Downloaded from journal.gums.ac.ir at 13:37 IRST on Sunday February 25th 2018

پیوستگی پلی‌مورفیسم miR-423 با بروز سرطان پستان در زنان شمال ایران

سهیل مشایخی(MD student)[1]- *دکتر حمید سعیدی ساعدی(MD)[2]- دکتر زیور صالحی(MD, PhD)[3]- دکتر سهیل سلطانی‌پور(MD)[4]- دکتر ابراهیم میرزاجانی(PhD)[5]

*نویسنده مسئول: گروه رادیوتراپی و انکولوژی، مرکز تحقیقات سرطان، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

پست الکترونیک: hamidsaeedisaedi@gmail.com

تاریخ دریافت مقاله: ۹۶/۰۵/۰۳ تاریخ ارسال جهت اصلاح: ۹۶/۰۸/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۸/۲۱

چکیده

مقدمه: MicroRNA یا miRها، مولکول‌های کوچک غیرکدکننده‌ای هستند که با مهار پس از رونویسی سبب مهار بیان پروتئین می‌شوند. آنها از هماهنگ‌کننده‌های مهم پروسه‌های گوناگون سلولی هستند که نابسامانی در تنظیم آنها در ایجاد بسیاری از بیماری‌های انسانی مانند بدخیمی‌ها همکاری می‌کنند. پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی(SNP)ها در ژن‌های کدکننده miR می‌تواند سبب تغییر در میزان بیان آنها شود و خطر سرطان را تحت تاثیر قرار دهد.

هدف: تعیین پیوستگی پلی‌مورفیسم miR-423(rs6505162 C>A) و خطر سرطان پستان در زنان.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد_ شاهدی، ژنوتیپ‌های ۳۵۳ زن مبتلا به سرطان پستان و ۳۵۳ زن سالم با یکدیگر مقایسه شدند. DNA از خون محیطی برون‌آوری شد. پلی‌مورفیسم miR-423 rs6505162 C>A به روش PCR-RFLP و با آنزیم RsaI ارزیابی. وواکاوی داده‌ها با نرم‌افزار MedCalc انجام شد.

نتایج: توزیع فراوانی‌های ژنوتیپیCC، CA و AA در بیماران دچار سرطان به ترتیب۶۰/۳۴٪، ۳۵/۴۱٪ و ۴/۲۴٪ و در گروه کنترل به ترتیب ۵۱٪، ۳۸/۸۱٪ و ۱۰/۲۰٪ بود. ژنوتیپ AA و آلل A درrs6505162 کاهش میزان خطر سرطان پستان را داشت (OR=0.35; 95%CI 0.18-0.66; p=0.001; OR=0.66; 95%CI 0.52-0.85; p=0.00)

نتیجه‌گیری: miR-423(rs6505162 C>A) می‌تواند عامل حفاظتی در سرطان پستان باشد. مطالعات بیشتر در قومیت‌های مختلف برای پذیرش این نتیجه‌گیری نیاز است.

کلید واژه‌ها: ام آی آر ۴۲۳/ پلی‌مورفیسم/ سرطان پستان/ میکرو آر ان آ اس

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره بیست و شش، شماره ۱۰۴، صفحات: ۲۱-۱۴

مقدمه

micrRNA ها یا miRs، گروهی از RNAهای تک رشته کوتاه به طول کمابیش ۲۱ تا ۲۵ نوکلئوتید بدون ویژگی کدکنندگی هستند. برپایه پایگاه اطلاعاتی miRBase، بیش از ۲۰۰۰ miR در انسان شناسایی یا پیش‌بینی شده‌است که نزدیک ۶۰٪ ژن‌های انسانی را هدف قرار می‌دهند. مطالعات نشان داده‌اند که یک miRNA می‌تواند صدها mRNA هدف داشته‌باشد. افزون بر آن، یک mRNA می‌تواند توسط چندین miRNA تنظیم شود(۱). ژن‌های کدکننده miRها بعنوان یک واحد رونویسی شونده مجزا یا داخل یک ژن واحد قرار دارند و توسط آنزیم RNA polymearase II رونویسی می‌شوند. پس از پردازش توسط اندونوکلئازهای مختلف، از هسته وارد سیتوپلاسم می‌شوند. امروزه، نقش miRها به عنوان تنظیم‌کننده‌های پس از رونویسی که در برگیرنده تخریب mRNA و مهار ترجمه می‌باشد، به خوبی شناسایی شده است(۱و۲). کارکرد miRNA از راه اتصال با mRNAی هدف و در بیشتر موارد هدف پیوستن به ناحیه UTR 3'mRNA است.

