

## 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 (میکرو RNAها)، 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 می‌تواند 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 بیونزیمیکرو RNAها، نحوه سنتز و عملکرد آنها و چگونگی شناسایی مولکول‌های هدف توسط این ساختارهای ملکولی است. علاوه بر این مقاله تازه‌های موجود پیرامون نقش میکرو RNAها در عملکرد 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 محافظت شده 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<sup>۱</sup> انتهای mRNAها انجام می‌دهند. رونوشت‌های اولیه میکرو RNA طی دو مرحله پردازش تبدیل به مولکول بالغ کوتاه‌تری می‌شود (۱۲-۷).

### \* 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: ۰۳۱۱۷۹۲۳۳۶۵  
نمابر: ۰۳۱۱۷۹۲۳۴۵۶  
تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۶/۳۰  
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۸/۱۶  
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۰/۶/۱۷

در سال ۱۹۹۳ اولین میکرو RNA به نام Lin-۴ (lineage-۴) در *Caenorhabditis elegans* کشف شد، اما اهمیت این مولکول به عنوان 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، خون‌سازی، 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

1. (3' -UTR=3' -untranslatd region)3'

طریق مهار بیان ژن‌های هدف وابسته به سرطان عمل کنند (۱۸). مکانیزم عمده تغییرات miRNome<sup>۲</sup> در سلول‌های سرطانی، بیان نابه‌جای ژن می‌باشد که توسط سطوح غیرطبیعی میکروRNAهای بالغ تشخیص داده می‌شود (۱۲). دیگر مکانیسم‌های موثر در این امر، SNP<sup>۳</sup>، جهش‌های رخ داده در توالی Pri-miRNA<sup>۴</sup>، تغییر تعداد نسخه توالی‌های کدکننده میکروRNAها و رونویسی غیرطبیعی می‌باشد (۹). از این رو می‌توان از میکروRNAهای سرطانی<sup>۴</sup> 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).

### میکروRNAها

میکروRNAها مولکول‌های حفاظت‌شده‌ای از RNAهای تنظیمی<sup>۵</sup> درون سلولی هستند که بیان ژن را از طریق مسیر تداخل (RNAi= RNA interference) RNA تعدیل می‌کنند. RNAi نوعی مکانیسم خاموش‌کننده پس از رونویسی در یوکاریوت‌ها است که با ایجاد RNA دورشته‌ای<sup>۶</sup> تجزیه mRNAهای مشابه<sup>۷</sup> را القا می‌کند. میکروRNAها به صورت جزئی با mRNA هدف مکمل شده و اغلب به ناحیه‌ای از 3'UTR mRNA هدف وصل می‌شوند که از این طریق منجر به مهار ترجمه یا تجزیه آن می‌شوند. به عنوان مثال محصول ژن کنترل‌کننده Lin-4<sup>۸</sup> 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 در Lin-14 3'UTR، ترجمه Lin-14 را مهار می‌کند. پراکندگی ژن‌های میکروRNA 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 آگزون‌های کدکننده پروتئین و رونوشت‌هایی که پروتئین کد نمی‌کنند یافت شده‌اند (۱۷-۱۰).

### بیوزن<sup>۹</sup> میکروRNAها و نحوه مهار ترجمه

بیوزن میکروRNAها در هسته و سیتوپلاسم صورت می‌گیرد (شکل ۱). رونوشت آغازین<sup>۹</sup> میکروRNAها 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<sup>۱۰</sup> / DGCR8<sup>۱۱</sup> است (۱). پردازش اولیه منجر به ایجاد یک پیش‌ساز سنجاق سری ۱۱۰-۶۰ نوکلئوتیدی می‌شود، که این میکروRNA پیش‌ساز توسط فاکتور صادرکننده هسته‌ای Exportin-5 و فاکتور کمکی Ran-GTP به سیتوپلاسم منتقل می‌شود. در سیتوپلاسم، RNase III دیگری به نام Dicer منجر به پردازش نهایی میکروRNA می‌شود. Dicer به همراه عامل کمکی متصل‌شونده به RNA دورشته‌ای (ds-RNA binding partner) که در انسان HIV-1-TRBP<sup>۱۲</sup> و در مگس Loqs<sup>۱۳</sup> نامیده می‌شود، لوپ انتهایی Pri-miRNA را برش می‌دهد و میکروRNA (دورشته‌ای) ۲۲-۱۹ نوکلئوتیدی را ایجاد می‌کند (۱۷). TRBP دیگری، پروتئین آرگونات<sup>۱۴</sup> انسانی hAg2 (EIF2C2) را به کمپلکس Dicer متصل نموده، و یک کمپلکس خاموش‌کننده القا شده توسط RNA<sup>۱۵</sup> را ایجاد می‌کند. معمولاً فقط یک رشته از میکروRNA بالغ دورشته‌ای، به نام رشته‌ی راهنما<sup>۱۶</sup>، به کمپلکس میکروریبونوکلئوپروتئینی<sup>۱۷</sup> 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<sup>۱۸</sup> حفاظت شده با قابلیت اتصال به RNA می‌باشند: منطقه PAZ که به انتهایی ۳' میکروRNA تک رشته‌ای 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 gene 8

