

Kanser Gelişimi ve Progresyonunda miRNA'LAR VE miRNA Gen Varyasyonları

miRNAs AND miRNA Gene Variations In Cancer Development and Progression

Nevra ALKANLI¹, Arzu AY²

ÖZET

Mikrona'lar (miRNA'lar) kısa kodlanmayan RNA sınıfıdır ve tümör baskılayıcılar ya da onkogenler olarak post transkripsiyonel düzeyde düzenleyici fonksiyonlar gerçekleştirmektedirler. miRNA'lar normal gelişim süreçlerinde hücre farklılaşmasında, hücre proliferasyonunda ve apoptoz düzenlenmesinde etkilidirler. Gen susturma mekanizmaları ile ilişkili miRNA gen varyasyonları, pri-miRNA, pre-miRNA, mat-miRNA gen varyasyonları ve miRNA hedef bölgelerindeki genetik varyasyonlar tanımlanmıştır. miRNA genlerinde tanımlanan genetik varyasyonlar sonucunda miRNA ekspresyon düzeylerinde anlamlı değişiklikler ortaya çıkabilmektedir. Bu yüzden miRNA genlerinde ortaya çıkan genetik varyasyonların kanser oluşumunda, prognozunda ve progresyonunda önemli rol oynayabilen biyobelirteçler olabilecekleri düşünülmektedir. Çeşitli kanser türlerinin tanısında ve progresyonunda miRNA gen varyasyonları sonucunda ortaya çıkabilecek hedef genlerdeki miRNA aracılı disregülasyona bağlı miRNA fonksiyon bozuklukları değerlendirilmelidir. Ayrıca ilaçların etkinliklerinin artırılmasında ilaç davranışlarını etkileyen hedef genlerdeki miRNA'ların ve miRNA gen varyasyonlarının belirlenmesi, çeşitli kanser türleri için yeni tedavi yöntemlerinin ve farklı terapötik stratejilerin geliştirilebilmesi bakımından oldukça önemlidir. Bu derlemede, kanser gelişimi, progresyonu ve tedavisinde miRNA'ların ve miRNA gen varyasyonlarının potansiyel rollerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kanser, miRNA biyogenezi, miRNA ekspresyonu, miRNA gen varyasyonları

ABSTRACT

MicroRNAs (miRNAs) are short non-coding RNA class and perform regulatory functions at the post transcriptional level as tumor suppressors or oncogenes. miRNAs are effective in cell differentiation, cell proliferation and apoptosis regulation in normal development processes. miRNA gene variations associated with gene silencing mechanisms, pri-miRNA, pre-miRNA, mat-miRNA gene variations, genetic variations in target sites of miRNAs have been identified. Significant changes may occur in miRNA expression levels as a result of genetic variations defined in miRNA genes. Therefore, it is thought that genetic variations in miRNA genes may be biomarkers that can play an important role in cancer formation, prognosis and progression. miRNA function disorder due to miRNA-mediated dysregulation in target genes that may occur as a result of miRNA gene variations in the diagnosis and progression of various types of cancer should be evaluated. In addition, determining miRNAs and miRNA gene variations in target genes that affect drug behavior in increasing the effectiveness of drugs is very important in terms of developing new treatment methods and different therapeutic strategies for various cancer types. In this review, it is aimed to examine the potential roles of miRNAs and miRNA gene variations in cancer development, progression and treatment.

Key Words: Cancer, miRNA biogenesis, miRNA expression, miRNA gene variations

GİRİŞ

Kısa endojen RNA sınıfı olarak bilinen miRNA'lar gen ekspresyonunun transkripsiyon sonrası düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadırlar. Birçok miRNA çeşitli mekanizmalar yoluyla kanser türlerinin gelişimlerinde etkili olabilmektedir. miRNA genlerindeki ve miRNA biyogenezindeki kromozomal değişiklikler, epigenetik hasarlar, mutasyonlar ve genetik varyasyonlar sonucunda kanser gelişiminde miRNA ekspresyon düzeyleri değişebilmektedir. Çeşitli kanser türlerindeki tümörlerin tespiti ve izlenmesi için tümörden türetilmiş sekretuar

miRNA'ların değerlendirilmesi önemlidir. Ayrıca miRNA varyasyonları sonucunda hedef genlerin miRNA aracılı regülasyonunda kayıplar ortaya çıkarabilen miRNA fonksiyon bozulmaları meydana gelebilmektedir. miRNA gen varyasyonları; gen susturma mekanizmalarını içeren miRNA varyasyonları, pri-miRNA-pre-miRNA-mat-miRNA'larda ortaya çıkan genetik varyasyonlar ve miRNA hedef bölgelerindeki genetik varyasyonlar olmak üzere sınıflandırılmıştır (1).

mRNA degradasyonu, transkripsiyonel represyon, RNA aracılı gen susturma ile ilişkili proteinler mRNA hedefleri ile

¹ Dr. Öğr. Üyesi, T.C. Halic Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul, TÜRKİYE, nevraalkanli@halic.edu.tr, ORCID ID: 0000-0002-3745-8838

² Dr. Öğr. Üyesi, Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Edirne, TÜRKİYE, arzuay78@yahoo.com, ORCID ID: 0000-0002-8412-091X

