



بیان Hsa-miR-490 گردشی در خون بیماران مبتلا به سرطان پستان

امیرحسین نیک فرجام: کارشناس ارشد، گروه ژنتیک، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران
مجید پرنور: استادیار، گروه پژوهشی ترمیم نوری، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، مرکز ترمیم زخم، جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران (*نویسنده مسئول).
pornour@acecr.ac.ir
مجتبی سهرابی: استادیار، گروه ژنتیک، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

سرطان پستان،
hsa-miR-490-5p
انکوژن،
FOXP3

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۴/۲۲

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۹/۰۹

زمینه و هدف: سرطان، دومین عامل شایع مرگ و میر پس از بیماری‌های قلبی - عروقی در سراسر جهان و کشورهای توسعه یافته است. سرطان پستان از دلایل مهم مرگ و میر در زنان به شمار می‌رود. با تشخیص زودهنگام، مرگ و میر ناشی از سرطان پستان به صورت قابل توجهی در حال کاهش است. روش‌های تشخیص متفاوت بوده که یکی از آن‌ها به عنوان یک روش غیرتهاجمی، بررسی تغییرات بیان microRNA در سرم/پلازما خون می‌باشد. در این مطالعه تغییرات بیان hsa-miR-490 در سرم به‌دست‌آمده از خون بیماران مبتلا به سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار: در این مطالعه مورد - شاهدی، نمونه خون محیطی از ۳۰ نفر خانم مبتلا به سرطان پستان و ۳۰ نفر سالم به‌عنوان گروه کنترل جمع‌آوری شد. پس از استخراج RNA از سرم دو گروه، کنترل کیفیت RNA استخراج شده صورت گرفت و در نهایت سنتز cDNA انجام شد. تغییرات بیان ژن به روش real-time PCR مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بیان hsa-miR-490-5p در سرم بیماران مبتلا به سرطان پستان دارای افزایش معنی‌داری می‌باشد ($p < 0.05$)، همچنین برای hsa-miR-490-3p تغییرات معنی‌داری ($p > 0.05$) مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: طبق نتایج مطالعه حاضر hsa-miR-490-5p از طریق اتصال به mRNA ژن FOXP3 و غیرفعال کردن آن سبب تضعیف سیستم ایمنی، رشد تومور و متاستاز در سرطان پستان می‌گردد که بیانگر نقش انکوژنی hsa-miR-490-5p می‌باشد.

تعارض منافع: گزارش نشده است.
منبع حمایت کننده: حامی مالی نداشته است.

شیوه استناد به این مقاله:

Nikfarjam AH, Pornour M, Sohrabi M. The expression of Hsa-miR-490 in peripheral blood circulation of patients with breast cancer. Razi J Med Sci. 2019;26(10):87-94.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.



Original Article

The expression of Hsa-miR-490 in peripheral blood circulation of patients with breast cancer

Amir Hassan Nikfarjam, MSc, Department of Genetic, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran

Majid Pornour, Assistant Professor, Department of Photo Healing and Regeneration, Medical Laser Research Center, Yara Institute, ACECR, Tehran, Iran (* Corresponding author). pornour@acecr.ac.ir

Mojtaba Sohrabi, Assistant Professor, Department of Genetic, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran

Abstract

Background: Cancer is the second most common cause of death after cardiovascular disease in worldwide and developed countries. Breast cancer is one of the major causes of mortality in women. Mortality from breast cancer is significantly reduced with early detection. There are several detection methods. One way is investigate the changes of microRNA expression in serum / plasma. In this study, we examined the expression of hsa-miR-490 in serum that obtained from patients with breast cancer.

Methods: In a cross-sectional comparative study, peripheral blood samples were collected from 30 subjects with breast cancer and 30 healthy individuals as a control group. Total mRNA was extracted from serum and cDNA was synthesized to study the hsa-miR-490-5p gene expression variations by real-time PCR.

Results: Significant increase was observed in gene expression and sera concentration of hsa-miR-490-5p in serum of breast cancer patient. Significant changes were not observed in gene expression of hsa-miR-490-3p in serum of breast cancer patient.

Conclusion: The obtained results indicated that hsa-miR-490-5p acts as oncomir in serum by targeting FOXP3 ($p < 0.05$).

