DOI: 10.22122/jims.v37i532.12097 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و هفتم/شماره‌ی ۵۳۲/هفته‌ی چهارم مرداد ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۳/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۵/۸ تاریخ چاپ: ۱۳۹۸/۵/۲۲

بررسی عملکرد miRNA در بیماری سیستیک فیبروزیس

مریم حسن‌زاد[۱]، پوپک فرنیا[۲]، جلال‌الدین غنوی[۳]، علی‌اکبر ولایتی[۴]

مقاله مروری

چکیده

سیستیک فیبروزیس (Cystic fibrosis یا CF) نوعی اختلال اتوزومی مغلوب است که به علت جهش‌هایی در ژن تنظیم کننده‌ی رسانایی میان غشایی سیستیک فیبروزیس (Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator یا CFTR) ایجاد می‌شود. عدم تنظیم miRNA در بسیاری از بیماری‌های ریوی نظیر CF گزارش شده است. کاهش یا افزایش سطح miRNA اثرات مهمی بر پاسخ‌های ایمنی ذاتی در مسیر تنفسی CF دارد، مانند اختلال در عملکرد پاسخ التهابی ایجاد شده به واسطه‌ی نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها و نیز التهاب مزمن که باعث تخریب و فیبروز بافت ریه در بیماران مبتلا به CF می‌شود. وجود یک نشانگر زیستی اختصاصی برای تشخیص پیشرفت بیماری ریوی، بررسی التهاب و عملکرد سلولی می‌تواند گزینه‌ی مناسبی برای تشخیص CF باشد. برای مثال، miRNAهای موجود در خلط، می‌توانند جهت بررسی عملکرد ریوی، بسیار ایده‌آل باشند. در حال حاضر، از miRNA در درمان یا تشخیص بالینی CF استفاده نمی‌شود، اما مطالعات زیادی miRNAها را به عنوان نشانگرهای زیستی بالقوه برای این بیماری بیان می‌کنند. این مطالعات، پیشنهاد می‌کنند که درمان‌های بر پایه‌ی miRNA که باعث افزایش بیان CFTR می‌شوند، می‌توانند گزینه‌ی بسیار مناسبی برای تنظیم میزان CFTR در آزمایش‌های بالینی بر روی بیماران CF باشند. در این مقاله‌ی مروری، پس از تشریح گروه‌های مختلف miRNA و مکانیسم عملکرد آن جهت تنظیم بیان پروتئین، مطالعات گوناگون مرتبط با miRNA در سیستیک فیبروزیس بررسی گردید. همچنین، امکان به کارگیری miRNA به عنوان نشانگر زیستی در بیماری سیستیک فیبروزیس و نقش آن در روش‌های درمانی مختلف بر پایه‌ی miRNA مورد بحث قرار گرفته است.

واژگان کلیدی: سیستیک فیبروزیس، ریه، micro RNA

ارجاع: حسن‌زاد مریم، فرنیا پوپک، غنوی جلال‌الدین، ولایتی علی‌اکبر. **بررسی عملکرد miRNA در بیماری سیستیک فیبروزیس.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۸؛ ۳۷ (۵۳۲): ۷۴۶-۷۳۶

سیستیک فیبروزیس

سیستیک فیبروزیس، شایع‌ترین بیماری اتوزومی مغلوب در آمریکا و اروپا است (۱) و علت این بیماری، جهش در ژن تنظیم کننده‌ی رسانایی میان شایی سیستیک فیبروزیس (Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator یا CFTR) می‌باشد. تاکنون بیش از ۱۹۰۰ گونه‌ی بیماری‌زای این ژن شناسایی شده است. پروتئین CFTR، یک کانال یون کلرید است که نه تنها به صورت مستقیم در هموستاز در سطح اپی‌تلیوم دخالت دارد، بلکه کانال‌های دیگر یون کلرید و یا غیر کلرید مانند کانال سدیم و انتقال مولکول‌هایی نظیر گلوتاتیون را تنظیم می‌نماید (۲).

جهش‌های مختلف، باعث درجات متفاوتی از وخامت این بیماری می‌شوند که بستگی به میزان عملکرد صحیح CFTR در غشای رأسی (Apical) دارد (۳). در مجموع، بیش از ۲۰۰۰ تنوع بیماری‌زا و غیر بیماری‌زا برای ژن CFTR وجود دارد که با علایم

۱- دانشیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های تنفسی اطفال، پژوهشکده‌ی سل و بیماری‌های ریوی، مرکز آموزشی، پژوهشی و درمانی سل و بیماری‌های ریوی بیمارستان دکتر مسیح دانشوری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲- استادیار، مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی، پژوهشکده‌ی سل و بیماری‌های ریوی، مرکز آموزشی، پژوهشی و درمانی سل و بیماری‌های ریوی بیمارستان دکتر مسیح دانشوری و گروه بیوتکنولوژی، دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۳- استادیار، مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی، پژوهشکده‌ی سل و بیماری‌های ریوی، مرکز آموزشی، پژوهشی و درمانی سل و بیماری‌های ریوی بیمارستان دکتر مسیح دانشوری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴- استاد، مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی، پژوهشکده‌ی سل و بیماری‌های ریوی، مرکز آموزشی، پژوهشی و درمانی سل و بیماری‌های ریوی بیمارستان دکتر مسیح دانشوری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: پوپک فرنیا Email: p.farnia@sbmu.ac.ir

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

بالینی گسترده و متنوعی همراه هستند و رایج ترین نوع این جهش ها، تغییر تک نوکلئوتیدی و یا حذف و درج‌های کوچک است، اما در عین حال، به تازگی بیان شده است که حذف‌ها یا دوپلیکاسیون‌های بزرگ نیز در بیماری‌زایی نقش مهمی ایفا می‌کنند (۴).

شایع‌ترین جهش در کشورهای اروپایی (۷۰ درصد) p.Phe508del می باشد که شامل حذف یک فنیل آلانین است و باعث تخریب پروتئین در شبکه‌ی آندوپلاسمی سلول می‌شود. در این حالت، پروتئین‌های CFTR بسیار کمی به سطح سلول می‌رسند و تعداد کمی که می‌رسند نیز بدون عملکرد می‌باشند و بنابراین، بیماران دارای دو آلل جهش یافته، می‌توانند علایم شدیدی از بیماری را تجربه کنند (۳).

اگر چه اعضای مختلفی در بدن نیز تحت تأثیر عملکرد تغییر یافته‌ی CFTR قرار می گیرند، وخامت بیماری خود را در ریه نشان می دهد. عملکرد ناقص CFTR در مجرای تنفسی فرد مبتلا به CF، باعث عدم تعادل بین ترشح یون Cl^- به واسطه‌ی CFTR و جذب یون Na^+ به واسطه‌ی کانال سدیم اپی‌تلیالی (ENaC) می‌شود که در نهایت، باعث کمبود حجم مایع سطح مسیر تنفسی و خشکی و غلیظ شدن موکوس در این مسیر خواهد شد. بنابراین، ریه ها به یک مکان ایده‌آل برای تجمع میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا نظیر Pseudomonas aeruginosa، Staphylococcus aureus، Burkholderia cepacia و Aspergillus fumigatus تبدیل می‌شوند (۵). اختلال در ایجاد پاسخ التهابی به عفونت‌ها در ریه‌ی فرد مبتلا به CF از مسیرهای زیادی ایجاد می شود. این مسیرها، باعث ایجاد ویژگی‌های مشترک با برخی بیماری‌ها نظیر پیام‌رسانی بسیار فعال گیرنده‌ی تشخیصی (مانند گیرنده‌های Toll-like receptor یا TLR)، میزان بالای سیتوکاین های پیش التهابی (مانند Interleukin-8 یا IL-8)، میزان بالای نوتروفیل و مشکل فعالیت پروتئاز (برای مثال الاستاز نوتروفیل) می شود. تکرار عفونت و التهاب های پیش رونده و تشدید آن‌ها، در نهایت باعث آسیب به ریه‌ی بیمار و نارسایی تنفسی منجر به مرگ می‌شود (۶).

