



线粒体微RNAs调控线粒体DNA表达*

王鹏满 陈乐融 王 珍 龙建纲** 彭韵桦**

(西安交通大学生命科学与技术学院, 线粒体生物医学研究所, 生物医学信息工程教育部重点实验室, 西安 710049)

摘要 线粒体不仅是细胞能量代谢中心, 作为半自助细胞器, 通过其内源性线粒体DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 编码电子传递链核心组分, 参与细胞命运决策。近年研究发现, 线粒体中存在微RNAs (microRNAs, miRNAs), 即线粒体微RNAs (mitochondrial-located miRNAs, mitomiRs)。mitomiRs由核DNA (nuclear DNA, nDNA) 转录产生后, 进入细胞质加工成熟, 最后转运进入线粒体。mitomiRs对mtDNA的调控方式多样, 既可以在翻译水平上调节mtDNA表达, 也可以直接结合mtDNA调节转录。当mitomiRs表达异常时, 造成线粒体功能障碍, 推动了代谢性疾病的发生。干预策略上, 通过使用mitomiRs的模拟物或抑制剂来恢复mitomiRs在生理条件下的表达水平, 能够改善线粒体功能、缓解相关疾病。因此, mitomiRs调控研究成为了近年来的研究热点。由于mitomiRs定位于线粒体, 可借鉴靶向mtDNA递送方式来实现mitomiRs模拟物或抑制剂的递送, 但仍存在细胞内外诸多障碍, 未来开发更精确高效的递送系统尤为重要。mitomiRs介导的mtDNA表达调控不仅拓展了miRNAs在转录后基因调节中的新功能, 也为线粒体相关疾病的治疗提供了极具潜力的分子靶点。本综述系统总结了mitomiRs调控mtDNA表达的研究进展, 探讨了mitomiRs-mtDNA相互作用调控机制, 为基于mitomiRs逆转线粒体功能障碍相关疾病的精准治疗策略提供新的视角。

关键词 线粒体微RNAs, 线粒体DNA, 表观遗传**中图分类号** Q26, Q52**DOI:** 10.16476/j.pibb.2025.0008**CSTR:** 12369.14.pibb.20250008

线粒体是能量代谢的关键细胞器, 通过电子传递和氧化磷酸化产生ATP以维持细胞的正常功能^[1]。除此之外, 线粒体还广泛参与细胞内信号转导^[2]、氧化应激^[3]、细胞凋亡^[4]等多种生物过程。线粒体作为一种半自主性细胞器, 具有独立于核DNA (nuclear DNA, nDNA) 的独立DNA, 即线粒体DNA (mitochondrial DNA, mtDNA)。1981年, Anderson等^[5]公布了人类mtDNA全长序列的测定结果。mtDNA中嘌呤含量高的链称为重链, 嘧啶含量高的链称为轻链。序列分析显示, 人类mtDNA不含有内含子, 共有37个基因, 包括2个编码线粒体rRNA (mitochondrial rRNA, mt-rRNA) 的基因、22个编码线粒体tRNA (mitochondrial tRNA, mt-tRNA) 的基因和13个编码蛋白质的基因^[6]。这13种由mtDNA编码的蛋白质均参与呼吸链复合体的组成, 但仅占复合体亚基的少部分, 其余亚基由nDNA编码^[6]。尽管mtDNA不与组蛋白结合, 但它并非完全裸露存在,

而是通过与线粒体转录因子A (mitochondrial transcription factor A, TFAM) 结合形成复合体^[7]。人类mtDNA因呈环状而与线性DNA的复制有所不同, 包含重链和轻链的独立复制起点。重链的复制起始于重链复制起始点, 当复制进程达到基因组的2/3位置时, 轻链复制才在轻链复制起点启动, 直至两条链全部复制完成后, 在拓扑异构酶3 α (topoisomerase 3 α) 的作用下分离为两个独立的mtDNA^[8]。mtDNA的拷贝数在不同细胞中存在显著差异, 这主要取决于不同细胞类型的不同能量需求。例如, 在高能量需求的卵母细胞中mtDNA拷

* 国家自然科学基金 (82372899), 陕西省重点研发计划 (2021GXLH-Z-064, 2024SF-ZDCYL-03-24), 陕西省自然科学基金基础研究计划 (2023-JC-QN-0215), 西安交通大学重点科研平台青年学术骨干支持项目 (xpt012023018) 资助。

** 通讯联系人。

彭韵桦 Tel: 029-82664232, E-mail: y.peng@mail.xjtu.edu.cn

龙建纲 Tel: 029-82664232, E-mail: jglong@xjtu.edu.cn

收稿日期: 2025-01-09, 接受日期: 2025-04-02

贝数高^[9],反之在低能量需求的肺组织中 mtDNA 拷贝数较低^[10]。mtDNA 可以结合 TFAM^[11] 和线粒体转录因子 B2 (mitochondrial transcription factor B2, TFB2M)^[12] 来激活转录。mtDNA 转录出的 mRNA 是多顺反子,当 mt-tRNA 被切割释放后,线粒体 mRNA (mitochondrial mRNA, mt-mRNA) 和 mt-rRNA 才能被释放,完成转录终加工,这一过程被称为“tRNA 标点模型 (tRNA punctuation model)”^[13]。此外,研究发现,一些核转录因子亦可移位至线粒体内发挥调控作用^[14-18]。在遗传方式上,人类 mtDNA 以母系遗传的方式传递,但近期一项大规模人群研究表明,mtDNA 片段可以插入到 nDNA 中,或随 nDNA 遗传给后代^[19],这提示 mtDNA 的遗传机制可能比传统认知更为复杂。

近年来,随着表观遗传学的深入,nDNA 的表观遗传修饰已成为热门研究领域,包括 DNA/RNA 修饰、组蛋白修饰及非编码 RNA 调控等。mtDNA 作为一种独立基因组,同样受到表观遗传机制的调控,这一发现催生了线粒体表观遗传学 (mitochondrial epigenetics, mitoepigenetics) 的研究领域^[20]。由于 mtDNA 缺乏组蛋白包裹保护,其表观遗传研究主要集中在 DNA 修饰和非编码 RNA 调控。在 mtDNA 修饰方面,研究发现,一些调控甲基化和去甲基化的酶在线粒体中有所分布,并已经在 mtDNA 的多个位点检测到了甲基化和羟甲基化修饰^[21-23]。在非编码 RNA 调控方面,微 RNAs (microRNAs, miRNAs) 通过与目标基因 mRNA 结合,抑制翻译或加速 mRNA 降解,从而广泛调控基因表达^[24]。2024 年诺贝尔生理学或医学奖授予了 Victor Ambros 和 Gary Ruvkun,以表彰他们在秀丽隐杆线虫中首次发现 miRNA 及其在转录后基因调控中的关键作用^[25-26]。miRNAs 不仅分布在细胞质中,miRNAs 在线粒体中也有分布,因此将这类定位于线粒体的 miRNAs 定义为 mitomiRs (mitochondrial-located miRNAs)^[27]。mitomiRs 对 mtDNA 的调控机制既与 nDNA 类似,又具有特异性。例如,结合 miRNAs 的 Argonaute 2 (AGO2) 蛋白在线粒体中有分布,为 miRNAs 调控 mtDNA 表达奠定了基础,在小鼠成肌细胞 C2C12 成肌分化中 miR-1 调控了 ND1 和 CO1 的表达,影响线粒体 ATP 的产生,参与成肌分化过程^[28]。目前,已有多项研究揭示了 mitomiRs 在调控 mtDNA 表达中的重要作用,本综述旨在归纳总结 mitomiRs 调控 mtDNA 表达的研究进展,为未来研究提供理论参

