

9. Weilner S, Schraml E, Wieser M, Messner P, Schneider K, Wassermann K, Micutkova L, Fortschegger K, Maier AB, Westendorp R, Resch H, Wolbank S, Redl H, Jansen-Dürr P, Pietschmann P, Grillari-Voglauer R & Grillari J (2016) Secreted microvesicular miR-31 inhibits osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Aging Cell*, 1–11. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/ace.12484>.

10. Weilner S, Skalicky S, Salzer B, Keider V, Wagner M, Hildner F, Gabriel C, Dovjak P, Pietschmann P, Grillari-Voglauer R, Grillari J & Hackl M (2015) Differentially circulating miRNAs after recent osteoporotic fractures can influence osteogenic differentiation. *Bone* 79, 43–51. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26026730> [Accessed February 16, 2016].

МикроРНК: ОТ БИОЛОГИИ К КЛИНИЧЕСКОМУ ПРИМЕНЕНИЮ

LARISA NONN, PH.D.

*Department of Pathology University of Illinois at Chicago
Chicago, IL USA*



С момента открытия микроРНК (миРНК) в клетках млекопитающих [1] они стали изучаться не только в качестве регуляторов экспрессии белков, но и как перспективные ранние биомаркеры заболеваний и потенциальные мишени для разработки лекарственных средств. МиРНК являются короткими (18–22 нуклеотидов) некодирующими РНК, которые транскрибируются из собственных генов, либо из кодирующих генов или интронов. Транскрипция МиРНК начинается с образования длинной молекулы первичной микроРНК (pri-миРНК), из которой посредством ферментов Drosha и DGR8 в ядре образуется шпильчатая структура – предшественник микроРНК (pre-миРНК). После транспорта в цитозоль pre-миРНК разрезается ферментом Dicer1, с образованием одноцепочечных зрелых микроРНК. Наиболее хорошо изученным механизмом действия зрелой миРНК является РНК-интерференция (RNAi): миРНК связывается с 3' нетранслируемой областью матричной РНК (мРНК), подавляя трансляцию и/или снижая ее стабильность [2]. Механизм РНК-интерференции также может осуществляться путём связывания миРНК с кодирующим регионом мРНК [3]. Взаимодействие миРНК с их мишенями осуществляется путем связывания последовательностей из 6-8 нуклеотидов и ассоциации с РНК-индуцируемым сайленсинг-комплексом (RISC), который включает белок Argonaute 2. Также, помимо РНК-интерференции, были открыты другие функции миРНК в клетках млекопитающих. Например, связывание миРНК с 3' нетранслируемой областью мРНК может увеличивать трансляцию белка [4]. Также существуют данные о том, что миРНК могут проникать в ядро и путем взаимодействия с ДНК регулировать экспрессию генов [5, 6].

МиРНК могут использоваться как ранние биомаркеры различных заболеваний, так как они стабильны и устойчивы при задержках обработки материала [7, 8]. МиРНК присутствуют в сыворотке/плазме, внутри экзосом и/или связаны с белками семейства Argonaute. Мы вступили в эру широкого анализа экспрессии миРНК, что позволяет определять маркеры заболеваний. Существуют различия в опубликованных результатах по профилям экспрессии миРНК при различных состояниях, что обусловлено различиями в подготовке материала, РНК изоляции и оценке экспрессии миРНК. В настоящее время в клиническом использовании существует одна панель 64 миРНК для идентификации метастазов неизвестной природы [9].

Различная экспрессия миРНК была показана для многих заболеваний. МиРНК часто имеют биологическую функцию в фенотипах заболевания. Поэтому, миРНК – цели для разработки лекарственных средств: миРНК ми-

метиков, анти-миРНК (ингибиторов) или miR sponge (ингибиторы) [10]. Пока в клинической практике существует один препарат антимиРНК, ингибирующий активность миРНК-122 в печени у пациентов с гепатитом С [11]. МиРНК-122 экспрессируется только в печени и необходима для репликации вируса гепатита С. Пациенты, получившие лечение анти-миРНК-122, имеют стойкое снижение вирусной нагрузки.

