

A mikroRNS-ek lehetséges szerepe az egyének és fajok közötti kommunikációban

Igaz Péter dr.¹ ■ Nagy Zoltán oh.¹ ■ Vásárhelyi Barna dr.²
Buzás Edit dr.³ ■ Falus András dr.³ ■ Rácz Károly dr.¹

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, ¹II. Belgyógyászati Klinika,
²Laboratóriumi Medicina Intézet, ³Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest

A génextpresszió poszttranszkripció szintű szabályozásában alapvető jelentőségű mikroRNS-ek jelenlétét nemcsak intracellulárisan, hanem testfolyadékokban is kimutatták. A keringő mikroRNS-ek hormonszerű hatásokat fejthetnek ki, aminek révén távoli sejteket is befolyásolhatnak, így az intercelluláris kommunikáció mediátorainak tekinthetők. A szérumban, vizeletben, székletben, nyálban előforduló mikroRNS-ek szóba jöhetnek betegségek biomarkereiként, és intenzív kutatások folynak ezek hasznosítására. Érdekes következtetésekre adhat okot, hogy az anyatej is tartalmaz mikroRNS-eket, és nem zárható ki ezek alapján, hogy ezek a csecsemőre hatva az epigenetikai információ egyének közötti áramlását tehetik lehetővé. Még megdöbbenőbb az a nemrégiben született felismerés, hogy a táplálékban található mikroRNS-ek, így növényi mikroRNS-ek mutathatók ki a keringésben, és ezek az emberi/állati szervezetben is aktívak lehetnek. Mindezek alapján a mikroRNS-ek az egyének közötti, sőt fajok közötti génextpressziós/epigenetikai információáramlásban szerepet játszhatnak, ami a mikroRNS-ek jelentőségét és talán az egész természet működéséről, a betegségek kialakulásáról alkotott felfogásunkat is alapvetően módosíthatja. *Orv.Hetil.*, 2012, 153, 1647–1650.

Kulcsszavak: mikroRNS, egyének közötti, fajok közötti, információáramlás, epigenetika

Potential roles for microRNAs in inter-individual and inter-species communication

MicroRNAs are major regulators of gene expression at the posttranscriptional level. Besides being detected intracellularly, microRNAs have been found in body fluids, as well. Circulating microRNAs may have hormone like features, since they might affect distant cells as mediators of intercellular communication. MicroRNAs occurring in serum, urine, stool and saliva can be exploited as biomarkers of several diseases, and intensive research efforts are being performed in this field. MicroRNAs are also found in breast milk, and it cannot be excluded that these may act on the baby as a form of inter-individual transfer of epigenetic information. The presence of food-derived microRNAs is even more astonishing, thus plant microRNAs have been detected in the circulation, and these could be functionally active in the human/animal organism. Based on these observations, microRNAs could be involved in the transfer of gene expressional/epigenetic information between different individuals, but also between different species, even cross-kingdom. This microRNA-mediated communication might alter our concepts on the functioning of nature and on the development of diseases, as well. *Orv.Hetil.*, 2012, 153, 1647–1650.

Keywords: microRNA, inter-individual, inter-species, information transfer, epigenetics

(Beérkezett: 2012. augusztus 7.; elfogadva: 2012. augusztus 30.)

Rövidítések

LDLRAP1 = low density lipoprotein receptor adapter protein 1; miR = mikroRNS; mRNS = hírvívő (messenger) RNS; RNS = ribonukleinsav

A mikroRNS-ek a génextpresszió poszttranszkripció szintű szabályozásában alapvető kisméretű, fehérjét nem kódoló ribonukleinsav- (RNS-) molekulák [1, 2]. A mikroRNS-eket külön gének kódolják és bonyolult

éresi folyamat után, az érett formájukban 18–25 nukleotid hosszúságú egyláncú mikroRNS-molekulák a hírvívő RNS-ek (mRNS) 3' nem transzlálódó végéhez kötődve azok lebomlását vagy transzlációjának gátlását eredményezhetik. A mikroRNS-gének számottevő része a genom nem kódoló részében helyezkedik el [1, 2]. A mikroRNS-ek általi génextpresszió-reguláció az epigenetikai (DNS-szekvencia-változással nem járó) szabályozás körébe tartozik. A mikroRNS-ek eltérő szöveti kifejeződését számos betegségben leírták, és jelentőségük a daganatokban meghatározónak tűnik [3].

