View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by shahrekord university of medical scinces

مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۸، شماره ۱/ فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۵/ ۲۶-۱۸

مقاله پژوهشی

پیش بینی اثرگذاری miR-142، miR-146a و miR-150 در تمایز سلول های naive CD^{4+} به سلول های Th17 در بیماری مالتیپل اسکلروزیس

عارف حسینی[۱]، کامران قائدی[۲و۳*]، شهره تیموری[۱]، رضا نقویان[۱]، محمد حسین نصر اصفهانی[۳]

گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران؛ [۲]گروه زیست مولکولی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران؛ [۳]گروه زیست فناوری سلولی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، پژوهشکده زیست فناوری جهاد دانشگاهی، پژوهشگاه رویان، دانشگاه اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۴/۶/۲۴

چکیده:

زمینه و هدف: **miRNA ها دسته ای از RNA های غیر کدشونده هستند که در فرایندهای مختلف سلولی ایفای نقش می کنند. اخیراً تغییر بیان این مولکول ها در بیماری های بسیاری گزارش شده است. متأسفانه بیماری مالتیپل اسکلروزیس امروزه به عنوان یک بیماری خود ایمن در ایران رو به افزایش است. سلول های Th17 مهم ترین سلول ها در این بیماری می باشند. در این مطالعه ما به دنبال نقش احتمالی miRNA های miR-142، miR-146a و miR-150 در روند تمایز سلول های TH17 بودیم که بدین واسطه می توانند در شروع و روند بیماری MS اثر گذار باشند.**

روش بررسی: **با استفاده از پایگاه داده ی miRwalk که به عنوان یک پایگاه داده جامع که از ۱۰ الگوریتم برای پیش بینی بر هم کنش های miRNA-mRNA استفاده می کند، بر هم کنش های محتمل miRNA هایی که در بیمارهای خود ایمن دچار تغییر بیان می شدند را با ژن هایی که تمایز سلول های TH17 را کنترل می کنند را بررسی کردیم.**

یافته ها: **بر اساس پیش بینی صورت گرفته احتمال می رود miR-142، miR-146a و miR-150 با القای تمایز به سمت سلول های Th17 عامل پاتوژنز بیماری مالتیپل اسکلروزیس باشند؛ بنابراین با مهار این miRNAs امکان کاهش علائم این بیماری وجود دارد.**

نتیجه گیری: **در نهایت انتظار می رود miR-142، miR-146a و miR-150 در سلول های Th17 بیماران مبتلا به MS افزایش بیان داشته باشند، چرا که مطالعات داده شناسی زیستی نشان دهنده ی مهار تنظیم کننده های منفی تمایز Th17 توسط این ۳ miRNA می باشند. در نتیجه می توان چندین راه درمانی با استفاده از این miRNA ها در نظر گرفت، علاوه بر این می توانند شاخص های بیولوژیک مناسبی برای پیش بینی و تشخیص مراحل مختلف بیماری باشند.**

واژه های کلیدی: **مالتیپل اسکلروزیس، miRNA، سلول های Th17.**

مقدمه:

بیماری مالتیپل اسکلروزیس (Multiple Sclerosis) یک بیماری رایج خود ایمن سیستم عصبی مرکزی (CNS) است که در افراد جوان و میان سال رخ می دهد (۱). این بیماری معمولاً حدود سن ۲۰ تا ۴۰ سالگی آغاز می شود و باعث ایجاد یک سری ناتوانی های غیر جراحتی در این افراد می شود. نشانه های ابتدایی بصورت خیلی نادر قبل از ۱۰ سالگی یا بعد از سن ۶۰ سالگی بروز می یابد. زنان معمولاً ۲ برابر مردان به این بیماری مبتلا می شود، مگر در حالت پیش رونده ی ابتدایی بیماری که شیوع در زنان و مردان برابر است (۲). اصفهان یکی از مناطق با احتمال ابتلای متوسط تا زیاد است و مطالعات نشان می دهد که نرخ رشد این بیماری در اصفهان رو به افزایش است (۳).

چندین فنوتیپ یا الگوی پیشرفت بیماری وجود دارد که این فنوتیپ ها نه تنها برای پیش بینی روند بیماری مهم هستند، بلکه جهت تصمیم گیری برای تعیین روش درمانی هم مهم هستند. این فنوتیپ ها شامل

نویسنده مسئول: اصفهان- دانشگاه اصفهان- پژوهشگاه رویان- پژوهشکده زیست فناوری جهاد دانشگاهی- مرکز تحقیقات علوم سلولی- گروه زیست فناوری سلولی- تلفن: ۰۹۱۳۳۲۹۴۹۱۷، E-mail: kamranghaedi@yahoo.com

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 13:11 +0430 on Monday September 11th 2017

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 13:11 +0430 on Monday September 11th 2017

