Role of MicroRNAs in Development of Immune Cells and Nervous System and their Relation to Multiple Sclerosis

Neda Parvini, Shamseddin Ahmadi*

Department of Biological Science and Biotechnology, Faculty of Science, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.

Article Info:

Received: **2 Jan 2015** ***Accepted*****: 14 Feb 2015**

ABSTRACT

Introduction: MicroRNAs (miRNAs) are small and non-coding ribonucleic acids that play critical roles in regulation of host genome expression at post-transcriptional level. An individual miRNA is able to down-regulate multiple targeted mRNA transcripts. Therefore, minor changes in a miRNA expression may lead to significant alterations in the expression of different genes. During last two decades, miRNAs have emerged as key regulators of immune cell lineage differentiation, maturation, maintenance of immune homeostasis, and normal function. Multiples sclerosis (MS) is a chronic inflammatory disease that is characterized by infiltration of lymphocytes into the central nervous system (CNS), demyelination and axonal degeneration. Although causes of MS are still unknown, it is widely accepted that novel drug targets need to focus on both decreasing inflammation and promoting CNS repair. Recent researches about MS disease have shown that miRNAs are dysregulated in the immune system and CNS, which shows their role in the MS pathogenesis. ***Conclusion:*** Identification of specific expression patterns of miRNA in autoimmune diseases and a further comprehensive understanding of their role in the pathogenesis of different diseases offers promise of not only novel molecular diagnostic markers but also new gene therapy strategies for treating inflammatory autoimmune diseases. In this study, we review the latest findings about miRNA biogenesis and signatures in the CNS and immune cells of MS patients.

Key words:

1. MicroRNAs
2. Inflammation
3. Autoimmunity
4. Central Nervous System
5. Demyelinating Diseases

* ***Corresponding Author:*** Shamseddin Ahmadi

E-mail: *sh.ahmadi@uok.ac.ir*

نقش میکرو RNA ها در تکوین سلول‌های ایمنی و سیستم عصبی و ارتباط آن‌ها با مالتیپل اسکلروز

ندا پروینی، شمس الدین احمدی*

گروه علوم زیستی و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران.

اطلاعات مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۲ دی ۱۳۹۳

تاریخ پذیرش: ۲۵ بهمن ۱۳۹۳

چکیده

مقدمه: میکرو RNA ها ریبونوکلئیک اسیدهای کوچک و غیر کدکننده هستند که در تنظیم بیان ژنوم میزبان در سطح پس از رونویسی نقش‌های اساسی ایفاء می‌کنند. یک میکرو RNA به تنهایی می‌تواند موجب تنظیم کاهشی چندین رونوشت mRNA ی هدف شود. بنابراین تغییرات اندک در بیان یک میکرو RNA ممکن است منجر به تغییرات چشمگیری در بیان ژن‌های مختلفی شود. در طی دو دهۀ اخیر میکرو RNA ها به عنوان تنظیم‌کننده‌های کلیدی تمایز دودمان سلول ایمنی، بلوغ، حفظ هومئوستاز و عملکرد طبیعی ایمنی پدیدار شده‌اند. مالتیپل اسکلروز یک بیماری التهابی مزمن است که با نفوذ لنفوسیت‌ها به سیستم عصبی مرکزی، از دست رفتن میلین و تخریب آکسونی مشخص می شود. با وجود اینکه علل مالتیپل اسکلروز تاکنون ناشناخته مانده است، به‌طور گسترده‌ای پذیرفته شده است که اهداف دارویی جدید به منظور تمرکز بر روی کاهش التهاب و تقویت فرایند ترمیم سیستم عصبی مرکزی لازم است. تحقیقات اخیر دربارۀ بیماری مالتیپل اسکلروز نشان داده‌اند که میکرو RNA ها در سیستم ایمنی و سیستم عصبی مرکزی دچار اختلال می‌شوند، که نقش آن‌ها را در روند بیماریزایی مالتیپل اسکلروز نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری: شناسایی الگوهای خاص بیان میکرو RNA در بیماری‌های خودایمنی و یک فهم جامع از نقش آن‌ها در روند بیماریزایی بیماری‌های مختلف نه تنها شناساگرهای تشخیصی مولکولی جدید، بلکه همچنین استراتژی‌های ژن‌درمانی جدیدی را برای درمان بیماری‌های خودایمنی التهابی پیشنهاد می‌کند. در این مطالعه ما آخرین یافته‌های مربوط به تولید و تکامل میکرو RNA و اثر آن در سیستم عصبی مرکزی و سلول‌های ایمنی بیماران مالتیپل اسکلروز را مرور می‌کنیم.

کلید واژه‌ها:

۱. میکرو RNA ها
۲. التهاب
۳. خود ایمنی
۴. سیستم عصبی مرکزی
۵. بیماری‌های از بین برندۀ میلین

* **نویسنده مسئول:** شمس الدین احمدی

آدرس الکترونیکی: *sh.ahmadi@uok.ac.ir*

مقدمه

میکرو RNA ها[1] گروه کوچکی از RNA های غیر کدکننده و تک رشته‌ای هستند که ۱۸ تا ۲۴ نوکلئوتید دارند و در تنظیم بیان ژن در سطح پس از رونویسی نقش مهمی را ایفاء می‌کنند (۱، ۲). اولین میکرو RNA در سال ۱۹۹۳ در نماتود C. elegans کشف شد و Lin-4 نام‌گذاری گردید (۳). دومین میکرو RNA به نام let-7 نیز در سال ۲۰۰۰ در C. elegans شناسایی شد و پس از آن، مقالات زیادی میکرو RNA های متعددی را با عملکردهای متفاوت در گونه‌های مختلف جانوری و گیاهی معرفی نموده‌اند.

با توجه به دانش رو به رشد در مورد میکرو RNA ها و معرفی توالی‌های آن‌ها، داده پایگاه‌های متنوعی مربوط به میکرو RNA های منتشر شده، راه‌اندازی شده است که یکی از مهم‌ترین آن‌ها داده پایگاه miRBase[2] نام دارد. براساس گزارش منتشر شده در نسخهٔ ۲۱ ژوئن سال ۲۰۱۴ در این داده پایگاه، تعداد ۲۸۶۴۵ میکرو RNA در ۲۲۳ گونهٔ جانوری و گیاهی شناسایی شده‌اند (۴). تخمین زده می‌شود که یک میکرو RNA به تنهایی، بتواند بیان صدها تا هزاران ژن هدف را تنظیم کند. براساس نتایج مطالعات منتشر شده، ژن‌های کدکنندهٔ میکرو RNA ها حدود ۳ درصد ژنوم انسان را تشکیل می‌دهند. بنابراین احتمال می‌رود که حدود ۳۰ تا ۹۲ درصد ژن‌های انسان توسط میکرو RNA ها تنظیم می‌شوند (۵). نقش تنظیم‌کنندگی ژن میکرو RNA ها هم اکنون به خوبی شناسایی شده است و عملکرد میکرو RNA ها را برای تکوین سیستم‌های فیزیولوژیکی مختلف و حفظ هومئوستاز سلولی و عملکرد طبیعی آن‌ها ضروری می‌دانند (۶، ۱).

امروزه موضوع بررسی میکرو RNA ها و شناسایی بیان و عملکرد آن‌ها در طیف گسترده‌ای از بیماری‌های انسان شامل انواع مختلف سرطان، عفونت، التهاب‌های مزمن و بیماری‌های خودایمنی مورد توجه قرار گرفته است (۷). الگوی بیانی بعضی میکرو RNA ها، اطلاعاتی را در مورد عملکردهای آن‌ها در دسترس قرار می‌دهد. بعضی از میکرو RNA ها دارای بیان اختصاصی در اندام خاصی هستند، بنابراین در ایجاد یا حفظ سرنوشت سلولی در طول تکوین جنین اهمیت دارند (۸). در دو دههٔ گذشته مشخص شده است که میکرو RNA ها در بیمارهای مختلفی مانند بیماری‌های سیستم ایمنی، سیستم عصبی، انواع سرطان و غیره نقش دارند. بنابراین کشف نقش تنظیمی میکرو RNA ها، نه تنها به مشخص‌تر شدن نحوهٔ بیان و عملکرد ژن‌های موجودات و از جملهٔ انسان در طی تکوین و رشد موجودات کمک می‌کند، بلکه می‌تواند در تشخیص و درمان بیماری‌ها نیز به عنوان بیومارکرها[3] یا شناساگرهای زیستی کاربرد داشته باشد (۱۱-۹، ۷).

معرفی میکرو RNA ها و نحوهٔ نام‌گذاری آن‌ها

میکرو RNA ها گروه کوچکی از RNA های غیر کدکننده و تک رشته‌ای می‌باشند که دارای حدود ۱۸ تا ۲۴ نوکلئوتید هستند. این نوع RNA ها منشاء داخلی[4] دارند و بیان ژن را با متصل شدن به ناحیهٔ غیرقابل ترجمه در انتهای ′3 یا ′3UTR در mRNA های هدف تنظیم می‌کنند. در داده پایگاه miRBase برای نام‌گذاری میکرو RNA ها از یک نام سه قسمتی مانند dme-miR-100 استفاده می‌شود. پیشوند سه حرفی اول این اسم سه قسمتی مربوط به اسم اختصاری گونه‌ای است که میکرو RNA در آن شناسایی شده است (به عنوان مثال dme مخفف Drosophila melanogaster و hsa مخفف Homo sapiens می‌باشد)، سه حرف دوم (یعنی miR) مخفف میکرو RNA بوده و بخش سوم شمارهٔ مربوط به ترتیب شناسایی و معرفی میکرو RNA می‌باشد. به میکرو RNA های شناسایی شده در جایگاه‌های ژنی هومولوگ در موجودات مختلف شمارهٔ مشابهی تعلق می‌گیرد (۴).

