

热点评析

肿瘤和心血管疾病中的应激信号与microRNA调控

刘 特 郭礼和

机体对于生理性或非生理性的应激信号异常应答,往往是导致疾病发生的病因。肿瘤或心血管疾病的发生就是很好的例证。近年来许多研究指出,机体对外界应激信号的应答受microRNA调控,而异常的microRNA调控与上述疾病的发生有着密切联系。在此,我们概述了若干与应激信号调控相关的microRNA及其作用机制,阐述它们与肿瘤和心血管疾病发生的密切关系。

前言

表观遗传学(epigenetics)研究表明,细胞质内存在一类非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA),它们的长度在21~23 nt之间,在物种进化和序列同源性方面处于高度保守性,但在序列内并无开放式阅读框(ORF, 不编码任何多肽),这些迹象提示它们在细胞和生物体内应起着重要的生理功能作用。这类ncRNA通常被称为小分子RNA或者微小分子RNA(microRNA或miRNA)。越来越多的研究结果表明, microRNA是一类广泛存在于真核生物(包括单细胞生物和多细胞生物)体内的重要反式作用因子,参与细胞增殖、发育、分化和凋亡,同时对机体的多种生理生化过程进行调节^[1-10]。

当细胞或机体遭遇到环境的应激(stress)信号刺激时,通常会选择以下两种方式进行应答(response):要么通过重建细胞动态自我平衡来恢复到以前的生理状态;要么采取改变当前生理状态的方式来适应新的环境。上述两种应答过程会通过多种分子细胞生物学调控机制加以缓解和调和^[11-12]。例如:细胞内发生分子伴侣诱导的过程^[13-14];对危害细胞的大分子复合物进行清理或修复^[15-16];细胞生长受到阻滞和特定基因表达调控^[17]等。当细胞与危险的应激信号长时间对抗未果时,细胞就会选择凋亡程序来回应该应激刺激的伤害。

细胞对复杂环境多种刺激的信号做出快速应答反应,这就要求细胞对外来各种刺激信号进行综

合、会话(cross-talking)、加工和抉择,就像一个人突然同时遇到外界几种危急情况,他就要处理这种复杂危机,快速做出抉择和行动,人体承担此项任务的是中枢神经系统。但在细胞内由谁来承担?当然是细胞信号转导的通路,但是由谁来调控?现在来看应是microRNA。因为,它们在细胞内种类繁多,并具有多种重要的生理生化和基因的调节功能,每个microRNA可以有多个靶基因,而几个microRNAs也可以调节同一个靶基因,这就可以构建复杂和相互交织的信号调节网络,既可以通过一个microRNA来调控多个靶基因的表达,也可以通过几个microRNAs的组合来精细调控某个靶基因的表达。据推测, microRNA至少可以调节人类三分之一以上的基因。

近期越来越多的实验结果显示,环境的应激可以改变microRNA的生理生化功能、靶基因的表达及“microRNA-protein”复合物的活性,最终可以改变细胞和机体对应激刺激的应答机制^[18],造成非正常的应答,从而导致疾病的发生。

1 microRNA加工过程及对应激信号的应答

1.1 microRNA的加工过程

microRNA从产生到形成具有活性的成熟小分子,需要经过多个复杂的剪切和加工过程(图1)。首先,位于基因组特定区域(如一些编码基因的内含子、非编码基因的外显子或内含子、基因组间隔区域等)的核苷酸序列会被转录成microRNA的初级产物(pri-miRNA)^[18-20],长度通常为300~1 000 nt。随后, pri-miRNA初级产物被核内的Drosha酶加工成长度为60~100 nt的具有典型茎环结构(stem loop structure)的双链RNA(dsRNA),通常称为前体miRNA(pre-miRNA)^[21-23]。接着, pre-miRNA在Exportin-5酶的引导下^[24-25],从细胞核进入胞浆中,被核酸内切酶Dicer

