مقاله آموزشی- مروری

Downloaded from g3m.ir at 12:39 +0330 on Sunday December 17th 2017

مروری بر ساختار و عملکرد میکرو RNA و نقش آن در سرطان

عصمت محمدی، سهیلا رهگذر*، کامران قائدی

بخش سلولی ملکولی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

چکیده

میکرو ریبونوکلئیک اسیدها(میکروRNAها)، ریبونوکلئیک اسیدهای غیرکدکننده‌ای هستند که از نظر تکاملی محافظت شده هستند و دارای طولی برابر ۲۵-۱۸ نوکلئوتید می‌باشند. میکرو RNAها بیان ژن‌ها را پس از رونویسی از طریق تجزیه mRNA یا مهار ترجمه آن‌ها، کنترل می‌کنند. این ساختارهای ملکولی در کنترل فرایندهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک سلولی شرکت نموده، بسیاری از آنها می‌توانند به عنوان انکوژن و یا مهارکننده‌های توموری عمل نمایند. لذا بروز موتاسیون در این قالب‌های روخوانی باز می تواند منجر به سرطان شود. شناسایی میکرو RNAها و مولکول‌های هدف آن‌ها، افق روشنی را برای شناخت مسیرهایی که منجر به سرطان می‌شوند، فراهم کرده است. از این رو می‌توان از این ترکیبات به عنوان نشان‌گرهای زیستی بالقوه در تشخیص، پیش‌بینی و درمان سرطان استفاده کرد. هدف از این مقاله‌ی مروری تشریح بیوژنزمیکرو RNA ها، نحوه سنتز و عملکرد آنها وچگونگی شناسایی مولکولهای هدف توسط این ساختارهای ملکولی است. علاوه بر این این مقاله تازه های موجود پیرامون نقش میکرو RNA ها درعملکرد سلولهای سرطان و کاربرد آنها در تشخیص و درمان سرطان را مورد بحث و بررسی قرار داده است.

واژگان کلیدی: میکرو RNA؛ سرطان؛ بیان ژن.

مقدمه

میکرو RNAها زیر گروه بزرگی از RNAهای غیرکدکننده ۲۵-۱۸ نوکلئوتیدی هستند که از نظر تکاملی حفاظت‌شده می‌باشند (۱۳). این مولکول‌ها بیان ژن را پس از رونویسی از طریق مهار ترجمه mRNA یا القا تجزیه آن کنترل می‌کنند و این کار را از طریق اتصال به ناحیه ترجمه نشدنی[1] انتهای *mRNA* ها انجام می‌دهند. رونوشت‌های اولیه میکرو RNA طی دو مرحله پردازش تبدیل به مولکول بالغ کوتاه‌تری می‌شود (۱۲-۷).

در سال ۱۹۹۳ اولین میکرو RNA به نام Lin-۴ (lineage-۴) در Caenorhabditis elegans کشف شد، اما اهمیت این مولکول به‌عنوان یک تنظیم‌کننده‌ی زیستی تا سال ۲۰۰۱ که نمونه‌ی دیگری به نام Let-۷ شناسایی شد، هنوز مشخص نشده بود. در سال ۲۰۰۱ فقط ۵ مقاله در مورد میکرو RNAها نوشته شده بود، در حالی که تا سال ۲۰۰۸ حدود ۳۵۰۰ مقاله در پایگاه داده‌های Pubmed منتشر شد که ۱۵۰۰ مقاله فقط مربوط به سال ۲۰۰۸ بود. توجه بیش از پیش به ساختار و عملکرد میکرو RNAها به علت تاثیر آن‌ها در فرایندهای متنوع تکوینی و فیزیولوژیکی مانند آپوپتوز، ترشح انسولین، خون سازی، ریخت زایی مغز یا تمایز بافتی، و درگیری آن‌ها در دفاع ایمنی و بیماری‌های ویروسی است (۵-۲). میکرو RNAها می‌توانند به عنوان انکوژن و یا مهارکننده تومور از

* سهیلا رهگذر، PhD

بخش سلولی- ملکولی- تکوینی، گروه زیست شناسی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

نشانی: اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه اصفهان، گروه زیست شناسی، بخش سلولی- ملکولی

صندوق پستی ۸۱۷۴۶-۷۳۴۴۱

تلفن: ۰۳۱۱۷۹۳۲۳۶۵

نمابر: ۰۳۱۱۷۹۳۲۴۵۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۶/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۸/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۶/۱۷

1. $(3' - UTR = 3' - untranslated\ \ region)\ 3'$

Downloaded from g3m.ir at 12:39 +0330 on Sunday December 17th 2017

طریق مهار بیان ژن‌های هدف وابسته به سرطان عمل کنند (۱۸). مکانیزم عمده تغییرات miRNome[۲] در سلول‌های سرطانی، بیان نابه‌جای ژن می‌باشد که توسط سطوح غیرطبیعی میکرو RNAهای بالغ تشخیص داده می‌شود **(۱۲)**. دیگر مکانیسم‌های موثر در این امر SNP[۳]، جهش‌های رخ داده در توالی Pri-miRNA، تغییر تعداد نسخه توالی‌های کدکننده‌ی میکرو RNAها و رونویسی غیرطبیعی می‌باشد**(۹)** . از این رو می‌توان از میکرو RNAهای سرطانی[۴] به عنوان نشان‌گرهای زیستی برای تشخیص، پیش‌بینی و حتی درمان استفاده کرد. در این مطالعه به بخشی از جدیدترین یافته‌ها در این زمینه اشاره شده است (۱۳-۳).

میکرو RNAها

میکرو RNAها مولکول‌های حفاظت‌شده‌ای از RNAهای تنظیمی[۵] درون سلولی هستند که بیان ژن را از طریق مسیر تداخل RNA (RNAi= RNA interference) تعدیل می‌کنند. RNAi نوعی مکانیسم خاموش‌کننده پس از رونویسی در یوکاریوت‌ها است که با ایجاد RNA دورشته‌ای[۶] تجزیه mRNAهای مشابه[۷] را القا می‌کند. میکرو RNAها به صورت جزئی با mRNA هدف مکمل شده و اغلب به ناحیه‌ای از mRNA 3'UTR هدف وصل می‌شوند که از این طریق منجر به مهار ترجمه یا تجزیه آن می‌شوند. به عنوان مثال محصول ژن کنترل‌کننده Lin-۴ در C. elegans یک RNA ۲۲ نوکلئوتیدی است که از یک سنجاق سر پیش‌ساز ۶۰ نوکلئوتیدی ایجاد می‌شود و از طریق برهمکنش با یک توالی تکراری درLin-14 3'UTR، ترجمه Lin-14 را مهار می‌کند. پراکندگی ژن‌های میکرو RNA در ژنوم به صورت منفرد یا خوشه‌ای است و برخی در نواحی بین ژنی و حداقل نیمی از آن‌ها در واحدهای رونویسی معینی مثل اینترون و اگزون‌های کدکننده پروتئین و رونوشت‌هایی که پروتئین کد نمی‌کنند یافت شده‌اند (۱۷-۱۰).