Conflicts of interest: None

Funding: None

Keywords

hsa-miR-490-5p,
Oncomir,
Breast cancer,
FOXP3

Received: 13/07/2019

Accepted: 30/11/2019

Cite this article as:

Nikfarjam AH, Pornour M, Sohrabi M. The expression of Hsa-miR-490 in peripheral blood circulation of patients with breast cancer. Razi J Med Sci. 2019;26(10):87-94

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

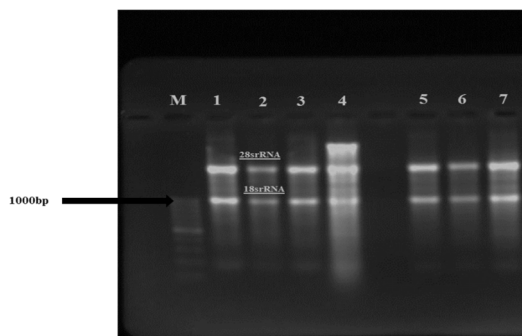


معنی دار بیان c-FOS، کاهش تکثیر سلولی و افزایش آپوپتوز به همراه دارد (۶). در سرطان کلیه، مطالعات در ارتباط با miR-490-5p نقش مهار کنندهگی تومور را برای این microRNA نشان داد. در این سرطان نقش مهار کنندهگی تومور با هدف PIK3CA معرفی شد که با اتصال miR-490-5p به ناحیه 3' در PIK3CA و مهار بیان این ژن، مسیر سیگنالینگ phosphatidylinositol 3-kinase/Akt را مهار نموده و همچنین مهار PIK3CA باعث مهار رشد سلولی می‌گردد (۷). MiR-490-5p با دو هدف E2F2 و ECT2 نقش مهار متاستاز در سرطان کبد را ایفا می‌کند. در این مطالعه با افزایش بیان miR-490-5p، بیان دو ژن هدف این miR که شامل E2F2 و ECT2 می‌باشد کاهش یافته و به دنبال آن کاهش متاستاز در سرطان کبد مشاهده شد (۸). در بررسی نقش miR-490-3p در سرطان ریه، با افزایش بیان این microRNA و اتصال به ناحیه 3' ژن هدف CCND1 باعث مهار تکثیر سلولی در فاز G₁ چرخه سلولی شده و نقش مهار کنندهگی را در این سرطان ایفا می‌کند (۹). MiR-490 در سرطان معده با افزایش بیان و اتصال به mRNA ژن هدف که hnRNPA1 می‌باشد، سبب کاهش بیان آن می‌گردد. HnRNPA1 با CCAT1 در ارتباط می‌باشد. تنظیم بیان این دو ژن توسط miR-490 سبب جلوگیری از رشد تومور و متاستاز در سرطان معده می‌گردد (۱۰). براساس اطلاعات موجود در وبسایت mirbase (www.mirbase.com)، اهداف بسیاری برای hsa-miR-490 وجود دارد. یکی از اهداف hsa-miR-490-5p، ژن FOXP3 (forkhead box P3) می‌باشد. محصول پروتئینی این ژن در پاسخ سیستم ایمنی نقش ایفا می‌کند (۱۱). عمل FOXP3 به صورت تنظیمی در گسترش عملکرد و تنظیم سلول‌های T ظاهر شده است (۱۲). تنظیم سلول‌های T در نهایت سبب افزایش پاسخ‌های ایمنی گشته و این خود باعث جلوگیری از آسیب سیستم ایمنی توسط سلول‌های سرطانی می‌گردد (۱۳). تنظیم پایین بیان FoxP3 در نمونه‌های توموری حاصل از بیماران مبتلا به سرطان پستان،