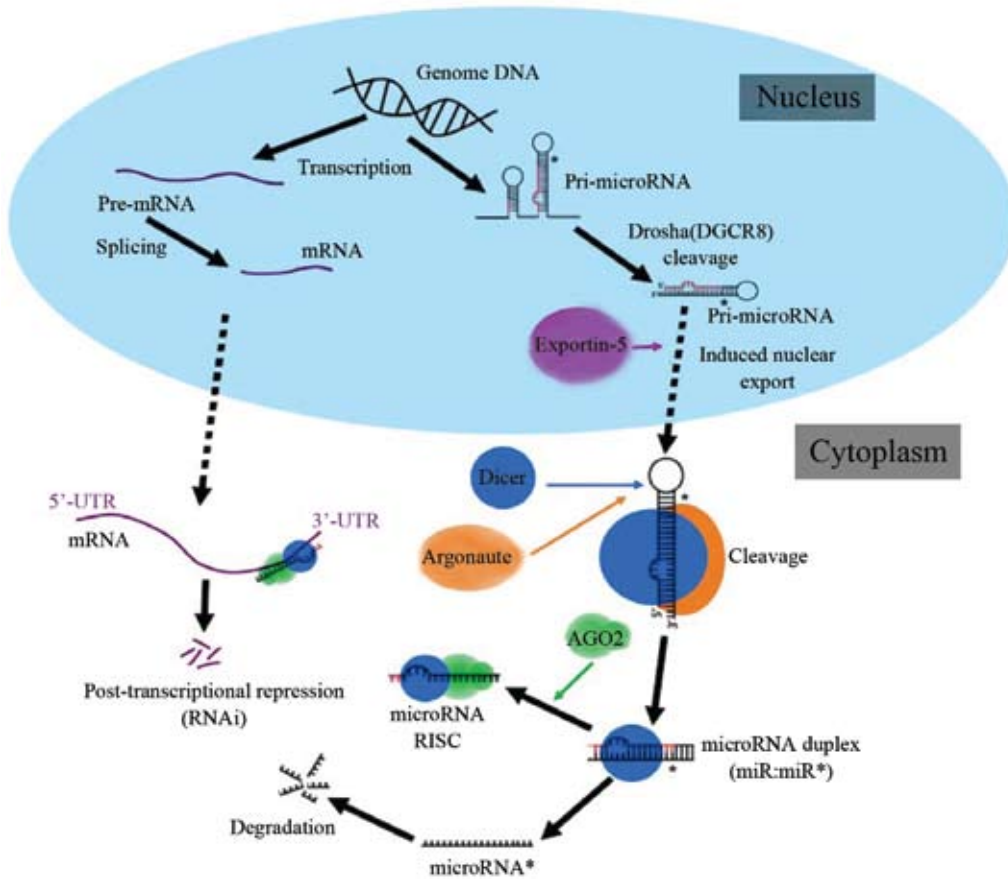


图1 基因组转录和microRNA前体加工及成熟过程

Fig.1 Genome transcription and processing of pre-microRNA matured

进一步切割成21~23 nt长度的miRNA-miRNA*复合物^[26]。通常, miRNA-miRNA*复合物被解旋酶解螺旋形成两条单链核酸结构, 其中miRNA会在Argonaute蛋白(AGO)家族成员的协助下形成RNA诱导沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC), 该复合物为具有活性的成熟miRNA(mature miRNA), 也就是下面所说的具有调节功能的microRNA, 它们功能的发挥是通过与靶基因特定位置结合——主要是在mRNA的3'端非翻译区(3'UTR)或者mRNA互补区域——诱发转录后基因沉默(post transcriptional gene silencing)^[27], 也就是不能翻译为蛋白质。miRNA*通常作为转录副产物被核酸酶所消化^[7,28-29]。

1.2 microRNA对应激信号的应答

当应激发生时, microRNA通常会通过以下五类潜在机制进行调控: 第一, 对应激信号转导的介导(stress signal mediation); 第二, 对应激信号转导的协调(stress signal modulation); 第三, 负反馈系统对应激信号转导的缓解(negative feedback: signal resolution);

第四, 正反馈系统对应激信号表型的增强(positive feedback: phenotypic switching); 第五, 缓冲应激信号, 使应答反应处于稳态(buffering: signal stability)。这五种机制的激活过程不尽相同, 但是对应激信号应答过程中的唯一相同点, 就是都需要通过相应的microRNA来完成。应激一旦发生, 就会激活相应的microRNA, 然后由它通过直接或间接调控下游应激信号相关通路, 从而实现对该应激信号的应答(图2)。研究发现, 若相应的microRNA分子缺乏时, 该应激信号的应答过程将变得非常缓慢^[30]。

应激的应答过程若属于上述第一类信号转导的介导机制, 那只是简单地激活相应的下游microRNA分子, 然后由该分子诱发细胞或机体对该应激作出应答(图2A)。应激的应答过程若属于第二类信号转导的协调机制, 应激信号不会直接作用于下游的microRNA分子, 而是直接激活下游的介导子(mediator)。该介导子是受某一种microRNA直接调控的, 也就是microRNA间接调控机体或者细胞内的应激

