

نقش تغییر بیان miRNA ها در پیشبرد سرطان تیروئید از طریق مسیرهای اصلی پیام‌رسانی

دکتر سمانه حسین‌زاده، دکتر صفورا پاکیزه‌کار، دکتر مهدی هدایتی

مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی غدد درون‌ریز، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی غدد درون‌ریز، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، دکتر مهدی هدایتی؛ e-mail: hedayati47@gmail.com

چکیده

سرطان تیروئید یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌های غدد درون‌ریز بوده و انواع اصلی آن در طبقه‌بندی پاتولوژیکی عبارتند از کارسینومای تیروئیدی پاپیلاری، فولیکولار، مدولاری و آناپلاستیک. با توجه به اهمیت بالای کارسینومای تیروئیدی، تعیین مسیرهای اصلی پیام‌رسانی و جهش‌های مؤثر در این مسیرها همواره مورد توجه دانشمندان بوده است. با تحقیقات بیشتر بر روی تغییر بیان انکوژن‌های موجود در این مسیرها، وجود سازوکارهای بازخوردی میان انکوژن‌ها/ژن‌های سرکوب‌گر تومور و میکرو RNA (miRNA) ها نیز مشخص گردید. به دلیل اهمیت کارسینومای تیروئیدی و همچنین اثبات نقش پررنگ miRNA ها، در این مقاله مروری سعی شده است تا پس از معرفی مسیرهای اصلی پیام‌رسانی، مهم‌ترین miRNA های تغییر بیان یافته معرفی و سازوکار عملکرد آن‌ها توصیف شود. بطور کلی تغییرات در مسیرهای پیام‌رسانی اصلی MAPK، PI3K و TGFβ نقشی اساسی در پیدایش و پیشرفت سرطان تیروئید دارند و بسته به نوع و شدت سرطان می‌توانند به تنهایی و یا همراه با یکدیگر ایفای نقش نمایند. همچنین، تغییرات بیان miRNA ها و تغییر در روند مسیرهای پیام‌رسانی با تکیه بر سازوکارهای بازخوردی می‌تواند عامل تشدیدکننده‌ای در فرآیند شکل‌گیری و پیشرفت سرطان تیروئید به شمار آید. با توجه به تاثیر غیرقابل انکار miRNA ها در کارسینومای تیروئید، می‌توان از آن‌ها به عنوان ابزاری کاربردی در حیطه درمان سرطان تیروئید بهره برد.

واژگان کلیدی: MicroRNAs، پیام‌رسانی، بدخیمی، کارسینومای تیروئید، MAPK، TGFβ، PI3K

دریافت مقاله: ۹۹/۸/۱۸ - دریافت اصلاحیه: ۹۹/۱۱/۲۵ - پذیرش مقاله: ۹۹/۱۱/۲۹

۱- مقدمه:

سرطان تیروئید از جمله سرطان‌هایی است که در سنین پایین، به علت عدم متاستاز و تهاجم، مرگ و میر بالایی ندارد. به عبارت دیگر این سرطان به دلیل دارا بودن رابطه معکوس با سن، بیشتر در سنین میانسالی بروز کرده و می‌تواند بدون متاستاز و یا همراه با متاستاز و مرگ و میر بالا باشد. تشخیص زود هنگام می‌تواند میزان متاستاز و در نتیجه میزان مرگ و میر را کاهش دهد.^۱

اغلب سرطان‌های اولیه تیروئیدی تومورهای اپیتلیالی هستند که از سلول‌های فولیکولار تیروئید سرچشمه می‌گیرند. مهم‌ترین انواع پاتولوژیکی سرطان‌های تیروئید شامل کارسینومای تیروئیدی پاپیلاری (PTCⁱ)، کارسینومای تیروئیدی فولیکولی (FTCⁱⁱ)، کارسینومای تیروئیدی مدولار (MTCⁱⁱⁱ) و کارسینومای تیروئیدی آناپلاستیک (ATC^{iv}) است.^۲ در نوع دیگر طبقه‌بندی که بر اساس میزان تمایز

i - Papillary Thyroid Carcinomas
ii - Follicular Thyroid Carcinomas
iii - Medullary Thyroid Carcinoma
iv - Anaplastic Thyroid Carcinoma

(EMT^v) می‌گردند.^۸ مطالعات دیگر نیز نشان می‌دهد مسیر سیگنالینگ TGFβ علاوه بر انواع PTC، در کارسینومای تیروئیدی مدولاری (MTC) نیز نقش القاکننده‌ای بر عهده دارد.^۹

در خصوص تومورهای FTC، شایع‌ترین عامل اصلی در شروع روند سرطان‌زایی، تغییر عملکرد مولکول‌های دخیل در مسیر پیام‌رسانی PI3K به همراه جهش صورت گرفته در RAS گزارش شده است. همچنین در تومورهای ATC^{۱۰} و PDTC، مشاهده گردیده که جهش‌های پیش برنده به سمت سرطان در هر دو مسیر MAPK و PI3K وجود داشته و چنانچه با جهش در ژن‌های دخیل در تهاجم همراه گردند، موجب افزایش تعداد جهش در این تومورها می‌شوند.^{۱۱}

از سوی دیگر، درمان‌های انجام شده برای کارسینومای تیروئیدی مدولاری مشتق شده از سلول‌های پارافولیکولار c (MTC) موفقیت‌هایی را در استفاده از مهارکننده‌های رسپتورهای تیروزین کینازی و رسپتورهای RET نشان داده‌اند. در این راستا، مسیرهای سیگنالینگ سلولی و تغییرات ژنتیکی صورت گرفته در MTC، از قبیل فعالیت mTOR /RAS و همچنین سیگنالینگ متقابل RET، به عنوان استراتژی‌های درمانی بالقوه جدید برای مقابله با MTC تهاجمی مطرح گردیده است.^{۱۲،۱۳}

تحقیقات صورت گرفته بر روی تغییر بیان انکوژن‌ها در سلول‌های تیروئیدی نشان داده است که افزایش بیان انکوژن‌ها، موجب تغییرات بیان miRNA ها در این سلول‌ها می‌گردد.^{۱۴} طبق تحقیقات دانشمندان، miRNA به عنوان RNA کوچک غیرکدشونده به طول ۱۹ تا ۲۵ نوکلئوتید شناخته شده که می‌تواند بیان ژن را در سطح پس از رونویسی کنترل کرده و از این طریق ترجمه یا تخریب آن را موجب شود.^{۱۵،۱۶} با توجه به نقش موثر miRNA در کنترل بیان mRNA، سوالات متعددی مانند اینکه آیا یک miRNA می‌تواند تعداد زیاد و متنوعی از mRNA ها را هدف قرار دهد و یا برعکس، آیا یک mRNA می‌تواند مورد هدف چندین miRNA قرار گیرد، پیش روی دانشمندان قرار گرفت. و لذا پاسخ به این سوالات بنیادی، miRNA را به عنوان هدفی بالقوه در مطالعات زیستی بخصوص در حیطه سرطان تبدیل نمود.^{۱۷} بسیاری از miRNA ها، با هدف قرار دادن mRNA های موثر در روند سرطان‌زایی؛ از قبیل انکوژن‌ها و ژن‌های

یافتگی صورت می‌گیرد، کارسینوماهای تیروئیدی به سه گروه با توانایی تمایز بالا (WDTCⁱ)، توانایی تمایز اندک (PDTCⁱⁱ) و فاقد توانایی تمایز (UATCⁱⁱⁱ) تقسیم می‌شوند. هر دو نوع کارسینومای PTC و FTC دارای توانایی تمایز بالا بوده و در گروه WDTC قرار دارند.^۲ شایع‌ترین کارسینوماهای تمایزی تیروئیدی، PTC ها هستند که ۹۰-۸۵٪ از تمامی بدخیمی‌های تیروئیدی را در بر می‌گیرند، و پس از آن، FTC با ۱۰-۵٪، MTC با حدود ۲٪ و در نهایت، ATC ها قرار داشته که از نظر شیوع در پایین‌ترین درجه (کمتر از ۲٪) بوده اما تهاجمی‌ترین بدخیمی تیروئیدی محسوب شده و در بیماران مسن بروز پیدا می‌کند.^۴