امروزه مطالعات زیادی پیشنهاد می‌کنند که هر یک از دو رشتهٔ مربوط به فرم ساقه –حلقه در mRNA ی اولیهٔ میکرو RNA می‌توانند به میکرو RNA بالغ و نهایی تبدیل شوند. بنابراین از پسوندهای 5p و 3p بعد از شمارهٔ میکرو RNA (به عنوان مثال dme-miR-100-5p و dme-miR-100-3p) برای مشخص شدن منشاء میکرو RNA از بخش ′5 یا ′3 mRNA ی اولیهٔ میکرو RNA استفاده می‌شود (۴). همچنین اگر توالی میکرو RNA ی جدید در یک یا دو نوکلئوتید با یک میکرو RNAی از قبل نام‌گذاری شده تفاوت داشته باشد، برای نام‌گذاری آن‌ها از حروف a و b پس از شمارهٔ میکرو RNA (مانند miR-181a و miR-181b) استفاده می‌شود. اما اگر تفاوت توالی با یک میکرو RNA ی از قبل نام‌گذاری شده بیشتر باشد، نام‌گذاری به صورت توافقی با شخص معرفی‌کنندهٔ میکرو RNA ی جدید انجام می‌شود (۱۲). ثبت میکرو RNA ی با شمارهٔ جدید در داده پایگاه miRBase منوط به تفاوت توالی آن با موارد شناخته شده قبلی می‌باشد و نیز بایستی شخص مؤلف، مقاله‌ای معتبر در مورد توالی میکرو RNA ی جدید داشته باشد (۴).

توزیع بافتی میکرو RNA ها

میکرو RNA ها در سلول‌های بافت‌های مختلف، مایع پلاسما و دیگر مایعات بدن مانند ادرار، اشک و مایع آمنیون به شکل پایدار و به صورت متصل به کمپلکس خاموش کنندهٔ القاء شده توسط RNA (RISC)[5] یافت می‌شوند. به این ترتیب، میکرو RNA ها از دسترس فعالیت RNase های با منشاء داخلی محافظت می‌شوند و به همین دلیل است که میکرو RNA ها به شرایط سخت مقاوم‌اند. تبادل میکرو RNA با سلول‌های دیگر با واسطهٔ اگزوزوم‌هایی[6] انجام می‌شود که در داخل سلول بسته‌بندی می‌شوند. میزان میکرو RNA ی تعیین شده در سرم و رده‌های سلولی متفاوت است که این اختلاف به این دلیل می‌باشد که میکرو RNA ی موجود در سرم، محصول تخریب سلول تومور یا شکل فعال اگزوزوم‌های در حال انتقال هستند. تفاوت مشاهده شده بین میزان میکرو RNA ی بافت و سرم نیز به مکانیسم آزادسازی میکرو RNA های بافت به جریان خون نسبت داده می‌شود. الگوی سرمی میکرو RNA در سرم مردان و زنان سالم یکسان می‌باشد که نشان‌دهندهٔ عدم ارتباط این الگوی سرمی با جنسیت است (۱۳).

[1] MicroRNAs (miRNAs)
[2] MicroRNAs database
[3] Biomarkers
[4] Endogenous
[5] RNA-induced silencing complex (RISC)
[6] Exosomes

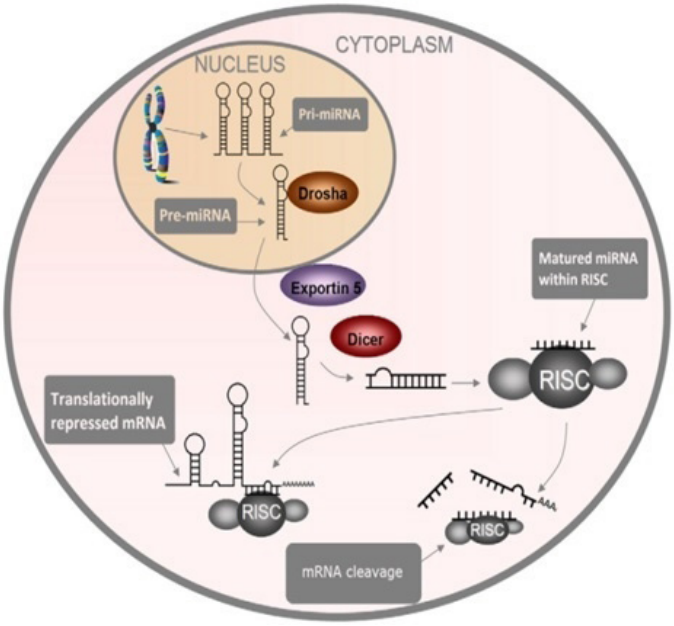
تولید زیستی میکرو RNA ها

حدود ۸۰ درصد ژن‌های کد کنندهٔ میکرو RNA های پستانداران در محل اینترون ژن‌ها (در رشتهٔ کدکننده یا غیر کدکنندهٔ پروتئین) و ۲۰ درصد دیگر در محل‌های اگزونی ژن‌ها قرار دارند (۱۵، ۱۴). تولید زیستی میکرو RNA شامل چندین مرحلهٔ مختلف است. ژن کدکنندهٔ میکرو RNA ها ابتدا توسط RNA پلی‌مراز II رونویسی شده و رونوشت میکرو RNA اولیه (Pri-miRNA) را ایجاد می‌کند. سپس پردازش و بلوغ آن‌ها توسط دو آنزیم اندونوکلئاز و ریبونوکلئاز نوع III (RNase III)[7] که Drosha و Dicer نام دارند، انجام می‌شود.

ابتدا Drosha که یک ریبونوکلئاز هسته‌ای است و پروتئین همراه آن به نام DGCR8[8] تشکیل مجموعه‌ای به نام Drosha/DGCR8 را می‌دهند که در هستهٔ سلول، Pri-miRNA را به پیش‌ساز ساقه–حلقه به نام Pre-miRNA پردازش می‌کنند و این ساختار حدود ۶۰ تا ۱۱۰ نوکلئوتید دارد. سپس Pre-miRNA توسط مکانیسمی که توسط Exportin5 وابسته به Ran-GTP انجام می‌شود و به طور ویژه ساختار مولکول‌های Pre-miRNA را شناسایی می‌کند، از هسته به سیتوپلاسم منتقل می‌شود (۱۶). در مرحلهٔ دوم که در سیتوپلاسم انجام می‌شود، Pre-miRNA توسط آنزیم RNase III سیتوپلاسمی به نام Dicer و پروتئین همراه آن به نام TRBP[9]، به میکروRNA دو رشته‌ای با تعداد تقریبی ۲۱ نوکلئوتید برش می‌خورد و سپس در یک فرایند پویا که تاکنون به خوبی شناسایی نشده است، یک رشته برای بارگذاری بر روی کمپلکس خاموش کنندهٔ القاء شده توسط RNA (RISC) انتخاب می‌شود. این کمپلکس، میکرو RNA را به ناحیهٔ 3′UTR در mRNA هدف هدایت می‌کند و سبب تجزیه mRNA هدف و یا مهار ترجمهٔ آن می‌شود (تصویر ۱)–(۱۷).

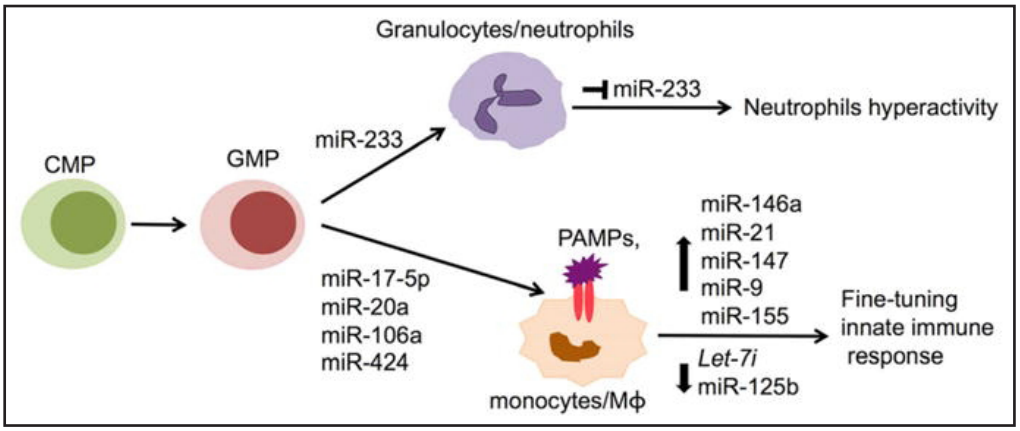
یک میکرو RNA می‌تواند با چند صد mRNA ی هدف واکنش دهد و هر mRNA نیز توسط میکرو RNA های زیادی مورد هدف قرار می‌گیرد. به همین دلیل، درجات مختلفی از میان‌کنش و تنظیم پس از رونویسی شامل مهار آغاز ترجمه با واسطهٔ میکرو RNA، تجزیهٔ پروتئین هم‌زمان با ترجمه و پایان پذیری ناقص ترجمه انجام می‌شوند.

بررسی‌های پروتئولیتیک نشان داده‌اند که ژن‌های تنظیم شده توسط میکرو RNA، در اصل برای مهار ترجمه هدف قرار می‌گیرند. با این وجود، درجهٔ مکملی بین مرکز میکرو RNA (محل مرکزی ۲ تا ۸ نوکلئوتیدی) و ناحیهٔ 3′UTR در mRNA ی هدف، مکانیسم تنظیم ژن به واسطهٔ میکرو RNA یعنی مهار ترجمه یا تجزیه mRNA را تعیین می‌کند. اگر حالت مکملی بین میکرو RNA و mRNA کامل نباشد، ترجمهٔ mRNA هدف مهار می‌شود و در صورت وجود حالت مکملی کامل، mRNA هدف آدنیله شده[10] و توسط برش اندونوکلئازی ناپایدار می‌شود و سرانجام، میکرو RNA موجب تجزیهٔ کامل mRNA شده و به این ترتیب از ساخته شدن پروتئین جلوگیری می‌کند (تصویر ۱)–(۱۸).