信号应答反应(图2B)。属于这类机制调控的在相应的microRNA缺乏时, 该应激应答过程就不会被协调处于稳态, 而会变得异常活跃。

第三和第四类应激应答机制中都存在应答的反馈调节过程, 应激信号不仅仅激发机体或细胞对该信号的应答, 同时也操控microRNA和正调控子(positive regulator)或负调控子(negative regulator)对其应答的进一步调节。当应激信号转导进入负反馈调控过程时(图2C), 被激活的microRNA会沉默(RNAi)正调控子的表达, 进而削弱应激信号对细胞或机体的刺激作用, 使应答反应缓和下来; 而在正反馈调节系统中(图2D), 情况恰恰相反, 当microRNA被激活时, 其沉默的却是负调控子, 此时的应激信号会大大增强, 最终形成应答反应持续增强的表型。microRNA介导的应激负反馈调控机制通常可以防止过度激烈的病理反应, 减少对细胞或机体造成损伤, 同时消除应激信号的持续刺激, 使得机体能够恢

复到正常的动态平衡状态。当一个细胞或机体处于一个新的挑战性环境时, 其应激正反馈调控机制将会被激活, microRNA对于应激信号的应答是不可逆的, 迫使细胞或者机体改变常态, 以便适应新环境所带来的刺激反应。

上述的最后一类应激应答调控机制, 属于动态平衡的一种复合调控网络(图2E)。在这类机制调控过程中, 可能由某一个应激相关的microRNA调控多个靶基因, 或多个microRNAs调控一个或多个靶基因, 同时靶向抑制下游的正/负调节基因, 构成激活应答缓冲机制, 组成复合网络的调控。Cohen等^[31]认为, 这类microRNA调控的应答机制, 在普通的环境中并没有多大作用, 但对于突发异常环境所导致的应激状态下, 该应答机制可以在短时间内活化。当应答进入一个稳定状态时, 该机制可以有效抑制或者停止应激信号的持续应答过程。由此可见, 这一机制既可以短暂而快速地激活应答, 又可以提供应答

