

microRNA ها در درمان سرطان

نسرین معتمد^{۱*}، زهره جهان افروز^۲

(۱) گروه زیست شناسی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه تهران

تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۸

تاریخ دریافت: ۹۲/۸/۲

چکیده

با وجود پیشرفت در تشخیص و درمان، بیماری سرطان یکی از عوامل مهم مرگ و میر در دنیاست. علاوه بر عوامل ژنتیکی و محیطی عوامل اپی ژنتیکی هم در اتیولوژی سرطان دخیل هستند. اخیراً معلوم شده است که microRNA ها-یک گروه از RNA های کوچک غیر کدکننده- ارتباط نزدیکی با بیماری های مختلف از جمله سرطان دارند. microRNA ها بیان ژن در یوکاریوت ها را از طریق مهار ترجمه یا تخریب mRNA تنظیم می کنند که این کار را با جفت شدن نسبی با انتهای ۳' مربوط به mRNA(3'UTR) مورد هدف انجام می دهد. به دلیل پتانسیل microRNA در هدف قرار دادن تعداد زیادی از mRNA ها این دسته اولیگونوکلوئوتیدهای ۱۹-۲۵ تایی تقریباً در تمام پدیده های بیولوژیکی شامل تنظیم چرخه سلولی، رشد سلولی، آپوپتوزیس، تمایز سلولی و پاسخ به استرس نقش دارند. شواهد روز افزون حاکی از آن است که microRNA ها در زیست شناسی سرطان نقش مهمی دارند و مطالعات اخیر نقش انکوژنی و بازدارنده توموری microRNA ها را در سلول های سرطانی تایید کرده اند و نشان داده اند که بیان این microRNA ها خود می توانند توسط انکوژن ها و بازدارنده های توموری تنظیم شوند. احتمال می رود که بیان microRNA ها هم در *in vitro* و هم در *in vivo* از طریق سنتز مولکول های pre-microRNA یا اولیگونوکلوئوتیدهای آنتی سنس می توانند تنظیم شوند که دورنمای امیدوار کننده ای برای درمان سرطان است.

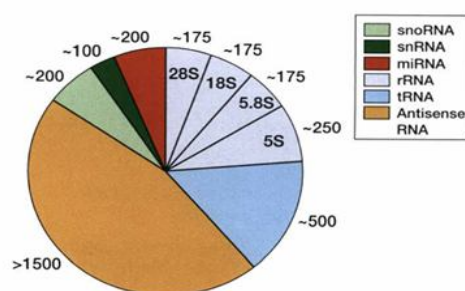
واژه های کلیدی: microRNA، سرطان، انکوژن، بازدارنده تومور، ژن هدف

*نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه تهران

مقدمه

تنظیم کننده آن ها موجب درک بهتری از روند زیست سلول می شود. علاوه بر این، احتمالاً ncrRNA ها، به خصوص با به کارگیری مسیر RNAi، توان زیادی برای استفاده درمانی در پزشکی و به طور عمومی تر، تنظیم دلخواه ژن ها دارند، (۱،۲). امروزه مشخص شده که روش های درمانی رایج در سرطان (جراحی، شیمی درمانی و رادیوتراپی) بازده و اثربخشی کمی داشته و در دهه های اخیر مطالعات زیادی در استفاده از داروهای گیاهی و ژن درمانی که اثرات جانبی کمتری داشته باشند انجام شده که نتایج امید بخشی نشان داده اند، (۳،۴). microRNA ها در کنار متیلاسیون DNA و استیلاسیون هیستون ها به عنوان مکانیسم های اپی ژنتیکی معرفی شده اند و در تنظیم بیان ژن ها نقش مهمی دارند. تاکید بررسی حاضر بر روش های ژنتیکی با استفاده از مسیر RNAi و microRNA می باشد.

در سال های اخیر انواع متفاوتی از RNA ها شناسایی شده اند که وظایفی بیش از نقش معمول RNA در نظریه اساسی زیست شناسی مولکولی واتسون دارند. در نظریه واتسون، RNA واسطه انتقال اطلاعات میان DNA و پروتئین است. این نقش به عهده mRNA است، اما گروه بزرگی از RNA ها، مانند tRNA، rRNA، snoRNA، snRNA، miRNA، siRNA، نیز از جمله مولکول های کارکردی هستند که در گروه RNA های غیر کدکننده (ncRNAs) قرار می گیرند (شکل شماره ۱) که ۱۰ درصد ژن های کدکننده هستند، (۱). طبق بررسی های اخیر، مسیرهای جالبی برای تنظیم بیان ژن شناسایی شده اند که با واسطه ncRNA کوچک صورت می گیرند. از جمله این مسیرها می توان به خاموشی ژن، متیلاسیون DNA، رونویسی ژن و مسیر تداخلی RNA (RNAi) اشاره کرد. شناخت بیشتر از این مسیرها و مولکول های



شکل شماره ۱. انواع RNAs غیر کدکننده

مطالعات نشان داده اند که microRNA ها در پدیده های زیستی نقش حیاتی دارند.

