

احتمال اثرگذاری miR-20a, miR-93 و miR-20b در تمایز سلول‌های naïve CD4⁺ به سلول‌های Th17 در بیماری مالتیپل اسکلروزیس

رضا تقویان^۱، محمد امین هنردوست^۱، عارف حسینی^۱، کامران قاندي^۲، مسعود اعتمادی فر^۳،
محمد حسین نصر اصفهانی^۴، مزدک گنجعلی خانی حاکمی^۵

چکیده

سابقه و هدف

یکی از اساسی‌ترین سلول‌های سیستم ایمنی که در بیماری مالتیپل اسکلروزیس (MS) دخالت دارد، سلول Th17 می‌باشد که در بسیاری دیگر از بیماری‌های خود ایمن نیز اثرگذار است. اخیراً از میکرو RNA ها در درمان بسیاری از بیماری‌ها استفاده می‌شود. miRNA ها دسته‌ای از RNA های غیر کد شونده به طول ۲۲ تا ۲۵ نوکلئوتید هستند که نقش‌های تنظیمی اساسی در فرآیندهای مختلف سلولی دارند. در این مطالعه با استفاده از پایگاه داده‌های بیوانفورماتیک، تلاش شده است تا miRNAهایی که در مسیر تمایز به Th17 نقش دارند را مشخص نموده و از این طریق کاندیداهایی برای مهار این مسیر و کاهش علائم بیماری به دست آورند.

مواد و روش‌ها

مطالعه انجام شده از نوع تئوریکال بیوانفورماتیک است. در این مطالعه از طریق پایگاه داده miRWalk، میانگین میان ژن‌های دخیل در تمایز سلول‌های CD4⁺ بکر به سلول‌های Th17 با میکرو RNA هایی که تغییرات بیان آن‌ها در بیماری‌های خود ایمن مختلف به اثبات رسیده است، مورد بررسی قرار گرفته و اثر احتمالی چندین miRNA در این مسیر را مشخص کرده است.

یافته‌ها

بر اساس نتایج به دست آمده miR-20a/b و miR-93 احتمالاً می‌توانند از طریق مهار القای تمایز به Th17، میکرو RNA های کلیدی در جلوگیری از پیشروی علائم بیماری باشند.

نتیجه‌گیری

با توجه به این نتایج می‌توان گفت که miR-20a، miR-20b و miR-93 با مهار فاکتورهای رونویسی مثل RORC و STAT3 و... از تمایز به Th17 جلوگیری می‌کند و می‌توان از آن‌ها به عنوان پتانسیل‌های دارویی و درمانی و نیز بیومارکرهای شناسایی بیماری MS استفاده کرد.

کلمات کلیدی: مالتیپل اسکلروزیس، میکرو RNAها، سلول‌های Th17، بیماری‌های خود ایمنی

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۲۰

تاریخ پذیرش: ۹۳/۷/۲

- ۱- کارشناس ارشد زیست‌شناسی سلولی و مولکولی - دانشگاه اصفهان - اصفهان - ایران
- ۲- مؤلف مسؤل: PhD بیولوژی مولکولی - دانشیار دانشکده علوم دانشگاه اصفهان و گروه زیست فناوری سلولی - مرکز تحقیقات علوم سلولی - پژوهشکده زیست فناوری جهاد دانشگاهی - پژوهشگاه رویان - خیابان هزار جریب - اصفهان - ایران - کدپستی: ۸۱۷۴۶-۷۳۴۴۱
- ۳- فوق تخصص مغز و اعصاب - استاد دانشگاه علوم پزشکی اصفهان - اصفهان - ایران
- ۴- PhD جنین‌شناسی - استاد مرکز تحقیقات علوم سلولی - پژوهشکده زیست فناوری جهاد دانشگاهی - پژوهشگاه رویان - اصفهان - ایران
- ۵- PhD ایمونولوژی - استادیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و مرکز تحقیقات ایمنی‌شناسی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان - اصفهان - ایران