تصویر ۱– مراحل تولید زیستی میکرو RNA از هسته تا سیتوپلاسم (۱۷). پس از رونویسی از ژن میکرو RNA، رونوشت اولیه‌ای به نام Pri-miRNA در هسته تولید می‌شود و با اثر آنزیم یک آنزیم ریبونوکلئاز هسته‌ای به نام Drosha به Pre-miRNA پردازش می‌شود که توسط Exportin-5 به سیتوپلاسم منتقل می‌گردد. آنزیم Dicer یک ریبونوکلئاز سیتوپلاسمی است، Pre-miRNA را به میکرو RNA دو رشته‌ای با ۲۱ نوکلئوتیدی برش می‌دهد و سپس یک رشته از آن برای بارگذاری بر روی کمپلکس خاموش کنندهٔ القاء شده توسط RNA (RISC) انتخاب می‌شود. این کمپلکس، میکرو RNA را به ناحیهٔ 3′UTR در mRNA هدف هدایت می‌کند و سبب تجزیه mRNA ی هدف و یا مهار ترجمه آن می‌شود.

[7] Ribonuclease III (RNase III)
[8] DiGeorge syndrome critical region protein 8 (DGCR8)
[9] Trans activator RNA binding protein
[10] Adenylation



تصویـر ۲- نقـش میکـرو RNA هـای مختلـف و کاهـش یـا افزایـش آن‌هـا در تنظیـم تشـکیل سـلول‌های سیسـتم ایمنـی ذاتـی (۷). CMP: پیش‌سـاز میلوئیـدی مشـترک؛ GMP: پیش‌سـاز گرانولوسـیتی -مونوسـیتی؛ PAMP: الگـوی مولکولـی مرتبـط بـا پاتـوژن. miR-223 موجـب تمایـز پیش‌سـاز گرانولوسـیتی -مونوسـیتی بـه سـمت نوتروفیـل می‌شـود و بـا کاهـش بیـان miR-223، نوتروفیل‌هـا دچـار افزایـش فعالیـت می‌شـوند. میکـرو RNA هـای miR-17-5p، miR-20a، miR-106a و miR-424 در تمایـز پیش‌سـاز گرانولوسـیتی -مونوسـیتی بـه سـمت مونوسـیت و در نهایـت ماکروفـاژ نقـش دارنـد. فلش‌هـای رو بـه بـالا، نشـان‌دهندۀ افزایـش و فلش‌هـای رو بـه پاییـن، نشـان‌دهندۀ کاهـش بیـان آن‌هـا می‌باشـند کـه مجموعـۀ افزایـش و کاهش‌هـا در بیـان میکـرو RNA، موجـب کنتـرل دقیـق پاسـخ‌های ایمنـی ذاتـی بـا واسـطۀ ماکروفاژهـا می‌شـود.

نقش میکرو RNA ها در سیستم ایمنی ذاتی

سلول‌های سیستم ایمنی ذاتی شامل گرانولوسیت‌ها، ماکروفاژهای مشتق شده از مونوسیت و سلول‌های دندریتیک می‌باشند. در میان گرانولوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها بیشترین مقدار گلبول‌های سفید خون محیطی را شامل می‌شوند و به عنوان اولین خط سلولی دفاعی در مقابل عوامل بیماریزای مهاجم در نظر گرفته می‌شوند. گیرنده‌های شبه Toll (TLR ها)[11] بر روی غشای مونوسیت‌ها قرار دارند و به محصولات میکروبی ویژه‌ای به نام الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن‌ها (PAMP ها)[12] متصل می‌شوند و این گیرنده‌ها، آغازگر مسیرهای پیام‌رسانی پایین دست هستند که در نهایت پاسخ‌های التهابی را ایجاد می‌کنند.

گروه‌های مختلفی از تنظیم کننده‌های منفی با هدف جلوگیری از ایجاد التهاب، پیام[13] شروع شده از گیرنده‌های TLR را کنترل می‌کنند. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که میکرو RNA ها نه تنها تکوین سلول‌های ایمنی ذاتی، بلکه پاسخ‌های ایمنی ذاتی را نیز تنظیم می‌کنند (تصویر ۲)-(۱۹).

در طول گرانول‌زایی در گرانولوسیت‌ها، miR-223 به شدت توسط فاکتور رونویسی القاء می‌شود. پروتئین اتصالی افزایش دهندۀ توالی CCAAT نوع آلفا (C/EBPα)[14] نیز با مهار فاکتورهای رونویسی شامل فاکتور هسته‌ای I نوع A (NFI-A)[15] و E2F1، موجب افزایش تمایز گرانولوسیت‌ها می‌شود (۲۰). با این وجود، مطالعه بر روی موش آزمایشگاهی فاقد miR-223 نشان داد که miR-223 با هدف قرار دادن فاکتور رونویسی دیگری به نام فاکتور mef2C[16]، به عنوان تنظیم کنندۀ منفی تمایز گرانولوسیت‌ها عمل می‌کند. نشان داده شده است که موش آزمایشگاهی فاقد miR-223، تعداد بیشتری پیش‌ساز گرانولوسیت دارد که همین مسئله منجر به افزایش توسعۀ گرانولوسیت‌ها می‌شود. بنابراین این موش‌های آزمایشگاهی دچار فعالیت بیش از حد نوتروفیل‌ها و بیماری التهاب ریه خواهند شد (۷). با توجه به مطالب ذکر شده، نقش miR-223 در تکوین و عملکرد نوتروفیل‌ها آشکار است، اما فهم نقش miR-223 در تنظیم عملکرد گرانولوسیت و گرانول‌زایی در مراحل مختلف تمایزی این سلول‌ها ضروری است.

ماکروفاژهای مشتق شده از مونوسیت‌ها، در پاسخ‌های ایمنی ذاتی نقش اساسی دارند. مونوسیت‌زایی توسط حلقۀ مداری شامل miR-17-5p، miR-20a، miR-106a، پروتئین لوسمی میلوئید حاد نوع ۱ (AML-1)[17] و گیرندۀ فاکتور تحریک کنندۀ کلونی ماکروفاژی (M-CSFR)[18] کنترل می‌شود. در طول مونوسیت‌زایی، بیان miR-17-5p، miR-20a و miR-106a کاهش می‌یابد. به موازات آن، بیان ژن AML-1 که ژن هدف آن‌ها می‌باشد، به منظور بالا بردن بیان M-CSFR افزایش می‌یابد که نقش مهمی در بلوغ و تمایز مونوسیت -ماکروفاژ دارد. از طرف دیگر، AML-1 بیان miR-17-5p، 20a، 106a را توسط اتصال به پروموتور خوشه یا دستۀ miR-17-92 و miR-106a-92 به طور منفی تنظیم می‌کند. علاوه بر میکرو RNA های ذکر شده، miR-424 نیز با مهار NFI-A تمایز مونوسیت‌ها را افزایش می‌دهد (۲۱).

miR-146 در سلول‌های مونوسیت انسان در پاسخ به محرک لیپوپلی‌ساکارید (LPS)[19]، تنظیم افزایشی می‌یابد و با هدف قرار دادن فاکتور نوع ۶ مرتبط با گیرندۀ فاکتور نکروزکنندۀ تومور (TRAF6)[20] و کیناز مرتبط با گیرندۀ IL-1 (IRAK1)[21]، به عنوان تنظیم کنندۀ بازتاب[22] منفی پیام TLR عمل می‌کند (۲۲).

[11] Toll like receptors
[12] Pathogen-associated molecular patterns (PAMP)
[13] Signal
[14] CCAAT-enhancer-binding protein α
[15] Nuclear factor I/A (NFI-A)
[16] Myocyte-specific enhancer factor 2C
[17] Acute myeloid leukemia 1 protein (AML-1)
[18] Macrophage-colony stimulating factor receptor (M-CSFR)
[19] Lipopolysaccharide (LPS)
[20] TNF receptor-associated factor 6 (TRAF-6)
[21] Interleukin-1 receptor-associated kinase 1 (IRAK1)
[22] Feedback

تنظیم افزایشی miR-146a در مونوسیت‌ها و در پاسخ به فعالیت مسیرهای پیام‌رسانی از گیرنده‌های TLR2، TLR4، TLR5 و یا از گیرندهٔ فاکتور نکروزکنندهٔ تومور (TNFα)[۲۳] و IL-1β مشاهده می‌شود. علاوه بر miR-146a، میکروRNA های دیگری نیز به عنوان تنظیم کنندهٔ منفی پیام TLR شناسایی شده‌اند. در یک مطالعهٔ دیگر، نشان داده شده است که miR-155 با هدف قرار دادن پروتئین پاسخ اولیهٔ تمایز میلوئیدی (MyD88)[۲۴] که یک پروتئین آداپتور[۲۵] کلیدی در مسیر پیام TLR است، التهاب ایجاد شده را کاهش می‌دهد (۲۳).