در نامگذاری microRNA ها از پسوند حرفی و عددی استفاده می کنند (به عنوان مثال miR-34a، miR-miR-9-1، 34b و miR-9-3) پسوندهای حرفی نشان دهنده تفاوت آن ها در دو یا سه نوکلئوتید و اعداد نشان دهنده این است که کروموزوم های مختلف این microRNA ها را کد می کنند. (۵)

تاریخچه microRNA

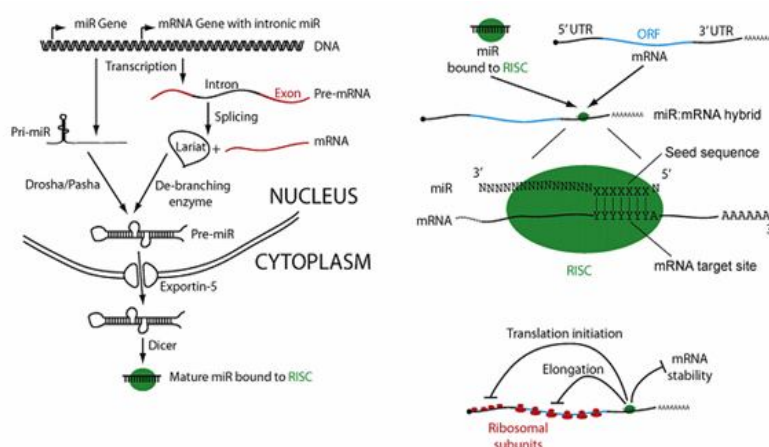
این مولکول های تنظیمی کوچک اولین بار در سال ۱۹۹۳ به عنوان یک گروه از ncRNA شناخته شده اند

اعداد نشان دهنده تعداد تقریبی ژن هاست. حدود ۱۲۰۰ ژن کدکننده tRNA و rRNA هستند. rRNA در ساختار ریبوزوم و tRNA در انتقال آمینواسیدها به ریبوزوم در پروتئین سازی، snRNA در ساختار spliceosome و پردازش، snoRNA در ساختار هستک و تغییرات ویژه مکان در rRNA و AntisenseRNA در پدیده غیر فعال شدن کروموزوم X و imprinting نقش اساسی دارند. (۱)

microRNA ها

microRNA ها مولکول هایی تنظیمی با طول ۲۵-۱۹ نوکلئوتید و محصول shRNA یا Pre-miR هستند.

دم پلی A در انتهای ۳ آن و کلاهک را در ۵ دارد. ژن اکثر - microRNA ها در نواحی بین ژنی (intergenic) هستند ولی بعضی هم داخل اینترون ژن های شناخته شده اند. (۹) پردازش microRNA شامل دو مرحله است یک مرحله داخل هسته توسط RNAase III (Drosha) که در نتیجه عمل این PrimiR به PremiR تبدیل می شود و مرحله دوم پردازش داخل سیتوپلاسم در نتیجه عملکرد RNAase III (Dicer) انجام می شود که microRNA دو رشته ای ۲۱-۲۴ نوکلئوتیدی تولید می شود. microRNA تک رشته ای بعداً در کمپلکس miRISCs قرار می گیرد. که انتخاب تک رشته بر اساس خصوصیات ترمودینامیکی است. این microRNA بالغ از طریق جفت شدن نسبی با mRNA های هدف (معمولاً جفت شدن با ناحیه 3' UTR انجام می شود) باعث تجزیه یا مهار ترجمه می شود، (شکل شماره ۲) (۹). توالی بنیادی این microRNA در عملکرد کمپلکس RISC نقش مهمی دارد به صورتی که اگر تغییرات شیمیایی در این نوکلئوتیدها اعمال شود یا اگر خود توالی عوض شود تاثیر کمپلکس RISC بر mRNA کاهش می یابد. (۱۰)



شکل شماره ۲. مسیر سنتز microRNA و عملکرد مهاری microRNA. (۱۰)

کامل باشد برش mRNA هدف در ناحیه ای که با نوکلئوتیدهای ۱۰ و ۱۱ microRNA یا siRNA جفت شده است انجام می گیرد، (۱۲). آرگونات در این برش نقش اساسی دارد و یکی از پروتئین های اساسی کمپلکس miRNPs و RISC است، (۱۳). در اکثر موارد microRNA باعث توقف ترجمه می شود و جفت شدن microRNA و mRNA هدف به صورت ناقص است. که این کمپلکس miRNP:mRNA در سیتوپلاسم در

lin-4 اولین microRNA است که در Caenorhabditiselegans کشف شد و نشان داده شد که lin-14 یکی از اهداف این microRNA است که بیان این microRNA در انتقال از مرحله اول به دوم لاروی لازم است. در سال ۲۰۰۹ دومین microRNA یعنی let-7a هم در Caenorhabditiselegans شناخته شد. در سال ۲۰۰۵ microRNA های زیادی در ژنوم انسان کشف شدند که تقریباً تمام کروموزوم های انسانی حاوی ژن برای microRNA هستند، (۶). بیشتر از نصف microRNA ها شناخته شده، در نواحی شکننده کروموزوم ها قرار دارند در بیماری های مختلف از جمله سرطان مستعد حذف، اضافه و انتقال کروموزومی هستند. (۷)