Az intracellulárisan kimutatott mikroRNS-ek mellett az utóbbi években mind több adatot közölnek a testfolyadékokban előforduló mikroRNS-ekről is [4]. A mikroRNS-ek meglepően stabilak (ribonukleáz-, hő- és pH-hatásoknak ellenállnak), amiben közrejátszik, hogy a testfolyadékokban többségében nem szabadon, hanem apró, sejtek által termelt membránképletekben (exoszómák, microvesiculák) vagy makromolekuláris komplexekben fordulnak elő [5, 6]

Az extracelluláris vesiculák kutatása az utóbbi évek egyik legforróbb területe, hiszen a sejtek által kibocsátott membráncsomagokban található fehérjék és nukleinsavak távoli sejtekbe jutva azok működését befolyásolják. A keringő mikroRNS-ek hírvívő szerepe is felmerül ezek alapján, így ezeket akár a hormonokhoz hasonló, endokrin úton ható intercelluláris mediátorokként is értelmezhetjük. A mikroRNS-ek így génextpressziós információt közvetíthetnek a különböző sejtek között, ami például egy daganat esetében elképzelhetővé teszi azt is, hogy az invázió és az áttétképzés folyamataiban is szerepet játszhatnak [7].

A mikroRNS-ek jelenlétét számos testfolyadékban, így vérben (plazma és szérum), vizeletben, nyálban, anyatejben, spermában, illetve székletben is kimutatták [4]. Intenzív kutatások folynak ezek biomarkerként történő hasznosítására, és többek között daganatokban és cardiovascularis kórképekben számos reménykeltő eredmény született e téren [7]. A plazma-mikroRNS-ek eltérő kifejeződését számos daganatban leírták, és ezek között a jó- és rosszindulatú daganatok elkülönítésére alkalmas diagnosztikus, sőt egyes esetekben prognosztikus markereket is azonosítottak [7]. Biomarkereknek alkalmas vizelet-mikroRNS-eket húgyúti [8], nyál-mikroRNS-eket szájuégi daganatokban [9], míg széklet-mikroRNS-eket colorectalis carcinomában mutattak ki [10].

A mikroRNS-ek jelentősége az egyének közötti (interindividuális) kommunikációban

A testfolyadékok közül az anyatejben lévő mikroRNS-ek átvitele igen érdekes kérdést vet fel az egyének közötti epigenetikai információ közvetítése révén.

Az anyatejben számos mikroRNS-t leírtak, és teheneiken végzett vizsgálatokból az is kiderült, hogy a tej ösz-

szetetele változik, a colostrum mikroRNS-tartalma például eltér az érett tejtől, és a szoptatás ideje alatt is változik. Az anyatej mikroRNS-ei között több, igazoltan az immunműködést is befolyásoló mikroRNS-t is leírtak (például *miR-155*) [11, 12, 13]. Nem kizárt ezek alapján, hogy az anyatej nyilvánvaló tápláló és az immunoglobulinok átjuttatása révén kedvező immunológiai hatásai mellett az anyatejjel átjuttatott mikroRNS-ek is hatnak a csecsemőre. Ezek keretében az anyatej az epigenetikai információ átvivőjének tartható. Mindazonáltal e hipotézis igazolásához még kísérletes vizsgálatok szükségesek. Kérdés mindazonáltal, hogy az anyatej mikroRNS-tartalma az emlőmirigy sejteinek aktív tevékenysége nyomán alakul ki vagy passzív „szivárgás” útján [11]. Természetesen e kérdés más testfolyadékok esetében is felmerül.

