

Data Mining as a Tool to Identify miRNAs which Regulate Stemness, Metastasis and Drug Resistance in Gastric Cancer

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Azimi M.¹ MSc,
Rahimi M.¹ MSc,
Toutounchi M.² PhD,
Ebrahimi M.^{*1} PhD

How to cite this article

Azimi M, Rahimi M, Toutounchi M, Ebrahimi M. Data Mining as a Tool to Identify miRNAs which Regulate Stemness, Metastasis and Drug Resistance in Gastric Cancer. Modares Journal of Biotechnology. 2019;10(2):255-261.

¹Cellular Sciences Institute (Royan), Institute of Biology and Technology of Stem Cell Academy, Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran

²Genetics, Reproductive Biomedical Department, Institute of Biology and Technology of Stem Cell Academy, Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran

*Correspondence

Address: Cellular Sciences Institute (Royan), Institute of Biology and Technology of Stem Cell Academy, Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran

Phone: +98 (21) 22306485

Fax: +98 (21) 22413790

mebrahimi@royaninstitute.org

Article History

Received: October 26, 2017

Accepted: February 13, 2018

ePublished: June 20, 2019

ABSTRACT

Cancer stem cells are responsible for the formation the resistance to treatment, tumor relapse, and metastasis. miRNAs play an important role in the regulation of biological processes. Therefore, the purpose of this review is to candidate miRNAs that are involved in the regulation of all three properties including stemness, metastasis, and drug resistance and find their target genes and signaling pathways by using literature learning and data mining. The present systematic review is done to identify stemness-regulating miRNAs. By using CORMINE database, metastasis and drug resistance regulating miRNAs collected. Finally, we compared these three lists of miRNAs and found common miRNAs in these three properties. ONCO.IO database and KEGG pathway have been done to obtain the interaction between miRNA-miRNA target and cancer-related signaling pathway respectively. We collected 191 stemness-regulating miRNAs from 21 excluded studies. Based on CORMINE database, 161 miRNAs and 57 miRNAs had metastasis and stemness features respectively. We obtained 7 common miRNAs that 4 of them including has-miR-34a, has-miR-23a, has-miR-30a, has-miR-100 has a significant role for targeting signaling pathways involved in cancer and their most important targets regulate many processes of cells. These data suggest that three important properties can regulate by common miRNAs. Therefore, target these miRNAs or their targets can be helpful to stop tumor growth and metastasis and may be useful biomarkers for early detection of gastric cancer.

Keywords Gastric cancer; miRNA; Metastasis; Stem Cell; Drug Resistance

CITATION LINKS

[1] Cancer ... [2] World cancer ... [3] The cancer stem cell hypothesis: A work in ... [4] Cancer stem cells: Therapeutic implications and perspectives in cancer ... [5] Gastric cancer: Current status of diagnosis and ... [6] Landscape of dietary factors associated with risk of gastric cancer: A systematic review and ... [7] The roles of microRNA-141 in human cancers: From diagnosis to ... [8] MicroRNAs as oncogenes and tumor ... [9] Identification of microRNAs in human follicular fluid: characterization of microRNAs that govern steroidogenesis in vitro and are associated with polycystic ovary syndrome ... [10] MicroRNAs: Master regulators of drug resistance, stemness, and ... [11] The roles of microRNAs in the regulation of tumor ... [12] The microRNA miR-34a inhibits prostate cancer stem cells and metastasis by directly ... [13] Role of microRNAs in ... [14] Mining the breast cancer pattern using artificial neural networks and multivariate adaptive regression ... [15] Contribution of bioinformatics prediction in microRNA-based cancer ... [16] The prognostic value of miR-34a expression in completely resected gastric cancer ... [17] MiRNA-34a inhibits EGFR-signaling-dependent MMP7 activation in gastric ... [18] Sirt7 promotes gastric cancer growth and inhibits apoptosis by epigenetically ... [19] miR-34a regulates cisplatin-induce gastric cancer cell death by modulating PI3K/AKT/survivin ... [20] Restoration of tumor suppressor miR-34 inhibits human p53-mutant gastric ... [21] Upregulation of miR-34a by diallyl disulfide suppresses invasion and induces ... [22] Upregulation of microRNA-23a/b promotes tumor progression and confers poor prognosis ... [23] miR-23b-3p regulates the chemoresistance of gastric cancer cells by targeting ATG12 ... [24] MicroRNA-23a regulates cell migration and invasion by target PTEN in gastric ... [25] Identification and characterization of tumor suppressor and oncogenic miRNAs in gastric ... [26] miRNA-223 promotes gastric cancer invasion and metastasis by targeting tumor suppressor ... [27] Down-regulation of miR-27a might inhibit proliferation and drug resistance of gastric ... [28] MicroRNA-19a/b regulates multidrug resistance in human ... [29] MicroRNA-107, an oncogene microRNA that regulates tumour invasion and metastasis by ... [30] Upregulation of microRNA-107 induces proliferation in human ...

داده‌کاوی به‌عنوان ابزاری برای شناخت miRNAهای تنظیم‌کننده بنیادینگی، متاستاز و مقاومت به دارو در سرطان معده

مهناز عظیمی MSc

پژوهشگاه علوم سلولی (رویان)، پژوهشکده زیست‌شناسی و فناوری سلول‌های بنیادی جهاد دانشگاهی، تهران، ایران

مهسا رحیمی MSc

پژوهشگاه علوم سلولی (رویان)، پژوهشکده زیست‌شناسی و فناوری سلول‌های بنیادی جهاد دانشگاهی، تهران، ایران

مهدی توتونچی PhD

گروه ژنتیک و زیست پزشکی تولید مثل، پژوهشکده زیست‌شناسی و فناوری سلول‌های بنیادی جهاد دانشگاهی، تهران، ایران

مرضیه ابراهیمی* PhD

پژوهشگاه علوم سلولی (رویان)، پژوهشکده زیست‌شناسی و فناوری سلول‌های بنیادی جهاد دانشگاهی، تهران، ایران

چکیده

سرطان معده پنجمین سرطان شایع در جهان است. به نظر می‌رسد که سلول‌های بنیادی واقع در تومور از خاصیت جاودانگی برخوردار بوده و مسئول مقاومت به درمان، بازگشت تومور و متاستاز باشند. امروزه مشخص شده است که miRNAها که از دسته RNAهای کوچک غیرکدکننده هستند نقش مهمی در تنظیم فعالیت سلول‌های بنیادی سرطان دارند. بنابراین هدف مطالعه مروری حاضر، معرفی miRNAهایی است که در تنظیم هر سه خصوصیت بنیادینگی، متاستاز و مقاومت به دارو دخیل هستند. با شناسایی این miRNAها، می‌توان از آنها به‌عنوان نشانگرهای زیستی در تشخیص و هدف‌گیری به‌منظور درمان هرچه بهتر سرطان بهره برد. در این مطالعه با استفاده از مرور سیستماتیک و داده‌کاوی، هفت miRNA شامل miR-100، miR-107، miR-19b، miR-34a، miR-23a، miR-27a، 30a مسیر بنیادینگی، متاستاز و مقاومت به دارو در سرطان معده بودند و همچنین ۵۲ عدد ژن هدف به دست آمد که از مهم‌ترین ژن‌های آن می‌توان به *AXL*، *CD44*، *CD24*، *SIRT1*، *NOTCH2*، *NOTCH1*، *CDK6* و *MYC* اشاره کرد که در تنظیم چندین فرآیند زیستی دخالت دارند.