سرطان پستان یک بیماری نگران کننده در خانم‌ها است. این بیماری از مهم‌ترین و شایع‌ترین بیماری‌ها در زنان می‌باشد که از هر ۸ زن یک نفر را مبتلا کرده و جزء شایع‌ترین علت مرگ زنان در محدوده سنی ۳۵ تا ۵۵ سالگی می‌باشد. خطر ابتلا به سرطان پستان در مردان نیز وجود دارد اما میزان شیوع و بروز بیماری در زنان بیش از مردان است (۱). در سال‌های اخیر پیشرفت‌های بسیار خوبی در تشخیص زودهنگام و درمان این بیماری حاصل شده است. یکی از روش‌های غیرتهاجمی در تشخیص به موقع، بررسی بیان microRNA در سرم/پلازما افراد می‌باشد. MicroRNA ها مولکول‌های کوچک RNA هستند و در تنظیم بیان ژن‌ها نقش ایفا می‌کنند. این مولکول‌های کوچک طولی در حدود ۱۸ تا ۲۵ نوکلئوتید دارند که از طریق اتصال به ناحیه ترجمه نشدنی انتهای mRNA ها با مهار ترجمه یا القای تجزیه باعث کنترل بیان ژن پس از رونویسی می‌گردند. MicroRNA ها در تنظیم پاسخ ایمنی، تکامل عصبی، تعمیر DNA، آپوپتوز، التهاب، عفونت و در سرطان دو نقش انکوژنی و مهار کننده توموری را از خود بروز می‌دهند (۲). در کنار نقش‌هایی که برای microRNA ها ذکر شد، نقش آن‌ها زمانی که به عنوان بیومارکر شناسایی می‌شوند بسیار پررنگ تر می‌باشد. به عنوان مثال در بیماری لوپوس miR-21 و miR-155 با بیان بالای خود به عنوان بیومارکر در نظر گرفته می‌شوند (۳). در سرطان هم microRNA های بسیاری با نقش بیومارکری شناسایی شده‌اند که به عنوان مثال می‌توان به miR-125b و miR-205 اشاره کرد (۴). مطالعه پیرامون miR-490-3p در سرطان تخمدان نشان داد که با تنظیم بیان ژن هدف که ABCC2 می‌باشد، در مهار این سرطان با کاهش مقاومت به CDDP نقش ایفا می‌کند (۵). نقش مهار کنندهگی تومور توسط miR-490-5p با هدف c-FOS در سرطان مثانه مشاهده شده است. در این مطالعه مشاهده شد که با افزایش معنی دار بیان miR-490-5p و کاهش

اضافه کرده و کاملاً محتویات ویال را چندین بار پیپتاژ می‌کنیم. به مدت ۵ دقیقه ویال‌ها را در دمای اتاق قرار داده سپس به آن‌ها ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم اضافه کرده و با دست به شدت تکان می‌دهیم. ویال‌ها را داخل سانتریفوژ برای ۱۰ دقیقه و دور RCF ۱۲۰۰۰ گذاشته تا سه فاز در ویال تشکیل شود. فاز رویی را جدا کرده و به یک ویال جدید انتقال می‌دهیم. ۲۰۰ میکرولیتر ایزوپروپیل به ویال اضافه کرده و بعد از اتمام کار به مدت شب تا صبح در دمای ۲۰- درجه می‌گذاریم. روز بعد ویال‌ها را با دور RCF ۱۲۰۰۰ سانتریفوژ کرده و کل محتویات رویی را از ویال خارج می‌کنیم. سپس به ویال‌ها الکل ۷۵٪ اضافه کرده و دوباره با دور RCF ۷۵۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ کرده و در نهایت الکل را از ویال‌ها خارج کرده و اجازه می‌دهیم ویال‌ها خشک شود. ۴۰ میکرولیتر آب دیونیز به ویال‌ها اضافه کرده و داخل دستگاه هات پلیت با دمای ۵۶ درجه به مدت ۱۵ دقیقه قرار می‌دهیم. بعد از اتمام کار RNA استخراج شده را در دمای ۷۰- درجه نگه‌داری می‌کنیم. بعد از استخراج RNA از نمونه‌ها جهت کنترل صحت استخراج، باندهای 5srRNA، 28srRNA، 18srRNA بر روی ژل الکتروفورز مشاهده شد (شکل ۱). جهت سنتز cDNA از کیت سنتز (Fermentase, Germany) طبق دستورالعمل آن استفاده شد. با استفاده از نرم افزار oligo7 برای توالی‌های به دست آمده از وبسایت NCBI، طراحی پرایمر انجام شد (جدول ۱).