گرچه عملکرد بیولوژی miRها بطور کامل شناخته نشده‌است اما بیش از نیمی از ژن‌های کدکننده آن‌ها در مناطق شکننده کروموزومی یا در مناطق ژنومی مرتبط با سرطان قرار دارند. این یافته‌ها حاکی از نقش miRها در پاتوژنز سرطان‌های انسانی است(۳). در بسیاری از تومورها، اختلال در تنظیم بیان miRها، گزارش شده‌است. این مولکول‌ها، گستره وسیعی از پروسه‌های بیولوژی و پاتولوژی مانند آپوپتوز، تکثیر، تمایز،

۱. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۲. گروه رادیوتراپی و انکولوژی، مرکز تحقیقات سرطان، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۳. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۴. گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۵. مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 13:37 IRST on Sunday February 25th 2018

رگزایی و پاسخ ایمنی را تنظیم می‌کنند که همگی در ایجاد و پیشرفت سرطان مهم هستند(٤ و٥). miRNA ها با توجه به ژن‌های هدف، در دو گروه انکوژن و سرکوبگر تومور قرار می‌گیرند. OncomiRها، گروهی از miRNAها هستند که mRNAی ژن‌های سرکوبگر تومور را هدف قرار داده و مهار می‌کنند. از مهم‌ترین oncomiRها می‌توان miR-21 و خانواده miR-10 را نام برد. افزایش بیان این miRNAها سبب کاهش بیان ژن‌های سرکوبگر تومور می‌شود. در مقابل، گروه دیگری از miRNAها، انکوژن‌ها را هدف قرار می‌دهند که tsmiR نامیده شده و کاهش بیان آنها موجب افزایش سطح انکوژن‌ها می‌شود. خانواده let-7 و miR 200 از مهم‌ترین آنها هستند(٦ و٧).

پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی، تغییری ساده در توالی DNA است که بطور متوسط به میزان یک در هر ۱۰۰۰ نوکلئوتید در طول کروموزم‌های انسانی رخ می‌دهد. تنوع ژنتیکی در توالی miRها می‌تواند سبب تغییر در میزان بیان یا عملکرد آن شود. در ضمن، با توجه به نقش توالی "seed" در اتصال miR به ژن هدف، SNPهای نهاده شده در این توالی می‌تواند در تنظیم پروسه‌های سلولی اختلال ایجاد کند(۸). طی سال‌های اخیر گزارش‌های انبوهی در مورد اهمیت miRها در سرطان‌های مختلف مانند پستان، معده، ریه و دهانه رحم صورت گرفته‌است(۸ و ۹).

سرطان پستان، شایع‌ترین سرطان و مهم‌ترین علت مرگ ناشی از سرطان در زنان است که به رغم کوشش‌های انجام شده در ۲۰ سال اخیر، در بسیاری از کشورها همچنان روبه افزایش است(۱۰). بروز این بیماری در جوامع مختلف متفاوت است. در ایران، متوسط سن بیماری۱۵ سال کمتر از جوامع غربی است(۱۱). بسیاری از عوامل محیطی و ژنتیکی نقش کلیدی در ایجاد و پیش‌آگهی این بیماری دارند. از مهم‌ترین عوامل خطر می‌توان به استعمال دخانیات، چاقی، مصرف الکل، نداشتن دوران شیردهی، یائسگی دیررس و سن بالا در نخستین بارداری اشاره کرد(۱۲). جهش در ژن‌های BRCA1 و BRCA2، ۲۰ تا ۲۵٪ از سرطان‌های ارثی پستان و ۵ تا ۱۰٪ کل سرطان پستان را به خود اختصاص داده‌است(۱۳). ژن‌هایTP53 CYP17, COMT وTNF-α از ژن‌های مهم در سرطان پستان هستند. با این وجود سرطان پستان از بیماری‌های پیچیده چند عاملی است که مکانیسم مولکولی آن بطور کامل شناخته شده نیست. در سال‌های اخیر مطالعات متعددی در مورد نقش و اهمیت پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی در miR و ژن‌های هدف آنها در ایجاد و پیشرفت سرطان پستان صورت گرفته است(۹). نتیجه مطالعه Adams و همکاران نشان داد که وجودSNP(rs93416170) در ژن گیرنده استروژن ۱(ESR1) سبب تغییر در اتصال miR-206 به ناحیه 3'UTR در mRNA هدف می‌شود(١٤). این پژوهشگران پیشنهاد کردند که کاهش نرخ سرطان پستان در جمعیت‌های اروپایی ممکن است ناشی از افزایش حضور آلل T جایگاه مورد نظر باشد. تغییر میزان بیان miRهای مختلف در سرطان پستان زنان گزارش شده‌است(١٦). یکی از انواع miRها، miR-423 است که نقش مهمی در تومورزایی ایفا می‌کند(۱۸ و ۱۹).

مطالعه SNPهایی که با تغییر کارکرد یا بیان ژن‌های دخیل در سرطان پستان همراهند می‌توانند در شناسایی افراد مستعد به سرطان پستان و جمعیت در معرض خطر و درک مکانیسم‌های پاتوفیزیولوژی بیماری مهم باشد. با توجه به اهمیت miR-423 در کارسینوژنز، ارزیابی اهمیت پلی‌مورفیسم miR-423 rs6505162 وخطر سرطان پستان برای نخستین بار در جمعیتی از زنان گیلان انجام شد.

