

文章编号: 1004-0374(2009)04-0560-06

Let-7 家族对细胞“干性”的调控

王斯瑶¹, 安 靓^{2*}

(1 南方医科大学基础医学院基础医学系, 广州 510515; 2 南方医科大学肿瘤研究所, 广州 510515)

摘要: Let-7 是目前研究最为广泛的 microRNA 家族之一。通过转录后调控机制, let-7 可以特异性结合到信使 RNA (mRNA) 上, 从而降解靶基因 mRNA 或抑制其翻译。研究表明, let-7 家族在干细胞与肿瘤干细胞中参与多种调控机制, 在维持干细胞特性 (stemness), 即高增殖、低分化和自我更新能力的过程中起到重要调控作用。本文将从干细胞与肿瘤干细胞两个方面, 综述 let-7 与细胞“干性”间存在的联系和调控机制。

关键词: let-7; microRNA; 干细胞; 肿瘤干细胞

中图分类号: Q813; R730.21 **文献标识码:** A

Regulating function of let-7 family on cell stemness

WANG Si-yao¹, AN Jing^{2*}

(1 Basic Medicine, School of Basic Medical Science, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China;
2 Cancer Institute of Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

Abstract: Originally discovery indicates a class of miRNA, let-7, which binds to target messenger RNAs (mRNA) through a post-transcription regulation and induces either translation repression or mRNA degradation, plays a regulatory role in the stem cells /cancer stem cells self renewal, development, differentiation, metastasis and apoptosis. Based on these findings about let-7's function and its regulatory processes, this review will summarize these processes and the potential role in the stem cell and cancer stem cell. A more complete understand of its function on stemness will thus find new solution to the research, the diagnose and therapy of human cancer.

Key words: let-7; microRNA; stem cell; cancer stem cells

MicroRNA (miRNA) 是一类长度为 19 – 25 个核苷酸的非编码小分子 RNA, 根据 2009 年 3 月更新的数据显示, 已有 9 539 个成熟的 miRNA 在灵长类、啮齿类、鸟类、鱼类、蠕虫、蝇科以及植物和病毒中被发现^[1] (Release 13 <http://microrna.sanger.ac.uk/sequences/>)。其中至少三分之一的 miRNA 在物种间高度保守, 具有组织特异性和发育时序性。miRNA 基因在动物基因组中约占 1% 的比例, 却可能参与调控至少 30% 相关基因的表达^[2]。

Lethal-7 (Let-7) 家族就是 microRNA 中研究最为深入的家族之一, 2000 年首次在线虫中被鉴定, 参与发育时序性调节^[3]。随后研究表明, let-7 通过转录后水平调控, 干扰靶基因的表达, 从而参与调控

细胞发育、分化、凋亡、肿瘤的发生及恶变等多种生理及病理过程。

1 Let-7 家族的生物合成

Let-7 的生物合成过程在 miRNA 中研究较为深入。let-7 编码基因首先经 RNA 聚合酶 II 转录出两种具有茎环结构、5' 端加帽、3' 端加多聚腺苷酸尾的初级转录物 pri-let-7 miRNA, 分别长 1 731 nt 和 890 nt, pri-let-7 miRNA 的 5' 端具有剪切引导序列, 对于成熟 let-7 的产生具有重要意义^[4]。两种 pri- miRNA 通

收稿日期: 2009-03-30; 修回日期: 2009-05-12

基金项目: “973” 项目 (2009CB521900)

*通讯作者 E-mail: anjing77@gmail.com

过与核糖核酸酶Drosha(RNase-III, Drosha)和RNA配体PASHA, 即DGCR8(DiGeorge syndrome critical region 8)结合, 切割pri-let-7 miRNA上的茎环结构, 释放出65nt的precursor let-7 miRNA(pre-let-7 miRNA)^[5]。之后, pre-let-7 miRNA通过与核膜上的RanGTP 依赖转运体 exportin-5 结合, 离开细胞核, 在胞浆与核糖核酸酶Dicer酶结合, 释放出22nt的成熟 let-7 分子, 以某种未知的形式参与形成miRNA诱导的沉默复合体(miRNA-induced silencing complex, miRISC), 在复合体中通过完全或不完全的形式结合靶 mRNA 的 3' UTR, 降解靶 mRNA 或抑制其翻译过程^[6]。研究显示, mRNA 的 5' UTR 可能也同时存在 miRNA 的结合位点^[7]。