Real-time PCR جهت انجام real-time PCR، از کیت سایبرگرین (Roche, Germany) جهت نظارت بر تکثیر cDNA براساس اندازه‌گیری شدت فلوئورسانس



شکل ۱- کنترل کیفیت RNA استخراج شده به وسیله باندهای 28srRNA و 18srRNA

پروستات و تخمدان گزارش شده است، که نشان می‌دهد *FoxP3* یک ژن سرکوبگر تومور است (۱۴). *FoxP3* انکوژن‌های *HER2*، *Skp2*، *SATB1* و *MYC* را سرکوب و بیان ژن‌های سرکوبگر تومور *P21* و *LATS2* را در سلول‌های سرطانی پستان و پروستات القاء می‌کند. *FOXP3* همچنین باعث فراخوانی سایر عوامل ضد تومور مثل *CD39* و *CD8* می‌گردد. بیان بیش از حد *CD39* در بیماران مبتلا به انواع مختلف سرطان مانند ملانوما، لوسمی، سرطان لوزالمعده، سرطان روده بزرگ و سرطان تخمدان یافت می‌شود. این بیان بیش از حد ممکن است از سلول‌های تومور محافظت کند و به آن‌ها امکان ایجاد مرحله فرار را بدهد (۱۵). با توجه به نقش *FOXP3* در تنظیم و تقویت سلول‌های T سیستم ایمنی (Treg) در سرطان پستان و با در نظر گرفتن نقش *microRNA*‌ها در گسترش Treg، هدف ما از این مطالعه را رقم می‌زند. هدف ما از این مطالعه بررسی تغییرات بیان *hsa-miR-490* در سرم خون به دست آمده از بیماران مبتلا به سرطان پستان می‌باشد.

روش کار

نمونه‌گیری: در این مطالعه مورد-شاهدی، نمونه خون محیطی از ۳۰ نفر خانم مبتلا به سرطان پستان در محدوده سنی ۳۵ تا ۶۰ سال و ۳۰ نفر سالم در محدوده سنی ۲۸ تا ۵۵ سال به عنوان گروه کنترل با کسب رضایت‌نامه کتبی از تمامی افراد (کد کمیته اخلاقی: IR.IAU.QOM.REC.1397.011)، به میزان ۵ml جمع‌آوری شد. نمونه‌گیری در بیمارستان امام رضا(ع) تهران در سال ۱۳۹۷، فروردین لغایت مرداد، تحت نظارت و همکاری متخصص جراحی آقای دکتر آریانا صورت گرفت.

استخراج RNA و سنتز cDNA: جهت جداسازی سرم، بعد از نمونه‌گیری حداکثر در مدت زمان یک ساعت نمونه‌ها در آزمایشگاه با دور ۸۰۰g سانتریفوژ و مایع رویی که شامل سرم خون است را جدا نموده و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری می‌نماییم. از کیت استخراج RNA (RiboEX Gene All, England)، جهت جداسازی mRNA از سرم استفاده شد. به ویال حاوی سرم جداسازی شده، ۵۰۰ میکرولیتر Riboex

جدول ۱- پرایمرهای استفاده شده در Real-Time PCR

Locus	Primer (5'-3')	Amplicon size	Accession number
β -actin	F: AGACGCAGGATGGCATGGG R: GAGACCTTCAACACCCAGCC	161bp	NM_001101.3
FOXP3	F: TCATCCGCTGGGCCATCTCTG R: GTGGAAACCTCACTTCTTGTC	385bp	NM_014009.3
MiR-490-5p	F: TGTTTTGGCCATGGATCTCCAG R: GTGCAGGGTCCGAGGT	74bp	MIMAT0004764
RNU6	F: CTCGCTTCGGCAGCACA R: AACGCTTCACGAATTTGCGT	94bp	NR_002439.1

و با استفاده از جفت پرایمر های miR-490-3p، miR-490-5p، *FOXP3*، β -actin و RNU6 (هر دو به عنوان کنترل داخلی) استفاده شد (Corbett, Germany). برای هر نمونه در ۱۰ میکرولیتر محلول، شامل محلول ۲ میلی لیتر Fast Start Master و ۰/۵ میکرومولار از هر پرایمر مشخص شد. در مجموع ۹ میکرولیتر از این مخلوط واکنش در ویال با حجم ۰/۱ میلی لیتر قرار داده شد و ۱ میکرولیتر از cDNA به عنوان الگو اضافه شد. چرخه حرارتی شامل یک مرحله اولیه واسرشت سازی در ۹۵ درجه سانتی گراد برای ۱۰ دقیقه، یک برنامه تکثیر برای ۴۵ سیکل تکرار شد. برنامه طویل سازی به مدت ۱۰ ثانیه، ۵۹ درجه سانتی گراد (miR-490 و *FOXP3*) و ۶۱ درجه سانتی گراد (RNU6 و β -actin) و ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۱۰ ثانیه با اندازه گیری فلورسانس در پایان هر مرحله از فاز طویل سازی می باشد. مرحله سوم شامل اجرای منحنی ذوب توسط برنامه دستگاه real-time PCR می باشد. تجزیه و تحلیل منحنی ذوب تنها یک پیک را برای هر واکنش نشان داد.

