

MicroRNAs 与脂类代谢 *

南雪梅¹⁾ 王加启^{1)**} 陈海燕^{1, 2)} 胡 菡¹⁾

¹⁾ 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 动物营养学国家重点实验室, 北京 100193;

²⁾ 甘肃农业大学动物科学技术学院, 兰州 730070)

摘要 本文综述了 miRNAs 在脂类代谢调控以及脂肪酸对 miRNAs 影响的研究进展. miRNA 能够在转录后水平参与脂类代谢的多个层面, 其中 miR-122、miR-370、miR33 等能够通过与靶基因(Cpt1 α 、ABCA1 等)结合, 直接或间接调节细胞内脂肪酸生成、脂肪酸氧化、甘油三酯合成、胆固醇流动及脂蛋白合成等多个路径. 而饮食中的脂类, 尤其是必需脂肪酸, 能够通过 miRNAs 表达的调节参与到包括癌症抵抗、炎症缓解等多个生物学进程中.

关键词 microRNAs, 胆固醇合成, 胆固醇稳定, 脂肪酸氧化, 甘油三酯合成, 必需脂肪酸

学科分类号 Q74, Q591

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00223

MicroRNAs(miRNAs)是一类长度约为 22 nt 的小片段非编码 RNA, 它能够与靶基因的 3' UTR (untranslated regions)结合, 导致翻译抑制或影响 mRNA 的稳定, 从而在转录后水平影响基因的表达^[1-5]. 也有报道表明, miRNA 可能引起 mRNA 表达上调或者与 mRNA 的其他区域结合^[6]. miRNAs 对 mRNA 作用的方式及机理已在多篇文献中提及^[7], 本文不再赘述. miRNAs 作为具有调节功能的 RNAs 在植物和动物物种中都能发挥基础的生物学功能, 其对翻译的调节作为一种复杂的生物学调控模式日渐崭露头角, 它们与靶 mRNA 作用形成相互依赖的群组和通路, 从而影响生物体生命活动的方方面面.

在人体中, 40%~90%的 mRNA 由已知的 miRNAs 调控, 但是可能还有更多未知 miRNAs 的存在^[8-9]. 对已知的 miRNAs 功能学研究和生物信息学分析表明, 大部分 mRNA 能够被 miRNAs 调控, 一种 miRNA 能够靶向针对上百个 mRNA, 其中包括编码转录因子的 mRNA^[8-10], 从而参与特定通路或生理学进程的转录后调节, 例如细胞凋亡^[11-14], 细胞分裂、增殖和分化^[8, 15-20], 生长发育^[21], 蛋白质分泌^[22], 病毒感染^[23-24], 肿瘤发生或肿瘤抑制^[3, 25-26], DNA 甲基化或组蛋白修饰^[27]以及代谢^[28]等. 虽然 miRNAs 对代谢这一复杂生命活动的调节

作用还在研究的初级阶段, 对于潜在机制了解仍然有限^[29-30], 但是越来越多的研究者意识到, 物质代谢背后存在着 miRNAs 操控的方方面面. 例如在糖代谢方面的研究证实, miR-375 对胰岛素的分泌具有调控作用, miR-9 则以胰脏和脑中的一些 mRNA 为靶基因, 参与胞吐作用^[10, 31]. 小鼠研究中则证实, *let-7* 能够通过抑制 insulin-PI3K- mTOR 通路的多个组成元件(IGF1R、INSR、IRS2)来改变胰岛素抗性, 导致葡萄糖耐量的降低, 这一研究确定 Lin8/*let-7* 通路是哺乳动物葡萄糖代谢的中心调节物^[32]. 蛋白质代谢方面的研究证明, miR-29b 能够与支链 α - 酮酸脱氢酶(branched chain α -ketoacid dehydrogenase, BCKD)的组成部分二氢硫辛酰胺支链酰基转移酶(dihydrolipoamide branched chain acyltransferase)mRNA 结合, 从而影响支链氨基酸的代谢途径^[33].

脂类代谢在细胞水平同样被严格调控, 除了经典的转录调节(例如通过 SREBPs、PPARs 等)之外,

* 国家重点基础研究发展计划(973)资助项目(2011CB100800).

** 通讯联系人.

Tel: 010-62815859, E-mail: jqwangcaas@gmail.com

收稿日期: 2012-05-09, 接受日期: 2012-08-17

miRNAs 作为确定的转录后调节物不可避免地参与其中。2003 年, Xu 等^[34]在对果蝇的研究中发现, miR-14 的缺失能够增加三酰基甘油和二酰基甘油的水平, 生物学历史上 miRNAs 在脂类代谢中的调控作用第一次得以肯定。其后的近 10 年, 越来越多的研究表明, miRNAs 可以通过与脂类代谢相关基因靶位点的结合^[35-36]来调节脂肪酸和胆固醇的代谢。这些新的发现开启了人类对代谢调控新的认识, 为了解生物体物质代谢的进行方向和动态平衡机制提供了有利的背景, 也为动脉粥样硬化、代谢综合征等疾病的治疗开辟了新的途径。

miRNAs 能够通过对脂类代谢相关转录因子和基因的转录后调控完成对脂类代谢的调节, 这一点固然引人注目, 但是这并不是研究的全部。饮食中脂类的改变(低脂、高脂或必需脂肪酸的添加)也会通过对 miRNAs 的作用来影响机体生命活动, 尤其是某些必需脂肪酸, 它们能够以多种 miRNAs 为剑戟, 靶向于多种疾病发生发展的相关基因, 从而为这些疾病的预防和辅助治疗提供有利的帮助。这为我们构建了 miRNAs 与脂类的另一个联系——miRNAs 表达的上调或下调固然能够对脂类及其代谢途径产生调控作用, 而脂类(脂肪酸)的变化, 也会影响 miRNAs 的表达, 从而产生更加深远的影响。我们旨在通过这一综述为 miRNAs 研究者们提供这两方面的综合信息, 从而为进一步的研究提供助益。

1 microRNAs 对脂类代谢的影响

1.1 miR-122、miR-370 与脂类代谢

miR-122 是肝脏里表达丰度最高的 miRNA, 占有 miRNA 表达的 70%^[37]。在对正常小鼠肝脏的研究中, miR-122 的表达丰度比丰度第二高的 miR-790 多 3 倍, 比第三高的 let-7 多 12 倍^[38]。由于这种明显的数量优势, miR-122 也是肝脏中第一个确定功能的 microRNA。研究证实, 病理情况下, miR-122 与非酒精性脂肪肝^[39]、丙型肝炎(hepatitis C)感染及肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)有关。生理情况下, miR-122 则能够参与肝脏发育^[39]、维持肝脏表型^[35, 40]、调节全身铁动态平衡^[41]、参与氨基酸转运(通过高亲和力阳离子氨基酸转运载体 CAT-1^[41]), 并能够影响肝脏脂类代谢^[35, 40, 42]。

1.1.1 miR-122 和脂类代谢。

脂蛋白的主要作用是传递中性脂类(例如甘油

三酯)以及少量的胆固醇到外周细胞并将细胞内多余的胆固醇通过相反的胆固醇运输途径运到细胞外^[43], 是细胞内外脂类运输的重要媒介。脂蛋白代谢的重心在肝脏, 也是许多 miRNA 研究的焦点^[44-46], 而 miR-122 具有其他肝脏 miRNA 无法匹敌的表达丰度^[37], 提示其可能与脂蛋白代谢相关。

所有的细胞都合成胆固醇。但是肝脏胆固醇生物合成在维持系统胆固醇动态稳定中发挥重要作用, 其途径是特别的。这可以归纳为一个肝脏的代谢网络, 其中包括胆固醇的摄入和流动、通过酯化作用完成的胆固醇的储备、胆固醇的从头合成和胆固醇以胆汁形式分泌入小肠的过程^[47]。miRNA 可能是肝脏胆固醇代谢网络的调节物, 通过直接调节胆固醇合成相关基因(mRNA)的翻译或间接介由其他协调途径来发挥作用^[38]。多项研究表明 miR-122 能够参与脂类代谢^[35, 40]。为了研究 miR-122 的功能, Krützfeldt 等^[48]使用超表达方法上调 miR-122 表达丰度, 结果显示, 肝脏内多种胆固醇生物合成相关基因表达上调, 从而引导机体内胆固醇的合成。Esau 等^[39]的研究结果则反向印证了这一点, 他们的研究显示, miR-122 的缺失会导致多种脂肪酸和胆固醇合成相关基因表达(mRNA)的显著下降, 包括乙酰辅酶 A 羧化酶 α (acetyl-CoA carboxylase alpha, ACACA)、乙酰辅酶 A 羧化酶 β (acetyl-CoA carboxylase beta, ACACB)、ATP-柠檬酸裂解酶(ATP-citrate lyase, ACLY)、脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FASN)、肝脏甘油三酯激酶(hepatic triglyceride lipase, 基因为 LIPC)、硬脂酰辅酶 A 去饱和酶(stearoyl-CoA desaturase, SCD1)等, 从而引起血浆和肝脏胆固醇含量的降低以及脂肪酸合成的减少。另一项独立进行的研究则使用 miR-122 的阻断剂(antagomirs, microRNA 的阻断剂)来降低小鼠内源性 miR-122 的水平, 结果显示多种 miR-122 的靶基因对 miR-122 的缺失产生应答, 表达上调^[48]。在这项使用 antagomiR-122 处理小鼠的研究中, 胆固醇生物合成的相关基因(并不在当初预测的靶基因之列)也发生了下调, 并伴随有血浆胆固醇水平的下降^[48]。这表明 miR-122 的确能够参与脂类代谢, 但是, miR-122 并没有表现出能直接靶向生物合成途径的特性^[48]。