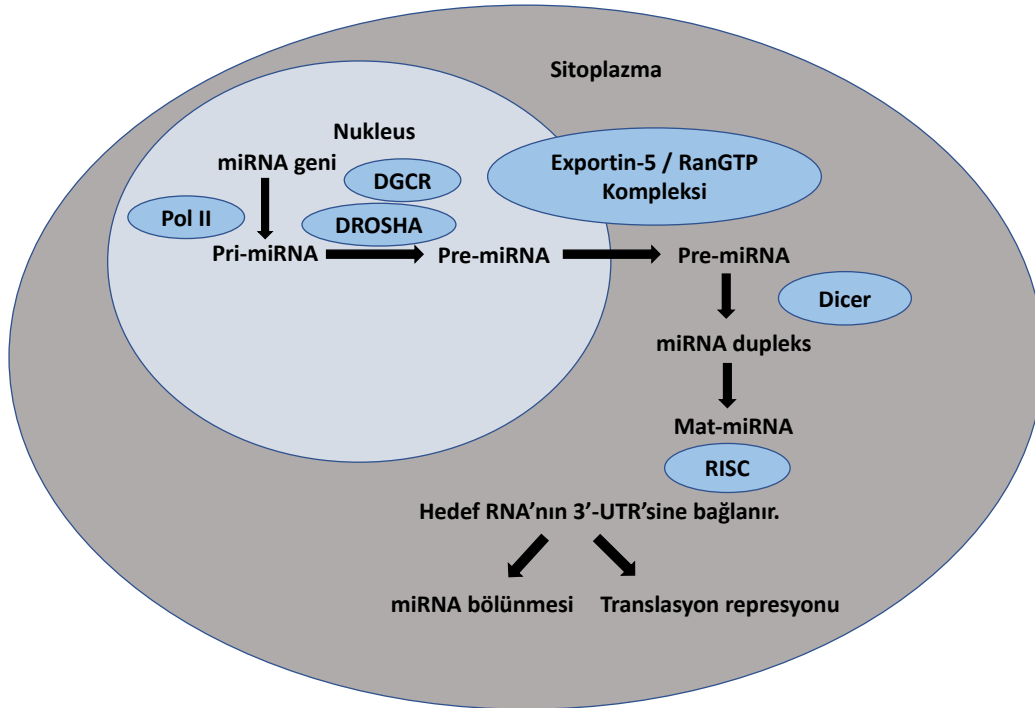
birlikte işleme cisimciği olarak bilinen P-cisimcikleri içerisinde yerleşmektedirler (2). miRNA'lar genel olarak 3'-UTR bölgesinde kusurlu eşleşen dizileri bağlama yoluyla mRNA hedeflemeyi tanımaktadırlar. miRNA'lar ve mRNA hedefleri arasındaki tamamlayıcılık derecesine bağlı olarak degradasyon veya inhibisyon transasyonu gerçekleşmektedir (3). miRNA'lar fizyolojik süreçlerde gen ekspresyonunun negatif düzenleyicileri olarak rol oynamaktadırlar. Normal gelişim sürecinde miRNA'lar hücre farklılaşmasının, proliferasyonunun ve apoptozun düzenlenmesinde etkilidirler.

İnsan vücut sıvılarında tespit edilen miRNA'lar kanser gelişimi ve progresyonunda önemli biyobelirteçler olarak kabul edilmektedir (4). miRNA ekspresyonlarındaki değişiklikler çeşitli kanser türlerinde tespit edilmiştir. Ayrıca ilaçların etkinliğini artırılabilmesi için ilaç davranışlarını etkileyebilen hedef genlerdeki miRNA'lar ve miRNA gen varyasyonlarının incelenmesi de çeşitli kanser türleri için terapötik stratejilerin geliştirilebilmesi bakımından oldukça önemlidir (1).

Bu derlemenin amacı, kanser patogenezi miRNA'ların fonksiyonlarının vurgulanarak miRNA'ların ve miRNA gen varyasyonlarının kanser gelişiminde, progresyonunda ve tedavisindeki potansiyel rollerinin incelenmesidir.

MİKRORNA BİYOGENEZİ

miRNA'lar küçük kodlanmayan RNA molekülleri sınıfıdır ve hedef genler üzerindeki transkripsiyon sonrası düzenlemeler yoluyla çeşitli hücresel işlevlerde rol oynamaktadırlar (5). miRNA biyogenezi nükleusta RNA polimeraz II enzimi aracılığıyla gerçekleşen transkripsiyon ile başlamaktadır ve hairpin yapısında olgun miRNA dizisini içeren pri-miRNA'dan oluşmaktadır. Hairpin yapısı mikroprosesör tarafından kesilmektedir ve bu mikroprosesör Drosha (RNase III enzimi) ve bu enzimin kofaktörü olarak bilinen DiGeorge kritik sendrom bölgesi 8 (DGCR8) den oluşmaktadır. Sonuçta 60-70 nükleotid uzunluğunda olan prekürsör miRNA olarak bilinen pre-miRNA oluşmaktadır. Pre-miRNA Exportin-5 (XPO5) aracılığıyla nükleustan sitoplazmaya taşınmaktadır. Burada RNase III enzimi olarak bilinen Dicer tarafından 21-24 nükleotid uzunluğunda dupleks miRNA'ya kesilmektedir (6). Olgun miRNA'lar RNA kaynaklı susturma kompleksi olarak bilinen RISC'ye dahil edilmekte ve spesifik miRNA'larının tamamlayıcı 3'-UTR bölgelerine bağlanmaktadır. Bu süreç sonucunda mRNA transasyonu engellenmekte veya mRNA degradasyonu teşvik edilmektedir. Böylece transkripsiyon sonrasında gen susturulması gerçekleşmektedir (7) (Figür 1).



Figür 1. miRNA Biyogenezi (7)

miRNA biyogenez yolağındaki anormallikler çeşitli kanser türlerinin gelişimiyle ilişkilendirilmiştir. Değişmiş Dicer ekspresyonunun akciğer ve prostat kanseri gelişimi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. RISC kompleksinin argonaute

