DOI: 10.48305/jims.v44.i875.1543

مجله دانشکده پزشکی اصفهان | سال چهل و چهارم/ شماره‌ی ۸۷۵/هفته‌ی دوم مهر ۱۴۰۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۰۹ | تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۰۳ | تاریخ چاپ: ۱۴۰۵/۰۷/۱۵

تحلیل in silico پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در میکروRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی Th1/Th2 در بیماری اسیزوفرنی

پگاه موسوی[۱]، ناهید داودیان[۲]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: تغییرات ژنتیکی در miRNAها و جایگاه‌های اتصال آنها ممکن است با تغییر تعاملات miRNAها و اهداف، منجر به اختلال در روند طبیعی رشد مغز شده و خطر ابتلا به بیماری اسکیزوفرنی را افزایش دهد. در مطالعه‌ی حاضر، از ابزارهای in silico برای پیش‌بینی اثرات پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) بر پایداری، ساختار و اتصال به هدف در miRNAهای مرتبط با تمایز سلول‌های Th1/Th2 در اسکیزوفرنی استفاده شد.

روش‌ها: miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 در اسکیزوفرنیا با استفاده از پایگاه‌های داده miRTarBase و miRWalk استخراج شدند. برای شناسایی و پیش‌بینی اثرات عملکردی پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی واقع در نواحی پیش‌ساز و بالغ miRNAهای کاندید، از پایگاه‌های Ensembl، miRNASNP-v4 و SNP2TFBS استفاده گردید. در نهایت، آنالیز غنی‌سازی مسیرهای بیولوژیکی با کمک پایگاه داده NcPath انجام شد.

یافته‌ها: چندین پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی در miRNAهای کاندید شامل hsa-miR-107، hsa-miR-1827، hsa-miR-206، hsa-miR-320e، hsa-miR-4429 و hsa-miR-4467 در miRNASNP-v4 شناسایی شد. بیشترین تعداد پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در نواحی پیش‌ساز و miRNA بالغ در hsa-miR-320e، hsa-miR-4467 و hsa-miR-936 بود. از طرف دیگر، پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی rs1350983737 و rs1043872367 در hsa-mir-4467 به ترتیب قوی‌ترین و ضعیف‌ترین تأثیرات را بر تولید miRNA بالغ نشان دادند. miR-4467 و miR-320e بیشترین پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی ناحیه‌ی "seed" را دارند که به طور بالقوه اتصال miRNA به ناحیه‌ی ۳′UTR mRNAهای هدف را مختل می‌کنند. چندین پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی نیز در نواحی پروموتر miRNAها یافت شدند که می‌تواند منجر به اختلال در اتصال فاکتور رونویسی گردد.

نتیجه‌گیری: پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی می‌توانند بر بیان و عملکردهای تنظیمی miRNAها تأثیر بگذارند. بررسی تغییرات ژنتیکی در miRNAهای مرتبط با اسکیزوفرنی، اهداف مهمی برای تحقیقات بیشتر جهت روشن شدن مکانیسم‌های مولکولی این بیماری هستند.

واژگان کلیدی: بیوانفورماتیک؛ SNPs؛ بیماری‌های روانپریشی

ارجاع: موسوی پگاه، داودیان ناهید. **تحلیل in silico پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در میکروRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی Th1/Th2 در بیماری اسیزوفرنی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۵؛ ۴۴ (۸۷۵): ۱۵۴۳- ۱۵۶۱.

مقدمه

اسکیزوفرنی، یک بیماری روانی شدید و مزمن با علائمی شامل توهم، هذیان، افکار و گفتار آشفته، بی‌تفاوتی و کاهش انگیزه اجتماعی است. با این حال، نوع علائم و شدت آن در بیماران بسیار متفاوت است (۲). اتیولوژی این بیماری تعامل پیچیده‌ای از عوامل ژنتیکی، محیطی و نوروبیولوژیکی است. عوامل ژنتیکی به طور قابل توجهی در شانس ابتلای فرد به این بیماری نقش دارد، بطوریکه تاکنون صدها گونه ژنی با خطر ابتلا به اسکیزوفرنی مرتبط شده‌اند.

شواهد فزاینده‌ای وجود دارد که نشان می‌دهد، عدم تعادل در سیستم ایمنی و برهمکنش‌های پیچیده آن با سیستم عصبی می‌تواند در پاتوفیزیولوژی بیماری اسکیزوفرنی نقش داشته باشد. سلول‌های ایمنی محیطی نقش مهمی در ارتباطات سیستم ایمنی و مغز ایفا می‌کنند، بطوریکه این سلول‌ها و فاکتورهای ترشحی آنها، طیف گسترده‌ای از فرآیندهای مغزی از جمله یادگیری و حافظه، رفتار اجتماعی و خلق و

۱- استادیار، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران

۲- دانشیار، مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، پژوهشکده سلامت هرمزگان، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: ناهید داودیان: دانشیار، مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، پژوهشکده سلامت هرمزگان، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران

Email: Nahid.Davoodian@hums.c.ir

خو را در شرایط فیزیولوژیکی طبیعی و همچنین پاتولوژیک تحت تأثیر قرار می‌دهند (٤، ٥). بر این اساس، عدم توازن سلول‌های ایمنی به عنوان واسطه‌های اصلی مسئول عدم تعادل سیتوکین‌ها در خون محیطی بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی عنوان شده است.

در همین راستا، تحقیقات نشان داده است که پروفایل سلولی Th1/Th2 که نشان دهنده تعادل بین پاسخ‌های التهابی و ضد التهابی است، ممکن است شاخص کلیدی وضعیت التهاب در بیماری اسکیزوفرنی باشد. بطوریکه اختلال در این تعادل می‌تواند منجر به غلبه یک نوع پاسخ شود که بر شدت و ماهیت فرایند التهاب تاثیر گذاشته و شرایط بالینی و سیر بیماری اسکیزوفرنی را تغییر دهد. تعدادی از این مطالعات، تغییراتی را در پاسخ‌های سلول‌های T نشان داده‌اند که با کاهش فعال‌سازی سلول‌های Th1 و افزایش فعالیت سلول‌های Th2 در بیماران اسکیزوفرنی مشخص می‌شود (٨-١١). این یافته‌ها امکان استفاده از الگوی عدم تعادل Th1/Th2 را به عنوان یک نشانگر زیستی بالقوه برای تشخیص زیرگروهی از بیماران اسکیزوفرنی با پاتوفیزیولوژی مرتبط با سیستم ایمنی و در نتیجه اقدامات درمانی موثر افزایش می‌دهد. با این حال، مطالعات بیشتری برای پشتیبانی از این فرضیه مورد نیاز است.

میکروRNAها (miRNAها) خانواده‌ای از مولکول‌های RNA غیرکدکننده هستند که به شدت در عملکرد سیستم عصبی نقش دارند. این RNAهای کوچک غیر کدکننده ابتدا به اهداف mRNA حاوی توالی‌های مکمل متصل می‌شوند و سپس، سنتز پروتئین از mRNA هدف را مهار و یا تخریب هدف را افزایش می‌دهند. miRNAها ارتباط تنگاتنگی با سیگنالینگ عصبی، انعطاف‌پذیری سیناپسی و فعالیت عصبی دارند. اختلالات در مسیر بیوژنز یک miRNA واحد می‌تواند باعث اختلالات عصبی در انسان و مدل‌های حیوانی شود (١٢). بر همین اساس، شواهد زیادی نشان داده است که اختلال در تنظیم miRNAها ممکن است با مختل کردن مکانیسم‌های رشد و انعطاف‌پذیری عصبی، نقش مهمی در سبب‌شناسی اسکیزوفرنی داشته باشد و در نتیجه منجر به شروع این اختلال شود (١٣).

همانطور که اشاره شد، عدم تعادل در سیستم ایمنی در پاتوفیزیولوژی بیماری اسکیزوفرنی نقش مهمی دارد. مشخص شده است که miRNAها تمایز و عملکرد سلول‌های ایمنی از جمله سلول‌های کمکی T و بیان عوامل التهابی را تنظیم می‌کنند (١٤). بنابراین miRNAها بر پاسخ التهابی سیستم ایمنی در اسکیزوفرنی تأثیرگذار هستند. به طوریکه miR-26a، miRNA تنظیم کننده بیان ژن‌های درگیر در پاسخ ایمنی (١٥)، به عنوان یک بیومارکر بالقوه جهت تشخیص بیماری اسکیزوفرنی در مراحل اولیه بیماری پیشنهاد شده است (١٦). همینطور، الگوهای بیان miRNAهای تنظیمی در لکوسیت‌ها، به عنوان مارکری جهت تشخیص و تمایز افراد با خطر بالای بالینی برای روانپریشی (Clinical high risk for psychosis) که متعاقبا به روانپریشی مبتلا می‌شوند نسبت به افرادی که دچار روانپریشی نمی‌شوند، پیشنهاد شده است (١٧). بنابراین، تغییر در فراوانی miRNAها ممکن است نشان‌دهنده‌ی شیفت سیستم ایمنی در مراحل متفاوت این بیماری باشد که نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد.

پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) در miRNAها می‌توانند منجر به تغییر در ساختمان ثانویه، بیوسنتز و یا اتصال miRNAها به mRNA هدف گردد و در نتیجه بر تنظیم بیان ژن تأثیر گذارد (١٨). برخی مطالعات همبستگی سراسری ژنوم (Genome-wide association studies) GWAS نشان داده‌اند که چندین پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی در miRNAها با افزایش ریسک ابتلا به اسکیزوفرنی مرتبط هستند (١٩). برای مثال، در یک آنالیز GWAS، پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (rs1625579) موجود در ساختمان miR-137، به عنوان یک جایگاه خطر برای ریسک ابتلا به اسکیزوفرنی شناسایی شد (٢٠). بنابراین، مطالعه بیشتر نقش پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در miRNAها در بیماری اسکیزوفرنی ارزشمند خواهد بود.

با توجه به نقش مهم سلول‌های سیستم ایمنی، به ویژه سلول‌های Th1/Th2، در پاتوفیزیولوژی بیماری اسکیزوفرنی، هدف مطالعه‌ی حاضر، تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی موجود در miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنی می‌باشد.

روش‌ها

انتخاب miRNAهایی که در مسیر تمایز سلول‌های Th1/Th2 نقش دارند

miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 از پایگاه داده miRWalk (http://mirwalk.umm.uni-heidelberg.de) با ماژول 3'UTR و score = ٠/٩٥ استخراج شد. نتیجه شامل تعداد miRNA ٢٥١٦ بود. انتخاب miRNAها بر اساس برهمکنش با ژن‌های مسیرهای تمایزی سلول‌های Th1/Th2 بر اساس داده‌های پایگاه داده Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathways (KEGG) با استفاده از ماژول "hsa04658# Th1_and_Th2_cell_diferentiation صورت گرفت.

انتخاب miRNAهایی که در بیماری اسکیزوفرنی نقش دارند

miRNAهای مرتبط با بیماری اسکیزوفرنی از پایگاه داده miRTarBase (https://awi.cuhk.edu.cn/~miRTarBase/miRTarBase_202

5/php/search.php) و با انتخاب گزینه "By Disease" بدست آمد. سپس، جهت یافتن miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 که در بیماری اسکیزوفرنی نقش دارند، از ابزار Venny 2.1 (https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/) استفاده شد (۲۱). این miRNAها بین miRNAهای استخراج شده از پایگاه داده‌های miRWalk و miRTarBase مشترک بودند.

