

# miR-15b 在内皮细胞的功能及其与血管相关性疾病的关系

陈良榘<sup>1</sup>, 杨明<sup>1</sup>, 陈艳<sup>1</sup>, 孙华钦<sup>1</sup>, 许文明<sup>1,2</sup>

1. 四川大学华西第二医院, 四川大学-香港中文大学生殖医学联合实验室, 教育部出生缺陷与相关妇科疾病重点实验室, 成都 610041;
2. 四川大学, 四川大学华西第二医院妇产科, 成都 610041

**摘要:** 微小 RNA(MicroRNA, miRNA)是长度为 22 个核苷酸的小片段非编码 RNA, 作为 RNA 干扰的参与者之一, 其通过在转录后水平调节各种基因的表达, 进而对细胞的生命活动产生广泛影响。miR-15b 是 miR-15/16 家族一员, 是一类在机体各系统、特别是血管内皮系统广泛表达的微小 RNA, 主要影响细胞的增殖、凋亡、侵袭、成管等行为。文章主要对 miR-15b 及相关家族成员在各类细胞、特别是血管内皮细胞的生物学行为、作用机制及 miR-15b 在心血管相关疾病的发生、发展及预后等过程中的作用进行了详细阐述。同时, 文章对 miR-15b 相关家族成员在以胎盘内皮发育异常为病理基础的妊娠期高血压疾病如子痫前期的发病机制中的作用进行了探讨。

**关键词:** miR-15b; 增殖; 侵袭; 肿瘤; 子痫前期

## Roles of miR-15b in endothelial cell function and their relevance to vascular diseases

Liangju Chen<sup>1</sup>, Ming Yang<sup>1</sup>, Yan Chen<sup>1</sup>, Huaqin Sun<sup>1</sup>, Wenming Xu<sup>1,2</sup>

1. Joint Laboratory for Reproductive Medicine, SCU-CUHK; Key Laboratory of Obstetric & Gynecologic and Pediatric Diseases and Birth Defects of Ministry of Education; West China Second University Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China;
2. Department of Obstetric & Gynecologic Disease, West China Second University Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

**Abstract:** MicroRNAs (miRNAs) are noncoding RNAs with a short length of about 22 nucleotides. As major modulators participating in RNA interference, they affect cellular behaviors by regulating the expression of diverse genes at post-transcriptional levels. miR-15b is a member of the miR-15/16 family, which is broadly expressed in major tissues and specially enriched in the endovascular system of human beings. miR-15/16 affects cellular proliferation, apoptosis, invasion and angiogenesis. In this review, we summarize the role and the underlying mechanism of miR-15b as well as other miR-15/16 family members in different cells, especially in endothelial cells. We focus on the diverse roles of miR-15b in the occurrence, progression and prognosis of vascular diseases, with particular emphasis on preeclampsia, a hypertensive disorder related to endovascular dysfunction in the placenta.

**Keywords:** miR-15b; proliferation; invasion; tumor; preeclampsia

收稿日期: 2014-08-29; 修回日期: 2014-09-24

基金项目: 国家重点基础研究计划(973 计划)(编号: 2012CB944903)和新世纪人才计划项目(编号: NCET-12-0382)资助

作者简介: 陈良榘, 硕士研究生, 专业方向: 出生缺陷。Tel: 028-85502290; E-mail: 248698579@qq.com

通讯作者: 许文明, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向: 生殖生物学与生殖医学。E-mail: xuwenming1973@163.com

DOI: 10.16288/j.ycz.14-288

网络出版时间: 2014-12-16 16:28:39

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20141216.1628.002.html>

MicroRNA(miRNA)属小片段调节性 RNA<sup>[1]</sup>, 片段长度在 22 个核苷酸左右, 尽管不直接编码蛋白质, 但作为 RNA 干扰(RNAi)活动的媒介物广泛地存在于细胞中, 在转录后水平发挥调节作用。miRNA 的产生和成熟以及功能执行的过程如下: 在细胞核内 miRNA 基因通过转录、剪接等过程形成长片段双链的具有发卡结构的前体 miRNA(pre-miRNA); pre-miRNA 进入细胞质后, 在双链 RNA 核酸内切酶 Dicer 核酸酶的剪切下形成双链 miRNA(miRNA duplexes); 成熟的 miRNA 从双链 miRNA 释放出来后结合到 Ago 蛋白上, 形成核心效应复合体 miRNA/Ago 核糖核酸蛋白, 即 miRNP; 作为 miRNP 组成部分的 miRNA 以其自身核酸序列为基础扮演一种特异性决定者的角色, 一般通过其 5'端的种子序列(Seed sequence)与靶 mRNA 3'端非翻译区(3'-UTR)序列互补配对<sup>[2]</sup>, 也可能通过识别靶 mRNA 的开放阅读框(Open reading frame)<sup>[3]</sup>, 将与它们结合的 Ago 蛋白定位到此 miRNA 的靶 mRNA 上; 定位到靶 mRNA 上的 miRNP 抑制该 mRNA 翻译或者降低其稳定性, 进而起到沉默相应基因表达的作用。