مواد و روش‌ها

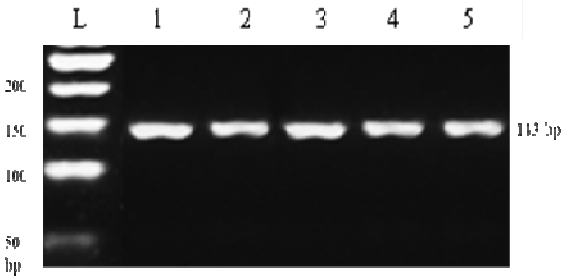
جمعیت مورد مطالعه در این بررسی مورد_ شاهدی، ۷۰٦ زن مراجعه کننده به بیمارستان رازی رشت از این تعداد، ۳۵۳ نمونه با طیف سنی ۲۵ تا ٦۰ سالگی که از لحاظ آسیب‌شناسی، سرطان پستان در آنها تایید شده بود به عنوان گروه بیمار انتخاب شدند. اطلاعات دموگرافی به همراه اطلاعات پاتولوژیک مانند نوع تومور، درگیری غدد لنفاوی و اندازه تومورگرد آوری شد. افرادی که پیشینه تشخیص دیگر سرطان‌ها(مانند تخمدان) را در تاریخچه خود داشتند، از جمعیت مورد مطالعه حذف شدند. گروه کنترل، شامل ۳۵۳ زن سالم در محدوده سنی بیماران(٥±) بدون وابستگی فامیلی، بدون سابقه سرطان، ضایعات پیش‌سرطان(مانند هیپرپلازی

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 13:37 IRST on Sunday February 25th 2018

لوبولار و داکتال آتیپک)، بیماری مزمن(از قبیل بیماری‌های کبدی، کلیوی) و از همان جمعیت با ماموگرافی طبیعی در حدود ٦ ماه پیش از مطالعه، بود. از تمامی شرکت‌کنندگان در این پژوهش رضایت نامه کتبی گرفته شد. روش اجرای این پژوهش با کد(IR.GUMS.REC.1396.25)، در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گیلان تصویب شد. با توجه به استفاده از نمونه‌های انسانی، این پژوهش برپایه بیانیه هلسینکی انجام شد.

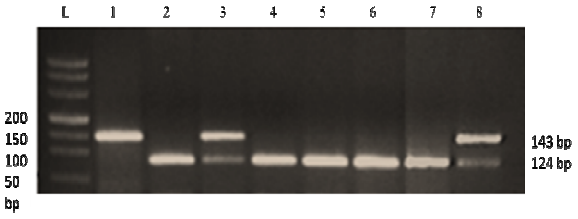
انتخاب SNP و استخراج DNA ژنومی: براساس مطالعات پیشین در مورد پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی miR-423 ها و خطر سرطان،rs6505162 C>A واقع در کروموزم ۱۷ جایگاه ۳۰۱۱۷۱٦۵ با فراوانی آلل مینور(MAF) معادل ۰/٤۸ برای بررسی انتخاب شد. از تمامی افراد ۱ میلی‌لیتر خون گرفته شد. استخراج DNA ژنومی از لکوسیت‌ها، با استفاده از کیت Gpp Solution (شرکت ژن‌پژوهان، ایران)، انجام شد. کیفیت و کمیت DNA با ژل آگارز ۱٪ و خوانش جذب در طول موج‌های ۲٦۰ و ۲۸۰ نانومتر با اسپکتروفوتومتر و بررسی نسبت جذب ۲٦۰ بر ۲۸۰ نانومتر، ارزیابی شد. DNA استخراج شده تا انجام PCR-RFLP در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تعیین ژنوتیپ: برای تعیین ژنوتیپ جایگاه پلی‌مورفیک miR-423 rs6505162 از روش PCR-RFLP با بهره‌گیری از آنزیم(RsaI (NEB, UK استفاده شد. برای طراحی پرایمر پس از جستجو در پایگاه NCBI، توالی ژن رفرنس miR-423 استخراج شد. سپس، با نرم‌افزار(Oligo (version 7.54 ، یک جفت پرایمر اختصاصی طراحی شد. توالی پرایمرها به صورت'5'-CCCCTCAGTCTTGCTTCGTA-3' و 5'- AAGGGCGGGAATCAGGAC-3' به ترتیب، پرایمرهای رفت و برگشت بود. واکنش PCR با دستگاه ترموسایکلر(Bio-Rad, USA) در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۳۰ نانوگرم DNA، ۰/۱ مولار دئوکسی‌ریبونوکلئوتیدتری‌فسفات‌ها، ۱/۵ میلی‌مولار منیزیوم‌کلرید، بافرPCR(۵۰ میلی مولار پتاسیم کلرید، ۱۰ میلی‌مولارتریس هیدروکلرید و ۰/۱٪ تریتون X-100)، ۰/۵ واحد آنزیم Taq پلی‌مراز و ۲ پیکومول از هر پرایمر انجام شد. چرخه حرارتی جهت تکثیر قطعه‌ای به طول ۱٤۳ جفت باز به صورت واسرشته‌سازی نخستین در دمای ۹٤ سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه به صورت ٤۰ ثانیه در دمای ۹٤ درجه سانتی گراد، ٤۵ ثانیه در دمای ۵۷ درجه سانتی‌گراد، ٤۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و گسترش نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه بود. برای درستی انجام PCR، فراورده‌ها در ژل ٤٪ الکتروفورز شدند(شکل ۱).



شکل ۱. تصویر ژل آگارز محصولات PCR در ۵ نمونه مورد بررسی در نمونه‌های ۱ تا ۵، پس از PCR قطعه‌ای معادل ۱٤۳ جفت باز تکثیر شده‌است. مارکر وزن مولکولی در سمت چپ نشان داده شده‌است.