هیچ درمانی برای CF شناخته نشده است و درمان‌های کنونی بیشتر بر پایه‌ی مدیریت علایم ناشی از نقص در CFTR، متمرکز شده‌اند. این اقدامات، شامل مواردی نظیر درمان فیزیکی برای کمک به خارج کردن موکوس (همراه با داروهای خلط‌آور)، درمان آنتی‌بیوتیکی عفونت‌های تنفسی و درمان‌های ضد التهاب مانند ماکرولیدها (Macrolides) می‌باشد (۷). درمان‌های طولانی مدت با آنتی‌بیوتیک‌های ماکرولید، باعث کاهش التهاب در ریه‌ی فرد مبتلا به CF می‌شود. مکانیسم عمل ماکرولیدها به احتمال زیاد مربوط به فعال‌سازی انتشار یون کلرید می‌باشد. از میان انواع ماکرولیدها، آزیتروماییسین مناسب‌ترین گزینه با کمترین عوارض جانبی است (۲).

تلاش برای پیشرفت آنتی‌بیوتیک‌ها در دهه‌ی اخیر، به عنوان هدف اصلی برای افزایش طول عمر این بیماران به حساب می آید (۸). با توجه به این که استفاده‌ی مداوم از آنتی‌بیوتیک‌ها باعث ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌شود، نیاز به یک گزینه‌ی جایگزین بسیار ضروری به نظر می رسد. تا کنون تلاش های بسیاری برای ژن‌درمانی، ویرایش ژنی و اصلاح عملکرد کانال های یونی CFTR انجام شده است، اما هیچ کدام کارایی لازم را نداشته‌اند. دستاوردهای جدیدی در بهبود عملکرد ریه‌ی بیماران با استفاده از تقویت کننده‌ی عملکرد کانال CFTR به نام Ivacaftor (VX770)، در کنار دو اصلاح کننده‌ی CFTR به نام‌های Lumacaftor (VX-809) و Tezacaftor (VX-661) که باعث افزایش کانال در سطح سلول می‌شود حاصل شده است؛ هر سه اصلاح کننده، محصول شرکت دارویی Vertex می‌باشند (۱۰-۹).

در مطالعه ای بر روی ۶۳۵ بیمار و ۱۸۷۴ شاهد در آمریکا، تأثیر داروی Ivacaftor به مدت ۵ سال بررسی شد. نتایج این پژوهش نشان داد Ivacaftor باعث حفظ عملکرد ریوی و همچنین، بهبود وضعیت تغذیه‌ی بیماران می‌شود. همچنین، بیمارانی که این دارو را مصرف کردند، سابقه‌ی بسیار کمتری برای بستری شدن در بیمارستان و یا تشدید بیماری داشتند که این نتایج در مطالعات کشور انگلستان نیز مشهود بوده است (۱۱).

نقش RNAهای غیر کد کننده در بیماری‌زایی نیز از موضوعات درمانی محتمل برای CF به شمار می‌آید.

گروه‌های مختلف RNAهای غیر کد کننده

ژنوم انسان، حدود ۳ میلیارد جفت باز طول دارد و به صورت کروماتین در هسته‌ی یوکاریوت‌ها وجود دارد. توالی خام ژنوم منتشر شد (۱۳-۱۲) و ۳ سال بعد در مجله ی Nature حضور ۲۵-۲۰ هزار ژن کد کننده‌ی پروتئین معرفی گردید (۱۴).

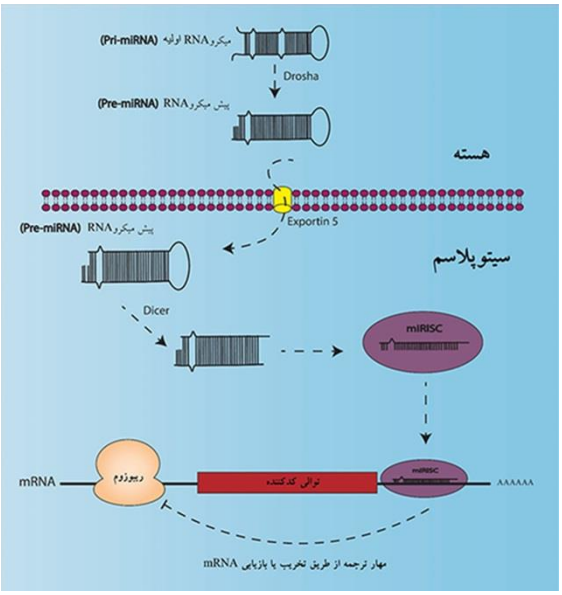
کنسرسیوم GENCODE با ترکیبی از آنالیزهای کامپیوتری، دستی و معتبرسازی آزمایشگاهی به مرتب‌سازی ژن‌ها در ژنوم پرداخت (۱۵). در حال حاضر، نسخه‌ی ۳۰ از GENCODE انسانی منتشر شده است. در این نسخه، تعداد کل ژن‌ها ۵۸۸۷۰ می‌باشد که از این بین، ۱۹۹۸۶ ژن کد کننده‌ی پروتئین، هزاران RNA غیر کد کننده شامل ۱۴۷۰۶ ژن کاذب (سودوژن)، ۱۶۱۹۳ RNA غیر کد کننده‌ی بزرگ، ۷۵۷۶ RNA غیر کد کننده کوچک معرفی شده است. RNAهای غیر کد کننده بر اساس طول (۲۰۰-۱۸ توکلئوتید به عنوان کوچک، بیشتر از ۲۰۰ نوکلئوتید به عنوان بزرگ) و بر اساس عملکرد به انواع Ribosomal ribonucleic acid (rRNA) و

Transfer ribonucleic acid (tRNA)؛ رونوشت‌های تنظیمی مانند میکروRNA (miRNAs)، RNA میان‌کنش کننده با پروتئین piwi و RNA غیر کد کننده‌ی بزرگ گروه‌بندی می‌شوند. از آن جایی که نقش RNAهای غیر کد کننده به طور کامل شناخته شده است، تحقیقات دهه‌های اخیر بر RNAهای غیر کد کننده‌ی تنظیمی متمرکز بوده است. میکروRNAها، RNAهای غیر کد کننده‌ی کوچک (۲۴-۲۰ نوکلئوتید) هستند که بیان ژن را پس از رونویسی تنظیم می‌کنند. پس از شناسایی اولین miRNA به نام lin-4 در Caenorhabditis elegans، بیش از ۱۸۰۰ miRNA در انسان‌ها شناسایی شده است و در یک منبع اطلاعاتی (http://www.mirbase.org) به نام miRbase 21 ذکر شده‌اند. سیستم miRNA، می‌تواند بیش از ۶۰ درصد ژن‌های کد کننده‌ی پروتئین را در سلول های انسانی تنظیم کند و عدم تنظیم آن در بسیاری از بیماری‌های ریوی نظیر CF گزارش شده است (۱۷-۱۶، ۲).

