



# MicroRNAs: papel no diagnóstico e tratamento da asma

*MicroRNAs: role in the diagnosis and treatment of asthma*

Ataualpa P. Reis, MD, PhD<sup>1</sup>; Karla Fernandes, PhD<sup>1</sup>; Fernanda Sarquis Jehee, BSc, PhD<sup>1</sup>

## RESUMO

A asma é reconhecida como uma doença inflamatória crônica das vias aéreas e que tem como características a hiper-reatividade das vias aéreas, a hipersecreção de muco e a obstrução ao fluxo aéreo, resultando em sintomas de gravidade variável. Na maior parte dos casos, a asma está associada a processo inflamatório crônico mediado por padrão tipo 2 da resposta imune, que pode ser induzido ou aumentado por alérgenos ambientais, irritantes primários, exercício, infecções do trato respiratório e comorbidades. Alterações epigenéticas são reconhecidas como participantes do início e/ou da manutenção da resposta tipo 2. MicroRNAs (miRNAs) são reguladores da expressão gênica e têm papel importante na patogênese da asma. Sua caracterização na circulação sanguínea pode prover uma ferramenta de alta especificidade e sensibilidade no diagnóstico da asma. Seu papel em regular a expressão de genes por mecanismos pós-transcricionais através de interação com RNAs mensageiros (mRNA) pode oferecer o potencial de constituir uma nova modalidade terapêutica desta doença. A presente revisão incluiu artigos originais, revisões e consensos indexados nos bancos de dados PubMed, MEDLINE, LILACS, SciELO e publicações *on line* nos últimos 10 anos, e pretende apresentar o conhecimento atual da importância dos microRNAs no diagnóstico e tratamento da asma.

**Descritores:** Asma, microRNA, diagnóstico e tratamento da asma.

<sup>1</sup> Instituto de Ensino e Pesquisa da Santa Casa de Belo Horizonte, MG.

**Correspondência para:**  
Ataualpa P. Reis  
E-mail: [ataualpapeis@gmail.com](mailto:ataualpapeis@gmail.com)

## ABSTRACT

Asthma is recognized as a chronic inflammatory disease of the airways, characterized by bronchial hyperreactivity, mucus hypersecretion, and airflow obstruction, leading to symptoms of variable severity. In the majority of cases, asthma is associated with a chronic inflammatory process mediated by type 2 immune responses, which could be induced or enhanced by environmental allergens, primary irritants, exercise, respiratory tract infections, or comorbid conditions. Epigenetic modifications play an important role in the onset and/or maintenance of type 2 responses. MicroRNAs (miRNAs) are key regulators of gene expression and play an important role in the pathogenesis of asthma. Profiling of miRNAs in the circulation could provide a highly specific and sensitive tool for the diagnosis of asthma. Their role in regulating the expression of genes by post-transcriptional modifications through interaction with messenger RNAs (mRNAs) could potentially become a new treatment option for this disease. The present review article included original articles, reviews, and consensus statements obtained from PubMed, MEDLINE, LILACS, and SciELO, and other other publications available online over the past 10 years, and intends to present the current state of knowledge on the importance of microRNAs in the diagnosis and treatment of asthma.

**Keywords:** Asthma, microRNA, asthma diagnosis and treatment.

Não foram declarados conflitos de interesse associados à publicação deste artigo.

Submetido em: 20/05/2015,  
aceito em: 15/07/2016.

## INTRODUÇÃO

Asma é reconhecida como uma doença inflamatória crônica das vias aéreas, caracterizada por hiper-reatividade brônquica, hipersecreção de muco e obstrução ao fluxo aéreo, resultando em sintomas com gravidade variável<sup>1</sup>. Pode ser exacerbada por alérgenos ambientais, irritantes primários, exercício, infecções do trato respiratório ou comorbidades<sup>1</sup>. No mundo existem atualmente cerca de 300 milhões de pacientes com asma e para 2025 a previsão é de 400 milhões<sup>2</sup>. No Brasil, os estudos utilizando o *International Study of Asthma and Allergies in Childhood* (ISAAC) evidenciaram que a asma é muito prevalente, além de ser subdiagnosticada, e colocaram o Brasil no oitavo lugar entre os países com os maiores índices. Em nosso país foi demonstrada notável variação entre as regiões, e os resultados referentes à participação de várias cidades no estudo ISAAC, fase III, têm confirmado as altas prevalências de asma entre crianças e adolescentes brasileiros<sup>3-5</sup>. A despeito da melhora no diagnóstico e dos avanços no tratamento da asma, o controle desta doença ainda permanece ineficiente. Dados obtidos de *European National Health and Wellness Surveys*, conduzidas na França, Alemanha, Itália, Espanha e Reino Unido, durante os anos de 2006, 2008 e 2010, mostraram que em 2010 a proporção de asma não controlada foi de 53,5%, a julgar pelo *Asthma Control Test* (ACT), e que não houve diminuição significativa em relação aos últimos 5 anos<sup>6</sup>. Estes dados sugerem que, com nossos recursos farmacológicos atuais, o controle da asma continua pobre apesar da universalidade e da gravidade da doença. Diferentes fenótipos e endótipos de asma têm sido propostos, associados a diferentes mecanismos ou características, que podem levar a resposta terapêutica variável, indicando que o tratamento da asma deve ser personalizado<sup>7,8</sup>. Vários fatores contribuem para pobre controle da asma, incluindo comorbidades (tais com rinossinusite crônica e refluxo gastroesofágico), obesidade, exposições ambientais, poluição atmosférica, fumaça do cigarro, presença de doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) associada, distúrbios psicológicos e falta de adesão ao tratamento<sup>9</sup>.

Na última década muito tem sido descrito a respeito de genes codificadores de proteínas, que são transcritos em RNA mensageiros (mRNAs) e traduzidos em proteínas no citoplasma, compreendendo 2% do genoma humano. Além disso, foco tem sido dirigido a RNAs não codificadores de proteínas (nc-RNAs), particularmente os microRNAs (miRNAs), envolvidos em várias funções vitais no nosso corpo, incluindo a regulação da expressão gênica, que pode ter um papel preponderante na patogênese da asma<sup>10</sup>. Esta revisão pretende demonstrar que a caracterização de miRNAs na circulação sanguínea pode ser um meio específico e bastante sensível para se diagnosticar asma e sugerir

que a correção de defeitos da sua regulação pode levar a novas modalidades terapêuticas desta doença.

## MicroRNAs

A denominação microRNA (miRNA) foi cunhada quando pequenos RNAs conservados filogeneticamente, com potencial de regular a expressão gênica, foram descobertos em *C. elegans* 2001<sup>11</sup>. No ano seguinte, foi estabelecida a sua presença em plantas<sup>12</sup>, e em seguida foi demonstrado que os miRNA-15 e miRNA-16 estavam subexpressos ou deletados em leucemias linfocíticas, sugerindo que miRNAs estariam envolvidos em câncer humano<sup>13</sup>. Os miRNAs são constituídos por uma cadeia curta (aproximadamente 20 nucleotídeos) de RNA de fita simples, não codificadores de proteínas (nc-RNAs), e regulam a expressão de genes controlando a tradução do RNA mensageiro (mRNA) que contém a instrução genética para produzir proteínas, através de interação direta entre sua região 5' e a região não traduzida do mRNA alvo<sup>14,15</sup>. A ligação direta do miRNA a um mRNA alvo pode resultar na degradação do RNA ou inibição da tradução em proteína (Figura 1). miRNAs podem também indiretamente alterar a expressão gênica através de efeitos globais na metilação e sua ação em fatores de transcrição responsáveis pela expressão gênica. Análise computacional sugere que miRNAs podem regular até um terço de todos os genes codificadores de proteínas no genoma humano. miRNAs podem se ligar e regular centenas de genes simultaneamente, e uma das características únicas dos miRNAs é que eles podem ser secretados no plasma, compartimento broncoalveolar e líquidos orgânicos. De forma importante, miRNAs são resistentes a degradação por nucleases porque eles são em geral englobados em nanovesículas chamadas exossomos, e associados a argonata-2, uma proteína chave no complexo silenciador de RNA (RISC), que os protege. Em conjunto, estes aspectos colocam os miRNAs como potenciais marcadores sensíveis e não-invasivos de diversas doenças, incluindo asma<sup>10</sup>.

Segundo a base de dados de miRNAs publicados, a miRBASE (<http://www.mirbase.org/>), existem atualmente cerca de 13.464 miRNAs maduros identificados em mamíferos, cerca de 2.588 hsa-miRNAs ou miRNAs humanos e por volta de 1.915 mmu-miRNAs ou miRs de camundongos. A biogênese dos miRNAs envolve uma fase nuclear de transcrição por uma RNA polimerase do tipo II (transcritos primários ou pri-miRs), catalisada pela endonuclease do tipo III, a *Drosha*, que forma o pré-miR e uma fase de transporte deste último do núcleo para o citoplasma pela exportina-5, localizada na membrana nuclear. A fase citoplasmática envolve uma endonuclease do tipo III altamente conservada, a *Dicer*, que catalisa o pre-miR a duplex de 22 nucleotídeos ou miRNAs maduros<sup>16,17</sup>. O complexo no citosol