و با استفاده از جفت پرایمر های miR-490-3p، miR-490-5p، *FOXP3*، β -actin و RNU6 (هر دو به عنوان کنترل داخلی) استفاده شد (Corbett, Germany). برای هر نمونه در ۱۰ میکرولیتر محلول، شامل محلول ۲ میلی لیتر Fast Start Master و ۰/۵ میکرومولار از هر پرایمر مشخص شد. در مجموع ۹ میکرولیتر از این مخلوط واکنش در ویال با حجم ۰/۱ میلی لیتر قرار داده شد و ۱ میکرولیتر از cDNA به عنوان الگو اضافه شد. چرخه حرارتی شامل یک مرحله اولیه واسرشت سازی در ۹۵ درجه سانتی گراد برای ۱۰ دقیقه، یک برنامه تکثیر برای ۴۵ سیکل تکرار شد. برنامه طویل سازی به مدت ۱۰ ثانیه، ۵۹ درجه سانتی گراد (miR-490 و *FOXP3*) و ۶۱ درجه سانتی گراد (RNU6 و β -actin) و ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۱۰ ثانیه با اندازه گیری فلورسانس در پایان هر مرحله از فاز طویل سازی می باشد. مرحله سوم شامل اجرای منحنی ذوب توسط برنامه دستگاه real-time PCR می باشد. تجزیه و تحلیل منحنی ذوب تنها یک پیک را برای هر واکنش نشان داد.

تجزیه و تحلیل آماری: با استفاده از نرم افزار Minitab 18.1 تعداد نمونه ها تعیین شد. داده های real-time PCR با استفاده از روش $\Delta\Delta Ct$ و نرم افزارهای اکسل (ver. 2010)، GraphPad PRISM (ver. 5.04) و تعیین همبستگی بیان ژن ها با نرم افزار SPSS 16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت بررسی تغییرات بیان ژن ها از آزمون آنالیز واریانس استفاده شد. در مطالعه حاضر، مقدار P-value کمتر از ۰/۰۵ ($p < 0.05$) به لحاظ آماری معنی دار می باشد.