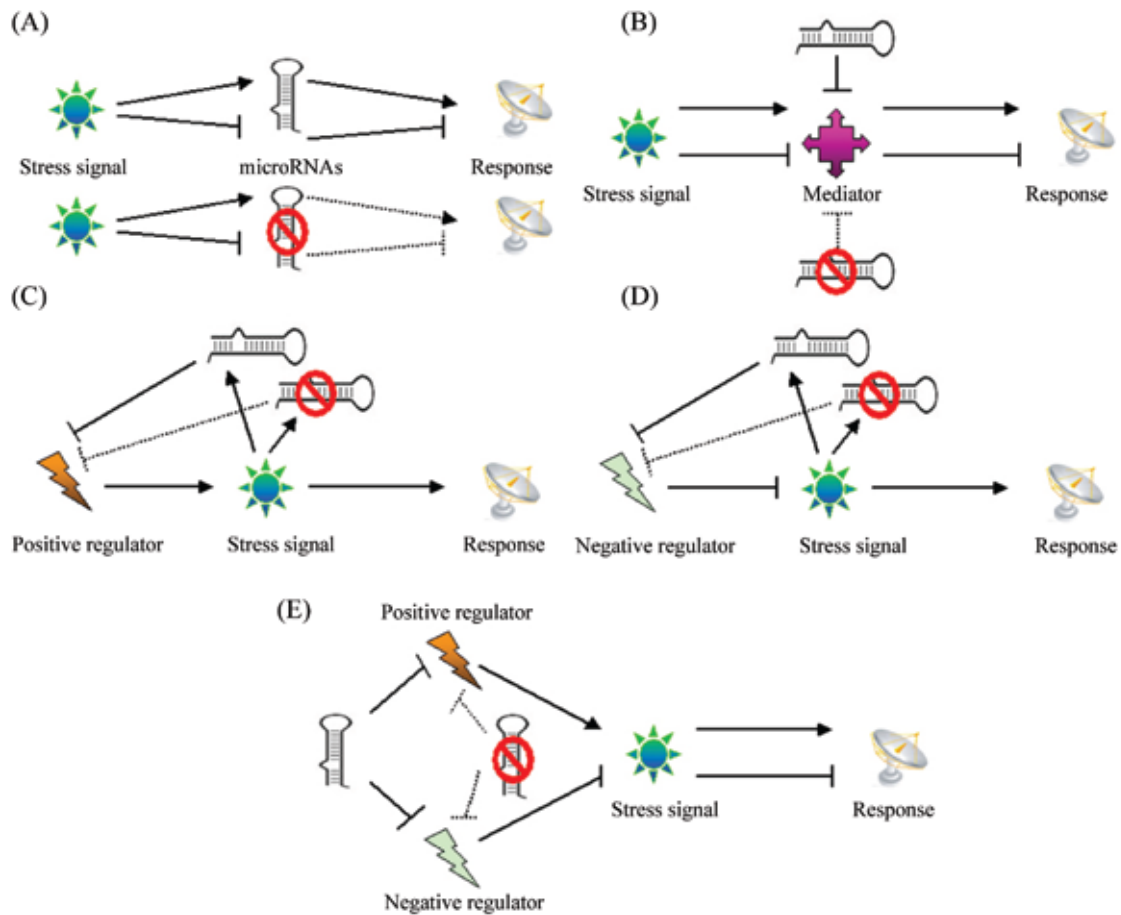


图2 microRNA调控应激信号转导途径的五类机制

Fig.2 The five potential mechanisms of microRNAs regulated stress signaling pathways

的长时程缓冲过程, 以此避免细胞或机体因过渡活化应答或无法控制应答而带来持续性的伤害。

2 肿瘤发生过程中的microRNA调控

肿瘤的发生与细胞的应激信号应答过程发生异常有着密切关联。被称作“基因卫士”的p53是至今发现的最重要的应激感应器, 负责应激对细胞DNA损伤的监测, 保证对损伤DNA的正常修复。若p53发生突变, 细胞DNA损伤修复的应答就会发生异常, 最终有可能导致肿瘤的产生。Hermeking等^[11,32-36]的研究, 揭示了细胞的染色体若出现DNA损伤或错配时, 正常情况下, p53就会激活其下游的microRNA-34家族成员(miR-34a和miR-34b/miR-34c)进行转录, 这群microRNA会同时抑制共同的靶基因, 诱导细胞进入凋亡途径, 从而避免DNA异常的细胞因分裂失控而诱发肿瘤产生。Junttila等^[37]和Suzuki等^[38]发现, 许多肿瘤细胞中存在突变的p53蛋白, 它们往往缠绕在染色体某一个固定的转录活性区域, 使该区域激活。一群microRNA(例如: miR-16、miR-103、miR-143、miR-145、miR-26a和miR-206)的活化与该区域的激活具有正相关性。这些microRNA若过表达于癌症细胞中, 该细胞的增殖就会被有效抑制。实验结果说明, p53对于DNA损伤的细胞命运调控是通过其下游的microRNA来实现的。

在肿瘤细胞中, 核转录因子NFκB对于应激信号的应答就相对复杂得多了。Taganov等^[39]和Zhao等^[40]研究发现, NFκB既可以通过正反馈调控系统应答应激信号, 也可以通过负反馈抑制应激信号。在负反馈应答回路中, NFκB激活下游的microRNA-146a, 而它又反过来靶向沉默NFκB上游的两个激活因子TRAF6和IRAK1的表达, 以此来削弱NFκB对应激信号的应答反应。另一方面, Iliopoulos等^[41]的研究发现, NFκB在应答应激信号时, 会反式激活LIN28B基因的转录, 该基因的转录产物编码一个RNA结合蛋白, 可阻断Let-7(一种microRNA的名称)的前体(pre-let-7)切割过程, 加速该前体代谢, 从而使其Let-7 microRNA失活。依赖于LIN28B的Let-7失活会导致其靶基因IL-6的上调表达, 而IL-6的高表达又会促进NFκB的表达。因此, NFκB可以通过激活LIN28B来实现对应激信号的正反馈应答。

原癌基因Myc可以通过诱导不同的microRNA表达, 来激活不同的应激信号应答反应。首先, 当细

胞癌变时, 体内的原癌基因Myc可以选择性的激活miR-17-92的表达, 从而抑制了抑癌基因的活化, 促进细胞不停地分裂和增殖^[30,42]。这个过程只是最简单的对应激作出直接应答反应的机制。然而, Myc基因还具有另一种功能, 可以激活应激信号的正反馈调控通路。Chang等^[35,43]的研究结果显示, 在正常细胞中Let-7 microRNA可以有效地抑制Myc的表达。但是在肿瘤细胞中, Myc面对细胞恶性增殖的应激信号, 可以活化LIN28B的转录, 以此来抑制其底物Let-7的表达, 从而维持Myc在一个高水平的表达。