بیوژنز[۸] میکرو RNAها و نحوه مهار ترجمه

بیوژنز میکرو RNAها در هسته و سیتوپلاسم صورت می‌گیرد (شکل ۱). رونوشت آغازین[۹] میکرو RNAها چندین کیلو جفت باز طول دارد و توسط RNA پلیمراز II رونویسی شده و پلی آدنیله می‌شود. ساختار ساقه- حلقه این رونوشت‌ها توسط یک کمپلکس آنزیمی مستقر در هسته که ۶۵۰ کیلو دالتون وزن دارد تشخیص داده شده و پردازش می‌شود. کمپلکس مذکور حاوی یک RNAse III مخصوص برش RNA دورشته‌ای به نام Drosha و پروتئین متصل‌شونده به RNA دورشته‌ای Pasha[۱۰]/ DGCR۸[۱۱] است (۱). پردازش اولیه منجر به ایجاد یک پیش‌ساز سنجاق سری ۱۱۰-۶۰ نوکلئوتیدی می‌شود، که این میکرو RNA پیش‌ساز توسط فاکتور صادرکننده هسته‌ای Exportin-۵ و فاکتور کمکی Ran-GTP به سیتوپلاسم منتقل می‌شود. در سیتوپلاسم، RNAse III دیگری به نام Dicer منجر به پردازش نهایی میکرو RNA می‌شود. Dicer به همراه عامل کمکی متصل‌شونده به RNA دورشته‌ای (ds-RNA binding partner) که در انسان HIV_1-TRBP[۱۲] و در مگس Loqs[۱۳] نامیده می‌شود، لوپ انتهایی Pri-miRNA را برش می‌دهد و میکرو RNA (دورشته‌ای) ۲۲-۱۹ نوکلئوتیدی را ایجاد می‌کند (۱۷). TRBP دیگری، پروتئین آرگونات[۱۴] انسانی hAg۲ (EIF۲C۲) را به کمپلکس Dicer متصل نموده، و یک کمپلکس خاموش‌کننده القا شده توسط RNA[۱۵] را ایجاد می‌کند. معمولاً فقط یک رشته از میکروRNA بالغ دورشته‌ای، به نام رشته‌ی راهنما[۱۶]، به کمپلکس میکروریبونوکلئوپروتئینی[۱۷] وارد شده و یک miRISC را ایجاد می‌کند که توالی این رشته جایگاه اتصال به mRNA هدف را مشخص می‌کند. پروتئین‌هایی از خانواده آرگونات بخش ضروری RISC هستند که حاوی ۲ منطقه[۱۸] حفاظت شده با قابلیت اتصال به RNA می‌باشند: منطقه PAZ که به انتهای ۳′ میکرو RNA تک رشته ای متصل می‌شود و منطقه PIWI

---

۲. تمام miRNAهای موجود در ژنوم

3. Single Nucleotide Polymorphism
4. OncomiRs
5. Ribo-regulator
6. ds-RNA
7. Homologous
8. Biogenesis
9. Pri-miRNA
10. in C.elegans and flies

۱۱.در انسان : DiGeorge syndrome Critical Region gene۸

12. HIV_1- Trans activating response RNA binding protein
13. Loquacious
14. Argonaute
15. RISC :RNA-induced silencing complex
16. Guide
17. miRNP
18. Domain

Downloaded from g3m.ir at 12:39 +0330 on Sunday December 17th 2017

که از نظر ساختمانی مشابه ریبونوکلئاز H بوده و با رشته راهنمای میکرو RNA در انتهای ′5 برهمکنش می‌کند (۷). پروتئین‌های آرگونات اعضای یک خانواده به شدت حفاظت شده هستند که در مسیر RNAi و میکرو RNA درگیرند. یک پروتئین آرگونات به همراه یک RNA کوچک تک رشته‌ای، هسته کمپلکس RISC را تشکیل می‌دهد. از ۴ عضو زیرخانواده Ago پستانداران که همه جا یافت می‌شوند (شامل Ago۱ تا Ago ۴) فقط Ago۲ (برش دهنده[۱۹]) در RNAi از طریق برش درون نوکلئوتیدی[۲۰] mRNA هدف عمل می‌کند (۷). از آنجائی که فقط یکی از رشته‌های دوتایی میکرو RNA می‌تواند نقش رشته راهنما و هدایت‌کننده RISC به mRNA 3'UTRهای هدف را براساس جفت‌شدن با mRNA ایفا کند، رشته دوم (پسنجر[۲۱]) حذف می‌شود. رشته حاوی جفت باز ضعیف در پایانه ′5 به عنوان رشته راهنما انتخاب می‌گردد. میکرو RNAهای متصل‌شونده به RISC به mRNA 3'UTR هم‌جنس[۲۲] جفت می‌شوند و پس از رونویسی ژن، بیان آن را از طریق برش یا مهار ترجمه mRNA هدف کنترل می‌کنند. غالب ترین مکانیسم مهار ترجمه‌ی mRNA مکانیسم "خاموشی ژنی" بوده و از روش بکارگیری فاکتور برهم زننده تجمع ریبوزوم، eIF۶، یا اتصال Ago۲ به کلاهک[۲۳] mRNA اعمال می‌شود، از این رو مانع از بکارگیری eIF۴E شده و ترجمه مهار می‌شود. mRNAهایی که ترجمه آن‌ها مهار می‌شود، در جایگاه‌های سیتوپلاسمی مشخصی که اجسام پردازشی (P-bodies[۲۴]) نامیده می‌شوند، مستقر شده و در آن جا ذخیره یا تجزیه می‌شود(۱۵) . به منظور تجزیه، اجسام پردازشی حاوی آنزیم‌های کلاهک برداری[۲۵] Dcp۱/Dcp۲، اگزونوکلئاز Xrn1 5'-3' و فعالیت دآدنیلاسیونی[۲۶] هستند . علاوه بر این پروتئین‌های آرگونات، میکرو RNAها و mRNA های مهار شده نیز در اجسام پردازشی تجمع می‌یابند. در غیاب RNAهای کوچک یا زمانی که آرگونات‌های موتاسیون یافته قادر به اتصال به میکرو RNA نباشند، پروتئین‌های آرگونات در سیتوپلاسم به صورت پراکنده باقی می‌مانند. تمامیت اجسام پردازشی از طریق برهمکنش پروتئین GW ۱۸۲ با پروتئین‌های آرگونات حفظ می‌شود. مکانیسم دیگر مهار ترجمه محصور شدن mRNA در اجسام پردازشی است، از این رو mRNA به پروتئین ترجمه نمی‌شود. این گونه mRNAها در پاسخ به تحریکات طبیعی از اجسام پردازشی رها شده و مکانیسم ترجمه دوباره راه اندازی می‌شود (۱۸-۱۷). لذا فرایند مهار ترجمه توسط میکرو RNA می‌تواند برگشت‌پذیر باشد. پیچیدگی فرآیندهای ذکر شده دلیلی بر اهمیت تنظیمی گسترده میکرو RNAهاست. یک میکرو RNA می‌تواند چندین mRNA متفاوت را هدف قرار دهد و یا یک mRNA ممکن است توسط چندین میکرو RNA کنترل شود. لذا برای تعیین عملکرد میکرو RNA، شناسایی مولکول‌های هدف میکرو RNA اهمیت زیادی دارد (۱۶)

