مجله علوم پزشکی رازی دوره ۲۶، شماره ۱۱، بهمن ۱۳۹۸ http://rjms.iums.ac.ir

مقاله پژوهشی

بررسی میزان بیان miR-182-3p در نمونه خون بیماران مبتلا به سرطان پستان

شیما قربانی‌فر: گروه ژنتیک، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران

مجید پرنور: گروه پژوهشی ترمیم نوری مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، واحد علوم پزشکی تهران، جهاد دانشگاهی، تهران، ایران (*نویسنده مسئول) pornour@acecr.ac.ir

مجتبی سهرابی: گروه ژنتیک، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران

چکیده

زمینه و هدف: سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در بین زنان به‌ویژه زنان آسیایی است. miRNAها، دسته‌ای از RNAهای غیرکدکننده هستند که نقش مهمی در کنترل بیان ژن در سطح پس از رونویسی ایفا می‌کنند. miR-182 در سرطان پستان به عنوان القا کننده‌ی تومور بوده و میزان بیان آن در بافت سرطانی افزایش می‌یابد. مطالعه‌ی حاضر به منظور بررسی تغییرات بیان miR-182-3p در پلاسمای خون بیماران مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با افراد سالم، ارتباط آن با خصوصیات بالینی و امکان ارزش تشخیصی آن به عنوان یک بیومارکر، انجام گرفت.

روش کار: این پژوهش، یک مطالعه‌ی مورد–شاهدی می‌باشد. نمونه‌ی خون از ۳۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۳۰ فرد غیرمبتلا به سرطان پستان (۲۵ تا ۶۵ سال) به عنوان گروه سالم جمع‌آوری شد. پس از جداسازی پلاسما، RNA استخراج و cDNA سنتز شد. نمونه‌های پلاسمای خون افراد سالم و بیماران مبتلا به سرطان پستان با تکنیک Real Time PCR، سنجیده شد. تغییر بیان miR-182-3p بین نمونه‌های پلاسما، ارتباط آن با مرحله ی ۱ و ۲ (StageI,II) تومور و ویژگی‌های بالینی با روش‌های T-test و one-way ANOVA بررسی شد.

یافته‌ها: سطح بیان miR-182-3p در پلاسمای خون افراد مبتلا به سرطان پستان نسبت به پلاسمای خون افراد سالم، افزایش معنادار (fold change =۸/۶۰۶، $p <$ ۰/۰۰۱) نشان داد. همچنین ارتباط معناداری بین بیان miR-182-3p با روند بروز بیماری در مراحل اولیه و در stageI,II ، ($p <$ ۰/۰۵) مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که miR-182-3p در پلاسمای خون افراد مبتلا به سرطان پستان همانند بافت سرطانی افزایش بیان معناداری دارد. بنابراین به احتمال زیاد پتانسیل استفاده به عنوان یک بیومارکر را دارد و با مطالعات بیشتر بر روی تعداد بالاتری از بیماران مبتلا به سرطان پستان، بتوان به عنوان مارکر تشخیصی در تشخیص زودهنگام و بی‌خطر سرطان پستان در آینده بهره برد.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: حامی مالی نداشته است.

کلیدواژه‌ها

سرطان پستان،
miRNA،
miR-182

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۵/۰۵

تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۰/۰۷

شیوه استناد به این مقاله:

Ghorbanifar Sh, Pornour M, Sohrabi M. Evaluation the expression of miR-182-3p in blood circulation of patients with breast cancer. Razi J Med Sci. 2020;26(11):124-133.

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

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

Razi Journal of Medical Sciences.2020;26(11):124-133. http://rjms.iums.ac.ir

Original Article

Evaluation the expression of miR-182-3p in blood circulation of patients with breast cancer

Shima Ghorbanifar, Department of Genetic, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran
Majid Pornour, Photo Healing and Regeneration Group, Medical Laser Research Center, ACECR, Tehran, Iran (*Corresponding author) pornour@acecr.ac.ir
Mojtaba Sohrabi, Department of Genetic, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran

Abstract

Background: Breast cancer is the most common cancer among women, especially in Asian women. miRNAs are a class of non-coding RNAs that play an important role in controlling gene expression at the post-transcriptional level. miR-182 is a tumor inducer in breast cancer and its expression in cancer tissue is increased. This study was performed to investigate the changes in miR-182-3p expression in blood plasma of breast cancer patients and its association with clinical features and its diagnostic value as a biomarker in breast cancer.
Methods: This study is a case-control study. Blood samples were collected from the 30 Patient with breast cancer and the 30 healthy persons (25 to 65 years) as controls. After plasma isolation, RNA was extracted and cDNA was synthesized. Blood plasma samples of the healthy individuals and the patients with breast cancer were measured by the Real Time PCR technique. The expression changes of miR-182-3p between plasma samples and its association with stage 1 and stage 2 tumors and clinical characteristics were and analyzed with t-test and one-way ANOVA, respectively.
Results: The expression level of miR-182-3p in the blood plasma of patients with breast cancer was significantly higher than that of healthy individuals (fold change= 606/8, $p<0.001$). Also, there was a significant relationship between miR-182-3p expression and early stage disease and stage I, II ($p<0.05$).
Conclusion: The results of this study showed that miR-182-3p has a significant increase in the blood plasma of people with breast cancer like cancer tissue. Therefore, it is likely to be used as a biomarker and with more studies and more examples. It can be used as a diagnostic marker in the early and safe diagnosis of breast cancer in the future.

