

نقش miR-146a و miR-155 و تاثیر پلی مورفیسم های آنها بر سیستم ایمنی و پروگنوز بیماران مبتلا به سرطان ریه

ندا کاکادزفولی^{۱*}، اسماعیل مرتاض^{۲*}، شمیلا درویشعلیپور^۴، شراره سیفی^۵

عدنان خسروی^۵، بابک سلیمی^۵

- (۱) گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- (۲) گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی دزفول، دزفول، ایران
- (۳) مرکز تحقیقات سل بالینی و اپیدمیولوژی، پژوهشکده سل و بیماری های ریوی، مرکز آموزشی، پژوهشی و درمانی سل و بیماری های ریوی بیمارستان دکتر مسیح دانشوری، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران
- (۴) گروه پزشکی مولکولی، پژوهشکده زیست فن آوری پزشکی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و فن آوری زیستی تهران، ایران
- (۵) مرکز تحقیقات بیماری های مزمن تنفسی، پژوهشکده سل و بیماری های ریوی، مرکز آموزشی، پژوهشی و درمانی سل و بیماری های ریوی بیمارستان دکتر مسیح دانشوری، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده:

سرطان ریه بزرگترین عامل مرگ در اثر سرطان در بین مردان و زنان می باشد. بیش از ۸۵٪ سرطان های ریه از نوع سرطان ریه سلول غیر کوچک یا NSCLC است. تشخیص زودهنگام می تواند مرگ و میر را به میزان قابل توجهی کاهش دهد. تشخیص در مراحل اولیه این بیماری مشکل است و مبتنی بر روش های تهاجمی از قبیل برونوسکوپ و نمونه برداری های باز می باشد. لذا مارکرهای غیر تهاجمی که از نظر هزینه مقرون به صرفه باشند برای تشخیص بیماری در مراحل اولیه مورد بحث می باشند. میکرو RNA یا miRNA، مولکول های کوچکی بین ۱۸ الی ۲۲ نوکلئوتید هستند که نقش مهم آنها در طیف وسیعی از سرطان ها نشان داده شده است. حضور پلی مورفیسم و تغییرات ژنتیکی در ژنوم miRNA ها روی پردازش و سطح بیان آنها تاثیر می گذارد. دو miRNA مهم در پاسخ های ایمنی تومور شامل miR-146a و miR-155 می باشند که وجود پلی مورفیسم و در نتیجه بیان نامناسب آنها با عدم پاسخ ایمنی مناسب در ارتباط بوده و در بسیاری از سرطان ها گزارش شده است. پلی مورفیسم rs2910164(G>C) در miR-146a با مکانیسم های مختلف باعث تغییر در سطح بیان miR-146a و حساسیت به انواع سرطان از جمله سرطان ریه می گردد همچنین پلی مورفیسم rs767649A>T با افزایش بیان miR-155 باعث افزایش ریسک و پیش آگهی بد در NSCLC می گردد. بنابراین بررسی نقش miR-146a-5p و miR-155-5p و تاثیر پلی مورفیسم بر عملکرد آنها در پاسخ های ضد توموری بیماران مبتلا به NSCLC می تواند در تشخیص بیماری در مراحل اولیه و نیز مراحل درمان کمک کننده باشد.

واژگان کلیدی: NSCLC، پلی مورفیسم، miR-146a، miR-155

* نویسنده مسئول:

دکتر اسماعیل مرتاض، مرکز تحقیقات سل بالینی و اپیدمیولوژی، پژوهشکده سل و بیماری های ریوی بیمارستان دکتر مسیح دانشوری، دارآباد، نیاوران، تهران، ایران. پست الکترونیک: emortaz@gmail.com

مقدمه:

سرطان ریه یکی از دلایل عمده مرگ به ویژه در مردان در دنیا بوده و در کشورهای پیشرفته از سرطان سینه که شایعترین علت مرگ در بین زنان است پیشی گرفته است [۱]. از نظر هیستولوژیک دو نوع سرطان ریه وجود دارد: سرطان ریه غیر سلول کوچک^۱ (NSCLC) و سرطان ریه سلول کوچک^۲ (SCLC). روش درمان این دو دسته سرطان ریه متفاوت است. در NSCLC برداشت تومور و در SCLC کموتراپی توصیه می‌شود. تومورهای NSCLC خود به انواع اسکوئاموس^۳، آدنوکارسینوما^۴ و سلول بزرگ^۵ تقسیم می‌شود. مطالعات کمی بر روی سرطان ریه به خاطر مشکلات تهیه نمونه انجام شده است. مطالعه بر روی سیستم ایمنی در سرطان ریه بر روی نمونه‌های بافت توموری، نمونه بیوپسی برونش، خون محیطی، رده‌های سلولی سرطان و مایع شستشوی برونکوالوئولی^۶ (BAL) انجام می‌گیرد [۲]. لذا شناخت شبکه مولکولی که بیولوژی سلول‌های ایمنی را تحت تاثیر قرار می‌دهد در پاسخ‌های ضد توموری مورد نیاز می‌باشد [۳].