تصویر تعاملات بین miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنی و اهداف اختصاصی آنها

لیست ژن های هدف اختصاصی miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنی از پایگاه داده miRWalk حاصل شد. نرم‌افزار Cytoscape 3.10.3 به همراه افزونه GeneMANIA (https://apps.cytoscape.org/apps/genemania) برای ترسیم تعاملات بین miRNAهای کاندید و ژن های هدف آنها مورد استفاده قرار گرفت.

پیش‌بینی پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی موجود در ژن miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنی

جهت بررسی تأثیر پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی بر فرایند بلوغ و عملکرد miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنی، از پایگاه داده miRNASNP-v4 (http://gong_lab.hzau.edu.cn/miRNASNP/) استفاده شد (۲۲). این پایگاه داده، منبع جامعی در مورد SNPهای مرتبط با miRNA، از جمله اثرات آنها بر کسب و از دست دادن هدف (Target gain and loss)، و ارتباط آنها با بیماری‌ها، داروها و پاسخ‌های ایمنی ارائه می‌دهد. همینطور اطلاعات مربوط به عملکرد شناخته شده این miRNAها از این پایگاه داده استخراج گردید. قابل ذکر است که فراوانی پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی شناسایی‌شده در مطالعه‌ی حاضر در جمعیت‌های متفاوت، در پایگاه داده dbSNP (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/) در قسمت فراوانی "Frequency" عنوان شده است.

پیش‌بینی پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی در ناحیه پروموتور ژن miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنی

جهت ارزیابی تأثیر پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی موجود در ناحیه پروموتور ژن miRNAهای کاندید بر اتصال فاکتورهای رونویسی به این ناحیه تنظیمی، این پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی از پایگاه داده Ensembl استخراج و از طریق پایگاه داده SNP2TFBS (https://epd.expasy.org/snp2tfbs/) مورد ارزیابی قرار گرفت (۲۳). در پایگاه داده SNP2TFBS، جایگاه‌های فرضی اتصال فاکتورهای رونویسی با استفاده از مجموعه ژنوم انسان GrCH37/hg1 (برای آلل wild type) و پروژه ۱۰۰۰ ژنوم (برای آلل جهش یافته با کمترین فراوانی آلل (Minor Allele Frequency) MAF < ۰/۰۰۱) مورد استفاده قرار گرفته است. امتیاز ماتریس وزنی موقعیت (Position Weight Matrix) PWM از (vertebrates) JASPAR CORE 2014 استخراج شده است. امتیاز PWM در SNP2TFBS نشان می‌دهد که یک توالی DNA چقدر با موتیف اتصال یک فاکتور رونویسی مطابقت دارد، و امتیاز بالاتر به معنای اتصال پیش‌بینی‌شده قوی‌تر است. در نتایج حاصل از SNP2TFBS، «امتیاز PWM روی Ref» امتیاز اتصال آلل wild type است، در حالی که «امتیاز PWM روی Alt» امتیاز توالی جهش یافته است. اگر امتیازی به صورت مقداری در پرانتز مانند (>۱۴۸۲) نشان داده شود، به این معنی است که امتیاز PWM پایین‌تر از آستانه پایینی تعیین شده مورد استفاده در تجزیه و تحلیل بوده است.

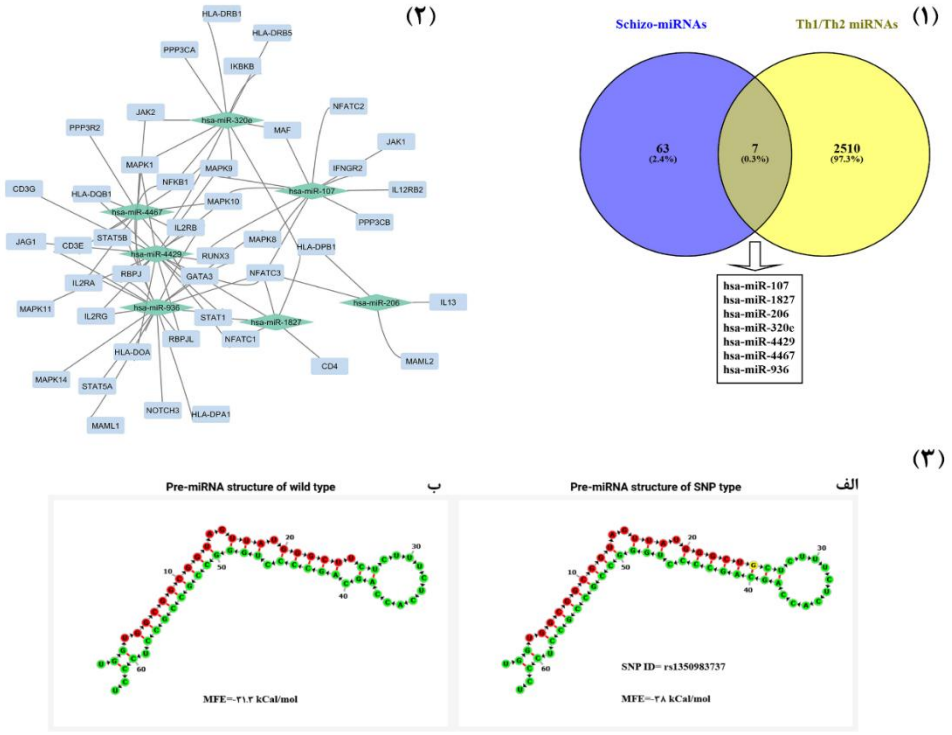
تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط با miRNAهای مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنی

جهت تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط با miRNAهای مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنی از پایگاه داده NcPath (http://ncpath.pianlab.cn/#/Home) استفاده شد. NcPath یک پایگاه داده رایگان و ابزاری جدید جهت مصورسازی و غنی‌سازی مسیرهای پیام‌رسانی RNAهای غیرکد کننده بر پایه اطلاعات استخراج شده از پایگاه داده KEGG در انسان است.

یافته‌ها

لیست و خصوصیات پایه‌ای miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنی

در مطالعه‌ی حاضر، تعداد ۲۵۱۶ miRNA مرتبط با مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 از پایگاه داده miRWalk استخراج شد. همینطور، تعداد ۷۰ miRNA مرتبط با بیماری اسکیزوفرنی از پایگاه داده miRTarBase حاصل شد. جهت یافتن miRNA مرتبط با مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنی، miRNA مشترک بین نتایج حاصل از دو پایگاه miRWalk و miRTarBase با استفاده از ابزار Venny ورژن ۲/۱ بدست آمد. نتیجه شامل هفت miRNA از جمله hsa-miR-107، hsa-miR-1827، hsa-miR-206، hsa-miR-320e، hsa-miR-4429، hsa-miR-4467 و hsa-miR-936 بود (شکل ۱). اطلاعات پایه‌ای در خصوص این miRNAهای کاندید شامل شناسه پیشساز، جایگاه ژنومی، ژن میزبان و خوشه ژنی در جدول ۱ ارائه شده است.



شکل ۱. (۱) اشتراک بین miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 حاصل از پایگاه داده miRWalk و miRNAهای مرتبط با بیماری اسکیزوفرنی حاصل از پایگاه داده miRTarBase با استفاده از ابزار Venny 2.1. (۲) شبکه تعاملات بین miRNAهای کاندید و اهداف آنها با استفاده از نرم‌افزار Cytoscape. لوزی‌های سبز حاوی miRNAها و مستطیل‌های آبی حاوی mRNAهای هدف می‌باشند. (۳) تغییر در ساختمان ثانویه hsa-mir-4467 بر اثر جهش در نوکلئوتید T/G (نوکلئوتید زرد رنگ). الف: ساختمان ثانویه hsa-mir-4467 در حالت جهش یافته. ب: ساختمان ثانویه hsa-mir-4467 در حالت بهینه.

جدول ۱. اطلاعات پایه در مورده miRNA های مرتبط با مسیر تمایزی Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنیا

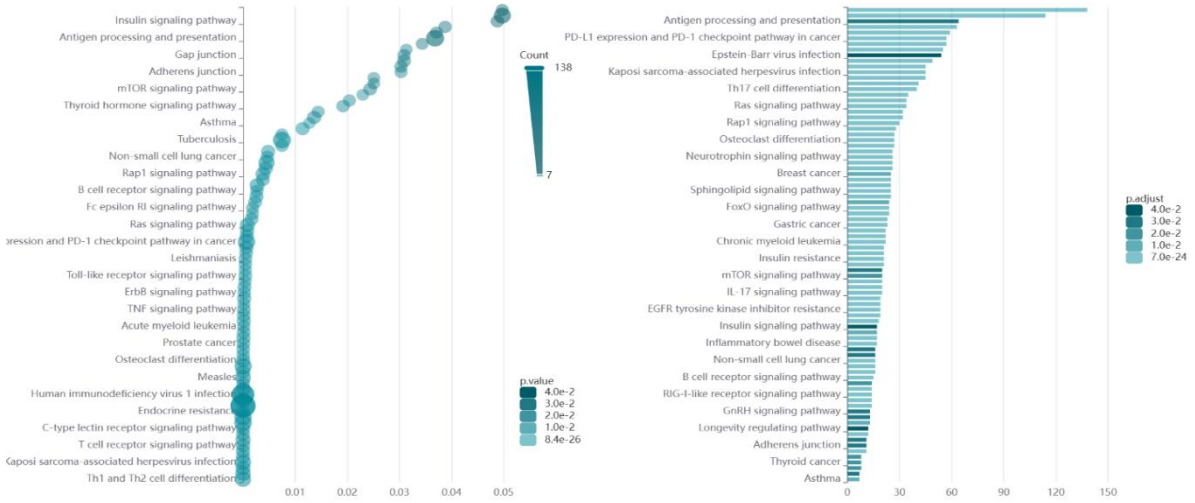
miRNA بالغ	شناسه پیشساز miRNA	جایگاه ژنومی	ژن میزبان	خوشه ژنی (Cluster)
hsa-miR-107	hsa-mir-107	chr10:89592747-89592827[-]	PANK1:Intronic	
hsa-miR-1827	hsa-mir-1827	chr12:100189884-00189949[+]	Intergenic	
hsa-miR-206	hsa-mir-206	chr6:52144349-52144434[+]	Intergenic	5kb:hsa-mir-133b, hsa-mir-206 10kb:hsa-mir-133b, hsa-mir-206
hsa-miR-320e	hsa-mir-320e	chr19:46709282-46709354[-]	PRKD2:Intronic	
hsa-miR-4429	hsa-mir-4429	chr2:11540605-11540677[-]	GREB1:Intronic	
hsa-miR-4467	hsa-mir-4467	chr7:102471469-102471531[+]	LRWD1:Intronic	10kb:hsa-mir-4467, hsa-mir-5090
hsa-miR-936	hsa-mir-936	chr10:104048089-104048186[-]	COL17A1:Exonic	

ترسیم شبکه تعاملی ژن‌های هدف و miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنی

ژن‌های هدف هفت miRNA مرتبط با مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنی از پایگاه داده miRWalk استخراج و در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج حاصل از بررسی عملکرد هفت miRNA کاندید در پایگاه داده miRNASNP-v4 نشان داد که تاکنون عملکرد سه miRNA شامل hsa-miR-107، hsa-miR-206 و hsa-miR-320e شناسایی شده که به طور عمده در چرخه‌ی سلولی و مسیرهای التهابی نقش دارند. همچنین برهمکنش و تعامل بین miRNAهای کاندید و اهداف آنها در نرم افزار Cytoscape 3.10.3 تصویرسازی گردید. شبکه نهایی miRNAهای کاندید و mRNAهای هدف آنها شامل ۵۰ Nodes و ۷۹ Edges می‌باشد (شکل ۲).