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

اجسام پردازشی رها شده و مکانیسم ترجمه دوباره راه اندازی می‌شود (۱۷-۱۸). لذا فرایند مهار ترجمه توسط میکرو RNA می‌تواند برگشت‌پذیر باشد. پیچیدگی فرآیندهای ذکر شده دلیلی بر اهمیت تنظیمی گسترده میکرو RNA هاست. 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 ۶-۷ 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 جفت‌شدگی 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 RNA - seed در 3' UTR های گونه‌های متفاوت، طراحی می‌شود (۱۷).

mRNAهایی که به طور ترجیحی با ۷-۸ 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

که از نظر ساختمانی مشابه ریبونوکلاز 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 Ago۴) فقط Ago۲ (برش دهنده<sup>۱۹</sup>) در RNAi از طریق برش درون نوکلئوتیدی<sup>۲۰</sup> 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' UTR های هدف را براساس جفت‌شدن با mRNA ایفا کند، رشته دوم (پسنجر<sup>۲۱</sup>) حذف می‌شود. رشته حاوی جفت باز ضعیف در پایانه 5' به عنوان رشته راهنما انتخاب می‌گردد. میکرو RNA های متصل‌شونده به RISC به mRNA 3' UTR هم‌جنس<sup>۲۲</sup> جفت می‌شوند و پس از رونویسی ژن، بیان آن را از طریق برش یا مهار ترجمه mRNA هدف کنترل می‌کنند. غالب‌ترین مکانیسم مهار ترجمه‌ی mRNA مکانیسم «خاموشی ژنی» بوده و از روش بکارگیری فاکتور برهم زنده تجمع ریبوزوم، eIF۶، یا اتصال Ago۲ به کلاهک<sup>۲۳</sup> 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<sup>۲۴</sup>) نامیده می‌شوند، مستقر شده و در آن جا ذخیره یا تجزیه می‌شود (۱۵). به منظور تجزیه، اجسام پردازشی حاوی آنزیم‌های کلاهک برداری<sup>۲۵</sup> Dcp۱/Dcp۲، اگزونوکلاز 3'-5' Xrn1 و فعالیت د‌اندیلاسیون<sup>۲۶</sup> هستند. علاوه بر این پروتئین‌های آرگونات، میکرو RNA ها و mRNA های مهار شده نیز در اجسام پردازشی تجمع می‌یابند. در غیاب RNA های 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

19. Slicer

20. Endonucleolytically

21. Passenger

22. Cognate

23. m(7) GCap

24. Processing

25. Decapping

26. De-adenylation

3'UTR طبقه‌بندی می‌شوند. در نوع دیگری از جفت شدن میکرو RNA:mRNA هدف، جفت شدن ناقص در ناحیه '5- seed صورت می‌گیرد، اما از طریق جفت شدن یک باز اضافی در انتهای 3' 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<sup>۲۷</sup> 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 برنامه‌ریزی 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 طبقه‌بندی تومور به مراتب مناسب‌تر از mRNA می‌باشد، این امر به علت جفت شدگی ناقص بین میکرو RNA و mRNAهای هدف است، از این رو ریزسنگ‌های 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 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 می‌تواند 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 اتصال 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<sup>۲۸</sup> یا تغییرات هیستونی<sup>۲۹</sup> غیرفعال کنند و از طرف دیگر میکرو RNA می‌تواند به عنوان یک تنظیم‌کننده ژنتیکی عوامل فوق مطرح گردد. بیان افزایش یافته میکرو RNA در سلول‌های سرطانی ممکن است حاصل ازدیاد و عدم کنترل یک فاکتور رونویسی یا دمتیله شدن<sup>۳۰</sup> 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