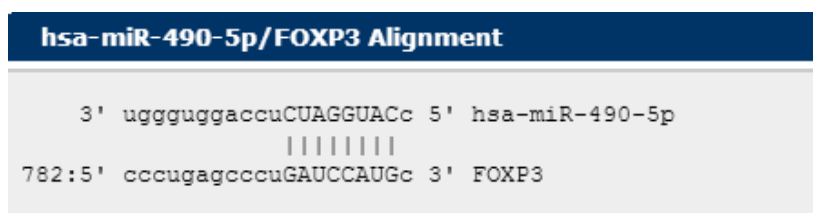
یافته ها

در مطالعه حاضر، تغییرات در بیان hsa-miR-

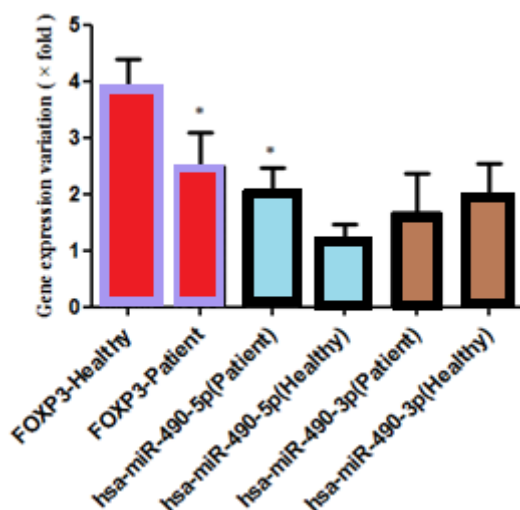
بحث و نتیجه گیری

سرطان پستان شایع ترین سرطان در زنان است که ۲/۲۴٪ از موارد سرطان زنان را شامل می شود؛ همچنین علت اصلی مرگ و میر ناشی از سرطان در زنان و عامل ۱۵٪ از مرگ و میرهای وابسته به سرطان در زنان می باشد (GLOBOCAN 2018). اکثر سرطان ها اگر به موقع تشخیص داده شوند قابل درمان بوده و همچنین میزان اثرات سوء داروهای استفاده شده نیز کاهش می یابد. در تشخیص دیرهنگام سرطان پستان در خانم ها که شامل مراحل سه و چهار می باشد، عمل جراحی با برداشتن پستان و شیمی درمانی همراه است که هر دو مورد در روحیه زنان تأثیرات بسیار مخربی را دارد. شیمی درمانی یا حتی پرتو درمانی علاوه بر اثرات درمانی خود باعث تخریب بافت های سالم نیز می شوند. روش های درمانی دیگر نظیر پرتو درمانی، شیمی درمانی و غیره نیز تقریباً به همان اندازه که اثرات

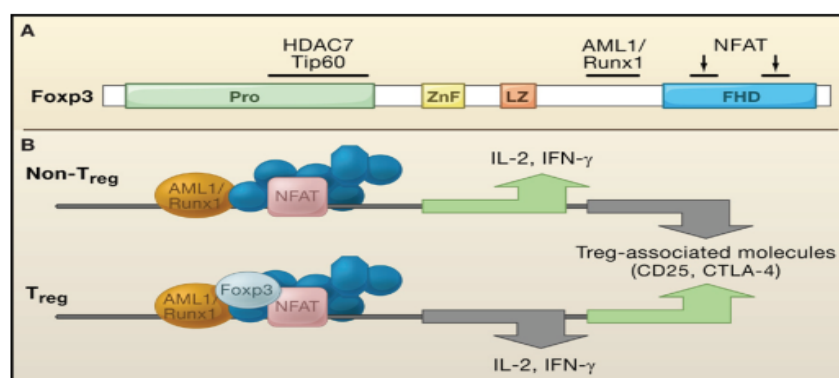
A)



B)



C)



شکل ۲- یکی از اهداف hsa-miR-490-5p ژن FOXP3 است که با اتصال miR به mRNA هدف در تنظیم بیان آن دخیل است. (A اتصال hsa-miR-490-5p به ناحیه 3' ژن FOXP3 (GAUCCAUG) تغییرات بیان hsa-miR-490-5p و ژن FOXP3 در سرم بیماران مبتلا به سرطان پستان در مقابل افراد سالم (کنترل) که بیانگرافزایش بیان miR در افراد بیمار نسبت به گروه کنترل و کاهش بیان FOXP3 در بیماران نسبت به گروه کنترل است. (C) کمپلکس های دخیل در تنظیم سلول های T و محصولات هر کدام در شرایط Treg و non-Treg (Shimon Sakaguchi et al., 2008)

مطالعه سعی شده که نقش این miR در سرم به عنوان تشخیص غیرتهاجمی مورد بررسی قرار گیرد. باتوجه به نتایج به دست آمده که نشان از افزایش معنی دار hsa-miR-490-5p و کاهش معنی دار FOXP3 در سرم بیماران مبتلا به سرطان پستان است و نقش oncomiR را از خود نشان داده که در تضاد با مطالعات صورت گرفته در بافت سرطانی به عنوان مهارکننده سرطان

درمانی دارند برای سلول ها و بافت های سالم بیماران آسیب رسان می باشند. بنابراین در کنار این روش ها، روش تشخیصی غیرتهاجمی به وسیله سرم/پلازما پر رنگ می شود. بررسی تغییرات بیان microRNA در پلازما از جمله روش های غیرتهاجمی می باشد (۲۲). باتوجه به مطالعات متعدد پیرامون miR-490 در بافت سرطان پستان و سایر بافت های سرطانی، در این

در رشد تومور مؤثر می‌باشد (۲۸). با غیرفعال شدن NFAT، FOXP3 در جهت تقویت سیستم ایمنی و تنظیم سلول‌های T، در شرایط عادی باید فعال گردد اما نتایج مطالعه حاضر نشان داد miR-490-5p با افزایش بیان و هدف قرار دادن mRNA ژن FOXP3، باعث جلوگیری از فعالیت آن و تضعیف سیستم ایمنی، رشد تومور و متاستاز در سرطان پستان می‌گردد؛ نتیجه کلی به‌دست‌آمده از این مطالعه نشان داد که این microRNA در سرطان پستان از خود با P-value کمتر از ۰/۰۱ (p < ۰/۰۱) نقش انکوژنی را دارا می‌باشد و با هدف قرار دادن mRNA ژن FOXP3 در بیان آن تاثیر گذاشته و با کاهش بیان این ژن (p < ۰/۰۵) سیستم ایمنی پیشرفت و تکامل خود را از دست داده و تومورزایی گسترش می‌یابد. پیشنهاد می‌گردد جهت ارزیابی بیشتر این microRNA با اهمیت بالا، نقش آن با تعداد نمونه‌های بیشتر و همچنین با کشت سلولی مورد بررسی قرار بگیرد تا در صورت تایید نقش oncomiR، miR-490 به‌عنوان بیومارکر در تشخیص به موقع سرطان پستان مورد استفاده قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