از دیدگاه مولکولی، ثابت شده است که در مورد تومورهای PTC جهش سوماتیک در ژن BRAF^{iv} رایج‌ترین جهش در این نوع کارسینوماست (حدود ۳۵٪) و به غیر از PTC در هیچ‌یک از انواع بدخیمی‌های فولیکولار تمایز یافته دیده نشده است. در خصوص تومورهای نوع فولیکولار PTC، مسیر تومورزایی شبیه RAS بوده و سازوکار عمل آن از طریق تغییر بیان مولکول‌های دخیل در مسیرهای سیگنالینگ MAPK و PI3K می‌باشد.^۵ در نتیجه، جهش‌های سرطان‌زا در ژن‌های BRAF و RAS اصلی‌ترین عوامل انکوژنیک با فراوانی شیوع ۶۰٪ از موارد را در این نوع کارسینومای تیروئیدی را شامل شده که از طریق مسیر پیام رسانی MAPK موجب سرطانی شدن سلول‌ها می‌گردند.^۶ بررسی‌های بیشتر بر روی PTC نشان می‌دهد که در نوع تهاجمی این کارسینوما، بیان بالای TGFβ1 وجود دارد که هم‌زمان موجب کاهش قابلیت تمایز و افزایش قابلیت تهاجمی آن می‌گردد. در همین راستا، مشاهده شده است که در تومورهای غیرتهاجمی PTC، بیان مسیر سیگنالینگ TGFβ در مناطق مرکزی تومور نسبت به نواحی حاشیه‌ای کمتر است و این نکته، نقش مسیر TGFβ را در افزایش قابلیت تهاجمی تومور تأیید می‌نماید.^۷ لذا می‌توان گفت مسیر سیگنالینگ TGFβ در کارسینوماهای تیروئیدی نقشی دوگانه ایفا کرده و از یک سو موجب اثر آنتی‌میتوژنیک در سلول‌های فولیکولار طبیعی تیروئید و از سوی دیگر، موجب افزایش مورفولوژی تهاجمی تبدیل اپیتلیال به مزانشیمال

i- Well Differentiated Thyroid Carcinomas

ii -Poorly Differentiated Thyroid Carcinomas

iii -Undifferentiated Anaplastic Thyroid Carcinoma

iv -V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1

سرکوب‌گر تومور، نقش مهمی در فرآیندهای شروع، پیشرفت و متاستاز سرطان ایفا می‌نماید.^{۱۶} بر عکس این مورد نیز صادق بوده و تحقیقات صورت گرفته نشان‌دهنده کنترل بیان miRNA ها توسط انکوژن‌ها و ژن‌های سرکوب‌گر تومور است.^{۱۸} این یافته‌ها نشان‌دهنده وجود سازوکارهای

جدول ۱- خوشه‌های miRNA مربوط به PTC

شماره خوشه	miRNA مربوطه	انکوژن جهش یافته	نوع کارسینوما	احتمال ابتلا
۱	miR-182, miR-183, miR-204 (high)	RAS	زیرگروه فولیکولار از PTC	پایین
۲	miR-142, miR-143	BRAF	کلاسیک	پایین
۳	miR-148a, miR-142	BRAF	کلاسیک و زیرگروه فولیکولار از PTC	پایین
۴	Lel7a, Let7f, Let7e, Let7b	BRAF	کلاسیک و زیرگروه فولیکولار از PTC	پایین
۵	miR-146b-5p, miR-146b-3p, miR-375, miR-221, miR-222, miR-204 (low)	BRAF	کلاسیک	بالا
۶	miR-21, miR-221, miR-222, miR-204 (low)	BRAF	کلاسیک	بالا

در این مقاله مروری، مسیرهای اصلی پیام‌رسانی در دو نوع مهم از سرطان تیروئید و miRNA های موثر در تنظیم آن‌ها مورد بررسی قرار خواهد گرفت. در این راستا، سعی بر آن شده است تا پس از معرفی مسیرهای اصلی پیام‌رسانی دخیل در کارسینوماهای تیروئیدی، مهم‌ترین miRNA هایی که دچار تغییرات بیان شده‌اند و همچنین چگونگی عملکرد آن‌ها در هدف قرار دادن مولکول‌های مسیرهای انتقال پیام مورد بحث قرار گیرند.

۲- استراتژی جستجو:

مطالعات انجام گرفته در زمینه مسیرهای پیام‌رسانی سرطان تیروئید و miRNA های موثر در تنظیم مسیرهای مذکور، در پایگاه‌های اطلاعاتی اصلی شامل Web of Science, Scopus, PubMed, ScienceDirect و Google Scholar مورد جستجو قرار گرفتند. جستجوهای صورت گرفته با واژگان کلیدی "MicroRNAs"، "Thyroid Cancer"، "Signal Transduction" در بازه زمانی ۲۰۰۳ تا ۲۰۲۰ انجام شد.

همچنین جمع‌آوری داده‌های منتشر شده با کلیدواژگان MicroRNAs، پیام‌رسانی، بدخیمی، کارسینومای تیروئید، PI3K، TGFβ، MAPK در بانک اطلاعات نشریات کشور (Magiran) و بانک نشریات فارسی (SID) صورت گرفت و از مقالات منتشر شده در مجلات فارسی نمایه شده در ISC استفاده گردید.

۳- معیار راه‌یابی و عدم راه‌یابی به مطالعه

مقالات اصلی که تا سپتامبر ۲۰۲۰ چاپ شده بودند و به بررسی تغییرات بیان miRNA ها در مسیرهای سیگنالینگ سرطان‌های شایع تیروئیدی پرداخته بودند، واجد شرایط ورود به این مطالعه شناخته شدند. گزارش‌های موردی، نامه به سردبیر، نتایج کنفرانس‌ها و مطالعات مربوط به miRNA هایی که ارتباط میان سازوکار عمل آن‌ها با مسیرهای مذکور به صورت کامل مشخص نگردیده بود، از این مطالعه خارج شدند.

۴- غربالگری مقالات و استخراج داده‌ها

به منظور سهولت در غربالگری و مدیریت مقالات یافت شده، نتایج جستجو به برنامه Mendeley منتقل گردید. پس از حذف موارد تکراری، عنوان و چکیده هر مقاله بررسی و در صورت ارتباط با موضوع، متن کامل مقاله مورد مطالعه قرار گرفت. پس از آن، داده‌های مربوط به تغییر بیان miRNA ها در پیشبرد سرطان تیروئید از طریق مسیرهای اصلی پیام‌رسانی استخراج و دسته‌بندی گردید.

۵- مسیرهای اصلی پیام‌رسانی در سرطان تیروئید

۵-۱ مسیر پیام‌رسانی MAPK

حدود ۷۰٪ از کارسینوماهای تیروئیدی در نتیجه جهش‌های منجر به فعالیت بیش از حد مسیر MAPK حاصل می‌شود.^{۲۰} مسیر پیام‌رسانی MAPK شامل مجموعه‌ای از پروتئین کینازها است که موجب انتقال پیام از سطح سلول به

هسته شده تا فرآیندهای متعدد سلولی از قبیل تکثیر، تمایز، مهاجرت، تهاجم و آپوپتوز را کنترل نماید. فعالیت بیش از حد طبیعی MAPK در بسیاری از انواع آسیب‌ها به خصوص در سرطان مشاهده شده است.^{۲۱}

عملکرد پیام‌رسانی MAPK از طریق اتصال فاکتور رشد و میتوزن‌ها به گیرنده تیروزین کینازی غشای پلاسمایی و در پی آن، القای دایمرشدن گیرنده و اتوفسفوریلاسیون رزیدوهای اختصاصی، که شناسایی آن‌ها توسط پروتئین‌های آداپتور SHCⁱ و GRB2ⁱⁱ صورت می‌گیرد، انجام می‌شود. این پروتئین‌های آداپتور به نوبه خود، فاکتورهای مبادله‌کننده GTPase مانند SOSⁱⁱⁱ را به کار گرفته و فرآیند تبدیل شدن GDP به GTP را در پروتئین‌های RAS القا می‌نمایند. سپس پروتئین‌های RAS موجب بکارگیری پروتئین‌های ivRAF غشای پلاسمایی شده (BRAF یا RAF1) و موجب القای فعال شدن متوالی MEK و ERK می‌گردند. این فرآیند توسط پروتئین‌های داربست قابل انجام است؛ زیرا که فعال‌سازی مسیر را تعدیل نموده و اجزای آن را به قسمت‌های مختلف سلول به خصوص هسته که در آن، پروتئین‌های درگیر در تکثیر مانند c-FOS، c-JUN، c-MYC یا ELK1 فعال هستند، منتقل می‌کند.^{۲۲} شایان ذکر است در PTC، تغییرات صورت گرفته در مسیر MAPK نقش اصلی را در ایجاد و پیشبرد سرطان ایفا می‌نماید.