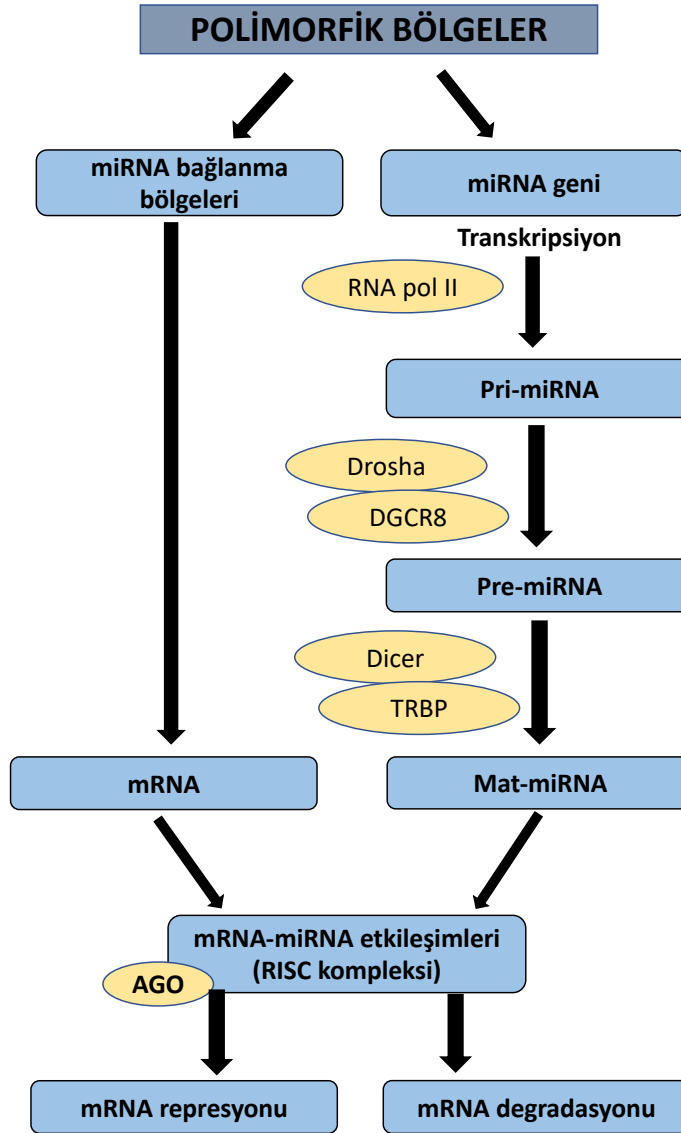
proteinleri, Wilms tümörü gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. miRNA'ların kanser gelişiminde ve progresyonunda önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir. miRNA gen bölgelerinde ortaya çıkan genetik varyasyonlar sonucunda



miRNA işlenmesinin etkilenmesi yoluyla azalmış miRNA ekspresyonları ortaya çıkmaktadır. miRNA işlenmesindeki bozuklukların hücresel dönüşüme neden olarak tümör oluşumunu hızlandırabileceği gösterilmiştir. Çeşitli tümörlerde ve kanser hücre hatlarında gerçekleştirilen miRNA ekspresyon profillenmesi çalışmalarında miRNA'ların genel olarak baskılandığı belirlenmiştir. miRNA biyogenez yolağındaki genetik değişkenliklerin ve miRNA'ların anormal ekspresyonlarının çeşitli kanser türlerinin gelişimi ve progresyonu ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Çeşitli çalışmalarda miRNA ekspresyon düzeylerindeki değişikliklerin proto-onkogenlerin veya tümör baskılayıcı genlerin ekspresyonunu düzenleme yoluyla kanser patogenezinde önemli rol oynadığı belirlenmiştir (5).

MİKORNA GEN VARYASYONLARI

İnsan genomunda insersiyonlar, delesyonlar ve kromozomal lokasyonlar gibi genetik varyasyonlar tanımlanmıştır. miRNA miktarlarında ortaya çıkan değişiklikler hedef miRNA'lar üzerinde etki göstererek fonksiyonel sonuçlara yol açabilmektedir. Bu yüzden miRNA'ların ve miRNA gen varyasyonlarının fonksiyonel olarak kanser teşhisinde, prognozunda ve tedavisinde önemli biyobelirteçler olabileceği düşünülmektedir. miRNA gen varyasyonları temel olarak gen susturma mekanizmalarını içeren miRNA gen varyasyonları, pri-miRNA'larda, pre-miRNA'larda, mat-miRNA'larda ortaya çıkan miRNA gen varyasyonları ve mRNA hedef bölgelerinde tanımlanan miRNA gen varyasyonları olmak üzere üç grupta sınıflandırılmaktadır (1,8,9) (Figür 2).



Figür 2. miRNA genetik varyasyonları sonucunda etkilenen miRNA biyogenez ve aktivasyonu (10)

(miRNA biyosentezinde çeşitli enzimler ve kofaktörler önemli rol oynamaktadırlar. miRNA-mRNA tamamlayıcılık derecesine bağlı olarak mRNA ekspresyonunun baskılanması ya da mRNA degradasyonu gerçekleşmektedir. miRNA'lar ve miRNA bağlanma bölgelerini kodlayan genlerde ortaya çıkan genetik varyasyonlar sonucunda miRNA moleküllerinin hareketlerinde değişiklikler meydana gelmektedir. miRNA genlerindeki genetik varyasyonlar sonucunda miRNA ekspresyonu azalmaktadır. miRNA bağlanma bölgelerindeki genetik varyasyonlar da miRNA-mRNA etkileşiminde bozulmaya yol açabilmektedir).

KANSER GELİŞİMİ VE MİKRORNA

KontROLSÜZ olarak çoğalan ve apoptoz fonksiyonlarını kaybeden hücreler kanserleşebilmektedir. miRNA'lar hücre proliferasyonu, apoptoz gibi süreçlerde önemli rol oynayan moleküllerdir ve kanserleşme süreci ile ilişkilendirilmişlerdir. Kanserli dokular ve normal dokular arasında miRNA ekspresyon farklılıklarının belirlenmesi, kanser patogenezinde miRNA'ların etkili olduklarını göstermektedir. miRNA genleri genellikle amplifikasyonun minimum olduğu kırılgan bölgelerde bulunmaktadır. Bu bölgelerde oluşabilecek moleküler lezyonlar sonucunda genetik hasarlar ortaya çıkmakta ve dolayısıyla çeşitli kanser türleri gelişebilmektedir. İnsanlarda solid tümörlerde normal dokulara kıyasla miRNA ekspresyon düzeylerinde değişiklikler bildirilmiştir (11).