Conflicts of interest: None
Funding: None

Keywords
miR-182-3p,
Breast cancer,
miRNA

Received: 27/07/2019
Accepted: 28/12/2019

Cite this article as:
Ghorbanifar Sh, Pornour M, Sohrabi M. Evaluation the expression of miR-182-3p in blood circulation of patients with breast cancer. Razi J Med Sci. 2020;26(11):124-133.

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

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

مقدمه

سرطان پستان، رشد مهار نشده‌ی سلول‌های غیرطبیعی می‌باشد که در بافت‌های مختلف پستان مانند مجاری انتقال دهنده‌ی شیر، بافت تولید کننده‌ی شیر و یا بافت غیرغددی ایجاد می‌شود. مطالعات اپیدمیولوژیک مختلف بیانگر آن است که پس از سرطان پوست، شایع‌ترین سرطان در بین زنان به‌ویژه زنان آسیایی به‌شمار می‌رود (۱). همچنین به عنوان دومین علت مرگ و میر ناشی از سرطان در زنان، پس از سرطان ریه مطرح شده است (۲). بر اساس تحقیقات انجام شده، بروز و شیوع آن در بین زنان ایرانی به ترتیب حدود ۲۲/۱۰۰۰ و ۱۲۰/۱۰۰۰ می‌باشد (۳). علاوه بر اینکه، این سرطان ۳۲٪ از سرطان‌های زنان در ایران را شامل می‌شود (۴). همانند سایر انواع سرطان، عوامل محیطی و اپی‌ژنتیکی در بروز بدخیمی‌های پستان موثر هستند (۵) و فاکتورهای ارثی و ژنتیکی به عنوان عوامل مستعد کننده در ابتلا به سرطان پستان نقش مهمی ایفا می‌کنند. به طوری که یک سوم از کل مبتلایان به این بدخیمی، دارای سابقه‌ی مثبت وقوع سرطان پستان در یک یا تعداد بیشتری از وابستگان درجه‌ی اول یا دوم خود هستند (۶). مطالعات سلولی مولکولی نشان داده است که به طورکلی سه گروه عمده‌ی ژنی شامل انکوژن‌ها (تسریع کننده‌ی سرطان)، سرکوبگرهای تومور (مهار کننده‌ی تکثیر سلولی) و ژن‌های ترمیم کننده‌ی DNA در ایجاد سرطان نقش کلیدی ایفا می‌کنند (۷). و در این میان miRNA ها می‌توانند هم به عنوان انکوژن و هم به عنوان سرکوبگر تومور فعالیت کنند (۱۰-۸). miRNA ها، ریبونوکلئیک اسیدهای تک‌رشته‌ای و زیرگروه بزرگی از RNA های غیرکدکننده با طولی برابر با ۱۸ تا ۲۵ نوکلئوتید هستند که با تنظیم و کنترل بیان ژن‌ها در سطح پس از رونویسی، اثر خود را اعمال می‌کنند (۱۱، ۱۲). این RNA های تک‌رشته‌ای در سلول‌های بافت‌های مختلف بدن، مایع پلاسما و دیگر مایعات بدن مانند اشک، ادرار و مایع آمنیون به شکلی پایدار و به صورت متصل به کمپلکس ریبونوکلئوپروتئینی‌ای به نام کمپلکس خاموش کننده‌ی القا شده توسط RNA یا (RNA-induced silencing complex) RISC یافت می‌شوند. بنابراین، از دسترس فعالیت RNase ها با منشاء داخلی محافظت شده و به همین علت تحت شرایط سخت مقاوم می‌باشند (۱۳). شواهد موجود در حیطه‌ی تشخیص سرطان حاکی از آن است که تکنیک‌های کنونی جهت تشخیص سرطان عموماً مبتنی بر بیوپسی هستند، که این تکنیک‌ها بدون خطر نیستند و با محدودیت در نمونه‌گیری همراه می‌باشند در حالی که یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های یک بیومارکر مناسب، سهولت در دسترسی به آن است. در مورد سرطان پستان، بیومارکرهای در حال گردشی مثل آنتی‌ژن‌های کارسینوامبریونیک (Carcinoembryonic Antigen) (CEA) و کربوهیدراتی ۳-۱۵ (15-3 CA Carbohydrate Antigen 15-3 ,Cancer Antigen 15-3) وجود دارند؛ اما یکی از معایب این مارکرها حساسیت پایین آن‌ها می‌باشد، بنابراین، نمی‌توانند به عنوان ابزار قابل اطمینان غربالگری استفاده شوند (۱۴، ۱۵). تحقیقات ثابت کرده‌اند که miRNA ها پایدارترین اسید نوکلئیک در خون محیطی می‌باشند. این موضوع موجب سرعت بخشیدن به بررسی miRNA های در حال گردش به عنوان یک نشانگر جدید برای تشخیص سریع سرطان شده است (۱۶). اولین بار وجود miRNAهای جفتی در پلاسمای مادری شناسایی شد (۱۴، ۱۷). همچنین، در سال ۲۰۰۹ گزارش شد که در سرم بیماران مبتلا به سرطان پستان با وضعیت گیرنده‌ی پروژسترون مثبت، miR-155 بالاتری نسبت به افراد با وضعیت منفی گیرنده‌ی پروژسترون وجود دارد (۱۸). از طرفی دیگر در سال ۲۰۱۰ در مطالعه‌ای که بر روی تعدادی از سرطان‌های مختلف انجام گرفت، مشخص شد که در سرطان پستان miR-195 در حال گردش بیان بالایی دارد (۱۹). یکی دیگر از miRNA هایی که در سرطان پستان دچار تغییر شده و می توان به عنوان یک بیومارکر در تشخیص و غربالگری از آن استفاده نمود، miR-182 می‌باشد که عضو خوشه‌ی miR-96-182-183 است که در موقعیت 7q32.2 از

