

MicroRNA 在雌性哺乳动物生殖中的作用

任刚 杨增明*

(东北农业大学生命科学学院, 哈尔滨 150030)

摘要 MicroRNAs (miRNAs) 是一类内源性的非编码 RNAs, 通过与编码蛋白的 mRNAs 序列配对, 在转录后调节基因表达。将 miRNA 成熟过程中的关键酶 Dicer 完全敲除后, 导致小鼠胚胎在发育早期致死。条件敲除或减效敲除 Dicer, 导致雌性小鼠的生殖缺陷。MiRNA 在调节卵母细胞成熟、黄体发育、早期胚胎发育及胚胎着床等过程中起重要作用。此外, miRNA 表达异常与多种生殖道疾病密切相关。

关键词 microRNA; 子宫; 卵巢; 胚胎; Dicer

MicroRNAs (miRNAs) 是一类具有约 19~25 个核苷酸序列的小分子非编码 RNA, 由基因组 DNA 在细胞核内转录形成前体 pri-miRNAs 后, 经过核糖核酸酶 Drosha 剪切成发夹结构的前体 pre-miRNAs, 后者被运出核后由核糖核酸酶 Dicer 加工成熟。成熟体 miRNAs 通过 RNA 诱导沉默复合体作用于靶基因 mRNAs 的 3'-UTR 区, 通过降解 mRNAs 或抑制翻译来调节基因表达。近年发现, miRNAs 也可以作用于 mRNAs 的编码区, 直接调节基因的翻译过程, 而且在不同物种中, 靶位点也不具有保守性^[1]。

自 1993 年在线虫中发现第一个 miRNA 基因 *lin-4* 以来, 随着 454 和 Solexa 测序等高通量测序技术的广泛应用, 已在很多物种中发现越来越多的 miRNAs。在 Sanger 数据库 (<http://microrna.sanger.ac.uk/sequences/>) 最新的 13.0 版本中已收录了 9 539 个 miRNA 序列。MiRNAs 的靶基因可用 miRBase (<http://microrna.sanger.ac.uk/targets/v5/>) 和 Targetscan (http://www.targetscan.org/vert_50/) 等软件预测。近年来, 已证实 miRNAs 在动物生殖过程中起重要作用, 这里仅对 miRNAs 与哺乳动物雌性生殖的关系作一综述。

1 Dicer 与雌性生殖

Dicer 是核糖核酸酶 III 家族中的一员, 能够识别双链 pre-miRNAs 的茎环基部 5' 端磷酸和 3' 端突出结构, 将双链剪切后形成 miRNAs 成熟体。已利用 Dicer 敲除的小鼠模型对 miRNA 功能进行了很多研究, 但不同的敲除方式会产生不同的效果。

1.1 Dicer 全敲除模型

Bernstein 等^[2]将 Dicer 的第 21 号外显子敲除后, 获得的 Dicer 敲除小鼠胚胎在发育到第 7.5 天时, 由

于原条期体轴分化过程异常导致胚胎死亡。Dicer 敲除小鼠的胚胎在发育早期个体较小, 胚胎发育潜能的标志性基因 *Oct4* 的表达显著下调, 因此认为可能是由于缺少多潜能干细胞导致胚胎死亡。此外, *Hnf4*、*Gata1* 和 *BMP4* 等内胚层和中胚层标志性分子的表达也降低, 并且这些细胞的 DNA 甲基化水平和组蛋白修饰异常、异染色质凝集和着丝粒不分裂, 这些缺陷可能与缺少成熟体 miRNAs 有关^[3]。

敲除 Dicer 的第 1 和 2 号外显子后, 胚胎死于早期发育的第 12.5~14.5 天。与野生型小鼠相比, 这些小鼠胚胎中 VEGF、Flt1、Kdr 和 Tie1 等血管发生相关分子的表达明显改变, 卵黄囊和胚胎中的血管数量明显不足可能导致胚胎死亡^[4]。