1.1.2 miR-370 和 miR122。

miR-370 在调节脂类代谢方面和 miR-122 的作用相似。Iliopoulos 等^[49]用 miR-370/miR-122 分别转染 HepG2 细胞, 结果显示两者都能上调或下调

类固醇应答元件结合蛋白 1-c (sterol regulatory element-binding protein 1-c, SREBP-1c)、二酰基甘油酰基转移酶 (diacylglycerol acyltransferase-2, DGAT2)、FASN、ACCI 的表达, 从而影响脂肪酸和甘油三酯的合成. miR-370 还能靶向结合到肉碱脂酰转移酶 1 α (carnitine acyl transferase 1 α , Cpt1 α) 的 3' UTR 区域, 从而使 Cpt1 α 表达下调, 最终导致脂肪酸氧化的减少^[49]. 在 miR-370 转染人肝脏 HepG2 细胞系时出现的另一个值得关注的现象是 miR-122 表达的上调, 这表明 miR-370 对 miR-122 具有正向调节作用. 为了确定 miR-370 和 miR-122 对脂类代谢影响的关联性, Iliopoulos 等^[49]使用反义 miR-122 处理 miR-370 转染的 HepG2 细胞, 结果显示, miR-370 对脂合成基因表达的调控效果减弱, 表明 miR-370 可以通过 miR-122 间接影响 SREBP-1c、DGAT2、Cpt1 α 的表达, 从而影响其他脂代谢相关基因 (FAS, ACC1), 并可能导致肝脏中甘油三酯的聚积.

另一项研究则以血浆为研究对象, 结果表明, 高脂血症患者血浆中 miR-122 和 miR-370 的水平明显增高, 且这两种 miRNAs 的水平与血浆总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG) 和低密度脂蛋白 - 胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 的水平呈明显正相关, 表明其与高脂血症患者中冠状动脉疾病的存在和严重性相关^[50].

对 miR-122 和 miR-370 的研究证明, miRs 对代谢的调节并不仅仅是通过某个或某几个 miRNAs 对靶 mRNA 的直接作用来发挥效应, miRNA-miRNA、miRNA-mRNA 以及 mRNA-mRNA 的直接和间接作用, 为代谢的综合调控提供了更多可能性和可行性.

1.2 miR-33 与脂类代谢

SREBPs 是调控脂代谢的重要转录调节因子. 针对 SREBPs 的 *in silico* 生物信息学分析表明, 人类 miR-33 的两种亚型 miR-33a 和 miR-33b, 分别存在于 *Srebf2* 和 *Srebf1* 的内含子中, 而小鼠仅有一种 miR-33 定位于 *Srebf*, 类似于人类的 miR-33a^[51-53]. 多项独立进行的研究确定, miR-33 是维持细胞内胆固醇动态平衡的关键转录后调节因子^[52-54], 可以通过多个途径调控脂代谢的多个层面.

1.2.1 miR-33 与胆固醇动态平衡.

Horie 等^[55]克隆了人 *SREBP-2* 外显子 16 到外显子 17 之间的片段, 包含 miR-33a 的内含子就在

这个区间之内, 后续实验证明, miR-33a 在 *Srebf-2* 激活时表达. Rayner 等^[54]对巨噬细胞的研究证实, 人类巨噬细胞胆固醇的含量能够影响超过 300 个 miRNAs 的谱图, 其中就包括 miR-33a, 它可对胆固醇耗尽的情况产生应答从而表达上调. 体内和体外实验证明, 细胞胆固醇的状态能够调节 miR-33 的表达, 而与之印证的是, miR-33 预测最高的靶基因是 ATP 结合盒转运蛋白 1 (ATP-binding cassette transporter 1, ABCA1). *Abca1* 的 3' UTR 包含 3 个 miR-33a 和 / 或 miR-33b 的高度保守结合位点. 事实上, miR-33a 在多种细胞类型中能够强烈抑制 ABCA1 mRNA 和蛋白质水平的表达^[52-54]. 巨噬细胞中 miR-33a 的过表达能够减少胆固醇流向载脂蛋白 A-1 (apolipoprotein A-1, apoA1), 而这一过程是新生高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 颗粒形成的第一步骤. 更为重要的是, 内源性 miR-33 的抑制会导致 ABCA1 蛋白质表达的上调并伴随胆固醇流向 apoA1 的增加, 表明这种 miRNA 实际上调节其靶基因以保证细胞内胆固醇维持在生理水平^[52-54]. 综上所述, miR-33 能够在转录后水平调节 *ABCA1* 的表达, 而体内这一通路的抑制, 会导致 *ABCA1* 表达的上调和胆固醇流动的增加^[52-54, 56].

除了 *ABCA1* 之外, 研究人员还发现 2 种参与细胞中胆固醇动员的 miR-33 靶基因: *ABCG1* (ATP-binding cassette, sub-family G, member 1, ATP 结合盒亚家族 G 成员 1)^[52, 54] 和 *NPC1* (Niemann Pick type C, 尼曼匹克蛋白 C 型)^[54]. *ABCG1* 能够动员细胞内的游离胆固醇, 形成更多的成熟 HDL 颗粒并运输, *NPC1* 则可以将胆固醇由溶酶体运输到细胞内需要它的其他部位. *NPC1* 还能够与 *ABCA1* 协同作用促进胆固醇流向 apoA1, 表明 miR-33 通过 *ABCA1*、*NPC1* 和 *ABCG1* 的协同作用调控胆固醇的运输及胆固醇运输通路的方向.

1.2.2 miR-33 对体内 HDL 的调节. 使用病毒转入反义寡核苷酸或使用锁核酸 (locked nucleic acid, LNA) 抑制物抑制 miR-33 的表达均会导致肝脏 *ABCA1* 蛋白表达的增加, 并增加循环 HDL 的含量^[52-54, 57]. 这些实验在正常饲喂以及高脂饲喂的小鼠中进行, 结果表明即使 miR-33 的水平预测较低, miR-33 的抑制仍然能够导致 HDL 的功能性增加. Horie^[55]的研究证实, 从基因组中敲除 miR-33 会导致肝脏 *ABCA1* 表达增加, 并使循环 HDL 水平增加 25%, 这与使用系统抑制剂的研究结果一致. 有趣的是, miR-33^{-/-}小鼠能够增加较大的 HDL 颗

粒的水平, 而小颗粒 HDL 并没有变化^[55].

1.2.3 miR-33 与脂肪酸代谢.

miR-33 在 *Cpt1a*, *Crot* (Carnitine Octanoyl transferase, 卡尼汀辛酰基转移酶) 和 *Hadhb* (hydroxyacyl-CoA dehydrogenase β , 羟酰基辅酶 A 脱氢酶) 3'UTR 的结合位点从鸡到人高度保守^[58]. 这些基因在脂肪酸氧化过程中发挥各自不同的作用: *CPT1a* 不仅仅是酰基辅酶 A 与肉碱耦合所必需的, 引导中链和长链脂肪酸运输到线粒体中进行 β 氧化^[59-61], 更是这一过程的限速步骤. 所以 β 氧化过程中, *Cpt1a* 表达明显上调^[59-61]. CROT 是一种过氧化物酶体的酶, 是短链脂肪酸耦合到胆碱上所必需的, 并转运它们进入线粒体. HADHB 则是随后在线粒体中进行 β 氧化的必需酶^[59-61]. miR-33 的超表达会导致 *CPT1a* 和 *HADHB* 表达的降低, 并由此衰减细胞内脂肪酸的 β -氧化.

miR-33 的研究表明, 一种 miRNA 可以通过靶向于多个不同靶基因, 从而调节脂代谢的多个层面.

