

植物 miRNA 跨界调控及对中药药效物质研究的启示*

张 苗^{1,2}, 谭晓慧³, 武颖彩², 郑艳玲¹, 吴丽娟¹, 王振飞^{2**}

(1. 内蒙古医科大学研究生院 呼和浩特 010020; 2. 北京大学肿瘤医院内蒙古医院(内蒙古医科大学附属肿瘤医院) 呼和浩特 010020; 3. 内蒙古医科大学中医学院 呼和浩特 010020)

摘 要:微小核糖核酸(microRNA, miRNA)是广泛存在于病毒和真核生物体内的非编码RNA,可以从转录和转录后环节调控基因表达。近期研究显示,植物miRNA可以进入微生物、动物和人体内部,跨界调控基因表达,影响它们的生理病理过程。本文梳理了植物miRNA跨界调控的研究现状,从抗病毒、抗肿瘤、抗炎、调节免疫、抗疲劳、抗纤维化、保护血管、保护神经等方面介绍了植物miRNA干预人类疾病的研究进展,总结了植物miRNA在体内外保持稳定的原因及其调控人类基因表达的机制。在此基础上,分析了植物miRNA跨界调控对挖掘中药新型药用活性成分及阐明中药药理的重要意义,指出“构建中药miRNA在人体内的复杂调控网络”和“探究中药miRNA调控人类基因表达的新机制”是两个值得深入研究的科学问题。

关键词:植物miRNA 跨界调控 人类疾病 中药 药理

DOI: 10.11842/wst.20240518005 CSTR: 32150.14.wst.20240518005 中图分类号: R285.5 文献标识码: A

微小核糖核酸(microRNA, miRNA)是一类长22-24个核苷酸的内源性非编码小RNA分子,通过切割靶mRNA和抑制靶mRNA的翻译等方式调控真核生物基因表达^[1]。miRNA不仅存在于动物和微生物体内,而且广泛存在于各种植物体当中^[2]。在综合性miRNA数据库miRBase^[3]、植物miRNA数据库PmiREN^[4]以及本草小核酸(Small RNA, sRNA)数据库^[5]中都收录了大量的植物miRNA。这些miRNA在植物种子、根、芽等的发育过程中以及应对多种逆境胁迫中发挥重要作用^[6]。

过去认为,植物miRNA主要在本物种发挥作用,不会对其他物种生物体的生理病理过程产生影响。近期研究发现,植物miRNA分子具有较强的稳定性,一些植物miRNA不仅可以耐受高温等恶劣环境,还可

以抵抗RNA酶的降解,使得它们能够进入并稳定存在于微生物、动物和人体内,并调控它们的多种生理病理过程^[7-8],这被称为植物miRNA的跨界调控。由于大多数传统中药的基原都是植物,植物miRNA跨界调控现象的发现,启发人们从天然miRNA中寻找新的中药药用活性成分,并通过中药miRNA对人类基因的调控作用,从新的角度更好地阐释中药的药效药理。本文将在梳理植物miRNA跨界调控研究的基础上,讨论其对中药药效药理研究的启示,以期为祖国医学更好地服务于人类健康提供有益启示。

1 植物miRNA对微生物生命活动的调控

植物miRNA可以参与植物-微生物相互作用。棉花感染了大丽花黄萎菌(*Verticillium dahliae*)后,其植

收稿日期:2024-05-18

修回日期:2024-07-01

* 国家自然科学基金委员会面上项目(82074144):从3,29-二苯甲酰基栝楼仁二醇抑制胶原沉积与过度交联改善胃癌微环境的作用揭示祖国医学“从痰论治肿瘤”思想的科学内涵,负责人:王振飞;内蒙古自治区教育厅高等学校科技创新团队项目(NMGIRT2327):中西医结合抗肿瘤新药研发团队,负责人:王振飞;内蒙古自治区科学技术厅杰出青年培育基金项目(2021JQ09):从化痰中药天南星中的低聚肽抑制胶原重构的作用阐释“从痰论治肿瘤”思想的科学内涵,负责人:王振飞。