敲除 Dicer 的第 23 号外显子后, 胚胎中缺失成熟体 miRNAs, 无法发育到二细胞期。在生长卵泡和成熟卵泡中, Dicer 敲除对卵泡中的基因表达影响不大, 但成熟卵母细胞中纺锤体形成紊乱, 染色体也不与纺锤丝相连。因此, 卵母细胞成熟过程中未形成完整的纺锤体可能是导致 Dicer 敲除胚胎无法分裂的主要原因^[5]。此外, Dicer 敲除后卵母细胞无法成熟, 卵母细胞进行第一次减数分裂时纺锤体形成就已出现异常, 纺锤丝并未牵引染色体到赤道板位置, 并伴有染色体凝集现象发生^[6]。

1.2 Dicer 减效敲除(Hypomorphic mutation)

由于以上的 Dicer 敲除鼠均死于胚胎早期, 难以对成体中 Dicer 的功能进行研究。在小鼠 Dicer 基因

收稿日期: 2009-04-14 接受日期: 2009-09-09

国家自然科学基金资助项目(No.30770244)

* 通讯作者。Tel: 0592-2186823, Fax: 0592-2186823, E-mail:

zmyang@xmu.edu.cn

第25号外显子上游97个碱基处插入一段序列后,可干扰Dicer的表达,使得Dicer及产生的miRNAs明显减少,但表达和功能并不完全消失。利用这种方式获得一只纯合的Dicer基因敲除雄鼠,可通过杂交和自交得到体内各组织中存在痕量Dicer表达的后代^[7]。虽然得到了Dicer敲除的纯合体小鼠,但这些雌性个体交配后却无法生育。这种Dicer表达减弱的小鼠排卵正常,且胚胎可以发育到二细胞期。但这种小鼠排卵后黄体功能不足,血清中孕酮含量显著偏低。Dicer基因表达降低导致体内多种miRNAs前体堆积及成熟体减少。其中miR-17-5p和Let-7b的减少引起小鼠体内抗血管发生因子金属蛋白酶组织抑制剂Timp1下调,最终引起血管发生不足导致不育^[8]。

1.3 Dicer 条件性敲除

除以上整体敲除Dicer外,利用抗缪勒氏管激素受体Amhr2的启动子启动Cre重组酶,可将胚胎发育中缪勒氏管间充质细胞中的Dicer特异性敲除,在获得的雌鼠的卵巢和输卵管中,Dicer的表达极低。这种小鼠的卵巢形态和功能基本正常,但卵巢中miRNAs成熟体普遍减少,并且交配后不育。这些小鼠的输卵管有明显的水肿现象,并且子宫短小,但蜕膜化过程正常。这些小鼠交配后可以正常受精,胚胎孵出正常但略有延迟,但发育到第4天的胚胎无法进入子宫完成着床,这可能是由输卵管水肿使胚胎无法通过所致^[9]。

总之,Dicer是miRNAs成熟过程中必需的加工酶,虽然敲除Dicer的雌性小鼠的缺陷表型各不相同,但都出现不同程度的生殖缺陷,这些生殖缺陷是由Dicer敲除后pre-miRNAs的聚集和成熟体的减少导致的。

2 MiRNA与子宫功能

2.1 MiRNA与小鼠胚胎着床

与交配后的小鼠子宫相比,在胚胎着床前的子宫中有32个miRNAs显著上调、5个miRNAs显著下调。在显著上调的miRNAs中,miR-199a*和miR-101a可以调节Cox-2。已证实,环氧合酶-2(Cox-2)在胚胎着床过程中起着关键性作用。而且,Cox-2是在交配后高表达而着床前下调,这与两个miRNAs的表达情况相符合^[10]。白血病抑制因子(LIF)在胚胎着床过程中起关键作用,LIF敲除后导致雌鼠不育。在人类骨髓多能间质细胞系中,LIF表达受miR-199a和miR-346调节。当过表达这两个miRNAs时,细胞分