مقدمه

مالتیپل اسکلروزیس (MS) یک بیماری مزمن التهابی سیستم دستگاه عصبی مرکزی (CNS) می‌باشد. این بیماری آکسون‌های میلین دار CNS را مورد هدف قرار می‌دهد و باعث تخریب میلین و آکسون‌ها به میزان مختلف می‌شود (۱). نرخ شیوع MS چیزی در حدود ۱-۲ در ۱۰۰۰ می‌باشد و به نظر می‌رسد که این میزان در حال افزایش است (۲). هم چنین میزان ابتلا در زنان دو برابر مردان است. دلیل اصلی این بیماری کاملاً شناخته شده نیست اما به نظر می‌رسد ترکیبی از عوامل ژنتیکی و غیر ژنتیکی مانند ویروس، متابولیسم یا فاکتورهای محیطی تاثیر دارد که به همراه هم منجر به ایجاد چنین اختلال خود ایمنی می‌شوند و باعث حمله‌های ایمنی در CNS می‌گردند (۳). حدود ۸۰٪ تا ۹۰٪ بیماران MS در ابتدا فرم عودکننده - بهبودپذیر را در اواخر دهه دوم زندگی از خود نشان می‌دهند (RRMS = relapsing-remitting multiple sclerosis) و تا حدی بهبود خود به خودی علایم در فاز رمیشن دیده می‌شود. چند سال پس از آغاز بیماری، بسیاری از بیماران RRMS وارد فاز پیشرونده ثانویه (SPMS = Secondary progressive multiple sclerosis) می‌شوند، که در آن بهبود علایم از بین می‌رود و مشکلات عصبی افزایش می‌یابد. ۱۰٪ تا ۲۰٪ باقی‌مانده بیماران از فرم پیشرونده ابتدایی (PPMS = Primary progressive multiple sclerosis) رنج می‌برند، که ظاهراً در آن هیچ‌گونه بهبودی از ابتدای شروع بیماری دیده نمی‌شود (۴).

تحقیقات نشان می‌دهد که Th17 در بروز علایم نقش مؤثری را برعهده دارند. سلول‌های T-helper 17 زیر رده‌ای از سلول‌های T-helper CD4⁺ هستند که نخستین بار در سال ۲۰۰۷ به عنوان یک زیر رده‌ی مجزا معرفی شدند (۶). سلول‌های Th17 به عنوان جزئی از سیستم ایمنی اکتسابی با تولید اینترلوکین‌های IL-17a, IL-17f و IL-22، در مقابله با عفونت‌های قارچی و باکتریایی خارج سلولی شرکت می‌کنند (۷). علاوه بر این، سلول‌های Th17 در پاسخ‌های فزاینده سیستم ایمنی در فاز حاد برخی از بیماری‌های خود ایمن مثل مالتیپل اسکلروزیس، آرتریت روماتوئید، سوریازیس و دیابت نقش عمده و مؤثری

دارند (۸-۱۵). تکوین به Th17 را می‌توان به سه مرحله تقسیم کرد: تمایز به وسیله TGF- β ، IL-1 β و IL-6، تکثیر درون‌ریز (اتوکراین) به وسیله IL-21 و ادامه تکثیر به وسیله IL-23 ادامه می‌یابد. در بیماری‌های خود ایمنی مثل سوریازیس، نقش اساسی IL-17 در پیشرفت بیماری مشخص شده است. در MS نیز مشخص شده است که افراد میزان بالاتری از IL-23 را ترشح می‌کنند که پیشنهاد می‌شود مسیر IL-23/Th17 در پیشروی بیماری نقش داشته باشد (۱۶).