考和方向。

1 miRNAs与mitomiRs

miRNA 是长度约 22 个核苷酸的非编码 RNA,通过与目标 mRNA 的 3' 端非翻译区进行碱基互补配对,从而抑制其翻译或诱导其降解^[24]。miRNA 的成熟过程复杂,历经从初始 miRNA (primary miRNA, pri-miRNA) 经剪切生成前体 miRNA (miRNA precursor, pre-miRNA),再通过进一步剪切后形双链 miRNA^[29]。在双链 miRNA 形成后,通常只有一条链被保留并参与调控,另一条链被降解。然而,部分双链 miRNAs 的两条单链均具有活性,虽然这两条单链 miRNAs 来自相同的前体,但它们的序列不同便会造成所调控基因的不同。例如,miR-708-5p 通过抑制 DNMT3A 来下调 DNA 的甲基化水平,促进肿瘤抑制因子钙黏蛋白 1 (cadherin 1, CDH1) 表达,抑制非小细胞肺癌^[30]。相比之下,在氟所致的神经毒性模型中,miR-708-3p 下调了沉默信息调节因子 1 (silent information regulator 1, SIRT1) 后抑制下游过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子-1 α (peroxisome proliferator activated receptor γ coactivator-1 α , PGC-1 α) 去乙酰化激活,进而导致介导线粒体分裂的动力蛋白相关蛋白 1 (dynamin-related protein 1, Drp1) 和线粒体裂变蛋白 1 (mitochondrial fission protein 1, Fis1) 减少,从而抑制线粒体分裂过程,而过表达 SIRT1 或 PGC-1 α 则会缓解线粒体动态变化的失衡^[31]。由此可见,即便来源于同一前体的 miRNAs,其调控的下游基因也有所差异。

mitomiRs 指定位于线粒体的 miRNAs,可由 nDNA 转录生成后进入线粒体,少部分或直接来源于 mtDNA 的转录产物,具有调控 mtDNA 表达的能力^[32]。由 nDNA 来源的 mitomiRs 与其生成过程与上文 miRNAs 成熟机制一致,但在胞质加工成熟后,仍需进入线粒体以发挥调控作用^[33]。类似于成熟 miRNAs 通过核定位信号 (nuclear localization signal, NLS) 依赖的 Importin 8 (IPO8) 介导转运入核^[34],miRNAs 进入线粒体需要依赖 AGO2^[35]、以及多核糖核苷酸核苷转移酶 1 (polyribonucleotide nucleotidyltransferase 1, PNPT1)^[36] 等蛋白质的介导,然而,该转运过程的具体分子机制还有待深入研究。关于 mtDNA 来源的 mitomiRs,目前实验证据仍然有限^[37]。现有研

究主要基于 mitomiRs 的测序分析或序列比对, 认为 mtDNA 可能包含 pre-miRNAs 和成熟 miRNAs 序列^[38], 但仍缺乏直接的实验证据。另外, 线粒体中缺乏 miRNAs 加工所需的 Dicer 酶^[39], 这成为 mitomiRs 来源于 mtDNA 需要解决的难点问题。因此, 尽管已有线索提示 mtDNA 可能编码 miRNAs, 但其具体机制仍需进一步实验验证。

目前已发现 mitomiRs 参与调控 mtDNA, 且作用方式多样 (表 1)。MitomiRs 可通过多种机制调控 mtDNA 表达。其可与 mt-mRNA 结合, 以促进或抑制翻译, 介导 mt-mRNA 的降解。同时, mitomiRs 还能结合 mt-rRNA 抑制核糖体组装过程。此外, mitomiRs 具有直接结合 mtDNA 的能力, 抑制 mtDNA 的转录, 影响 RNA 的生成。mitomiRs 的表达因为动物、组织、细胞等类型的不同而存在差异^[40], 例如, 小鼠肝脏^[41]和大鼠肝脏^[42]中的 mitomiRs 表达就有所不同。在 Gene Expression Omnibus (GEO) 中也可以检索到一些 mitomiRs 表

达水平的数据。例如, Zheng^[14]等为了探索成骨分化过程中 mitomiRs 的表达情况, 选择诱导骨髓间充质干细胞成骨分化 3、7、14 d 后提取线粒体, 通过检测建立 mitomiRs 数据集 (GSE134946)^[43], 为后续研究提供宝贵的资源。在不同条件下对 mitomiRs 定量分析时, 内参基因的选择也有所区别。12S rRNA 作为线粒体核糖体的组成成分, 含量丰富且稳定, 在确定 mitomiRs 在线粒体中的表达水平时, 12S rRNA 基因可作为内参。当研究比较 mitomiRs 在线粒体和细胞质中分布水平的差异时, 则可选择 5S rRNA 基因作为内参, 因为 5S rRNA 作为核糖体的组成成分, 在线粒体和细胞质中都有分布^[44-45]。通过定量找到差异表达 mitomiRs 后, 可以转染合成的 mitomiRs 模拟物 (mitomiRs mimics) 或 mitomiRs 抑制剂 (mitomiRs inhibitors) 来过表达或抑制目标 mitomiRs, 从而验证其调控功能^[46]。

表1 调控mtDNA表达的mitomiRs

Table 1 mitomiRs regulating mtDNA expression

作用方式	miRNAs	mtDNA靶基因	疾病/过程	参考文献
抑制表达	miR-762	ND2	心脏疾病	[47]
	miR-151a-5p	CYTB	弱精症	[48]
	miR-378a	ATP6	二型糖尿病	[49]
	miR-214	ND4L ND6	慢性肾脏疾病	[50]
	miR-181c	CO1	心脏疾病	[39]
	let-7a	ND4	代谢重编程	[51]
	miR-4485-3p	16S rRNA	肺气肿	[52]
	miR-542-3p	12S rRNA	肌萎缩	[53]
	miR-574	ND5	精子衰老	[54]
	miR-1	ND1 CO1	肌肉分化	[28]
促进表达	miR-5787	CO3	化疗药物抗性	[55]
	miR-21			
	miR-92a-2-5p	CYTB	心脏疾病	[56-57]
	let-7b-5p			

表1中的mitomiRs均为nDNA编码。ND: NADH脱氢酶 (NADH dehydrogenase); CYTB: 细胞色素B (cytochrome b); CO: 细胞色素C氧化酶 (cytochrome c oxidase); ATP6: ATP合酶6 (ATP synthase 6); rRNA: 核糖体RNA (ribosomal RNA)。

2 mitomiRs调控mtDNA表达的分子机制

由 nDNA 转录生成的 mitomiRs 能够通过结合 mt-mRNA^[47]、mt-rRNA^[52]、mtDNA^[58] 参与调控基因表达 (图 1)。已有线索提示 mtDNA 可转录生成 mitomiRs。Shinde 等^[59] 预测到 6 条由 mtDNA 转录生成的 miRNAs, 其中 miR-mit3 和 miR-mit4 可以

与 16S rRNA 结合。Bandiera 等^[60] 发现, mtDNA 包含 miR-1974、miR-1977 和 miR-1978 序列, 而这三条 miRNAs 均与 mt-mRNA 存在结合位点。若 mtDNA 转录生成 miRNAs 现象得以确认, 那对于这部分 miRNAs 中是否存在参与调控 nDNA 表达的序列? 将成为后续值得关注的科学问题。