泌的LIF明显受到抑制^[11]。但miR-199a和miR-346在子宫中能否调节LIF仍不清楚。

我们实验室利用基因芯片分析了小鼠着床期子宫的miRNAs表达谱。与非着床点相比,在着床点有13个miRNAs显著上调。利用原位杂交和Northern印迹均证实,miR-21在妊娠第5天小鼠子宫着床点的表达明显高于非着床点。我们利用miR-21的前体和抑制剂等多种手段证实,在着床点miR-21可以下调靶基因Reck,Reck继而调节基质金属蛋白酶(MMP)-9,在胚胎着床中发挥作用。miR-21可能还受卵巢分泌的类固醇激素调节^[12]。Gabriely等^[13]也证实,肿瘤组织中miR-21可通过调节Reck作用于MMP-9。

2.2 MiRNA与人类子宫

Pan等^[14]利用基因芯片,比较了人子宫内膜基质细胞和腺上皮细胞的miRNA表达,发现在检测的287个miRNAs中有32个差异表达,这些miRNAs的靶基因中,有一部分与维持子宫内膜功能相关,例如转化生长因子(TGF)- β 和受体、雌激素受体(ER)、孕酮受体(PR)和芳香化酶CYP19A1。此外,类固醇激素可调节子宫内膜中miRNAs。子宫内膜基质细胞和上皮细胞中的miR-20a、miR-21和miR-26a受雌激素和孕酮调节,miR-20a在基质细胞中以及miR-21在腺上皮的表达受雌激素下调。孕酮抑制基质细胞中miR-20a、miR-21和miR-26a的表达,但在腺上皮中却对miR-20a和miR-26a有明显的上调。

2.3 MiRNA与妇科子宫疾病

2.3.1 子宫内膜癌 子宫内膜癌占雌性生殖道恶性肿瘤的30%左右。PTEN是一个具有磷酸酶活性的抑癌基因,在多种肿瘤中均有突变,但在子宫内膜癌中突变率较高。Daikoku等^[15]条件性敲除PTEN后,小鼠在1个月后出现子宫内膜癌。这种小鼠中,肿瘤发生的标志性分子Cox-2和磷酸化丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶pAkt的表达明显升高。以前的研究已证明,Cox-2在子宫中受miR-199a*和miR-101a调节,而这两个miRNA在PTEN敲除鼠中的表达与正常鼠相比明显降低,很可能miR-199a*和miR-101a的低表达导致Cox-2水平升高,从而诱发癌变。

2.3.2 宫颈癌 宫颈癌是妇科最高发的癌症之一。从病理组织学上分析,鳞状细胞癌占宫颈癌总发病率的90%以上。利用Taqman荧光定量技术分析10个患者的肿瘤组织,发现与正常的宫颈鳞状上皮细胞比,有70个miRNAs发生了显著变化,其中68个高表达,2个低表达。并且在淋巴结转移过程中,

miR-127 的表达量显著提高。另一个高表达基因 miR-199a 存在于宿主基因 Dynamin2 的第 2 内含子中并与宿主基因共同转录, 而 Dynamin2 基因具有促进肿瘤发生作用。用 miR-199a 的抑制剂处理可抑制人宫颈癌细胞的增殖^[16]。

2.3.3 子宫平滑肌瘤 子宫肌瘤是大龄妇女中的多发肿瘤之一。与正常子宫肌层相比较, 在绝经前妇女的子宫平滑肌瘤病理样本中, miR-21、miR-125b、miR-34a、miR-323 和 miR-139 等 19 个 miRNAs 上调, 有 27 个 miRNAs 下调^[17]。Pan 等^[18]证实, miR-20a、miR-21 和 miR-26a 在平滑肌瘤细胞系中的表达水平均低于普通平滑肌细胞。miR-20a 和 miR-21 受 17 β 雌二醇上调, 受孕酮下调, 而 miR-26a 则与之相反。

2.3.4 子宫内膜异位症 子宫内膜异位症是导致妇女不孕的一个重要因素。在子宫内膜异位症患者的子宫内膜中, miR-23b 和 miR-542-3p 的表达下调, miR-17-5p 的表达上调。类固醇激素可通过调节 miR-23b、miR-542-3p 和 miR-17-5p 的表达, 影响 Cox-2、芳香化酶和类固醇合成急性调节蛋白 (StAR) 等基因, 促进子宫内膜异位症的发生^[19]。Pan 等^[14]发现有 48 个 miRNAs 在子宫内膜异位症患者的子宫内膜中表达上调, 其中 miR-20a、miR-21 和 miR-26a 在体外培养的子宫内膜基质细胞和腺上皮细胞中的表达也受类固醇激素调节。这些 miRNAs 分子可能作用于 TGF- β 2、ER- α 、ER- β 和 PR 等基因, 调控子宫内膜异位症发生。