کلیدواژه‌ها: سرطان معده، miRNA، متاستاز، سلول بنیادی، مقاومت به دارو

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۸/۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۲۴

*نویسنده مسئول: mebrahimi@royaninstitute.org

مقدمه

سرطان معده پنجمین سرطان شایع در جهان [1] و دومین سرطان شایع در مردان ایرانی است. نرخ سرطان معده در ایران در جمعیت ۱۰۰۰۰ نفری به‌ترتیب در مردان و زنان ۱۸.۷٪ و ۱۱.۱٪ است [2]. از مشکلات بیماران مبتلا به سرطان معده، عدم پاسخ مناسب به درمان، ایجاد مقاومت دارویی و نیز گسترش و متاستاز سلول‌های سرطانی در بدن بیمار بوده که منجر به افزایش میزان مرگ در این بیماران می‌شود. به‌تازگی، فرضیه‌ای ارایه شده است که زیرمجموعه نادری از سلول‌های توموری به نام سلول‌های بنیادی سرطانی (CSC) وجود دارد که می‌توانند علت تشکیل تومور، عود، متاستاز، و مقاومت در برابر درمان‌های رایج در نظر گرفته شوند [3]. در حقیقت اکثر درمان‌ها قادر به از بین بردن سلول‌های سرطانی هستند اما قادر به ریشه‌کنی سلول‌های بنیادی سرطان نیستند [4].

در سال‌های اخیر علی‌رغم پیشرفت در درمان بیماران مبتلا به سرطان معده و به‌کارگیری درمان‌های متفاوت، هنوز هم میزان بقای بیماران چندان رضایت‌بخش نیست. این بیماری پیش‌آگهیضعیفی داشته و اغلب در مراحل اولیه بدون علامت است، بنابراین

معمولاً بیماری در حالت توسعه‌یافته و در فرم متاستاز تشخیص داده می‌شود. به این ترتیب یافتن روش‌هایی که به تشخیص زودهنگام بیماری کمک نماید مورد توجه محققان این حوزه است [5]. تشخیص از طریق نشانگرهای مولکولی به‌دلیل ارزان بودن، خاصیت غیرتهاجمی آن و استفاده گسترده در بسیاری از مراکز درمانی و تشخیصی مورد استقبال و توجه بسیاری است. امروزه آنتی‌ژن‌ها به‌عنوان نشانگرهایی برای تشخیص سرطان معده استفاده می‌شود. با این وجود نیاز به نشانگرها و بیومارکرهای جدید حایز اهمیت بوده و در اولویت قرار می‌گیرد [6]. miRNAها از جمله مولکول‌های RNA کوچک غیرکدکننده دارای ۱۸-۲۴ نوکلئوتید هستند که به‌عنوان عوامل تنظیمی می‌توانند به ناحیه ۳'-UTR مربوط به mRNAهای هدف متصل شده و بیان ژن‌ها را در سطح بعد از رونویسی، از طریق کاهش پایداری و سپس تجزیه mRNA هدف یا مهار ترجمه پروتئین تنظیم کنند [7]. این مولکول‌های کوچک می‌توانند چندین ژن را به‌طور هم‌زمان مورد هدف قرار دهند و به‌عنوان انکومیر یا سرکوب‌کننده تومور شناخته شده‌اند [8]. با توجه به این که بیش از ۵۰٪ ژن‌های miRNA، در نواحی ژنومی مرتبط با سرطان قرار گرفته‌اند و از ساختار پایداری نیز برخوردارند [9]، به‌عنوان اهداف امیدوارکننده‌ای برای شناسایی مراحل گسترش و حتی درمان سرطان شناخته می‌شوند [10]. همچنین miRNAهایی می‌توانند تومور متاستاتیک را، به‌وسیله تنظیم بیان تعداد زیادی از ژن‌های هدف، مهار یا فعال کنند [11]، سبب افزایش یا کاهش ویژگی‌های خودنوزایی CSC شوند و در کسب مقاومت دارویی یا کاهش مقاومت نسبت به درمان‌های معمول موثر باشند [12, 13].

امروزه در دانش پزشکی حجم داده‌های مربوط به علایم بیماران مبتلا به بیماری‌های گوناگون و رویکردهای کمکی برای تشخیص این بیماری‌ها، شکل بسیار وسیع و گسترده‌ای به خود گرفته است، به‌طوری که عموماً تحلیل و درنظرگرفتن کلیه عوامل دخیل توسط یک فرد، امری دشوار به نظر می‌رسد. بنابراین به یک سیستم مکانیزه برای شناسایی الگوهای موجود و پیش‌بینی رخدادهای آینده، کاملاً احساس می‌شود. تکنیک‌های داده‌کاوی Data Mining، کمک شایانی در پیشرفت پزشکی به‌ویژه در زمینه تشخیص بیماری‌های گوناگون و به‌دست‌آوردن روابط مفید میان عوامل موجود در داده‌ها، کرده است [14].

با توجه به نقش و عملکرد وسیع miRNAها در سلول‌های سالم و توموری، هدف این مقاله مروری، استفاده از ابزار داده‌کاوی به‌منظور معرفی miRNAهایی است که قادر به تنظیم همزمان ویژگی‌های بنیادینگی، متاستاز و مقاومت به دارو در سرطان معده است.