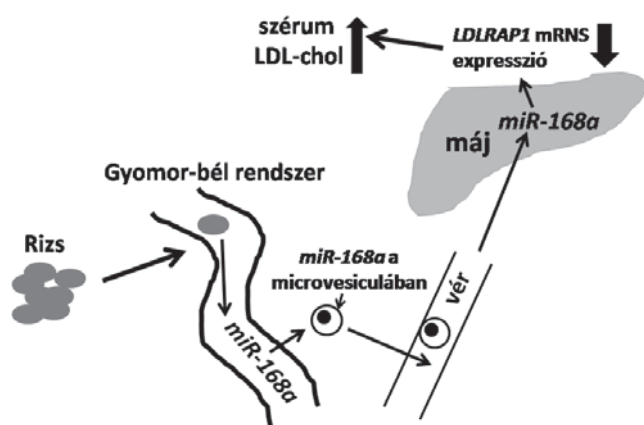
Érdekes feltételezés lehet, hogy a szoptatás során változó mikroRNS-összetételű anyatej a csecsemő fejlődésében fontos szerepet játszhat. Kérdés az is, hogy az állati tej (tehén, kecske, juh) fogyasztása milyen különbségeket eredményezhet. Lehetséges, hogy az anyatej fogyasztása nemcsak immunoglobulin-tartalma, hanem a humán mikroRNS-ek átjutása miatt is fontos lehet.

Természetesen nem zárható ki, hogy más testfolyadékok kapcsán is kialakuljon mikroRNS-ek közvetítette, egyének közötti információátvitel. Ezek közül leginkább a sperma és nyál szerepe merülhet fel a közvetlen átjutás lehetősége alapján, de orvosi tevékenység, például vérátömlesztés, sőt a szervtranszplantáció szerepe is lehetséges. Természetesen fontos kérdés az átjuttató mikroRNS-ek mennyisége is, ezért ezen elméleti lehetőségek jelentőségének vizsgálatához további tanulmányok szükségesek.

A mikroRNS-ek szerepe a fajok közötti kommunikációban

Még megdöbbenőbb következtetésekre adhat okot az a megfigyelés, hogy a növényi mikroRNS-ek felszívódhatnak a bélcsatornából, kimutathatóak a keringésben és szöveti hatásai is lehetnek. *Zhang és munkatársai* a döntően rizst fogyasztó kínai népességben körülbelül 30 növényi eredetű mikroRNS-t mutattak ki a vérben [14]. A növényi mikroRNS-ek, ellentétben az állati (emberi) mikroRNS-ekkel, 2' O-metiláltak 3' végükön, így egyértelműen elkülöníthetőek az állati (emberi) mikroRNS-ektől. Ezek között egyik legnagyobb mennyiségben a *miR-168a*-t észlelték [14].

A növényi mikroRNS-ek meglehetősen ellenállóknak tűnnek, hiszen túléltek az étel elkészítését, a gyomor savas pH-ját, az intestinalis enzimek hatását. Állatkísérletek alapján a növényi mikroRNS-ek érett formában kerülnek felvételre a gyomor-bél rendszerben, majd valószínűleg microvesiculákba csomagolódva lépnek be a keringésbe. A mikroRNS-ek szóba jövő mRNS-célpontjait bioinformatikai módszerekkel azonosítani lehet, és ennek során a *miR-168a* 50 potenciális cél-



1. ábra

A rizseredetű *miR-168a* hatásai egérben (esetleg emberben is) Zhang és mtsai eredményei alapján [14]. A *miR-168a* a gyomor-bél rendszerben felszabadul a rizsből, a bélhámán keresztül felszívódik és microvesiculákba csomagolódva a véráramba jut. A májba kerülő *miR-168a* az *LDLRAP1* gén mRNS-szintű kifejeződésének gátlásán keresztül az LDL-koleszterin-koncentráció emelkedéséhez vezethet

mRNS-e közül legérdekesebbnek az *LDLRAP1* (low density lipoprotein receptor adapter protein 1) gén mRNS-e bizonyult. Bár vad elképzelésnek tűnhet, hogy egy növényi eredetű mikroRNS állati gén kifejeződését befolyásolja, in vitro sejtvonalon és egereken végzett kísérletek alapján egyértelműen állítható, hogy a *miR-168a* a koleszterin metabolizmusában szereplő *LDLRAP1* gén kifejeződését gátolja, ami az LDL-koleszterin koncentrációjának fokozódásához vezethet. A *miR-168a* koncentrációja a rizszel etetett egerek májában az endogén mikroRNS-ekhez volt hasonló [14] (1. ábra).