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

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

چرخه سلولی، رشد سلول را تحت تأثیر قرار می‌دهند. میکروRNAها یکی از انواع تنظیم‌کننده‌های اصلی مرگ برنامه ریزی شده در فرایند تومورزایی هستند و بقای سلول‌های سرطانی با دستکاری این میکروRNAها 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 میکروRNA یکی از عوامل فعالیت زیاد تلومراز در تومورهاست. یک سری از میکروRNAها در گذار اپی تلیال-مزانشیمی<sup>۳۱</sup> که یکی از مراحل اساسی در هجوم تومور و متاستاز می‌باشد، درگیرند (۱۳). قابل ذکر است که بیش از نیمی از میکروRNAها در مناطق ناپایدار ژنومی یا

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

برخی میکروRNAها 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. (جدول ۲) (۱۱).

### میکروRNAها ویژگی‌های بارز سلول‌های سرطانی را تحت تأثیر قرار می‌دهند

تغییرات افزایشی یا کاهشیی بیان برخی میکروRNAها که منجر به روند سرطانی می‌شوند، از طریق ایجاد تداخل با تنظیم‌کننده‌های

31. EMT: Epithelial-mesenchymal transition

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

مکانیسم اختلال گر	تاثیر مکانیسم اختلال 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 هدف mRNA	اتصال تغییر یافته miRNA
۴- موتاسیون یک ژن mRNA غیرهدف	اتصال احتمالی miRNA به mRNA غیرهدف
۵- موتاسیون در بیونژن تشکیلات افزایش بیان Droscha کاهش بیان Dicer	پردازش miRNA
۶- مکانیسم‌های اپی ژنتیک متیلاسیون پروموتورژن miRNA تغییرات هیستون	کاهش تشکیل miRNA

تسهیل کرده است. ریزآرایه های<sup>۳۲</sup> 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 پلاسما 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 (۷-۱۵).

### 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 اولیگونوکلوئوتیدهای آنتی سنس<sup>۳۳</sup> که با میکرو RNAها 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 RNAها طراحی شده است. مکانیسم مهار میکرو RNA توسط این اولیگونوکلوئوتیدهای مهندسی شده مشخص نیست، اما اتصال برگشت‌ناپذیر این مولکول‌ها به میکرو RNAها می‌تواند دلیلی بر این امر باشد. اولیگونوکلوئوتیدهای آنتی سنس متیله شده در اکسیژن<sup>۳۴</sup> یا اولیگونوکلوئوتیدهای آنتی

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 RNA یعنی 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 و تشخیص سرطان تکنولوژی "omics" شناسایی و درمان سرطان را به میزان زیادی

32. Micro arrays

33. Antisense

34. 2'-O-Methyl Antisense Oigonucleotids

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

ویژگی‌های بارز سرطان	عملکرد میکرو RNAها	ها RNA میکرو
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، let-7 یا miR-15، miR-16-1

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

سنس LNA<sup>۳۵</sup> 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 ترانس ژن‌ها 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<sup>۳۶</sup> که حاوی ژنوم خودمکمل<sup>۳۷</sup> است، انتقال کارآمد میکرو RNA را از طریق تحویل عروقی<sup>۳۸</sup> 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