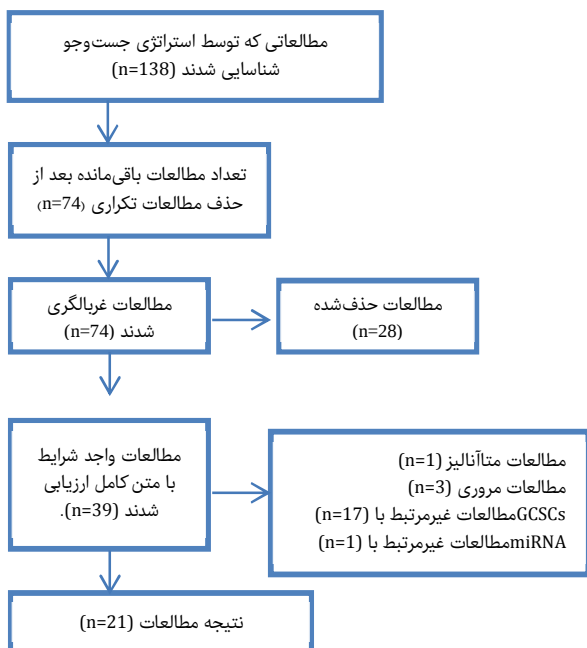
مواد و روش‌ها

مراحل استراتژی جست‌وجو و اجرای مطالعه

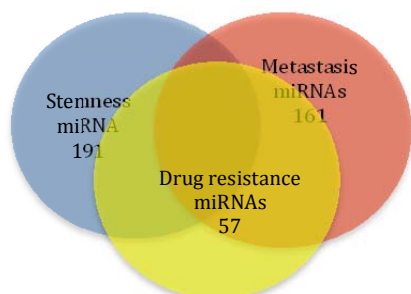
در این مطالعه، در مرحله اول، براساس داده‌کاوی در مقالات و از طریق پایگاه داده (www.ncbi.nlm.nih.gov/) و با استفاده از واژه‌های جستجوی "stem cell" یا "sphere" یا "SP cell" (side population) و "profile miRNA" یا "Profile" و "microRNA" و "gastric cancer"، مقالات موجود در این حوزه جمع‌آوری شد. چکیده مقالات مورد بررسی قرار گرفت و مطالعات تکراری یا مطالعاتی که در عنوان یا چکیده آنها در خصوص لول‌های بنیادی سرطان معده یا miRNA اطلاعاتی نداشتند، حذف شدند.

در مرحله دوم، برای به‌دست‌آوردن miRNAهای تنظیم‌کننده متاستاز در سرطان معده، ابتدا وارد پایگاه داده

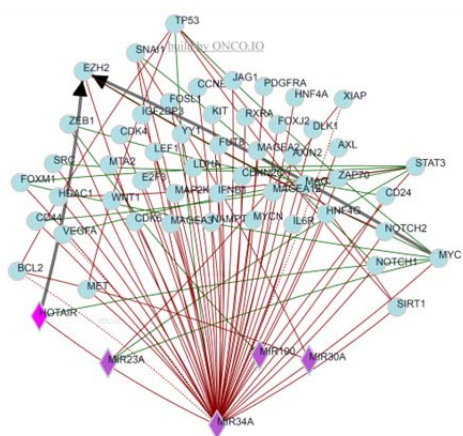
داده‌کای به‌عنوان ابزاری برای شناخت miRNAهای تنظیم‌کننده بنیادینگی، متاستاز... ۲۵۷ شبکه‌ای از ژن‌های هدف برهم‌کنش داشتند (شکل ۳). این اهداف ژنی در تنظیم فرآیندهای زیستی همچون تهاجم، تکثیر، مهاجرت و آپوپتوز بیشترین تاثیر را اعمال می‌کردند. در جدول ۳ میزان اثرگذاری اهداف چهار miR-23a، miR-30a، miR-100 و miR-34a در تنظیم این فرآیندهای زیستی نشان داده شده است.



شکل ۱) فلوجرام استراتژی جست‌وجو در مطالعه سیستماتیکی حاصل از پایگاه داده PubMed



شکل ۲) نمودار ون که نشان‌دهنده miRNAهای مشترک در هر سه مسیر است.



شکل ۳) شبکه‌ای از تفاوت بیان ژن‌های هدفمند چهار miRNA: اشکال دایره و لوزی به‌ترتیب نشان‌دهنده ژن‌های هدف میکروRNAها است. پیکان قرمز و سبز به‌ترتیب نشان‌دهنده مهارکننده و فعال‌کننده است. پیکان ضخیم و مشکی به معنی برهم‌کنش بین دو ژن است.

(www.coremine.com/) شده و از کلیدواژه‌های “gastric cancer”، “metastasis”، “miRNA” استفاده شد. سپس dataset مربوطه را دانلود کرده و برای آنالیز از نرم‌افزار R استفاده شد که در آخر لیستی از miRNAهای تنظیم‌کننده متاستاز در اختیار ما قرار می‌دهد.

در مرحله سوم تحقیق، با استفاده از پایگاه داده CORMINE، از کلیدواژه‌های “drug resistance”، “gastric cancer” و “miRNA” استفاده شد و طبق مرحله دوم، لیست miRNAهای تنظیم‌کننده ویژگی سوم یعنی اثر مقاومت به دارو نیز آنالیز شدند.

اهداف miRNA

miRNAها به دفعات و در بسیاری از سرطان‌ها تغییر بیان دارند که نشان‌دهنده این موضوع است که این miRNAها در مسیرهای سیگنالی اصلی که در بسیاری از انواع بدخیمی‌ها تغییر می‌کنند، شرکت دارند که برای یافتن مسیرهای سیگنالی miRNA، نیاز به ژن‌های هدف miRNA است. بنابراین با استفاده از پایگاه داده (<http://amp.pharm.mssm.edu/Enrichr/>) و تجزیه و تحلیل عملکردی توسط (www.genome.jp/kegg/)، مسیرهای عملکردی که توسط این miRNAها تنظیم می‌شود به دست آمد و نقش هر کدام از اهداف miRNA در تنظیم فرآیندهای سلولی از قبیل تکثیر، مقاومت دارویی، آپوپتوز، تهاجم و متاستاز مشخص شد.

ایجاد یک مدل شبکه‌ای از ژن‌های هدف و miRNA

از آنجایی که عملکرد miRNAها از طریق تنظیم‌کننده‌های ژن هدف آن مشخص می‌شود، بنابراین برای نشان‌دادن بهتر برهم‌کنش‌های بین پروتئین-miRNA یا ژن-miRNA از یک مدل شبکه‌ای استفاده شد که برای به‌دست‌آوردن شبکه تنظیمی، از پایگاه داده (<http://onco.io>) استفاده شد.

یافته‌ها

تعداد ۱۳۸ مقاله براساس جستجو در پایگاه اطلاعاتی PubMed و براساس کلیدواژگان ذکرشده در قسمت روش مطالعه به دست آمد که تنها ۲۱ مقاله شرایط لازم برای ورود به این مطالعه را داشتند. از مقالات موجود، ۷۴ مطالعه به‌دلیل تکراری بودن، ۲۸ مطالعه پس از بررسی عنوان و چکیده و تعداد ۲۲ مطالعه به‌دلیل بازخورد پایین راجع در این تحقیق لحاظ نشدند (شکل ۱).