** 通讯作者:王振飞(ORCID:0000-0003-0563-6318),研究员,硕士研究生导师,主要研究方向:中西医结合治疗肿瘤的研究。

株表达了 miR166 和 miR159,并将这两种 miRNAs 输出到真菌的菌丝体中,抑制真菌对 Ca^{2+} 依赖性半胱氨酸蛋白酶(Cl_p-1)和异三代菌素 C-15 羟化酶(HiC-15)的表达,从而抑制真菌的毒力,对自身起到保护作用^[9]。番茄产生的 miR1001 下调灰霉菌中编码 ATP 依赖性金属肽酶的 Bcin03g02170.1 基因和编码半胱氨酸型内肽酶的 Bcin10g01400.1 基因的表达,抑制灰霉菌分生孢子萌发和感染毒力,进而阻遏灰霉菌对自身的侵袭^[10]。丁香假单胞菌侵染拟南芥后,会诱导拟南芥合成 miR393 进入丁香假单胞菌内,负调控转运抑制剂反应蛋白 1、AFB2 和 AFB3(生长素信号传导 F-Box 蛋白 2 和 3)的表达,抑制生长素信号的传导,限制丁香假单胞菌的生长,增强了拟南芥的抗病性^[11]。

2 植物 miRNA 对动物生命活动的调控

张辰宇教授课题组发现使用大米饲喂小鼠后,大米中的 miR168a 能够经胃肠道吸收,进入小鼠的血液和肝脏。在肝脏中,miR168a 可与小鼠低密度脂蛋白受体适配器蛋白 1(Low density lipoprotein receptor adaptor protein 1, LDLRAP1)的 mRNA 结合,抑制 LDLRAP1 在肝细胞中的表达,从而升高小鼠血浆中低密度脂蛋白胆固醇的含量,该研究首次证实了植物来源的 miRNA 可以调控动物基因的表达并影响动物的生理过程^[12]。之后,张辰宇教授团队又发现蜂粮里的植物 miR162a 进入幼蜂体内后,靶向负调控 mTOR 基因的表达,降低了幼蜂的体重和卵巢的体积,抑制了幼蜂的发育,使其无法生长为蜂王^[13]。随后, Luo 等^[14]在喂食新鲜玉米 7 天后的猪血清和心、肺、脑等组织中检测到玉米来源的 miRNA;在猪肾细胞系中,玉米来源的 miRNA 靶向其内源性 mRNA,以类似于哺乳动物 miRNA 的方式影响基因表达。

3 植物 miRNA 对人类疾病的干预作用

Liu 等^[15]对 410 份人血浆样本进行 sRNA 测序,鉴定出丰富的植物 miRNA 序列,其中植物来源的 miR2910 在人血浆样本中含量很高,该 miRNA 与 hsa-miR-4259 和 hsa-miR-4715-5p 具有相同的 6mer 和 7mer-A1 靶种子序列,可以靶向人 JAK-STAT 信号通路的 SPRY4 基因。Huang 等^[16]收集了 10 种植物类中药材的水煎剂、服用水煎剂后的人血细胞和小鼠肺组织,进行了 RNA 提取和高通量测序,鉴定出数千个独

特的 miRNA 序列,发现其中一部分 miRNA 可被定位到植物类中药的基因组上。这两项研究说明了一些植物的 miRNA 在煎煮和人类胃肠道消化过程中保持稳定,并且可以经胃肠道吸收进入人体血液。此外还建立了本草 sRNA 数据库,通过多种算法的分析,发现所有的人类基因都有被本草 sRNA 所靶向的可能;使用人巨噬细胞进行验证,发现很多本草 sRNA 确实能够有效下调人类促炎细胞因子的表达^[17-18]。这些结果都为深入研究植物小 RNA 干预人类疾病奠定了坚实基础。

3.1 植物 miRNA 抗病毒

Zhou 等^[19]研究结果证实,金银花来源的 miR2911 能够广谱靶向甲型流感病毒,特别是 H1N1、H5N1 和 H7N9 三个亚型。合成的 miR2911 拟似物能够抑制 H1N1 流感病毒编码的 PB2 和 NS1 蛋白的表达,并降低染病小鼠的死亡率。在病毒诱发急性呼吸窘迫综合征的过程中, Toll 样受体 4(Toll like receptor 4, TLR4)是一个关键致病因子。中药半枝莲中存在的 sRNA 分子 BZL-sRNA-20 可以有效下调人巨噬细胞中 TLR4 的表达。在体外实验中, BZL-sRNA-20 可以挽救禽流感病毒 H5N1 和新冠病毒 SARS-CoV-2 感染引起的细胞死亡;在动物实验中,给感染了新冠病毒的小鼠灌服 BZL-sRNA-20,可以降低肺组织中 TLR4 的表达水平,有效改善新冠病毒引起的急性肺损伤^[20]。上述研究不仅有效揭示了中药金银花和半枝莲清热解毒的物质基础,更为药用植物中新型有效成分的研究开辟了新的方向。