肿瘤细胞持续增殖和癌变的应激作用, 也会激活某些microRNA进入反馈回路调节的缓冲途径, 以稳定维持癌细胞对持续应激信号的应答反应。同种癌细胞在不同时期, 需要对同一个应激信号采取不同的应答反应, 或者不同的癌细胞, 对于同一个应激信号也会采取不同应答反应, 这也需要激活某个microRNA来介导。Ji等^[5]、Kota等^[44]和Huse等^[45]发现, microRNA-26的激活, 可以使得机体对应激信号维持在一个稳定的缓冲状态。在microRNA-26家族中有两个成员: microRNA-26a和microRNA-26b。其中microRNA-26a可以通过抑制cyclin D2和E2来阻滞正常细胞停留在G₁期, 从而抑制细胞周期进程; 而在肝癌细胞中, 其表达往往趋于低水平, 促进肝癌生长。在神经胶质瘤中, microRNA-26a反而趋于高水平表达, 从而抑制重要的肿瘤抑癌基因PTEN的表达, 维持胶质瘤细胞始终处于增殖状态。因此, 同一个microRNA在不同的肿瘤细胞中对同类的应激信号应答可以不同, 有的被激活有的被抑制, 其结果均使得肿瘤细胞对持续的增殖应激信号的应答维持在稳定状态。

3 心血管疾病发生过程中的microRNA调控

在心血管疾病中, 已经发现了许多疾病特异的microRNA, 多半和心脏及血管易感性损伤应激反应有着密切的关系^[46]。在小鼠心血管疾病模型及人体活检组织中所发现的特异性microRNA家族可以用来诊断众多的心血管疾病, 包括心肌炎、心肌梗死、动脉粥样硬化、血管畸形及血管紧张素异常释放等^[30]。与肿瘤细胞应激信号的microRNA应答相似, 心血管疾病的应激应答也伴随着microRNA的调控。

Boon等^[47]、Cushing等^[48]、van Rooij等^[18,49]和Patrick等^[50]发现, 当心脏应激信号发生时, microRNA-29就会被激活, 其直接下调心血管疾病相关的纤维化, 减少细胞过度向外释放外基质(excessive extracellular matrix, ECM)和胶原蛋白, 以此来抑制过度应激而导致因心脏纤维化所引起的心血管疾病发生^[30,50-51]。深入的研究发现, TGF- β 是驱动心肌纤维化信号通路的主要上游信号分子, 通过下调microRNA-29表达, 从而增强心肌纤维化的发生。

在心血管疾病应激的应答反应通路中, MAPK/ERK通路相对要复杂得多, 涉及的microRNA调控不光出现在应激信号调制中, 而且也出现在正反馈表型的切换过程。首先, 在血管生长因子的刺激下, MAPK/ERK通路和PI3K/Akt通路会同时被激活。该生长因子的持续表达会导致血管紧张素的大量生成和血管整体的破裂。因此, 当上述应激信号产生后, 内源性microRNA-126会被活化, 其靶基因*Spred1*和*PIK2R2*的表达会受到有效的抑制, 从而遏止血管紧张素的释放, 阻止血管生长素引起的血管过度收缩。Kuhnert等^[52]、Wang等^[53]和Fish等^[54]的研究进一步揭示, 内皮细胞特异的microRNA-126是由*EGFL7*基因的内含子所编码, 而*EGFL7*本身编码的是内皮生长因子。敲除编码microRNA-126基因的小鼠表现出心血管异常脆弱和对血管应激信号应答迟缓的特点。内源性*Spry2*的表达会抑制MAPK/ERK通路的激活。当心血管应激过载或者血管梗阻发生时, MAPK/ERK通路会异常持续激活, 从而导致心肌纤维化、心脏瓣膜狭窄和心肌肥大。该应激信号的异常应答主要是通过激活microRNA-21来实现的。microRNA-21的靶基因是*Spry2*, 异常活化后的microRNA-21能有效抑制*Spry2*的表达, 从而维持MAPK/ERK通路的持续激活。这类应激信号的应答过程属于典型的正反馈调控机制^[18,50,55]。另一方面, 血管内皮生长因子(VEGF)的过度表达也会使得血管畸变, 它是通过激活miR-23a/27a/24-2等成员, 共同抑制靶基因*Spry2*的*Sema6A*表达, 维持MAPK/ERK通路的激活, 引发血管紧张素持续性地表达, 从而诱发血管病变的发生^[6,9,56]。

Cheng等^[6]发现, 在妊娠期高血压并发症中, 持续的血管应激也抑制microRNA-155的表达, 使得MAPK/ERK通路长时间激活, 从而导致大量的血管紧张素产生, 持续刺激胎儿脐静脉和孕妇心脑血管,

引起血管病变。同时, 在血管内皮细胞中若重新表达microRNA-155, 可以有效地抑制血管紧张素受体2的表达, 以此消除血管内皮细胞对血管紧张素持续应激的响应^[6]。