مکانیسم عملکرد میکروRNA

مسیر اصلی عملکرد miRNA برای کاهش بیان پروتئین با اتصال به ناحیه‌ی 3`UTR از Messenger RNA (mRNA) هدف می‌باشد که به دنبال آن، تخریب mRNA و یا مهار ترجمه صورت می گیرد (۱۹-۱۸). عملکرد این سیستم، بیشتر به واسطه‌ی عملکرد عوامل رونویسی می‌باشد. یک عامل رونویسی (Transcription Factor یا TF) بیان ژن‌های زیادی را کنترل می‌کند و یک ژن، می‌تواند بیان تعدادی miRNA را کنترل کند. یک miRNA، خود می‌تواند بیان TFها و یا ژن‌های زیادی را از طریق هدف قرار دادن چندین mRNA تنظیم کند (۲۰). این روزها، ابزارهای مختلفی از جمله microT DIANA، TargetScan، miRWalk، miRanda و PicTar برای پیش بینی میان کنش miRNA و mRNA معرفی شده است. این الگوریتم‌ها، نه تنها بر پایه‌ی جفت شدن miRNA و 3`UTR از mRNA، پایداری ترمودینامیکی miRNA-mRNA، حفظ شدگی جایگاه هدف و انرژی آزاد، بلکه بر پایه‌ی کنترل ترجمه‌ی مشترک و تعدد جایگاه‌های اتصال miRNA می‌باشد (۲۲-۲۱).

miRNAها با رونویسی و بالغ شدن رونوشت خود تولید می‌شوند و در نهایت، به صورت یک miRNA بالغ و شامل مجموعه‌ای ریبونوکلئوپروتئینی به نام کمپلکس خاموش کننده‌ی القا شده به وسیله‌ی miRNA (miRNA-induced silencing complex یا miRISC) در می‌آید. رونویسی در هسته، با استفاده از RNAپلیمراز II صورت می‌گیرد و یک توالی بلند به نام Pri-miRNA در هسته ایجاد می‌شود. در ادامه، پروتئین‌های Drosha و DGCR8 این رونوشت بلند را برش می‌دهند و یک ساختار سنجاق‌سری به نام Pre-miRNA ایجاد می کنند. این Pre-miRNA، توسط Exportin5 از غشای هسته به سیتوپلاسم انتقال می‌یابد و در آن جا، دوباره با برش توسط Dicer به صورت miRNA دو رشته‌ای در می‌آید که در نهایت، با تک رشته‌ای شدن آن، مجموعه‌ی ریبونوکلئوپروتئینی miRISC شکل می‌گیرد (شکل ۱) (۲۳).



شکل ۱. مکانیسم آماده‌سازی کمپلکس ریبونوکلئوپروتئینی miRNA-induced silencing complex (miRISC) و مهار بیان Messenger RNA (mRNA) به وسیله‌ی آن

جفت شدن miRNA با mRNA از طریق محلی به نام عنصر پاسخ به miRNA (miRNA response element یا MRE) بر روی mRNA می‌باشد. فعالیت میکروRNA به یک توالی ۶ نوکلئوتیدی وابسته است که به آن، توالی «Seed» نیز گفته می شود. بنابراین، یک موتیف MRE، می‌تواند روی mRNAهای متفاوت مشترک باشد و یک mRNA می‌تواند تکراری از MREهای یکسان یا متفاوت داشته باشد. البته، باید به نقش isomiRها نیز توجه داشت. isomiRها مشابه miRNA اصلی هستند و تنها در سر `3 یا `5 توالی مرکزی تفاوت‌هایی دارند (۲۳).

مطالعات miRNA در سیستیک فیبروزیس

ایمنی ذاتی و التهاب: کاهش عملکرد کانال یونی در اپی تلیوم مسیر تنفسی فرد مبتلا به سیستیک فیبروزیس، باعث خشک شدن سطح مجرا و اختلال در پاک‌سازی مخاط می‌شود که در نهایت، منجر به التهاب مزمن تنفسی می‌گردد. از آن جایی که سلول‌های اپی‌تلیال تنفسی میزان بالای TLRها را دارند، به عنوان میانجی مهمی در پاسخ

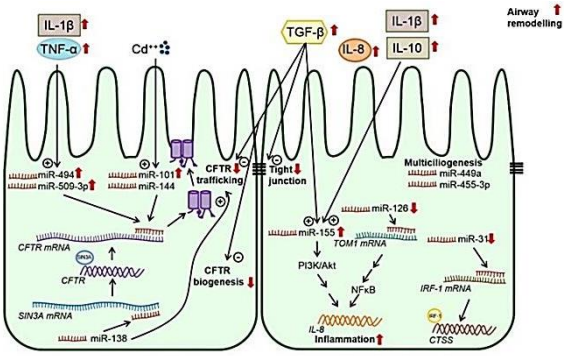
سیستم ایمنی ذاتی محسوب می شوند. در یک مطالعه بر روی نمونه‌های برونش پنج بیمار مبتلا به CF با پنج نمونه‌ی طبیعی (به عنوان شاهد)، بیان متفاوت ۹۲ نوع miRNA نشان داده شد که از این میان، ۵۶ miR دارای کاهش بیان و ۳۶ miR دارای افزایش بیان بودند (۲۴).

در مطالعه‌ی دیگری، miR-126 انتخاب شد و آزمایش‌های بیشتر، کاهش بیان معنی‌دار آن را در نمونه‌های برونش سیستیک فیبروزیس در مقایسه با نمونه‌های سالم و در رده‌ی سلولی اپی‌تلیال برونشی CF (CFBE41o-) در مقایسه با رده‌ی سلولی اپی‌تلیال برونشی سالم (16HBE14o-) به اثبات رساند. در این پژوهش مشخص شد کاهش بیان این miR با افزایش معنی دار بیان mRNA هدف آن به نام TOM1 همراه بوده است (۲۴). TOM1 هدف عامل رونویسی Myb1 می باشد که در تجمع اندوزومی پروتئین های یوبی کوئیتینه نقش دارد و از طرفی، به عنوان تنظیم کننده ی منفی مسیرهای سیگنالی Toll-like receptor 2 (TLR2)، TLR4 و Interleukin 1 receptor type I (IL-1 R1) عمل می‌کند و به همین دلیل، کاهش سطح miR-126 اثرات مهمی بر پاسخ های ایمنی ذاتی در مسیر تنفسی CF دارد.

جهش در ژن CFTR، با ایجاد یک محیط پر از مخاط، از ورود باکتری به سلول‌های اپی‌تلیال ریه که یک مرحله‌ی مهم در پاک‌سازی عفونت باکتریایی و آپوپتوز است، جلوگیری می کند. این موضوع، یک مدرک آشکار برای نقش این جهش در مستعد شدن ریه برای عفونت Pseudomonas می‌باشد. مطالعات زیادی فعال شدن Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF-κB) را مسیر ایمنی ذاتی در بیماران CF نشان داده‌اند؛ در حالی که میان‌کنش Wnt/β-catenin دچار نقص می‌باشد. شش miRNA اختصاصی (miR-1274، miR-1276، miR-449c، miR-3170، miR-432-5p و miR-548) در نمونه‌های افراد دارای عفونت Pseudomonas یافت شده است که تنظیم کننده‌های تکثیر سلولی، مسیرهای التهابی NF-κB و Tumor necrosis factor alpha (TNFα) در راستای مسیر Wnt/β-catenin می‌باشند. این miRNAها، با کاهش سطح CFTR و رشد باکتری در ارتباط هستند. علاوه بر این، دو miRNA دیگر miR-449 و miR-532 در مسیر پیام‌رسانی Wnt/β-catenin دخیل هستند و مجموع این هشت miRNA، ارتباط و میان‌کنشی قوی با ژن‌های RELA، JUN، TNF، IL-10، CTNNB1، IL-13، SERPINB8، CALM1، STARD3NL، SFI1، CD55، RPS6KA4، TTC36 و HIST1H3D دارند (۲۵).

مقایسه‌ی رده‌های سلولی اپی‌تلیال طبیعی و CF به نام‌های IB3-1/S9 و IB3-1، باعث شناخت miR-155 به عنوان کاندیدا برای مطالعات بیشتر شد (۲۶). سطح miR-155 در سلول های CF افزایش دارد و این افزایش، باعث کاهش بیان (Src homology-2 domain-containing inositol 5-phosphatase 1 یا SHIP1) می‌شود که به دنبال آن پیام‌رسانی مسیر PI3K/Akt (Phosphatidylinositol 3-kinase) و پایداری رونوشت IL-8 افزایش می‌یابد (۲۶). مکانیسم افزایش miR-155 در سلول‌های CF از طریق کاهش پروتئین Tristetraprolin (TTP) می‌باشد. این پروتئین، یک تنظیم کننده‌ی منفی در مسیر بیوژنز miR-155 است که احتمال می‌رود به وسیله‌ی القای miR-1 عمل کند (۲۷).

بیماری ریوی CF از طریق یک پاسخ التهابی به واسطه‌ی نوتروفیل شناخته می شود. کموکاین اصلی، نوتروفیل IL-8 است که در CF افزایش دارد و کاهش آن، می‌تواند نقش درمانی برای این بیماران داشته باشد. علاوه بر اثر miR-155 بر بیان IL-8، miR-93 و miR-17 رونوشت IL-8 را هدف قرار می‌دهند و کاهش آن‌ها همراه با افزایش تولید IL-8 در التهاب‌های CF دیده شده است (۲۹-۲۸) (شکل ۲).



شکل ۲. miRNAهای مشارکت کننده در پاتوژنز سیستیک فیبروزیس (۳۰)

نقش انواع دیگر سلول ها مانند ماکروفاژها نیز با ایجاد اختلالات سیستم ایمنی ذاتی در بیماران و موش های مدل بیماری مشاهده شده است. ماکروفاژهای بیماران و موش‌های مدل مبتلا به CF دارای کاهش بیان Caveolin 1 (CAV1) می‌باشند. این کاهش بیان، از طریق افزایش بیان miR-199a-5p و در سطح پس از رونویسی می‌باشد. CAV1، به صورت طبیعی یک مهار کننده‌ی مسیر TLR4 می‌باشد و بنابراین، موجب می‌شود پیام‌رسانی TLR4 در سلول‌های ریه‌ی بیماران CF همواره روشن بماند. مسیر Transforming growth factor beta (TGF-β1) نیز می‌تواند مسیر NF-κB/IL-8 را مهار کند و در مطالعات مختلفی کاهش سطح انتقال دهنده‌های پیام SMAD3 و SMAD4 در سلول‌های CF گزارش شده است (۳۲-۳۱).

کاهش سطح رونوشت mRNA مربوط به Mothers against decapentaplegic homolog 3 (SMAD3) و SMAD4 به ترتیب همراه با افزایش miR-145 و miR-224-5p می‌باشد که مکانیسم دیگری را برای ازدیاد پیام‌های ایجاد التهاب در ریه بیان می کند (۳۲-۳۱). پاسخ التهابی در ریه، همچنین از طریق پروتئاز آزاد شده از سلول‌های فعال سیستم ایمنی، ایجاد می‌شود. الاستاز نوتروفیل از شناخته شده‌ترین پروتئازها در این زمینه می‌باشد. همچنین، در مطالعه‌ای، نقش ایجاد التهاب کاتپسین S (Cathepsin S یا CTSS) در بیماری‌زایی CF مشخص شده است. CTSS، یک پروتئاز از خانواده‌ی C1 می‌باشد که می‌تواند به عنوان الاستاز در ماکروفاژ آلوئول های ریوی عمل کند. افزایش CTSS در مایع به دست آمده از شستشوی مسیر تنفسی با عملکرد ضعیف تر ریه در ارتباط می‌باشد. بیان CTSS توسط miR-31 و با هدف قرار دادن عامل رونویسی Interferon regulatory factor-1 (IRF-1) تنظیم می‌شود و سطح miR-31 در نمونه‌های برونشی بیماران CF کمتر از نمونه‌های طبیعی گزارش شده است (۳۳).

Genz و همکاران، نشان دادند که سطح miRNA-25-3p در سرم کودکان مبتلا به CF که اختلال ریوی نداشتند، در مقایسه با کودکان مبتلا به CF با مشکلات ریوی و همچنین افراد سالم، افزایش یافته است. افزایش بیان مقطعی این miRNA، باعث مهار TGF-β و بیان mRNA گیرنده‌ی نوع ۱ آن (TGFBR1)، فسفریلاسیون Smad2 القا شده به وسیله‌ی TGF-β و به دنبال آن، افزایش کلاژن ۱α۱ می‌شود. آزمایش‌های بیشتر نشان داد دو فعال کننده‌ی پیام‌رسانی Notch1 به نام‌های A Disintergin And Metalloproteinase-17 (ADAM-17) و FK505 Binding Protein 14 (FKBP14) هدف‌های miR-25 هستند. افزایش بیان miR-25، باعث کاهش بیان اجزای مسیر سیگنالی TGF-β، Notch1 و همچنین، Wnt می شود. بنابراین، بیماران به تحریک TGF-β و محرک‌های فیبروتیک حساسیت کمتری دارند (۳۴).

از بین بردن عفونت باکتریایی: علاوه بر پیام‌رسانی تغییر یافته‌ی مسیر التهاب، ماکروفاژهای بیماران مبتلا به CF نیز در مبارزه‌ی درون سلولی با باکتری‌ها دچار نقص هستند. افزایش miR-181b در اختلال عملکرد ماکروفاژهای بیماران CF در کشت سلول CFBE41o$^-$ و همچنین در مونوسیت‌های اولیه‌ی مشتق از ماکروفاژهای به دست آمده از بیماران CF، به اثبات رسیده است. از طرفی، یک گیرنده‌ی سطح سلولی به نام Lipoxin A_4/Formyl-peptide receptor type 2 (ALX/FPR2) در این بیماران دچار کاهش بیان است. در یک مطالعه، مهار miR-181b در سلول های ماکروفاژ CF، باعث بازگشت توانایی فاگوسیتوز القا شده بوسیله ی لیپوکسین A_4 شد (۳۵). در مقابل، کاهش miR-17 در نمونه‌های برونشی CF، این miR در ماکروفاژهای طبیعی انسانی و موشی دچار افزایش بیان است و کمبود گروه Mirc1/miR-17-92 در این سلول‌ها، باعث افزایش بیان Autophagy related 7 (ATG7) و Autophagy related 16 like 1 (ATG16L1) که هدف‌های miR-17 هستند، می‌شود (۳۶). مهار miR-17 در ریه‌ی موش مبتلا به CF باعث افزایش مولکول‌های اتوفاژی و به دنبال آن، حذف مشهود عفونت باکتریایی می شود. تقویت اتوفاژی، باعث بهبود عملکرد CFTR نیز می‌شود (۳۶).

بیان خوشه‌ی ژنی Mirc1/miR-17-92 در پلاسما و یا نوتروفیل های مربوط به نمونه‌های سالم تغییری نداشت، اما بین بیان این گروه در نمونه‌های خلطی CF، یک ارتباط مثبت معنی‌دار با تشدید بیماری ریوی و یک ارتباط منفی معنی دار با عملکرد ریوی وجود دارد. نشانگرهای زیستی موجود در خلط، برای بررسی عملکرد ریوی بسیار ایده‌آل می‌باشند و بیان Mirc1/Mir17-92 به عنوان نشانگر زیستی مناسب در خلط به حساب می‌آید (۳۷).

در مطالعه‌ی نمونه‌های بیماران مبتلا به عفونت Pseudomonas aeruginosa، miR-1247، miR-1276، miR-3170 و miR-548 که به طور مشخص در تکثیر سلولی و آپوپتوز نقش دارند، دچار افزایش بیان می‌شوند (۲۵). CFTR، یک مهار کننده‌ی تومور شناخته شده در سرطان و القا کننده‌ی آپوپتوز به واسطه‌ی گلوتاتیون می‌باشد و گزارش شده است که سلول‌های اپی‌تلیال با استفاده از CFTR به عنوان گیرنده‌ی اندوسیتوز باعث کشته شدن Pseudomonasها می‌شوند و در حضور CFTR جهش یافته، میزان رشد Pseudomonasها در مسیر تنفسی بالا خواهد رفت (۳۸). Pseudomonas نیز عوامل مهار کننده‌ی CFTR را ترشح می‌کند و بیان نابه‌جای CFTR، عامل اصلی اپی‌ژنتیک در التهاب و عفونت باکتری می‌باشد.

فیبروز ریه: التهاب مزمن در بیماری CF باعث تخریب بافت ریوی از طریق فیبروز یا ایجاد زخم ریوی می‌شود. علاوه براین مشخص شده است افزایش سطح miR-155 در سلول‌های اپیتلیال CF باعث مهار mRNA مربوط به Regulatory-associated protein of mTOR, complex 1 (RPTOR) و به دنبال آن فعال‌سازی پیام‌رسانی TGF-β و همچنین فیبروز از طریق افزایش Connective tissue growth factor (CTGF) (فاکتور رشد بافت همبند) می‌شود (۳۹).