در گام پسین، قطعه ۱٤۳ جفت بازی به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در معرض آنزیم RsaI قرار گرفت. شناسایی محصولات هضم DNA پس از الکتروفورز و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید انجام شد(شکل ۲).



شکل ۲. محصولات حاصل از RFLP. نمونه ۱، هموزیگوت AA، نمونه‌های ۲، ٤، ۵، ٦ و ۷، هموزیگوتCC، و نمونه‌های ۳ و ۸، هتروزیگوت CA می‌باشند.

ژنوتیپ هموزیگوت CC با قطعات ۱۲٤ و ۱۹ جفت بازی، هتروزیگوت CA با قطعات ۱٤۳، ۱۲٤ و ۱۹ جفت بازی و هموزیگوت AA با قطعه ۱٤۳ جفت بازی در ژل آگارز شناسایی شدند. قطعه ۱۹ جفت بازی به علت اندازه کوچک را نمی‌توان در ژل شناسایی کرد. برای تایید صحت ژنوتایپی، ۲۰٪ نمونه‌ها به طور تصادفی انتخاب و دوباره تعیین ژنوتیپ شدند.

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 13:37 IRST on Sunday February 25th 2018

بررسی‌های آماری: جهت محاسبه قدرت آماری مطالعه، از نرم‌افزار OpenEpi (www.OpenEpi.com) استفاده شد. قدرت مطالعه ما ۸۰٪ برآورد شد. به منظور بررسی انحراف در فراوانی‌های مشاهده شده نسبت به فراوانی‌های پیش‌بینی شده از تعادل هاردی واینبرگ با کمک تست کای‌دو استفاده شد. فراوانی آللی به روش شمارش، محاسبه شد. برای ارزیابی تفاوت در بخشایش ژنوتیپی و آللی از آزمون کای‌دو، OR به همراه 95 %CI استفاده شد. افزون بر الگو توارثی همبارزی، فراوانی ژنوتیپی در مدل‌های غالب، مغلوب و بیش بارزی نیز محاسبه شد. آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار MedCalc (version 12.1, Mariakerke, Belgium) انجام شد. p<۰/۰۵ از لحاظ آماری، مقدار معنی‌دار در نظر گرفته شد.

جدول ۱. خصوصیات دموگرافی افراد مورد مطالعه.

متغیرها	بیماران تعداد(درصد)	کنترل تعداد(درصد)	p
سن (متوسط±انحراف معیار)	۵۱/۸±۸/۲	۵۱/۰۴±۱۰	۰/۵۲
سن بلوغ(متوسط±انحراف معیار)	۱۲/۹±۱/۲	۱۳±۰/۹	۰/۰۸
سن بارداری(متوسط±انحراف معیار)	۲۴/۳±۴/۶	۲۴±۴/۱	۰/۴۵
شاخص توده بدنی(متوسط±انحراف معیار)	۲۷/۹±۱۷/۵	۲۶/۷±۳/۹	۰/۶۷
سابقه مصرف قرص‌های ضدبارداری			<۰/۰۰۱
مثبت	(۳۱/۱۰)۱۳۱	(۲۲/۴۰)۷۹	
منفی	(۶۲/۹۰)۲۲۲	(۷۷/۶)۲۷۴	
سابقه خانوادگی سرطان پستان			۰/۰۰۱
مثبت	(۳/۱۰)۱۱	(۰)۰	
منفی	(۹۶/۹۰)۳۴۲	(۱۰۰)۳۵۳	
وضعیت یائسگی			۰/۸۱
قبل یائسگی	(۳۷/۴۰)۱۳۲	(۳۸/۵)۱۳۶	
بعد یائسگی	(۶۲/۶۰)۲۲۱	(۶۱/۵۰)۲۱۷	
سابقه شیردهی			۰/۰۰۱
مثبت	(۷۶/۵۰)۲۷۰	(۸۶/۷۰)۳۰۶	
منفی	(۲۳/۵۰)۸۳	(۱۳/۳۰)۴۷	

نتایج

در جدول۱، ویژگی‌های دموگرافی افراد مورد مطالعه آورده شده است. اختلاف معنی‌دار در سن دو گروه وجود نداشت(p>۰/۰۵). در این مطالعه، تعیین ژنوتیپ miR-423 rs6505162 در ۷۰۶ نفر با موفقیت انجام شد. فروانی آللی و ژنوتیپی جایگاه مورد مطالعه در جدول ۲ آورده‌شده‌است.

جدول ۲. فراوانی ژنوتیپی miR-423 rs6505162 در نمونه‌های مورد بررسی براساس مدل‌های توارثی.

مدل‌های توارثی	ژنوتیپ	بیماران تعداد(درصد)	کنترل‌ها تعداد(درصد)	OR(95%CI)	ارزش p
همبارزی	CC	(۶۰/۳۴)۲۱۳	(۵۱)۱۸۰	-	-
	CA	(۳۵/۴۱)۱۲۵	(۳۸/۸۱)۱۳۷	۰/۷۷(۰/۵-۱/۰۵)	۰/۱۰
	AA	(۴/۲۴)۱۵	(۱۰/۲۰)۳۶	۰/۳۵(۰/۱۸-۰/۶۶)	۰/۰۰۱
غالب	CC	(۶۰/۳۴)۲۱۳	(۵۱)۱۸۰	-	-
	AA+CA	(۳۹/۷)۱۴۰	(۴۹)۱۷۳	۰/۶۸(۰/۵۰-۰/۹۲)	۰/۱۰
مغلوب	CA+CC	(۹۵/۷)۳۳۸	(۸۹/۸)۳۱۷	-	-
	AA	(۴/۲۴)۱۵	(۱۰/۲۰)۳۶	۰/۳۹(۰/۲۰-۰/۷۲)	۰/۰۰۳
بیش‌غالبی	CC+AA	(۶۴/۶۰)۲۲۸	(۶۱/۲)۲۱۶	-	-
	CA	(۳۵/۴۱)۱۲۵	(۳۸/۸۱)۱۳۷	۰/۸۶(۰/۶۳-۱/۱۷)	۰/۳۵