شناسایی مولکول‌های هدف میکرو RNA

یکی از مهم‌ترین مباحث مربوط به میکرو RNA شناسایی مولکول‌های هدف می‌باشد. ایجاد تعداد کمی جفت باز مکمل برای برهمکنش عملکردی بین میکرو RNA و توالی مولکول هدف ضروری است. در اغلب موارد، ایجاد جفت باز مکمل در ۷-۶ نوکلئوتید صورت می‌گیرد که معمولاً شامل نوکلئوتیدهای ۲ تا ۹ از انتهای ′۵ میکرو RNA هستند و به این ناحیه «seed» می‌گویند. بقیه بازهای میکرو RNA ظرفیت جفت شدن محدودی با توالی‌های 3'UTR مجاور جایگاه seed نشان می‌دهند و همین اتصالات گذرا به میکرو RNA اجازه اتصال به چندین جایگاه درونی در یک 3'UTR می‌دهد. از روش‌های محاسبه‌ای متفاوتی برای پیش‌بینی جایگاه‌های هدف میکرو RNA استفاده می‌شود که شامل الگوریتم‌های کامپیوتری است اما چون جفت شدگی با توالی هدف به صورت ناقص و محدود است، پیش‌بینی دقیق جایگاه هدف میکرو RNA هنوز دشوار است. یکی از الگوریتم‌های پیش‌بینی کننده مولکول هدف، بر مبنای جفت‌شدگی و حفاظت شده بودن توالی میکرو seed -RNA در3'UTRهای گونه‌های متفاوت، طراحی می‌شود(۱۷).

mRNAهایی که به طور ترجیحی با ۸-۷ نوکلئوتید از توالی seed جفت می‌شوند، براساس معیارهایی مثل حفاظت شده بودن تکاملی توالی هدف و پایداری ترمودینامیکی برهمکنش‌های صورت گرفته بین مابقی بازهای میکرو RNA و توالی‌های دو طرف آن در

19. Slicer
20. Endonucleolytically
21. Passenger
22. Cognate
23. m(7) GCaP
24. Processing
25. Decapping
26. De-adenylation

Downloaded from g3m.ir at 12:39 +0330 on Sunday December 17th 2017

$3'UTR$ طبقه‌بندی می‌شوند. در نوع دیگری از جفت شدن میکرو mRNA:RNAهدف، جفت شدن ناقص در ناحیه $seed-5'$ صورت می‌گیرد، اما از طریق جفت شدن یک باز اضافی در انتهای ۳´ میکرو RNA، جبران می‌شود (۱۶). مطالعات بیوانفورماتیکی و نرم افزارهای متعددی، به منظور تشخیص هدف‌های میکرو RNA از روی توالی seed بکار رفته‌اند. برای مثال ۱۰۰۰ ژن میکرو RNA برای ۱ درصد ژنوم انسان تخمین زده شده است و این احتمال وجود دارد که بیش از یک سوم ژنوم انسان توسط میکرو RNA تنظیم شود (۷-۱).

میکرو RNA و سرطان

سرطان نتیجه خروج سلول‌ها از مسیرهای درست تنظیمی، تکثیری و تمایزیست. خودکارآمدی[27] در سیگنال‌های رشد، غیرحساس شدن به سیگنال‌های مهارکننده رشد، اجتناب از مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده، پتانسیل نامحدود تکثیر، حفظ رگ زایی و تهاجم بافتی و متاستاز منجر به بدخیم شدن سرطان می‌شوند (۹-۶).

