

МИКРОРНК КАК РЕГУЛЯТОРЫ ЭФФЕКТОВ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ В КЛЕТКАХ КОЖИ

© Т. Г. Рукша,¹ Е. Ю. Сергеева, Н. В. Палкина, М. Б. Аксененко,
А. В. Комина, Г. М. Климина, Р. Н. Белоногов

*Кафедра патофизиологии Красноярского государственного
медицинского университета им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, 660022;*

¹электронный адрес: tatyana_ruksha@mail.ru

МикроРНК относят к малым некодирующим РНК, участвующим в процессах регуляции экспрессии генов посредством деградации мРНК и ингибирования трансляции. В коже микроРНК являются активными модуляторами изменений экспрессии генов, связанных с эффектами экзогенных факторов, в том числе ультрафиолетового излучения. Механизмы данных процессов включают влияния микроРНК на транскрипционные факторы и компоненты сигнальных каскадов. Изменения уровней микроРНК начинают регистрироваться через несколько часов после воздействия ультрафиолетового излучения, что свидетельствует о наличии эффективных быстрых процессов в клетках кожи, модулирующих функциональный статус вышеуказанных молекул. Способность микроРНК к транспорту в экзосомах напрямую может быть связана с системными эффектами ультрафиолетового излучения, включающими в себя модификацию иммунного ответа, развитие воспаления после локального воздействия на кожу. Понимание данных процессов является важным в связи с возможностью целенаправленного влияния на экспрессию и активность микроРНК, что может иметь значение для диагностики и терапии фотодерматозов, а также злокачественных новообразований кожи.

Ключевые слова: кератиноциты, меланоциты, микроРНК, ультрафиолетовое излучение.

Принятые сокращения: ГТФ — гуанозинтрифосфат, УФИ — ультрафиолетовое излучение, 3'-UTR—3'-нетранслируемая область, RISC — RNA-induced silencing complex.

МикроРНК являются малыми некодирующими РНК, негативно регулирующими экспрессию генов посредством связывания с 3'-нетранслируемым регионом целевой (3'-UTR) мРНК, что в итоге вызывает деградацию или репрессию трансляции данной мРНК (Aftab et al., 2014). 3'-UTR-участок может содержать сразу несколько сайтов связывания для различных микроРНК, что обеспечивает одну из наиболее важных регуляторных характеристик микроРНК — одновременное воздействие на несколько мишеней с различными функциями. Это позволяет микроРНК одновременно контролировать различные процессы (Penna et al., 2015). В итоге микроРНК регулируют множество сигнальных внутриклеточных путей, в том числе вовлеченных в реализацию эффектов ультрафиолетового излучения (УФИ) в коже. В связи с тем что УФИ расценивается как один из основных этиологических факторов развития ряда заболеваний кожи и в первую очередь злокачественных новообразований кожи, понимание и дальнейшее исследование роли микроРНК в реакциях, индуцированных УФИ, являются важными для совершенствования ранней диагностики и терапии данных заболеваний.

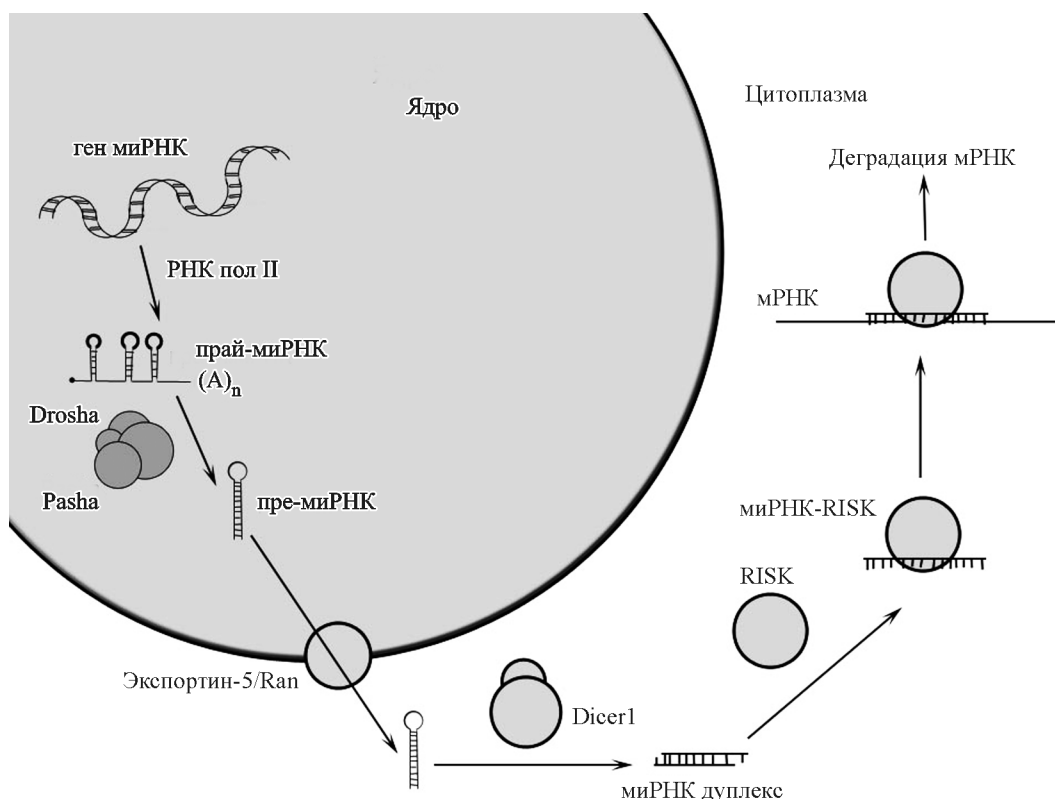
В настоящем обзоре представлены краткие сведения о биогенезе микроРНК и принципах составления их номенклатуры. Приводятся данные об изменениях регуляции посредством микроРНК механизмов внутриклеточ-

ной сигнализации после воздействия УФИ, а также современные представления о роли микроРНК в развитии патологических процессов в коже, индуцированных воздействием УФИ.

Синтез микроРНК и их номенклатура

Синтез микроРНК начинается в ядре на уровне образования транскрипта первичной микроРНК, прай-микроРНК. В дальнейшем эти транскрипты подвергаются воздействию ферментом нуклеазой-РНКзой III типа (RNase III-type nuclease, Drosha) и связывающимся с Drosha белком Pasha, что приводит к образованию шпилькоподобных структур размером 60—70 нуклеотидов — пре-микроРНК. С помощью белка экспортина происходит транслокация пре-микроРНК в цитоплазму клетки. В цитоплазме под воздействием фермента Dicer формируется асимметричное соединение — микроРНК—микроРНК. Вышеуказанный дуплекс контактирует с РНК-индуцированным комплексом выключения гена (RNA-induced silencing complex, RISC), после чего одна часть дуплекса становится функционально активной (см. рисунок) (Krol et al., 2010).

Каждой разновидности микроРНК присваивается название в соответствии с их существующей номенклату-



Схематическое изображение процесса синтеза микроРНК (миРНК) в клетке (адаптировано из: Alahari S., 2012).

Объяснение см. в тексте.

рой, представленной в электронной базе данных miRBase (www.mirbase.org), в которой содержатся сведения обо всех известных на сегодняшний день микроРНК. Функционально активные «зрелые» микроРНК обозначаются как «miR» с присоединением суффикса в виде цифрового значения, отражающего номенклатурный номер микроРНК. Предшественники микроРНК обозначаются «miR». Указываемый префикс обозначает вид организма, в котором определяется данная микроРНК, например: «hsa» — *Homo sapiens*, «mmu» — *Mus musculus* (Sen, 2014). Идентификационные номера микроРНК присваиваются на основе идентичности с последовательностями уже известных ранее микроРНК, т. е. для вновь идентифицированной микроРНК при отсутствии незначительно отличающейся по последовательности микроРНК присваивается следующий номер за последней известной. Если вновь идентифицированная микроРНК отличается от уже известной на одну или две пары оснований, то номер формируется как номер уже известной аналогичной микроРНК, к которому после цифрового значения присоединяется суффикс *a* или *b* соответственно (Griffiths-Jones, 2004). Для идентификации новых микроРНК можно использовать программу BLAST, с помощью которой анализируют фрагменты на степень их сходства с последовательностью известной микроРНК, для чего выбирают $E\text{-value} < 0.10$ (Legendre et al., 2005).

