

MikroRNA'lar ve kanser

MicroRNAs and cancer

Faruk Saydam, İrfan Değirmenci, Hasan Veysi Güneş

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

Geliş Tarihi / Received: 28.10.2010, Kabul Tarihi / Accepted: 26.11.2010

ÖZET

MikroRNA(miRNA)'lar, yüksek seviyede korunan DNA bölgelerinden kodlanan fakat proteine translasyonu gerçekleştirilmeyen, yaklaşık 18-24 nükleotid uzunluğunda, küçük RNA molekülleridir. Bu protein kodlamayan RNA molekülleri kendi nükleotid dizilerinin tamamlayıcısı olan hedef mRNA'lara bağlanıp translasyonel baskılama veya mRNA yıkımı ile transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunun düzenlenmesini gerçekleştirirler. miRNA'lar bu yolla hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması ve hücre ölümü gibi homeostatik süreçlerde önemli roller oynamaktadır. Yakın zamanda yapılan gen ekspresyon çalışmaları, kontrolsüz hücre bölünmesinin gerçekleştiği kanser hücrelerinde değişikliğe uğramış miRNA ekspresyonlarını gözler önüne sermiştir. Kanser başlangıcında ve ilerlemesinde, miRNA'lar hedefledikleri genin karakterine göre tümör süpresörler veya onkogenler gibi fonksiyon göstermektedirler. Bu derlemede miRNA oluşumu ve miRNA'ların kanser gelişimindeki rolleri anlatılmış olup, miRNA'ların kanser ile olan ilişkisini ortaya koyan çalışmalar gözden geçirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Kanser, mikroRNA, Moleküler Biyoloji

GİRİŞ

Watson ve Crick tarafından DNA'nın yapısının keşfedilmesinden 50 yılı aşkın bir süre geçmiş olmakla birlikte, geçen bu süreçte moleküler biyoloji alanında çok hızlı gelişmeler kaydedilmiştir. Klinik tıp alanında ilerleme sağlayabilmek için moleküler biyoloji alanındaki gelişmelerin daha iyi anlaşılabilmesi gerekmektedir.¹

Araştırmalar geniş ölçüde DNA dizisinin çözümlenmesine ve DNA dizisi tarafından kodlanan proteinlerin belirlenmesine odaklanmıştır. İnsan genomunda yer alan DNA'nın büyük bir bölü-

ABSTRACT

MicroRNAs (MiRNAs) are highly conserved, non-protein-coding, approximately 18-24 nucleotides, small RNA molecules. These non-protein-coding RNAs bind target mRNAs which are complementary with their sequences and post-transcriptionally regulate gene expression through translation repression or mRNA degradation. Using this pathway, miRNAs play important roles in homeostatic process including cell proliferation, differentiation and cell death. Recent studies based on gene expression have revealed that miRNA expressions are deregulated in cancer cells which have uncontrolled grow. According to character of target mRNA, miRNAs act like tumor suppressor or oncogene in cancer initiation and progression. In this review, miRNA biogenesis and their roles in cancer progression are described and studies setting out the relationship between miRNAs and cancer are reviewed.

Key words: Cancer, microRNA, Molecular Biology

mü, RNA kodlamasına rağmen bu genomun çok küçük bir miktarı (yaklaşık olarak %1.5) fonksiyonel proteinlerin sentezlenmesinde kullanılmaktadır. Yakın zamana kadar genomun geri kalan kısmının çok az önem içerdiği düşünülmekteydi. Fakat bu görüş, küçük RNA moleküllerinin keşfi ile ortadan kalkmış oldu. Bu grup içine giren mikroRNA'lar(miRNA'lar), RNA'ların protein kodlamayan(non-coding) dizileri olarak adlandırılmaktadır. Araştırmacılar, mikroRNA'ların hücresel birçok temel işlevin düzenlenmesinde görev aldığını, bununla birlikte, hücrede miRNA seviyelerinin normal koşulların dışına çıkmasının insanlarda

kanser gelişimi ile bağlantılı olduğunu rapor etmişlerdir. Böylece, mikroRNA'ların tümör gelişiminde onkogen veya tümör süpresörler olarak fonksiyon gösterdikleri ortaya çıkmış oldu. Dolayısıyla bu konuda bir çalışma bilgisinin kanserin erken teşhisi ve tedavisi için önemli olabileceği çok açıktır.¹

1. MikroRNA'ların Yapısı ve Keşfi

MikroRNA'lar, genom üzerinde protein kodlayan intron veya ekzon bölgeleri ve protein kodlamayan bölgelerdeki RNA genlerinden transkripsiyonu sağlanan, fakat proteine translasyonu gerçekleşmeyen, fonksiyonel RNA molekülleridir.² MikroRNA, fonksiyon olarak gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynayan, yaklaşık olarak 18-24 nükleotit uzunluğunda tek iplikçikli bir RNA molekül çeşididir. Pri-miRNA olarak adlandırılan primer transkriptler işlenerek, önce pre-miRNA adlı kısa sap-ilmik yapılarına, sonra da fonksiyonel miRNA'ya dönüştürülür. İnsan genomunda miRNA'ları kodlayan yüksek seviyede korunmuş yüzlerce gen bölgesi keşfedilmiştir. Şu an itibarıyla, (Kasım, 2010) insan genomunda 1048 adet mikroRNA tanımlanmıştır (<http://www.mirbase.org/cgi-bin/browse.pl>).