1.3 其他与脂类代谢相关的 miRNAs

miR-33 不仅能够调控脂代谢的多个方面, 更是细胞内胆固醇动态平衡的调节剂, 是最具代表性的调控脂代谢的 miRNA. 近 10 年研究的积累, 研究者们发现了越来越多与脂类代谢以及脂肪细胞内脂类生成和分化相关的 miRNAs, 它们的出现, 开启了对于代谢调控这一复杂机理全面认识的新篇章. 与 miR-33 类似, miR-758 同样以 *ABCA1* 为靶基因, 参与细胞内胆固醇流动过程的调控. Ramirez 等^[62]使用生物学软件对靶向于 *ABCA1* 的 miRNAs 进行预测, 同时在没有倾向性的基因范围内寻找小鼠腹膜巨噬细胞中胆固醇过量时被调节的 miRNAs. 在生理条件下, 高脂饮食的小鼠腹膜巨噬细胞中, miR-758 受到抑制, 肝脏中也是如此. 在小鼠和人类的体外培养细胞中, miR-758 能够抑制 *ABCA1* 的表达, 使用 anti-miR-758 处理细胞则发现这一 miRNA 的抑制会导致 *ABCA1* 表达的增加. 用荧光素酶报告方法证实, miR-758 可以直接靶向于 *Abca1* 的 3'UTR. 在小鼠细胞中, miR-758 能够减少细胞内胆固醇流向 apoA1, 而 anti-miR-758 的应用则会促进胆固醇的流出. 可见, miR-758 具有和 miR-33 相似的调节细胞内胆固醇水平的能力.

为了研究 miRNAs 在脂肪细胞分化和 / 或代谢过程中的潜在作用, Gerin 等^[58]敲除了 Argonaute2

(Ago2) 这种 miRNAs 形成过程的关键酶, 结果表明, 虽然没有发现 Ago2 敲除组和对照组 3T3-L1 细胞间脂肪生成的明显差异, 但是合并 ¹⁴C 葡萄糖或乙酸进入甘油三酯以及甘油三酯的稳态水平都降低, 表明 miRNAs 在 3T3-L1 细胞脂肪代谢过程中具有潜在作用. 为了研究特定 miRNAs 在脂肪细胞生物学中的功能, 通过寻找 ST2 和 3T3-L1 细胞系 (脂肪前体细胞和脂肪细胞) 间差异表达的 miRNAs, 研究者们发现, 定位于过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活物 1 β (peroxisome proliferator-activated receptor gamma co-activator 1 beta, PGC-1 β) 内含子的同一基因座编码的 2 个 miRNAs 378/378*, 在脂肪生成过程中被高度诱导. 与之相应的是, PGC-1 β 在脂肪分化过程中同样被诱导表达^[63], 并能增加脂肪生成和脂蛋白转运^[63-64]. 在 ST2 细胞中过表达 miRNA378/378* 能够增加脂肪滴的大小以及 ¹⁴C 乙酸整合入甘油三酯的含量, 虽然 C/EBP α (CCAAT enhancer binding protein, CCAAT 增强子结合蛋白)、C/EBP β 、C/EBP δ 和 PPAR γ 1 的蛋白质和 mRNA 表达水平都没有明显变化, 但是芯片法和实时定量 RT-PCR 方法都检测到一系列脂生成相关基因表达的上调, 造成这些变化的原因可能在于 PPAR γ 2 表达的增加. 此外, miRNA378 和 / 或 378* 的敲除能够减少甘油三酯的合成. 有趣的是, 虽然 miRNA378/378* 并不能影响 C/EBP α 、C/EBP β mRNA 和蛋白质的表达, 却能够在脂肪细胞启动子区增加 C/EBP α 和 C/EBP β 的转录活性. miR-378 另一个重要的靶基因是 *MAPK1* (mitogen-activated protein kinase 1, 分裂原活化蛋白激酶 1). MAPK1 能够终止主要的脂肪生成转录因子 PPAR γ 的磷酸化, 从而降低它的活性^[65-67], 可以预见, miR-378 还可以通过这一途径影响脂类代谢. 至此我们可以发现, miRNA 不仅可以通过与靶基因 3'UTR 的直接结合发挥调控作用, 还可以通过对转录因子活性的间接调控, 参与到脂类代谢的更下游.

Larsen 等^[68]的研究证明, 在围产期发挥调节作用的 miRNAs 能够影响与固醇和脂类生物合成及代谢相关的生物化学通路, 其中 miR-21 和 miR-29a 对 INS-1E beta- 细胞胆固醇水平的调节至关重要, miR-21 还可通过其靶基因 *Srebf1* 发挥调控作用. 针对树突细胞的研究则证明, miR-29a 与脂蛋白脂肪酶 (lipoprotein lipase, LPL) 活性相关, 并能调节细胞脂类的摄取^[69].

以 LDL^{-/-}小鼠为模型的研究表明, miR-302a 与肝脏胆固醇、脂肪酸以及葡萄糖代谢相关^[70], 而在 HepG2 细胞, 人原代肝细胞和 Huh7 细胞中进行的实验表明, miR-613 能够靶向针对肝脏 LXRα 基因, 从而参与脂肪酸的合成^[71].

脂肪组织的发育很大程度上由基因表达的改变所调控. MicroRNAs 是哺乳动物分化的重要转录后调控因子. Lee 等^[72]猜想, microRNAs 可能通过靶向于特定的脂肪生成因子来影响人脂肪组织的生成. 他们的研究确定了脂肪前体细胞向脂肪细胞分化过程中丰度变化的 microRNAs. 其中, miR-130 能够明显影响脂肪细胞分化, 因为 miR-130 的过表达会导致脂肪生成的受损而 miR-130 的减少能够增强脂肪生成. miR-130 作用的一个主要效应物是 PPAR γ , 一种脂肪生成的主要调节因子. 有趣的是, miR-130 不仅能够靶向结合 *PPARG* 的 3' UTR 区域也能靶向针对其编码区, 从而抑制 PPAR γ 表达. 与非肥胖症女性相比, 肥胖症女性的脂肪组织中 miR-130 的含量明显降低而 PPAR γ mRNA 的水平则明显升高, 可见 miR-130 能够通过抑制 PPAR γ 的生物合成来减少脂肪生成, 而这种调节的波动与人类肥胖症相关.

miR-143、miR-27 和 miR-335 同样与脂类代谢和脂肪细胞分化有关^[20, 73-74]. 在对脂肪前体细胞的研究中发现, miR-143 能够通过对 ERK5 的负调节抑制脂肪细胞前体的分化过程^[73], 而对猪脂肪细胞的研究表明, miR-27a 的过表达能够加速脂解作用, 从而促进甘油三酯和游离脂肪酸的释放^[75]. miR-27 能够抑制 *PPARG* 和 *C/EBP α* 的表达, 其在脂肪细胞分化过程中表达下调^[74], 并同样参与脂肪细胞脂类代谢^[75]. miR-335 在脂类摄入超常时表达上调, 并在肥胖小鼠肝脏和脂肪组织中高度表达^[76]. 但是, miR-335 调节脂类代谢和脂肪生成的作用仍然未知.

miR-103 和 miR-107 存在于脊椎动物基因组的泛酸激酶(pantothenate kinase, PANK)基因内含子中, 生物信息学方法预测其可能影响与细胞内酰基辅酶 A 和脂类水平相关的代谢通路中的多个 mRNA 靶位点. 重要的是, PANK 同样影响这些通路, 所以 miRNA 和“宿主”基因可能协同发挥作用. 这些预测尚需要实验的证实^[77].