在另一项研究中, 与原位的子宫内膜相比, 有 14 个 miRNAs 在异位的子宫内膜中显著上调, 有 8 个下调。在这些差异表达的 miRNAs 预测的靶基因中, 有 673 个 miRNAs 的靶基因异位内膜和原位内膜中差异表达, 这些 miRNAs 中很多已经证实与子宫内膜异位症相关的信号通路有关, 包括 c-Jun、CRE- β 结合蛋白、Akt 通路和细胞周期蛋白 CCND1 等通路^[20]。

3 MiRNA 与卵巢功能

3.1 MiRNA 与排卵

比较排卵前卵巢颗粒细胞的 miRNAs 表达谱发现, LH/hCG 处理前后在所检测的 212 个 miRNAs 中, 有 13 个差异表达, 其中 miR-132 和 miR-212 在 LH/hCG 处理后均显著上调。用实时定量 PCR 检测发现, 无论体内或体外, LH/hCG 可以同时上调 miR-132 和 miR-212 的前体和成熟体。已证实 CtBP 家族具有转录共激活或者共阻遏的功能。在卵巢颗粒细胞中, miR-

132 通过调节 CtBP1 的表达作用于基因转录过程^[21]。

3.2 MiRNA 与卵巢疾病

卵巢癌是女性常见的恶性肿瘤之一, 因发病率高、不易诊断、转移性强、致死率高等因素成为临床上一大难题。卵巢上皮细胞的异常增殖可能是卵巢癌发病的早期征兆。MiRNAs 与上皮型卵巢癌病理有关。在体内及体外均发现, 上皮型卵巢癌细胞中有 34 个 miRNAs 的表达发生改变, 其中绝大多数下调, 这些分子中包括 miR-27 和 Let-7d 等抑癌基因。比较不同时期的卵巢癌病例也发现, 在重症和晚期患者中有很多的 miRNAs 以及抑癌基因表达下调。而且, 在转录前这些下调的 miRNAs 的基因组拷贝数就已经低于正常值。在下调最显著的 12 个分子中, 有 5 个定位于 14 号染色体上 Dlk1-Gtl2 区域。这个区域是编码 8 个 miRNAs 的基因簇, 且这 8 个基因在上皮型卵巢癌中均表达下调。经预测发现这个基因簇的靶基因在很大程度上调节细胞周期和免疫反应, 这个基因簇的表达下调会导致卵巢癌患者的肿瘤生长加快, 生存期缩短^[22]。卵巢癌晚期无进展生存期 (progression-free survival) 更短的患者体内 Let-7i 水平较低。当利用 Let-7i 抑制剂处理卵巢癌细胞时, 细胞抗药性明显增加^[23]。上皮型卵巢癌患者体内 miR-210 的表达减少。细胞缺氧条件下缺氧诱导因子 (HIF) 促进肿瘤生长, miR-210 可以通过调节 HIF 信号通路抑制肿瘤生长^[24]。卵巢癌组织中 miR-214 显著下调, miR-214 通过作用于 PTEN 基因 mRNA 的 3'-UTR 区, 抑制 PTEN 的表达, 从而激活 Akt 信号通路, 促进肿瘤生长^[25]。在恶性卵巢肿瘤中, miR-199a 可以调节 IKK β 的表达, 通过 NF- κ B 信号通路来抑制肿瘤细胞生长, 降低细胞耐药性^[26]。