Паттерн экспрессии микроРНК обладает тканеспецифичностью, а также зависит от уровня развития ткани. С целью идентификации отдельных микроРНК генов-мишеней, которых может быть сравнительно большое число, используют биоинформационный анализ. С помощью биоинформационных методов было выявлено, что актив-

ность около 50 % всех генов, кодирующих белки, предположительно регулируется посредством микроРНК (Inui et al., 2010).

МикроРНК как регуляторы пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток кожи

Эксперименты, выполненные различными научными группами, показывают роль микроРНК в поддержании гомеостаза кожи как целостного органа за счет их участия в регуляции процессов пролиферации, дифференцировки и апоптоза. Первые указания на возможность вовлечения микроРНК в регуляцию апоптоза были получены на традиционной модели — *Drosophila* — в 2003 г., когда было обнаружено, что мутации гена, кодирующего miR-14, вызывают усиление апоптоза. Эти данные позволили предположить, что вышеуказанная микроРНК функционирует как супрессор клеточной гибели. Данному факту сразу же было уделено большое внимание, так как достоверно известно, что многие гены, связанные с регуляцией апоптоза у эукариот, содержат консервативные последовательности, а сам процесс клеточной гибели играет важную роль при развитии многих заболеваний, включая онкологические (Baehrecke, 2003). В коже влияние микроРНК на процессы пролиферации и апоптоза впервые было описано при исследовании функционирования транскрипционного фактора p63, когда было выявлено, что miR-203 влияет на экспрессию p63 во время формирования эпидермиса, снижает выраженность пролиферации кератиноцитов и стимулирует их дифференцировку (Lena et al., 2008; Yi et al., 2008). Позднее эффек-

ты miR-203 на дифференцировку и пролиферацию клеток кожи были также исследованы в условиях воздействия на кератиноциты патогенного фактора — сульфата горчицы. Были получены схожие данные: установлено, что miR-203 изменяет выраженность пролиферации клеток, а также уровень экспрессии кератина-1 — цитоплазматического белка, экспрессирующегося во время дифференцировки клеток эпидермиса (Derpe et al., 2016). Совсем недавно было выявлено, что экспрессия miR-203 в кератиноцитах регулируется галектином-7 — представителем семейства β -галактозидаза-связывающих белков, функционирующих в клетках ороговевающего эпителия, включая кератиноциты эпидермиса. Галектин-7 обладает способностью повышать уровень п-терминальной киназы cJUN, что необходимо для экспрессии miR-203 (Chen et al., 2016). Таким образом, мишенями микроРНК в конечном итоге являются транскрипционные факторы, участвующие в поддержании процессов пролиферации и дифференцировки клеток, но также структурные белки, связанные со специфическими функциями дифференцированных клеток.

В исследовании Вонга с соавторами (Wang et al., 2015b) для идентификации микроРНК, регулирующих дифференцировку кератиноцитов, осуществляли инкубацию последних с ионами кальция в течение 5 сут, что в дальнейшем позволило определить микроРНК, демонстрирующие максимальные изменения уровня экспрессии. Полученные данные были подтверждены с помощью ПЦР в реальном времени, в результате чего было обнаружено, что максимальные изменения экспрессии характерны для miR-378b. Повышение уровня miR-378b происходило параллельно с увеличением экспрессии мРНК маркеров дифференцировки кератиноцитов — кератина-1, кератина-10, инволюкрина, филагтрина и, как выяснилось в дальнейшем, опосредуется связыванием miR-378b с белком «домашнего хозяйства» NKX3.1. NKX3.1 регулирует пролиферацию и дифференцировку клеток, подавление активности NKX3.1 активирует пролиферацию клеток и усиливает их способность к инвазии (Wang et al., 2015b). Эти данные позволяют предположить, что модуляция функций белка NKX3.1 с помощью miR-378b может иметь значение при исследовании механизмов прогрессии злокачественных новообразований и метастазирования.

Показательным примером микроРНК, выступающими pleiotропными регуляторами функций клеток, является miR-21, проонкогенные свойства которой в отношении пролиферации и апоптоза клеток, в том числе опухолевых, были описаны одними из первых из всех микроРНК (Chan et al., 2005; Cheng et al., 2005). В нормальных кератиноцитах miR-21 через сигнальный путь, опосредуемый костными морфогенетическими белками (BMPs; bone morphogenetic proteins), негативно регулирует гены-супрессоры опухолевого роста, такие как *Pten*, *Timp3*, *Pdcd4* и *Tpm1* (Ahmed et al., 2011). При культивировании интрадермальных клеток CD3+, полученных от больных псориазом, целенаправленное повышение miR-21 вызывало снижение уровня апоптоза в этих клетках (Meisgen et al., 2012). Схожая тенденция была выявлена в дермальных фибробластах: трансфекция в эти клетки ингибитора miR-21 или имитатора изменяла выраженность апоптоза и синтеза ДНК (Liu et al., 2014). Таким образом, miR-21 является примером молекулы мультифункционального типа, регулирующей различные аспекты жизнедеятельности клеток, в том числе кожи, — апоптоз, репарацию

ДНК, реакции при действии повреждающих факторов и иммунные реакции.

Помимо этого, микроРНК участвуют в выполнении нормальных функций кожи: иммунной, водно-ионнообменной, защитной и др. Так, miR-675 стимулирует меланогенез посредством влияния на транскрипционный фактор MITF, являющийся ключевым регулятором созревания и функционирования меланоцитов (Kim et al., 2014). Трансфекция miR-203 в клетки повышала продукцию меланина путем регуляции транспорта меланосом. Затем было подтверждено, что уровень белков семейства кинезинов, обеспечивающих внутриклеточный транспорт меланосом, регулируется посредством miR-203 (Feig et al., 2015). Экспрессия белков, связанных с гидратацией кожи (аквапорина-3 и клаудина-1), регулируется let-7-5p (Ratovitski et al., 2013). miR-155 модулирует процессы миграции в кожу иммунокомпетентных клеток и выработку провоспалительных факторов, таких как IL-1 β и TNF- α (Yang et al., 2014).

Таким образом, микроРНК включены в обеспечение практически всех известных функций кожи. Наиболее известна их роль в регуляции пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток кожи, что имеет значение при развитии серьезных и распространенных дерматологических заболеваний, таких как псориаз и опухоли кожи. Поскольку развитие (течение) этих патологических изменений также связано с эффектами УФВ в коже, далее будут рассмотрены изменения уровня и функциональной активности микроРНК после действия УФВ.

Изменение микроРНК в нормальных клетках кожи после воздействия УФВ

Кожа является органом, который подвергается непосредственному воздействию УФВ. Как известно, при воздействии УФВ на эукариотические клетки в последних развивается специфический ответ, заключающийся в аресте клеточного цикла, активации процессов репарации ДНК и изменении экспрессии генов. Нарушения этих процессов приводят к развитию иммуносупрессии, воспаления, фотостарения и канцерогенеза.

Механизмы регуляции микроРНК посредством УФВ являются малоизученными. Вместе с тем известно, что УФВ приводит к усиленному образованию так называемых цитоплазматических стрессорных РНК-гранул, где кумулируются нетранслируемые мРНК и куда транслируются RISC-комплексы, подтверждая тем самым возможность деградации мРНК с помощью микроРНК после воздействия повреждающих факторов, в том числе УФВ (Eulalio et al., 2007; Pothof et al., 2009a). Изменения экспрессии микроРНК наиболее значимо проявляются в первые часы после воздействия УФВ, и это указывает на то, что регуляция экспрессии генов посредством микроРНК осуществляется раньше других изменений на транскрипционном уровне (Pothof et al., 2009b). МикроРНК, уровни которых изменяются после воздействия УФВ, представлены в табл. 1.