2 Let-7家族的分类和命名

大多数miRNA的5' 端都存在一段长度为2—8nt的保守序列, 称为“种子序列”(seed sequence)^[2, 8, 9]。根据种子序列的异同, miRNA 可被划分为不同的家族, 而 let-7 家族就是其中之一, 其家族成员的5' 端都具有一段高度保守的种子序列“TGAGGTA”。在不同的物种中let-7家族成员的数目也是不同的,

如在秀丽隐杆线虫中存在9个成员, 而果蝇中仅有1个成员, 在斑马鱼中则有11个成员(表1)。

Let-7 家族成员的编码基因广泛存在于线虫、斑马鱼和高级脊椎动物的基因组中。其中一部分高度相关的miRNA 基因常成簇排列, 形成基因簇, 而来自同一基因簇的miRNAs 具有较高同源性。对于高度同源的let-7家族成员会在let-7后加一个字母以示区分, 例如let-7的基因簇2(cluster2)就是由let-7a、let-7d和let-7f 基因组成的。另外, 来自染色体不同位置的pre-let-7 miRNA可以产生相同的成熟 let-7 序列, 通过在名称后加阿拉伯数字来区分^[9]。例如, 在人类基因组中存在13个pre-let-7 miRNA, 产生10个成熟的 let-7 家族成员, 是由于其中有3个不同的pre-let-7 miRNAs经剪切产生相同的成熟序列let-7a。在这种情况下, 可将let-7a再分为let-7a-1、let-7a-2和let-7a-3以示其转录本的不同。另外, 2个来自染色体不同位置的pre-let-7 miRNAs产生的相同序列let-7f, 也分为let-7f-1和let-7f-2^[9]。

3 Let-7家族对干细胞的调控作用

干细胞是一类具有自我更新能力和多向分化潜

表1 不同物种中的let-7家族成员^[9]

let-7家族	序列	线虫	果蝇	斑马鱼	人类	小鼠
let-7a	TGAGGTA GTAGGTTGTATAGTT	1	1	6	3	2
mir-48	TGAGGTA GGCTCAGTAGATGCGA	1	-	-	-	-
mir-84	TGAGGTA GTATGTAATATTGTA	1	-	-	-	-
mir-241	TGAGGTA GGTCCGAGAAATGA	1	-	-	-	-
mir-265	TGAGGTA GGAAGGGTGGTAT	1	-	-	-	-
mir-793	TGAGGTA TCTTAGTTAGACAGA	1	-	-	-	-
mir-794	TGAGGTA ATTCATCGTTGTCACT	1	-	-	-	-
mir-795	TGAGGTA GATTGATCAGCGAGCTT	1	-	-	-	-
mir1821	TGAGGTA CTTATAGTTAGGTTAG	1	-	-	-	-
let-7b	TGAGGTA GTAGGTTGTGTGGTT	-	-	1	1	1
let-7c	TGAGGTA GTAGGTTGTATGGTT	-	-	2	1	2
let-7d	AGAGGTA GTAGGTTGCATAGT	-	-	2	1	1
let-7e	TGAGGTA GTAGGTTGTTTAGTT	-	-	1	1	1
let-7f	TGAGGTA GTAGATTGTATAGTT	-	-	1	2	2
let-7g	TGAGGTA GTAGTTTGTATAGT	-	-	2	1	1
let-7h	TGAGGTA GTAAGTTGTGTTGTT	-	-	1	-	-
let-7i	TGAGGTA GTAGTTTGTGCTGT	-	-	1	1	1
let-7j	TGAGGTA GTTGTTTGTACAGT	-	-	1	1	-
let-7k	TGAGGTA GTAGATTGAATAGT	-	-	-	1	-
mir-98	TGAGGTA GTAAGTTGTATTGTT	-	-	-	-	1
mir-202	AGAGGTA TAGGGCATGGGAA	-	-	1	1	2

注: 不同的pre-let-7 miRNAs 可产生相同的成熟序列, 如人类的成熟 let-7a 是由3个不同的pre-let-7 miRNA 产生, 因此 let-7a 包括 let-7a-1、let-7a-2 和 let-7a-3 以示区分。序列中加粗字体表示“种子序列”, “-”表示不存在该成员。