基于 miRNA 靶向调节 mRNA 的作用机制, miRNA 的 5'末端区域对其功能是尤为重要的决定因素<sup>[4]</sup>, 5'末端序列相似的一组 miRNA 常常具有许多相同的靶 mRNA。因此, 根据成熟 miRNA 的 5'末端序列相似程度, 可以将它们进行功能上的分类。miRNA-15b 所在 miRNA 家族成员的相似之处表现为从 5'末端第 2 个核苷酸开始的一段 AGCAGC 序列<sup>[5]</sup>, 人类共享这一序列特点的 miRNA 主要有 hsa-miR-15a、hsa-miR-15b、hsa-miR-16、hsa-miR-195、hsa-miR-497、hsa-miR-503、hsa-miR-424、hsa-miR-646; 由于 hsa-miR-103、hsa-miR-107 第 1 个核苷酸开始也有一段 AGCAGC 序列, 并且其功能与 miR-15 超家族有相重叠的地方, 进而有时将两者并称为 miR-15/107 组群进行研究。Finnerty 等<sup>[6]</sup>于 2010 年发表了关于 miR-105/107 组群的综述, 详细阐明了它们在进化生物学和细胞功能上的共同特点以及在人类疾病中的角色。从进化生物学的角度来看, 尽管 miR-15/107 组群在物种之间的表达谱随物种“亲缘关系”的远近有着程度不等的差异, 同时各个成员之间在染色体上的位置也不尽相同, 但这些 miRNA 在序列和功能方面相对保守, 现有的证据尚不能分析出到底是

同一个祖先基因分化出了 miR-15 超家族与 miR-107 超家族, 还是两者正在汇聚成一个基因超家族; 从发育生物学的角度来看, miR-15/107 组群在人类的各种组织(心、骨骼肌、脑、肺、肝、肾、脾、胎盘)广泛表达<sup>[7,8]</sup>, 未见明显的组织特异性(空间特异性), 但在红细胞生成<sup>[9~11]</sup>过程和脑发育<sup>[12,13]</sup>过程中, 对此 miRNA 组群表达谱的筛查却发现发育阶段特异性(时间特异性); miR-15/107 组群对靶 mRNA 的识别和处理遵循 miRNA 作用的普遍原理, 值得注意的是, 其部分成员的靶位涵盖了 Dicer<sup>[14]</sup>和 Ago<sup>[15]</sup>, 从而构成了对整个 miRNA 生成和作用系统的负反馈抑制。miR-15/107 组群通过对其靶 mRNA 的干扰, 影响细胞的分裂、能量代谢、血管生成等功能, 进而参与到肿瘤、退行性变等多种人类疾病中。

## 1 miR-15b 对细胞行为学的影响及其机制

miR-15b 最先由 Lagos-Quintana 等<sup>[16]</sup>在小鼠组织中检测出来, 随后经 Michael 等<sup>[17]</sup>证实也存在于人类组织。hsa-miR-15b 基因位于染色体 3q25.33, 与 hsa-miR-16-2 基因同簇<sup>[18]</sup>。miR-15b 对细胞行为的影响建立在它所调控的靶蛋白及其信号通路的功能基础之上, 通过以多种信号蛋白的 mRNA 为靶位在转录后水平抑制其调控基因的表达, 再经过这些蛋白所在信号通路传递这种变化的信息, 从而对细胞的增殖、凋亡、侵袭、成管等行为产生广泛的影响。

### 1.1 miR-15b 以 cyclin E 和 cyclin D1 mRNA 为靶位参与调控细胞增殖活动

细胞分裂要求细胞从静息状态越过限制点 R 进入细胞分裂周期<sup>[19]</sup>, 此过程需要整合、启动并推进多种信号转导通路, cyclin E(包括 cyclin E1 和 cyclin E2)在 G<sub>1</sub> 期结合到 Cdk2(cyclin dependent kinase 2)形成复合物, 它不仅推动细胞进入 S 期, 同时在启动 DNA 复制、维持基因组稳定性、控制中心体周期等方面也扮演着重要角色。cyclin E 表达于细胞周期的 G<sub>1</sub> 晚期至 S 期末, 在转录水平上主要受 E2F 转录因子家族的调节, 其蛋白则通过蛋白酶途径降解。

对胶质瘤的研究发现, miR-15b 可以通过以 cyclin 为靶位调节细胞周期进程<sup>[20]</sup>; Bueno 等<sup>[21]</sup>的研究工作进一步表明, E2F 通过与相应启动子的结合在转录水平上激活 miR-15a、miR-15b 和 miR-16 的表达,

而 miR-15 和 miR-16 又以 cyclin E 的 mRNA 为靶位在转录后水平上降低 cyclin E 表达, 由于 E2F 同时也是促进 cyclin E 表达的转录调节因子, 故在 miR-15b 及其家族成员参与下形成了一个对 E2F 至 cyclin E 的前馈调节环, 这些 miRNA 通过此机制起到抑制细胞增殖活动的作用。近期, Sun 等<sup>[22]</sup>研究发现, miR-15b 还能通过以 cyclin D1 为靶位调节胶质瘤细胞的增殖和凋亡活动, 而 cyclin D1 可与 Cdk4/6 结合, 同 cyclin E 一样, 发挥对细胞周期的正向调节作用。