上皮型卵巢癌的发生可能与 miRNAs 的甲基化水平有关。Iorio 等^[27]利用芯片检测出卵巢癌样本中 miR-200a、miR-141、miR-200c 和 miR-200b 等高表达基因和 miR-199a、miR-140、miR-145、miR-125b 等低表达基因。利用去甲基化试剂处理卵巢癌细胞系后, miR-21、miR-203 和 miR-205 表达升高, 且它们在卵巢癌中同样高表达。从基因组水平比较发现, 它们定位在 CpG 岛附近, 因此上皮型卵巢癌可能与甲基化程度有关。另外, 有研究认为 Let-7a-3 的甲基化也与上皮型卵巢癌有关。Let-7a-3 定位于基因组 CpG 岛处, 而抑癌基因的 CpG 岛甲基化会促进癌症发生。利用甲基化特异性实时定量分析发现, Let-7a-3 的甲基化是通过调节其靶基因 IGF-II 和

IGFBP-3 的表达来影响癌症发生^[28]。

浆液型卵巢癌在卵巢疾病中占有很大比例。与正常卵巢相比,病患卵巢中 miR-21、miR-125a、miR-125b、miR-100、miR-145、miR-16 和 miR-99a 等基因表达变化显著,而高表达的 miR-200、miR-141、miR-18a、miR-93、miR-429 和低表达的 Let-7b、miR-199a 与肿瘤不良预后密切相关^[29]。与原发卵巢癌相比,在转移性卵巢癌中有很多基因表达发生改变,而变化较大的基因中有很多是 miR-9 和 miR-223 的靶基因。因此,miR-9 和 miR-223 可能是肿瘤转移的标志性分子,具有抑制肿瘤转移的功能^[30]。

3.3 MiRNA 单核苷酸多态性与卵巢疾病

近年来,在越来越多的病理样本中发现 miRNAs 本身,特别是 miRNAs 的靶基因结合位点具有单核苷酸多态性现象。MiRNAs 结合位点突变后,与靶基因的 3'-UTR 区出现结合不紧密或脱靶现象,使靶蛋白功能紊乱导致病患。在生物体内的 miR-146a 前体序列中,存在部分腺嘌呤和鸟嘌呤被胞嘧啶取代的现象,如在前体的茎环结构中出现 G:U 变成 C:U 的错配。Shen 等^[31]对 42 名卵巢癌患者的研究发现,体内含有 C:U 遗传型患者的平均患病年龄比正常组提前 11 年。对 82 例家族型卵巢癌患者的研究表明,在 miR-146a 基因中含有 C:U 遗传型患者的平均发病年龄比正常组提前 5 年。MiRNAs 茎环结构中的多态性甚至影响到成熟体的产生效率。当分别利用 miR-146a 前体中含有 G 和 C 克隆的质粒体外转染 MCF-7 细胞系时,等位基因 C 遗传型的 miR-146a 前体会产生更多的成熟体。此外,卵巢癌的标志性原癌基因 BRCA1 和 BRCA2 是 miR-146a 的靶基因。但当等位基因由 G 变成 C 后,miR-146a 与 BRCA1 的 3'-UTR 区的结合能力显著降低,导致 BRCA1 的表达量升高,从而增加卵巢癌患病几率。

3.4 MiRNA 加工基因与卵巢癌

Dicer 和 Drosha 是与 miRNA 剪切和加工相关的重要基因,卵巢癌组织中 miRNAs 的减少与这些基因的表达有关。上皮型卵巢癌患者中,Dicer 和 Drosha 的含量分别降低了 60% 和 51%。Dicer 低表达使患者更容易进入癌症晚期,而 Drosha 的低表达会导致术后细胞减少症。体内存在高水平 Dicer 和 Drosha 的患者比低水平组的平均存活时间显著增长,而且低 Dicer 水平患者的治疗效果明显较弱^[32]。真核翻译起始因子 eIF6 是近期发现的一个参与 miRNAs 转录后调节的基因,在卵巢癌患者体内含量较低。在浆

液型卵巢癌样本中 Dicer 和 eIF6 的水平明显升高,并且 eIF6 的低表达可能会导致患者治疗后无瘤生存率降低^[33]。

4 MiRNA 与卵母细胞成熟和早期胚胎发育

哺乳动物中,原始卵泡在卵巢内生长发育到成熟排卵,是一个复杂的调控过程,已证实 miRNA 与此过程有关。Tesfaye 等^[34]对牛体外成熟卵泡研究发现,在 454 个 miRNAs 中,与生长卵泡相比,成熟卵泡中有 31 个表达下调,28 个表达上调。在卵母细胞成熟过程中,miR-125a、miR-127、miR-145 和 miR-208 的上调表达对卵泡发育具有重要作用。