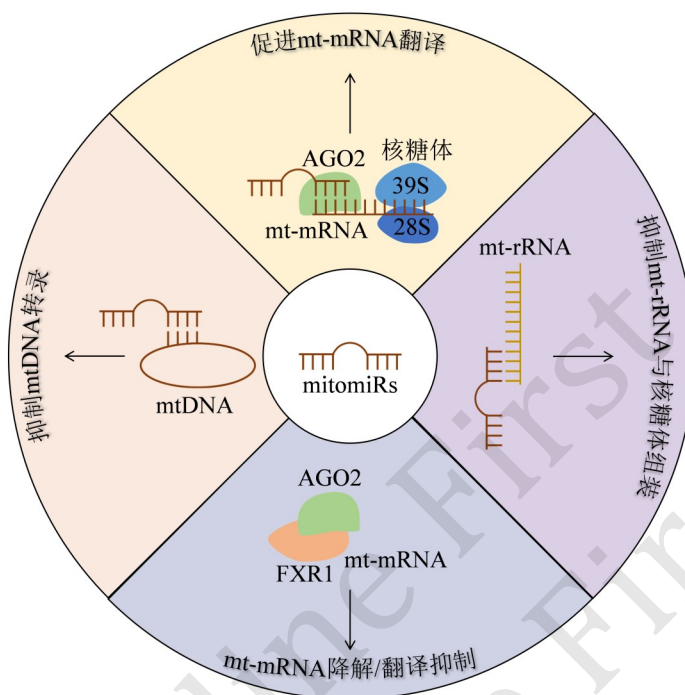


Fig.1 The mechanism of mitomiRs regulating mtDNA expression

图1 mitomiRs调控mtDNA表达的机制

mitomiRs: 线粒体miRNAs; mtDNA: 线粒体DNA; mt-mRNA: 线粒体mRNA; mt-rRNA: 线粒体rRNA; AGO2: Argonaute 2; FXR1: Fragile X mental retardation - related protein 1。

2.1 mitomiRs抑制mtDNA表达

mitomiRs 不仅可通过经典途径调控 mt-mRNA 翻译, 还可以结合 mt-rRNA、抑制 mtDNA 转录下调基因表达。在缺氧/复氧的心肌细胞模型中, 主要定位在线粒体的 miR-762 显著上调, 抑制 miR-762 能够恢复复合体 I 的活性、促进 ATP 产生和下调活性氧类 (reactive oxygen species, ROS) 水平, 减少由缺氧/复氧造成的心肌细胞凋亡, 其机制在于 miR-762 与 ND2 的 mRNA 序列存在结合位点, 二者结合后, miR-762 通过抑制 ND2 表达, 导致复合体 I 活性和 ATP 生成受到抑制, 造成了心肌细胞的损伤^[47]。Zhou 等^[48] 在严重弱精症病例中发现了 miR-151a-5p 显著上调, 转染 miR-151a-5p 抑制 CYTB 表达, 导致线粒体呼吸和 ATP 产生受到抑制。Durr 等^[49] 在二型糖尿病患者的心肌组织中检测到了 miR-378a 的上调以及 ATP6 蛋白水平的下调, 发现 miR-378a 抑制 ATP6 的表达, 当在 Db/Db 小鼠中敲除 miR-378a 后 ATP6 表达上调, ATP 合成酶的活性显著高于对照组。Jagannathan 等^[61] 在线粒体中检测到了 RNA 诱导沉默复合体的关键蛋白

AGO2 和 Fragile X mental retardation - related protein 1 (FXR1), 认为 miR-378 与这两种蛋白结合后下调了 ATP6 表达。Ma 等^[54] 对衰老男性精子中差异表达的 miRNAs 进行了分析, 发现 miR-574 水平出现了显著上升并与精子活力成反比, 进一步机制研究揭示, miR-574 抑制 ND5 表达导致线粒体膜电位、ATP 生成下降以及过量 ROS 产生。

当 mRNA 存在与 mitomiRs 种子序列配对的碱基时就有可能受其调控, 这意味着一条 mitomiR 可以调控多个靶基因。Bai 等^[50] 在小鼠的肾脏、胃、脑等 10 余种组织中比较 miR-214 在线粒体和细胞质中的分布, 发现与细胞质相比, 肾脏线粒体中的 miR-214 占比最高。接着在三种慢性肾脏疾病的肾皮质线粒体中检测到了 miR-214 水平的上调, miR-214 水平与蛋白尿、肾脏纤维化程度密切相关, miR-214 通过抑制 ND4L 和 ND6 表达而导致线粒体功能障碍, 造成慢性肾脏病的发生^[50]。由此可见, 虽然 mtDNA 的规模远小于 nDNA, 但一些 miRNAs 同样具备调控多个 mtDNA 编码基因表达的能力。

当 mitomiRs 抑制 mtDNA 表达时, 细胞可能代

偿性上调 mtDNA 转录, 影响其余亚基的表达。Das 等^[39]发现 miR-181c 主要定位在线粒体, 该条 miRNA 由 nDNA 转录后在细胞质中成熟, 最后进入线粒体抑制 CO1 翻译。在检测到 CO1 表达受到抑制后, 该团队发现 miR-181c 显著提升了 CO2 的 mRNA 和蛋白水平, 因此推测 miR-181c 抑制 CO1 表达后, mtDNA 为了恢复 CO1 表达转录了更多的 mt-mRNA, 由于 miR-181c 抑制 CO1 而不抑制 CO2, 导致 CO2 表达上调, 造成复合体 IV 重塑, 损伤了线粒体功能^[39]。此前, 也有研究发现, 在心肌梗塞和心力衰竭模型中 CO1 表达下调、CO3 表达上调, 上调 CO3 抑制 CO1 造成 ROS 过量产生^[62]。由此可见, mtDNA 编码的 13 个蛋白质之间可能会受到相互表达的影响, 当 mitomiRs 调控其中某个蛋白质表达时, 可能引起其余亚基的代偿性调节, 导致复合体的亚基比例失衡, 引发线粒体功能障碍并促进相关疾病的发生。

mitomiRs 对靶基因的调控不仅与序列互补配对有关, 还可能受到细胞代谢的影响。Sharma 等^[51]用阿霉素诱导乳腺癌细胞 MCF-7 线粒体应激后发现 let-7a 在线粒体中上调了近 4 倍会抑制 ND4 表达, 影响 MCF-7 的线粒体生成、ATP 生成、氧化磷酸化功能等。但在另外一种乳腺癌细胞 MDA-MB-231 中, 他们发现 let-7a 对 ND4 的调控作用与 MCF-7 相反^[51]。这种差异可能与两种乳腺癌细胞的代谢表型有关, MCF-7 细胞分化程度较高, 其对氧化磷酸化的依赖性高于 MDA-MB-231, 而 MDA-MB-231 细胞则更倾向于糖酵解代谢。因此, 这种代谢偏好可能导致 let-7a 在两种细胞中的调控作用存在差异。这表明, 即使是相同的 miRNA, 在不同的细胞代谢状态下也可能会发挥不同的调控作用, 提示了 mitomiRs 调控方式的多样性和复杂性。

mitomiRs 除了结合 mt-mRNA 外, 还可以结合 mt-rRNA 发挥调控作用。Karim 等^[52]在肺气肿的 II 型肺泡上皮细胞中发现了 16S rRNA 的显著下调以及 miR-4485-3p 的显著上调, 在人非小细胞肺癌细胞 A549 中过表达 miR-4485-3p 后, 16S rRNA 表达显著受到抑制, 对 12S rRNA 没有影响, 因此认为 miR-4485-3p 抑制 16S rRNA 与线粒体核糖体蛋白的组装, 损伤了线粒体功能。此外, 12S rRNA 同样受到 miRNAs 的调控^[53]。Garros 等^[53]在慢性阻塞性肺疾病和重症监护病房获得性衰弱患者中发现了 miR-542-3p 显著上调, 过表达 miR-542-3p 后会

