The mirtron pathway generates microRNA-class regulatory RNAs in Drosophila [J]. Cell, 2007,130(1): 89-100

[44] Ruby JG., Jan CH, Bartel DP. Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing[J]. Nature, 2007, 448: 83-86

[45] Berezikov E., Chung WJ, Willis J, et al. Mammalian mirtron genes [J]. Mol. Cell, 2007, 28(2): 328-336

[46] Chendrimada TP, Gregory RI, Kumaraswamy E, et al. TRBP recruits the Dicer complex to Ago2 for microRNA processing and gene silencing[J]. Nature, 2005, 436: 740-744

[47] Haase AD, Jaskiewicz L, Zhang H, et al. TRBP, a regulator of cellular PKR and HIV-1virus expression, interacts with Dicer and functions in RNA silencing[J]. EMBO Rep, 2005, 6: 961-967

[48] Lee Y, Hur I, Park SY, et al. The role of PACT in the RNA silencing pathway[J]. EMBO J, 2006, 25: 522-532

[49] Chendrimada TP, Gregory RI, Kumaraswamy E, et al. TRBP recruits the Dicer complex to Ago2 for microRNA processing and gene silencing[J]. Nature, 2005, 436: 740-744

[50] Melo SA, Ropero S, Moutinho C, et al. A TARBP2 mutation in human cancer impairs microRNA processing and DICER1 function [J]. Nat Genet, 2009, 41: 365-370

[51] Paroo Z, Ye X, Chen S, et al. Phosphorylation of the human microRNA-generating complex mediates MAPK/Erk signaling [J]. Cell, 2009, 139(1): 112-122

[52] Maniataki E, Mourelatos Z. A human, ATP-independent, RISC assembly machine fueled by pre-miRNA[J]. Genes Dev, 2005, 19: 2979-2990

[53] MacRae IJ, Ma E, Zhou M, et al. In vitro reconstitution of the human RISC-loading complex[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(2):512-517

[54] Diederichs S, Haber DA. Dual role for argonautes in microRNA processing and posttranscriptional regulation of microRNA expression[J]. Cell, 2007, 131(6): 1097-1108

[55] Blerta X, Samuel CR, Tony K .Human RNA Methyltransferase BCDIN3D Regulates MicroRNA Processing [J]. Cell, 2012, 151(2):

278-288

[56] Michael MZ, SM OC, James RJ, et al. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia[J]. Mol Cancer Res, 2003, 1: 882-891

[57] Yi R, Qin Y, Macara IG, et al. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs [J]. Genes Dev, 2003, 17: 3011-3016

[58] Zeng Y, Cullen BR. Structural requirements for pre-microRNA binding and nuclear export by Exportin 5[J]. Nucleic Acids Res, 2004, 32(16): 4776-4785

[59] Bohnsack MT, Czaplinski K, Gorlich D. Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs[J]. RNA, 2004, 10: 185-191

[60] Yi R, Doehle BP, Qin Y, et al. Overexpression of exportin-5 enhances RNA interference mediated by short hairpin RNAs and microRNAs[J]. RNA, 2005, 11: 220-226

[61] Duan R, Pak C, Jin P. Single nucleotide polymorphism associated with mature miR-125a alters the processing of pri-miRNA [J]. Hum Mol Genet, 2007, 16(9): 1124-1131

[62] Hu Z, Chen J, Tian T, et al. Genetic variants of miRNA sequences and nonsmall cell lung cancer survival[J]. J Clin Invest, 2008, 118(7): 2600-2608

[63] Bass BL. RNA editing by adenosine deaminases that act on RNA[J]. Annu Rev Biochem, 2002, 71: 817-846

[64] Maas S, Rich A, Nishikura K. A-to-I RNA editing: Recent news and residual mysteries[J]. J Biol Chem, 2003, 278: 1391-1394

[65] Amariglio N, Rechavi G. A-to-I RNA editing: A new regulatory mechanism of global gene expression [J]. Blood Cells Mol, 2007, 39 (2): 151-155

[66] Luciano DJ, Mirsky H, Vendetti NJ, et al. RNA editing of a miRNA precursor[J]. RNA, 2004, 10: 1174-1177

[67] Yang W, Chendrimada TP, Wang Q, et al. Modulation of microRNA processing and expression through RNA editing by ADAR deaminases[J]. Nat Struct Mol Biol, 2006, 13: 13-21

[68] Lu J, Getz G, Miska EA, et al. Micro-RNA expression profiles classify human cancers[J]. Nature, 2005, 435: 834-838

[69] Chen Y, Stallings RL. Differential patterns of microRNA expression in neuroblastoma are correlated with prognosis, differentiation, and apoptosis[J]. Cancer Res ,2007, 67: 976-983

[70] Ozen M, Creighton CJ, Ozdemir M, et al. Widespread deregulation of microRNA expression in human prostate cancer [J]. Oncogene, 2008, 27: 1788-1793

[71] Kumar MS, LuJ, MercerKL, et al. Impaired microRNA processing enhances cellular transformation and tumorigenesis[J]. Nature Genet, 2007, 39: 673-677

(上接第 3978 页)

[15] Chen J, Li YH, Zhang LP, et al. Changes of vitamin D receptor gene and serum BGP in diabetic patients with osteoporosis in old women [J]. Chongqing Medcine, 2004, 33(3): 406-407

[16] Kong XH, Mou JQ, lv K. Change of serum osteocalcin level in type 2 diabetes mellitus patients and its influencing factors [J]. Journal of Radioimmunology, 2003, 16(2): 65-66

[17] Lee, N. K. Sowa, H., Hinoi, E., et al. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton[J]. Cell, 2007, 130(3): 456-469

[18] Kong Wah Ng. Regulation of glucose metabolism and the skeleton [J]. Clinical Endocrinology, 2011, 75(2): 147-155

[19] Na Kyung Lee, Gerard Karsenty. Reciprocal regulation of bone and energy metabolism [J]. Trends in Endocrinology & Metabolism, 2008, 19(5): 161-166

[20] Kaneki M. Is ucOC a novel bone-derived anti-diabetogenic hormone in humans[J]. Clin Calcium, 2009, 19(9): 1304-1310