miRNA ها گروه جدیدی از RNAهای غیر کدکننده و تک رشته‌ای به طول تقریباً ۲۲ نوکلئوتید هستند که نقش محوری در تنظیم تمایز و پروسه‌های سلولی دارند. این دسته از RNAها با تنظیم و کنترل بیان ژن‌ها در سطح mRNA پس از رونویسی، اثر خود را اعمال می‌کنند. به طوری که پس از تولید و پردازش در داخل سلول، به ناحیه 3'-UTR رونوشت پروتئین هدف خود متصل و باعث تخریب و یا مهار ترجمه mRNA پروتئین هدف خود می‌شوند (۱۸، ۱۷). miRNAها بیان منحصر به فردی در سلول‌های سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی دارند و از این رو نقش مهمی در تنظیم نمو و عملکرد این سلول‌ها ایفا می‌کنند. تنظیم پاسخ‌های ایمنی به وسیله miRNAها، طی مطالعه‌های متعدد در پستانداران اثبات شده است (۲۰، ۱۹). از این رو برآورد می‌شود حدود نیمی از ژن‌های دخیل در پاسخ‌های سیستم ایمنی تحت کنترل و تنظیم miRNAها هستند. از طرف دیگر تغییر بیان miRNAها در چندین بیماری خود ایمنی نظیر آرترید روماتوئید، لوپوس، مالتیپل اسکلروزیس و سندرم شوگرن گزارش شده است (۲۲، ۲۱). هدف از این پژوهش، مشخص کردن miRNAهایی به روش بیوانفورماتیک است که بتوانند بیشترین اثرگذاری را در مسیر تمایز به Th17 و نیز مهار ترشح سایتوکاین‌های التهابی توسط آن‌ها داشته باشند تا بدین وسیله علایم و شدت بیماری را کاهش دهند.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع تئوریکال بیوانفورماتیک بود و به صورت نظری با تکیه بر پایگاه داده miRWalk صورت

توسط یک miRNA خاص را پیش‌بینی کنند، در مقابل آن، عدد ۱ و در غیر این صورت عدد صفر داده می‌شود؛ در نهایت با جمع این اعداد، عدد نهایی از ۱۰ به میانگین آن miRNA و mRNA داده می‌شود که در حقیقت نشان‌دهنده تعداد پایگاه‌هایی است که امکان انجام آن میانگین را پیش‌بینی کرده‌اند و می‌تواند معیار مناسبی برای پیش‌بینی تاثیر مهاری، miRNA بر روی mRNA مربوطه باشد.

جدول ۱: مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های مثبت و منفی در مسیر تمایز به Th17. این تنظیم‌کننده‌ها در مسیرهای مختلف سلولی منجر به تمایز به سلول‌های Th17 و یا جلوگیری از تمایز به این سلول‌ها می‌شوند (۲۳، ۲۴).

Negative regulators	Positive regulators
IFN-gamma	IL17A
IL4	IL17F
IL12	IL23
IL12R	IL23R
STAT5a	IL6R
STAT5b	IL6
FOXP3	IL21
PPARg	IL22
T-bet	IL21R
GATA3	IL1R
STAT1	RORC
STAT4	STAT3
STAT6	RORa
SMAD3	Hif1 α
SMAD4	SMAD6
SMAD2	SMAD7
FOXO1	mTOR

۱۰ پایگاه‌ها بیوانفورماتیک که در پایگاه miWalk، پیش‌بینی میانگین miRNA-mRNA را انجام می‌دهند عبارتند از: (۱) DIANA-mT (۲) miRanda (۳) miRDB (۴) PICTAR5 (۵) miRwalk (۶) RNAhybrid (۷) PICTAR4 (۸) PITA (۹) RNA22 و (۱۰) TargetScan، که هرکدام از این پایگاه‌ها خود نیز به صورت جداگانه می‌توانند میانگین mRNA-miRNA را بررسی کنند. با بررسی‌های انجام شده بر روی ژن‌هایی (mRNAs) که تنظیم‌کننده‌های مثبت و منفی تمایز زیر رده سلولی Th17 هستند و میانگین آن‌ها با miRNA های انتخاب شده، انتخاب این miRNA ها بر اساس مطالعه‌هایی صورت پذیرفت که تاکنون در مقالات معتبر جهانی به چاپ رسیده است و مرتبط با سلول‌های Th17 در بیماری‌های خود ایمن مختلف می‌باشند. این

پذیرفت. روش انجام کار به سه بخش جمع‌آوری اولیه داده‌ها از مقالات، بررسی داده‌های به دست آمده در پایگاه miWalk و نهایتاً بررسی یافته‌ها و نتیجه‌گیری بود که به تفصیل ارائه شده است.