造成人类骨骼肌细胞 LHCN-M2 线粒体中 12S rRNA 水平下调以及线粒体膜电位下调, 在抑制 miR-542-3p 表达后则可以恢复 12S rRNA 水平和线粒体膜电位, 表明 miR-542-3p 可能通过抑制 12S rRNA 表达增加线粒体核糖体压力, 引发肌肉的萎缩或流失。

在转录层面, mitomiRs 可直接调控 mtDNA 表达, 即通过与 mtDNA 结合后抑制 mtDNA 转录。Fan 等^[58]在化疗耐药患者中发现 miR-2392 显著上升, 在人舌鳞癌细胞 CAL27 发现 miR-2392 与 mtDNA 的轻链结合后抑制 ND4、ND5、CYTB 等基因的转录, 导致氧化磷酸化功能下调和糖酵解上调, 促进了细胞对化疗药物的耐药性, 这是首次报道 mitomiRs 通过直接结合 mtDNA 后从转录层面抑制基因表达。

2.2 mitomiRs促进mtDNA表达

miRNAs 自 1993 年发现以来, 大部分研究集中在 miRNAs 诱导基因表达沉默的功能上。随着研究的深入, 国内外团队均先后发现了 miRNAs 激活基因表达的功能^[63-64], 即 miRNAs 在细胞核中与增强子结合, 激活基因的转录。虽然 mtDNA 暂未报道具有增强子结构, 但已有研究表明 mitomiRs 可以促进 mtDNA 表达, 这在一定程度上扩展了 miRNAs 促进基因表达的新机制。

在 2014 年, Zhang 等^[28]在 C2C12 成肌分化过程中发现 miR-1 通过上调 ND1 和 CO1 表达, 促进了 ATP 的产生。研究还发现, 线粒体中存在 AGO2 蛋白, 而不存在 GW182 蛋白, 为 miR-1 的作用机制奠定了基础^[28]。AGO2 作为 RNA 诱导沉默复合体的关键组成成分, 在 miRNA 与目标 mRNA 结合后, AGO2 协助其发挥调控作用^[65]。GW182 可被 AGO2 招募, 从而促进基因表达沉默^[66-67]。由于线粒体中不存 GW182, 因此 miR-1 与 ND1、CO1 的 mRNA 结合后不会导致其表达下调, 在 AGO2 的作用下促进了 ND1 和 CO1 的 mRNA 与 rRNA 的相互作用, 上调了 ND1 和 CO1 的表达^[28]。Chen 等^[55]在抗顺铂的 CAL27 细胞系中发现, miR-5787 下调, 引起 CO3 蛋白表达下调, 导致了代谢重编程的发生, 即细胞代谢从氧化磷酸化转变为糖酵解, 引发细胞对化疗药物产生耐药性。

不同 mitomiRs 可调控相同 mtDNA 编码基因的表达, 目前已有多条 mitomiRs 被报道可调控 CYTB 表达^[56-57], 这可能是因为 CYTB 基因序列长, 因此其 mRNA 能够与更多的 miRNAs 结合。Li 等^[56]在

自发性高血压大鼠心脏中发现CYTB表达下降,在大鼠心肌细胞H9c2中敲低CYTB后ROS显著上升,并发现与CYTB存在结合的miR-21出现了显著上调,推测这可能是CYTB表达下调而导致。在过表达miR-21后促进了CYTB表达,相反抑制miR-21则下调CYTB表达,提示miR-21对该基因在翻译上的促进作用^[56]。在对自发性高血压大鼠进行尾静脉注射过表达miR-21后,其血压出现下调、心肌肥厚得到缓解^[56]。由于miR-21在细胞质中也有分布,因此也具有调控nDNA表达的作用^[68]。为了进一步阐明miR-21在线粒体中作用,Liu等^[69]使用胎牛血清将miR-21靶向递送至线粒体来说明其对CYTB表达的促进作用,通过敲除转运miRNAs进入线粒体的PNPT1后,进一步确认了miR-21对mtDNA具有调控作用。除了miR-21外,Li等^[57]还发现了其他两条mitomiRs对CYTB同样具有调控作用。在db/db小鼠心脏中,CYTB基因的蛋白质水平显著下降,而其mRNA水平并未出现显著变化,检测发现miR-92a-2-5p和let-7b-5p在线粒体中出现下降,进一步研究说明这两条mitomiRs促进CYTB表达来调节线粒体ROS的产生^[57]。

3 基于mitomiRs的疾病治疗策略

线粒体作为细胞代谢的枢纽,与多种疾病发展密切相关。当mitomiRs导致mtDNA表达失衡时,可能会引发一系列后果,包括线粒体ROS上升、线粒体膜电位下降、ATP生成减少、氧化磷酸化下调等,诱发多种疾病的发生,包括前文所述的心脏疾病、肾脏疾病、肌肉萎缩等。因此,通过恢复mitomiRs在生理状态下的表达水平,有可能改善或缓解相关疾病,这提示了mitomiRs具有作为疾病治疗靶点的潜能。

3.1 miRNAs相关药物

由于成熟的miRNAs具有分子质量小、结构简单、易化学合成等特点,成为了药物研究的热点。已经有多种miRNA模拟物和miRNA抑制剂进入了临床试验阶段^[29]。Daige等^[70]在患有肝癌的小鼠模型中确定了miR-34a对肿瘤生长的抑制作用,而后Beg等^[71]开展了使用miR-34a模拟物MRX34来治疗肝细胞癌患者的临床实验,再次证明了miR-34a的抗肿瘤作用。Gomez等^[72]在患有Alport综合症的小鼠模型中验证了miR-21抑制剂的保护作用,Guo等^[73]在Alport综合症患者中检测到miR-21升

高并发现其表达水平与肾脏病变的严重程度成正比,这提示了miR-21在该疾病中的调控作用。此后,使用miR-21抑制剂lademirsen来治疗Alport综合症的效果也在临床实验中得以验证^[74],为治疗Alport综合症提供了一种新的选择。

3.2 mitomiRs可作为新型的线粒体营养素或药物

线粒体营养素是一类具有靶向调节线粒体功能的化合物,例如羟基酪醇、白藜芦醇、B族维生素、乙酰肉碱、硫辛酸等^[75]。研究团队系统探索了线粒体营养素的发现,及其在相关疾病防治中的作用和机制^[76-78]。此外,研究发现一些药物同样可以靶向调节线粒体。Zhao等^[79]在急性肾损伤中,发现抗氧化剂MitoTEMPO通过清除线粒体ROS来恢复TFAM表达,进而恢复线粒体的能量代谢。Wesolowski等^[80]使用SRT2104激活SIRT1来改善后肢去负荷导致大鼠肌肉中线粒体的损伤,缓解尾吊所致的肌肉萎缩。Aventaggiato等^[81]使用MC2791激活定位于线粒体的SIRT3后,发现该药物不仅可以减少模拟微重力所致的细胞死亡,还可以维持肌肉细胞分化标志物的表达。