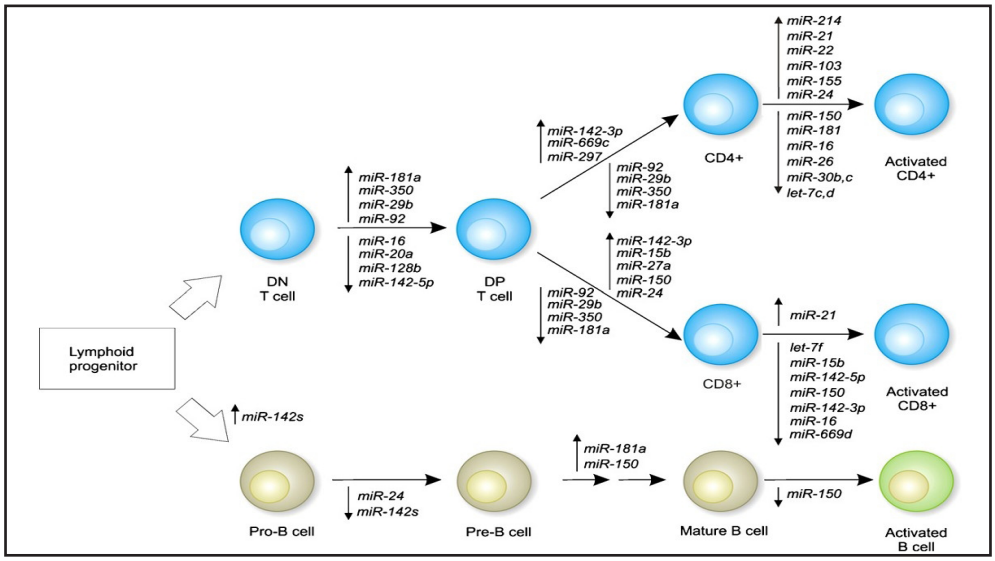
miR-21 در تنظیم منفی پیام TLR4 فعال شده توسط LPS، با هدف قرار دادن پروتئین مرگ سلولی برنامه ریزی شده (PDCD4)[۲۶] نقش دارد. miR-147 نیز پس از فعال شدن گیرنده‌های TLR2، TLR3 یا TLR4 القاء می‌شود و به منظور جلوگیری از پاسخ‌های التهابی شدید در ماکروفاژهای ریهٔ موش آزمایشگاهی، به عنوان تنظیم کنندهٔ منفی عمل می‌کند. miR-9 توسط LPS در نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها القاء می‌شود و به طور منفی پاسخ‌های التهابی وابسته به فاکتور رونویسی NF-kβ را با تنظیم بیان NF-kβ کنترل می‌کند. بعضی میکرو RNA ها مانند Let7i و miR-125b، در طول پاسخ‌های ایمنی ذاتی کاهش می‌یابند. کاهش بیان miR-125b در پاسخ به LPS نقش دارد و سطح TNFα را در ماکروفاژهای فعال شده، بالا می‌برد (۲۵، ۲۴).

نقش میکرو RNA ها در سیستم ایمنی اکتسابی یا اختصاصی

لنفوسیت‌های B و T سلول‌های اصلی سیستم ایمنی اکتسابی هستند. اهمیت میکرو RNA ها در تنظیم ایمنی اکتسابی در مطالعاتی که بیوسنتز میکرو RNA ها را در پیش‌سازهای لنفوسیتی نشان می‌دهند، تأیید می‌شود. به عنوان نمونه، نشان داده شده که عدم سنتز میکرو RNA در شرایط نبود آنزیم Dicer در مراحل اولیهٔ تولید لنفوسیت‌های T، سبب نقص در تکوین و کاهش تعداد سلول T در تیموس و اندام‌های لنفوئیدی محیطی، تمایز نابجای سلول‌های T کمکی (Th)[۲۷] و تولید سایتوکین می‌شود. نقصان Dicer در پیش‌سازهای سلول B اولیه نیز سبب مهار کامل تمایز و بلوغ سلول‌های B در تبدیل مرحلهٔ Pro-B به Pre-B و همچنین سبب کاهش تنوع آنتی‌بادی‌ها می‌گردد (۲۸-۲۶).

نقش مجزای میکرو RNA های منفرد، در تنظیم تکوین و عملکرد لنفوسیت‌ها ثابت شده است. بیان miR-142s در دودمان میلوئید و لنفوسیت B زیاد است، اما در دودمان لنفوسیت T و گلبول قرمز، پایین است (تصویر ۳)-(۸). بیان بالای این میکرو RNA در دودمان لنفوسیت B، نشان‌دهندهٔ نقش آن در تکوین سلول B می‌باشد. بیان miR-155 در سلول‌های B و T با هدف‌گیری ژن‌های مختلف شامل C-maf و PU.1 افزایش می‌یابد. نشان داده شده است که افزایش در بیان این میکرو RNA برای حفظ هومئوستاز و عملکرد طبیعی سیستم ایمنی مورد نیاز است (۳۱-۲۹).

miR-181a نیز نقش مهمی در تنظیم تکوین سلول‌های B و T دارد. miR-181a با تنظیم پیام گیرندهٔ سلول T (TCR)[۲۸]، نقش اساسی در بلوغ سلول T دارد و سبب تنظیم حساسیت سلول‌های T به انتخاب‌های مثبت و منفی می‌شود. با این وجود، بیان نابجای miR-181a در سلول‌های پیش‌ساز خون‌ساز، سبب افزایش سلول‌های B نوع $CD19^{+}$ و کاهش معنی‌دار سلول‌های T می‌شود. miR-150 به طور انتخابی در سلول‌های B و T در حال استراحت و B بالغ بیان می‌شود اما در پیش‌سازهای آن‌ها بیان نمی‌شود (تصویر ۳). بیان بالای miR-150 در سلول‌های بنیادی خون‌ساز، تکوین سلول B را در مرحلهٔ تبدیل Pro-B به Pre-B مهار می‌کند ولی بر تکوین گرانولوسیت‌ها و ماکروفاژهای



تصویر ۳- نقش میکرو RNA ها در تنظیم تکوین سیستم ایمنی اکتسابی (۸). DN T cell: سلول T منفی مضاعف یعنی فاقد نشانگرهای سطحی CD4 و CD8. DP T cell: سلول T مثبت مضاعف یعنی دارای نشانگرهای سطحی CD4 و CD8. فلش‌های رو به بالا، نشان‌دهندهٔ افزایش بیان میکرو RNA و فلش‌های رو به پایین، نشان‌دهندهٔ کاهش بیان آن‌ها می‌باشند. مطابق آنچه که در شکل دیده می‌شود، در طی هر مرحلهٔ تمایزی یکسری افزایش بیان، کاهش بیان و یا مجموعه‌ای از افزایش‌ها و کاهش‌ها در بیان میکرو RNA های خاصی برای ایجاد آن مرحلهٔ تمایزی از بلوغ لنفوسیت‌های T و B لازم است.

[23] Tumor necrosis factor α (TNF α)
[24] Myeloid differentiation primary response 88 (MyD88)
[25] Adaptor protein
[26] Programmed cell death protein 4
[27] T helper cells
[28] T cell receptor

بالغ تأثیری ندارد. همچنین miR-150 با هدف قرار دادن فاکتور رونویسی C-Myb، تکوین سلول B را کنترل می‌کند. بیان بالای miR-17-92 در پیش‌ساز لنفوسیت‌ها سبب تکثیر لنفوسیت‌های B و T می‌شود و با هدف قرار دادن پروتئین‌های آپوپتوزی مانند Bim و هومولوگ فسفاتاز و تنسین (PTEN)[29]، سبب ایجاد لنفوما می‌شود. فقدان miR-17-92 موجب مهار تکوین لنفوسیت B در مرحلهٔ تبدیل Pro-B به Pre-B می‌شود و در آپوپتوز سلول‌های Pro-B نقش دارد (تصویر ۳)-(۷).

سلول‌های T تنظیمی[30] فعالیت سلول‌های T فعال را به منظور حفظ هومئوستاز سیستم ایمنی و تحمل آنتی‌ژن خودی، مهار می‌کنند. میکرو RNA های مختلفی در تنظیم تکوین و عملکرد سلول‌های T تنظیمی نقش دارند. در موش آزمایشگاهی فاقد miR-155، کاهش سلول T کمکی ۱۷ (Th17) و سلول‌های T تنظیمی در تیموس و بافت‌های لنفوئیدی محیطی مشاهده می‌شود و این موضوع پیشنهاد می‌کند که miR-155 برای تکوین سلول‌های T تنظیمی، ضروری است. بیان miR-146a در سلول‌های Th1 و Th2 افزایش می‌یابد. بررسی‌های اخیر نشان داده‌اند که miR-146a در سلول‌های T تنظیمی به شدت بیان می‌شود و به طور انتخابی مهار پاسخ‌های Th1 وابسته به IFNγ[31] و التهاب را کنترل می‌کند. قطع بیان miR-146a در سلول‌های T تنظیمی، منجر به افزایش تولید سایتوکین IFNγ و ایجاد چندین آسیب در انواعی از اندام‌ها با واسطهٔ Th1 می‌شود. miR-31 و miR-21 نیز تکوین سلول‌های T تنظیمی را با تنظیم بیان FOXP3[32]، که یک فاکتور رونویسی ضروری در تکوین سلول‌های T تنظیمی است، به ترتیب به طور منفی و مثبت تنظیم می‌کنند (۷).

بعضی از مطالعات اخیر نشان داده‌اند که IL-17[33] یک سایتوکین قوی القاء شونده توسط التهاب نوتروفیل‌ها در بیماری‌های خودایمنی است. نشان داده شده است که دو میکرو RNA شامل miR-326 و miR-155 با تمایز Th17 و القای IL-17 در ارتباط هستند. miR-326، میزان Est ها (فاکتور رونویسی که به طور منفی تکوین Th17 را تنظیم می‌کند) را کاهش می‌دهد و منجر به تمایز Th17 و تولید IL-17 می‌شود (۷).