بررسی اثر عملکردی پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی موجود در ژن miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنی

در مرحله‌ی بعد، پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی موجود در



شکل ۲. آنالیز غنی‌سازی مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط با miRNAهای مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنی بر پایه داده‌های پایگاه داده NcPath. نمودار سمت چپ، مسیرها را بر اساس P و نمودار سمت راست مسیرها را بر اساس تعداد ژن مشترک نمایش داده است.

جدول ۲. عملکرد و اهداف miRNA های مرتبط با مسیر تمایزی Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنیا

miRNA	هدف	عملکرد
hsa-miR-107	IFNGR2, IL12RB2, JAK1, MAF, MAPK10, MAPK8, MAPK9, NFATC2, NFATC3, PPP3CB, RUNX3	چرخه‌ی سلولی؛ تقسیم سلولی؛ حساسیت شیمیایی سلول‌های تومور؛ ریتم شبانه‌روزی؛ اندوسیتوز؛ گذار اپیتلیال به مزانشیمی؛ پاسخ ایمنی؛ التهاب؛ متابولیسم لیپید؛ انکوMiRNA-ها؛ هموستاز حفره صفاقی (۲۶۴۹۵۳۱۶)؛ تنظیم مسیرATR ؛ سمیت
hsa-miR-1827	CD4, GATA3, HLA-DPB1, NFATC1, NFATC3, STAT1	
hsa-miR-206	HLA-DPB1, IL13, MAML2, NFATC3	چرخه‌ی سلولی؛ مرگ سلولی؛ تمایز سلولی؛ تحرک سلولی؛ تکثیر سلولی؛ ظرفیت جریان کلسترول (Cholesterol Efflux)؛ مسیر سیگنالینگ با واسطه هورمونی؛ التهاب؛ آسیب عضلانی؛ رشد عضلانی؛ تمایز سلول عضله اسکلتی؛ سمیت
hsa-miR-320e	HLA-DPB1, HLA-DRB1, HLA-DRB5, IKBKB, IL2RB, JAK2, MAF, MAPK1, MAPK9, NFKB1, PPP3CA	آنژیوزنز؛ چرخه‌ی سلولی؛ التهاب
hsa-miR-4429	CD3G, GATA3, HLA-DOA, HLA-DQB1, IL2RB, IL2RG, JAG1, MAPK1, MAPK10, MAPK11, MAPK9, NFATC1, NFATC3, RBPJ, RBPJL, RUNX3, STAT1	
hsa-miR-4467	CD3E, GATA3, HLA-DQB1, IL2RA, IL2RB, JAK2, MAPK1, MAPK10, MAPK9, PPP3R2, RBPJ, STAT5B	
hsa-miR-936	CD3E, HLA-DOA, HLA-DPA1, IL2RA, IL2RB, IL2RG, MAML1, MAPK14, MAPK8, NFATC3, NFKB1, NOTCH3, RBPJ, RBPJL, RUNX3, STAT1, STAT5A, STAT5B	

ژن miRNAهای کاندید از طریق پایگاه داده miRNASNP-v4 جستجو شد. همانطور که در جدول ۳ نشان داده شده است، جایگاه دقیق کروموزومی پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی موجود در ژن miRNAهای کاندید در حالت miRNA بالغ، پیشساز miRNA و ناحیه‌ی "seed" ارائه شده است. همچنین در این جدول اثر عملکردی هر یک از پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی بر

پردازش پیشساز miRNA جهت تولید miRNA بالغ به صورت ΔG (آنتالپی منفی) نشان داده شده است. این ΔG حاصل تفریق حداقل میزان انرژی آزاد MFE (Minimal free energy) پیشساز miRNA در حالت‌های بهینه (wild type) و جهش یافته (حاوی پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی) می‌باشد که با سرور RNAfold اندازه‌گیری شده است. ΔG منفی‌تر نشان‌دهنده‌ی تأثیر مثبت بر پایداری ساختمان ثانویه پیشساز miRNA و در نتیجه افزایش بیان miRNA بالغ می‌باشد. هر چند این نتایج می‌بایستی به صورت آزمایشگاهی نیز تأیید گردد.

بیشترین تعداد پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی به ترتیب مربوط به hsa-mir-320e (۵۸ عدد)، hsa-mir-936 (۵۷ عدد) و hsa-mir-4467 (۵۱ عدد) می‌باشد. همانطور که در جدول ۳ نشان داده شده است، منفی‌ترین ΔG مربوط به پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی موجود در ساختمان hsa-mir-4467 (rs1350983737)با مقدار ΔG = – ٦/٧ می‌باشد که می‌تواند منجر به افزایش پایداری ساختمان ثانویه پیشساز miRNA و در نتیجه افزایش بیان miRNA بالغ گردد. در شکل ۱-۳، تغییرات در ساختمان ثانویه hsa-mir-4467 در حالت بهینه و در حالت جهش یافته با SNP= rs1350983737 نشان داده شده است.

جدول ۳. فراوانی، موقعیت کروموزومی، ناحیه و آنتالپی پلی‌مورفیسم های تک نوکلئوتیدی موجود در ساختمان miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنیا

Pre-miRNA	SNP ID	جایگاه کروموزومی	Ref/Alt	ناحیه	ΔG
hsa-mir-107	rs1167510712	chr10:89592747	T/C	pre-miRNA	0.5
hsa-mir-107	rs1367154851	chr10:89592757	G/A	Mature	0.0
hsa-mir-107	rs1424344741	chr10:89592761	G/A	Mature	2.4
hsa-mir-107	rs1169479440	chr10:89592763	C/T	Mature	-0.9
hsa-mir-107	rs769058331	chr10:89592764	C/T	Mature	1.3
hsa-mir-107	rs1844438567	chr10:89592765	T/G	Mature	1.4
hsa-mir-107	rs776766492	chr10:89592767	T/A	Mature	1.3
hsa-mir-107	rs776766492	chr10:89592767	T/C	Mature	0.3
hsa-mir-107	rs748277679	chr10:89592768	A/G	Mature	4.3
hsa-mir-107	rs1844438885	chr10:89592775	T/C	seed	0.8
hsa-mir-107	rs901180005	chr10:89592777	C/T	seed	4.7
hsa-mir-107	rs1589761968	chr10:89592783	C/A	pre-miRNA	1.6
hsa-mir-107	rs1589761968	chr10:89592783	C/T	pre-miRNA	1.6
hsa-mir-107	rs199975460	chr10:89592788	T/C	pre-miRNA	-0.8
hsa-mir-107	rs773518713	chr10:89592790	C/T	pre-miRNA	-0.5
hsa-mir-107	rs965386295	chr10:89592791	C/T	pre-miRNA	-1.0
hsa-mir-107	rs1844439476	chr10:89592794	A/C	pre-miRNA	0.9
hsa-mir-107	rs1844439571	chr10:89592797	G/A	pre-miRNA	0.0
hsa-mir-107	rs1844439670	chr10:89592801	C/T	pre-miRNA	6.5
hsa-mir-107	rs763294702	chr10:89592802	A/G	pre-miRNA	4.0
hsa-mir-107	rs770689594	chr10:89592804	T/C	pre-miRNA	0.8
hsa-mir-107	rs1244915461	chr10:89592810	G/T	pre-miRNA	1.4
hsa-mir-107	rs774027914	chr10:89592811	A/C	pre-miRNA	0.0
hsa-mir-107	rs774027914	chr10:89592811	A/G	pre-miRNA	-3.0
hsa-mir-107	rs774027914	chr10:89592811	A/T	pre-miRNA	0.0
hsa-mir-107	rs759501995	chr10:89592814	C/G	pre-miRNA	4.0
hsa-mir-107	rs759501995	chr10:89592814	C/T	pre-miRNA	4.0
hsa-mir-107	rs773821684	chr10:89592815	T/C	pre-miRNA	0.0
hsa-mir-107	rs1844440397	chr10:89592815	TGAAAGCAGAGA/T	pre-miRNA	7.6
hsa-mir-107	rs745445670	chr10:89592822	A/G	pre-miRNA	2.6
hsa-mir-107	rs377494950	chr10:89592823	G/A	pre-miRNA	0.0

جدول ۳. فراوانی، موقعیت کروموزومی، ناحیه و آنتالپی پلی‌مورفیسم های تک نوکلئوتیدی موجود در ساختمان miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنیا (ادامه)

Pre-miRNA	SNP ID	جایگاه کروموزومی	Ref/Alt	ناحیه	ΔG
hsa-mir-107	rs1311373780	chr10:89592825	G/C	pre-miRNA	1.0
hsa-mir-107	rs1844440841	chr10:89592827	G/A	pre-miRNA	-1.0
hsa-mir-1827	rs1400477019	chr12:100189885	C/T	pre-miRNA	3.0
hsa-mir-1827	rs2096101721	chr12:100189888	C/T	pre-miRNA	-2.0
hsa-mir-1827	rs2096101723	chr12:100189891	C/G	pre-miRNA	-0.8
hsa-mir-1827	rs1375708453	chr12:100189893	C/T	pre-miRNA	0.5
hsa-mir-1827	rs2153899309	chr12:100189901	A/G	pre-miRNA	0.7
hsa-mir-1827	rs1592824001	chr12:100189909	G/A	pre-miRNA	0.8
hsa-mir-1827	rs2096101730	chr12:100189914	G/A	pre-miRNA	2.3
hsa-mir-1827	rs768605467	chr12:100189919	G/A	pre-miRNA	0.0
hsa-mir-1827	rs1335477294	chr12:100189920	C/A	pre-miRNA	0.4
hsa-mir-1827	rs781069722	chr12:100189926	A/G	pre-miRNA	-0.2
hsa-mir-1827	rs2096101735	chr12:100189927	A/C	pre-miRNA	0.0
hsa-mir-1827	rs1239617445	chr12:100189936	G/A	seed	6.0
hsa-mir-1827	rs2096101739	chr12:100189940	T/C	Mature	-1.7
hsa-mir-1827	rs1398244404	chr12:100189942	G/A	Mature	0.0
hsa-mir-1827	rs1398244404	chr12:100189942	G/T	Mature	0.0
hsa-mir-1827	rs371451238	chr12:100189944	T/C	Mature	-2.2
hsa-mir-1827	rs1341431217	chr12:100189946	G/A	Mature	1.0
hsa-mir-206	rs1199052698	chr6:52144350	G/A	pre-miRNA	1.0
hsa-mir-206	rs368579380	chr6:52144356	C/T	pre-miRNA	2.2
hsa-mir-206	rs769817375	chr6:52144357	G/A	pre-miRNA	6.0
hsa-mir-206	rs1762753723	chr6:52144360	G/A	pre-miRNA	-0.5
hsa-mir-206	rs773315192	chr6:52144363	A/G	pre-miRNA	0.4
hsa-mir-206	rs982492642	chr6:52144364	C/T	pre-miRNA	1.9
hsa-mir-206	rs762983602	chr6:52144365	A/T	pre-miRNA	4.4
hsa-mir-206	rs1762753855	chr6:52144372	T/C	pre-miRNA	-2.7
hsa-mir-206	rs372297518	chr6:52144375	A/G	pre-miRNA	3.0
hsa-mir-206	rs1762753913	chr6:52144378	T/A	pre-miRNA	1.4
hsa-mir-206	rs1277295411	chr6:52144379	C/T	pre-miRNA	-2.5
hsa-mir-206	rs374829386	chr6:52144380	C/T	pre-miRNA	-2.5
hsa-mir-206	rs1762754035	chr6:52144383	A/G	pre-miRNA	0.4
hsa-mir-206	rs774500218	chr6:52144387	G/A	pre-miRNA	0.3
hsa-mir-206	rs1388976378	chr6:52144394	T/A	pre-miRNA	0.0
hsa-mir-206	rs1388976378	chr6:52144394	T/C	pre-miRNA	0.0
hsa-mir-206	rs759899676	chr6:52144397	G/A	pre-miRNA	0.7
hsa-mir-206	rs759899676	chr6:52144397	G/T	pre-miRNA	-1.4
hsa-mir-206	rs767863130	chr6:52144401	T/A	seed	3.9
hsa-mir-206	rs767863130	chr6:52144401	T/C	seed	3.9
hsa-mir-206	rs775920179	chr6:52144406	T/C	seed	2.5
hsa-mir-206	rs1762754253	chr6:52144410	AG/A	Mature	4.4
hsa-mir-206	rs1444614734	chr6:52144412	G/C	Mature	6.4
hsa-mir-206	rs764617948	chr6:52144414	A/C	Mature	4.2