MitomiRs主要通过调节mtDNA表达来影响线粒体的电子传递和氧化磷酸化,通过使用mitomiRs的模拟物或抑制剂来促进线粒体功能,是疾病防治的新策略。由于mitomiRs的靶点聚焦于线粒体,其模拟物或抑制剂的作用与“线粒体营养素/药物”的功能基本相符,因此我们认为mitomiRs可作为新型的线粒体营养素或药物。在上文总结的mitomiRs中,多条mitomiRs的作用已在动物模型上得到验证,并且其表达调控在特定模型中显示出一定的治疗潜力。例如:在缺血再灌注小鼠中,抑制miR-762水平显著改善心肌梗塞和心脏功能^[47]。在二型糖尿病小鼠中敲除miR-378a后采用M型超声心动图评估了心脏功能,发现显著提升了收缩功能^[49]。在条件性敲除miR-214小鼠中,由白蛋白超载、单侧输尿管梗阻和缺血再灌注导致的肾脏细胞凋亡、炎症和纤维化受到抑制,另使用miR-214抑制剂也具有改善肾脏损伤的作用^[50]。将具有顺铂抗性的舌鳞状细胞癌细胞注射给ALB/c-nu小鼠并进行顺铂干预后发现,miR-5787过表达可以显著抑制肿瘤的生长^[55]。除了以上的动物实验外,miR-151a-5p^[48]、miR-378a-5p^[49]、miR-214^[50]、miR-542-3p^[53]、miR-574^[54]等也在病人中检测到了差异表达,为未来临床试验带来了新的治疗靶点。我们团队在前期发现miR-

106b-5p促进CO1表达,检测到骨质疏松患者血清中该条miRNA的表达水平显著下降,在分离了患者的原代成骨细胞并转染miR-106b-5p后显著提升了成骨标志物碱性磷酸酶的表达(未发表),这提示了miR-106b-5p在改善骨质疏松中的作用。截止目前虽然暂未有mitomiRs相关药物进入临床实验,但基于mitomiRs在疾病中的调控作用和对动物模型初步的改善效果,为推进mitomiRs治疗策略奠定基础。MitomiRs在未来若用于临床研究或作为治疗性药物,其递送方式或可借鉴靶向mtDNA递送的策略^[82],以实现外源miRNAs的线粒体定向转运。尽管靶向mtDNA递送受到细胞内外环境的诸多限制,但针对mtDNA相关疾病,研究人员已探索多种核酸递送策略以调控mtDNA表达^[83]。为降低潜在的细胞损伤或毒性,目前靶向mtDNA递送系统主要依赖线粒体内源性转运机制,如装配蛋白质的线粒体靶向序列(mitochondrial targeting sequences, MTS)^[84-85]、连接线粒体tRNA转运信号序列^[86]及基于脂质的递送材料^[87-88]。因此,MitomiRs可尝试结合脂质包裹技术或融合线粒体特异性转运信号,以递送至线粒体基质,并精准调控mtDNA表达。

4 总结与展望

线粒体作为哺乳动物细胞中的关键细胞器,在能量代谢和细胞稳态维持中发挥着至关重要的作用,mtDNA的表达与功能维持密切相关。自miR-181c被发现调控CO1表达以来^[39],mitomiRs的作用机制及其在疾病中的调控作用逐步得到深入研究和完善,但仍存在诸多局限性。首先,尚缺乏直接实验证据证明mitomiRs来源于mtDNA,且不清楚线粒体内是否具有其他能够加工成熟miRNAs的核酸酶。此外,mtDNA来源的miRNAs是否具备调控mtDNA或nDNA表达的能力也尚待进一步验证。其次,mitomiRs可能具有多靶点效应,不仅影响多个mtDNA编码基因的表达,还可能在细胞质内调控nDNA相关基因,例如,表1所示的miR-762^[89]、miR-151a-5p^[90]、miR-214^[91]等均已被报道可调控nDNA基因表达。这一特性可能导致mitomiRs在治疗应用时出现脱靶效应^[92],为其治疗策略的实现带来挑战。另外,在利用miRNAs进行疾病治疗时,miRNAs的递送受到细胞内外屏障的限制^[93],对于mitomiRs,递送策略不仅需要克服这一障碍,还需考虑靶向线粒体问题,这为

mitomiRs相关药物的研发提出了更高的要求。因此,开发精确靶向线粒体的mitomiRs模拟物或抑制剂递送系统尤为关键。这一策略不仅能够提高治疗的精确性,还可能降低非特异性作用所带来的副作用,从而为线粒体相关疾病的治疗提供了新的视角和方法。随着对mitomiRs功能和疾病之间联系的深入研究,有望开发出更多针对线粒体功能障碍的有效治疗手段,为疾病的治疗和干预提供更多的选择。

参考文献

- [1] Friedman J R, Nunnari J. Mitochondrial form and function. *Nature*, 2014, **505**(7483): 335-343
- [2] Baughman J M, Perocchi F, Girgis H S, *et al.* Integrative genomics identifies MCU as an essential component of the mitochondrial calcium uniporter. *Nature*, 2011, **476**(7360): 341-345
- [3] Zhou R, Yazdi A S, Menu P, *et al.* A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Nature*, 2011, **469**(7329): 221-225
- [4] Flores-Romero H, Dadsena S, García-Sáez A J. Mitochondrial pores at the crossroad between cell death and inflammatory signaling. *Mol Cell*, 2023, **83**(6): 843-856
- [5] Anderson S, Bankier A T, Barrell B G, *et al.* Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 1981, **290**(5806): 457-465
- [6] Gustafsson C M, Falkenberg M, Larsson N G. Maintenance and expression of mammalian mitochondrial DNA. *Annu Rev Biochem*, 2016, **85**: 133-160
- [7] Ngo H B, Kaiser J T, Chan D C. The mitochondrial transcription and packaging factor Tfam imposes a U-turn on mitochondrial DNA. *Nat Struct Mol Biol*, 2011, **18**(11): 1290-1296
- [8] Filograna R, Mennuni M, Alsina D, *et al.* Mitochondrial DNA copy number in human disease: the more the better? *FEBS Lett*, 2021, **595**(8): 976-1002
- [9] Chen X, Prosser R, Simonetti S, *et al.* Rearranged mitochondrial genomes are present in human oocytes. *Am J Hum Genet*, 1995, **57**(2): 239-247
- [10] D'Erchia A M, Atlante A, Gadaleta G, *et al.* Tissue-specific mtDNA abundance from exome data and its correlation with mitochondrial transcription, mass and respiratory activity. *Mitochondrion*, 2015, **20**: 13-21
- [11] Shi Y, Dierckx A, Wanrooij P H, *et al.* Mammalian transcription factor A is a core component of the mitochondrial transcription machinery. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, **109**(41): 16510-16515
- [12] Sologub M, Litonin D, Anikin M, *et al.* TFB2 is a transient component of the catalytic site of the human mitochondrial RNA polymerase. *Cell*, 2009, **139**(5): 934-944
- [13] Ojala D, Montoya J, Attardi G. tRNA punctuation model of RNA processing in human mitochondria. *Nature*, 1981, **290**(5806): 470-474