۱-۵ میکرو RNA های تاثیرگذار در مسیر MAPK

Let-7: خانواده let-7 یکی از عوامل ایجادکننده بیماری‌های انسانی از طریق تنظیم مسیرهای RAS-ERK/MAPK است.^{۲۳} به دلیل وجود چند ناحیه اتصالی برای اعضای خانواده let-7 در ناحیه ترجمه نشدنی انتهای 3' (UTR) هر سه ژن RAS (KRAS، HRAS و NRAS)، بیان let-7 با کاهش سطح پروتئین RAS همراه است. در همین راستا، کاهش بیان let-7 در بسیاری از سرطان‌ها؛ از جمله سرطان تیروئید، به فعالیت بیش از حد مسیر RAS منجر می‌گردد.^{۲۴} مطالعه‌ای دیگر نشان داد که ترانسفکشن let-7f در سلول‌های TPC از فعال شدن مسیر MAPK ممانعت نموده و موجب کاهش تکثیر سلول و از طرف دیگر القای نشانگرهای تمایزی تیروئید می‌گردد.^{۲۵}

miR-9: بیان BRAF که عضوی از خانواده کینازها و یکی از پروتئین‌های اصلی مسیر MAPK/ERK است، وابسته به miR-9 بوده و بر اساس تحقیقات صورت گرفته، در PTC کاهش پیدا می‌کند. این miRNA علاوه بر هدف قراردادن BRAF 3'UTR، در حالت عادی به عنوان سرکوب گر تومور بوده و با القای آپوپتوز، بقای سلول‌های PTC را مهار می‌کند.^{۲۶}

miR-20b: تحقیقات صورت گرفته بر روی این miRNA، نقش دوگانه‌ای را در سرطان تیروئید از نظر میزان بیان نشان می‌دهد. از یک سو، گفته می‌شود که بیان بالای miR-20b دارای اثرات مشابهی با کاهش SOS1 و ERK2 بوده و موجب عدم بقای سلول، تهاجم و کاهش رشد تومور در سل لاین PTC می‌شود.^{۲۷} از سوی دیگر تحقیق صورت گرفته نشان می‌دهد این miRNA به صورت معنی‌داری در PTC کاهش می‌یابد.^{۲۸}

miR-21: این miRNA از طریق هدف قرار دادن مهارکننده‌های مسیر RAS-MAPK شامل SPRY1، SPRY2 و BTG2 موجب فعال‌سازی این مسیر در سرطان ریه و تیروئید می‌گردد.^{۲۹،۳۰} تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهد علی‌رغم اینکه بیان بیش از حد miR-21 در بسیاری از سرطان‌های انسانی و به خصوص در PTC و ATC موجب تومورزایی می‌گردد، اما به نظر می‌رسد بیان بیش از حد این miRNA در سرطان ریه رابطه معکوسی با پیشرفت تومور دارد.^{۳۱}

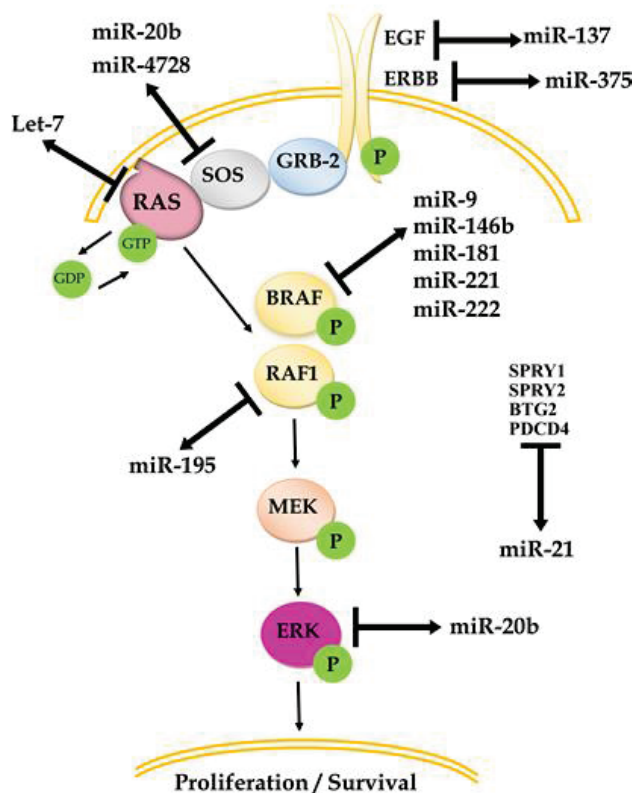
miR-137: مطالعات انجام شده بر روی miR-137 نشان داد که این miRNA در بسیاری از انواع سرطان‌ها دارای کاهش بیان بوده و با تحقیقات بیشتر مشخص گردید که یکی از اهداف مستقیم این miRNA، گیرنده فاکتور رشد اپیدرمال (EGFR^v) است. در بسیاری از سرطان‌ها از جمله تیروئید، EGFR دارای افزایش بیان بوده و با توجه به نقش واسطه‌ای آن جهت تکثیر سلولی توسط مسیرهای پیام‌رسانی ERK و AKT، افزایش آن موجب تکثیر سلولی، توانایی تشکیل تومور و تهاجم سلول‌های سرطانی می‌گردد. لذا مهار تنظیم miR-137 با پیشرفت بدخیم سرطان تیروئید همراه است.^{۳۲}

miR-146b: افزایش بیان miR-146b در مسیر پیام‌رسانی MAPK در بیماران دارای جهش ژن BRAF به اثبات رسیده است.^{۳۳}

i -Src Homology 2 domain-Containing transforming protein 1
ii -Growth factor Receptor-Bound protein 2
iii -Son of Sevenless
iv- Rapidly Accelerated Fibrosarcoma

تبادل‌کننده GTPase مربوط به SOS1، موجب مهار فعالیت MAPK/ERK می‌گردد.^{۲۸}

شکل ۱ به صورت شماتیک، مسیر پیام‌رسانی MAPK و miRNA های تاثیرگذار در این مسیر را نشان می‌دهد.



شکل ۱- مسیر پیام‌رسانی MAPK و miRNA های تاثیرگذار در این مسیر

۵-۲ مسیر پیام‌رسانی PI3K/AKT

مسیر PI3K/AKT یک مسیر پیام‌رسانی مولکولی بسیار مهم بوده و دارای فرآیندهای سلولی کلیدی است. پروتئین کیناز B که به عنوان AKT هم شناخته می‌شود اصلی‌ترین مولکول پایین دست PI3K بوده و فعال شدن آن بسیاری از فرآیندهای سلولی را مانند تکثیر، رشد، آپوپتوز، بقای سلول و آنژیوژنز را در انواع متعددی از سلول‌ها؛ از قبیل سلول‌های تیروئیدی، تنظیم می‌نماید.^{۲۹} آنتاگونیست طبیعی این مولکول در مسیر PI3K، PTEN نام داشته که با فعالیت لپید فسفاتازی خود، میزان AKT سیتوزولی و در نتیجه فعالیت آن را کاهش می‌دهد. یکی دیگر از مولکول‌های کلیدی در مسیر PI3K که در پاسخ به تغییرات بیان miRNA ها فعال می‌شود، یک سرین/ترونین کیناز به نام mTOR^۱ است.