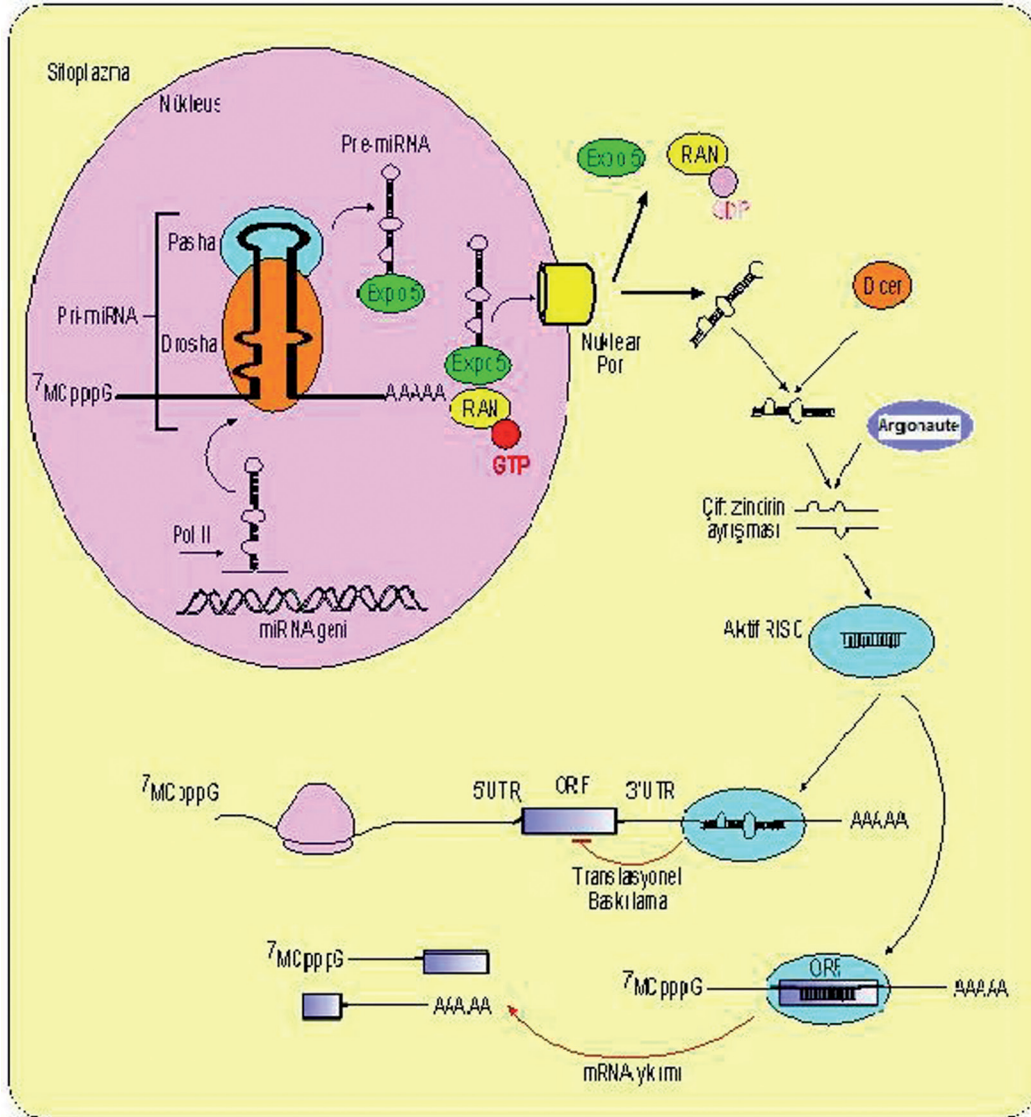
İlk mikroRNA, Lee ve çalışma arkadaşları tarafından 1993 yılında Victor Ambros laboratuvarında keşfedilmiş³ olup, mikroRNA terimi 2001 yılından itibaren kullanılmaya başlanmıştır.⁴ Lee ve arkadaşları 1993 yılında yuvarlak solucan olan *Caenorhabditis elegans*'ı gen içeriği bakımından taramışlar, lin-4 olarak adlandırdıkları genin hiçbir protein kodlamasına karşın 22 nükleotit uzunluğunda küçük bir RNA transkribe ettiğini rapor etmişlerdir.³ 2000 yılında Reinhart ve arkadaşları *C.elegans*'da 22 nükleotit uzunluğunda, let-7 olarak adlandırılan, canlılığın gelişim zamanlamasını düzenleyen farklı bir mikroRNA keşfetmişlerdir.⁵ Let-7'nin insanları da içine alan türler arasında da korunmuş olduğu keşfedilmiş olup⁶, bu durum let-7 nin önemli bir biyolojik fonksiyona sahip olduğunu göstermiştir. Daha sonraki yıllarda let-4 ve let-7'ye benzeyen birçok küçük RNA molekülü, hemen hemen bütün çok hücreli organizmalarda keşfedilmiştir ve miRNA'lar olarak isimlendirilmiştir.⁷