1.4 microRNAs——脂类代谢研究中的生物信息学运用

随着 microRNA 研究的不断深入, 研究者们对

microRNA 的特性、产生机制、作用方式等了解愈深, 伴随着分子生物学研究技术的不断更新, 使 microRNA 靶基因的预测及验证成为可能. 现在能够对 miRNA 靶基因进行预测的数据库和软件包括 miRbase (<http://mirbase.org/index.shtml>)、targetScan (<http://www.targetscan.org/>)、microRNA.org (<http://www.microna.org/microna/home.do>)、starBase (<http://starbase.sysu.edu.cn>)、PITA (http://genie.weizmann.ac.il/pubs/mir07/mir07_data.html)、PicTar (<http://pictar.mdc-berlin.de/>)、RNA22 (<http://cbcsrv.watson.ibm.com/rna22.html>)、miRGator (<http://mirgator.kobic.re.kr:8080/MEXWebApp/>)、miRDB (<http://mirdb.org/miRDB/>)、RNAhybrid (<http://bibiserv.techfak.uni-bielefeld.de/rnahybrid/>)等, 以及能够整合多个预测软件结果的 miRecords (<http://mirecords.biolead.org/>). 这些数据库的开发和利用, 极大地减少了大海捞针式的探索实验过程, 为 miRNA 靶基因的确定提供了方向. 但是, 由于生物体的复杂性, 靶基因的预测仍然有相当程度的假阳性存在, 也有很多 miRNA 的靶基因并不在当初预测的结果之列. 可信度较高的几个数据库信息的合并使用, 将最大程度地降低假阳性的比例, 再配合合适的实验方法的选择, 将是 miRNA 靶基因和调控某种基因 miRNA 最终确定的较优途径. 在 miRNA 与脂类代谢的研究中, 大量生物信息学技术的应用, 一方面有助于确定 miRNA 在染色体和内含子中的定位, 提供其靶基因的可能信息, 另一方面可以反向地预测调控某种脂代谢相关基因的 miRNA 种类及群组, 配合代谢组、转录组、蛋白质组等方面的研究, 最真实系统地还原脂代谢这一重要生命活动的本质.

这里还要提到两个重要的数据库, Tarbase (<http://microna.gr/tarbase/>) 和 miRTarBase (<http://mirtarbase.mbc.nctu.edu.tw/index.html>). 与前面提到的数据库不同, 这两个数据库能够提供经过实验确定的 miRNA-mRNA 信息. 例如, 若需获得调节 *ABCA1* 的 miRNAs 信息, 我们可以使用 miRTarBase 和 miRtar (<http://mirtar.mbc.nctu.edu.tw/human/>)两个数据库的资源合理编排, 获得调控关系(图 1), 这样就可以了解以 *ABCA1* 为靶基因的 miRNA 信息. 也可以通过 Tarbase 数据库进行检索, 获得人和小鼠中经过验证的 *ABCA1*-miRNA 信息(图 2). Tarbase 可以进行双向搜索, 既可以搜索某种 miRNA 的靶基因信息, 也可以搜索能够调节特定基因的 miRNAs 信息, 但是 miRTarBase 单

独使用一般只倾向于搜索 miRNA 靶基因的信息。miRNA-mRNA 靶向的已知信息，简单地获得相关研究的这两个数据库的使用，有助于了解脂类研究中研究的全貌。

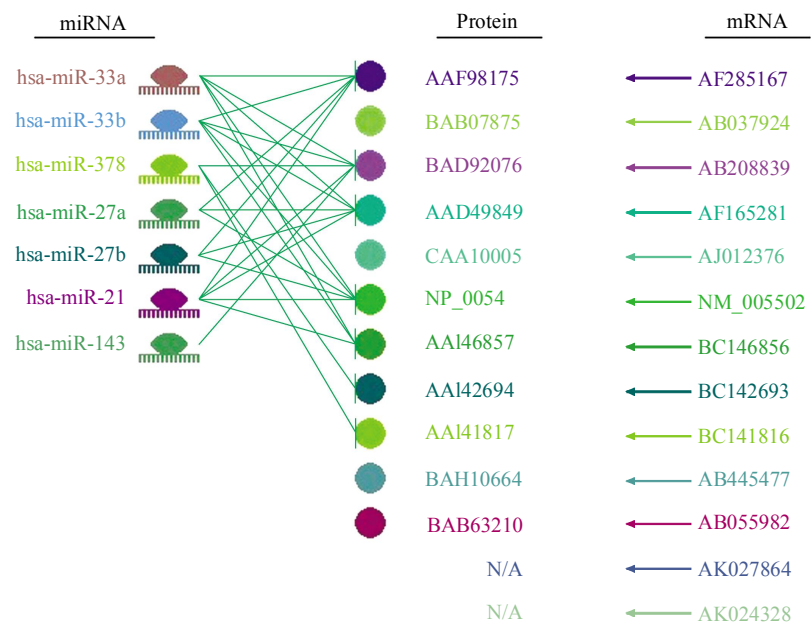


Fig. 1 Regulation of miRNAs to ABCA1 in Homo sapiens
图 1 miRNA-ABCA1 调节图

(a)	Gene name		miRNA name		Methods		Pred. score	
1	Abca1(Mus musculus)		mmu-miR-301b		R N W Q P M A D O		0.654	
2	Abca1(Mus musculus)		mmu-miR-9		R N W Q P M A D O		-	
3	Abca1(Mus musculus)		mmu-miR-425		R N W Q P M A D O		-	
4	Abca1(Mus musculus)		mmu-miR-223		R N W Q P M A D O		-	
5	Abca1(Mus musculus)		mmu-miR-26a		R N W Q P M A D O		0.469	
6	Abca1(Mus musculus)		mmu-miR-758		R N W Q P M A D O		0.439	
7	Abca1(Mus musculus)		mmu-miR-340-5p		R N W Q P M A D O		0.462	
8	Abca1(Mus musculus)		mmu-miR-17		R N W Q P M A D O		0.639	
9	Abca1(Mus musculus)		mmu-miR-33		R N W Q P M A D O		0.566	
(b)	Gene name		miRNA name		Methods		Pred. score	
	ABCA1(Homo sapiens)		hsa-miR-33b		R N W Q P M A D O		0.571	
	ABCA1(Homo sapiens)		hsa-miR-26b		R N W Q P M A D O		0.475	
	ABCA1(Homo sapiens)		hsa-miR-33a		R N W Q P M A D O		0.458	
	ABCA1(Homo sapiens)		hsa-miR-199a*		R N W Q P M A D O		-	

Fig. 2 MicroRNAs targeted to ABCA1 mRNA in Mus musculus and Homo sapiens
图 2 调节小鼠和人 ABCA1 基因表达的 miRNAs (<http://microrna.gr/tarbase/>)

(a)针对小鼠研究中确定的靶向于 Abca1 的 miRNAs. (b)针对人类研究中确定的靶向于 ABCA1 的 miRNAs. Methods 是指确定 miRNA-ABCA1 关系时采用的方法，其中 R 代表报告基因方法，N 代表 Northern blot 方法，W 代表 Western blot 方法，Q 代表 PCR 方法，P 代表蛋白质组学方法，M 代表微阵列方法，A 代表测序方法，D 代表降解组方法，O 代表其他方法。

2 脂肪酸与 microRNAs

尽管数百的 miRNAs 是广泛表达的，但是特定

的 miRNA 以一种细胞 / 组织特异性的方式，依赖于发育的不同阶段和 / 或特定的生理阶段来表达并发挥作用^[78]。在过去的数十年，对于 miRNA 生物

合成、功能和衰变的基本机制了解很多(具体可见文献[7]), 越来越多的研究证明, miRNAs 不仅可以调节一系列的发育和生理学过程(包括代谢), 也同样受饮食或饮食中特定成分的影响, 这为营养学调节机体生命活动本质的研究开启了一个新的领域. 其中, 一类重要的脂类饮食成分——脂肪酸, 越来越引起研究者的重视.

2.1 不饱和脂肪酸与 microRNAs

必需脂肪酸是指哺乳动物不能从头合成而必须通过饮食或补充功能食品来获取^[79]的一类脂肪酸, 其中比较引人注目的就是两类特定的不饱和功能性脂肪酸—— ω -3 脂肪酸(包括 DHA 和 EPA 等)和共轭亚油酸(conjugated linoleic acid, CLA)^[80]. 多项研究证明, 它们在对抗癌症^[81-82]、缓解动脉粥样硬化^[83]、刺激免疫^[84]等多个方面具有正效应.

小鼠的研究中证实, CLA 能够选择性改变白色脂肪组织中特定 miRNAs 的表达^[85]. CLA 的摄入能够直接调节 miR-143、miR-107、miR-221 和 miR-222. 这些 miRNAs 确认的靶基因与脂肪组织的不同功能相关, 包括小窝蛋白(它是 miR-103/107 的靶基因^[86]并调节胰岛素敏感性)、参与脂肪细胞分化的 ERK5(miR-143 的靶基因^[73, 87])、周期蛋白依赖性抑制物 CDKN1B 以及参与脂肪细胞分化的关键转录因子 CCAAT/增强子结合蛋白 β (CCAAT/enhancer binding protein beta, CEBPB, miR-221/222 的靶基因^[88])等.

