

MicroRNAs 在青春期发育启动中作用的研究进展

史萌萌, 刘丽, 李学思, 翟玲玲

中国医科大学公共卫生学院儿少卫生与妇幼保健学教研室, 辽宁 沈阳 110122

【摘要】 miRNAs 是一类单链、内源性的、非编码的小 RNA, 其主要作用是调控基因的转录后表达, 可发挥多种生物功能。青春期发育涉及复杂的调控网络, 其中下丘脑-垂体-性腺轴决定性作用是目前的主要观点。研究发现 miRNAs 表达水平与青春期发育密切相关, miRNAs 的缺失和异常表达可影响青春期的启动, 具体机制尚不清楚, 可能与下丘脑 GnRH 的分泌密切相关。本文主要介绍目前与青春期启动密切相关的几种 miRNAs, 并对其在青春期发育启动中的作用及可能的机制进行综述。

【关键词】 RNA; 青春期发育; 动物实验; 下丘脑-垂体系统

【中图分类号】 R 179 Q 42 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-9817(2021)05-0788-04

Research progress of the role of microRNAs in puberty initiation/SHI Mengmeng, LIU Li, LI Xuesi, ZHAI Lingling. Department of Maternal, Child & Adolescent Health, School of Public Health, China Medical University, Shenyang(110122), China

【Abstract】 MiRNAs are a type of single-stranded, endogenous, non-coding small RNAs, which can regulate the post-transcriptional expression of genes and a variety of biological functions. Puberty development involves a complex regulatory network, among which the the hypothalamic-pituitary-gonad axis may play the key role. Studies have found that there was a relationship between the miRNAs and puberty development. The absence and abnormal expression of miRNAs can affect the initiation of puberty. But the mechanism is not clear. It may be related to the secretion of GnRH in the hypothalamus. This article mainly introduced several miRNAs which were currently closely related to the initiation of puberty, and reviewed their role and possible mechanisms in the initiation of puberty.

【Keywords】 RNA; Adolescent development; Animal experimentation; Hypothalamo-hypophyseal system

MicroRNA(miRNA)是1993年在秀丽线虫中发现的一类单链、内源性的、非编码的小RNA,其主要作用是调控基因的转录后表达,并在表达上具有时序性和组织特异性。据估计,人体中有60%编码蛋白质的基因被miRNA调节。miRNA广泛参与多种身体生理途径,包括应激反应、细胞分化、细胞代谢、细胞凋亡及肿瘤的产生与转移等^[1]。近年来miRNA在生殖领域的研究越来越多,特别是在青春期发育启动中的作用更是受到广泛关注。

青春期是从性成熟到具有生殖能力的关键过程^[2-3]。青春期发育启动受遗传、营养、环境和社会经济因素之间复杂相互作用的影响,青春期发育启动受多个调控网络控制^[2]。青春期发育启动的机制,迄今未获得完全一致的认识,但中枢神经系统、下丘脑-垂体-性腺轴(HPG轴)系统的决定性作用是目前的主要观点。随着生物医学向微观领域的深入,鉴于出生后下丘脑促性腺激素释放激素(GnRH)的产生和分泌

的良好程序化是性成熟和青春期发育启动的关键^[4],对青春期发育启动的研究也与GnRH分泌调控越来越密切相关。有研究发现,miRNA可参与青春期发育启动过程,并与GnRH相关^[5-6]。最近一项人类全基因组关联研究发现,青春期年龄与控制特定miRNA家族表达的基因位点之间相关^[7]。另有研究发现,GnRH神经元^[8]和促性腺激素细胞^[9]中的Dicer(miRNAs形成的关键内切酶)基因敲除,可导致性腺功能低下和不育,也证实了miRNAs在涉及GnRH分泌的关键调控过程中的重要作用。目前研究中发现与青春期发育启动相关的miRNAs包括miR-200家族/miR-155、miR-30/Makorin、Lin28/let-7,其中miR-200家族/miR-155、miR-30/Makorin可能通过参与调控GnRH分泌进而影响青春期发育启动,而Lin28/let-7参与调控青春期发育启动的机制尚不清楚。该综述将主要介绍这几种miRNAs在青春发育启动中的作用及可能的机制。

1 miR-200 和 miR-155

miR-200家族(包含miR-200a和miR-429)和miR-155是由Messina等^[8]确定的,是一个多层的带有内置反馈的miRNA操作开关,其作用是可控制从婴儿到青少年的转变过程中GnRH表达的增加。研究