E megfigyelések részletes molekuláris magyarázata azonban még nem tisztázott. Egyik legfontosabb kérdés, hogy a mikroRNS-ek hogyan jutnak át a bélnyálkahártyán. Ennek mechanizmusa nem ismert, bár *C. elegans*-ban ismert olyan transzportfehérje, ami a mikroRNS-ek átvitelére képes, és ennek emlőshomológja is ismert [15].

Egerekben kimutatták, hogy a rizs több napon át tartó fogyasztása, valamint a *miR-168a* mesterséges bejuttatása az *LDLRAP1* gén gátlásán keresztül az LDL-koleszterin-koncentráció növekedéséhez vezethet. Mindezek alapján emberben is várható lenne az, hogy a rizsfogyasztás a koleszterinmetabolizmust kedvezőtlen irányba befolyásolja és az LDL-koleszterin arányát emelné [14, 15]. A klinikai megfigyelések mindazonáltal ez irányban nem egyértelműek, ami vélhetően azzal függ össze, hogy a koleszterin-anyagcsere szabályozása nagyon összetett, és a *miR-168a* ennek csak egy szeletét képviselheti.

E megfigyelés valódi áttörésként értelmezhető a molekuláris biológiai szabályozás terén [15, 16]. Bár már korábban is voltak adatok arra, hogy a mikroRNS-ek a vírusok és a fertőzött szervezet kommunikációjában szerepet játszanak, ami szintén a fajok közötti kommunikáció egyik formája [17], a fenti megfigyelés, ami sze-

rint egy növényi mikroRNS a növényt fogyasztó ember (állat) génexpressziós mintázatát befolyásolhatja, teljesen új megvilágításba helyezheti a természetről alkotott felfogásunkat. Fajok közötti kisméretű RNS-mediált kommunikációt növények és rovarok között is leírtak [17].

A mikroRNS-ek ezek alapján a génexpressziós/epigenetikai információ általános hírvivőinek tekinthetők, és nemcsak sejten és egyénen belül (testfolyadékok), sőt egyének között, de akár fajok között is. Felmerülhet akár az is, hogy az érzékszerveken bejövő, idegi, endokrin és citokinek közvetítette információk mellett a mikroRNS-ek által közvetített információ is az élet szabályozásának alapvető eleme. Stabilitásuk és evolúciós konzerváltságuk miatt a mikroRNS-ek sokkal általánosabb hatásúak lehetnek, mint például a specifikus receptorokat igénylő hormonok. Mindezen elképzelések jelentőségét azonban jelenleg még nem tudjuk felmérni.

Nem szükséges túl nagy képzelőerő ahhoz, hogy nemcsak a növényi, hanem az állati mikroRNS-ek is befolyásolhatják a fogyasztó szervezet génexpressziós mintázatát. Emberben az állati mikroRNS-ek kimutatása azonban nehezebb, mivel kémiai szerkezetük nem tér el az endogén mikroRNS-ekétől, és konzerváltságuk nyomán számos emberi és állati mikroRNS nukleotidszekvenciája megegyezik. Tudomásunk szerint állati eredetű mikroRNS-ek jelenlétéről az emberi keringésben, illetve szövetekben még nem közöltek adatokat.

Mindezen megfigyelések egy új tudományterület, a nutrigenomika területét is érintik, hiszen az ételekre ezek szerint nemcsak mint tápanyag- és vitaminforrásokra, hanem az epigenetikai információ forrásaira is tekinthetünk. A táplálékkal bevitt mikroRNS-ek génexpressziót befolyásoló hatásai révén az „egészséges” és „egészségtelen” ételek megkülönböztetés is egyes esetekben átgondolásra szorulhat majd, hiszen a rizsről se gondoltuk volna korábban, hogy mikroRNS-tartalma folytán az endogén LDL-koleszterin-koncentrációt emelheti. Természetesen számos további vizsgálat szükséges ahhoz, hogy a táplálékkal bevitt mikroRNS-ek élettani-kóreltani szerepét megérthessük.

