

miRNA 介导 PGR 信号通路在雌性生殖功能调节中的作用机制

陈龙¹, 张宝云¹, 冯光德², 向伟¹, 马云霞¹, 陈航¹, 储明星³, 王凭青¹

1. 重庆大学生物工程学院, 重庆 400030;

2. 四川铁骑力士牧业科技有限公司, 绵阳 621000;

3. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 农业部畜禽遗传资源与种质创新重点实验室, 北京 100193

摘要: MicroRNA(miRNA)作为重要的后转录调节因子参与多种生理活动。孕酮(Progesterone, P4)是重要的甾类激素, 通过结合特异性受体——孕酮受体(Progesterone receptors, PGR)发挥生理作用。PGR 作为核受体超家族的一员参与调控生殖相关组织或非生殖相关组织的功能。P4/PGR 和 miRNA 可单独在雌性生殖中发挥调控作用。然而, 在雌性生殖过程中, miRNA 和 P4/PGR 的相互作用对调控排卵等雌性生殖活动起到非常重要的作用, 但作用机制还未阐明。本文综述了 miRNA 调节 P4 产生、PGR 基因表达以及 P4/PGR 调节 miRNA 表达的可能作用方式, 为更好地研究 miRNA 和 P4/PGR 在雌性生殖中的作用提供理论基础。

关键词: miRNA; P4; 孕酮受体; 雌性生殖

The mechanism of miRNA-mediated PGR signaling pathway in regulating female reproduction

Long Chen¹, Baoyun Zhang¹, Guangde Feng², Wei Xiang¹, Yunxia Ma¹, Hang Chen¹, Mingxing Chu³, Pingqing Wang¹

1. Bioengineering Institute of Chongqing University, Chongqing 400030, China;

2. Sichuan TQLS Animal Husbandry Science and Technology Co., LTD, Mianyang 621000, China;

3. Key Laboratory of Farm Animal Genetic Resources and Germplasm Innovation of Ministry of Agriculture, Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China

Abstract: MicroRNAs (miRNAs) are involved in several physiological processes as important post-transcriptional regulators. Progesterone (P4), an important steroid hormone, produces physiological effect through binding specific receptor progesterone receptors (PGR) which regulates functions of both reproductive and non-reproductive tissues as a member of the nuclear receptor superfamily. P4/PGR and miRNAs could regulate female reproduction

收稿日期: 2015-06-24; 修回日期: 2015-09-05

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(编号: 31372287), 国家发改委重大专项(编号: 2014-2573), 国家科技重大专项(编号: 2014ZX0800952B)和中国农业科学院科技创新工程(编号: ASTIP-IAS13)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31372287), the Major Projects of Development and Reform Commission (No. 2014-2573), the National Science and Technology Major Projects of China (No. 2014ZX0800952B), Chinese Academy of Agricultural Science and Technology Innovation Project (No. ASTIP-IAS13)]

作者简介: 陈龙, 硕士, 专业方向: 分子遗传学。E-mail: chenlong19910522@163.com

通讯作者: 王凭青, 博士, 硕士生导师, 研究方向: 分子生物学与基因工程。Tel: 023-65112753; E-mail: wang_pq@21cn.com

DOI: 10.16288/j.yczs.15-293

网络出版时间: 2015-12-4 13:29:13

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20151204.1329.002.html>

independently, however, it is still unclear how miRNAs and P4/PGR interaction regulates female reproductive activities such as ovulation in female reproduction. In this review, we summarize the possible ways in which miRNAs regulate P4 production and PGR gene expression as well as P4/PGR regulate miRNAs expression, which provide a theoretical basis for further studying the role of miRNAs and P4/PGR in female reproduction.

Keywords: miRNA; progesterone; progesterone receptor; female reproduction

孕酮(Progesterone, P4)作为类固醇激素,在雌性哺乳动物的生殖过程以及其他组织正常发育中是一种不可或缺的调节因子^[1]。P4 主要依赖于细胞中的孕酮受体(Progesterone receptor, PGR)发挥作用^[2],所以在生物体内 P4 的终效应并不仅仅取决于 P4 的分泌水平,也取决于 PGR 基因在同一发育时期的不同组织或同一组织的不同发育时期的特异性表达。细胞中的 PGR 常以两种不同的形式存在:一种是主要介导细胞基因组效应的孕激素核受体(Nuclear PGR, nPGR);另一种是介导非基因组效应的孕激素膜受体(Membrane PGR, mPGR)^[3]。除此之外还存在一些特殊的 P4 响应元件,如 PGR-C、孕酮 M 型受体(Mitochondrial progesterone receptor, PGR-M)^[4]、孕激素受体膜元件 1(Progesterone receptor membrane component 1, PGRMC1)和 PGRMC2^[5]。在人类基因组中,主要的 nPGR 有两种亚型(PGR-A、PGR-B),由一段位于 11 号染色体的序列编码,因为受不同启动子调控,其中 PGR-A 的分子量为 83 kDa, PGR-B 在 N 端比 PGR-A 多 165aa,分子量为 99 kDa^[3]。而核受体 PGR-C 作为表达量较少的一种亚型和 PGR-A/B 的不同之处在于其 DNA 结合域(DNA-binding domain, DBD)缺失一个锌指结构,此外 PGR-C 还存在一个负责其二聚化和定位的结构域^[3,6]。

P4 在雌性生殖活动中扮演着重要的角色,针对 P4 参与信号通路的研究也日益深入,科研人员不仅着眼于 P4/PGR 下游生殖相关基因的探究,同时开始探索调控 P4/PGR 的上游调节元件,其中基因组中占多数的非编码 RNA(Non-coding RNA)引起了研究者的关注。此外, P4 调控生殖行为主要依赖其下游基因表达量的改变,但在某些靶基因启动子区域并未发现传统意义上的 PGR 响应元件,推测 PGR 调节下游基因表达需要其他因子的介导,其中包括非编码 RNA。非编码 RNA 并不是以无功能的“噪音”基因存在的,而是通过多种方式实现对靶基因表达的调控^[7]。近年来研究表明,非编码 RNA 在哺乳动物

生殖发育过程中起到重要作用^[8,9]。其中 microRNA(miRNA)以及长链非编码 RNA(Long non-coding RNA, lncRNA)已成为研究热点。Lydon 等^[10]通过研究 PGR 基因敲除型(PGRKO)小鼠,发现雌性敲除小鼠出现不育现象。PGR 敲除和 miRNA 生成受阻都会引起雌性哺乳动物的不育现象^[10,11],而对于两者之间的相互作用与雌性生殖的关系还有待探索。为此,研究人员开始着眼于两者间相互作用对于雌性生殖调控的分子作用机制。随着研究的深入, Renthall 等^[8]和 Hu 等^[9]发现在 P4/PGR 参与的调节通路中, miRNA 扮演的角色已不容忽视,其中 miRNA 对于 P4 分泌的调节是基于对该通路中关键因子的调控来实现的,而 miRNA 对于 PGR 的调节主要是依赖于 PGR 初级转录本 3'端的一段非翻译区(Untranslated regions, UTR)^[12~14]。在哺乳动物体内,介导 P4 作用的受体主要有 PGR-A 和 PGR-B 两种亚型, PGR-A 和 PGR-B mRNA 序列存在较大差异,而 miRNA 对靶基因的调控要基于序列的互补配对,所以在研究 miRNA 与 PGR 的作用关系时,应考虑不同时期 miRNA 对于两种亚型的差异性调控。由于 PGR-A 和 PGR-B 所起到的生理功能也可能存在差异^[15],所以两者各自的表达量及比例对同一 miRNA 的调控也是特异的。UTR 与 miRNA 形成的相互作用网络成为连接 PGR 和 miRNA 的中枢,同时 P4/PGR 对 miRNA 表达的调控与 UTR 也密切相关。

1 miRNA 参与 P4 介导的生殖调控

P4 在雌性哺乳动物的生殖过程中起到重要作用。研究表明,在雌性哺乳动物的排卵过程中, P4 是一种必不可少的激素^[16~18], P4 的缺失会导致卵泡的破裂受到不同程度的抑制。Robker 等^[16]通过 PGRKO 小鼠研究 P4 在卵泡发育以及破裂中的作用时发现,对于卵泡的生长发育和颗粒细胞的黄体化, nPGR 基因的表达与否并不起决定性的作用,但是这对于