توزیع ژنوتیپی بدست‌آمده در جایگاه پلی‌مورفیک rs6505162 در تعادل هاردی_واینبرگ بود(χ^2=۱/٦٧;p=۰/۱۹). فراوانی هموزیگوت‌های CC، هتروزیگوت‌های CA، و هموزیگوت‌های AA در گروه کنترل به ترتیب (۵۱٪)۱۸۰، (۳۸/۸۱٪)۱۳۷و (۱۰/۲۰٪)۳٦ بود، در حالی که در گروه بیمار، فراوانی ژنوتیپ‌ها به ترتیب (٦۰/۳٤٪)۲۱۳، (۳۵/٤۱٪)۱۲۵و(٤/۲٤٪)۱۵بود. فراوانی CA+AA در گروه کنترل بیش از گروه بیمار بود(٤۹٪ در مقابل ۳۹/۷٪). تفاوت ژنوتیپی بین دو گروه با آزمون کای‌دو

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 13:37 IRST on Sunday February 25th 2018

بررسی شد. میزان کای‌دو، ۱۱/۹۶ بـا سـطح معنـی دار ۰/۰۰۲ بدست آمد. بنابراین، تفـاوت معنـی‌دار در خصـوص فراوانـی ژنوتیپی جایگاه پلی‌مورفیک مـورد بررسـی در گـروه بیمـار و کنترل وجود داشت. برپایه مدل همبارزی، کاهش خطر ابتلای به سرطان پستان در افراد با ژنوتیپAA مشهود بود (OR=۰/۳۵;95 %CI ۰/۱۸ –۰/٦٦; p=۰/۰۰۱).

در مدل مغلوب، افراد با ژنوتیپAA نسبت به گردایش دیگر ژنوتیپ‌ها سنجیده شدند. براساس این مدل نیز ژنوتیپ AA با کاهش خطر سرطان پستان همراه بود(OR=۰/۳۹; 95%CI۰/۲۰ –۰/۷۲; p=۰/۰۰۳). فراوانی آلل A در گروه بیمار و کنترل به ترتیب ۰/۲۲ و ۰/۳ محاسبه شد. در مقایسه فراوانی‌های آللی در دو گروه مورد بررسی، میزان کای‌دو ۱۰/۷۹ با سطح معنی‌دار ۰/۰۰۱بدست آمد که اهمیت حضور آلل A در کاهش خطر سرطان پستان را تاکید می‌کند(OR=۰/٦٦;95%CI ۰/۵۲ –۰/۸۵; p =۰/۰۰۱).

بحث ونتیجه‌گیری

در این مطالعه به بررسی اهمیت جایگـاه پلـی‌مورفیـک miR-423 rs6505162 در ۳۵۳ فرد دچـار سـرطان پسـتان و۳۵۳ فرد سالم پرداخته‌شد. ژنوتیپ‌های AA و CA در گروه کنترل بیش از بیماران بود. به عبارت دیگر، ژنوتیپ AA و آلل A با کاهش خطر سرطان پستان همراه بود. نتایج این مطالعـه نقـش حفاظتی این پلی‌مورفیسم را در سرطان پستان پیشنهاد می‌کند. این گزارش گزارش مورد_ شاهدی در بررسی اهمیت جایگاه پلـی‌مورفیـک miR-423 rs6505162 بـا سـرطان پسـتان در جمعیتی از ایران است.

ارتباط نیرومند تغییر ساختاری و بیان miRها با خطر سرطان، دیدگاه جدیدی از تحقیقات را در مورد مکانیسم‌های مولکولی دخیل در ایجاد و پیشرفت سرطان ایجاد کرده‌است(٦). گرچه کارکرد بیولوژی بسیاری از miRها هنوز به طور کامل شناخته نشده‌است اما مطالعات مختلف، نقش برخی از آنها را به عنوان انکوژن یا سرکوبگر تومور پیشنهاد کرده‌است(۱۵). بیش از ۵۰٪ ژن‌های انسان از جمله ژن‌های سرکوبگر توموری مانندBRCA1, BRCA2, PTEN, P53 توسط miRNAها کنترل می‌شوند. SNP یا جهش در miRها ممکن است با تغییر در میزان بیان یا تغییر در شیوه بلوغ آنها در افزایش خطر سرطان موثر باشد(۹). بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان پستان، با SNPهای مختلف مرتبطند(۱۷).