卵裂是早期胚胎发育的基础,精源的 miRNAs 对植入前胚胎发育的影响微乎其微。卵源 miRNAs 的表达在第一次卵裂过程中急剧减少 60% 左右。在合子中表达量最高的 miRNA 是 Let-7 家族基因,它们与卵子发生和胚胎早期发育有关;表达量最高的基因簇是 miR-17-92 簇,它们与细胞增殖分化有关。当胚胎发育到二细胞时,Let-7 家族和 miR-17-92 簇都明显较少,而此后表达逐渐增加。从二细胞发育到四细胞过程中,miR-290-295 簇表达明显增加,它们可能参与胚胎早期发育过程。在此过程中多个 miRNAs 的表达趋势随合子发育呈波形分布,说明 miRNAs 有动态调节早期胚胎发育的功能^[5]。Yang 等^[35]以小鼠卵母细胞及二细胞、八细胞和囊胚期胚胎为样本,从生物信息学角度将检测到的 97 个 miRNAs 分子归类为时期特异性(67 个)和非时期特异性(30 个)表达两大类,并筛选出了若干已知和未知的调节胚胎发育的 miRNA 基因。他们认为胚胎早期发育过程主要通过时期特异性 miRNA 基因表达推动胚胎发育。

Qa-2 基因是调节着床前胚胎发育过程的重要基因,对胚胎着床前卵裂过程至关重要。将正常和 Qa-2 缺失品系小鼠比较发现,miR-125b 在两种品系小鼠的各胚胎发育时期没有明显变化,而 miR-125a 的表达在二细胞期基本相同,但在敲除鼠中 miR-125a 表达随发育逐渐升高,到囊胚期时已比正常组表达升高 10 倍,这表明 miR-125a 对小鼠着床前胚胎发育的调节是通过抑制 Qa-2 来发挥作用^[36]。

5 小结与展望

Lytle 等^[37]发现 miRNAs 也可以同时作用于 mRNAs 的 5'-UTR 区,Ørom 等^[38]发现 miR-10a 可以直接作用于核糖体蛋白 mRNA 的 5'-UTR 区,上调蛋白

质的表达,这些进展丰富了传统意义上的 miRNAs 的调控机制。随着人们对 miRNA 作用机制和调节方式认识的不断深入,miRNA 在雌性生殖和发育过程中的作用会更加清晰。许多妇科疾病中都伴随着多种 miRNAs 的异常表达。目前在基因治疗领域,已有 miRNAs 药物和定向 miRNAs 载体应用于疾病治疗研究^[39,40]。miRNA 对雌性生殖疾病的治疗意义也将会越来越受到关注。

参考文献(References)