能的细胞。在生物体内存在一系列维持干细胞自我更新、增殖和分化潜能的调节因子,包括Oct4、Sox2、Nanog和c-myc等。当生物体发育进入终末阶段时,正常的干细胞会利用一套完善的反馈系统,限制细胞“干性”以确保机体进入分化末期。在这个过程中,一部分基因会“沉默”,而另一部分基因则开始表达,使细胞在发育的不同阶段具备特异性的表型。在线虫中,维持这种发育时序性的基因,称为“异时性基因(heterochronic gene)”^[10],如lin-4和lin-14^[11,12]等。而“异时性基因”精确地调控了干细胞的发育时序,使细胞只有在正确的时候才能表达“干性”。至今,已有大量的miRNA被证实参与了生物体时序性调节的过程,而let-7家族就是其中重要的一员。

3.1 Let-7对干细胞发育时序性的调控 在let-7的研究较为深入的物种秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)中,共存在9个let-7家族成员,分别是let-7、mir-48、mir-84、mir-241、mir-265、mir-793、mir-794、mir-795和mir-1821^[10,13],其中let-7、mir-48、mir-84和mir-241参与了线虫发育的时序性调节^[14]。Reinhart等^[3]的研究表明,let-7是一个异时性基因,在线虫中,let-7的靶基因可分为两类:一类是转录因子;另一类是细胞信号分子。let-7的突变可导致具有不同分化时期特异性的表达被省略或重复。实验利用线虫体内一种干细胞——接缝细胞(seam cell)在分化的不同阶段所呈现的不同表型来推测let-7与干细胞发育的关系^[3]。在线虫的幼虫时期,接缝细胞呈不对称样分裂,而此时成熟的let-7表达量低;然而,当线虫进入幼虫至成虫的转化时期(larval-to-adult transition, L/A transition),let-7则呈高表达,促使细胞融合成多核体,并分泌一种表皮翼素(alae),标志着细胞进入终末分化阶段。实验还证明,如果上调let-7的表达,线虫在幼虫期会表现出早熟的现象;相反,当下调let-7的表达时,在线虫的成虫时期会反复表达幼虫期的表型,即细胞失去终末分化能力,并且不断重复细胞周期,持续分裂。

Let-7在线虫发育的L3/L4期开始表达,在时序性调节中的作用机制主要是作用在异时性基因*Lin-41*和*Lin-28*的3' UTR,抑制了LIN-41和LIN-28蛋白的表达,解除了对LIN-29蛋白的表达抑制,使线虫从L4期向成体期完成终末分化。

Letter等^[15]研究发现,人类身高与*HMG2*基

因的SNP(*rs1042725*)存在强关联性。而*rs1042725*位于*HMG2*的3' UTR,是let-7的下游干扰靶点,在胚胎发育早期,let-7低表达,胚胎干细胞具有强大的增殖潜能。而当let-7的表达随年龄上调时,人类的增高能力即被限制。这项研究对于探索干细胞标记物及延长干细胞功能也能具有重要参考价值。

3.2 Let-7对干细胞增殖的调控 Johnson等^[16]注意到在人类肺组织中上调let-7的浓度可使处于G₀/G₁期的细胞显著增加,由此推出,let-7对细胞增殖的调控机制在于阻断细胞周期中的G₁/S期,从而抑制细胞增殖。

研究人员在HepG2和A549细胞系中上调let-7表达,利用基因芯片检测细胞系中基因表达谱的改变,分析得出共有629个细胞增殖相关基因表达升高或降低(表2)。根据表达谱的改变,揭示了let-7对细胞周期的抑制作用。let-7结合到这些基因的3' UTR,从而干扰靶蛋白的表达。研究显示,let-7通过直接或间接下调*CDK6*、*CDC25A*和*CCND*等细胞周期调节基因和致癌基因*RAS*、*HMG2*的表达,参与了细胞增殖的多条通路,并且作为一个关键的调控因子参与细胞周期的调控。

增殖潜能是正常干细胞和肿瘤干细胞共同具有的重要特征。let-7随分化的上调,使细胞的增殖能力逐渐下降,这也证明了let-7表达的时序性在干细胞增殖和分化中的作用。