۴ زیر گروه مطرح شده ی زیر می باشند. فنوتیپ عود شونده- بهبود پذیر که این زیر گروه از بیماری به صورت غیر قابل پیش بینی عود می کند و سپس برای یک دوره ی چند ماهه یا چند ساله وارد فاز خاموشی بدون نشانه از فعالیت بیماری می شود، در هر حمله ای که رخ می دهد، ممکن است یک سری اثرات و تخریب هایی از خود به جا بگذارد، اگرچه افراد می توانند مقداری از این صدمات را در دراز مدت جبران کنند. این فاز از بیماری در حدود ۸۰٪ از افرادی که به تازگی به این بیماری دچار شده اند، رخ می دهد (۴). در حدود ۶۵٪ از افرادی که دارای فاز عود شونده- بهبود پذیر هستند. پس از مدتی وارد فاز جدیدی از بیماری به نام پیش رونده ی ثانویه می شوند که افراد با این فنوتیپ دچار آسیب نورولوژیکی بدون فاز بهبود پذیر می شوند. بیش ترین فاصله ای که ممکن است بین این ۲ فاز وجود داشته باشد ۱۹ سال است (۵). فنوتیپ پیش رونده ی اولیه در حدود ۱۰ تا ۲۰٪ از افراد مبتلا را شامل می شود که در افراد، این فاز پس از بروز علایم اولیه فاز بهبودی دیده نمی شود. معمولاً سن شروع بیماری در این افراد بالاتر از سن افراد در فاز عود کننده- بهبود پذیر است و سن آن ها حدود سن افرادی است که از فاز عود کننده- بهبود پذیر وارد فاز پیش رونده ی ثانویه شده اند که حدود ۴۰ می باشد. عود کننده- پیش رونده شکل نادری از این بیماری است که افراد از ابتدای شروع بیماری دچار یک آسیب پایدار عصبی می شوند (۶).

مطالعات گسترده نشان می دهد که سلول های Th17 نقش موثری را در بروز علایم کلیه ی بیماری های خود ایمن از جمله مالتیپل اسکلروزیس ایفا می کنند. سلول های Th17 کلاس جدیدی از سلول های T CD^{4+} هستند که IL-22، IL-21، IL-17F، IL-17A و GM-CSF را ترشح می کنند. تمایز سلول های T بکر به سلول های Th17 به وسیله ی چندین سایتوکاین شامل IL-1β، IL-23، IL-21، IL-6 و TGF-β صورت می گیرد (۷). Th17 مسئول بالا بردن پاسخ در مقابل باکتری و قارچ خارج سلولی است. آن ها همچنین در ایجاد بیماری خود ایمنی هم نقش دارند. سایتوکاین های موثر کلیدی آن شامل IL-22، IL-21، IL-17F و IL-17A است. IL-17 باعث القای سایتوکاین های Proinflammatory می شود که شامل TNFα، IL-1، IL-6 و همچنین کموکاین های Proinflammatory که فعالیت کموتاکسیک سلول های التهابی را به محل التهاب افزایش می دهند (۸). IL-21 به همراه سایتوکاین تکثیری برای نمو Th17 عملکردهای مختلفی دارد که شامل فعال کردن سلول های T، القای سلول های B جهت تمایز به پلاسموسایت و سلول های خاطره و فعال کردن سلول های NK می باشد (۹). IL-22 هم باعث پاسخ التهابی و هم باعث محافظت بافتی می شود (۱۰).

سلول های Th17 التهاب را پیش می برد و در بیماری زایی بسیاری از بیماری های خود ایمنی نقش دارد. TGF-β فاکتور تمایزی برای تولید سلول های T تنظیم گر می باشد در حالی که همراه با IL-6 باعث القای تمایز سلول های Th17 پاتوژنیک می شود. مسیر نمو آن ها به هم دیگر مرتبط است و میل تبدیل شدن (plasticity) به یکدیگر در این ۲ رده سلول وجود دارد. بر هم خوردن تعادل بین این ۲ سلول باعث ایجاد بیماری خود ایمنی یا التهابی می شود. بررسی ها نشان داده اند با تحت تأثیر قرار دادن مسیر IL-17 می توان باعث کاهش بیماری شد (۱۱،۷). اطلاعات کلینیکی و پاراکلینیکی نشان می دهد که سلول های Th17 با چندین بیماری خود ایمنی در ارتباط است که شامل آرتریت، سوریاسیس، مالتیپل اسکلروزیس و لوپوس است (۱۲). در بیماران مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس جمعیت زیر رده سلولی Th17 و در نتیجه میزان سیتوکین IL17 در سلول های تک هسته ای خون محیطی، مایع مغزی- نخاعی و محل ضایعات یا پلاک های عصبی به ویژه در فاز عود نسبت به بهبود، افزایش می یابد. سیتوکین IL17 به همراه IL22 می توانند با القای بیان کموکاین ها توسط سلول های اندوتلیال و نیز تنظیم کاهشی پروتئین های اتصال محکم موجب افزایش نفوذپذیری سد خونی- مغزی و التهاب دستگاه عصبی