برهمکنش میکرو RNAها با ژن‌های هدف، نقش آن‌ها را در رشد، مرگ برنامه ریزی شده، تمایز و تکثیر سلولی مشخص کرده و عملکرد مستقیم میکرو RNA را در سرطان تایید می‌کند. می‌توان از بیان میکرو RNAهای غالب برای طبقه‌بندی سرطان‌ها در گروه‌هایی با ویژگی‌های متفاوت مثل نوع سلول و سبب شناسی استفاده کرد. استفاده از میکرو RNA برای طبقه بندی تومور به مراتب مناسب‌تر از mRNA می‌باشد،این امر به علت جفت شدگی ناقص بین میکرو RNA و mRNAهای هدف است، از این رو ریزسنج‌های میکرو RNA می‌توانند بیان چند صد ژن و در نتیجه مسیرهای متعدد را در یک نمونه شناسایی کنند، در حالی که تنها به مقادیر کمی از RNA کل نیاز دارند. ساختار میکرو RNAها و نحوه ی عملکرد آن‌ها نشان می‌دهد که بسیاری از میکرو RNAها در نمونه‌های سرطانی به صورت غیرطبیعی بیان می‌شوند. علاوه بر این، تفاوت‌های عملکردی بین انواع تومورها و مراحل مختلف سرطان با بیان میکرو RNAها مرتبط است (جدول ۱). تفاوت در بیان میکرو RNAها در سرطان‌های مختلف می‌تواند به علت تفاوت‌های موجود بین منشا سلول سرطانی و بافت استرومایی اطراف آن باشد (جدول ۴). تغییر در بیان میکرو RNA از طریق کاهش بیان ژن‌های ضروری درگیر در تکثیر یا بقا سلول، منجر به تشکیل تومور می‌شود. البته این به آن معنا نیست که میکرو RNAها به طور مستقیم در پیشروی سرطان یا تومورزایی نقش داشته باشند. هرچند هنوز به طور کامل مشخص نشده است که بیان تغییر یافته میکرو RNAها پیامد حالت پاتولوژیکی سرطان است یا اینکه سرطان عامل مستقیم این تغییرات بیانی است. با این وجود تغییرات زیادی در سلول‌های سرطانی رخ می‌دهد که می‌توانند در یک مسیر مستقیم یا غیرمستقیم، بیان میکرو RNA را تحت تأثیر قرار دهند. بازآرایی ژنومی، ناهنجاری ژن‌های میکرو RNA یا پروتئین‌های درگیر در ساخت آن‌ها، اختلال در تنظیم اپی ژنتیک میکرو RNA و موتاسیون‌های ژنی نمونه‌هایی از این تغییراتند، با این حال قرار گرفتن میکرو RNAها در نواحی ژنومی مرتبط با سرطان یا نواحی شکننده، خود یک عامل مهم تغییر بیان میکرو RNAها در سلول‌های توموری است. علاوه بر این، تحت تأثیر موتاسیون ویژگی‌های اتصالی میکرو RNAها و mRNAها تغییر یافته و این برهمکنش‌های تغییر یافته miRNA:mRNA منجر به ناقص شدن فرایندهای ترجمه‌ای می‌شود (۱۵).

قابل ذکر است که عوامل اپی ژنتیکی می‌توانند میکرو RNA را از طریق متیله کردن بیش از حد[28] یا تغییرات هیستونی[29] غیرفعال کنند و از طرف دیگر میکرو RNA می‌تواند به عنوان یک تنظیم‌کننده‌ی ژنتیکی عوامل فوق مطرح گردد. بیان افزایش‌یافته میکرو RNA در سلول‌های سرطانی ممکن است حاصل ازدیاد و عدم کنترل یک فاکتور رونویسی یا دمتیله شدن[30] جزایر CpG در نواحی پروموتور ژنی باشد. حذف‌های ژنی، خاموش کننده‌های خارج ژنی یا عدم بیان فاکتورهای رونویسی در سلول‌های سرطانی باعث کاهش بیان میکرو RNAهای مهارکننده توموری می‌شود (۱۳).

محصولات میکرو RNA پس از رونویسی و از طریق توالی‌های اطراف میکرو RNA پیش‌ساز کنترل می‌شوند. بنابراین احتمالاً موتاسیون‌های ایجاد شده در توالی‌های اطراف میکرو RNA پیش‌ساز بر روی پردازش میکرو RNA تاثیر مستقیم گذاشته، منجر به کاهش بیان میکرو RNA می‌شوند (۱۶).

برخی از انواع میکرو RNA به عنوان انکوژن و یا مهارکننده تومور عمل می‌کنند که "Oncomir" نامیده می‌شوند. Oncomirها در بدخیمی‌های بافت‌های مختلف حضور دارند و اغلب در مناطقی از

27. . Self-sufficiency
28. . Hyper methylation
29. . Histon modification
30. . Demethylation

Downloaded from g3m.ir at 12:39 +0330 on Sunday December 17th 2017

جدول ۱-میکروRNAها و هدف‌های آن‌ها در سرطان (۴)

میکرو RNA	اختلال میکروRNA در سرطان	مولکول‌های هدف miRNA	مکانیسم مولکولی درگیر
miR-9-3	کاهش در سرطان سینه	P53	ایفای نقش در مسیر مرگ برنامه ریزی شده وابسته به p53
miR-16 , miR-15a	کاهش در سرطان سلول غیرکوچک ریه	cyclin D1 cyclin D2 cyclin E1	القا توقف چرخه سلولی در G1-G0
miR-17-92	افزایش در لنفومای سلول B و مدولوبلاستوما	P21, N-Myc	تسهیل پیشروی چرخه سلولی در گذار G1-S همکاری با مسیر sonic hedgehog جهت افزایش تکثیر
miR-25	افزایش در سرطان معده	P57	مهار اعضای خانواده cip/kip مهارکننده‌های کنیازی وابسته به سیکلین از طریق $3'UTR$
miR-101	کاهش در کارسنومای سلول کبدی	Mcl-1	پیش بردن مرگ برنامه ریزی شده و مهار تومورزایی
miR-122	کاهش در کارسینومای سلول کبدی	cyclin G1, P53	تحت تأثیر قرار دادن پایداری پروتئین P53 و فعالیت رونویسی کاهش قابلیت تهاجمی از طریق تعدیل سیکلین G1
miR-128	کاهش در گلیوما	E2F3a	مهار رشد سلولی
miR-143	کاهش در سرطان کلورکتال	KRAS	مهار فسفریلاسیون ثابت کیناز ۲/۱ تنظیم شده بوسیله سیگنال خارجی در سرطان
miR-145	کاهش در آدنوکارسینومای ریه و سرطان کولون	EGFR, IGF-1R	مهار رشد سلول سرطانی در سرطانی که گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی دچار موتاسیون شده است
miR-512-5P	کاهش در سرطان معده	Mcl-1	القا مرگ برنامه ریزی شده در سلول‌های سرطانی

ژنوم که دچار حذف شدگی، مضاعف شدگی و یا موتاسیون شده‌اند یافت می‌شوند (۱۷-۱).

برخی میکرو RNAها فنوتیپ آنکوژنی را از طریق کاهش بیان ژن‌های سرکوب کننده توموری و یا ژن‌های تنظیم کننده تمایز سلولی و مرگ برنامه ریزی شده ایجاد می‌کنند و برخی دیگر با هدف قرار دادن mRNAهای پروتوانکوژنیک و خاموش کردن آن‌ها منجر به کاهش روند سرطانی شدن می‌شوند. (جدول۲) (۱۱).