3.3 Let-7家族对干细胞时序性调节的机制 关于let-7产生时序性调节的机制与let-7的成熟受到转录后调控有关。在小鼠的胚胎干细胞(embryonic stem, ES cells)和畸胎瘤细胞(embryocarcinoma, EC cells)中发现,let-7的初级转录本(pri-let-7 miRNA)持续高表达^[17,18],而与之相应的成熟let-7却呈低表达,直到细胞进入终末分化失去“干性”时,成熟的let-7才逐渐升高。很明显,这种时序性现象的发生,是由于某种物质在发育早期阻止了pri-let-7 miRNA向成熟的转化。随后发现,这种物质是一种Drosha酶抑制因子,也就是胚胎干细胞特异性蛋白LIN-28和LIN-28B。这种因子能特异性结合在pri-let-7 miRNA上的茎环结构,在转录后水平对let-7进行调控,抑制pri-let-7 miRNA继续发育成熟^[19]。

LIN-28与成熟let-7的表达呈负相关,即在细胞早期发育阶段let-7低表达时,LIN-28的表达高,而随分化的进行,let-7表达升高,LIN-28表达则逐渐降低。LIN-28对let-7的抑制作用也就解释了为

表2 Let-7过表达对细胞增殖相关基因表达的影响^[16]

基因名	表达产物	功能
表达下调的基因		
<i>CDC25A</i>	Cell division cycle 25A	参与 G ₁ /S 期转化
<i>CCNA2</i>	Cyclin A2	参与 G ₁ /S、G ₂ /M 期转化
<i>CDC34</i>	Cell division defective 34	可降解 CDK 抑制因子 CDKN1B
<i>CDK6</i>	CDK 6	参与 G ₁ /S 期转化
<i>AURKA/AURKB</i>	Aurora A/Aurora B	G ₂ /M 期及多种肿瘤中高表达
<i>HMG A2</i>	Chromatin protein	参与肿瘤细胞的增殖与转移
<i>N-RAS</i>	Ras GTPase	信号分子, 在多种肿瘤中存在突变
表达上调的基因		
<i>MXI1</i>	MAX-interacting protein 1	对抗致癌基因 MYC 的转录因子
<i>CDKN2B</i>	CDK inhibitor 2B	与 CDK4、CDK6 相互作用抑制细胞增殖
<i>CCNG2</i>	Cyclin G ₂	在甲状腺癌中表达降低的细胞周期蛋白

什么 let-7 在细胞的终末分化期才出现。有趣的是, 有些报道指出 lin-28 的序列上也存在着 let-7 的干扰靶点, 这说明 let-7 与 lin-28 或许还存在相互抑制的作用关系^[20]。

综上所述, 在干细胞的发育和增殖过程中, let-7 发挥着至关重要的作用。通过转录后调控, let-7 可以在细胞发育终末期诱导细胞有序的进入终末分化和减少细胞增殖, 并且建立有效的反馈机制, 与 LIN-28 共同维持干细胞功能的平衡状态。由此推断, 如果 let-7 突变或异常表达, 细胞将重新表现“干性”, 而这种“干性”, 有时会产生正面影响, 如损伤的修复、组织的再生、血液的自我更新; 有时又会造成严重的负面影响, 比如肿瘤的发生。

4 Let-7对肿瘤干细胞的监控作用

肿瘤干细胞学说是指肿瘤组织中存在极少量干细胞样癌细胞亚群, 它具有无限增殖的潜能, 在启动肿瘤形成和生长中起着决定性的作用。肿瘤干细胞可能来源于干细胞, 两者都具备强大的增殖能力和自我更新能力, 但也存在一些差异: 干细胞的自我更新有反馈机制调节, 而在肿瘤干细胞中, 这一调节机制则不明显; 肿瘤干细胞没有分化为成熟细胞的能力, 其分化程序异常, 这也是与正常干细胞本质上的不同; 肿瘤细胞具有转移倾向, 存在异常的上皮细胞-间充质转化现象(epithelial-mesenchymal transition, EMT)。

肿瘤的形成一直被认为与编码基因的表达异常密切相关。近年来不断发现 miRNA 在肿瘤的形成、恶变及凋亡中起到重要作用, 例如 miR-15、miR-16、

miR-143、miR145 和 let-7 等在肿瘤组织中表达下调, 而 miR-21、miR-221、miR-222 等则在肿瘤中表达上调。从 Let-7 家族成员对干细胞分化与增殖的调控中可以看出, let-7 的突变可以导致细胞终末分化的缺失和细胞增殖的失控, 而这种突变也在非小细胞肺癌的组织中被检测到^[21], 证实了 let-7 可能参与了肿瘤发生发展的调控。在随后的研究中发现, 人类基因组中存在 13 个 let-7 的同源序列, 分成 8 个基因簇。这些基因簇位于或接近基因组中肿瘤相关的脆性位点, 而这些脆性位点与肺癌、乳腺癌和人类子宫颈癌等肿瘤密切相关。在恶性肿瘤中至少存在有 4 簇位点的缺失, 进而可以推断出 let-7 在人类肿瘤中发挥了一定的抑癌作用^[22]。