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 13:11 +0430 on Monday September 11th 2017

مرکزی شوند. تولید محلی IL-17 توسط سلول های Th17 در سیستم عصبی مرکزی باعث جذب نوتروفیل ها و شروع و پیشرفت بیماری می شود؛ همچنین IL-17 باعث افزایش گرانولوسیت ها شروع بیان G-CSF و GM-CSF می شود. اگرچه بیان GM-CSF برای تمایز Th17 لازم نیست، مطالعات اخیر نشان می دهد که این سایتوکاین برای التهاب عصبی خود ایمنی (Autoimmune neuroinflammation) از طریق سلول های میلوئید در طول فاز موثر پاسخ به سیستم عصبی نفوذ می کند (۷).

microRNA ها مولکول های RNA کوچک غیر کد شونده هستند که شامل ۲۲ نوکلئوتید می باشند و در گیاهان، جانوران و برخی ویروس ها یافت می شوند. این توالی های کوتاه در خاموش کردن RNA و تنظیم بیان ژن در سطح پس از رونویسی نقش دارند (۱۳). عملکرد miRNA به واسطه اتصال به mRNA هدف تحقق می پذیرد. در جانوران این مکمل شدن با انتهای 3'UTR رخ می دهد. در حالی که در گیاهان معمولاً با ناحیه ی کد شونده متصل می شوند (۱۴). اگر اتصال miRNA-mRNA به صورت کامل صورت بگیرد، باعث می شود که رشته ی mRNA بریده و هضم شود، ولی در صورتی که این مکمل شدن به صورت کامل رخ ندهد رشته mRNA تخریب نمی شود، اما در این صورت هم از ترجمه آن جلوگیری می شود (۱۵). تنظیم سیستم ایمنی برای جلوگیری از بیماری های پاتوژنیک از قبیل بیماری خود ایمنی و سرطان ها یک امر حیاتی است. اخیراً مشاهده شده است که miRNA ها نقش مهمی را در تنظیم پاسخ ایمنی ایفا می کنند. تاکنون تعداد کمی از miRNA های خاص که در تنظیم پاسخ ایمنی مهم هستند، کشف شده اند و نقش آن ها مورد بررسی قرار گرفته است (۱۶).

هدف ما از این پژوهش مشخص کردن بیوانفورماتیکی miRNA هایی است که در مسیر تمایز به سلول های TH17 و نیز مهار ترشح سایتوکاین های التهابی توسط آن ها بیش ترین اثر را داشته باشند تا به وسیله ی آن ها شدت و علایم بیماری را کاهش دهیم.

روش بررسی:

این بررسی از نوع نظری- داده شناسی زیستی می باشد که با استفاده از پایگاه اطلاعات miRWalk انجام گرفته است. این مطالعه به ۳ بخش جمع آوری اطلاعات از مقالات علمی، سپس بررسی داده ها در پایگاه اطلاعات miRWalk و در نهایت بررسی نتایج و نتیجه گیری بود که در ادامه آورده شده است.

تاکنون مطالعات بسیاری به منظور کشف مسیرهای سیگنالی دخیل در تمایز زیر رده سلولی Th17 صورت گرفته است و بسیاری از تنظیم کننده های مثبت و منفی دخیل در تمایز زیر رده سلولی Th17 مشخص شده است. یک سری از این ژن ها به عنوان تنظیم کننده های مثبت هستند و منجر به تمایز به سلول های Th17 می شوند که شامل SMAD6/7، STAT3، IL-23، RORc، IL-6 و mTOR، ولی یکسری از آن ها جزء تنظیم کننده های منفی می باشند، از قبیل PTEN، BCL6، T-bet، STAT1/4/6 و FOXP3 که مسیر تمایزی را به سمت سایر سلول های T مثل Th2، Th1 یا Treg هدایت می کنند. در بخش دیگر مطالعه، miRNA های موثر در بیماری های خود ایمن به عنوان کاندید موثر در تمایز Th17 انتخاب شد.

جدول شماره ۱: مهم ترین تنظیم کننده های مثبت و منفی مسیر تمایزی سلول های Th17

تنظیم کننده های منفی	تنظیم کننده های مثبت
IL-12	**IL-6**
IL-12R	**IL-6R**
IL-4	**IL-23**
INF-gama	**IL-23R**
T-bet	**IL-17F**
STAT1	**IL-17A**
STAT4	**IL-22**
STAT6	**IL-21**
STAT5b	**IL-21R**
STAT5a	**IL-1R**
GATA3	**STAT3**
SMAD2	**RORC**
SMAD3	**mTOR**
SMAD4	**RORa**
FOXP3	**SMAD7**
FOXO1	**SMAD6**
PPARg	**Hif1α**

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 13:11 +0430 on Monday September 11th 2017

این تنظیم کننده ها از طریق مسیرهای مختلف سلولی منجر به مهار و یا القای تمایز به سلول های Th17 می شوند. پایگاه miRwalk یک پایگاه پیش بینی میان کنش miRNA-mRNA است که توسط گروه داده شناسی زیستی دانشگاه Heidelberg آلمان طراحی شده است و با آدرس http://www.umm.uni-heidelberg.de/apps/zmf/mirwalk/ به صورت رایگان در دسترس عموم است. این پایگاه نه تنها امکان بررسی و پیش بینی میان کش miRNA-mRNA را با استفاده از الگوریتم خود فراهم می کند، بلکه امکان مقایسه ی همزمان نتایج پیش بینی نه پایگاه داده ی پیش بینی میان کنش miRNA-mRNA ی دیگر را که هر یک الگوریتم های مختلف دارند، فراهم می آورد. به این ترتیب که در صورتی که هر یک از ۱۰ پایگاه پیش بینی میان کنش miRNA-mRNA احتمال تشکیل یک میان کنش را پیش بینی کند، در مقابل آن پایگاه عدد یک و در غیر این صورت در مقابل آن عدد صفر قرار داده می شود؛ در نتیجه، هر میان کنش یک عدد از ۱۰ پیدا می کند که معرف تعداد پایگاه هایی است که احتمال ایجاد آن میان کنش را پیش بینی کرده اند. جالب است که در این روش معمولاً میان کنش هایی که از طریق روش های آزمایشگاهی تأیید شده اند، اعداد ۶ و یا بالاتر را کسب می کنند که خود دلیلی بر معتبر بودن و قابل اعتماد بودن این روش پیش بینی بیوانفورماتیک است. ۱۰ پایگاه بیوانفورماتیک که در پایگاه miRwalk پیش بینی میان کش miRNA-mRNA را انجام می دهند، عبارتند از DIANA-mT، miRanda، miRDB، miRwalk، RNAhybride، PICTAR، PITA، RNA22، TargetScan و miRwalk به منظور پیش بینی و کاندید کردن miRNA های دخیل در تمایز زیر رده سلول Th17، ابتدا لیستی از miRNA هایی که در نمونه ی خون، سلول های تک هسته ای خون محیطی و یا بافت های درگیر در بیماری های خود ایمن مختلف تغییر بیان نشان داده بودند و حداقل در ۲ مطالعه مطرح شده بودند، تهیه گردید؛ سپس با استفاده از پایگاه داده miRwalk میان کش مهاری این لیست miRNA بر روی تنظیم کننده های مثبت و منفی تمایز زیر رده سلولی Th17، صورت گرفت.

یافته ها:

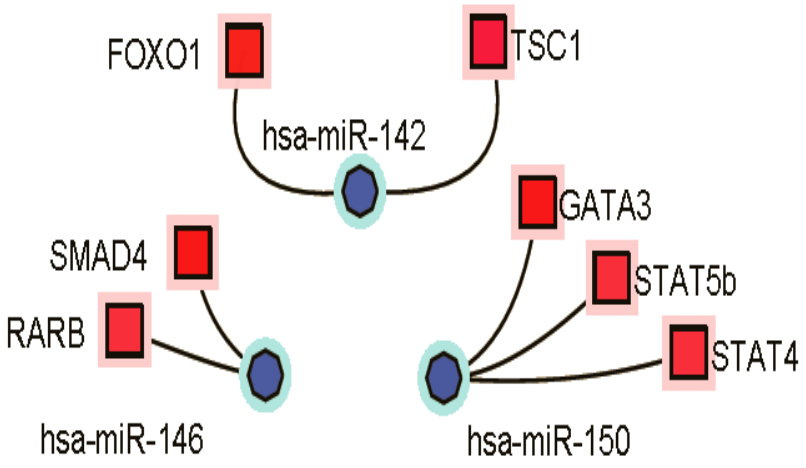
بررسی های صورت گرفته منجر به ارائه miR-142، miR-146a و miR-150 به عنوان تنظیم کننده های دخیل در تمایز Th17 و القاء بیماری مولتیپل اسکلروزیس شد. در ادامه به نقش و اهمیت هر کدام می پردازیم.

miR-150 در ساخت سلول های خونی نقش دارد و ژن های پایین دست خود را در جهت تمایز سلول های بنیادی به مگاکاریوسایت ها پیش می برد؛ همچنین به نظر می رسد که در کنترل تمایز سلول های B و T نقش ایفا می کند (۱۹-۱۷). الگوی بیانی miR-150 در طول تمایز رده سلول های بنیادی هماتوپویتیک متفاوت است و بیش ترین سطح بیانی را در حالت بالغ و استراحت سلول های B و T دارد. miR-146a خانواده ای از microRNA ها می باشد که در پستاندارانی از قبیل انسان یافت می شود و در تنظیم التهاب و فرایندهای دیگری که در سیستم ایمنی ذاتی عمل می کنند، شرکت می کند (۲۰). miR-142 که به صورت متفاوتی در سلول های CD^{4+} بیان می شود، مشخص شده است که با تمایز و تکوین این سلول ها مرتبط است (۲۱).

در بررسی میان کنش های miRNA-mRNA، تنها آن هایی که مورد تأیید حداقل ۶ پایگاه داده بودند، در نظر گرفته شد. نتایج حاضر بیانگر این مسئله بود که miR-150 با اثر مهارکنندگی که برروی تنظیم کننده های منفی مسیر تمایز به سلول های Th17 دارد، موجب القاء این رده سلول می شود. mRNA های هدف این miRNA شامل STAT4، STAT5b و GATA3 می باشند (۲۳،۲۲). GATA3 و STAT4 به عنوان فاکتورهای رونویسی که در تمایز سلول های Th1 و Th2 نقش دارند، می باشند (۲۴)؛ همچنین یافته ها در

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 13:11 +0430 on Monday September 11th 2017

مورد miR-146a نیز به همین صورت بوده است. این miRNA نیز مهار SMAD4 و RARB به عنوان تنظیم کننده های منفی، موجب القاء Th17 می شوند (۲۵). miR-142 نیز همانند ۲ miRNA قبلی در روند مهار تنظیم کننده های منفی به تمایز سلول های Th17 ایفای نقش می کند. تنظیم کننده های منفی که هدف این miRNA هستند شامل TSC1 و FOXO1 می باشد (۲۶). در تصویر شماره ۱ به طور خلاصه ژن های مهار شده توسط miRNAs مورد مطالعه نشان داده شده اند.



تصویر شماره ۱: بر هم کنش miRNA-mRNA بر اساس پایگاه داده miRWalk

در این تصویر دایره های آبی رنگ نشان دهنده ی miRNA های مورد بررسی هستند. مربع های قرمز رنگ نشان گر تنظیم کننده های تمایز سلول های Th17 هستند که احتمالاً تحت تأثیر miRNA ها قرار می گیرند. خطوط مشکی رنگ نیز میان کنش بین miRNA و ژن های هدف آن ها را نشان می دهند.

بحث:

تنظیم تمایز سلول های Th2 وابسته به چندین فاکتور رونویسی از قبیل STAT5b و GATA3 وابسته است که GATA3 اصلی ترین فاکتور رونویسی در تمایز به سمت سلول های Th2 می باشد؛ همچنین GATA3 به صورت منفی تمایز به سمت سلول های Th17 را نیز تنظیم می کند (۲۸،۲۷)؛ علاوه بر این نشان داده شده است که GATA3 باعث پیش برد ترشح IL-5، IL-4 و IL-13 از سلول های Th2 می شود و باعث القای تمایز سلول های naive CD^{4+} به سمت همین سلول ها می شود؛ در حالی که از تمایز به سمت سایر زیر رده های Th جلوگیری می کند (۲۴).

مطالعات نشان می دهد فاکتورهای رونویسی Smad2/3/4 در فرم فعال می توانند به پروموتور ژن FOXP3 متصل شده و باعث القای بیان آن شوند و به این ترتیب سیتوکین TGFβ در القای تمایز زیر رده سلولی iTreg عمل می کند. FOXP3 خود به عنوان یکی از مهار کننده های زیر رده Th17 ایفای نقش می کند (۲۹). RARb فاکتور رونویسی دیگری است که در سیتوپلاسم قرار دارد و مسیرهای سیگنالی که در تمایز سلول ها به سمت سلول های Th2 نقش دارد را هدایت می کند (۳۰).

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 13:11 +0430 on Monday September 11th 2017

Foxo1 فاکتور رونویسی می باشد که از طریق مسیر PI3K-Akt فعالیت می کند و به پروموتر ژن های Foxp3 و CTLA-4 متصل می شوند و باعث رونویسی از این ژن ها می شود (۳۱).

پروتئین های STAT نقش اساسی در روند تمایز انواع زیر رده های CD^{4+} دارند و هر کدام مسیر تمایزی را به سمت زیر رده ی مشخصی سوق می دهند و تمایز به سایر زیر رده ها را مهار می کنند. STAT3، STAT4، STAT5 و STAT6 به ترتیب در روند تمایز Th17، Th1، Treg و Th2 موثرند (۳۲).