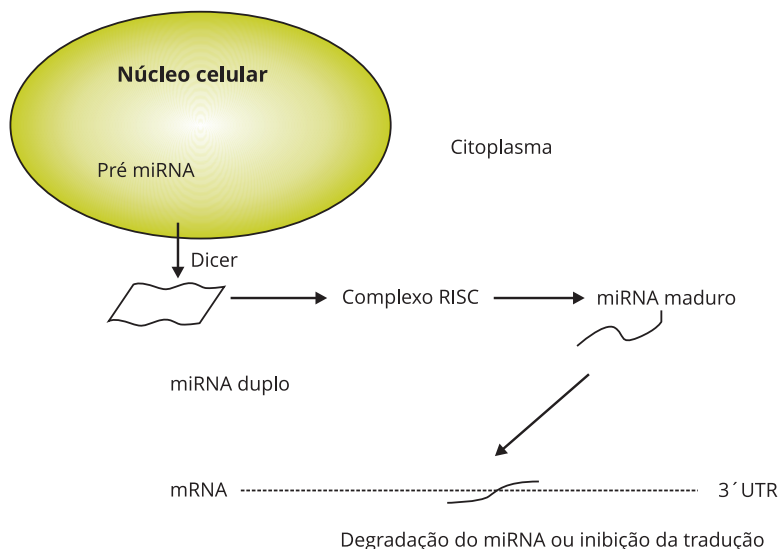


**Figura 1 -** Biogênese do miRNA. A biogênese do miRNA envolve vários passos, iniciando-se no núcleo da célula, onde um pré-miRNA é ativamente transportado ao citoplasma e processado em um miRNA de dupla fita por uma enzima denominada Dicer. Uma das fitas deste miRNA é incorporada ao complexo silenciador RISC, enquanto a outra é degradada. Esta parte incorporada tem uma sequência complementar na região 3' UTR do mRNA alvo e a tradução não acontece por bloqueio do ribossoma ou degradação do mRNA

é denominado complexo silenciador (RISC) e forma o miRISC. Este, por sua vez, é guiado ao mRNA apropriado via ligação complementar entre uma sequência de 6 a 8 nucleotídeos, única para cada miRNA, e um elemento de reconhecimento (MRE) existente na região 3' do mRNA alvo<sup>13,14</sup>.

Sabemos hoje que a maioria dos miRNAs são codificados no genoma humano em “genes de miRNA”. Assim, princípios genéticos também se aplicam aos miRNAs, isto é, variantes genéticas com SNPs (polimorfismos genéticos de troca de base única) ou mutações pontuais em suas sequências podem regular sua expressão e funcionalidade em seus alvos. Exemplos incluem alterações nas regiões promotoras dos genes, em sítios de “splicing” no caso de miRNAs intrônicos, ou mesmo alterações na afinidade de ligação entre o miRNA maduro e sua sequência alvo no RNA mensageiro ou com enzimas acessórias envolvidas em sua biogênese. Alguns miRNAs também são produtos secundários do mRNA de genes codificadores de proteínas. Um exemplo disso são miRNAs que originam-se de íntrons removidos durante o processo de maturação do transcrito primário.

## REGULAÇÃO DOS MicroRNAs NA ASMA

Os miRNAs são moléculas reguladoras de RNA e são componentes integrais da programação genética na maioria das células humanas, sendo que esta função ocorre devido a modificações pós-transcricionais<sup>18-20</sup>. Diversas linhas de evidências sugerem que o silenciamento epigenético dos genes codificadores de miRNA seja um dos mecanismos responsáveis pela redução global dos miRNAs em câncer<sup>21</sup>. Na asma, que é uma inflamação de padrão de resposta tipo 2, um dos mecanismos propostos para desencadeamento ou aumento desta inflamação é o vírus respiratório sincicial (VRS), patógeno responsável por infecções graves do trato respiratório<sup>22</sup>. O genoma do VRS codifica diversos miRNAs humanos que regulam a expressão de citocinas e quimiocinas, sugerindo assim que o VRS utiliza miRNAs das células hospedeiras para ativar o sistema imune<sup>23</sup>. O sistema de reconhecimento molecular através de *toll-like receptors* (TLR), capaz de reconhecer patógenos invasores e ativar o sistema imune inato ou adaptativo, está intimamente ligado aos miRNAs.