جدول ۳. فراوانی، موقعیت کروموزومی، ناحیه و آنتالپی پلی‌مورفیسم های تک نوکلئوتیدی موجود در ساختمان miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنیا (ادامه)

Pre-miRNA	SNP ID	جایگاه کروموزومی	Ref/Alt	ناحیه	ΔG
hsa-mir-206	rs1582219765	chr6:52144415	G/C	Mature	6.5
hsa-mir-206	rs761212265	chr6:52144417	G/C	Mature	3.0
hsa-mir-206	rs761212265	chr6:52144417	G/T	Mature	2.7
hsa-mir-206	rs1377769915	chr6:52144418	T/C	Mature	4.0
hsa-mir-206	rs1762754437	chr6:52144419	G/A	Mature	6.2
hsa-mir-206	rs529520481	chr6:52144422	G/T	pre-miRNA	7.0
hsa-mir-206	rs992455524	chr6:52144426	C/T	pre-miRNA	2.1
hsa-mir-206	rs749968922	chr6:52144427	G/A	pre-miRNA	6.2
hsa-mir-206	rs749968922	chr6:52144427	G/T	pre-miRNA	6.2
hsa-mir-320e	rs761487513	chr9:46709284	T/C	pre-miRNA	0
hsa-mir-320e	rs2122150124	chr9:46709286	T/C	pre-miRNA	-3.7
hsa-mir-320e	rs1350612892	chr9:46709290	T/C	pre-miRNA	-0.4
hsa-mir-320e	rs2053766822	chr9:46709292	C/T	pre-miRNA	-0.3
hsa-mir-320e	rs774175431	chr9:46709294	C/T	pre-miRNA	4.6
hsa-mir-320e	rs1314290882	chr9:46709300	C/T	pre-miRNA	5.1
hsa-mir-320e	rs1227217890	chr9:46709303	C/CCCAG	pre-miRNA	3.9
hsa-mir-320e	rs1375683815	chr9:46709303	C/T	pre-miRNA	5.3
hsa-mir-320e	rs2053767050	chr9:46709305	C/ T	pre-miRNA	6.6
hsa-mir-320e	rs2053767098	chr9:46709307	G/A	pre-miRNA	5.3
hsa-mir-320e	rs1395183419	chr9:46709308	CT/C	pre-miRNA	-0.8
hsa-mir-320e	rs2053767137	chr9:46709308	C/A	pre-miRNA	3
hsa-mir-320e	rs1310391092	chr9:46709311	T/C	pre-miRNA	-3.4
hsa-mir-320e	rs537624653	chr9:46709312	TC/T	pre-miRNA	-1.3
hsa-mir-320e	rs2053767264	chr9:46709313	C/T	pre-miRNA	0.5
hsa-mir-320e	rs1228123200	chr9:46709315	C/A	pre-miRNA	2.4
hsa-mir-320e	rs745895188	chr9:46709316	C/A	pre-miRNA	-0.4
hsa-mir-320e	rs745895188	chr9:46709316	C/T	pre-miRNA	0.3
hsa-mir-320e	rs1340086399	chr9:46709317	G/A	pre-miRNA	0.9
hsa-mir-320e	rs1213113971	chr9:46709319	C/A	pre-miRNA	0
hsa-mir-320e	rs1213113971	chr9:46709319	C/T	pre-miRNA	0
hsa-mir-320e	rs1281233315	chr9:46709320	T/C	pre-miRNA	0
hsa-mir-320e	rs1483079525	chr9:46709321	C/A	pre-miRNA	0.9
hsa-mir-320e	rs1199089169	chr9:46709322	C/A	pre-miRNA	-0.5
hsa-mir-320e	rs1264344933	chr9:46709324	G/A	pre-miRNA	2.8
hsa-mir-320e	rs956580179	chr9:46709327	A/C	seed	0.8
hsa-mir-320e	rs2053767760	chr9:46709329	A/C	seed	0
hsa-mir-320e	rs1445040859	chr9:46709331	C/A	seed	5.3
hsa-mir-320e	rs1445040859	chr9:46709331	C/G	seed	3
hsa-mir-320e	rs1448060372	chr9:46709333	G/A	Mature	2.3
hsa-mir-320e	rs1448060372	chr9:46709333	G/T	Mature	6.6
hsa-mir-320e	rs561384200	chr9:46709334	G/A	Mature	3
hsa-mir-320e	rs561384200	chr9:46709334	G/T	Mature	7.1
hsa-mir-320e	rs1388897521	chr9:46709335	G/A	Mature	3.9

جدول ۳. فراوانی، موقعیت کروموزومی، ناحیه و آنتالپی پلی‌مورفیسم های تک نوکلئوتیدی موجود در ساختمان miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنیا (ادامه)

Pre-miRNA	SNP ID	جایگاه کروموزومی	Ref/Alt	ناحیه	ΔG
hsa-mir-320e	rs10423365	chr9:46709336	A/G	Mature	0.9
hsa-mir-320e	rs10423365	chr9:46709336	A/T	Mature	-0.4
hsa-mir-320e	rs1174992094	chr9:46709337	A/G	Mature	0.8
hsa-mir-320e	rs1377833232	chr9:46709339	A/G	Mature	4.8
hsa-mir-320e	rs779364784	chr9:46709340	G/A	Mature	2.6
hsa-mir-320e	rs779364784	chr9:46709340	G/T	Mature	6.4
hsa-mir-320e	rs1300837130	chr9:46709342	A/T	Mature	4.2
hsa-mir-320e	rs1386803168	chr9:46709343	G/A	pre-miRNA	2.7
hsa-mir-320e	rs1386803168	chr9:46709343	G/T	pre-miRNA	6.6
hsa-mir-320e	rs1435578114	chr9:46709344	G/A	pre-miRNA	4.5
hsa-mir-320e	rs550113165	chr9:46709345	C/A	pre-miRNA	2.1
hsa-mir-320e	rs550113165	chr9:46709345	C/T	pre-miRNA	-0.1
hsa-mir-320e	rs1362957808	chr9:46709346	C/T	pre-miRNA	0.3
hsa-mir-320e	rs1236568196	chr9:46709347	C/A	pre-miRNA	-0.7
hsa-mir-320e	rs1599841298	chr9:46709348	C/A	pre-miRNA	0
hsa-mir-320e	rs1178987677	chr9:46709349	A/AT	pre-miRNA	-0.6
hsa-mir-320e	rs1472892015	chr9:46709349	A/C	pre-miRNA	0
hsa-mir-320e	rs1472892015	chr9:46709349	A/G	pre-miRNA	0
hsa-mir-320e	rs1020606470	chr9:46709351	G/A	pre-miRNA	-1.3
hsa-mir-320e	rs1020606470	chr9:46709351	G/T	pre-miRNA	0
hsa-mir-320e	rs1311796093	chr9:46709353	A/C	pre-miRNA	0
hsa-mir-320e	rs1311796093	chr9:46709353	A/T	pre-miRNA	0
hsa-mir-320e	rs968686216	chr9:46709354	G/A	pre-miRNA	-0.4
hsa-mir-320e	rs968686216	chr9:46709354	G/T	pre-miRNA	0
hsa-mir-4429	rs1572623703	chr2:11540605	T/G	pre-miRNA	0.5
hsa-mir-4429	rs1171658531	chr2:11540614	C/T	seed	1
hsa-mir-4429	rs1674655766	chr2:11540615	A/G	seed	2.2
hsa-mir-4429	rs573326897	chr2:11540617	T/C	seed	0
hsa-mir-4429	rs573326897	chr2:11540617	T/G	seed	-1.2
hsa-mir-4429	rs1674656298	chr2:11540622	G/A	Mature	2.3
hsa-mir-4429	rs1418063110	chr2:11540626	G/A	Mature	0.3
hsa-mir-4429	rs1674656791	chr2:11540629	A/G	Mature	0.8
hsa-mir-4429	rs924517666	chr2:11540630	GACAA/G	Mature	0.9
hsa-mir-4429	rs1674657043	chr2:11540630	G/A	Mature	2.5
hsa-mir-4429	rs887750263	chr2:11540632	C/T	pre-miRNA	3.8
hsa-mir-4429	rs191766908	chr2:11540633	A/G	pre-miRNA	-2.1
hsa-mir-4429	rs1054067422	chr2:11540634	A/G	pre-miRNA	-2.1
hsa-mir-4429	rs1674658364	chr2:11540636	C/G	pre-miRNA	1
hsa-mir-4429	rs2148519493	chr2:11540638	A/G	pre-miRNA	-1.7
hsa-mir-4429	rs1251277500	chr2:11540639	A/G	pre-miRNA	-2.4
hsa-mir-4429	rs1674658895	chr2:11540640	T/A	pre-miRNA	1.2
hsa-mir-4429	rs1674659163	chr2:11540642	A/G	pre-miRNA	0
hsa-mir-4429	rs1251677740	chr2:11540647	C/T	pre-miRNA	-0.5

جدول ۳. فراوانی، موقعیت کروموزومی، ناحیه و آنتالپی پلی‌مورفیسم های تک نوکلئوتیدی موجود در ساختمان miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنیا (ادامه)

