ไมโครอาร์เอ็นเอ: การประยุกต์ใช้สำหรับนิติวิทยาศาสตร์

miRNA: applications of forensic science

วันชนะ สืบไวย*, วิรุจน์ คุณกิตติ, ธิติชัย เวียงสิมมา

Wunchana Seubwai*, Wirut Khunkitti, Thitichai Wiangsimma

ภาควิชานิติเวชศาสตร์, คณะแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น 40002

Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

**Corresponding author: wunchanas@yahoo.com*

บทคัดย่อ

MicroRNA (miRNA) เป็นอาร์เอ็นเอที่อยู่ในกลุ่ม non-coding RNA โดย miRNA เป็นอาร์เอ็นเอขนาดเล็ก มีความยาวประมาณ 18–25 นิวคลิโอไทด์ ทำหน้าที่สำคัญในกระบวนการควบคุมการแสดงออกของยีน โดยมีหน้าที่ควบคุมระดับของ mRNA ภายในเซลล์ บทบาทของ miRNA ได้มีการศึกษาอย่างแพร่หลายโดยเฉพาะอย่างยิ่งในทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ นอกจากนี้ในปัจจุบัน miRNA ยังนำมาศึกษาเพื่อหาแนวทางประยุกต์ใช้งานในด้านนิติวิทยาศาสตร์อีกด้วย บททบทวนวรรณกรรมเรื่องนี้แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการใช้ miRNA ในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ เช่น การระบุชนิดของเหลวจากร่างกาย การประมาณระยะเวลาหลังเสียชีวิต และการระบุพฤติกรรมในการเสียชีวิตจากการฆ่าตัวตาย

ABSTRACT

MicroRNA (miRNA) is small non-coding RNA with a length of 18 to 25 nucleotides. miRNA plays an essential role in regulating gene expression at the post-transcriptional level. At present, the functional roles of miRNA have been extensively studied, especially in medical science. In addition, applications of miRNA have expanded to include forensic science. This review highlights recent findings in applications of miRNA in forensic science, especially in body fluid identification, postmortem interval estimation and identification of manner of death.

คำสำคัญ: ไมโครอาร์เอ็นเอ; การระบุชนิดของเหลวจากร่างกาย; เวลาหลังเสียชีวิต; การฆ่าตัวตาย; นิติวิทยาศาสตร์

Keywords: miRNA; body fluid identification; postmortem interval; suicide; forensic science

บทนำ

microRNA (miRNA) เป็น small non-coding RNA ที่มีความยาวประมาณ 18 ถึง 25 นิวคลีโอไทด์ อาร์เอ็นเอชนิดนี้มีหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของยีนหลังการถอดรหัส (post transcriptional modification) (Bartel, 2004) โดย miRNA จะทำงานร่วมกับ RNA induced silencing complex (RISC) และเข้าไปจับกับ messenger RNA (mRNA) เป้าหมาย ที่บริเวณ 3′ untranslated region (UTR) ส่งผลให้เกิดการทำลาย mRNA เป้าหมาย ปัจจุบันมี miRNA มากกว่า 700 ชนิด ที่ค้นพบในมนุษย์ และจากข้อมูลทางชีวสารสนเทศ (bioinformatics) ยังบ่งชี้ว่าน่าจะมี miRNA ประมาณ 1,000 ชนิด ที่อยู่ในจีโนมของมนุษย์ (Bentwich *et al.*, 2005; Berezikov *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2006) นอกจากนี้ยังมีข้อมูลที่แสดงให้เห็นว่าการแสดงออกของ miRNA หลายชนิดจะมีความจำเพาะกับอวัยวะหรือเนื้อเยื่อแต่ละประเภท (Lagos-Quintana *et al.*, 2002)

ข้อมูลรายงานการวิจัยจำนวนมากบ่งชี้ถึงความสำคัญของ miRNA ต่อกระบวนการทางชีววิทยาของสิ่งมีชีวิต เช่น การพัฒนาของระบบประสาท (Krichevsky *et al.*, 2003; Zou *et al.*, 2015) การเปลี่ยนแปลงของเซลล์เพื่อไปทำหน้าที่จำเพาะ (Park *et*