3.2 植物 miRNA 的抗肿瘤特性

首个被发现的具有抗肿瘤作用的植物 miRNA 是拟南芥 miR-159。2016 年, Chin 等^[21]将 miR-159 的拟似物转染人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和 MCFDCIS 后,在翻译水平显著抑制了转录因子 7(Transcription factor 7, TCF7)的表达,导致其下游分子——强效致癌基因 MYC 的转录受抑,最终乳腺癌细胞的增殖能力大大降低。将西兰花 miR156a 的拟似物作用于人鼻咽癌细胞,通过靶向抑制连接黏附分子-A(Junctional adhesion molecule-1, JAM-A)而降低了纤连蛋白和波形蛋白的表达水平,使癌细胞的上皮-间质转化受抑,从而降低了癌细胞的迁移和增殖能力^[22]。在油橄榄中发现了一种与 has-miR34a 高度同源的 miRNA—oeu-sRs,将 oeu-sRs 的拟似物转染入肝癌细胞后,降低了

has-miR34a靶基因SNAIL蛋白的表达,并恢复了黏附蛋白E-cadherin的表达,促进了癌细胞的凋亡、抑制了它们的增殖。尤为重要的是,在has-miR34a缺陷的癌细胞中引入oeu-sRs可恢复其功能,而内源性has-miR34a表达正常的细胞不受影响^[23],这提示有望基于oeu-sRs研发出选择性抑制癌细胞增殖的小核酸药物。

3.3 植物miRNA抗炎症

天麻(*Gastrodia elata* Blume)来源的Gas-miR01通过抑制NF- κ B信号通路的活化,下调炎症小鼠大脑中炎症因子的表达,从而对LPS诱导的细胞神经炎症产生一定的抑制作用^[24]。将莴苣衍生的amiRNA饲喂表达HBV表面抗原(HBsAg)的转基因小鼠,发现莴苣amiRNA可明显抑制转基因小鼠体内p21-HBsAg基因的表达,并在长期治疗中,使HBsAg-/+转基因小鼠的肝损伤和炎症反应得到缓解^[25]。

3.4 植物miRNA的免疫调节作用

植物miRNA可作为新型免疫调节剂。体外实验显示,草莓果实中的FvmiR168通过与树突状细胞中的TLR3相结合,抑制了TRIF(TIR-domain-containing adaptor-inducing IFN- β signaling)通路的激活,从而显著降低LPS或PolyI:C诱导的T细胞增殖和IFN γ 产生,起到减轻炎症反应的作用。动物实验显示,使用从卷心菜叶、蕨类植物叶和苹果皮中提取的植物miRNA饲喂自身免疫性脑脊髓炎的小鼠模型,通过降低IL-10的主要调节物FoxP3以及炎症细胞因子IFN γ 、IL-17、TNF α 、CXCL 2、IL-6的表达,限制了树突状细胞的迁移能力并抑制了淋巴细胞向脊髓的浸润,从而有效降低了自身免疫脑脊髓炎的严重程度^[26]。

生姜来源的外泌体样纳米颗粒(Exosome-like nanoparticle, ELN)中含有能够靶向肠道微生物的miRNA。将生姜ELN灌服小鼠后,ELN中含有的mdo-miR7267-3p可抑制鼠李糖乳杆菌对单加氧酶ycnE的表达,降低小鼠结肠组织中促炎细胞因子和趋化因子的水平,升高IL-22的水平,从而改善肠道的屏障功能、抑制鼠李糖乳杆菌介导的结肠炎^[27]。

3.5 植物miRNA的补气抗疲劳作用

人参水煎剂可以通过改善能量代谢、抗氧化应激、调节机体免疫以缓解机体疲劳。彭朦媛^[28]发现,人参水煎剂中存在着多种miRNA。使用气虚疲劳小鼠模型研究显示,人参水煎剂中的miR5072、miR5658和

miR8175可使小鼠SOD活力显著升高,MDA含量下降,腓肠肌Na⁺K⁺-ATP酶活性升高,血清IL-4水平显著升高,TNF- α 水平降低,提示人参miRNA可能作为一种药效物质参与了人参的补气抗疲劳作用。