در کارسینوم هپاتوسلولار این مولکول سبب پیشبرد رشد سلول می‌شود. در ضمن با تاثیر برP21 Cip1/waf1 موجب عبور از مرحله G1 به S در چرخه سلولی می‌شود. Farazi و همکاران بیان افزایش یافته‌ی miR-423 را در بیماران مبتلا به کارسینوم داکتال مهاجم نشان دادند(۹). میزان بیان miR-423 در هموزیگوت AA بیشتر از هموزیگوتCC است. لذا آللA واقع در پیش‌ساز miR-423، در تولید فرم نهایی miR-423 دخیل است. در ضمن هموزیگوت AA نسبت به CC در محیط کشت، توان تکثیر سلولی کمتری از خود نشان می‌دهد. این نتایج پیشنهاد می‌کنند که جایگزینی نوکلئوتیدC با A در جایگاهrs6505162 موجب مهار تکثیر و مهاجرت سلولی می‌شود(۲۰). Zhao و همکاران نیز نشان دادند که SNP rs6505162 موجود در پیش‌ساز miR-423 می‌تواند در بیان فرم نهایی این miR موثر باشد(۲۱).

با توجه به نقش miRها در سرطان و اهمیت تغییر ژنتیکی در این مولکول‌ها، در این پژوهش به بررسی اهمیت جایگاه miR-423 rs6505162 در سرطان پستان پرداخته‌شد. نتیجه مطالعه، پیشنهاد می‌کند که آلل A و ژنوتیپ AA در جایگاه پلی‌مورفیک مورد نظر، نقش حفاظتی در سرطان پستان در جمعیت مورد نظر داشته‌است. Kontorovitch و همکاران نیز در سال ۲۰۰۹ اهمیت ژنوتیپ miR-423 rs6505162 AA را در کاهش خطر سرطان تخمدان و پستان پیشنهاد کردند(۲۲). مطالعه‌ای که در ٤٤۰ زن دچار سرطان پستان و ۸۰۷ فرد سالم در کشور شیلی انجام شد موید ارتباط مشخص جایگاه rs6505162 با افزایش خطر سرطان پستان در افراد با سابقه مثبت خانوادگی این سرطان است(۲۳). گرچه متاآنالیز سال ۲۰۱٤، نبودن ارتباط تنوع ژنتیکی miR-423 rs6505162, miR-149 rs2910164, miR-146 rs2292832 با سرطان پستان را مطرح کرده‌است(۲٤). مطالعه Smith و همکاران با ۱۹۳ بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۱۹۳ فرد سالم نشان داد که ژنوتیپ CC با کاهش خطر سرطان پستان در جمعیت مورد مطالعه همراه بوده است(۲۵). نتیجه

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 13:37 IRST on Sunday February 25th 2018

مطالعه‌ای در سال ۲۰۱٤ پیشنهاد می‌کند که در جمعیت هان چین miR-125a rs12976445 به وارون miR-423 rs6505162 می‌تواند به عنوان مارکر پیش‌آگهی سرطان پستان مطرح شود(۲٦). از علل تفاوت در نتایج مطالعات پلی‌مورفیسم ژنتیکی می‌توان به اختلاف در اندازه جمعیت مورد بررسی، قومیت، روش بررسی، هتروژنی بیماری و همچنین نقش عوامل محیطی اشاره کرد.

تاکنون مطالعات معدودی در خصوص توزیع آلل‌های SNP مرتبط با miRها در زنان ایرانی مبتلا به سرطان پستان صورت گرفته‌است. مشکات و همکاران نشان دادند که آلل C از miR-146a rs2910164 با فنوتیپ HER-2 مثبت مرتبط است(۲۷). هاشمی و همکاران به بررسی miR-608 rs4919510 C>G در ۱٦۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد که آلل G با کاهش خطر سرطان پستان همراه است(۲۸). در حالی که براساس مطالعه صناعی و همکاران ارتباط مشخصی بین miR-34b/c rs4938723 با سرطان پستان وجود نداشت(۲۹).

این مطالعه چند محدودیت داشت:۱- نمونه‌ها، افراد مراجعه‌کننده به یک مرکز در شهر رشت بودند. با توجه به تفاوت در توزیع فراوانی آللی در جمعیت‌های مختلف، پیشنهاد می‌شود که در مطالعات آتی، SNP مورد نظر در سایر جمعیت‌ها نیز بررسی شود. ۲- در مطالعه به بررسی یک جایگاه پلی‌مورفیک پرداخته‌شد. با توجه به اهمیت miRها در سرطان پستان، لازم است سایر جایگاه‌های پلی‌مورفیک درmiR-423 و miRهای مختلف ارزیابی شوند. ۳- سرطان پستان بیماری چند عاملی است که عوامل محیطی و ژنتیکی در ایجاد آن دخیلند. بنابراین، بررسی نقش عوامل محیطی افزون بر عوامل ژنتیکی در این بیماری مهم است.

به طورکلی نتیجه این مطالعه مورد_ شاهدی همراهی پلی‌مورفیسم miR-423 rs6505162 را با سرطان پستان پیشنهاد می‌کند. در ضمن آلل A و ژنوتیپAA جایگاه نامبرده می‌توانند نقش حفاظتی در ابتلای به سرطان پستان در جمعیت مورد بررسی ایفا کند. برای تایید این نتیجه‌گیری، مطالعات متعدد در قومیت‌های مختلف پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری و سپاسداری

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی گیلان، مرکز تحقیقات علوم سلولی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی گیلان و همچنین آزمایشگاه ژنتیک دانشکده علوم‌پایه دانشگاه گیلان کمال تشکر را داریم. این مقاله بخشی از نتایج پایان‌نامه آقای سهیل مشایخی دانشجوی رشته پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گیلان بود. نویسندگان مقاله از تمامی شرکت‌کنندگان در این پژوهش سپاسگزاری می‌نمایند. نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد و منافعی ندارند.