سنتز microRNA

ژن های microRNA تقریباً ۱ درصد ژنوم گونه های مختلف را شامل می شوند و هر کدام از آن ها صدها ژن هدف دارند. تخمین زده شده است که تنظیم کننده ۳۰ درصد ژن های کدکننده هستند، (۸). microRNA ها اکثراً توسط RNAPolIII رونویسی می شوند که این محصول Pri-miR نامیده می شود و ساختار سنجاق سری داشته و

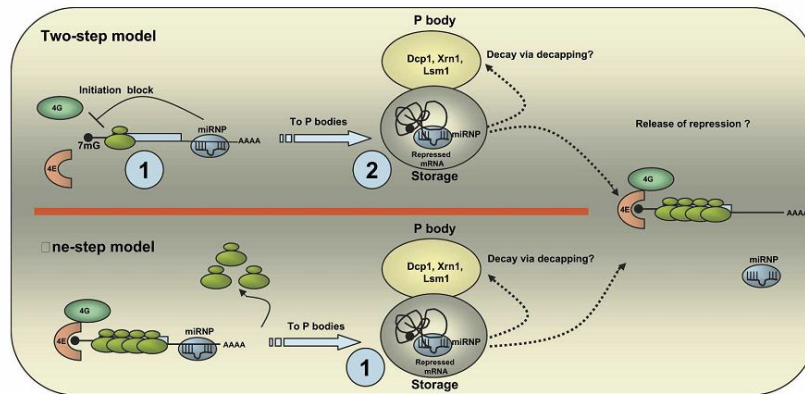
مکانیسم های عملکردی microRNA

محصول عمل آنزیم Dicer در اصل microRNA دو رشته ای بوده که یکی از دو رشته به دلیل قانون عدم تقارن ترمودینامیکی به عنوان microRNA بالغ است. این تک رشته بالغ در یک کمپلکس که شباهت زیادی با RISC دارد، به نام miRNP یا miRISC قرار می گیرد، (۱۱). در مواردی که جفت شدن microRNA با هدف خود کامل یا نسبتاً

مهار شده از مکان آنزیم Dcp1(decapping) و Xrn1(اگزونوکلاز) که اجزای مرکزی اجسام پردازشی هستند مجزا است.(شکل شماره ۳) احتمال بر این هست که قسمتی از mRNA ذخیره شده تجزیه شود یا این که از اجسام پردازشی بیرون آمده ترجمه را از سر گیرند.(۱۵) مدل یک مرحله ای حاکی از آن است که اتصال miRNP به mRNA هدف عامل هدایت این کمپلکس mRNA:miRNP به سمت اجسام پردازشی است. پلی زوم موجود روی mRNA قبل از ورود به اجسام پردازشی متلاشی می شود و پلی پتپتید سنتز شده هم تجزیه می شود mRNA بعداً داخل اجسام پردازشی یا تجزیه می شود یا توقف ترجمه رخ داده و ذخیره می شود.(شکل شماره ۳)(۱۶،۱۷)

اجسام پردازشی تجمع دارند. اجسام پردازشی علاوه بر کمپلکس mRNA:miRNP حاوی آنزیم های decapping و اگزونوکلازها و سایر پروتئین ها است.(۱۴). نشان داده شده بعد از انتقال به اجسام پردازشی، این mRNA می تواند تجزیه هم شوند که البته محل برش mRNA در این حالت متفاوت از برش جفت شدن کامل است.(۱۵)

مطابق شکل شماره ۳ برای عملکرد microRNA دو مدل پیشنهاد شده است. در مدل دو مرحله ای که بیشتر مورد قبول دانشمندان است با اتصال microRNA به ناحیه 3'UTR در mRNA هدف کمپلکس miRNP شروع ترجمه را با ممانعت از عملکرد انتهای 5' در فراخوانی eIF4E مهار می کند و سپس کمپلکس mRNA:miRNP به سمت اجسام پردازشی هدایت می شوند. تصور بر این است که محل ذخیره سازی mRNA



شکل شماره ۳. مدل عملکردی microRNA

microRNA و سرطان

اهمیت microRNA در سرطان اولین بار در لوکمیای CLL نشان داده شد. مطالعات سیتوژنتیکی نشان داد که ناحیه کروموزومی 13q14 در ۵۰ nvwn بیماران مبتلا به CLL دچار حذف می شود مطالعات بعدی مشخص کرد که این ناحیه حاوی ژن کدکننده پروتئین مهارکننده تومور نیست بلکه حاوی دو ژن کدکننده microRNA (miR-15a و miR-16-1) است، که به صورت پلی سیسترونیک رونویسی می شوند.(۱۸) در سال ۲۰۰۴ آنالیز microchip برای مشخص کردن ژن های microRNA در انسان و موش استفاده شد. Microchip استفاده شده حاوی microRNA۲۴۵

۱- با اتصال microRNA به ناحیه 3'UTR mRNA هدف کمپلکس miRNP شروع ترجمه را با ممانعت از عملکرد انتهای 5' در فراخوانی eIF4E مهار می کند و ۲ سپس کمپلکس mRNA:miRNP به سمت اجسام پردازشی هدایت می شوند. احتمال بر این هست که از قسمتی از mRNA ذخیره شده تجزیه شود یا این که از اجسام پردازشی بیرون آمده ترجمه را از سر گیرند.

