

نقش ریز (microRNAs) RNA در تشخیص و درمان بیماری‌ها

پریماز مهدی پور / کارشناس ارشد ژنتیک

صادق ولیان بروجنی / دانشیار ژنتیک دانشگاه اصفهان

svalian@biol.ui.ac.ir

چکیده

ریز RNA گروهی از RNAهای کوچک غیر کد کننده و متشکل از ۲۴-۱۸ نوکلئوتید هستند که با هدف قرار دادن RNAهای پیامبر messenger RNA از طریق اتصال به ناحیه 3' غیر ترجمه شونده 3'-Untranslated Region بیان ژن‌ها را کنترل می‌کنند. به عبارتی مولکول‌های مزبور تنظیم کننده‌های پس از رونویسی ژن‌ها هستند. بررسی عملکرد و نقش ریز RNAها از زمان کشفشان تغییرات اساسی را در مطالعات زیست شناسی مولکولی به وجود آورده است. بیان ریز RNAها و نقش آن‌ها به عنوان نشانگرها اختصاصی زیستی در بیماری‌ها، پنجره جدیدی در تشخیص و درمان بیماری‌های ژنتیکی گشوده است.

پیش‌گفتار

ریز RNAها تاکنون در DNAی ویروس‌های متعددی از جمله هرپس ویروس‌ها شناسایی شده‌اند. این نتایج نشان می‌دهد که شاید ریز RNAهای ویروسی نقش کلیدی در توانایی برخی ویروس‌های انکوژنیک، در ترانسفورم کردن سلول‌های انسانی در vivo بازی کنند. (۱ و ۲).

کشف ریز RNA

در سال ۱۹۹۳ نخستین ریز RNA، lin-4، در نماتود *Celegans* کشف شد. به علت این که این رونوشت غیر کد کننده بود و طول بسیار کوتاهی (متشکل از ۲۲ نوکلئوتید) داشت، تا سال ۲۰۰۰ زمانی که دومین ریز RNA، let-7، شناسایی شد به عنوان یک ناهنجاری محسوب می‌شد. در سال ۲۰۰۱ این نوع از RNA کوچک ریز RNA نامیده شد. (۳)

ریز RNAها (یا تنظیم کننده‌های پس از رونویسی ژن‌ها) نقش مهمی در تشخیص و درمان بیماری‌ها دارند. هر کدام از ریز RNAها سبب کاهش بیان شماری متفاوت و خاصی از mRNAهای سلولی می‌شوند.

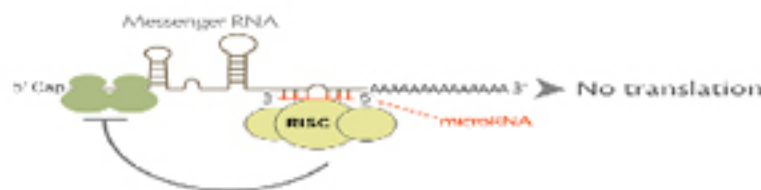
این مولکول‌ها این کار را از طریق دو مکانیسم انجام می‌دهند. بسیاری از ریز RNAها در رده‌های سلولی توموری دچار کاهش تنظیم می‌شوند که ناشی از موتاسیون‌های حذفی در طی تشکیل آن‌ها است و تعدادی از ژن‌های ریز RNA در رده‌های سلولی توموری و تومورهای اولیه بیش از حد بیان می‌شوند. ۴۰ درصد تا ۹۰ درصد ژن‌های کد کننده پروتئین در انسان یا واسطه ریز RNA تنظیم می‌شوند.

مکانسیم عملکرد ریز RNA:

ریز RNA اثر خود را با تنظیم متفی بیان ژن از طریق یکی از دو مکانسیم تخریب mRNA و مهار ترجمه زیر اعمال می کند. نوع مکانسیم انتخابی بستگی به میزان تشابه بین ریز RNA و ناحیه ۳' غیر ترجمه شونده mRNA هدف دارد.