منابع

1. Wu L, Fan J, Belasco JG. MicroRNAs direct rapid deadenylation of mRNA. Proc Natl Acad Sci USA 2006; 103: 4034-9.
2. Höck J, Weinmann L, Ender C, Rüdel S, Kremmer E, Raabe M, Urlaub H, Meister G. Proteomic and functional analysis of Argonaute-containing mRNA-protein complexes in human cells. EMBO Rep 2007; 8:1052-60.
3. Zhang W, Dahlberg JE, Tam W. MicroRNAs in tumorigenesis: a primer. Am J Pathol 2007; 171: 728-38.
4. Ambros V. The functions of animal microRNAs. Nature 2004; 16: 350-55.
5. Ruan K, Fang X, Ouyang G. MicroRNAs: novel regulators in the hallmarks of human cancer. Cancer Lett 2009; 285: 116-26.
6. Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. Nat Rev Cancer 2006; 6: 259-69.
7. Singh R, Mo YY. Role of microRNAs in breast cancer. Cancer Biol Ther 2013; 14: 201-12.
8. Ryan BM, Robles AI, Harris CC. Genetic variation in microRNA networks: the implications for cancer research. Nat Rev Cancer 2010; 10: 389-402.
9. Farazi TA, Horlings HM, Ten Hoeve JJ, Mihailovic A, Halfwerk H, Morozov P, Brown M, Hafner M, Reyal F, van Kouwenhove M, Kreike B, Sie D, Hovestadt V, Wessels LF, van de Vijver MJ, Tuschl T. MicroRNA sequence and expression analysis in breast tumors by deep sequencing. Cancer Res 2011; 71: 4443-53.

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 13:37 IRST on Sunday February 25th 2018

10. Colditz GA, Bohlke K. Priorities for the primary prevention of breast cancer. CA Cancer J Clin 2014; 64:186-94.
11. Harirchi I, Karbakhsh M, Montazeri A, Ebrahimi M, Jarvandi S, Zamani N, Momtahen AJ, Kashefi A, Zafarghandi MR. Decreasing trend of tumor size and downstaging in breast cancer in Iran: results of a 15-year study. Eur J Cancer Prev 2010; 19: 126-30.
12. Parkin DM, Boyd L, Walker LC. The fraction of cancer attributable to lifestyle and environmental factors in the UK in 2010. Br J Cancer 2011; 105: 77-81.
13. Mavaddat N, Peock S, Frost D, Ellis S, Platte R, Fineberg E, Evans DG, Izatt L, Eeles RA, Adlard J, Davidson R, Eccles D, Cole T, Cook J, Brewer C, Tischkowitz M, Douglas F, Hodgson S, Walker L, Porteous ME, Morrison PJ, Side LE, Kennedy MJ, Houghton C, Donaldson A, Rogers MT, Dorkins H, Miedzybrodzka Z, Gregory H, Eason J, Barwell J, McCann E, Murray A, Antoniou AC, Easton DF; EMBRACE. Cancer risks for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from prospective analysis of EMBRACE. J Natl Cancer Inst 2013; 105: 812-22.
14. Adams BD, Furneaux H, White BA. The micro-ribonucleic acid (miRNA) miR-206 targets the human estrogen receptor-alpha (ERalpha) and represses ERalpha messenger RNA and protein expression in breast cancer cell lines. Mol Endocrinol 2007; 21: 1132-47.
15. Berindan-Neagoe I, Monroig Pdel C, Pasculli B, Calin GA. MicroRNAome genome: a treasure for cancer diagnosis and therapy. CA Cancer J Clin 2014; 64: 311-36.
16. Nogales-Cadenas R, Cai Y, Lin JR, Zhang Q, Zhang W, Montagna C, Zhang ZD. MicroRNA expression and gene regulation drive breast cancer progression and metastasis in PyMT mice. Breast Cancer Res 2016; 18: 75.
17. Mohammaddoust S, Salehi Z, Saeidi Saedi H. SEPP1 and SEP15 gene polymorphisms and susceptibility to breast cancer. Br J Biomed Sci 2017:1-4.
18. Guan G, Zhang D, Zheng Y, Wen L, Yu D, Lu Y, Zhao Y. microRNA-423-3p promotes tumor progression via modulation of AdipoR2 in laryngeal carcinoma. Int J Clin Exp Pathol 2014; 7: 5683-91.
19. Liu J, Wang X, Yang X, Liu Y, Shi Y, Ren J, Guleng B. miRNA423-5p regulates cell proliferation and invasion by targeting trefoil factor 1 in gastric cancer cells. Cancer Lett 2014; 347: 98-104.
20. Su X, Hu Y, Li Y, Cao JL, Wang XQ, Ma X, Xia HF. The polymorphism of rs6505162 in the MIR423 coding region and recurrent pregnancy loss. Reproduction 2015;150: 65-76.
21. Zhao H, Gao A, Zhang Z, Tian R, Luo A, Li M, Zhao D, Fu L, Fu L, Dong JT, Zhu Z. Genetic analysis and preliminary function study of miR-423 in breast cancer. Tumour Biol 2015; 36: 4763-71.
22. Kontorovich T, Levy A, Korostishevsky M, Nir U, Friedman E. Single nucleotide polymorphisms in miRNA binding sites and miRNA genes as breast/ovarian cancer risk modifiers in Jewish high-risk women. Int J Cancer 2010; 127: 589-97.
23. Morales S, Gulppi F, Gonzalez-Hormazabal P, Fernandez-Ramires R, Bravo T, Reyes JM, Gomez F, Waugh E, Jara L. Association of single nucleotide polymorphisms in Pre-miR-27a, Pre-miR-196a2, Pre-miR-423, miR-608 and Pre-miR-618 with breast cancer susceptibility in a South American population. BMC Genet 2016; 17: 109.
24. Chen QH, Wang QB, Zhang B. Ethnicity modifies the association between functional microRNA polymorphisms and breast cancer risk: a HuGE meta-analysis. Tumour Biol 2014; 35: 529-43.
25. Smith RA, Jedlinski DJ, Gabrovska PN, Weinstein SR, Haupt L, Griffiths LR. A genetic variant located in miR-423 is associated with reduced breast cancer risk. Cancer Genomics Proteomics 2012; 9: 115-8.
26. Jiao L, Zhang J, Dong Y, Duan B, Yu H, Sheng H, Huang J, Gao H. Association between miR-125a rs12976445 and survival in breast cancer patients. Am J Transl Res 2014; 6: 869-75.
27. Meshkat M, Tanha HM, Naeini MM, Ghaedi K, Sanati MH, Meshkat M, Bagheri F. Functional SNP in stem of mir-146a affects Her2 status and breast cancer survival. Cancer Biomark 2016; 17: 213-22.
28. Hashemi M, Sanaei S, Rezaei M, Bahari G, Hashemi SM, Mashhadi MA, Taheri M, Ghavami S. miR-608 rs4919510 C>G polymorphism decreased the risk of breast cancer in an Iranian subpopulation. Exp Oncol 2016; 38: 57-9.
29. Sanaei S, Hashemi M, Rezaei M, Hashemi SM, Bahari G, Ghavami S. Evaluation of the pri-miR-34b/c rs4938723 polymorphism and its association with breast cancer risk. Biomed Rep 2016; 5:125-29.