3.6 植物miRNA的抗纤维化作用

Du等^[29]使用TGF- β 1诱导的MRC-5肺纤维化模型对红景天中丰度最高的8个miRNA分子进行抗肺纤维化功能研究,发现HJT-sRNA-m7不仅能够抑制体外培养的肺泡细胞中 α -SMA的表达,还能降低小鼠肺组织中纤维连接蛋白和COL3A1的表达水平,显示出了良好的抗肺纤维化活性。

3.7 植物miRNA对心血管的保护作用

JAM-A在动脉粥样硬化患者中显著上调,是引起动脉粥样硬化病变的一个重要分子。来自绿色蔬菜的miR156a靶向下调人主动脉内皮细胞中JAM-A的表达,减少促炎性细胞因子诱导的单核细胞粘附,从而对血管内皮产生保护作用,抑制动脉粥样硬化的进展^[30]。这表明绿色蔬菜通过miRNAs为机体提供了一种新的血管保护机制。

3.8 植物miRNA的神经保护作用

阿尔茨海默病患者每天服用马齿苋提取物可以保护投射到海马体的内侧间隔核中的胆碱能神经元。接受马齿苋miRNA治疗的患者,总记忆评分有显著改善^[31]。

4 植物miRNA干预人类疾病的机制

植物miRNA能够干预人类疾病,与它们在煎煮等制备过程中能够保持稳定和完整、能够耐受人类消化道环境的降解、能够被人类消化道所吸收并被运输到靶器官、能够调控人体细胞的基因表达是密不可分的^[32]。

4.1 植物miRNA对高温煎煮和酶解过程具有一定的耐受性

过去,人们普遍认为经过高温煎煮后miRNA会发生降解。但实际上,相当一部分植物miRNA在高温煎煮过程中是保持稳定的。经过烹饪后的西兰花中仍然存在较高丰度的miR159^[21],在经过高温高压等剧烈膨化处理后的玉米饲料中依然能够检测到18种玉米的miRNA^[4],在金银花水煎液中稳定存在着较高水平的miR2911^[19]。金银花的miR2911甚至在经RNA酶处理后,仍很少发生降解。但是,如果将miR2911 5'端的

GG突变为AA,或将3'端的GGA突变为AAA,则其对RNA酶的抗性消失。这提示miR2911的高度稳定性与其特定的序列和高GC含量有一定关系。

4.2 植物 miRNA 能在人类消化道中保持稳定并被吸收入血

与动物 miRNA 相比,植物 miRNA 本身具有独特的结构。植物 miRNA 在最后一个核苷酸的核糖上往往发生 2'-O-甲基化修饰,这种天然存在的甲基化修饰增强了植物 miRNA 的稳定性^[33],这不仅使得它们在胃部酸性环境下的降解速度比动物 miRNA 要慢,而且使它们更容易在肠道中被摄取^[34]。在植物药的煎剂中,植物 miRNA 往往不是以游离状态存在,而是与脂质、蛋白、小分子代谢物等多种物质一起组装成“汤剂体”(Decoctosome)^[18,35]。“汤剂体”不仅保护了 miRNA 在体外、体内免受核酸酶的降解^[29],而且还运载 miRNA 以巨胞饮等方式有效进入人体细胞^[36]。蒋澄宇教授团队的研究证实,红景天“汤剂体”中的 HJT-sRNA-m7 和蒲公英“汤剂体”中的 PGY-sRNA-6 分别具有良好的抗纤维化和抗炎作用,而且两种“汤剂体”的体外疗效均优于相应的汤剂^[35]。最后,一些植物 miRNA 虽不被包裹于“汤剂体”中,但它们可以与脂蛋白^[37]或 AGO 蛋白^[38]结合而在人体内稳定存在并被运输到靶器官发挥作用。

4.3 植物 miRNA 调控人类基因表达的机制

miRNA 调控靶基因表达的方式主要有四种:抑制翻译、降解 mRNA、切割 mRNA 和激活转录^[39]。在动物细胞中,成熟 miRNA 5'端的“种子序列”可以识别靶基因 mRNA 3'非翻译区(3'-UTR)的关键序列并与之结合,如果“种子序列”与靶 mRNA 互补的程度很高,miRNA 便会诱导 mRNA 的特异性降解;如果两者的互补性不够高,那么 miRNA 便会抑制该 mRNA 的翻译。在植物中,miRNA 调节的主要机制则是切割 mRNA。大多数植物 miRNA 的“种子序列”与其靶 mRNA 的关键序列会完全匹配,两者结合后,往往直接启动对靶 mRNA 分子的切割,从而抑制了靶基因的表达^[40]。近年来,Zou 等^[41]发现,miRNA 除了可以在细胞质中发挥抑制靶基因表达的作用,还可以在细胞核中通过靶向基因组中的增强子来激活邻近基因甚至远距离基因的表达,他们将发挥这种作用的 miRNA 命名为“核内激活 miRNA”(Nuclear activating miRNA, NamiRNA),并提出了 NamiRNA-增强子-基因激活的新理论。目

前,对此种调控机制的研究主要集中于人类细胞,例如,在乳腺癌中,一些 NamiRNA 可以使癌细胞中沉默的抑癌基因的表达重新激活^[42]。而在植物和微生物中的研究还很少。

有研究显示,植物 miRNA 进入人类细胞后,可以产生系统性 RNA 干扰(RNA interference, RNAi)现象。系统性 RNA 干扰现象缺失的突变体 1 在产生系统性 RNAi 效应时起了重要作用,它能够在细胞膜表面形成通道,进而介导 dsRNA 运输进出细胞,dsRNA 经 Dicer 酶等处理成 siRNA,这些 siRNA 在体内发挥 RNAi 作用,诱导转录后基因沉默。同时也发现了 miRNA 被切割之后靶 mRNA 上与匹配位点的相邻的序列会产生一些内源 siRNA,这些内源 siRNA 也能够动物各个组织中发挥 RNAi 作用,从而增强沉默效应^[43-44]。

5 植物 miRNA 跨界调控对中药研究的启示

目前,已发现金银花^[19]、天麻^[24]、姜黄^[45]等多种植物类中药中的 miRNA 具有干预人类疾病的潜力,而且它们的作用与中药整体功效相一致,这说明 miRNA 有可能是一类新的中药药效物质,对它们进行深入研究,对挖掘中药有效成分、阐释中药药理、开发中药新药都具有重要价值^[35]。

5.1 深入挖掘具有药理活性的中药 miRNA

我国拥有丰富的中药材资源,全国的药用植物超过 11 000 种。迄今,大多数中药活性物质的研究集中于萜类、生物碱、皂苷、黄酮等次生代谢产物^[46],而对中药 miRNA 的研究才刚刚起步,超过 90% 的中药品种,其 miRNA 分子的药理活性尚未得到研究。随着二代测序和生物信息学技术的进步、多种非编码 RNA 和疾病数据库的建立以及一些高通量细胞功能研究手段的问世,从中药中大规模发掘具有良好药理活性的 miRNA 分子已成为可能^[47]。这一工作的深入开展将有力推动中药药效活性成分的研究。

5.2 构建中药 miRNA 调控网络

已有中药 miRNA 的工作大多沿用了西方医学中的研究模式,局限于阐明中药 miRNA 对人类细胞中某一个靶点和一个通路的调控,缺乏对多靶点、多通路的整合分析,不利于突出中医药的特色。中药调节机体的一个优势是多靶点、多通路。miRNA 对靶基因的调控也具有多靶点的作用特点。整合生物信息学、转

录组、蛋白组、代谢组等组学手段,结合多种功能验证,解析和构建中药 miRNA 进入人体后的复杂调控网络,将有利于在新的层面上揭示中药整体调节机体内环境的科学机制。