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(81872640)

【作者简介】 史萌萌(1996-),女,黑龙江省伊春人,在读硕士,主要研究方向为儿少卫生与妇幼保健。

【通信作者】 翟玲玲, E-mail: llzhai@cmu.edu.cn

DOI: 10.16835/j.cnki.1000-9817.2021.05.035

表明削弱 GnRH 神经元中 miR-200 和 miR-155 合成会导致小鼠性腺功能减退性和不育^[8],可见两者在生殖发育中的重要作用。Messina 等^[8]使用 miR-200 和 miR-155 的靶位点阻滞剂(TSB)了解它们在青春期开始时对 GnRH 神经元功能的影响,发现 miR-200 和 miR-155 也与青春期启动关系密切,可能与调控 GnRH 相关。Messina 等^[8]发现,锌指结构转录因子(ZEB1)和 CCAAT 增强子结合蛋白 β (CEBPB)在 miR-200 和 miR-155 间起到重要的调控作用。miR-200 在青春期前出生 12 d 富集在 GnRH 神经元中,miR-200 可使 ZEB1 作用沉默,而 ZEB1 是 GnRH 的抑制因子,几乎所有 GnRH 转录激活子都有 ZEB1 结合位点。研究中发现,在大脑的视前区注射 miR-200 的靶位点阻滞剂(TSB)后,miR-200 表达下降,而 ZEB1 表达增加,可导致 GnRH 分泌减少,与正常激活 ZEB1 后 GnRH 的基因表达减少的结果一致,此实验印证了 miR-200 可通过抑制 ZEB1 作用进而促进 GnRH 分泌的增加。CEBPB 是一氧化氮(NO)介导的 GnRH 抑制因子。青春期前出生 7~12 d miR-155 表达升高,同时 CEBPB 表达降低,实验中,当阻断 NO 时,CEBPB 表达降低,可使因为 miRNAs 形成的关键内切酶 dicer 缺陷导致小鼠的 GnRH 表达下降得到改善,该实验证实了 miR-155 可通过抑制 CEBPB 作用而促进 GnRH 分泌的增加。综上所述,miR-200/429 和 miR-155 可能是控制 GnRH 启动子活性复杂发育开关的关键组件,其功能的正常发挥对于正常启动青春期和成年生育是必不可少的。

2 miR-30/Makorin

最近的研究表明,miR-30 家族(包含 miR-30a、miR-30b、miR-30c-1、miR-30c-2、miR-30d 和 miR-30e)在组织和器官发育以及相关的临床疾病发病机理中起着重要的调节作用^[10]。据报道,miR-30 在小鼠和人的睾丸组织中均高表达,并与同源框蛋白和锌转运有关,同源框蛋白和锌转运与男性的生育能力关系密切^[11]。Fischer 等^[12]研究表明,miR-30 家族可以调控中国仓鼠卵巢细胞中重组蛋白的生成。Fischer 等^[13]研究发现,miR-30 家族可以通过调节泛素 E3 连接酶 Skp2 诱导的泛素途径影响重组蛋白的表达,从而影响生殖系统的发育。此外,Ma 等^[14]发现,miR-30 家族还可以在未受精的虹鳟鱼卵中强烈表达,研究者认为此证据为 miR-30 家族可控制卵的质量和虹鳟鱼的早期胚胎形成提供了新的依据,综上所述,miR-30 家族可在生殖发育中发挥重要作用。

蛋白 3(*MKRN3*)是编码青春期的基因调控网络必不可少的组成部分。特别是 *MKRN3* 基因突变已被确定为男女童中枢性早熟的第一个遗传原因^[15-16]。有研究也发现,在青春期前血清 *MKRN3* 水平在两性

中均有下降的记录^[17-18]。此外,2 项不同的研究表明,在小鼠青春期开始前,*MKRN3*mRNA 和蛋白的低表达显著降低^[15,19],进一步表明 *MKRN3* 的抑制作用可能与青春期的中央控制有关。然而,这种关键调控作用的分子基础仍未得到充分探索。尽管尚不清楚 *MKRN3* 调节 GnRH 分泌的确切机制,但在下丘脑-垂体轴中的重要性是无可争议的^[16]。值得注意的是,*MKRN3* 转录本的 3'UTR 是 miRNA 介导的转录后基因表达调控的关键元件,在小鼠和人类中高度保守^[16,20]。最近的全基因组关联分析研究(GWAS)发现,*MKRN3* 与初潮年龄密切相关,可见该基因在青春期中具有重要作用^[16]。Abreu 等^[21]初步假设,*MKRN3* 基因在童年期活性高,对下丘脑 GnRH 和 *Kiss1* 基因有抑制作用,而到了青春发动期,*MKRN3* 基因活性下降,对 GnRH 和神经肽 B(NKB)及 *Kiss1* 基因的抑制解除,GnRH 分泌增加,启动了性腺功能发育。