### 1.2 miR-15b 以 Bcl-2 mRNA 为靶位参与调控细胞凋亡过程

细胞凋亡是一个主动过程<sup>[23]</sup>, 主要涉及蛋白水解酶 caspase 家族的激活, 由线粒体释放的细胞色素 c 等膜间隙蛋白发挥触发并强化 caspase 激活通路的作用, 因而线粒体膜通透性的变化在细胞凋亡中占有举足轻重的地位。Bcl-2 家族包括 20 多个成员, 对线粒体膜通透性起着直接或间接的调节作用, 此家族成员根据其功能划分为促进凋亡和抑制凋亡两大类, 具有 BH4 结构域的 Bcl-2 属于抑制凋亡类成员。

Guo 等<sup>[24]</sup>对大鼠肝星状细胞的研究、Chung 等<sup>[25]</sup>对肝细胞癌的研究、An 等<sup>[26]</sup>对急性肝衰竭肝细胞的研究以及 Xia 等<sup>[27]</sup>和 Sun 等<sup>[28]</sup>对胃癌细胞的研究均发现, 在细胞中 miR-15b 表达水平与 Bcl-2 表达水平呈现相反的关系, 即过表达 miR-15b 时 Bcl-2 水平降低, 降低 miR-15b 水平则 Bcl-2 表达升高。通过荧光素酶报告基因检测证实了 miR-15b 以 Bcl-2 mRNA 的 3'-UTR 为靶位在转录后水平上抑制 Bcl-2 的表达, 同时发现细胞凋亡随 miR-15b 表达水平升高而增强, 表明 miR-15b 通过下调 Bcl-2 而促进细胞凋亡。

### 1.3 miR-15b 以内皮生长因子受体 NRP-2 和 VEGFR-2 mRNA 为靶位参与调控细胞侵袭和成管能力

细胞的粘附、迁移、侵袭及成管行为, 尽管涉及的信号通路繁复, 但是有一个共同的节点——血管内皮生长因子 VEGF 及其受体家族<sup>[29-31]</sup>。目前, VEGF 家族由 5 个结构相关的因子所构成——VEGFA、VEGFB、VEGFC、VEGFD 和 PlGF(Placenta growth factor)<sup>[29]</sup>。VEGF 及其受体家族在细胞行为上具有复杂而精细的调控功能, 除了与 VEGF 配体的多样性有关外, 还与 VEGF 受体在种类上的多样性以及在

功能上的多变性密切相关。经典的 VEGF 受体主要包括 VEGFR-1、VEGFR-2 和 VEGFR-3<sup>[29,30]</sup>。VEGFR-2 是调控血管生成的主要成员, 在内皮细胞的存活、增殖、迁移中均发挥着不可取代的促进作用; 另外, VEGFR-1 与 VEGFR-2 相比, 对 VEGF 的亲和力更高的同时对下游的激酶活性却更低, 此特性赋予它通过竞争结合 VEGF 而对 VEGFR-2 功能的负向调节能力, VEGFR-1 除了锚定在细胞膜上的全长形式, 还有经过不同的剪接形成的可溶形式, 即 sVEGFR-1 (sFlt1), 已被证实是血管生成的负向调节因子, sFlt1 在胎盘中的表达被认为参与了子痫前期的病理发生; VEGFR-3 则是淋巴内皮功能的重要调节成员。另一类 VEGF 受体涵盖了壁板蛋白受体家族(Semaphorin receptor family)成员 NRP-1(Neuropilin-1)和 NRP-2(Neuropilin-2)<sup>[29,31]</sup>; NRP 作为壁板蛋白受体与神经轴突生长导向功能相关, 作为 VEGF 受体则能够与 VEGF 和 VEGFR 共同构成三重复合体或者独立于 VEGFR 直接与 VEGF 作用, 进而促进内皮细胞、肿瘤细胞等的迁移和侵袭活动。

Zheng 等<sup>[32]</sup>通过对胶质瘤的研究, 发现转染 miR-15b 模拟物后胶质瘤细胞的侵袭能力减弱, 而转染 miR-15b 抑制物的细胞则出现相反的改变, 同时 NRP-2 表达水平则随 miR-15b 的升高而降低, 通过荧光素酶报告基因检测证实 miR-15b 以 NRP-2 的 mRNA 为靶位, 由此认为 miR-15b 能够通过转录后水平上降低 NRP-2 的表达来减弱胶质瘤细胞的侵袭能力。Chan 等<sup>[33]</sup>对人参皂苷促进血管生成机制的研究中运用类似的研究方法, 证明 miR-15b 通过以 VEGFR-2 的 mRNA 为靶位降低 VEGFR-2 的表达水平进而减弱血管内皮细胞的成管能力。