al., 2014; Zhao *et al.*, 2015) การแบ่งตัวของเซลล์ (Brock *et al.*, 2015; Cao *et al.*, 2015) และการตายของเซลล์ (Lv *et al.*, 2014a; Park *et al.*, 2015) นอกจากนี้ ความผิดปกติในการแสดงออกหรือการทำงานของ miRNA ยังส่งผลต่อพยาธิกำเนิดของโรคหลายชนิด เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด (Nishiguchi *et al.*, 2015) โรคมะเร็ง (Zimmerman *et al.*, 2011; Sethi *et al.*, 2014) และโรคที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติในระบบประสาท (Beveridge *et al.*, 2012; Kocerha *et al.*, 2014) จากความสำคัญของ miRNA ต่อพยาธิกำเนิดของโรคที่ได้กล่าวมาทำให้มีการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ miRNA เพื่อเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) สำหรับการวินิจฉัยและการพยากรณ์โรคหลายชนิด รวมถึงการใช้ miRNA เพื่อเป็นเป้าหมายในการรักษาโรคอีกด้วย นอกจากนี้ ยังมีการศึกษา miRNA เพื่อการประยุกต์ใช้งานด้านนิติวิทยาศาสตร์ เช่น งานวิจัยของ Hanson และคณะ ซึ่งได้ใช้รูปแบบการแสดงออกของ miRNA ในการระบุชนิดของเหลวจากร่างกาย (Hanson *et al.*, 2009) งานวิจัยของ Li และคณะ ที่ทดสอบหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับของ miRNA กับระยะเวลาหลังเสียชีวิต (postmortem interval; PMI) (Li *et al.*, 2010) หรือการใช้รูปแบบการแสดงออกของ miRNA ในการอธิบายพยาธิกำเนิดของผู้เสียชีวิตจากการฆ่าตัวตาย (Smalheiser *et al.*, 2012)

บททบทวนวรรณกรรมเรื่องนี้จะแสดงข้อมูลความเป็นไปได้ในการใช้ miRNA สำหรับงานต่างๆ ด้านนิติวิทยาศาสตร์ เช่น การใช้ miRNA เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพภาพสำหรับระบุชนิดของเหลวจากร่างกาย การใช้รูปแบบของ miRNA เพื่อบอกระยะเวลาหลังการเสียชีวิต และการใช้รูปแบบการแสดงออกของ miRNA เพื่อบ่งชี้ถึงพฤติกรรมหรือสาเหตุในการเสียชีวิตจากการฆ่าตัวตาย

การระบุชนิดของเหลวจากร่างกาย (body fluid identification)

นักนิติวิทยาศาสตร์สามารถใช้สารคัดหลั่งหรือของเหลวจากร่างกายที่อยู่ในที่เกิดเหตุ ในการอธิบายรูปแบบของการบาดเจ็บจากการถูกทำร้ายหรือสาเหตุของการเสียชีวิต ดังนั้นการระบุชนิดของเหลวจากร่างกายจึงเป็นอีกงานหนึ่งที่มีความสำคัญทางนิติวิทยาศาสตร์ อย่างไรก็ตามการระบุชนิดของเหลวจากร่างกายบางชนิดก็ไม่สามารถแบ่งแยกโดยวิธีทั่วไป เช่น เลือดดำ (venus blood) และเลือดประจำเดือน (menstrual blood) ในปัจจุบันมีวิธีการระบุชนิดของเหลวจากร่างกายหลายวิธี โดยอาศัยหลักการทางเคมี (chemical test) หรือหลักการทางระบบภูมิคุ้มกัน (immunological test) เช่น การตรวจสอบเลือดโดยสารลูมินอล (luminol) หรือฟีนอล์ฟทาลีน (phenolphthalein) (Webb *et al.*, 2006) อย่างไรก็ตามวิธีการดังกล่าวยังมีข้อจำกัดหลายประการ ตัวอย่างเช่น ต้องการวัตถุพยานปริมาณมาก เป็นการตรวจสอบเบื้องต้น (presumptive test) มีความไวหรือความจำเพาะที่ต่ำ (low sensitivity/specificity) ดังนั้นการหาวิธีการระบุชนิดของเหลวจากร่างกายด้วยเทคนิคแบบใหม่ก็เป็นอีกหนึ่งประเด็นที่น่าสนใจและท้าทายสำหรับวงการนิติวิทยาศาสตร์