miR-181: تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهد سطح بیان بسیاری از miRNA های مهم تنظیم مثبت؛ مانند miR-181، در بیماران PTC دارای جهش BRAF، به میزان قابل توجهی افزایش داشته است.^{۳۲}

miR-195: این miRNA از طریق کاهش بیان خود موجب تاثیر در افزایش بیان ایزوفورم RAF1 از خانواده RAF کینازها می‌شود. افزایش بیان بیش از حد RAF1 سلولی موجب افزایش انتقال پیام‌های گیرنده‌های غشا توسط پروتئین کینازهای اختصاصی دوگانه MEK1 و MEK2 به هسته شده و در نهایت، مسیر MAPK/ERK از تنظیم خارج می‌گردد.^{۳۴}

miR-221: این miRNA با تنظیم بیان مثبت در سرطان تیروئید و به خصوص در بیماران PTC، در مسیر پیام‌رسانی MAPK ایجاد اختلال می‌نماید. طبق تحقیقات صورت گرفته، بیماران مبتلا به PTC دارای جهش در ژن BRAF، افزایش قابل توجهی را در بیان miR-221 نشان داده‌اند.^{۳۳}

miR-222: مشابه با اثر miR-221، این miRNA نیز با جهش ژن BRAF در ارتباط بوده و در بیماران مبتلا به PTC دارای افزایش بیان می‌باشد.^{۳۳}

miR-375: با توجه به نقش کلیدی EGFR در تکثیر و تهاجم سلول‌های سرطانی، و مطالعات بیشتر بر روی اعضای این خانواده مشخص گردید که پروتئین ERBB2 که یکی از اعضای خانواده EGFR است، از طریق ارتباط با دو مسیر پیام‌رسانی RAS-MAPK و PI3K-AKT با بیان بیش از حد خود در بسیاری از سرطان‌ها از جمله تیروئید، موجب مقاومت سلول‌ها نسبت به شیمی درمانی و پرتودرمانی می‌شود.^{۳۵} مطالعات بیشتر بر روی این مولکول در بافت PTC نشان می‌دهد که پروتئین ERBB2 توسط miR-375 مورد هدف قرار می‌گیرد. در خصوص افزایش یا کاهش بیان این miRNA و همچنین مسیر پیام‌رسانی اصلی جهت اثرگذاری آن در سرطان تیروئید نظرات متفاوتی وجود دارد.^{۳۶،۳۷} لذا جهت درک بهتر سازوکار عمل miR-375 در سرطان تیروئید نیاز به بررسی و مطالعات تکمیلی بیشتری می‌باشد.

miR-4728: تحقیقات صورت گرفته نشان‌دهنده کاهش بیان miR-4728 در بیماران مبتلا به PTC است. این miRNA از طریق کاهش رونویسی از mRNA و فاکتور پروتئینی

miR-99a ایجاد تومور را در ATC در محیط *in vivo* و *in vitro* توسط کاهش سطح mTOR 4EBP و p70 S6 کاهش می‌دهد.^{۴۵}

miR-126: این miRNA در بافت سالم از طریق مهار سیگنال‌های تکثیری R2 PI₃K و کاهش بیان زیر واحد تنظیمی p85 β از فعالیت بیش از حد مسیر و ترجمه پروتئین ممانعت به عمل می‌آورد. مطالعات انجام شده بر روی کارسینومای غیرتمایزی BRAF سرطان تیروئید حاکی از کاهش بیان miR-126 و افزایش فعالیت کینازی AKT است.^{۴۶،۴۷}

miR-137: در بسیاری از انواع سرطان‌ها از جمله سرطان تیروئید، miR-137 دارای کاهش بیان بوده و با هدف‌گیری EGFR توسط مسیرهای پیام‌رسانی ERK و AKT و افزایش آن، موجب پیشرفت سرطان تیروئید می‌گردد.^{۴۸}

miR-145: تحقیقات تجربی صورت گرفته نشان داده است که تومورسایرور miR-145 در FTC با کاهش بیان خود و عدم توانایی هدف‌گیری AKT3، موجب افزایش سطح AKT و افزایش فعالیت مسیر PI₃K می‌شود.^{۴۸}

miR-146a: این miRNA به همراه miR-146b از طریق یکی از اعضای خانواده سیالین ترانسفرازها به نام ST8SIA4 تنظیم می‌گردند. کاهش سیالین ترانسفراز موجب افزایش بیان miR-146a/b شده و از این طریق موجب ایجاد FTC می‌گردد.^{۴۹}

miR-146b: مهم‌ترین miRNA با افزایش بیان در سرطان تیروئید miR-146b بوده که PTEN، یکی از اهداف اصلی آن به شمار می‌آید. افزایش بیان این miRNA از طریق دو مسیر موجب القای سرطانی شدن سلول‌های تیروئیدی می‌گردد: ۱) با کاهش بیان PTEN موجب فعالیت بیش از حد مسیر PI₃K / AKT شده و با کاهش دو مولکول پایین دست هسته‌ای FOXO1 و P27^{Kip1} (پروتئین مهارکننده کیناز که سیکل سلولی را توسط ممانعت از عبور از فاز G1 به فاز S مهار می‌کند)، افزایش تکثیر سلول را به همراه دارد؛ ۲) با القای مهار PTEN موجب کاهش آپوپتوز سلولی و افزایش مهاجرت و تهاجم سلول‌ها با تنظیم ژن‌های دخیل در EMT می‌گردد.^{۵۰} افزایش miR-146b خود تحت تنظیم سیالین ترانسفراز ST8SIA4 می‌باشد.^{۴۹}

از جمله فعالیت‌های mTOR فسفوریلاسیون و فعال‌سازی کیناز p70 S6، مهار کردن فاکتور آغازکننده رونویسی یوکاریوتی به نام پروتئین متصل‌شونده 4E و القای سنتز پروتئین و تکثیر سلولی است.^{۴۰}

ایجاد یا افزایش تغییرات ژنتیکی در مسیر PI₃K معمولاً در سرطان تیروئید رخ داده و موجب راندن سلول‌ها به سمت ایجاد FTC و در ادامه، موجب افزایش اندازه تومور و تهاجم آن در این نوع سرطان می‌گردد. تجمع تغییرات ژنتیکی که می‌تواند هر دو مسیر MAPK و PI₃K را فعال نماید، قدرت تهاجمی سرطان تیروئید را افزایش داده و سلول‌های سرطانی را به سمت ATC پیش می‌برد.^{۴۱}

۱-۲-۵ MiRNA های تاثیرگذار در مسیر پیام‌رسانی

PI₃K

miR-21: این miRNA نیز یکی از شایع‌ترین امیکرو RNAهای مرتبط با سرطان است که در PTC دارای افزایش بیان می‌باشد. نکته جالب در خصوص این miRNA، تنظیم شدن آن از طریق انکوپروتئین RAS و با واسطه AP-1^W است.^{۴۲} از سوی دیگر PTENⁱⁱ یکی از اهداف miR-21 به شمار آمده و لذا می‌توان اینگونه نتیجه‌گیری نمود که کاهش بیان PTEN توسط AP-1 و در پاسخ به پیام‌رسانی RAS با واسطه miR-21 صورت می‌گیرد. ذکر این نکته لازم است که القای miR-21 نیاز به فعال‌سازی حداقل دو مسیر پایین دست Ras، یعنی مسیرهای Raf-MAPK و PI₃K دارد.^{۴۱}

miR-34a: نقش دوگانه miR-34a در شکل‌گیری تومور در تحقیقات صورت گرفته نشان داده شده است. نقش انکویری این miRNA از طریق افزایش بیان آن و مهار بیان GAS1ⁱⁱⁱ صورت گرفته که موجب فعال شدن RET و افزایش فعالیت مسیر PI₃K می‌گردد.^{۴۲} نقش تومورسایروری miR-34a نیز به طریق کاهش بیان آن انجام شده که منجر به عدم مهار MET و افزایش فسفوریلاسیون AKT می‌گردد. پروتئین MET یک تیروزین کیناز بوده و از طریق انتقال سیگنال‌های رشد و تکثیر خارج سلولی به مسیرهایی مانند PI₃K، موجب القای رشد و تکثیر سلول می‌شود.^{۴۴}

miR-99a: این miRNA به صورت تجربی به عنوان یک miRNA دارای کاهش بیان در PTC و ATC شناخته شده است. همچنین به صورت تجربی ثابت گردید که بیان