当然, miR-15b 对细胞增殖、凋亡、侵袭、成管等行为学的影响并不局限于以上路径。例如: Liu 等<sup>[34]</sup>在有关心肌梗塞的研究中发现, 向 HUVEC(人脐带静脉内皮细胞系)转染 miR-15b 模拟物能够显著抑制低氧诱导的 VEGF 和 Ang2 的表达, 因而认为 VEGF 和 Ang2 是 miR-15b 抑制该细胞成管活动的潜在靶位; Wu 等<sup>[35]</sup>对 HBV 与肝细胞癌的研究中发现, 由 HBV 引起的 miR-15b 下调通过岩藻糖转移酶-2(Fucosyltransferase-2)诱导 Globo H 表达的途径增强了肝细胞癌的增殖能力, 而岩藻糖转移酶-2 被证明是 miR-15b 的靶位; Marasa 等<sup>[36]</sup>对 MKK4(Mitogen-

activated protein kinase kinase 4) 增加与细胞的复制性衰老的研究中发现, MKK4 是包括 miR-15b 在内的 4 种 miRNA 的联合靶位, 同时 MKK4 增加可抑制细胞增殖并促使细胞出现衰老表型; 对 Pim-1 激酶(Provirus integration site for Moloney murine leukemia virus 1 kinase)与结肠癌的研究中发现, Pim-1 为 miR-15b 的靶位, 而 Pim-1 扮演着原癌基因的角色<sup>[37]</sup>; 对心肌细胞代谢的研究发现, miR-15b 能够以 Arl2 为靶位致使线粒体退化并对细胞的 ATP 水平造成影响<sup>[38]</sup>。可见, miR-15b 靶位多样, 调节层次复杂, 这种纵横交错的调节也是 miRNA 的共性。

## 2 miR-15b 在血管相关性疾病中的研究现状

### 2.1 miR-15b 与心血管类疾病发病机制的相关性研究

在心血管系统疾病中, 发现由四肢动脉粥样硬化引起的外周血管疾病患者外周血 miR-15b 的含量有显著变化<sup>[39]</sup>; 在心肌梗塞后的病理过程中, miR-15b 则扮演抗血管生成的角色<sup>[34]</sup>, miR-15b 通过对 TGFβ 通路的抑制进而参与调解心肌肥大及间质纤维化的过程<sup>[40]</sup>。研究发现, 患慢性阻塞性肺病(Chronic obstructive pulmonary diseases, COPD)的吸烟者较未患 COPD 的吸烟者, 其肺组织 miR-15b 升高, 并且表达水平与 COPD 金标准分级相关<sup>[41]</sup>; 在辐射诱发的肺疾病支气管上皮细胞中, miR-15b 参与调节 p53 磷酸化及 DNA 创伤反应的促进因子<sup>[42]</sup>。miR-15b 也被证实参与代谢性疾病的发病过程, 在晚期肾病患者血浆中检测到 miR-15b 含量降低, 而这一表达水平的变化可能通过影响磷代谢相关基因而参与肾病的发展进程<sup>[43]</sup>; 同时, 在有关肥胖及糖尿病的研究中也发现了血清 miR-15b 含量的变化<sup>[44]</sup>, 并且糖尿病患者伤口愈合能力受损被认为与异常升高的 miR-15b 对促血管生成因子的抑制作用有关<sup>[45]</sup>。

### 2.2 miR-15b 及其家族成员与子痫前期的关系

Zhou 等<sup>[46]</sup>将人类胎盘的发育过程形容成肿瘤发生和血管生成两大元素的结合。妊娠过程中, 部分滋养层绒毛的滋养层细胞形成聚集体将孕体贴附到子宫壁上; 随后滋养层细胞从这些聚集体长出并侵入蜕膜间质、子宫肌层的内 1/3 段、子宫螺旋小动脉; 起初这些小动脉的管腔被滋养层细胞聚集体所堵塞, 随着侵袭的进行, 滋养层细胞替换掉部分

母体血管内皮, 同时侵入血管肌组织, 将母体的这些小血管重塑为大管径低阻力的嵌合体血管, 从而使胎盘小叶能够充分的浸泡在母体血液中<sup>[46,47]</sup>; 显然, 上述的胎盘发育过程是一个由活跃的滋养层细胞与内皮细胞的对话及细胞增殖、侵袭、成管等行为了所组成的有序活动。

在胎盘发育中, 有很多潜在的因素可能干扰参与此活动的细胞行为, 进而对胎盘的结构或功能造成影响, 最终导致妊娠不能顺利进行。子痫前期(Preeclampsia)即被认为是一种以胎盘着床表浅以及子宫螺旋动脉重塑障碍为主要病理机制的妊娠期疾病<sup>[48]</sup>。此病以孕 20 周以后的妇女新发高血压、蛋白尿为临床特点, 或伴有母体其他多系统异常以及胎儿生长受限、羊水减少、胎儿缺氧等表现<sup>[49]</sup>, 若得不到控制则可能发展成表现为抽搐状态的子痫<sup>[50,51]</sup>, 作为一种十分常见的妊娠期高血压疾病而成为世界范围内孕妇和胎儿致病致死的主要因素。