نقش میکرو RNA ها در سیستم عصبی

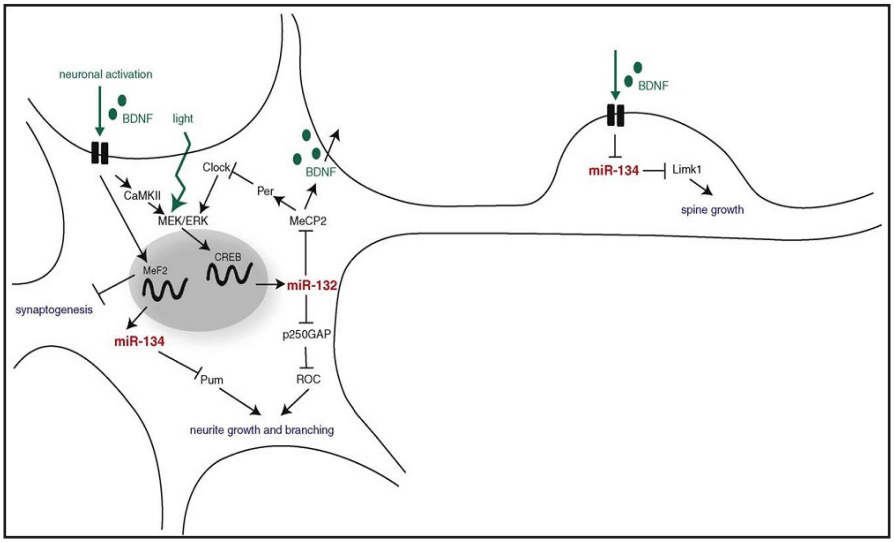
تقریباً ۶۰ درصد میکرو RNA هایی که تا به امروز در انسان شناسایی شده‌اند، در سیستم عصبی مرکزی بیان می‌شوند. تحقیقات اخیر نشان داده اندکه تنظیم بیان ژن با واسطهٔ میکرو RNA ها برای نورون‌زایی[34]، تمایز سلول‌های شوان[35] و اولیگودندروسیت[36] و حفظ میلین ضروری است (۹). یکی از مراحل مهم در تکوین سیستم عصبی، تشکیل سیناپس بین سلول‌های عصبی و بیان پروتئین‌های ویژه در ناحیهٔ سیناپس برای افزایش ارتباطات نورونی است. طبق اطلاعات موجود، بعضی از میکرو RNA ها به طور ویژه در دندریت‌ها بیان می‌شوند و در تکوین عصبی و پلاستیسیتی[37] سیناپسی نقش مهمی دارند (۳۳، ۳۲). الگوی زمانی و مکانی بیان میکرو RNA ها در سیستم عصبی مهره‌داران متغیر است و این موضوع، نشان‌دهندهٔ نقش میکرو RNA ها در الگوی تشکیل سیستم عصبی است (۹).

بسیاری از میکرو RNA ها به صورت دسته‌ای بیان می‌شوند و یک نمونه از این دسته میکرو RNA ها، دستهٔ miR 379-410 است که شامل بیش از ۵۰ ژن میکرو RNA است. مطالعات نشان داده‌اند که دستهٔ miR 379-410 توسط دپلاریزه شدن نورونی القاء می‌شود و دارای عملکرد مهمی در تکامل دندریت در نورون‌های کشت داده شده هیپوکامپ است. گزارش‌هایی وجود دارد که miR-134 که یکی از اعضاء این دسته می‌باشد، در دندریت‌های نورون‌های کشت داده شدهٔ هیپوکامپ و در پاسخ به فاکتور رشد عصبی مشتق از مغز[38] یا BDNF بیان می‌شود و با اثرات مهاری برگشت‌پذیر بر روی mRNA ی کیناز LiMK1[39]، موجب رشد خارهای دندریتی می‌شود (۳۴). در این حالت miR-134 از ترجمهٔ mRNA کدکنندهٔ پروتئین کیناز LiMK1 جلوگیری می‌کند و از این طریق در تکامل، بلوغ و پلاستیسیتی سیناپس نقش ایفاء می‌کند (تصویر ۴)-(۹، ۳۲، ۳۴).

شواهد دیگری نیز وجود دارد که تحریک سلول‌های عصبی و یا اثر دادن فاکتور رشد BDNF در موش موجب بیان miR-132 و miR-134 می‌شود و این دو میکرو RNA در رشد زواید عصبی نقش مهمی را ایفاء می‌کنند. در این مطالعات نشان داده شده است که تحریک سلول‌های عصبی موجب فعال شدن پروتئین کیناز وابسته به کلسیم-کالمودولین (CamKII) می‌شود و آن هم با فسفریلاسیون فاکتورهای رونویسی موجب افزایش بیان miR-132 و miR-134 در جسم سلول عصبی می‌شود که آن‌ها هم به نوبهٔ خود با تنظیم بیان پروتئین‌های دیگری موجب رشد زواید دندریتی و نورون‌زایی می‌گردند (۹). همچنین تحریک نورونی با واسطهٔ NMDA موجب افزایش بیان miR-219 می‌شود و این میکرو RNA باعث تنظیم تحریک‌پذیری نورون با واسطهٔ CamKII می‌شود. این احتمال مطرح شده است که miR-219 در نهایت موجب تنظیم بیان گیرنده‌های NMDA در ناحیهٔ سیناپس و در نتیجه تنظیم تحریک‌پذیری عصبی می‌شود (۳۵-۳۷).

سلول‌های شوان در سیستم عصبی محیطی و سلول‌های الیگودندروسیت در سیستم عصبی مرکزی نقش اصلی را در ساختن غلاف میلین بر عهده دارند و از این طریق نقش مهمی در عملکرد طبیعی اعصاب ایفاء می‌نمایند. وجود میلین در آکسون‌های میلین‌دار موجب ایجاد هدایت جهشی و در نتیجه هدایت سریع پیام‌های عصبی می‌شود. مطالعات اخیر نقش مهمی را برای میکرو RNA ها در تکثیر، تمایز و میلین سازی توسط سلول‌های شوان و الیگودندروسیت گزارش کرده‌اند (۳۸، ۳۹). موش‌های فاقد آنزیم Dicer1 که یک آنزیم کلیدی در تولید میکرو RNA می‌باشد، دچار نقص شدیدی در میلین‌سازی می‌شوند و این موضوع نقش میکرو RNA ها را در تمایز سلول‌های شوان و الیگودندروسیت نشان می‌دهد.

[29] Phosphatase and Tensin homolog (PTEN)
[30] Regulatory T cells (Treg)
[31] Interferon γ (IFNγ)
[32] Forkhead box P3
[33] Interlukin-17 (IL-17)
[34] Neurogenesis
[35] Schwan cells
[36] Oligodendrocytes
[37] Plasticity
[38] Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)
[39] LIM domain Kinase 1 (LiMK1)



تصویر ۴- کنترل بلوغ و فعالیت عصبی با واسطهٔ miR-132 و miR-134 در سلول‌های عصبی پستانداران (۹). تحریک نورون‌ها با فاکتور رشد عصبی BDNF، تحریک گیرنده‌های NMDA، اضافه کردن کلرید پتاسیم KCL (در نورون‌های هیپوکامپ) و یا تحریک سلول عصبی به وسیلهٔ نور (در نورون‌های هستهٔ فوق کیاسمایی) موجب افزایش بیان miR-132 و miR-134 در ناحیهٔ جسم سلولی و دندریت‌ها می‌شود و این میکرو RNA ها نیز به نوبهٔ خود با اثراتی که بر مهار ترجمهٔ پروتئین‌های دیگری مانند کیناز Limk1 می‌گذارند، موجب تنظیم رشد دندریت و تولید خارهای دندریتی می‌شوند. مجموعهٔ این اثرات میکرو RNA ها، باعث تکوین، تمایز و تغییر در فعالیت‌های نورونی می‌شود.

با وجود اینکه سلول‌های شوان در اعصاب محیطی و الیگودندروسیت‌ها در اعصاب مرکزی وظیفهٔ میلین سازی را بر عهده دارند، اما بعضی جنبه‌های بیان و تنظیم میکرو RNA ها در این دو نوع سلول مشابه است. این موضوع نشان می‌دهد که احتمالاً میکرو RNA های مشابهی در تمایز سلول‌های میلین‌ساز نقش داشته باشند (۴۰، ۳۸). چندین میکرو RNA شامل miR-138، miR-219، miR-338 و میکرو RNA های عضو دستهٔ miR-17-92 در پیش‌سازهای الیگودندروسیتی به میزان زیادی بیان می‌شوند و با هدف قراردادن ژن‌های خاصی موجب تمایز آن‌ها به الیگودندروسیت می‌شوند (۴۰، ۳۵).

تشکیل غیرطبیعی و یا اختلال در حفظ میلین موجب مختل شدن هدایت پیام عصبی و در نهایت موجب تحلیل رفتن اعصاب و اختلال در فعالیت‌های عصبی می‌شود (۳۷). بنابراین از آنجا که میکرو RNA ها در سلول‌های عصبی و گلیال نقش مهمی در تنظیم بیان ژن در سطوح پس از رونویسی دارند، تغییر در میزان بیان آن‌ها در سیستم عصبی می‌تواند زمینه را برای بیماری‌های عصبی مانند بیماری‌های تحلیل برندهٔ اعصاب از جمله بیماری مالتیپل اسکلروز (MS)[40]، فراهم نماید.

ارتباط میکرو RNA ها با بیماری‌های خودایمنی

میکرو RNA ها به عنوان یکی از مکانیسم‌های اصلی اپی‌ژنتیک در تنظیم بیان ژن در نظر گرفته می‌شوند و نشان داده شده که عملکرد مناسب آن‌ها در تنظیم بیان ژن‌های دخیل در تکوین سلول‌ها و پاسخ‌های ایمنی ضروری است. اطلاعات به دست آمده نشان می‌دهند که بیان مناسب و عملکرد میکرو RNA ها برای تمایز و عملکرد ماکروفاژها، گرانولوسیت‌ها و سلول‌های B و T ضروری هستند و تنظیم بیان میکرو RNA ها به شدت برای حفظ هومئوستاز ایمنی مهم است؛ پس طبیعی است که اختلال در بیان میکرو RNA ها سبب ایجاد بیماری‌های خودایمنی شود. به عنوان مثال، نقش miR-146a در تنظیم ایمنی ذاتی توسط فعالیت غیرطبیعی مسیر اینترفرون نوع I، نقش miR-125a توسط مهار KLF13 و RANTES در پاسخ‌های التهابی و نقش miR-21 و miR-148a در متیله شدن DNA شناسایی شده‌اند. از طرف دیگر، به دلیل نقش زیاد میکرو RNA ها در مکانیسم‌های تنظیمی چندگانهٔ تمایز سلول و تنظیم ایمنی، در صورت عملکرد نامناسب این میکرو RNA ها، پتانسیل ایجاد بیماری‌های خودایمنی بالا می‌رود (۸).