ข้อมูลจาก high throughput techniques เช่น DNA Microarray แสดงให้เห็นว่าเนื้อเยื่อหรือเซลล์แต่ละชนิดจะมีชนิดหรือรูปแบบการแสดงออกของ mRNA ที่แตกต่างกัน ทำให้ตรวจสอบชนิดของ mRNA ในการระบุประเภทของเหลวจากร่างกายได้ เช่น mRNA ของ statherin (STATH) และ histatin 3 (HTN3) ที่มีความจำเพาะกับน้ำลาย (Juusola *et al.*, 2003) protamine 1 (PRM1) และ protamine 2 (PRM2) สำหรับน้ำอสุจิ matrix metalloproteinase 7 (MMP7) และ matrix metalloproteinase 10 (MMP10) สำหรับเลือดประจำเดือน (Juusola *et al.*, 2007) อย่างไรก็ตามการระบุชนิดของเหลวจากร่างกายโดยใช้ mRNA ก็มีข้อจำกัดหลายอย่าง โดยเฉพาะอย่างยิ่งความเสถียรของ mRNA เนื่องจากปัจจัยแวดล้อมต่างๆ เช่น ความชื้น ความร้อน รังสี UV มีผลกระทบต่อทั้งระดับและปริมาณของ mRNA ในตัวอย่างต่างๆ ทำให้การระบุชนิดของเหลวจากร่างกายโดยการตรวจหาชนิดของ mRNA นั้นมีข้อจำกัดมาก ไม่สามารถใช้งานได้ในการปฏิบัติงานจริง ซึ่งจะแตกต่างกับ miRNA ที่มีความเสถียรสูงกว่า mRNA Jung และคณะ ทดสอบความเสถียรของ miRNA และ mRNA โดยการนำอาร์เอ็นเอจากเนื้อเยื่อและเซลล์เพาะเลี้ยงของไตและต่อลูกหมากมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ถึง 240 นาที พบว่า mRNA มีการสลายตัวมากขึ้นตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น แตกต่างกับ miRNA ที่มีความคงที่ไม่เปลี่ยนแปลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น (Jung *et al.*, 2010)

เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลหลายอย่างได้นำมาใช้เพื่อตรวจคัดกรองและยืนยันหา miRNA ที่มีความจำเพาะต่อของเหลวจากร่างกายแต่ละชนิด เช่น microarray, polymerase chain reaction (PCR) array โดย SYBR green หรือ PCR โดย TaqMan probe (Hanson *et al*., 2009; Weber *et al*., 2010; Zubakov *et al*., 2010; Courts *et al*., 2011; Wang *et al*., 2013) ดังแสดงใน Table 1 ความจำเพาะของ miRNA บางชนิดต่อของเหลวจากร่างกายสามารถถูกยืนยันโดยนักวิจัยหลายกลุ่ม เช่น miR-16 และ miR-451 ที่พิสูจน์ได้ว่ามีความจำเพาะกับเลือดดำ (Hanson *et al*., 2009; Courts and Madea, 2011; Wang *et al*., 2013) ส่วน miR-205 นั้นพบว่ามีความจำเพาะกับน้ำลาย (Hanson *et al*., 2009; Courts and Madea, 2011) ในส่วนของน้ำอสุจินั้นสามารถใช้ miR-106 miR-135b และ miR891a (Hanson *et al*., 2009; Zubakov *et al*., 2010; Courts and Madea, 2011) ในการตรวจสอบได้

Table 1 The most abundant miRNA from each fluid types.

Body fluids	miRNA				
	Hanson EK (2009)	**Zubakov D (2010)**	**Courts C (2011)**	**Wang Z (2013)**	**Weber JA (2010)**
Venous blood	miR451; miR16	miR20a; miR106a; miR185; miR144	miR126; miR150; miR451	miR486; miR16	miR-224; miR-483-3p; miR-518f*
Menstrual blood	miR451; miR412	miR185*; miR144		miR214	
Semen	miR135b, miR10b	miR943; miR135a; miR10a; miR507; miR891a		miR888; miR891a	miR-508-5p; miR-644; miR-17; miR-380*; miR-29b-2*; miR-340
Vaginal secretions	miR124a; miR372	miR617; miR891a			
Saliva	miR658; miR205	miR583; miR518c*; miR208b	miR200c; miR203; miR205		miR-182*; miR-622; miR-145*; miR-381

Note: miRNA*: star strand or passenger strand

การประมาณระยะเวลาหลังเสียชีวิต (postmortem interval determination)