卵泡破裂以及释放卵母细胞是必须的。由于 PGR 两种亚型存在差异, 进一步研究发现, *PGR*AKO 和 *PGR*BKO 型小鼠虽然表型一样, 但 *PGR*BKO 型小鼠是可育的^[18,19], 所以 PGR-A 才是子宫内 P4 的主要介导者。PGR 的表达存在周期性的变化, 在月经周期的增殖期时, PGR-A 和 PGR-B 都有表达, 一旦进入分泌期和蜕膜化期, PGR-B 的表达会显著下调^[20]。Mulac-Jericevic 等^[15]也证明, 在妊娠早期和晚期, 两种 PGR 亚型的表达量出现差异, 并发现 PGR-A 可以通过反馈调节引起机体对 PGR-B 表达的抑制, 认为两者执行不同的生理功能。Sahlin 等^[17]发现 P4 通过 nPGR-B 的基因组效应保持平滑肌的静息状态, 以利于妊娠的维持。在哺乳动物中, 由于 P4 的分泌水平降低或者出现“P4 功能性撤退(Functional Progesterone Withdrawal)”^[21], 即子宫肌层降低对 P4 的响应水平, 便会伴随分娩的启动。Renthal 等^[8]发现分娩启动时, 子宫内 P4 的含量减少, 但 miR-200 家族成员的表达量出现上调, 同时转录因子锌指 E-盒结合同源蛋白 1(Zinc finger E-box binding homeobox proteins1, ZEB1)和 ZEB2 的含量上调, 其中 ZEB1 可抑制接合素 43(Connexin 43, *CXN-43*)和催产素受体(Oxytocin receptor, OXTR)的表达, 进一步研究发现 P4 确实可调控细胞内 miR-200 的表达, 因此 miR-200 家族成员可介导 P4 调控的子宫静默。另外, P4 还可以促进乳腺导管二叉分支端、泌乳小叶腺泡的增加, 从而促进乳腺的发育^[18]。综上所述, P4 以及 nPGR 除了控制卵泡的破裂之外, 对于妊娠的维持、分娩的启动以及乳腺组织的发育都具有调节作用。近期有研究证明, 在孕酮调控的雌性生殖活动中有部分 miRNA 的参与^[9,22,23]。Hu 等^[9]发现在小鼠子宫中囊泡着床位点处, miR-21 的含量显著上调, 而 P4 对于囊泡着床起着重要的调节作用; 进一步研究证实, 在小鼠体内, P4 可下调 miR-21 的含量, 同时发现 miR-21 作用于靶基因 *RECK*(Reversion-inducing-cysteine-rich protein with kazal motifs)以调控囊泡着床。Li 等^[22,23]发现高剂量的 P4 会下调子宫内膜感受性, 通过子宫内膜活检发现 miR-451、miR-424、miR-125b 和 miR-30b 在高剂量 P4 作用下出现下调的趋势, 其中 miR-451 的 4 个靶基因发生上调, 推测这 4 种 miRNA 及其靶基因介导 P4 对子宫内膜感

受性的调节。

经 P4 以及其他生物信号刺激后, nPGR 从非活化的伴侣蛋白复合物经蛋白构象改变, 脱离伴侣蛋白并与配体结合, 形成配体结合的 nPGR 二聚体转移至核内^[3], 特异性与靶基因启动子的 P4 响应元件(Progesterone responsive element, PRE)结合, 最后通过富集其他转录因子(Transcription factor, TF)形成蛋白复合体, 从而控制目的基因的转录^[24]。此外, 由于 PGR-A 和 PGR-B 的 N 端是一个富含脯氨酸的序列, 这种氨基酸序列可以结合到胞质中的甾体激素受体激活因子(Steroid receptor coactivator, Src)酪氨酸激酶复合物上并使之处于活化状态, 从而启动细胞质中的级联反应, 最后激活胞外信号调节激酶(Extracellular regulated protein kinases 1 and 2, ERK-1/2)^[25]。处于活化状态的 ERK 进入细胞核, 激活转录因子 JunD, 磷酸化的 JunD 可实现调控基因表达的目的^[26,27]。P4/PGR 在体内的作用途径如图 1 所示。

2 miRNA 调控 P4 的分泌及 PGR 的表达

2.1 miRNA 调控 P4 的分泌

在哺乳动物的生殖发育过程中, 各组织中 P4 的含量以及响应 P4 的水平并不是一成不变的。机体通过神经以及内分泌系统实现对 P4 分泌的精密调控。P4 的产生和分泌途径中涉及多种调节因子, 主要包括类固醇合成急性调节蛋白(Steroidogenic acute regulatory protein, StAR)^[28]、将胆固醇转化为孕烯醇酮的细胞色素 P450 侧链剪切酶(Cytochrome P450 side-chain cleavage, CYP11A1)^[29]以及将孕烯醇酮转化为 P4 的 3β 羟化类固醇脱氢酶(3β -hydroxysteroid dehydrogenase, 3β -HSD)^[30]等。同时 Oki 等^[31]在实验中发现 miRNA 通过调节 *StAR* 以及 3β -HSD 的表达进而调控醛固酮的生成。此外, Otsuka 等^[32]研究发现卵泡黄体化的发生受到多种 miRNA 的调控, 而 P4 对于排卵后卵泡内膜细胞和颗粒细胞的黄体化有促进作用; 在黄体形成后, 其分泌的 P4 能促进黄体的进一步发育, 说明 miRNA 的存在与 P4 的产生存在关联。Sirotkin 等^[33]为了确定哪些 miRNA 影响卵巢细胞释放类固醇激素, 在人原代颗粒细胞中转染 80 种 miRNA 模拟物, 检测包括 P4 在内的几种类固

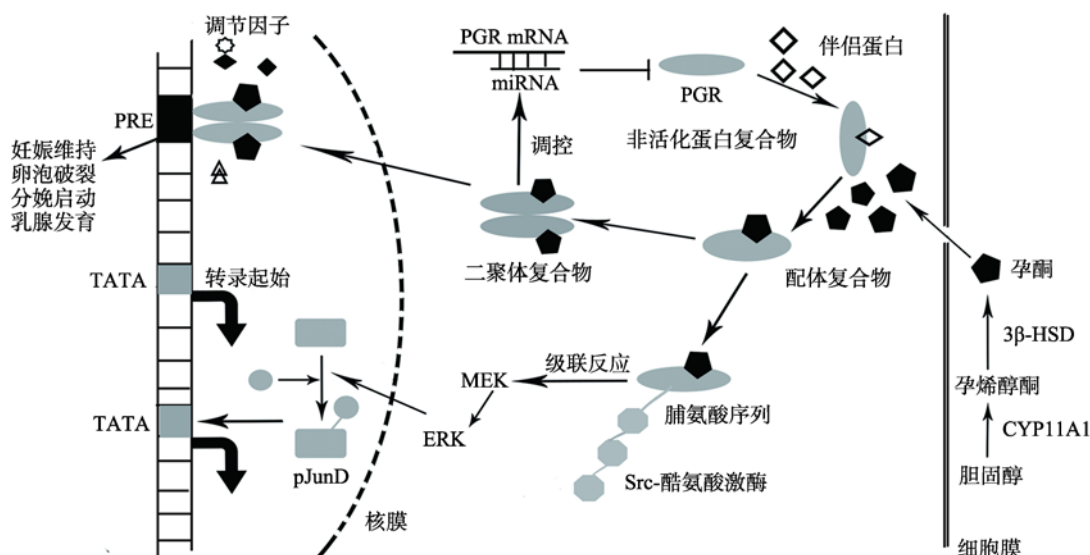


图 1 PGR 作用通路

Fig. 1 Action pathway of PGR

PRE: P4 响应元件; TATA: TATA 盒; MEK: 丝裂原活化蛋白激酶的激酶; ERK: 胞外信号调节激酶; pJunD: 转录因子; 3 β -HSD: 3 β 羟化类固醇脱氢酶; CYP11A1: 细胞色素 P450 侧链剪切酶。

