فاطمه چمانی، دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی
طاهره ناجی، استادیار و مدیر گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی

نقش میکرو آر.ان.ای در ایجاد سرطان و لوسمی حادمیلوییدی و کاربرد های درمانی آن

miRNAها کلاس جدیدی از RNA های غیر کد کننده است که با mRNA هدفشان هیبرید می شوند و در تنظیم ترجمه آن ها دخالت دارند. تحقیقات اخیر بر روی این مولکول های تک رشته ای، مکانیسم عمل و تغییرات آنها در بیماری AML را مورد بررسی قرار داده است.

بر این اساس هر یک از ترکیبات میکرو آر.آن.ای مرتبط با زیر گروه های ویژه سایتوژنتیکی یا مولکولی AML، الگوی مشخصی از افزایش بیان یا خاموش شدن را داشته اند.

تغییر در بیان چندین miRNA مختلف در AML نشانگر ارتباط عملکردی بین ایجاد لوسمی و فعالیت بعضی از miRNA ها به عنوان اونکوژن و عدم فعالیت بعضی از miRNA ها به عنوان سرکوب کننده تومور بوده است. هم miRNA های واحد و هم ترکیبی از چند miRNA میتواند مکمل اطلاعات تشخیصی به دست آمده از بررسی های سایتوژنتیک و جهش های ژنی و بیان متغیر ژن ها باشد.

به هر حال به صورت تجربی مشخص شده که میتوان با تعدیل بیان miRNAها به کمک عوامل دارویی یا افزایش سطوح کم miRNA های درونی که فعالیت سرکوب کنندگی تومور دارند به وسیله ی الیگونوکلئوتید های دست ساز یا تنظیم کاهش دهنده ی سطوح بالای miRNA های ایجاد کننده ی لوسمی با الیگونوکلئوتید های آنتی سنس، از اثرات ضد لوکمیایی آنها بهره برد.

بنابراین گسترش دستاورد های جدید درمانAML با کمک miRNA ها قابل انتظار است. در این مقاله نتایج مطالعات اخیر را که به آنالیز تغییرات بیان miRNA ها و بررسی توان زیستی و تشخیصی و ارتباطشان با پیش آگهی AML پرداخته اند، مرور می کنیم.

مقدمه

میکرو RNA ها یک دسته از RNA های غیر کد کننده است که محصول نهایی ژن آنها یک مولکولRNA۲۲ نوکلئوتیدی عملکردی است. [1] این مولکول های تک رشته ای به ناحیه 3` UTR در mRNA هدف خودشان وصل می شود و به صورت منفی با سرکوب ترجمه یا حذف mRNA هدف، بیان ژن را کنترل و تنظیم می کند [2] و در تنظیم بیان ژن در سطح پایداری mRNA یا در سطح ترجمه دخالت دارد. [3]

نقش miRNA ها در ایجاد سرطان

miRNA ها در پروسه های زیستی حیاتی شامل گسترش، تمایز سلولی، واکنش به استرس ، آپوپتوز و تکثیر شرکت می کنند [4] و تغییرات آنها در شروع و پیشرفت سرطان های انسانی نقش دارد. خون سازی یک پروسه ی بسیار تنظیم شده است و به وسیله وقایع پیچیده ی مولکولی که همزمان تعهد، تمایز، تکثیر و آپوپتوز سلول های بنیادی خون ساز را تنظیم می کنند، کنترل می شود. [5] در حال حاضر شواهد قدرتمندی وجود دارد که نشان می دهد miRNA ها نه تنها خون سازی را در سطح تکثیر و تمایز تعدیل می کند بلکه تنظیم کننده ی فعالیت سلول های خون ساز نیز است.[3] بیان متفاوت میکرو آر.ان.ای ها در سلول های بدخیم در قیاس با سلول های نرمال، توسط قرارگرفتن ژن آن ها در نواحی ژنی مرتبط با سرطان، مکانیسم های اپی ژنتیک و تغییر در مکانیسم پردازش آنها توجیه می شود. [4] برای مثال بیان بیش از حد miR125a در سلول های مغز استخوان موش باعث افزایش اندازه ی ذخیره ی سلول های بنیادی خون ساز مغز استخوان میشود، یا بیان بیش از حد miR125b در سلول های

پروژنیتور+CD34 باعث افزایش تکثیر و بیان بیش از حد آن در مغز استخوان موش و موجب اختلالات تکثیر میلوییدی و در نهایت AML می شود.[15]

مقالات اخیر بر شرکت miRNA ها در سرطان های خون به ویژه در گسترش AML تاکید کرده اند. [2]

معرفی AML

AML یا همان لوسمی میلوییدی حاد یک بیماری خونی است که به خاطر افزایش در تعداد سلول های میلوییدی در مغز استخوان و توقف در تکامل آنها _معمولا در نتیجه ی خون سازی غیر موثر _ ایجاد می شود. [7]

در کل این اصطلاح بر می گردد به ترکیبی از بیماری های مشخص که با توجه به منشا تکاملی، مکانیسم بیماری زایی، ناهنجاری های ژنتیکی، ویژگی های بالینی، پاسخ به درمان و پیش آگهی متفاوت هستند. [8]

از نظر سایتو ژنتیکی AML یک بیماری بسیار هتروژن با حدود ۲۰۰ نوع ناهنجاری کروموزومی تحت عنوان "عوامل عود کننده" است.[9] بعضی از این ناهنجاری ها بسیار کمیاب و بقیه ی آنها دارای فرکانس بیشتر است و با پاسخ به درمان و بقای بیمار در ارتباطند. [10,11]

در میان ناهنجاری های متداول تر t(8;21) ، Inv(16;16) و Inv(16;16) که بیماران با جهش CBF-AML را تشکیل می دهد و t(15;17) که یک جا به جایی بیماری زا برای APL (لوسمی حاد پرومیلوسیتی) است، عاقبت نسبتا مطلوب دارند. و در مقابل بیمارانی با t11q23 و ژنMLL و t(9;11) ، Inv (3) یا t(3;3) و t(6;9) و حذف یا از دست دادن 5q، مونوزومی ۷، ناهنجاری ساختمانی 17q، پیش آگهی بسیار ضعیف و عاقبت نامطلوب دارند.

miRNA ها و سرطان

اخیرا مشخص شده که بیان متغیر miRNAها نقش اساسی در روند لوکمیایی شدن دارد[13] و هر یک از تغییرات سایتوژنتیکی ذکر شده در AML، در ارتباط با بیان یک miRNA ویژه است [13,14] که بررسی آنها به تنهایی قادر است AML و ALL را از هم تمیز دهد. به عنوان نمونه تمام گروه های AML ذکر شده با خطر سایتوژنتیکی مطلوب، یک پروفایل بیان miRNA مشخص دارند که آنها را از هم و از دیگر گروه های AML متمایز میکند. [13,14]

برای مثالDixon-Mciver و همکارانشان یک ترکیب miRNA ویژه در بیماران APL با t(15;17) شناسایی شده که تنظیم افزایشی دارند شامل ۷ میکرو آر.آن.ای : mir127, mir154, mir154*, mir299,mir 323, mir368, mir370 و همچنین یک ترکیب ویژه miRNA که تنظیم کاهشی دارند شامل ۹ میکرو آر.ان.ای : mir 17-3p, mir185, mir 187, mir 194, mir200a, mir 200b, mir200c mir330, mir33.

همین طور بیان بیش از حد mir126 , 126* در نمونه های CBF-AML با هردو t(8;21) و inv(16) اتفاق می افتد. [12,13]

در آزمایشی دیگرGrazon و همکارانش الگوی مشخص بیان miRNA در AML با t(11q23)-MLL گزارش کردند. طی این بررسی ۸ miRNA که مقدارشان در میان بیماران با t(11q23)-MLL نسبت به سایر بیماران AML افزایش یافته بود شامل: mir3326, mir 194, mir219, mir301, mir324, mir339, mir99b, mir328

و همچنین ۱۴ miRNA که مقدارشان در این بیماران کاهش یافته بود شامل : mir193, mir331, mir299, mir34b, mir15a, mir29a, mir29c, mir372, mir30a, mir29b, mir30e, mir196a، شناسایی شدند. [4] طی بررسی ژنوم و یافتن توالی های هدف این miRNAها، مشخص شد اکثر miRNA هایی که مقدارشان در بیماران t(11q23)-MLL کاهش یافته بود انکوژن ها را مورد هدف قرار میداده مثلا :

mirlet-،mir15a→ BCL2 ،Mir34b→ CDK4, CCNE2 mir29family→ DNMT3a,b, MCL1, TCL1،7f→ RAS را مورد هدف قرار می دادند. در کل و بنا بر شواهد و یافته های حاصل از آزمایشات متعدد، اگر miRNA هایی که انکوژن ها را مورد هدف قرار می دهند مقدارشان کم و miRNA های مربوط به ژن های سرکوب کننده ی تومور، مقدارشان افزایش یابد و الگوهای بیان ژنشان تغییر کند miRNA ها در سرطان موثر خواهند بود.

miRNA ها و AML

طی تحقیقات O,Connell و همکارانش در سال ۲۰۰۸ و آزمایشات Han و همکارانش در سال ۲۰۱۰ مشخص شده miRNA های 155 , 29a، mir125a/b که تنظیم کننده فعالیت سلول های بنیادی خون ساز (HSCs) هستند، نقش بسیار مهمی در ایجاد سلول های بنیادی لوکمیایی (LSC) و ایجاد AML دارند. [15] بیان بیش از حد هریک از این مولکول ها در سیستم خون ساز القا کننده ی AML یا سایر اختلالات خونی مربوط به تکثیر میلوییدی است.

اهمیت مطالعه ی میکرو آر.ان.ای ها و کاربرد های آن

گسترش و افزایش استفاده از تکنولوژی های سنجش ژنوم با ظرفیت ورودی بالا، تغییراتی را در راه های دسترسی به بررسی AML ایجاد میکنند. انجام هیبریداسون ژنی مقایسه ای بر پایه ی اشعه ، آنالیزهای اشعه ای پلی مورفیسم تک نوکلوتیدی، مطالعات پروفایل بیان mRNA وmicro RNA و توالی یابی کل ژنوم، دست یابی به دید جامع و چند جانبه نسبت به AML را امکان پذیر می کند. دانشی که از این ابزار به دست می آید برای فهم بهتر چگونگی ایجاد لوسمی و گسترش متد های درمانی ضروری است.[9]

مطالعات آزمایشگاهی شامل آزمایش تشکیل کلنی در شرایط آزمایشگاهی و مطالعات بیان بیش/ ناک دان، روی رده سلول های لوکمیایی و روش های آزمایشگاهی مانند متد های توالی یابی RNA های کوچک با عملکرد بالا، اجازه ی تشخیص حساس تر و کارآمد تر miRNA ها در نمونه ی بیمار و حتی یافتن miRNA های جدید را می دهد و اطلاعاتی در مورد توالی های miRNA ها به دست می آید که منجر به کشف جهش ها یا پلی مورفیسم ها می شود. [15,9]

همچنین بررسی miRNA ها به کمک متد های مولکولی، زمینه گسترش درمان بر پایه ی این مولکول ها را فراهم میکند. به عنوان نمونه می توان به تعمیر miRNA های سرکوب کننده تومور، مانند mir 29, mir181a در بلاست های AML با استفاده از الیگو نوکلوتید های دست ساز که از miRNA های بالغی که به صورت طبیعی در بدن وجود دارند تقلید میکند ، یا ترکیباتی که به صورت غیر مستقیم بیان miRNA ها را افزایش میدهند اشاره کرد. به عنوان مثال بیان mir29b و mir233، در بلاست های RUNX1/RUNXIT1 مثبت، به وسیله ی عوامل تقلیل کننده ی متیلاسیون مانند decitabin ها قابل تعمیر است.

در مقابل این کاربرد miRNA ها ،خاموش کردن miRNA هایی که بیان بالا دارند مانند: mir15 یا mir196a به وسیله ی الیگونوکلوتید های آنتی سنس مربوط به توالی miRNA های بالغ، یک روش موثر در خاموش کردن بیان miRNA های انکوژنی و درمان سرطان است. [9]

نتیجه گیری

همان گونه که در این مقاله به آن پرداخته شد، شناسایی miRNA های مختلف، یافتن توالی های هدف آنها و بررسی تغییر الگوی بیان ژنشان در سرطان های مختلف و ارتباطشان با اختلالات سیتوژنتیکی متفاوت بیماران مبتلا به AML، می تواند زمینه ی بررسی های دقیق تر بیماری،طراحی دارو و گسترش درمان های جدید را برای انواع سرطان از جمله AML فراهم نماید.

منابع

[1]. Griffiths-Jones S, Grocock RJ, van Dongen S, Bateman A, Enright AJ. miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. Nucleic Asids Res. 2006;34(Database issue) D140-D 144

[2]. Seca H,Almeida GM, Guimaraes JE, Vasconcelos MH. miR signatures and the role of miRs in acute myeloid leukemia. Eur J Cancer. 2010;46(9):1520-1527

[3]. Garzon R, Croce CM. MicroRNAs in normal and malignant hematopoiesis. Curr Opin Hematol. 2008;15(14):352-358

[4]. Garzon R, Volinia S, Liu C-G, et al. MicroRNA signatures associated with cytogenetics and prognosis in acute myeloid leukemia. Blood. 2008;111(6):3183-3189.

[5]. Havelange V, Garzon R. MicroRNAs: emerging key regulators of hematopoiesis. AM J Hematol. 2010;85(12):935-942.

[6].Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers. Nat Rev Cancer. 2006;6(11):857-866

[7]. Bob L, M.D., James R. Downing, M.D., and Alan Burnett. M.D. Acute myeloid leukemia. The New England Journal of Medicine. 1999;341(14):1051-1062.

[8]. Lowenberg B, Griffin JD, Tallman MS. Acute myeloid leukemia and acute promyelocytic leukemia. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2003:82-101.

[9]. Marcucci G, Mrozek K, Radmacher MD, Garzon R, Bloomfield CD. The prognostic and functional role of microRNAs in acute myeloid leukemia. Blood. 2011 Jan 27;117(4):1121-9.