35. Locked-nucleic acid

36. Adeno associated virus

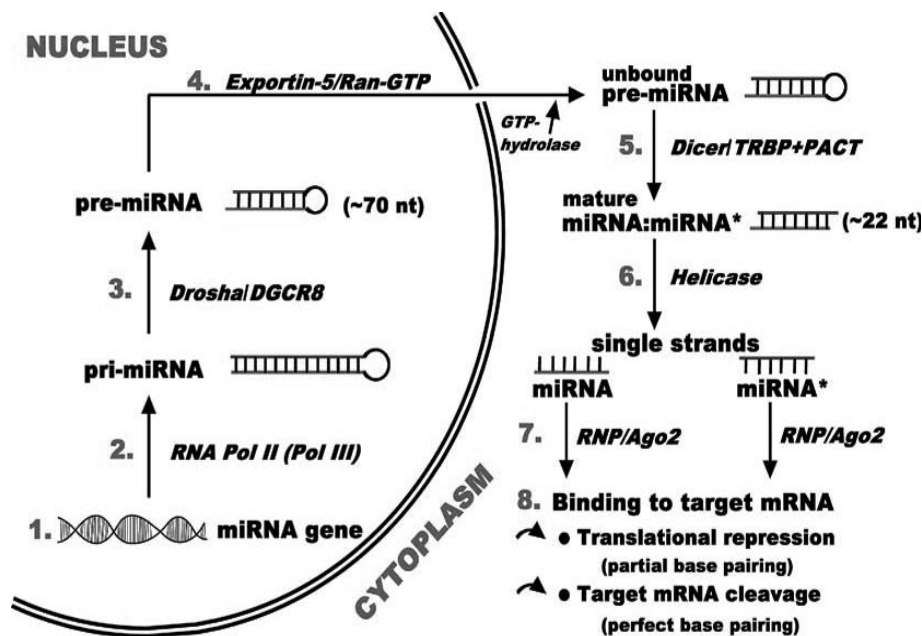
37. Self-complementary

38. Vascular delivery

جدول ۴- برخی میکروRNAهای درگیر در سرطان‌های متفاوت انسانی با سطوح بیانی تغییر یافته (۱)

نوع سرطان	بیان افزایش یافته	بیان کاهش یافته
سینه	<i>miR-21, miR-22, miR-23, miR-29b-2, miR-96, miR-155, miR-191, miR-181, miR-182, miR-27a, miR-210</i>	<i>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</i>
تخمدان	<i>miR-200a/b/c, miR-141, miR-18a, miR-93, miR-429</i>	<i>miR-199a, miR-140, miR-145, miR-125a,b, let7</i>
کلورکتال	<i>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</i>	<i>miR-143, miR-145, let-7, miR30 -3p, miR-124a, miR-129, miR133 b, miR328</i>
ریه	<i>miR-17-92 cluster, miR-21, miR-155, miR-191, miR-205, miR-210</i>	<i>let-7, miR-34 family, miR-143, miR-145, miR-124a</i>
گلیوبلاستوما	<i>miR-221, miR-222, miR-21</i>	<i>miR-181a, miR-181b, miR-181c, miR-125a, miR-125b</i>
مری	<i>miR-194, miR-192, miR-200c, miR-21</i>	<i>miR-203, miR-205</i>
معه ای- روده ای	<i>miR-106b-25</i>	<i>miR-15b, miR-16</i>
تیروئید	<i>miR-146b, miR-221, miR-222, miR-181b, miR-155, miR-197, miR-224, miR-346</i>	<i>miR-30d, miR-125b, miR-26a, miR-30a-5p</i>
پانکراس	<i>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-34a376</i>	<i>miR-375, let-7, miR-200, miR200b</i>
پروستات	<i>let-7d, miR-195, miR-203, miR-21, miR-181, miR-106, miR-363, miR-221</i>	<i>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</i>
مثانه	<i>miR-17, miR-23a,b, miR-26b, miR-103-1, miR-185, miR-203, miR-205, miR-221, miR-223</i>	<i>miR-29c, miR-26a, miR-30c, miR-30e-5p, miR-145, miR-30a-3p, miR-133a/b, miR-195, miR125b, miR-199a</i>
لوسمی میلوئید حاد	<i>miR-191, miR-199, miR155, miR-221, miR-222, miR-125a/b</i>	<i>miR-124a, miR-148a, miR-181a, miR-204, miR-223</i>
لوسمی پرومیلوئید حاد	<i>miR-15a, miR-15b, miR-16-1, let-7a-3, let-7c, let-7d, miR-223, miR-342, miR-107</i>	<i>miR-181b</i>
لوسمی لنفوبلاستیک حاد	<i>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</i>	<i>let-7b, miR-223, miR-100, miR-125b, miR-151-5p, miR-99a</i>
لوسمی میلوئید مزمن	<i>miR-17-92 cluster, miR-17-5p, miR-17-3p, miR-18a, miR-19a miR-19b-1, miR-20a, miR-92a-1</i>	<i>miR-10a</i>
لوسمی لنفوسیتیک مزمن	<i>miR-21, miR-23b, miR-24-1, miR-146, miR-155, miR-106b, miR-195, miR-221, miR-222</i>	<i>miR-15a, miR16-1, miR-29, miR143, miR-45, miR-30d, let-7a, miR-181a/b, miR-223, miR-92, miR-150</i>
آدنوکارسینومای اندومترئیدی	<i>miR-205, miR-449, miR-429</i>	<i>miR-193a, miR-204, miR-99b</i>
هیپاتوسلولار	<i>miR-18, miR-21, miR-33, miR-130b, miR-135a, miR-221, miR-224, miR301</i>	<i>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</i>