میکرو RNAها ویژگی‌های بارز سلول‌های سرطانی را تحت تأثیر قرار می‌دهند

تغییرات افزایشی یا کاهشی بیان برخی میکرو RNAها که منجر به روند سرطانی می‌شوند، از طریق ایجاد تداخل با تنظیم‌کننده‌های چرخه سلولی، رشد سلول را تحت تاثیر قرار می‌دهند. میکرو RNAها یکی از انواع تنظیم‌کننده‌های اصلی مرگ برنامه ریزی شده در فرایند تومورزایی هستند و بقای سلول‌های سرطانی با دستکاری این میکرو RNAها کنترل می‌شود. از طرف دیگر سلول‌های سرطانی ویژگی نامیرایی خود را با حفظ تلومرها از طریق تنظیم مثبت تلومراز و زیاد شدن طول تلومرها بدست می‌آورند. ناهنجاری میکرو RNA یکی از عوامل فعالیت زیاد تلومراز در تومورهاست. یک سری از میکرو RNAها در گذار اپی تلیال-مزانشیمی[۳۱] که یکی از مراحل اساسی در هجوم تومور و متاستاز می‌باشد، درگیرند **(۱۳)**. قابل ذکر است که بیش از نیمی از میکرو RNAها در مناطق ناپایدار ژنومی یا

31. EMT:Epithelial-mesenchymal transition

Downloaded from g3m.ir at 12:39 +0330 on Sunday December 17th 2017

جدول ۲-مکانیسم‌های بالقوه بیان و فعالیت تغییر یافته میکرو RNA در سرطان (۱۵)

مکانیسم اخلال گر	تاثیر مکانیسم اخلال گر
۱- تغییرات ژنومی حذف - ازدیاد - جابه جایی	افزایش یا کاهش miRNA
۲- موتاسیون / چند شکلی ژن miRNA	افزایش یا کاهش miRNA اتصال تغییر یافته miRNA
۳- موتاسیون / چند شکلی جایگاه اتصال miRNA در ژن mRNA هدف	اتصال تغییر یافته miRNA
۴- موتاسیون یک ژن mRNA غیرهدف	اتصال احتمالی miRNA به mRNA غیرهدف
۵- موتاسیون در بیوژنز تشکیلات افزایش بیان Drosha کاهش بیان Dicer	پردازش miRNA
۶- مکانیسم‌های اپی ژنتیک متیلاسیون پروموتورژن miRNA تغییرات هیستون	کاهش تشکیل miRNA

جایگاه‌های شکننده کروموزوم‌ها که با سرطان‌های متنوعی همراه هستند به صورت خوشه‌ای قرار گرفته‌اند. جابه‌جایی کروموزومی یک نشان‌گر حیاتی ناپایداری ژنومی است. میکرو RNAها نقش مهمی را در تنظیم پاسخ‌های ایمنی در سرطان ایفا می‌کنند. میکرو RNAهای ویروسی متنوعی در برهمکنش ویروس- میزبان در تومورزایی درگیرند، برای مثال SV۴۰ که منجر به سرطان در جوندگان می‌شود دو میکرو RNA کد می‌کند که رونوشت آنتی ژن T ویروس را مورد هدف قرار داده و منجر به برش آن می‌شود. از آنجائی که یک نقش میکرو RNAها تجزیه و مهار ترجمه‌ای mRNA است، آنزیم‌های پردازش‌کننده میکرو RNAیی Dicer و Drosha نه تنها در بلوغ میکرو RNA نقش دارند بلکه از طریق کاهش بیان خود، مانع از ایجاد رگ به وسیله‌ی ژن‌های از کنترل خارج شده مربوط به رگ‌زایی می‌شوند (جدول ۳) (۱۲-۳).

میکرو RNA ابزاری برای شناسایی وتشخیص سرطان

تکنولوژی "omics" شناسایی و درمان سرطان را به میزان زیادی تسهیل کرده است. ریزآرایه های[32] میکرو RNA می‌توانند بیان چند صد ژن را در یک نمونه بافتی از طریق هیبریداسیون میکرو RNAها با توالی‌های هدف نشان‌دار شده شناسایی کنند(۱۳) . بیان میکرو RNA با ویژگی‌های بالینی و زیستی تومور از قبیل نوع بافت، تمایز، تهاجم و پاسخ به درمان مرتبط است. استفاده از میکرو RNAها به عنوان نشان‌گرهای تشخیصی از طریق بررسی سرم یا پلاسمای انسانی امکان پذیر است، از این رو می‌توان میکرو RNAهای سرطانی و سلول‌های توموری موجود در سرم یا پلاسما را بدون هیچ گونه روش تهاجمی شناسایی کرد. به استثنای لوسمی‌ها که سلول‌های بدخیم به آسانی در دسترس هستند (۱۲)، برای سرطان‌های جامد، نمونه برداری بافت از طریق بیوپسی یا جراحی انجام می‌گیرد، و چون معمولاً جراحی زمانی صورت می‌گیرد که سرطان به میزان قابل توجهی پیشرفت نموده، تشخیص آن چندان مفید نمی‌باشد (۱۱). در این موارد استفاده از میکرو RNAهایی که با فنوتیپ‌های بدخیم ارتباط تنگاتنگ دارند به عنوان نشان‌گرهای تشخیصی جهت تشخیص بیماری در مراحل آغازین آن بسیار کمک‌کننده است (۱۵-۷).

میکرو RNA و درمان سرطان

به طور کلی از طریق مهار میکرو RNAهای انکوژنی و یا برش آن‌ها توسط میکرو RNAهای مصنوعی جفت شونده با mRNA، القای میکرو RNAهای مهارکننده تومور و کم کردن بیان میکرو RNA توسط عوامل اپی ژنتیکی مثل متیلاسیون پروموتری می‌توان مانع از پیش روی سرطان شد. از اولیگونوکلئوتیدهای آنتی سنس[33] که با میکرو RNاها جفت می‌شوند می‌توان به منظور کاهش بیان میکرو RNA استفاده کرد. "Antagomir" مثالی از این نوع می‌باشد که به طور مصنوعی ساخته می‌شود (۴). این مولکول RNA درمانی، برای مهار میکرو RNاها طراحی شده است. مکانیسم مهار میکرو RNA توسط این اولیگونوکلئوتیدهای مهندسی شده مشخص نیست، اما اتصال برگشت‌ناپذیر این مولکول‌ها به میکرو RNاها می‌تواند دلیلی بر این امر باشد. اولیگونوکلئوتیدهای آنتی سنس متیله شده در اکسیژن '۲[34] یا اولیگونوکلئوتیدهای آنتی

32. Micro arrays
33. Antisense
34. 2'-O-Methyl Antisence Oigonucleotids

Downloaded from g3m.ir at 12:39 +0330 on Sunday December 17th 2017

جدول ۳- میکرو RNAها و ویژگی‌های بارز سرطان (۱۳)