نقش mir-146a و mir-155 در سیستم ایمنی:

میکروRNAها (یا miRNAs) یک کلاس از RNAهای کوچک غیر کد کننده هستند که بیان ژن را تنظیم می‌کنند. miRNAها با تنظیم سطح بیان mRNA هدف، میزان بیان یک پروتئین ضروری را تنظیم می‌کنند [۴] بیان mir-146a و mir-155 در بسیاری از بیماری‌ها مانند تومور، آلرژی و خودایمنی از تنظیم خارج می‌شود. عملکرد این دو miRNA در بسیاری از فعالیت‌های بیولوژیک، در شرایط نرمال یا پاتولوژیک، مکمل هم بوده و به صورت آنتاگونیستی عمل می‌کنند.

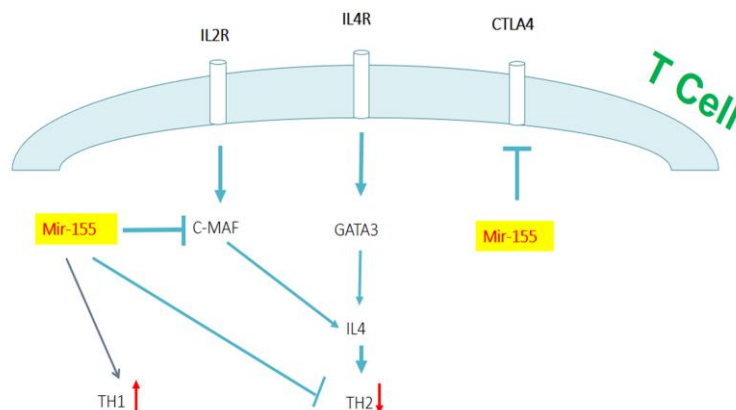
این دو miRNA در بسیاری از سلول‌های ایمنی از جمله مونوسیت و ماکروفاژ، سلول‌های دندریک، سلول‌های Natural killer و انواع سلول‌های T cell

B cell بیان می‌شوند و دارای عملکرد می‌باشند. تنظیم دقیق^۷ این دو miRNA در این سلول‌ها برای عملکرد صحیح پاسخ ایمنی ضروری است. بسیاری از شواهد نشان می‌دهند که هدف قرار دادن دو میکروRNA (mir-146a و mir-155) ابزاری برای درمان بیماری‌های التهابی محسوب می‌شوند [۵]. ژنوم انسان حاوی ۲ ژن mir-146a و mir-146b می‌باشد که به ترتیب بر روی کروموزوم‌های ۵ و ۱۰ قرار دارند. هر Pre-mir146 تولید دو miRNA بالغ به نام‌های 146a-5p، 146a-3p و 146b-3p، 146b-5p را موجب می‌شود. علی‌رغم شباهت ساختاری mir-146a و mir-146b، این دو اثر یکدیگر را جبران نمی‌کنند [۵، ۶].

مطالعات تخلیه ژنی یا همان ناکاوت ژنی نشان داده‌اند که ناکاوت mir-146a باعث تولید بیش از حد TNF α و IL-6، سندرم میلوپرولیفراتیو^۸، التهاب مزمن، کاهش در تعداد و کیفیت stem cell خونساز، از دست رفتن عملکرد سلول‌های T تنظیم کننده^۹ می‌شود که پیامد آن بیان بالای STAT1 و کاهش ترشح تولید IFN- γ است [۵]. حذف ژنتیکی mir-146a منجر به سیگنالینگ غیر قابل کنترل مسیر فعال سازی NF κ B و التهاب مزمن و تومور می‌شود [۴].