醇激素的含量,发现这些 miRNA 均可不同程度改变 P4 含量,其中 36 种 miRNA 能够显著下调 P4 的表达,10 种 miRNA 可上调细胞内 P4 含量。

卵巢中 P4 的产生主要受促黄体生成激素 (Luteinizing hormone, LH) 和促卵泡激素 (Follicle stimulating hormone, FSH) 的影响。Menon 等^[34]在小鼠卵巢中发现 miR-122 可以调节 *LRBP* (LH receptor mRNA binding protein) 的表达,进而影响促黄体生成激素受体 (LH receptor, LHR) 的表达水平,而 LH 主要通过 LHR 结合发挥调控作用。此外,Kitahara 等^[35]研究发现人绒毛膜促性腺激素 (Human chorionic gonadotropin, hCG) 处理卵巢 6 h 后,miR-136-3p 的表达量上调,并且 miR-136-3p 可以结合到 *LHR* 的 3'-UTR 序列上抑制 LHR 的形成。LH 虽然是调控 P4 生成的主要因子,但有关 miRNA 调控 LH/*LHR* 以及 miRNA 介导 LH 调节 P4 生成的报道较少,相对而言,大量研究证明 miRNA 在 FSH 调控 P4 的生成过程中发挥重要作用。FSH 在卵泡发育期间调控颗粒细胞的生长主要依赖于调节其增殖、分化及促进卵泡腔的形成^[36],更为重要的是,FSH 可以调控与发情周期和生殖相关的雌激素以及 P4 的产生^[37-39]。FSH 调控甾体激素生成主要依赖于对颗粒细胞中胰岛素样生长因子结合蛋白 3 (Insulin-like growth factor binding protein 3, IGFBP3)、StAR 以及骨形成蛋

白 (Bone morphogenetic proteins, BMPs) 等基因的表达调控^[40-43]。Yao 等^[44]研究发现,用 FSH 处理颗粒细胞之后,检测到 17 种 miRNA 的表达水平发生上调,14 种 miRNA 的表达发生下调;并且在颗粒细胞中 miR-30d 和 miR-29a 与 P4 的产生保持负相关。研究发现 miRNA-29a 的靶基因有一些胶原蛋白,而早有研究证明胶原蛋白参与的信号通路对于 FSH 受体以及 P4 的产生都是非常重要的^[45],此外,PcG (Polycomb group) 蛋白复合体通过蛋白重组维持颗粒细胞分化^[46],miR-30d 的两个靶基因——环指蛋白 2 (Ring finger protein 2, RNF2) 和聚合组蛋白 (Embryonic ectoderm development, EED) 是 PcG 蛋白家族中的一员^[47],证明 miRNA 调节 P4 的产生还可通过调控 PcG 蛋白家族的表达水平来实现。miRNA 介导 FSH 调控 P4 的产生途径中涉及多种蛋白,此外还可能存在其他受 miRNA 调节的影响因子。调节 P4 产生的信号通路并不只有 LH 或 FSH 参与的两条途径,其他途径中相关因子的表达是否受 miRNA 的调控还有待进一步的探索。虽然发现大量 miRNA 可调控 P4 的表达以及释放,但是具体的调节机制还有待阐明。

2.2 miRNA 调控 PGR 的表达

P4 所产生的终效应并不单独取决于 P4 的含量,

与 *PGR* 的表达也存在密切关系,所以在研究 miRNA 对分娩启动等雌性生殖调控的进程中,miRNA 对于 *PGR* 的调控也备受关注。研究发现 miRNA 调控 *PGR* 具有特异性,而且这一调节作用也受到诸多因素的影响。

2.2.1 miRNA 对 *PGR* 的调控方式

大量研究表明,miRNA 可通过直接或间接的方式下调 *PGR* 表达并影响雌性生殖,Renthal 等^[8]和 Williams 等^[48]发现 miR-200 家族可通过调控 *PGR* 实现分娩期子宫基层的静默和收缩。Cui 等^[49]报道在小鼠乳腺的 4 个发育时期,当处在妊娠期以及哺乳期时,乳腺组织中 miR-126-3p 的表达量显著下调。在小鼠的乳腺上皮细胞中发现,miR-126-3p 可以直接作用于 *PGR* 的 3'-UTR 序列,并对乳腺的发育起到调节作用,该发现为妊娠期 *PGR* 表达量上调的现象提供了合理的解释。同时,Robker 等^[16]发现在颗粒细胞中 miR-378-3p 可在 mRNA 水平以及蛋白水平下调 *PGR* 的表达,使 *PGR* 下游靶基因中与卵泡成熟和破裂相关的 *ADAMTS1*(A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 1)、*CTSL1* (Cathepsin L1)和 *PPARG*(Peroxisome proliferator-activated receptor gamma)表达水平下降。miRNA 除了调控正常组织中 *PGR* 的表达之外,在一些病变组织或细胞中也会引起 *PGR* 的显著性变化。Younger 等^[50]发现在乳腺癌细胞系 T47D 中,miR-520g 和 miR-527-518a 可以下调 *PGR* 的表达。另外,Maillet 等^[51]在乳腺癌细胞系中发现雌激素可以抑制 miR-181 以及 miR-26a 的表达,经生物信息学软件 TargetScanHuman 6.2(<http://www.targetscan.org/>) 分析预测,*PGR* 3'-UTR 序列上含有这两种 miRNA 的结合位点,通过转染 miRNA-181 和 miRNA-26a 的模拟物最终导致 *PGR*-A 和 *PGR*-B 的蛋白水平出现下调趋势。为进一步证实 miRNA 的作用方式,Liu 等^[52]在猕猴肾细胞系 LLC-MK2 中分别转染 miR-96、miR-375 对应的反向互补序列,发现两者均可下调 *PGR* 蛋白水平,并通过荧光检测实验确定 miRNA 靶位点。虽然研究已证实 miRNA 通过直接结合 *PGR* 3'-UTR 上的靶位点,但 miRNA 结合的靶位点位于非保守的 3'-UTR 序列,且 *PGR* 存在多个亚型,所以同一种 miRNA 对于 *PGR* 不同亚型的调节水平也是不同的。Adriann 等^[12]研究发现 miR-888 作为 CT

抗原(Cancer testis antigen)家族中的一员在子宫内膜癌中表达量显著高于正常组织,在 ECC-1 和 Ishikawa 细胞系中转染 miR-888 会下调 *PGR*-A、*PGR*-B、*PGR*-C 和 *PGR*-D 这 4 种亚型的蛋白水平,但下调幅度有微小差异,分析 miR-888 与 4 种亚型 mRNA 序列比对的结果后,推测是由于 miR-888 与 4 种 mRNA 互补效率不同导致的。同时,Finlay 等^[14]在人乳腺癌细胞系 T47D、BT474 以及人乳腺导管癌细胞系 ZR751 中发现 miR-144 下调 *PGR*-A 和 *PGR*-B 的幅度不同,且发现在人胚肾细胞系 HEK293 中下调 *PGR*-A 至 0.59 倍,下调 *PGR*-B 至 0.34 倍,进一步证实同一 miRNA 对不同 *PGR* 亚型的调控能力是不同的。

miRNA 调节 *PGR* 的表达多数是通过结合到 3'-UTR 序列上面,而 3'-UTR 序列是 lncRNA 的一种,miRNA 与 lncRNA 互补结合后会引引起复合物被细胞核中的 Drosha 酶切割,然后转移到细胞质中被另一种 RNase 酶,即 Dicer 酶裂解产生新的 miRNA。除了以这种复合物形式生成 miRNA 之外,lncRNA 本身也具有生成 miRNA 的碱基序列,在特定蛋白酶的作用下,可单独产生特定 miRNA。Uva 等^[53]研究发现 B 细胞整合簇基因除了可以编码 lncRNA 之外,还能编码另一种 miRNA-155。换言之,当 *PGR* 3'-UTR 序列因为生成 miRNA 而被降解之后,*PGR* 初始转录本的稳定性可能会受到影响,然后导致 mRNA 中编码序列的降解,另外也有可能是由于转录本的不完整,阻碍翻译调控因子与 mRNA 的结合效率从而影响 mRNA 的翻译。lncRNA 以何种方式进行调控还未阐明,但 Liu 等^[52]通过双荧光检测试验发现 miR-219-5p 可结合到 lnc-*PGR*-3p 并引起荧光量的显著变化,且转染 miR-219-5p 与转染 lnc-*PGR*-3p siRNA 的结果一致,都引起 *PGR* 蛋白水平的显著下降。以上研究证明 miRNA 可通过 lncRNA 实现对 *PGR* 的调控。