ویژگی‌های بارز سرطان	عملکرد میکرو RNAها	میکروRNAها
مقاومت به سیگنال ضد تکثیری و عدم وابستگی به سیگنال‌های فاکتور رشد خارجی	تحریک رشد مهار رشد	miR-21, miR-17 cluster, miR-221, miR-222 Let-7, miR-519, miR-146a
فرار از مرگ برنامه ریزی شده	تحریک آپوپتوز مهار آپوپتوز	miR-34 cluster, miR-29, miR-15, miR-16 miR 17-92 cluster , miR-21
نامحدود شدن پتانسیل تکثیر	کنترل نامیرایی یا پیری	miR-290 , miR-24 , miR-34a
القا رگ زایی	تحریک رگ زایی مهار رگ زایی	miR-17-92 cluster, miR-378, miR-996, Let-7f, miR-27b, miR130, miR-126 miR-15, miR-16, miR-20a , miR-20b
فرار از سیستم ایمنی	رهایی از مراقبت ایمنی (immunosurveillance)	miR-155, miR-17-92 cluster, miR-20a miR-93, miR-106b, miR-372, miR-373 miR-520c,hcmV-miR-VL112
تهاجم بافتی و متاستاز	تحریک متاستاز مهار متاستاز	miR-10b,miR-21, miR-373, miR-520c, miR-155. Let-7,miR-335, miR-206, miR-126 miR-146a, miR-101, miR-200
ناپایداری ژنومی	پیش برنده ناپایداری ژنومی	حذف‌ها یا تنظیم منفی میکروRNAهایی مثل miR-17، miR-20a ، miR-16-1 ، miR-15 یا let-7

سنس LNA[35] نمونه‌های دیگری از این نوع هستند(۱۳-۱۲). این مولکول‌ها مهار پایداری ایجاد کرده و نسبت به سایر درمان‌های سرطانی سمیت کمتری دارند. در استراتژی "microRNA sponges" از RNAهایی که از ترانس‌ژن‌ها بدست آمده استفاده می‌شود**(۱۵)**. این RNAها از طریق اتصال رقابتی شدید به مولکول‌های هدف یک میکرو RNA مشخص، وصل می‌شوند و این مولکول‌ها را از مهار باز می‌دارند. انتقال میکرو RNAهای مهارکننده توموری به طور عمده به وسیله ناقل‌های ویروسی صورت می‌گیرد. پیشرفت‌های اخیر در تکنولوژی وکتور AAV[36] که حاوی ژنوم خودمکمل[37] است، انتقال کارآمد میکرو RNA را از طریق تحویل عروقی[38] تسهیل می‌کند (۴). استفاده از این روش هنوز در دست بررسی است. از دیگر راه‌های انتقال میکرو RNAهای مهارکننده می‌توان به استفاده از پلاسمیدها، ترانسپوزون‌ها و لیپوزوم‌های کاتیونی اشاره کرد که در سطح آن‌ها آنتی‌بادی‌های مونوکلونالی تعبیه شده است که میکرو RNA درون خود را به ارگان هدف هدایت می‌کنند(۹). داروهای اپی ژنتیکی مثل مهارکننده‌های $DNA\,methyltransferase\,(5-aza-2'deoxycytidine)$ یا مهارکننده‌های هیستون داستیلاز (۴-phenyl butyric acid) بیان میکرو RNA را از طریق کاهش متیلاسیون DNA و افزایش استیلاسیون هیستون زیاد می‌کند و از طریق برگرداندن عملکرد مهارکنندگی توموری میکرو RNA، مانع از تکثیر سلولی می‌شوند (۱۵).

چندشکلی‌های ایجاد شده در میکرو RNAها ممکن است باعث ایجاد مقاومت دارویی شود، که این پدیده در miRNA "pharmacogenomics " مورد بررسی قرار می‌گیرد و از طریق پیشگویی مقاومت دارویی میکرو RNA، درمان مناسب

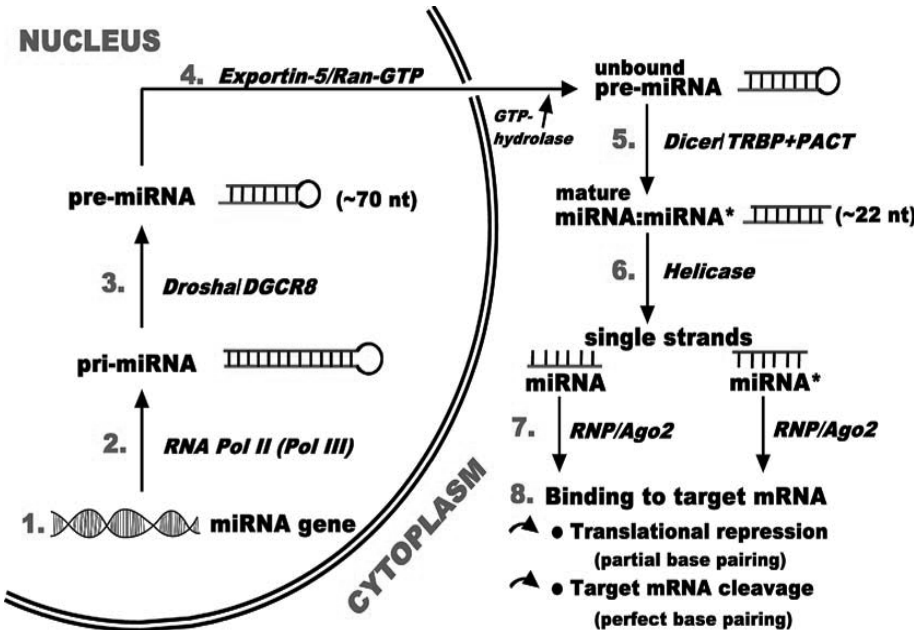
35. Locked-nucleic acid
36. Adeno associated virus
37. Self-complementary
38. Vascular delivery

Downloaded from g3m.ir at 12:39 +0330 on Sunday December 17th 2017

جدول ۴- برخی میکرو RNAهای درگیر درسرطان‌های متفاوت انسانی با سطوح بیانی تغییر یافته(۱)