بررسی ۲۱ مطالعه انتخاب‌شده نشان داد که ۱۹۱ miRNA در تنظیم خاصیت بنیادینگی در سلول‌های بنیادی سرطان معده دخالت دارند (جدول ۱).

در مرحله دوم و سوم به‌ترتیب تعداد ۱۶۱ و ۵۷ miRNA موثر در فرآیند متاستاز و مقاومت به دارو با استفاده از پایگاه داده Coremine مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲). سپس اشتراک miRNAهای دخیل در هر سه فرآیند گرفته شد که به این ترتیب هفت miRNA (miR-34a، miR-23a، miR-27a، miR-30a، miRNA 100، miR-19b، miR-107، miR-100) طی این مطالعه به دست آمد که در تنظیم هر سه فعالیت زیستی در سرطان معده شرکت داشتند (شکل ۲).

بررسی شبکه تنظیمی ژن‌های هدف miRNA

برای به‌دست‌آوردن شبکه تنظیمی هفت miRNA موثر در تنظیم بنیادینگی، متاستاز و مقاومت دارویی، از پایگاه داده (<http://onco.io>) استفاده شد. نتایج نشان داد که miR-100، miR-30a، miR-23a و miR-34a به‌طور قابل توجهی در

Stemness miRNAs							
hsa-miR-4270	hsa-miR-106b	hsa-miR-940	hsa-miR-193a	hsa-miR-4769	hsa-miR-4323	hsa-miR-125b	hsa-miR-4284
hsa-miR-642b	hsa-miR-4497	hsa-miR-5571	hsa-miR-23a	hsa-miR-4687	hsa-miR-4758	hsa-miR-92b	hsa-miR-22
hsa-miR-4669	hsa-miR-30a	hsa-miR-602	hsa-miR-638	hsa-miR-320a	hsa-miR-1228	hsa-miR-1539	hsa-miR-3162
hsa-miR-4290	hsa-miR-423	hsa-miR-1280	hsa-miR-17	hsa-miR-320e	hsa-miR-4698	hsa-miR-933	hsa-miR-4701
hsa-miR-483	hsa-miR-1273g	hsa-miR-191	hsa-miR-422a	hsa-miR-320d	hsa-let-7b	hsa-miR-24	hsa-miR-151a
hsa-miR-4778	hsa-miR-25	hsa-miR-1973	hsa-miR-3665	hsa-miR-642a	hsa-miR-1238	hsa-miR-324	hsa-miR-27a
hsa-miR-451b	hsa-miR-1237	hsa-miR-494	hsa-miR-378a	hsa-miR-320b	hsa-miR-1267	hsa-miR-20a	hsa-miR-193b
hsa-miR-4763	hsa-miR-1281	hsa-miR-4649	hsa-miR-125a	hsa-let-7i	hsa-miR-3676	hsa-miR-4484	hsa-miR-21
hsa-miR-4281	hsa-miR-103a	hsa-miR-129-1	hsa-miR-3656	hsa-let-7a	hsa-miR-4436b	hsa-miR-100	hsa-miR-181a
hsa-miR-1246	hsa-miR-1587	hsa-miR-4310	hsa-miR-4516	hsa-miR-197	hsa-miR-1234	hsa-miR-4787	hsa-miR-29a
hsa-miR-1207	hsa-miR-4507	hsa-miR-4664	hsa-miR-196b	hsa-miR-3960	hsa-miR-4666b	hsa-miR-223	hsa-miR-4465
hsa-miR-1202	hsa-miR-1825	hsa-miR-3195	hsa-miR-1268a	hsa-let-7f	hsa-miR-33b	hsa-miR-4313	hsa-miR-1227
hsa-miR-4652	hsa-miR-196a	hsa-miR-548ai	hsa-miR-720	hsa-let-7e	hsa-miR-92a	hsa-miR-563	hsa-miR-29b-1
hsa-miR-4730	hsa-miR-15b	hsa-miR-4530	hsa-miR-2861	hsa-let-7g	hsa-miR-4312	hsa-miR-129-2	hsa-miR-4728
hsa-miR-1249	hsa-miR-4741	hsa-miR-4665	hsa-miR-5001	hsa-miR-5195	hsa-miR-762	hsa-miR-3190	hsa-miR-4257
hsa-miR-4299	hsa-miR-1225	hsa-miR-3614	hsa-miR-23b	hsa-miR-574	hsa-miR-23c	hsa-miR-361	hsa-miR-498
hsa-miR-320c	hsa-miR-3651	hsa-miR-3180	hsa-miR-1260a	hsa-miR-107	hsa-miR-4515	hsa-miR-4788	hsa-miR-210
hsa-miR-4739	hsa-miR-3675	hsa-miR-30d	hsa-miR-4485	hsa-let-7d	hsa-miR-4505	hsa-miR-3613	hsa-miR-4721
hsa-miR-4646	hsa-miR-224	hsa-miR-4749	hsa-miR-4466	hsa-miR-34a	hsa-miR-4725	hsa-miR-766	hsa-miR-181b
hsa-miR-1275	hsa-miR-4443	hsa-miR-3653	hsa-miR-365a	hsa-miR-16	hsa-miR-4433	hsa-miR-149	hsa-miR-425
hsa-miR-4459	hsa-miR-550a	hsa-let-7f-1	hsa-miR-331	hsa-miR-4454	hsa-miR-575	hsa-miR-302b	hsa-miR-27b
hsa-miR-5010	hsa-miR-1304	hsa-miR-2116	hsa-miR-93	hsa-miR-30e	hsa-miR-130b	hsa-miR-301a	hsa-miR-375
hsa-miR-362	hsa-miR-140	hsa-miR-130a	hsa-miR-1260b	hsa-miR-338-5p	hsa-miR-18a	hsa-miR-19b	hsa-miR-663
miR-524	miR-106b	hsa-miR-339	hsa-miR-1915	hsa-miR-500	hsa-miR-182	hsa-miR-92	hsa-miR-203