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 13:37 IRST on Sunday February 25th 2018

The Relationship Between miR-423 Genetic Variation and Women Breast Cancer Risk In the North of Iran

Mashayekhi S (MD student)[1]- *Saeidi Saedi H (MD)[2]- Salehi Z (MD, PhD)[3]- Soltanipour S (MD)[4]- Mirzajani E (PhD)[5]

***Corresponding Address:** Department of Radiation Oncology, Cancer Research Center, Guilan University of Medical Sciences (GUMS), Rasht, Iran

Email: hamidsaeedisaedi@gmail.com

Received: 26/May/2017 Revised: 05/Nov/2017 Accepted: 12/Nov/2017

Abstract

Introduction: MicroRNAs (miRs) are small noncoding RNAs that inhibit protein expression by posttranscriptional inhibition. They are fundamental regulators of diverse cellular processes; whose deregulation contributes to many human diseases including cancer. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the genes encoding miRNAs can alter miRNA expression and may influence cancer risk.

Objective: To determine the relationship between miR-423 (rs6505162 C>A) polymorphism and women breast cancer risk.

Materials and Methods: In this case-control study, the genotypes of 353 women with breast cancer and 353 healthy women were compared. Genomic DNA was extracted from peripheral blood. The miR-423 rs6505162 C>A polymorphism was determined by PCR-RFLP using RsaI enzyme. The data analysis was performed using the MedCalc software.

Results: The prevalence rates of genotype frequencies of the CC, CA and AA were 60.34%, 35.41% and 4.24%, respectively, in those with breast cancer, whilst in controls were 51%, 38.81% and 10.20%, respectively. The AA genotype and A allele of rs6505162 C>A had a decreased risk to develop breast cancer (OR=0.35; 95%CI 0.18-0.66; P=0.001; OR=0.66; 95%CI 0.52-0.85; P=0.00, respectively).

Conclusion: our data demonstrated that miR-423 rs6505162 should be a protective factor for breast cancer. Further studies involving different ethnicities are required to verify our conclusion.

Conflict of interest: non declared

Key words: Breast Cancer\ MicroRNAs\ MiR-423\ Polymorphism

_____Journal of Guilan University of Medical Sciences, No: 104, Pages: 14-21

Please cite this article as: Mashayekhi S, Saeidi Saedi H, Salehi Z, Soltanipour S, Mirzajani E. The Relationship Between miR-423 Genetic Variation and Women Breast Cancer Risk In the North of Iran J of Guilan Univ of Med Sci 2017; 26(104):14-21. [Text in Persian]

1. Student research committee, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
2. Department of Radiation Oncology, Cancer Research Center, Guilan University of Medical Sciences (GUMS), Rasht, Iran
3. Department of Biology, Faculty of Sciences, University of, Guilan Rasht, Iran
4. Faculty of Medicine, Department of Community Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
5. Cellular and Molecular Research Center, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran