مجله علوم پزشکی رازی دوره ۲۸، شماره ۶، شهریور ۱۴۰۰ http://rjms.iums.ac.ir

مقاله پژوهشی

تغییرات بیان mir-96 و ژن igsf4 در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی بیماران مبتلا به سرطان پستان

فاطمه پاپری برجسته: کارشناسی ارشد ژنتیک مولکولی، گروه ژنتیک، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران (* نویسنده مسئول) afsuonbarjasteh@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: سرطان پستان (Breast cancer) یک بیماری پیچیده ژنتیکی می‌باشد. عوامل مختلفی در بروز و یا حتی شناسایی این بیماری نقش دارند که از انواع آن‌ها می‌توان به RNA های غیر کد کننده به عنوان بیومارکر تشخیصی و پیش آگهی سرطان اشاره نمود. یکی از این عوامل MicroRNA (mir)ها می‌باشند و mir-96 ازجمله mir هایی است که به نظر در این بیماری حایز اهمیت می‌باشد. از آنجا که ممکن است ژن igsf4 به عنوان ژن هدف در mir-96 نقش داشته باشد؛ بنابراین هدف از این مطالعه بررسی تغییرات بیان mir-96 و ژن igsf4 در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMC) بیماران مبتلا به سرطان پستان بود.

روش کار: در مطالعه مورد–شاهدی حاضر، ۳۰ نمونه خون بیمار و ۳۰ نمونه خون افراد سالم در بیماران مبتلا به سرطان پستان به عنوان کنترل مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش از روش Real-time PCR جهت بررسی تغییرات بیان ژن igsf4 و mir-96در نهایت به کمک SPSS ویرایش ۲۲ آنالیز آماری داده‌ها با $P \leq 0.05$ انجام شد.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده نشان‌دهنده افزایش بیان mir-96 در بیماران مبتلا به سرطان پستان می‌باشد. از طرف دیگر تغییرات معنی‌داری در بیان ژن igsf4 در این بیماران مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به مشاهدات و نتایج به دست آمده می‌توان گفت که در بیماران مبتلا به سرطان پستان افزایش mir-96 دیده می‌شود و ارتباط مستقیمی بااین بیماری دارد ولی تغییراتی در ارتباط با سطح بیان igsf4 در این بیماران مشاهده نمی‌شود که می‌توان گفت ارتباط معنی‌داری بین بیان mir-96 و ژن igsf4 مشاهده نشد. پیشنهاد می‌شود این ژن‌ها از جهات دیگر نیز مورد بررسی، ارزیابی و مطالعه بیشتر قرار گیرند.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: حامی مالی ندارد.

کلیدواژه‌ها

سرطان پستان

igsf4،

mir-96،

سلول های تک‌هسته‌ای خون محیطی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۱۵

تاریخ چاپ: ۱۴۰۰/۰۶/۱۴

شیوه استناد به این مقاله:

Papari Barjasteh F. Mir-96 and igsf4 gene expression changes in peripheral blood mononuclear cells obtained from breast cancer patients. Razi J Med Sci. 2021;28(6):50-59.

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

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-10-13]

Razi Journal of Medical Sciences. 2021;28(6):50-59. http://rjms.iums.ac.ir

Original Article

Mir-96 and igsf4 gene expression changes in peripheral blood mononuclear cells obtained from breast cancer patients

Fatemeh Papari Barjasteh: MSc of molecular genetics, Department of Genetic, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran (* Corresponding author) afsuonbarjasteh@gmail.com

Abstract

Background & Aims: Breast cancer is a complex genetic disease. All types of cancer at the cellular level are called genetic disorders, and the implication is that mutations in genes that control cell proliferation can cause cancer. Among the various types of cancer, breast cancer is the most common cancer and the deadliest malignancy among women and is one of the most important health concerns in the world. According to the statistics of the whole country in Iran, breast cancer is the most common cancer in women and every year, about 6160 new cases are found, of which 1063 die from this disease. Breast cancer in man is about 1% reported in women. breast cancer in men appears to be associated with disorders that increase estrogen. Factors influencing breast cancer include gender, age, race and ethnicity, family history, genetic factors, hormonal factors, childbirth, abortion, etc. Symptoms of breast cancer include deformity in the nipple. Discharge from the nipple, breast mass or tumor, changes in the skin of the breast, change in the size of the breast, etc. The increasing number of cancer patients, especially breast cancer in the world and in our country, has raised it as a health problem and has made combating it a health priority. The following common methods can be used to treat breast cancer according to the stage of the disease: Surgery, Radiotherapy, Chemotherapy, Hormone therapies, Gene Therapy, etc. Various factors are involved in the occurrence or even identification of the disease, including noncoding RNAs as diagnostic biomarkers and prognosis of cancer. MicroRNAs are a group of non-coding RNAs that are about 18-25 nucleotides in length and affect gene expression after transcription. Recent studies have shown very important roles in many biological functions of these RNAs, including their role in differentiation, evolution, metabolism, cancer-related processes and even in diseases such as diabetes and Alzheimer's. Cardiac, autism and fragile X Syndrome One of these factors is mir, and mir-96 is one of the MIRs that seems to be important in this disease. The igsf4 gene has also been investigated as a target gene in mir-96. The aim of this study was to investigate the changes in the expression of mir-96 and igsf4 gene in peripheral blood samples of peripheral blood mononuclear cell (PBMCs) of patients with breast cancer.

Methods: The present study is a case-control study, 30 blood samples of patients and 30 blood samples of healthy individuals of breast cancer patients were evaluated as controls. Taking into account the mentioned cases and after obtaining written consent and provided that the personal and confidential information of the patients remain confidential, a sample of the mentioned individuals was taken and the subjects entered the testing stage. After sampling, white cells should be isolated from the sample. The next step is to extract RNA, After RNA extraction, the next

Keywords

Breast cancer,

igsf4 gene,

mir-96,

Peripheral Blood

Mononuclear (PBMCs)

Received: 05/06/2021

Published: 05/09/2021

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-10-13]

step is DNA synthesis. Next we have to do PCR for all the sections and genesAnd analysis them. In this study, real time-PCR method was used to study to changes of igsf4 gene expression and The relationship between the results of statistical analysis of data related to NFAT5 and miR-490 gene expression was investigated using SPSS software version 16. Significant level. Finally, statistical analysis of data with $P \leq 0.05$.

Results: the results showed an increase in the expression of mir-96 in patients with breast cancer, on the other hand, no significant changes in igsf4 gene expression were observed in these patients. Another goal of this experiment was the relationship between the expression level of mir-96 and igsf4 gene. From the results of these experiments, it can be concluded that there is a significant relationship between mir-96 and igsf4 gene in mononuclear cells. There is no peripheral blood in PBMC of patients with breast cancer.

Conclusion: According to the observation and results, it can be concluded that in patients with breast cancer, there is an increase in mir-96 and is directly related to this disease, but there was no significant relationship between mir-96 expression and igsf4 gene. This data has been reviewed with SPSS software. The studies are not final studies Due to the limitations of this experiment, it is suggested that in future experiments, this research be re-examined by considering other patients or more diverse patients, using other techniques. and it is suggested that they be reviewed, evaluated and re-studied in other ways as well.

Conflicts of interest: None
Funding: None

Cite this article as:

Papari Barjasteh F. Mir-96 and igsf4 gene expression changes in peripheral blood mononuclear cells obtained from breast cancer patients. Razi J Med Sci. 2021;28(6):50-59.

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

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-10-13]