5.3 探究中药 miRNA 作用新机制

已有一些研究探讨了中药 miRNA 调控人类基因表达的机制。这些研究大多着眼于经典的 miRNA 调控途径,即 miRNA 与靶基因 mRNA 的 3'UTR 结合,在翻译水平上抑制靶基因的表达^[19, 20, 24]。但是,中药对人体功能的调节是复杂的,很多中药及其有效成分作用于人体细胞后,既会抑制一些基因的表达,又会激活一些基因的表达^[48, 49]。作为一种重要的药效物质,中药 miRNA 进入人体细胞后,除了抑制一些基因的表达,是否也可能激活一些基因的表达呢?于文强教授在乳腺癌中的工作已经显示,NamiRNA 可以通过提高增强子活性而激活抑癌基因的表达^[42]。我们考虑,中药 miRNA 进入人体细胞后,是否也可作为 NamiRNA 发挥作用。对这一问题展开研究,将有利于系统、全

面地研究中药 miRNA 进入人体后作用的靶点和通路,从新的角度阐明中药的功效。

6 展望

“中国医药学是一个伟大宝库,应当努力发掘,加以提高”。植物 miRNA 跨界调控功能的发现,拓展了中药药效物质基础研究的范围,启发人们探寻新的中药活性物质并从新的层面阐释中药药性药理,为祖国医药学的发展注入了新的清泉活水。当然,也应该看到,对中药 miRNA 的研究才刚刚开始,还有很多问题需要解决。例如:中药 miRNA 在胃肠道中如何被有效地吸收,中药 miRNA 在人体组织的分布有何规律,中药 miRNA 与中药中的其他成分是否存在协同作用,如何构建中药 miRNA 进入人体后的整体调控网络。对这些问题的深入研究、对这个新兴领域的持续探索,不仅可以推动新时代中药新药的研发,更可以拓展、深化人类对生命调控规律的认识,在多学科结合的基础上促进祖国医学的蓬勃发展。

参考文献

- Lee R C, Feinbaum R L, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *Lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *Lin-14*. *Cell*, 1993, 75(5):843-854.
- Li M, Yu B. Recent advances in the regulation of plant miRNA biogenesis. *RNA Biology*, 2021, 18(12):2087-2096.
- Kozomara A, Birgaoanu M, Griffiths-Jones S. miRBase: From microRNA sequences to function. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(D1):D155-D162.
- Guo Z L, Kuang Z, Wang Y, et al. PmiREN: A comprehensive encyclopedia of plant miRNAs. *Nucleic Acids Research*, 2020, 48(D1): D1114-D1121.
- Cao Y H, Lin Y X, Sun N, et al. A comprehensive analysis of the *Bencao* (herbal) small RNA Atlas reveals novel RNA therapeutics for treating human diseases. *Science China Life Sciences*, 2023, 66(10): 2380-2398.
- Reinhart B J, Weinstein E G, Rhoades M W, et al. microRNAs in plants. *Genes & Development*, 2002, 16(13):1616-1626.
- Trivedi R, Asif M H, Trivedi P K. Dietary plant miRNAs as an augmented therapy: Cross-kingdom gene regulation. *RNA Biology*, 2018, 15(12):1433-1439.
- 潘峰. 植物 miRNA-168a 跨界调控人基因表达再分析. 泉州:华侨大学, 2016.
- Zhang T, Zhao Y L, Zhao J H, et al. Cotton plants export microRNAs to inhibit virulence gene expression in a fungal pathogen. *Nature Plants*, 2016, 2(10):16153.
- Meng X, Jin W B, Wu F L. Novel tomato miRNA miR1001 initiates cross-species regulation to suppress the conidiospore germination and infection virulence of *Botrytis cinerea* in vitro. *Gene*, 2020, 759:145002.
- Navarro L, Dunoyer P, Jay F, et al. A plant miRNA contributes to antibacterial resistance by repressing auxin signaling. *Science*, 2006, 312(5772):436-439.
- Zhang L, Hou D X, Chen X, et al. Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1: Evidence of cross-Kingdom regulation by microRNA. *Cell Research*, 2012, 22(1):107-126.
- Zhu K G, Liu M H, Fu Z, et al. Plant microRNAs in larval food regulate honeybee caste development. *PLoS Genetics*, 2017, 13(8):e1006946.
- Luo Y, Wang P J, Wang X, et al. Detection of dietetically absorbed maize-derived microRNAs in pigs. *Scientific Reports*, 2017, 7(1):645.
- Liu Y C, Chen W L, Kung W H, et al. Plant miRNAs found in human circulating system provide evidences of cross Kingdom RNAi. *BMC Genomics*, 2017, 18(S2):112.
- Huang F M, Du J C, Liang Z, et al. Large-scale analysis of small RNAs derived from traditional Chinese herbs in human tissues. *Science China Life Sciences*, 2019, 62(3):321-332.
- Huang F M, Liu J Q, Du S F, et al. Potential oligonucleotide drugs in *Bencao* sRNA atlas. *Science China Life Sciences*, 2023, 66(12): 2943-2945.
- Ji C, Kriaucionis S, Kessler B M, et al. From herbal small RNAs to one