این پژوهش حاصل بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد می‌باشد که با نظارت آقای دکتر پرنور و جمع‌آوری نمونه‌ها با لطف و همکاری آقای دکتر آریانا صورت گرفته است و نویسندگان کمال تقدیر و تشکر را از بزرگواران دارند.

References

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *Cancer J Clin.* 2018 Nov;68(6):394-424.
2. Khoshmirsafa M, Seif F, Mohsenzadegan M, Najafi M, Mokhtarian K, Shekarabi M. Circulating microRNAs, valuable biomarkers in biological fluids. *Razi J Med Sci.* 2017 Oct 15;24(7):22-36.
3. Khoshmirsafa M, Kianmehr N, Falak R, Mowla SJ, Seif F, Mirzaei B, et al. Elevated expression of miR-21 and miR-155 in peripheral blood mononuclear cells as potential biomarkers for lupus

می‌باشد. بیان بالای miR-490-3p باعث کاهش تکثیر، افزایش آپوپتوز، مهار متاستاز، کاهش TGF- α و بهبود عملکرد Bax می‌گردد. در مطالعه ای مشاهده شد که TGF- α هدف مستقیم miR-490-3p می‌باشد. همچنین مشاهده کردند که miR-490-3p با هدف مستقیم به c-Fos سبب مهار سرطان مثانه می‌گردد (۲۳). طی مطالعه ای Lin Zhao و همکاران بیان miR-490-3p در بافت سرطان پستان بررسی کردند. سلول‌های سرطان سینه انسان MCF-7 و T47D را با miR-490-3p آلوده کردند و دریافتند که سطوح miR-490-3p در بافت سرطان پستان کمتر از بافت های پاراکارسینوم است. نتایج غربالگری نشان داد که بیان بیش از حد miR-490-3p باعث کاهش بیان پروتئین RhoA، Bcl-XL و P70S6K می‌شود. مدل موش xenograft تایید کرد که بیان بیش از حد miR-490-3p باعث سرکوب رشد تومور و کاهش بیان RhoA می‌شود. نتایج نشان می‌دهد که miR-490-3p به منظور جلوگیری از تومورزایی سرطان پستان و پیشرفت آن با هدف قرار دادن RhoA به طور مستقیم عمل می‌کند (۲۴). براساس اطلاعات موجود در پایگاه target scan، یکی از اهداف پیشنهادی برای miR-490-5p، ژن FOXP3 می‌باشد. FOXP3 در تنظیم و گسترش سلول‌های T (Tregs) و دارای یک نقش بسیار مؤثر در از بین بردن سلول‌های توموری می‌باشد (۲۵). نحوه عملکرد FOXP3 وابسته به عملکردهای داخلی ژن هدف می‌باشد و مشخص شده است که FOXP3 تحت تأثیر دو فاکتور رونویسی NFAT و AML1/Runx1 بوده و در تبدیل non-Treg به Treg عملکردی مؤثر می‌باشند. در وضعیت non-Treg، شاهد عملکرد NFAT و AML1/Runx1 می‌باشیم و IL-2، IFN- γ ، IL-4 در جهت تقویت سیستم ایمنی ترشح خواهند شد (۲۶). با اختلال در کمپلکس NFAT-AML1/Runx1، FOXP3 در جهت تقویت سیستم ایمنی، فعال شده و شاهد پیشرفت و تنظیم سلول‌های T (Treg) خواهیم بود. با فعالیت Treg، CD25 و CTLA-4 برای تقویت سیستم ایمنی ترشح خواهد شد (۲۷). مطالعه ای در ارتباط با miR-490-5p و ژن NFAT، نشان داد که با افزایش miR-490-5p بیان ژن NFAT در بیماران مبتلا به سرطان پستان کاهش می‌یابد که این فرآیند