При воздействии на нормальные кератиноциты УФВ В-типа в дозах 30 и 60 мДж/см² максимальные изменения в уровне экспрессии микроРНК наблюдали через 4 ч после воздействия. При этом в некоторых клетках через 24 ч наблюдали нормализацию уровня микроРНК, в других он оставался измененным. На основании этого было выделено 4 различных паттерна изменений уровней мик-

Характер изменения уровней микроРНК в нормальных клетках кожи в зависимости от типа УФ

Тип УФ	Тип клеток	Типы микроРНК и изменение их уровня (показано стрелками)	
УФ А-типа	Кератиноциты	miR-236, miR-376 miR-494, miR-4876	↑ ↓
	Меланоциты	Нет данных То же	↑ ↓
УФ В-типа	Кератиноциты	miR-let-7a, miR-let-7b, miR-let-7c, miR-let-7f, miR-let-7g, miR-16, miR-18b, miR-22, miR-23a, miR-23b, miR-24, miR-26a, miR-26a-2*, miR-27a, miR-27b, miR-29a, miR-30a*, miR-31, miR-34a, miR-93, miR-96, miR-98, miR-125b, miR-185, miR-186, miR-197, miR-200b, miR-221, miR-361, miR-365, miR-487b, miR-501, miR-543 miR-23a, miR-126, miR-138-1*, miR-138-2*, miR-143, miR-193b*, miR-296-5p, miR-323-3p, miR-326, miR-376b, miR-423-5p, miR-489, miR-493*, miR-542-5p	↑ ↓
	Меланоциты	miR-19b-1*, miR-29b-1*, miR-129-3p, miR-132, miR-132*, miR-134, miR-135a*, miR-145, miR-150*, miR-188-5p, miR-197, miR-223*, miR-340, miR-371-5p, miR-494, miR-552, miR-595, miR-602, miR-610, miR-629*, miR-630, miR-636, miR-638, miR-923, miR-939, miR-940, miR-1180, miR-1181, miR-1207-5p, miR-1226*, miR-1307	↑
		miR-let-7e*, miR-15b*, miR-25*, miR-29a*, miR-32*, miR-137, miR-187*, miR-300, miR-362-3p, miR-450b-3p, miR-484, miR-501-5p, miR-548d-5p, miR-548g, miR-574-3p, miR-892a, miR-1236	↓
	Фибробласты	miR-21, miR-365 miR-296, miR-376	↑ ↓

роРНК в кератиноцитах после действия УФ. Первая группа включает в себя miR-326, miR-423-5p, miR-193b* и miR-542-5p. Для этих микроРНК наблюдали снижение уровня более чем в два раза через 4 ч после облучения, а через 24 ч уровни данных микроРНК снижались далее до показателей контроля. Для второй группы (miR-26a, miR-let-7c, miR-let-7f, miR-26a-2*, miR-543 и miR-487b) характерно первоначальное повышение уровней микроРНК с последующим возвратом к исходным значениям через 24 ч. Третий вариант паттерна (miR-31, miR-24, miR-27b, miR-let-7b, miR-200b, miR-125b, miR-27a, miR-let-7g, miR-23a, miR-98, miR-221, miR-186, miR-30a*, miR-22, miR-96, miR-16, miR-18b, miR-34a, miR-let-7a, miR-93, miR-185, miR-197, miR-197, miR-365, miR-23b и miR-29) характеризовался повышением уровней микроРНК и сохранением их повышенных значений через 24 ч после проведения облучения. Четвертый вариант профиля (miR-489, miR-138-1*, miR-138-2*, miR-23a*, miR-296-5p, miR-376b, miR-493*, miR-126 и miR-143) отличался снижением уровней микроРНК как через 4, так и через 24 ч после облучения. При этом изменения уровней некоторых микроРНК (miR-34a, miR-16, miR-24 и miR-31) ранее описывали после воздействия УФ на клетки других типов, изменения других микроРНК, в частности miR-27b, miR-98, miR-22 и miR-125b, были специфичными для кератиноцитов. Дальнейший анализ генов-мишеней в этом исследовании выявил, что измененные микроРНК регулируют гены репарации ДНК, что, с одной стороны, является вполне объяснимым, с другой — поможет расширить понимание механизмов развития заболеваний кожи, связанных с повреждающими воздействиями УФ, таких как атаксия-телеангиэктазия, пигментная ксеродерма (Zhou et al., 2012).

Появление данных о том, что микроРНК могут содержаться в экзосомах — внеклеточных микровезикулах, открыло новые перспективы исследований микроРНК как потенциальных диагностических и прогностических мар-

керов. Это также разъясняет, каким образом микроРНК могут реализовывать регуляторные функции на расстоянии, что имеет значение, например, при формировании метастатических ниш в органах-мишенях еще на преметастатической фазе развития опухоли. В отношении эффектов УФ в коже и функционирования экзосом выявлено, что УФ вызывает повышение уровня miR-21 в клетках мышечного эпидермиса JB6, как непосредственно подвергшихся воздействию УФ, так и локализованных рядом с зоной облучения. Облученные клетки выделяют микроРНК посредством экзосом (Melnik, 2015). Как уже указывалось выше, miR-21 характеризуется выраженными проонкогенными свойствами, широко экспрессируется при многих злокачественных новообразованиях. Важными мишенями miR-21 являются мРНК генов-супрессоров опухолевого роста, регуляторов клеточного цикла и апоптоза. miR-21 вызывает ингибирование экспрессии мРНК белков-онкосупрессоров PTEN и PDCD4, негативно регулирует p53-опосредованный сигнальный путь (Wang et al., 2011). Возвращаясь к вопросу функционирования экзосом, стоит также добавить, что после воздействия УФ содержание РНК в экзосомах изменяется, это может приводить к изменению функционирования находящихся в них микроРНК. В частности, выявлено, что экзосомы, высвобождаемые клетками после воздействия УФ, теряют в дальнейшем способность обеспечивать защиту от негативного влияния активных форм кислорода, что приводит к снижению жизнеспособности этих клеток (Eldh et al., 2010).

УФ типов А и В по-разному влияют на экспрессию микроРНК в кератиноцитах. Воздействие УФ В-типа приводит к наиболее значимому повышению miR-361 и miR-501, в то время как при воздействии УФ А-типа повышаются уровни miR-236 и miR-376. Напротив, уровни miR-494 и miR-4876 были наиболее снижены после воздействия УФ А-типа, а miR-23a и miR-323-3p — УФ В-типа. Гены-мишени микроРНК, измененных после воз-

действия УФ А-типа, преимущественно связаны с регуляцией роста и развития клеток (miR-376), после УФ В-типа — роста, пролиферации и гибели клеток (miR-361 и miR-501). Сочетанное воздействие УФ типов А и В вызывало в первую очередь изменения содержания микроРНК, регулирующих клеточный цикл и подвижность клеток (Крамер et al., 2013). В другом исследовании при воздействии на кожу УФ В-типа выявили изменение уровней микроРНК в дерме: с помощью микрочипирования было обнаружено, что УФ В-типа в дозе 50 мДж/см² вызывает повышение уровня 35 микроРНК и снижение уровня 7 микроРНК более чем в 1.5 раза по сравнению с контролем. Идентификация генов-мишеней для данных микроРНК показала, что их основными мишенями являются гены, участвующие в регуляции клеточного цикла, апоптоза, роста клеток и пролиферации. Наибольшие изменения в уровне экспрессии были отмечены для генов, регулирующих межклеточные взаимодействия, а также функционирование клеток после воздействия триггерных факторов, что позволяет предположить участие ряда микроРНК в обеспечении данных процессов (Cha et al., 2014a). Облучение УФ В-типа в дозе 30 мДж/см² вызывает менее разнообразные изменения: повышение числа апоптотических кератиноцитов линии HaCaT, а также однонаправленное повышение уровня miR-1246 через 24 и 48 ч параллельно с уровнем фоточувствительного белка-онкосупрессора p53. Кроме того, miR-1246 повышает уровень апоптоза кератиноцитов посредством супрессии антиапоптотической эффекторной Rho-ГТФазы RTKN2 (Li et al., 2014). Далее было показано, что miR-1246 действительно находится под регуляторным контролем p53 и может влиять на пролиферацию клеток посредством воздействия на онкоген NF1B (Zhang et al., 2015). В экспериментах на клетках этой же линии было выявлено повышение уровня miR-23a через 4 и 24 ч после воздействия УФ В-типа. Целенаправленное снижение уровня miR-23a стимулировало развитие УФ-опосредованного апоптоза в клетках. Напротив, повышение уровня miR-23a вызывало снижение уровня топоизомеразы-1 — фермента, участвующего в процессах репликации и транскрипции, эффекторной каспазы-7, а также серин-треониновой протеинкиназы 4 (STK4), также принимающей участие в регуляции апоптоза. Это позволило авторам предположить, что miR-23a обладает протективным эффектом в клетках HaCaT в отношении повреждения, вызванного УФ В-типа (Guo et al., 2013b).