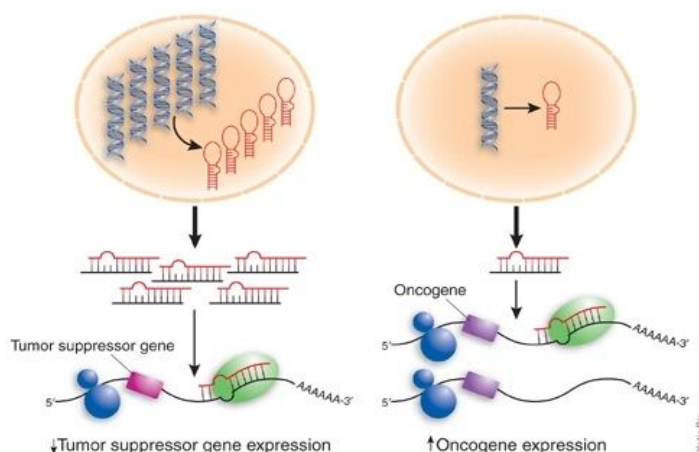
۱- در قسمت پایین شکل مدل یک مرحله ای نشان داده شده که اتصال miRNP به mRNA هدف عامل هدایت این کمپلکس mRNA:miRNP به سمت اجسام پردازشی است و توقف ترجمه و انتقال به اجسام پردازشی هم زمان صورت می گیرد.(۱۴)

سرطانی دچار کاهش یا حذف می شوند به این ترتیب پروتوانکوژن ها در سلول ها بالا می روند به عنوان مثال let-7 در اکثر سلول های سرطانی دچار کاهش بیان می شوند که پروتوانکوژن RAS یکی از اهداف مهم این microRNA است، (۲۲). در برخی سرطان ها مطالعات نشان داده اند که آن دسته microRNA ها که هدفشان DNA متیل ترانسفراز هست دچار کاهش بیان می شود که منجر به کاهش بازدارنده تومور می شوند، همین طور microRNA هایی که هدفشان خاموش کننده کروماتین هست هم دچار کاهش بیان شده و باعث پایین آمدن بازدارنده تومور می شوند. دانشمندان این دسته microRNA ها که در سلول های سرطانی دچار کاهش بیان می شوند tsmiR می نامند. (شکل شماره ۴) جدول شماره ۱ مثال هایی از microRNA هایی که در سلول های سرطانی مختلف دچار اختلال شده اند را نشان می دهد. (۹،۲۳)

مختلف بود و این نتایج با تکنیک های RT-PCR و Northern blot هم تایید شدند. این ابزارها می توانند برای آنالیز بیان microRNA در بافت های سالم و بیمار و هم چنین تغییر در الگوی بیان microRNA مورد استفاده قرار گیرند. (۱۹)

عملکردهای microRNA در سرطان

با توجه به این که هدف microRNA در سلول می تواند یک بازدارنده تومور باشد در سلول های سرطانی دیده شده که این دسته microRN ها دچار افزایش بیان شده در نتیجه بازدارنده های تومور در این سلول ها کاهش پیدا می کنند که می تواند یکی از دلایل توموری شدن این سلول ها باشد، این microRNA ها را oncomiR می نامند، (۲۰). به عنوان مثال miR-21 در اکثر سرطان ها دچار افزایش بیان می شود که بازدارنده های توموری از جمله PTEN، PDCD4 و TPM1 در بین اهداف-miR 21 هستند، (۲۱). در مقابل microRNA هایی هستند که هدفشان پروتوانکوژن های هستند که در سلول های



شکل شماره ۴. microRNA ها به عنوان انکوژن (سمت چپ شکل) یا بازدارنده تومور (سمت راست شکل)

microRNA- مثلاً به دلیل حذف شدن ژن- بیان ژن هدف آن را افزایش می دهد که این ژن هدف در سلول سرطانی یک انکوژن است. (سمت راست شکل) (۲۴)

بیان بالای یک microRNA- مثلاً به دلیل مضاعف شدن ژن- بیان ژن هدف آن را کاهش می دهد که این ژن هدف در سلول سرطانی ژن بازدارنده تومور است. (سمت چپ شکل) و بیان پایین یک

جدول شماره ۱. مختل شدن بیان microRNA در سرطان

نوع اختلال microRN در سرطان	مثال	نوع ژن هدف	مثال پیامد افزایش یا کاهش microRNA
افزایش بیان	miR-21 miR-10b miR-373	بازدارنده توموری	کاهش PTEN، PDCD4: کاهش آپوپتوز و افزایش رشد سلولی. (۲۴) کاهش HOXD10: افزایش تهاجم و مهاجرت سلولی. (۲۵) کاهش CD44: کاهش اتصال سلول به بستر. (۲۶)
کاهش بیان	Let-7 miR-206 miR-450a	انکوژن DNA متیل ترانسفراز	افزایش RAS: افزایش تکثیر سلولی. (۲۷) افزایش ER-alpha: افزایش تکثیر سلولی. (۲۸) افزایش DNMT: خاموش شدن اپی ژنتیکی ژن های بازدارنده تومور. (۲۹)