磷酸酶和张力蛋白同系物(phosphatase and tensin homolog, PTEN)是一种广泛认可的肿瘤抑制基因^[89], 其在肝脏中表达的变化可能会导致代谢的紊乱包括胰岛素拮抗、炎症、皮脂腺病、非酒精性脂肪肝以及癌症等^[90-93]. 不饱和脂肪酸能够增加肝脏 miR-21 的表达, 从而抑制 miR-21 靶基因 PTEN^[93]的表达, 发挥抑制肿瘤的作用. 而长链 ω -3 脂肪酸的摄入则能够保护小鼠结肠免于致癌物诱导的 miRNA 失调^[94]. 在人类两个乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 和 MCF-7 中, Mandal 等^[95]的研究同样证明具有生物活性的鱼油成分二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA), 能够通过对 miR-21 的抑制作用, 借由 PTEN 及其下游的 PI3K/Akt 信号通路, 影响集落刺激因子-1(colony stimulating factor-1, CSF-1)基因的表达以及癌细胞中该蛋白质的分泌. CSF-1 是恶性肿瘤发生和转移的有效激活剂, 乳腺癌细胞中 miR-21 表达丰度的增强同样有助于癌细胞的增长和转移, 在饮食中补充鱼油的

小鼠乳腺癌细胞中, 这两者的表达都明显减弱. 研究人员揭示了鱼油发挥治疗功能的一种新的机制——封闭 miR-21, 从而增加 PTEN 的水平以避免 CSF-1 在乳腺癌中的表达. 在类似神经胶质瘤的癌症中, 也有一些证据表明特定的 ω -3 脂肪酸, 包括 EPA 和 DHA, 具有破坏癌细胞的作用^[96-98].

miRNA 参与这些作用的机制可能在体外实验中得到阐述. 体外培养结肠瘤细胞, 并使用 DHA 和其他多不饱和脂肪酸进行处理, 结果导致特定凋亡基因表达上调, 这可能是由于多不饱和脂肪酸能够减少针对这些基因的 miRNAs 表达所致^[99]. 在多种细胞类型中, 由 PUFA 导致表达发生变化的 miRNAs 包括: miR-34, -25, -17, -26a, -29c, -31, -200a, -206, -140 以及 miR-323. 很多这些 miRNAs 的靶基因(包括实验验证的以及生物信息学预测的)都能参与到凋亡中(图 3)^[80, 99]. Visioli 等^[80]综合性概述了 ω -3 脂肪酸和 CLA 在机体内的分子位点, 指明 miRNAs 是这些脂肪酸重要的微调效应器(图 3).

至今我们仍然不知道, 包括 ω -3 脂肪酸在内的多种脂肪酸对 miRNAs 表达的影响, 是对后者直接作用的结果还是由某种必需脂肪酸产生的其他代谢物所造成. 这些代谢物包括一些脂类调节物, 如消散素(resolvins)、脂氧素(lipoxins)以及保护素(protectins)等, 它们都是在炎症时由必需脂肪酸前体物质内源性合成^[100]. 有趣的是, 这些早期分辨的脂类调节物中, 部分能够通过调节特异性的 miRNAs 参与炎症消退^[101-102].

2.2 饱和脂肪酸与 microRNAs

我们的研究证实, 饱和脂肪酸同样可以对细胞的 miRNA 表达谱产生影响. 我们以硬脂酸这一乳腺上皮细胞完全外源性摄入并在乳中具有明显数量优势的脂肪酸为模型, 使用 Agilent 牛 miRNA (8*15k) V17.0 定制芯片(design ID: 38132)研究饱和长链脂肪酸对泌乳奶牛乳腺上皮细胞 miRNAs 的影响. 结果显示 11 种 miRNAs 表达发生变化(fold change ≥ 2 , $P < 0.05$), 并使用 Targetscan(<http://www.targetscan.org/>)对其靶基因进行了预测(数据未发表). 这表明, 饱和脂肪酸这一营养素同样具有调控 miRNAs 的能力.

Hu 等^[103]研究证实, 微生物来源的饱和短链脂肪酸也能够改变 microRNA 的表达. 结肠微生物能够发酵不能吸收的膳食纤维产生大量的短链脂肪酸(short chain fatty acids, SCFA), 其中丁酸的抗癌活性, 有部分是诱导 p21 基因的表达来介导的.

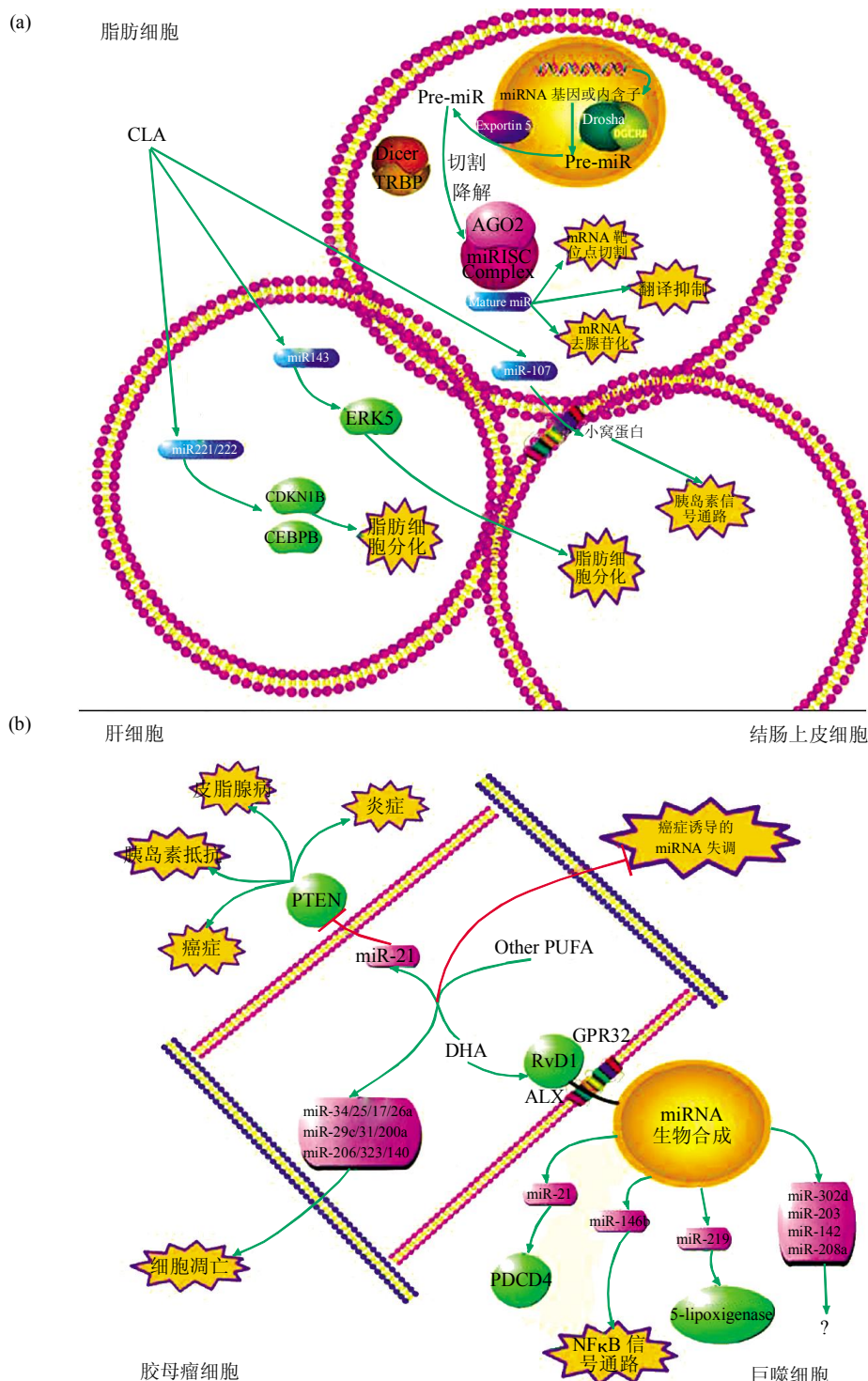


Fig. 3 Proposed role of poly unsaturated fatty acids in "micromanaging" molecular actions