جابه جایی یون ها: مطالعات زیادی تنظیم بیان CFTR به واسطه‌ی میکروRNA را نشان داده‌اند؛ به طوری که در ابتدا، نقش miR-145 و miR-494 در هدف قرار دادن ناحیه‌ی ترجمه نشده‌ی

۳ (3` UTR) رونوشت این ژن مورد بررسی قرار گرفت (۴۰). مطالعات بیشتر، نقش mir-494 را به عنوان تنظیم کننده ی CFTR تأیید نمود (۴۳-۴۱) و miR-101 و miR-144 نیز در همین گروه شناسایی شدند (۴۲، ۲۳). افزایش بیان miRهای 145، 223 و 494 در نمونه‌های برونشی بیماران و همچنین، در مقایسه‌ی افراد هموزیگوت و هتروزیگوت برای حذف p.Phe508del در ژن CFTR، به اثبات رسیده است (۴۳). Amato و همکاران، جهشی را در 3` UTR ژن CFTR گزارش کردند که باعث افزایش گرایش miR-509-3p به این ناحیه می‌شود و در نهایت، باعث کاهش بیان پروتئین CFTR می‌گردد (۴۴). مطالعات بعدی این گروه، نشان داد مهار این miR، می‌تواند باعث بازگشت سطح CFTR به میزان قبلی گردد (۴۵). محرک‌های التهابی مانند عوامل TNFα، IL-1β و عفونت Staphylococcus aureus از طریق مسیر NF-κB، باعث افزایش بیان miR-509-5p و miR-494 می‌شوند (۴۶).

miR-138 به طور غیرمستقیم یک تنظیم کننده‌ی رونویسی به نام SIN3 A را هدف قرار می‌دهد و از این طریق، سطح CFTR را تنظیم می نماید. افزایش بیان miR-138 باعث افزایش مولکول های CFTR در سطح سلول می‌شود که می‌تواند باعث ایجاد روش درمانی جدیدی برای CF شود (۴۵). تعدادی از مطالعات جدید، نقش توالی های نوکلئوتیدی اختصاصی برای اتصال اختصاصی و مهار miR-101، 145- و 509-3p را بیان نموده‌اند که باعث بازگشت میزان پروتئین CFTR به حد طبیعی می شود (۵۰-۴۷). استفاده از miR-16، می‌تواند با کاهش سطح پروتئین جاپرون Heat shock protein 90 (HSP90) باعث احیای عملکرد CFTR حاوی جهش p.Phe508del شود (۵۱).

در مجموع، این مطالعات پیشنهاد می‌کنند که درمان‌های بر پایه‌ی miRNA که باعث افزایش بیان CFTR می‌شوند، می‌توانند گزینه‌ی بسیار مناسبی برای تنظیم میزان CFTR در آزمایش‌های بالینی بر روی بیماران CF باشند.

علاوه بر کانال یونی CFTR، کانال یون کلرید آنوکتامین ۱ (Anoctamin 1 یا ANO1) فعال شده به وسیله‌ی کلسیم نیز در بیماران CF دارای کاهش بیان و با وخامت بیماری در ارتباط است (۵۲). گزارش شده است miR-9 با هدف گیری 3`UTR ژن ANO1 و کاهش بیان آن باعث تنظیم فعالیت کلرید می‌شود. این ارتباط، در سلول های برونشی بیماران CF مشهود است و در ادامه، مهار miR-9 باعث احیای وضعیت مخاط در موش‌ها شده است (۵۳). این موارد، بار دیگر درمان بر پایه‌ی miRNA را گزینه‌ی مناسبی برای تحقیقات آینده‌ی بیماری CF، معرفی می‌نماید.

پاسخ به پروتئین تا نخورده: جهش هایی در ژن CFTR باعث تا خوردن اشتباه پروتئین و تجمع آن در شبکه ی اندوپلاسمی و به دنبال آن استرس بر شبکه‌ی اندوپلاسمی می‌شوند که این موضوع، منجر به تحریک شبکه‌ی پیام‌رسانی پاسخ به پروتئین تا نخورده (Unfolded protein response یا UPR) می‌شود و در بیماری CF دارای اهمیت می‌باشد. یک عامل رونویسی به نام Activating transcription factor 6 (ATF6) در شبکه‌ی آندوپلاسمی وجود دارد و به عنوان بخشی از UPR عمل می کند. کاهش سطح ATF6 در نمونه‌های برونشی بیماران CF مشهود بوده است و miR-221 که ATF6 را هدف می‌گیرد، در این بیماران دچار افزایش می‌شود (۵۴).

miRNA به عنوان نشانگر زیستی سیستیک فیبروزیس

یک مشکل پزشکی در بیماری CF، عدم وجود یک نشانگر زیستی اختصاصی برای تشخیص پیشرفت بیماری ریوی می‌باشد. روش های بررسی التهاب و عملکرد سلولی به صورت تهاجمی هستند و نمی توانند به عنوان آزمایش بالینی استفاده شوند. در این زمینه، اپی ژنتیک و به خصوص miRNAها به عنوان یکی از مکانیسم هایی که بیان ژن را تنظیم می‌کنند، می‌توانند گزینه‌ی مناسبی برای توسعه‌ی نشانگر زیستی برای تشخیص CF باشند. miRNAها، نسبت به تخریب مقاوم هستند و به همین دلیل، نشانگرهای زیستی ایده‌آلی برای تشخیص محسوب می‌شوند. با وجود میزان بالای ریبونوکلئازها در خون، miRNAها در پلاسما و سرم بسیار پایدار هستند. اندازه گیری miRNA، گزینه ی مناسب غیر تهاجمی برای تشخیص است و به غیر از خون محیطی در مایعات دیگر مانند ادرار، بزاق و خلط یافت می‌شود (۵۵). در خون محیطی انسان، miRNA علاوه بر سرم و پلاسما در قسمت سلول ها نیز یافت می‌شود. بنابراین، به وسیله‌ی یک تکنیک ساده و مولکولی نظیر Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) قابل تشخیص است و می‌واند باعث تشخیص مراحل مختلف بیماری شود. به ویژه، در زمینه‌ی سرطان از miRNAها برای تشخیص و پیش‌آگهی بیماری استفاده می شود (۵۶). برای نمونه، سطح پایین let-7 به صورت معنی‌داری با بقای کمتر بیماران که جراحی سرطان ریه (Non-small-cell lung carcinoma یا NSCLC) انجام می‌دهند، همراه است و بر ضرورت یک روش بررسی پیش‌آگهی قابل اعتماد تأکید دارد (۵۷). از miRNAها در تشخیص پاسخ به دارو در سرطان ریه نیز می‌توان استفاده نمود (۵۸). به احتمال زیاد، در آینده‌ی نزدیک، مسیرهایی که miRNAها در فرایندهای مولکولی آن نقش دارند، شناسایی می‌شود و با این که مطالعه‌ی مشخصی نقش miRNAها را به عنوان نشانگر زیستی برای بیماری CF نشان نداده است، گسترش مطالعه‌ی پروفایل RNA و miRNA، می‌تواند گزینه‌های مناسبی را در این مسیر معرفی نماید (جدول ۱).