В исследовании на клетках мыши линии NIH3T3 было определено, что после воздействия УФ В-типа в дозе 50 Дж/м² уровни miR-21 и miR-365 были максимально повышены, а miR-296 и -376 — снижены (Guo et al., 2009). Если для miR-21 и miR-296 описаны преимущественно их проонкогенные свойства, то miR-365 оказывает противоположные эффекты: посредством воздействия на циклин D1 miR-365 ингибирует пролиферацию клеток рака желудка (Guo et al., 2013a). С другой стороны, клетки HaCaT^{pre-miR-365-2}, характеризующиеся повышением экспрессии miR-365, отличались повышенной способностью к формированию опухолей *in vivo* на модели бестимусных животных. miR-365 считают одной из самых фоточувствительных микроРНК, при этом ее активность может быть различной в зависимости от типа клеток (Zhou et al., 2013b).

МикроРНК опосредуют эффекты УФ на меланоциты. Выявлено, что УФ В-типа в дозе 100 мДж/см² вызывало изменения в этих клетках — увеличение числа от-

ростков и их удлинение. При этом подобные морфологические изменения наблюдали как в монокультуре меланоцитов, так и при их сокультивировании с кератиноцитами. С помощью микрочипирования были определены микроРНК, уровни которых изменялись в вышеуказанном эксперименте. Дальнейший анализ генов-мишеней показал, что 14 генов, участвующих в регуляции образования отростков меланоцитов, имеют сайты связывания с miR-340. Было показано, что miR-340 регулирует уровень экспрессии RHOA, RAC1 и CDC42 — малых ГТФаз, играющих ключевую роль в регуляции морфологии клеток. Более того, белок RHOA, экспрессию которого модулирует miR-340, — это белок одноименного сигнального пути, связывающего ансамбли фокальных адгезинов и стрессорные актиновые волокна. RHOA снижает процесс образования отростков в меланоцитах, в том числе после воздействия УФ (Jian et al., 2014). В другом исследовании при воздействии УФ В-типа на меланоциты мыши было выявлено 15-кратное повышение уровня miR-145, коррелируемое с изменением экспрессии генов тирозиназы — лимитирующего фермента при синтезе меланина, а также белка, связанного с тирозиназой Trp1 — маркера дифференцировки меланоцитов, транскрипционного фактора *mitf*, регулирующего экспрессию ряда генов, специфичных для меланоцитов. Таким образом, изменения экспрессии вышеуказанных генов при модуляции уровней miR-145 позволили говорить о непосредственном влиянии miR-145 в меланогенезе (Dyano et al., 2013).

Эффекты веществ, обладающих фотопротективным действием, тоже могут быть опосредованы микроРНК. В частности, арктиин, получаемый из растений *Arctium lappa*, реализует фотопротективное действие в нормальных дермальных фибробластах, в том числе за счет изменения профиля экспрессии ряда микроРНК. При этом микроРНК, уровни которых изменяются наиболее значительно, участвуют в регуляции MAPK- и Wnt-сигнальных каскадов, а также других механизмов передачи сигнала, имеющих значение в канцерогенезе (Lee et al., 2014). Производное рутина, троксерутин, повышает резистентность фибробластов к повреждающему действию УФ В-типа, вызывая изменения функционирования микроРНК, преимущественно влияющих на гены транскрипционных факторов, внутриклеточные механизмы передачи сигнала, метаболические процессы и пролиферацию клеток (Cha et al., 2014b). Можно заключить, что микроРНК регулируют ряд изменений, происходящих в различных типах клеток кожи после воздействия УФ, в том числе индукцию апоптоза, изменение темпов пролиферации и морфологических особенностей клеток.

МикроРНК-опосредованные изменения функционирования сигнальных систем в клетках кожи после УФ

Одной из ключевых молекулярных мишеней в кератиноцитах при воздействии УФ является фоточувствительная киназа p38, относящаяся к классу митогенактивируемых протеинкиназ одноименного сигнального каскада MAPK. Считается, что сигнальный путь MAPK является центральным звеном, связывающим изменения функционирования сигнальных механизмов в клетке под воздействием УФ и ответ клетки на УФ-индуцированное повреждение ДНК (Lopez-Camarillo et al., 2012). Собственно MAPK подразделяется на 3 сигнальных пути —

экстраклеточные сигналрегулирующие киназы (ERK), p38 MAPK и сигнальный путь cJun NH₂-терминальных киназ. Снижение уровня p38 в кератиноцитах человека опосредовано miR-125 путем связывания последней с 3'-UTR p38. В свою очередь для активации miR-125 необходима УФ-индуцированная активация транскрипционного фактора NF-κB (Tan et al., 2012a). При воздействии УФ в кератиноцитах наряду с повышением уровня miR-125 повышается уровень miR-22, но влияния данной микроРНК на экспрессию и активность p38 выявлено не было. Однако ранее было установлено, что УФ-обусловленное повышение содержания miR-22 в кератиноцитах обратно коррелирует с экспрессией гена опухолевого супрессора PTEN. Помимо этого, повышение уровня miR-22 вызывает ингибирование каспазного сигнального каскада, что способствует повышению выживаемости клеток после воздействия УФ (Tan et al., 2012b).

УФ В-типа вызывает повышение уровня miR-141 при воздействии в дозах 30, 60 и 90 мДж/см², а также приводит к снижению экспрессии PTEN и индуцирует развитие апоптоза. PTEN дефосфорилирует фосфоинозитол-3,4,5-трифосфат (PIP3), сигнальную молекулу фосфоинозитид-3-киназного пути. Инактивация PTEN, наблюдаемая при ряде злокачественных новообразований, сопровождается повышением активности Akt, что связано с усилением интенсивности пролиферации опухолевых клеток, усилением их способности к инвазии и снижением апоптоза. Трансфекция в клетки HaCaT анти-miR-141 вызвала восстановление уровня PTEN после воздействия УФ, снижала выраженность апоптоза, что указывает на участие miR-141 в реализации УФ-индуцированного апоптоза (Li et al., 2011). Схожий эксперимент был выполнен в отношении miR-23: двойная трансфекция pre-miR-23 и ее предполагаемой мишени RRAS2 в клетки линии HaCaT показала, что miR-23 регулирует эффективность трансляции мРНК RRAS2. Известно, что RRAS2 опосредует процессы опухолевой трансформации и выживаемости клеток через активацию фосфатидилинозитол-3-киназного пути и транскрипционный фактор NF-κB. При этом экспрессия RRAS2 коррелирует с агрессивным течением рака кожи и является УФ-зависимой (Kraemer, 2013). Остается неясным, действует ли УФ на miR-23 или эти два фактора влияют на функционирование белка RRAS2 независимо.

Обнаружено, что miR-155 на посттранскрипционном уровне регулирует экспрессию транскрипционного фактора раннего ответа c-Jun в дермальных фибробластах после воздействия УФ А-типа (Song et al., 2012). Необходимо отметить, что miR-155 характеризуется проонкогенными свойствами во многих типах опухолевых клеток, повышение ее уровня ассоциировано с развитием метастазирования и низкими показателями выживаемости (Yang et al., 2013). Вместе с тем в клетках меланомы по сравнению с нормальными меланоцитами экспрессия miR-155 снижена, а ее восстановление до нормального уровня приводит к ингибированию пролиферации клеток и индукции апоптоза (Thomsen et al., 2015). C-Jun — проонкогенный транскрипционный фактор, активность которого повышается после воздействия УФ и других повреждающих факторов, провоспалительных цитокинов при ингибировании синтеза ДНК и белка (Saadeddin et al., 2009). Участие miR-155 в модуляции уровня c-Jun свидетельствует о ее роли в регуляции не только функций данного белка непосредственно, но и сигнальных механиз-

мов JNK, неканонического пути Wnt, которые играют важную роль в функционировании стволовых меланоцитов, их дифференцировке (Yamada et al., 2013).

Таким образом, микроРНК являются активными модуляторами систем передачи сигнала в клетках кожи, при этом точные механизмы изменения функциональной активности микроРНК при воздействии УФ являются до конца невыясненными и требуют дальнейшего разяснения.

Влияние микроРНК на гены-супрессоры опухолевого роста, регуляторы клеточного цикла и системы репарации ДНК при воздействии УФ

Известно, что УФ вызывает изменение транскрипции и посттрансляционные модификации белков, связанных с процессами ограничения опухолевой трансформации клеток. С-тус является онкобелком, играющим значимую роль в регуляции роста и пролиферации клеток посредством воздействия на большое число генов, вовлеченных в процессы клеточного цикла, апоптоза, дифференцировки, ангиогенеза и обновления стволовых клеток. Вместе с тем гиперэкспрессия с-туса связана с нестабильностью генома. Известно, что УФ вызывает высвобождение рибосомного белка L11, регулирующего уровень с-туса через его miR-24-опосредованную деградацию в ответ на индукцию рибосомного стресса. После воздействия УФ происходит транслокация L11 из ядра клетки в цитоплазму, где он активирует связывание miR-130-ассоциированного сайленсинг-комплекса (miRNA-mediated silencing complex, miRISC) с 3'-UTR мРНК с-туса. Помимо этого, после воздействия ультрафиолетовым облучением L11 активирует взаимодействие miR-130a-3p с мРНК с-туса, вызывая тем самым снижение уровней мРНК, и белка с-туса. Последнее приводит к снижению пролиферации клеток (Li et al., 2015).