2. MikroRNA'ların Oluşumu

MikroRNA'lar, birbirini izleyen üç adımlık işlem süreci sonucunda meydana gelir. İlk adımda miRNA genlerinden primer miRNA (pri-miRNA)'ların transkripsiyonu gerçekleşir. İkinci adımda pri-miRNA'lar prekürsör miRNA (pre-miRNA)'lara nükleus içinde dönüştürülür. Üçüncü ve son adımda olgun miRNA'ların sitoplazma içinde oluşumu gerçekleşir.⁸

MikroRNA'lar, primer transkript (pri-miRNA) olarak RNA polimeraz II enzimi tarafından genomik DNA'dan sentezlenir. Pri-miRNA (500-3000 baz), "cap" ve "poli A" kuyruğuna sahip sap-ilmik yapısındadır (Şekil 1). Çekirdekte pri-miRNA, RNAaz III enzim ailesinin bir endonükleazı olan Drosha ve kofaktörü Pasha (veya DGCR8), tarafından yaklaşık olarak 70 nükleotit uzunluğunda olan pre-miRNA'ya dönüştürülür.⁹ Bir nükleaz olan Drosha ile çift iplikli RNA bağlayıcı bir protein olan Pasha'nın oluşturduğu komplekse mikroişlemci kompleks (Microprocessor complex) adı verilir.¹⁰

Pre-miRNA molekülü bir nüklear taşıma reseptörü olan Exportin 5 ve nüklear bir protein olan RAN-GTP'ye bağımlı şekilde sitoplazmaya taşınır.¹¹ Sonrasında, pre-miRNA'lar sitoplazmada RNAaz III enzim ailesinden Dicer adlı endonükleaz ile kesilerek 18-24 nükleotit uzunluğunda çift zincirli miRNA: miRNA dubleksine çevrilir.¹² Dicer, aynı zamanda RNA ile tetiklenmiş susturma kompleksi (RNA-induced silencing complex; RISC) oluşumunu başlatır.¹³ Dicer, pre-miRNA'nın sap-ilmliğini kestikten sonra, miRNA: miRNA dubleksinden sadece biri RISC kompleksine dahil olur. RISC kompleksinin içinde yer alan bir RNAz olan argonaute'un etkisiyle bu iki iplikten 5' ucu daha kararlı olanı seçilip komplekse dahil edilir. Bu iplik kılavuz iplik (guide strand) olarak adlandırılır. Diğer iplik, anti-kılavuz veya yolcu iplik olarak adlandırılır, RISC kompleksinin substratı olarak sindirilir. MikroRNA'lar, aktif RISC kompleksine entegre olduktan sonra, ya argonaute proteinleri yardımıyla mRNA'nın yıkımına ya da protein translasyonunun baskılanmasına neden olurlar.¹⁴ (Şekil 1)



Şekil 1. MikroRNA'ların oluşumu ve fonksiyonu.

İlk olarak, nükleus içerisindeki miRNA geninin transkripsiyonu gerçekleştiikten sonra sap-ilmik yapısında primer transkript (pri-miRNA) oluşur. Drosha ve kofaktörü Pasha pri-miRNA'yi belirli bölgelerden keserek daha kısa yapıdaki pre-miRNA'ya dönüştürürler. Pre-miRNA molekülü, Exportin 5 ve RAN-GTP'ye bağımlı şekilde sitoplazmaya taşınır. Pre-miRNA'lar sitoplazmada Dicer tarafından kesilerek çift zincirli miRNA'ya çevrilir. Daha sonra RISC kompleksinde yer alan Argonaute proteini, daha kararlı olan ipliği seçerek RISC kompleksine dahil eder. Tek zincirli miRNA'yı içeren aktif haldeki RISC kompleksi baz çiftleşme özelliği ile mRNA'ya bağlanarak translasyonunun inhibisyonuna, veya mRNA'nın yıkımına neden olur.

RISC: RNA-induced silencing complex, UTR: Untranslated Region, ORF: Open Reading Frame, Expo 5: Eksportin 5

3. MikroRNA'ların Fonksiyonu

Olgun mikroRNA'lar hedef genlerin ekspresyonunu azaltarak protein sentezinin düzenlenmesine katılırlar. MikroRNA'lar kendi nükleotid dizilerine komplementer hedef genleri tanıma özelliğine sahiptir. MiRNA, RISC ile kompleks oluşturur, baz çiftleşme özelliği ile mRNA'ya bağlanır, sonrasında

da protein translasyonunun inhibisyonuna ve/veya mRNA'nın yıkımına neden olur.²

MikroRNA, hedef mRNA'nın 3' ucundaki translasyona uğramayan bölgeye (untranslated region-UTR) veya hedef mRNA'nın ORF (open reading frame) bölgesine bağlanır (Şekil 1). Bağlanma pozisyonu mikroRNA kompleksinin mRNA'ya

nasıl komplementer olduğuna bağlıdır. 3' UTR bölgesine bağlanma kusurlu, tam olmayan, eksik komplementerliği ihtiva eder ve translasyonun bas-kılanması ile sonuçlanır. ORF bölgesi içine bağlanma ise kusursuz, tam komplementerliği gösterir ve Argonaute2(Ago2) tarafından mRNA'nın yıkımı ile sonuçlanır.¹⁵ Ayrıca, mikroRNA'ların her birinin birden fazla mRNA'nın ekspresyonunu düzenleyebildiği ve mRNA'ların her birinin de birden fazla mikroRNA tarafından hedeflenebildiği görülmektedir.¹⁶