Elképzelhető, hogy a táplálékban lévő mikroRNS-ek egyes betegségek, például daganatok kialakulásában is szerepet játszanak. Az egyoldalú táplálkozással esetleg nagyobb mennyiségben bevitt mikroRNS-ek befolyásolhatnák a betegségek kialakulását, lefolyását (például atherosclerosis vagy akár daganatok esetében is). A növényi eredetű medicina hatásában nemcsak a jól ismert alkaloidok, hanem akár a mikroRNS-ek hatása is szerepet játszhat [14, 15]. Nem zárható ki az sem, hogy e mikroRNS-ek a bélflóra baktériumaival is kölcsönhatásba lépnek, és ez is közrejátszhat a hatásukban [16].

Véleményünk szerint e megfigyelések forradalmának tarthatók, és olyan távlatokat nyithatnak meg a biológiában és az orvostudományban, amelyekről eddig elképzelésünk sem lehetett.

Elmélkedés

A növényi mikroRNS-ek emberi jelenlétének kimutatása további gondolatokat ébreszthet. Lévéen meglehetősen stabil molekulák, nem zárható ki, hogy egyes mikroRNS-ek a táplálékláncon végigvonulhatnak, vagyis a növényevő állatot fogyasztó emberbe/ragadozó állatba átkerülhetnek. Analógiaként felhozható az a közismert megfigyelés, hogy a növényevő kártevők ellen alkalmazott mérgek a növényevőket fogyasztó ragadozók pusztulását is eredményezhetik. Még talán az sem zárható ki, hogy a fajok között vándorló mikroRNS-ek akár a molekuláris evolúció folyamataiban is szerepet játszhatnak.

A mikroRNS-ek molekuláris hatásmechanizmusát tekintve nagyon érdekes megfigyelés a növényi *miR-168a* hatásának kimutatása humán sejtvonalon és egérben [14]. A növényi és állati mikroRNS-ek hatásmódja között van különbség: a növényi mikroRNS és cél-mRNS között a komplementaritás teljes, és a cél-mRNS degradációja az elsődleges, míg állati mikroRNS-cél-mRNS között általában nem teljes a komplementaritás, és mind a cél-mRNS degradációja, mind transzlációgátlás előfordul [2]. A növényi mikroRNS hatása állati/emberi szövetekben a mikroRNS általi szabályozás ősi jellegét támasztja alá, ugyanakkor a mikroRNS, mint általános természeti hírvívő, jelentőségére utalhat. Nem zárható ki az a lehetőség, hogy a növényi mikroRNS-ek olyan humán/állati gének kifejeződését is befolyásolhatják, amelyek nem állnak endogén mikroRNS-szabályozás alatt. Természetesen ezek mind feltételezések, és számos vizsgálat lenne szükséges igazolásukhoz.

Lehetséges mindezek alapján, hogy a mikroRNS-ek a különböző élőlények közötti kapocsként funkcionálnak? Kérdés, hogy ennek mi lehetne az élettani, illetve ökológiai jelentősége. Nagyon furcsa gondolat, hogy a különböző egyének és fajok között átjutó mikroRNS-ek az érzékszervi, idegi, hormonális és citokinek közvetítette kommunikáció mellett a molekuláris/epigenetikai információáramlás egy új fejezetét jelentik. A mikroRNS-gének számottevő része a genom nem kódoló részében található, sőt a mikroRNS-ek mellett számos más nem kódoló RNS is ismert [18, 19]. A humán genom mindössze 2%-a kódol fehérjét, 98%-a nem kódoló. E többnyire ismeretlen funkciójú nem kódoló részt a világegyetem felépítésének analógiájaként a genom sötét anyagaként („dark matter”) is emlegetik. Az új generációs szekvenálás egyik legmegdöbbentőbb eredménye az volt, hogy a genom nem kódoló részének jelentékeny része (70–90%-a) RNS-sé átíródik [18], vagyis a nem kódoló rész egyáltalán nem passzív rész, hanem aktív, és bizonyára funkcióval is rendelkezik. Lehetséges lenne, hogy a genom sötét anyagának egyik fő funkciója az egyének vagy fajok közötti kommunikáció? Ez természetesen egy messzemenő hipotézis, és egyelőre semmi sem támasztja alá.