- medicine. *Science China Life Sciences*, 2019, 62(3):285–287.
- 19 Zhou Z, Li X H, Liu J X, *et al.* Honeysuckle-encoded atypical microRNA2911 directly targets influenza A viruses. *Cell Research*, 2015, 25(1):39–49.
 - 20 Zhao D D, Qin Y H, Liu J Q, *et al.* Orally administered BZL-sRNA-20 oligonucleotide targeting TLR4 effectively ameliorates acute lung injury in mice. *Science China Life Sciences*, 2023, 66(7):1589–1599.
 - 21 Chin A R, Fong M Y, Somlo G, *et al.* Cross-Kingdom inhibition of breast cancer growth by plant miR159. *Cell Research*, 2016, 26(2):217–228.
 - 22 Tian Y H, Cai L M, Tian Y M, *et al.* miR156a mimic represses the epithelial-mesenchymal transition of human nasopharyngeal cancer cells by targeting junctional adhesion molecule A. *PLoS One*, 2016, 11(6):e0157686.
 - 23 Minutolo A, Potestà M, Gismondi A, *et al.* *Olea europaea* small RNA with functional homology to human miR34a in cross-Kingdom interaction of anti-tumoral response. *Scientific Reports*, 2018, 8(1):12413.
 - 24 夏春鑫. 天麻特异 microRNA 对 NF- κ B 信号通路的作用研究. 杭州: 浙江理工大学, 2020.
 - 25 Zhang S, Sang X L, Hou D X, *et al.* Plant-derived RNAi therapeutics: A strategic inhibitor of HBsAg. *Biomaterials*, 2019, 210:83–93.
 - 26 Cavalieri D, Rizzetto L, Tocci N, *et al.* Plant microRNAs as novel immunomodulatory agents. *Scientific Reports*, 2016, 6:25761.
 - 27 Teng Y, Ren Y, Sayed M, *et al.* Plant-derived exosomal microRNAs shape the gut microbiota. *Cell Host & Microbe*, 2018, 24(5):637–652.e8.
 - 28 彭朦媛. 人参水煎剂及其 microRNA 对气虚疲劳小鼠的干预和跨界调控作用研究. 广州: 广东药科大学, 2020.
 - 29 Du J C, Liang Z, Xu J T, *et al.* Plant-derived phosphocholine facilitates cellular uptake of anti-pulmonary fibrotic HJT-sRNA-m7. *Science China Life Sciences*, 2019, 62(3):309–320.
 - 30 Hou D X, He F F, Ma L N, *et al.* The potential atheroprotective role of plant MIR156a as a repressor of monocyte recruitment on inflamed human endothelial cells. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2018, 57:197–205.
 - 31 Chaudhari K S, Tiwari N R, Tiwari R R, *et al.* Neurocognitive effect of nootropic drug *Brahmi* (*Bacopa monnieri*) in Alzheimer's disease. *Annals of Neurosciences*, 2017, 24(2):111–122.
 - 32 Yang L P, Feng H. Cross-Kingdom regulation by plant-derived miRNAs in mammalian systems. *Animal Models and Experimental Medicine*, 2023, 6(6):518–525.
 - 33 Yu B, Yang Z Y, Li J J, *et al.* Methylation as a crucial step in plant microRNA biogenesis. *Science*, 2005, 307(5711):932–935.
 - 34 Mlotshwa S, Pruss G J, MacArthur J L, *et al.* A novel chemopreventive strategy based on therapeutic microRNAs produced in plants. *Cell Research*, 2015, 25(4):521–524.
 - 35 Li X Y, Liang Z, Du J C, *et al.* Herbal decoctosome is a novel form of medicine. *Science China Life Sciences*, 2019, 62(3):333–348.
 - 36 李之清, 王志清, 张艳丽, 等. 巨胞饮内吞途径介导蒲公英汤剂体进入细胞. *基础医学与临床*, 2019, 39(7):925–931.
 - 37 Vickers K C, Palmisano B T, Shoucri B M, *et al.* microRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins. *Nature Cell Biology*, 2011, 13(4):423–433.
 - 38 Arroyo J D, Chevillet J R, Kroh E M, *et al.* Argonaute 2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(12):5003–5008.
 - 39 Ma X, Cao X F, Mo B X, *et al.* Trip to ER: microRNA-mediated translational repression in plants. *RNA Biology*, 2013, 10(10):1586–1592.
 - 40 Lu T X, Rothenberg M E. microRNA. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2018, 141(4):1202–1207.
 - 41 Zou Q P, Liang Y, Luo H B, *et al.* miRNA-mediated RNAa by targeting enhancers. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2017, 983:113–125.
 - 42 Liang Y, Lu Q, Li W, *et al.* Reactivation of tumour suppressor in breast cancer by enhancer switching through NamiRNA network. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49(15):8556–8572.
 - 43 Napoli C, Lemieux C, Jorgensen R. Introduction of a chimeric *Chalcone* synthase gene into *Petunia* results in reversible co-suppression of homologous genes in trans. *The Plant Cell*, 1990, 2(4):279–289.
 - 44 Feinberg E H, Hunter C P. Transport of dsRNA into cells by the transmembrane protein SID-1. *Science*, 2003, 301(5639):1545–1547.
 - 45 Sharma A, Sahu S, Kumari P, *et al.* Genome-wide identification and functional annotation of miRNAs in anti-inflammatory plant and their cross-Kingdom regulation in *Homo sapiens*. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 2017, 35(7):1389–1400.
 - 46 Owusu Adjei M, Zhou X, Mao M Q, *et al.* microRNAs roles in plants secondary metabolism. *Plant Signaling & Behavior*, 2021, 16(7):1915590.
 - 47 Van Der Pol E, Böing A N, Harrison P, *et al.* Classification, functions, and clinical relevance of extracellular vesicles. *Pharmacological Reviews*, 2012, 64(3):676–705.
 - 48 Wang Z F, Ma D G, Wang C S, *et al.* Triptonide inhibits the pathological functions of gastric cancer-associated fibroblasts. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017, 96(6):757–767.
 - 49 Chen R J, Huang L, Hu K L, *et al.* Natural products remodel cancer-associated fibroblasts in desmoplastic tumors. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2020, 10(11):2140–2155.