جمع‌آوری داده:

در ابتدا بر اساس مطالعه‌های قبلی انجام شده، تنظیم‌کننده‌های مثبت و منفی که نقش آن‌ها در مسیر تمایز سلول‌های Th17 مشخص شده بود، جمع‌آوری شدند (جدول ۱). برخی از این ژن‌ها مثل STAT3، RORC، IL-17، mTOR، و Smad6/7 منجر به تمایز به سلول‌های Th17 می‌شوند و جزو دسته تنظیم‌کننده‌های مثبت قرار گرفته‌اند و ژن‌هایی مثل IFN- γ ، Smad 3/4، GATA3 و T-bet که مسیرهای تمایز به سایر انواع سلول‌های T مثل Th1، Th2، یا Treg را راه‌اندازی می‌کنند، جزو تنظیم‌کننده‌های منفی این مسیر قرار گرفته‌اند (۲۳، ۲۴). هم‌چنین از طریق مطالعه‌هایی که به بررسی تغییرات بیان miRNA ها در بیماری‌های خود ایمن مختلف که نقش Th17 در آن‌ها به اثبات رسیده است مثل: آرترید روماتوئید، لوپوس، مولتیپل اسکلروزیس و دیابت خود ایمن... پرداخته بود، miRNA های مختلفی به عنوان نامزدهای اولیه انتخاب شدند که احتمال می‌رود در مسیر تمایز به Th17 دخالت داشته باشند.

بررسی میانگین بین mRNA-miRNA از طریق پایگاه داده miWalk ::

پایگاه بیوانفورماتیک miWalk، یکی از پایگاه‌های پیش‌بینی میانگین miRNA-mRNA است که این امکان را فراهم آورده است (۲۵). در حقیقت پایگاه miWalk علاوه بر این که خود پیش‌بینی میانگین miRNA-mRNA را با الگوریتم خود انجام می‌دهد، با مقایسه هم‌زمان نتایج پیش‌بینی ۹ پایگاه بیوانفورماتیک مهم و مختلف دیگر با الگوریتم‌های متفاوت، امکان انجام پیش‌بینی میانگین miRNA-mRNA را به صورت دقیق‌تر و مطمئن‌تری فراهم می‌آورد. در پایگاه miWalk در صورتی که هر یک از ۱۰ پایگاه بیوانفورماتیک، احتمال مهار یک mRNA خاص

IL-23R و RUNX1 که از دیگر تنظیم‌کننده‌های مثبت تمایز سلول‌های CD4⁺ بکر به Th17 می‌باشند نیز اثر بگذارند. علاوه بر این، miR-20a و miR-20b می‌توانند با قدرت میانکشی بسیار کمتر بر روی برخی از تنظیم‌کننده‌های منفی تمایز به Th17 مثل SMAD2/4، T-bet، و FOXO1 نیز اثر بگذارند که این داده با توجه به این که هر میکرو RNA می‌تواند اهداف مختلفی داشته باشد، دور از انتظار نمی‌باشد؛ اما با توجه به قدرت میانکشی پایین از آن چشم پوشی می‌شود (جدول ۲).