در سال‌های اخیر، ارتباط بین اختلال در تنظیم بیان تعدادی از میکرو RNA ها و چندین بیماری خودایمنی تأیید شده است (۱۸). بیماری MS یک نوع بیماری سیستم عصبی است که به عنوان یک بیماری خود ایمنی معرفی می‌شود. در ادامهٔ مطالب، با توجه به اهمیت بالای بررسی بیماری MS به دلیل شیوع در حال افزایش آن در جامعهٔ جهانی و به ویژه در میان افراد جوان جامعهٔ ایرانی، به بررسی ارتباط میکرو RNA ها و ابتلاء به این بیماری خواهیم پرداخت.

بیماری MS

بیماری MS، یک بیماری خودایمنی با التهاب مزمن غلاف میلین در سیستم عصبی مرکزی است (۷). روند پیشرفت بیماری MS غیرقابل پیش‌بینی است و علایم آن از فردی به فرد دیگر بسیار متفاوت است. این علایم گاهی خفیف هستند و شامل خستگی، بی‌حسی در دست و پا، مشکلات حفظ تعادل، اختلال در تکلم، بلع، مشکلات دفع ادرار و مدفوع و حساسیت به گرما می‌باشند و گاهی نیز علایم شدید بوده که به صورت فلج و کوری ظاهر می‌شوند. بیماری‌های زیادی علایمی مشابه با

[40] Multiple sclerosis

علایم بیماری MS را نشان می‌دهند. بنابراین این علایم منحصر به بیماری MS نیستند و هر بیماری که سبب اختلال در کارکرد سیستم عصبی شود، می‌تواند این علایم را ایجاد کند.

بیشترین قربانیان بیماری‌های خودایمنی (در حدود ۷۵ درصد) را زنان تشکیل می‌دهند. نکتهٔ جالب دیگر این است که سیر و پیشرفت این بیماری در مردان سریع‌تر از زنان است. مجموعه‌ای از عوامل مانند عوامل محیطی و زمینهٔ ژنتیکی خاص، در ابتلا شدن و بروز بیماری MS دخیل می‌باشند. تاکنون دلیل قطعی پیدایش این بیماری مشخص نشده است ولی به نظر می‌رسد که بروز این بیماری با پاسخ‌های خودایمنی، لنفوسیت‌های T، آنتی‌بادی‌ها، ماکروفاژها و عوامل محیطی مانند ویروس‌ها، باکتری‌ها، آلودگی‌ها و سموم محیطی در ارتباط است و یک سری عوامل ناشناخته مانند استرس، فشار و هیجانات روحی، زندگی ماشینی، داروها و غذاها نیز می‌توانند در بروز این بیماری نقش داشته باشند (۴۱).

نقش میکرو RNA ها در ایجاد بیماری MS

با بررسی پروفایل بیان mRNA در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی بیماران MS، اطلاعات بسیاری برای فهم بهتر این بیماری فراهم شده است. برای مثال الگوهای بیان متفاوتی برای میکرو RNA های خاصی در طی مراحل بهبود و عود بیماری شناسایی شده‌اند (۴۳، ۴۲). امروزه تلاش‌های زیادی برای کشف شناسگرهای زیستی در تشخیص دقیق و ارزیابی فرایندهای التهابی و تحلیل‌برندهٔ اعصاب[41] در حال انجام است و میکرو RNA ها به دلیل تنظیم بیان ژن در سطوح پس از رونویسی، مولکول‌های بسیار مهمی به نظر می‌رسند. با این تصور که بعضی از میکرو RNA ها می‌توانند شناساگر زیستی دقیقی برای بیماری MS باشند، تغییرات در عملکرد و موقعیت آن‌ها در مایعات بدن این بیماران، موضوع بسیاری از تحقیقات جدید است (۴۴).

با بررسی بافت مغز و مشخص کردن پروفایل بیان میکرو RNA ها در آسیب‌های فعال آن، مشخص شده است که در مقایسه با افراد سالم، بیان ۵۰ میکرو RNA در بیماران مبتلا به MS افزایش و ۳۰ میکرو RNA کاهش می‌یابند (۴۵). در مطالعه‌ای که به تازگی بر روی بیماران مبتلا به MS انجام شده است، افزایش بیان آنزیم‌های دخیل در تولید زیستی میکرو RNA ها شامل Drosha، Dicer و DGCR8 را گزارش نموده‌اند، که این گزارش هم تأییدی بر نقش میکرو RNA ها در بیماریزایی بیماری MS می‌باشد (۴۶).

بررسی‌های دقیقی که با استفاده از روش‌های TaqMan RT-PCR و ریز آرایه (میکروواری)[42] انجام شده‌اند، بیش از صد میکرو RNA را شناسایی کرده‌اند که به طور متمایزی در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی بیماران مبتلا به MS در مقایسه با گروه سالم بیان می‌شوند. نام و نوع اثر تعدادی از این میکرو RNA ها که نقش آن‌ها در ابتلا به بیماری MS تأیید شده است، در جدول ۱ آورده شده است (۱۷).

شواهد اخیر، نقش ضروری و اساسی میکرو RNA ها در کنترل عملکرد اندوتلیوم سد خونی -مغزی[43] و حفظ یکپارچگی آن‌ها تحت شرایط التهاب را نشان داده‌اند. عملکرد ناقص سد خونی

جدول ۱- میکرو RNA های مهمی که با مراحل بیماری MS ارتباط دارند (۱۷).

نوع میکرو RNA	نوع سلول بیان کننده	اثر
miR-106b	سلول‌های T کمکی و تنظیمی	میانجی‌گری مسیر پیام TGF-β
miR-17	سلول‌های B، T کمکی و T کشنده	افزایش بیان در سلول‌های T کمکی بیماران MS
miR-18b	سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی	نقش احتمالی در دورهٔ کاهش علایم در بیماران MS
miR-20a	سلول‌های T کمکی	کاهش معنی‌دار در بیماران MS در مقایسه با افراد کنترل
miR-25	سلول‌های T کمکی و تنظیمی	میانجی‌گری مسیر پیام TGF-β
miR-326	سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی	تنظیم تمایز Th-17
miR-34a	بافت مغز	بیان معنی‌دار در نواحی آسیب دیدهٔ عصبی بیماران MS
miR-497	سلول‌های B، T کمکی و T کشنده	کاهش بیان در سلول‌های T کمکی بیماران MS

[41] Neurodegenerative
[42] Microarray
[43] Blood-brain barrier

-مغزی و نشت پیدا کردن و التهاب سلول‌های اندوتلیال آن در بیماران MS، موجب تسهیل نفوذ تعداد زیادی از گلبول‌های سفید به پارانشیم مغز می‌گردد. این امر سبب از دست رفتن بازگشت‌ناپذیر میلین، آسیب بافت عصبی و در نهایت موجب اختلال در عملکرد آکسون و هدایت پیام عصبی می‌شود (۴۷). چندین مطالعهٔ مهم وجود دارد که در آن‌ها میکرو RNA های درگیر در بیماری MS بررسی شده‌اند. در مطالعه‌ای میزان بیان ۳۶۴ میکرو RNA مختلف در مراحل عود و بهبود بیماری مشخص شده‌اند. در این مطالعه بیان متفاوت سه میکرو RNA (miR-18b، miR-493 و miR-599) در بیماران MS در مرحلهٔ عود بیماری نسبت به گروه کنترل گزارش شده است (۴۳).

محققین دیگری نشان داده‌اند که بیان miR-17 و miR-20a به‌طور معنی‌داری در بیماری MS کاهش می‌یابد. لازم به ذکر است که miR-17 و miR-20a به عنوان تنظیم کنندهٔ ژن‌های مختلف درگیر در فعالیت سلول T شناخته شده‌اند (۴۸). بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری نمود که با تغییر در میزان بیان این میکرو RNA ها، سلول‌های T نیز دستخوش تغییراتی می‌شوند که ممکن است در حملهٔ آن‌ها به میلین سلول‌های عصبی مؤثر باشد. همچنین گزارش شده است که میزان بیان miR-145 در بیماران MS به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل بالا می‌باشد (۴۹). نتایج مطالعهٔ دیگری نشان داد که بیان miR-17-5p که در خودایمنی دخیل است، در سلول‌های CD4 بیماران MS نیز افزایش می‌یابد و با تغییرات در بیان ژن‌های هدف miR-17-5p، شامل هومولوگ فسفاتاز و تنسین و زیرواحد تنظیمی فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز (PI3 kinase) همراه است (۵۰).

مشخص شده است که میزان بیان miR-21 و miR-106b در بیماری MS افزایش می‌یابد و همچنین نشان داده شده که میزان بیان اعضای دسته miR-17-92 (miR-17-5P، miR-92a، miR-20a، miR9a/b) در لنفوسیت‌های B بیماران MS، کاهش می‌یابند (۱۷). محققین دیگری نشان داده‌اند که در آسیب‌های MS فعال در مقایسه با غیرفعال، بیان سه میکرو RNA شامل miR-34a، miR-155 و miR-326 افزایش می‌یابند. بنابراین پیشنهاد می‌کنند که میکرو RNA های تنظیم نشده در آسیب‌های MS، نشانگر[44] غشایی CD47 را در سلول‌های مستقر در مغز کاهش می‌دهند، که این امر منجر به رها شدن ماکروفاژها از کنترل‌های مهاری می‌شود. ده میکرو RNA که به شدت در آسیب‌های بیماری MS فعال افزایش بیان دارند، در آستروسیت‌ها نیز یافت شده‌اند. یکی از این میکرو RNA ها miR-155 می‌باشد که پاسخ‌های ایمنی را از راه‌های مختلف میانجی‌گری می‌کند (۵۱).