心血管应激应答过程中, 还存在正性和负性调控同时发生的现象。Chang等^[35]、Boettger等^[57]、Cordes等^[58]和Xin等^[59]发现, 血管损伤和动脉粥样硬化都伴随血管平滑肌细胞的过度增殖, 从而导致血管内腔闭塞。正常情况下, TGF- β 信号激活miR-143/145, 可以抑制下游基因*KLF4*和*MRTF*的表达, 促使血管平滑肌细胞进入分化阶段, 从而防止其过度增殖。而当血管处于损伤应激情况下, miR-143/145转录受阻, 其下游分子*MRTF*和*KLF4*处于高表达状态, 使得血管平滑肌细胞始终处于增殖状态, 诱发血管内腔阻塞和动脉粥样硬化的发生。

4 结论与展望

microRNA诱导的细胞与机体对环境应激信号的响应是多种多样的。当应激信号发生时, 正常激活的microRNA表达, 可以有效传递信号并且在适当的时候关闭应答通路, 以此消除应激对机体持续的刺激。然而, 异常激活的microRNA调控, 往往会使得细胞或机体暴露在持续应激刺激下, 最终导致机体产生病变。虽然, 我们对于应激信号的microRNA调控机制已有所了解。但是, 由于microRNA和机体生理生化功能本身的复杂性, 深层次的机制仍然未被完全揭示。故而, 疾病相关的microRNA对应激信号的应答调控机制研究仍然任重而道远。

参考文献 (References)

- 1 Starega-Roslan J, Koscianska E, Kozlowski P, Krzyzosiak WJ. The role of the precursor structure in the biogenesis of microRNA. *Cell Mol Life Sci* 2011; 68(17): 2859-71.
- 2 Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, et al. Golub. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* 2005; 435(7043): 834-8.
- 3 Lima RT, Busacca S, Almeida GM, Gaudino G, Fennell DA, Vasconcelos MH. MicroRNA regulation of core apoptosis pathways in cancer. *Eur J Cancer* 2011; 47(2): 163-74.
- 4 Caporali A, Emanuelli C. MicroRNA regulation in angiogenesis. *Vascul Pharmacol* 2011; 55(4): 79-86.
- 5 Ji J, Shi J, Budhu A, Yu Z, Forgues M, Roessler S, et al. MicroRNA expression, survival, and response to interferon in liver cancer. *N Engl J Med* 2009; 361(15): 1437-47.
- 6 Cheng W, Liu T, Jiang F, Liu C, Zhao X, Gao Y, et al. microRNA-155 regulates angiotensin II type 1 receptor expression