在 miRNA 发现初期,认为 miRNA 只能通过结合 3'-UTR 抑制蛋白的表达,但是随着研究的逐渐深入,发现存在一些特殊的 miRNA 可结合到 5'-UTR。Younger 等^[50]发现 miR-423-5p 可以结合到 *PGR* 的 5'-UTR 序列上,且 miR-423-5p 会引起 *PGR* 表达发生下调,此外发现 5'-UTR 存在基因启动子序列,这对于 miRNA 而言,为产生正向调控效果带来了可能性,Younger 等^[50]通过进一步探索发现在 T47D 细

胞系中 miR-377 和 miR-520g-520c 可上调 *PGR* 的表达,但并未证实是通过结合 5'-UTR 实现的。miRNA 是否通过结合在 5'-UTR 序列进而促进 *PGR* 表达还需进一步证实。

2.2.2 影响 miRNA 调控 *PGR* 的因素

基因组中大部分基因是可转录的,其中部分转录产物包含目的基因的 mRNA 序列和基因的启动子序列^[54,55],而 miRNA 的主要作用方式通过结合转录本而发挥作用。miRNA 调节 *PGR* 的表达是通过 RNA-RNA 结合的作用方式,所以有很多因素影响 miRNA 与转录本的结合,从而影响这一调节作用。

首先,miRNA 的结合位置会影响结合效率。*PGR* 的 3'-UTR 序列长约 10 kb,对于一种 miRNA 而言,并不只存在一个结合位点,而且不同位点的结合效率也不一样^[16,52,56]。Cochrane 等^[56]发现在 *PGR* 的 3'-UTR 序列中含有 miR-513-3p 的 6 个结合位点以及 miR-513-5p 的 3 个结合位点,分别突变 miR-513-5p 的 3 个靶位点,对于 miR-513-5p 结合效率的影响也不同。*PGR* 3'-UTR 序列并不是极度的保守序列,不同物种中同一 miRNA 的靶位点序列也不完全相同。Liu 等^[52]通过双荧光检测实验发现 miR-375 只能特异性结合猕猴 *PGR* 的 3'-UTR 序列,而无法与人和鼠中的 *PGR* 3'-UTR 结合,造成这种现象的原因是由于 miR-375 在 3 种物种中 *PGR* 3'-UTR 上的结合位点序列存在差异所致。miRNA 除了结合于非编码区之外,同样也可以结合在编码区。Robker^[16]发现在 *PGR* 初级转录本上含有 miR-141 的 5 个预测靶位点,经荧光检测发现,只有外显子上的靶位点可结合 miR-141。以上研究显示,结合位点及序列的不同会导致 miRNA 作用的差异;其次,上游调节元件

对 miRNA 的结合也存在影响。miRNA 可调控 *PGR* 的表达,但依然存在可调节 miRNA 和 *PGR* 的因子,如雌激素及雌激素受体(ER α)。在乳腺癌细胞中,很多 miRNA 会因为 ER α 表达水平的不同出现表达上的差异^[57~60],而且在雌性生殖过程中,*PGR* 会随着雌激素水平的变化而发生改变,有可能在雌性生殖中,miRNA 可介导雌激素以及 ER α 对 *PGR* 的调控。此外,由于 miRNA 在不同组织中的表达具有特异性,推测由雌二醇引起的 *PGR* 表达水平的组织特异性是通过 miRNA 实现的。除此之外,还有一些 miRNA 可通过调节雌激素的分泌对 P4 受体进行调控,如在颗粒细胞中,miR-383 通过结合靶基因单链结合蛋白 1 的 3'-UTR 序列促进雌激素的分泌^[61]除此之外,单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphisms, SNPs)也是 miRNA 与靶基因结合的影响因素。已有实验证实 *PGR* 的基因上存在 SNPs 位点^[62],并且 SNPs 影响 miRNA 与靶位点的结合,这些 SNPs 位点与癌症的发生也存在一定的关系^[63, 64]。例如:在 *IQGAP1* 基因中当 miR-124 的靶位点的基因型为 *TT* 时,miRNA 的结合效率显著低于基因型为 *AA* 时的结合效率,通常 *TT* 基因型会使患乳腺癌的几率减小^[65]。*PGR* 在癌细胞中可以作为抑癌因子存在,所以 SNPs 极有可能影响 miRNA 与 *PGR* 靶位点的结合。影响 miRNA 调控 *PGR* 的因素远不止如此,两者间存在的调节网络还受到激素、蛋白因子及小 RNA 的影响,因此多种因素对于 miRNA 调控 *PGR* 表达造成的影响值得关注。综上所述,miRNA 可以调控 P4 的分泌以及 *PGR* 的表达,P4/*PGR* 也可以调节一些 miRNA 的表达,如表 1 所示。

表 1 部分 miRNA 与 P4 及 *PGR* 的相互调节作用

Table 1 Interaction of several miRNAs and P4/*PGR*

作用类型	miRNA
促进 P4 分泌的 miRNA ^[33]	miR-16、miR-24、miR-145、miR-182、miR-18、miR-125a、miR-147、miR-25、miR-122、miR-32、miR-103、miR-143、miR-150、miR-153、miR-152 和 miR-191
抑制 P4 分泌的 miRNA ^[33]	let-7b、let-7c、miR-15a、miR-98、miR-125b、miR-126、miR-137、miR-183、miR-184、miR-31、miR-101、miR-105、miR-107、miR-128、miR-141、miR-129、miR-132、miR-140、miR-142、miR-151、miR-17-3p、miR-96、miR-92、miR-108、miR-133b、miR-134、miR-135、miR-146、miR-181a、miR-1、miR-19a、miR-20、miR-27a、miR-28、miR-29a 和 miR-188
调节 <i>PGR</i> 表达的 miRNA	miR-423-5p ^[50] 、miR-181a ^[51] 、miR-26a ^[51] 、miR-126-3p ^[49] 、miR-378-3p ^[51] 和 miR-513-5p
受 P4 调节的 miRNA ^[63]	miR-23a-3p、miR-195a-5p、miR-26a-5p、miR-143-3p、miR-1a-3p、miR-204-5p、miR-133a-3p、miR-347-3b 和 miR-145a-5p

3 P4/PGR 调控 miRNA 表达

miRNA 可通过调控特定蛋白因子调节 P4 的分泌或直接作用于 PGR mRNA 序列从而影响 PGR 的表达^[28-30,34,49,52],但 miRNA 是由基因组转录产生的, PGR 作为一种转录调节因子同样可以调节某些 miRNA 的表达,且调控机制是多样的。Yuan 等^[66]在卵巢切除小鼠中提取子宫内膜上皮细胞并用 P4 刺激,发现 146 种 miRNA 表达量发生上调,而且研究证实在子宫内膜上皮细胞中 miR-145a 在 P4 抗恶性细胞增殖过程中起到关键作用。P4/PGR 对于维持子宫静默是必须的,主要通过 P4/PGR 复合体直接作用于炎症性转录因子 NF- κ B,并抑制 NF- κ B 对子宫收缩相关基因的调控活性,如环氧化酶-2 (Cyclooxygenase-2, COX-2)^[67],前列腺素 F2 α 受体 (Prostaglandin F2 α receptor)^[68]。Koriand'r 等^[13]发现当细胞内 P4/PGR 复合物含量增加后,会引起 ZEB1 表达上调,进而引起 miR-199a/214 的含量增加,而 COX-2 作为 miR-199a/214 的靶基因,表达受到抑制维持子宫肌层静默。同时,Xie 等^[69]研究发现,当用雌激素以及 P4 处理卵巢癌细胞时,这两种激素会引起两种 miRNA 即 let-7a 和 miR-34a 发生上调。Bcl-2 是一种可以抑制细胞凋亡的蛋白,在分析 Bcl-2 转录产物时发现其 3'-UTR 序列上存在 let-7 以及 miR-34a 的靶位点,雌激素以及 P4 处理导致两者靶基因 Bcl-2 的表达下调,最后促进细胞的凋亡以及抑制细胞的扩增,这一调节的发生极有可能是通过两种 miRNA 介导的。为了证实 P4/PGR 调控 miRNA 的具体机制, Nothnick 等^[70]发现在小鼠子宫内,P4 可显著性上调 Dicer1 以及输出蛋白-5(Exportin-5)这两种 miRNA 生成必需酶的表达,然而这一调节作用的发生主要归因于 P4/PGR 复合物。在子宫中,当 Dicer 1 和 Exportin-5 的表达量上调后,会检测到 miR-451 的表达量发生上调。miRNA 对于细胞的增殖分化起到重要作用,当雌性生殖系统中的主要器官发生病变时,包括 P4 在内的主要激素可影响细胞中的 miRNA 表达水平。Aghajanova 等^[71]在子宫内膜异位症的患者体内检测到 Dicer 1 的表达水平发生上调,而在一些恶性乳腺癌组织中^[58]以及卵巢癌组织中^[72],检测到 Dicer 1 的表达水平是显著降低的,而在这些病变的组织中,