Hedeflenen mRNA yolaklarındaki özelliklere göre miRNA'lar onkogenik ve tümör süpresör özellikler gösterebilmektedirler. Tümör süpresör miRNA'lar onkogen ekspresyonunun kontrolünde rol oynamaktadırlar. Tümör süpresör miRNA ekspresyonundaki azalma onkogen ekspresyonundaki artış ve dolayısıyla tümörigenez ile ilişkilendirilmiştir. Tümör süpresör baskılanması yoluyla kanser gelişimini arttırabilen bazı miRNA'lar da bulunmaktadır. miRNA'lar onkogenik mRNA'ları, tümör süpresör mRNA'ları ya da her iki mRNA'yı hedef görebildikleri için, miRNA fonksiyonu tümör süpresör miRNA'lar veya onkogenik miRNA'ların hücrel içeriklerine bağlı olarak gerçekleşmektedir (11).

KANSER GELİŞİMİNDE MİKRORNA GEN VARYASYONLARININ ROLLERİ

miRNA genlerinde ortaya çıkan genetik varyasyonların kanser gelişimindeki rollerini belirleyebilmek için insan tümör dokuları ve kanser hücre hatları ile sistematik tarama çalışmaları gerçekleştirilmiş ve tümör dokularında, kanser hücre hatlarında sekans varyasyonları tespit edilmiştir (12). İnsan kanserlerinde bu taramalar sonucunda pri-miRNA, pre-miRNA ve mat-miRNA bölgelerinde tek nükleotid gen varyasyonları ve mutasyonlar saptanmıştır. miRNA mutasyonlarının bazılarında miRNA fonksiyonu üzerinde etkiler gözlenmemesine rağmen, pre-miRNA let-7e'de ortaya çıkan guanin / adenin yer değiştirmesi ile karakterize

mutasyon in vivo ekspresyonlarda azalmaya yol açabilmekte ve böylece tümörigenez katkıda bulunabilmektedir (13).

Bu mutasyon dışında ayrıca pre-miRNA'da miRNA-146a (rs2910164), miRNA-499 (rs3746444), miRNA-605 (rs2043556), miRNA-492 (rs2289030), miRNA-631 (rs5745925), miRNA-633 (rs19959989) gen varyasyonları tanımlanmıştır (13). Bu miRNA gen varyasyonları arasında bulunan miRNA-605 (rs2043556), miRNA-633 (rs19959989), miRNA-146a (rs2910164) gen varyasyonları pre-miRNA'ların yapısını önemli ölçüde değiştirmemesinden dolayı azaltılmış biyolojik aktivite ile ilişkilendirilmiştir. Buna karşın, miRNA-492 (rs2289030) ve miRNA-631 (rs5745925) gen varyasyonları sonucunda baz eşleşmelerinde bozulmalar ortaya çıkmaktadır ve bu gen varyasyonlarının miRNA'ların olgunlaşmasında daha fazla etkiye sahip oldukları düşünülmektedir (1). Dolayısıyla çeşitli kanser türlerinde miRNA gen varyasyonlarının rollerinin belirlenmesi, bu kanser türlerinin gelişiminde etkili olabilecek moleküler tanıl ve terapötik hedeflerin tanımlanabilmesini sağlayacaktır (13).

Pri-miRNA GEN VARYASYONLARI

miRNA-26a-1 geni kromozom 3p21 üzerinde lokalizedir ve bu gen epitel kanserler, akciğer kanseri gibi kanser türleri ile ilişkilendirilmiştir (14-16). miRNA-26a-1 (rs7372209) gen varyasyonu ve oral premalign lezyon riski arasında anlamlı bir ilişki belirlenmiştir (17). Ayrıca premalign kolon kanseri hücrelerinde anormal miRNA-26a-1 ekspresyonu saptanmıştır ve miRNA-26a-1 mutasyonları sonucunda ekspresyon düzeyleri değişebilmektedir. Bu yüzden miRNA-26a-1 (rs7372209) gen varyasyonu, miRNA-26a-1 downregülasyonu ya da inaktivasyonu yoluyla miRNA-26a-1 ekspresyonunu değiştirebilmektedir. miRNA-26a-1 (rs7372209) gen varyasyonu ve mesane kanseri riski arasında ise ters bir korelasyon belirlenmiştir. Bu sonuçlara bakıldığında, miRNA-26a-1 (rs7372209) gen varyasyonunun kanser gelişim sürecindeki rolünü doğrulayabilmek için diğer kanser türleri ve premalign durumlar ile daha kapsamlı çalışmaların gerçekleştirilmesi gerekmektedir (1).

İn vivo ve in vitro çalışmalarda, miRNA-15a / 16-1 alel delesyonu ve azalmış miRNA ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki olduğu bildirilmiştir (18). Lenfoid dokularında azalmış miRNA-16 düzeyleri belirlenmiştir. Ayrıca miRNA-124-1, miRNA-218 ve miRNA-219-1 gibi pri-miRNA gen varyasyonlarının çeşitli kanser türlerinin gelişiminde etkili oldukları gösterilmiştir. Lojistik regresyon analizlerinde, pri-miRNA-218 (rs11134527) gen varyasyonunun homozigot GG genotipinin homozigot AA genotipine kıyasla azalmış servikal kanseri riski ile ilişkili olduğu saptanmıştır (19). miRNA-124-1 gen varyasyonu ve mesane kanseri riski arasında da bir korelasyon bildirilmiştir. miRNA-219-1 gen varyasyonu da özofagus kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir (20,21).

Pri-miRNA gen varyasyonları ve olgun miRNA ekspresyonu arasında anlamlı ilişkilerin olup olmadığını



belirleyebilmek için geniş popülasyonlarla gerçekleştirilmiş daha kapsamlı çalışmalara gereksinim duyulmaktadır. Ayrıca pri-miRNA gen varyasyonlarının miRNA sistemindeki rollerini tam olarak belirleyebilmek için pri-miRNA yapılarının daha iyi anlaşılabilmesi gerekmektedir. Bazı miRNA gen varyasyonları sonucunda olgun miRNA sekanslarında artmış ya da azalmış ekspresyon düzeyleri ortaya çıkabilmekte, bazı miRNA gen varyasyonları sonucunda ise Drosha ve Dicer gibi işleme bölgelerindeki değişikliklerden dolayı yeni miRNA üretimi gerçekleştirilebilmektedir (1).