4. MikroRNA ve Kanser

Hücreler anormal olarak çoğaldıklarında ve apoptoz fonksiyonlarını kaybettiklerinde genellikle kanserleşirler. MikroRNA'ların hücre proliferasyonu ve apoptoz gibi birçok biyolojik süreçte etkili anahtar moleküller oldukları bugün bilinmektedir.

Kanserleşme sürecine mikroRNA'ların katkıda bulunduğu ilk kanıtı, Calin ve arkadaşlarının 2001 yılında Kronik Lenfositik Lösemili (KLL) hastalarda yaptıkları moleküler çalışmayla ortaya konulmuştur.¹⁷ KLL batı toplumlarında en sık görülen yetişkin lösemi formudur. KLL hastalarının yaklaşık %50'sinde 13q14 bölgesi delesyona uğramaktadır. Detaylı delesyon analizleri sonucunda bu bölgede yalnızca mir-15-a ve mir-16-1 genlerinin bulunduğu tespit edildi. Daha sonra KLL hastalarının %68'inde bu miRNAların ekspresyonlarının azaldığı ya da olmadığı ortaya konmuştur.¹⁷

Kanser ve normal doku arasındaki ekspresyon farklılıklarının belirlenmesi, miRNA'ların kanser patogeneziindeki rollerini güçlendirmiştir. Calin ve arkadaşları, 245 insan ve fare miRNA probu içeren miRNA mikroarray çalışmasıyla mir-15a ve mir-16-1'in ekspresyon düzeylerinin B hücreli KLL hastalarında belirgin şekilde azaldığını rapor etmişlerdir. MiRNA ekspresyon profilinin, KLL hastalarının klinik ve biyolojik davranışıyla ilişkili olduğunu göstermişlerdir.¹⁷

Calin ve arkadaşları, 2004 yılında yayınladıkları diğer bir çalışmada, insan miRNA genlerinin kanser ile ilişkisini araştırmak için, 186 adet miRNA geninin DNA üzerindeki pozisyonunu haritalandırmışlardır.¹⁸ Bu genlerin kromozomal pozisyonları, daha önceden rapor edilen belirli kanser türlerinin gelişimi ile ilişkili olduğu bilinen genetik değişiklikler ile karşılaştırılmıştır. MiRNA genlerinin çoğunlukla, heterozigotinin kaybolduğu bölgeler olan kırılğan

kısımlara yerleşik olduğu gösterilmiştir. Bu kırılğan kısımlar amplifikasyonun minimal olduğu bölgeler veya genel kromozomal kırılma noktası bölgeleridir. Bu moleküler lezyonlar sonucu oluşan genetik hasar spesifik kanserlere neden olmaktadır.¹

2003 yılında Michael ve arkadaşları, ilk olarak insanlardaki katı tümörlerde (kolonik ve rektal adenom karsinomlar) normal dokular ile karşılaştırıldığında ekspresyon seviyeleri değişmiş olan miRNA'ları rapor ettiler.¹⁹ Daha sonraki yıllarda değişikliğe uğramış miRNA seviyeleri meme kanserinde²⁰, Burkitt's lenfomada²¹, malign beyin tümörlerinde²², tiroid kanserinde²³, akciğer kanserinde²⁴, prostat kanserinde²⁵ ve hepatosellüler karsinomda²⁶ keşfedilmiştir.

MiRNA'lar, hedefledikleri mRNA'nın moleküler yollardaki özelliğine göre onkogenik veya tümör süpresör özellik kazanabilir. Normal dokularda, miRNA'ların bazılarının protoonkogenlerin translasyonunu inhibe ettiği rapor edilmiştir. Fonksiyonları bir onkogenin ekspresyonunu kontrol etmek olan bu miRNA'lar "tümör süpresör miRNA'lar"(TS-mir) olarak ifade edilmektedir. Dolayısıyla tümör baskılayıcı miRNA'ların ekspresyonunun azalması onkogenin ekspresyonunun artmasına ve tümör oluşumuna sebep olur. Bunun tersi olarak, "onko-mir" olarak ifade edilen bazı miRNA'ların kanserin gelişimini arttırdığı görülmektedir. Bu miRNA'lar bir tümör süpresörün baskılanmasını sağlarlar. MikroRNA'lar, onkogen ve tümör süpresör mRNA'ların her ikisini de potansiyel hedef olarak görebilir. Bu yüzden, belirli bir miRNA'nın gerçek fonksiyonu ya TS-mir'in veya onko-mir'in hücrel içeriğine bağlıdır.²⁷