多种 miRNA 的含量与正常组织相比差异性显著。由此得知,在响应 P4 激素的组织中,P4 可以通过调控 miRNA 产生路径中的两个关键蛋白因子,进而调控 miRNA 的表达。

文中提及 miRNA 对于 P4 或 PGR 的调控受到诸多因素的影响,所以 P4/PGR 对于 miRNA 的调节也存在特异性。Pan 等^[73]和 Toloubeydokhti 等^[74]通过实验证明,P4 类似物——醋酸甲羟孕酮(Medroxyprogesterone acetate, MPA)可以抑制子宫内膜基质细胞(Endometrial stromal cells, ESC)中 miR-20a、miR-21 和 miR-26a 的表达,但 MPA 刺激可以上调腺上皮细胞(Glandular epithelial cells, GEC)中 miR-20a 和 miR-26a 的表达。实验也证明 MPA 处理 GEC 和 ESC 两种细胞之后,分别会引起 miR-543-3p 表达的下调和上调。这说明 P4 调控 miRNA 的表达会受到细胞环境的影响,存在组织特异性。另外,在子宫平滑肌瘤组织中,经 MPA 刺激之后,平滑肌瘤平滑肌细胞(Leiomyoma smooth muscle cells, LSMC)中 miR-21 的表达会上调,同时,子宫肌层平滑肌细胞(Myometrial smooth muscle cells, MSMC)中 miR-26a 的表达会发生上调。这可能是因为平滑肌细胞中 PGR 表达量差异导致的,也有可能是因为 PGR-A 和 PGR-B 的比值所决定的。由此推测在响应 P4 的各个组织中,P4 调节 miRNA 的表达之所以会出现组织特异性,极有可能因为不同组织中 PGR-A 和 PGR-B 的表达量存在特异性而引起 Dicer 1 和 Exportin-5 的表达差异进而影响了各种 miRNA 的表达水平。

PGR 调节 miRNA 的表达除了通过 Dicer 酶以及 Exportin-5 以外,还有可能存在其他调节方式。由于 PGR 的 mRNA 中存在一段 lncRNA,而 lncRNA 可作为产生 miRNA 的前体,另外 lncRNA 有可能作为竞争性内源 RNA(Competing endogenous RNA, ceRNA)结合到 miRNA 靶基因的 3'-UTR 序列上,导致 miRNA 发挥作用受阻,随着细胞中的 miRNA 含量的增加,伴随反馈调节发生,会对 miRNA 的表达造成影响。Faghihi 等^[75]研究发现在 β -分泌酶-1 (β -site APP cleaving enzyme-1, β -secretase-1, BACE1)转录时,同时产生 β -分泌酶-1 反义转录物(BACE1-antisense transcript, BACE1-AS)。BACE1-AS 作为 lncRNA 和 BACE1 结合使原本可以结合到 mRNA 上的 miRNA 失去作用,从而引起 miRNA 的降解。此外,Wang 等^[76]

在研究心肌细胞时发现, lncRNA *CHRF* (Cardiac hypertrophy related factor) 是一种具有内源性海绵功能的 lncRNA, 通过吸附功能下调 miRNA-489 在细胞中的含量。除了这些 RNA-RNA 直接作用方式以外, 还存在间接的调控方式, Gabory 等^[77]发现 H19 这种 lncRNA 可以和特定的蛋白复合物结合, 促进染色体组蛋白进行乙酰化反应, 进而诱导 miR-200 这一家族的表达上调。虽然还没有研究证明 *PGR* 的 3'-UTR 序列具有这些功能, 但其 3'-UTR 序列具有 10 kb, 序列结构复杂, 所以不能排除存在这种调节方式的可能性。

miRNA 与 *P4/PGR* 的相互作用网络是十分繁杂的, 如图 2 所示, 随着研究深入发现存在某些 miRNA 不仅受 *PGR* 的调控, 同时也可以调控 *PGR* 的表达。Cochrane 等^[56]发现 miRNA-513-5p 是一个经 *P4* 处理后发生上调的 miRNA, 这种上调的发生是由 *PGR* 介导的, 但有趣的是, miR-513-5p 在 *PGR* 的 3'-UTR 上存在 3 个作用位点, 当 miR-513-5p 结合到 UTR 上时, 会引起 *PGR* 的表达量的下降。这一以 miR-513-5p 为中心的调节通路类似于一个反馈调节。此外, Finlay-Schultz 等^[14]发现在 T47D 细胞系中 *P4* 通过结合 *PGR* 可下调 miR-141 的表达, 而在 *PGR* 的初级转录产物上发现 4 个预测靶位点, 并且证实存在于内含子序列上的靶位点可以结合 miR-141, 进而下调 *PGR* 表达。以上研究解释了为什么在机体内能够实现对 *PGR* 在不同时空的精密调控。虽然前

期的实验已经证实多种 miRNA 与 *P4* 的产生和 *PGR* 的表达密切相关, 但具体的作用机制还需进一步的证实。

4 结 语

P4/PGR 在雌性生殖中通过影响组织发育以及生理活动的进行来调控主要生殖行为的发生。调控 *P4* 产生以及 *PGR* 表达的因素有很多, 本文综述了 miRNA 通过调节 *P4* 和 *PGR* 来影响雌性生殖的作用机制, 阐明部分 miRNA 对于雌性生殖调控的重要作用。更有趣的是, 存在一些 miRNA 既可以调控 *PGR* 的表达, 也可以接受 *P4* 以及 *PGR* 的调控^[56]。

P4/PGR 与诸多 miRNA 之间的相互调控有些是通过直接作用, 但绝大多数的调节会涉及其他调节因子, 其中包括激素, 蛋白调节因子及特殊 RNA。所以针对 miRNA 及 *P4/PGR* 在雌性生殖中作用的研究不能局限于 miRNA 和 *P4/PGR* 这两方面, 结合其他调控因子的深入研究有助于更好的理解 miRNA 和 *P4/PGR* 在雌性生殖中发挥作用的机制, 例如目前有关 LH/miRNA/*P4* 调节通路的研究还有待完善, miRNA 究竟是介导 LH 对 *P4* 的调控还是 miRNA 通过调控 LH 分泌以改变 *P4* 的生成还需进一步研究。此外, 由于 *P4/PGR* 对雄性生殖也存在调控^[78,79], 对雄性哺乳动物中 miRNA 的研究有利于完善对整个生殖系统的基础性认识。目前, miRNA 对于 *PGR*