Продуктом гена *CDKN2A* является циклинзависимый киназный ингибитор p16^{INK4a}, функциональная значимость которого заключается в ингибировании клеточного цикла при наличии повреждения ДНК (Foulkes et al., 1997). Мутации гена *CDKN2A* играют ключевую роль в развитии случаев семейной меланомы кожи (Jenkins et al., 2013). Вместе с тем в первичных дермальных фибробластах p16 модулирует экспрессию нескольких микроРНК, в частности позитивно регулирует транскрипцию miR-141 и miR-146b-5p посредством связывания их промоторов с транскрипционным фактором Sp1. Уровни указанных микроРНК изменяются в ответ на повреждение ДНК, индуцированное УФ. Эти же микроРНК выполняют эффекторную роль при УФ-индуцированном апоптозе (Al-Khalaf et al., 2013). Следовательно, miR-141 и miR-146b-5p могут принимать участие в процессах регуляции клеточного цикла, а также в реакциях кожи, вызванных УФ, таких как фотостарение. В регуляции процессов фотостарения также описана роль miR-34c-5p, при снижении уровня которой происходит замедление УФ-зависимого фотостарения дермальных фибробластов (Zhou et al., 2013a). В реализации УФ-индуцированного фотостарения фибробластов также показана связь между miR-101 и ее мишенью — гистоновой метилтрансферазой Ezh2 — ферментом, участвующим в метилировании ДНК. Было выявлено, что повышение уровня miR-101 усиливает процессы старения фибробластов

кожи после воздействия УФИ. Однако снижение экспрессии miR-101 является недостаточным для блокирования этих изменений, что указывает на комплексный характер изменений, происходящих в фибробластах после воздействия УФИ (Greussing et al., 2013). Ранее было выявлено, что Ezh2 регулируется miR-101 (Varambally et al., 2008). И хотя непосредственное нокаутирование miR-101 в сочетании с воздействием УФИ не приводило к изменению Ezh2, возможно, что УФИ-опосредованное изменение уровня Ezh2 также связано с активностью miR-101.

В клетках эпидермиса мыши линии JB6 после воздействия УФИ В-типа происходит опосредуемое miR-21 ингибирование апоптозассоциированного белка PDCD4, связанное также с изменением уровня активных форм кислорода и активацией сигнальных механизмов p38 и ERK (Hou et al., 2013), что позволяет расширить представление о функционировании проонкогенной miR-21, ее связи с оксидантным статусом клетки, а также различными сигнальными путями.

Результаты одного из недавних исследований позволили идентифицировать новый возможный механизм изменения функционирования онкогенов и генов-супрессоров опухолевого роста посредством микроРНК — участие последних в редактировании РНК (Zhang et al., 2016). Редактирование РНК представляет собой процесс посттранскрипционного изменения последовательности нуклеотидов, который, как предполагается, проходит во всех типах РНК (Licht, Jantsch, 2016). Обнаружено, что хотя в опухолевых клетках не выявлено специфичных участков редактирования РНК, участки связывания мРНК с микроРНК (в том числе с микроРНК-супрессорами опухолевого роста или онкогенами) в высокой степени подвергаются редактированию, что приводит к изменению степени связывания мРНК и микроРНК и как следствие — к изменению эффектов онкогенов и генов-супрессоров опухолевого роста (Zhang et al., 2016).

Роль микроРНК в развитии злокачественных новообразований кожи, УФИ-индуцированное изменение уровней микроРНК в опухолевых клетках кожи

Выделяют три наиболее часто встречающихся вида злокачественных новообразований кожи — базально-клеточный рак кожи, плоскоклеточный рак кожи и меланома. Основной причиной развития плоскоклеточного рака кожи является воздействие УФИ. В 65 % случаев плоскоклеточного рака кожи он возникает на фоне наличия предракового состояния — актинического кератоза (Criscione et al., 2009). Сравнительный анализ транскриптома показал, что ключевую роль в трансформации актинического кератоза в плоскоклеточный рак кожи играет сигнальный механизм МАРК (Lambert et al., 2014). Выявлено, что в клетках плоскоклеточного рака A431 после воздействия УФИ происходит активация сигнального трансдуктора и активатора транскрипции 3 (STAT3), обладающего антиапоптотической активностью, а также STAT3-сигнального пути. Эти изменения вызывают ингибирование транскрипции промотора miR-383 (Liao et al., 2015). miR-383 в свою очередь подавляет пролиферацию опухолевых клеток (Xu et al., 2014; Wang et al., 2015a).

Различные типы УФИ по-разному влияют на уровни микроРНК в опухолевых клетках кожи. Так, УФИ А-типа

в клетках плоскоклеточного рака кожи вызывает повышение содержания miR-21, miR-203 и miR-205, в то время как УФИ В-типа только незначительно повышает уровень miR-203, снижает уровень miR-205 и не оказывает эффекта на экспрессию miR-21. Интересным является факт повышения экспрессии проонкогенной miR-21 при воздействии УФИ только А-типа, которое считается патогенетически более значимым при плоскоклеточном раке кожи (Dziunycz et al., 2010).

Меланома кожи является одной из наиболее гетерогенных и сложных неопластических систем. Анализ результатов полногеномного секвенирования подтверждает высокий процент мутаций в клетках этой опухоли, которые имеют специфические для мутагенного воздействия УФИ признаки. Меланома в целом является одним из новообразований с самым высоким процентом мутаций в клетках, при этом многие из них представляют собой характерные для эффектов УФИ замены цитидина на тимидин (C > T) (Hodis et al., 2012). Профилирование микроРНК в клетках меланомы (Jukic et al., 2010; Poliseno et al., 2012; Xu et al., 2012) выявило изменения характера экспрессии ряда микроРНК, гены-мишени которых имеют важные для меланомагенеза функции. В частности, при меланоме определяется повышение уровня miR-21 (Yang et al., 2011), содержание которой изменяется под воздействием УФИ, а онкогенные свойства показаны для многих злокачественных новообразований. Основным регулятором уровня miR-21 является транскрипционный фактор STAT3. Влияние miR-21 на пролиферацию, апоптоз и инвазию клеток меланомы осуществляется посредством связывания данной микроРНК с 3'-UTR участками генов-супрессоров опухолевого роста, негативных регуляторов пролиферации клеток BTG2 и SPRY2 (Yang et al., 2011). Как уже указывалось выше, STAT3 активируется при воздействии УФИ на нормальные и трансформированные клетки (Bourguignon, Bikle, 2015). УФИ вызывает STAT1-опосредованное повышение в клетках меланомы кластера miR-29a/b1. Это в свою очередь приводит к снижению уровня интерферона γ и напрямую связано с уклонением опухоли от иммунного надзора, так как интерферон γ усиливает экспрессию молекул I и II классов главного комплекса гистосовместимости на поверхности опухолевых клеток и изменяет паттерн экспрессии антигенпредставляемых опухолевых пептидов (Schmitt et al., 2012).

Карцинома клеток Меркеля является опухолью кожи нейроэндокринного происхождения, в патогенезе которой отводят роль полиомавирусу, иммуносупрессии, а также воздействию УФИ. В клетках карциномы клеток Меркеля выявлено повышение кластера микроРНК 183/96/182, который активирует сигнальный путь PI3K/АКТ/mTOR, а также посредством miR-183 влияет на функционирование уже упоминаемого выше онкосупрессора PTEN (Ning et al., 2014). На сегодняшний день нет данных о модуляции вышеуказанных микроРНК УФИ, хотя достоверно известно, что последнее вызывает апоптоз клеток меланомы B16 посредством активации PI3K/АКТ/mTOR (Rafiq et al., 2015), а также активацию данного сигнального каскада в клетках нормальной кожи после воздействия УФИ (Bermudez et al., 2015).

В целом в процессе опухолевой трансформации, индуцируемой УФИ, микроРНК могут играть роль медиаторов изменений функционирования сигнальных каскадов, а также вносить вклад в развитие иммунопатологических реакций.