استفاده از microRNA در درمان سرطان

اختلال در بیان microRNA با حالت های پاتولوژی خاص و پاسخ به درمان ها در انواع تومورها همراهی نشان داده اند. اخیراً در درمان سرطان ها از خود microRNA ها یا AMO(anti-microRNA (antisense oligodeoxyribonucleotide) ها به تنهایی یا همراه با داروها، شیمی درمانی ها و رادیوتراپی استفاده شده است، (۳۰). microRNA ها پایدارتر از mRNA ها است. یک microRNA می تواند صدها هدف ژنی داشته باشد معمولاً اهداف یک microRNA مربوط به mRNA ها با کارکردهای مشابه است. در اکثر مایعات بدن microRNA یافت می شود که این مزیت ها دانشمندان را بر آن داشت که از microRNA در درمان استفاده کنند. (۳۱)

روش های درمانی با microRNA

۱- استفاده از ژن پیش ساز مربوط به microRNA: در این روش ژن مربوط به microRNA را در یک وکتور بیان که می تواند ویروسی یا پلاسمید باشد وارد می کنند در طراحی وکتور مسائلی مانند پروموتور، طول قطعه ژنی مد نظر قرار می دهند، (۳۲). از لنتی ویرال ها و آدنوویرال ها هم برای سلول های تمایز یافته که تقسیم نمی شوند و هم برای سلول های در حال تقسیم استفاده می کنند. ولی آدنوویرال ها چون داخل ژنوم وارد نمی شوند، در سلول های در حال تقسیم رفته رفته محو می شوند، (۳۳). مشکل اصلی استفاده از وکتورهای بیان در vivo این است که سیستم ایمنی میزبان اکثراً آن ها را حذف می کند، (۳۲). در یک آزمایشی که در آن با بالا بردن بیان K-ras در موش به صورت شرطی سرطان ریه ایجاد کرده بودند معلوم شد که تزریق داخل بینی آدنوویروسی بیان کننده let-7a تومورایی را کاهش می دهد. (۳۴)

۲- استفاده از microRNA mimic: در این روش از

microRNA که نقش tsmicroRNA را دارد معمولاً به صورت دو رشته ای که محصول Dicer است به داخل سلول انتقال می دهند. مثل روش های دیگر هم در in vitro و in vivo استفاده شده است. در سال ۲۰۱۰ نانو ذره LPH که به یک آنتی بادی تک رشته ای ضد توموری همراه شد، توانست به صورت هدف دار mir-34a را به سلول های ملانوما انتقال دهد. (۳۵)

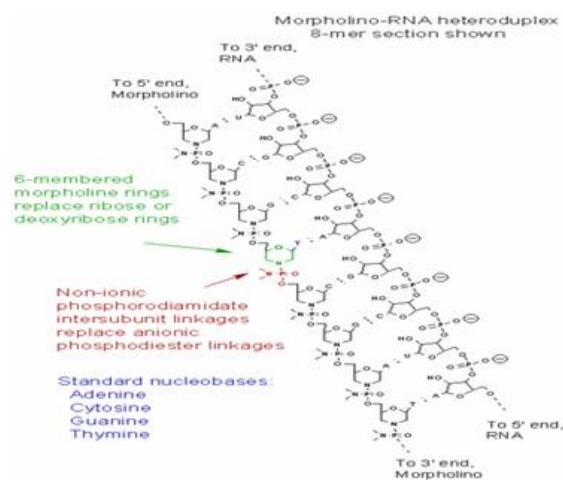
۳- استفاده از anti-microRNA antisense (oligodeoxyribonucleotide) AMO: در مورد oncomir از AMO استفاده می کنند ولی به دلیل این که AMO ها تک رشته هستند و تحت تاثیر نوکلئازهای داخل سلولی قرار می گیرند با اعمال تغییرات شیمیایی پایداری این رشته ها را افزایش می دهند. (۳۶)

۳-۱-LNA): در LNA انتهای ۲ ریبوز با انتهای ۴ وصل می شود. AMO که حاوی LNA-antimiR-122 است در موش باعث پایین آمدن miR-122 شده و چون miR-122 باعث افزایش تولید کلاسترول در خون می شود استفاده از LNA-antimiR-122 کلاسترول خون را کاهش می دهد. (۳۷)

۳-۲-AMO): حاوی 2-O-methoxyethyl، مثال معروف AMO استفاده از 2-O-methoxyethyl-antimir-122 است که miR-122 و کلاسترول خون موش را پایین آورده است. (۳۸، ۳۹)

۳-۳-AMO): متصل به کلاسترول: اتصال به کلاسترول باعث افزایش نفوذ پذیری AMO به داخل سلول ها می شود. (۴۰)

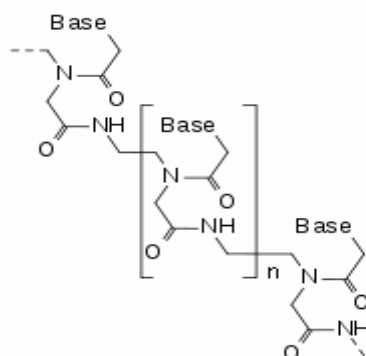
۳-۴-Morpholinos): شکل شماره ۵ نشان دهنده ساختار Morpholinos است در آن ریبوزها با Morpholine و فسفات با phosphorodiamidate جایگزین شده است. Morpholinos پایداری بالاتری نسبت به نوکلئاز داخل سلولی دارد. (۴۱)