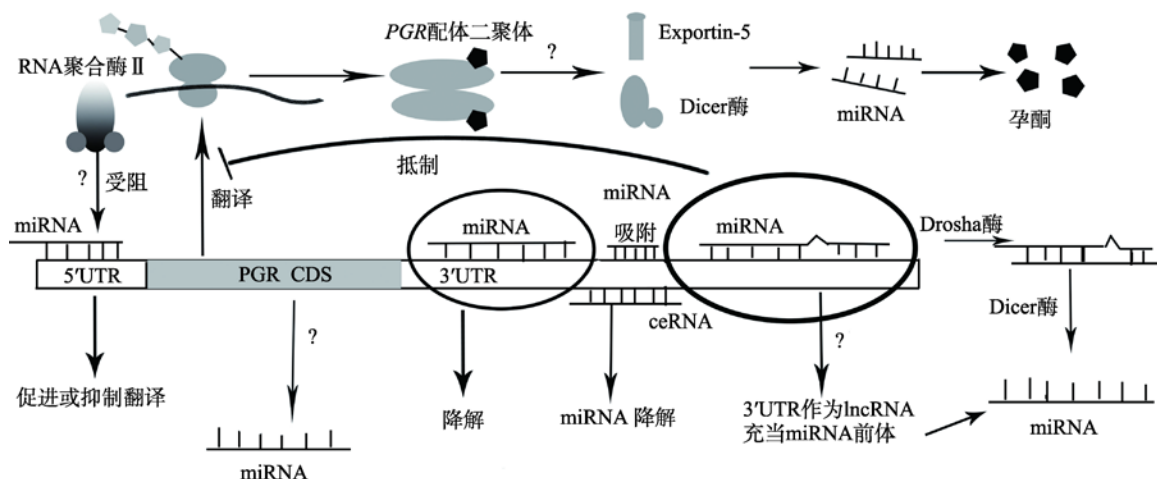


图 2 *P4* 和 *PGR* mRNA 与 miRNA 相互作用

Fig. 2 Interaction of miRNA and *P4* or *PGR* mRNA

CDS: 编码区; UTR: 非编码区; ceRNA: 竞争性 RNA; Exportin-5: 输出蛋白 5。

的调节是否属于直接调控目前主要采用双荧光素酶报告系统进行检测,而有关 miRNA 的检测技术主要是高通量测序以及生物信息学数据库的建立,在目前的基因治疗领域,已有 miRNA 药物和定向 miRNA 载体应用于临床研究中,对 P4/PGR 和 miRNA 相互作用的研究有助于为生殖系统疾病诊断和治疗提供新的靶点。

参考文献(References):

- [1] Zhang BY, Di R, Chu MX, Wang PQ, Lu L. Advances on progesterone receptor gene. *Hereditas(Beijing)*, 2008, 30(12): 1536–1544.
张宝云, 狄冉, 储明星, 王凭青, 鲁浪. 孕酮受体基因的研究进展. *遗传*, 2008, 30(12): 1536–1544. [DOI]
- [2] Kang YH, Zhang BY, Wang PQ, Chu MX, Lai P, Cai BJ, Song WJ. Progesterone receptor-mediated molecular mechanisms on mam-malian female reproduction. *Hereditas(Beijing)*, 2012, 34(10): 1223–1232.
康岳华, 张宝云, 王凭青, 储明星, 赖平, 蔡冰杰, 宋文静. 孕酮受体介导哺乳动物雌性生殖活动的分子机理. *遗传*, 2012, 34(10): 1223–1232. [DOI]
- [3] Rekawiecki R, Kowalik MK, Kotwica J. Nuclear progesterone receptor isoforms and their functions in the female reproductive tract. *Pol J Vet Sci*, 2011, 14(1): 149–158. [DOI]
- [4] Price TM, Dai QS. The role of a mitochondrial progesterone receptor (PR-M) in progesterone action. *Semin Reprod Med*, 2015, 33(3): 185–194. [DOI]
- [5] Pru JK, Clark NC. PGRMC1 and PGRMC2 in uterine physiology and disease. *Front Neurosci*, 2013, 7: 168. [DOI]
- [6] Taylor AH, McParland PC, Taylor DJ, Bell SC. The cytoplasmic 60 kDa progesterone receptor isoform predominates in the human amniochorion and placenta at term. *Reprod Biol Endocrinol*, 2009, 7: 22. [DOI]
- [7] Song XD, Cao GH, Jing LL, Lin SC, Wang XZ, Zhang JJ, Wang MR, Liu WL, Lv CJ. Analysing the relationship between lncRNA and protein-coding gene and the role of lncRNA as ceRNA in pulmonary fibrosis. *J Cell Mol Med*, 2014, 18(6): 991–1003. [DOI]
- [8] Renthall NE, Chen CC, Williams KC, Gerard RD, Prange-Kiel J, Mendelson CR. miR-200 family and targets, ZEB1 and ZEB2, modulate uterine quiescence and contractility during pregnancy and labor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(48): 20828–20833. [DOI]
- [9] Hu SJ, Ren G, Liu JL, Zhao ZA, Yu YS, Su RW, Ma XH, Ni H, Lei W, Yang ZM. MicroRNA expression and regulation in mouse uterus during embryo implantation. *J Biol Chem*, 2008, 283(34): 23473–23484. [DOI]
- [10] Lydon JP, DeMayo FJ, Funk CR, Mani SK, Hughes AR, Montgomery CA Jr, Shyamala G, Conneely OM, O'Malley BW. Mice lacking progesterone receptor exhibit pleiotropic reproductive abnormalities. *Genes Dev*, 1995, 9(18): 2266–2278. [DOI]
- [11] Gonzalez G, Behringer RR. Dicer is required for female reproductive tract development and fertility in the mouse. *Mol Reprod Dev*, 2009, 76(7): 678–688. [DOI]
- [12] Hovey AM, Devor EJ, Breheny PJ, Mott SL, Dai DH, Thiel KW, Leslie KK. miR-888: a novel cancer-testis antigen that targets the progesterone receptor in endometrial cancer. *Transl Oncol*, 2015, 8(2): 85–96. [DOI]
- [13] Williams KC, Renthall NE, Gerard RD, Mendelson CR. The microRNA (miR)-199a/214 cluster mediates opposing effects of progesterone and estrogen on uterine contractility during pregnancy and labor. *Mol Endocrinol*, 2012, 26(11): 1857–1867. [DOI]
- [14] Finlay-Schultz J, Cittelty DM, Hendricks P, Patel P, Kabos P, Jacobsen BM, Richer JK, Sartorius CA. Progesterone downregulation of miR-141 contributes to expansion of stem-like breast cancer cells through maintenance of progesterone receptor and Stat5a. *Oncogene*, 2014, 34(28): 3676–3687. [DOI]
- [15] Mulac-Jericevic B, Mullinax RA, DeMayo FJ, Lydon JP, Conneely OM. Subgroup of reproductive functions of progesterone mediated by progesterone receptor-B isoform. *Science*, 2000, 289(5485): 1751–1754. [DOI]
- [16] Robker RL, Akison LK, Russell DL. Control of oocyte release by progesterone receptor-regulated gene expression. *Nucl Recept Signal*, 2009, 7: e012. [DOI]
- [17] Sahlin L, Masironi B, Åkerberg S, Eriksson H. Tissue- and hormone-dependent progesterone receptor distribution in the rat uterus. *Reprod Biol Endocrinol*, 2006, 4: 47. [DOI]
- [18] Conneely OM, Mulac-Jericevic B, Lydon JP, de Mayo FJ. Reproductive functions of the progesterone receptor isoforms: lessons from knock-out mice. *Mol Cell Endocrinol*, 2001, 179(1–2): 97–103. [DOI]
- [19] Conneely OM, Mulac-Jericevic B, Lydon JP. Progesterone-dependent regulation of female reproductive activity by two distinct progesterone receptor isoforms. *Steroids*, 2003, 68(10–13): 771–778. [DOI]
- [20] Large MJ, DeMayo FJ. The regulation of embryo implantation and endometrial decidualization by progesterone receptor signaling. *Mol Cell Endocrinol*, 2012, 358(2): 155–165. [DOI]
- [21] Mesiano S. Myometrial progesterone responsiveness.