5. Tümör Süpresör MikroRNA'lar

MikroRNA'ların kanserleşme sürecine etkisi ilk olarak 2001 yılında miR-15a ve miR16-1'in keşfedilmesi ile rapor edilmiş¹⁷ olup, bu mikroRNA'ların etki mekanizması ise 2005 yılında Cimmino ve arkadaşlarının yayınladıkları çalışma ile ortaya konmuştur.²⁸ Bu iki miRNA'nın ekspresyon seviyelerinin KLL (Kronik Lenfositik Lösemi) hücrelerinde, anti-apoptotik B hücreli lenfoma proteini olan Bcl-2'nin üretimi ile ters ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Böylelikle Cimmino ve arkadaşları miR-15a ve miR16-1'in tümör süpresör aktiviteye sahip olduklarını tespit etmişlerdir. Bu iki miRNA'nın düşük seviyelerinin (tümör süpresör fonksiyon kaybı) yüksek seviyede Bcl-2 proteini ile ilişkili olduğu

dolayısıyla anormal hücre büyümesini gerçekleştirdiği yüksek seviyelerinin (normal tümör süpresör aktivite) ise apoptoz ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur.²⁸ Normal seviyelerinin kontrolsüz hücre büyümesini engellediği rapor edilen miR-15a ve miR16-1'in böylelikle tümör süpresör aktiviteleri belirlenmiş oldu.

Tümör süpresör özellik gösteren diğer bir miRNA, let-7 ailesinin üyeleridir(let-7b, let-7c, let-7d, let-7f ve let-7g). Akciğer kanserli hastaların akciğer dokusu, normal akciğer dokusu ile karşılaştırıldığında çoğunlukla düşük let-7 seviyeleri gözlenmiştir.²⁴ Bir akciğer kanseri hücre kültürü modelindeki let-7 seviyeleri, normal hastaların akciğer dokusundaki let-7 seviyelerinden daha yukarılara çıkarıldığı zaman, kanser hücrelerinin büyümesinin önemli derece düştüğü rapor edilmiştir.²⁴

Johnson ve arkadaşları, 2005 yılında let-7'nin insanlarda bulunan önemli bir onkogen olan RAS'ın aktivitesini kontrol ettiğini buldular.²⁹ Yapılan bu çalışmada, düşük seviyelerde let-7 ihtiva eden akciğer tümör dokuları, önemli derecede artmış RAS protein seviyelerine sahiptir. RAS onkogeninin mRNA dizisi, let-7'nin bu mRNA'ya bağlanmasını ve dolayısıyla proteine translasyonunu engellemesini sağlayan let-7'ye komplementer bağlanma bölgeleri içermektedir. let-7'nin düşük seviyeleri, RAS geninin kontrolsüz bir şekilde fonksiyon göstermesine imkan tanımaktaydı.²⁹ Sonuç olarak let-7 ailesinin üyelerinin, RAS onkogenin mRNA'sını hedefleyen bir tümör süpresör fonksiyona sahip olduğu tespit edilmiş oldu. Son yapılan çalışmalarda, let-7 mikroRNA ailesinin üyelerinin çok iyi tanımlanmış onkogenler olan HMGA2³⁰ ve c-Myc31'nin mRNA'larını da inhibe ettikleri rapor edilmiştir.

Üç adet izoformu bulunan miR-29(miR-29a, miR-29b, miR-29c), tümör süpresör karakter sergileyen mikroRNA'lar arasındadır. Mir-29 ailesinin üyelerinin kronik lenfositik lösemi (KLL)³², akciğer kanseri³³, invaziv meme kanseri³⁴, akut miyeloit lösemi (AML)³⁵ ve kolanjiyokarsinom³⁶ hücrelerini baskılayıcı olarak aktivite gösterdiği yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuştur.

MiRNA-143'ün birçok histolojik tümör türlerinde, anormal büyümeyi baskıladığı görülmüştür. B-hücreli kanserler³⁷, meme, serviks³⁸, kolorektal³⁹, mesane⁴⁰ ve hipofiz tümörlerinde⁴¹, miR-143'ün tümör süpresör olarak görev yaptığı rapor edilmiştir. Serviks kanserinde miR-143'ün hücre proliferasyonu

nunu baskıladığı, kolorektal kanser hücrelerinde ise KRAS (viral onkogen) ve KRAS'ın aşağı sinyal yolunu doğrudan inhibe ettiği gösterilmiştir.

6. Onkogenik miRNA'lar

Tümör süpresör miRNA'ların tersine, onkogenik miRNA'lar çoğunlukla kanser türlerinde kontrolsüz büyümeyi artırıcı ve/veya anti-apoptotik yönde fonksiyon gösterirler. İlk olarak keşfedilen onkogenik miRNA'lardan bir tanesi, protein kodlamayan gen olan BIC(ing.B cell İntegration Cluster) ile beraber eksprese edilen miR-155'tir. Mir-155'in hedef mRNA'sı tam olarak belirlenememiş olmakla birlikte, ekspresyonunun tavukta lösemi ve lenfoma oluşumunu artırdığı gösterilmiştir.⁴² Yakın zamanda yapılan çalışmalarda, miR-155'in B hücreli lenfoma⁴³, meme³⁴, pankreas⁴⁵, akciğer³³ve Hodgink's lenfoma⁴⁴ gibi kanserlerde yüksek ekspresyon sergilediği gösterilmiştir.