Pre-mir155 نیز موجب تولید دو miRNA بالغ به نام‌های mir155-5p و mir155-3p می‌شود. این miRNA که در سیستم هماتوپویتیک نقش مهمی دارد، به عنوان یک انکومیکروRNA^{۱۰} مطرح می‌باشد و بیان آن در بسیاری از تومورها افزایش می‌یابد. در موش‌های فاقد mir155، نقص عملکرد سیستم ایمنی در برابر عوامل عفونی و نیز نقص عملکرد سلول‌های B، T و سلول‌های دندریک مشاهده می‌شود [۵]. منطقه کد کننده mir-155 در داخل اگزون یک non-coding RNA بنام B-cell Integration Cluster (BIC) قرار دارد. MiR-155 حاصل پردازش رونوشت اولیه این ژن می‌باشد و به دنبال تحریک ریسپتورهای آنتی‌ژنی (از

⁷ Tuning⁸ Myeloproliferative syndrome⁹ Regulatory T cells¹⁰ Oncomir¹ Non-small cell lung cancer (NSCLC)² Small cell lung cancer (SCLC)³ Squamous⁴ Adenocarcinoma⁵ Large cell⁶ Bronchoalveolar lavage (BAL)



شکل ۱ - مسیرهای سیگنالینگ mir-146a و mir-155 در لنفوسیت T.

می‌دهد (شکل ۳) [۸،۷]. همچنین miR-146a در سلول‌های T خاطره^۴ CD4⁺ و CD8⁺ T افزایش می‌یابد و باعث حفاظت سلول‌ها در برابر آپوپتوز^۵ با واسطه Fas یا AICD با هدف قرار دادن FADD^۶ در سلول‌های T می‌گردد [۷]. از طرفی miR-146a پروتیین کیناز C اپسیلون^۷ (PRKCE) را که در همراهی با STAT4^۸ نقش مهمی در تقویت پاسخ سلول‌های T helper 1 دارد را مهار می‌کند [۸]. از سویی پروفایل miRNAهای در گردش خون بعنوان اثر انگشت در بیماری‌های گوناگون مطرح است، زیرا در سرم و پلاسما بسیار پایدار هستند. [۹] MiR-146a در سرطان ریه کاهش پیدا می‌کند در حالی که miR-155 در سرطان ریه افزایش می‌یابد [۹].

پلی‌مورفیسم‌های^۹ (SNP) تک‌نوکلئوتیدی شایع در miR-146a و miR-155:

SNPs در miRNA بر روی ویژگی و عملکرد آن تاثیر می‌گذارد و با تغییر بیان و یا بلوغ آن باعث ایجاد حساسیت به سرطان می‌گردد. بطور مثال پلی‌مورفیسم RS2910164(G>C) در miR-146a باعث حساسیت به سرطان ریه می‌گردد [۱]. وجود

جمله^۱ TLR،^۲ TCR،^۳ BCR و غیره) بطور قوی دچار دچار تنظیم افزایشی می‌گردد.

MiR-155 باعث تنظیم و کاهش بیان CTLA4 نیز می‌گردد (شکل ۱). همچنین سطح بیان آن در سلول‌های بالغ T تنظیم کننده CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ نسبت به سلول‌های T CD4⁺CD25⁺FOXP3⁻ افزایش می‌یابد.

نقص miR-155 باعث نقص در مسیر سیگنالینگ IL-2 که نقش مهمی در تکامل سلول‌های T تنظیم کننده دارد می‌گردد. این کار با هدف قرار دادن SOCS1 که یک مولکول مهاري مهم در مسیر سیگنالینگ IL-2 است انجام می‌پذیرد. همچنین SOCS1 مسیر سیگنالینگ رسپتور اینترفرون گاما (IFN-γ) را با تنظیم منفی STAT1 سرکوب می‌کند. STAT1 توسط miR-146a نیز سرکوب می‌شود. بنابراین این دو miRNA در تنظیم سلول‌های T تنظیم کننده اهمیت دارند. MiR-155 با تنظیم بیان CD62L بطور مستقیم می‌تواند عملکرد سلول‌های T تنظیم کننده را تنظیم نماید (شکل ۲) [۷]. MiR-146a به عنوان فیدبک منفی در مسیر TLR در سلول‌های با منشا میلوئیدی عمل می‌کند و دو مولکول مهم در مسیر NFκB به نام IRAK1 و TRAF6 را هدف قرار

⁴ Memory T cells

⁵ Apoptosis

⁶ FAS-associated death domain protein

⁷ Protein kinase C epsilon

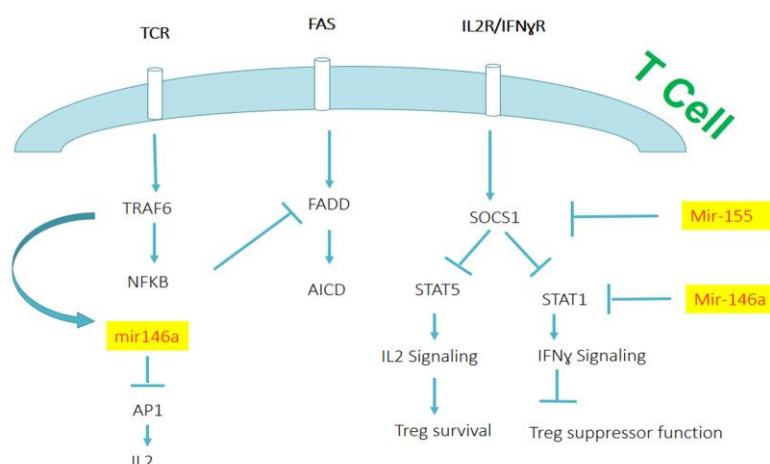
⁸ Signal transducer and activator of transcription