- nephritis. *International J Rhe Dis*. 2019 Mar;22(3):458-67.
4. Orangi E, Motovali-Bashi M, Tabatabaeian M. Evaluating the clinical importance of long-non coding RNA MALAT1 expression in breast cancer. *Razi J Med Sci*. 2019;26(3):13-23.
 5. Tian J, Xu YY, Li L, Hao Q. MiR-490-3p sensitizes ovarian cancer cells to cisplatin by directly targeting ABCC2. *Am J Tran Res*. 2017;9(3):1127.
 6. Lan G, Yang L, Xie X, Peng L, Wang Y. MicroRNA-490-5p is a novel tumor suppressor targeting c-FOS in human bladder cancer. *Arch Med Sci*. 2015 Jun 19;11(3):561.
 7. Chen K, Zeng J, Tang K, Xiao H, Hu J, Huang C, et al. miR-490-5p suppresses tumour growth in renal cell carcinoma through targeting PIK3CA. *Biol Cell*. 2016 Feb;108(2):41-50.
 8. Fang ZQ, Li MC, Zhang YQ, Liu XG. MiR-490-5p inhibits the metastasis of hepatocellular carcinoma by down-regulating E2F2 and ECT2. *J Cell Bio*. 2018 Oct;119(10):8317-24.
 9. Gu H, Yang T, Fu S, Chen X, Guo L, Ni Y. MicroRNA-490-3p inhibits proliferation of A549 lung cancer cells by targeting CCND1. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014 Jan 31;444(1):104-8.
 10. Zhou B, Wang Y, Jiang J, Jiang H, Song J, Han T, et al. The long noncoding RNA colon cancer-associated transcript-1/miR-490 axis regulates gastric cancer cell migration by targeting hnRNPA1. *IUBMB Life*. 2016 Mar 1;68(3):201-10.
 11. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science*. 2003 Feb 14;299(5609):1057-61.
 12. Brunkow ME, Jeffery EW, Hjerrild KA, Paepfer B, Clark LB, Yasayko SA, et al. Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurfy, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nature Gene*. 2001 Jan;27(1):68.
 13. Josefowicz SZ, Lu LF, Rudensky AY. Regulatory T cells: mechanisms of differentiation and function. *Ann Rev Immunol*. 2012 Apr 23;30:531-64.
 14. Fontenot JD, Rasmussen JP, Williams LM, Dooley JL, Farr AG, Rudensky AY. Regulatory T cell lineage specification by the forkhead transcription factor foxp3. *Immunity*. 2005 Mar 1;22(3):329-41.
 15. Tan B, Anaka M, Deb S, Freyer C, Ebert LM, Chueh AC, et al. FOXP3 over-expression inhibits melanoma tumorigenesis via effects on proliferation and apoptosis. *Oncotarget*. 2014 Jan;5(1):264.
 16. Rico-Rosillo MG, Vega-Robledo GB, Oliva-Rico D. Importancia de los microARN en el diagnóstico y desarrollo de enfermedades. *Revista Med Ins Mexico Seg Soc*. 2014;52(3):302-7.
 17. Sun KX, Chen Y, Chen S, Liu BL, Feng MX, Zong ZH, et al. The correlation between microRNA490-3p and TGF α in endometrial carcinoma tumorigenesis and progression. *Oncotarget*. 2016 Feb 23;7(8):9236.
 18. Zhao L, Zheng XY. MicroRNA-490 inhibits tumorigenesis and progression in breast cancer. *Oncotargets Ther*. 2016;9:4505.
 19. Nair S, Aldrich AJ, McDonnell E, Cheng Q, Aggarwal A, Patel P, et al. Immunologic targeting of FOXP3 in inflammatory breast cancer cells. *PLoS One*. 2013 Jan 14;8(1):e53150.
 20. Wan YY, Flavell RA. Regulatory T-cell functions are subverted and converted owing to attenuated Foxp3 expression. *Nature*. 2007 Feb;445(7129):766.
 21. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector T H 17 and regulatory T cells. *Nature*. 2006 May;441(7090):235.
 22. Nikfarjam A, Pornour M, Sohrabi M. The correlation between expression of hsa-miR-490-5p and NFAT5 in peripheral blood mononuclear cell (PBMCs) obtained from breast cancer patients. *J Gen Res*. 2019 Jul 22.