Bir onkogen gibi fonksiyon gösterdiği tespit edilen diğer bir mikroRNA, miR-21'dir. Mir-21'in AML³⁵, KLL³² ve glioblastoma⁴⁶ gibi hematolojik malign'lerde ve katı tümörlerde, pankreas, prostat, mide, kolon, akciğer, meme⁴⁷ ve karaciğer kanseri⁴⁸ gibi birçok kanser türünde yüksek seviyede ekspresyonu gözlenmiştir. Mir-21, transkripsiyonel olarak Stat3 tarafından IL-6 sinyal yolağında aktif duruma geçmektedir.⁴⁹ Mir-21, invazyon ve metastaz olaylarında çok iyi karakterize edilmiştir. Mir-21, hücre hareketini ve invazyonu, tümör süpresör bir protein olan PTEN'in mRNA'sını hedefleyerek teşvik etmektedir. PTEN, birkaç MMP(Matriks Metalloproteaz)'nin ekspresyonunu engelleyerek dolayısıyla hücre invazyonunu azaltarak tümör süpresör bir etki göstermektedir.⁵⁰ Son zamanlarda, kolorektal kanserlerde Mir-21'in, PDCD4'ü baskıladığı, bunun da invazyon ve metastaza yol açtığı belirlenmiştir.⁵¹

Mir-17-92 gen kümesi, insan genomunda kromozomun 13q31.3 yerleşiktir. Bu gen kümesi altı adet miRNA (miR-17, miR-18a, miR-19a, miR-20a, miR-19b-1, miR-92-1) kodlamaktadır. Mir-17-92 gen kümesi, onkogenik olduğu gösterilen ilk miRNA'yı kodlayan bir bölgedir. c-Myc onkogeninin fazla ekspresyonunun gerçekleştiği transgenik farelerde miR17-19 gen kümesinin yüksek seviyede ekspresyon neden olarak B hücreli lenfomanın gelişimini artırdığı belirlenmiştir.⁵² Bu gen kümesinin, akciğer gelişiminde, bağışıklık ve hematopoetik

sistemlerin düzenlenmesinde anahtar rol oynayan bir bölge olmasına bağlı olarak, miR-17-92 gen kümesinin üyelerinin çok çeşitli katı tümörlerde, hematolojik malignansilerde, meme, kolon, akciğer, pankreas, prostat, mide ve lenfomaları da içine alan kanser türlerinde yüksek seviyede ekspresyonu gerçekleşmektedir.⁵³ Ekspresyon sonucu oluşan miRNA'lar, proliferasyonu teşvik ederek, apoptoz inhibisyonunu sağlayarak ve tümör anjiyogenezi tetikleyerek kanser gelişimine katkıda bulunmaktadır. Mir-17-92 gen kümesinin kanser gelişimine katkısının iki mekanizma ile gerçekleştiği düşünülmektedir. Bunlardan bir tanesi birkaç lenfoma ve kanser türünde görülen 13q31 lokusunun amplifikasyonu, diğer mekanizma ise miR-17-92 gen kümesinden kodlanan pri-miRNA'nın transkripsiyonel aktivasyonudur. Onkogenik transkripsiyon faktörü olan c-Myc, miR-17-92 gen kümesinin upstream bölgesine bağlanarak bu genin ekspresyonunu aktive etmektedir.⁵⁴ Ayrıca E2F ailesinin üyelerinin(E2F1,2 ve 3) de miR-17-92 gen kümesini aktive ettiği gösterilmiştir. E2F1,2 ve 3 bu gen kümesinin aktivasyonunu sağlamakla birlikte, bu kümedeki miR-17 ve miR-20a tarafından gerçekleşen baskılamının hedefi durumundadır. Bununla birlikte, aktivasyon ve baskılama seviyeleri, miRNA ve E2F ailesi üyelerinin bireysel çiftleri arasındaki değişkenliğe bağlıdır.⁵⁵

Sonuç

MikroRNA'ların yaklaşık olarak 17 yıl önce keşfedilmesinden bu zamana kadar, miRNA biyosentezi, etkisi ve fonksiyonlarının mekanizması hakkında bildiklerimiz büyük ölçüde arttı. Böylelikle, miRNA'ların hücrel gelişim, apoptoz ve metabolizma gibi önemli biyolojik fonksiyonların düzenleyicileri oldukları ortaya çıkmış oldu. Protein kodlamayan küçük RNA'lar tarafından protein ekspresyonunun düzenlenmesinin keşfedilmesi 21. yüzyılın önemli bir atılımı olarak tarihe geçti.