Pre-miRNA GEN VARYASYONLARI

Pre-miRNA'lar arasında yer alan pre-miRNA-146 (rs2910164) gen varyasyonu ve azalmış pre-miRNA-146a, olgun miRNA-146a ekspresyonları arasında anlamlı bir ilişki olduğu belirlenmiştir (22). Ayrıca miRNA-146a prekürsörünün G aleli de artmış miRNA-146a üretimi ile ilişkilendirilmiştir (23). miRNA-146a (rs2910164) gen varyasyonu olgun miRNA-146a sekansı karşısında, miRNA-146a prekürsöründe G: U / C: U değişikliği ile karakterizedir (24). miRNA-146a (rs2910164) gen varyasyonunun GC heterozigot genotipi, GG ve CC homozigot genotiplerine kıyasla artmış papiller tiroid karsinom riski ile ilişkilendirilmiştir. miRNA-146a (rs2910164) gen varyasyonunun GC heterozigot genotipi CC ve GG homozigot genotiplerinden mat-miRNA üretebilmesi bakımından daha farklıdır. Bu yüzden papiller tiroid karsinomaya yatkınlığın, farklı miRNA üretimi ve farklı hedef genlerin homozigot genotiplere kıyasla heterozigot genotip tarafından düzenlenebilmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bu gen varyasyonunun GG genotipini taşıyan erkek bireylerde, CC genotipini taşıyan bireylere kıyasla hepatosellüler karsinomaya karşı iki kat daha fazla duyarlılık saptanmıştır. miRNA-146a (rs2910164) gen varyasyonunun CC homozigot genotipi, GG homozigot ve GC heterozigot genotiplerine kıyasla daha düşük prostat kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir (1). Bunlara ek olarak papiller tiroid karsinoma tümörlerinde upregüle edilmiş miRNA-146a düzeyleri tespit edilmiştir (25,26). Başka bir çalışmada da, pre-miRNA-146a (rs2910164) gen varyasyonu sonucunda MCF-7 meme kanseri hücre hatlarında olgun miRNA-146a ekspresyonunda artış gözlemlendiği bildirilmiştir (27).

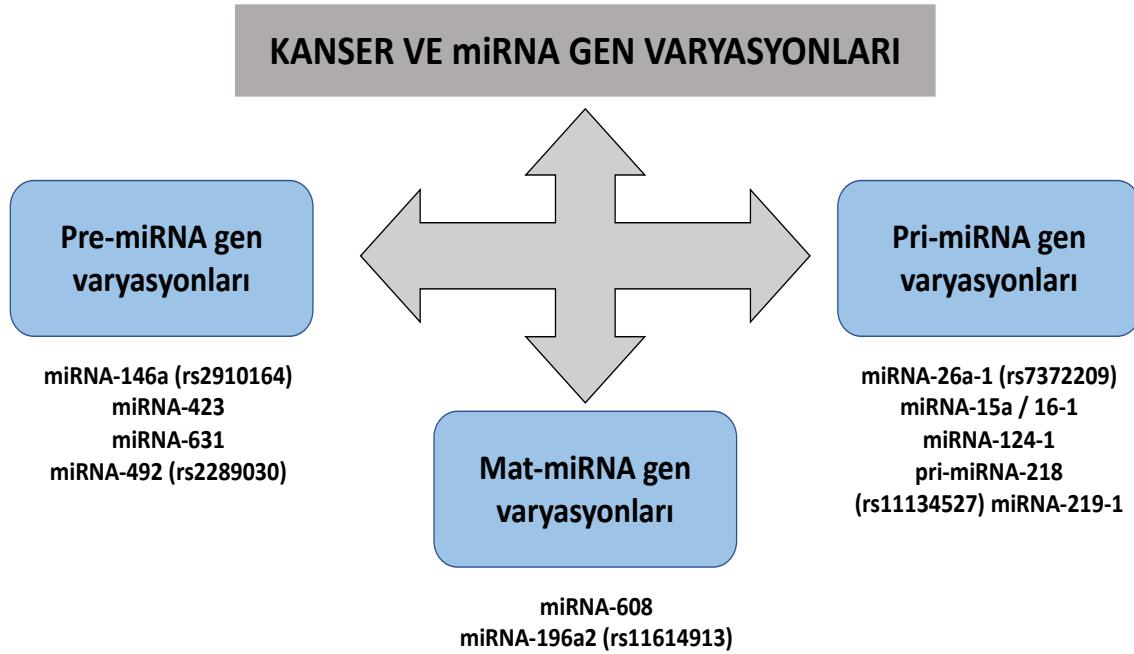
Diğer bir pre-miRNA olan miRNA-423 ve özofagus kanseri arasında anlamlı bir ilişki olduğu belirlenmiştir. İnsan lösemi hücre hatlarında miRNA-423'ün eksprese edildiği ve güçlü bir tümör promotörü indüksiyonu sonrasında miRNA-423'ün anlamlı derecede upregüle edildiği belirlenmiştir. Baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomda da upregüle edilmiş miRNA-423 saptanmıştır (21,28,29). miRNA-631 gen varyasyonu anlamlı derecede artmış özofagus kanseri ile ilişkilendirilmişken, miRNA-492 (rs2289030) gen varyasyonu artmış mesane kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir (1).

Mat-miRNA GEN VARYASYONLARI

miRNA'ların olgun bölgelerinde tanımlanmış genetik varyasyonların popülasyon frekansları oldukça düşük olarak belirlenmiştir. Mat-miRNA-608 gen varyasyonlarının hedeflerine farklı enerji ile bağlanabileceği düşünüldüğünden bu genetik varyasyonlar oldukça önemsenmiştir. miRNA-608 gen varyasyonunun CD4 antijeni, adinopektin (ACDC), büyüme hormon reseptörü (GHR), retinoik X reseptör beta (RXRB) ve tümör protein p53 (TP53) genlerindeki hedefleri daha düşük serbest enerji ile bağlanabileceği düşünülmektedir.