جدول ۱. MicroRNA (miRNA)هایی با مکانیسم اثرگذاری شناسایی شده در سیستیک فیبروزیس

میکروRNA	کاهش/افزایش بیان	ژن هدف	طریقه‌ی عملکرد
miR-126	کاهش	TOM1	مسیرهای TLR2، TLR4 و IL-1R1
miR-155	افزایش	SHIP1 RPTOR	مسیر PI3k/Akt فیبروز ریوی
miR-93	کاهش	IL-8	التهاب
miR-17	کاهش	IL-8 ATG7, ATG16L1	التهاب اتوفاژی
miR-199a-5p	افزایش	CAV1	پیام‌رسانی PI3K/Akt و TLR4
miR-145	افزایش	SMAD3 CFTR	مسیر TGF-β رسانایی یونی
miR-224-5p	افزایش	SMAD4	مسیر TGF-β
miR-31	کاهش	IRF-1	فعالیت پروتئازی
miR-181b	افزایش	ALX/FPR2	فاگوسیتوز
miR-494 miR-223	افزایش	CFTR	رسانایی یونی
miR-509-3p	افزایش	CFTR	رسانایی یونی
miR-9	افزایش	ANO1	رسانایی یونی
miR-221	افزایش	ATF6	پاسخ به پروتئین تا نخورده

miRNA: Micro RNA; TLR2: Toll-like receptor 2; IL1-R1: Interleukin 1 receptor type I; PI3K: Phosphatidylinositol 3-kinase; TGF-β: Transforming growth factor beta; SHIP1: Src homology-2 domain-containing inositol 5-phosphatase 1; RPTOR: Regulatory-associated protein of mTOR, complex 1; IL-8: Interleukin-8; ATG7: Autophagy related 7; ATG16 L1: Autophagy related 16 like 1; CAV1: Caveolin 1; SMAD3: Mothers against decapentaplegic homolog 3; CFTR: Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator; ANO1: Anoctamin 1; ATF6: Activating transcription factor 6; IRF1: Interferon regulatory factor-1; ALX: Lipoxin A_4; FPR2: Formyl-peptide receptor type 2

miRNA در درمان سیستیک فیبروزیس

این موضوع مشخص است که بیان نابه‌جای miRNA در بیماری‌های بسیاری نظیر سرطان ریه رخ می‌دهد. بنابراین، تنظیم کننده‌های بیان miRNAها می توانند در بیماری ریوی نقش درمانی داشته باشند (۵۹). دو مانع اصلی در این مسیر وجود دارد؛ اول این که برای کاهش عوارض جانبی باید هدف مناسب شناسایی شود که این مستلزم شناسایی دقیق مکانیسم بیماری‌زایی می‌باشد و دوم این که مناسب‌ترین سلول جهت درمان انتخاب شود. اولین تلاش‌ها در این زمینه، با تمرکز بر درمان با مولکول‌های آنتی‌سنس مانند ریبوزیم، آپتامر و siRNA صورت گرفته است. بیشترین دستاوردها در این زمینه، از تخریب mRNA به واسطه‌ی رشته‌ی الیگونوکلئوتیدی مکمل استفاده می‌نمایند (۶۰). در زمینه‌ی بیماری CF برای سال‌ها تلاش شد تا نسخه‌ی سالم توالی کد کننده‌ی CFTR به سلول وارد شود، اما نتایج موفقی به دست نیامده است (۶۱). به دلایل زیادی از جمله اندازه‌ی کوچک‌تر، آنتی‌ژنیسیته‌ی کمتر و انتقال آسان‌تر به سلول و استفاده از miRNAها روش مناسب‌تری جهت اصلاح ژنی می‌باشد (۶۲). در بیماری CF، هدف ایده‌آل ژن CFTR می‌باشد و اثرات اصلاحی باید بر روی تمام گونه‌های جهش یافته‌ی CFTR عمل کنند (۶۲).

نشان داده شده است که اصلاح ۱۰ درصد از سلول های فرد بیمار، می تواند منجر به اصلاح رسانایی یون‌های کلرید و سدیم و همچنین، ترشح IL-8 شود. از همین رو، برای درمان بیماران نیازی به اصلاح همه‌ی سلول‌ها نمی‌باشد که در این صورت، آن را امری غیر ممکن می‌ساخت (۶۳). علاوه بر این، هدف گرفتن کانال‌های دیگر کلرید مانند ANO1، می تواند عملکرد کانال کلرید CFTR را جبران کند (۵۲). از آن جایی که یک miRNA چندین هدف دارد، مهار آن می تواند باعث تقویت بیان گروهی از پروتئین ها شود که این موضوع، باعث افزایش اثرات جانبی می گردد. بنابراین، استفاده از رشته‌ای الیگونوکلئوتیدی برای اتصال به ناحیه‌ای از mRNA که به miRNA متصل می‌شود و می‌تواند از دسترسی miRNA به mRNA جلوگیری کند نیز گزینه‌ی مناسبی به حساب می‌آید.

مهار جایگاه اتصال miRNA روی 3`UTR از mRNA، می تواند یک گزینه‌ی مناسب برای درمان CF باشد و می توان برای کاهش اثرات جانبی، دارو را به صورت تنفسی برای بیمار تجویز

نمود. مطالعات کمی در مورد نقش miRNAها در پاسخ به داروها انجام شده است، اما به نظر می‌رسد مطالعات بیشتر در آینده، می‌تواند درمان بیماران CF را بهبود ببخشد. در حال حاضر، درمان های کنونی جهش‌های خاصی را هدف قرار می‌دهند و با این که miRNAهای زیادی برای هدف‌گیری به CFTR شناسایی شده‌اند، مطالعات بیشتری برای شناسایی ترکیبی ایده آل از miRNAها که اثرات جانبی کمتر و عملکرد مناسب تری داشته باشد، مورد نیاز است. بنابراین، درمان با miRNA یک حیطه ی تحقیقاتی امیدوارکننده برای CF می‌باشد و در آینده، می‌تواند با انجام تحقیقات بیشتر وشناخت بهتر RNAهای غیر کد کننده، به خصوص miRNAها، نقش ویژه‌ای در درمان و تشخیص این بیماران داشته باشد.

در دهه ی گذشته، تعداد مطالعات قابل توجهی بر روی نقش و عملکرد miRNAها بر روی سیستیک فیبروزیس انجام شده است. در حال حاضر، هیچ گونه استفاده‌ای از پروفایل بیانی یا سطح بیان RNAهای غیر کد کننده در درمان یا تشخیص بالینی CF استفاده نمی‌شود، اما مطالعات زیادی miRNAها را به عنوان نشانگرهای بالقوه برای این بیماری بیان می کنند. برای مثال، بیان miRNAها در خون، می‌تواند مرحله‌ی بیماری ریوی مربوط به CF را تعیین و به تکمیل روش‌های تشخیص بیماری کمک کند (۶۴). همچنین، تحقیقات، تغییرات بیان miRNA را در بیماران مقاوم به گلوکز و ارتباط آن با بیماری دیابت مرتبط با CF را به اثبات رسانده است (۶۵).