نوع سرطان	بیان افزایش یافته	بیان کاهش یافته
سینه	*miR-21, miR-22, miR-23, miR-29b-2,miR-96, miR-155, miR-191, miR-181,miR-182, miR-27a, miR-210*	*miR-205, miR-143, miR-145, miR10b, miR-125a/b, miR-155, miR17-5p, miR-27b, miR-9-3, miR-31, miR-34 family, let-7*
تخمدان	*miR-200a/b/c, miR-141, miR-18a, miR-93, miR-429*	*miR-199a, miR-140, miR-145, miR-125a,b, let7*
کلورکتال	*miR-18, miR-224, miR-10a, miR-17-92 cluster, miR-21, miR-24-1, miR29b-2, miR-31, miR-96, miR-135b, miR-183*	*miR-143, miR-145, let-7, miR30 -3p, miR-124a, miR-129, miR133 b, miR328*
ریه	*miR-17-92 cluster, miR-21, miR-155, miR-191, miR-205, miR-210*	*let-7, miR-34 family, miR-143, miR-145, miR-124a*
گلیوبلاستوما	*miR-221, miR-222, miR-21*	*miR-181a, miR-181b, miR-181c, miR-125a, miR-125b*
مری	*miR-194, miR-192, miR-200c, miR-21*	*miR-203, miR-205*
معده ای- روده ای	*miR-106b-25*	*miR-15b, miR-16*
تیروئید	*miR-146b, miR-221, miR-222, miR-181b, miR-155, miR-197, miR-224, miR-346*	*miR-30d, miR-125b, miR-26a,miR-30a-5p*
پانکراس	*miR-221, miR-376a, miR301, miR-21, miR-24-2, miR-100, miR-103, miR107, miR-125b-1, miR-155, miR-181, miR-106, miR-363, miR-301, miR a, miR-212, miR-34a*376	*miR-375, let-7, miR-200, miR200b*
پروستات	*let-7d, miR-195, miR-203, miR-21,miR-181, miR-106, miR-363, miR-221*	*miR-128a, miR-101, miR-125a/b, miR-15a, miR-16-1, miR-143, miR-145, miR-23a/b, miR-200, miR-330, miR-331*
مثانه	*miR-17, miR-23a,b, miR-26b, miR-103-1, miR-185, miR-203, miR-205, miR-221, miR-223*	*miR-29c, miR-26a, miR-30c, miR-30e-5p, miR-145, miR-30a-3p, miR-133a/b, miR-195, miR125b, miR-199a*
لوسمی میلوئید حاد	*miR-191, miR-199, miR155, miR-221, miR-222, miR-125a/b*	*miR-124a, miR-148a, miR-181a, miR-204, miR-223*
لوسمی پرومیلوسیتیک حاد	*miR-15a, miR-15b, miR-16-1, let-7a-3, let-7c, let-7d, miR-223, miR-342, miR-107*	*miR-181b*
لوسمی لنفوبلاستیک حاد	*miR-17-92 cluster, miR-125b-1, miR-128a, miR-128b, miR-204, miR218, miR-331, miR-181a, miR-181b, miR-181c, miR-142-3p, miR-142-5p, miR-150, miR-193a, miR-196b, miR30e-5p, miR-34b, miR-365, miR582, miR-708*	*let-7b, miR-223, miR-100, miR-125b, miR-151-5p, miR-99a*
لوسمی میلوئید مزمن	*miR-17-92 cluster, miR-17-5p, miR-17-3p, miR-18a, miR-19a miR-19b-1, miR-20a, miR-92a-1*	*miR-10a*
لوسمی لنفوسیتیک مزمن	*miR-21, miR-23b, miR-24-1, miR-146, miR-155, miR-106b, miR-195, miR-221, miR-222*	*miR-15a, miR16-1, miR-29, miR143, miR-45, miR-30d, let-7a, miR-181a/b, miR-223, miR-92, miR-150*
آدنوکارسینومای اندومتروئیدی	*miR-205, miR-449, miR-429*	*miR-193a, miR-204, miR-99b*
هپاتوسلولار	*miR-18, miR-21, miR-33, miR-130b, miR-135a, miR-221, miR-224, miR301*	*miR-199a/b, miR-195, miR-200a/b, miR-214, miR-223, miR-125a,miR-122a, miR-101, miR-139, miR-150, miR-26a, miR-101*

Downloaded from g3m.ir at 12:39 +0330 on Sunday December 17th 2017



مدل بیوژنز میکرو RNA و نحوِهٔ عملکرد آن (۱۵)

انتخاب می‌گردد . میکرو RNAها با تنظیم بیان ژن تولیدکننده پروتئین‌هایی که با دارو برهمکنش می‌دهند، عملکرد دارو را تحت تاثیر قرار می‌دهند. نمونه‌هایی از این نوع ژن‌ها ناقل‌های دارویی و آنزیم‌های متابولیزه کننده داروها هستند (۱۴-۵).

نتیجه:

برای روشن شدن مکانیسم‌های تنظیمی بیوژنز میکرو RNAها و نقش آن‌ها در سرطان به تحقیقات بیشتری نیاز است. تشخیص مولکول‌های هدف میکرو RNA و بررسی اثرات تداخلی مولکولی آن‌ها در مسیرهای انتقال پیام، به درک بهتر مکانیسم سرطان کمک خواهد کرد.

با در نظر گرفتن این واقعیت که اغلب روش‌های رایج برای غربال‌گری سرطان در مراحل اولیه قادر به تشخیص بیماری نمی‌باشند، شناسایی میکرو RNAهای توموری که طی پیشرفت تدریجی بیماری در جریان خون منتشر می‌شوند، روشی کلیدی در تشخیص به موقع سرطان محسوب می‌شود. علاوه بر این، میکرو RNAها در درمان سرطان نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند، و با ایجاد تغییرات موثر در این مولکول‌ها می‌توان بر مولکول‌های هدف آن‌ها تاثیر گذاشت. البته موانع و مشکلاتی نیز در این رابطه وجود دارد. از جمله اینکه، یک میکرو RNA می‌تواند بیان تعداد زیادی ژن هدف را کنترل کند، لذا تغییر در آن می‌تواند باعث هدف قرار دادن ژن‌هایی به غیر از ژن‌های هدف اصلی شود. از سوی دیگر، یک ژن منفرد ممکن است توسط چندین میکرو RNA کنترل شود، در آن صورت تغییر در بیان تنها یک میکرو RNA برای تحت تأثیر قرار دادن آن ژن به منظور درمان کافی نخواهد بود. علاوه بر این انتقال اولیگونوکلئوتیدهای آنتی سنس جهت کاهش بیان میکرو RNA موثر در ایجاد سرطان، ممکن است با تاثیر بر میکرو RNAهای غیر هدف، اثرات نامطلوبی رادر روند بیماری ایجاد کند.