miR-30 与 *MKRN3* 关系密切,Xu 等^[22]证明了 miR-30 和 *MKRN3* 可在胃癌中相互作用。Heras 等^[23]通过在幼龄期(PND15 和 28 之间)注射 TSB 的阻断实验,阻止 miR-30 对 *MKRN3* 的 3'UTR 的抑制作用,不仅可以减轻 *MKRN3* 在幼龄-青春期过渡期间下丘脑含量的下降,而且还会导致青春期开始的明显延迟,并部分抑制卵巢成熟,但在青春期前过渡期间(在 PND24 和 32 之间)和青春期开始前(PND33)应用了类似的靶点阻断方案,却没有显著变化,从而证明了 miR-30 调节 *MKRN3* 表达(作用于其 3'UTR 高度保守的调控区域)的能力,并确定了这种作用与青春期中央控制的相关性。因为 miR-30b 在成年下丘脑^[24]中高度表达,并受性激素^[25-27]和营养提示(如高脂肪饮食^[24])的调控,所以研究中可选择 miR-30b 作为 miR-30 家族的代表。Heras 等^[23]的体外功能分析也表明了 miR-30b 对 *MKRN3* 3'UTR 有较强的抑制作用。在雌性和雄性大鼠的整个下丘脑中,*MKRN3*mRNA 的表达在出生后的发育过程中逐渐下降,青春期前后尤其明显。下丘脑 miR-30b 水平的变化与 *MKRN3* 相反,即在新生期和婴儿期检测到低表达,在雌性和雄性大鼠青春期均显著增加。研究还发现,黄体生成素(LH)的血清水平可以作为青春期成熟的关键神经元(即 GnRH 神经元)活动的替代标志物^[28],下丘脑 miR-30b 表达同 LH 水平可保持大致相同。在雌性和雄性大鼠中,LH 的表达水平与 *MKRN3* 相反,在婴儿期水平最低,在青春期前逐渐增加,并在成年期达到峰值。综上所述,下丘脑中 *MKRN3* 基因在青春发动期前活性高,负反馈抑制 miR-30b 表达,对下游的 *Kiss* 基因和 GnRH 均有抑制作用,整个生殖轴处于一个静止期;而到了青春发动期,miR-30b 分泌增加,抑制 *MKRN3* 基因表达,*MKRN3* 活性下降,GnRH 和神经肽 B(NKB)及 *Kiss1* 基因的抑制作用被解除,GnRH 分泌

增加,启动了性腺功能发育。

3 Lin28/let-7/miR-132/miR-145

let-7 家族是最早被发现的 miRNA 家族之一,有 12 种高度保守的 let-7 亚型^[29-30]。let-7 家族成员在动物发育中有不同的表达模式,主要受 RNA 结合蛋白 Lin28 调控,在胚胎发育阶段表达受到抑制^[31-33]。同时,let-7 miRNAs 被归类为假定的肿瘤抑制基因^[34],肿瘤抑制基因已被提出参与青春期的转录控制,在青春期时表达明显增加^[35],因此 let-7 miRNAs 在青春期启动中的作用受到关注。*Lin28b* 和 *Lin28a* (也称 *Lin28*) 是 RNA 结合蛋白,首先在线虫秀丽线虫中发现,是一种进化保守的 RNA 结合蛋白,参与调节大量 mRNAs 的翻译和稳定性以及某些 miRNAs 的生物发生。哺乳动物的 *Lin28a* 和 *Lin28b* mRNA 各自在其 3'UTR 中都有 let-7 结合位点,可受到 let-7 的调控^[36-37]。同时 *Lin28a/Lin28b* 也可通过抑制成熟 let-7 miRNAs 的合成,负反馈抑制自己的水平,从而形成一个双负反馈环^[38]。此外,一项全基因组关联研究表明,*Lin28b* 与代表青春期过渡的不同特征密切相关,包括女童的乳房发育、月经初潮年龄等^[39]。Elks 等^[7]的一项大型 Meta 分析证实了人类 *Lin28b* 基因位点的变化与月经初潮年龄之间的强烈关联。认为 *Lin28* 在小鼠体内的过度表达导致青春期延迟和体型增加,证实了 *Lin28* 成员在调节出生后生长和青春期中的重要作用^[40]。