⁹ Single nucleotide polymorphism (SNP)

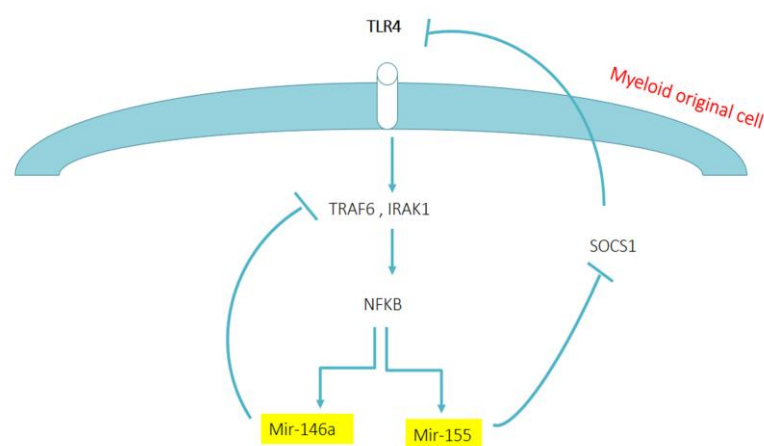
¹ Toll-like receptors

² T cell receptor

³ B cell receptor



شکل ۲ - مسیرهای سیگنالینگ mir-155 و mir-146a در لنفوسیت T.



شکل ۳ - مسیرهای سیگنالینگ mir-155 و mir-146a در سلول های با منشا میلوئیدی.

در بافت های سرطانی ریه مقدار MiR-155 در پلاسما و خلط بطور قابل توجهی افزایش می یابد و بعنوان یک مارکر تشخیصی مطرح است. Mir155 می تواند به عنوان یک انکوژن در شروع و پیشرفت سرطان دارای عملکرد باشد. پلی مورفیسم rs767649 A>T موجب افزایش رونویسی و در نتیجه افزایش سطح بیان میکرو RNA شده و باعث افزایش خطر و پیش آگهی بد در NSCLC می گردد. این واریانت با افزایش بیان miR-155 باعث تقویت تکثیر سلولی، مهاجرت و تهاجم توسط مسیرهای استرس اکسیداتیو و همچنین کاهش حساسیت به کموتراپی یا رادیوتراپی می گردد [۱۱].

پلی مورفیسم شایع G/C در توالی Pre-mir146a مقدار تولید miR-146a را (که با آلل C در ارتباط است) به میزان دو برابر نسبت به آلل وحشی کاهش می دهد [۱].

MiR-146a در لنفوم Large B cell، ملانوما، سرطان سلول های اسکواموس سرویکس و کارسینومای تیروئید افزایش و در سرطان پستان، ریه، پانکراس، کارسینوم گاستریت کاهش می یابد. سطوح پایین miR-146a در مبتلایان به NSCLC دارای پیش آگهی بد است. بنابراین miR-146a به عنوان یک سرکوبگر توموری و یا سرکوبگر انکوژن ها مطرح است [۱۰].

Tohoku Journal of Experimental Medicine. 2014;232(2):85-95.

- 10) Wang C, Guan S, Liu F, et al. Prognostic and diagnostic potential of miR-146a in oesophageal squamous cell carcinoma. *British Journal of Cancer*. 2016; 114(3):290–297.
- 11) Xie K, Ma H, Liang C, et al. A functional variant in miR-155 regulation region contributes to lung cancer risk and survival. *Oncotarget*. 2015;6(40):42781–42792.

نتیجه گیری:

بررسی پلی مورفیسیم‌ها در ساختمان miR-146a-5p و miR-155-5p در بیماران مبتلا به NSCLC در بین جمعیت‌های مختلف دنیا و همچنین اثرات این پلی مورفیسیم‌ها بر روی مسیرهای ایمنولوژیک و شناخت شبکه مولکولی که بیولوژی سلول‌های ایمنی را تحت تاثیر قرار می‌دهد در پاسخ‌های ضد توموری این بیماران مورد نیاز می‌باشد. این امر در تشخیص زودهنگام و در مراحل اولیه بیماری و نیز جهت دست‌کاری پاسخ‌های ایمنی بیماران، (با سرکوب و یا افزایش بیان این دو miRNA) می‌تواند کمک کننده باشد.