i- Activator Protein 1

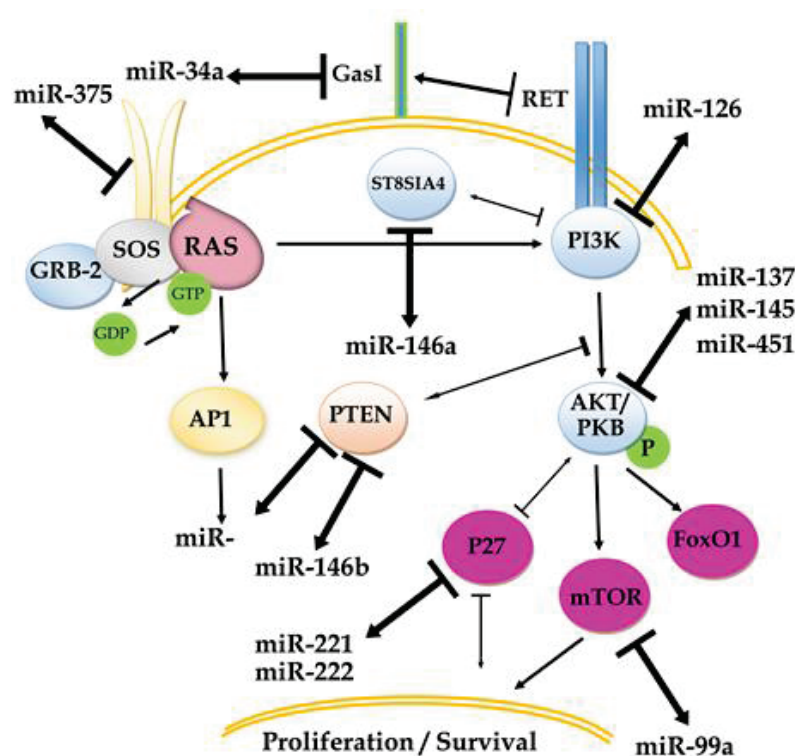
ii- Phosphatase and Tensin homolog

iii- Growth Arrest Specific 1

miR-221: تحقیقات صورت گرفته حاکی از افزایش بیان این miRNA بوده و با هدف قرار دادن پروتئین کیناز $p27^{Kip1}$ (پایین دست AKT در مسیر PI_3K) موجب مقاومت سلول نسبت به توقف در G1 و تحریک سلول‌ها به سمت PTC می‌شود.^{۹۱}

miR-222: این miRNA مشابه با miR-221 از طریق فسفوریلاسیون $p27^{Kip1}$ (پایین دست AKT در مسیر PI_3K)، موجب کاهش ورود آن به هسته شده و موجب القای PTC از طریق افزایش ورود بدون کنترل چرخه سلولی به فاز S می‌شود.^{۹۱}

miR-375: همان‌طور که گفته شد، این miRNA توسط هدف‌گیری گیرنده ERBB2 در هر دو مسیر $MAPK/PI_3K$ اثرگذار است. در مسیر PI_3K ، miR-375 با کاهش بیان موجب افزایش بیان گیرنده و سرطانی شدن سلول‌های تیروئیدی می‌گردد.^{۳۶}



شکل ۲- مسیر پیام‌رسانی PI_3K و miRNA های تاثیرگذار در این مسیر

miR-451a: یکی از مهم‌ترین miRNA سرکوبگر تومور است که در سرطان تیروئید کاهش بیان دارد. کاهش بیان miR-451a از طریق مسیر AKT موجب افزایش سطح پروتئین‌های هدف آن از قبیل سایتوکاین پیش التهابی MIF^۱ (القای رشد تومور از طریق آبخار پیام‌رسانی به خصوص مسیر AKT)، AKT1 و فاکتور رونویسی انکوژنیک c-MYC (تنظیم‌کننده بیان ژن و القای تکثیر و تمایز سلولی) و موجب پیشبرد سلول‌ها به سمت PTC می‌گردد.^{۹۲}

شکل ۲ به صورت شماتیک، مسیر پیام‌رسانی PI_3K و miRNA های تاثیرگذار در این مسیر را نشان می‌دهد.

۳-۵ مسیر پیام‌رسانی TGFβ

در سرطان تیروئید، مسیر پیام‌رسانی TGFβ هم می‌تواند نقش سرکوبگر تومور (در مراحل اولیه) داشته باشد و هم به عنوان پیش برنده تومور (در مراحل پایانی) ایفای نقش کند. در مراحل اولیه ایجاد تومور، مسیر TGFβ یک تنظیم‌کننده منفی برای رشد سلول‌های فولیکولار تیروئیدی است، اما در مراحل بعدی، مسیر TGFβ موجب القای EMT، مهاجرت و تهاجم با واسطه BRAF می‌گردد.^{۵۲} نقش مهم TGFβ در فعال سازی تومورهای پاپیلاری همراه با جهش در ژن BRAF به خوبی تعیین شده است. طبق تحقیقات صورت گرفته، شروع تومور با جهش پروتئین کوژن BRAF، سلول‌های تیروئیدی را مستعد EMT ناشی از TGFβ از طریق فرآیند وابسته به MAPK می‌نماید.^{۵۴} TGFβ1 یک عضو از خانواده سایتوکاین‌هاست که در رشد سلولی، تمایز و آپوپتوز مشارکت می‌نماید. این سایتوکاین به رسپتور نوع II از TGFβ (TGFβRII) متصل شده و با به کارگیری گیرنده نوع I (TGFβRI) و فسفوریلاسیون آن، موجب انتقال سیگنال با واسطه پروتئین‌های SMAD پایین دست (SMAD2، SMAD3 و SMAD4) از سیتوپلاسم به هسته می‌گردد.^{۵۵} ورود پروتئین‌های SMAD به هسته موجب کنترل تنظیم بیان ژن شده و هر گونه تغییر در این مسیر منجر به سرطانی شدن سلول‌ها می‌شود.^{۵۶} به علاوه، مشخص شده است که TGFβ1 و ActA اثر مهار بر روی FTC دارند و نقش مهمی را در کنترل تومورزایی تیروئید ایفا می‌نمایند. این دو مولکول موجب راه‌اندازی مسیر پیام‌رسانی SMAD شده که هر یک موجب کنترل بیان ژن‌های هدف خود یعنی SMAD7 بازدارنده و c-MYC می‌گردند.^{۵۷}

۱-۳-۵ MiRNAهای تاثیرگذار در مسیر پیام‌رسانی

TGFβ

miR-7: کاهش بیان این miRNA در FTC با هدف‌گیری TGFβRII به اثبات رسیده است.^{۵۸} طبق مطالعات انجام شده، miR-7 همچنین با اثر منفی بر روی پروتئین کیناز فعال‌کننده p21 (PAK1) (و نه بر روی بیان mRNA مربوط به آن) نقش سرکوبگر تومور داشته و با کاهش این پروتئین موجب کاهش رشد و تکثیر و ممانعت از تهاجم و متاستاز سلول‌های سرطانی می‌شود.^{۵۸}

miR-23b: افزایش بیان این miRNA در FTC به اثبات رسیده است و این امر از طریق هدف قرار دادن SMAD3،

مهار TGFβ و تقویت رشد سلول‌های تیروئیدی صورت می‌گیرد.^{۵۹}

miR-29b: افزایش بیان miR-29b به همراه miR-23b در PTC و هم‌چنین در گواتر مشاهده شده است. هر دو miRNA توسط TSH تنظیم بیان شده و افزایش بیان آن‌ها موجب رشد سلول‌های تیروئیدی می‌شود. سازوکار عمل این miRNA مانند miR-23b و از طریق مهار TGFβ توسط SMAD3 است.^{۵۹}

miR-30: بیان این miRNA در سلول‌های مشتق شده از ATC مزانشیمی موجب پتانسیل تهاجمی شده و انتقال مزانشیمی- اپیتلیال (METⁱ) را از طریق بیان پروتئین‌های نشانگر MET القا می‌نماید. با توجه به نقش پیام‌رسانی TGFβ در تنظیمⁱⁱ MET/EMT، بیان SMAD2 و TGFβRI که در اغلب ATC های اولیه دچار افزایش بیان می‌شوند، توسط miR-30 کنترل می‌شود. مهار TGFβRI موجب القای MET و کاهش miR-21 می‌شود.^{۶۰}

miR-144: هدف مستقیم miR-144، TGFβRII بوده و با توجه به نقش سرکوبگر توموری، کاهش بیان آن در FTC مشاهده شده است.^{۵۸} یکی دیگر از کارکردهای این miRNA ممانعت از بیان دو مهارکننده E-cad به نام‌های ZEB1 و ZEB2 بوده که موجب مهار تهاجم سلولی می‌شود. لذا کاهش بیان این miRNA موجب افزایش تکثیر سلول‌های سرطانی می‌گردد.^{۶۱}

miR-146b: افزایش بیان miR-146b یک شاخص مهم تشخیص در PTC بوده و از طریق اثرگذاری بر روی SMAD4 فعالیت تومورزایی خود را به انجام می‌رساند.^{۶۲}

miR-199a: کاهش بیان این miRNA در PTC با افزایش بیان mRNA ژن SNAIL همراه است. طبق بررسی صورت گرفته، در رده‌های سرطانی تیروئید دارای کاهش بیان miR-199a، اصلاح بیان این miRNA موجب کاهش SNAIL، مهار vimentin و N-cad، القای E-cad و کاهش قدرت تهاجم تومورها می‌گردد.^{۶۳}