Основные эффекты изменения экспрессии микроРНК после УФВ и их возможные механизмы

Характер изменения экспрессии	Регуляция пролиферации клеток	Резистентность к апоптозу	Нестабильность генома	Изменения морфологии клеток, синтез меланина
↑	miR-21, miR-30a, miR-99, miR-365, miR-376c, miR-630, miR-638	miR-22, miR-23a, miR-30a, miR-99, miR-125b, miR-630, miR-638	miR-22	miR-145, miR-150, miR-340
↓	miR-218, miR-296, miR-299, miR-374a, miR-450, miR-495, miR-1207		miR-296	
Механизмы реализации данных эффектов	Связывание с мРНК генов-регуляторов клеточного цикла, апоптоза, пролиферации:		Регуляция генов репарации ДНК	Регуляция малых ГТФаз
	Изменение уровня циклина D1	↓ уровня топоизомеразы 1		Изменение экспрессии тирозиназы
	Модуляция уровня с-мус	↓ уровня опухолевого супрессора PTEN		Изменение экспрессии белка, связывающегося с тирозиназой 1
		Ингибирование апоптозассоциированного белка PDCD4		Изменение экспрессии MITF
		Активация антиапоптотического транскрипционного фактора STAT3		Изменение функции гистоновой метилтрансферазы Ezh2

Заключение

Таким образом, микроРНК являются важными регуляторами эффектов УФВ в клетках кожи. Нарушения активности микроРНК связаны с изменениями различных аспектов функционирования нормальных клеток кожи (табл. 2) и имеют высокую значимость при развитии патологических состояний и дерматологических заболеваний, в первую очередь таких как меланома кожи и плоскоклеточный рак кожи, но также и фотостарение, пигментная ксеродерма.

Мишенями микроРНК являются компоненты сигнальных путей, регулирующих интенсивность процессов пролиферации, дифференцировки клеток и апоптоза, а также транскрипционные факторы, изменяющие процесс синтеза мРНК. С точки зрения клеточной биологии представляет интерес роль микроРНК в изменениях таких функциональных свойств клеток кожи, как их подвижность и межклеточные взаимодействия.

Несомненно важным является факт изменения уровня экспрессии микроРНК всего лишь через несколько часов после воздействия УФВ, что свидетельствует о наличии быстрых механизмов регуляции их активности под воздействием экзогенных факторов. Остается открытым вопрос о том, посредством каких механизмов регулируется изменение экспрессии и активности самих микроРНК после воздействия УФВ. Вероятно, начальными этапами этих механизмов могут выступать эпигенетические изменения промоторов генов микроРНК или нарушения работы ферментов, связанных с синтезом данных молекул (Acunzo, Croce, 2015).

Результаты сравнительно недавних исследований экзосомных микроРНК открывают новые перспективы в понимании как системных, так и дистантных изменений в организме при локальном воздействии УФВ на кожу.

Дальнейшее изучение механизмов функционирования микроРНК после воздействия повреждающих факто-

ров является актуальным для понимания развития патологических изменений в клетке. Результаты экспериментальных исследований модуляции уровней экспрессии и активности микроРНК *in vitro* и *in vivo* позволяют предположить, что целенаправленное воздействие на микроРНК может рассматриваться как новое перспективное направление для диагностики и терапии в фундаментальной и клинической медицине.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 14-15-00074).

Список литературы

- Acunzo M., Croce C. M. 2015. MicroRNA in cancer and cachexia — a mini-review. *J. Infect. Dis.* 212 (Suppl. 1) : S74—S77.
- Aftab M. N., Dinger M. E., Perera R. J. 2014. The role of microRNAs and long non-coding RNAs in the pathology, diagnosis, and management of melanoma. *Arch. Biochem. Biophys.* 563 : 60—70.
- Ahmed M. I., Mardaryev A. N., Lewis C. J., Sharov A. A., Botchkareva N. V. 2011. MicroRNA-21 is an important downstream component of BMP signalling in epidermal keratinocytes. *J. Cell Sci.* 124 : 3399—3404.
- Al-Khalaf H. H., Mohideen P., Nallar S. C., Kalvakolanu D. V., Aboussekhra A. 2013. The cyclin-dependent kinase inhibitor p16INK4a physically interacts with transcription factor Sp1 and cyclin-dependent kinase 4 to transactivate microRNA-141 and microRNA-146b-5p spontaneously and in response to ultraviolet light-induced DNA damage. *J. Biol. Chem.* 288 : 35 511—35 525.
- Baehrecke E. H. 2003. miRNAs: micro managers of programmed cell death. *Curr. Biol.* 13 : R473—R475.
- Bermudez Y., Stratton S. P., Curiel-Lewandrowski C., Warnke J., Hu C., Bowden G. T., Dickinson S. E., Dong Z., Bode A. M., Saboda K., Brooks C. A., Petricoin E. F., 3rd, Hurst C. A., Alberts D. S., Einspahr J. G. 2015. Activation of the PI3K/Akt/mTOR and MAPK signaling pathways in response to acute solar-simulated light exposure of human skin. *Cancer Prev. Res.* 8 : 720—728.