对于 let-7 对肿瘤干细胞的更深的研究, 在于探索 let-7 监控肿瘤干细胞的机制上。从相关文献中发现, let-7 在生物体中的突变直接导致了某些肿瘤干细胞特有的致癌基因表达异常, 这些致癌基因可以启动多条通路, 不同的通路分别影响了分化、凋亡、增殖和 EMT 等不同的生命活动, 继而肿瘤发生。

4.1 Let-7家族与RAS的调控 RAS基因在多种人类肿瘤中都存在突变, 编码产物为小 G 蛋白, 参与小 G 蛋白介导的信号转导通路, 对于维持肿瘤干细胞自我更新及转移能力具有关键作用, 并且在正常干细胞发育中也参与了调控。Johnson 等^[23]发现, 在线虫中 *let-60/Ras* 基因在表皮干细胞的发育中受到了 let-7 家族成员 mir-84 的调控。在人类基因组中也存在多个 *let-60/Ras* 的同源序列, 分别为 *K-RAS*、*N-RAS* 和 *H-RAS* 致癌基因, 并且都存在 3' UTR 的 let-7

互补位点,预测let-7可以通过结合到互补位点来抑制这些致癌基因的表达。在肺癌^[24]、乳腺癌^[25]、结肠癌^[26]、卵巢癌^[27]等多种癌症中,都证实了let-7的突变直接造成了RAS家族的高表达以及肿瘤的恶化。

在RAS/MEK通路中,RAS蛋白还通过下调E-钙黏蛋白及EMT相关转录因子的表达诱导了EMT的发生,而EMT是肿瘤恶化及转移的关键过程^[28]。由此推断,在某些let-7突变的恶性肿瘤中,通过提高let-7的表达理论上就可以直接阻断RAS/MEK通路而抑制EMT的发生,但相关结论还有待进一步验证。

4.2 Let-7/Myc基因对肿瘤干细胞凋亡与增殖的调控

如前文所述,在let-7参与的转录后调控通路中,LIN-28和LIN-28B特异性结合在pri-let-7 miRNA或前体let-7的茎环结构上抑制了成熟let-7的产生。并且,LIN28与OCT4、NANOG和SOX2共同作用可使成纤维细胞转化为诱导型多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPS),而在这一过程中参与调控的蛋白不只有LIN-28,它也可以被另一种蛋白取代参与调控,即是Myc蛋白^[29]。Myc蛋白与细胞核内蛋白MAX结合成Myc-MAX异源二聚体转录因子,在转录水平对let-7的表达进行调控,Myc蛋白可以结合到let-7a-1、let-7f-1、let-7d基因簇的启动子或pri-let-7g miRNA而抑制成熟let-7的表达。在伯基特淋巴瘤中^[29],过表达let-7a可以使Myc蛋白表达降低75%,定量PCR检测Myc mRNA降低70%,与Myc的3' UTR中存在let-7的互补位点有关。

与LIN-28蛋白在干细胞发育中发挥的作用相似,Myc蛋白的表达可提高肿瘤干细胞的增殖能力及诱导凋亡,虽然“诱导凋亡”与传统的理解,即“肿瘤干细胞凋亡能力降低”,是相互违背的,但实际上,在肿瘤发生过程中的多个阶段,肿瘤细胞可以对凋亡机制产生耐受,形成不仅具有高增殖能力还抵抗凋亡的细胞群^[30]。这个过程,对于肿瘤的形成及恶化具有关键作用,也是未来治疗中的重要靶点之一。

Boyerins等^[31]研究发现致癌基因IMP1是另一个let-7的主要靶标,在A549细胞中,IMP1 mRNA的3' UTR上存在let-7的互补位点,这些位点在哺乳动物中高度保守,而IMP1的作用是稳定MYC蛋白的功能。因此认为,let-7可以通过直接或间接的方式有效地抑制MYC蛋白的表达,使MYC和let-7形成了相互抑制的关系。