- [1] Tay Y, Zhang J, Thomson AM, et al. MicroRNAs to *Nanog*, *Oct4* and *Sox2* coding regions modulate embryonic stem cell differentiation, *Nature*, 2008, 455(7216): 1124-1128
- [2] Bernstein E, Kim SY, Carmell MA, et al. Dicer is essential for mouse development, *Nat Genet*, 2003, 35(3): 215-217
- [3] Kanellopoulou C, Muljo SA, Kung AL, et al. Dicer-deficient mouse embryonic stem cells are defective in differentiation and centromeric silencing, *Genes Dev*, 2005, 19(4): 489-501
- [4] Yang WJ, Yang DD, et al. Dicer is required for embryonic angiogenesis during mouse development, *J Biol Chem*, 2005, 280(10): 9330-9335
- [5] Tang F, Kaneda M, O'Carroll D, et al. Maternal microRNAs are essential for mouse zygotic development, *Genes Dev*, 2007, 21(6): 644-648
- [6] Murchison EP, Stein P, Xuan Z, et al. Critical roles for Dicer in the female germline, *Genes Dev*, 2007, 21(6): 682-693
- [7] Otsuka M, Jing Q, Georgel P, et al. Hypersusceptibility to vesicular stomatitis virus infection in Dicer1-deficient mice is due to impaired miR24 and miR93 expression, *Immunity*, 2007, 27(1): 123-134
- [8] Otsuka M, Zheng M, Hayashi M, et al. Impaired microRNA processing causes corpus luteum insufficiency and infertility in mice, *J Clin Invest*, 2008, 118(5): 1944-1954
- [9] Nagaraja AK, Andreu-Vieyra C, Franco HL, et al. Deletion of Dicer in somatic cells of the female reproductive tract causes sterility, *Mol Endocrinol*, 2008, 22(10): 2336-2352
- [10] Chakrabarty A, Tranguch S, Daikoku T, et al. MicroRNA regulation of cyclooxygenase-2 during embryo implantation, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(38): 15144-15149
- [11] Oskowitz AZ, Lu J, Penfornis P, et al. Human multipotent stromal cells from bone marrow and microRNA: regulation of differentiation and leukemia inhibitory factor expression, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(47): 18372-18377
- [12] Hu SJ, Ren G, Liu JL, et al. MicroRNA expression and regulation in mouse uterus during embryo implantation, *J Biol Chem*, 2008, 283(34): 23473-23484
- [13] Gabriely G, Wurdinger T, Kesari S, et al. MicroRNA 21 promotes glioma invasion by targeting matrix metalloproteinase regulators, *Mol Cell Biol*, 2008, 28(17): 5369-5380
- [14] Pan Q, Luo X, Toloubeydokhti T, et al. The expression profile of micro-RNA in endometrium and endometriosis and the influence of ovarian steroids on their expression, *Mol Hum Reprod*, 2007, 13(11): 797-806
- [15] Daikoku T, Hirota Y, Tranguch S, et al. Conditional loss of uterine Pten unfaithfully and rapidly induces endometrial cancer in mice, *Cancer Res*, 2008, 68(14): 5619-5627
- [16] Lee JW, Choi CH, Choi JJ, et al. Altered microRNA expression in cervical carcinomas, *Clin Cancer Res*, 2008, 14(9): 2535-2542
- [17] Marsh EE, Lin Z, Yin P, et al. Differential expression of microRNA species in human uterine leiomyoma versus normal myometrium, *Fertil Steril*, 2008, 89(6): 1771-1776
- [18] Pan Q, Luo X, Chegini N. Differential expression of microRNAs in myometrium and leiomyomas and regulation by ovarian steroids, *J Cell Mol Med*, 2008, 12(1): 227-240
- [19] Toloubeydokhti T, Pan Q, Luo X, et al. The expression and ovarian steroid regulation of endometrial micro-RNAs, *Reprod Sci*, 2008, 15(10): 993-1001
- [20] Ohlsson Teague EM, Van der Hoek KH, Van der Hoek MB, et al. MicroRNA-regulated pathways associated with endometriosis, *Mol Endocrinol*, 2009, 23(2): 265-275
- [21] Fiedler SD, Carletti MZ, Hong X, et al. Hormonal regulation of MicroRNA expression in periovulatory mouse mural granulosa cells, *Biol Reprod*, 2008, 79(6): 1030-1037
- [22] Zhang L, Volinia S, Bonome T, et al. Genomic and epigenetic alterations deregulate microRNA expression in human epithelial ovarian cancer, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(19): 7004-7009
- [23] Yang N, Kaur S, Volinia S, et al. MicroRNA microarray identifies Let-7i as a novel biomarker and therapeutic target in human epithelial ovarian cancer, *Cancer Res*, 2008, 68(24): 10307-10314
- [24] Giannakakis A, Sandaltzopoulos R, Greshock J, et al. miR-210 links hypoxia with cell cycle regulation and is deleted in human epithelial ovarian cancer, *Cancer Biol Ther*, 2008, 7(2): 255-264
- [25] Yang H, Kong W, He L, et al. MicroRNA expression profiling in human ovarian cancer: miR-214 induces cell survival and cisplatin resistance by targeting PTEN, *Cancer Res*, 2008, 68(2): 425-433
- [26] Chen R, Alvero AB, Silasi DA, et al. Regulation of IKK β by miR-199a affects NF- κ B activity in ovarian cancer cells, *Oncogene*, 2008, 27(34): 4712-4723
- [27] Iorio MV, Visone R, Di Leva G, et al. MicroRNA signatures in human ovarian cancer, *Cancer Res*, 2007, 67(18): 8699-8707
- [28] Lu L, Katsaros D, de la Longrais IA, et al. Hypermethylation of let-7a-3 in epithelial ovarian cancer is associated with low insulin-like growth factor-II expression and favorable prognosis, *Cancer Res*, 2007, 67(21): 10117-10122
- [29] Nam EJ, Yoon H, Kim SW, et al. MicroRNA expression profiles in serous ovarian carcinoma, *Clin Cancer Res*, 2008, 14(9): 2690-2695
- [30] Laios A, O'Toole S, Flavin R, et al. Potential role of miR-9 and miR-223 in recurrent ovarian cancer, *Mol Cancer*, 2008, 7: 35
- [31] Shen J, Ambrosone CB, DiCioccio RA, et al. A functional polymorphism in the miR-146a gene and age of familial breast/ovarian cancer diagnosis, *Carcinogenesis*, 2008, 29(10): 1963-1966
- [32] Merritt WM, Lin YG, Han LY, et al. Dicer, Drosha, and outcomes in patients with ovarian cancer, *N Engl J Med*, 2008, 359(25): 2641-2650