Em modelo murino, a exposição de vias aéreas a ácaros induziu a produção de mmu-miR-126. No entan-

to, esta resposta não foi observada em camundongos *knockout* para o gene *TLR4*, o que sugere que alguns miRNAs estão ligados à resposta inata do hospedeiro. Quando a expressão de mmu-miR-126 foi inibida nas vias aéreas dos camundongos expostos a ácaros, ocorreu a supressão completa da resposta inflamatória nos animais, atenuando a hipersecreção de muco e inibindo o acúmulo de eosinófilos nas vias aéreas e tecido pulmonar<sup>24</sup>. Alguns mRNAs são reguladores dos sinalizadores de TLR. O mmu-miR-21 regulou negativamente o TLR4 após estimulação por lipopolissacarídeos (LPS), diminuindo a expressão de IL-12<sup>25</sup>. Além disto, o mmu-miR-21 tem função regulatória por alterar os mRNAs dos genes que codificam estas proteínas e originar uma proteína pró-inflamatória denominada PDCD4, que diminui a produção da interleucina IL-10<sup>25</sup>. Esta dupla função do mmu-miR-21 demonstra a complexidade da regulação dos miRNAs. Desta maneira, os TLR e os miRNAs podem se juntar e atuar como sinais básicos regulatórios de ligação do sistema inato com a inflamação na asma<sup>24,26,27</sup>.

Em estudos em humanos, uma família de miRNAs denominada hsa-Let-7 foi descrita, com propriedades regulatórias e capacidade de inibir a expressão de IL-13<sup>28</sup>, sendo considerada um dos maiores reguladores na modulação de IL-13 e, conseqüentemente, da inflamação tipo 2.

O miRNA murino mmu-miR-145 funciona como regulador negativo da maquinaria pró-inflamatória, embora o alvo deste miRNA não tenha ainda sido descrito. Sabe-se que ele é altamente expresso nas vias aéreas de animais experimentais com exposição às proteínas dos ácaros ambientais<sup>29</sup>.

O hsa-miR-146 é um regulador negativo dos TLR após estimulação por LPS e também inibe a apoptose das células epiteliais brônquicas induzida por citocinas<sup>10</sup>.

O mmu-miR-155 também é um regulador pró-inflamatório positivo que atua após estimulação dos TLR por LPS e pode regular a inflamação de tipo 2 através do fator de transcrição PU.1. Por outro lado, pode ser um dos responsáveis pela ação anti-inflamatória dos glicocorticosteroides, neste caso por regulação negativa do miRNA-155<sup>30,31</sup>.

Finalmente, foi demonstrado que mmu-miR-106a inibe IL-10 de maneira pós-transcricional. Em modelo experimental de inflamação alérgica em vias aéreas, *knockdown* de mmu-miR-106a causou diminuição de vários aspectos da asma já estabelecida, tais como: hiper-reatividade brônquica, inflamação de vias aéreas, metaplasia de *goblet cells*, e fibrose subepitelial, em paralelo a aumento dos níveis de IL-10 nos pulmões<sup>32</sup>. Este modelo representa uma prova *in vivo* da regulação de IL-10 mediada por miRNA, com potencial de reverter uma condição asmática estabelecida.

Além disto, os miRNA têm papel importante na programação fenotípica da resposta de células da imunidade tipo 2, tais como mastócitos, eosinófilos, linfócitos T, macrófagos, neutrófilos e células epiteliais brônquicas, no sentido de aumentar a produção de citocinas e outros mediadores que promovem a inflamação característica da asma<sup>33,34</sup>. A interleucina IL-13 tem papel chave na patogênese da asma e funciona como uma citocina efetora na indução da resposta inflamatória. Tem sido proposto que ela modula o fenótipo do músculo liso brônquico e regula os níveis de mmu-miR-133, resultando no aumento da expressão da proteína RhoA, que por sua vez aumenta a contração do músculo liso brônquico<sup>35-38</sup>. A Figura 2 descreve as evidências de participação dos miRNAs na resposta alérgica da asma.

### MICRORNAS NO DIAGNÓSTICO DE ASMA

MicroRNAs têm sido detectados em diferentes fluidos corporais, tais como plasma, urina e saliva<sup>39-41</sup>. No plasma, a quantidade de miRNAs pode ser usada para distinguir pacientes com câncer de indivíduos saudáveis e, portanto, podem ser utilizados para diagnóstico, prognóstico e como biomarcadores de vários tipos de câncer<sup>39,42,43</sup>. Estudos recentes relatam que miRNAs podem ser usados como biomarcadores em diferentes condições alérgicas e patologias respiratórias. Em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), quatro miRNAs foram detectados no plasma e agem como reguladores negativos: hsa-miR-20a, hsa-miR-28-3p, hsa-miR-34c-5p e hsa-miR-100<sup>44</sup>. Em pacientes com esofagite eosinofílica (EEO), foram detectados no plasma e em tecido de biópsia esofágica os hsa-miR-146a, hsa-miR-146b e hsa-miR-223 que funcionam como biomarcadores de EEO<sup>45</sup>. Alguns trabalhos correlacionam o padrão de expressão de miRNAs e asma em humanos, e podem indicar o seu papel como biomarcadores. Em um dos trabalhos, após exposição alérgica e sequenciamento de nova geração (*next generation sequencing*, NGS), foi observada indução de miRNAs no tecido pulmonar, sugerindo seu importante papel na doença<sup>46</sup>. Dentre os miRNAs induzidos, estão: hsa-miR-106b, 205, 145 a, 133a, e Asth-miR-1 e Asth-miR-2. Na asma experimental, diversos miRNAs foram encontrados diferentemente expressos nos tecidos pulmonares, e foi encontrado que o mmu-miR-21 estava regulado positivamente quando os animais foram desafiados com ovoalbumina (OVA) ou quando receberam IL-13 inalada, resultando em expressão aumentada de resposta do tipo 2<sup>47</sup>. Têm sido observadas diferenças significativas no conteúdo de miRNAs em exossomos de lavado broncoalveolar de pacientes com asma não-sintomática leve. Após exposição alérgica, análise de microarranjos apontou a expressão alterada de cerca

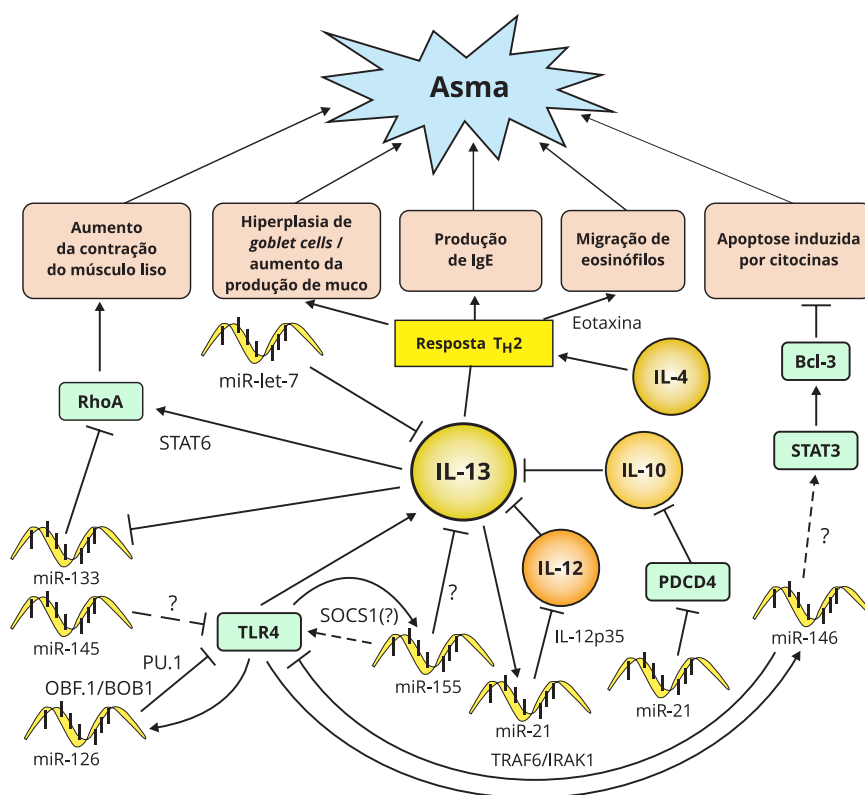


**Figura 2 -** Diagrama do papel dos miRNAs em processos envolvidos na patogênese da asma associados à citocina IL-13, com miRNAs direta ou indiretamente regulando a sua produção. A IL-13 é produzida em resposta a sinalização por TLR, que por sua vez é também regulada pelos miRNAs. Alguns miRNAs servem como efetores da ativação do TLR, enquanto outros funcionam como reguladores negativos

IgE = imunoglobulina E; IL = interleucina; SOCS = *Suppressors of cytokine signaling*; TRAF6 = *TNF Receptor Associated Factor 6*; IRAK1 = *Interleukin 1 Receptor Associated Kinase 1*

de 24 hsa-miRNAs nos asmáticos quando comparados aos indivíduos saudáveis. A análise de vias biológicas afetadas por esses miRNAs apontaram para citocinas relacionadas à asma, como IL-13, IL-10, IL-6, e IL-8<sup>48</sup>. Em modelo experimental com asma aguda e asma crônica, os miRNAs 106a, 146b, 223, 29b, 483, 574p, 672, e 690 foram identificados e implicados na patogênese da asma<sup>32,49</sup>.

### MicroRNAs NA TERAPÊUTICA DA ASMA

Asma alérgica pode ser controlada com corticosteroides inalados<sup>50-53</sup>, embora as formas mais graves tenham difícil controle<sup>54</sup> e o único tratamento que leva realmente à indução prolongada de tolerância

imunológica é a imunoterapia, que está indicada nas formas leves e moderadas, mas deve ser usada com muita cautela nas formas mais graves<sup>55-57</sup>. Portanto, uma terapia biológica que possa modificar a resposta imune de maneira mais individualizada ainda está faltando no arsenal terapêutico<sup>54,58</sup>. A terapia com miRNAs poderia ser uma resposta como novo grupo de tratamento imunobiológico, com capacidade de modular a resposta imune inibindo-a ou estimulando-a positivamente<sup>59</sup>. microRNAs poderiam ser moduladores da regulação gênica, com papel central em sua expressão<sup>60</sup>. Além desta possibilidade de adição de uma pequena molécula que modula a expressão de genes, a introdução no organismo de uma menor molécula que possa se acoplar a uma estrutura de

miRNA, ao processamento do miRNA ou ao Complexo RISC<sup>61</sup>, um dos responsáveis pelo miRNA maduro, pode representar um novo desenvolvimento de tratamento farmacológico. Tratamento com miRNA-122 foi capaz de silenciar a replicação viral do vírus da hepatite C em primatas<sup>62</sup>, e o uso de miRNA-34 foi capaz de inibir o metabolismo de célula tumoral em modelos animais, tendo sido usado em ensaios clínicos<sup>63</sup>. O fato de o miRNA ser estável no plasma humano, e a sua capacidade de corrigir defeitos na resposta genética, o torna um potencial tratamento para controlar ou mesmo eliminar a resposta inflamatória na asma.

## CONCLUSÕES

Embora o conhecimento dos miRNAs esteja no seu início, o uso destes miRNAs pode ser uma oportunidade de regular ou suprimir a inflamação nas doenças alérgicas. A presença de miRNAs como moléculas circulantes estáveis as tornam potenciais biomarcadores clínicos importantes para diagnóstico, tratamento e prognóstico da asma. Tendo papel de reguladores e moduladores da resposta imune na inflamação alérgica, também se tornam importantes para tratamento destas doenças no futuro próximo. A possibilidade de serem usados como partículas em aerossol nas vias aéreas humanas aponta a probabilidade de seu uso como tratamento da asma como medicamento por via inalatória.