图 3 多不饱和脂肪酸在微调分子活动中的功能

miRNA 由特异性转录本产生的最初前体(Pri-miR)转录而来。在规范的路径里, pri-miR 应该经由 RNase III 酶 Drosha 家族产生前体发夹(pre-miR), 其可由输出蛋白 5(exportin 5 protein)运输到胞浆里。在细胞浆里, 第二种 RNase III 酶(Dicer)切割 Pre-miR 产生约 20 bp 长的 miRNA/miRNA* 双链产物。miRNA/miRNA* 双链中的一条链优先结合到 miRNA- 诱导沉默复合体(miRNA-induced silencing complex, miRISC)中, 而另一条链则发生降解。包含 Argonaute2 (Ago2)的 miRISC 通过碱基配对与它们的靶 mRNA 结合, 从而导致翻译抑制或脱腺苷化和降解。CLA 的添加能够调节脂肪细胞中多种 miRNAs 的表达, 包括 miR-107、-143、-221 以及 miRNA222, 从而在转录后水平调节参与胰岛素信号通路和脂肪细胞分化过程的多种蛋白质的表达。DHA 通过 RvD1 通路可能同样能够调节急性炎症的消退。消散素就是炎症过程中由必需脂肪酸(包括 DHA)酶解合成的。RvD1 与其受体 ALX 和 / 或 GPR32 的结合调节多种可能参与这个过程的 miRNAs 的表达。其他不同的研究证明 DHA 和其他多不饱和脂肪酸能够调节肝脏、胶质母细胞瘤或结肠癌细胞中与不同生物进程相关的多种 miRNAs 的表达。miRNA-21 能在转录后水平调节 PTEN, 而 PTEN 能够参与不同的病理学过程。

在这个研究中, 研究人员测定了 microRNA 在丁酸诱导 p21 表达过程中的作用. 该研究通过微点阵和定量 PCR 的方法对 HCR-116 细胞系以及人类散发结肠癌中 miRNAs 的表达谱进行检测(丁酸改变了多种 miRNAs 的表达, 其中包括 miR-17、miR-106b、miR-20a、miR-20b、miR-93、miR-106a 等), 并通过 3' UTR 荧光素酶标记以及特定 miRNA mimics 转染方法确定了 miR-106b 对 p21 基因表达的调节. 他们的研究表明, 微生物来源的短链脂肪酸通过 miRNAs 的调整变化调节参与肠内动态平衡及癌症发生时宿主细胞基因的表达. 丁酸抑制组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDAC), 使组蛋白乙酰化作用得以增加, 减少染色体折叠效应, 从而增加 p21 的转录. 丁酸还可以减少 miR-106 的表达以及其他拥有相同源序列区域的 miRNAs, miR-106b 家族抑制 p21 的翻译, 从而在两个途径完成对 p21 蛋白的调节.

细胞损伤或分泌产生的 miRNAs 能够在循环系统包括血液、血清或不同的生物学液体中检测到^[104], 脂肪酸是否能诱导特异性 miRNAs 的分泌并进入循环, 在其他组织靶基因发挥作用还没有相关报道, 值得深入探索. 除了确定新的调节性非编码 RNAs 的最近进展, 人类转录组的 RNA 测序^[105]表明人类基因组的非常复杂的生物学调节机理需要更深的鉴定. 现在的一些研究, 例如 DNA 元件百科全书(encyclopedia of DNA elements, ENCODE)工程(为了解译我们基因组的所有功能性元件^[106])将为我们了解基因组尤其是非编码 RNA 的功能做出重大贡献. 因此, 了解脂肪酸对 miRNAs 以及其他非编码 RNAs 的调节作用需要在编码和非编码水平进行深入的研究. 脂肪酸对 miRNAs 和其他 ncRNAs 表达的影响仅仅才开始被发掘, 但是我们能够想象未来那些令人激动的研究将阐明脂肪酸在 ncRNA 调节方面的精确作用.

参 考 文 献

- [1] Ambros V. microRNAs: tiny regulators with great potential. *Cell*, 2001, **107**(7): 823–826
- [2] Ambros V. MicroRNA pathways in flies and worms: growth, death, fat, stress, and timing. *Cell*, 2003, **113**(6): 673–676
- [3] Esquela-Kerscher A, Slack F J. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2006, **6**(4): 259–269
- [4] Hurst L D. Preliminary assessment of the impact of microRNA-mediated regulation on coding sequence evolution in mammals. *J Mol Evol*, 2006, **63**(2): 174–182
- [5] Bartel D P. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*, 2009, **136**(2): 215–233
- [6] Vasudevan S, Tong Y, Steitz J A. Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation. *Science*, 2007, **318**(5858): 1931–1934
- [7] Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nat Rev Genet*, 2010, **11**(9): 597–610
- [8] Hackl H, Burkard T R, Sturn A, *et al.* Molecular processes during fat cell development revealed by gene expression profiling and functional annotation. *Genome Biol*, 2005, **6**(13): R108
- [9] Miranda K C, Huynh T, Tay Y, *et al.* A pattern-based method for the identification of MicroRNA binding sites and their corresponding heteroduplexes. *Cell*, 2006, **126**(6): 1203–1217
- [10] Lewis B P, Burge C B, Bartel D P. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*, 2005, **120**(1): 15–20
- [11] Liang X, Zhou D, Wei C, *et al.* MicroRNA-34c enhances murine male germ cell apoptosis through targeting ATF1. *PLoS One*, 2012, **7**(3): e33861
- [12] Lima R T, Busacca S, Almeida G M, *et al.* MicroRNA regulation of core apoptosis pathways in cancer. *Eur J Cancer*, 2011, **47** (2): 163–174
- [13] Lewis B P, Shih I H, Jones-Rhoades M W, *et al.* Prediction of mammalian microRNA targets. *Cell*, 2003, **115**(7): 787–798
- [14] Chen Y, Stallings R L. Differential patterns of microRNA expression in neuroblastoma are correlated with prognosis, differentiation, and apoptosis. *Cancer Res*, 2007, **67**(3): 976–983
- [15] Li M A, He L. microRNAs as novel regulators of stem cell pluripotency and somatic cell reprogramming. *Bioessays*, 2012, **34**(8): 670–680
- [16] Yuan Y, Zeng Z Y, Liu X H, *et al.* MicroRNA-203 inhibits cell proliferation by repressing DeltaNp63 expression in human esophageal squamous cell carcinoma. *BMC Cancer*, 2011, **11**: 57
- [17] Zhang J, Ying Z Z, Tang Z L, *et al.* MicroRNA-148a promotes myogenic differentiation by targeting the ROCK1 gene. *J Biol Chem*, 2012, **287**(25): 21093–21101
- [18] Liu W M, Pang R T, Chiu P C, *et al.* Sperm-borne microRNA-34c is required for the first cleavage division in mouse. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, **109**(2): 490–494
- [19] Poy M N, Eliasson L, Krutzfeldt J, *et al.* A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion. *Nature*, 2004, **432** (7014): 226–230
- [20] Kajimoto K, Naraba H, Iwai N. MicroRNA and 3T3-L1 pre-adipocyte differentiation. *RNA*, 2006, **12**(9): 1626–1632
- [21] Bae Y, Yang T, Zeng H C, *et al.* miRNA-34c regulates Notch signaling during bone development. *Hum Mol Genet*, 2012, **21**(13): 2991–3000
- [22] Mello C C, Conte D, Jr. Revealing the world of RNA interference. *Nature*, 2004, **431**(7006): 338–342
- [23] Skalsky R L, Corcoran D L, Gottwein E, *et al.* The viral and cellular microRNA targetome in lymphoblastoid cell lines. *PLoS Pathog*, 2012, **8**(1): e1002484

