

文章编号: 1004-0374(2010)07-0634-07

microRNA 调控网络与肿瘤

王锐智¹, 曾春贤¹, 庄诗美^{1,2*}

(1 中山大学生命科学学院有害生物控制与资源利用国家重点实验室, 广州 510275;

2 中山大学附属第三医院广东省肝脏疾病研究重点实验室, 广州 510630)

摘要: microRNA(miRNA)是一类长度约为22 nt的小分子非编码RNA,对基因表达进行转录后调控。基因调控网络由各种回路,如前馈和反馈回路组成。它通过将外界刺激整合成合适的输出信号,控制细胞从增殖到死亡几乎所有的生命活动。已知基因调控网络的失调与肿瘤的发生发展密切相关。新近的实验证据表明,miRNA广泛参与基因调控网络中的反馈和前馈回路。该文主要介绍miRNA在基因表达调控网络中的作用及其与肿瘤发生发展的关系。

关键词: miRNA 调控网络; 反馈回路; 前馈回路; 肿瘤

中图分类号: Q522; R730.231 **文献标识码:** A

MicroRNA regulatory network and cancer

WANG Rui-zhi¹, ZENG Chun-xian¹, ZHUANG Shi-mei^{1,2*}

(1 State Key Laboratory of Biocontrol, School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China; 2

Key Laboratory of Liver Disease of Guangdong Province, the Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China)

Abstract: MicroRNAs (miRNAs) are a class of short (~22 nt), regulatory non-coding RNAs that inhibit the expression of protein-coding genes through binding to the 3'-untranslated region (3' UTR) of target mRNAs. Gene regulatory networks, which are made up of basic subcircuits, such as feedback and feedforward loops, control a wide range of biological processes, including development, cell differentiation, proliferation and apoptosis. Deregulation of gene regulatory network is highly associated with tumorigenesis. Emerging evidences suggest that miRNAs act as critical motifs of feedback and feedforward loops. This review summarizes the recent advance in the research field of miRNA regulatory network and its association with tumorigenesis.

Key words: miRNA; gene regulatory network; feedback loop; feedforward loop; cancer

microRNA(miRNA)是近年来发现的在真核生物中起转录后调控作用的小分子非编码RNA。大量证据表明,miRNA在干细胞维持、细胞分化、增殖、凋亡、代谢、胚胎发育以及免疫应答等生命活动中发挥重要作用^[1-5]。然而,人们对miRNA调控生命活动的分子机制仍知之甚少。基因调控网络是多个基因相互影响相互制约构成的复杂关系,由多个回路构成,其中前馈和反馈回路是网络中最重要的组成部分。几乎所有的细胞活动都由基因调控网络所控制^[6]。近年来,人们发现miRNA参与了众多的基因调控网络,而包含有miRNA的前馈和反馈回路

可能普遍存在。认识miRNA在基因调控网络中的功能有助于揭示miRNA调控生命活动的分子机制及其在疾病发生发展中的作用。

1 miRNA的生物合成和作用机制概述

miRNA在基因组中多位于基因间或基因的内含

收稿日期: 2010-07-05

基金项目: 国家重点基础研究发展计划("973"项目)
(2005CB724600)

*通讯作者: E-mail: zhuangshimei@163.com; Tel: 020-84112164

子中,以单拷贝、多拷贝或基因簇的形式存在。以miRNA基因为模板,由RNA聚合酶II或III转录出具有茎环结构的miRNA初始转录本(pri-miRNA);后者在核内被RNase III成员Drosha剪切成约80 nt的miRNA前体(pre-miRNA);pre-miRNA由Exportin-5转运至胞浆,进一步被RNase III家族的另一成员Dicer加工成22 nt的双链RNA;其中一条单链和RNA沉默复合体(RNA-induced silencing complex,RISC)结合,形成miRNA-RISC功能单位^[7]。miRNA-RISC复合体通过碱基配对的方式寻靶,从而实现对靶基因表达的转录后调控。miRNA与靶基因mRNA 3' UTR的碱基互补配对结合后,通过多种方式抑制mRNA的翻译。miRNA的种子区域(包括5'端2~8位碱基)对于其识别和结合靶mRNA尤为重要。现已发现miRNA通过四种不同的方式抑制靶基因的表达:(1)抑制mRNA翻译起始;(2)促使多聚核糖体脱落,抑制蛋白翻译延伸;(3)募集蛋白酶降解翻译中的蛋白;(4)促进mRNA降解^[8]。计算机预测显示人类细胞中至少有三分之一的蛋白基因受miRNA的调控^[9],提示miRNA在全基因组的表达调控中起着不可或缺的作用。