منابع:

- 1) Ren YG, Zhou XM, Cui ZG, Hou G. Effects of common polymorphisms in miR-146a and miR-196a2 on lung cancer susceptibility: a meta-analysis. *Journal of Thoracic Disease* 2016;8(6):1297-1305.
- 2) Domagala-Kulawik J, Osinska I, Hoser G. Mechanisms of immune response regulation in lung cancer. *Translational Lung Cancer Research*. 2014;3(1):15-22.
- 3) Huffaker TB, Hu R, Runtsch MC, et al. Epistasis between microRNAs 155 and 146a during T cell-mediated antitumor immunity. *Cell Reports*. 2012;2(6):1697–1709.
- 4) Mehta A, Baltimore D. MicroRNAs as regulatory elements in immune system logic. *Nature Reviews Immunology*. 2016;16(5):279-294.
- 5) Testa U, Pelosi E, Castelli G, Labbaye C. miR-146 and miR-155: Two key modulators of immune response and tumor development. *Non-coding RNA*. 2017;3(3):22.
- 6) Labbaye C, Testa U. The emerging role of miR-146a in the control of hematopoiesis, immune function and cancer. *Journal of Hematology & Oncology*. 2012;5:13.
- 7) Podshivalova K, Salomon DR. microRNA regulation of T lymphocyte immunity: modulation of molecular networks responsible for T cell activation, differentiation and development. *Critical Reviews in Immunology*. 2013;33(5):435–476.
- 8) Möhnle P, Schütz SV, van der Heide V, et al. MicroRNA-146a controls Th1-cell differentiation of human CD4+ T lymphocytes by targeting PRKCε. *European Journal of Immunology*. 2015;45(1):260-272.
- 9) Wu C, Cao Y, He Z, et al. Serum levels of miR-19b and miR-146a as prognostic biomarkers for non-small cell lung cancer.

The Role of miR-146a, miR-155 and Their Polymorphisms on Immune System and Prognosis of Lung Cancer

Neda KakaDezfuli^{1,2}, Esmail Mortaz^{1,3*}, Shamila Darvish-Alipour⁴, Sharareh Seyfi⁵, Adnan Khosravi⁵, Babak Salimi⁵

- 1) Department of Immunology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 2) Department of Immunology, School of Medicine, Dezful University of Medical Sciences, Dezful, Iran
- 3) Clinical Tuberculosis and Epidemiology Research Center, National Research Institute of Tuberculosis and Lung Diseases (NRITLD), Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 4) Molecular Medicine Department, Institute of Medical Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran
- 5) Chronic Respiratory Diseases Research Center, National Research Institute of Tuberculosis and Lung Diseases (NRITLD), Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract:

Lung cancer is one of leading cause of death among men and women. More than 85% of lung cancers is non-small cell lung cancer (NSCLC). Early diagnosis significantly reduces mortality in lung cancer patients, however, its diagnosis is difficult in the early stages of the disease and is based on invasive methods such as bronchoscopy and biopsies. Therefore, non-invasive cost-effective markers are considered for early diagnosis of the cases. MicroRNAs, or miRNAs, are small molecules, including 18-22 nucleotides, which play an important role in many types of cancers. The presence of polymorphism and genetic changes in the miRNAs genome affect their expression and processing. The two important miRNAs in tumor immune responses are mir-146a and mir-155 which their polymorphisms may be associated with inappropriate immune responses. The polymorphism of rs2910164(C>G) in mir-146a leads to changes in mir-146a expression and induces susceptibility to variety of neoplasms, including lung cancer. Moreover, the polymorphism of rs767649(A>T) results in higher mir-155 expression, together with increased risk of occurrence and poor prognosis of NSCLC cases. Therefore, the study of the roles and effects of mir-146a-5p, mir-155-5p and their polymorphisms on performance of the anti-neoplastic responses may be helpful in early diagnosis and treatment of the NSCLC patients.

Keywords: miRNA, NSCLC, polymorphism, mir-155, mir-146a

* Corresponding Author:

Esmail Mortaz, PhD. Clinical Tuberculosis and Epidemiology Research Center, National Research Institute of Tuberculosis and Lung Diseases, Daar-Abad, Niavaran, Tehran, Iran. Email: emortaz@gmail.com