مقدمه

سرطان یک بیماری پیچیده چندعاملی و یکی از مهم‌ترین مباحث در زمینه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی است. امروزه سرطان به عنوان یک معضل عمده‌ی بهداشتی و تأثیرگذار بر سلامت جامعه (۱) از مهم‌ترین نگرانی‌های سیستم بهداشت و درمان در تمام جوامع بشری می‌باشد (۲) که بار درمانی سنگینی دارد و هزینه‌های زیادی را به جامعه و خانواده‌ی فرد مبتلا تحمیل می‌کند (۳). سرطان در تقسیم‌بندی بیماری‌ها، در رده بیماری‌های مزمن قرار می‌گیرد که شامل طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها است و مانند سایر بیماری‌های مزمن، احتمال ابتلا به آن در تمام افراد، در هر گروه سنی و هر نژادی می‌باشد (۱). مطالعات و شواهد فیزیولوژیکی نشان می‌دهد تکثیر سلول‌های بدن در حالت طبیعی تحت کنترل دقیق سازوکارهای مرتبط با چرخه تقسیم سلولی است. این سازوکارها توسط ژن‌های متعددی کنترل می‌شود (۴). در اثر بروز اختلال در ژن‌های کنترل‌کننده‌ی چرخه تقسیم سلولی، این سازوکارها از مسیر طبیعی خود خارج می‌شوند، به همین دلیل تمامی انواع سرطان‌ها را در سطح سلولی، اختلال ژنتیکی می‌نامند و مفهوم آن این است که ایجاد جهش در ژن‌های کنترل‌کننده‌ی تکثیر سلولی باعث به وجود آمدن سرطان می‌شود (۵). در بین انواع مختلف سرطان، سرطان پستان که ۲۳ درصد همه سرطان‌ها در زنان را شامل می‌شود، شایع‌ترین سرطان و کشنده‌ترین بدخیمی در بین زنان محسوب می‌شود و یکی از مهم‌ترین عوامل نگران‌کننده سلامتی زنان در جهان می‌باشد (۶، ۷). سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در زنان است که ۳۲٪ از موارد سرطان زنان را شامل می‌شود. این بدخیمی دومین علت مرگ‌ومیر ناشی از سرطان، در زنان پس از سرطان ریه است (۸، ۹) و به عنوان یک بیماری چندعاملی (۱۰)، شایع‌ترین سرطان در بین زنان (۱۱-۱۳) به‌ویژه زنان آسیایی است که بروز آن با شیب شدیدی رو به افزایش است (۱۴). طبق آمار کل کشور در ایران نیز سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در زنان محسوب شده و در هر سال قریب به ۶۱۶۰ مورد جدید پیدا می‌شوند که ۱۰۶۳ نیز از این بیماری فوت می‌کنند. از عوامل مؤثر در سرطان پستان می‌توان به جنس، سن، نژاد و قومیت، سابقه فامیلی، عوامل ژنتیکی، عوامل هورمونی، زایمان، سقط جنین و... اشاره نمود. از علائم نشان‌دهنده سرطان پستان می‌توان به تغییر شکل در نوک پستان، ترشح از نوک پستان، توده یا تومور پستان، تغییرات پوست پستان و تغییر اندازه پستان اشاره نمود (۱۵، ۱۶). microRNA گروهی از RNA های غیر کدکننده هستند که حدود ۲۵-۱۸ نوکلئوتید طول دارند و پس از رونویسی روی بیان ژن اثر می‌گذارند (۱۷). مطالعات اخیر نقش‌های بسیار مهمی در بسیاری از عملکردهای بیولوژیکی برای این دسته از RNA ها نشان داده‌اند که از آن جمله می‌توان به نقش آن‌ها در تمایز، تکامل، متابولیسم، فرآیندهای مربوط به سرطان و حتی در بیماری‌های مثل دیابت، آلزایمر، قلبی، اوتیسم و سندروم X شکننده اشاره نمود (۱۷). مطالعات نشان داده‌اند که miRNA ها می‌توانند هر دو نقش انکوژنی و سرکوبگر توموری را داشته باشند که در این صورت به ترتیب oncomirو Ts-mir خوانده می‌شوند (۱۸، ۱۹). اولین oncomir شناخته شده miR-17-92 است که در ۱۳q۳۱ قرار دارد و از Ts-mir هایی که به طور مکرر در سرطان پستان از دست می‌رود می‌توان به miR-34a اشاره نمود (۲۰). مطالعات صورت گرفته بر روی miR-96-3p در سرطان پستان مشخص کرده که این microRNA به‌عنوان یک Ts-mir می‌باشد که از تومورزائی و تمایز آن جلوگیری می‌کند و نقش مهارکنندگی را دارد. دیگر ویژگی آن جلوگیری از تکثیر سلولی و متاستاز می‌باشد و چرخه سلولی را در مرحله G_1 متوقف می‌کند. MiR-96 با توجه به نوع هدف و محل فعالیت می‌تواند افزون بر سرطان پستان در سایر سرطان‌ها نقش ایفا کند. با استفاده از پایگاه داده‌ای مربوط به microRNA (mirbase) از بین اهداف پیشنهادی برای mir-96، ژن igsf4 را جهت انجام تحقیقات، پیرامون سرطان پستان انتخاب نمودیم. موقعیت این ژن بر روی کروموزوم ۱۱ می‌باشد. خانواده igsf4 با ایزوفرم‌های مختلف در فعال کردن و بیان بیش از حد، در چندین نوع سرطان، در رونویسی مناطق پایین دست ژن و نقش اساسی را در گسترش و پیشرفت سرطان ایفا می‌کند. igsf4 در پیشرفت سرطان مؤثر می‌باشد اما ایزوفرم های مختلف آن در سلول‌های مختلف، نقش‌های متفاوتی را ایفا

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-10-13]

مـی‌کنـد (۲۱). هـدف از انجـام ایـن مطالعـه بررسـی تغییرات بیان mir96، بررسـی تغییـرات بیـان igsf4 و بررسی ارتباط بـین تغییـرات بیـان mir96 و igsf4 در بیماران مبتلا به سرطان پستان می‌باشد.

روش کار

پژوهش حاضر یک مطالعـه مـوردی-شـاهدی اسـت. بیماران از میان افرادی انتخاب شده‌اند که در مرحله ۱ و ۲ بیماری قرار دارند که این بـه آن معنـی اسـت کـه هنوز وارد مرحله شیمی‌درمانی نشده‌انـد و یـا دارویـی مصرف نمی‌کنند. در این آزمایش ۳۰ نمونه بیمار و ۳۰ نمونه از افراد سالم گرفته‌ایم که به عنوان مورد کنتـرل در این آزمایش هستند. با در نظر گـرفتن مـوارد ذکـر شده و بعد از اخذ رضایت‌نامه کتبی و به شرط محرمانه ماندن اطلاعات شخصی و محرمانـه بیمـاران، نمونـه از افراد مذکور گرفتـه شـد و افـراد وارد مرحلـه آزمـایش شدند. در ادامه ۵ml خون وریدی از افراد گرفته شده و در یـک فـالکون ۱۵ ml اسـتریل کـه حـاوی EDTA ۵۰۰ml است ریخته و به آرامی تکان داده شد. سـپس ویال را در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شـد تا برای PCR آماده شود.