در سلول های تک هسته ای خون محیطی (Peripheral blood mononuclear cell) بیان miR-142 و miR-146a به صورت قابل توجهی در بیماران در فاز عود شونده- بهبود پذیر که تیمار نشده اند، نسبت به افراد کنترل افزایش بیان نشان داده اند (۳۳). افزایش بیان miR-142 در ماده سفید matter (White) بیماران مولتیپل اسکلروزیس نیز مشاهده گردیده است (۳۴). علاوه بر این بررسی ها نشان داده که مصرف داروی اینترفرون بتا به عنوان اولین خط مقابله با مالتیپل اسکلروزیس، منجر به کاهش بیان miR-142 و miR-146a در بیماران می شود (۳۵). مطالعات آنالیز ریز آرایه PCR نشان می دهد که سطح بیان miR-150 در پلاسمای افراد بیمار نسبت به افراد سالم افزایش معنی داری را در فاز عود شونده- بهبود پذیر نشان می دهد، اما بر خلاف انتظار بیان آن در سلول های تک هسته ای خون محیطی کاهش بیان داشته است و یا در مطالعه ای دیگر تغییری در بیان آن مشاهده نگردیده است (۳۶). از سوی دیگر در افزایش بیان این miRNA در روماتوئید آرتریتیس و بیماری التهابی روده مشاهده گردیده است (۳۸،۳۷). تفاوت در روش های مطالعه و نمونه های مورد بررسی می تواند علت این اختلافات در نتیجه بررسی ها باشد.

مطالعات مختلف نشان می دهد که در بیماران مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس از این miRNA ها می توان به عنوان بیومارکرهایی برای شناسایی این بیماری در مراحل اولیه ی بیماری و یا قبل از بروز علایم بالینی در فرد مورد استفاده قرار گیرد. به این شکل که افزایش معنی دار در میزان بیان این miRNA ها در خون به عنوان بیومارکری برای تشخیص شدت بیماری و یا میزان فعالیت سلول های Th17 باشد؛ همچنین پیش بینی می شود، بیان این miRNA ها در سلول های T افراد مبتلا افزایش یافته است که این خود باعث افزایش جمعیت سلول های Th17 می شود و بر این اساس با کاهش بیان این miRNA از طریق مثلاً مهارکننده ی miRNA در سلول های naive CD^{4+} احتمالاً می توان از تمایز به سمت سلول های Th17 جلوگیری کرد و شدت بیماری را از این طریق کاهش داد. مطالعاتی از این قبیل پایه هر گونه مطالعه بر روی الگوی بیانی miRNA ها می باشد. طی ۲ مطالعه ی اخیر بر روی miR-326، miR-26a، و miR-141 که توسط همین گروه صورت گرفته است. مبنای انتخاب miRNA با احتمال اثرگذاری در بیماری مالتیپل اسکلروزیس بوده است (۴۰،۳۹).

نتیجه گیری:

با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه می توان اظهار کرد که miR-150، miR-146a و miR-142 با مهار فاکتورهای رونویسی مهاری، باعث تمایز سلول ها به سمت سلول های Th17 می شود و با استفاده از مهارکننده های آن ها می توان به درمان در این زمینه رسید یا از خود این miRNA به عنوان شاخص زیستی شناسایی بیماری مالتیپل اسکلروزیس استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از کلیه همکارانی که در به ثمر رسیدن این پروژه با ما مساعدت فرمودند، تشکر به عمل می آید. این مطالعه به مساعدت پژوهشکده زیست فناوری رویان به شماره طرح ۹۱۰۰۰۶۱۸ در بهمن ماه ۱۳۹۳ صورت پذیرفت.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 13:11 +0430 on Monday September 11th 2017

منابع:

1. Ridolfi E, Fenoglio C, Cantoni C, Calvi A, De Riz M, Pietroboni A, et al. Expression and Genetic Analysis of MicroRNAs Involved in Multiple Sclerosis. Int J Mol Sci. 2013; 14(3): 4375-84.
2. Tullman MJ. Overview of the epidemiology, diagnosis, and disease progression associated with multiple sclerosis. Am J Manag Care. 2013; 19(2): S15-20.
3. Etemadifar M, Abtahi SH. Multiple sclerosis in Isfahan, Iran: Past, Present and Future. Int J Prev Med. 2012; 3(5): 301-2.
4. Miller D, Barkhof F, Montalban X, Thompson A, Filippi M. Clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis, part I: natural history, pathogenesis, diagnosis, and prognosis. Lancet Neurol. 2005; 4(5): 281-8.
5. Rovaris M, Confavreux C, Furlan R, Kappos L, Comi G, Filippi M. Secondary progressive multiple sclerosis: current knowledge and future challenges. Lancet Neurol. 2006; 5(4): 343-54.
6. Lublin FD, Reingold SC. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. Neurology. 1996; 46(4): 907-11.
7. Waite JC, Skokos D. Th17 response and inflammatory autoimmune diseases. Int J Inflam. 2012; 81(9): 46-7.
8. Wong C, Ho C, Ko F, Chan C, Ho A, Hui D, et al. Proinflammatory cytokines (IL-17, IL-6, IL-18 and IL-12) and Th cytokines (IFN-γ, IL-4, IL-10 and IL-13) in patients with allergic asthma. Clin Exp Immunol. 2001; 125(2): 177-83.
9. Wei L, Laurence A, Elias KM, O'Shea JJ. IL-21 is produced by Th17 cells and drives IL-17 production in a STAT3-dependent manner. J Biol Chem. 2007; 282(48): 34605-10.
10. Kreymborg K, Etzensperger R, Dumoutier L, Haak S, Rebollo A, Buch T, et al. IL-22 is expressed by Th17 cells in an IL-23-dependent fashion, but not required for the development of autoimmune encephalomyelitis. J Immunol. 2007; 179(12): 8098-104.
11. Noack M, Miossec P. Th17 and regulatory T cell balance in autoimmune and inflammatory diseases. Autoimmun Rev. 2014; 13(6): 668-77.
12. Maddur MS, Miossec P, Kaveri SV, Bayry J. Th17 cells: Biology, pathogenesis of autoimmune and inflammatory diseases, and therapeutic strategies. Am J Pathol. 2012; 181(1): 8-18.
13. Ambros V. The functions of animal microRNAs. Nature. 2004; 431(7006): 350-5.
14. Wright MW, Bruford EA. Naming 'junk': human non-protein coding RNA (ncRNA) gene nomenclature. Hum Genomics. 2011; 5(2): 90-8.
15. Kawasaki H, Taira K. MicroRNA-196 inhibits HOXB8 expression in myeloid differentiation of HL60 cells. Nucleic Acids Symp Ser (Oxf). 2004; 85(48): 211-2.
16. Pauley KM, Cha S, Chan EK. MicroRNA in autoimmunity and autoimmune diseases. J Autoimmun. 2009; 32(3-4): 189-94.
17. Lu J, Guo S, Ebert BL, Zhang H, Peng X, Bosco J, et al. MicroRNA-mediated control of cell fate in megakaryocyte-erythrocyte progenitors. Dev Cell. 2008; 14(6): 843-53.
18. Edelstein LC, Bray PF. MicroRNAs in platelet production and activation. Blood. 2011; 117(20): 5289-96.
19. Vasilatou D, Papageorgiou S, Pappa V, Papageorgiou E, Dervenoulas J. The role of microRNAs in normal and malignant hematopoiesis. Eur J Haematol. 2010; 84(1): 1-16.
20. Sonkoly E, Stahle M, Pivarcsi A. MicroRNAs and immunity: novel players in the regulation of normal immune function and inflammation. Semin Cancer Biol. 2008; 18(2): 131-40.
21. Lagos-Quintana M, Rauhut R, Meyer J, Borkhardt A, Tuschl T. New microRNAs from mouse and human. RNA. 2003; 9(2): 175-9.
22. Ansel KM, Djuretic I, Tanasa B, Rao A. Regulation of Th2 differentiation and Il4 locus accessibility. Annu Rev Immunol. 2006; 24: 607-56.
23. Pan Z-Z, Zhong Y. Achievement of research in the field of immunology and endocrinology. Anim Prod Sci worldwide. 2007: 77-87.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 13:11 +0430 on Monday September 11th 2017