研究发现在早期发育损伤引起的青春期紊乱的啮齿类动物模型中,*Lin28b/let-7* 下丘脑比值也发生了改变^[41]。Sangiao-Alvarellos 等^[24,41]发现,在雄性和雌性大鼠中以及猴下丘脑中,*Lin28a*, *Lin28b* 和 *c-Myc* (*Lin28* 的上游正调节剂) mRNA 在新生儿期下丘脑表现出非常高的表达,在婴儿至青少年的过渡期明显降低,并在青春期前达到最低水平,而 let-7a、let-7b、miR-132 (可能是 *Lin28* 的 miRNA 抑制子) 和 miR-145 (*c-Myc* 的负调控因子) 显示相反的表达谱。形成了 *c-Myc* 的动态自动调节环,因为 *c-Myc* 在转录上激活了 *Lin28a* 和 *Lin28b* 的表达,而 let-7 抑制了 *c-Myc* 的表达^[42]。反过来,miR-132 和 miR-9 通过抑制 *Lin28* 的表达,miR-145 抑制 *c-Myc* 的表达参与了 this 调控中心的调节^[43]。同样 Sangiao-Alvarellos 等^[38]后期发现,miR-132/145 和 *c-Myc/Lin28b/let-7* 系统在大鼠睾丸中也有相反的表达,且存在时间差异^[42]。以上结果表明,下丘脑 *Lin28/let-7* 可参与性发育变化,在青春期启动中起到关键作用^[42]。功能基因组研究发现过度表达 RNA 结合蛋白 *Lin28* 的转基因小鼠表现出明显的青春期延迟,也支持 GWAS 建议的 *Lin28* 在青春期发育中的重要作用^[41]。但需要注意的是,以上研究并没有明确 *Lin28* 蛋白对青春期时间抑

制作作用的机制和主要作用位点,也没有解决 let-7 miRNAs 在青春期中央控制中的最终作用靶点。

4 挑战与展望

虽然 miRNAs 在生殖系统发育中的重要调控作用直到最近才被发现,但 miRNAs 在青春期启动调控中的重要作用也正在被认识和关注,其为青春期发育的潜在调控提供了新的思路和方向。揭示 miRNA 调控青春期发育的机制特别是通过其对 GnRH 神经网络功能的作用而促使性早熟或延迟青春期的机制,可以为性成熟过程的表现遗传调控提供很好的见解。目前证实与青春期发育启动相关的 miRNA 还不是很多,如 miR-200 家族/miR-155、miR-30/Makorin、*Lin28/let-7* 是目前明确可在青春期发育启动中发挥重要作用的 miRNAs,但调控机制还不是很明确。除此之外,有研究发现 miR-7a2、miR-34b/c 和 miR-449 等 miRNAs 的基因缺失可能与不育密切相关,研究认为其在青春期的调控可能会起重要作用,但仍需证实。随着研究的不断深入,越来越多的 miRNAs 将被发现,为青春期发育启动的探讨提供了更多的机会和方向。