تشکر و قدردانی

بدین وسیله، از سرکار خانم دکتر زهرا اسلامی که مساعدت فراوانی در انجام پژوهش حاضر نمودند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Mirtajani SB, Farnia P, Hassanzad M, Ghanavi J, Farnia P, Velayati AA. Geographical distribution of cystic fibrosis; the past 70 years of data analyzis. Biomed Biotechnol Res J 2017; 1(2): 105-12.
2. Sonneville F, Ruffin M, Guillot L, Rousselet N, Le RP, Corvol H, et al. New insights about miRNAs in cystic fibrosis. Am J Pathol 2015; 185(4): 897-908.
3. Hassanzad M, Farnia P, Ghanavi J, Parvini F, Saif S, Velayati AA. TNFalpha -857C/T and TNFR2 +587 T/G polymorphisms are associated with cystic fibrosis in Iranian patients. Eur J Med Genet 2018 . [Epub ahead of print].
4. Hassanzad, M., Farnia, P., Samadani, A., Sayedi, S., Velayati, A. Bone mineral density and cystic fibrosis: A review. Int J Pediatr, 2019; 7(7): 9701-10.
5. Zemanick ET, Sagel SD, Harris JK. The airway microbiome in cystic fibrosis and implications for treatment. Curr Opin Pediatr 2011; 23(3): 319-24.
6. Cohen-Cymberknoh M, Kerem E, Ferkol T, Elizur A. Airway inflammation in cystic fibrosis: molecular mechanisms and clinical implications. Thorax 2013; 68(12): 1157-62.
7. Rowe SM, Clancy JP. Advances in cystic fibrosis therapies. Curr Opin Pediatr 2006; 18(6): 604-13.
8. Sherrard LJ, Tunney MM, Elborn JS. Antimicrobial resistance in the respiratory microbiota of people with cystic fibrosis. Lancet 2014; 384(9944): 703-13.
9. Hoffman LR, Ramsey BW. Cystic fibrosis therapeutics: The road ahead. Chest 2013; 143(1): 207-13.
10. Hodges CA, Conlon RA. Delivering on the promise of gene editing for cystic fibrosis. Genes Dis 2019; 6(2): 97-108.
11. Volkova N, Moy K, Evans J, Campbell D, Tian S, Simard C, et al. Disease progression in patients with cystic fibrosis treated with ivacaftor: Data from national US and UK registries. J Cyst Fibros 2019. [Epub ahead of print].
12. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome. Science 2001; 291(5507): 1304-51.
13. Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature 2001; 409(6822): 860-921.
14. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. Nature 2004; 431(7011): 931-45.
15. Harrow J, Frankish A, Gonzalez JM, Tapanari E, Diekhans M, Kokocinski F, et al. GENCODE: The reference human genome annotation for The ENCODE Project. Genome Res 2012; 22(9): 1760-74.
16. Bahrambeigi V, Rafiee L, Haghjooy Javanmard S, Salehi R, Tajedini MH, Daraei A. Comparison of miR-211 expression in murine melanoma cell line and murine melanoma tumor by real-time polymerase chain reaction. J Isfahan Med Sch 2012; 30(27): 1522-8. [In Persian].
17. Ehtesham N, Sharifi M, Khorvash F, Kheirollahi M. The effect of beta interferon on the expression of miR-145 in patients with multiple sclerosis. J Isfahan Med Sch 2016; 34(396): 1013-8. [In Persian].
18. Ehtesham N, Modi M, Kheirollahi M. miRNA, biogenesis and mechanisms of regulations. J Isfahan Med Sch 2014; 32(296): 1259-68. [In Persian].
19. Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? Nat Rev Genet 2008; 9(2): 102-14.
20. Brest P, Lapaquette P, Souidi M, Lebrigand K, Cesaro A, Vouret-Craviari V, et al. A synonymous variant in IRGM alters a binding site for miR-196 and causes deregulation of IRGM-dependent xenophagy in Crohn's disease. Nat Genet 2011; 43(3): 242-5.
21. Dweep H, Sticht C, Gretz N. In-Silico Algorithms for the Screening of Possible microRNA Binding Sites and Their Interactions. Curr Genomics 2013; 14(2): 127-36.

22. Peterson SM, Thompson JA, Ufkin ML, Sathyanarayana P, Liaw L, Congdon CB. Common features of microRNA target prediction tools. Front Genet 2014; 5: 23.
23. Bardin P, Sonneville F, Corvol H, Tabary O. Emerging microRNA Therapeutic Approaches for Cystic Fibrosis. Front Pharmacol 2018; 9: 1113.
24. Oglesby IK, Bray IM, Chotirmall SH, Stallings RL, O'Neill SJ, McElvaney NG, et al. miR-126 is downregulated in cystic fibrosis airway epithelial cells and regulates TOM1 expression. J Immunol 2010; 184(4): 1702-9.
25. Fesen K, Silveyra P, Fuentes N, Nicoleau M, Rivera L, Kitch D, et al. The role of microRNAs in chronic pseudomonas lung infection in Cystic fibrosis. Respir Med 2019; 151: 133-8.
26. Bhattacharyya S, Balakathiresan NS, Dalgard C, Gutti U, Armistead D, Jozwik C, et al. Elevated miR-155 promotes inflammation in cystic fibrosis by driving hyperexpression of interleukin-8. J Biol Chem 2011; 286(13): 11604-15.
27. Bhattacharyya S, Kumar P, Tsuchiya M, Bhattacharyya A, Biswas R. Regulation of miR-155 biogenesis in cystic fibrosis lung epithelial cells: Antagonistic role of two mRNA-destabilizing proteins, KSRP and TTP. Biochem Biophys Res Commun 2013; 433(4): 484-8.
28. Fabbri E, Borgatti M, Montagner G, Bianchi N, Finotti A, Lampronti I, et al. Expression of microRNA-93 and Interleukin-8 during Pseudomonas aeruginosa-mediated induction of proinflammatory responses. Am J Respir Cell Mol Biol 2014; 50(6): 1144-55.
29. Oglesby IK, Vencken SF, Agrawal R, Gaughan K, Molloy K, Higgins G, et al. miR-17 overexpression in cystic fibrosis airway epithelial cells decreases interleukin-8 production. Eur Respir J 2015; 46(5): 1350-60.
30. Wat D. Cystic Fibrosis in the Light of New Research. London, UK: IntechOpen; 2015. p. 233.
31. Megiorni F, Cialfi S, Cimino G, De Biase RV, Dominici C, Quattrucci S, et al. Elevated levels of miR-145 correlate with SMAD3 down-regulation in cystic fibrosis patients. J Cyst Fibros 2013; 12(6): 797-802.
32. McKiernan PJ, Molloy KP, Cryan SA, McElvaney NG, Greene CM. X Chromosome-encoded MicroRNAs Are Functionally Increased in Cystic Fibrosis Monocytes. Am J Respir Crit Care Med 2018; 197(5): 668-70.
33. Weldon S, McNally P, McAuley DF, Oglesby IK, Wohlford-Lenane CL, Bartlett JA, et al. miR-31 dysregulation in cystic fibrosis airways contributes to increased pulmonary cathepsin S production. Am J Respir Crit Care Med 2014; 190(2): 165-74.
34. Genz B, Coleman MA, Irvine KM, Kutasovic JR, Miranda M, Gratte FD, et al. Overexpression of miRNA-25-3p inhibits Notch1 signaling and TGF-beta-induced collagen expression in hepatic stellate cells. Sci Rep 2019; 9(1): 8541.
35. Pierdomenico AM, Patruno S, Codagnone M, Simiele F, Mari VC, Plebani R, et al. microRNA-181b is increased in cystic fibrosis cells and impairs lipoxin A4 receptor-dependent mechanisms of inflammation resolution and antimicrobial defense. Sci Rep 2017; 7(1): 13519.
36. Tazi MF, Dakhlallah DA, Caution K, Gerber MM, Chang SW, Khalil H, et al. Elevated Mirc1/Mir17-92 cluster expression negatively regulates autophagy and CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) function in CF macrophages. Autophagy 2016; 12(11): 2026-37.
37. Krause K, Kopp BT, Tazi MF, Caution K, Hamilton K, Badr A, et al. The expression of Mirc1/Mir17-92 cluster in sputum samples correlates with pulmonary exacerbations in cystic fibrosis patients. J Cyst Fibros 2018; 17(4): 454-61.
38. Pier GB. CFTR mutations and host susceptibility to Pseudomonas aeruginosa lung infection. Curr Opin Microbiol 2002; 5(1): 81-6.
39. Tsuchiya M, Kalurupalle S, Kumar P, Ghoshal S, Zhang Y, Lehrmann E, et al. RPTOR, a novel target of miR-155, elicits a fibrotic phenotype of cystic fibrosis lung epithelium by upregulating CTGF. RNA Biol 2016; 13(9): 837-47.
40. Gillen AE, Gosalia N, Leir SH, Harris A. MicroRNA regulation of expression of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. Biochem J 2011; 438(1): 25-32.
41. Ramachandran S, Karp PH, Osterhaus SR, Jiang P, Wohlford-Lenane C, Lennox KA, et al. Post-transcriptional regulation of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator expression and function by microRNAs. Am J Respir Cell Mol Biol 2013; 49(4): 544-51.
42. Megiorni F, Cialfi S, Dominici C, Quattrucci S, Pizzuti A. Synergistic post-transcriptional regulation of the Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR) by miR-101 and miR-494 specific binding. PLoS One 2011; 6(10): e26601.
43. Jundi K, Greene CM. Transcription of interleukin-8: How altered regulation can affect cystic fibrosis lung disease. Biomolecules 2015; 5(3): 1386-98.
44. Amato F, Seia M, Giordano S, Elce A, Zarrilli F, Castaldo G, et al. Gene mutation in microRNA target sites of CFTR gene: a novel pathogenetic mechanism in cystic fibrosis? PLoS One 2013; 8(3): e60448.
45. Amato F, Tomaiuolo R, Nici F, Borbone N, Elce A, Catalanotti B, et al. Exploitation of a very small peptide nucleic acid as a new inhibitor of miR-509-3p involved in the regulation of cystic fibrosis disease-gene expression. Biomed Res Int 2014; 2014: 610718.
46. Ramachandran S, Karp PH, Jiang P, Ostedgaard LS, Walz AE, Fisher JT, et al. A microRNA network regulates expression and biosynthesis of wild-type and DeltaF508 mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. Proc Natl Acad Sci USA 2012; 109(33): 13362-7.
47. Viart V, Bergougnoux A, Bonini J, Varilh J, Chiron R, Tabary O, et al. Transcription factors and miRNAs that regulate fetal to adult CFTR expression change are new targets for cystic fibrosis. Eur Respir J 2015; 45(1): 116-28.
48. Fabbri E, Tamanini A, Jakova T, Gasparello J, Manicardi A, Corradini R, et al. A peptide nucleic