miR-200 family: خانواده miR-200 نقشی مشابه miR-30 در سلول‌های مشتق شده از ATC مزانشیمی ایفا نموده و TGFβRI و SMAD2 را، که در اکثر ATC های اولیه دارای افزایش بیان هستند، هدف قرار می‌دهد.^{۶۴} مطالعه‌ای دیگر در خصوص نقش خانواده miR-200

i -Mesenchymal-Epithelial Transition

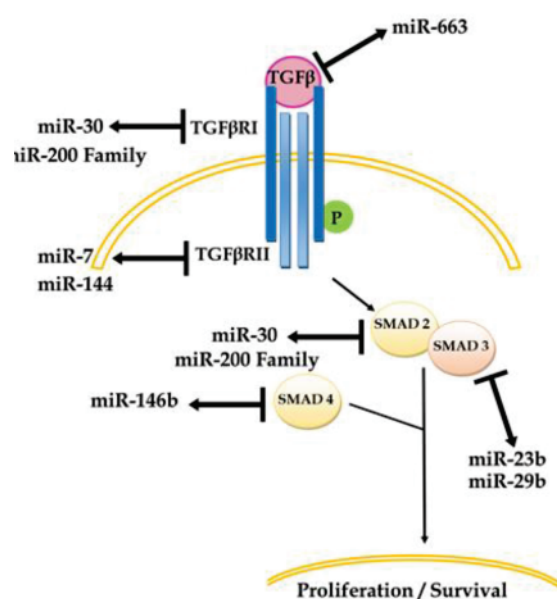
ii -Epithelial-Mesenchymal Transition

نشان‌دهنده کاهش بیان قابل توجه آن‌ها در سرطان ATC در مقایسه با سلول‌های نرمال تیروئیدی و همچنین انواع دیگر از سرطان‌های تیروئید از قبیل PTC و FTC است.^{۶۰} اعضای این خانواده به همراه miR-205 موجب تنظیم بیان ZEB1 و ZEB2 گردیده و از این طریق در EMT و متاستاز تومور نقش خود را ایفا می‌نمایند.^{۶۰}

miR-205: این miRNA به همراه خانواده miR-200 با ممانعت از بیان دو مهارکننده E-cad (ZEB1 و ZEB2)، موجب مهار متاستاز سلول‌های توموری می‌شوند و لذا کاهش بیان این دو خوشه در ATC موجب EMT و متاستاز تومور می‌گردد.^{۶۰}

miR-663: طبق تحقیقات صورت گرفته، miR-663 در PTC در مقایسه با بافت طبیعی^{۶۴} و همچنین در PTC های متاستاتیک نسبت به PTC های غیر متاستاتیک دارای کاهش بیان بوده است. اثرگذاری این miRNA به صورت مستقیم بر روی TGFβ1 می‌باشد.^{۶۱}

شکل ۳ به صورت شماتیک، مسیر پیام‌رسانی TGFβ و miRNA های تاثیرگذار در این مسیر را نشان می‌دهد.



شکل ۳- مسیر پیام‌رسانی TGFβ و miRNA های تاثیرگذار در این مسیر

۶- بحث و نتیجه‌گیری

سرطان تیروئید، به عنوان شایع‌ترین سرطان غدد درون ریز، نتیجه مجموعه‌ای از تغییرات ژنتیکی و اپی ژنتیکی متعدد بوده که می‌تواند با ایجاد تغییر در محتوای مولکولی سلول‌ها و محیط اطراف آن‌ها، از طریق مسیرهای

پیام‌رسانی متنوع موجب پیشرفت، تهاجم و متاستاز گردد.^{۶۷،۶۸} امروزه به خوبی مشخص شده است که مسیرهای پیام‌رسانی دخیل در ایجاد سرطان تیروئید می‌توانند به تنهایی و یا همراه با یکدیگر، با وجود آوردن شبکه‌ای تنظیمی، فرآیند سرطان‌زایی را سرعت بخشند.^{۶۹} از میان مسیرهای متنوع دخیل در بروز سرطان تیروئید، سه مسیر پیام‌رسانی شامل مسیرهای MAPK، PI3K و TGFβ بیشترین موارد مطالعه را به خود اختصاص داده و جزو مسیرهای اصلی پیام‌رسانی به شمار می‌آیند. در این راستا، به دلیل افزایش تمرکز تحقیقات بر شناخت جزئیات و تغییرات صورت گرفته در این مسیرها، سازوکارهای مولکولی مرتبط زیادی کشف گردیده است. هرچند که ارتباط بسیاری از سازوکارها با این مسیرها هنوز ناشناخته باقی مانده است.^{۷۰} از سوی دیگر، پیرو تحقیقات گسترده بر روی سازوکارهای ایجاد سرطان از جمله سرطان تیروئید، تغییر تنظیم بیان miRNA ها یکی از مهم‌ترین تغییرات مولکولی شناخته شده است. این تغییرات به طرق مختلف از قبیل اختلال در مسیرهای پیام‌رسانی دخیل در تکثیر، عدم تأثیر مهارکننده‌های رشد، و یا تأثیر بروی تهاجم و مهاجرت موجب بروز نشانه‌های مربوط به سرطان می‌گردند.^{۷۱،۷۲} ارتباط میان تغییر تنظیم بیان برخی miRNA ها با تغییرات مرتبط در مسیرهای پیام‌رسانی در سرطان تیروئید طبق مطالعات متعدد اثبات گردیده و در برخی موارد نیز با وجود شناخت سازوکار عمل miRNA دخیل در فرآیند سرطان‌زایی، ارتباط آن با مسیرهای پیام‌رسانی هنوز روشن نگردیده است. لذا این مطالعه به ارتباط میان سازوکارهای شناخته شده miRNA ها و مسیرهای پیام‌رسانی اصلی پرداخته است. لازم به ذکر است miRNA های دخیل در فرآیند سرطان‌زایی با فراوانی بالا، به دلیل مشخص نبودن ارتباط میان سازوکار عمل آن‌ها با مسیرهای مذکور، ذکر نگردیده است.

همان‌طور که مشاهده گردید، افزایش بیان miRNA های اغلب بر مولکول‌های مهارکننده، و کاهش بیان miRNA های سرکوبگر اغلب بر مولکول‌های فعال‌کننده مسیر تأثیر می‌گذارند. لذا با توجه به سازوکارهای بازخوردی شناخته شده میان miRNA ها و تغییر در روند مسیرهای پیام رسانی، می‌توان از طریق مهار miRNA های انکوژنیک یا افزایش بیان miRNA های سرکوبگر تومور و اصلاح بیان miRNA ها، آن‌ها را به عنوان کاندیداهای مناسبی جهت

سیاسگزاری: نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

اهداف درمانی، پیش آگهی و تشخیصی سرطان تیروئید در نظر گرفت.