جدول (۲) miRNAهای تنظیم‌کننده متاستاز و مقاومت به دارو

Metastatic miRNAs				Drug-resistance miRNAs		
hsa-miR-141	hsa-miR-137	hsa-miR-449	hsa-miR-128	hsa-miR-516	hsa-miR-30a	hsa-miR-508-5p
hsa-miR-133	hsa-miR-20	hsa-miR-222	hsa-miR-374	hsa-miR-675	hsa-miR-126	hsa-miR-103
hsa-miR-196	hsa-miR-25	hsa-miR-31	hsa-miR-374	hsa-miR-198	hsa-miR-34a	hsa-miR-129-5p
hsa-miR-145	hsa-miR-155	hsa-miR-1	hsa-miR-150	hsa-miR-33	hsa-miR-181a	hsa-miR-218
hsa-miR-27	hsa-miR-107	hsa-miR-24	hsa-miR-363	hsa-miR-365	hsa-miR-101	hsa-miR-23b-3p
hsa-miR-9	hsa-miR-223	hsa-miR-18A	hsa-miR-1271	hsa-miR-542	hsa-miR-140	hsa-miR-23a
hsa-miR-218	hsa-miR-182	hsa-miR-494	hsa-miR-638	hsa-miR-663	hsa-miR-197	hsa-miR-20a
hsa-miR-124	hsa-miR-421	hsa-miR-486	hsa-miR-373	hsa-miR-495	hsa-miR-21	hsa-miR-34c-5p
hsa-miR-10	hsa-miR-139	hsa-miR-192	hsa-miR-362	hsa-miR-296	hsa-miR-223	let-7g
hsa-miR-126	hsa-miR-204	hsa-miR-497	hsa-miR-410	hsa-miR-211	hsa-miR-520h	hsa-miR-132
hsa-miR-125	hsa-miR-17	hsa-miR-217	hsa-miR-625	hsa-miR-483	hsa-miR-181b	hsa-miR-224
hsa-miR-101	hsa-miR-185	hsa-miR-214	hsa-miR-103	hsa-miR-499	hsa-miR-497	hsa-miR-338
hsa-miR-129	hsa-miR-210	hsa-miR-195	hsa-miR-503	hsa-miR-377	hsa-miR-503	hsa-miR-365
hsa-miR-181	hsa-miR-215	hsa-miR-132	hsa-miR-543	hsa-miR-504	hsa-miR-143	hsa-miR-424
hsa-miR-338	hsa-miR-16	hsa-miR-144	hsa-miR-1266	hsa-miR-519	hsa-miR-449a	hsa-miR-452
hsa-miR-143	hsa-miR-451	hsa-miR-1225	hsa-miR-622	hsa-miR-490	hsa-miR-15b	hsa-miR-98
hsa-miR-203	hsa-miR-7	hsa-miR-378	hsa-miR-505	hsa-miR-367	hsa-miR-16	hsa-miR-200a
hsa-miR-30	hsa-miR-135	hsa-miR-429	hsa-miR-122	hsa-miR-329	hsa-miR-204	hsa-miR-200b
hsa-miR-23	hsa-miR-17-92	hsa-miR-372	hsa-miR-650	hsa-miR-339	hsa-miR-19a	hsa-miR-200c
hsa-miR-605	hsa-miR-95	hsa-miR-520	hsa-miR-219	hsa-miR-337	hsa-miR-106a	hsa-miR-141
hsa-miR-570	hsa-miR-665	hsa-miR-224	hsa-miR-340	hsa-miR-610	hsa-miR-1271	hsa-miR-429
hsa-miR-184	hsa-miR-342	hsa-miR-15	hsa-miR-326	hsa-miR-574	hsa-miR-19b	hsa-miR-7
hsa-miR-629	hsa-miR-573	hsa-miR-197	hsa-miR-127	hsa-miR-328	hsa-miR-107	hsa-miR-31
hsa-let7	hsa-miR-513	hsa-miR-1290	hsa-miR-99	hsa-miR-142	hsa-miR-145	hsa-miR-372
hsa-miR-18	hsa-miR-202				hsa-miR-373	hsa-miR-99b-5p
					hsa-miR-342	hsa-miR-125a-5p
					hsa-miR-1	let-7e-5p
					hsa-miR-27a	hsa-miR-100-5p
					hsa-miR-423-5p	

جدول (۳) عملکرد ۵۲ عدد از ژن‌های هدف مربوط به چهار miRNA در تنظیم فرآیند های مهم زیستی، برخی از این ژن‌ها در تنظیم چند فرآیند زیستی به‌طور مشترک دخالت دارند.

فرآیند	تعداد ژن	ژن
تهاجم	۱۸	<i>SNAI1, MYC, MET, NOTCH1, NOTCH2, CDK6, JAG1, CDK6, STAT3, FOSL1, DLK1, KIT, CD24, SRC, IL6R, HOTAIR, HNF4G, FUT8</i>
تکثیر	۱۵	<i>AXL, MYC, MET, NOTCH1, NOTCH2, CDK6, MAP2K1, SIRT1, DLK1, CD44, HOTAIR, HNF4G, HDAC1, IGF2BP3, EZH2</i>
مهاجرت	۱۰	<i>SNAI1, MYC, MET, YY1, FOSL1, KIT, CD44, CD24, SRC, FUT8</i>
آپوپتوز	۱۰	<i>TP53, AXL, MET, CDK6, SIRT1, DLK1, HDAC1, XIAP, IGF2BP3, BCL2</i>
مقاومت دارویی	۶	<i>AXL, SIRT1, MAGEA2, MAGEA3, MAGEA6, MAGEA12</i>
متاستاز	۵	<i>YY1, CDK6, NOTCH2, NOTCH1, CD44</i>
EMT	۳	<i>STAT3, IL6R, CD24</i>
بنیادینگی	۲	<i>MYC, CD24</i>

متاستاز انتخاب شدند. رویکردهای بیوانفورماتیکی پتانسیل قابل توجهی را در تحقیقات زیست پزشکی نشان داده‌اند. این رویکردها فضای جستجو را کاهش داده و نتایج احتمالی و معنی‌دار بیولوژیکی را افزایش می‌دهند. ادغام داده‌های بیان miRNA و ژن با ابزارهای تجزیه و تحلیل محاسباتی به ما در بررسی نقش miRNAها در پیشرفت سرطان و متاستاز و نقش بالقوه آنها به‌عنوان عوامل درمانی در درمان سرطان کمک شایانی می‌نماید[15]. برای درک برهم‌کنش‌های بین پروتئین‌ها یا ژن‌ها و ادغام آنها با miRNAها می‌توان از یک مدل شبکه‌ای استفاده نمود. به‌منظور پیش‌بینی این مدل، شبکه‌ای بین miRNA و اهداف آنها ایجاد شد و برهم‌کنش آنها با یکدیگر مشخص شد. این مدل‌ها ما را به شناخت مکانیزم و عملکرد miRNAها آسان‌تر می‌کند.