با توجه به موارد فوق به منظور استفاده بهینه از میکرو RNAها، افزایش کارآمدی آن‌ها و به حداقل رساندن اثرات نامطلوب ناشی از اتصال الیگونوکلئوتیدهای آنتی سنس به میکرو RNAهای غیر هدف، انجام تحقیقات گسترده‌تری در زمینه میکرو RNAها مورد نیاز است.

۱- ژن‌های میکرو RNA درون اینترون‌ها یا اگزون‌های ژن‌های کدکننده یا غیر کدکننده پروتئینی قرار گرفته‌اند .

۲- RNAPOLII و به میزان کمتری RNAPOLIII یک رونوشت آغازین ایجاد می‌کند که pri-miRNA نامیده می‌شود. pri-miRNA دارای ساختار سنجاق سری بوده، حاوی یک کلاهک

Downloaded from g3m.ir at 12:39 +0330 on Sunday December 17th 2017

5′ و یک دم پلی A با بیش از ۵۰۰ تا چندین هزار نوکلئوتید است.

۳- pri-miRNA به طور نامتقارن توسط کمپلکسی ریزپردازش‌گر (آنزیم Drosha RNase III / فاکتور DGCR۸) به میکرو RNA پیش‌ساز کوچکتری که pre-miRNA نامیده می‌شود، بریده می‌شود. pre-miRNA تقریباً واجد ۷۰ نوکلئوتید است.

۴- pre-miRNA به طور فعال از طریق اتصال به Ran-GTP (گوانوزین تری فسفات) وابسته به پروتئین Exportin۵ از سیتوپلاسم به هسته منتقل می‌شود. در سیتوپلاسم، pre-miRNA از Exportin۵ توسط هیدرولیز GTP رها می‌شود.

۵- آنزیم RNase III دیگری تحت عنوان Dicer با کمک فاکتورهای TRBP(HIV-۱ trans-activation response - TAR - binding protein) و PACT(activator of ds RNA dependent protein kinase) حلقه pre-miRNA را از ساقه حذف می‌کند.

۶- هلیکاز ، دو رشتهٔ میکرو RNA را از هم باز می‌کند و دو رشتهٔ پسنجر (miRNA*) و راهنما(miRNA) بیشتر پردازش می‌شوند.

۷- هر دو رشته miRNA در کمپلکس موثر ریبونوکلئو پروتئین (RNP)شرکت می‌کنند، با این تفاوت که رشته پسنجر، به علت اینکه خیلی سریع تجزیه می‌شود کمتر، و رشتهٔ راهنما بیشتر درگیر است. یک میکرو RNA، کمپلکس خاموش کننده ژنی miRISC را القا می‌کند. اندونوکلئاز آرگونات ۲ (Ago۲) برش mRNA را در داخل یا خارج از اجسام پردازشی در سیتوپلاسم وساطت می‌کند.

۸- بسته به تکمیل شدگی بین ناحیه miRNA-Seed و ۳′UTR-mRNA پردازش‌های خاموش کنندگی متفاوتی صورت می‌گیرد که شامل: مهار ترجمه mRNA ، تخریب mRNA ، دآدنیلاسیون، کلاهک برداری و .... می باشند.

References

1. Babashah S, Soleimani M. The oncogenic and tumour suppressive roles of microRNAs in cancer and apoptosis. Eur J Cancer. 2011 May;47(8):1127-37.
2. Büssing I, Slack FJ, Grosshans H. let-7 microRNAs in development, stem cells and cancer. Trends Mol Med. 2008 Sep;14(9):400-9.
3. Cho WC. MicroRNAs in cancer - from research to therapy. Biochim Biophys Acta. 2010 Apr;1805(2):209-217.
4. Cho WC. MicroRNAs: Potential biomarkers for cancer diagnosis, prognosis and targets for therapy. Int J Biochem Cell Biol. 2010 Aug;42(8):1273-81.
5. Giovannetti E, Erozenci A, Smit J, Danesi R, Peters GJ. Molecular mechanisms underlying the role of microRNAs (miRNAs) in anticancer drug resistance and implications for clinical practice. Crit Rev Oncol Hematol. 2011 May 4. [Epub ahead of print]
6. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell. 2011 Mar 4;144(5):646-74.
7. Kanellopoulou C, Monticelli S . A role for microRNAs in the development of the immune system and in the pathogenesis of cancer. Semin Cancer Biol. 2008 Apr;18(2):79-88.
8. Kim M, Kasinski AL, Slack FJ. MicroRNA therapeutics in preclinical cancer models. Lancet Oncol. 2011 Apr;12(4):319-21.
9. Lim , Li J , Ding X , He M , Chang SY . microRNA and Cancer . AAPS J. 2010 Sep;12(3):309-17.
10. McManus MT. MicroRNAs and cancer. Semin Cancer Biol. 2003 Aug;13(4):253-8.
11. Montano M. MicroRNAs: miRRORS of health and disease. Transl Res. 2011 Apr;157(4):157-62.
12. Negrini M, Nicoloso MS, Calin G . MicroRNAs and cancer--new paradigms in molecular oncology . Curr Opin Cell Biol. 2009 Jun;21(3):470-9.
13. Ruan K, Fang X, Ouyang G. MicroRNAs: novel regulators in the hallmarks of human cancer . Cancer Lett. 2009 Nov 28;285(2):116-26.
14. Rukov JL, Shomron N. MicroRNA pharmacogenomics: Post-transcriptional regulation of drug response. Trends Mol Med. 2011 Jun 6. [Epub ahead of print]
15. Schaefer A, Jung M, Kristiansen G, Lein M, Schrader M, Miller K, Stephan C, Jung K . MicroRNAs and cancer: current state and future perspectives in urologic oncology. Urol Oncol. 2010 Jan-Feb;28(1):4-13.
16. Voorhoeve PM . Agami R .Classifying microRNAs in cancer: the good, the bad and the ugly . Biochim. Biophys.Acta. 2007 Jun:1775(2):274-82.
17. Wiemer EA . The role of microRNAs in cancer: no small matter. Eur J Cancer. 2007 Jul;43(10):1529-44.
18. Wouters MD, van Gent DC, Hoeijmakers JH, Pothof J. MicroRNAs, the DNA damage response and cancer. Mutat Res. 2011 Apr 6. [Epub ahead of print].