شکل شماره ۵. ساختار Morpholino. (۴۱)

glycine N-(2-aminoethyl) جایگزین شده اند. PNAS مقاوم به پروتئاز و نوکلئازها و تغییر PH است. (۴۲)

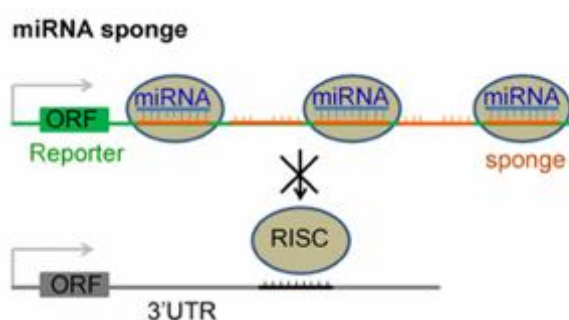
۳-۵-PNA ها: شکل شماره ۶ ساختار PNAS را نشان می دهد که در آن ریبوز و فسفات با



شکل شماره ۶. ساختار PNA. (۴۲)

صورت پایدار در سلول های مورد نظر داخل وکتور بیان شده و محصولات ژن های هدف microRNA را با اتصال به خود microRNA miRNA sponge را mRNA افزایش دهد، این mRNA نامگذاری کرده اند. (۴۳)

به دام اندازی microRNA: در این روش با استفاده از mRNA که حاوی چندین مکان اتصال به microRNA است مانع اثر microRNA بر اهداف ژنی خود می شوند. (شکل شماره ۷) در این روش mRNA می تواند به



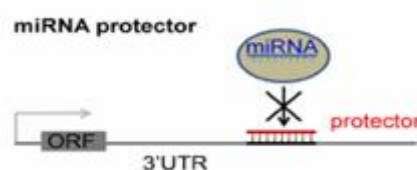
شکل شماره ۷. به دام اندازی microRNA. (۴۳)

sponges نمی شود و نقش sponges فقط به دام اندازی sponges است. (۴۴)

محافظة mRNA هدف: مطالعات نشان داده اند که microRNA های بالغ که محصول Dicer هستند نیمه عمر متفاوتی دارند که به عواملی چون میزان جفت شدگی با ژن های هدف و فراوانی ژن های هدف بستگی دارد در مواردی که این نیمه عمر نسبتاً بالا (در حد هفته) بوده و لازم باشد از میان ژن های هدف فقط یک ژن هدف بیان شده و از بیان بقیه اهداف توسط microRNA مربوطه جلوگیری شود می توان، (۴۵)، با طراحی محافظ بر علیه یک mRNA مانع عملکرد مهاري microRNA روی آن mRNA شد. (شکل شماره ۸) (۴۶)

circRNA :miRNA sponge طبیعی

circRNA هم جزء RNA های غیر کدکننده هستند و نقش تنظیمی دارند که حاوی چندین مکان اتصال برای یک microRNA هستند و مانع عملکرد آن microRNA می شوند. به عنوان مثال ciRS-7 ها RNA های حلقوی هستند که به طور طبیعی در مغز انسان و موش بیان می شوند و حاوی تقریباً ۷۰ سایت اتصال به MiR-7 هستند و سطح بیان اهداف MiR-7 را داخل سلول های مغزی بالا می برند. در مغز اتصال این sponges با MiR-7 به دلیل این که توالی های دیگری غیر از توالی بنیادی در اتصال دخیل است باعث تجزیه



شکل شماره ۸. محافظت mRNA هدف. (۴۳)

استفاده کنند، انواع لپیدها، دندریمرها، و پپتیدها مثال هایی از این جمله هستند که با اتصال آنتی بادی بر علیه بافت هدف می توانند به صورت هدفمند به سلول مورد نظر انتقال یابند، (۴۸). وکتورهای غیر ویروسی معمولاً حاوی بار مثبت هستند که بار مثبت آن ها هم به نوکلئیک اسیدهای منفی و هم به گلیکوکالکس های منفی سطح سلول که پیش

روش های انتقال اولیگونوکلیوتیدها به سلول

یکی از مهم ترین معایب استفاده از روش های سنتی ژن درمانی مثل وکتورهای ویروسی ایجاد ایمنونژنیسته است که معمولاً در حالت in vivo باعث تحریک سیستم ایمنی میزبان می شود، (۴۷). در سال های اخیر سعی پژوهشگران بر این است که از وکتورهای غیر ویروسی

مطلب است که microRNA ها نقش مهمی در شروع و پیشرفت سرطان دارند. microRNA ها بسته به نوع mRNA هایی که مهار می کنند می توانند بازدارنده توموری یا انکوژن باشند. اطلاعات بسیار اندکی از فاکتورهایی که بیان microRNA ها را تحت تاثیر قرار می دهند وجود دارد. با این حال، با بازداشتن microRNA های مسبب بیماری (انکوژن) و ایجاد کردن microRNA های لازم و عملکردی (بازدارنده توموری) این RNA های کوچک تنظیم کننده می توانند کاربرد درمانی در سرطان داشته باشند. بنا بر این microRNA ها ابزار قدرتمندی در تشخیص و پیش بینی بیماری ها از جمله سرطان هستند و می توانند برای کنترل سرطان مورد استفاده قرار گیرند.