- [14] Cammarota M, Paratcha G, Bevilacqua L R M, *et al.* Cyclic AMP-responsive element binding protein in brain mitochondria. *J Neurochem*, 1999, **72**(6): 2272-2277
- [15] Lee J, Kim C H, Simon D K, *et al.* Mitochondrial cyclic AMP response element-binding protein (*CREB*) mediates mitochondrial gene expression and neuronal survival. *J Biol Chem*, 2005, **280**(49): 40398-40401
- [16] Ryu H, Lee J, Impey S, *et al.* Antioxidants modulate mitochondrial PKA and increase CREB binding to D-loop DNA of the mitochondrial genome in neurons. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**(39): 13915-13920
- [17] De Rasmio D, Signorile A, Roca E, *et al.* cAMP response element-binding protein (CREB) is imported into mitochondria and promotes protein synthesis. *FEBS J*, 2009, **276**(16): 4325-4333
- [18] Wegrzyn J, Potla R, Chwae Y J, *et al.* Function of mitochondrial Stat3 in cellular respiration. *Science*, 2009, **323**(5915): 793-797
- [19] Wei W, Schon K R, Elgar G, *et al.* Nuclear-embedded mitochondrial DNA sequences in 66, 083 human genomes. *Nature*, 2022, **611**(7934): 105-114
- [20] Manev H, Dzitoyeva S. Progress in mitochondrial epigenetics. *Biomol Concepts*, 2013, **4**(4): 381-389
- [21] Donato L, Mordà D, Scimone C, *et al.* From powerhouse to regulator: The role of mitoeigenetics in mitochondrion-related cellular functions and human diseases. *Free Radic Biol Med*, 2024, **218**: 105-119
- [22] Chen K, Lu P, Beeraka N M, *et al.* Mitochondrial mutations and mitoeigenetics: Focus on regulation of oxidative stress-induced responses in breast cancers. *Semin Cancer Biol*, 2022, **83**: 556-569
- [23] Cao K, Lv W, Wang X, *et al.* Hypermethylation of hepatic mitochondrial ND6 provokes systemic insulin resistance. *Adv Sci*, 2021, **8**(11): 2004507
- [24] Hayes J, Peruzzi P P, Lawler S. microRNAs in cancer: biomarkers, functions and therapy. *Trends Mol Med*, 2014, **20**(8): 460-469
- [25] Lee R C, Feinbaum R L, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *Lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *Lin-14*. *Cell*, 1993, **75**(5): 843-854
- [26] Wightman B, Ha I, Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *Lin-14* by *Lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell*, 1993, **75**(5): 855-862
- [27] Duarte F V, Palmeira C M, Rolo A P. The emerging role of MitomiRs in the pathophysiology of human disease. *Adv Exp Med Biol*, 2015, **888**: 123-154
- [28] Zhang X, Zuo X, Yang B, *et al.* microRNA directly enhances mitochondrial translation during muscle differentiation. *Cell*, 2014, **158**(3): 607-619
- [29] Diener C, Keller A, Meese E. Emerging concepts of miRNA therapeutics: from cells to clinic. *Trends Genet*, 2022, **38**(6): 613-626
- [30] Liu T, Wu X, Chen T, *et al.* Downregulation of DNMT3A by miR-708-5p inhibits lung cancer stem cell-like phenotypes through repressing Wnt/ β -catenin signaling. *Clin Cancer Res*, 2018, **24**(7): 1748-1760
- [31] 赵倩. miR-708-3p 靶向调控 SIRT1 表达在氟神经毒性中的作用研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2020
- Zhao Q. Role of miR-708-3p in Targeted Regulation of SIRT1 Expression in Fluoride Neurotoxicity[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2020
- [32] Cao K, Feng Z, Gao F, *et al.* Mitoeigenetics: an intriguing regulatory layer in aging and metabolic-related diseases. *Free Radic Biol Med*, 2021, **177**: 337-346
- [33] Rencelj A, Gvozdenovic N, Cemazar M. MitomiRs: their roles in mitochondria and importance in cancer cell metabolism. *Radiol Oncol*, 2021, **55**(4): 379-392
- [34] Wei Y, Li L, Wang D, *et al.* Importin 8 regulates the transport of mature microRNAs into the cell nucleus. *J Biol Chem*, 2014, **289**(15): 10270-10275
- [35] Macgregor-Das A M, Das S. A microRNA's journey to the center of the mitochondria. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2018, **315**(2): H206-H215
- [36] Shepherd D L, Hathaway Q A, Pinti M V, *et al.* Exploring the mitochondrial microRNA import pathway through Polynucleotide Phosphorylase (PNPase). *J Mol Cell Cardiol*, 2017, **110**: 15-25
- [37] Ro S, Ma H Y, Park C, *et al.* The mitochondrial genome encodes abundant small noncoding RNAs. *Cell Res*, 2013, **23**(6): 759-774
- [38] Bienertova-Vasku J, Sana J, Slaby O. The role of microRNAs in mitochondria in cancer. *Cancer Lett*, 2013, **336**(1): 1-7
- [39] Das S, Ferlito M, Kent O A, *et al.* Nuclear miRNA regulates the mitochondrial genome in the heart. *Circ Res*, 2012, **110**(12): 1596-1603
- [40] Sripada L, Tomar D, Singh R. Mitochondria: one of the destinations of miRNAs. *Mitochondrion*, 2012, **12**(6): 593-599
- [41] Bian Z, Li L M, Tang R, *et al.* Identification of mouse liver mitochondria-associated miRNAs and their potential biological functions. *Cell Res*, 2010, **20**(9): 1076-1078
- [42] Kren B T, Wong P Y, Sarver A, *et al.* microRNAs identified in highly purified liver-derived mitochondria may play a role in apoptosis. *RNA Biol*, 2009, **6**(1): 65-72
- [43] Zheng H, Liu J, Yu J, *et al.* Expression profiling of mitochondria-associated microRNAs during osteogenic differentiation of human MSCs. *Bone*, 2021, **151**: 116058
- [44] Smirnov A, Comte C, Mager-Heckel A M, *et al.* Mitochondrial enzyme rhodanese is essential for 5 S ribosomal RNA import into human mitochondria. *J Biol Chem*, 2010, **285**(40): 30792-30803
- [45] Smirnov A, Entelis N, Martin R P, *et al.* Biological significance of 5S rRNA import into human mitochondria: role of ribosomal protein MRP-L18. *Genes Dev*, 2011, **25**(12): 1289-1305
- [46] Toden S, Zumwalt T J, Goel A. Non-coding RNAs and potential therapeutic targeting in cancer. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2021, **1875**(1): 188491
- [47] Yan K, An T, Zhai M, *et al.* Mitochondrial miR-762 regulates apoptosis and myocardial infarction by impairing ND2. *Cell Death Dis*, 2019, **10**(7): 500
- [48] Zhou R, Wang R, Qin Y, *et al.* Mitochondria-related miR-151a-5p reduces cellular ATP production by targeting CYTB in