24. Yagi R, Zhu J, Paul WE. An updated view on transcription factor GATA3-mediated regulation of Th1 and Th2 cell differentiation. Int Immunol. 2011; 23(7): 415-20.
25. Hua Z, Chun W, Fang-Yuan C. MicroRNA-146a and hemopoietic disorders. Int J Hematol. 2011; 94(3): 224-9.
26. Chen J. Signaling pathways in HPV-associated cancers and therapeutic implications. Rev Med Virol. 2015; 25 (1): 24-53.
27. Zhu J, Yamane H, Cote-Sierra J, Guo L, Paul WE. GATA-3 promotes Th2 responses through three different mechanisms: induction of Th2 cytokine production, selective growth of Th2 cells and inhibition of Th1 cell-specific factors. Cell Res. 2006; 16(1): 3-10.
28. Ouyang W, Ranganath SH, Weindel K, Bhattacharya D, Murphy TL, Sha WC, et al. Inhibition of Th1 development mediated by GATA-3 through an IL-4-independent mechanism. Immunity. 1998; 9(5): 745-55.
29. Kim BG, Li C, Qiao W, Mamura M, Kasprzak B, Anver M, et al. Smad4 signalling in T cells is required for suppression of gastrointestinal cancer. Nature. 2006; 441(7096): 1015-9.
30. Grenningloh R, Gho A, di Lucia P, Klaus M, Bollag W, Ho IC, et al. Cutting Edge: Inhibition of the retinoid X receptor (RXR) blocks T helper 2 differentiation and prevents allergic lung inflammation. J Immunol. 2006; 176(9): 5161-6.
31. Ohkura N, Sakaguchi S. Foxo1 and Foxo3 help Foxp3. Immunity. 2010; 33(6): 835-7.
32. O'Shea JJ, Lahesmaa R, Vahedi G, Laurence A, Kanno Y. Genomic views of STAT function in CD^{4+} T helper cell differentiation. Nat Rev Immunol. 2011; 11(4): 239-50.
33. Waschbisch A, Atiya M, Linker RA, Potapov S, Schwab S, Derfuss T. Glatiramer acetate treatment normalizes deregulated microRNA expression in relapsing remitting multiple sclerosis. PloS one. 2011; 6(9): e24604.
34. Noorbakhsh F, Ellestad KK, Maingat F, Warren KG, Han MH, Steinman L, et al. Impaired neurosteroid synthesis in multiple sclerosis. Brain. 2011; 134(Pt 9): 2703-21.
35. Hecker M, Thamilarasan M, Koczan D, Schroder I, Flechtner K, Freiesleben S, et al. MicroRNA expression changes during interferon-beta treatment in the peripheral blood of multiple sclerosis patients. Int J Mol Sci. 2013; 14(8):16087-110.
36. Hecker M, Thamilarasan M, Koczan D, Schroder I, Flechtner K, Freiesleben S, et al. MicroRNA expression changes during interferon-beta treatment in the peripheral blood of multiple sclerosis patients. Int J Mol Sci. 2013; 14(8): 16087-110.
37. Wu F, Zikusoka M, Trindade A, Dassopoulos T, Harris ML, Bayless TM, et al. MicroRNAs are differentially expressed in ulcerative colitis and alter expression of macrophage inflammatory peptide-2 alpha. Gastroenterology. 2008; 135(5): 1624-35 e24.
38. Li J, Wan Y, Guo Q, Zou L, Zhang J, Fang Y, et al. Research article Altered microRNA expression profile with miR-146a upregulation in CD^{4+} T cells from patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Res Ther. 2010; 12: R81.
39. Honardoost MA, Kiani-Esfahani A, Ghaedi K, Etemadifar M, Salehi M. miR-326 and miR-26a, two potential markers for diagnosis of relapse and remission phases in patient with relapsing-remitting multiple sclerosis. Gene. 2014; 544(2): 128-33.
40. Naghavian R, Ghaedi K, Kiani-Esfahani A, Ganjalikhani-Hakemi M, Etemadifar M, Nasr-Esfahani MH. miR-141 and miR-200a, Revelation of New Possible Players in Modulation of Th17/Treg Differentiation and Pathogenesis of Multiple Sclerosis. PloS one. 2015; 10(5): e0124555.

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2016; 18(1): 18-26.

Original article

The prediction of miR-142, miR-146a and miR-150 role in differentiation of naive CD^{4+} to Th17 cells in multiple sclerosis

Hosseini A[1], Ghaedi G[2,3*], Teimuri S[1], Naghavian R[1], Nasr Isfahani MH[3]
[1]Cellular and Molecular Biology Dept., University of Isfahan, Isfahan, I.R. Iran; [2]Molecular Biology Dept., University of Isfahan, Isfahan, I.R. Iran; [3]Cellular Biotechnology Dept., Cell Science Research Center, ACECR, Royan Institute for Biotechnology, University of Isfahan, Isfahan, I.R. Iran.

Received: 2/Jun/2015 Accepted: 15/Sep/2015

Background and aims: MiRNAs are a class of non-coding RNAs that take part in various cellular processes. Recently dysregulation of these small molecules reported in numerous disorders. Unfortunately prevalence of Multiple sclerosis (MS) as an autoimmune disease is rising nowadays in Iran. Th17 cells are the most important cell in this disease. In this study, we have predicted possible role of 3 miRNAs, miR142, miR-146a and miR-150 which could control Th17 differentiation. So, possibly it influences on MS onset and progress.
Methods: Using miRwalk database as an integrative database which utilizes 10 different algorithms to predict miRNA-mRNA interaction, it was investigated probable interaction of miRNAs and genes that participate in Th17 differentiation.
Results: Based on this study, 3 distinct miRNAs, miR-142, miR-146a and miR-150, were predicted to have a potential role in induction of Th17 differentiation. Therefore, control of these miRNAs could reduce MS symptoms.
Conclusion: Conclusively, miR-142, miR-146a and miR-150 may be up-regulated in Th17 of MS patients, since bioinformatics data have shown that these miRNAs suppress negative regulator genes in Th17 differentiation. Thus, several therapeutic approaches may be considered for these miRNAs besides of their application as the valuable prognostic/diagnostic biomarkers in detection of various stages of MS.

Key words: **Multiple sclerosis, miRNA, Th17 cells.**

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 13:11 +0430 on Monday September 11th 2017

Cite this article as: Hosseini A, Ghaedi G, Teimuri S, Naghavian R, Nasr Isfahani MH. The prediction of miR-142, miR-146a and miR-150 role in differentiation of naive CD^{4+} to Th17 cells in multiple sclerosis. J Shahrekord Univ Med Sci. 2016; 18(1): 18-26.

[*]**Corresponding author:**
Cellular Biotechnology Dept., Cell Science Research Center, ACECR, Royan Institute for Biotechnology, University of Isfahan, Isfahan, I.R. Iran. Tel: 00989133294917, E-mail: karmanghaedi@yahoo.com