Az azonban biztosra vehető, hogy a mikroRNS-ek és az általuk létrejövő szabályozás a jelenkori molekuláris biológiai/sejtélettani kutatások egyik legforróbb területe, és számos olyan felfedezés várható, ami a szervezet, sőt akár a természet működéséről alkotott felfogásunkat alapvetően meg fogja változtatni.

Irodalom

- [1] He, L., Hannon, G. J.: MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat. Rev. Genet.*, 2004, 5, 522–531.
- [2] Bartel, D. P.: MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, 116, 281–297.
- [3] Tömböl, Z., Szabó, P., Rácz, K., et al.: Relevance of microRNAs in neoplastic diseases. [A mikro-RNS-ek jelentősége daganatos betegségekben.] *Orv. Hetil.*, 2007, 148, 1135–1141. [Hungarian]
- [4] Weber, J. A., Baxter, D. H., Zhang, S., et al.: The microRNA spectrum in 12 body fluids. *Clin. Chem.*, 2010, 56, 1733–1741.
- [5] György, B., Szabó, T. G., Pásztói, M., et al.: Membrane vesicles, current state-of-the-art: emerging role of extracellular vesicles. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2012, 68, 2667–2688.
- [6] Valadi, H., Ekström, K., Bossios, A., et al.: Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat. Cell Biol.*, 2007, 9, 654–659.
- [7] Zen, K., Zhang, C. Y.: Circulating microRNAs: a novel class of biomarkers to diagnose and monitor human cancers. *Med. Res. Rev.*, 2010, 32, 326–348.
- [8] Wang, G., Chan, E. S. Y., Kwan, B. C. H., et al.: Expression of microRNAs in the urine of patients with bladder cancer. *Clin. Genitourinary Cancer*, 2012, 10, 106–113.
- [9] Park, N. J., Zhou, H., Elashoff, D., et al.: Salivary microRNA: discovery, characterization, and clinical utility for oral cancer detection. *Clin Cancer Res.*, 2009, 15, 5473–5477.
- [10] Link, A., Balaguer, F., Shen, Y., et al.: Fecal microRNAs as novel biomarkers for colon cancer screening. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2010, 19, 1766–1774.
- [11] Chen, X., Gao, C., Li, H., et al.: Identification and characterization of microRNAs in raw milk during different periods of lactation, commercial fluid, and powdered milk products. *Cell Res.*, 2010, 20, 1128–1137.
- [12] Kosaka, N., Izumi, H., Sekine, K., et al.: MicroRNA as a new immune-regulatory agent in breast milk. *Silence*, 2010, 1, 7.
- [13] Hata, T., Murakami, K., Nakatani, H., et al.: Isolation of bovine milk-derived microvesicles carrying mRNAs and microRNAs. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2010, 396, 528–533.
- [14] Zhang, L., Hou, D., Chen, X., et al.: Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1: evidence of cross-kingdom regulation by microRNA. *Cell Res.*, 2012, 22, 107–126.
- [15] Jiang, M., Sang, X., Zhong, Z.: Beyond nutrients: Food-derived microRNAs provide cross-kingdom regulation. *BioEssays*, 2012, 34, 280–284.
- [16] Hirschi, K. D.: New foods for thought. *Trends Plant Sci.*, 2012, 17, 123–125.
- [17] Liang, H., Huang, L., Cao, J., et al.: Regulation of mammalian gene expression by exogenous microRNAs. *Wiley Interdiscip. Rev. RNA*, 2012, 3, 733–742.
- [18] Nagano, T., Fraser, P.: No nonsense functions for long noncoding RNAs. *Cell*, 2011, 145, 178–181.
- [19] Atkinson, S. R., Marguerat, S., Bähler, J.: Exploring long non coding RNAs through sequencing. *Semin. Cell Developmental Biol.*, 2012, 23, 200–205.

(Igaz Péter dr.,
Budapest, Szentkirályi u. 46., 1088
e-mail: igaz.peter@med.semmelweis-univ.hu)