- asthenozoospermia. *Sci Rep*, 2015, **5**: 17743
- [49] Durr A J, Hathaway Q A, Kunovac A, *et al.* Manipulation of the miR-378a/mt-ATP6 regulatory axis rescues ATP synthase in the diabetic heart and offers a novel role for lncRNA Kcnq1ot1. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2022, **322**(3): C482-C495
- [50] Bai M, Chen H, Ding D, *et al.* microRNA-214 promotes chronic kidney disease by disrupting mitochondrial oxidative phosphorylation. *Kidney Int*, 2019, **95**(6): 1389-1404
- [51] Sharma P, Sharma V, Ahluwalia T S, *et al.* Let-7a induces metabolic reprogramming in breast cancer cells *via* targeting mitochondrial encoded ND4. *Cancer Cell Int*, 2021, **21**(1): 629
- [52] Karim L, Lin C R, Kosmider B, *et al.* Mitochondrial ribosome dysfunction in human alveolar type II cells in emphysema. *Biomedicines*, 2022, **10**(7): 1497
- [53] Garros R F, Paul R, Connolly M, *et al.* microRNA-542 promotes mitochondrial dysfunction and SMAD activity and is elevated in intensive care unit-acquired weakness. *Am J Respir Crit Care Med*, 2017, **196**(11): 1422-1433
- [54] Ma J, Chen Q, Wang S, *et al.* Mitochondria-related miR-574 reduces sperm ATP by targeting *ND5* in aging males. *Aging: Albany NY*, 2020, **12**(9): 8321-8338
- [55] Chen W, Wang P, Lu Y, *et al.* Decreased expression of mitochondrial miR-5787 contributes to chemoresistance by reprogramming glucose metabolism and inhibiting MT-CO₃ translation. *Theranostics*, 2019, **9**(20): 5739-5754
- [56] Li H, Zhang X, Wang F, *et al.* microRNA-21 lowers blood pressure in spontaneous hypertensive rats by upregulating mitochondrial translation. *Circulation*, 2016, **134**(10): 734-751
- [57] Li H, Dai B, Fan J, *et al.* The different roles of miRNA-92a-2-5p and let-7b-5p in mitochondrial translation in db/db Mice. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, **17**: 424-435
- [58] Fan S, Tian T, Chen W, *et al.* Mitochondrial miRNA determines chemoresistance by reprogramming metabolism and regulating mitochondrial transcription. *Cancer Res*, 2019, **79**(6): 1069-1084
- [59] Shinde S, Bhadra U. A complex genome-microRNA interplay in human mitochondria. *BioMed Res Int*, 2015, **2015**(1): 206382
- [60] Bandiera S, Rüberg S, Girard M, *et al.* Nuclear outsourcing of RNA interference components to human mitochondria. *PLoS One*, 2011, **6**(6): e20746
- [61] Jagannathan R, Thapa D, Nichols C E, *et al.* Translational regulation of the mitochondrial genome following redistribution of mitochondrial microRNA in the diabetic heart. *Circ Cardiovasc Genet*, 2015, **8**(6): 785-802
- [62] Wu C, Yan L, Depre C, *et al.* Cytochrome c oxidase III as a mechanism for apoptosis in heart failure following myocardial infarction. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2009, **297**(4): C928-C934
- [63] Turner M J, Jiao A L, Slack F J. Autoregulation of Lin-4 microRNA transcription by RNA activation (RNAa) in *C. elegans*. *Cell Cycle*, 2014, **13**(5): 772-781
- [64] Xiao M, Li J, Li W, *et al.* microRNAs activate gene transcription epigenetically as an enhancer trigger. *RNA Biol*, 2017, **14**(10): 1326-1334
- [65] Li X, Wang X, Cheng Z, *et al.* AGO2 and its partners: a silencing complex, a chromatin modulator, and new features. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2020, **55**(1): 33-53
- [66] Niaz S, Hussain M U. Role of GW182 protein in the cell. *Int J Biochem Cell Biol*, 2018, **101**: 29-38
- [67] Ding L, Han M. *GW182* family proteins are crucial for microRNA-mediated gene silencing. *Trends Cell Biol*, 2007, **17**(8): 411-416
- [68] Surina S, Fontanella R A, Scisciola L, *et al.* miR-21 in human cardiomyopathies. *Front Cardiovasc Med*, 2021, **8**: 767064
- [69] Liu J, Li W, Li J, *et al.* A novel pathway of functional microRNA uptake and mitochondria delivery. *Adv Sci*, 2023, **10**(24): 2300452
- [70] Daige C L, Wiggins J F, Priddy L, *et al.* Systemic delivery of a miR34a mimic as a potential therapeutic for liver cancer. *Mol Cancer Ther*, 2014, **13**(10): 2352-2360
- [71] Beg M S, Brenner A J, Sachdev J, *et al.* Phase I study of MRX34, a liposomal miR-34a mimic, administered twice weekly in patients with advanced solid tumors. *Investig New Drugs*, 2017, **35**(2): 180-188
- [72] Gomez I G, MacKenna D A, Johnson B G, *et al.* Anti-microRNA-21 oligonucleotides prevent Alport nephropathy progression by stimulating metabolic pathways. *J Clin Invest*, 2015, **125**(1): 141-156
- [73] Guo J, Song W, Boulanger J, *et al.* Dysregulated expression of microRNA-21 and disease-related genes in human patients and in a mouse model of alport syndrome. *Hum Gene Ther*, 2019, **30**(7): 865-881
- [74] Gale D P, Gross O, Wang F, *et al.* A randomized controlled clinical trial testing effects of lademirsens on kidney function decline in adults with alport syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2024, **19**(8): 995-1004
- [75] Liu J, Ames B N. Reducing mitochondrial decay with mitochondrial nutrients to delay and treat cognitive dysfunction, Alzheimer's disease, and Parkinson's disease. *Nutr Neurosci*, 2005, **8**(2): 67-89
- [76] Liu J, Shen W, Zhao B, *et al.* Targeting mitochondrial biogenesis for preventing and treating insulin resistance in diabetes and obesity: Hope from natural mitochondrial nutrients. *Adv Drug Deliv Rev*, 2009, **61**(14): 1343-1352
- [77] Liu J. The effects and mechanisms of mitochondrial nutrient α -lipoic acid on improving age-associated mitochondrial and cognitive dysfunction: an overview. *Neurochem Res*, 2008, **33**(1): 194-203
- [78] Hu Y, Wang Y, Wang Y, *et al.* Sleep deprivation triggers mitochondrial DNA release in microglia to induce neural inflammation: preventative effect of hydroxytyrosol butyrate. *Antioxidants: Basel*, 2024, **13**(7): 833
- [79] Zhao M, Wang Y, Li L, *et al.* Mitochondrial ROS promote mitochondrial dysfunction and inflammation in ischemic acute kidney injury by disrupting TFAM-mediated mtDNA maintenance. *Theranostics*, 2021, **11**(4): 1845-1863
- [80] Wesolowski L T, Simons J L, Semanchik P L, *et al.* The impact of SRT2104 on skeletal muscle mitochondrial function, redox