در این مطالعه با استفاده از مرور سیستماتیک و آنالیزهای بیوانفورماتیکی، هفت miRNA شامل miR-107، miR-100، miR-19b، miR-30a، miR-27a، miR-23a و miR-34a به دست آمد که به‌صورت بالقوه در ایجاد حساسیت توده سرطانی معده به شیمی‌درمانی یا دارودرمانی می‌توانند استفاده شوند که چهار عدد از آنها (miR-100، miR-30a، miR-23a و miR-34a) در برهم‌کنش بین همدیگر توسط ژن‌های هدف به‌منظور تنظیم فرآیندهای مهم سلولی و همچنین مسیرهای سیگنالی نقش بسزایی ایفا می‌کنند.

براساس پایگاه داده (<http://mircancer.ecu.edu/>)، از میان هفت miRNA کاندید شده، شش عدد از آنها در سرطان معده افزایش بیان دارند. پیشنهاد می‌شود که این دسته از miRNAها به‌عنوان انکومیر (Oncomir) عمل می‌کنند که ممکن است فعالیت سرطان‌زایی داشته باشند. این دسته از miRNAها شامل miR-100، miR-107، miR-19b، miR-30a، miR-27a و miR-23a هستند. در صورتی که miRNAهای دیگری در سرطان‌های متعددی کاهش بیان دارند و به‌عنوان مهارکننده تومور عمل می‌کنند که در این مجموعه miR-34a در سرطان معده کاهش بیان داشته که می‌تواند باعث مهار تهاجم، متاستاز و عود مجدد تومور، شوند[16-21]. لازم به ذکر است که miR-100 به‌عنوان انکومیر و هم به‌عنوان مهارکننده تومور مشاهده شده است[22، 23].

miR-34a یکی از چهار miRNA اصلی تنظیم‌کننده بسیاری از ژن‌های هدف است (شکل ۳). در سرطان معده با تنظیم مسیر PI3K/AKT/survivin، موجب مرگ سلول‌های سرطان معده توسط سیسپلاتین می‌شود. بدین‌معنی که بیان بیش از حد miR-34a باعث پیشرفت حساسیت سلول‌های سرطانی معده در برابر شیمی‌درمانی مبتنی بر سیسپلاتین می‌شود که مسیر سیگنالی PI3K/AKT/survivin در این مکانیزم دخیل است[20].

miR-34a با هدف قراردادن ژن‌های *Notch*، *HMGA2* و *Bcl-2* در خودنوزایی و زنده‌مانی سلول‌های بنیادی سرطان نقش دارد و باعث مهار رشد سلول و سبب ایجاد حساسیت به شیمی‌درمانی و آپوپتوز در سلول‌های سرطان معده (که جهش در ژن *p53* آن مشاهده شده است) می‌شود[20].

افزایش بیان miR-34a موجب سرکوب تهاجم و القای آپوپتوز از طریق مهار مسیر سیگنالی PI3K/Akt در یکی از رده‌های سلولی سرطان معده به نام SGC-7901 می‌شود[21].

miR-23a و miR-23b متعلق به خوشه miR-23a/24/27a هستند. در مطالعه گانگ‌ما و همکاران گزارش شده است که این خوشه در لوسمی لنفوبلاستی حاد، لوسمی حاد مایلوئیدی و

تنظیم مسیرهای سیگنالی سلول توسط miRNA در توسعه سرطان

برای یافتن مسیرهای پیام‌دهی تحت کنترل miRNAها، لیست ژن‌های هدف این چهار miRNA (miR-34a، miR-23a، miR-100، miR-30a) به دست آمد. نتایج نشان داد که ۵۲ ژن توسط این چهار miRNA تنظیم می‌شوند (جدول ۴). بررسی ژن‌های هدف با استفاده از پایگاه داده EnrichR و تجزیه و تحلیل عملکردی آنها توسط پایگاه KEGG نشان داد که این چهار miRNA در تنظیم ۱۰ مسیر سیگنال‌دهی سلول شامل مسیرهای موثر در سرطان، مسیرهای تنظیم‌کننده مسیرهای دخیل در سرطان، مسیر سیگنالی، مسیر هپاتیت B، مسیر سرطانی سلول کوچک ریه، مسیر سرطان مثانه، مسیر سرطان پانکراس، مسیر ملانوما، مسیر متابولیسم مرکزی کربن در سرطان، مسیر سیگنالی هورمون تیروئید به‌طور معنی‌داری دخالت دارند (جدول ۵). همان‌طور که مشاهده می‌شود، اکثر این مسیرها شناخته شده و وابسته به سرطان هستند.

جدول ۴) لیست اهداف ۴ miRNA انتخابی از نظر موقعیت مکانی

ژن‌های بالادست	ژن‌های پایین‌دست
<i>IFNB1</i>	<i>FOSL1</i>
<i>ZAP70</i>	<i>MAGEA2</i>
<i>DLK1</i>	<i>MAGEA3</i>
<i>KIT</i>	<i>FUT8</i>
<i>CD24</i>	<i>FOXJ2</i>
<i>CD44</i>	<i>MAGEA6</i>
	<i>MAGEA12</i>
	<i>SRC</i>
	<i>MAP2K1</i>
	<i>AXIN2</i>
	<i>SIRT1</i>
	<i>CDKN2C</i>
	<i>PDGFRA</i>
	<i>LEF1</i>
	<i>NAMPT</i>
	<i>FOXM1</i>
	<i>MET</i>
	<i>YY1</i>
	<i>NOTCH1</i>
	<i>JAG1</i>
	<i>NOTCH2</i>
	<i>HDAC1</i>
	<i>CDK6</i>
	<i>IGF2BP3</i>
	<i>MTA2</i>
	<i>WNT1</i>
	<i>LDHA</i>
	<i>BCL2</i>
	<i>XIAP</i>
	<i>VEGFA</i>
	<i>MYC</i>
	<i>IL6R</i>
	<i>RXRA</i>
	<i>HNF4A</i>
	<i>AXL</i>
	<i>MYCN</i>
	<i>CCNE2</i>
	<i>CDK4</i>
	<i>E2F3</i>
	<i>HNF4G</i>
	<i>STAT3</i>
	<i>EZH2</i>
	<i>HOTAIR</i>
	<i>SNAI1</i>

دسته‌ای از ژن‌ها در ناحیه بالادست و دسته‌ای در ناحیه پایین‌دست واقع شده‌اند.