- [24] Wang X, Ye L, Zhou Y, *et al.* Inhibition of anti-HIV microRNA expression: a mechanism for opioid-mediated enhancement of HIV infection of monocytes. *Am J Pathol*, 2011, **178**(1): 41–47
- [25] Jiang W, Chen X, Liao M, *et al.* Identification of links between small molecules and miRNAs in human cancers based on transcriptional responses. *Sci Rep*, 2012, **2**(1): 282–299
- [26] He L, He X, Lowe S W, *et al.* MicroRNAs join the p53 network--another piece in the tumour-suppression puzzle. *Nat Rev Cancer*, 2007, **7**(11): 819–822
- [27] Bao N, Lye K W, Barton M K. MicroRNA binding sites in Arabidopsis class III HD-ZIP mRNAs are required for methylation of the template chromosome. *Dev Cell*, 2004, **7**(5): 653–662
- [28] Rottiers V, Näär A M. MicroRNAs in metabolism and metabolic disorders. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, **13**(4): 239–250
- [29] Nelson P, Kiriakidou M, Sharma A, *et al.* The microRNA world: small is mighty. *Trends Biochem Sci*, 2003, **28**(10): 534–540
- [30] Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature*, 2004, **431**(7006): 350–355
- [31] Plaisance V, Abderrahmani A, Perret-Menoud V, *et al.* MicroRNA-9 controls the expression of Granuphilin/Slp4 and the secretory response of insulin-producing cells. *J Biol Chem*, 2006, **281**(37): 26932–26942
- [32] Zhu H, Shyh-Chang N, Segre A V, *et al.* The Lin28/let-7 axis regulates glucose metabolism. *Cell*, 2011, **147**(1): 81–94
- [33] Mersey B D, Jin P, Danner D J. Human microRNA (miR29b) expression controls the amount of branched chain alpha-ketoacid dehydrogenase complex in a cell. *Hum Mol Genet*, 2005, **14**(22): 3371–3377
- [34] Xu P, Vernoooy S Y, Guo M, *et al.* The Drosophila microRNA Mir-14 suppresses cell death and is required for normal fat metabolism. *Curr Biol*, 2003, **13**(9): 790–795
- [35] Esau C, Davis S, Murray S F, *et al.* miR-122 regulation of lipid metabolism revealed by *in vivo* antisense targeting. *Cell Metab*, 2006, **3**(2): 87–98
- [36] Cheung O, Puri P, Eicken C, *et al.* Nonalcoholic steatohepatitis is associated with altered hepatic microRNA expression. *Hepatology*, 2008, **48**(6): 1810–1820
- [37] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, *et al.* Identification of tissue-specific microRNAs from mouse. *Curr Biol*, 2002, **12**(9): 735–739
- [38] Vickers K C, Remaley A T. MicroRNAs in atherosclerosis and lipoprotein metabolism. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2010, **17**(2): 150–155
- [39] Xu H, He J H, Xiao Z D, *et al.* Liver-enriched transcription factors regulate microRNA-122 that targets CUTL1 during liver development. *Hepatology*, 2010, **52**(4): 1431–1442
- [40] Elmen J, Lindow M, Schutz S, *et al.* LNA-mediated microRNA silencing in non-human primates. *Nature*, 2008, **452**(7189): 896–899
- [41] Castoldi M, Vujic Spasic M, Altamura S, *et al.* The liver-specific microRNA miR-122 controls systemic iron homeostasis in mice. *J Clin Invest*, 2011, **121**(4): 1386–1396
- [42] Lanford R E, Hildebrandt-Eriksen E S, Petri A, *et al.* Therapeutic silencing of microRNA-122 in primates with chronic hepatitis C virus infection. *Science*, 2010, **327**(5962): 198–201
- [43] Dietschy J M, Turley S D. Control of cholesterol turnover in the mouse. *J Biol Chem*, 2002, **277**(6): 3801–3804
- [44] Girard M, Jacquemin E, Munnich A, *et al.* miR-122, a paradigm for the role of microRNAs in the liver. *J Hepatol*, 2008, **48**(4): 648–656
- [45] Chen X M. MicroRNA signatures in liver diseases. *World J Gastroenterol*, 2009, **15**(14): 1665–1672
- [46] Lynn F C. Meta-regulation: microRNA regulation of glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab*, 2009, **20**(9): 452–459
- [47] Liscum L, Munn N J. Intracellular cholesterol transport. *Biochim Biophys Acta*, 1999, **1438**(1): 19–37
- [48] Krützfeldt J, Rajewsky N, Braich R, *et al.* Silencing of microRNAs *in vivo* with 'antagomirs'. *Nature*, 2005, **438**(7068): 685–689
- [49] Iliopoulos D, Drosatos K, Hiyama Y, *et al.* MicroRNA-370 controls the expression of microRNA-122 and Cpt1alpha and affects lipid metabolism. *J Lipid Res*, 2010, **51**(6): 1513–1523
- [50] Gao W, He H W, Wang Z M, *et al.* Plasma levels of lipometabolism-related miR-122 and miR-370 are increased in patients with hyperlipidemia and associated with coronary artery disease. *Lipids Health Dis*, 2012, **11**(1): 55
- [51] Davalos A, Goedeke L, Smibert P, *et al.* miR-33a/b contribute to the regulation of fatty acid metabolism and insulin signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(22): 9232–9237
- [52] Marquart T J, Allen R M, Ory D S, *et al.* miR-33 links SREBP-2 induction to repression of sterol transporters. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(27): 12228–12232
- [53] Najafi-Shoushtari S H, Kristo F, Li Y, *et al.* MicroRNA-33 and the SREBP host genes cooperate to control cholesterol homeostasis. *Science*, 2010, **328**(5985): 1566–1569
- [54] Rayner K J, Suarez Y, Davalos A, *et al.* MiR-33 contributes to the regulation of cholesterol homeostasis. *Science*, 2010, **328**(5985): 1570–1573
- [55] Horie T, Ono K, Horiguchi M, *et al.* MicroRNA-33 encoded by an intron of sterol regulatory element-binding protein 2 (Srebp2) regulates HDL *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(40): 17321–17326
- [56] Rayner K J, Sheedy F J, Esau C C, *et al.* Antagonism of miR-33 in mice promotes reverse cholesterol transport and regression of atherosclerosis. *J Clin Invest*, 2011, **121**(7): 2921–2931
- [57] Rayner K J, Esau C C, Hussain F N, *et al.* Inhibition of miR-33a/b in non-human primates raises plasma HDL and lowers VLDL triglycerides. *Nature*, 2011, **478**(7369): 404–407
- [58] Gerin I, Clerbaux L A, Haumont O, *et al.* Expression of miR-33 from an SREBP2 intron inhibits cholesterol export and fatty acid oxidation. *J Biol Chem*, 2010, **285**(44): 33652–33661
- [59] Brady P S, Ramsay R R, Brady L J. Regulation of the long-chain carnitine acyltransferases. *FASEB J*, 1993, **7**(11): 1039–1044
- [60] Ramsay R R, Gandour R D. Selective modulation of carnitine long-chain acyltransferase activities. Kinetics, inhibitors, and active