- in umbilical vein endothelial cells from severely pre-eclamptic pregnant women. *Int J Mol Med* 2011; 27(3): 393-9.
- 7 Zhang L, Liu T, Huang Y, Liu J. microRNA-182 inhibits the proliferation and invasion of human lung adenocarcinoma cells through its effect on human cortical actin-associated protein. *Int J Mol Med* 2011; 28(3): 381-8.
 - 8 Liu T, Cheng W, Huang Y, Huang Q, Jiang L, Guo L. Human amniotic epithelial cell feeder layers maintain human iPS cell pluripotency via inhibited endogenous microRNA-145 and increased Sox2 expression. *Exp Cell Res* 2012; 318(4): 424-34.
 - 9 Cheng W, Liu T, Wan X, Gao Y, Wang H. MicroRNA-199a targets CD44 to suppress the tumorigenicity and multidrug resistance of ovarian cancer-initiating cells. *FEBS J* 2012; 279(11): 2047-59.
 - 10 Liu T, Chen Q, Huang Y, Huang Q, Jiang L, Guo L. Low microRNA-199a expression in human amniotic epithelial cell feeder layers maintains human-induced pluripotent stem cell pluripotency via increased leukemia inhibitory factor expression. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2012; 44(3): 197-206.
 - 11 Leung AK, Sharp PA. MicroRNA functions in stress responses. *Mol Cell* 2010; 40(2): 205-15.
 - 12 Kültz D. Molecular and evolutionary basis of the cellular stress response. *Annu Rev Physiol* 2005; 67: 225-57.
 - 13 Buchberger A, Bukau B, Sommer T. Protein quality control in the cytosol and the endoplasmic reticulum: Brothers in arms. *Mol Cell* 2010; 40(2): 238-52.
 - 14 Richter K, Haslbeck M, Buchner J. The heat shock response: Life on the verge of death. *Mol Cell* 2010; 40(2): 253-66.
 - 15 Kroemer G, Mariño G, Levine B. Autophagy and the integrated stress response. *Mol Cell* 2010; 40(2): 280-93.
 - 16 Kroemer G, Pouyssegur J. Tumor cell metabolism: Cancer's Achilles' heel. *Cancer Cell* 2008; 13(6): 472-82.
 - 17 Spriggs KA, Bushell M, Willis AE. Translational regulation of gene expression during conditions of cell stress. *Mol Cell* 2010; 40(2): 228-37.
 - 18 van Rooij E. The art of microRNA research. *Circ Res* 2011; 108(2): 219-34.
 - 19 Cai X, Hagedorn CH, Cullen BR. Human microRNAs are processed from capped, polyadenylated transcripts that can also function as mRNAs. *RNA* 2004; 10(12): 1957-66.
 - 20 Lee Y, Kim M, Han J, Yeom KH, Lee S, Baek SH, *et al.* MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *EMBO J* 2004; 23(20): 4051-60.
 - 21 Denli AM, Tops BB, Plasterk RH, Ketting RF, Hannon GJ. Processing of primary microRNAs by the Microprocessor complex. *Nature* 2004; 432(7014): 231-5.
 - 22 Gregory RI, Yan KP, Amuthan G, Chendrimada T, Doratotaj B, Cooch N, *et al.* The microprocessor complex mediates the genesis of microRNAs. *Nature* 2004; 432(7014): 235-40.
 - 23 Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, *et al.* The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003; 425(6956): 415-9.
 - 24 Yi R, Qin Y, Macara IG, Cullen BR. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes Dev* 2003; 17(24): 3011-6.
 - 25 Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science* 2001; 294(5543): 853-8.
 - 26 Chendrimada TP, Gregory RI, Kumaraswamy E, Norman J, Cooch N, Nishikura K, *et al.* TRBP recruits the Dicer complex to Ago2 for microRNA processing and gene silencing. *Nature* 2005; 436(7051): 740-4.
 - 27 Khvorova A, Reynolds A, Jayasena SD. Functional siRNAs and miRNAs exhibit strand bias. *Cell* 2003; 115(2): 209-16.
 - 28 Cheloufi S, dos Santos CO, Chong MM, Hannon GJ. A dicer-independent miRNA biogenesis pathway that requires Ago catalysis. *Nature* 2010; 465(7298): 584-9.
 - 29 Wu S, Huang S, Ding J, Zhao Y, Liang L, Liu T, *et al.* Multiple microRNAs modulate p21Cip1/Waf1 expression by directly targeting its 3' untranslated region. *Oncogene* 2010; 29(15): 2302-8.
 - 30 Mendell JT, Olson EN. MicroRNAs in stress signaling and human disease. *Cell* 2012; 148(6): 1172-87.
 - 31 Cohen SM, Brennecke J, Stark A. Denoising feedback loops by thresholding--a new role for microRNAs. *Genes Dev* 2006; 20(20): 2769-72.
 - 32 Hermeking H. p53 enters the microRNA world. *Cancer Cell* 2007; 12(5): 414-8.
 - 33 Tarasov V, Jung P, Verdoodt B, Lodygin D, Epanchintsev A, Menssen A, *et al.* Differential regulation of microRNAs by p53 revealed by massively parallel sequencing: miR-34a is a p53 target that induces apoptosis and G1-arrest. *Cell Cycle* 2007; 6(13): 1586-93.
 - 34 Bommer GT, Gerin I, Feng Y, Kaczorowski AJ, Kuick R, Love RE, *et al.* p53-mediated activation of miRNA34 candidate tumor-suppressor genes. *Curr Biol* 2007; 17(15): 1298-307.
 - 35 Chang TC, Wentzel EA, Kent OA, Ramachandran K, Mullendore M, Lee KH, *et al.* Transactivation of miR-34a by p53 broadly influences gene expression and promotes apoptosis. *Mol Cell* 2007; 26(5): 745-52.
 - 36 Raver-Shapira N, Marciano E, Meiri E, Spector Y, Rosenfeld N, Moskovits N, *et al.* Transcriptional activation of miR-34a contributes to p53-mediated apoptosis. *Mol Cell* 2007; 26(5): 731-43.
 - 37 Junttila MR, Evan GI. p53--a Jack of all trades but master of none. *Nat Rev Cancer* 2009; 9(11): 821-9.
 - 38 Suzuki HI, Yamagata K, Sugimoto K, Iwamoto T, Kato S, Miyazono K. Modulation of microRNA processing by p53. *Nature* 2009; 460(7254): 529-33.
 - 39 Zhao JL, Rao DS, Boldin MP, Taganov KD, O'Connell RM, Baltimore D. NF-kappaB dysregulation in microRNA-146a-deficient mice drives the development of myeloid malignancies. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(22): 9184-9.
 - 40 Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, Baltimore D. NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(33): 12481-6.
 - 41 Iliopoulos D, Hirsch HA, Struhl K. An epigenetic switch involving NF-kappaB, Lin28, Let-7 MicroRNA, and IL6 links inflammation to cell transformation. *Cell* 2009; 139(4): 693-706.
 - 42 O'Donnell KA, Wentzel EA, Zeller KI, Dang CV, Mendell JT. c-Myc-regulated microRNAs modulate E2F1 expression. *Nature* 2005; 435(7043): 839-43.
 - 43 Chang TC, Zeitels LR, Hwang HW, Chivukula RR, Wentzel EA, Dews M, *et al.* Lin-28B transactivation is necessary for Myc-