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

کروموزوم انسان قرار دارد (۲۰). miR-182 به عنوان یک انکومیر نقش بالقوه‌ای در فرایند تهاجم و پیشرفت سرطان پستان دارد (۲۱، ۲۲). مطالعه‌ی Wang و همکاران در سال ۲۰۱۶ که بر روی سطوح سرمی چهار miRNA مختلف در بیماران مبتلا به سرطان ریه سلول غیرکوچک (Non-Small Cell Lung Cancer) (NSCLC) صورت گرفت؛ نشان داد سطح سرمی miR-182 به طور قابل توجهی در مبتلایان به این سرطان در مقایسه با افراد سالم افزایش می‌یابد. طبق این مطالعه مشاهده شد که miR-182 می‌تواند به عنوان یک نشانگر زیستی برای تشخیص سرطان ریه در مراحل اولیه‌ی آن مفید باشد (۲۳). مطالعه‌ای توسط Zhanguo Chen و همکاران در سال ۲۰۱۶ بر روی ۱۳۴ نمونه‌ی بافتی سرطان مثانه در مقایسه با ۱۴۸ نمونه‌ی اپیتلیال مثانه‌ی طبیعی انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد که miR-182 در نمونه‌های بافت سرطان مثانه در مقایسه با بافت طبیعی افزایش می‌یابد. همچنین نسبت miR-182 / miR-100ممکن است به عنوان یک بیومارکر جدید امیدوار کننده برای تشخیص و پیش‌بینی بقا در مبتلایان سرطان مثانه استفاده شود (۲۴). مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۷ توسط Yun Zhan و همکاران بر روی سلول‌های سرطانی مختلف پستان انجام شد. یافته‌ها برای اولین بار نشان داد که miR-182 در کلونیزاسیون و ماکرومتاستاز سرطان پستان نقش دارد. به این شکل که miR-182 تکثیر و متاستاز را از طریق هدف قرار دادن SNAI1 سرکوب کننده‌ی آن در سرطان پستان انجام می‌دهد، و در نتیجه تنظیمات متقابل پویا بین miR-182 و SNAI1 منجر به ترویج فرایند کامل متاستاز می‌شود (۲۵). مطالعه‌ی Liu و همکاران در سال ۲۰۱۳ بیانگر افزایش بیان miR-182 در سرطان روده‌ی بزرگ بود. نتایج نشان داد بیان بیش از حد miR-182 به طور معنی‌داری با متاستاز مرتبط است و می‌تواند به عنوان یک نشانگر پیش‌آگهی در بیماران مبتلا به سرطان روده‌ی بزرگ باشد، زیرا بیان miR-182 به شدت با پیشرفت سرطان و زمان بقای بیماران ارتباط دارد (۲۶). زیر خانواده‌ی FOXO یا اصطلاحاً جعبه‌ی سرچنگالی گروهی از فاکتورهای رونویسی هستند که در تنظیم فعالیت‌های مختلفی از قبیل متابولیسم، تمایز سلولی، آپوپتوزیس و فرایند چرخه‌ی سلولی نقش مهمی ایفا می‌کنند (۲۷، ۲۸). FOXO توانایی فعال و یا متوقف کردن بیان ژن هدف را دارا است (۲۹). شواهد اخیر نشان می‌دهد که عملکرد پروتئین های FOXO به عنوان مهارکننده‌ی تومور بر پایه‌ی نقش آن‌ها در تنظیم فرایند چرخه‌ی سلولی و القای آپوپتوزیس است (۳۰). مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۹ گزارش کرد که FOXO1 در نمونه های سرطان پستان نسبت به بافت سالم کاهش بیان از خود نشان می‌دهد. در این مطالعه همچنین مشخص شد که miR-96 ,miRNA27a, miR-182 مستقیماً به FOXO1 متصل و بیان پروتئین‌های سلول‌های سرطان پستان MCF-7 را تنظیم می‌نماید. مهار این miRNA ها منجر به افزایش پروتئین FOXO1 و کاهش تعداد سلول‌هایی که توسط siRNA ی FOXO1 نجات یافته‌اند می‌شود (۳۱). علاوه بر موارد ذکر شده، با توجه به اینکه سرطان پستان وابسته به استروژن است، FOXO1 با هترودیمر شدن با گیرنده استروژن آلفا باعث جلوگیری از رونویسی آن می‌شود (۳۱). از طرفی با توجه به اینکه نمی‌توان نقش FOXO1 را در جلوگیری از سرطان پستان نادیده گرفت و اینکه این ژن، مورد هدف این سه miRNA است به طوری که حتی miR-182 و miR-96 کمبود یکدیگر در اتصال به بخش 3UTR ژن FOXO1 را جبران می‌نمایند، می‌توان با بررسی دقیق میزان این miRNA ها پیش‌بینی مناسبی از روند سرطان مخصوصاً در مرحله‌ی stage I,II داشته و به عنوان بیومارکری غیرتهاجمی در تشخیص سرطان پستان معرفی شود. با توجه به مطالعات مختلفی که بر روی miR-182 صورت گرفته، مشخص شده که این miRNA در بیماری‌هایی همچون ملانوما(۳۲)، سرطان کولورکتال(۳۳)، لوسمی میلوئید(۳۴) و لنفوم هاجکین(۳۵) نقش بارزی ایفا می‌کند و می‌توان در صورت تشخیص دقیق miR-182، از آن به عنوان یک بیومارکر مناسب استفاده نمود. بنابراین، با تکیه بر مطالعات انجام شده در این زمینه، در این مطالعه بیان ژن miR-182 در پلاسمای بیماران مبتلا به سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار

مطالعه حاضر یک تحقیق بنیادی از نوع مطالعات

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

تحلیلی مورد-شاهدی می‌باشد. به منظور انجام این پژوهش، طرح مورد نظر در کمیته‌ی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی – واحد قم مورد بررسی قرار گرفت و با کد (IR.IAU.QOM.REC.1397.010) مصوب شد. سپس نمونه‌گیری با حجم نمونه‌ی ۶۰ نفر (۳۰ فرد غیرمبتلا به سرطان پستان ۳۰ و بیمار مبتلا به سرطان پستان) از بین بیماران مراجعه کننده به بیمارستان تخصصی و فوق تخصصی امام رضا(ع) تهران انجام شد. شرکت‌کنندگان در مطالعه در محدوده‌ی سنی ۲۵ تا ۶۵ سال و بدون سابقه‌ی درمانی شامل پرتو درمانی، شیمی درمانی و جراحی بود. همچنین به بیماری‌های روانی عصبی یا سایر بدخیمی‌ها مبتلا نبودند. پس از بررسی افراد و اطمینان از دارا بودن معیارهای ورود به پژوهش، معرفی و توضیح کامل پژوهش توسط محقق انجام شد. در صورت رضایت شفاهی افراد، فرم رضایت‌نامه‌ی آگاهانه‌ی کتبی توسط هر فرد موافق امضا شد و وارد پژوهش شدند. خونگیری از افراد بیمار و سالم شرکت‌کننده در پژوهش با حجم ۵ میلی‌لیتر از نمونه خون وریدی به منظور جداسازی پلاسما انجام شد. جهت جلوگیری از انعقاد خون، از فالکون‌های ۱۵ میلی‌لیتر استریل حاوی ۵۰۰ میکرولیتر EDTA ۰/۵ مولار به عنوان ماده‌ی ضدانعقاد استفاده شد. سپس، مراحل استخراج RNA از پلاسما با استفاده از کیت استخراج RNA (RiboEx. LS) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. تمامی مراحل استخراج در زیر هود لامینار و با استفاده از میکروتیوب‌های عاری از RNase صورت گرفت. کمیت و کیفیت RNA استخراج شده توسط دستگاه نانودراپ و ژل آگارز ۱/۵٪ بررسی شد. سپس، ساخت cDNA از کیت سنتز cDNA شرکت fermentas آلمان انجام گرفت. پرایمرها با استفاده از نرم افزار Oligo 7 برای miR-182-3p و RNU6 (ژن خانه‌دار) به عنوان کنترل داخلی، بر اساس توالی های ثبت شده در GenBank طراحی شدند. جهت اطمینان از اختصاصی بودن پرایمرهای طراحی شده از پایگاه داده‌ی BLAST از پایگاه داده‌ی مرجع نوکلئوتیدی NCBI استفاده شد. سنتز پرایمرها توسط شرکت سیناژن انجام شد. توالی پرایمرهای طراحی شده در این پژوهش در جدول شماره‌ی ۲ ارائه شده است.

واکنش Real Time PCR توسط دستگاه mic(bms) انجام شد. چرخه‌ی حرارتی شامل یک مرحله واسرشتگی اولیه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه و سپس یک برنامه‌ی تکثیر برای ۴۰ چرخه تکرار شد که هر چرخه شامل: ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ثانیه، دمای ۶۲ درجه‌ی سانتی‌گراد (RNU6) و دمای ۵۸ درجه‌ی سانتی گراد (miR-182-3P) به مدت ۱۰ ثانیه و دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه بود. تمام نمونه ها ۳ بار آزمایش شدند و از میانگین Ct هر نمونه برای محاسبه کمیت با روش $^{-\Delta\Delta Ct}$ ۲ استفاده شد. آنالیزهای آماری مورد نیاز، توسط نرم افزار SPSS 16 انجام شد و نمودارها توسط نرم افزار GraphPad prism 7 رسم شد. بررسی تفاوت در سطح بیان miR-182-3p در پلاسمای خون گروه بیماران مبتلا به سرطان و گروه افراد سالم توسط آزمون T-test محاسبه شد. ارتباط بین سطح بیان و مشخصات بالینی بیمار با تست one way ANOVA و آنالیز واریانس post hoc test (Bonferroni) بررسی شد. P< ۰/۰۵ نشان دهنده‌ی معنادار بودن نتایج از نظر آماری است.

یافته‌ها

در این مطالعه ۶۰ نمونه‌ی پلاسمای خون بیماران مبتلا به سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفت. محدوده ی سنی افراد ۲۵ تا ۶۵ سال بود و هیچ یک از افراد با یکدیگر نسبت خویشاوندی نداشتند. اطلاعات دموگرافی و بالینی موجود در پرونده‌ی بیماران به صورت طبقه‌بندی شده، مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۱). آنالیزهای آماری توسط آزمون T-test نشان داد که سطح بیان miR-182-3p در پلاسمای خون بیماران مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با پلاسمای خون افراد سالم به طور معناداری (p<۰/۰۵) افزایش یافته است (نمودار ۱). همچنین میزان بیان miR-182-3p در پلاسمای خون گروه بیماران مبتلا به سرطان پستان نسبت به پلاسمای خون گروه افراد سالم تقریباً ۸ برابر افزایش نشان داده است (نمودار ۲) (fold change =۸/۶۰۶، p <۰/۰۰۱). نتایج تحلیل واریانس یک طرفه (one way ANOVA) نشان داد که بین سطح بیان miR-182-3p در پلاسمای خون بیماران مبتلا به

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

جدول ۱- تعداد و خصوصیات بالینی بیماران مورد مطالعه

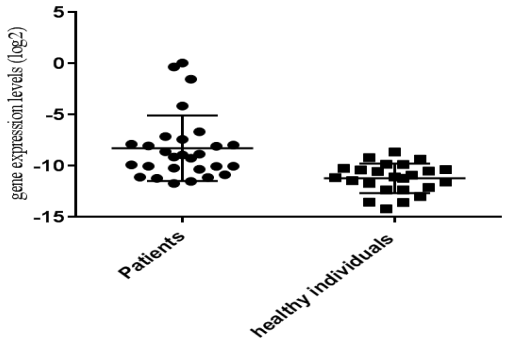
مشخصات بیماران		تعداد
سن (سال)	۳۵-۲۵	۱۱
	۴۵-۳۵	۲
	۵۵-۴۵	۸
	بیشتر از ۵۵	۹
وضعیت تاهل	مجرد	۵
	متاهل	۲۵
اولین قاعدگی (براساس سن)		۳۰ (۱۳±۱/۴۲)
یائسگی	یائسه	۸
	غیریائسه	۲۲
بارداری		۲۶ (۲/۷±۱/۷)
سقط جنین		۸ (۱/۲±۰/۶)
شیردهی (در ماه)		۲۵ (۲۸/۴۴±۲۵/۳)
نوع سرطان		
	سرطان مجرایی مهاجم (IDC)	۳۳
	سرطان غدد شیری مهاجم (ILC)	۴
	سرطان مجرایی درجا (DCIS)	۳
درجه تومور	درجه I	۶
	درجه II	۱۳
	درجه III	۱۸
	ارزیابی نشده	۳
مرحله تومور	IA	۹
	IB	۱
	IC	۰
	IIA	۱۶
	IIB	۵
	IIC	۰
	IIIA	۳
	IIIB	۰
	IIIC	۳
وضعیت گیرنده		
مثبت	ER+	۱۹
	PR+	۱۷
	HER2+	۴
منفی	ER+	۹
	PR+	۹
	HER2+	۲۳
ارزیابی نشده	ER+	۲
	PR+	۴
	HER2+	۳

سرطان پستان و مرحله‌ی ۱ و ۲ (StageI,II) تومور بر حسب سیستم TNM، ارتباط مثبت و معناداری وجود دارد و به دنبال آن آنالیز واریانس post hoc test (Bonferroni) نیز انجام شد. نتایج نشان داده اند که به لحاظ آماری ارتباط معناداری در افزایش بیان miR-182-3p در پلاسمای خون بیماران مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با افراد سالم وجود دارد و این افزایش بیان miR-182-3p نقش مهمی در پیشرفت بیماری دارد و با بررسی سطح بیان miR-182-3p در پلاسمای خون، می توان بیماران مبتلا به سرطان پستان را از افراد سالم تشخیص داد. از نتایج دیگر مطالعه‌ی حاضر این بود که با توجه به سایر اطلاعات به دست آمده از خصوصیات بالینی بیماران مبتلا به سرطان پستان مانند: ER±، PR± و HER_2± بررسی‌ها هیچ‌گونه ارتباط

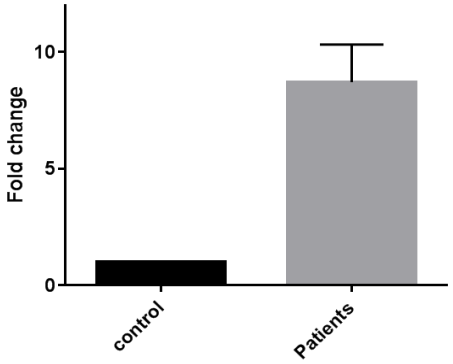
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

جدول ۲- توالی پرایمرهای مورد استفاده برای miR-182-3p و RNU6

نام ژن		توالی پرایمر	طول محصول به جفت باز
Hsa-mir-182-3p	Forward	5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3'	۶۰
	Reverse	3'-CAATGGTTCTAGACTTGCCAACT-5'	
RNU6	Forward	5'- CTCGCTTCGGCAGCACA -3'	۹۴
	Reverse	5' AACGCTTCACGAATTTGCGT -3'	



نمودار ۱- مقایسه‌ی بیان miR-182-3p در دو گروه بیمار و سالم



نمودار ۲- اختلاف بیان miR-182-3p بین دو گروه سالم و بیمار

معناداری با افزایش بیان miR-182-3p در پلاسمای خون بیماران مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با میزان بیان آن در پلاسمای خون افراد سالم را نشان نداد. همچنین از طریق آنالیزهای آماری صورت گرفته، مشخص شد که این افزایش بیان miR-182-3p در پلاسمای بیماران با سایر مشخصات بالینی آن‌ها از جمله: سن، سن اولین قاعدگی، سن یائسگی و میزان شیردهی نیز ارتباط معناداری ندارد.