ในอดีตที่ผ่านมาวิธีการหลายอย่างได้ถูกนำมาใช้ เพื่อประมาณระยะเวลาหลังเสียชีวิต ซึ่งวิธีดั้งเดิมได้แก่ การหารอยจ้ำแดงหรือม่วงแดงที่เกิดขึ้นหลังการตาย (hypostasis หรือ Livor mortis) การแข็งตัวของกล้ามเนื้อ (rigor mortis) และการลดลงของอุณหภูมิของร่างกาย (cooling of the body after death) เป็นต้น (Chandra *et al*., 1968) อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนั้น มีระยะเวลาในการเปลี่ยนแปลงจำกัด ยกตัวอย่างเช่น การประมาณระยะเวลาหลังเสียชีวิตด้วยการวัดอุณหภูมิของร่างกาย สามารถทำได้โดยไม่เกิน 24 ชั่วโมง นอกจากนี้ อุณหภูมิ ความชื้น อายุ เพศ และปัจจัยอื่นๆ ก็มีผลต่อการประมาณระยะเวลาหลังเสียชีวิตด้วยวิธีดั้งเดิมได้อีกด้วย (Henssge *et al*., 2000a; Henssge *et al*., 2000b) ดังนั้นการหาวิธีการประมาณระยะเวลาหลังเสียชีวิตที่มีความถูกต้อง แม่นยำ ก็ยังคงมีความจำเป็นอยู่ในปัจจุบัน

รายงานการวิจัยหลายฉบับได้แสดงให้เห็นถึงการสลายตัวของ ดีเอ็นเอ โปรตีน หรือ อาร์เอ็นเอ ภายหลังการเสียชีวิต ผลการวิจัยหลายฉบับได้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสลายของ mRNA กับ PMI (Bauer *et al*., 2003; Vennemann *et al*., 2010) การศึกษานำร่องโดย Bauer ในปี 2003 แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ mRNA กับ PMI โดยการวัดระดับ mRNA โดยวิธี multiplex-RT-PCR สามารถบ่งชี้ PMI ของเลือดและสมองที่เก็บในตู้แช่ได้เป็นระยะเวลา 5 วัน อย่างไรก็ตามการตรวจวัดระดับ mRNA ด้วยวิธี PCR นั้นต้องมี internal control เพื่อนำมาใช้ในการ normalization ซึ่งไม่สามารถใช้ housekeeping

gene โดยทั่วไปได้ เนื่องจาก mRNA ของ housekeeping gene เช่น 18S rRNA หรือ beta-actin มีการสลายตัวไปตาม PMI ส่งผลต่อการประเมินระดับ mRNA ดังนั้นการหา internal control เพื่อใช้ในวิธี PCR จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง

คุณสมบัติประการหนึ่งของ miRNA คือ มีความเสถียรสูงกว่า mRNA ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้สำหรับการใช้ miRNA เป็น internal control สำหรับการประมาณ PMI โดยวิธี PCR Li, W. C. และคณะ ได้ทดลองหาระดับการแสดงออกของ 18S rRNA และ miRNA ในหัวใจของหนูทดลอง ที่ระยะเวลา 0 ถึง 180 ชั่วโมงภายหลังฆ่าหนูทดลอง การแสดงออกของ 18S rRNA และ miRNA จะตรวจวัดโดยเทคนิค real time PCR ซึ่งพบว่าค่า cycle threshold (Ct) ของ miR-1 มีความคงที่มากสามารถใช้เป็นตัวควบคุม สำหรับการ normalization ค่า Ct ของ 18S rRNA ซึ่งเมื่อคิดค่า delta Ct ระหว่าง 18S rRNA ต่อ miR-1 ทำให้ได้กราฟที่สามารถประมาณระยะเวลาหลังตายถึงเวลา 96 ชั่วโมง (Li *et al.*, 2014) นอกจากนี้ยังมีรายงานอื่นๆที่แสดงถึงการวิจัยที่ให้ผลใกล้เคียงกัน ในตัวอย่างอื่นๆ เช่น หัวใจ (Li *et al.*, 2010) ม้าม (Lv *et al.*, 2014b) และผิวหนัง (Pan *et al.*, 2014) โดยสามารถประเมิน PMI ในช่วงเวลาประมาณ 0 ถึง 96ชั่วโมง จากผลการวิจัยที่กล่าวมาแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการประเมิน PMI ด้วยวิธี PCR โดยใช้ miRNA เป็น internal control