4.3 Let-7/HMGA2 诱导肿瘤细胞产生“干性” 就在发现let-7与致癌基因*Ras*和*Myc*的联系同时,Park等^[32]在卵巢癌细胞中发现了另一个let-7的靶标,高度迁移性蛋白家族A2(high mobility group A2, HMGA2),这种致癌基因在胚胎时期和肿瘤的形成早期表达,因此被认为与肿瘤的形成和发展相关。HMGA2的表达可以促使组织去分化(differentiation)使组织恢复胚胎时期的干性,而过表达let-7则可以沉默HMGA2在肿瘤中的表达,并且使HMGA2 mRNA降解^[33]。HMGA2基因序列上存在多个let-7的作用靶点,在let-7突变的恶性肿瘤中,HMGA2的表达都出现升高,并且可以辅助RAS/MEK通路,上调转录因子SNAIL,诱导EMT的发生^[28]。

HMGA2是cyclin A的活化剂^[34],let-7通过直接结合到HMGA2基因的3' UTR,可间接抑制cyclin A的表达。而近期的研究显示cyclin A可以抑制细胞凋亡机制,指出let-7可通过对HMGA2的干扰作用,间接作用在肿瘤干细胞的凋亡通路。

5 展望

以往的研究显示,let-7的正常表达可以特异且有效地发挥反馈机制,抑制细胞的“干性”,使机体细胞维持增殖与凋亡、分化与成熟的动态平衡。而let-7的表达异常,会失去对正常细胞的监控作用,使细胞增殖活性增强,引起异常去分化、EMT等病理过程,并通过多种途径参与肿瘤相关信号转导网络的调控,对其起到关键的调控作用。

由于let-7可以针对特异性靶基因参与肿瘤的发生、增殖、凋亡和EMT等过程的调控,使let-7被认为是一个理想的抑癌基因而受到了广泛关注。近年来,利用人工合成的miRNA上调在某些肿瘤中缺失的抑癌miRNA,在体外实验中取得了令人振奋的结果^[35, 36]。但是,目前对于let-7家族miRNA的研究尚处于起步阶段,对于miRNA治疗在体内的应用仍然存在很多阻碍,例如将合成的miRNA转入肿瘤细胞的有效方法和靶向治疗手段都不清楚,并且在许多研究中,部分致癌基因可以对let-7在一段时期后产生耐受现象,使miRNA治疗的副作用引起了很大的关注,实现let-7进入临床应用的目标还依赖于对let-7等miRNA作用机制的更深一步探索。

[参 考 文 献]

- [1] Griffiths-Jones S, Saini H K, Van Dongen S, et al. miRBase: tools for microRNA genomics. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36:

- D154-8
- [2] Schmittgen TD. Regulation of microRNA processing in development, differentiation and cancer. *J Cell Mol Med*, 2008, 12(5B): 1811-9
- [3] Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 2000, 403(6772): 901-6
- [4] Bracht J, Hunter S, Eachus R, et al. Trans-splicing and polyadenylation of *let-7* microRNA primary transcripts. *RNA*, 2004, 10(10): 1586-94
- [5] Lee Y, Ahn C, Han JJ, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature*, 2003, 425(6956): 415-9
- [6] Denli AM, Tops BB, Plasterk RH, et al. Processing of primary microRNAs by the microprocessor complex. *Nature*, 2004, 432(7014): 231-5
- [7] 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*, 2007, 104(23): 9667-72
- [8] Nilsen TW. Mechanisms of microRNA-mediated gene regulation in animal cells. *Trends Genet*, 2007, 23(5): 243-9
- [9] Roush S, Slack FJ. The *let-7* family of microRNAs. *Trends Cell Biol*, 2008, 18(10): 505-16
- [10] Lim LP, Lau NC, Weinstein EG, et al. The microRNAs of *Caenorhabditis elegans*. *Genes Dev*, 2003, 17(8): 991-1008
- [11] 季菊玲, 张锦生. microRNA与肿瘤. *中华病理学杂志*, 2006, 35(10): 628-30
- [12] 秦一雨, 全志伟, 李济宇. 微小RNA生物功能的研究进展. *实用医学杂志*, 2007, (23): 3794-6
- [13] Moss EG. Heterochronic genes and the nature of developmental time. *Curr Biol*, 2007, 17(11): R425-34
- [14] Abbott AL, Alvarez-Saavedra E, Miska EA, et al. The *let-7* microRNA family members *mir-48*, *mir-84*, and *mir-241* function together to regulate developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Dev Cell*, 2006, 10(2): 271
- [15] Lettre G, Jackson AU, Gieger C, et al. Identification of ten loci associated with height highlights new biological pathways in human growth. *Nat Genet*, 2008, 40(5): 584-91
- [16] Johnson CD, Esquela-Kerscher A, Stefani G, et al. The *let-7* microRNA represses cell proliferation pathways in human cells. *Cancer Res*, 2007, 67(16): 7713-22
- [17] Wulczyn FG, Smirnova L, Rybak A, et al. Post-transcriptional regulation of the *let-7* microRNA during neural cell specification. *FASEB J*, 2007, 21(2): 415-26
- [18] Thomson JM, Newman M, Parker JS, et al. Extensive post-transcriptional regulation of microRNAs and its implications for cancer. *Genes Dev*, 2006, 20(16): 2202-7
- [19] Newman MA, Thomson JM, Hammond SM. Lin-28 interaction with the *Let-7* precursor loop mediates regulated microRNA processing. *RNA*, 2008, 14(8): 1539-49
- [20] Piskounova E, Viswanathan SR, Janas M, et al. Determinants of microRNA processing inhibition by the developmentally regulated RNA-binding protein Lin28. *J Biol Chem*, 2008, 283(31): 21310-4
- [21] Esquela-Kerscher A, Trang P, Wiggins JF, et al. The *let-7* microRNA reduces tumor growth in mouse models of lung cancer. *Cell Cycle*, 2008, 7(6): 759-64
- [22] Lynam-Lennon N, Maher SG, Reynolds JV. The roles of microRNA in cancer and apoptosis. *Biol Rev*, 2009, 84(1): 55-71
- [23] Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, et al. *RAS* is regulated by the *let-7* microRNA family. *Cell*, 2005, 120(5): 635-47
- [24] Kumar MS, Erkeland SJ, Pester RE, et al. Suppression of non-small cell lung tumor development by the *let-7* microRNA family. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(10): 3903-8
- [25] Yu FY, Yao HR, Zhu PC, et al. *let-7* regulates self renewal and tumorigenicity of breast cancer cells. *Cell*, 2007, 131(6): 1109-23
- [26] Akao Y, Nakagawa Y, Naoe T. *let-7* microRNA functions as a potential growth suppressor in human colon cancer cells. *Biol Pharm Bull*, 2006, 29(5): 903-6
- [27] Bearfoot JL, Choong DY, Gorringer KL, et al. Genetic analysis of cancer-implicated microRNA in ovarian cancer. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(22): 7246-50
- [28] Watanabe S, Ueda Y, Akaboshi S, et al. HMG2 maintains oncogenic RAS-induced epithelial-mesenchymal transition in human pancreatic cancer cells. *Am Pathol*, 2009, 174(3): 854-68
- [29] Sampson VB, Rong NH, Han J, et al. MicroRNA *let-7a* down-regulates MYC and reverts MYC-induced growth in Burkitt lymphoma cells. *Cancer Res*, 2007, 67(20): 9762-70
- [30] Wang Y, Lee C. MicroRNA and cancer - focus on apoptosis. *J Cell Mol Med*, 2009, 13(1): 12-23
- [31] Boyerinas B, Park SM, Shomron N, et al. Identification of *let-7*-regulated oncofetal genes. *Cancer Res*, 2008, 68(8): 2587-91
- [32] Park SM, Shell S, Radjabi AR, et al. *Let-7* prevents early cancer progression by suppressing expression of the embryonic gene HMG2. *Cell Cycle*, 2007, 6(21): 2585-90
- [33] Lee YS, Dutta A. The tumor suppressor microRNA *let-7* represses the HMG2 oncogene. *Genes Dev*, 2007, 21(9): 1025-30
- [34] Tessari MA, Gostissa M, Altamura S, et al. Transcriptional activation of the cyclin A gene by the architectural transcription factor HMG2. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(24): 9104-16
- [35] 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): 855-62
- [36] Meister G, Landthaler M, Dorsett Y, et al. Sequence-specific inhibition of microRNA- and siRNA-induced RNA silencing. *RNA*, 2004, 10(3): 544-50