Исследования в нашей лаборатории фокусируются на миРНК в предстательной железе. Мы определили подавляющие опухоли миРНК, регулируемые витамином D, в эпителиальных клетках простаты и в эпителии простаты, полученном путём лазерной микродиссекции, у пациентов из клинического исследования витамина D [12]. Также мы определили панель миРНК в сыворотке у пациентов с раком простаты, которая прогнозирует отсутствие агрессивности заболевания [13].

В заключение следует отметить, что в изучении миРНК происходит интересный период: области знаний фундаментальной биологии и клинического применения быстро расширяются. Вероятно, проводимые в настоящее время исследования только начинают открывать истинные биологические функции микроРНК.

MicroRNAs: from biology to clinical implementation.

Since their discovery in mammalian cells [1], microRNAs (miRs) have emerged not only as regulators of protein expression, but also as attractive biomarkers for disease and potential therapeutic targets. miRs are short (18-22 bp) non-coding RNAs that are transcribed by their own genes or can exist within coding genes or introns. miRs are transcribed as a long pri-microRNA (pri-mir) that is processed into a pre-microRNA (pre-mir) hairpin structure by Drosha and DGR8 within the nucleus. After export to the cytosol, the pre-mir is further processed into single stranded mature miRs by Dicer1. The most well-understood mechanism for the mature miR function is that of RNA-interference (RNAi), in which the miRs bind to the 3'UTR of mRNAs to suppress protein translation and/or reduce the mRNA stability [2]. This RNAi mechanism can also occur from miR binding within the coding region of the mRNA [3]. miR interaction with their targets is via imperfect binding of a 6-8 bp seed sequence and association with the RNA-induced Silencing Complex (RISC) which includes Argonaute 2. In addition to RNAi, other functions of miRs in mammalian cells have been discovered. For example, binding of miRs to the 3'UTR of an mRNA can increase protein translation [4]. There is also evidence that miRs can enter the nucleus and interact with DNA to regulate gene expression [5, 6].

miRs are attractive biomarkers of disease because they are stable and resistant delays in sample processing [7, 8].

miRs present in the serum/plasma may be within exosomes and/or bound to Argonaut proteins. To identify biomarkers in disease we are in an era of extensive miR expression profiling. Differences in sample preparation, RNA isolation and miR expression methods contribute to the heterogeneity of published miR expression profiles in disease states. There is one 64 miR panel in current clinical use for identification of metastasis of unknown origin [9].

Differential expression of miRs has been demonstrated in many diseases. The miRs often have biological function in the phenotypes of the disease. Therefore, miRs are targets for therapeutic development either by a miR mimic, anti-miR (inhibitor) or sponge (inhibitor) [10]. There is one such anti-miR in clinical use that inhibits the activity of miR-122 in the liver of hepatitis C patients [11]. miR-122 is only expressed in liver and is necessary for HCV replication. Patients treated with the anti-miR-122 have sustained reduction in the HCV virus levels.

Research from my lab has focused on miRs in the prostate. We have identified tumor suppressive miRs that are regulated by vitamin D in both primary epithelial prostate cells and in laser-capture micro-dissection prostate epithelium from vitamin D clinical trial patients [12]. We have also identified a panel of miRs in the serum of prostate cancer patients that predicts the absence of aggressive disease [13].

In summary, this is an exciting time in miR research in which the knowledge of basic biology and clinical applications are rapidly expanding. It is likely that current studies have only begun to reveal the true biological functions of miRs.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature*. 2004 Sep 16;431(7006):350-5. PubMed PMID: 15372042.
2. Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*. 2009 Jan 23;136(2):215-33. PubMed PMID: 19167326. Pubmed Central PMCID: 3794896.
3. Tay Y, Zhang J, Thomson AM, Lim B, Rigoutsos I. MicroRNAs to Nanog, Oct4 and Sox2 coding regions modulate embryonic stem cell differentiation. *Nature*. 2008 Oct 23;455(7216):1124-8. PubMed PMID: 18806776.
4. Vasudevan S, Tong Y, Steitz JA. Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation. *Science*. 2007 Dec 21;318(5858):1931-4. PubMed PMID: 18048652.

5. Huang V, Zheng J, Qi Z, Wang J, Place RF, Yu J, et al. Ago1 Interacts with RNA polymerase II and binds to the promoters of actively transcribed genes in human cancer cells. *PLoS genetics*. 2013;9(9):e1003821. PubMed PMID: 24086155. Pubmed Central PMCID: 3784563.

6. Place RF, Li LC, Pookot D, Noonan EJ, Dahiya R. MicroRNA-373 induces expression of genes with complementary promoter sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008 Feb 5;105(5):1608-13. PubMed PMID: 18227514. Pubmed Central PMCID: 2234192.

7. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008 Jul 29;105(30):10513-8. PubMed PMID: 18663219. Pubmed Central PMCID: 2492472.

8. Nonn L, Vaishnav A, Gallagher L, Gann PH. mRNA and micro-RNA expression analysis in laser-capture microdissected prostate biopsies: valuable tool for risk assessment and prevention trials. *Experimental and molecular pathology*. 2010 Feb;88(1):45-51. PubMed PMID: 19874819. Pubmed Central PMCID: 2815196.

9. Meiri E, Mueller WC, Rosenwald S, Zepeniuk M, Klinke E, Edmonston TB, et al. A second-generation microRNA-based assay for diagnosing tumor tissue origin. *The oncologist*. 2012;17(6):801-12. PubMed PMID: 22618571. Pubmed Central PMCID: 3380879.

10. Hydbring P, Badalian-Very G. Clinical applications of microRNAs. *F1000Research*. 2013;2:136. PubMed PMID: 24627783. Pubmed Central PMCID: 3917658.

11. Janssen HL, Reesink HW, Lawitz EJ, Zeuzem S, Rodriguez-Torres M, Patel K, et al. Treatment of HCV infection by targeting microRNA. *The New England journal of medicine*. 2013 May 2;368(18):1685-94. PubMed PMID: 23534542.

12. Giangreco AA, Vaishnav A, Wagner D, Finelli A, Fleshner N, Van der Kwast T, et al. Tumor suppressor microRNAs, miR-100 and -125b, are regulated by 1,25-dihydroxyvitamin D in primary prostate cells and in patient tissue. *Cancer prevention research*. 2013 May;6(5):483-94. PubMed PMID: 23503652. Pubmed Central PMCID: 3644314.

13. Mihelich BL, Maranville JC, Nolley R, Peehl DM, Nonn L. Elevated serum microRNA levels associate with absence of high-grade prostate cancer in a retrospective cohort. *PloS one*. 2015;10(4):e0124245. PubMed PMID: 25874774. Pubmed Central PMCID: 4396984.

НЕИНВАЗИВНАЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА КОСТИ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

PROF. DIDIER HANS

Center of Bone diseases, Bone and Joint Department, Lausanne University Hospital, Lausanne Switzerland.



Seeman E. и соавт. [1] сформулировали понятие хрупкости костей следующим образом: костная ткань способна адаптировать свою форму и размер в ответ на механическую нагрузку через механизм моделирования, при работе которого кости формируются или перестраиваются под независимым действием остеокластов и остеобластов. Ремоделирование – это процесс, поддерживающий механическую стойкость скелета, позволяя селективно восстанавливать и замещать поврежденную костную ткань. В период роста, эти процессы формиру-

ют структуру, способную адаптироваться к нагрузкам и сохранять прочность. С возрастом эти же процессы сопровождаются накоплением нарушений в этом клеточном механизме: недостаток и избыток гормонов, местных ростовых факторов, снижающаяся мышечная масса и физическая активность, недостаточность питания и другие факторы перевешивают возможности ремоделирующего механизма к адаптации скелета к возрастающим нагрузкам.

Нарушения гомеостаза и частоты ремоделирования и ограничения в периостальном взаимоотношении негатив-