در مطالعهٔ دیگری مشخص شد که ۲۳ میکرو RNA از میکرو RNA های شناسایی شده در انسان، در سلول‌های $CD4^{+}$ $CD25^{high}$ بیماران MS در مقایسه با گروه کنترل، دارای بیان متفاوت هستند. این مطالعه اولین مطالعه‌ای است که پروفایل بیان میکرو RNA در سلول‌های T تنظیمی $CD4^{+}$ و $CD25^{high}$ جدا شده از خون محیطی بیماران MS را بررسی کرده است. در آن مطالعه مشخص شد که به طور نسبی میزان miR-106b و miR-25 در بیماران MS تمایل به افزایش دارد. افزایش بیان دسته miR-106b-25 به ویژه miR-106b و miR-25 دو فاکتور مهم مسیر پیام‌رسانی TGFβ یعنی CDKN1A/P21 و BCL2L11/ Bim را خاموش می‌کنند. فاکتور رشد TGFβ در تمایز و بلوغ سلول‌های T تنظیمی دخالت دارد. بنابراین اختلال در میزان بیان این دسته از میکرو RNA ها، با تغییر عملکرد این فاکتور رشد، فعالیت سلول T تنظیمی را در بیماران MS تغییر می‌دهد (۵۲).

براساس نتایج به دست آمدهٔ قبلی، بیان miR-18b به طور ویژه با بروز مجدد بیماری MS مرتبط می‌باشد. علاوه بر این، بیان متفاوت میکرو RNA ها در زیرمجموعهٔ متفاوت لنفوسیت‌ها مانند سلول‌های B، T کمکی، T کشنده و سلول T تنظیمی $CD25^{+}$ در بیماران مبتلا به MS مشاهده شده است (۵). بررسی بیان میکرو RNA در لوکوسیت‌های خون محیطی بیماران مبتلا به MS نیز نشان داده است که بیان miR-326 به طور معنی‌داری در این بیماران در مقایسه با گروه کنترل، افزایش می‌یابد. همچنین مشخص شده است که افزایش بیان miR-326 منجر به افزایش تمایز سلول Th17 شده و بنابراین، نقش اساسی در بیماریزایی بیماری MS دارد (۵۳). بیان miR-34a نیز در التهاب ایجاد شده در بیماری MS افزایش یافته و با هدف قرار دادن نشانگر غشایی CD47، موجب آزادسازی ماکروفاژها از کنترل پیام مهاری و به دنبال آن سبب افزایش فاگوسیتوز میلین می‌شود و به این ترتیب در بیماریزایی بیماری MS دخالت می‌کند (۵۴).

کاربرد میکرو RNA ها به عنوان شناساگر زیستی در تشخیص و درمان بیماری MS

اولین میکرو RNA ی سرم که به عنوان شناساگر زیستی برای تشخیص بیماری استفاده شد، miR-21 بود که میزان آن در بیماران مبتلا به لنفومای منتشر سلول B بزرگ (DLBCL)[45] در مقایسه با افراد سالم بیشتر بود. در آن مطالعه، از تعیین مستقیم میکرو RNA ی سرم به عنوان یک شناساگر زیستی، در تشخیص بیماری بر پایهٔ خون و استفادهٔ کلینیکی از آن تأکید شده است (۱۸). با توجه به پراکندگی میکرو RNA ها در سرم و سایر مایعات بدن مانند مایع مغزی -نخاعی و غیره، امید زیادی وجود داشت که بتوان از آن‌ها به عنوان شناساگرهای زیستی دقیقی در تشخیص زود هنگام انواع بیماری‌ها مانند سرطان، دیابت، MS و غیره استفاده نمود و امروزه این موضوع تا حدی به مرحلهٔ عمل و کاربرد رسیده است (۷). به عنوان مثال، سطح سرمی miR-141 می‌تواند به تشخیص سرطان پروستات کمک کند (۵۵،۵۶). ارتباط میزان بیان میکرو RNA ها و ژن‌های کاندید در ابتلا به بیماری MS، این احتمال را تقویت نموده است که میکرو RNA ها نقش مهمی در ابتلاء به بیماری MS دارند (۵۰). اما در بعضی مطالعات، دخالت تعدادی از میکرو RNA ها در بیماری MS، ناشناخته باقی مانده است و به بررسی‌های بیشتری نیاز دارد.

از طرف دیگر، مطالعات جدیدی با به کار گرفتن آنتاگونیست‌های میکرو RNA ها با نام اختصاری آنتاگومیر[46] موجب کاهش میزان میکرو RNA های افزایش یافته در بیماری‌هایی مانند سرطان

[44] Marker
[45] Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL)
[46] Antagomir

می‌شوند (۵۸، ۵۷، ۱۱). نتایج این مطالعات پیشنهاد می‌کنند که این مولکول‌های زیستی نیز به عنوان اهداف درمانی جدیدی می‌توانند کاربردهای بیشتری در زمینهٔ کنترل و درمان بیماری MS داشته باشند (۱۱). واضح است که این موضوع نویدبخش آیندهٔ بهتری در درمان بیماری MS است اما هنوز مطالعات زیادی نیاز است تا به مرحلهٔ استفادهٔ عملی در انسان برسد.

نتیجه گیری

با توجه به بررسی‌های به عمل آمده و مرور مقالات می‌توان اذعان داشت که میکرو RNA ها در تنظیم بیان ژن در طی تکوین و تمایز سلول‌های ایمنی و نیز در سیستم عصبی نقش مهمی را ایفاء می‌کنند. مشخص شده است که کاهش یا افزایش در میزان بیان میکرو RNA های خاصی با تغییر در بیان پروتئین‌های مختلف موجب اختلال در عملکردهای ایمنی و عصبی می‌شوند. نمایهٔ بررسی بیان ژن در سلول‌های ایمنی و در بافت‌های آسیب دیده سیستم عصبی در مدل‌های آزمایشگاهی و نیز در بیماران MS نشان می‌دهد که بیان تعدادی از میکرو RNA ها در بیماری MS دچار اختلال می‌شود.

با این وجود، بررسی اثرات عملکردی بیان تغییر یافتهٔ میکرو RNA در آسیب‌های سیستم عصبی و سلول‌های ایمنی بیماران MS، با این چالش بزرگ مواجه است که چندین mRNA ی کدکنندهٔ پروتئین‌های مختلف می‌توانند توسط یک میکرو RNA مورد هدف قرار گیرند. دخالت میکرو RNA ها در بیماریزایی بیماری MS پیشنهاد می‌کند که میانجی‌های بیان و یا عملکرد میکرو RNA ها، می‌توانند به عنوان عوامل هدف درمانی در این بیماری استفاده شوند.

بسته‌بندی وزیکول‌های لیپیدی دارای گیرنده‌های مناسب، می‌تواند میکرو RNA ها را تا رساندن آن‌ها به انواع سلول‌های هدف محافظت کند. میکرو RNA های اندوژن در خون توسط وزیکول‌های مشتق شده از غشاهای داخلی منتقل می‌شوند. میکرو RNA های اگزوژن نیز می‌توانند با استفاده از لیپوپروتئین‌های تخلیص شده از خون (مانند HDL[۴۷]) منتقل شوند (۶۰، ۵۹).

به طور خلاصه، بی شک بررسی‌های بیشتری برای مشخص شدن اختلال در میکرو RNA های خاصی، به منظوردرک بهتر پاتوبیولوژی، کنترل و درمان بیماری MS مؤثر خواهند بود.

منابع

1. Ambros V. The functions of animal microRNAs. Nature. 2004; 431: 350-5.

2. Bentwich I, Avniel A, Karov Y, Aharonov R, Gilad S, Barad O, et al. Identification of hundreds of conserved and nonconserved human microRNAs. Nat Genet. 2005; 37: 766-70.

3. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. Cell. 1993; 75(5): 843-54.

4. Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. Nucleic Acids Res. 2014; 42(Database issue): D68-73.

5. Engels BM, Hutvagner G. Principles and effects of microRNA-mediated post-transcriptional gene regulation. Oncogene. 2006; 25(46): 6163-9.

6. Reinsbach S, Nazarov PV, Philippidou D, Schmitt M, Wienecke-Baldacchino A, Muller A, et al. Dynamic regulation of microRNA expression following interferon-gamma-induced gene transcription. RNA Biol. 2012; 9(7): 978-89.

7. Dai R, Ahmed SA. MicroRNA, a new paradigm for understanding immunoregulation, inflammation, and autoimmune diseases. Transl Res. 2011; 157(4): 163-79.

8. Sonkoly E, Stahle M, Pivarcsi A. MicroRNAs and immunity: novel players in the regulation of normal immune function and inflammation. Semin Cancer Biol. 2008; 18(2): 131-40.

9. Coolen M, Bally-Cuif L. MicroRNAs in brain development and physiology. Curr Opin Neurobiol. 2009; 19(5): 461-70.

10. Croce CM. Causes and consequences of microRNA dysregulation in cancer. Nat Rev Genet. 2009; 10(10): 704-14.

11. Deng JH, Deng P, Lin SL, Ying SY. Gene silencing in vitro and in vivo using intronic microRNAs. Methods Mol Biol. 2015; 1218: 321-40.

12. Griffiths-Jones S. The microRNA Registry. Nucleic Acids Res. 2004; 32(Database issue): D109-11.

13. Lei W, Luo Y, Lei W, Luo Y, Yan K, Zhao S, et al. Abnormal DNA methylation in CD4+ T cells from patients with systemic lupus erythematosus, systemic sclerosis, and dermatomyositis. Scand J Rheumatol. 2009; 38(5): 369-74.

14. Rodriguez A, Griffiths-Jones S, Ashurst JL, Bradley A. Identification of mammalian microRNA host genes and

[47] High density lipoprotein (HDL)

transcription units. Genome Res. 2004; 14(10A): 1902-10.

15. Kim VN, Nam JW. Genomics of microRNA. Trends Genet. 2006; 22(3): 165-73.

16. Iborra M, Bernuzzi F, Invernizzi P, Danese S. MicroRNAs in autoimmunity and inflammatory bowel disease: crucial regulators in immune response. Autoimmun Rev. 2012; 11(5): 305-14.

17. Thamilarasan M, Koczan D, Hecker M, Paap B, Zettl UK. MicroRNAs in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. Autoimmun Rev. 2012; 11(3): 174-9.