- mediated let-7 repression and proliferation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(9): 3384-9.
- 44 Kota J, Chivukula RR, O'Donnell KA, Wentzel EA, Montgomery CL, Hwang HW, *et al.* Therapeutic microRNA delivery suppresses tumorigenesis in a murine liver cancer model. *Cell* 2009; 137(6): 1005-17.
- 45 Huse JT, Brennan C, Hambardzumyan D, Wee B, Pena J, Rouhanifard SH, *et al.* The PTEN-regulating microRNA miR-26a is amplified in high-grade glioma and facilitates gliomagenesis *in vivo*. *Genes Dev* 2009; 23(11): 1327-37.
- 46 Small EM, Olson EN. Pervasive roles of microRNAs in cardiovascular biology. *Nature* 2011; 469(7330): 336-42.
- 47 Boon RA, Seeger T, Heydt S, Fischer A, Hergenreider E, Horrevoets AJ, *et al.* MicroRNA-29 in aortic dilation: Implications for aneurysm formation. *Circ Res* 2011; 109(10): 1115-9.
- 48 Cushing L, Kuang PP, Qian J, Shao F, Wu J, Little F, *et al.* miR-29 is a major regulator of genes associated with pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2011; 45(2): 287-94.
- 49 van Rooij E, Sutherland LB, Liu N, Williams AH, McAnally J, Gerard RD, *et al.* A signature pattern of stress-responsive microRNAs that can evoke cardiac hypertrophy and heart failure. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(48): 18255-60.
- 50 Patrick DM, Montgomery RL, Qi X, Obad S, Kauppinen S, Hill JA, *et al.* Stress-dependent cardiac remodeling occurs in the absence of microRNA-21 in mice. *J Clin Invest* 2010; 120(11): 3912-6.
- 51 Hill JA, Olson EN. Cardiac plasticity. *N Engl J Med* 2008; 358(13): 1370-80.
- 52 Kuhnert F, Mancuso MR, Hampton J, Stankunas K, Asano T, Chen CZ, *et al.* Attribution of vascular phenotypes of the murine *Egfl7* locus to the microRNA miR-126. *Development* 2008; 135(24): 3989-93.
- 53 Wang S, Aurora AB, Johnson BA, Qi X, McAnally J, Hill JA, *et al.* The endothelial-specific microRNA miR-126 governs vascular integrity and angiogenesis. *Dev Cell* 2008; 15(2): 261-71.
- 54 Fish JE, Santoro MM, Morton SU, Yu S, Yeh RF, Wythe JD, *et al.* miR-126 regulates angiogenic signaling and vascular integrity. *Dev Cell* 2008; 15(2): 272-84.
- 55 Thum T, Gross C, Fiedler J, Fischer T, Kissler S, Bussen M, *et al.* MicroRNA-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signalling in fibroblasts. *Nature* 2008; 456(7224): 980-4.
- 56 Zhou Q, Gallagher R, Ufret-Vincenty R, Li X, Olson EN, Wang S. Regulation of angiogenesis and choroidal neovascularization by members of microRNA-23~27~24 clusters. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(20): 8287-92.
- 57 Boettger T, Beetz N, Kostin S, Schneider J, Krüger M, Hein L, *et al.* Acquisition of the contractile phenotype by murine arterial smooth muscle cells depends on the Mir143/145 gene cluster. *J Clin Invest* 2009; 119(9): 2634-47.
- 58 Cordes KR, Sheehy NT, White MP, Berry EC, Morton SU, Muth AN, *et al.* miR-145 and miR-143 regulate smooth muscle cell fate and plasticity. *Nature* 2009; 460(7256): 705-10.
- 59 Xin M, Small EM, Sutherland LB, Qi X, McAnally J, Plato CF, *et al.* MicroRNAs miR-143 and miR-145 modulate cytoskeletal dynamics and responsiveness of smooth muscle cells to injury. *Genes Dev* 2009; 23(18): 2166-78.