- Bourguignon L. Y. W., Bikle D. 2015. Selective hyaluron—CD44 signaling promotes miRNA-21 expression and interacts with vitamin D function during cutaneous squamous cell carcinomas progression following UV irradiation. *Front. Immunol.* 6 : 224.
- Cha H. J., Kim O. Y., Lee G. T., Lee K. S., Lee J. H., Park I. C., Lee S. J., Kim Y. R., Ahn K. J., An I. S., An S., Bae S. 2014a. Identification of ultraviolet B radiation-induced microRNAs in normal human dermal papilla cells. *Mol. Med. Rep.* 10 : 1663—1760.
- Cha H. J., Lee K. S., Lee G. T., Lee K. K., Hong J. T., Lee S. N., Jang H. H., Lee J. H., Park I. C., Kim Y. R., Ahn K. J., Kwon S. B., An I. S., An S., Bae S. 2014b. Altered miRNA expression profiles are involved in the protective effects of troloxerutin against ultraviolet B radiation in normal human dermal fibroblasts. *Int. J. Mol. Med.* 33 : 957—963.
- Chan J. A., Krichevsky A. M., Kosik K. S. 2005. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells. *Cancer Res.* 65 : 6029—6033.
- Chen H. L., Chiang P. C., Lo C. H., Lo Y. H., Hsu D. K., Chen H. Y., Liu F. T. 2016. Galectin-7 regulates keratinocyte proliferation and differentiation through JNK-miR-203-p63 signaling. *J. Invest. Dermatol.* 136 : 182—191.
- Cheng A. M., Byrom M. W., Shelton J., Ford L. P. 2005. Antisense inhibition of human miRNAs and indications for an involvement of miRNA in cell growth and apoptosis. *Nucl. Acids Res.* 33 : 1290—1297.
- Criscione V. D., Weinstock M. A., Naylor M. F., Luque C., Eide M. J., Bingham S. F. 2009. Actinic keratoses: natural history and risk of malignant transformation in the veterans affairs topical tretinoin chemoprevention trial. *Cancer.* 115 : 2523—2530.
- Deppe J., Steinritz D., Santovito D., Egea V., Schmidt A., Weber C., Ries C. 2016. Upregulation of miR-203 and miR-210 affect growth and differentiation of keratinocytes after exposure to sulfur mustard in normoxia and hypoxia. *Toxicol. Lett.* 244 : 81—87.
- Dynoodt P., Mestdagh P., Van Peer G., Vandessepele J., Goossens K., Peelman L. J., Geusens B., Speeckaert R. M., Lambert J. L., Van Gele M. J. 2013. Identification of miR-145 as a key regulator of the pigmentary process. *J. Invest. Dermatol.* 133 : 201—209.
- Dziunycz P., Iotzova-Weiss G., Eloranta J. J., Läuchli S., Hafner J., French L. E., Hofbauer G. F. 2010. Squamous cell carcinoma of the skin shows a distinct microRNA profile modulated by UV radiation. *J. Invest. Dermatol.* 130 : 2686—2689.
- Eldh M., Ekström K., Valadi H., Sjöstrand M., Olsson B., Jernås M., Lötvall J. 2010. Exosomes communicate protective messages during oxidative stress; possible role of exosomal shuttle RNA. *PLoS ONE.* 5 : e15353.
- Eulalio A., Behm-Ansmant I., Izaurralde E. 2007. P-bodies: at the crossroads of post-transcriptional pathways. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 8 : 9—22.
- Feig J. L., Giles K. M., Osman I., Franks A. G. Jr. 2015. How microRNAs modify protein production. *J. Invest. Dermatol.* 135 : e34—e38.
- Foulkes W. D., Flanders T. Y., Pollock P. M., Hayward N. K. 1997. The CDKN2A (p16) gene and human cancer. *Mol. Med.* 3 : 5—20.
- Grüssing R., Hackl M., Charoentong P., Pauck A., Monteforte R., Cavinato M., Hofer E., Scheideler M., Neuhaus M., Micutkova L., Mueck C., Trajanoski Z., Grillari J., Jansen-Durr P. 2013. Identification of microRNA-mRNA functional interactions in UVB-induced senescence of human diploid fibroblasts. *BMC Genomics.* 14 : 224.
- Griffiths-Jones S. 2004. The microRNA registry. *Nucl. Acid. Res.* 32 (Suppl. 1) : 109—111.
- Guo L., Huang Z. X., Chen X. W., Deng Q. K., Yan W., Zhou M. J., Ou C. S., Ding Z. H. 2009. Differential expression profiles of microRNAs in NIH3T3 cells in response to UVB irradiation. *Photochem. Photobiol.* 85 : 765—773.
- Guo S. L., Ye H., Teng Y., Wang Y. L., Yang G., Li X. B., Zhang C., Yang X., Yang Z. Z., Yang X. 2013a. Akt-p53-miR-365-cyclin D1/cdc25A axis contributes to gastric tumorigenesis induced by PTEN deficiency. *Nat. Commun.* 4 : 2544—2554.
- Guo Z., Zhou B., Liu W., Xu Y., Wu D., Yin Z., Permatasari F., Luo D. 2013b. miR-23a regulates DNA damage repair and apoptosis in UVB-irradiated HaCaT cells. *J. Dermatol. Sci.* 69 : 68—76.
- Hodis E., Watson I. R., Kryukov G. V. et al. 2012. A landscape of driver mutations in melanoma cell. *Cell.* 150 : 251—263.
- Hou L., Bowman L., Meighan T. G., Pratheeshkumar P., Shi X., Ding M. 2013. Induction of miR-21-PDCD4 signaling by UVB in JB6 cells involves ROS-mediated MAPK pathways. *Exp. Toxicol. Pathol.* 65 : 1145—1148.
- Inui M., Martello G., Piccolo S. 2010. MicroRNA signatures control of signal transduction. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 11 : 252—263.
- Jenkins N. S., Jung J., Liu T., Wilde M., Holmen S. L., Grossman D. 2013. Familial melanoma-associated mutations in p16 uncouple its tumor suppressor functions. *J. Invest. Dermatol.* 133 : 1043—1051.
- Jian Q., An Q., Zhu D., Hui K., Liu Y., Chi S., Li C. 2014. MicroRNA 340 is involved in UVB-induced dendrite formation through the regulation of RhoA expression in melanocytes. *Mol. Cell. Biol.* 34 : 3407—3420.
- Jukic D. M., Rao U. N. M., Kelly L., Skaf J. S., Drogowski L. M., Kirkwood J. M., Panelli M. C. 2010. MicroRNA profiling analysis of differences between the melanoma of young adults and older adults. *J. Transl. Med.* 8 : 27.
- Kim N. H., Choi S. H., Kim C. H., Lee C. H., Lee T. R., Lee A. Y. 2014. Reduced miR-675 in exosome in H19 RNA-related melanogenesis via MITF as a direct target. *J. Invest. Dermatol.* 134 : 1075—1082.
- Kraemer A., Chen I. P., Henning S., Faust A., Volkmer B., Atkinson M. J., Moertl S., Greinert R. 2013. UVA and UVB irradiation differentially regulate microRNA expression in human primary keratinocytes. *PLoS ONE.* 8 : e83392.
- Krol J., Loedige I., Filipowicz W. 2010. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nat. Rev. Genet.* 11 : 597—610.
- Lambert S. R., Mladkova N., Gulati A., Hamoudi R., Purdie K., Cerio R., Leigh I., Proby C., Harwood C. A. 2014. Key differences identified between actinic keratosis and cutaneous squamous cell carcinoma by transcriptome profiling. *Br. J. Cancer.* 110 : 520—529.
- Lee G. T., Cha H. J., Lee K. S., Lee K. K., Hong J. T., Ahn K. J., An I. S., An S., Bae S. 2014. Arctiin induces an UVB protective effect in human dermal fibroblast cells through microRNA expression changes. *Int. J. Mol. Med.* 33 : 640—648.
- Legendre M., Lambert A., Gautheret D. 2005. Profile-based detection of microRNA precursors in animal genomes. *Bioinformatics.* 21 : 841—845.
- Lena A. M., Shalom-Feuerstein R., di Val Cervo P. R., Aberdam P., Knight R. A., Melino G., Candi E. 2008. miR-203 represses «stemness» by repressing DeltaNp63. *Cell Death Differ.* 15 : 1187—1195.
- Li W., Di W., Hua L., Zhou B., Guo Z., Luo D. 2011. UVB suppresses PTEN expression by upregulating miR-141 in HaCaT cells. *J. Biomed. Res.* 25 : 135—140.
- Li W., Wu Y. F., Xu R. H., Lu H., Hu C., Qian H. 2014. miR-1246 releases RTKN2-dependent resistance to UVB-induced apoptosis in HaCaT cells. *Mol. Cell. Biochem.* 394 : 299—306.
- Li Y., Challagundla K. B., Sun X. X., Zhang Q., Dai M. S. 2015. MicroRNA-130a associates with ribosomal protein L11 to suppress c-Myc expression in response to UV irradiation. *Oncotarget.* 6 : 1101—1114.
- Liao X. H., Zheng L., He H. P., Zheng D. L., Wei Z. Q., Wang N., Dong J., Ma W. J., Zhang T. C. 2015. STAT3 regulated ATR via microRNA-383 to control DNA damage to affect apoptosis in A431 cells. *Cell Signal.* 27 : 2285—2295.
- Licht K., Jantsch M. F. 2016. Rapid and dynamic transcriptome regulation by RNA editing and RNA modifications. *J. Cell Biol.* 213 : 15—22.
- Liu Y., Wang X., Yang D., Xiao Z., Chen X. 2014. MicroRNA-21 affects proliferation and apoptosis by regulating expression

of PTEN in human keloid fibroblasts. *Plast. Reconstr. Surg.* 134 : 561e—573e.

López-Camarillo C., Ocampo E. A., Casamichana M. L., Pérez-Plasencia C., Álvarez-Sánchez E., Marchat L. A. 2012. Protein kinases and transcription factors activation in response to UV-radiation of skin: implications for carcinogenesis. *Int. J. Mol. Sci.* 13 : 142—172.

Meisgen F., Xu N., Wei T., Janson P. C., Obad S., Broom O., Nagy N., Kauppinen S., Kemény L., Stähle M., Pivarsci A., Sonkoly E. 2012. miR-21 is up-regulated in psoriasis and suppresses T cell apoptosis. *Exp. Dermatol.* 21 : 312—314.

Melnik B. C. 2015. miR-21 : an environmental driver of malignant melanoma? *J. Transl. Med.* 13 : 202.

Ning M. S., Kim A. S., Prasad N., Levy S. E., Zhang H., Andl T. 2014. Characterization of the Merkel Cell Carcinoma miRNome. *J. Skin Cancer.* 289548.

Penna E., Orso F., Taberna D. 2015. miR-214 as key hub that controls cancer networks: small player, multiple functions. *J. Invest. Dermatol.* 135 : 960—969.

Poliseno L., Haimovic A., Segura M. F., Hanniford D., Cristos P. J., Darvishian F., Wang J., Shapiro R. L., Pavlick A. C., Berman R. S., Hernando E., Zavadil J., Osman I. 2012. Histology-specific microRNA alterations in melanoma. *J. Invest. Dermatol.* 132 : 1860—1868.

Pothof J., Verkaik N. S., Hoeijmakers J. H., van Gent D. C. 2009a. MicroRNA responses and stress granule formation modulate the DNA damage response. *Cell Cycle.* 8 : 3462—3468.

Pothof J., Verkaik N. S., van Icken W., Wiemer E. A., Ta V. T., van der Horst G. T., Jaspers N. G., van Gent D. C., Hoeijmakers J. H., Persengiev S. P. 2009b. MicroRNA-mediated gene silencing modulates the UV-induced DNA-damage response. *EMBO J.* 28 : 2090—2099.