MikroRNA'ların keşfinden sonra, fonksiyonları hakkında yapılan birçok çalışma, miRNA'ların kanser gelişiminde anahtar rol oynadıklarını ortaya çıkarmıştır. MiRNA'lar hedefledikleri mRNA'lara bağlı olarak kanser gelişiminde tümör süpresör veya onkogen olarak fonksiyon göstermektedirler. Buldukları şartlara bağlı olarak bazı miRNA'lar ise hem tümör süpresör hem de onkogen karakter sergileyebilir. Bu kategoriye önemli bir örnek, kronik

lenfositik lösemi ve akciğer kanserinde bir tümör süpresör, meme kanserinde ise bir onkogen olarak fonksiyon gösteren miR-29a'dır.⁵⁶ MikroRNA'lar bu fonksiyonlarını kullanarak kanser gelişiminin invazyon, metastaz, proliferasyon ve anjiyogenez gibi biyolojik süreçlerinde rol oynamaktadır. Tümör dokularında miRNA'ların ekspresyon değişiklikleri ve hedefledikleri mRNA'lar göz önüne alındığında protein kodlamayan bu küçük RNA'ların kanserin erken tanısında ve terapötik ajanların geliştirilmesinde önemli faydalar sağlayacağı gerçeği ortaya çıkmıştır. Daha sonra yapılan çalışmalar miRNA'ların doku ve hastalık türü için spesifik olduğunu göstermiştir. Örneğin miR-122 karaciğer ve miR-126'nın ise damar sistemi için sipesifik olduğu belirtilmektedir. Kanserde gelişim sürecinin bir biyomarkırı veya terapötik ajan olarak miRNA'lardan yararlanılması için elde edilen bilgilerin belirli standartlara getirilmesi gerekmektedir.

MiRNA tedavi yönteminin uygulanabilmesi için bazı sorular cevaplanmayı beklemektedir. Terapötik ajan olarak kullanılmak istenen miRNA'lar tek bir gen ürününü etkilemekten ziyade bütün gen düzenleyici sistemi etkileyebilmektedir. MiRNA'ların her biri, çok sayıda hedef genin ekspresyonunu düzenler ve bir miRNA'nın ekspresyonunun değiştirilmesi umulmadık birçok geni etkileyebilir. Bu durumun tersi olarak, tek bir gen birçok miRNA tarafından düzenlenebilir, belirli bir miRNA'nın ekspresyonunun değiştirilmesi spesifik bir gen hedefini verimli şekilde etkileyebilir. MiRNA tedavi yönteminin başarılı şekilde uygulanabilmesi için bu türlü problemlerin üstesinden gelmeye yönelik yeni araştırma bulgularına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Wijnhoven BP, Michael MZ, Watson DI. MicroRNAs and cancer. *Br J Surg* 2007; 94: 23–30.
2. Shenouda SK, Alahari SK. MicroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor? *Cancer Metastasis Rev.* 2009;28:369–378.
3. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; 75: 843–854.
4. Ruvkun G. Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world. *Science* 2001; 294: 797–799.
5. Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2000;403, 901–906.

6. Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, et al. Conservation of the sequence and temporal expression of let-7 heterochronic regulatory RNA. *Nature* 2000;408(6808):86–89.
7. Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science* 2001;294:853–858.
8. Kwak PB, Iwasaki S, Tomari Y. The microRNA pathway and cancer. *Cancer Sci* 2010; 101: 2309-2315.
9. Lee Y, Ahn C, Han J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003; 425:415-419.
10. Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer*.2006;6:259-269.
11. Lund E, Guttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science* 2004; 303:95-98.
12. Zhang H, Kolb FA, Brondani V, Billy E, Filipowicz W. Human Dicer preferentially cleaves dsRNAs at their termini without a requirement for ATP. *EMBO J* 2002; 21:5875-5885.
13. Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, Hannon GJ. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature* 2001;409:363-366.
14. Gregory RI, Chendrimada TP, Cooch N, Shiekhattar R. Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell* 2005;123:631-640.
15. Sun W, Li YSJ, Huang HD, Shyy JYJ, Chien S. microRNA: A Master Regulator of Cellular Processes for Bioengineering Systems. *Annu Rev Biomed Eng* 2010;12:1-27
16. Pillai RS. MicroRNA function: multiple mechanisms for a tiny RNA? *RNA* 2005;11:1753–1761.
17. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro- RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:15524-15529.
18. Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:2999–3004.
19. Michael MZ, O'Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res* 2003;1: 882–891.
20. Le Quesne J, Caldas C. Micro-RNAs and breast cancer. *Molecular Oncology* 2010;4: 230-241.
21. Metzler M, Wilda M, Busch K, Viehmann S, Borkhardt A. High expression of precursor microRNA-155/BIC RNA in children with Burkitt lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2004; 39: 167–169.
22. Chan JA, Krichevsky AM, Kosik KS. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells. *Cancer Res* 2005;65: 6029–6033.
23. He H, Jazdzewski K, Li W, et al. The role of microRNA genes in papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 19075–19080.
24. Sevli S, Uzumcu A, Solak M et al. The function microRNAs, small potent molecules in human prostate cancer. *Prostate Cancer P D* 2010;13: 208-217.
25. Hayashita Y, Osada H, Tatematsu Y, et al. A polycistronic microRNA cluster, miR-17-92, is overexpressed in human lung cancers and enhances cell proliferation. *Cancer Res* 2005;65: 9628–9632.
26. Murakami Y, Yasuda T, Saigo K, et al. Comprehensive analysis of microRNA expression patterns in hepatocellular carcinoma and non-tumorous tissues. *Oncogene* 2006;25: 2537–2545.
27. Cowland JB, Hother C, Gronbaek K. MicroRNAs and cancer. *APMIS* 2007;115:1090 –1106.
28. Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, et al. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:13944–13949.
29. Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, et al. RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell* 2005;120: 635–647.
30. Lee YS, Dutta A. The tumor suppressor microRNA let-7 represses the HMGA2 oncogene. *Genes Dev* 2007;21:1025–1030.
31. Sampson VB, Rong NH, Han J, et al. MicroRNA let-7a down-regulates MYC and reverts MYC induced growth in Burkitt lymphoma cells. *Cancer Res* 2007;67:9762–9770.
32. Calin GA, Ferracin M, Cimmino A, et al. A microRNA signature associated with prognosis and progression in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2005;353:1793–801
33. Lin PY, Yu SL, Yang PC. MicroRNA in lung cancer. *Brit J Cancer* 2010;103:1144-1148.
34. Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res* 2005;65:7065–7070.
35. Garzon R, Volinia S, Liu CG, et al. MicroRNA signatures associated with cytogenetics and prognosis in acute myeloid leukemia. *Blood* 2008;111:3183–3189.
36. Mott JL, Kobayashi S, Bronk SF, et al. Mir-29 regulates Mcl-1 protein expression and apoptosis. *Oncogene* 2007;26:6133–140.
37. Bruchova H, Merkerova M, Prchal JT. Aberrant expression of microRNA in polycythemia vera. *Haematologica* 2008;93:1009-1016.
38. Lui WO, Pourmand N, Patterson BK, Fire A. Patterns of known and novel small RNAs in human cervical cancer. *Cancer Res* 2007;67:6031-6043.
39. Slaby O, Svoboda M, Fabian P, et al. Altered expression of miR-21, miR-31, miR-143 and miR-145 is related to clinicopathologic features of colorectal cancer. *Oncology* 2008;72:397-402.
40. Lin T, Dong W, Huang J, et al. MicroRNA-143 as a tumor suppressor for bladder cancer. *J Urol* 2009;181:1372-1380.
41. Amaral FC, Torres N, Saggioro F, et al. MicroRNAs differentially expressed in ACTH-secreting pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:320-323.
42. Tam W, Ben-Yehuda D, Hayward WS. bic, a novel gene activated by proviral insertions in avian leukosis virus-induced lymphomas, is likely to function through its noncoding RNA. *Mol Cell Biol* 1997;17:1490–1502.
43. Eis PS, Tam W, Sun L, et al. Accumulation of miR-155 and BIC RNA in human B cell lymphomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:3627–3632.

44. Kluiver J, Poppema S, de Jong D, et al. BIC and miR-155 are highly expressed in Hodgkin, primary mediastinal and diffuse large B cell lymphomas. *J Pathol* 2005;207:243–249.
45. Gironella M, Seux M, Xie MJ, et al. Tumor protein 53-induced nuclear protein 1 expression is repressed by miR-155, and its restoration inhibits pancreatic tumor development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2007;104:16170–16175.
46. Ciafre SA, Galardi S, Mangiola A, et al. Extensive modulation of a set of microRNAs in primary glioblastoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;334:1351–1358.
47. Volinia S, Calin G, Liu CG, et al. A microRNA expression signature in human solid tumors defines cancer targets. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2006;103:2257–2261.
48. Meng F, Henson RH, Wehbe-Janek H, et al. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. *Gastroenterology* 2007;133:647–658.
49. Loffler D, Brocke-Heidrich K, Pfeifer G, et al. Interleukin-6 dependent survival of multiple myeloma cells involves the Stat3-mediated induction of microRNA-21 through a highly conserved enhancer. *Blood* 2007;110:1330–1333.
50. Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, Ghoshal K, Jacob ST, Patel T. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. *Gastroenterology* 2007;133:647–658.
51. Frankel LB, Christoffersen NR, Jacobsen A, et al. Programmed cell death 4 (PDCD4) is an important functional target of the microRNA miR-21 in breast cancer cells. *J Biol Chem* 2008; 283:1026–1033
52. He L, Thomson JM, Hemann MT, et al. A microRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature* 2005;435:828–833.
53. Mendell JT. miRiad roles for the miR-17-92 cluster in development and disease. *Cell* 2008;133:217–222.
54. O'Donnell KA, Wentzel EA, Zeller KI, Dang CV, Mendell JT. c-Myc-regulated microRNAs modulate E2F1 expression. *Nature* 2005;435:839–843.
55. Lee YS, Dutta A. MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol* 2009;4:199-227
56. Gebeshuber CA, Zatloukal K, Martinez J. miR-29a suppresses tristetraproline, which is a regulator of epithelial polarity and metastasis. *EMBO Reports* 2009;10:400–405.
57. Wu WKK, Lee CW, Cho CH, et al. MicroRNA dysregulation in gastric cancer: a new player enters the game. *Oncogene* 2010; 29: 5761-5771