Çeşitli kanser türlerinde yaygın olarak araştırılmış mat-miRNA gen varyasyonlarından biri miRNA-196a2 (rs11614913) gen varyasyonudur (13,30). miRNA-196a2 (rs11614913) gen varyasyonunun homozigot genotipleri ve artmış küçük hücreli olmayan akciğer kanseri riski arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Bu yüzden anlamlı derecede artmış miRNA-196a2 ekspresyonunun, miRNA-196a2-3p'nin hedef bağlanmasını etkileyebileceği bildirilmiştir. Başka bir çalışmada da, miRNA-196a2 (rs11614913) gen varyasyonunun homozigot CC genotipi, homozigot TT ve heterozigot CT genotiplerine kıyasla akciğer kanseri riskinde anlamlı bir artış ile ilişkilendirilmiştir (31). Kısacası miRNA-196a2 (rs11614913) gen varyasyonu küçük hücreli olmayan akciğer kanserinin gelişiminde prognostik bir biyobelirteç olarak kabul edilmektedir. Çin popülasyonu ile gerçekleştirilmiş bir çalışmada, miRNA-196a2 (rs11614913) gen varyasyonu ayrıca anlamlı derecede artmış meme kanseri ve gastrointestinal kanser riskleri ile ilişkilendirilmiştir. Bu kanser türleri dışında miRNA-196a2 (rs11614913) gen varyasyonu ve artmış özofagus kanser riski arasında da anlamlı bir ilişki bildirilmiştir (21,32,33). Bu yüzden miRNA-196a2 (rs11614913) gen varyasyonunun karsinogeneze ve miRNA'ların ekspresyonunu, bağlanmalarını etkileyerek kanser gelişimi ve progresyonunda önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir (30,34).

Bunlara ek olarak, miRNA-196a2 ekspresyon düzeylerindeki artış, kanser hücrelerinin migrasyonunun ve invazyonunun teşvik edilmesinde etkili bir rol oynamaktadır (30,34). Kanser ile ilişkili çeşitli yollarda etkili olan genlerin transkriptlerinin miRNA-196a2 tarafından hedeflenebildiği bilinmektedir. miRNA-196a2 (rs11614913) gen varyasyonu, miRNA prekürsörünün olgun formuna daha az verimli bir şekilde işlenmekte ve böylece meme kanseri hücrelerinde hedef genlerin düzenlenme kapasitesinin azalmasına neden olmaktadır (32). miRNA-196a2 (rs11614913) gen varyasyonu ayrıca azalmış glioma, baş ve boyun skuamöz hücreli karsinom riskleri ile ilişkilendirilmiştir (35,36). Çalışmalardaki farklılıkların örneklem büyüklüklerinden, popülasyonlardaki farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu yüzden miRNA-196a2 (rs11614913) gen varyasyonu ve çeşitli kanser türlerinin gelişimi arasındaki ilişkinin doğrulanabilmesi için daha kapsamlı çalışmalar gerçekleştirilmelidir (1) (Figür 3).



Figür 3. Kanser gelişiminde rol oynayan miRNA gen varyasyonları (1)

KANSER GELİŞİMİNDE MİKORNA'LAR VE FARMAKOGENETİK

Önemli ilaç hedefleri olarak kabul edilen miRNA'lar malign hücrelerde farklı şekilde eksprese edilmektedir. miRNA gen varyasyonları sonucunda ilaç absorpsiyonu, ilaç metabolizması ve dağılımı yanında hedeflerin yolaklarındaki genlerin ekspresyonları etkilenebilmektedir. Hüresel miRNA düzeylerindeki değişiklikler, 3'-UTR bölgesindeki miRNA bağlanma bölgelerinde ortaya çıkan genetik varyasyonlar, miRNA genlerinin ekspresyonunu, biyogenezini ve hedef gene bağlanma afinitesini etkileyen sekans modifikasyonları oldukça önemlidir (1).

miRNA'ların ilaç direnci ve duyarlılığında etkili oldukları düşünülmektedir. miRNA-829 gen varyasyonu, miRNA-24 fonksiyonunu etkileyebilen dihidrofolat redüktaz (DHFR) geninin 3'-UTR bölgesinde tanımlanan bir genetik varyasyondur ve bu gen varyasyonu DHFR ve bir kemoterapi ajanı, immün sistem baskılayıcısı olan metotreksat (MTX) direncinde artışa neden olmaktadır. K-ras geninde ortaya çıkan LCS6'daki genetik varyasyon da ilaçların etkinliğinde rol oynayabilen diğer bir genetik varyasyondur (1). Bu özelliklerden dolayı miRNA'ların ilaç tedavilerinin klinik sonuçlarının tahmin edilebilmesinde etkili olan biyobelirteçler oldukları düşünülmektedir. İlaçların etkinliklerinin artırılabilmesi için ilaç davranışlarını etkileyebilen genlerde ortaya çıkan miRNA'ların ve miRNA gen varyasyonlarının incelenmesi son derece önemlidir (37). İlaçları metabolize edebilen enzimler ve taşıyıcılar, ilaçların metabolizmalarında,

bağırsak emilimlerinde, eliminasyonlarında ve detoksifikasyonlarında önemli rol oynamaktadırlar. miRNA'lar ise ilaçları metabolize edebilen enzimler ve taşıyıcılarının regülasyonunda etkilidirler. CYP1B1, hücre hatlarında miRNA-27b için potansiyel bir hedef olarak kabul edilmiştir ve kanserli dokularda miRNA-27b ekspresyon düzeyinin azaldığı, CYP1B1 protein düzeyinin ise arttığı belirlenmiştir (38-40). Bu yüzden kanserli dokularda tespit edilen azalmış miRNA-27b ekspresyonu, artmış CYP1B1 protein ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir (39,40). Fizyolojik olaylarda rol oynayan genlerin ve ilaç metabolize edici enzimlerin düzenlenmesi miRNA'lar aracılığıyla gerçekleşmektedir. Ayrıca CYP1B1 mRNA'nın 3'-UTR ve 5'-UTR bölgeleri ile etkileşimi yoluyla CYP1B1'in miRNA-27b susturulması gerçekleşmektedir (1).

Kemoterapötik ilaç direncinde önemli rol oynayan bir protein ABCG2 proteindir ve ABCG2 mRNA'nın 3'-UTR bölgesinde miRNA-519c, miRNA-520h, miRNA-328 için bağlanma bölgeleri bulunmaktadır. Bu yüzden ilaca dirençli kanser hücrelerinde aşırı ABCG2 ekspresyonunda miRNA regülasyonu önemlidir. Yüksek oranda eksprese edilen ABCG2, azalmış miRNA-520h ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir. ABCG2'yi aşırı eksprese edebilen ilaca dirençli hücrelerde miRNA-519c, mRNA'nın bağlanma bölgesinden yoksun olduğu için ABCG2 ekspresyonunu etkileyememektedir. İlaça dirençli hücrelerin miRNA regülasyonundan kaçarak yüksek ABCG2 ekspresyonunu devam ettirebildiği bildirilmiştir. miRNA-27a ve miRNA-451'in de çoklu ilaç direnç mutasyon 1 (MDR1) gen ürünü



olarak bilinen P-glikoprotein (PgP) ekspresyonunun aktivasyonunda etkili oldukları belirlenmiştir. Diğer bir miRNA olan miRNA-326, meme kanserinin kemoterapi direncinde etkili olan çoklu ilaç direnci ile ilişkili protein 1 (MRP-1) gen ekspresyonunun modülasyonunda önemli rol oynamaktadır. Lösemi hücrelerinin çoklu ilaç direncini tersine çevirebilen bir miRNA da miRNA-138 olarak bilinmektedir. miRNA-148a'nın ise pregnane X reseptörünü (PXR) etkileme yoluyla dolaylı olarak CYP3A4 ekspresyonunu değiştirerek düzenleyici bir rol oynadığı düşünülmektedir. Sonuç olarak miRNA'lar ilaç direncinin düzenlenmesinde önemlidirler. miRNA düzenleyici elemanlar ve miRNA gen varyasyonları arasındaki etkileşimlerin detaylı olarak araştırılabilmesi bakımından kapsamlı analizler gerekmektedir (1).

SONUÇ

miRNA ekspresyon düzeyleri, miRNA gen varyasyonları ve çeşitli kanser türlerinin gelişimi arasındaki ilişkilerin belirlenmesini amaçlayan farklı popülasyonlar ile gerçekleştirilmiş sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır ve bu çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmaların sonuçlarındaki farklılıkların örneklem büyüklüklerinden, seçim kriterlerinden, bireylerin yaşam tarzlarının farklılıklarından, genetik değişkenliklerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. miRNA ekspresyon düzeyleri ve miRNA gen varyasyonlarının kanser gelişimindeki olası rollerinin belirlenmesine yönelik farklı popülasyonlarla daha kapsamlı çalışmalar gerçekleştirilmelidir. miRNA genlerinde, miRNA biyogenezini ile ilişkili genlerde ve miRNA hedeflerinde ortaya çıkan genetik varyasyonlar sonucunda miRNA fonksiyonlarında kazançlar ya da kayıplar ortaya çıkabilmektedir. Bu yüzden miRNA fonksiyonunun önemli yollarda yer alan genlerdeki ekspresyon düzeylerini etkileyebileceği düşünülmektedir. Genom fonksiyonunun düzenlenmesinde rol oynayan miRNA'ların kanser tanısı, prognozu, progresyonu ve tedavisinde önemli biyobelirteçler olabilecekleri düşünülmektedir. Ayrıca ilaç davranışlarını etkileyen hedef genlerdeki miRNA'ların ve bu genlerde ortaya çıkan miRNA gen varyasyonlarının belirlenmesi, kanser tedavisinde etkili olan ilaçların etkinliğinin artırılabilmesi ve yeni terapötik stratejilerin geliştirilebilmesi açısından son derece önemlidir.

KAYNAKÇA

- 1) William Xu, Qi Zhao Wang, Qi Cui, et al. MicroRNA Polymorphisms, MicroRNA Pharmacogenomics and Cancer Susceptibility. *Current Pharmacogenomics and Personalized Medicine*. 2010;8(4):289-305. <https://doi.org/10.2174/187569210793368221>.
- 2) Eulalio A, Behm-Ansmant I, Schweizer D, et al. P-body formation is a consequence, not the cause, of RNA-mediated gene silencing. *Mol Cell Biol*. 2007;27(11):3970-3981.
- 3) Okamura K, Ishizuka A, Siomi H, et al. Distinct roles for argonaute proteins in small RNA-directed RNA cleavage pathways. *Gene Dev*. 2004;18(14):1655-1666.
- 4) Wang Q, Xu W, Habib N, et al. Potential uses of miRNA in lung cancer diagnosis, prognosis, and therapy. *Curr Cancer Drug Targets*. 2009;9(4):572-594.
- 5) Horikawa Y, Wood CG, Yang H, et al. Single nucleotide polymorphisms of microRNA machinery genes modify the risk of renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2008;14(23):7956-7962. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1199.
- 6) Hitit M, Kurar E, Güzeloğlu A. mikroRNA Biyogenezini. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg*. 2015;10(3):211-218.
- 7) Li M, Wang Y, Song Y, et al. MicroRNAs in renal cell carcinoma: a systematic review of clinical implications (Review). *Oncol Rep*. 2015;33(4):1571-1578. doi: 10.3892/or.2015.3799.
- 8) Mishra PJ, Song B, Mishra PJ, et al. MiR-24 tumor suppressor activity is regulated independent of p53 and through a target site polymorphism. *PLoS One*. 2009;4(12):e8445.
- 9) Hiard S, Charlier C, Coppieters W, et al. Patrocles: a database of polymorphic miRNA-mediated gene regulation in vertebrates. *Nucleic Acids Res*. 2010;38:D640-5.
- 10) Ellwanger JH, Zambra FMB, Guimarães RL, et al. MicroRNA-Related Polymorphisms in Infectious Diseases—Tiny Changes With a Huge Impact on Viral Infections and Potential Clinical Applications. *Front Immunol*. 2018;9:1316. doi: 10.3389/fimmu.2018.01316.
- 11) Saydam F, Değirmenci İ, Güneş HV. MikroRNA'lar ve kanser. *Dicle Medical Journal*. 2011;38(1):113-120.
- 12) Wu M, Jolicoeur N, Li Z, et al. Genetic variations of microRNAs in human cancer and their effects on the expression of miRNAs. *Carcinogenesis*. 2008;29(9):1710-1716.
- 13) Landi D, Gemignani F, Barale R, et al. A catalog of polymorphisms falling in microRNA-binding regions of cancer genes. *DNA Cell Biol*. 2008;27(1):35-43.
- 14) Diederichs S, Haber DA. Sequence variations of microRNAs in human cancer: alterations in predicted secondary structure do not affect processing. *Cancer Res*. 2006;66(12):6097-6104.
- 15) Protopopov A, Kashuba V, Zabarovska VI, et al. An integrated physical and gene map of the 3.5-Mb chromosome 3p21.3 (AP20) region implicated in major human epithelial malignancies. *Cancer Res*. 2003;63(2):404-412.
- 16) Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, et al. Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Cell*. 2006;9(3):189-198.