برنده آندوسیتوز هستند متصل می شوند. البته پژوهش ها نشان داده اند بار مثبت زیاد هم باعث ایجاد سمیت می شود. همه وکتورهای غیر ویروسی در سه گروه اصلی جای می گیرند که عبارتند از پلی مرهای سنتزی، پلی مرهای طبیعی و لیپیدها. اکثر وکتورهای غیر ویروسی موثر به صورت هیبریدی از این سه گروه هستند. (۴۹)

بحث و نتیجه گیری

microRNA ها یک دسته از RNA های کوچک غیر کدکننده هستند که بیان ژن را در سطح RNA تنظیم می کنند. با توجه به نقش microRNA در فرایندهای تکثیر و تمایز، انتظار می رود مختل شدن بیان آن ها به سرطان مربوط باشد. مطالعات متعددی تایید کننده این

References

1. Strachan T, Read AP. Human Molecular Genetics. GS Garland Science: Taylor & Francis Group; 2004.
2. Josien C, René FK. The role of small non-coding RNAs in genome stability and chromatin organization. J Cell Sci 2010; 123:1825-39.
3. Dastpeyman M, Motamed N, Azadmanesh K. Inhibition of silibinin on migration and adhesion capacity of human highly metastatic breast cancer cell line, MDA-MB-231, by evaluation of β 1-integrin and downstream molecules, Cdc42, Raf-1 and D4GDI. Med Oncolog 2012; 29:2512-8.
4. Mokhtari MJ, Motamed N, Shokrgozar MA. Evaluation of silibinin on the viability, migration and adhesion of the human prostate adenocarcinoma (PC-3) cell line. Cell Biol Inter 2008; 32:888-92.
5. Ambros V, Bartel B, Bartel DP. A uniform system for microRNA annotation. RNA 2003; 9:277-9.
6. Almeida MI, Reis RM, Calin GA. MicroRNA history: Discovery, recent applications and next frontiers. Mutat Res 2011; 717:1-8.
7. Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. Proc Natl Acad Sci USA 2004; 101:2999-3004.
8. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. Cell 2004; 116:281-97.
9. Iorio MV, Casalini P, Piovan C. Breast cancer and microRNAs: the therapeutic impact. Breast 2011; Suppl 3:S63-70.
10. Quesne JL, Caldas C. Micro-RNAs and breast cancer. Mol Oncol 2010; 230-41.
11. Tomari, Y. and Zamore, P.D. Perspective: Machines for RNAi. Genes Dev 2005; 19: 517-29.
12. Elbashir SM, Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD. Functional anatomy of siRNAs for mediating efficient RNAi in Drosophila melanogaster embryo lysate. EMBO J 2001; 20: 6877-88.
13. Liu J, Motamed N, Azadmanesh K. Argonaute2 is the catalytic engine of mammalian RNAi. Science 2004; 305: 1437-41.
14. Bashkurov VI, Scherthan H, Solinger JA. A mouse cytoplasmic exoribonuclease (mXRN1p) with preference for G4 tetraplex substrates. J Cell Biol 1997; 136: 761-73.
15. Pillai RS. MicroRNA function: Multiple mechanisms for a tiny RNA? RNA 2005; 11:1753-61.
16. Bagga S, Bracht J, Hunter S. Regulation by let-7 and lin-4 miRNAs results in target mRNA degradation. Cell 2005; 122: 553-63.
17. Teixeira D, Sheth U, Valencia-Sanchez MA, Motamed N, Azadmanesh K. Processing bodies require RNA for assembly and contain non translating mRNAs. RNA 2005; 11: 371-82.
18. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M. Frequent deletions and down-regulation of

- micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl AcadSci USA* 2002; 99:15524-9.
19. Davison TS, Johnson CD, Andruss BF. Analyzing micro-RNA expression using microarrays. *Method Enzymol* 2006; 411:14-34.
20. Miska EA. How microRNAs control cell division, differentiation and death. *Curr Opin Gen Develop* 2005; 15 : 563-8.
21. Si ML, Zhu S, Wu H. miR-21-mediated tumor growth. *Oncogene* 2007; 26:2799-803.
22. Ibarra I, Erlich Y, Muthuswamy SK. A role for microRNAs in maintenance of mouse mammary epithelial progenitor cells. *Genes Dev* 2007; 21:3238-43.
23. Croce CM. Causes and consequences of microRNA dysregulation in cancer, *Nat Rev Genet* 2009;10:704-14.
24. Si ML, Zhu S, Wu H. miR-21-mediated tumour growth. *Oncogene* 2007;26: 2799-803.
25. Ma L, Teruya-Feldstein J, Weinberg RA. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer. *Nature* 2007;449: 682-8.
26. Huang Q, Gumireddy K, Schrier M. The microRNAs miR-373 and miR-520c promote tumour invasion and metastasis. *Nature Cell Biol* 2008;10:202-10.
27. Akao Y, Nakagawa Y, Naoe T. Let-7 microRNA functions as a potential growth suppressor in human colon cancer cells. *Biol Pharm Bull* 2006;29: 903-6.
28. Kondo N, Toyama T, Sugiura H. miR-206 Expression is down-regulated in estrogen receptor alpha-positive human breast cancer. *Cancer Res* 2008;68:5004-8.
29. Weng Z, Wang D, Zhao W. microRNA-450a targets DNA methyltransferase 3a in hepatocellular carcinoma. *Exp Ther Med* 2011;2:951-55.
30. Carlos C, James DB. Sizing up miRNAs as cancer genes. *Nature* 2005; 11: 712-4.
31. Meng F, Henson R, Lang M. Involvement of human micro-RNA in growth and response to chemotherapy in human cholangiocarcinoma cell lines. *Gastroenterology* 2006; 130:2113-29.
32. Weber JA, Baxter DH, Zhang S. The microRNA spectrum in 12 body fluids. *Clin Chem* 2010; 56:1733-41.
33. Sotillo E, Thomas-Tikhonenko A. Shielding the messenger (RNA): microRNA-based anticancer therapies. *Pharmacol Ther* 2011; 131:18-32.
34. Nayak S, Herzog RW. Progress and prospects: immune responses to viral vectors. *Gene Ther* 2010; 17: 295-304.
35. Esquela-Kerscher A, Trang P, Wiggins JF. The let-7 microRNA reduces tumor growth in mouse models of lung cancer. *Cell Cycle* 2008; 7:759-64.
36. Chen Y, Zhu X, Zhang X. Nanoparticles modified with tumor- targeting scFv deliver siRNA and miRNA for cancer therapy. *Mol Ther* 2010; 18:1650-6.
37. Weiler J, Hunziker J, Hall J. Anti-miRNA oligonucleotides (AMOs): ammunition to target miRNAs implicated in human disease? *Gene Ther* 2006; 13:496-502.
38. Elmen J, Lindow M, Silahatoglu A. Antagonism of microRNA-122 in mice by systemically administered LNA- anti miR leads to up-regulation of a large set of predicted target mRNAs in the liver. *Nucleic Acids Res* 2008; 36:1153-62.
39. Esau C, Davis S, Murray SF. miR-122 regulation of lipid metabolism revealed by in vivo antisense targeting. *Cell Metab* 2006; 3:87-98.
40. Krützfeldt J, Rajewsky N, Braich R. Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs'. *Nature* 2005; 438:685-9.
41. Summerton J. Morpholino antisense oligomers: the case for an RNase H- independent structural type. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1489:141-58.
42. Oh SY, Ju Y, Park H. A highly effective and long-lasting inhibition of miRNAs with PNA-based antisense oligonucleotides. *Mol Cell* 2009; 28:341-5.
43. Zhang H, Shykind B, Sun T. Approaches to manipulating microRNAs in neurogenesis. *Front Neurosci* 2013; 17;6:196-9.
44. Thomas BH. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges, *Nature* 2013; 495,384-38
45. Gantier M.P, McCoy C.E, Rusinova I, et al. Analysis of microRNA turnover in mammalian cells following Dicer1 ablation. *Nucleic Acids Res* 2011;5:5692-703.
46. Choi WY, Giraldez AJ, Schier AF. Target protectors reveal dampening and balancing of Nodal agonist and antagonist by miR-430. *Science* 2007; 31 8:271-4.

47. Bakhshandeh B, Soleimani M, Hafizi M. A comparative study on nonviral genetic modifications in cord blood and bone marrow mesenchymal stem cells. *Cytotechnology* 2012; 64:523-40.

48. Yamano S, Dai J, Moursi AM. Comp-

arison of transfection efficiency of nonviral gene transfer reagents. *Mol Biotechnol* 2010; 46:287-300.

49. Rao DD, Vorhies JS, Senzer N. siRNA vs. shRNA: similarities and differences. *Adv Drug Deliv Rev* 2009 ;61:746-59.

MicroRNAs in Cancer Therapy

Motamed N¹, Jahanafrooz Z²

(Received: October 24, 2013 Accepted: January 28, 2014)

Abstract

Despite advances in diagnosis and therapy, cancer is still the leading cause of death worldwide. Beside the genetic and environmental factors, epigenetic factors also contribute to the etiology of cancer. More recently, a new class of small non-coding RNAs called microRNAs (miRs or miRNAs) has been linked to several human diseases, including cancer. MicroRNAs are involved in eukaryotic gene regulation, either by translational inhibition or exonucleolytic mRNA decay, targeted through imperfect complementarity between the microRNA and the 3'- untranslated region (3'-UTR) of the mRNA. Considering the potential of microRNAs in targeting many of human mRNA, these classes of 19-25 oligonucleotides are involved in almost every biological process,

including cell cycle regulation, cell growth, apoptosis, cell differentiation and stress response. Growing evidence suggests that microRNAs have a vital role in cancer biology and recent studies have confirmed the oncogenic or tumour suppression role of microRNA in cancer cells. It has been shown that microRNA expression can itself be regulated both through oncogenes or tumour suppressors. There is a probability that microRNA expression can be regulated both in *in vitro* and *in vivo* by developing synthetic pre-microRNA molecules or anti-microRNA antisense oligodeoxyribonucleotides which show a promising prospect of a possible use in curing cancer.

Keywords: MicroRNA, cancer, oncogene, tumor suppressor, target gene

1. Dept of Biology, Faculty of Biology, Tehran University, Tehran, Iran

** (Corresponding author)*