- Semin Reprod Med*, 2007, 25(1): 5–13. [DOI]
- [22] Li R, Qiao J, Wang LN, Li L, Zhen XM, Liu P, Zheng XY. MicroRNA array and microarray evaluation of endometrial receptivity in patients with high serum progesterone levels on the day of hCG administration. *Reprod Biol Endocrinol*, 2011, 9: 29. [DOI]
- [23] Li R, Qiao J, Wang L, Zhen X, Lu Y. Serum progesterone concentration on day of HCG administration and IVF outcome. *Reprod Biomed Online*, 2008, 16(5): 627–631. [DOI]
- [24] Gellersen B, Fernandes MS, Brosens JJ. Non-genomic progesterone actions in female reproduction. *Hum Reprod Update*, 2009, 15(1): 119–138. [DOI]
- [25] Leonhardt SA, Boonyaratanakornkit V, Edwards DP. Progesterone receptor transcription and non-transcription signaling mechanisms. *Steroids*, 2003, 68(10–13): 761–770. [DOI]
- [26] Yoon S, Seger R. The extracellular signal-regulated kinase: multiple substrates regulate diverse cellular functions. *Growth Factors*, 2006, 24(1): 21–44. [DOI]
- [27] Stocco C, Telleria C, Gibori G. The molecular control of corpus luteum formation, function, and regression. *Endocr Rev*, 2007, 28(1): 117–149. [DOI]
- [28] Papadopoulos V, Aghazadeh Y, Fan JJ, Campioli E, Zirkin B, Midzak A. Translocator protein-mediated pharmacology of cholesterol transport and steroidogenesis. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 408: 90–98. [DOI]
- [29] Papadopoulos V, Miller WL. Role of mitochondria in steroidogenesis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2012, 26(6): 771–790. [DOI]
- [30] Ahn SW, Nedumaran B, Xie YB, Kim DK, Kim YD, Choi HS. Bisphenol A bis (2, 3-dihydroxypropyl) ether (BADGE. 2H₂O) induces orphan nuclear receptor Nur77 gene expression and increases steroidogenesis in mouse testicular Leydig cells. *Mol Cells*, 2008, 26(1): 74–80. [DOI]
- [31] Oki KJ, Gomez-Sanchez EP, Gomez-Sanchez CE. Drosha-dependent miRNA regulate aldosterone synthesis by increasing StAR and HSD3B2 expression. *Faseb J*, 2012, 26, doi: 10.1096/fj.1530-6860. [DOI]
- [32] Otsuka M, Zheng M, Hayashi M, Lee JD, Yoshino O, Lin SC, Han JH. Impaired microRNA processing causes corpus luteum insufficiency and infertility in mice. *J Clin Invest*, 2008, 118(5): 1944–1954. [DOI]
- [33] Sirotkin AV, Ovcharenko D, Grossmann R, Lauková M, Mlynček M. Identification of microRNAs controlling human ovarian cell steroidogenesis via a genome-scale screen. *J Cell Physiol*, 2009, 219(2): 415–420. [DOI]
- [34] Menon B, Sinden J, Franzo-Romain M, Botta RB, Menon KMJ. Regulation of LH receptor mRNA binding protein by miR-122 in rat ovaries. *Endocrinology*, 2013, 154(12): 4826–4834. [DOI]
- [35] Kitahara Y, Nakamura K, Kogure K, Minegishi T. Role of *microRNA-136-3p* on the expression of luteinizing hormone-human chorionic gonadotropin receptor mRNA in rat ovaries. *Biol Reprod*, 2013, 89(5): 114. [DOI]
- [36] Amsterdam A, Selvaraj N. Control of differentiation, transformation, and apoptosis in granulosa cells by oncogenes, oncoviruses, and tumor suppressor genes. *Endocr Rev*, 1997, 18(4): 435–461. [DOI]
- [37] Amsterdam A, Rotmensch S, Ben-Ze'ev A. Coordinated regulation of morphological and biochemical differentiation in a steroidogenic cell: the granulosa cell model. *Trends Biochem Sci*, 1989, 14(9): 377–382. [DOI]
- [38] Amsterdam A, Gold RS, Hosokawa K, Yoshida Y, Sasson R, Jung Y, Kotsuji F. Crosstalk among multiple signaling pathways controlling ovarian cell death. *Trends Endocrinol Metab*, 1999, 10(7): 255–262. [DOI]
- [39] Robker RL, Russell DL, Yoshioka S, Sharma SC, Lydon JP, O'Malley BW, Espey LL, Richards JS. Ovulation: a multi-gene, multi-step process. *Steroids*, 2000, 65(10–11): 559–570. [DOI]
- [40] Grieshaber NA, Ko C, Grieshaber SS, Ji I, Ji TH. Follicle-stimulating hormone-responsive cytoskeletal genes in rat granulosa cells: class I β -tubulin, tropomyosin-4, and kinesin heavy chain. *Endocrinology*, 2003, 144(1): 29–39. [DOI]
- [41] Sasson R, Dantes A, Tajima K, Amsterdam A. Novel genes modulated by FSH in normal and immortalized FSH-responsive cells: new insights into the mechanism of FSH action. *Faseb J*, 2003, 17(10): 1256–1266. [DOI]
- [42] Tanaka M, Hennebold JD, Miyakoshi K, Teranishi T, Ueno K, Adashi EY. The generation and characterization of an ovary-selective cDNA library. *Mol Cell Endocrinol*, 2003, 202(1–2): 67–69. [DOI]
- [43] Shimasaki S, Zachow RJ, Li DM, Kim H, Iemura SI, Ueno N, Sampath K, Chang RJ, Erickson GF. A functional bone morphogenetic protein system in the ovary. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(13): 7282–7287. [DOI]
- [44] Yao N, Lu CL, Zhao JJ, Xia HF, Sun DG, Shi XQ, Wang C, Li D, Cui Y, Ma X. A network of miRNAs expressed in the ovary are regulated by FSH. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2009, 14: 3239–3245. [DOI]
- [45] Sites CK, Kessel B, LaBarbera AR. Adhesion proteins increase cellular attachment, follicle-stimulating hormone receptors, and progesterone production in cultured porcine