- 17) Clague J, Lippman SM, Yang H, et al. Genetic variation in MicroRNA genes and risk of oral premalignant lesions. *Mol Carcinog*. 2010;49(2):183-189.
- 18) 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(17):1793-1801.
- 19) Zhou X, Chen X, Hu L, et al. Polymorphisms involved in the miR-218-LAMB3 pathway and susceptibility of cervical cancer, a casecontrol study in Chinese women. *Gynecol Oncol*. 2010;117(2):287-290.
- 20) Yang H, Dinney CP, Ye Y, et al. Evaluation of genetic variants in microRNA-related genes and risk of bladder cancer. *Cancer Res*. 2008;68(7):2530-2537.
- 21) Ye Y, Wang KK, Gu J, et al. Genetic variations in microRNA-related genes are novel susceptibility loci for esophageal cancer risk. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2008;1(6):460-469.
- 22) Jazdzewski K, Murray EL, Franssila K, et al. Common SNP in premiR-146a decreases mature miR expression and predisposes to papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105(20):7269-7274.
- 23) Xu B, Feng NH, Li PC, et al. A functional polymorphism in Pre-miR-146a gene is associated with prostate cancer risk and mature miR-146a expression in vivo. *Prostate*. 2010;70(5):467-472.
- 24) Rehmsmeier M, Steffen P, Hochsmann M, et al. Fast and effective prediction of microRNA/target duplexes. *RNA*. 2004;10(10):1507-1517.
- 25) He H, Jazdzewski K, Li W, et al. The role of microRNA genes in papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102(52):19075-19080.
- 26) Pallante P, Visone R, Ferracin M, et al. MicroRNA deregulation in human thyroid papillary carcinomas. *Endocr Relat Cancer*. 2006;13(2):497-450.
- 27) Shen J, Ambrosone CB, DiCioccio RA, et al. A functional polymorphism in the miR-146a gene and age of familial breast/ovarian cancer diagnosis. *Carcinogenesis*. 2008;29(10):1963-1966.
- 28) Kasashima K, Nakamura Y, Kozu T. Altered expression profiles of microRNAs during TPA-induced differentiation of HL-60 cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;322(2):403-410.
- 29) Hui AB, Lenarduzzi M, Krushel T, et al. Comprehensive MicroRNA profiling for head and neck squamous cell carcinomas. *Clin Cancer Res*. 2010;16(4):1129-1139.
- 30) Hu Z, Chen J, Tian T, et al. Genetic variants of miRNA sequences and non-small cell lung cancer survival. *J Clin Invest*. 2008;118(7):2600-2608.
- 31) Tian T, Shu Y, Chen J, et al. A functional genetic variant in microRNA-196a2 is associated with increased susceptibility of lung cancer in Chinese. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009;18(4):1183-1187.
- 32) Hu Z, Liang J, Wang Z, et al. Common genetic variants in pre-microRNAs were associated with increased risk of breast cancer in Chinese women. *Hum Mutat*. 2009;30(1):79-84.
- 33) Peng S, Kuang Z, Sheng C, et al. Association of microRNA-196a-2 gene polymorphism with gastric cancer risk in a Chinese population. *Dig Dis Sci*. 2010;55(8):2288-22893.
- 34) Schimanski CC, Frerichs K, Rahman F, et al. High miR-196a levels promote the oncogenic phenotype of colorectal cancer cells. *World J Gastroenterol*. 2009;15(17):2089-2096.
- 35) Hoffman AE, Zheng T, Yi C, et al. microRNA miR-196a-2 and breast cancer: a genetic and epigenetic association study and functional analysis. *Cancer Res*. 2009;69(14):5970-5977.
- 36) Dou T, Wu Q, Chen X, et al. A polymorphism of microRNA196a genome region was associated with decreased risk of glioma in Chinese population. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2010. [Epub ahead of print].
- 37) Mishra PJ, Humeniuk R, Mishra PJ, et al. A miR-24 microRNA binding-site polymorphism in dihydrofolate reductase gene leads to methotrexate resistance. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104(33):13513-13518.
- 38) Muntané J. Regulation of drug metabolism and transporters. *Curr Drug Metab*. 2009;10:932-945.
- 39) Tsuchiya Y, Nakajima M, Takagi S, et al. MicroRNA regulates the expression of human cytochrome P450 1B1. *Cancer Res*. 2006;66(18):9090-9098.
- 40) Devlin AH, Thompson P, Robson T, et al. Cytochrome P450 1B1 mRNA untranslated regions interact to inhibit protein translation. *Mol Carcinog*. 2010;49(2):190-199.