Pre-miRNA	SNP ID	جایگاه کروموزومی	Ref/Alt	ناحیه	ΔG
hsa-mir-4429	rs1674659684	chr2:11540648	C/T	pre-miRNA	-0.2
hsa-mir-4429	rs1203641734	chr2:11540651	TC/T	pre-miRNA	1.9
hsa-mir-4429	rs1674659950	chr2:11540652	C/T	pre-miRNA	-0.3
hsa-mir-4429	rs1034647168	chr2:11540653	G/A	pre-miRNA	3.1
hsa-mir-4429	rs1674660701	chr2:11540655	C/T	pre-miRNA	5.5
hsa-mir-4429	rs892776946	chr2:11540662	C/T	pre-miRNA	2.9
hsa-mir-4429	rs1482611033	chr2:11540663	C/T	pre-miRNA	-0.9
hsa-mir-4429	rs1674661569	chr2:11540665	A/T	pre-miRNA	3.5
hsa-mir-4429	rs1674661841	chr2:11540667	C/T	pre-miRNA	3
hsa-mir-4429	rs1282442326	chr2:11540671	T/G	pre-miRNA	0
hsa-mir-4429	rs1674662385	chr2:11540673	T/A	pre-miRNA	-2.4
hsa-mir-4429	rs559448381	chr2:11540674	C/T	pre-miRNA	3.3
hsa-mir-4429	rs1674662890	chr2:11540677	T/C	pre-miRNA	-0.9
hsa-mir-4467	rs1477581216	chr7:102471469	T/C	pre-miRNA	-0.3
hsa-mir-4467	rs558945069	chr7:102471471	G/A	pre-miRNA	2.7
hsa-mir-4467	rs1798183190	chr7:102471472	T/C	Mature	0.1
hsa-mir-4467	rs1798183190	chr7:102471472	T/G	Mature	-3.5
hsa-mir-4467	rs1043872367	chr7:102471474	G/T	seed	7.2
hsa-mir-4467	rs577520210	chr7:102471475	C/A	seed	1.7
hsa-mir-4467	rs577520210	chr7:102471475	C/T	seed	1.9
hsa-mir-4467	rs115101071	chr7:102471476	G/A	seed	6.2
hsa-mir-4467	rs115101071	chr7:102471476	G/C	seed	6.2
hsa-mir-4467	rs374409015	chr7:102471478	C/A	seed	5.7
hsa-mir-4467	rs374409015	chr7:102471478	C/G	seed	3.6
hsa-mir-4467	rs374409015	chr7:102471478	C/T	seed	1.9
hsa-mir-4467	rs1486676393	chr7:102471478	CGGT/C	seed	3.4
hsa-mir-4467	rs1051250339	chr7:102471479	G/A	Mature	2.9
hsa-mir-4467	rs1051250339	chr7:102471479	G/C	Mature	-0.6
hsa-mir-4467	rs1200079421	chr7:102471480	G/C	Mature	-0.6
hsa-mir-4467	rs1200079421	chr7:102471480	G/T	Mature	2.2
hsa-mir-4467	rs2133273034	chr7:102471481	T/G	Mature	1.7
hsa-mir-4467	rs1798183882	chr7:102471483	G/A	Mature	0
hsa-mir-4467	rs1586743603	chr7:102471484	T/G	Mature	0.1
hsa-mir-4467	rs891385847	chr7:102471486	A/T	Mature	0.1
hsa-mir-4467	rs555983141	chr7:102471487	T/C	Mature	0
hsa-mir-4467	rs60871950	chr7:102471489	G/A	Mature	3.9
hsa-mir-4467	rs1798184194	chr7:102471491	C/T	Mature	2.4
hsa-mir-4467	rs373524227	chr7:102471492	TTCTC/T	Mature	0.9
hsa-mir-4467	rs373524227	chr7:102471492	TTCTC/TTC	Mature	-1
hsa-mir-4467	rs1350983737	chr7:102471493	T/G	Mature	-6.7
hsa-mir-4467	rs1798184436	chr7:102471494	C/T	pre-miRNA	0.8
hsa-mir-4467	rs964386659	chr7:102471496	C/G	pre-miRNA	-4
hsa-mir-4467	rs964386659	chr7:102471496	C/T	pre-miRNA	0

جدول ۳. فراوانی، موقعیت کروموزومی، ناحیه و آنتالپی پلی‌مورفیسم های تک نوکلئوتیدی موجود در ساختمان miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنیا (ادامه)

Pre-miRNA	SNP ID	جایگاه کروموزومی	Ref/Alt	ناحیه	ΔG
hsa-mir-4467	rs1356797440	chr7:102471496	CTT/C	pre-miRNA	-1
hsa-mir-4467	rs1586743644	chr7:102471499	T/C	pre-miRNA	0
hsa-mir-4467	rs557614530	chr7:102471500	C/A	pre-miRNA	0
hsa-mir-4467	rs557614530	chr7:102471500	C/T	pre-miRNA	0
hsa-mir-4467	rs1586743656	chr7:102471503	A/C	pre-miRNA	0
hsa-mir-4467	rs1413484372	chr7:102471506	A/G	pre-miRNA	0
hsa-mir-4467	rs1798184884	chr7:102471509	A/G	pre-miRNA	0
hsa-mir-4467	rs1488673451	chr7:102471510	GC/G	pre-miRNA	0
hsa-mir-4467	rs1434771995	chr7:102471511	C/T	pre-miRNA	2.7
hsa-mir-4467	rs1586743675	chr7:102471512	C/T	pre-miRNA	3
hsa-mir-4467	rs1209053377	chr7:102471513	C/T	pre-miRNA	1.9
hsa-mir-4467	rs754211189	chr7:102471517	G/GGCC	pre-miRNA	-4.2
hsa-mir-4467	rs1027368924	chr7:102471520	C/G	pre-miRNA	4.3
hsa-mir-4467	rs1027368924	chr7:102471520	C/T	pre-miRNA	1.9
hsa-mir-4467	rs1454660579	chr7:102471521	G/A	pre-miRNA	5.4
hsa-mir-4467	rs188069903	chr7:102471523	C/T	pre-miRNA	2.2
hsa-mir-4467	rs983706457	chr7:102471524	G/A	pre-miRNA	2.5
hsa-mir-4467	rs1798185601	chr7:102471524	G/GCCTC	pre-miRNA	0
hsa-mir-4467	rs1273339414	chr7:102471526	C/T	pre-miRNA	2
hsa-mir-4467	rs377524501	chr7:102471531	TCC/T	pre-miRNA	-
hsa-mir-4467	rs377524501	chr7:102471531	TCC/TC	pre-miRNA	-
hsa-mir-936	rs1255956825	chr10:104048090	C/A	pre-miRNA	0
hsa-mir-936	rs1422844290	chr10:104048092	G/C	pre-miRNA	-0.7
hsa-mir-936	rs1217690845	chr10:104048094	G/C	pre-miRNA	2
hsa-mir-936	rs1322960100	chr10:104048094	GC/G	pre-miRNA	5
hsa-mir-936	rs1320014445	chr10:104048095	CCAGCAGGA/C	pre-miRNA	-0.5
hsa-mir-936	rs748081076	chr10:104048096	CAG/C	pre-miRNA	2.8
hsa-mir-936	rs1554848576	chr10:104048096	CAGCAGGACCTG/CCAA	pre-miRNA	6
hsa-mir-936	rs149841873	chr10:104048097	A/C	pre-miRNA	1.8
hsa-mir-936	rs145823228	chr10:104048100	A/G	pre-miRNA	-2.9
hsa-mir-936	rs772030673	chr10:104048100	AGG/A	pre-miRNA	1.4
hsa-mir-936	rs760869552	chr10:104048101	G/A	pre-miRNA	2
hsa-mir-936	rs772662513	chr10:104048103	ACCTG/A	pre-miRNA	2.3
hsa-mir-936	rs1399893761	chr10:104048104	C/T	pre-miRNA	2
hsa-mir-936	rs1339052487	chr10:104048105	C/T	pre-miRNA	0
hsa-mir-936	rs112526889	chr10:104048106	T/A	pre-miRNA	0
hsa-mir-936	rs112526889	chr10:104048106	T/C	pre-miRNA	0
hsa-mir-936	rs945291018	chr10:104048107	G/A	pre-miRNA	-0.3
hsa-mir-936	rs945291018	chr10:104048107	G/C	pre-miRNA	0
hsa-mir-936	rs1361036799	chr10:104048110	A/T	pre-miRNA	0
hsa-mir-936	rs2086431361	chr10:104048113	G/T	pre-miRNA	3.9
hsa-mir-936	rs2086431389	chr10:104048114	T/C	pre-miRNA	0
hsa-mir-936	rs1315899141	chr10:104048115	A/G	pre-miRNA	0.3

جدول ۳. فراوانی، موقعیت کروموزومی، ناحیه و آنتالپی پلی‌مورفیسم های تک نوکلئوتیدی موجود در ساختمان miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنیا (ادامه)

Pre-miRNA	SNP ID	جایگاه کروموزومی	Ref/Alt	ناحیه	ΔG
hsa-mir-936	rs766323094	chr10:104048118	A/G	pre-miRNA	-2.7
hsa-mir-936	rs1269776348	chr10:104048119	G/A	pre-miRNA	2.4
hsa-mir-936	rs367967846	chr10:104048124	G/A	pre-miRNA	-0.4
hsa-mir-936	rs367967846	chr10:104048124	G/C	pre-miRNA	-1.8
hsa-mir-936	rs367967846	chr10:104048124	G/T	pre-miRNA	0.3
hsa-mir-936	rs1564676391	chr10:104048124	GTC/G	pre-miRNA	-0.2
hsa-mir-936	rs2086431627	chr10:104048126	C/G	pre-miRNA	0.8
hsa-mir-936	rs765774704	chr10:104048134	T/C	pre-miRNA	-2.8
hsa-mir-936	rs753113986	chr10:104048135	G/C	pre-miRNA	-2.6
hsa-mir-936	rs372034122	chr10:104048138	C/T	pre-miRNA	0.3
hsa-mir-936	rs780824342	chr10:104048141	G/A	pre-miRNA	0
hsa-mir-936	rs1191787666	chr10:104048144	G/A	pre-miRNA	0
hsa-mir-936	rs745480236	chr10:104048145	T/C	pre-miRNA	-3.2
hsa-mir-936	rs745480236	chr10:104048145	T/G	pre-miRNA	-3.2
hsa-mir-936	rs375150729	chr10:104048149	T/A	pre-miRNA	-0.6
hsa-mir-936	rs140657237	chr10:104048151	C/T	Mature	0.8
hsa-mir-936	rs189063749	chr10:104048154	C/T	Mature	0.8
hsa-mir-936	rs774286889	chr10:104048155	G/A	Mature	-1.6
hsa-mir-936	rs2086432065	chr10:104048157	T/C	Mature	-0.5
hsa-mir-936	rs747961216	chr10:104048158	T/C	Mature	-2
hsa-mir-936	rs771953622	chr10:104048160	C/A	Mature	3
hsa-mir-936	rs771953622	chr10:104048160	C/T	Mature	1.3
hsa-mir-936	rs2086432172	chr10:104048161	T/A	Mature	-0.1
hsa-mir-936	rs773592292	chr10:104048162	C/G	Mature	-2.7
hsa-mir-936	rs760163449	chr10:104048167	TA/T	seed	4.9
hsa-mir-936	rs2086432294	chr10:104048167	TACTGTCCCAGTGGCCTTGAA GCACATTGTGTCCCAGGAGCCC/T	seed	-
hsa-mir-936	rs761029315	chr10:104048169	C/T	seed	3.8
hsa-mir-936	rs79924817	chr10:104048170	T/C	seed	-2
hsa-mir-936	rs2086432404	chr10:104048173	C/T	pre-miRNA	3
hsa-mir-936	rs1258994058	chr10:104048174	C/T	pre-miRNA	5.7
hsa-mir-936	rs547013101	chr10:104048176	A/G	pre-miRNA	-2.4
hsa-mir-936	rs547013101	chr10:104048176	A/T	pre-miRNA	-0.4
hsa-mir-936	rs759653042	chr10:104048181	C/T	pre-miRNA	3.7
hsa-mir-936	rs1316206815	chr10:104048182	C/T	pre-miRNA	3.3
hsa-mir-936	rs765671415	chr10:104048184	T/C	pre-miRNA	-0.7

در مقابل، بیشترین ΔG مثبت مربوط به پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی شامل rs1043872367، rs561384200 و rs529520481 است که به ترتیب در ساختمان hsa-mir-4467، hsa-mir-320e، hsa-mir-206 وجود دارد. این پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی منجر به ناپایداری در ساختمان ثانویه پیش‌ساز miRNA و کاهش بیان miRNA بالغ می‌گردد.

همچنین در جدول ٤، تأثیر پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در ناحیه‌ی "seed" هر miRNA بر احتمال افزایش و یا کاهش میزان اتصال به ناحیه ’۳ UTR ژن‌های هدف نمایش داده شده است. بیشترین تعداد پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی در ناحیه‌ی "seed" مربوط به hsa-miR-

4467 می‌باشد که از این تعداد، هشت پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی می تولند بر اتصال به ناحیه‌ی ۳' UTR ژن‌های هدف به صورت مثبت (gain) و یا منفی (loss) تأثیرگذار باشد (جدول ٤).