- granulosa cells. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1996, 212(1): 78–83. [DOI]
- [46] Köhler C, Villar CBR. Programming of gene expression by Polycomb group proteins. *Trends Cell Biol*, 2008, 18(5): 236–243. [DOI]
- [47] Boyer LA, Plath K, Zeitlinger J, Brambrink T, Medeiros LA, Lee TI, Levine SS, Wernig M, Tajonar A, Ray MK, Bell GW, Otte AP, Vidal M, Gifford DK, Young RA, Jaenisch R. Polycomb complexes repress developmental regulators in murine embryonic stem cells. *Nature*, 2006, 441(7091): 349–353. [DOI]
- [48] Williams KC, Renthall NE, Condon JC, Gerard RD, Mendelson CR. MicroRNA-200a serves a key role in the decline of progesterone receptor function leading to term and preterm labor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(19): 7529–7534. [DOI]
- [49] Cui W, Li QZ, Feng L, Ding W. MiR-126–3p regulates progesterone receptors and involves development and lactation of mouse mammary gland. *Mol Cell Biochem*, 2011, 355(1–2): 17–25. [DOI]
- [50] Younger ST, Corey DR. Transcriptional gene silencing in mammalian cells by miRNA mimics that target gene promoters. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(13): 5682–5691. [DOI]
- [51] Maillot G, Lacroix-Triki M, Pierredon S, Gratadou L, Schmidt S, Bénès V, Roché H, Dalenc F, Auboeuf D, Millevoi S, Vagner S. Widespread estrogen-dependent repression of micrornas involved in breast tumor cell growth. *Cancer Res*, 2009, 69(21): 8332–8340. [DOI]
- [52] Liu JL, Liang XH, Su RW, Lei W, Jia B, Feng XH, Li ZX, Yang ZM. Combined analysis of microRNome and 3'-UTRome reveals a species-specific regulation of progesterone receptor expression in the endometrium of rhesus monkey. *J Biol Chem*, 2012, 287(17): 13899–13910. [DOI]
- [53] Uva P, da Sacco L, del Cornò M, Baldassarre A, Sestili P, Orsini M, Palma A, Gessani S, Masotti A. Rat mir-155 generated from the lncRNA Bic is 'hidden' in the alternate genomic assembly and reveals the existence of novel mammalian miRNAs and clusters. *RNA*, 2013, 19(3): 365–379. [DOI]
- [54] He YP, Vogelstein B, Velculescu VE, Papadopoulos N, Kinzler KW. The antisense transcriptomes of human cells. *Science*, 2008, 322(5909): 1855–1857. [DOI]
- [55] Kapranov P, Cheng J, Dike S, Nix DA, Duttagupta R, Willingham AT, Stadler PF, Hertel J, Hackermüller J, Hofacker IL, Bell I, Cheung E, Drenkow J, Dumais E, Patel S, Helt G, Ganesh M, Ghosh S, Piccolboni A, Sementchenko V, Tammana H, Gingeras TR. RNA maps reveal new RNA classes and a possible function for pervasive transcription. *Science*, 2007, 316(5830): 1484–1488. [DOI]
- [56] Cochrane DR, Jacobsen BM, Connaghan KD, Howe EN, Bain DL, Richer JK. Progesterone regulated miRNAs that mediate progesterone receptor action in breast cancer. *Mol Cell Endocrinol*, 2012, 355(1): 15–24. [DOI]
- [57] Castellano L, Giamas G, Jacob J, Coombes RC, Lucchesi W, Thiruchelvam P, Barton G, Jiao LR, Wait R, Waxman J, Hannon GJ, Stebbing J. The estrogen receptor- α -induced microRNA signature regulates itself and its transcriptional response. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(37): 15732–15737. [DOI]
- [58] Cochrane DR, Cittelly DM, Howe EN, Spoelstra NS, McKinsey EL, LaPara K, Elias A, Yee D, Richer JK. MicroRNAs link estrogen receptor alpha status and Dicer levels in breast cancer. *Horm Cancer*, 2010, 1(6): 306–319. [DOI]
- [59] Lowery AJ, Miller N, Devaney A, McNeill RE, Davoren PA, Lemetre C, Benes V, Schmidt S, Blake J, Ball G, Kerin MJ. MicroRNA signatures predict oestrogen receptor, progesterone receptor and HER2/neu receptor status in breast cancer. *Breast Cancer Res*, 2009, 11(3): R27. [DOI]
- [60] Sempere LF, Christensen M, Silahtaroglu A, Bak M, Heath CV, Schwartz G, Wells W, Kauppinen S, Cole CN. Altered MicroRNA expression confined to specific epithelial cell subpopulations in breast cancer. *Cancer Res*, 2007, 67(24): 11612–11620. [DOI]
- [61] Yin MM. Study on the role of miRNA-383 and miRNA-320 in mouse follicular development [Dissertation]. Hefei: University of Science and Technology of China, 2013.
阴棉棉. 小鼠卵泡发育过程中 MiRNA-383 和 MiRNA-320 的功能研究[学位论文]. 合肥: 中国科学技术大学, 2013. [DOI]
- [62] Peiró R, Herrler A, Santacreu MA, Merchán M, Argente MJ, García ML, Folch JM, Blasco A. Expression of progesterone receptor related to the polymorphism in the PGR gene in the rabbit reproductive tract. *J Anim Sci*, 2009, 88(2): 421–427. [DOI]
- [63] Chin LJ, Ratner E, Leng SG, Zhai RH, Nallur S, Babar I, Muller RU, Straka E, Su L, Burki EA, Crowell RE, Patel R, Kulkarni T, Homer R, Zelterman D, Kidd KK, Zhu Y, Christiani DC, Belinsky SA, Slack FJ, Weidhaas JB. A SNP in a *let-7* microRNA complementary site in the *KRAS* 3' untranslated region increases non-small cell lung cancer risk. *Cancer Res*, 2008, 68(20): 8535–8540. [DOI]

- [64] Nicoloso MS, Sun H, Spizzo R, Kim H, Wickramasinghe P, Shimizu M, Wojcik SE, Ferdin J, Kunej T, Xiao LC, Manoukian S, Secreto G, Ravagnani F, Wang XM, Radice P, Croce CM, Davuluri RV, Calin GA. Single-nucleotide polymorphisms inside microRNA target sites influence tumor susceptibility. *Cancer Res*, 2010, 70(7): 2789–2798. [DOI]
- [65] Zheng H, Song FJ, Zhang LN, Yang D, Ji P, Wang YM, Almeida M, Calin GA, Hao XS, Wei QY, Zhang W, Chen KX. Genetic variants at the miR-124 binding site on the cytoskeleton-organizing IQGAP1 gene confer differential predisposition to breast cancer. *Int J Oncol*, 2011, 38(4): 1153–1161. [DOI]
- [66] Yuan DZ, Yu LL, Qu T, Zhang SM, Zhao YB, Pan JL, Xu Q, He YP, Zhang JH, Yue LM. Identification and characterization of progesterone- and estrogen-regulated MicroRNAs in mouse endometrial epithelial cells. *Reprod Sci*, 2015, 22(2): 223–234. [DOI]
- [67] Hardy DB, Janowski BA, Corey DR, Mendelson CR. Progesterone receptor plays a major antiinflammatory role in human myometrial cells by antagonism of nuclear factor- κ B activation of cyclooxygenase 2 expression. *Mol Endocrinol*, 2006, 20(11): 2724–2733. [DOI]
- [68] Olson DM. The role of prostaglandins in the initiation of parturition. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2003, 17(5): 717–730. [DOI]
- [69] Xie YL, Yang YJ, Tang C, Sheng HJ, Jiang Y, Han K, Ding LJ. Estrogen combined with progesterone decreases cell proliferation and inhibits the expression of Bcl-2 via microRNA let-7a and miR-34b in ovarian cancer cells. *Clin Transl Oncol*, 2014, 16(10): 898–905. [DOI]
- [70] Nothnick WB, Healy C, Hong XM. Steroidal regulation of uterine miRNAs is associated with modulation of the miRNA biogenesis components Exportin-5 and Dicer1. *Endocrine*, 2010, 37(2): 265–273. [DOI]
- [71] Aghajanova L, Giudice LC. Molecular evidence for differences in endometrium in severe versus mild endometriosis. *Reprod Sci*, 2011, 18(3): 229–251. [DOI]
- [72] Faggad A, Budczies J, Tchernitsa O, Darb-Esfahani S, Sehouli J, Muller BM, Wirtz R, Chekerov R, Weichert W, Sinn B, Mucha C, Elwali NE, Schafer R, Dietel M, Denkert C. Prognostic significance of Dicer expression in ovarian cancer-link to global microRNA changes and oestrogen receptor expression. *J Pathol*, 2010, 220(3): 382–391. [DOI]
- [73] Pan Q, Luo XP, Toloubeydokhti T, Chegini N. 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. [DOI]
- [74] Toloubeydokhti T, Pan Q, Luo XP, Bukulmez O, Chegini N. The expression and ovarian steroid regulation of endometrial micro-RNAs. *Reprod Sci*, 2008, 15(10): 993–1001. [DOI]
- [75] Faghihi MA, Modarresi F, Khalil AM, Wood DE, Sahagan BG, Morgan TE, Finch CE, Laurent III GS, Kenny PJ, Wahlestedt C. Expression of a noncoding RNA is elevated in Alzheimer's disease and drives rapid feed-forward regulation of β -secretase. *Nat Med*, 2008, 14(7): 723–730. [DOI]
- [76] Wang K, Liu F, Zhou LY, Long B, Yuan SM, Wang Y, Liu CY, Sun T, Zhang XJ, Li PF. The long noncoding RNA CHRF regulates cardiac hypertrophy by targeting miR-489. *Circ Res*, 2014, 114(9): 1377–1388. [DOI]
- [77] Gabory A, Jammes H, Dandolo L. The *H19* locus: role of an imprinted non-coding RNA in growth and development. *Bioessays*, 2010, 32(6): 473–480. [DOI]
- [78] Lattuada D, Somigliana E, Viganò P, Candiani M, Pardi G, di Blasio AM. Genetics of endometriosis: a role for the progesterone receptor gene polymorphism PROGINS? *Clin Endocrinol*, 2004, 61(2): 190–194. [DOI]
- [79] Briskin C, Heineman A, Chavarria T, Elenbaas B, Tan J, Dey SK, McMahon JA, McMahon AP, Weinberg RA. Essential function of *Wnt-4* in mammary gland development downstream of progesterone signaling. *Genes Dev*, 2000, 14(6): 650–654. [DOI]

(责任编辑: 李明洲)