胎盘发育过程与肿瘤发生过程中细胞的行为学特点有许多相似之处。越来越多的文献证实, 在胎盘发育过程中 miRNA 可以通过外吐小体(Exosome)或与 RNA 结合蛋白 AGO 等结合释放到血液中。那么 miR-15/16 家族成员是否参与了胎盘的发育过程? 在生理条件下是否通过对滋养层细胞、血管内皮细胞的增殖、凋亡和其他功能的调节从而对胎盘发育相关细胞的生物学行为产生影响, 进而参与到妊娠期疾病如子痫前期的发病机制中? 其在胎盘或血浆中的表达变化是否对于重度子痫前期的发生具有预测意义? 近年来国内外相关学者对此进行了深入的探讨。

Wang 等<sup>[52]</sup>研究发现, miR-16 在重度子痫前期患者蜕膜来源的间充质干细胞中表达水平明显升高, 升高的 miR-16 不仅通过以 cyclin E1 为靶位抑制该细胞本身的增殖活动, 还通过以 VEGF-A 为靶位抑制该细胞对人滋养层细胞以及人脐静脉血管内皮细胞迁移和成管能力的调节作用。相比之下, Bai 等<sup>[53]</sup>的研究结果则揭示出 miR-15b 所在家族成员对细胞行为的逆向影响, 发现 miR-195 能够通过以 ActR II A 为靶位反过来增强人滋养层细胞的侵袭能力, 检测到在子痫前期胎盘组织中 miR-195 表达水平降低而 ActR II A 表达水平升高, 认为升高的 ActR II A 与其在该疾病中同样升高的配体 Nodal<sup>[54]</sup>共同作用减



弱了滋养层细胞的侵袭能力。此外, Mouillet 等<sup>[55]</sup>的研究显示, 低氧刺激下 miR-424 在滋养层细胞中的表达水平降低, 这种变化独特, 既异于 miR-424 在非滋养层细胞中的变化, 又异于此 miRNA 家族其他成员在滋养层细胞中的表现, 同时证实在滋养层细胞中 miR-424 能以 FGFR1 为靶位, 因而认为 miR-424 在滋养层细胞的分化中扮演了某种独特的角色。

2011 年, Mayor-Lynn 等<sup>[56]</sup>对子痫前期和早产患者胎盘组织 miRNA 以及 mRNA 表达谱进行研究, 定量 PCR 检测发现子痫前期胎盘组织中 miR-15b 表达水平降低。然而, 该研究只统计了 5 例正常对照及 6 例子痫前期的胎盘样本, 且未计算 *P* 值, 因此对 miR-15b 在子痫前期胎盘中的表达仍需要进一步的研究。总之, miR-15b 在滋养层细胞与内皮细胞等胎盘发育相关细胞的行为学有怎样的影响, 在子痫前期的分子病理机制中又扮演着怎样的角色, 这些都是亟待回答的问题。

综上所述, miR-15b 作为 miR-15 家族的一员, 通过以不同的 mRNA 为靶位在转录后水平调控相应基因的表达, 从而在不同节点上对多种信号通路发挥干预作用, 广泛影响细胞的增殖、凋亡、侵袭、成管等行为, 最终参与到多种疾病的发生发展过程中。纵观 miR-15b 及其家族成员的异常表达与各类疾病的联系, 涉及 miR-15b 与心血管发育的相关研究已十分丰富, 同时有关 miR-15 家族其他成员与胎盘源性疾病的报道也在不断涌现, 我们认为未来的主要发展方向在于: (1) 目前的研究都是通过单个 miRNA 的功能失活或过表达的模式研究, 而动物实验显示同一家族的不同成员之间, 包括 miR-15 家族内都存在相似的调控通路的特点, 如何在同一家族内鉴定出不同成员之间的调控关系及在细胞和组织水平对胎盘发育的影响, 将是未来关注的焦点之一; (2) 目前 miR-15 家族在内皮细胞对 VEGF 下游信号通路的影响较为明确, 而探索是否对胎盘特异的 VEGFR1(sFLT)的表达和分泌功能有影响, 将有助于对该家族成员对胎盘发育的作用机制的理解; (3) 该家族成员是否可以做为胎盘相关性疾病子痫前期的发生的早期分子标记物? 对这些问题的深入探讨将对理解 miRNA 在胎盘发育的生理过程的关键作用提供帮助。