acid against MicroRNA miR-145-5p Enhances the expression of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) in Calu-3 cells. Molecules 2017; 23(1).
49. Lutful KF, Ambalavanan N, Liu G, Li P, Solomon GM, Lal CV, et al. MicroRNA-145 antagonism reverses TGF-beta inhibition of F508del CFTR correction in airway epithelia. Am J Respir Crit Care Med 2018; 197(5): 632-43.
50. Zarrilli F, Amato F, Morgillo CM, Pinto B, Santarpia G, Borbone N, et al. Peptide nucleic acids as miRNA target protectors for the treatment of cystic fibrosis. Molecules 2017; 22(7): E1144.
51. Kumar P, Bhattacharyya S, Peters KW, Glover ML, Sen A, Cox RT, et al. miR-16 rescues F508del-CFTR function in native cystic fibrosis epithelial cells. Gene Ther 2015; 22(11): 908-16.
52. Ruffin M, Voland M, Marie S, Bonora M, Blanchard E, Blouquit-Laye S, et al. Anoctamin 1 dysregulation alters bronchial epithelial repair in cystic fibrosis. Biochim Biophys Acta 2013; 1832(12): 2340-51.
53. Sonneville F, Ruffin M, Coraux C, Rousselet N, Le RP, Blouquit-Laye S, et al. MicroRNA-9 downregulates the ANO1 chloride channel and contributes to cystic fibrosis lung pathology. Nat Commun 2017; 8(1): 710.
54. Oglesby IK, Agrawal R, Mall MA, McElvaney NG, Greene CM. miRNA-221 is elevated in cystic fibrosis airway epithelial cells and regulates expression of ATF6. Mol Cell Pediatr 2015; 2(1): 1.
55. Jaswani P, Prakash S, Dhar A, Sharma RK, Prasad N, Agrawal S. MicroRNAs involvement in renal pathophysiology: A bird's eye view. Indian J Nephrol 2017; 27(5): 337-41.
56. Sanfiorenzo C, Ilie MI, Belaid A, Barlesi F, Mouroux J, Marquette CH, et al. Two panels of plasma microRNAs as non-invasive biomarkers for prediction of recurrence in resectable NSCLC. PLoS One 2013; 8(1): e54596.
57. Keller A, Leidinger P, Bauer A, Elsharawy A, Haas J, Backes C, et al. Toward the blood-borne miRNome of human diseases. Nat Methods 2011; 8(10): 841-3.
58. Ranade AR, Cherba D, Sridhar S, Richardson P, Webb C, Paripati A, et al. MicroRNA 92a-2*: A biomarker predictive for chemoresistance and prognostic for survival in patients with small cell lung cancer. J Thorac Oncol 2010; 5(8): 1273-8.
59. Bondanese VP, Francisco-Garcia A, Bedke N, Davies DE, Sanchez-Elsner T. Identification of host miRNAs that may limit human rhinovirus replication. World J Biol Chem 2014; 5(4): 437-56.
60. Breving K, Esquela-Kerscher A. The complexities of microRNA regulation: Mirandering around the rules. Int J Biochem Cell Biol 2010; 42(8): 1316-29.
61. Davies JC, Alton EW. Gene therapy for cystic fibrosis. Proc Am Thorac Soc 2010; 7(6): 408-14.
62. Markou A, Liang Y, Lianidou E. Prognostic, therapeutic and diagnostic potential of microRNAs in non-small cell lung cancer. Clin Chem Lab Med 2011; 49(10): 1591-603.
63. Dannhoffer L, Blouquit-Laye S, Regnier A, Chinet T. Functional properties of mixed cystic fibrosis and normal bronchial epithelial cell cultures. Am J Respir Cell Mol Biol 2009; 40(6): 717-23.
64. Cook NL, Pereira TN, Lewindon PJ, Shepherd RW, Ramm GA. Circulating microRNAs as noninvasive diagnostic biomarkers of liver disease in children with cystic fibrosis. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2015; 60(2): 247-54.
65. Montanini L, Smerieri A, Gulli M, Cirillo F, Pisi G, Sartori C, et al. miR-146a, miR-155, miR-370, and miR-708 Are CFTR-dependent, predicted FOXO1 regulators and change at onset of CFRDs. J Clin Endocrinol Metab 2016; 101(12): 4955-63.

DOI: *10.22122/jims.v37i532.12097* *Published by Vesnu Publications*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 37, No. 532, 4th Week, August 2019**

Received: 10.06.2019 Accepted: 30.07.2019 Published: 13.08.2019

Investigation of miRNA Functionality in Cystic Fibrosis

Maryam Hassanzad[1], Poopak Farnia[2], Jalaledin Ghanavi[3], Ali Akbar Velayati[4]

Review Article

Abstract

Cystic fibrosis (CF) is an autosomal recessive disorder caused by mutations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene. The irregularities in miRNA expression have been reported in many pulmonary diseases, including CF. An increase or a decrease in miRNA levels has important influences on innate immune responses in respiratory tract of the patients with CF, such as impaired function of the inflammatory responses caused by neutrophils and macrophages, as well as chronic inflammation, which can lead to degradation and fibrosis of the lung tissue in these patients. The presence of a specific biomarker for diagnosis of pulmonary disease, inflammation, and cellular function can be a good candidate for diagnosis of CF. For example, sputum miRNAs can be ideal for checking pulmonary function. Although miRNA is not currently used for treatment or clinical diagnosis of CF, many studies have suggested miRNAs as potential biomarkers for the disease. miRNA-based treatments, that enhance the expression of CFTR, can be a very suitable option for adjusting CFTR levels in clinical trials on patients with CF. In this review article, after describing different miRNA groups, and its mechanism of action for regulation of protein expression, various studies related to miRNA in CF were investigated. In addition, the possibility to apply miRNA as a biomarker in CF, and its role in different miRNA-based therapeutic approaches were discussed.

Keywords: Cystic fibrosis, Lung, miRNA

Citation: Hassanzad M, Farnia P, Ghanavi J, Velayati AA. **Investigation of miRNA Functionality in Cystic Fibrosis.** J Isfahan Med Sch 2019; 37(532): 736-46.

1- Associate Professor, Pediatric Respiratory Diseases Research Center (PRDRC), National Research Institute of Tuberculosis and Lung Diseases (NRITLD), Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2- Assistant Professor, Mycobacteriology Research Center (MRC), National Research Institute of Tuberculosis and Lung Diseases (NRITLD) AND Department of Biotechnology, School of Advanced Technologies in Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3- Assistant Professor, Mycobacteriology Research Center (MRC), National Research Institute of Tuberculosis and Lung Diseases (NRITLD), Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4- Professor, Mycobacteriology Research Center (MRC), National Research Institute of Tuberculosis and Lung Diseases (NRITLD), Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Corresponding Author: Poopak Farnia, Email: p.farnia@sbmu.ac.ir