## REFERÊNCIAS

- GINA. The global initiative for asthma. 2016 GINA report, global strategy for asthma management and prevention. Available from: [www.ginasthma.org](http://www.ginasthma.org).
- Pawankar R. Allergic diseases and asthma: a global public health concern and a call to action. *World Allergy Organ J*. 2014;7(1):12.
- Solé D, Camelo-Nunes IC, Wandalsen GF, Mallozi MC. Asthma in children and adolescents in Brazil: contribution of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Rev Paul Pediatr*. 2014;32(1):114-25.
- Mallol J, Crane J, von Mutius E, Odhiambo J, Keil U, Stewart A, et al. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Phase Three: a global synthesis. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2013;41(2):73-85.
- Solé D, Cassol VE, Silva AR, Teche SP, Rizzato TM, Bandim LC, et al. Prevalence of symptoms of asthma, rhinitis, and atopic eczema among adolescents living in urban and rural areas in different regions of Brazil. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2007;35(6):248-53.
- Demoly P, Annunziata K, Gubba E, Adamek L. Repeated cross-sectional survey of patient-reported asthma control in Europe in the past 5 years. *Eur Respir Rev*. 2012;21:66-74.
- Wenzel SE. Complex phenotypes in asthma: current definitions. *Pulm Pharmacol Ther*. 2013;26:710-15.
- Corren J. Asthma phenotypes and endotypes: an evolving paradigm for classification. *Discov Med*. 2015;21:55-67.
- Usmani OS. Small-airway disease in asthma: pharmacological considerations. *Curr Opin Pulm Med*. 2015;21:55-67.
- Greene MC, Gaughan KP. MicroRNAs in asthma: potential therapeutic targets. *Curr Opin Pulm Med*. 2013;19:66-72.
- Lau NC, Lim LP, Weinstein EG, Bartel DP. An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science*. 2001;294(5543):858-62.
- Reinhart BJ, Weinstein EG, Rhoades MW, Bartel B, Bartel DP. MicroRNAs in plants. *Genes Dev*. 2002;16(13):1616-26.
- Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99(24):15524-9.
- Fabbri M, Garzon R, Cimmino A, Liu Z, Zanesi N, Callegari E, et al. MicroRNA-29 family reverts aberrant methylation in lung cancer by targeting DNA methyltransferases 3A and 3B. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104:15805-10.
- Mertens-Talcott SU, Chintharlapalli S, Li X, Safe S. The oncogenic microRNA-27a targets genes that regulate specificity protein transcription factors and the G2-M checkpoint in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Cancer Res*. 2007;67:11001-11.
- John B, Enright AJ, Aravin A, Tuschl T, Sander C, Marks DS. Human microRNA targets. *PLoS Biol*. 2004;2(11):e 363.
- Takacs CM, Giraldez AJ. MicroRNAs as genetic sculptors: fishing for clues. *Semin Cell Dev Biol*. 2010;21:760-7.
- He L, Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat Rev Genet*. 2004;5:522-31.
- Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of posttranscriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nat Rev Genet*. 2008;9:102-14.
- Garbacki N, Di Valentin E, Huynh-Thu VA, Geurts P, Irrthum A, Crahay C. MicroRNAs profiling in murine models of acute and chronic asthma: a relationship with mRNAs targets. *PLoS One*. 2011;6:e16509.
- Davalos V, Esteller M. MicroRNAs and cancer epigenetics: a macroevolution. *Curr Opin Oncol*. 2009;4(1):35-45.
- Mohapatra SS, Boyapalle S. Epidemiologic, experimental, and clinical links between respiratory syncytial virus infection and asthma. *Clin Microbiol Rev*. 2008;4(3):495-504.
- Artem RAT, Mark TS, Jones LP. In: *Gene Profiles in Drug Design*. Lidbury BAMS, editor. Vol: CRC Press; 2009. *Virally Encoded MicroRNA (miRNA) Candidates for Gene Silencing*; pp. 11-28.
- Mattes J, Plank M, Phipps S, Foster PS. Antagonism of microRNA-126 suppresses the effector function of TH2 cells and the development of allergic airways disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;4(44):18704-09.
- Sheedy FJ, McDermott E, Hennessy EJ, Martin C, O'Leary JJ, Ruan Q, Johnson DS. Negative regulation of TLR4 via targeting of the proinflammatory tumor suppressor PDCD4 by the microRNA miR-21. *Nat Immunol*. 2009;4(2):141-7.
- O'Connell RM, Taganov KD, Boldin MP, Cheng G, Baltimore D. MicroRNA-155 is induced during the macrophage inflammatory response. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;4(5):1604-09.
- Lindsay MA. microRNAs and the immune response. *Trends Immunol*. 2008;4(7):343-51.
- Kumar M, Ahmad T, Sharma A, Mabalirajan U, Kulshreshtha A, Agrawal A, Ghosh B. Let-7 microRNA-mediated regulation of IL-13 and allergic airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128(5):1077-85.
- Collison A, Mattes J, Plank M, Foster PS. Inhibition of house dust mite-induced allergic airways disease by antagonism of microRNA-145 is comparable to glucocorticoid treatment. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128(1):160-7.
- Zheng Y, Xiong S, Jiang P, Liu X, Qian J, Zheng X, Chu Y. Glucocorticoids inhibit lipopolysaccharide mediated inflammatory response by downregulating microRNA-155: a novel antiinflammation mechanism. *Free Radic Biol Med*. 2012;52:1307-17.
- Malmhall C, Alawieh S, Lu Y, Sjostrand M, Bossios A, Eldh M, Rader M. MicroRNA-155 is essential for TH2-mediated allergen-induced eosinophilic inflammation in the lung. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133:1429-38.

32. Sharma A, Kumar M, Ahmad T, Mabalirajan U, Aich J, Agrawal A, et al. Antagonism of mmu-mir-106a attenuates asthma features in allergic murine model. *J Appl Physiol*. 2012;113:459-64.
33. Mattes J, Yang M, Foster PS. Regulation of microRNA by antagonists: a new class of pharmacological antagonists for the specific regulation of gene function? *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2007;4(1):8-12.
34. Mattes J, Collison A, Foster PS. Emerging role of microRNAs in disease pathogenesis and strategies for therapeutic modulation. *Curr Opin Mol Ther*. 2008;4(2):150-7.
35. Chiba Y, Nakazawa S, Todoroki M, Shinozaki K, Sakai H, Misawa M. Interleukin-13 augments bronchial smooth muscle contractility with an upregulation of RhoA protein. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2009;40:159-67.
36. Chiba Y, Todoroki M, Nishida Y, Tanabe M, Misawa M. A novel STAT6 inhibitor AS1517499 ameliorates antigen-induced bronchial hypercontractility in mice. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2009;41:516-24.
37. Chiba Y, Sakai H, Misawa M. Augmented acetylcholine-induced translocation of RhoA in bronchial smooth muscle from antigen induced airway hyperresponsive rats. *Br J Pharmacol*. 2001;133:886-90.
38. Chiba Y, Misawa M. The role of RhoA-mediated Ca<sup>2+</sup> sensitization of bronchial smooth muscle contraction in airway hyperresponsiveness. *J Smooth Muscle Res*. 2004;40(4-5):155-67.
39. Mitchell P, Parkin R, Kroh E, Fritz B, Wyman S, Pogosova-Agadjanyan E, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105:10513-8.
40. Hanke M, Hoefig K, Merz H, Feller AC, Kausch I, Jocham D, et al. A robust methodology to study urine microRNA as tumor marker: microRNA-126 and microRNA-182 are related to urinary bladder cancer. *Urol Oncol*. 2010;28:655-61.
41. Park NJ, Zhou H, Elashoff D, Henson BS, Kastratovic DA, Abemayor E, et al. Salivary microRNA: discovery, characterization, and clinical utility for oral cancer detection. *Clin Cancer Res*. 2009;15:5473-7.
42. Cortez MA, Bueso-Ramos C, Ferdin J, Lopez-Berestein G, Sood AK, Calin GA. MicroRNAs in body fluids - the mix of hormones and biomarkers. *Nat Rev Clin Oncol*. 2011;8:467-77.
43. Weiland M, Gao XH, Zhou L, Mi QS. Small RNAs have a large impact: circulating microRNAs as biomarkers for human diseases. *RNA Biol*. 2012; 9:850-9.
44. Akbas F, Coskunuzel E, Aynaci E, Oltulu YM, Yildiz P. Analysis of serum micro-RNAs as potential biomarker in chronic obstructive pulmonary disease. *Exp Lung Res*. 2012;38:286-94.
45. Lu TX, Sherrill JD, Wen T, Plassard AJ, Besse JA, Abonia JP, et al. MicroRNA signature in patients with eosinophilic esophagitis, reversibility with glucocorticoids, and assessment as disease biomarkers. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129:1064-75.
46. Munitz A, Karo-Atar D, Foster PS. Asthma diagnosis: MicroRNAs to the rescue. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137(5):1447-8.
47. Lu TX, Munitz A, Rothenberg ME. MicroRNA-21 is up-regulated in allergic airway inflammation and regulates IL-12p35 expression. *J Immunol*. 2009;4:4994-5002.
48. Levanen B, Bhakta NR, Torregrosa Paredes P, Barbeau R, Hiltbrunner S, Pollack JL, et al. Altered microRNA profiles in bronchoalveolar lavage fluid exosomes in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131:894-903.
49. Garbacki N, Di Valentin E, Huynh-Thu VA, Geurts P, Irrthum A, Crahay C. MicroRNAs profiling in murine models of acute and chronic asthma: a relationship with mRNAs targets. *PLoS One*. 2011;4:e16509.
50. Bjermer L, Diamant Z. Complementary therapy in asthma: inhaled corticosteroids and what? *Curr Opin Pulm Med*. 2009;4(1):46-51.
51. Ivanova JL, Birnbaum HG, Hsieh M, Yu AP, Seal B, van der Molen T, et al. Adherence to inhaled corticosteroid use and local adverse events in persistent asthma. *Am J Manag Care*. 2008;4(12):801-9.
52. Chapman KR. Safer inhaled corticosteroid therapy for asthma. *Pediatrics*. 2008;4(1):179-80.
53. Lee SY, Kim JS, Lee JM, Kwon SS, Kim KH, Moon HS, et al. Inhaled corticosteroid prevents the thickening of airway smooth muscle in murine model of chronic asthma. *Pulm Pharmacol Ther*. 2008;4(1):14-9.
54. Akdis CA. Therapies for allergic inflammation: refining strategies to induce tolerance. *Nat Med*. 2012;18:736-49.
55. Jutel M, Agache I, Bonini S, Burks AW, Calderon M, Canonica W, et al. International consensus on allergy immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;136(3):556-68.
56. Ozdemir C, Kucuksezer UC, Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of aeroallergen immunotherapy: subcutaneous immunotherapy and sublingual immunotherapy. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2016;36(1):71-86.
57. Niederberger V. Allergen-specific immunotherapy. *Immunol Lett*. 2009;4:131-3.
58. Akdis M, Akdis CA. Therapeutic manipulation of immune tolerance in allergic disease. *Nat Rev Drug Discov*. 2009;8:645-60.
59. Rebana A, Akdis CA. MicroRNAs: Essential players in the regulation of inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;132:15-26.
60. Wang Jia-wang, Li Kunyu, Hellermann G, Lockey RF, Mohapatra S, Mohapatra S. Regulating the regulators: microRNA and asthma. *World Allergy Organ J*. 2011;4(6):94-103.
61. Tan GS, Chiu CH, Garchow BG, Metzler D, Diamond SL, Kiriakidou M. Small molecule inhibition of RISC loading. *ACS Chem Biol*. 2012;7:403-10.
62. Lanford RE, Hildebrandt-Eriksen ES, Petri A, Persson R, Lindow M, Munk ME, et al. Therapeutic silencing of microRNA-122 in primates with chronic hepatitis C virus infection. *Science*. 2010;327:198-201.
63. Bader AG. miR-34 - a microRNA replacement therapy is headed to the clinic. *Front Genet*. 2012;3:120.