بررسی اثر پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در ناحیه‌ی پروموتر ژن miRNAهای مرتبط با مسیر تمایز سلول‌های Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنی

در جدول ۵، تأثیر پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در ناحیه‌ی پروموتر ژن miRNAهای کلیدید بر میزان بیان این ژن‌ها ارائه شده است. پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی از طریق تغییر تمایل اتصال فاکتورهای رونویسی بر سطح رونویسی miRNAها تأثیر می‌گذارند که می‌توانند منجر به افزایش یا کاهش بیان ژن شده و یا بی تاثیر باشند. محل پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی، تعداد خاص آنها و تأثیر آنها بر امتیاز PWM در جدول شماره ۵ ارائه شده است. قابل ذکر است که در این جدول تنها پلی‌مورفیسم‌های‌تک نوکلئوتیدی با MAF >۰/۰۰۱ بررسی شده‌اند. با توجه به عدم ارائه داده در خصوص محل پروموتور ژن hsa-miR-107 و hsa-miR-320e در پایگاه داده Ensembl، ناحیه‌ی پروموتور ژن میزبان آنها به ترتیب PANK1 و PRKD2 مورد بررسی قرار گرفت. همینطور در این پایگاه داده اطلاعاتی در خصوص محل پروموتور hsa-miR-936، ژن میزبان آن (COL17A1) و hsa-miR-206 یافت نشد. همانطور که در جدول ۵ نشان داده شده است، پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی در ژن PRKD2 (rs62134788) منجر به کاهش PWM به میزان (>۱۲٦٦) و کمتر از حد آستانه گردیده است که بر اتصال فاکتور رونویسی SP1 تاثیر منفی اعمال می‌نماید. در مقابل این پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی بر اتصال فاکتور رونویسی ZNF263 تأثیرگذار نیست. پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی در ناحیه‌ی پروموتر ژن hsa-miR-4429 (rs11684917) منجر به کاهش PWM به میزان (>۱٤۸۲) شده و به صورت منفی اتصال فاکتور رونویسی CEBPB در این ناحیه را تحت تأثیر قرار داده است. در حالیکه پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی موجو در پروموتر ژن hsa-miR-4467 (rs145506845) بر اتصال فاکتور رونویسی EGR1 مؤثر نبوده است. دیگر پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی ارایه شده در جدول ۵، طبق اطلاعات پایگاه داده SNP2TFBS هیچ فاکتور رونویسی را تحت تأثیر قرار نمی‌دهند.

جدول ٤. پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی موجود در ناحیه‌ی "seed" miRNAها که بر برهمکنش آنها و اهداف می‌تواند مؤثر باشد.

miRNA بالغ	SNP ID	جایگاه کروموزومی	Ref/Alt	Gain/loss
hsa-miR-107	rs901180005	chr10:89592777	C/T	√
hsa-miR-107	rs1844438885	chr10:89592775	T/C	√
hsa-miR-1827	rs1239617445	chr12:100189936	G/A	√
hsa-miR-206	rs775920179	chr6:52144406	T/C	√
hsa-miR-320e	rs1395183419	chr19:46709308	CT/C	√
hsa-miR-320e	rs205376713	chr19:46709308	C/A	√
hsa-miR-320e	rs2053767098	chr19:46709307	G/A	√
hsa-miR-320e	rs2053767050	chr19:46709305	C/T	√
hsa-miR-4429	rs1674661841	chr2:11540667	C/T	√
hsa-miR-4429	rs1674661569	chr2:11540665	A/T	√
hsa-miR-4467	rs1051250339	chr7:102471479	G/A	×
hsa-miR-4467	rs1051250339	chr7:102471479	G/C	×
hsa-miR-4467	rs115101071	chr7:102471476	G/A	√
hsa-miR-4467	rs1486676393	chr7:102471478	CGGT/C	×
hsa-miR-4467	rs115101071	chr7:102471476	G/C	√
hsa-miR-4467	rs1043872367	chr7:102471474	G/T	√
hsa-miR-4467	rs374409015	chr7:102471478	C/A	√
hsa-miR-4467	rs374409015	chr7:102471478	C/G	√
hsa-miR-4467	rs577520210	chr7:102471475	C/T	√
hsa-miR-4467	rs577520210	chr7:102471475	C/A	√
hsa-miR-4467	rs374409015	chr7:102471478	C/T	√
hsa-miR-936	rs2086432294	chr10:104048167	TACTGTCC CAGTGGCC TGTCCCAG TTGAAGCA CATTGTGT CCCAGGAG CCC/TTGGCC	×
hsa-miR-936	rs760163449	chr10:104048167	TA/T	√
hsa-miR-936	rs79924817	chr10:104048170	T/C	√
hsa-miR-936	rs761029315	chr10:104048169	C/T	√

√: پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی که در ناحیه‌ی "seed" مربوط به miRNAها بوده و منجر به تغییر در برهمکنش miRNAها با اهداف آنها می‌گردد. ×: پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی که در ناحیه‌ی "seed" مربوط به miRNAها بوده و منجر به تغییر در برهمکنش miRNAها با اهداف آنها نمی‌گردد.

جدول ۵. فهرست پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی واقع در ناحیه‌ی پروموتر و تأثیر آنها بر اتصال فاکتور رونویسی توسط وب سرور SNP2TFBS انجام شده است.

miRNA بالغ	SNP ID	جایگاه کروموزومی ناحیه‌ی پروموتر	فاکتور رونویسی	امتیاز PWM روی Ref	امتیاز PWM روی Alt
PANK1: ژن میزبان hsa-miR-107	rs542532763	chr10:89643621-89655242	–	–	–
hsa-miR-1827	rs145037810	chr12:100199863-100199949	–	–	–
PRKD2: ژن میزبان hsa-miR-320e	rs62134788	chr19:46714225-46714597 chr19:46716900-46717345	ZNF263 SP1	۱۴۴۰ ۱۲۷۰	۱۴۶۴ (>۱۲۶۶)
	rs935789817		–	–	–
	rs77679876		–	–	–
	rs12974048		–	–	–
	rs188129660		–	–	–
	rs572630055		–	–	–
hsa-miR-4429	rs11684917	chr2:11533768-11534029 chr2:11539320-11539795	CEBPB	۱۶۵۹	-(>۱۴۸۲)
	rs143632904		–	–	–
	rs77322425		–	–	–
	rs74381889		–	–	–
	rs116041682		–	–	–
	rs538968595		–	–	–
hsa-miR-4467	rs145506845	chr7:102464812-102465081 chr7:102478860-102479358	EGR1	۱۳۶۷	۱۳۴۵
	rs377352749		–	–	–
	rs192443701		–	–	–
	rs867358798		–	–	–

آنالیز غنی‌سازی مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط با miRNAهای مسیر تمایز سلول‌های Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنی

آنالیز غنی‌سازی miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنی و اهداف آنها نشان داد که این miRNAها نه تنها در مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 نقش دارند، بلکه به صورت معناداری در مسیر تمایزی سلول‌های Th17 (p.adjust = 07-e7) و دیگر مسیرهای پیام‌رسانی از جمله مسیر سیگنالینگ IL-17 (p.adjust = ۰/۰۰۰۱)، مسیر سیگنالینگ نوروتروپین (p.adjust = e8/6) و پردازش و نمایش آنتی‌ژن (Antigen processing and presentation) (p.adjust = ۰/۰۳) نقش دارند (شکل ۲).

بحث

شواهد نشان می‌دهد که اختلال در تنظیم miRNAها ممکن است با مختل کردن مکانیسم‌های رشد و انعطاف‌پذیری عصبی، نقش مهمی در سبب‌شناسی اسکیزوفرنی داشته باشد و در نتیجه منجر به بروز این اختلال در افراد گردد (۱۳). در همین راستا، بیان متفاوتی از miRNAها در مغز و خون بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی در مقایسه با افراد سالم گزارش شده است (۲۴، ۲۵)، که نشان می‌دهد این تغییرات ممکن است زمینه‌ساز پاتوژنز اسکیزوفرنی باشند. بنابراین miRNAها پتانسیل استفاده به عنوان بیومارکر و اهداف درمانی برای داروهای ضد روان‌پریشی را دارند (۲۶).

در مطالعه‌ی حاضر، با توجه به نقش کلیدی عدم توازن سلول‌های Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنی، ابتدا miRNAهای مرتبط با تمایز این سلول‌ها در بیماری اسکیزوفرنی استخراج شده و سپس، برای اولین بار، اثر احتمالی پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی بر ساختار ثانویه، تمایل اتصال به هدف و میزان بیان ژن آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ژن hsa-miR-320e، hsa-miR-936 و hsa-miR-4467 بیشترین تعداد پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی مؤثر بر پایداری ساختار ثانویه پیشساز miRNA را دارند که می‌تواند منجر به افزایش و یا کاهش بیان miRNA بالغ می‌گردد. در بین این miRNAها، hsa-miR-4467 و hsa-miR-320e بیشترین تعداد پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در ناحیه‌ی "seed" را دارند که در افزایش و یا کاهش میزان اتصال به ناحیه‌ی 3' UTR ژن‌های هدف تأثیرگذار است. همینطور پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در ناحیه پروموتور ژن hsa-miR-4429 (rs11684917) و ژن میزبان hsa-miR-320e

(rs62134788) به طور منفی اتصال فاکتورهای رونویسی CEBPB و SP1 به این نواحی را تحت تأثیر قرار داده است.

شناسایی پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی عملکردی در ژن‌ها و تجزیه و تحلیل اثرات آنها بر فنوتیپ‌ها می‌تولند فرصتی برای درک عمیق‌تر ارتباط بین miRNAها و mRNAهای هدف آنها را فراهم نماید. پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در ژن‌های miRNAهای انسانی بر بیوژنز، سطح بیان و عملکرد بیولوژیکی آنها تأثیر می‌گذارند. بطوریکه یک پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی واحد در miRNAها می‌تواند بیان چندین ژن را تحت تأثیر قرار دهد و پتانسیل اختلال در بیان ژن و و به نوبه خود، افزایش خطر ابتلا به بیماری را دارد. همینطور پردازش ناقص miRNA نیز ممکن است منجر به تولید واریانت‌هایی از miRNAها به نام ایزومیر (IsomiRs) شود که می‌تواند در جایگاه‌های پردازش Drosha و/یا Dicer تغییر ایجاد کرده و منجر به تغییر کامل در فرایندهای پایین‌دستی از جمله رونوشت‌های mRNA هدف، مسیر تنظیمی و فنوتیپ‌های پیچیده و بیماری‌ها شود (۲۷).

تاکنون تعدادی از مطالعات نقش پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در miRNAها در بیماری اسکیزوفرنی را مورد بررسی قرار داده‌اند. برای مثال، در یک مطالعه کوهورت در مردان مبتلا به اسکیزوفرنی (۱۹۳ بیمار و ۱۹۱ کنترل)، دو پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی در miR-502 و miR-510 شناسایی شد که با کاهش پردازش miRNA مرتبط بوده و منجر به کاهش پیش‌ساز و در نتیجه رونوشت‌های بالغ miR-502/510 تولید شده می‌شود (۲۸).

جالب است که تاکنون چندین پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی در miRNAها شناسایی شده‌اند که باعث افزایش پیشرفت این بیماری می‌شوند. در یک مطالعه کوهورت بر miRNAهای مغزی بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی (۲۸ نمونه)، پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در miR-206 و miR-198 شناسایی شد (۲۹). به طور مشابه در جمعیت چینی هان، ارتباط معناداری بین گونه ss178077483 یافت شده در pre-mir-30e و خطر ابتلا به اسکیزوفرنی گزاش شد (۳۰).