References

1. Takano T. Natural history of thyroid cancer [Review]. *Endocr J* 2017; 64: 237-44.
2. Nozhat Z, Azizi F, Hedayati M. A Review on Molecular Biomarkers of Thyroid Carcinoma. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2015; 25: 154-70.
3. Nikiforov YE, Nikiforova MN. Molecular genetics and diagnosis of thyroid cancer. *Nat Rev Endocrinol* 2011; 7: 569-80.
4. Katoh H, Yamashita K, Enomoto T, Watanabe M. Classification and General Considerations of Thyroid Cancer. *Ann Clin Pathol* 2015; 3: 1045-54.
5. Edna T. Kimura, Marina N. Nikiforova, Zhu Z, Jeffrey A. Knauf, Yuri E. Nikiforov and JAF. High Prevalence of BRAF Mutations in Thyroid Cancer: Genetic Evidence for Constitutive Activation of the RET/PTC-RAS-BRAF Signaling Pathway in Papillary Thyroid Carcinoma. *Cancer Res* 2003; 63: 1454-7.
6. Zafon C, Obiols G. The mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway in papillary thyroid cancer. From the molecular bases to clinical practice. *Endocrinologia y Nutricion* 2009; 56: 176-86.
7. Eloy C, Santos J, Cameselle-Teijeiro J, Soares P, Sobrinho-Simões M. TGF-beta/Smad pathway and BRAF mutation play different roles in circumscribed and infiltrative papillary thyroid carcinoma. *Virchows Arch* 2012; 460: 587-600.
8. Fuziwar CS, Saito KC, Kimura ET. Interplay of TGFβ signaling and microRNA in thyroid cell loss of differentiation and cancer progression. *Arch Endocrinol Metab* 2019; 63: 536-44.
9. Santarpia L, Calin G.A, Adam L, Ye L, Fusco A, Giunti S, et al. A miRNA signature associated with human metastatic medullary thyroid carcinoma. *Endocr Relat Cancer* 2013; 20: 809-23.
10. Bozorg-Ghalati F, Hedayati M, Dianatpour M, Mosaffa N, Azizi F. Targeting the BRAF signaling pathway in CD133pos cancer stem cells of anaplastic thyroid carcinoma. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2019; 20: 1353-60.
11. Hou P, Liu D, Shan Y, Hu S, Studeman K, Condouris S, et al. Genetic alterations and their relationship in the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway in thyroid cancer. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 1161-70.
12. Giunti S, Antonelli A, Amorosi A and Santarpia L. Cellular Signaling Pathway Alterations and Potential Targeted Therapies for Medullary Thyroid Carcinoma. *Int J Endocrinol* 2013; 2013: 803171.
13. Shabani N, Razaviyan J, Paryan M, Tavangar S.M, Azizi F, Mohammadi S, Mohammadi Yeganeh, Hedayati M. Evaluation of miRNAs expression in medullary thyroid carcinoma tissue samples: miR-34a and miR-144 as promising overexpressed markers in MTC. *Hum Pathol* 2018; 79: 212-21.
14. Mohammadi M, Hedayati M. A brief review on the molecular basis of medullary thyroid carcinoma. *Cell J* 2016; 18: 485-92.
15. Hossainzadeh S, Ranji N, Naderi Sohi A, Najafi F. Silibinin encapsulation in polymersome: A promising anticancer nanoparticle for inducing apoptosis and decreasing the expression level of miR-125b/miR-182 in human breast cancer cells. *J Cell Physiol* 2019; 234: 22285-98.
16. Ehyaei S, Hedayati M, Zarif-Yeganeh M, Sheikholeslami S, Ahadi M, Amini SA. Plasma calcitonin levels and miRNA323 expression in medullary thyroid carcinoma patients with or without RET mutation. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2017; 18: 2179-84.
17. Pakizehkar S, Ranji N, Naderi Sohi A, Sadeghizadeh M. Curcumin loaded PEG 400 -OA nanoparticles: A suitable system to increase apoptosis, decrease migration, and deregulate miR-125b/miR182 in MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Polym Adv Technol* March 2020.
18. Pakizehkar S, Ranji N, Sohi AN, Sadeghizadeh M. Polymersome-assisted delivery of curcumin: A suitable approach to decrease cancer stemness markers and regulate miRNAs expression in HT29 colorectal cancer cells. *Polym Adv Technol* 2020; 31: 160-77.
19. Garcilaso Riesco-Eizaguirre PS. Advances in the molecular pathogenesis of thyroid cancer: lessons from the cancer genome. *Thyroid Cancer Genome* 2016; 175: 203-17.
20. Santisteban MAZ, Instituto P. Key signaling pathways in thyroid cancer. *J Endocrinol* 2017; 235: R43-R61.
21. Krishna M, Narang H. The complexity of mitogen-activated protein kinases (MAPKs) made simple. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65: 3525-44.
22. Shaul YD, Seger R. The MEK/ERK cascade: From signaling specificity to diverse functions. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res* 2007; 1773: 1213-26.
23. Ewelina Perdas, Robert Stawski DN and MZ. The Role of miRNA in Papillary Thyroid Cancer in the Context of miRNA Let-7 Family. *Int J Mol Sci* 2016; 17: 909.
24. Johnson S.M, Grosshans H, Shingara J, Byrom M, Jarvis R, Cheng A, et al. RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell* 2005; 120: 635-47.
25. Ricarte-Filho JCM, Fuziwar CS, Yamashita AS, Rezend E, Da-Silva MJ, Kimura ET. Effects of let-7 microRNA on cell growth and differentiation of papillary thyroid cancer. *Transl Oncol* 2009; 2: 236-41.
26. Guo F, Hou X, Sun Q. microRNA-9-5p functions as a tumor suppressor in papillary thyroid cancer via targeting BRAF. *Oncol Lett* 2018; 16: 6815-21.
27. Hong S, Yu S, Li J, Yin Y, Liu Y, Zhang Q, et al. MiR-20b displays Tumor-Suppressor Functions in Papillary Thyroid Carcinoma by Regulating the MAPK/ERK Signaling Pathway. *Thyroid* 2016; 26: 1733-43.
28. Swierniak M, Wojcicka A, Czetwertynska M, Stachlewska E, Maciag M, Wiechno W, et al. In-depth characterization of the MicroRNA transcriptome in normal thyroid and papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98: E1401.
29. Hatley M.E, Patrick D.M, Garcia M.R, Richardson J.-A, Bassel-Duby R, van Rooij E, et al. Modulation of K-Ras-dependent lung tumorigenesis by MicroRNA-21. *Cancer Cell* 2010; 18: 282-93.
30. Maslah-Planchon J, Garinet S, Pasmant E. RAS-MAPK pathway epigenetic activation in cancer: MiRNAs in action. *Oncotarget* 2016; 7: 38892-7.
31. Frezzetti D, De Menna M, Zoppoli P, Guerra C, Ferraro A, Bello A.M, et al. Upregulation of miR-21 by Ras in