جدول ۵) مسیرهای سیگنالی مورد هدف توسط چهار miRNA

رتبه	مسیرهای سرطانی	ارزش p
۱	مسیرهای موثر در سرطان	8.134e-18
۲	مسیرهای تنظیم‌کننده miRNAهای دخیل در سرطان	2.612e-18
۳	مسیر سیگنالی	4.343e-12
۴	مسیر هپاتیت B	4.343e-12
۵	مسیر سرطانی سلول کوچک ریه	2.711e-11
۶	مسیر سرطان مثانه	2.421e-10
۷	مسیر سرطان پانکراس	6.671e-9
۸	مسیر ملانوما	8.983e-9
۹	مسیر متابولیسم مرکزی کربن در سرطان	6.671e-9
۱۰	مسیر سیگنالی هورمون تیروئید	8.983e-9

این مسیرهای زیستی براساس بیشترین p-value رتبه‌بندی شده‌اند.

بحث

از آنجایی که miRNAها تاثیر بسزایی در تنظیم بیان ژن دارند و همچنین در سرطان‌های متعدد دارای بیان متمایزی هستند، هدف قراردادن آنها می‌تواند شانس زیادی برای حساس‌کردن سلول‌های سرطانی به عوامل درمانی برای جلوگیری از متاستاز را فراهم آورد[10].

اگرچه گزارشاتی در مورد وضعیت بیولوژیکی و تحقیقات بالینی miRNAهای موجود در سرطان معده وجود دارد، اما تاکنون هیچ‌گونه مطالعه سیستماتیک در ارتباط با کاندیدکردن miRNAهایی که هر سه ویژگی موثر در توسعه سرطان معده را دارند انجام نشده است. در این مطالعه با استفاده از رویکردهای بیوانفورماتیکی (پایگاه‌های داده و زبان برنامه‌نویسی R)، miRNAهای تنظیم‌کننده دو خصوصیت مقاومت دارویی و

قراردادن این miRNA ها یا اهداف آنها می‌تواند برای جلوگیری از رشد و متاستاز تومور مفید باشد. هرچند مطالعات بیشتری در زمینه مطالعات بالینی به‌منظور درک نقش بالقوه این میکروRNA ها در سرطان معده مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی: گروه پژوهشی الزام می‌دانند تا از کارشناسان و پرسنل محترم آزمایشگاه‌های پژوهشگاه رویان که صمیمانه محققین را یاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی را داشته باشند.

تاییدیه اخلاقی: پژوهش مورد نظر، مطابق مجوز اخلاق پزشکی پژوهشگاه رویان با شماره‌نامه اخلاق IR. ACECR. ROYAN. 1396. 230 تهیه شد.

تعارض منافع: نویسندگان اعلام می‌دارند هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

سهم نویسندگان: مهناز عظیمی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/ پژوهشگر اصلی (۳۰٪)، مهسا رحیمی (نویسنده دوم)، پژوهشگر کمکی (۱٪)، مهدی توتونچی (نویسنده سوم)، پژوهشگر کمکی (۹٪)، مرضیه ابراهیمی (نویسنده چهارم)، روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۶۰٪)

منابع مالی: مطالعه حال حاضر با حمایت مالی توسط پژوهشگاه رویان و موسسه ملی توسعه تحقیقات علوم پزشکی ایران (نیماد) انجام شده است.

منابع

- 1- NCD Management Unit. Cancer [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2015 [cited 2016 Nov 24]. Available from: <http://www.who.int/cancer/en/>
- 2- Stewart B, Wild CP. World cancer report. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2015.
- 3- Tan BT, Park CY, Ailles LE, Weissman IL. The cancer stem cell hypothesis: A work in progress. Lab Invest. 2006;86(12):1203-7.
- 4- Han L, Shi S, Gong T, Zhang Z, Sun X. Cancer stem cells: Therapeutic implications and perspectives in cancer therapy. Acta Pharmaceutica Sinica B. 2013;3(2):65-75.
- 5- Takahashi T, Saikawa Y, Kitagawa Y. Gastric cancer: Current status of diagnosis and treatment. Cancers (Basel). 2013;5(1):48-63.
- 6- Fang X, Wei J, He X, An P, Wang H, Jiang L, et al. Landscape of dietary factors associated with risk of gastric cancer: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. Eur J Cancer. 2015;51(18):2820-32.
- 7- Gao Y, Feng B, Han S, Zhang K, Chen J, Li C, et al. The roles of microRNA-141 in human cancers: From diagnosis to treatment. Cell Physiol Biochem. 2016;38(2):427-48.
- 8- Chen CZ. MicroRNAs as oncogenes and tumor suppressors. N Engl J Med. 2005;353(17):1768-71.
- 9- Sang Q, Yao Z, Wang H, Feng R, Wang H, Zhao X, et al. Identification of microRNAs in human follicular fluid: characterization of microRNAs that govern steroidogenesis in vitro and are associated with polycystic ovary syndrome in vivo. J Clin Endocrinol Metab. 2013;98(7):3068-79.
- 10- Raza U, Zhang JD, Şahin Ö. MicroRNAs: Master regulators of drug resistance, stemness, and metastasis. J Mol Med (Berl). 2014;92(4):321-36.
- 11- Zhou L, Liu F, Wang X, Ouyang G. The roles of microRNAs in the regulation of tumor metastasis. Cell Biosci. 2015;5:32.
- 12- Liu C, Kelnar K, Liu B, Chen X, Calhoun-Davis T, Li H,

سرطان پانکراس افزایش بیان داشته‌اند. هر دو این miRNA ها به‌طور قابل توجهی در بافت‌های سرطان معده نیز نسبت به بافت نرمال آن، افزایش بیان داشته و به‌عنوان انکومیر در این بدخیمی شناخته شده‌اند [24].

miR-23a با مهارکردن ژن‌های *ATG12* و *HMGB2* که در ارتباط با وقوع اتوفازای هستند، می‌تواند باعث تنظیم حساسیت سلول‌های سرطان معده به شیمی‌درمانی شود و نقش بالقوه‌ای در پیش‌بینی و درمان مقاومت دارویی داشته باشد [25].

سرکوب ژن *PTEN* توسط miR-23a منجر به فعال‌سازی مسیرهای *AKT/ERK* و *EMT* در سلول‌های سرطان معده می‌شود و در نهایت باعث افزایش فعالیت تکثیر و جابه‌جایی سلول‌های سرطان معده و رشد تومور در مدل‌های موشی می‌شود [26].

سطح بیان miR-100، در بافت‌های سرطان معده به‌طور معنی‌داری کاهش یافته بود [23] اما در یک مطالعه سطح بیان آن در بافت کارسینوما معده افزایش یافته است [23].