مطالعه‌ای جلب نشان داده است که پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی واقع در جایگاه "seed" miR-326 منجر به افزایش بیان رسپتور دوپامین نوع D2 شده و در نتیجه خطر ابتلا به بیماری اسکیزوفرنی را افزایش می‌دهند (۳۱). از طرف دیگر، پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی rs1625579 با سطح بیان پایین‌تر miR-137 در قشر پیش‌پیشانی مغز بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی مرتبط است. این کاهش بیان miR-137 با کاهش فعالیت حافظه‌ی کاری مرتبط با بخش پیش‌پیشانی و همچنین کاهش فعالیت و ارتباط پردازش احساسات در شبکه مغزی بیماران ارتباط داشت (۳۲، ۳۳). تمامی این مطالعات بر این مسئله تأکید دارند که تغییر در پردازش miRNA و به دنبال آن بیان ژن‌های مرتبط با اسکیزوفرنی می‌تواند اهداف مناسبی برای مطالعه به منظور کسب بینش بیشتر در مورد مکانیسم این بیماری باشد.

miR-320e، یکی از miRNAهای مهم در مسیرهای التهابی و چرخه سلولی محسوب می‌شود. این miRNA با هدف قرار دادن Wnt2 در سلول‌های اندوتلیال، مسیر Wnt/β-catenin القا شده با استرس اکسیداتیو را مهار می‌کند و نقش محافظتی در بیماری عروق کوچک مغزی (Cerebral small vessel disease) CVSD ایفا می نماید. همچنین مشخص شده است که بیان miR320e در بیماران مبتلا به CVSD کاهش یافته و ارتباط معنادار مثبتی با اختلالات شناختی و افسردگی در این بیماران دارد (۳٤). اختلال در مسیر WNT/β-catenin در چندین بیماری مرتبط با التهاب عصبی مزمن، مانند بیماری‌های نورودژنراتیو (۳۵) و همچنین در اختلالات روان‌پریشی، مانند اختلال وسواس فکری-عملی، افسردگی و اوتیسم مشاهده شده است (۳٦).

به طور مشابه، گزارش شده است که اختلال در مسیر WNT/β-catenin منجر به شروع فرایند نوروتوکسیسیتی در بیماران اسکیزوفرنی می‌شود (۳۷) و در فرایند التهاب عصبی در این بیماری نقش دارد (۳۸). اگرچه تاکنون مطالعه‌ای در خصوص اندازه‌گیری میزان بیان miR-320e در بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی گزارش نشده است، اختلال در میزان بیان دیگر اعضای خانواده miR-320 شامل miR-320a، miR-320d و miR-320c در خون بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی مشخص شده است که می‌تواند نشان‌دهنده‌ی نقش این خانواده در مکانیسم مولکولی این بیماری باشد (۳۹). miR-4467 اولین بار در مایع مغزی- نخاعی بیماران مبتلا به آلزایمر شناسایی شده و به عنوان بیومارکر بالقوه برای این بیماری معرفی شد (٤۰).

به طور ویژه، سطح بالای بیان miR-4467 در خون محیطی بیماران در مراحل اولیه بیماری اسکیزوفرنی که تاکنون دارویی مصرف نکرده بودند، گزارش شده است که می‌تواند پتانسیل یک بیومارکر در تشخیص این بیماری را داشته باشد. بعلاوه در همین مطالعه، با استفاده از آنالیز بیوانفورماتیکی مشخص شد که اهداف این miRNA در مسیرهای تنظیم تمایز و تکوین نورون‌ها و همینطور تنظیم منفی تکثیر سلول‌های شوان (Schwann cells) نقش دارد (٤۱). بر همین اساس به نظر می‌رسد که miR-4467 احتمالاً از طریق تنظیم ژن‌های هدف، نقش در رشد عصبی و انتقال سیناپسی می‌تواند در بروز و توسعه‌ی اسکیزوفرنی نقش داشته باشد.

همچنین نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی موجود در ساختمان hsa-mir-4467 شامل rs1350983737 و rs1043872367 با مقادیر به ترتیب منفی‌ترین و

مثبت‌ترین میزان ΔG (آنتالپی منفی) می‌تواند منجر به تغییر در پایداری ساختمان ثانویه پیشساز miRNA و در نتیجه اختلال بیان miRNA بالغ گردد. لذا، افراد حامل این موتاسیون‌ها ممکن است در معرض ریسک بالاتری برای بروز اسکیزوفرنی قرار گیرند.

نتایج آنالیز بیوانفورماتیک و به دنبال آن qPCR در نمونه خون بیماران، سه miRNA شامل hsa-miR-574-5P, hsa-miR-1827 و hsa-miR-4429 را به عنوان بیومارکرهای مهم در تشخیص بیماری اسکیزوفرنی پیشنهاد داده است. miR-4429 که در این مطالعه (۴۲) به طور معناداری در خون بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی افزایش بیان داشته، بعنوان یک تعدیل‌کننده در مهار سلول‌های سرطانی از طریق هدف قرار دادن YOD1 (۴۳) و مسیر سیگنالینگ WNT/β-catenin (۴۴) عمل می‌نماید. جالب است که در مطالعه‌ی حاضر GATA3، به عنوان هدف miR-4429 و miR-4467 استخراج شد. GATA3 تنظیم‌کننده اصلی رده سلولی Th2 می باشد که در مطالعه‌ی قبلی ما، بیان معنادار بیشتری در خون بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی نسبت به گروه کنترل داشت (۴۵). این نتیجه می‌تواند نشان‌دهنده‌ی احتمال نقش کلیدی این miRNAها در عدم تعادل سلول‌های Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنی باشد.

تاکنون مطالعات زیادی بیان متفاوت miR-206 (۴۶) و miR-107 (۴۷) را در خون بیمارن مبتلا به اسکیزوفرنی نسبت به گروه کنترل گزارش داده‌اند. در همین راستا، افزایش قابل توجه سطح بیان miR-206 و کاهش سطح بیان فاکتور نورون‌زایی مشتق شده از مغز (BDNF) و تاثیر مثبت داروهای ضد روان پریشی در پیشگیری از این اختلال، نشان‌دهنده‌ی اهمیت تنظیم بیان این miRNA در تعدیل اختلال عملکرد BDNF در این بیماری است (۴۸).

در نهایت، نتایج آنالیز غنی‌سازی miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنی و اهداف آنها نشان داد که این ژن‌ها نه تنها در مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 نقش دارند، بلکه به صورت چشمگیری در مسیر تمایزی سلول‌های Th17، دیگر مسیرهای پیام‌رسانی از جمله مسیر سیگنالینگ IL-17 و مسیر سیگنالینگ نوروتروپین نیز مؤثرند. به طور ویژه، مشخص شده است که مسیر سیگنالینگ نوروتروفین، به ویژه BDNF، در پاتوفیزیولوژی اسکیزوفرنی نقش کلیدی دارد. بطوریکه اختلال در بیان BDNF می‌تواند در ناهنجاری‌های رشد عصبی، اختلال عملکرد سیناپسی و نقص‌های شناختی مشاهده شده در افراد مبتلا به اسکیزوفرنی تأثیرگذار باشد (۴۹). بنابراین، پتانسیل این مسیرها به عنوان اهدافی برای درمان اسکیزوفرنی ارزش بررسی بیشتری دارند. قابل ذکر است که یکی از مهم‌ترین محدودیت‌های مطالعه‌ی حاضر، عدم تایید آزمایشگاهی پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی تاثیرگذار شناسایی شده در آنالیز بیوانفورماتیک است. لذا پیشنهاد می‌شود نتایج این تحقیق در مطالعات کوهورت با جمعیت‌های بزرگ و متنوع مورد ارزیابی قرار گیرد. همین‌طور بررسی ارتباط بین این پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی و اختلالات رفتاری بیماران و همینطور پاسخ به درمان‌های ضد روانپریشی مفید است.

نتیجه‌گیری

پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در miRNAهای مرتبط با اسکیزوفرنی یکی از دلایل مهم اختلال در تنظیم هستند که ممکن است در بیان تغییر یافته ژن‌ها نقش داشته باشند و در نهایت منجر به بیماری شوند. شناسایی پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی تأثیرگذار در miRNAهای مرتبط ممکن است در درک مکانیسم اسکیزوفرنی اهمیت خاصی داشته باشد. با توجه به نقش کلیدی عدم توازن سیستم ایمنی در پاتوفیزیولوژی بیماری اسکیزوفرنی، پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی مؤثر بر بیوژنز و عملکرد miRNAهای مرتبط با مسیر تمایزی سلول‌های Th1/Th2 در بیماری اسکیزوفرنی استخراج و تأثیر آن‌ها بر پردازش پیشساز miRNA، برهمکنش miRNA و هدف و سطح بیان رونوشت مورد بررسی قرار گرفت. در بین این miRNAها، hsa-miR-4467 و hsa-miR-320e با بیشترین تعداد پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی موثر بر ساختمان ثانویه پیشساز miRNA و ناحیه "seed" برای بررسی بیشتر پیشنهاد می‌شوند. همینطور، این miRNAهای کلیدی و اهداف آن‌ها علاوه بر نقش در مسیرهای تمایزی و تنظیمی سلول‌های سیستم ایمنی، در دیگر مسیرهای مهم مغزی مانند مسیر سیگنالینگ نوروتروپین نیز غنی شده هستند که نشان دهنده احتمال اهمیت بیشتر این miRNAها در پاتوفیزیولوژی اسکیزوفرنی دارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از طرح تحقیقاتی به شماره ۴۰۴۰۲۶۶ می‌باشد که در دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان به تصویب رسیده و با حمایت مالی معاونت پژوهشی به انجام رسیده است.