جدول ۲: قدرت و احتمال میانکشی میان میکرو mRNA-RNA بر اساس پایگاه داده miRWalk (اعداد می‌توانند بین ۰ تا ۱۰ باشند)

ژن‌ها میکرو RNA	STAT3	RORC	HIF1 α	SMAD6	SMAD7
Has-mir-93	۸	۶	۷	۷	۸
Has-mir-20a	۷	۶	۹	۷	۸
Has-mir-20b	۷	۶	۸	۷	۸

بحث

مطالعه‌ها نشان می‌دهد که پیش‌بینی‌های بیوانفورماتیک در این مطالعه با تحقیقاتی که تاکنون انجام شده نیز مطابقت دارد. کوکس و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان دادند که بیان miR-20a، miR-20b و miR-93 در خون محیطی تمام بیماران مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس، کاهش می‌یابد و می‌تواند باعث مهار ژن‌های دخیل در فعال شدن سلول‌های T شوند (۲).

هم چنین اشتانیر و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان داده‌اند که بیان miR-20a و miR-93 در تکثیر سلول‌های T، اثر مثبت دارند (۲۸). علاوه بر این به علت کارکرد چندسویه میکرو RNAها در سلول و نیز پلاستیسیته (Plasticity) بالای سلول‌های T، افزایش یا کاهش این miRNAها در سلول‌های CD4⁺ naïve می‌تواند باعث تبدیل آن‌ها به سایر سلول‌های T مثل سلول‌های Treg (سلول T تنظیمی) شود، که خود در کاهش علائم بیماری و متعادل ساختن سیستم دفاعی بدن نقش دارند. هم چنین

بیماری‌ها عبارتند از: آرترید روماتوئید، لوپوس، مالتیپل اسکلروزیس، سندرم شوگرن. در ۱۰ الگوریتم مختلف پایگاه‌های مختلف بیوانفورماتیک که در پایگاه miRWalk وجود دارد، عددی از صفر تا ۱۰ برای هر میانکشی به دست آمد که میزان قدرت و احتمال میانکشی mRNA-miRNA های مختلف را به ما نشان می‌داد.

یافته‌ها

شناسایی سه میکرو RNA اثرگذار در بیماری مالتیپل اسکلروزیس:

یافته‌های به دست آمده از پایگاه داده miRWalk نشان داد که miR-93، miR-20a و miR-20b می‌توانند با مهار تنظیم‌کننده‌های مثبت در مسیر تمایز سلول‌های naïve CD4⁺ به Th17، در این مسیر اختلال ایجاد کنند و مانع افزایش تعداد این سلول‌ها و در نتیجه باعث کاهش التهاب شوند. نکته جالب توجه در مورد این miRNAها این است که هر ۳ جزو یک خانواده پیش‌ساز میکرو RNAها به نام خانواده پیش‌ساز mir-17 هستند. خانواده پیش‌ساز mir-17 شامل miR-20a/b، miR-93 و miR-106a/b می‌باشد. نکته دیگر این است که miR-93 به همراه miR-106b و miR-25 از یک خوشه ژنی (cluster) هستند، هم چنین miR-20a جزو خوشه has-mir-17-92 می‌باشد که اهمیت آن در خود ایمنی و بیماری‌های خود ایمن به اثبات رسیده است (۲۷).

مطالعه مکانیسم تاثیرگذاری miR-93، miR-20a و miR-20b:

بررسی‌های بیوانفورماتیک حاضر نشان داد که miR-20a/b و miR-93 اثر خود را از طریق مهار تنظیم‌کننده‌های مثبت تمایز به Th17 انجام می‌دهند و در نتیجه مسیر تمایز به Th17 را مهار می‌کنند. مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های مثبتی که هدف این miRNAها هستند شامل STAT3، HIF1 α ، SMAD6، SMAD7 و RORC می‌باشند که از این میان RORC و STAT3 جزو فاکتورهای رونویسی اصلی در مسیر تمایز به Th17 می‌باشند (۷). این میکرو RNAها هم چنین می‌توانند روی mRNA ژن‌های دیگری مثل IL-1R،