การระบุพฤติกรรมหรือสาเหตุในการเสียชีวิตจากการฆ่าตัวตาย

การฆ่าตัวตาย (suicide) เป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขโดยในแต่ละปีมีจำนวนคนที่เสียชีวิตจากการฆ่าตัวตายทั่วโลกมากถึงประมาณหนึ่งล้านคน หรือคิดเป็น 14.5 ต่อประชากรหนึ่งแสนคน (Hawton *et al.*, 2009) โดยในประเทศไทยพบอุบัติการณ์ของการฆ่าตัวตายประมาณ 7.9 ต่อประชากรหนึ่งแสนคน อัตราส่วนของผู้ที่เสียชีวิตจากการฆ่าตัวตายในชายและหญิงอยู่ที่ 3.1:1 และพบการฆ่าตัวตายสูงสุดในกลุ่มชายช่วงอายุ 25 ถึง 29 ปี (21.9 ต่อประชากรหนึ่งแสนคน) (Lotrakul, 2006) โดยพฤติกรรมฆ่าตัวตาย (suicidal behavior) มักเกี่ยวข้องกับโรคทางจิตเวช เช่น โรคซึมเศร้า (major depressive disorder) และโรคไบโพล่าร์หรือโรคอารมณ์สองขั้ว (bipolar disorder) (Bostwick *et al.*, 2000; Nordentoft, 2007) นอกจากนี้ข้อมูลการแสดงออกของยีนยังแสดงให้เห็นว่า การฆ่าตัวตายนั้นมีความเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนต่างๆ ในสมอง เช่น ระบบซีโรโทนิน (Stockmeier, 1997; Picouto *et al.*, 2015) brain-derived neurotrophic factor (BDNF) (Kim *et al.*, 2007b; Dwivedi, 2012) ดังนั้นความเข้าใจในด้านชีววิทยาโมเลกุลของกลไกต่างๆ ภายในสมองของคนที่เสียชีวิตจากการฆ่าตัวตาย จึงมีความสำคัญเพื่อนำไปใช้พัฒนายา การพยากรณ์ความรุนแรงของโรค หรือใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อวินิจฉัยสาเหตุในการเสียชีวิต

high throughput techniques ได้เข้ามามีบทบาทในการศึกษากลไกการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ในสมองของคนที่เสียชีวิตจากการฆ่าตัวตาย Kim และคณะ ได้ใช้เทคนิค microarray ในการหาการแสดงออกของ mRNA ที่น่าจะเกี่ยวข้องกับการฆ่าตัวตาย จากสมองส่วน prefrontal cortex (brodmann area 46/10) ของผู้เสียชีวิตจากการฆ่าตัวตาย โดยพบว่ายีนที่มีการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกส่วนใหญ่จะทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับ amine transport, cell motility และ transmission of nerve impulses (Kim *et al.*, 2007a) นอกจากนี้ยังพบการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของโปรตีนในสมองของผู้ที่เสียชีวิตจากการฆ่าตัวตาย ผลการทดลองโดยเทคนิค two dimensional (2D) gel electrophoresis และ matrix assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS) พบการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นของ glial fibrillary acidic protein (GFAP), crystallin chain B (CRYAB) และ manganese superoxide dismutase (SOD2) ในสมองของผู้ที่เสียชีวิตจากการฆ่าตัวตายเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งโปรตีนทั้งสามชนิดนั้นมีบทบาทสำคัญเกี่ยวข้องกับ การทำงานของระบบประสาท และการกำจัดอนุมูลอิสระ (Schlicht *et al.*, 2007) นอกเหนือจากการเปลี่ยนแปลงการแสดงของยีนในระดับ mRNA และโปรตีนแล้ว ปัจจุบันยังมีรายงานการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของ miRNA ในสมองของผู้เสียชีวิตจากการฆ่าตัวตายอีกด้วย รายงานการวิจัยเบื้องต้นในปี 2012 ของ Smalheiser, N. R. และคณะ พบการแสดงออกที่ลดลงของ miRNA หลายชนิดในสมอง

ส่วน prefrontal cortex (brodmann area 9) ผู้เสียชีวิตจากการฆ่าตัวตายที่เป็นโรคซึมเศร้า (Table 2) เช่น mir-20b, mir-20a, mir-34a และ mir-34b* ที่มี vascular endothelial growth factor (VEGF) เป็น mRNA เป้าหมาย mir-34a และ mir-148b ที่มีความจำเพาะต่อ B-cell CLL/lymphoma 2 (BCL2) และ DNA (cytosine-5-)-methyltransferase 3 beta (DNMT3B) mRNA ตามลำดับ (Smalheiser *et al*., 2012) ในปี 2014 Smalheiser, NR. และคณะได้เปรียบเทียบการแสดงออกของ miRNA ในสมองส่วน brodmann area 10 ของผู้เสียชีวิตที่มีสภาวะโรคจิตเภท โรคไบโพล่าร์หรือโรคอารมณ์สองขั้ว และ โรคซึมเศร้า โดยเทคนิค high throughput RT-PCR เมื่อเปรียบเทียบการแสดงออกของ miRNA ในกลุ่มผู้ที่เสียชีวิตจากการฆ่าตัวตาย และกลุ่มที่ไม่ได้เสียชีวิตจากการฆ่าตัวตาย พบว่ามี miRNA 8 ชนิดที่มีการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (การแสดงออกเพิ่มขึ้น 2 ชนิด และลดลง 6 ชนิด) ดังแสดงใน Table 2 (Smalheiser *et al*., 2014) จากรายงานการวิจัยที่ได้กล่าวมาได้บ่งชี้ถึงความเป็นไปได้ในการใช้รูปแบบการแสดงออกของ miRNA ในการระบุพฤติกรรมหรือสาเหตุในการเสียชีวิตโดยเฉพาะการเสียชีวิตจากการฆ่าตัวตาย

Table 2 The expression pattern of miRNA in suicide victims.

miRNAs	
Smalheiser NR (2012)	**Smalheiser NR (2014)**
Up regulation	**Up regulation**
miR-376a, miR-625	-
Down regulation	**Down regulation**
miR-181a, miR-152, miR-330-3p, miR-34a, miR-224, miR-133b	miR-142 5p, miR-137, miR-489, miR-148b, miR-101, miR-324-5p, miR-301a, miR-146a, miR-335, miR-494, miR-20b, miR-376a*, miR-190, miR-155, miR-660, miR-130a, miR-27a, miR-497, miR-10a, miR-20a, miR-142-3p

Note: miRNA*: star strand or passenger strand

บทสรุป

non-coding RNA โดยเฉพาะอย่างยิ่ง miRNA มีบทบาทสำคัญหลายประการในกลไกทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิต บททบทวนวรรณกรรมเรื่องนี้แสดงให้เห็นถึงประโยชน์ของ miRNA ในการประยุกต์เพื่อใช้งานด้านนิติวิทยาศาสตร์ ทั้งด้านการระบุชนิดของเหลวจากร่างกาย การประมาณระยะเวลาหลังเสียชีวิต หรือการสาเหตุในการเสียชีวิตจากการฆ่าตัวตาย อย่างไรก็ตามงานวิจัยต่างๆ ที่ได้กล่าวมานั้น ยังอยู่ในขั้นตอนเริ่มต้น ซึ่งคงต้องการการทดสอบอีกหลายขั้นตอนเพื่อยืนยันความเป็นไปได้ในการใช้จริงในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ เช่น (1) การทดสอบผลของปัจจัยอื่นๆ เช่น เพศ อายุ โรคต่างๆ ต่อการแสดงออกของ miRNA (2) การทดสอบความไวและความแม่นยำของการระบุชนิดของเหลวจากร่างกายโดยใช้ miRNA เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการมาตรฐานอื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการนิติวิทยาศาสตร์ในปัจจุบัน (3) ความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน ซึ่งถ้าหากทราบข้อจำกัดดังกล่าวแล้วก็ใช้งาน miRNA ก็จะเข้ามามีบทบาทสำคัญต่อวงการนิติวิทยาศาสตร์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Bartel DP (2004) MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. Cell 116: 281–297.

Bauer M, Gramlich I, Polzin S, Patzelt D (2003) Quantification of mRNA degradation as possible indicator of postmortem interval--a pilot study. Leg Med (Tokyo) 5: 220–227.

Bentwich I, Avniel A, Karov Y, Aharonov R, Gilad S, Barad O, Barzilai A, Einat P, Einav U, Meiri E, et al. (2005) Identification of hundreds of conserved and nonconserved human microRNAs. Nat Genet 37: 766–770.

Berezikov E, Guryev V, van de Belt J, Wienholds E, Plasterk RH, Cuppen E (2005) Phylogenetic

shadowing and computational identification of human microRNA genes. Cell 120: 21–24.

Beveridge NJ, Cairns MJ (2012) MicroRNA dysregulation in schizophrenia. Neurobiol Dis 46: 263–271.

Bostwick JM, Pankratz VS (2000) Affective disorders and suicide risk: a reexamination. Am J Psychiatry 157: 1925–1932.

Brock M, Haider TJ, Vogel J, Gassmann M, Speich R, Trenkmann M, Ulrich S, Kohler M, Huber LC (2015) The hypoxia-induced microRNA-130a controls pulmonary smooth muscle cell proliferation by directly targeting CDKN1A. Int J Biochem Cell Biol 61C: 129–137.

Cao J, Zhang K, Zheng J, Dong R (2015) MicroRNA-146a and -21 cooperate to regulate vascular smooth muscle cell proliferation via modulation of the Notch signaling pathway. Mol Med Rep 11: 2889–2895.

Chandra J, Sabharwal K (1968) Determination of time since death from a study of various postmortem changes. J Indian Med Assoc 51: 336–341.

Courts C, Madea B (2011) Specific micro-RNA signatures for the detection of saliva and blood in forensic body-fluid identification. J Forensic Sci 56: 1464–1470.

Dwivedi Y (2012) Brain-Derived Neurotrophic Factor in Suicide Pathophysiology. In 'The Neurobiological Basis of Suicide', Eds Boca Raton (FL), University of Illinois at Chicago, USA.

Hanson EK, Lubenow H, Ballantyne J (2009) Identification of forensically relevant body fluids using a panel of differentially expressed microRNAs. Anal Biochem 387: 303–314.

Hawton K, van Heeringen K (2009) Suicide. Lancet 373: 1372–1381.

Henssge C, Althaus L, Bolt J, Freislederer A, Haffner HT, Henssge CA, Hoppe B, Schneider V (2000a) Experiences with a compound method for estimating the time since death. I. Rectal temperature nomogram for time since death. Int J Legal Med 113: 303–319.

Henssge C, Althaus L, Bolt J, Freislederer A, Haffner HT, Henssge CA, Hoppe B, Schneider V (2000b) Experiences with a compound method for estimating the time since death. II. Integration of non-temperature-based methods. Int J Legal Med 113: 320–331.

Jung M, Schaefer A, Steiner I, Kempkensteffen C, Stephan C, Erbersdobler A, Jung K (2010) Robust microRNA stability in degraded RNA preparations from human tissue and cell samples. Clin Chem 56: 998–1006.

Juusola J, Ballantyne J (2003) Messenger RNA profiling: a prototype method to supplant conventional methods for body fluid identification. Forensic Sci Int 135: 85–96.

Juusola J, Ballantyne J (2007) mRNA profiling for body fluid identification by multiplex quantitative RT-PCR. J Forensic Sci 52: 1252–1262.

Kim S, Choi KH, Baykiz AF, Gershenfeld HK (2007a) Suicide candidate genes associated with bipolar disorder and schizophrenia: an exploratory gene expression profiling analysis of post-mortem prefrontal cortex. BMC Genomics 8: 413.

Kim YK, Lee HP, Won SD, Park EY, Lee HY, Lee BH, Lee SW, Yoon D, Han C, Kim DJ, *et al.* (2007b) Low plasma BDNF is associated with suicidal behavior in major depression. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 31: 78–85.

Kocerha J, Xu Y, Prucha MS, Zhao D, Chan AW (2014) microRNA-128a dysregulation in transgenic Huntington's disease monkeys. Mol Brain 7: 46.

Krichevsky AM, King KS, Donahue CP, Khrapko K, Kosik KS (2003) A microRNA array reveals extensive regulation of microRNAs during brain development. RNA 9: 1274–1281.

Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, Meyer J, Lendeckel W, Tuschl T (2002) Identification of

tissue-specific microRNAs from mouse. Curr Biol 12: 735–739.

Li WC, Ma KJ, Lv YH, Zhang P, Pan H, Zhang H, Wang HJ, Ma D, Chen L (2014) Postmortem interval determination using 18S-rRNA and microRNA. Sci Justice 54: 307–310.

Li WC, Ma KJ, Zhang P, Wang HJ, Shen YW, Zhou YQ, Zhao ZQ, Ma D, Chen L (2010) Estimation of postmortem interval using microRNA and 18S rRNA degradation in rat cardiac muscle. Fa Yi Xue Za Zhi 26: 413–417.

Lotrakul M (2006) Suicide in Thailand during the period 1998–2003. Psychiatry Clin Neurosci 60: 90–95.

Lv B, Liu Z, Wang S, Liu F, Yang X, Hou J, Hou Z, Chen B (2014a) miR-29a promotes intestinal epithelial apoptosis in ulcerative colitis by down-regulating Mcl-1. Int J Clin Exp Pathol 7: 8542–8552.

Lv YH, Ma KJ, Zhang H, He M, Zhang P, Shen YW, Jiang N, Ma D, Chen L (2014b) A time course study demonstrating mRNA, microRNA, 18S rRNA, and U6 snRNA changes to estimate PMI in deceased rat's spleen. J Forensic Sci 59: 1286–1294.