بحث و نتیجه‌گیری

هدف مطالعه‌ی حاضر، بررسی میزان بیان miR-182-3p در پلاسمای خون بیماران مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با افراد سالم بود. نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که بیان miR-182-3p در پلاسمای خون افراد مبتلا به سرطان پستان نسبت به افراد سالم افزایش معناداری دارد و نتایج این مطالعه هم سو با نتایج قبلی بر روی بافت سرطانی می‌باشد. بررسی‌های انجام شده در زمینه‌ی miR-182 نشان دهنده‌ی نقش انکوژنی این miRNA در سرطان پستان است (۳۶). بررسی سایر مطالعات نشان می‌دهد که طی پژوهشی که در سال ۲۰۱۶ توسط Cailu Song و همکارانش برای شناسایی میزان بیان خوشه‌ی miR-182 بر روی ۴۱ بافت سرطان پستان و بافت سالم انجام شد، مشخص شد در بافت‌های سرطان پستان در مقایسه با بافت‌های سالم، سطح خوشه‌ی miR-182 به طور قابل توجهی بالا بود. همچنین نقش خوشه‌ی miR-182 به عنوان یک بیومارکر زیستی جدید با نقش انکوژنی در پیش‌آگهی سرطان پستان روشن شد. علاوه بر این نشان داده شد که افزایش سطح miR-182 با مرحله‌ی TNM، عود موضعی و متاستاز دوردست مرتبط است (۳۷). نتایج تحقیقات Yi Ma و همکاران در سال ۲۰۱۶ با هدف بررسی نقش‌های کاربردی خوشه‌ی miR-182 در تکثیر، تهاجم و متاستاز سلول‌های سرطانی نشان داد که این خوشه با افزایش تکثیر سلول‌های سرطانی در تهاجم تومور و متاستاز نقش دارد. علاوه بر این، در این مطالعه نیز به نقش انکوژنی miR-182 در سرطان پستان و بیشتر سرطان‌ها اشاره شده است (۳۸). همچنین، Ali و همکاران نیز در سال ۲۰۱۸ مطرح کردند که در سرم افراد مبتلا به سرطان پستان میزان بیان miR-182 افزایش یافته است؛ بنابراین miR-182 می‌تواند به عنوان یک بیومارکر بالقوه که به طور بالینی برای پیش‌آگهی و پیگیری بیماران مبتلا به سرطان پستان در نظر گرفته می‌شود، مطرح شود (۳۹). سرطان پستان در جهان و از جمله ایران به عنوان یک مشکل

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

اساسی و تاثیرگذار بر سلامت جامعه بـه شـمار مـی‌رود. میانگین سنی این سرطان در کشورهای در حال توسعه از جمله ایران، در حدود یک دهه پایین‌تر از کشـورهای توسعه یافته گزارش شده است (۴۰). بر اساس مطالعات سال‌های اخیر پیش‌بینی می‌شود میـزان بـروز سـرطان پستان در زنان در سرتاسر جهان تا سـال ۲۰۵۰ حـدود ۳/۲ میلیون مورد جدید در سـال خواهـد رسـید (۴۱). علی رغم پیشـرفت‌های صـورت گرفتـه در تشـخیص و درمان‌ها، سرطان پسـتان همچنـان علـت اصـلی مـرگ ناشی از سـرطان در میـان زنـان محسـوب می‌شـود. در دهه‌های اخیر با افزایش پیشرفت در زمینه‌ی روش‌های مولکولی، تحقیقات در زمینه‌ی miRNA ها رشـد قابـل توجهی داشته است و نقش این عوامل اپی‌ژنتیکی مورد توجه قرار گرفته است (۴۲). از طرفی با توجه به اهمیت ایـن موضـوع کـه سـرطان پسـتان در کشـور بـه طـور فزاینده‌ای رو به رشد بوده و نسبت به سـایر کشـورهای در حال توسعه تعداد بیشتری از زنان بـه ایـن بیمـاری مبـتلا هسـتند و از طـرف دیگـر کمبـود روش‌هـا و تکنیک‌هـای تشـخیص غیـر تهـاجمی و بی‌خطـر ایـن سرطان، بر آن شدیم که پژوهشی در راستای شناسـایی زودهنگام این بیماری با استفاده از یک بیومارکر مناسب که سهولت دسترسی و بررسـی آن بیشـتر اسـت، ارائـه کنیم. نتایج مطالعه‌ی حاضر از نظـر میـزان بیـان miR-182-3p نشـان می‌دهـد کـه بیـان miR-182-3p در پلاسمای خون مبتلایان به سـرطان پسـتان نیـز ماننـد بافت سرطانی افزایش می‌یابد و این افزایش با مرحلـه‌ی ۱ و ۲ (StageI,II) تومور بر اساس سیسـتم TNM، نیـز ارتباط آماری معناداری دارد. به عبارتی می‌توان بیماران مبتلا به سرطان پستان را از افراد سالم با بررسی سـطح بیان miR-182-3p افتراق داد و به نظر می‌رسد که ایـن miRNA پتانسیل قابل توجهی برای استفاده به عنـوان بیومارکرتشخیصی جهت شناسایی زودهنگام و به موقـع این بیماری را دارد. طبق بررسی‌های این مطالعه که بـر روی پلاسمای بیماران مبتلا به سـرطان پسـتان جهـت ارتباط میـان گیرنـده‌های HER_2، ER، PR بـا افـزایش بیان miR-182-3p انجام گرفته است، نشـان داده شـده است که افـزایش بیـان miR-182-3p بـا وضـعیت ایـن گیرنده‌ها ارتباط معناداری ندارد و علاوه بر این تجزیه و تحلیل داده‌ها حاکی از آن است کـه مشخصـات بـالینی بیماران از جمله: سن، مدت زمان شیردهی، سن اولـین قاعدگی، میزان شیردهی و سن یائسگی نیز بـا افـزایش بیان miR-182-3p در پلاسمای خون بیمـاران، ارتبـاط معناداری ندارد. در نهایت می توان عنوان کرد بـا توجـه به اینکه استفاده از خون بـرای بررسـی تغییـرات بیـان miR-182 نسبت به بررسی آن در بافـت سـرطانی یـک روش غیرتهاجمی محسوب می‌شود؛ این احتمال وجـود دارد که با مطالعـات بیشـتر بتـوان از miR-182-3p بـه عنوان یک بیومـارکر غیرتهـاجمی در جهـت تشـخیص زودهنگام مبتلایان به سرطان پستان در آینده بهره برد. به طور کلـی بـر اسـاس نتـایج حاصـل از ایـن مطالعـه می‌توان اظهار کرد که miR-182 به عنوان القا کننـده‌ی تومور می‌باشد و مقایسه‌ی صـورت گرفتـه بـین میـزان بیـان miR-182-3p در پلاسـمای خـون مبتلایـان بـه سرطان پستان و افراد سالم نشان دهنده‌ی این بوده که miR-182-3p در مبتلایان به سـرطان پسـتان افـزایش می‌یابد و در روند بیمـاری سـرطان پسـتان در مراحـل اولیه در stage I,II ارتباط معناداری دارد.