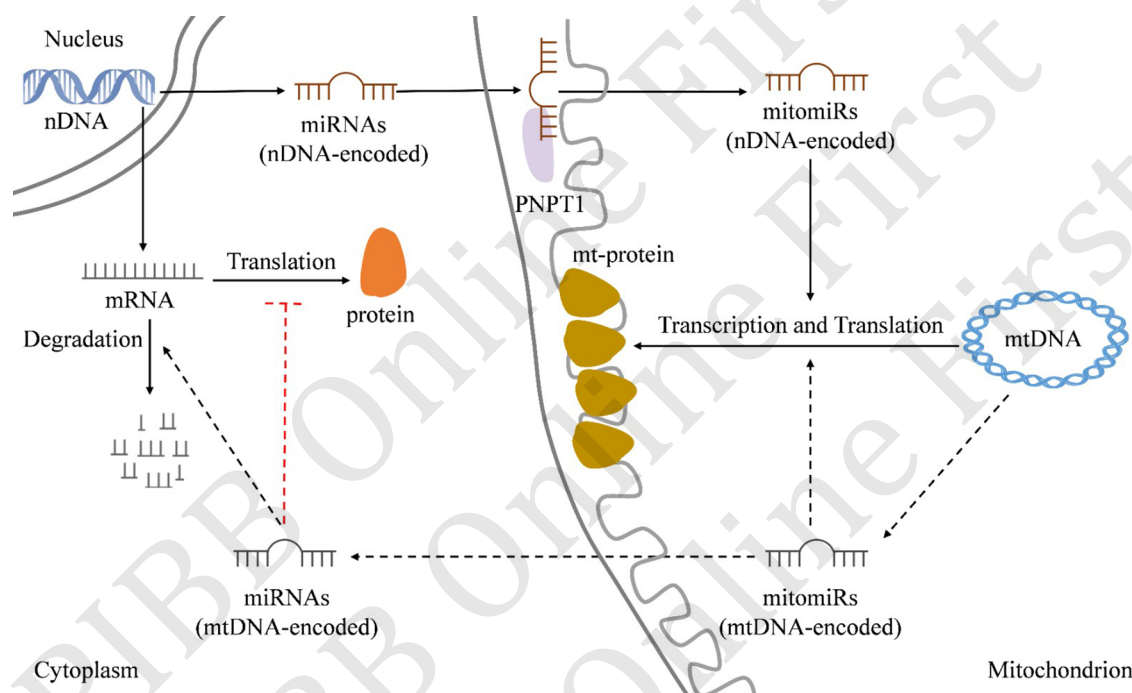
- biology, and loss of muscle mass in hindlimb unloaded rats. *Int J Mol Sci*, 2023, **24**(13): 11135
- [81] Avenaggiato M, Barreca F, Vitiello L, *et al.* Role of SIRT3 in microgravity response: a new player in muscle tissue recovery. *Cells*, 2023, **12**(5): 691
- [82] Faria R, Boissguérin P, Sousa Â, *et al.* Delivery systems for mitochondrial gene therapy: a review. *Pharmaceutics*, 2023, **15**(2): 572
- [83] Wang Y, Yang J S, Zhao M, *et al.* Mitochondrial endogenous substance transport-inspired nanomaterials for mitochondria-targeted gene delivery. *Adv Drug Deliv Rev*, 2024, **211**: 115355
- [84] Flierl A, Jackson C, Cottrell B, *et al.* Targeted delivery of DNA to the mitochondrial compartment *via* import sequence-conjugated peptide nucleic acid. *Mol Ther*, 2003, **7**(4): 550-557
- [85] Yu H, Koilkonda R D, Chou T H, *et al.* Gene delivery to mitochondria by targeting modified adenoassociated virus suppresses Leber's hereditary optic neuropathy in a mouse model. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, **109**(20): E1238-E1247
- [86] Furukawa R, Yamada Y, Kawamura E, *et al.* Mitochondrial delivery of antisense RNA by MITO-Porter results in mitochondrial RNA knockdown, and has a functional impact on mitochondria. *Biomaterials*, 2015, **57**: 107-115
- [87] Lang W, Tan W, Zhou B, *et al.* Mitochondria-targeted gene silencing facilitated by mito-CPDs. *Chem*, 2023, **29**(26): e202204021
- [88] D'Souza G G M, Rammohan R, Cheng S M, *et al.* DQAsome-mediated delivery of plasmid DNA toward mitochondria in living cells. *J Control Release*, 2003, **92**(1/2): 189-197
- [89] Peng H Y, Chang C W, Wu P H, *et al.* Oral cancer-derived miR-762 suppresses T-cell infiltration and activation by horizontal inhibition of CXCR3 expression. *Int J Mol Sci*, 2025, **26**(3): 1077
- [90] Yu Y, Zhang M, Zhou W, *et al.* miR-151a-5p predicts severity of diabetic retinopathy and protects from retinal cell injury by inactivating MAPK signaling *via* DKK3. *Exp Eye Res*, 2025, **251**: 110212
- [91] Penglong T, Saensuwanna A, Jantapaso H, *et al.* miR-214 aggravates oxidative stress in thalassemic erythroid cells by targeting ATF4. *PLoS One*, 2024, **19**(4): e0300958
- [92] Zabalza A, Pappolla A, Comabella M, *et al.* MiRNA-based therapeutic potential in multiple sclerosis. *Front Immunol*, 2024, **15**: 1441733
- [93] Alkhazaali-Ali Z, Sahab-Negah S, Boroumand A R, *et al.* microRNA (miRNA) as a biomarker for diagnosis, prognosis, and therapeutics molecules in neurodegenerative disease. *Biomed Pharmacother*, 2024, **177**: 116899

MitomiRs in The Regulation of mtDNA Expression*

WANG Peng-Xiao, CHEN Le-Rong, WANG Zhen, LONG Jian-Gang**, PENG Yun-Hua**

(Center for Mitochondrial Biology and Medicine, The Key Laboratory of Biomedical Information Engineering of Ministry of Education,
School of Life Science and Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China)

Graphical abstract



Abstract Mitochondria, functioning not only as the central hub of cellular energy metabolism but also as semi-autonomous organelles, orchestrate cellular fate decisions through their endogenous mitochondrial DNA (mtDNA), which encodes core components of the electron transport chain. Emerging research has identified microRNAs localized within mitochondria, termed mitochondria-located microRNAs (mitomiRs). Recent studies have revealed that mitomiRs are transcribed from nuclear DNA (nDNA), processed and matured in the cytoplasm, and subsequently transported into mitochondria. MitomiRs regulate mtDNA through diverse mechanisms, including modulation of mtDNA expression at the translational level and direct binding to mtDNA to influence transcription. Aberrant expression of mitomiRs leads to mitochondrial dysfunction and contributes to the pathogenesis of metabolic diseases. Restoring mitomiR expression to physiological levels using mitomiR mimics or inhibitors has been shown to improve mitochondrial function and alleviate related diseases. Consequently, the regulatory mechanisms of mitomiRs have become a major focus in mitochondrial research. Given that mitomiRs are located in mitochondria, targeted delivery strategies designed for mtDNA can be adapted for the delivery of mitomiR mimics or inhibitors. However, numerous intracellular and extracellular barriers remain, highlighting the need for more precise and efficient delivery systems in the future. The regulation of mtDNA expression mediated by mitomiRs not only expands our understanding of miRNA functions in post-transcriptional gene regulation but also provides promising molecular targets for the treatment of mitochondrial-related diseases. This review

systematically summarizes recent research progress on mitomiRs in regulating mtDNA expression and discusses the underlying mechanisms of mitomiR-mtDNA interactions. Additionally, it provides new perspectives on precision therapeutic strategies, with a particular emphasis on mitomiR-based regulation of mitochondrial function in mitochondrial-related diseases.

Key words mitomiRs, mtDNA, epigenetics

DOI: 10.16476/j.pibb.2025.0008

CSTR: 12369.14.pibb.20250008

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (82372899), Key Research and Development Program of Shaanxi (2021GXLH-Z-064, 2024SF-ZDCYL-03-24), Natural Science Basic Research Program of Shaanxi (2023-JC-QN-0215), Basic Scientific Research Foundation of Xi'an Jiaotong University, Key Research Platform Young Academic Backbone Support Program (xpt012023018).

** Corresponding author.

PENG Yun-Hua. Tel: 029-82664232, E-mail: y.peng@mail.xjtu.edu.cn

LONG Jian-Gang. Tel: 029-82664232, E-mail: jglong@xjtu.edu.cn

Received: January 9, 2025 Accepted: April 2, 2025