سرکوب miR-27a باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی می‌شود. پروتئینی به نام پروهیبیتین (*Prohibitin*) به‌عنوان هدف بالقوه‌ای برای مهار این انکومیر شناخته شده است. در نتیجه مهار این پروتئین توسط miR-27a ممکن است پاسخ‌گوی این سؤال باشد که چرا سرکوب miR-27a می‌تواند رشد سلول‌های سرطانی معده را مهار کند [27]. همچنین مهار این miRNA باعث جلوگیری از تکثیر و مقاومت دارویی در سلول‌های سرطان معده می‌شود، در نتیجه می‌تواند به‌عنوان یک هدف برای درمان سرطان عمل کند [27].

miR-19b با هدف قراردادن ژن *MXD1* که یک ژن سرکوب‌کننده تومور است، باعث القای متاستاز در سرطان معده می‌شود [28] و همچنین با هدف قراردادن ژن *PTEN* باعث تنظیم مقاومت چنددارویی که دلیل اصلی شکست سرطان معده در شیمی‌درمانی است، می‌شود [28].

miR-107 در تکثیر، تهاجم، متاستاز نقش دارند. در یک مطالعه که توسط لی و همکاران انجام شد، نشان داد که این miRNA با هدف قراردادن ژن *DICER1* باعث القای متاستاز و تهاجم می‌شود [29]. همچنین این miRNA در تنظیم تکثیر و آپوپتوز با هدف قراردادن فاکتور رونویسی *FOXO1* نقش دارد [29, 30]. از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به عدم دسترسی در استفاده از برخی از پایگاه داده‌ها و نبود دیتاست‌های کافی مرتبط با سلول‌های بنیادی سرطان معده اشاره کرد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از مرور سیستماتیک و آنالیزهای بیوانفورماتیک انجام شده در این مقاله نشان می‌دهد که سه خصوصیت مهم دخیل در تشکیل سرطان معده می‌توانند توسط miRNA های مشترک تنظیم شوند. از آنجایی که مطالعات متعددی در ارتباط با نقش سلول‌های بنیادی در تشکیل متاستاز گزارش شده است و از طرف دیگر ویژگی مقاومت به دارو یکی از علل اصلی شکست درمان در بیماران مبتلا به سرطان معده است، بر آن شدیم که از بیومارکرهای تنظیم‌کننده هر سه مسیر استفاده کنیم که تعداد هفت miRNA کلیدی انتخاب شدند و از این میان، چهار عدد (miR-30a, miR-23a و miR-34a) از آنها در تنظیم مسیرهای در ارتباط با ایجاد سرطان، تاثیر مهمی داشتند. بنابراین، هدف

2016;11(4):2661-7.

22- Ma G, Dai W, Sang A, Yang X, Gao C. Upregulation of microRNA-23a/b promotes tumor progression and confers poor prognosis in patients with gastric cancer. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(12):8833-40.

23- An Y, Zhang Z, Shang Y, Jiang X, Dong J, Yu P, et al. miR-23b-3p regulates the chemoresistance of gastric cancer cells by targeting ATG12 and HMGB2. *Cell Death Dis*. 2015;6:e1766.

24- Li L, Zhang J, Pan Q, Lei C. MicroRNA-23a regulates cell migration and invasion by target PTEN in gastric cancer. *Int J Clin Exp Pathol*. 2016;9(2):877-87.

25- Chen Z, Liu X, Hu Z, Wang Y, Liu M, Liu X, et al. Identification and characterization of tumor suppressor and oncogenic miRNAs in gastric cancer. *Oncol Lett*. 2015;10(1):329-36.

26- Li X, Zhang Y, Zhang H, Liu X, Gong T, Li M, et al. miRNA-223 promotes gastric cancer invasion and metastasis by targeting tumor suppressor EPB41L3. *Mol Cancer Res*. 2011;9(7):824-33.

27- Zhao X, Yang L, Hu J. Down-regulation of miR-27a might inhibit proliferation and drug resistance of gastric cancer cells. *J Exp Clin Cancer Res*. 2011;30(1):55.

28- Wang F, Li T, Zhang B, Li H, Wu Q, Yang L, et al. MicroRNA-19a/b regulates multidrug resistance in human gastric cancer cells by targeting PTEN. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013;434(3):688-94.

29- Li X, Zhang Y, Shi Y, Dong G, Liang J, Han Y, et al. MicroRNA-107, an oncogene microRNA that regulates tumour invasion and metastasis by targeting DICER1 in gastric cancer. *J Cell Mol Med*. 2011;15(9):1887-95.

30- Li F, Liu B, Gao Y, Liu Y, Xu Y, Tong W, et al. Upregulation of microRNA-107 induces proliferation in human gastric cancer cells by targeting the transcription factor FOXO1. *FEBS Lett*. 2014;588(4):538-44.

et al. The microRNA miR-34a inhibits prostate cancer stem cells and metastasis by directly repressing CD44. *Nat Med*. 2011;17(2):211-5.

13- Magee P, Shi L, Garofalo M. Role of microRNAs in chemoresistance. *Ann Transl Med*. 2015;3(21):332.

14- Chou SM, Lee TS, Shao YE, Chen IF. Mining the breast cancer pattern using artificial neural networks and multivariate adaptive regression splines. *Expert Syst Appl*. 2004;27(1):133-42.

15- Banwait JK, Bastola DR. Contribution of bioinformatics prediction in microRNA-based cancer therapeutics. *Adv Drug Deliv Rev*. 2015;81:94-103.

16- Zhang H, Li S, Yang J, Liu S, Gong X, Yu X. The prognostic value of miR-34a expression in completely resected gastric cancer: Tumor recurrence and overall survival. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(2):2635-41.

17- Liu G, Jiang C, Li D, Wang R, Wang W. MiRNA-34a inhibits EGFR-signaling-dependent MMP7 activation in gastric cancer. *Tumour Biol*. 2014;35(10):9801-6.

18- Zhang S, Chen P, Huang Z, Hu X, Chen M, Hu S, et al. Sirt7 promotes gastric cancer growth and inhibits apoptosis by epigenetically inhibiting miR-34a. *Sci Rep*. 2015;5:9787.

19- Cao W, Yang W, Fan R, Li H, Jiang J, Geng M, et al. miR-34a regulates cisplatin-induce gastric cancer cell death by modulating PI3K/AKT/survivin pathway. *Tumour Biol*. 2014;35(2):1287-95.

20- Ji Q, Hao X, Meng Y, Zhang M, Desano J, Fan D, et al. Restoration of tumor suppressor miR-34 inhibits human p53-mutant gastric cancer tumorspheres. *BMC Cancer*. 2008;8:266.

21- Wang G, Liu G, Ye Y, Fu Y, Zhang X. Upregulation of miR-34a by diallyl disulfide suppresses invasion and induces apoptosis in SGC-7901 cells through inhibition of the PI3K/Akt signaling pathway. *Oncol Lett*.