2 miRNA在基因调控网络中的作用

信息生物学预测及实验研究表明,一个miRNA可调控多个靶基因;这些靶基因并不是随机分布的,而是富集在同一个或某几个信号通路^[10]。这提示一个miRNA可同时调控同一信号通路中上下游靶蛋白的表达,或通过调控多个信号通路,从而对基因调控网络实施更有效的调节,最终对细胞功能和表型进行更有力的调控。另外,由于miRNA表达与功能具有严格的时空特性,miRNA在不同时空对每个靶蛋白的作用可能不尽相同,因而引起的生物学反应亦是各异。因此,对miRNA的功能研究不应局限于简单的基因抑制,而应建立在基因调控网络之上,并考虑其时空性。目前发现,miRNA主要通过以下两种方式调控基因网络。

2.1 miRNA通过多个靶基因实现对信号网络的调控

Cui等^[11]通过分析miRNA和一个已知的人类信号网络的相互关系发现,miRNA更倾向于选择调控基因网络的调节回路、高连接节点和转录因子,从而提供了一个在细胞外信号改变时,能够终止胞内已有的信号传导,并有效响应新信号的机制。我们和他人的结果显示,miR-195的靶基因显著富集于细胞周期调控通路中,miR-195可以同时抑制pRb

通路中上下游分子的表达,从而抑制细胞周期由G₁向S期的转换^[12,13];而miR-29家族成员可提高细胞对凋亡刺激的敏感性,其靶基因明显富集于凋亡通路^[14,15]。相关研究也提示,miRNA并不具备对某一个特定靶基因的强调控作用,其对绝大部分靶基因的作用都是温和的^[16]。因此,miRNA可能通过对多个靶基因调控的整合,更有效地保证基因网络信号的稳定输出。

2.2 miRNA通过前馈和反馈回路参与基因调控网络

前馈和反馈回路是基因调控网络最重要的组成部分。新近的生物信息学研究结果提示,miRNA与其靶基因广泛参与了前馈和反馈回路。Shalgi等^[17]通过鉴定每个基因上潜在的转录因子(TF)和miRNA的结合位点,在基因组中搜索调控共同靶基因的TF-miRNA组合。他们发现,这些组合中的TF和miRNA比随机组合更倾向于相互调控,提示TF、miRNA和靶基因组成的调控回路的存在。Tsang等^[18]通过表达芯片分析发现,miRNA与其靶基因的表达水平呈高度正相关或负相关,提示在miRNA、靶基因及其上游调节因子中可能存在多种前馈和反馈回路。Martinez等^[19]进一步通过实验方法鉴定了线虫中TF和miRNA构成的网络回路。综上所述,miRNA可能通过与上游转录因子、下游靶基因及其信号通路中的其他分子构成前馈和反馈回路,成为基因调控网络的关键节点。

2.2.1 miRNA参与的反馈回路

反馈回路(feedback loop)是指当下游分子接收到信号后,向上游分子反作用,从而修正上游分子传递信号的速率和强度。负反馈回路(negative feedback loop)能够对抗摄动信号对系统产生的干扰,从而保持网络的稳定性(图1A);而正反馈(positive feedback loop)和双负反馈(double negative feedback loop)回路则通过增强刺激强度使接收到的信号能更快更强地往下传导,促进系统从一种状态向另一种状态转变^[6](图1B)。

miRNA作为一种转录后的负调控因子,对靶基因进行温和的抑制,而且几乎无时间延迟,因而miRNA介导的负反馈回路有利于降低信号网络的噪音和波动。越来越多的实验证据表明,miRNA介导了负反馈回路^[20-23]。以SF2/miR-7回路为例^[23](图1A),SF2/ASF能直接结合到pri-miR-7上,促进其成熟体的生成;而miR-7通过靶向结合SF2/ASF mRNA的3' UTR;抑制SF2/ASF蛋白的合成。SF2/ASF一方面受miR-7负调控;另一方面又能促进

miR-7的加工,因此SF2/ASF如同miR-7表达的“变阻器”,感受细胞内miR-7表达水平并对其作出反应;而miR-7介导的负反馈能够精确控制SF2/ASF的蛋白水平,最终保证SF2/ASF和miR-7的动态平衡。

当miRNA与靶基因形成相互抑制关系的时候,它们便构成双负反馈回路。双负反馈回路具有两个可转换的稳定状态(图1B),合适的刺激能使稳态发生转换并使某一状态稳定维持^[6]。miRNA也广泛介导了双负反馈回路^[24-27]。例如lin-28/let-7回路中^[27](图1B),lin-28能够直接特异地结合到pri-let-7或

pre-let-7的茎环结构上,抑制Drosha或Dicer对let-7的加工^[28];同时,let-7能够结合到lin-28 mRNA的3' UTR上,抑制lin-28的蛋白合成。这种相互抑制的关系令该回路具有两个稳定的状态:即lin-28高活性、let-7低活性或lin-28低活性、let-7高活性。该回路的两种稳态分别控制了胚胎干细胞向神经干细胞分化前后的细胞状态。在分化过程中,let-7活性逐渐增强,从而抑制了lin-28的蛋白合成;lin-28的活性降低又进一步使let-7的成熟体增多,最终促使该回路从胚胎干细胞稳态向神经干细胞稳态转换。

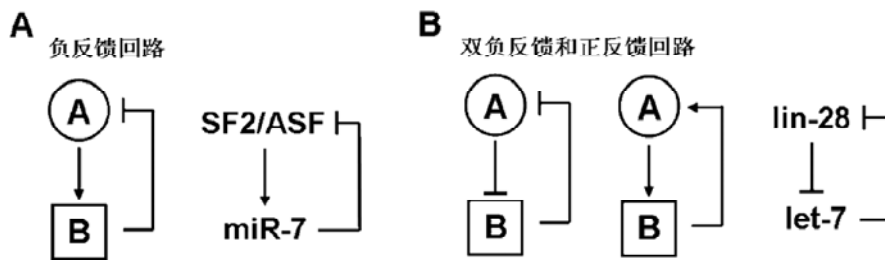


图1 反馈回路示意图

2.2.2 miRNA参与的前馈回路

前馈回路(feedforward loops)是指上游起始分子通过两条响应速度不同的通路向下游传递信号,经由下游分子整合后输出。一致前馈回路通过两条或以上作用方向相同、但响应速度不同的支路来产生输出信号,从而精确控制信号传导的时间和强度

(图2A);不一致前馈回路则通过两条或以上作用方向相反的支路产生整合信号,最终稳定回路对刺激的应答水平^[6](图2B)。

在一致前馈回路中,上游分子通过调控miRNA能更有效地向下游分子传递信号,而且miRNA往往是信号完整输出的关键步骤^[29, 30]。如PKC-miR-15a-

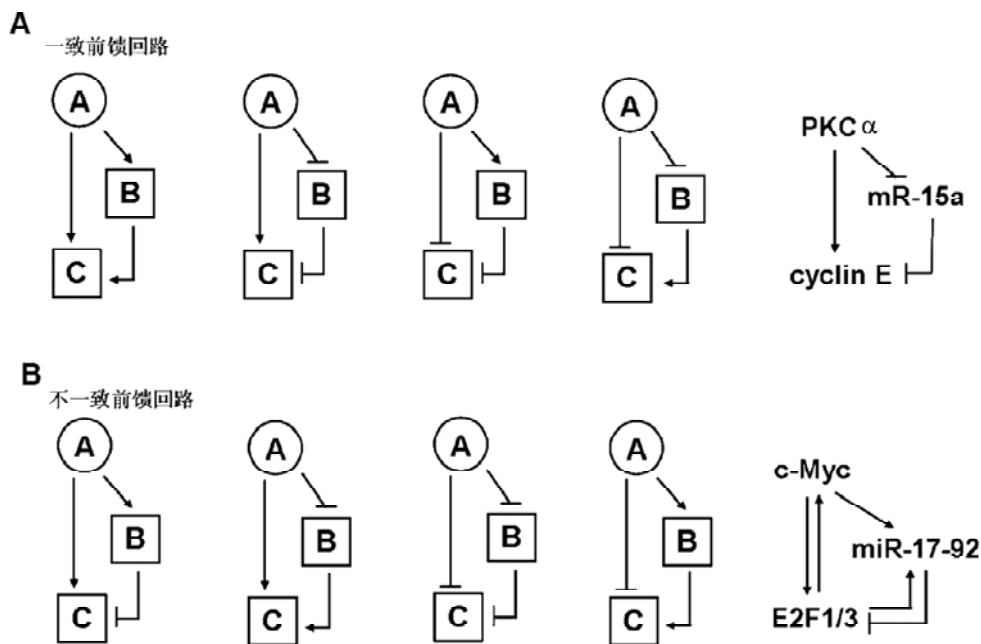


图2 前馈回路示意图

cyclin E回路中^[30](图2A), PKC α 通过一致前馈回路促进 cyclin E 蛋白水平的升高。一方面, PKC α 激活 MAPK 途径快速诱导 cyclin E 的 mRNA 转录; 另一方面, PKC α 通过抑制 miR-15a 的表达来解除 miR-15a 对 cyclin E 的负调节, 使 cyclin E 的翻译顺利进行。通过该回路, PKC α 有效地激活 cyclin E 的表达, 促进细胞周期的进程。

在不一致前馈回路中, miRNA 则可阻止噪音刺激引发的网络响应以及防止信号的过度激活, 如 c-Myc/miR-17-92/E2F 回路^[31-34](图2B)。miR-17-92 是一个多顺反子, 其转录加工后的产物包括 7 个 miRNA 家族成员。O'Donnell 等^[31]证明 c-Myc 激活 E2F 转录的同时, 也激活 miR-17-92 基因簇的转录, 而该基因簇里的两个 miRNA(miR-17-5p 和 miR-20a) 能抑制 E2F1/3 的蛋白合成。因此, c-Myc 一方面直接激活 E2F1/3 的转录, 而另一方面又通过 miR-17-5p 和 miR-20a 对 E2F1/3 进行转录后抑制, 从而精细调控 E2F1/3 的蛋白水平。有趣的是, E2F1/3 亦可以激活 c-Myc^[32]和 miR-17-92 的转录^[33, 34]。miR-17-92 对于 c-Myc 和 E2F 互相激活程度的控制至关重要, 它维持 Myc 和 E2F 处于正常的表达水平, 确保细胞对外界刺激作出合理水平的应答。

2.2.3 miRNA 参与的基因调控网络

在生物体内, 调节生命活动的基因调控网络往往交联着多个反馈和前馈回路。通过这些回路的交叉对话, 细胞能够更精确地将刺激转化为合理的信号并作出合适的反应。Li 等^[35, 36]发现在果蝇发育调控网络中, miR-7 通过建立多条相互关联的反馈和前馈回路增强果蝇发育过程中抵抗环境干扰的能力(图3)。Notch 通路下游的转录因子 Yan 既可以直接抑制 miR-7 的转录, 又是 miR-7 的直接靶标, Yan 与 miR-7 之间构成一个双负反馈回路; Yan 还可以激活下游的转录抑制因子 TTK69 进而抑制 miR-7 的转录, Yan/ TTK69/miR-7 构成了一致前馈回路。这

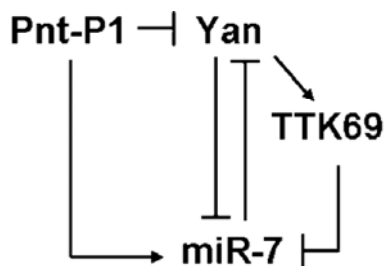


图3 miRNA 参与的调控网络

两条回路确保了 Yan 对 miR-7 表达的稳定抑制。在前体感光细胞未分化阶段, 高活性的 Notch 通路使 Yan 持续高表达, 从而达到抑制 miR-7 表达、保持细胞干性的目的。当细胞接收到分化信号的时候, EGF 通路被激活, 其下游的转录因子 Pnt-P1 既能直接激活 miR-7 的表达, 又能抑制 Yan, 进而解除后者对 miR-7 的表达抑制。高活性的 Pnt-P1 通过 Pnt-P1/Yan/miR-7 一致前馈回路促进 miR-7 表达, 而 miR-7 的上调又通过 Yan/miR-7 双负反馈回路抑制 Yan 的表达, 从而确保 miR-7 表达的持续提高, 使细胞进入分化途径。这些反馈和前馈回路通过 miR-7 互相整合, 使细胞既能抵抗环境扰动信号的干扰, 又能在正确信号的刺激下迅速一致地作出应答。

3 microRNA 参与的调控网络失调与肿瘤的发生发展

细胞生命活动的调控是由整条“通路”而不是单个基因来执行, 每条调控通路中包含有多个基因。不同调控通路之间的相互作用及平衡结果决定了细胞的命运, 如增殖、死亡或分化。肿瘤的发生发展是多条通路联合破坏的结果, 因此, 肿瘤细胞中的“基因网络特征”比“单个分子特征”更能揭示细胞恶性转化和进展的机制^[37-39]。大量实验证据表明, miRNA 在多种肿瘤组织中异常表达^[40]。如上所述, miRNA 广泛参与了基因调控网络, 因此, miRNA 的失调可能导致其调控的基因网络的异常, 从而赋予细胞诸如无限增殖、抵抗凋亡、侵袭转移、促血管生成等恶性表型。新近的实验证据逐渐证明了这一假设, 下面做一简介。

Myc/miR-17-92/E2F 回路与肿瘤。Myc 和 E2F 都具有促增殖的作用。在 Myc/ miR-17-92/E2F 回路中(图2B), miR-17-92 对 Myc 和 E2F 之间的正反馈起了“刹车”的作用, 提供一个严格控制 Myc 和 E2F 表达水平的机制^[31]。因此, 人们猜想 miR-17-92 是一个潜在的肿瘤抑制因子。与该猜想相吻合的是, miR-17-92 基因簇在多种肿瘤中发生缺失或表达下调^[41-44]; 而且 miR-17-92 家族成员之一 miR-17-5p 能抑制乳腺癌细胞的增殖^[45]。然而, 在大 B 细胞淋巴瘤、结肠癌和脂肪肉瘤中, 人们却发现该基因簇的表达异常上调^[46-48], 更有意思的是, miR-17-92 能抑制细胞凋亡, 协同 Myc 诱发小鼠 B 细胞淋巴瘤^[49]; 这提示 miR-17-92 具有癌基因的功能。Aguda 等通过数学方法建立 Myc/miR-17-92/E2F 的相互调控模

型, 提出在 *Myc*/miR-17-92/E2F 回路中, miR-17-92 作为抑癌基因还是癌基因取决于其对 *Myc* 和 E2F 的抑制效率: 当抑制效率较高时, miR-17-92 能有效控制外界刺激对 *Myc* 和 E2F 的激活作用, 从而起着抑癌基因的作用; 当抑制效率降低时, *Myc* 和 E2F 在高水平维持表达稳态, *Myc* 诱导的 miR-17-92 不但不能抑制 *Myc* 和 E2F 的促增殖活性, 反而可以抑制 *Myc* 和 E2F 诱导的促凋亡过程, 此时 miR-17-92 则起着癌基因的作用^[49,50]。由上可知, 对 miRNA 参与的调节回路进行分析能更好地认识其在肿瘤发生发展的作用。

NF- κ B/YY1/miR-29 回路与横纹肌肉瘤 (图 4A)^[51]。在骨骼肌生成过程中存在一个 YY1 和 miR-29 双负反馈回路: YY1 是 miR-29 的直接转录抑制因子, 同时也是 miR-29 的靶基因。在成肌细胞中, NF- κ B 持续激活使 YY1 维持在较高水平, 从而抑制 miR-29 的表达; miR-29 的低水平导致其对 YY1 负调节的减弱, 使细胞保持 YY1 的高活性, 维持细

胞干性特征。当成肌细胞接收到分化信号时, NF- κ B 活性降低, 导致 YY1 的下调, 因而解除了 YY1 对 miR-29 的抑制作用; 表达上调的 miR-29 进一步抑制 YY1 的表达水平从而促进了细胞的分化过程。在横纹肌肉瘤发生过程中, 持续异常激活的 NF- κ B 促进 YY1 高表达, 导致 miR-29 的表达沉默, 低水平的 miR-29 致使 YY1 的活性进一步提高, 使肿瘤细胞维持在低分化高增殖的状态。而过表达 miR-29 能促进肿瘤细胞的分化, 降低肿瘤的恶性程度。在分化过程中, 细胞多利用正反馈或双负反馈回路持续不断地增强分化的信号^[52]。肿瘤是一种分化过程受阻的疾病, 细胞分化信号回路的调控异常广泛参与了肿瘤的发生发展, 恢复这些回路的正常调控, 尤其是恢复 miRNA 的表达水平有望促使肿瘤细胞分化, 从而抑制肿瘤的进展。

NF- κ B/lin-28/let-7/IL-6回路(图4B)^[53]是一个在乳腺细胞中诱发炎症反应并最终导致细胞恶性转化的正反馈回路。Src 的激活作为炎症引发的信

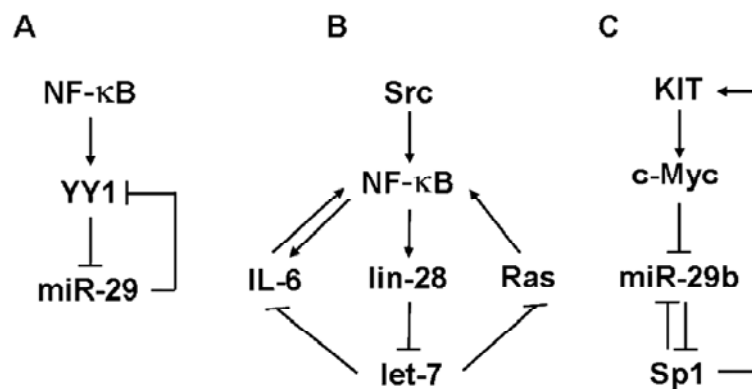


图4 miRNA的调控网络与肿瘤

号, 继而激活 NF- κ B, 活化的 NF- κ B 不仅可以激活 IL-6 的转录, 还能通过诱导 lin-28 的表达而抑制 let-7 的加工生成; 作为反馈信号, let-7 的下调导致其靶基因 IL-6 和 Ras 的去抑制, 从而进一步激活 NF- κ B, 使 NF- κ B /lin-28/let-7/IL-6 信号传导持续活化。在这个正反馈回路中, 作为起始信号的 Src 只需要被短暂激活, 便能通过正反馈驱动并维持 NF- κ B 和 IL-6 的高活性, 促使细胞恶性转化。在这个过程中, let-7 的表达下调起着关键的作用。恢复 let-7 的表达能够阻断该回路的正反馈途径, 阻止细胞发生恶性转化。

Sp1/ NF- κ B /HDAC/miR-29b 回路与髓性白血病

(图 4C)^[54]。在该回路中, miR-29b 能够直接抑制 Sp1 的表达; 而 Sp1、NF- κ B 以及 HDAC 则能够形成 Sp1/ NF- κ B /HDAC 复合体抑制 miR-29b 的表达, Sp1/ NF- κ B /HDAC 与 miR-29b 之间因而形成了一个双负反馈回路。在髓性白血病发生过程中, 该回路失调的起始事件是 KIT 发生功能获得性突变或非受体依赖的异常激活, 并持续激活 c-Myc。c-Myc 是 miR-29b 的转录抑制因子^[55], 活化的 c-Myc 通过该双负反馈回路诱导 miR-29b 表达下调以及 Sp1 的上调。另一方面, Sp1 与 NF- κ B 结合形成的转录复合体能激活 KIT 的 mRNA 转录, 进一步促使 KIT 的表达上调。通过该反馈回路, 恶性细胞最终使 miR-

29b 表达最少化而 KIT 表达最大化。利用实验动物治疗模型, 发现肿瘤治疗药物 Bortezomib 通过抑制 Sp1/ NF- κ B 的活性、降低 KIT 的蛋白水平和提高 miR-29b 的表达水平, 从而抑制肿瘤的生长; 而直接提高肿瘤细胞中 miR-29b 的水平也能够明显抑制体内肿瘤的生长。因此, 抑制该回路的 Sp、NF- κ B 或 HDAC 或恢复 miR-29b 表达水平可能作为治疗髓性白血病的有力手段。

4 展望

综上所述, miRNA 很可能通过复杂的信号网络精确、协调地调控细胞的各项生命活动; miRNA 的失控, 可能更有效地破坏多个信号通路, 促使细胞的恶性转化; 恢复或抑制 miRNA 的表达, 有望成为更加简便高效的肿瘤防治策略。因此, miRNA 调控网络的揭示, 不仅对阐明 miRNA 的生物学功能至关重要, 也为阐明肿瘤等疾病的发病机制提供新的理论基础, 更为临床医学提供新的防治靶点。目前, 在 miRNA 调控网络的研究方面, 一个重要的挑战就是如何系统准确地鉴定 miRNA 的靶基因群; 另一挑战是鉴定 miRNA 的启动子区及其转录调控因子。而目前制约这两方面研究的瓶颈包括: miRNA 靶基因预测方法的低特异性和灵敏性造成预测失败; 高通量实验验证 miRNA 靶基因的技术难度大; 在不同生理或病理状况下 miRNA 对靶基因的选择机制十分复杂; miRNA 的低表达丰度以及与蛋白质编码基因的结构模式和转录模式存在较大的差异, 导致 miRNA 转录元件的鉴定分析存在很大困难。因此, 解决这些瓶颈问题, 将极大推进 miRNA 的研究进展。

【参 考 文 献】

- [1] Gangaraju VK, Lin H. MicroRNAs: key regulators of stem cells. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(2): 116-25
- [2] Martin BL, Kimelman D. Developmental biology: micro (RNA)-managing nodal. *Cur Biol*, 2007, 17(22): R975-7
- [3] Xu P, Guo M, Hay BA. MicroRNA and the regulation of cell death. *Trends Genet*, 2004, 20(12): 617-24
- [4] Lynn FC. Meta-regulation: microRNA regulation of glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab*, 2009, 20(9): 452-9
- [5] Xiao C, Rajewsky K. MicroRNA control in the immune system: basic principles. *Cell*, 2009, 136(1): 26-36
- [6] Alon U. Network motifs: theory and experimental approaches. *Nat Rev Genet*, 2007, 8(6): 450-61
- [7] Carthew RW, Sontheimer EJ. Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs. *Cell*, 2009, 136(4): 642-55
- [8] Winter J, Jung S, Keller S, et al. Many roads to maturity: microRNA biogenesis pathways and their regulation. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(3): 228-34
- [9] Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*, 2005, 120(1): 15-20
- [10] Inui M, Martello G, Piccolo S. MicroRNA control of signal transduction. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11(4): 252-63
- [11] Cui Q, Yu Z, Purisima EO, et al. Principles of microRNA regulation of a human cellular signaling network. *Mol Syst Biol*, 2006, 2: 46
- [12] Xu T, Zhu Y, Xiong Y, et al. MicroRNA-195 suppresses tumorigenicity and regulates G1/S transition of human hepatocellular carcinoma cells. *Hepatology*, 2009, 50(1): 113-21
- [13] Liu Q, Fu H, Sun F, et al. miR-16 family induces cell cycle arrest by regulating multiple cell cycle genes. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(16): 5391-404
- [14] Garzon R, Heaphy CE, Havelange V, et al. MicroRNA 29b functions in acute myeloid leukemia. *Blood*, 2009, 114(26): 5331-41
- [15] Xiong Y, Fang JH, Yun JP, et al. Effects of microRNA-29 on apoptosis, tumorigenicity, and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2010, 51(3): 836-45
- [16] Grun D, Wang YL, Langenberger D, et al. microRNA target predictions across seven *Drosophila* species and comparison to mammalian targets. *PLoS Comput Biol*, 2005, 1(1): e13
- [17] Shalgi R, Lieber D, Oren M, et al. Global and local architecture of the mammalian microRNA-transcription factor regulatory network. *PLoS Comput Biol*, 2007, 3(7): e131
- [18] Tsang J, Zhu J, van Oudenaarden A. MicroRNA-mediated feedback and feedforward loops are recurrent network motifs in mammals. *Mol Cell*, 2007, 26(5): 753-67
- [19] Martinez NJ, Ow MC, Barrasa MI, et al. A *C. elegans* genome-scale microRNA network contains composite feedback motifs with high flux capacity. *Genes Dev*, 2008, 22(18): 2535-49
- [20] Liu G, Friggeri A, Yang Y, et al. miR-147, a microRNA that is induced upon Toll-like receptor stimulation, regulates murine macrophage inflammatory responses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(37): 15819-24
- [21] Yang X, Feng M, Jiang X, et al. miR-449a and miR-449b are direct transcriptional targets of E2F1 and negatively regulate pRb-E2F1 activity through a feedback loop by targeting CDK6 and CDC25A. *Genes Dev*, 2009, 23(20): 2388-93
- [22] Pulikkan JA, Dengler V, Peramangalam PS, et al. Cell-cycle regulator E2F1 and microRNA-223 comprise an autoregulatory negative feedback loop in acute myeloid leukemia. *Blood*, 2010, 115(9): 1768-78
- [23] Wu H, Sun S, Tu K, et al. A splicing-independent function of SF2/ASF in microRNA processing. *Mol Cell*, 2010, 38(1): 67-77
- [24] Johnston RJ Jr, Chang S, Etchberger JF, et al. MicroRNAs acting in a double-negative feedback loop to control a neuronal cell fate decision. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(35): 12449-54
- [25] Bracken CP, Gregory PA, Kolesnikoff N, et al. A double-

- negative feedback loop between ZEB1-SIP1 and the microRNA-200 family regulates epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Res*, 2008, 68(19): 7846-54
- [26] Xu N, Papagiannakopoulos T, Pan G, et al. MicroRNA-145 regulates OCT4, SOX2, and KLF4 and represses pluripotency in human embryonic stem cells. *Cell*, 2009, 137(4): 647-58
- [27] Rybak A, Fuchs H, Smirnova L, et al. A feedback loop comprising lin-28 and let-7 controls pre-let-7 maturation during neural stem-cell commitment. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(8): 987-93
- [28] Viswanathan SR, Daley GQ, Gregory RI. Selective blockade of microRNA processing by Lin28. *Science*, 2008, 320(5872): 97-100
- [29] Brosh R, Shalgi R, Liran A, et al. p53-repressed miRNAs are involved with E2F in a feed-forward loop promoting proliferation. *Mol Syst Biol*, 2008, 4: 229
- [30] Cohen EE, Zhu H, Lingen MW, et al. A feed-forward loop involving protein kinase C α and microRNAs regulates tumor cell cycle. *Cancer Res*, 2009, 69(1): 65-74
- [31] O'Donnell KA, Wentzel EA, Zeller KI, et al. c-Myc-regulated microRNAs modulate E2F1 expression. *Nature*, 2005, 435(7043): 839-43
- [32] Matsumura I, Tanaka H, Kanakura Y. E2F1 and c-Myc in cell growth and death. *Cell Cycle*, 2003, 2(4): 333-8
- [33] Sylvestre Y, De Guire V, Querido E, et al. An E2F/miR-20a autoregulatory feedback loop. *J Biol Chem*, 2007, 282(4): 2135-43
- [34] Woods K, Thomson JM, Hammond SM. Direct regulation of an oncogenic micro-RNA cluster by E2F transcription factors. *J Biol Chem*, 2007, 282(4): 2130-4
- [35] Li X, Cassidy JJ, Reinke CA, et al. A microRNA imparts robustness against environmental fluctuation during development. *Cell*, 2009, 137(2): 273-82
- [36] Li X, Carthew RW. A microRNA mediates EGF receptor signaling and promotes photoreceptor differentiation in the *Drosophila* eye. *Cell*, 2005, 123(7): 1267-77
- [37] Rhodes DR, Yu J, Shanker K, et al. ONCOMINE: a cancer microarray database and integrated data-mining platform. *Neoplasia*, 2004, 6(1): 1-6
- [38] Segal E, Friedman N, Koller D, et al. A module map showing conditional activity of expression modules in cancer. *Nat Genet*, 2004, 36(10): 1090-8
- [39] Subramanian A, Tamayo P, Mootha VK, et al. Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(43): 15545-50
- [40] Paranjape T, Slack FJ, Weidhaas JB. MicroRNAs: tools for cancer diagnostics. *Gut*, 2009, 58(11): 1546-54
- [41] Stembalska A, Blin N, Ramsey D, et al. Three distinct regions of deletion on 13q in squamous cell carcinoma of the larynx. *Oncol Rep*, 2006, 16(2): 417-21
- [42] Zhang XL, Fu WL, Zhao HX, et al. Molecular studies of loss of heterozygosity in Chinese sporadic retinoblastoma patients. *Clin Chim Acta*, 2005, 358(1-2): 75-80
- [43] Lin YW, Sheu JC, Liu LY, et al. Loss of heterozygosity at chromosome 13q in hepatocellular carcinoma: identification of three independent regions. *Eur J Cancer*, 1999, 35(12): 1730-4
- [44] Eiriksdottir G, Johannesdottir G, Ingvarsson S, et al. Mapping loss of heterozygosity at chromosome 13q: loss at 13q12-q13 is associated with breast tumour progression and poor prognosis. *Eur J Cancer*, 1998, 34(13): 2076-81
- [45] Hossain A, Kuo MT, Saunders GF. Mir-17-5p regulates breast cancer cell proliferation by inhibiting translation of AIB1 mRNA. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(21): 8191-201
- [46] Schmidt H, Bartel F, Kappler M. Gains of 13q are correlated with a poor prognosis in liposarcoma. *Mod Pathol*, 2005, 18(5): 638-44
- [47] Karnan S, Tagawa H, Suzuki R, et al. Analysis of chromosomal imbalances in *de novo* CD5-positive diffuse large-B-cell lymphoma detected by comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes Cancer*, 2004, 39(1): 77-81
- [48] Volinia S, Calin GA, Liu CG, et al. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(7): 2257-61
- [49] He L, Thomson JM, Hemann MT, et al. A microRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature*, 2005, 435(7043): 828-33
- [50] Aguda BD, Kim Y, Piper-Hunter MG, et al. MicroRNA regulation of a cancer network: consequences of the feedback loops involving miR-17-92, E2F, and Myc. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(50): 19678-83
- [51] Wang H, Garzon R, Sun H, et al. NF- κ B-YY1-miR-29 regulatory circuitry in skeletal myogenesis and rhabdomyosarcoma. *Cancer Cell*, 2008, 14(5): 369-81
- [52] Carthew RW. Gene regulation by microRNAs. *Curr Opin Genet Dev*, 2006, 16(2): 203-8
- [53] Iliopoulos D, Hirsch HA, Struhl K. An epigenetic switch involving NF- κ B, Lin28, Let-7 microRNA, and IL6 links inflammation to cell transformation. *Cell*, 2009, 139(4): 693-706
- [54] Liu S, Wu LC, Pang J, et al. Sp1/NF κ B/HDAC/miR-29b regulatory network in KIT-driven myeloid leukemia. *Cancer Cell*, 2010, 17(4): 333-47
- [55] Chang TC, Yu D, Lee YS, et al. Widespread microRNA repression by Myc contributes to tumorigenesis. *Nat Genet*, 2008, 40(1): 43-50