18. Hedrich CM, Tsokos GC. Epigenetic mechanisms in systemic lupus erythematosus and other autoimmune diseases. Trends Mol Med. 2011; 17(12): 714-24.

19. O'Connell RM, Rao DS, Chaudhuri AA, Baltimore D. Physiological and pathological roles for microRNAs in the immune system. Nat Rev Immunol. 2010; 10(2): 111-22.

20. Fazi F, Rosa A, Fatica A, Gelmetti V, De Marchis ML, Nervi C, et al. A minicircuitry comprised of microRNA-223 and transcription factors NFI-A and C/EBPalpha regulates human granulopoiesis. Cell. 2005; 123(5): 819-31.

21. Rosa A, Ballarino M, Sorrentino A, Sthandier O, De Angelis FG, Marchioni M, et al. The interplay between the master transcription factor PU.1 and miR-424 regulates human monocyte/macrophage differentiation. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007; 104(50): 19849-54.

22. Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, Baltimore D. NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006; 103(33): 12481-6.

23.Tang B, Xiao B, Liu Z, Li N, Zhu ED, Li BS, et al. Identification of MyD88 as a novel target of miR-155, involved in negative regulation of Helicobacter pylori-induced inflammation. FEBS Lett. 2010; 584(8): 1481-6.

24. Chen XM, Splinter PL, O'Hara SP, LaRusso NF. A cellular micro-RNA, let-7i, regulates Toll-like receptor 4 expression and contributes to cholangiocyte immune responses against Cryptosporidium parvum infection. J Biol Chem. 2007; 282(39): 28929-38.

25. Tili E, Michaille JJ, Cimino A, Costinean S, Dumitru CD, Adair B, et al. Modulation of miR-155 and miR-125b levels following lipopolysaccharide/TNF-alpha stimulation and their possible roles in regulating the response to endotoxin shock. J Immunol. 2007; 179(8): 5082-9.

26. Cobb BS, Nesterova TB, Thompson E, Hertweck A, O'Connor E, Godwin J, et al. T cell lineage choice and differentiation in the absence of the RNase III enzyme Dicer. J Exp Med. 2005; 201(9): 1367-73.

27. Muljo SA, Ansel KM, Kanellopoulou C, Livingston DM, Rao A, Rajewsky K. Aberrant T cell differentiation in the absence of Dicer. J Exp Med. 2005; 202(2): 261-9.

28. Koralov SB, Muljo SA, Galler GR, Krek A, Chakraborty T, Kanellopoulou C, et al. Dicer ablation affects antibody diversity and cell survival in the B lymphocyte lineage. Cell. 2008; 132(5): 860-74.

29. Vigorito E, Perks KL, Abreu-Goodger C, Bunting S, Xiang Z, Kohlhaas S, et al. microRNA-155 regulates the generation of immunoglobulin class-switched plasma cells. Immunity. 2007; 27(6): 847-59.

30. Dorsett Y, McBride KM, Jankovic M, Gazumyan A, Thai TH, Robbiani DF, et al. MicroRNA-155 suppresses activation-induced cytidine deaminase-mediated Myc-Igh translocation. Immunity. 2008; 28(5): 630-8.

31. Johnnidis JB, Harris MH, Wheeler RT, Stehling-Sun S, Lam MH, Kirak O, et al. Regulation of progenitor cell proliferation and granulocyte function by microRNA-223. Nature. 2008; 451(7182): 1125-9.

32. Schratt GM, Tuebing F, Nigh EA, Kane CG, Sabatini ME, Kiebler M, et al. A brain-specific microRNA regulates dendritic spine development. Nature. 2006; 439(7074): 283-9.

33. Cohen JE, Lee PR, Chen S, Li W, Fields RD. MicroRNA regulation of homeostatic synaptic plasticity. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011; 108(28): 11650-5.

34. Muddashetty R, Bassell GJ. A boost in microRNAs shapes up the neuron. EMBO J. 2009; 28(6): 617-8.

35. Zhao X, He X, Han X, Yu Y, Ye F, Chen Y, et al. MicroRNA-mediated control of oligodendrocyte differentiation. Neuron. 2010; 65(5): 612-26.

36. Li JS, Yao ZX. MicroRNAs: novel regulators

of oligodendrocyte differentiation and potential therapeutic targets in demyelination-related diseases. Mol Neurobiol. 2012; 45(1): 200-12.

37. Svaren J. MicroRNA and transcriptional crosstalk in myelinating glia. Neurochem Int. 2014; 77: 50-7.

38. Dugas JC, Notterpek L. MicroRNAs in oligodendrocyte and Schwann cell differentiation. Dev Neurosci. 2011; 33(1): 14-20.

39. Barca-Mayo O, Lu QR. Fine-Tuning Oligodendrocyte Development by microRNAs. Front Neurosci. 2012; 6: 13.

40. He X, Yu Y, Awatramani R, Lu QR. Unwrapping myelination by microRNAs. Neuroscientist. 2012; 18(1): 45-55.

41. Du C, Liu C, Kang J, Zhao G, Ye Z, Huang S, et al. MicroRNA miR-326 regulates TH-17 differentiation and is associated with the pathogenesis of multiple sclerosis. Nat Immunol. 2009; 10(12): 1252-9.

42. Satoh J, Misawa T, Tabunoki H, Yamamura T. Molecular network analysis of T-cell transcriptome suggests aberrant regulation of gene expression by NF-kappaB as a biomarker for relapse of multiple sclerosis. Dis Markers. 2008; 25(1): 27-35.

43. Otaegui D, Baranzini SE, Armananzas R, Calvo B, Munoz-Culla M, Khankhanian P, et al. Differential micro RNA expression in PBMC from multiple sclerosis patients. PLoS One. 2009; 4(7): e6309. doi: 10.1371/journal.pone.0006309.

44. Kacperska MJ, Jastrzebski K, Tomasik B, Walenczak J, Konarska-Krol M, Glabinski A. Selected Extracellular microRNA as Potential Biomarkers of Multiple Sclerosis Activity-Preliminary Study. J Mol Neurosci. 2015; 56(1): 154-63.

45. Jr Ode F, Moore CS, Kennedy TE, Antel JP, Bar-Or A, Dhaunchak AS. MicroRNA dysregulation in multiple sclerosis. Front Genet. 2012; 3: 311.

46. Jafari N, Shaghaghi H, Mahmoodi D, Shirzad Z, Alibeiki F, Bohlooli S, et al. Overexpression of microRNA biogenesis machinery: Drosha, DGCR8 and Dicer in multiple sclerosis patients. J Clin Neurosci. 2015; 22(1): 200-3.

47. Kamphuis WW, Troletti CD, Reijerkerk A, Romero IA, de Vries HE. The Blood-Brain Barrier in Multiple Sclerosis: MicroRNAs as Key Regulators. CNS Neurol Disord Drug Targets. 2015; 14(2): 157-67.

48. Cox MB, Cairns MJ, Gandhi KS, Carroll AP, Moscovis S, Stewart GJ, et al. MicroRNAs miR-17 and miR-20a inhibit T cell activation genes and are under-expressed in MS whole blood. PLoS One. 2010; 5(8): e12132. doi: 10.1371/journal.pone.0012132.

49. Keller A, Leidinger P, Lange J, Borries A, Schroers H, Scheffler M, et al. Multiple sclerosis: microRNA expression profiles accurately differentiate patients with relapsing-remitting disease from healthy controls. PLoS One. 2009; 4(10): e7440. doi: 10.1371/journal.pone.0007440.

50. Lindberg RL, Hoffmann F, Mehling M, Kuhle J, Kappos L. Altered expression of miR-17-5p in CD4+ lymphocytes of relapsing-remitting multiple sclerosis patients. Eur J Immunol. 2010; 40(3): 888-98.

51. Junker A, Krumbholz M, Eisele S, Mohan H, Augstein F, Bittner R, et al. MicroRNA profiling of multiple sclerosis lesions identifies modulators of the regulatory protein CD47. Brain. 2009; 132 (Pt 12): 3342-52.

52. De Santis G, Ferracin M, Biondani A, Caniatti L, Rosaria Tola M, Castellazzi M, et al. Altered miRNA expression in T regulatory cells in course of multiple sclerosis. J Neuroimmunol. 2010; 226 (1-2): 165-71.

53. Berezikov E, Guryev V, van de Belt J, Wienholds E, Plasterk RH, Cuppen E. Phylogenetic shadowing and computational identification of human microRNA genes. Cell. 2005; 120(1): 21-4.

54. Liu R, Ma X, Xu L, Wang D, Jiang X, Zhu W, et al. Differential microRNA expression in peripheral blood mononuclear cells from Graves' disease patients. J Clin Endocrinol Metab. 2012; 97 (6): E968-72.

55. Ceman S, Saugstad J. MicroRNAs: Meta-controllers of gene expression in synaptic activity emerge as genetic and diagnostic markers of human disease. Pharmacol Ther. 2011; 130(1): 26-37.

56. Cheng HH, Mitchell PS, Kroh EM, Dowell AE, Chery L, Siddiqui J, et al. Circulating microRNA profiling identifies a subset of metastatic prostate cancer patients with evidence of cancer-associated hypoxia. PLoS One. 2013; 8(7): e69239. doi: 10.1371/journal.pone.0069239.

57. Krutzfeldt J, Rajewsky N, Braich R, Rajeev KG, Tuschl T, Manoharan M, et al. Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs'. Nature. 2005; 438: 685-9.

58. Lin SL, Ying SY. Gene silencing in vitro and in vivo

using intronic microRNAs. Methods Mol Biol. 2013; 936(7068): 685-9.

59. Valadi H, Ekstrom K, Bossios A, Sjostrand M, Lee JJ, Lotvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. Nat Cell Biol. 2007; 9(6): 654-9.

60. Vickers KC, Palmisano BT, Shoucri BM, Shamburek RD, Remaley AT. MicroRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins. Nat Cell Biol. 2011; 13 (4): 423-33.