- [33] Flavin RJ, Smyth PC, Finn SP, *et al.* Altered eIF6 and Dicer expression is associated with clinicopathological features in ovarian serous carcinoma patients, *Mod Pathol*, 2008, 21(6): 676-684
- [34] Tesfaye D, Worku D, Rings F, *et al.* Identification and expression profiling of microRNAs during bovine oocyte maturation using heterologous approach, *Mol Reprod Dev*, 2009, 76(7): 665-677
- [35] Yang Y, Bai W, Zhang L, *et al.* Determination of microRNAs in mouse preimplantation embryos by microarray, *Dev Dyn*, 2008, 237(9): 2315-2327
- [36] Byrne MJ, Warner CM. MicroRNA expression in preimplantation mouse embryos from Ped gene positive compared to Ped gene negative mice, *J Assist Reprod Genet*, 2008, 25(5): 205-214
- [37] Lytle JR, Yario TA, Steitz JA. Target mRNAs are repressed as efficiently by microRNA-binding sites in the 5' UTR as in the 3' UTR, *Proc Natl Acad Sci USA*, 104(23): 9667-9672
- [38] Ørom UA, Nielsen FC, Lund AH. MicroRNA-10a binds the 5' UTR of ribosomal protein mRNAs and enhances their translation, *Mol Cell*, 2008, 30(4): 460-471.
- [39] Thum T, Gross C, Fiedler J, *et al.* MicroRNA-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signalling in fibroblasts, *Nature*, 2008, 456(7224): 980-984
- [40] Kelly EJ, Hadac EM, Greiner S, *et al.* Engineering microRNA responsiveness to decrease virus pathogenicity, *Nat Med*, 2008, 14(11): 1278-1283

Role of MicroRNA in Mammalian Female Reproduction

Gang Ren, Zeng-Ming Yang*

(School of Life Science, Northeast Agriculture University, Harbin 150030, China)

Abstract MicroRNAs (miRNAs) are endogenous 19–25 nt non-coding RNAs that play important gene-regulatory roles by pairing to the mRNAs of protein-coding genes to direct their posttranscriptional repression. Knockout of Dicer which is a key enzyme during miRNA maturation, led to death of the mouse during early embryo development. Conditional knockout or hypomorphic mutant of Dicer cause some reproduction defects of female mice. MiRNAs regulate physiological processes such as oocyte maturation, luteum development, early embryo development and implantation. The abnormal miRNA expression is involved in the diseases of female reproduction tract.

Key words microRNA; uterus; ovary; embryo; Dicer

Received: April 14, 2009 Accepted: September 9, 2009

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30770244)

*Corresponding author. Tel: 86-592-2186823, Fax: 86-592-2186823, E-mail: zmyang@xmu.edu.cn