5 参考文献

- [1] 张谊,张燕.miRNA 与精子发生发育及精液质量关系的研究进展[J].黑龙江畜牧兽医,2016,15:63-65.DOI:10.13881/j.cnki.hljxmsy.2016.1365.
ZHANG Y, ZHANG Y. Research progress of the relationship between miRNA and spermatogenesis and semen quality[J]. Heilongjiang Ani Sci Veter Med, 2016, 15: 63-65. DOI: 10.13881/j.cnki.hljxmsy.2016.1365.
- [2] OJEDA S R, LOMNICZI A, SANDAU U, et al. New concepts on the control of the onset of puberty[J]. Endocr Dev, 2010, 17: 44-51. DOI: 10.1159/000262527.
- [3] PLANT T M. Neuroendocrine control of the onset of puberty[J]. Front Neuroendocrinol, 2015, 38: 73-88. DOI: 10.1016/j.yfme.2015.04.002.
- [4] LOMNICZI A, WRIGHT H, OJEDA S R. Epigenetic regulation of female puberty[J]. Front Neuroendocrinol, 2015, 36: 90-107. DOI: 10.1016/j.yfme.2014.08.003
- [5] CHEKULAEVA M, FILIPOWICZ W. Mechanisms of miRNA-mediated post-transcriptional regulation in animal cells[J]. Curr Opin Cell Biol, 2009, 21(3): 452-460.
- [6] LYNN F C. Meta-regulation: microRNA regulation of glucose and lipid metabolism[J]. Trends Endocrinol Metab, 2009, 20(9): 452-459.
- [7] ELKS C E, PERRY J R, SULEM P, et al. Thirty new loci for age at menarche identified by a meta-analysis of genome-wide association studies[J]. Nat Genet, 2010, 42(12): 1077-1085.
- [8] MESSINA A, LANGLET F, CHACHLAKI K, et al. A microRNA switch regulates the rise in hypothalamic GnRH production before puberty[J]. Nat Neurosci, 2016, 19(6): 835-844.
- [9] WANG H, GRAHAM I, HASTINGS R, et al. Gonadotrope-specific deletion of Dicer results in severely suppressed gonadotropins and fertility defects[J]. J Biol Chem, 2015, 290(5): 2699-2714.
- [10] MAO L, LIU S, HU L, et al. MiR-30 Family: a promising regulator in development and disease[J]. Biomed Res Int, 2018, 2018: 9623412.