مدل بیوژنز میکرو RNA و نحوه عملکرد آن (۱۵)

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 اولیگونوکلوئوتیدهای آنتی سنس جهت کاهش بیان میکرو RNA موثر در ایجاد سرطان، ممکن است با تأثیر بر میکرو RNAهای غیر هدف، اثرات نامطلوبی را در 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 الیگونوکلوئوتیدهای 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

انتخاب می‌گردد. میکرو RNAها با تنظیم بیان ژن تولیدکننده پروتئین‌هایی که با دارو برهمکنش می‌دهند، عملکرد دارو را تحت تأثیر 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 تأثیر گذاشت. البته موانع و مشکلاتی نیز در این رابطه وجود دارد. از جمله اینکه، یک

حلقه pre-miRNA را از ساقه حذف می کند.

۶- هلبکاز ، دو رشته میکرو RNA را از هم باز می کند و دو رشته پسنجر (miRNA\*) و راهنما (miRNA) بیشتر پردازش می شوند.

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

۸- بسته به تکمیل شدگی بین ناحیه miRNA-Seed و 3' UTR- mRNA پردازش های خاموش کننده متفاوتی صورت می گیرد که شامل: مهار ترجمه mRNA ، تخریب mRNA ، دآدنیلایسیون، کلاهاک برداری و ... می باشند.

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

۳- pri-miRNA به طور نامتقارن توسط کمپلکسی ریزپردازش گر (آنزیم Droscha RNase III / فاکتور DGCR۸) به میکرو RNA پیش ساز کوچکتری که pre-miRNA نامیده می شود، بریده می شود. pre-miRNA تقریباً واجد ۷۰ نوکلئوتید است.

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

۵- آنزیم RNase III دیگری تحت عنوان Dicer با کمک فاکتورهای (trans-activation response)TRBP و PACT (protein) (- TAR - binding protein) (activator of ds RNA dependent protein kinase)

## References

- 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.
- Büssing I, Slack FJ, Grosshans H. let-7 microRNAs in development, stem cells and cancer. *Trends Mol Med*. 2008 Sep;14(9):400-9.
- Cho WC. MicroRNAs in cancer - from research to therapy. *Biochim Biophys Acta*. 2010 Apr;1805(2):209-217.
- Cho WC. MicroRNAs: Potential biomarkers for cancer diagnosis, prognosis and targets for therapy. *Int J Biochem Cell Biol*. 2010 Aug;42(8):1273-81.
- Giovannetti E, Erozenski 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]
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011 Mar 4;144(5):646-74.
- 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.
- Kim M, Kasinski AL, Slack FJ. MicroRNA therapeutics in preclinical cancer models. *Lancet Oncol*. 2011 Apr;12(4):319-21.
- Lim J, Li J, Ding X, He M, Chang SY. microRNA and Cancer. *AAPS J*. 2010 Sep;12(3):309-17.
- McManus MT. MicroRNAs and cancer. *Semin Cancer Biol*. 2003 Aug;13(4):253-8.
- Montano M. MicroRNAs: miRRORS of health and disease. *Transl Res*. 2011 Apr;157(4):157-62.
- Negrini M, Nicoloso MS, Calin G. MicroRNAs and cancer--new paradigms in molecular oncology. *Curr Opin Cell Biol*. 2009 Jun;21(3):470-9.
- Ruan K, Fang X, Ouyang G. MicroRNAs: novel regulators in the hallmarks of human cancer. *Cancer Lett*. 2009 Nov 28;285(2):116-26.
- Rukov JL, Shomron N. MicroRNA pharmacogenomics: Post-transcriptional regulation of drug response. *Trends Mol Med*. 2011 Jun 6. [Epub ahead of print]
- 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.
- Voorhoeve PM, Agami R. Classifying microRNAs in cancer: the good, the bad and the ugly. *Biochim. Biophys. Acta*. 2007 Jun;1775(2):274-82.
- Wiemer EA. The role of microRNAs in cancer: no small matter. *Eur J Cancer*. 2007 Jul;43(10):1529-44.
- 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].