تقدیر و تشکر

مطالعـه‌ی حاضـر حاصـل بخشـی از پایـان نامـه‌ی کارشناسی ارشد ژنتیک از دانشـگاه آزاد اسـلامی واحـد قم می‌باشـد. نویسـندگان مقالـه از جنـاب آقـای دکتـر مهـدی آریانـا کـه در جمـع‌آوری نمونـه‌ها مـا را یـاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

1. Anjum F, Razvi N, Masood M. Breast cancer therapy: a mini review. MOJ Drug Des Develop Ther. 2017;1(2):00006.
2. DeSantis C, Ma J, Bryan L, Jemal A. Breast cancer statistics, 2013. CA: a cancer journal for clinicians. 2014;64(1):52-62.
3. Keshavarz Z, Simbar M, Ramezankhani A. Factors for performing breast and cervix cancer screening by Iranian female workers: a qualitative-model study. Asian Pac J Cancer Prev. 2011;12(6):1517-22.
4. Badakhsh M, Balouchi A, Taheri S, Bouya S, Ahmadidarehsima S, Aminifard M. Attitude and practice regarding breast cancer early detection among Iranian women: A systematic review. Asian Pac J Cancer Prev. 2018;19(1):9.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

5. Garzon R, Marcucci G, Croce CM. Targeting microRNAs in cancer: rationale, strategies and challenges. Nature Rev Drug Discov. 2010;9(10):775.
6. Hanahan D, Weinberg RAJc. The hallmarks of cancer. 2000;100(1):57-70.
7. Gatza ML, Lucas JE, Barry WT, Kim JW, Wang Q, Crawford MD, et al. A pathway-based classification of human breast cancer. Proceed Nation Acad Sci. 2010;107(15):6994-9.
8. Shenouda SK, Alahari SK. MicroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor? Cancer Metastas Rev. 2009;28(3-4):369.
9. Heo I, Joo C, Cho J, Ha M, Han J, Kim VN. Lin28 mediates the terminal uridylation of let-7 precursor MicroRNA. Mol Cell. 2008;32(2):276-84.
10. Nicoloso MS, Spizzo R, Shimizu M, Rossi S, Calin GA. MicroRNAs—the micro steering wheel of tumour metastases. Nature Rev Cancer. 2009;9(4):293.
11. Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. Cell. 2009;136(2):215-33.
12. Hadi H, Gaeini A, Mo'tamedi P, Rajabi H. The effect of aerobic training on cardiac expression of mir-126 in diabetic rats. Razi J Med Sci. 2016;23(148):44-55.
13. Iorio MV, Croce CM. MicroRNAs in cancer: small molecules with a huge impact. J Clin Oncol. 2009;27(34):5848.
14. Fu SW, Chen L, Man Y-g. miRNA biomarkers in breast cancer detection and management. J Cancer. 2011;2:116.
15. Iguchi H, Kosaka N, Ochiya T. Versatile applications of microRNA in anti-cancer drug discovery: from therapeutics to biomarkers. Curr Drug Discov Technol. 2010;7(2):95-105.
16. Lebron-Zapata L, Jochelson MS. Overview of Breast Cancer Screening and Diagnosis. PET Clin. 2018;13(3):301-23.
17. Almeida MI, Reis RM, Calin GA. MicroRNA history: discovery, recent applications, and next frontiers. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms Mutagen. 2011;717(1-2):1-8.
18. Heneghan HM, Miller N, Lowery AJ, Sweeney KJ, Newell J, Kerin MJ. Circulating microRNAs as novel minimally invasive biomarkers for breast cancer. Ann Surg. 2010;251(3):499-505.
19. Andorfer CA, Necela BM, Thompson EA, Perez EA. MicroRNA signatures: clinical biomarkers for the diagnosis and treatment of breast cancer. Trends Mol Med. 2011;17(6):313-9.
20. Xu S, Witmer PD, Lumayag S, Kovacs B, Valle D. MicroRNA (miRNA) transcriptome of mouse retina and identification of a sensory organ-specific miRNA cluster. J Biol Chem. 2007;282(34):25053-66.
21. Samelson LE. Signal transduction mediated by the T cell antigen receptor: the role of adapter proteins. Ann Rev Immunol. 2002;20(1):371-94.
22. Lo P-K, Wolfson B, Zhou X, Duru N, Gernapudi R, Zhou Q. Noncoding RNAs in breast cancer. Brief Function Genom. 2015;15(3):200-21.