Nishiguchi T, Imanishi T, Akasaka T (2015) MicroRNAs and Cardiovascular Diseases. Biomed Res Int 2015: 682857.

Nordentoft M (2007) Prevention of suicide and attempted suicide in Denmark. Epidemiological studies of suicide and intervention studies in selected risk groups. Dan Med Bull 54: 306–369.

Pan H, Zhang H, Lu YH, Ma JL, Ma KJ, Chen L (2014) Correlation between five RNA markers of rat's skin and PMI at different temperatures. Fa Yi Xue Za Zhi 30: 245–249.

Park H, Huang X, Lu C, Cairo MS, Zhou X (2015) MicroRNA-146a and MicroRNA-146b Regulate Human Dendritic Cell Apoptosis and Cytokine Production by Targeting TRAF6 and IRAK1 Proteins. J Biol Chem 290: 2831–2841.

Park MG, Kim JS, Park SY, Lee SA, Kim HJ, Kim CS, Chun HS, Park JC, Kim do K (2014) MicroRNA-27 promotes the differentiation of odontoblastic cell by targeting APC and activating Wnt/beta-catenin signaling. Gene 538: 266–272.

Picouto MD, Villar F, Braquehais MD (2015) The role of serotonin in adolescent suicide: theoretical, methodological, and clinical concerns. Int J Adolesc Med Health 27: 129–133.

Schlicht K, Buttner A, Siedler F, Scheffer B, Zill P, Eisenmenger W, Ackenheil M, Bondy B (2007) Comparative proteomic analysis with postmortem prefrontal cortex tissues of suicide victims versus controls. J Psychiatr Res 41: 493–501.

Sethi N, Wright A, Wood H, Rabbitts P (2014) MicroRNAs and head and neck cancer: reviewing the first decade of research. Eur J Cancer 50: 2619–2635.

Smalheiser NR, Lugli G, Rizavi HS, Torvik VI, Turecki G, Dwivedi Y (2012) MicroRNA expression is down-regulated and reorganized in prefrontal cortex of depressed suicide subjects. PLoS One 7: e33201.

Smalheiser NR, Lugli G, Zhang H, Rizavi H, Cook EH, Dwivedi Y (2014) Expression of microRNAs and other small RNAs in prefrontal cortex in schizophrenia, bipolar disorder and depressed subjects. PLoS One 9: e86469.

Stockmeier CA (1997) Neurobiology of serotonin in depression and suicide. Ann N Y Acad Sci 836: 220–232.

Vennemann M, Koppelkamm A (2010) Postmortem mRNA profiling II: Practical considerations. Forensic Sci Int 203: 76–82.

Wang Z, Zhang J, Luo H, Ye Y, Yan J, Hou Y (2013) Screening and confirmation of microRNA markers for forensic body fluid identification. Forensic Sci Int Genet 7: 116–123.

Webb JL, Creamer JI, Quickenden TI (2006) A comparison of the presumptive luminol test for blood with four non-chemiluminescent forensic techniques. Luminescence 21: 214–220.

Weber JA, Baxter DH, Zhang S, Huang DY, Huang KH, Lee MJ, Galas DJ, Wang K (2010) The microRNA spectrum in 12 body fluids. Clin Chem 56: 1733–1741.

Zhang B, Pan X, Wang Q, Cobb GP, Anderson TA (2006) Computational identification of microRNAs and their targets. Comput Biol Chem 30: 395–407.

Zhao H, Wen G, Huang Y, Yu X, Chen Q, Afzal TA, Luong LA, Zhu J, Shu Y, Zhang L, et al. (2015) MicroRNA-22 Regulates Smooth Muscle Cell Differentiation From Stem Cells by Targeting Methyl CpG-Binding Protein 2. Arterioscler Thromb Vasc Biol 35: 918–929.

Zimmerman AL, Wu S (2011) MicroRNAs, cancer and cancer stem cells. Cancer Lett 300: 10–19.

Zou H, Ding Y, Shi W, Xu X, Gong A, Zhang Z, Liu J (2015) MicroRNA-29c/PTEN Pathway is Involved in Mice Brain Development and Modulates Neurite Outgrowth in PC12 Cells. Cell Mol Neurobiol 35: 313–322.

Zubakov D, Boersma AW, Choi Y, van Kuijk PF, Wiemer EA, Kayser M (2010) MicroRNA markers for forensic body fluid identification obtained from microarray screening and quantitative RT-PCR confirmation. Int J Legal Med 124: 217–226.