- vivo and its role in tumor growth. *Oncogene* 2011; 30: 275-86.
32. Luo Y, Li X, Dong J, Sun W. microRNA-137 is down-regulated in thyroid cancer and inhibits proliferation and invasion by targeting EGFR. *Tumor Biol* 2016; 37: 7749-55.
33. Chou C.K, Chen R-F, Chou F.F, Chang W.H, Chen Y-J, Lee Y.F, et al. MiR-146b is highly expressed in adult papillary thyroid carcinomas with high risk features including extrathyroidal invasion and the BRAF v600e mutation. *Thyroid* 2010; 20: 489-94.
34. Wang F, Jiang C, Sun Q, Yan F, Wang L, Fu Z, et al. miR-195 is a key regulator of Raf1 in thyroid cancer. *Onco Targets Ther* 2015; 8: 3021-8.
35. Mincione G, Di Marcantonio M.C, Tarantelli C, D'Inzeo S, Nicolussi A, Nardi F, Donini C.F, et al. EGF and TGF- β 1 Effects on Thyroid Function. *J Thyroid Res* 2011; 2011: 431718.
36. Wang XZ, Hang YK, Liu JB, Hou YQ, Wang N, Wang MJ. Over-expression of microRNA-375 inhibits papillary thyroid carcinoma cell proliferation and induces cell apoptosis by targeting ERBB2. *J Pharmacol Sci* 2016; 130: 78-84.
37. Agrawal N, Akbani R, Aksoy BA, Ally A, Arachchi H, Asa S.L, et al. Integrated Genomic Characterization of Papillary Thyroid Carcinoma. *Cell* 2014; 159: 676-90.
38. Liu Z, Zhang J, Gao J, Li Y. MicroRNA-4728 mediated regulation of MAPK oncogenic signaling in papillary thyroid carcinoma. *Saudi J Biol Sci* 2018; 25: 986-90.
39. Nozhat Z, Hedayati M. PI3K/AKT Pathway and Its Mediators in Thyroid Carcinomas. *Mol Diagnosis Ther* 2016; 20: 13-26.
40. Saji M, Ringel MD. The PI3K-Akt-mTOR pathway in initiation and progression of thyroid tumors. *Mol Cell Endocrinol* 2010; 321: 20-8.
41. Xing M. Genetic alterations in the phosphatidylinositol-3 kinase/Akt pathway in thyroid cancer. *Thyroid* 2010; 20: 697-706.
42. Talotta F, Cimmino A, Matarazzo MR, Casalino L, De Vita G, D'Esposito M, Di Lauro R, et al. An autoregulatory loop mediated by miR-21 and PDCD4 controls the AP-1 activity in RAS transformation. *Oncogene* 2009; 28: 73-84.
43. Ma Y, Qin H, Cui Y. MiR-34a targets GAS1 to promote cell proliferation and inhibit apoptosis in papillary thyroid carcinoma via PI3K/Akt/Bad pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 441: 958-63.
44. Liu H, Deng H, Zhao Y, Li C, Liang Y. LncRNA XIST/miR-34a axis modulates the cell proliferation and tumor growth of thyroid cancer through MET-PI3K-AKT signaling. *J Exp Clin Cancer Res* 2018; 37: 279.
45. Huang H-G, Luo X, Wu S, Jian B. MiR-99a Inhibits Cell Proliferation and Tumorigenesis through Targeting mTOR in Human Anaplastic Thyroid Cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015; 16: 4937-44.
46. Rahman MA, Salajegheh A, Smith RA, Lam AK yin. MicroRNA-126 suppresses proliferation of undifferentiated (BRAFV600E and BRAFWT) thyroid carcinoma through targeting PIK3R2 gene and repressing PI3K-AKT proliferation-survival signalling pathway. *Exp Cell Res* 2015; 339: 342-50.
47. Ebrahimi F, Gopalan V, Smith RA, Lam AKY. MiR-126 in human cancers: Clinical roles and current perspectives. *Exp Mol Pathol* 2014; 96: 98-107.
48. Boufraqueh M, Zhang L, Jain M, Patel D, Ellis R, Xiong Y, et al. MiR-145 suppresses thyroid cancer growth and metastasis and targets AKT3. *Endocr Relat Cancer* 2014; 21: 517-31.
49. Ma W, Zhao X, Liang L, Wang G, Li Y, Miao X, et al. miR-146a and miR-146b promote proliferation, migration and invasion of follicular thyroid carcinoma via inhibition of ST8SIA4. *Oncotarget* 2017; 8: 28028-41.
50. Ramírez-Moya J, Wert-Lamas L, Santisteban P. MicroRNA-146b promotes PI3K/AKT pathway hyperactivation and thyroid cancer progression by targeting PTEN. *Oncogene* 2018; 37: 3369-83.
51. Mardente S, Mari E, Consorti F, Di Gioia C, Negri R, Etna M, et al. HMGB1 induces the overexpression of miR-222 and miR-221 and increases growth and motility in papillary thyroid cancer cells. In: *Oncology Reports* 2012; 28: 2285-9.
52. Minna E, Romeo P, Dugo M, De Cecco L, Todoerti K, Pilotti S, et al. miR-451a is underexpressed and targets AKT/mTOR pathway in papillary thyroid carcinoma. *Oncotarget* 2016; 7: 12731-47.
53. Riesco-Eizaguirre G, Rodríguez I, De La Vieja A, Costamagna E, Carrasco N, Nistal M, et al. The BRAFV600E oncogene induces transforming growth factor β secretion leading to sodium iodide symporter repression and increased malignancy in thyroid cancer. *Cancer Res* 2009; 69: 8317-25.
54. Knauf JA, Sartor MA, Medvedovic M, Lundsmith E, Ryder M, Salzano M, et al. Progression of BRAF-induced thyroid cancer is associated with epithelial-mesenchymal transition requiring concomitant MAP kinase and TGF β signaling. *Oncogene* 2011; 30: 3153-62.
55. Matsuo SE, Fiore APZP, Siguematu SM, Ebina K-N, Friguglietti CUM, Ferro MC, et al. Expression of SMAD proteins, TGF-beta/activin signaling mediators, in human thyroid tissues. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2010; 54: 406-12.
56. Pardali K, Moustakas A. Actions of TGF- β as tumor suppressor and pro-metastatic factor in human cancer. *Biochim Biophys Acta - Rev Cancer* 2007; 1775: 21-62.
57. Emiko Matsuo S, Garcia Leoni S, Colquhoun A, and Teruko Kimura E. Transforming growth factor- β 1 and activin A generate antiproliferative signaling in thyroid cancer cells in: *Journal of Endocrinology* 2006; 190: 141-50.
58. Chi J, Zheng X, Gao M, Zhao J, Li D, Li J, et al. Integrated microRNA-mRNA analyses of distinct expression profiles in follicular thyroid tumors. *Oncol Lett* 2017; 14: 7153-60.
59. Leone V, D'Angelo D, Pallante P, Croce CM, Fusco A. Thyrotropin Regulates Thyroid Cell Proliferation by Up-Regulating miR-23b and miR-29b that Target SMAD3. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97: 3292-301.
60. Braun J, Hoang-Vu C, Dralle H, Hüttelmaier S. Down-regulation of microRNAs directs the EMT and invasive potential of anaplastic thyroid carcinomas. *Oncogene* 2010; 29: 4237-44.
61. Guan H, Liang W, Xie Z, Li H, Liu J, Liu L, et al. Down-regulation of miR-144 promotes thyroid cancer cell invasion by targeting ZEB1 and ZEB2. *Endocrine* 2015; 48: 566-74.
62. Geraldo MV, Yamashita AS, Kimura ET. MicroRNA miR-146b-5p regulates signal transduction of TGF-B by repressing SMAD4 in thyroid cancer. *Oncogene* 2012; 31: 1910-22.
63. Ma S, Jia W, Ni S. miR-199a-5p inhibits the progression of papillary thyroid carcinoma by targeting SNAI1. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 497: 181-6.
64. Wang Z, Zhang H, He L. Association between the expression of four upregulated miRNAs and extrathyroidal

- invasion in papillary thyroid carcinoma. *Onco Targets Ther* 2013; 6: 281-7.
65. Gregory PA, Bert AG, Paterson EL. The miR-200 family and miR-205 regulate epithelial to mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SIP1. *Nat Cell Biol* 2008; 10: 593-601.
66. Wang Z, Zhang H, Zhang P, Dong W, He L. MicroRNA-663 suppresses cell invasion and migration by targeting transforming growth factor beta 1 in papillary thyroid carcinoma. *Tumor Biol* 2016; 37: 7633-44.
67. Xing M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. *Nat Rev Cancer* 2013; 13: 184-99.
68. Zarif Yeganeh M, Kabiri S, Sheikholeslami S, Hesanimanesh H, Hedayati M. Germline mutation of RET proto-oncogene's exons 17 and 18 in Iranian medullary thyroid carcinoma patients. *Tehran Univ Med J* 2017; 74: 852-860.
69. Jin S, Borkhuu O, Bao W, Yang Y-T. Signaling Pathways in Thyroid Cancer and Their Therapeutic Implications. *J Clin Med Res* 2016; 8: 284-96.
70. Ramírez-Moya J, Santisteban P. MiRNA-directed regulation of the main signaling pathways in thyroid cancer. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2019; 10(JUL).
71. Bozorg-Ghalati F, Hedayati M, Dianatpour M. and Mohammadpour I. Overcoming the lack of expression the lack of the sodium-iodide symporter protein in anaplastic thyroid cancer stem cells by targeting the phosphatidylinositol 3-kinase signaling pathway. *International Journal of Development Research* 2018; 08: 20704-9.
72. Wang J, Wu L, Jin Y, Li S, Liu X. Identification of key miRNAs in papillary thyroid carcinoma based on data mining and bioinformatics methods. *Biomed Rep* 2020; 12: 11-6.

Review Article

The Role of miRNA Dysregulation in Thyroid Cancer Development by Targeting the Main Signaling Pathways

Hosseinzadeh S, Pakizehkar S, Hedayati M

Cellular and Molecular Endocrine Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran

e-mail: hedayati47@gmail.com

Received: 08/11/2020 Accepted: 17/02/2021

Abstract

Thyroid cancer is one of the most common malignancies of endocrine glands, causing carcinomas, such as papillary, follicular, medullary, and anaplastic thyroid carcinomas. Due to the significance of thyroid carcinomas, identification of the main signaling pathways and the affecting mutations has been considered by researchers. Further studies on the dysregulation of oncogenes in signaling pathways have also revealed the feedback mechanisms between oncogenes/tumor suppressor genes and miRNAs. Considering the importance of thyroid carcinoma and the important role of miRNAs, this review study aimed to introduce the main signaling pathways and the most important modified miRNAs along with an explanation for the mechanism of their functions. Generally, Changes in the main PI3K, MAPK, and TGF β signaling pathways alone or in combination, depending on the type and severity of cancer, have essential roles in thyroid cancer initiation and progression. Dysregulation of miRNAs and the signaling pathways, based on oncogene/tumor suppressor gene feedback mechanisms, can be an aggravating factor for the thyroid cancer process. Given the confirmed role of miRNAs in tumorigenesis and our current knowledge of miRNA-related cancers, miRNAs can be used as potential biomarkers for therapeutic purposes, as well as prognostic and diagnostic agents for cancer progression.

Keywords: Endocrine glands, MAPK signaling pathways, MicroRNAs, Phosphatidylinositol 3-kinase, Signal transduction, Thyroid cancer, Transforming growth factor beta (TGF- β)