Cross-kingdom Regulation by Plant miRNAs and Its Implications for the Study of Medicinal Substances of Traditional Chinese Medicine

ZHANG Miao^{1,2}, TAN Xiaohui³, WU Yingcai², ZHENG Yanling¹, WU Lijuan¹, WANG Zhenfei²

(1. Graduate School of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010020, China; 2. Inner Mongolia Hospital of Peking University Cancer Hospital (Affiliated Cancer Hospital of Inner Mongolia Medical University), Hohhot 010020, China; 3. School of Traditional Chinese Medicine, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010020, China)

Abstract: MicroRNA (miRNA), an important type of non-coding RNAs existing widely in viruses and eukaryotes, regulate gene expression at transcriptional and post-transcriptional levels. Recent studies have demonstrated that plant miRNAs could enter microorganisms, animals and human bodies to affect their physiological and pathological processes by cross-kingdom regulation of gene expression. This review summarized the current knowledge of cross-kingdom regulation of gene expression by plant miRNAs, introduced the research progress in intervention of human diseases with plant miRNAs, including anti-virus, anti-tumor, anti-inflammation, immune regulation, anti-fatigue, anti-fibrosis, vascular protection, nerve protection, etc., and analyzed the reasons why plant miRNAs remain stable *in vivo* and *in vitro* and the underlying mechanisms how they regulate human gene expression. Furthermore, the impact of cross-kingdom regulation by plant miRNAs on exploring new active ingredients of traditional Chinese herbs and elucidating their pharmacology were evaluated. Finally, "constructing the complex regulatory network of traditional Chinese medicine miRNAs in human body" and "exploring new mechanisms of gene expression regulation by traditional Chinese medicine miRNAs" were pointed out, which were two scientific problems worthy of further investigation.

Keywords: Plant miRNAs, Cross-kingdom regulation, Human diseases, Chinese medicine, Pharmacology

(责任编辑: 刘玥辰)