23. Zhu W, Zhou K, Zha Y, Chen D, He J, Ma H, et al. Diagnostic value of serum miR-182, miR-183, miR-210, and miR-126 levels in patients with early-stage non-small cell lung cancer. PLoS One. 2016;11(4):e0153046.
24. Wu L, Lin Q, Shi J, Lin X. Evaluation of miR-182/miR-100 ratio for diagnosis and survival prediction in bladder cancer. Arch Iran Med. 2016;19(9):645.
25. Zhan Y, Li X, Liang X, Li L, Cao B, Wang B, et al. MicroRNA-182 drives colonization and macroscopic metastasis via targeting its suppressor SNAI1 in breast cancer. Oncotarget. 2017;8(3):4629.
26. Liu H, Du L, Wen Z, Yang Y, Li J, Wang L, et al. Up-regulation of miR-182 expression in colorectal cancer tissues and its prognostic value. Int J Colorect Dis. 2013;28(5):697-703.
27. Gross D, Van den Heuvel A, Birnbaum M. The role of FoxO in the regulation of metabolism. Oncogene. 2008;27(16):2320.
28. Fu Z, Tindall D. FOXOs, cancer and regulation of apoptosis. Oncogene. 2008;27(16):2312.
29. Obsil T, Obsilova V. Structure/function relationships underlying regulation of FOXO transcription factors. Oncogene. 2008;27(16):2263.
30. Paik J-H, Kollipara R, Chu G, Ji H, Xiao Y, Ding Z, et al. FoxOs are lineage-restricted redundant tumor suppressors and regulate endothelial cell homeostasis. Cell. 2007;128(2):309-23.
31. Guttilla IK, White BA. Coordinate regulation of FOXO1 by miR-27a, miR-96, and miR-182 in breast cancer cells. J Biol Chem. 2009;284(35):23204-16.
32. Lin WM, Baker AC, Beroukhim R, Winckler W, Feng W, Marmion JM, et al. Modeling genomic diversity and tumor dependency in malignant melanoma. Cancer Res. 2008;68(3):664-73.
33. Bandrés E, Cubedo E, Agirre X, Malumbres R, Zarate R, Ramirez N, et al. Identification by Real-time PCR of 13 mature microRNAs differentially expressed in colorectal cancer and non-tumoral tissues. Mol Cancer. 2006;5(1):29.
34. Agirre X, Jiménez-Velasco A, San José-Enériz E, Garate L, Bandrés E, Cordeu L, et al. Down-regulation of hsa-miR-10a in chronic myeloid leukemia CD34+ cells increases USF2-mediated cell growth. Mol CANCER RES. 2008;6(12):1830-40.
35. Navarro A, Gaya A, Martinez A, Urbano-Ispizua A, Pons A, Balagué O, et al. MicroRNA expression profiling in classic Hodgkin lymphoma. Blood. 2008;111(5):2825-32.
36. Hannafon BN, Sebastiani P, de las Morenas A, Lu J, Rosenberg CL. Expression of microRNA and their gene targets are dysregulated in preinvasive breast cancer. Breast Cancer Res. 2011;13(2):R24.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

37. Song C, Zhang L, Wang J, Huang Z, Li X, Wu M, et al. High expression of microRNA-183/182/96 cluster as a prognostic biomarker for breast cancer. Sci Rep. 2016;6:24502.
38. Ma Y, Liang AJ, Fan YP, Huang YR, Zhao XM, Sun Y, et al. Dysregulation and functional roles of miR-183-96-182 cluster in cancer cell proliferation, invasion and metastasis. Oncotarget. 2016;7(27):42805.
39. Ali OS, Shabayek MI, Seleem MM, Abdellateif HG, Makhlouf DO. MicroRNAs 182 and 375 sera expression as prognostic biochemical markers in breast cancer. Clin Breast Cancer. 2018;18(6):E1373-E9.
40. Tazhibi M, Feizi A. Awareness levels about breast cancer risk factors, early warning signs, and screening and therapeutic approaches among Iranian adult women: a large population based study using latent class analysis. BioMed Res Int. 2014;2014.
41. Tao Z, Shi A, Lu C, Song T, Zhang Z, Zhao J. Breast cancer: epidemiology and etiology. Cell Biochem Biophysics. 2015;72(2):333-8.
42. Heneghan H, Miller N, Lowery A, Sweeney K, Kerin M. MicroRNAs as novel biomarkers for breast cancer. J Oncol. 2010;2010.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]