References

1. Insel TR. Rethinking schizophrenia. Nature 2010; 468(7321): 187-93.
2. Sullivan PF, Kendler KS, Neale MC. Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. Arch Gen Psychiatry 2003; 60(12): 1187-92.
3. Dean K, Murray RM. Environmental risk factors for psychosis. Dialogues Clin Neurosci 2005; 7(1): 69-80.
4. Papavasiliou FN, Chung YC, Gagnidze K, Hajdarovic KH, Cole DC, Bulloch K. Epigenetic modulators of monocytic function: Implication for steady state and disease in the CNS. Front Immunol 2016; 6: 661.
5. Prinz M, Priller J. The role of peripheral immune cells in the CNS in steady state and disease. Nat Neurosci 2017; 20(2): 136-44.
6. Miller BJ, Gassama B, Sebastian D, Buckley P, Mellor A. Meta-analysis of lymphocytes in schizophrenia: clinical status and antipsychotic effects. Biol Psychiatry 2013; 73(10): 993-9.
7. Zheng Y, Zhang Q, Zhou X, Yao L, Zhu Q, Fu Z. Altered levels of cytokine, T-and B-lymphocytes, and PD-1 expression rates in drug-naïve schizophrenia patients with acute phase. Sci Rep 2023; 13(1): 21711.
8. Chiang SSW, Riedel M, Schwarz M, Mueller N. Is T-helper type 2 shift schizophrenia-specific? Primary results from a comparison of related psychiatric disorders and healthy controls. Psychiatry Clin Neurosci 2013; 67(4): 228-36.
9. Freudenreich O, Brockman MA, Henderson DC, Evins AE, Fan X, Walsh JP, et al. Analysis of peripheral immune activation in schizophrenia using quantitative reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). Psychiatry Res 2010; 176(2-3): 99-102.
10. Schwarz M, Müller N, Riedel M, Ackenheil M. The Th2-hypothesis of schizophrenia: a strategy to identify a subgroup of schizophrenia caused by immune mechanisms. Med Hypotheses 2001; 56(4): 483-6.
11. Zhang T, Zeng J, Wei Y, Ye J, Tang X, Xu L, et al. Changes in inflammatory balance correlates with conversion to psychosis among individuals at clinical high-risk: A prospective cohort study. Psychiatry Res 2022; 318: 114938.
12. Rezaee D, Saadatpour F, Akbari N, Zoghi A, Najafi S, Beyranvand P, et al. The role of microRNAs in the pathophysiology of human central nervous system: a focus on neurodegenerative diseases. Ageing Research Reviews 2023; 92: 102090.
13. Li K, Zhu L, Lv H, Bai Y, Guo C, He K. The role of microRNA in schizophrenia: a scoping review. Int J Mol Sci 2024; 25(14): 7673.
14. Xu S-J, Chen J-H, Chang S, Li H-L. The role of miRNAs in T helper cell development, activation, fate decisions and tumor immunity. Front Immunol 2024; 14: 1320305.
15. Yu T, Wang P, Wu Y, Zhong J, Chen Q, Wang D, et al. MiR-26a reduces inflammatory responses via inhibition of PGE2 production by targeting COX-2. Inflammation 2022; 45(4): 1484-95.
16. Shafiee-Kandjani AR, Nezhadettehad N, Farhang S, Bruggeman R, Shanebandi D, Hassanzadeh M, et al. MicroRNAs and pro-inflammatory cytokines as candidate biomarkers for recent-onset psychosis. BMC Psychiatry 2023; 23: 631.
17. Jeffries C, Perkins D, Chandler S, Stark T, Yeo E, Addington J, et al. Insights into psychosis risk from leukocyte microRNA expression. Transl Psychiatry 2016; 6(12): e981-e.
18. Sethupathy P, Collins FS. MicroRNA target site polymorphisms and human disease. Trends Genet 2008; 24(10): 489-97.
19. Liu C, Zhang F, Li T, Lu M, Wang L, Yue W, et al. MirSNP, a database of polymorphisms altering miRNA target sites, identifies miRNA-related SNPs in GWAS SNPs and eQTLs. BMC Genomics 2012; 13: 661.
20. Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci. Nat Genet 2011; 43(10): 969-76.
21. Oliveros JC. (2007-2015) Venny. An Interactive Tool for Comparing Lists with Venn's Diagrams. Available from: https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=2904043 .
22. Cao W, He J, Feng J, Wu X, Wu T, Wang D, et al. miRNASNP-v4: a comprehensive database for miRNA-related SNPs across 17 species. Nucleic Acids Res 2025; 53(D1): D1066-D74.
23. Kumar S, Ambrosini G, Bucher P. SNP2TFBS–a database of regulatory SNPs affecting predicted transcription factor binding site affinity. Nucleic Acids Res 2017; 45(D1): D139-D44.
24. He E, Lozano MAG, Stringer S, Watanabe K, Sakamoto K, den Oudsten F, et al. MIR137 schizophrenia-associated locus controls synaptic function by regulating synaptogenesis, synapse maturation and synaptic transmission. Hum Mol Genet 2018; 27(11): 1879-91.
25. Miyano T, Hirouchi M, Yoshimura N, Hattori K, Mikkaichi T, Kiyosawa N. Plasma microRNAs Associate Positive, Negative, and Cognitive Symptoms with Inflammation in Schizophrenia. Int J Mol Sci 2024; 25(24): 13522.
26. Martinez B, Peplow PV. MicroRNAs as potential biomarkers for diagnosis of schizophrenia and influence of antipsychotic treatment. Neural Regen Res 2024; 19(7): 1523-31.
27. Starega-Roslan J, Witkos TM, Galka-Marciniak P, Krzyzosiak WJ. Sequence features of Drosha and Dicer cleavage sites affect the complexity of isomiRs. Int J Mol Sci 2015; 16(4): 8110-27.
28. Sun G, Yan J, Noltner K, Feng J, Li H, Sarkis DA, et al. SNPs in human miRNA genes affect biogenesis and function. RNA 2009; 15(9): 1640-51.
29. Hansen T, Olsen L, Lindow M, Jakobsen KD, Ullum H, Jonsson E, et al. Brain expressed microRNAs implicated in schizophrenia etiology. PloS One 2007; 2(9): e873.
30. Xu Y, Li F, Zhang B, Zhang K, Zhang F, Huang X, et al. MicroRNAs and target site screening reveals a pre-microRNA-30e variant associated with schizophrenia. S Schizophr Res 2010; 119(1-3): 219-27.
31. Shi S, Leites C, He D, Schwartz D, Moy W, Shi J, et al. MicroRNA-9 and microRNA-326 regulate human

dopamine D2 receptor expression, and the microRNA-mediated expression regulation is altered by a genetic variant. J Biol Chem 2014; 289(19): 13434-44.
32. Chen X, Zhang Z, Zhang Q, Zhao W, Zhai J, Chen M, et al. Effect of rs1344706 in the ZNF804A gene on the brain network. Neuroimage Clinl 2018; 17: 1000-5.
33. Guella I, Sequeira A, Rollins B, Morgan L, Torri F, van Erp TG, et al. Analysis of miR-137 expression and rs1625579 in dorsolateral prefrontal cortex. J Psychiatr Res 2013; 47(9): 1215-21.
34. Wang Z, Li X-N, Yang S-N, Wang Y, Gao K-J, Han B, et al. Exosomal miR-320e through wnt2targeted inhibition of the Wnt/β-catenin pathway allevisate cerebral small vessel disease and cognitive impairment. World J Psychiatr 2023; 13(9): 630-44.
35. De V. Ferrari G, E. Avila M, A. Medina M, Pérez-Palma E, I. Bustos B, A. Alarcon M. Wnt/β-catenin signaling in Alzheimer's disease. CNS Neurol Disord Drug Targets 2014; 13(5): 745-54.
36. Nusse R, Clevers H. Wnt/β-catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities. Cell 2017; 169(6): 985-99.
37. Al-Dujaili AH, Mousa RF, Al-Hakeim HK, Maes M. High mobility group protein 1 and dickkopf-related protein 1 in schizophrenia and treatment-resistant schizophrenia: Associations with interleukin-6, symptom domains, and neurocognitive impairments. Schizophr Bull 2021; 47(2): 530-41.
38. Vallée A. Neuroinflammation in schizophrenia: the key role of the WNT/β-catenin pathway. Int J Mol Sci 2022; 23(5): 2810.
39. Vachev T, Popov N, Stoyanova V, Ivanov H, Minchev D. Alterations of miR-320 family members as a novel diagnostic biomarkers in peripheral blood of schizophrenia patients. Int J Curr Microbiol Appl Sci 2016;5(3): 865-75.
40. Denk J, Boelmans K, Siegismund C, Lassner D, Arlt S, Jahn H. MicroRNA profiling of CSF reveals potential biomarkers to detect Alzheimers disease. PLoS One 2015; 10(5): e0126423.
41. Jin M, Zhu X, Sun Y, Li Z, Li X, Ai L, et al. Identification of peripheral blood miRNA biomarkers in first-episode drug-free schizophrenia patients using bioinformatics strategy. Mol Neurobiol 2022; 59(8): 4730-46.
42. Davarinejad O, Najafi S, Zhaleh H, Golmohammadi F, Radmehr F, Alikhani M, et al. MiR-574-5P, miR-1827, and miR-4429 as potential biomarkers for schizophrenia. J Mol Neurosci 2022; 72(2): 226-38.
43. Zhu Y-M, Chen P, Shi L, Zhu T, Chen X. MiR-4429 suppresses the malignant development of ovarian cancer by targeting YOD1. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2020; 24(17): 8722-30.
44. Zhou S, Qian K, Yu S, Zhao Y, Shen Q, Li Y. MiR-4429 alleviates malignant behaviors of lung adenocarcioma through Wnt/β-catenin pathway. Cancer Biother Radiopharm 2024; 39(8): 562-72.
45. Moghiseh E, Massoudifar A, Davoodian N, Mousavi P, Afsharpour S, Mahmoodi M. Aberrant Expression of TH2LCRR and GATA3 in Peripheral Blood Mononuclear Cells of Patients with Acute-Phase Schizophrenia: Integrative Bioinformatics Analysis and Experimental Study. Mol Neurobiol 2025; 62(10): 12413-25.
46. Hauberg ME, Holm-Nielsen MH, Mattheisen M, Askou AL, Grove J, Børglum AD, et al. Schizophrenia risk variants affecting microRNA function and site-specific regulation of NT5C2 by miR-206. Eur Neuropsychopharmacol 2016; 26(9): 1522-6.
47. Liu X, Dong L, Jiang Z, Song M, Yan P. Identifying the differentially expressed peripheral blood microRNAs in psychiatric disorders: A systematic review and meta-analysis. Front Psychiatry 2024; 15: 1390366.
48. Zhang M, Du Y, Chen L, Tang Q, Liu C, Li N, et al. Genome-wide, integrative analysis implicates exosome-derived microRNA dysregulation in chronic insomnia. Sleep 2025; 48(6): zsaf051.
49. Pandya CD, Kutiyanawalla A, Pillai A. BDNF–TrkB signaling and neuroprotection in schizophrenia. Asian J Psychiatr 2013; 6(1): 22-8.

DOI: *10.48305/jims.v44.i875.1543*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 44, No. 875, 2nd Week, October 2026**

Received: 31.08.2025 Accepted: 25.08.2026 Published: 07.10.2026

In Silico Analysis of SNPs in MicroRNAs Related to Th1/Th2 Differentiation Pathways in Schizophrenia

Pegah Mousavi[1], Nahid Davoodian[2]

Original Article

Abstract

Background: Genetic variations in miRNAs and their binding sites may increase schizophrenia risk by disrupting miRNA-target interactions, impairing brain development, and elevating susceptibility to this disorder. This study employed in silico tools to predict the deleterious effects of single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in overlapped miRNAs related to Th1/Th2 differentiation in schizophrenia, focusing on their impact on miRNA stability, structure, and target binding.

Methods: Overlapped miRNAs associated with Th1/Th2 differentiation in schizophrenia were retrieved from miRTarBase and miRWalk databases. To identify and predict the functional effects of SNPs located in the precursor and mature regions of candidate miRNAs, Ensembl, miRNASNP-v4, and SNP2TFBS databases were used. Finally, enrichment analysis of biological pathways was performed using NcPath database.

Findings: miRNASNP-v4 identified multiple SNPs across seven overlapped miRNAs (hsa-miR-107, hsa-miR-1827, hsa-miR-206, hsa-miR-320e, hsa-miR-4429, hsa-miR-4467, and hsa-miR-936), with the highest SNP counts in pre-miRNA and mature miRNA regions, particularly in hsa-miR-320e, hsa-miR-4467, and hsa-miR-936. SNPs rs1350983737 and rs1043872367 in hsa-miR-4467 exhibited the strongest and weakest influences on mature miRNA production, respectively. Notably, miR-4467 and miR-320e harbored the most seed region SNPs, potentially disrupting miRNA binding to 3′UTR of target mRNAs. Several SNPs were also found in miRNA promoter regions, potentially impairing transcription factor binding.

Conclusion: SNPs in miRNAs can affect both their expression and regulatory functions. Genetic variations in schizophrenia-related miRNAs represent important targets for further investigation to elucidate disease molecular mechanisms.

Keywords: Bioinformatics, SNPs, Psychiatric disorders

Citation: Mousavi P, Davoodian N. **In Silico Analysis of SNPs in MicroRNAs Related to Th1/Th2 Differentiation Pathways in Schizophrenia.** J Isfahan Med Sch 2026; 44(869): 1543-1561.

1- Assistant Professor, Endocrinology and Metabolism Research Center, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran

2- Associate Professor, Molecular Medicine Research Center, Hormozgan Health Institute, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran

Corresponding Author: Nahid Davoodian, Associate Professor, Molecular Medicine Research Center, Hormozgan Health Institute, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran; Email: Nahid.Davoodian@hums.c.ir