تمامی آزمایشـات صـورت گرفتـه در ایـن تحقیـق و نمونه‌گیری، توسـط دسـتورالعمل کـار کمیتـه اخـلاق دانشـگاه آزاد واحـد قـم تاییـد گردیـده اسـت (کـد اخـلاق:IR.IAU.QOM.REC.1397.010). در مرحلـه بعد گلبول‌های سفید خون محیطی جـدا شـدند. بـرای این کار ابتدا 4ml از خون را بـا ۴ml PBS رقیـق و بـه آرامی مخلوط شد. سپس ۲ml فایکول را به دو فـالکون ۱۵ ml استریل وارد نموده و نیمی از خون رقیق شـده توسط PBS به آرامی توسـط پیپـت پاسـتور روی ۲ml فایکول موجود در هرکـدام از فـالکون هـا اضـافه شـد. سپس دو فالکون را درون سانترفیوژ قـرار داده و بـرای ۲۰min در دور rpm ۲۵۰۰ با شتاب اولیه ۲ سانترفیوژ شد. نتیجه کار در هر فالکون ۴ فاز کاملاً مشخص شـد که به ترتیب شـامل: ۱-گلبـول قرمـز خـون (RBC) و هموگلوبین و نوتروفیل‌ها ۲-فایکول ۳-لایه ابری حاوی WBC و پلاکت‌ها (Buffy coat) ۴-پلاسما می‌باشند.

سـپس پلاسـما را خـارج نمـوده، لایـه ابـری حـاوی لکوسیت‌هـا را درون یـک فـالکون ۱۵ml ریختـه و دو مرتبه سلول‌ها شسته شدند تا اثر سمی فایکول از بـین برود. در مرحله بعد RNA از PBMC ها استخراج شد. برای استخراج RNA در این مرحله به ویال‌های حـاوی PBMCهای جداسازی شـده، riboex ml ۵۰۰ اضـافه شد و محتویات ویال چندین بار پیپتاژ شد. ویال هـا را به مدت min ۵ در دمای اتـاق قـرار داده و سـپس بـه آن‌ها ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم اضافه شد و با دست بـه شدت تکان داده شد. ویال ها را به مدت min۱۰ و دور rpm ۱۲۰۰۰ درون سانترفیوژ قرار داده تا سـه فـاز در ویال تشکیل شود سپس فاز رویی جدا شده و به ویـال جدیدی انتقال داده شد و بـه آن ml ۲۰۰ ایزوپروپیـل اضافه کرده و شب تا صبح (Overnight) در دمای ۲۰- درجه قرار داده شد. روز بعـد ویـال هـا را بـا دور rpm ۱۲۰۰۰ سانترفیوژ کرده و کل محتویات رویی از ویـال ها خارج شدند و سپس به ویال ها الکل ۷۵٪ افـزوده و دوباره بـا دور rpm۷۵۰۰ بـه مـدت min ۵ سـانترفیوژ شدند و در نهایت الکل را از ویـال هـا خـارج نمـوده و اجازه داده شد ویال ها خشک شوند. به میـزان ml ۴۰ آب دیونیزه به ویال ها اضـافه کـرده و داخـل دسـتگاه هات پلیت با دمای ۵۶ درجه بـه مـدت min ۱۵ قـرار داده شدند. بعد از اتمام کـار RNA اسـتخراج شـده در دمای ۷۰- درجه نگه‌داری شد.

مرحله بعد سنتز DNA مکمل (cDNA) می‌باشد که از پرایمر Oligo(dT) استفاده شده اسـت. در مرحلـه‌ی بعد PCR برای تمامی ژن‌ها انجام شد طراحـی پرایمـر برای ژن بتا اکتین و سایر ژن‌ها ابتدا توالی نوکلئوتیدی ژن‌های مورد نظر را از پایگاه داده مربوط بـه نوکلئیـک اسید (www.ncbi.nlm.nih.gov) به دست آمد. سپس از نرم‌افزارهای بعد از به دسـت آوردن تـوالی رونوشـت ژن مورد نظر، به کمک برنامه طراحی پرایمـر Oligo ۵ پرایمرها طراحی و بـه صـورت آنلایـن جهـت بررسـی اختصاصیت آن‌ها در پایگـاه اطلاعـات داده مربـوط بـه نوکلئیـک اسـید (www.ncbi.nlm.nih.gov) مجـدداً blast شدند. در مرحله بعـدی بتـااکتین، igsf4 و mir-96 را با توجه به برنامه زمانی و دمایی طراحـی‌شـده‌ی مناسب، بـا اسـتفاده از real-time PCR مـورد بررسـی قرار می‌دهیم.

برنامـه‌ی real-time PCR بـرای ژن β-اکتـین دارای سه مرحله و یا چرخه می‌باشـد. در مرحلـه اول دمـای

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-10-13]

مورد نیاز به c° ۹۵ به مدت ۱۰ ثانیه می‌باشد. این مرحله ۵۰ بار تکرار می‌شود. سپس وارد مرحله دوم شدیم که در این مرحله دمای c° ۶۲ را به مدت ۱۵ ثانیه خواهیم داشت. در مرحله سوم یعنی مرحله پایانی دمای c°۷۲ به مدت ۳۰ ثانیه را خواهیم داشت که نکته قابل توجه دیگر دمای ذوب ژن کد کننده β-اکتین می‌باشد که در این آزمایش دما بین c°۹۵-۷۲ در نظر گرفته شده است. سپس real-time PCR برای ژن isgf4 و mir-96 نیز اعمال شد. این برنامه برای ژن igsf4 به صورت سه مرحله‌ای بوده که در مرحله اول ۱۰ ثانیه دمای c° ۹۵ با ۵۵ مرتبه تکرار، در مرحله دوم به مدت ۳۰ ثانیه دمای c°۶۰ و در مرحله سوم به مدت ۲۰ ثانیه دمای c° ۷۲ را شاهد هستیم. دمای ذوب برای این ژن (c°۷۲-۹۵) می‌باشد. برنامه real-time PCR برای mir-96 دو مرحله‌ای بود. در مرحله اول دمای c° ۹۵ را به مدت ۱۰ ثانیه با ۴۰ بار تکرار و در مرحله دوم دمای c° ۵۶ را به مدت ۴۰ ثانیه داشتیم.

آنالیز های آماری: در نهایت پس از تعیین Cycle threshold برای هر نمونه، به کمک نرم‌افزار LinReg با بررسی میزان فلورسانت خوانده شده توسط دستگاه برای هر نمونه و Efficiency هر نمونه، Ct های ژن رفرانس و ژن هدف را در دو گروه بیمار و سالم بررسی می‌کنیم. در صورت نرمال بودن به منظور حذف تأثیرات محیطی و دفعات تکرار آزمایش Ct های ژن هدف را برای هر نمونه از ژن رفرانس کم می‌کنیم و این کار را با برنامه Relative Expression Software (Tool Rest 2009 انجام دادیم. برنامه REST یک بسته نرم‌افزاری مستقل برای بررسی بیان ژن با استفاده از داده‌های Amplification (تکثیری) دستگاه Real Time PCR است که این مشکل را برای کاربران مرتفع ساخته است. این نرم‌افزار با اندازه‌گیری نسبی بیان ژن و به کمک randomization نمونه‌ها با یک ژن House keeping اطلاعات را پردازش می‌کند. ضریب اطمینان برای بیان ژن، میزان با ارزش بودن کار را از نظر آماری به ما نشان می‌دهد. از مزایای این نرم‌افزار عدم نیاز به ترسیم Threshold در نمودار Amplification برای پردازش داده‌ها است. این نرم‌افزار جهت پردازش داده‌ها از این روش استفاده می‌کند: REST-RG Mode: روش جدید وارد کردن داده‌ها معرفی شده است، به کاربر اجازه می‌دهد تا با وارد کردن اطلاعات بخش Comparative Quantization analysis نرم‌افزار Rotor-Gene software اطلاعات را پردازش کند. در نسخه‌های قبلی این نرم‌افزار به طور تصادفی دو نقطه از منحنی استاندارد را انتخاب و محاسبه Efficiency (کارایی) بر اساس آن انجام می‌شد، ولی در حال حاضر با تعیین بهترین خط برای منحنی استاندارد میزان Efficiency محاسبه می‌شود.

یافته‌ها

با توجه به تحقیقات صورت گرفته و آزمایشاتی که بر روی سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMC) ۳۰ فرد مبتلا به سرطان پستان صورت گرفت، در مرحله استخراج RNA بر روی ژل آگارز باندهای 28srRNA و 18srRNA دیده شدند (شکل ۱).

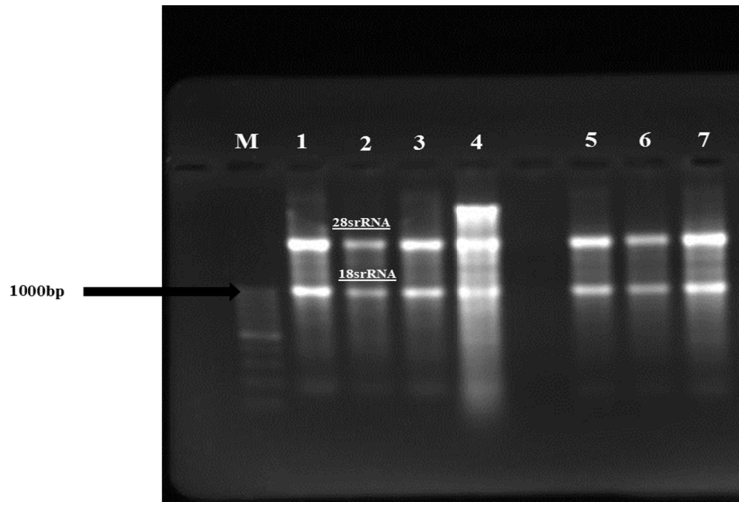
پس از آنالیز داده‌ها real time-PCR، آنچه به دست آمد نشان‌دهنده آن بود که در PBMC های بیماران مبتلا به سرطان پستان شاهد افزایش چشم‌گیر و قابل‌توجهی در بیان ژن mir-96 در مقایسه با گروه افراد سالم بودیم (شکل ۲).

از طرف دیگر بررسی‌هایی که بر روی ژن igsf4 صورت گرفت نشان داد که ژن igsf4 در PBMC های گروه افراد مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با گروه افراد سالم تفاوت معنی‌داری نشان نداد (شکل ۳).

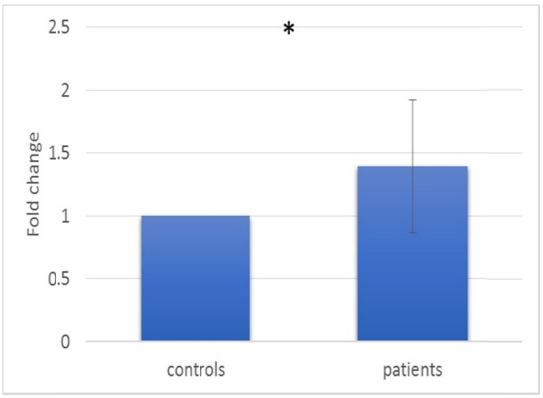
بحث و نتیجه‌گیری

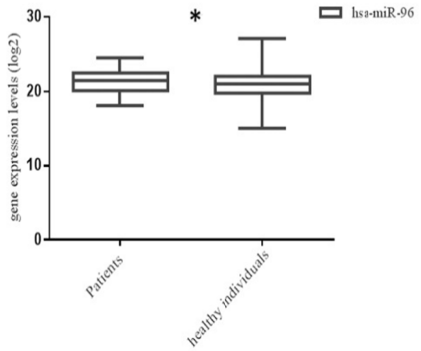
علی‌رغم پیشرفت‌های بسیاری که امروزه در علوم متفاوت پزشکی شاهد هستیم، همچنان سرطان یکی از بزرگ‌ترین معضل‌های جامعه می‌باشد و سومین علت مرگ‌ومیر در ایران می‌باشد. سرطان انواع مختلف دارد و با توجه به جنسیت، برخی از آن‌ها را در یکی از دو جنس بیشتر شاهد هستیم. سرطان پستان ازجمله سرطان‌هایی است که شیوع آن را در بین زنان بیشتر شاهد هستیم و هر ساله خسارات جبران‌ناپذیری را به جامعه و خانواده وارد می‌کند (۲۲). miRNA ها RNAهای کوچک غیر کدکننده ای هستند که بیان ژن را تنظیم می‌کنند و در بسیاری از مسیرهای مهم

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-10-13]

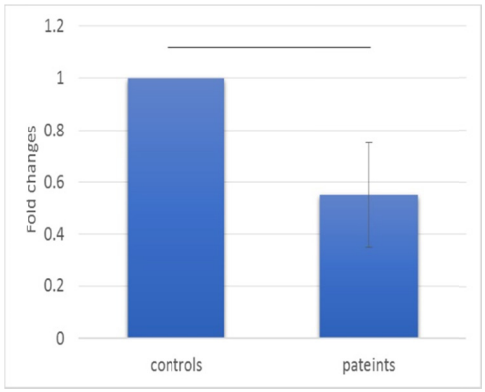


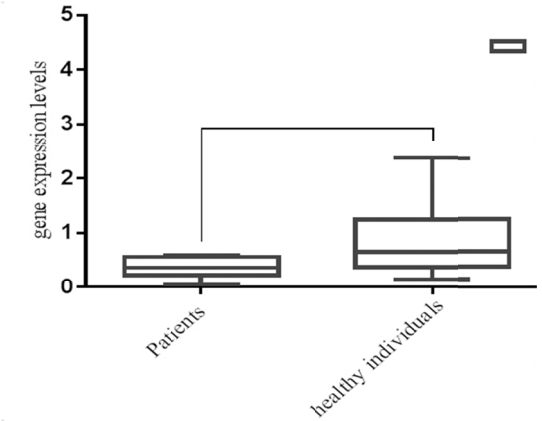
شکل ۱- کنترل کیفی محصولات استخراج RNA روی ژل آگارز و مشاهده نمودن های 28srRNA و 18srRNA





شکل ۲- افزایش معنی دار بیان ژن mir-96 در بیماران سرطان پستان نسبت به افراد سالم. الف. نمایش نتایج به صورت fold change و ب. نمایش نتایج به صورت بیان نسبت به ژن بتا اکتین.





شکل ۳- بیان ژن igsf4 در بیماران سرطان پستان نسبت به افراد سالم تفاوت معنی داری نشان نداد. الف. نمایش نتایج به صورت fold change و ب. نمایش نتایج به صورت بیان نسبت به ژن بتا اکتین.

ازجمله سرطانی شدن و گسترش آن دخیل هستند (۲۳، ۲۴). miRNA ای که ما در این تحقیق مورد بررسی قرار دادیم mir-96 می‌باشد.

طبق مطالعاتی که پیش از این صورت گرفته بود بیان این MIR در سرطان‌های متفاوت ازجمله سرطان ریه، پستان، تخمدان و... افزایش می‌یافت به همین

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-10-13]

دلیل است که این mir به عنوان یک oncomir یا به عبارت دیگر القاکننده تومور شناخته شده است (۲۵). مطالعات و بررسی‌های انجام شده بر روی mir-96 که در این آزمایش، القاکننده تومور (oncomir) بودن این microRNA را تایید می‌کند (۲۶، ۲۷). در این پژوهش شاهد افزایش معنی‌دار mir-96 در نمونه PBMC بیماران مبتلا به سرطان پستان بودیم ($P\leq0.05$).

از طرف دیگر موضوع دیگری که در این آزمایش مورد بررسی قرار گرفت، سطح بیان ژن igsf4 به عنوان ژن هدف بود. Igsf4 یکی از خانواده‌های بزرگ ایمونوگلوبین می‌باشد که زیرگروه‌های متفاوتی را نیز دارا می‌باشد هرکدام از این ژن‌ها در موقعیت‌ها و شرایط متفاوت نقش متفاوتی را از خود نشان می‌دهند. igsf4با ایزوفرم های مختلف خود، در فعال کردن و بیان بیش از حد، در چند نوع سرطان و همچنین پیشرفت سرطان نقش مؤثری را ایفا می‌کند (۲۸، ۲۹). طبق بررسی‌ها و آزمایشاتی که در این تحقیق بر روی ژن igsf4 صورت گرفت، شاهد تغییر سطح بیان معنی‌داری در بیان این ژن نبودیم در واقع می‌توان گفت سطح بیان ژن igsf4 در نمونه PBMC بیماران مبتلا به سرطان پستان تغییر قابل توجه و معنی‌داری را به همراه نداشت.

در این مطالعه نقش دوگانه miRNA-96 مشخص شد. این microRNA در بافت نقش یک مهارکننده را ایفا می‌کند ولی در خون با بالا رفتن میزان آن و تغییر در عملکرد ژن هدف باعث افزایش تومور می‌گردد. با توجه به محدودیت‌های موجود در این آزمایش پیشنهاد می‌شود که در آزمایشات آینده، این تحقیقات را با در نظر گرفتن بیماران بیشتر و یا بیماران متنوع‌تر با به‌کارگیری تکنیک‌های دیگر بار دیگر این آزمایشات مورد بررسی قرار گیرد. باشد که نتایج حاصل بتواند کمکی در راستای پیشرفت علم و دانش و پیشرفت حوزه درمان در بخش بیماران مبتلا به سرطان نماید.

در این پژوهش شاهد افزایش معنی‌دار mir-96 در PBMCهای بیماران مبتلا به سرطان پستان هستیم اما سطح بیان ژن igsf4 تغییرات معنی‌داری را به همراه ندارد. همچنین ارتباط معنی‌داری بین mir-96 و ژن igsf4 در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی PBMC بیماران مبتلا به سرطان پستان وجود ندارد. با توجه به نقش miRNA-96 در خون برای سرطان پستان می‌توان از این mir در شناسایی زودهنگام سرطان به عنوان بیومارکر استفاده کرد.

References

1. Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. Cancer J Clin. 2011;61(4):212-36.
2. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. Cancer J Clin. 2016;66(1):7-30.
3. de Martel C, Georges D, Bray F, Ferlay J, Clifford GM. Global burden of cancer attributable to infections in 2018: a worldwide incidence analysis. Lancet Glob Health. 2020;8(2):e180-e90.
4. Lodish H, Berk A, Kaiser CA, Kaiser C, Krieger M, Scott MP, et al. Molecular cell biology: Macmillan; 2008.
5. Barnum KJ, O'Connell MJ. Cell cycle regulation by checkpoints. Cell Cycle Control: Springer; 2014. p. 29-40.
6. Nafissi N, Saghafinia M, Motamedi MHK, Akbari ME. A survey of breast cancer knowledge and attitude in Iranian women. J cancer res ther. 2012;8(1):46.
7. Hejazi SH, Ahangari G, Pornour M, Deezagi A, Aminzadeh S, Ahmadkhaniha HR, et al. Evaluation of gene expression changes of serotonin receptors, 5-HT3AR and 5-HT2AR as main stress factors in breast cancer patients. Asian Pac J Cancer Prev. 2014;15(11):4455-8.
8. DeSantis C, Ma J, Bryan L, Jemal A. Breast cancer statistics, 2013. Cancer J Clin. 2014;64(1):52-62.
9. Ariana M, Pornour M, Mehr SS, Vaseghi H, Ganji SM, Alivand MR, et al. Preventive effects of oxytocin and oxytocin receptor in breast cancer pathogenesis. Pers Med. 2018;16(1):25-34.
10. Montazeri A, Vahdaninia M, Harirchi I, Harirchi AM, Sajadian A, Khaleghi F, et al. Breast cancer in Iran: need for greater women awareness of warning signs and effective screening methods. Asia Pac Fam Med. 2008;7(1):1-7.
11. Ahangari G, Pornour M, Aminzadeh S, Bakhtou H, Ahmadkhaniha H. Significant association between catechol amine o-methyl transferase (COMT) gene expression changes and breast cancer pathogenesis. J Carcinog Mutagen. 2015;6(219):2.
12. Nikfarjam A, Pornour M, Sohrabi M, Vaseghi H. Correlation between Expression of hsa-miR-490-5p and NFAT5 in Peripheral Blood Mononuclear Cell Obtained from Breast Cancer Patients. J Gene

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-10-13]

Resources. 2019;5(1):31-7.
13. Mayahi S, Neshasteh-Riz A, Pornour M, Eynali S, Montazerabadi A. Investigation of combined photodynamic and radiotherapy effects of gallium phthalocyanine chloride on MCF-7 breast cancer cells. JBIC J Biol Inorgan Chem. 2020;25(1):39-48.
14. Keyghobadi N, Rafiemanesh H, Mohammadian-Hafshejani A, Enayatrad M, Salehiniya H. Epidemiology and trend of cancers in the province of Kerman: southeast of Iran. Asian Pac J Cancer Prev. 2015;16(4):1409-13.
15. Li C, Uribe D, Daling J. Clinical characteristics of different histologic types of breast cancer. Br J Cancer. 2005;93(9):1046-52.
16. Mehr SS, Pornour M, Movafagh A, Akbari ME, Vaziri S, Pourtoloei H, et al. The effect of spiritual intervention on the concentration of interleukin-1β, interleukin-6, interleukin-8 and tumor necrosis factor alpha cytokines in patients with breast cancer: A pretest–posttest experimental study. Clin Cancer Invest J. 2020;9(6):249.
17. 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 nephritis. Int J Rheumatic Dis. 2019;22(3):458-67.
18. Ilkhani K, Delgir S, Safi A, Seif F, Samei A, Bastami M, et al. Clinical and In Silico Outcomes of the Expression of miR-130a-5p and miR-615-3p in Tumor Compared with Non-Tumor Adjacent Tissues of Patients with BC. Anti-Cancer Agents Med Chem (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents). 2021;21(7):927-35.
19. Delgir S, Ilkhani K, Safi A, Montazari V, Seif F, Bastami M, et al. The Expression of miR-513c and miR-3163 was Downregulated in Tumor Tissues Compared with Margin Tissues of Patients with Breast Cancer. 2020.
20. Chen J, Shin VY, Siu MT, Ho JC, Cheuk I, Kwong A. miR-199a-5p confers tumor-suppressive role in triple-negative breast cancer. BMC Cancer. 2016;16(1):1-12.
21. Murakami Y. Involvement of a cell adhesion molecule, TSLC1/IGSF4, in human oncogenesis. Cancer Sci. 2005;96(9):543-52.
22. Pornour M, Ahangari G, Hejazi S, Deezagi A. New perspective therapy of breast cancer based on selective dopamine receptor D2 agonist and antagonist effects on MCF-7 cell line. Recent Pat Anticancer Drug Discov. 2015;10(2):214-23.
23. Soheilifar MH, Vaseghi H, Seif F, Ariana M, Ghorbanifar S, Habibi N, et al. Concomitant overexpression of mir-182-5p and mir-182-3p raises the possibility of IL-17–producing Treg formation in breast cancer by targeting CD3d, ITK, FOXO1, and NFATs: A meta-analysis and experimental study. Cancer Sci. 2021;112(2):589.
24. Heydarzadeh S, Ranjbar M, Karimi F, Seif F, Alivand MR. Overview of host miRNA properties and their association with epigenetics, long non-coding RNAs, and Xeno-infectious factors. Cell Biosci. 2021;11(1):1-17.
25. 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.
26. Xie W, Sun F, Chen L, Cao X. miR-96 promotes breast cancer metastasis by suppressing MTSS1. Oncol Lett. 2018;15(3):3464-71.
27. Hong Y, Liang H, Wang Y, Zhang W, Zhou Y, Yu M, et al. miR-96 promotes cell proliferation, migration and invasion by targeting PTPN9 in breast cancer. Sci Rep. 2016;6(1):1-16.
28. Verschuur-Maes AH, De Bruin PC, Van Diest PJ. Epigenetic progression of columnar cell lesions of the breast to invasive breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 2012;136(3):705-15.
29. Kim HR, Park JS, Fatima Y, Kausar M, Park JH, Jun CD. Potentiating the Antitumor Activity of Cytotoxic T Cells via the Transmembrane Domain of IGSF4 That Increases TCR Avidity. Front Immunol. 2021;11:3667.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-10-13]