تمایز به Th17 مؤثرند (۳۱، ۳۰). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که miRNA های پیشنهادی می‌توانند با هدف قرار دادن ژن‌های دخیل در مسیر تمایز به سلول‌های Th17، این مسیر را دچار اختلال کنند. مطالعه‌ها نشان داده است که در بیماران MS، میزان این miRNA ها کاهش یافته است که این به معنای افزایش جمعیت سلول‌های Th17 می‌باشد. بنابراین القای بیان این miRNA ها در سلول‌های naïve CD4⁺ می‌تواند از تمایز آن‌ها به Th17 جلوگیری کرده و منجر به کاهش شدت بیماری شود. هم‌چنین miRNA های مورد مطالعه در این تحقیق می‌توانند به عنوان بیومارکرهایی برای شناسایی بیماری MS در مراحل اولیه بیماری و قبل از بروز علائم بالینی در فرد مورد استفاده قرار گیرد، بدین صورت که کاهش معنادار این miRNA ها در خون، می‌تواند بیومارکری برای تشخیص شدت بیماری و یا فعالیت سلول‌های Th17 باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به این نتایج می‌توان گفت که miR-93-miR-20a و miR-20b با مهار فاکتورهای رونویسی مثل RORC و STAT3 و... از تمایز به Th17 جلوگیری می‌کند و می‌توان از آن‌ها به عنوان پتانسیل‌های دارویی و درمانی و نیز بیومارکرهای شناسایی بیماری MS استفاده کرد.

به علت قرار داشتن این miRNA ها در خوشه‌های ژنی مهمی مثل miR-17-92، اعضای دیگر این خوشه‌ها نیز خود می‌توانند کاندیداهایی اثرگذار در این مسیر باشند که نیازمند تحقیق و بررسی بیشتر هستند.

ژن‌های هدف این miRNA ها که توسط پایگاه miRWalk مشخص شده‌اند نیز ژن‌های اساسی در مسیر تمایز به زیر رده Th17 هستند. ایوانو و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که ROR γ t، فاکتور رونویسی اصلی است که تمایز به این رده را تنظیم می‌کند (فاکتور رونویسی ROR γ t، ایزوفرم حاصل از ویرایش (Splicing) محصول ژن Rorc می‌باشد). ROR γ t منجر به القای ژن‌های کدکننده IL-17 در سلول‌های naïve CD4⁺ می‌شود و نیز برای بیان آن در پاسخ به سایتوکاین‌های القاکننده تمایز به Th17 (IL-6 و TGF- β) ضروری است (۷). مشخص شده است که STAT3 با اتصال به پروموتور بسیاری از ژن‌های مؤثر در تمایز زیر رده سلولی Th17، فاکتور رونویسی بسیار مهمی در این مسیر است. فعال شدن مسیر STAT3 برای فعالیت ROR γ t که خود یکی از ژن‌های هدف STAT3 می‌باشد، ضروری است تا سپس با بازآرایی در لوکوس IL17a/IL17f منجر به بیان بالای IL-17 شود (۲۹). پروتئین‌های Smad6,7 و Hif1 α نیز به ترتیب در مسیرهای TGF- β و mTOR نقش دارند که هر دوی این مسیرها در

References :