- sites of COT and CPT- II . *Adv Exp Med Biol*, 1999, **466**: 103–109
- [61] Mannaerts G P, Van Veldhoven P P, Casteels M. Peroxisomal lipid degradation *via* beta- and alpha-oxidation in mammals. *Cell Biochem Biophys*, 2000, **32** Spring: 73–87
- [62] Ramirez C M, Davalos A, Goedeke L, *et al.* MicroRNA-758 regulates cholesterol efflux through posttranscriptional repression of ATP-binding cassette transporter A1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, **31**(11): 2707–2714
- [63] Lin J, Puigserver P, Donovan J, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1beta (PGC-1beta), a novel PGC-1-related transcription coactivator associated with host cell factor. *J Biol Chem*, 2002, **277**(3): 1645–1648
- [64] Wolfrum C, Stoffel M. Coactivation of Foxa2 through Pgc-1beta promotes liver fatty acid oxidation and triglyceride/VLDL secretion. *Cell Metab*, 2006, **3**(2): 99–110
- [65] Hu E, Kim J B, Sarraf P, *et al.* Inhibition of adipogenesis through MAP kinase-mediated phosphorylation of PPARgamma. *Science*, 1996, **274**(5295): 2100–2103
- [66] Adams M, Reginato M J, Shao D, *et al.* Transcriptional activation by peroxisome proliferator-activated receptor gamma is inhibited by phosphorylation at a consensus mitogen-activated protein kinase site. *J Biol Chem*, 1997, **272**(8): 5128–5132
- [67] Camp H S, Tafuri S R. Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma activity by mitogen-activated protein kinase. *J Biol Chem*, 1997, **272**(16): 10811–10816
- [68] Larsen L, Rosenstjerne M W, Gaarn L W, *et al.* Expression and localization of microRNAs in perinatal rat pancreas: role of miR-21 in regulation of cholesterol metabolism. *PLoS One*, 2011, **6**(10): e25997
- [69] Chen T, Li Z, Tu J, *et al.* MicroRNA-29a regulates pro-inflammatory cytokine secretion and scavenger receptor expression by targeting LPL in oxLDL-stimulated dendritic cells. *FEBS Lett*, 2011, **585**(4): 657–663
- [70] Hoekstra M, Van Der Sluis R J, Kuiper J, *et al.* Nonalcoholic fatty liver disease is associated with an altered hepatocyte microRNA profile in LDL receptor knockout mice. *J Nutr Biochem*, 2012, **23**(6): 622–628
- [71] Ou Z, Wada T, Gramignoli R, *et al.* MicroRNA hsa-miR-613 targets the human LXRalpha gene and mediates a feedback loop of LXRalpha autoregulation. *Mol Endocrinol*, 2011, **25**(4): 584–596
- [72] Lee E K, Lee M J, Abdelmohsen K, *et al.* miR-130 suppresses adipogenesis by inhibiting peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression. *Mol Cell Biol*, 2011, **31**(4): 626–638
- [73] Esau C, Kang X, Peralta E, *et al.* MicroRNA-143 regulates adipocyte differentiation. *J Biol Chem*, 2004, **279** (50): 52361–52365
- [74] Lin Q, Gao Z, Alarcon R M, *et al.* A role of miR-27 in the regulation of adipogenesis. *FEBS J*, 2009, **276**(8): 2348–2358
- [75] Wang T, Li M, Guan J, *et al.* MicroRNAs miR-27a and miR-143 regulate porcine adipocyte lipid metabolism. *Int J Mol Sci*, 2011, **12**(11): 7950–7959
- [76] Nakanishi N, Nakagawa Y, Tokushige N, *et al.* The up-regulation of microRNA-335 is associated with lipid metabolism in liver and white adipose tissue of genetically obese mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, **385**(4): 492–496
- [77] Wilfred B R, Wang W X, Nelson P T. Energizing miRNA research: a review of the role of miRNAs in lipid metabolism, with a prediction that miR-103/107 regulates human metabolic pathways. *Mol Genet Metab*, 2007, **91**(3): 209–217
- [78] Landgraf P, Rusu M, Sheridan R, *et al.* A mammalian microRNA expression atlas based on small RNA library sequencing. *Cell*, 2007, **129**(7): 1401–1414
- [79] Richard D, Bausero P, Schneider C, *et al.* Polyunsaturated fatty acids and cardiovascular disease. *Cell Mol Life Sci*, 2009, **66**(20): 3277–3288
- [80] Visioli F, Giordano E, Nicod N M, *et al.* Molecular targets of omega 3 and conjugated linoleic Fatty acids - "micromanaging" cellular response. *Front Physiol*, 2012, **3**(2): 42–52
- [81] Gerber M. Omega-3 fatty acids and cancers: a systematic update review of epidemiological studies. *Br J Nutr*, 2012, **107**(Suppl 2): S228–239
- [82] Tanaka T, Hosokawa M, Yasui Y, *et al.* Cancer chemopreventive ability of conjugated linolenic acids. *Int J Mol Sci*, 2011, **12**(11): 7495–7509
- [83] Delgado-Lista J, Perez-Martinez P, Lopez-Miranda J, *et al.* Long chain omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: a systematic review. *Br J Nutr*, 2012, **107**(Suppl 2): S201–213
- [84] Miles E A, Calder P C. Influence of marine n-3 polyunsaturated fatty acids on immune function and a systematic review of their effects on clinical outcomes in rheumatoid arthritis. *Br J Nutr*, 2012, **107**(Suppl 2): S171–184
- [85] Parra P, Serra F, Palou A. Expression of adipose microRNAs is sensitive to dietary conjugated linoleic acid treatment in mice. *PLoS One*, 2010, **5**(9): e13005
- [86] Trajkovski M, Hausser J, Soutschek J, *et al.* MicroRNAs 103 and 107 regulate insulin sensitivity. *Nature*, 2011, **474**(7353): 649–653
- [87] Li H, Zhang Z, Zhou X, *et al.* Effects of microRNA-143 in the differentiation and proliferation of bovine intramuscular preadipocytes. *Mol Biol Rep*, 2011, **38**(7): 4273–4280
- [88] Skarn M, Namlos H M, Noordhuis P, *et al.* Adipocyte differentiation of human bone marrow-derived stromal cells is modulated by microRNA-155, microRNA-221, and microRNA-222. *Stem Cells Dev*, 2012, **21**(6): 873–883
- [89] Li J, Yen C, Liaw D, *et al.* PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science*, 1997, **275**(5308): 1943–1947
- [90] Peyrou M, Bourgoin L, Foti M. PTEN in liver diseases and cancer. *World J Gastroenterol*, 2010, **16**(37): 4627–4633
- [91] Peyrou M, Bourgoin L, Foti M. PTEN in non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis and cancer. *Dig Dis*, 2010, **28**(1): 236–246
- [92] Vinciguerra M, Carrozzino F, Peyrou M, *et al.* Unsaturated fatty acids promote hepatoma proliferation and progression through downregulation of the tumor suppressor PTEN. *J Hepatol*, 2009,

- 50(6): 1132–1141
- [93] Vinciguerra M, Sgroi A, Veyrat-Durebex C, *et al.* Unsaturated fatty acids inhibit the expression of tumor suppressor phosphatase and tensin homolog (PTEN) *via* microRNA-21 up-regulation in hepatocytes. *Hepatology*, 2009, **49**(4): 1176–1184
- [94] Davidson L A, Wang N, Shah M S, *et al.* n-3 Polyunsaturated fatty acids modulate carcinogen-directed non-coding microRNA signatures in rat colon. *Carcinogenesis*, 2009, **30**(12): 2077–2084
- [95] Mandal C C, Ghosh-Choudhury T, Dey N, *et al.* miR-21 is targeted by Omega-3 polyunsaturated fatty acid to regulate breast tumor CSF-1 expression. *Carcinogenesis*, 2012, **33**(10): 1897–1908
- [96] Leaver H A, Wharton S B, Bell H S, *et al.* Highly unsaturated fatty acid induced tumour regression in glioma pharmacodynamics and bioavailability of gamma linolenic acid in an implantation glioma model: effects on tumour biomass, apoptosis and neuronal tissue histology. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2002, **67**(5): 283–292
- [97] Leaver H A, Bell H S, Rizzo M T, *et al.* Antitumour and pro-apoptotic actions of highly unsaturated fatty acids in glioma. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2002, **66**(1): 19–29
- [98] Leaver H A, Rizzo M T, Whittle I R. Antitumour actions of highly unsaturated fatty acids: cell signalling and apoptosis. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2002, **66**(1): 1–3
- [99] Farago N, Feher L Z, Kitajka K, *et al.* MicroRNA profile of polyunsaturated fatty acid treated glioma cells reveal apoptosis-specific expression changes. *Lipids Health Dis*, 2011, **10**(1): 173–180
- [100] Serhan C N. Systems approach to inflammation resolution: identification of novel anti-inflammatory and pro-resolving mediators. *J Thromb Haemost*, 2009, **7**(Suppl 1): 44–48
- [101] Fredman G, Serhan C N. Specialized proresolving mediator targets for RvE1 and RvD1 in peripheral blood and mechanisms of resolution. *Biochem J*, 2011, **437**(2): 185–197
- [102] Recchiuti A, Krishnamoorthy S, Fredman G, *et al.* MicroRNAs in resolution of acute inflammation: identification of novel resolvins D1-miRNA circuits. *FASEB J*, 2011, **25**(2): 544–560
- [103] Hu S, Dong T S, Dalal S R, *et al.* The microbe-derived short chain fatty acid butyrate targets miRNA-dependent p21 gene expression in human colon cancer. *PLoS One*, 2011, **6**(1): e16221
- [104] Kosaka N, Iguchi H, Ochiya T. Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Sci*, 2010, **101**(10): 2087–2092
- [105] Mercer T R, Gerhardt D J, Dinger M E, *et al.* Targeted RNA sequencing reveals the deep complexity of the human transcriptome. *Nat Biotechnol*, 2012, **30**(1): 99–104
- [106] Birney E, Stamatoyannopoulos J A, Dutta A, *et al.* Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. *Nature*, 2007, **447**(7146): 799–816

MicroRNAs and Lipids Metabolism*

NAN Xue-Mei¹⁾, WANG Jia-Qi^{1)**}, CHEN Hai-Yan^{1,2)}, HU Han¹⁾

¹⁾ State Key Laboratory of Animal Nutrition, Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China;

²⁾ College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract This article overviewed the study progression of the roles of a class of non-coding RNAs termed microRNAs on lipid metabolism and the effects of fatty acids on microRNA expression. miRNAs can regulate lipid metabolism in multiple levels. miR-122, -307, -33 and so on can regulate fatty acid synthesis, fatty acid oxidation, triglyceride synthesis, cholesterol flow and lipoprotein synthesis in direct or indirect ways *via* the combination to their target genes. Lipids of diets, especially the essential fatty acids, can involve in the biology processes, such as cancer resistance and inflammation remission, *via* the regulation of miRNAs.

Key words microRNAs, cholesterol synthesis, cholesterol homeostasis, fatty acid oxidation, triglyceride synthesis, essential fatty acids

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00223

* This work was supported by a grant from National Basic Research Program of China (2011CB100800).

**Corresponding author.

Tel: 86-10-62815859, E-mail: jqwangcaas@gmail.com

Received: May 9, 2012 Accepted: August 17, 2012