۱. اگر همولوگی بین این دو کامل باشد تجزیه mRNA از راه تداخل ومیانجی گری توسط RNA (RNAi) RNA interfering pathway اتفاق می افتد که این مکانسیم بیشتر در گیاهان رایج است.

۲. اگر همولوگی ناقص باشد ریز RNA به ناحیه غیر ترجمه شونده mRNA هدف متصل می شود. مهار ترجمه ای به وسیله کمپلکس خاموش کننده القا شده توسط RNA (RISC) RNA Induced Silencing Complex انجام می شود که بیشتر در جانوران رایج است (شکل ۱) (۱).



شکل ۱. مهار ترجمه از طریق RISC. ریز RNA به 3'UTR مربوط به mRNA هدف متصل شده و مهار ترجمه ای از طریق RISC اتفاق می افتد.

فرایندهای زیستی:

ریز RNA ها تنظیم کننده ی فرایند های زیستی کلیدی مختلفی هستند. مانند تکثیر سلولی و تمایز، اپوپتوز و ترشح انسولین. چنانچه تغییرات کوچک در ریز RNA ها می تواند تأثیراتی را بر روی mRNA های هدف متعدد اعمال کند و به نتایج عملکردی متنوعی بیانجامد (۴)

سنتز و تشکیل ریز RNA:

تشکیل miRNA ها فرایند پیچیده ای است که دو ناحیه مختلف سلولی در آن درگیرند.

ابتدا در داخل هسته پیش ریز RNA (pri-miRNA) از DNA ی ژنومی توسط RNA pol II رونویسی می شود. اندازه این محصول

ابتدایی از ۱۰۰۰-۱۰۰۰ نوکلئوتید در طول متغیر است (۸). پیش ریز RNA کلاهیگ گذاری و پلی آدنیله می شود و سپس توسط یک اندونوکلاز RNase III به نام Drosha و پروتئین متصل شونده به RNA دو رشته ای به نام Pasha پردازش می شود. این پردازش سبب تشکیل یک پیش ساز حلقه ساقه ۶۰-۷۰ نوکلئوتیدی می شود که پیش ساز ریز RNA نامیده می شود.

پیش ساز ریز RNA سپس توسط یک گیرنده صادر کننده Exportin-5 وابسته به RAN-GTP به سیتوپلاسم منتقل می شود و به وسیله اندونوکلاز RNase III دیگری به نام Dicer سیتوپلاسمی از پایه حلقه بریده می شود. این مسئله سبب تشکیل یک ریز RNA دو رشته ای موقت به طول ۲۲ نوکلئوتید می شود و وارد RISC مرتبط با ریز RNA

miRISC که محتوی دو پروتئین Argonaute است می شود.

ریز RNA بالغ در کمپلکس miRISC حفاظت می شود.

پروتئین های Argonaute آنزیم های RNase فعال

موجود در RISC هستند. اکتون ریز RNA بالغ قادر به تنظیم mRNA های هدف است (۱)

به هم خوردن تنظیم این فرایند سبب برهم خوردن و آشفتگی در تشکیل miRNA می شود و ممکن است پیامدهای آنکوژنیک به همراه داشته باشد. (۲)

همچنین مطالعات نشان داده است که Dicer برای پردازش miRNA های صحیح ضروری است و موتاسیون های Dicer در موش ها در روز ۷/۵ تکامل گشته است.

موتاسیون در Dicer غیر از شکل گیری miRNA های پردازش نیافته تأثیرات دیگری از جمله مشکلاتی در جداسازی کروموزوم ها به همراه خواهد داشت. (۶)

دومین بیماری رایج مرتبط با سن تحلیل برنده نورون ها است و با از دست رفتن مقدار زیاد نورون های دوپامینرژیک شناخته می شود.

ریز RNA ها برای حفظ نورون های دوپامینرژیک در مغز ضروری اند، از دست رفتن ریز RNA ممکن است سبب پیشرفت بیماری پارکینسون شود (۱).

آتروفی ماهیچه ای-نخاعی (SMA) ، یک بیماری

رایج ژنتیکی است که با تخریب پیشرونده نورون های حرکتی شناخته می شود. مشخص شده که موتاسیون های از دست دادن عملکرد یا حذفی در پروتئین های مربوط به بقای نورون حرکتی سبب SMA می شوند. Gemin3 و Gemin4 ترکیبات مشترک SMN و ذرات ریبونوکلوپروتئین محتوی ریز RNA (miRNPs) هستند.

موتاسیون های از دست دادن عملکرد یا حذفی SMN در SMA ممکن است بر عملکرد miRNP ها در اثر تغییر میزان Gemin3 و Gemin4 اثر گذارند (۱).

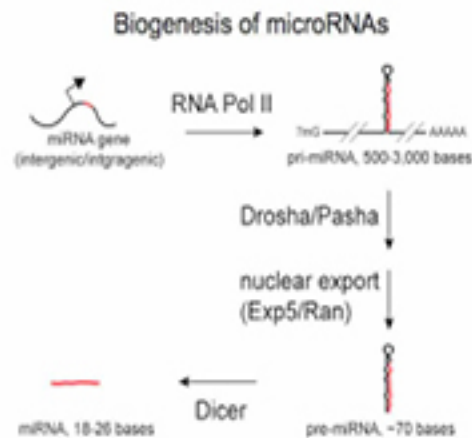
اسکیزوفرنی ، یک بیماری ناتوانایی ذهنی است که حدود ۱٪ از جمعیت جهانی را تحت تاثیر قرار می دهد این بیماری با نشانه های مثبت، نشانه های منفی و کمبود های شناختی که می تواند بر افکار، ادراک، گفتار، شرایط ذهنی و رفتار های بیمار اثر گذارد، شناخته می شود.

عقیده عمومی این است که اسکیزوفرنی یک بیماری هتروژن با یک جز سازنده ژنتیکی است. اگرچه شیوه انتقال ژنتیکی آن ناشناخته مانده است، مطالعات اخیر پیشنهاد می کنند که سطوح غیر طبیعی mRNA و پروتئین ها در مغز ممکن است در سبب شناسی بیماری دخیل باشند این به این مسئله اشاره می کنند که فاکتور هایی که بیان ژن در مغز را تنظیم می کنند به طور خاص حائز اهمیت هستند.

شواهدی وجود دارد که پیشنهاد می کنند تعداد نسبتاً زیادی از ریز RNA ها در مغز بیان می شوند و بیان ژن را در طی تمایز و تکامل مغز در فرآیند هایی همچون ایجاد و حفظ دندریت ها، تنظیم می کنند. به علاوه ، ارتباطی بین ریز RNA های تغییر یافته (تغییرات ساختاری یا مقداری ریز RNA بالغ) و خطر بیماری های روان تنی برقرار شده است.

آزمایشات اخیر نشان داده است که سطوح غیر طبیعی از ریز RNA ها در مغز بیماران مبتلا به بیماری های روان تنی ، مثل بیماری آلزایمر و اسکیزوفرنی وجود دارد. همچنین پیشنهاد شده است که از دست رفتن یا به دست آوردن عملکرد ریز RNA های خاص رخدادی کلیدی در پیشرفت بیماری است.

به طور خلاصه اکثر miRNA های بالغ رونوشت های رونویسی شده توسط RNA پلیمراز II هستند که توسط دو آنزیم RNaseIII به نام های Drosha و Dicer پردازش می شوند. miRNA ی بالغ در یک مجموعه RISC مشارکت می کند که در واقع به mRNA هدف متصل می شود. (۲)



شکل ۲. مراحل تشکیل ریز RNA

اگرچه مکانیسم های تنظیمی برای ریز RNA ها و شناسایی هدف آن ها در بین گونه ها بسیار حفاظت شده است، تنوع بیان ریز RNA ها و هدف های آن ها در بین گونه های مختلف و حتی گونه های نسبتاً نزدیک تر وجود دارد و این ممکن است متعکس کننده اختلاف شبکه های تنظیمی ریز RNA بین گونه ها باشد. (۷)

نقش ریز RNA ها در بیماری ها :

از آنجا که ژن های هدف ریز RNA ها در فرآیندهای متابولیکی متعددی درگیرند، به هم خوردن تنظیم عملکرد ریز RNA سبب بیماری های انسانی می شود. مثلاً، انواع مختلف سرطان، لطفوم، دیابت و ناهنجاری های نورولوژیکی مثل پارکینسون و آلزایمر (۱) در زیر به بررسی تعدادی از بیماریهای مرتبط اشاره می شود.

۱. بیماری های تحلیل برنده نورون ها :

بیماری های تحلیل برنده نورون ها پیامد تخریب نورون ها هستند، که سبب ناتوانی و احتمالاً مرگ می شوند.

نقص های ژنی همچنین نقش مهمی را در ایجاد این بیماری ها از جمله پارکینسون-آلزایمر و هانتینگتون بازی می کنند. پارکینسون

شش ریز RNA زیر شامل:

(mir-26b, mir-30b, mir-30e, mir-24, mir-92a, mir-181b)

در مغز مبتلایان به اسکیزوفرنی دارای سطوح غیرنرمال هستند.

همچنین گزارش شده است که پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی (SNPs) در رونوشت ریز RNA (mir-198, mir-206) با اسکیزوفرنی در جمعیت

اسکاندیناوی مرتبط است. به علاوه، آنالیز بیان ژن نشان داده است که بیان mir-30e بالغ در لکوسیت های محیطی به طور قابل ملاحظه ای در گروه مبتلایان به اسکیزوفرنی بالاتر از گروه کنترل است و این پیشنهاد می کند که مشارکت mir-30e در فرآیند هایی که به اسکیزوفرنی متجر می شوند، باید بیشتر بررسی شود. (۴)

۲. بیماری های قلبی

قلب از طریق رشد هایپرتروفیک به آسیب های مزمن و حاد پاسخ می دهد. هایپرتروفی سلول قلب پاسخ سلولی غالب به انواع افزایش خون بازگیری شده، ناهنجاری های اندوکراین، آسیب های ماهیچه قلب یا موتاسیون های وراثتی در پروتئین های ساختاری و انقباضی است.

ژن های متعددی در هایپرتروفی سلول های قلب به طرز اشتباه بیان می شوند. استفاده از ریزآرایه ها برای بررسی الگوی بیان ریز RNA در قلب نشان داده که، miR-133، miR-150، miR-1، miR-29، miR-30، miR-21، miR-195، miR-199، miR-214 با هایپرتروفی دچار تنظیم افزایش یافته می شوند. (۱)

۳. دیابت

دیابت بیماری مزمنی است که به علت نقص در ساخت، ترشح و سیگنال انسولین ایجاد می شود. بیان بیش از حد miR-375 سبب مهار ترشح انسولین می شود و مهار بیان آن سبب افزایش ترشح انسولین می شود. (۱)

۴. سرطان

الگوی بیان غیرطبیعی بسیاری از ریز RNA ها مرتبط با سرطان زایی است. در برخی از انواع سرطان ها ریز RNA ها فعالیت انکوژنی دارند. در حالی که در دیگر انواع می توانند نقش سرکوبگر تومور را ایفا کنند.

هفت ریز RNA مرتبط با سرطان به صورت خوشه ای یا کلاستر در یک رونوشت متفرد لولیه به نام کلاستر miR-17 oncamiR-17 قرار گرفته اند که در لطفوم و غدد بدخیم

میزان آن ها افزایش می یابد. بیان اکتوییک این ها در مدل موشی لطفوم متجر به افزایش سرعت پیشرفت بیماری، کاهش اپوپتوز و انتشار بیشتر تومور می شود. این آزمایش ریز RNA ها را به عنوان مارکر سرطان و هدف درمان معرفی کرد.

الگوهای بیان ریز RNA در لطفوسیت های B نشان می دهد که بسیاری از ژن های ریز RNA در مکان های شکسته ژنوم انسان قرار گرفته اند. دو مورد این ها، miR-15a و miR-16-1 در جایگاه شکسته 13q14.3 هستند و همراه با ۱۱ ریز RNA دیگر نشان دهنده ارتباطی با پیشرفت بیماری در لوکمی مزمن لطفوسیت سلول های B انسانی هستند. حذف هموزیگوت این دو متجر به بیان بیش از حد mRNA های هدف می شود که سبب گسترش و متاستاز تومور می شود.

همچنین miR-145 در سرطان پستان و تخمدان دچار تنظیم کاهش یافته می شود. miR-10b در سرطان پستان دچار تنظیم کاهش یافته می شود. miR-17-92 در جیتین زایی نقش دارد و در سرطان ریه بیش از حد بیان می شود. miR-143 و miR-145 با کاهش تعدادی از بدخیمی ها مرتبط اند و این نشان دهنده پتانسیل آن ها برای فعالیت سرکوب گری تومور است (۲ و ۳).

کارسینومای تخمدان:

کشف این که ریز RNA ها به میزان مختلف در بافت های نرمال در برابر بدخیمی ها بیان می شوند امکان شناسایی روش های جدید تشخیص در مرحله ابتدایی و روش های درمانی جدید برای کارسینومای تخمدان را به وجود آورده است و پیش بینی نتایج شیمی درمانی ممکن شده است و برای تشخیص می توان به جای روش های تهاجمی از میزان ریز RNA سرم خون بیمار استفاده کرد (۱).

نتیجه گیری

به طور خلاصه الگوهای بیان ریز RNA می تواند به طور موثرتر از الگوهای بیان mRNA متشا تکاملی تومورها را نشان می دهد.

راه های مختلفی برای مسدود کردن عملکرد ریز RNA ها که باعث مهار تاثیرات انکوژنیک آن ها می شود توسعه یافته است. این نتایج پتانسیل ریز RNA را به عنوان یک ابزار بالینی در تشخیص سرطان و دیگر بیماری ها و هدفی در درمان آشکار کرده است.

References :

- 1-shah PP,Hutchinson LE, Kakar SS. 2009 Emerging role of microRNAs in diagnosis and treatment of various diseases including ovarian cancer.J Ovarian Res. 82-11
- 2-Chin LJ,Slack FJ. 2008 A truth serum for cancer - microRNAs have major potential as cancer biomarkers.Cell Res. .18:963-984
- 3-Schaefer A,Jung M,Kristiansen G,Lein M,Schrader M,Miller K,Stephan C,Jung K. 2010 MicroRNAs and cancer: Current state and future perspectives in urologic oncology. Urologic Onco. :Seminars and original investigations,28:4-13
- 4-Young X,Fei L,Bo Zh,Kerang Zh,Fuquan Zh,Xuezhu H,Ning S,Yan R,Manqiu S,Pozi L. 2010 microRNAs and target site screening reveals a pre-microRNA-30e variant associated with schizophrenia. Schizophrenia Res, 119:219-227
- 5-Enders KO, Wong LP,Edmond SK,Kwong A. 2009 MicroRNAs as New Players for Diagnosis,Prognosis,and Therapeutic Targets in Breast Cancer. J Oncol.55:1-6
- Tricoli JV, Jacobson JW. 2007MicroRNA: Potential for Cancer Detection, Diagnosis, and Prognosis.Cancer Res 6- .67;110;4553-5
- 7-Ha M, Pang M,Agarwal V,Chen Z.J. 2008 Interspecies regulation of microRNAs and their targets.Biochimica et Biophysica Acta. 1779: 735-742
- Roubelakis MG,Zotos P,Papachristoudis G,Michalopoulos I, Pappa KI, Anagnou NP, Kossida S. 2009 Human 8-microRNA target analysis and gene ontology clustering by GOMir, a novel stand-alone application.BMC Bioinformatics. 10(Suppl 6):S20