- 1- Calabresi PA. Diagnosis and management of multiple sclerosis. *Am Fam Physician* 2004; 70(10): 1935-44.
- 2- Cox MB, Cairns MJ, Gandhi KS, Carroll AP, Moscovis S, Stewart GJ, *et al.* MicroRNAs miR-17 and miR-20a inhibit T cell activation genes and are under-expressed in MS whole blood. *PLoS One* 2010; 5(8): e12132.
- 3- Goldenberg MM. Multiple sclerosis review. *P T* 2012; 37(3): 175-84.
- 4- Nakahara J, Maeda M, Aiso S, Suzuki N. Current concepts in multiple sclerosis: autoimmunity versus oligodendroglipathy. *Clin Rev Allergy Immunol* 2012; 42(1): 26-34.
- 5- Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, Turner H, Murphy TL, Murphy KM, *et al.* Interleukin 17-producing CD4⁺ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol* 2005; 6(11): 1123-32.
- 6- Stockinger B, Veldhoen M. Differentiation and function of Th17 T cells. *Curr Opin Immunol* 2007; 19(3): 281-6.
- 7- Ivanov II, McKenzie BS, Zhou L, Tadokoro CE, Lepelley A, Lafaille JJ, *et al.* The Orphan Nuclear Receptor ROR γ directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells. *Cell* 2006; 126(6): 1121-33.
- 8- Brucklacher-Waldert V, Stuermer K, Kolster M, Wolthausen J, Tolosa E. Phenotypical and functional characterization of T helper 17 cells in multiple sclerosis. *Brain* 2009; 132(Pt 12): 3329-41.
- 9- Edwards L, Robins R, Constantinescu C. Th17/Th1 phenotype in demyelinating disease. *Cytokine* 2010; 50(1): 19-23.
- 10- Qian G, Qin X, Zang YQ, Ge B, Guo TB, Wan B, *et al.* High doses of α -galactosylceramide potentiate experimental autoimmune encephalomyelitis by directly enhancing Th17 response. *Cell Res* 2010; 20(4): 480-91.
- 11- Doodles PD, Cao Y, Hamel KM, Wang Y, Rodeghero RL, Mikecz K, *et al.* IFN- γ regulates the

- requirement for IL-17 in proteoglycan-induced arthritis. *J Immunol* 2010; 184(3): 1552-9.
- 13- von Delwig A, Locke J, Robinson JH, Ng WF. Response of Th17 cells to a citrullinated arthritogenic aggrecan peptide in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2010; 62(1): 143-9.
- 14- Fujishima S, Watanabe H, Kawaguchi M, Suzuki T, Matsukura S, Homma T, *et al.* Involvement of IL-17F via the induction of IL-6 in psoriasis. *Arch Dermatol Res* 2010; 302(7): 499-505.
- 15- Lowes MA, Kikuchi T, Fuentes-Duculan J, Cardinale I, Zaba LC, Haider AS, *et al.* Psoriasis vulgaris lesions contain discrete populations of Th1 and Th17 T cells. *J Invest Dermatol* 2008; 128(5): 1207-11.
- 16- Emamaullee JA, Davis J, Merani S, Toso C, Elliott JF, Thiesen A, *et al.* Inhibition of Th17 cells regulates autoimmune diabetes in NOD mice. *Diabetes* 2009; 58(6): 1302-11.
- 17- Murdaca G, Colombo BM, Puppo F. The role of Th17 lymphocytes in the autoimmune and chronic inflammatory diseases. *Intern Emerg Med* 2011; 6(6): 487-95.
- 18- Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116(2): 281-97.
- 19- Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell* 2009; 136(2): 215-33.
- 20- O'Connell RM, Rao DS, Chaudhuri AA, Baltimore D. Physiological and pathological roles for microRNAs in the immune system. *Nat Rev Immunol* 2010; 10(2): 111-22.
- 21- Xiao C, Rajewsky K. MicroRNA control in the immune system: basic principles. *Cell* 2009; 136(1): 26-36.
- 22- Alevizos I, Illei GG. MicroRNAs in Sjögren's syndrome as a prototypic autoimmune disease. *Autoimmun Rev* 2010; 9(9): 618-21.
- 23- Furer V, Greenberg JD, Attur M, Abramson SB, Pillinger MH. The role of microRNA in rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases. *Clin Immunol* 2010; 136(1): 1-15.
- 24- Hirahara K, Ghoreschi K, Laurence A, Yang X-P, Kanno Y, O'Shea JJ. Signal transduction pathways and transcriptional regulation in Th17 cell differentiation. *Cytokine Growth Factor Rev* 2010; 21(6): 425-34.
- 25- Sundrud MS, Korolov S. Negative Regulation of TH17 Differentiation. In: Shuiping J. *TH17 Cells in Health and Disease*. USA: Springer; 2011. p. 129-55.
- 26- Dweep H, Sticht C, Pandey P, Gretz N. miRWalk--database: prediction of possible miRNA binding sites by "walking" the genes of three genomes. *J Biomed Inform* 2011; 44(5): 839-47.
- 27- Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic Acids Res* 2014; 42(Database issue): D68-73.
- 28- Lindberg RL, Hoffmann F, Mehling M, Kuhle J, Kappos L. Altered expression of miR-17-5p in CD4+ lymphocytes of relapsing–remitting multiple sclerosis patients. *Eur J Immunol* 2010; 40(3): 888-98.
- 29- Steiner DF, Thomas MF, Hu JK, Yang Z, Babiarz JE, Allen CD, *et al.* MicroRNA-29 regulates T-box transcription factors and interferon- γ production in helper T cells. *Immunity* 2011; 35(2): 169-81.
- 30- Yang XO, Panopoulos AD, Nurieva R, Chang SH, Wang D, Watowich SS, *et al.* STAT3 regulates cytokine-mediated generation of inflammatory helper T cells. *J Biol Chem* 2007; 282(13): 9358-63.
- 31- Derynck R, Akhurst RJ, Balmain A. TGF-beta signaling in tumor suppression and cancer progression. *Nat Genet* 2001; 29(2): 117-29.
- 32- Shi LZ, Wang R, Huang G, Vogel P, Neale G, Green DR, *et al.* HIF1alpha-dependent glycolytic pathway orchestrates a metabolic checkpoint for the differentiation of TH17 and Treg cells. *J Exp Med* 2011; 208(7): 1367-76.