- DOI:10.1155/201819623412.
- [11] MADISON-VILLAR M J, MICHALAK P. Misexpression of testicular microRNA in sterile *Xenopus* hybrids points to tetrapod-specific microRNAs associated with male fertility [J]. *J Mol Evol*, 2011, 73 (5/6): 316–324.
- [12] FISCHER S, BUCK T, WAGNER A, et al. A functional high-content miRNA screen identifies miR-30 family to boost recombinant protein production in CHO cells [J]. *Biotechnol J*, 2014, 9(10): 1279–1292.
- [13] FISCHER S, MATHIAS S, SCHAZ S, et al. Enhanced protein production by microRNA-30 family in CHO cells is mediated by the modulation of the ubiquitin pathway [J]. *J Biotechnol*, 2015, 212: 32–43. DOI:10.1016/j.jbiotec.2015.08.002.
- [14] MA H, HOSTUTTLER M, WEI H, et al. Characterization of the rainbow trout egg microRNA transcriptome [J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e39649.
- [15] ABREU A P, DAUBER A, MACEDO D B, et al. Central precocious puberty caused by mutations in the imprinted gene *MKRN3* [J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(26): 2467–2475.
- [16] ABREU A P, MACEDO D B, BRITO V N, et al. A new pathway in the control of the initiation of puberty: the *MKRN3* gene [J]. *J Mol Endocrinol*, 2015, 54(3): R131–R139.
- [17] HAGEN C P, SRENSEN K, MIERITZ M G, et al. Circulating *MKRN3* levels decline prior to pubertal onset and through puberty: a longitudinal study of healthy girls [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015, 100(5): 1920–1926.
- [18] BUSCH A S, HAGEN C P, ALMSTRUP K, et al. Circulating *MKRN3* Levels Decline During Puberty in Healthy Boys [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, 101(6): 2588–2593.
- [19] LIU H, KONG X, CHEN F. *MKRN3* functions as a novel ubiquitin E3 ligase to inhibit Nptx1 during puberty initiation [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(49): 85102–85109.
- [20] JONG M T, CAREY A H, CALDWELL K A, et al. Imprinting of a RING zinc-finger encoding gene in the mouse chromosome region homologous to the Prader-Willi syndrome genetic region [J]. *Hum Mol Genet*, 1999, 8(5): 795–803.
- [21] ABREU A P, KAISER U B. Pubertal development and regulation [J]. *Lancet Diab Endocrinol*, 2016, 4(3): 254–264.
- [22] XU Y, SUN J Y, JIN Y F, et al. PCAT6 participates in the development of gastric cancer through endogenous competition with microRNA-30 [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(16): 5206–5213.
- [23] HERAS V, SANGIAO-ALVARELLOS S, MANFREDI-LOZANO M, et al. Hypothalamic miR-30 regulates puberty onset via repression of the puberty-suppressing factor, *MKRN3* [J]. *PLoS Biol*, 2019, 17(11): e3000532.
- [24] SANGIAO-ALVARELLOS S, PENA-BELLO L, MANFREDI-LOZANO M, et al. Perturbation of hypothalamic microRNA expression patterns in male rats after metabolic distress: impact of obesity and conditions of negative energy balance [J]. *Endocrinology*, 2014, 155(5): 1838–1850.
- [25] KUOKKANEN S, CHEN B, OJALVO L, et al. Genomic profiling of microRNAs and messenger RNAs reveals hormonal regulation in microRNA expression in human endometrium [J]. *Biol Reprod*, 2010, 82(4): 791–801.
- [26] VIDAL-GÓMEZ X, PÉREZ-CREMADES D, MOMPEÓN A, et al. MicroRNA as crucial regulators of gene expression in estradiol-treated human endothelial cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 45(5): 1878–1892.
- [27] BHAT-NAKSHATRI P, WANG G, COLLINS N R, et al. Estradiol-regulated microRNAs control estradiol response in breast cancer cells [J]. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(14): 4850–4861.
- [28] ELKS C E, PERRY J R, SULEM P, et al. Thirty new loci for age at menarche identified by a meta-analysis of genome-wide association studies [J]. *Nat Genet*, 2010, 42(12): 1077–1085.
- [29] REINHART B J, SLACK F J, BASSON M, et al. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Nature*, 2000, 403(6772): 901–906.
- [30] ROUSH S, SLACK F J. The let-7 family of microRNAs [J]. *Trends Cell Biol*, 2008, 18(10): 505–516.
- [31] O'DAY E, LE M T, IMAI S, et al. An RNA-binding protein, Lin28, recognizes and remodels G-quartets in the MicroRNAs (miRNAs) and mRNAs it regulates [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(29): 17909–17922.
- [32] STEFANI G, CHEN X, ZHAO H, et al. A novel mechanism of LIN-28 regulation of let-7 microRNA expression revealed by in vivo HITS-CLIP in *C. elegans* [J]. *RNA*, 2015, 21(5): 985–996.
- [33] FAEHNLE C R, WALLESHAUSER J, JOSHUA-TOR L. Mechanism of Dis3l2 substrate recognition in the Lin28-let-7 pathway [J]. *Nature*, 2014, 514(7521): 252–256.
- [34] ESQUELA-KERSCHER A, TRANG P, WIGGINS J F, et al. The let-7 microRNA reduces tumor growth in mouse models of lung cancer [J]. *Cell Cycle*, 2008, 7(6): 759–764.
- [35] ROTH C L, MASTRONARDI C, LOMNICZI A, et al. Expression of a tumor-related gene network increases in the mammalian hypothalamus at the time of female puberty [J]. *Endocrinology*, 2007, 148(11): 5147–5161.
- [36] GUO Y, CHEN Y, ITO H, et al. Identification and characterization of lin-28 homolog B (*Lin28b*) in human hepatocellular carcinoma [J]. *Gene*, 2006, 384: 51–61. DOI:10.1016/j.gene.2006.07.011.
- [37] MOSS E G, TANG L. Conservation of the heterochronic regulator Lin-28, its developmental expression and microRNA complementary sites [J]. *Dev Biol*, 2003, 258(2): 432–442.
- [38] SANGIAO-ALVARELLOS S, MANFREDI-LOZANO M, RUIZ-PINO F, et al. Testicular expression of the Lin28/let-7 system: hormonal regulation and changes during postnatal maturation and after manipulations of puberty [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 15683. DOI: 10.1038/srep15683.
- [39] ONG K K, ELKS C E, LI S, et al. Genetic variation in *Lin28b* is associated with the timing of puberty [J]. *Nat Genet*, 2009, 41(6): 729–733.
- [40] ZHU H, SHAH S, SHYH-CHANG N, et al. *Lin28a* transgenic mice manifest size and puberty phenotypes identified in human genetic association studies [J]. *Nat Genet*, 2010, 42(7): 626–630.
- [41] SANGIAO-ALVARELLOS S, MANFREDI-LOZANO M, RUIZ-PINO F, et al. Changes in hypothalamic expression of the Lin28/let-7 system and related microRNAs during postnatal maturation and after experimental manipulations of puberty [J]. *Endocrinology*, 2013, 154(2): 942–955.
- [42] SAMPSON V B, RONG N H, HAN J, et al. MicroRNA let-7a down-regulates MYC and reverts MYC-induced growth in Burkitt lymphoma cells [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(20): 9762–9770.
- [43] SACHDEVA M, MO Y Y. miR-145-mediated suppression of cell growth, invasion and metastasis [J]. *Am J Transl Res*, 2010, 2(2): 170–180.