Rafiq R. A., Quadri A., Nazir L. A., Peerzada K., Ganai B. A., Tasduq S. A. 2015. A potent inhibitor of phosphoinositide 3-kinase (PI3K) and mitogen activated protein (MAP) kinase signalling, quercetin (3, 3', 4', 5, 7-pentahydroxyflavone) promotes cell death in ultraviolet (UV)-B-irradiated B16F10 melanoma cells. *PLoS ONE.* 10 : e0131253.

Ratovitski E. A. 2013. Phospho-ΔNp63α regulates AQP3, ALOX12B, CASP14 and CLDN1 expression through transcription and microRNA modulation. *FEBS Lett.* 587 : 3581—3586.

Saadeddin A., Babaei-Jadidi R., Spencer-Dene B., Nateri A. S. 2009. The links between transcription, β-catenin/JNK signaling, and carcinogenesis. *Mol. Cancer Res.* 7 : 1189—1196.

Schmitt M. J., Philippidou D., Reinsbach S. E., Margue C., Wienecke-Baldacchino A., Nashan D., Behrmann I., Kreis S. 2012. Interferon-γ-induced activation of Signal Transducer and Activator of Transcription 1 (STAT1) up-regulates the tumor suppressing microRNA-29 family in melanoma cells. *Cell Commun. Signal.* 10 : 4—154.

Sen C. K. 2014. MicroRNA in regenerative medicine. *UK: Acad. Press.* 1288 p.

Song J., Liu P., Yang Z., Li L., Su H., Lu N., Peng Z. 2012. miR-155 negatively regulates *c-Jun* expression at the post-transcriptional level in human dermal fibroblasts *in vitro*: implications in UVA irradiation-induced photoaging. *Cell Physiol. Biochem.* 29 : 331—340.

Tan G., Niu J., Shi Y., Ouyang H., Wu Z. H. 2012a. NF-κB-dependent microRNA-125b up-regulation promotes cell survival by targeting p38α upon ultraviolet radiation. *J. Biol. Chem.* 287 : 33 036—33 047.

Tan G., Shi Y., Wu Z. H. 2012b. MicroRNA-22 promotes cell survival upon UV radiation by repressing PTEN. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 417 : 546—551.

Thomsen K. G., Terp M. G., Lund R. R., Søkilde R., Elias D., Bak M., Litman T., Beck H. C., Lyng M. B., Ditzel H. J. 2015. miR-155, identified as anti-metastatic by global miRNA profiling of a metastasis model, inhibits cancer cell extravasation and colonization *in vivo* and causes significant signaling alterations. *Oncotarget.* 6 : 29 224—29 239.

Varambally S., Cao Q., Mani R. S., Shankar S., Wang X., Ateq B., Laxman B., Cao X., Jing X., Ramnarayanan K., Brenner J. C., Yu J., Kim J. H., Han B., Tan P., Kumar-Sinha C., Lonigro R. J., Palanisamy N., Maher C. A., Chinnaiyan A. M. 2008. Genomic loss of microRNA-101 leads to overexpression of histone methyltransferase EZH2 in cancer. *Science.* 322 : 1695—1699.

Wang X., Ren Y., Wang Z., Xiong X., Han S., Pan W., Chen H., Zhou L., Zhou C., Yuan Q., Yang M. 2015a. Down-regulation of 5S rRNA by miR-150 and miR-383 enhances c-Myc-rpL11 interaction and inhibits proliferation of esophageal squamous carcinoma cells. *FEBS Lett.* 589 : 3989—3997.

Wang X. L., Zhang T., Wang J., Zhang D. B., Zhao F., Lin X. W., Wang Z., Shi P., Pang X. N. 2015b. miR-378b promotes differentiation of keratinocytes through NKX3.1 *PLoS ONE.* 10(8): e0136049.

Wang Z. X., Lu B. B., Wang H., Cheng Z. X., Yin Y. M. 2011. MicroRNA-21 modulates chemosensitivity of breast cancer cells to doxorubicin by targeting PTEN. *Arch. Med. Res.* 42 : 281—290.

Xu Y., Brenn T., Brown E. R. S., Doherty V., Melton D. W. 2012. Differential expression of microRNAs during melanoma progression: miR-200c, miR-205 and miR-211 are downregulated in melanoma and act as tumour suppressors. *Br. J. Cancer.* 106 : 553—561.

Xu Z., Zeng X., Tian D., Xu H., Cai Q., Wang J., Chen Q. 2014. MicroRNA-383 inhibits anchorage-independent growth and induces cell cycle arrest of glioma cells by targeting CCND1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 453 : 833—838.

Yamada T., Hasegawa S., Inoue Y., Date Y., Yamamoto N., Mizutani H., Nakata S., Matsunaga K., Akamatsu H. 2013. Wnt/β-catenin and kit signaling sequentially regulate melanocyte stem cell differentiation in UVB-induced epidermal pigmentation. *J. Invest. Dermatol.* 133 : 2753—2762.

Yang C. H., Yue J., Pfeiffer S. R., Handorf C. R., Pfeiffer L. M. 2011. MicroRNA miR-21 regulates the metastatic behavior of B16 melanoma cells. *J. Biol. Chem.* 286 : 39 172—39 178.

Yang L. L., Liu J. Q., Bai X. Z., Fan L., Han F., Jia W. B., Su L. L., Shi J. H., Tang C. W., Hu D. H. 2014. Acute downregulation of miR-155 at wound sites leads to a reduced fibrosis through attenuating inflammatory response. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 453 : 153—159.

Yang M., Shen H., Qiu C., Ni Y., Wang L., Dong W., Liao Y., Du J. 2013. High expression of miR-21 and miR-155 predicts recurrence and unfavourable survival in non-small cell lung cancer. *Eur. J. Cancer.* 49 : 604—615.

Yi R., Poy M. N., Stoffel M., Fuchs E. 2008. A skin microRNA promotes differentiation by repressing «stemness». *Nature.* 452 : 225—229.

Zhang L., Yang C. S., Varelas X., Monti S. 2016. Altered RNA editing in 3' UTR perturbs microRNA-mediated regulation of oncogenes and tumor-suppressors. *Sci. Rep.* 6 : 23226.

Zhang Q., Cao L. Y., Cheng S. J., Zhang A. M., Jin X. S., Li Y. 2015. p53-induced microRNA-1246 inhibits the cell growth of human hepatocellular carcinoma cells by targeting NFIB. *Oncol. Rep.* 33 : 1335—1341.

Zhou B. R., Guo X. F., Zhang J. A., Xu Y., Li W., Wu D., Yin Z. Q., Permatasari F., Luo D. 2013a. Elevated miR-34c-5p mediates dermal fibroblast senescence by ultraviolet irradiation. *Int. J. Biol. Sci.* 9 : 743—752.

Zhou B. R., Xu Y., Permatasari F., Liu W. L., Li W., Guo X. F., Huang Q. H., Guo Z., Luo D. 2012. Characterization of the miRNA profile in UVB-irradiated normal human keratinocytes. *Exp. Dermatol.* 21 : 317—319.

Zhou M., Liu W., Ma S., Cao H., Peng X., Guo L., Zhou X., Zheng L., Guo L., Wan M., Shi W., He Y., Lu C., Jiang L., Ou C., Guo Y., Ding Z. 2013b. A novel onco-miR-365 induces cutaneous squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis.* 34 : 1653—1659.

MICRORNAS AS ULTRAVIOLET IRRADIATION EFFECTS REGULATORS IN SKIN CELLS

*T. G. Ruksha,¹ E. Yu. Sergeeva, N. V. Palkina, M. B. Aksenenko,
A. V. Komina, G. M. Klimina, R. N. Belonogov*

Department of Pathophysiology, Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, 660022

¹ e-mail: tatyana_ruksha@mail.ru

MicroRNAs belong to small non-coding RNA which regulate gene expression via mRNA degradation or translation inhibition. MicroRNAs are active modulators of gene expression in the skin caused by exogenous factors including ultraviolet irradiation. These effects are realized by targeting transcription factors and signaling systems components. Changes in microRNAs levels started to register in a few hours after exposure to ultraviolet irradiation, which confirms the presence of an effective fast processes in the skin cells that modulate the functional status of microRNAs. The reported recently ability of microRNAs to be transported by exosomes may be related to systemic effects of ultraviolet irradiation that include the altered immune response and systemic inflammatory reaction. Understanding these processes is important because of the possibility of purposeful influence on the expression and activity of a microRNA that may have implications for diagnosis and therapy of photodermatosis and malignant skin tumors.

Key words: keratinocytes, melanocytes, microRNA, ultraviolet irradiation.