Original Article

The possibility of miR-20a/b & miR-93 role in differentiation of naïve CD4⁺ to Th17 cells in multiple sclerosis

Naghavian R.¹, Honardoost M.A.¹, Hosseini A.¹, Ghaedi K.^{2,3}, Etemadifar M.⁴, Nasr Esfahani M.H.³, Ganjalikhani Hakemi M.^{5,6}

¹University of Isfahan, Isfahan, Iran

²School of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran

³Department of Cellular Biotechnology at Cell Science Research Center, ACECR, Royan Institute for Biotechnology, Isfahan, Iran

⁴Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

⁵Faculty of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

⁶Cellular & Molecular Immunology Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Abstract

Background and Objectives

Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune neurodegenerative disease in which the body's natural defense system attacks myelin on neuronal cells. One of the most important immune system cells involved in MS is Th17 which is one of the main cells involved in most of autoimmune diseases. Recently, microRNAs (miRNAs) have been remarkably used in treating many kinds of diseases. MicroRNAs are endogenous 22-25 nt RNAs playing an important regulatory roles in cellular and developmental processes.

Materials and Methods

The goal of this article is to determine miRNAs which possibly have the most effect in the pathway of differentiation to Th17 cells by using miRWalk database and candidate microRNAs that can suppress this pathway and limit the disease's symptoms. Our in-silico studies identified the possible role of several miRNAs in differentiation of naïve CD4⁺ cells to Th17 cells.

Results

miR-93, miR-20a/b are probably applicable to inhibit the differentiation of naïve T cells into Th17 cells to reduce the progress of MS and also to be used as markers of diagnosis of MS in early stages.

Conclusions

According to our results miR-20a/b & miR-93 can possibly be the key miRNAs, inhibiting the progression of MS by preventing the differentiation to Th17 cells.

Key words: Multiple Sclerosis, MicroRNAs, Th17 Cells, Autoimmune Diseases

Received: 11 Mar 2014

Accepted: 24 Sep 2014

Correspondence: Ghaedi K, PhD of Molecular Biology. Associate Professor of School of Science, Isfahan University of Medical Sciences & Department of Cellular Biotechnology at Cell Science Research Center, ACECR, Royan Institute for Biotechnology. Postal code: 81746-73441, Isfahan, Iran. Tel: (+98311) 7932479 ; Fax: (+98311) 7932456E-mail: kamranghaedi@yahoo.com