## 参考文献

- [1] Liu XH, Fortin K, Mourelatos Z. MicroRNAs: biogenesis and molecular functions. *Brain Pathol*, 2008, 18(1): 113–121. [\[DOI\]](#)
- [2] Brennecke J, Stark A, Russell RB, Cohen SM. Principles of microRNA-target recognition. *PLoS Biol*, 2005, 3(3): e85. [\[DOI\]](#)
- [3] Wang WX, Wilfred BR, Xie K, Jennings MH, Hu YH, Stromberg AJ, Nelson PT. Individual microRNAs (miRNAs) display distinct mRNA targeting "rules". *RNA Biol*, 2010, 7(3): 373–380. [\[DOI\]](#)
- [4] Kiriakidou M, Nelson PT, Kouranov A, Fitziev P, Bouyioukos C, Mourelatos Z, Hatzigeorgiou A. A combined computational-experimental approach predicts human microRNA targets. *Genes Dev*, 2004, 18(10): 1165–1178. [\[DOI\]](#)
- [5] Griffiths-Jones S. The microRNA registry. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32(Database issue): D109–D111. [\[DOI\]](#)
- [6] Finnerty JR, Wang WX, Hébert SS, Wilfred BR, Mao G, Nelson PT. The miR-15/107 group of microRNA genes: evolutionary biology, cellular functions, and roles in human diseases. *J Mol Biol*, 2010, 402(3): 491–509. [\[DOI\]](#)
- [7] Baskerville S, Bartel DP. Microarray profiling of microRNAs reveals frequent coexpression with neighboring miRNAs and host genes. *RNA*, 2005, 11(3): 241–247. [\[DOI\]](#)
- [8] Shingara J, Keiger K, Shelton J, Laosinchai-Wolf W, Powers P, Conrad R, Brown D, Labourier E. An optimized isolation and labeling platform for accurate microRNA expression profiling. *RNA*, 2005, 11(9): 1461–1470. [\[DOI\]](#)
- [9] Bruchova H, Yoon D, Agarwal AM, Mendell J, Prchal JT. Regulated expression of microRNAs in normal and polycythemia vera erythropoiesis. *Exp Hematol*, 2007, 35(11): 1657–1667. [\[DOI\]](#)
- [10] Choong ML, Yang HH, McNiece I. MicroRNA expression profiling during human cord blood-derived CD34 cell erythropoiesis. *Exp Hematol*, 2007, 35(4): 551–564. [\[DOI\]](#)
- [11] Yang GH, Wang F, Yu J, Wang XS, Yuan JY, Zhang JW. MicroRNAs are involved in erythroid differentiation control. *J Cell Biochem*, 2009, 107(3): 548–556. [\[DOI\]](#)
- [12] Nelson PT, Baldwin DA, Kloosterman WP, Kauppinen S, Plasterk RH, Mourelatos Z. RAKE and LNA-ISH reveal microRNA expression and localization in archival human brain. *RNA*, 2006, 12(2): 187–191. [\[DOI\]](#)
- [13] Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Townsend M, Yoshii A, Sestan N, Rakic P, Constantine-Paton M, Horvitz HR. Microarray analysis of microRNA expression in the devel-

- oping mammalian brain. *Genome Biol*, 2004, 5(9): R68. [\[DOI\]](#)
- [14] Martello G, Rosato A, Ferrari F, Manfrin A, Cordenonsi M, Dupont S, Enzo E, Guzzardo V, Rondina M, Spruce T, Parenti AR, Daidone MG, Biciato S, Piccolo S. A microRNA targeting dicer for metastasis control. *Cell*, 2010, 141(7): 1195–1207. [\[DOI\]](#)
- [15] Wang WX, Wilfred BR, Hu Y, Stromberg AJ, Nelson PT. Anti-Argonaute RIP-Chip shows that miRNA transfections alter global patterns of mRNA recruitment to microribonucleoprotein complexes. *RNA*, 2010, 16(2): 394–404. [\[DOI\]](#)
- [16] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, Meyer J, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of tissue-specific microRNAs from mouse. *Curr Biol*, 2002, 12(9): 735–739. [\[DOI\]](#)
- [17] Michael MZ, O' Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res*, 2003, 1(12): 882–891. [\[DOI\]](#)
- [18] [http://www.mirbase.org/cgi-bin/mirna\\_entry.pl?acc=I0000438.20140330](http://www.mirbase.org/cgi-bin/mirna_entry.pl?acc=I0000438.20140330). [\[DOI\]](#)
- [19] Möröy T, Geisen C. Cyclin E. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004, 36(8): 1424–1439. [\[DOI\]](#)
- [20] Xia H, Qi Y, Ng SS, Chen X, Chen S, Fang M, Li D, Zhao Y, Ge R, Li G, Chen Y, He ML, Kung HF, Lai L, Lin MC. MicroRNA-15b regulates cell cycle progression by targeting cyclins in glioma cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 380(2): 205–210. [\[DOI\]](#)
- [21] Bueno MJ, Gómez de Cedrón M, Laresgoiti U, Fernández-Iquieras J, Zubiaga AM, Malumbres M. Multiple E2F-induced microRNAs prevent replicative stress in response to mitogenic signaling. *Mol Cell Biol*, 2010, 30(12): 2983–2995. [\[DOI\]](#)
- [22] Sun G, Shi L, Yan SS, Wan ZQ, Jiang N, Fu LS, Li M, Guo J. MiR-15b targets cyclin D1 to regulate proliferation and apoptosis in glioma cells. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 687826. [\[DOI\]](#)
- [23] Kuwana T, Newmeyer DD. Bcl-2-family proteins and the role of mitochondria in apoptosis. *Curr Opin Cell Biol*, 2003, 15(6): 691–699. [\[DOI\]](#)
- [24] Guo CJ, Pan Q, Li DG, Sun H, Liu BW. miR-15b and miR-16 are implicated in activation of the rat hepatic stellate cell: An essential role for apoptosis. *J Hepatol*, 2009, 50(4): 766–778. [\[DOI\]](#)
- [25] Chung GE, Yoon JH, Myung SJ, Lee JH, Lee SH, Lee SM, Kim SJ, Hwang SY, Lee HS, Kim CY. High expression of microRNA-15b predicts a low risk of tumor recurrence following curative resection of hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep*, 2010, 23(1): 113–119. [\[DOI\]](#)
- [26] An FM, Gong BD, Wang H, Yu DS, Zhao GD, Lin LY, Tang WL, Yu H, Bao SS, Xie Q. miR-15b and miR-16 regulate TNF mediated hepatocyte apoptosis via BCL2 in acute liver failure. *Apoptosis*, 2012, 17(7): 702–716. [\[DOI\]](#)
- [27] Xia L, Zhang D, Du R, Pan Y, Zhao L, Sun S, Hong L, Liu J, Fan D. miR-15b and miR-16 modulate multidrug resistance by targeting BCL2 in human gastric cancer cells. *Int J Cancer*, 2008, 123(2): 372–379. [\[DOI\]](#)
- [28] Sun H, Meng X, Han J, Zhang Z, Wang B, Bai X, Zhang X. Anti-cancer activity of DHA on gastric cancer-an *in vitro* and *in vivo* study. *Tumour Biol*, 2013, 34(6): 3791–3800. [\[DOI\]](#)
- [29] Koch S, Claesson-Welsh L. Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2012, 2(7): a006502. [\[DOI\]](#)
- [30] Shibuya M. Vascular endothelial growth factor and its receptor system: physiological functions in angiogenesis and pathological roles in various diseases. *J Biochem*, 2013, 153(1): 13–19. [\[DOI\]](#)
- [31] Perrot-Appianat M, Di Benedetto M. Autocrine functions of VEGF in breast tumor cells: adhesion, survival, migration and invasion. *Cell Adh Migr*, 2012, 6(6): 547–553. [\[DOI\]](#)
- [32] Zheng X, Chopp M, Lu Y, Buller B, Jiang F. MiR-15b and miR-152 reduce glioma cell invasion and angiogenesis via NRP-2 and MMP-3. *Cancer Lett*, 2013, 329(2): 146–154. [\[DOI\]](#)
- [33] Chan LS, Yue PY, Wong YY, Wong RN. MicroRNA-15b contributes to ginsenoside-Rg1-induced angiogenesis through increased expression of VEGFR-2. *Biochem Pharmacol*, 2013, 86(3): 392–400. [\[DOI\]](#)
- [34] Liu Z, Yang D, Xie P, Ren G, Sun G, Zeng X, Sun X. MiR-106b and miR-15b modulate apoptosis and angiogenesis in myocardial infarction. *Cell Physiol Biochem*, 2012, 29(5-6): 851–862. [\[DOI\]](#)
- [35] Wu CS, Yen CJ, Chou RH, Chen JN, Huang WC, Wu CY, Yu YL. Downregulation of microRNA-15b by hepatitis B virus X enhances hepatocellular carcinoma proliferation via fucosyltransferase 2-induced Globo H expression. *Int J Cancer*, 2014, 134(7): 1638–1647. [\[DOI\]](#)
- [36] Marasa BS, Srikantan S, Masuda K, Abdelmohsen K, Kuwano Y, Yang X, Martindale JL, Rinker-Schaeffer CW, Gorospe M. Increased MKK4 abundance with replicative senescence is linked to the joint reduction of multiple microRNAs. *Sci Signal*, 2009, 2(94): ra69. [\[DOI\]](#)
- [37] Weirauch U, Beckmann N, Thomas M, Grünweller A,

- Huber K, Bracher F, Hartmann RK, Aigner A. Functional role and therapeutic potential of the pim-1 kinase in colon carcinoma. *Neoplasia*, 2013, 15(7): 783–794. [\[DOI\]](#)
- [38] Nishi H, Ono K, Iwanaga Y, Horie T, Nagao K, Takemura G, Kinoshita M, Kuwabara Y, Mori RT, Hasegawa K, Kita T, Kimura T. MicroRNA-15b modulates cellular ATP levels and degenerates mitochondria via Arl2 in neonatal rat cardiac myocytes. *J Biol Chem*, 2010, 285(7): 4920–4930. [\[DOI\]](#)
- [39] Stather PW, Sylvius N, Wild JB, Choke E, Sayers RD, Bown MJ. Differential microRNA expression profiles in peripheral arterial disease. *Circ Cardiovasc Genet*, 2013, 6(5): 490–497. [\[DOI\]](#)
- [40] Tijssen AJ, van der Made I, van den Hoogenhof MM, Wijnen WJ, van Deel ED, de Groot NE, Alekseev S, Fluiter K, Schroen B, Goumans MJ, van der Velden J, Duncker DJ, Pinto YM, Creemers EE. The microRNA-15 family inhibits the TGF $\beta$ -pathway in the heart. *Cardiovasc Res*, 2014, 104(1): 61–71. [\[DOI\]](#)
- [41] Ezzie ME, Crawford M, Cho JH, Orellana R, Zhang S, Gelinas R, Batte K, Yu L, Nuovo G, Galas D, Diaz P, Wang K, Nana-Sinkam SP. Gene expression networks in COPD: microRNA and mRNA regulation. *Thorax*, 2012, 67(2): 122–131. [\[DOI\]](#)
- [42] Rahman M, Lovat F, Romano G, Calore F, Acunzo M, Bell EH, Nana-Sinkam P. miR-15b/16-2 regulates factors that promote p53 phosphorylation and augments the DNA damage response following radiation in the lung. *J Biol Chem*, 2014, 289(38): 26406–26416. [\[DOI\]](#)
- [43] Wang H, Peng W, Ouyang X, Dai Y. Reduced circulating miR-15b is correlated with phosphate metabolism in patients with end-stage renal disease on maintenance hemodialysis. *Ren Fail*, 2012, 34(6): 685–690. [\[DOI\]](#)
- [44] Pescador N, Pérez-Barba M, Ibarra JM, Corbatón A, Martínez-Larrad MT, Serrano-Ríos M. Serum circulating microRNA profiling for identification of potential type 2 diabetes and obesity biomarkers. *PLoS One*, 2013, 8(10): e77251. [\[DOI\]](#)
- [45] Xu J, Zgheib C, Hu J, Wu W, Zhang L, Liechty KW. The Role of MicroRNA-15b in the impaired angiogenesis in diabetic wounds. *Wound Repair Regen*, 2014, 22(5): 671–677. [\[DOI\]](#)
- [46] Zhou Y, McMaster M, Woo K, Janatpour M, Perry J, Karpanen T, Alitalo K, Damsky C, Fisher SJ. Vascular endothelial growth factor ligands and receptors that regulate human cytotrophoblast survival are dysregulated in severe preeclampsia and hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome. *Am J Pathol*, 2002, 160(4): 1405–1423. [\[DOI\]](#)
- [47] Cross JC, Hemberger M, Lu Y, Nozaki T, Whiteley K, Masutani M, Adamson SL. Trophoblast functions, angiogenesis and remodeling of the maternal vasculature in the placenta. *Mol Cell Endocrinol*, 2002, 187(1–2): 207–212. [\[DOI\]](#)
- [48] Noris M, Perico N, Remuzzi G. Mechanisms of disease: Pre-eclampsia. *Nat Clin Pract Nephrol*, 2005, 1(2): 98–114. [\[DOI\]](#)
- [49] Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet*, 2005, 365(9461): 785–799. [\[DOI\]](#)
- [50] Mahmoudi N, Graves SW, Solomon CG, Repke JT, Seely EW. Eclampsia: a 13-year experience at a United States tertiary care center. *J Womens Health Gend Based Med*, 1999, 8(4): 495–500. [\[DOI\]](#)
- [51] Gupte S, Wagh G. Preeclampsia-Eclampsia. *J Obstet Gynaecol India*, 2014, 64(1): 4–13. [\[DOI\]](#)
- [52] Wang Y, Fan H, Zhao G, Liu D, Du L, Wang Z, Hu Y, Hou Y. miR-16 inhibits the proliferation and angiogenesis-regulating potential of mesenchymal stem cells in severe pre-eclampsia. *FEBS J*, 2012, 279(24): 4510–4524. [\[DOI\]](#)
- [53] Bai Y, Yang WW, Yang HX, Liao QP, Ye G, Fu GD, Ji L, Xu P, Wang H, Li YX, Peng C, Wang YL. Downregulated miR-195 detected in preeclamptic placenta affects trophoblast cell invasion via modulating ActRIIA expression. *PLoS One*, 2012, 7(6): e38875. [\[DOI\]](#)
- [54] Nadeem L, Munir S, Fu G, Dunk C, Baczyk D, Caniggia I, Lye S, Peng C. Nodal signals through activin receptor-like kinase 7 to inhibit trophoblast migration and invasion: implication in the pathogenesis of preeclampsia. *Am J Pathol*, 2011, 178(3): 1177–1189. [\[DOI\]](#)
- [55] Mouillet JF, Donker RB, Mishima T, Cronqvist T, Chu T, Sadovsky Y. The unique expression and function of miR-424 in human placental trophoblasts. *Biol Reprod*, 2013, 89(2): 25. [\[DOI\]](#)
- [56] Mayor-Lynn K, Toloubeydokhti T, Cruz AC, Chegini N. Expression profile of microRNAs and mRNAs in human placentas from pregnancies complicated by preeclampsia and preterm labor. *Reprod Sci*, 2011, 18(1): 46–56. [\[DOI\]](#)