

بیان ژنهای *miR-22* و *miR-194* در سرطان کولورکتال و ارتباط این دو ژن با *LncRNA MINCR*

سجاد چراغی^۱، حمید اسدزاده^{۲*}، غلام رضا جوادی^۳

۱- گروه زیست شناسی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

۳- گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

* صندوق پستی ۱۹۸۵۷۱۷۴۱۳، تهران، ایران

Hamid.asadzadeh@gmail.com

پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۰۵

دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۰۵

چکیده

سرطان کولورکتال (CRC) یکی از مهمترین سرطانها و دومین علت اصلی مرگومیر ناشی از سرطان در ایران است. این سرطان از طریق تغییرات ژنتیک و اپی ژنتیک گسترش می یابد. شناخت مسیرهای مولکولی در این تغییرات ژنتیکی و اپی ژنتیکی می تواند چشم انداز روشنی را در درمان سرطان ایجاد کند. این مطالعه بر روی ۴۰ نمونه زوائد اولیه توموری روده (پولیپ)، ۳۰ نمونه توموری و ۴۰ بافت نرمال مجاور تومور انجام شد. استخراج RNA و DNA بافتی، بررسی بیان ژنهای *miR-22*، *miR-194*، *LncRNA MINCR* با استفاده از روش Real time PCR انجام شد. در این مطالعه میزان بیان *LncRNA MINCR* در نمونه های تومور و پولیپ نسبت به بافت نرمال مجاور شان افزایش و میزان بیان *miR-194*، *miR-22* و کاهش یافته بود. بین میزان بیان *miR-22*، *miR-194* و *MINCR* ضریب همبستگی منفی مشاهده شد و همچنین بین بیان این *lncRNA* و *microRNA* ها ارتباط معنی داری مشاهده می شود. *MINCR* یکی از جدیدترین *lncRNA* های شناسایی شده می باشد که تاکنون در سرطان کولورکتال بررسی نشده و مسیرهای سیگنالینگ آن به درستی بررسی نشده است. وابسته بودن بیان *MINCR* با *miR-22* و *miR-194* به عنوان یکی از مسیرهای سیگنالینگ می باشد که اولین بار در سرطان کولورکتال بررسی شده است. وابسته بودن بیان این *lncRNA* و *microRNA* که همبستگی معنا داری نیز می باشد در نمونه های پولیپ و تومور برای اولین بار در سرطان کولورکتال بررسی شده است. تکمیل مسیرهای سیگنالیک می تواند امیدواری در تشخیص و درمان را در انواع مختلف سرطانها در پی داشته باشد. *MINCR* یکی از جدیدترین *lncRNA* های شناسایی شده می باشد که تاکنون در سرطان کولورکتال بررسی نشده و مسیرهای سیگنالینگ آن به درستی بررسی نشده است.

کلید واژه گان: *LncRNA MINCR*، *miR-194*، *miR-22*، سرطان کولورکتال، میکرو RNA

۱-مقدمه

RNA بلند غیرکدکننده (lncRNA)^۱ نقش بسیار مهمی در تنظیم بیان ژن دارند. microRNA ها نیز مانند lncRNA نقش مهمی در تنظیم بیان ژن ها دارا می باشند [۲،۱]. مطالعات جدید تعامل بین lncRNA ها و microRNA ها را در سرطان های مختلف بررسی کرده اند. سرطان کولورکتال^۲ دومین سرطان شایع در دنیا و چهارمین عامل مرگ و میر در بین سرطان های شایع است. در دهه های اخیر تلاش های بسیاری برای کشف متدهایی برا تشخیص و درمان سرطان کولورکتال انجام شده است. این روش های در تشخیص و افزایش طول عمر بیمار کمک کننده بوده است. ولی راهکاری که به صورت قطعی در تشخیص و درمان کمک کننده باشد هنوز پیدا نشده است. مولکول های مختلفی در شروع و متاستاز و مرگ و میر سرطان کولورکتال نقش دارند ولی مکانیسم ایجاد این سرطان به طور واضح مشخص نمی باشد [۲،۱]. LncRNA ها که طول آنها از ۲۰۰ نولکئوتید تا ۱۰۰۰ نولکئوتید متفاوت می باشد و به پروتئین ترجمه نمی شوند و مطالعات مختلف نشان داده اند که این دسته از RNA ها در مراحل اساسی از سلول نقش مهمی دارند. فعالیت این دسته از RNA ها در آپوپتوز و تکامل و تمایز سلول ها در مطالعات مختلف بررسی شده است و انواع مختلفی از این lncRNA در سلول ها و بافت های مختلف شناسایی شده است. گروهی دیگری از RNA های غیر کدشونده microRNA ها می باشند که در تنظیم بیان بسیاری از ژن ها فعالیت دارند که در بسیاری از سرطان ها نقش مهارکننده یا فعال کننده انکوژن ها را بر عهده دارند [۳،۱].

یک از اعضای خانواده RNA های غیر کدشونده MINCR^۳ می باشد که اولین بار در لنفوم بورکیت شناسایی شد. این lncRNA رونویسی از ژن Myc را انجام می دهد و بررسی ها نشان می دهد که MINCR در بافت های مغز، سینه،

پرستات و بیضه ها شناسایی شده است [۳]. miR-22 و miR-194 از دسته RNA های غیر کد شونده می باشند که در سرطان های مختلف بررسی شده اند. miR-22 در Brest cancer و hepatocellular carcinoma بررسی شده و میزان بیان آن کاهش یافته است [۵،۴]. بیان miR-194 در CRA (آدنوم کولورکتال)^۴ و بیماران مبتلا به CRC کاهش می یابد، بنابراین miR-194 ممکن است به عنوان یک نشانگر باشد و همچنین می تواند به عنوان یک بیومارکر امیدوار کننده برای تشخیص و درمان CRC باشد [۵،۴]. ارتباط بین بیان miR-194 و miR-22 و MINCR در سرطان کولورکتال هنوز بررسی نشده است. بررسی ارتباط بین RNA های غیر کد شونده در سرطان های مختلف به تشخیص و حتی راه های درمان بسیاری از سرطان ها می تواند کمک کند. در این پژوهش هدف بررسی بیان MINCR و ارتباط این lncRNA با miR-22 و miR-194 می باشد که برای اولین در سرطان کولورکتال انجام می شود. این lncRNA به تازگی شناسایی شده به همین دلیل در تعداد محدودی از سرطان ها بررسی شده است. ارتباط lncRNA و microRNA ها نیز برای کشف تشخیص و کشف راهکارهای درمان بسیار مفید می باشد [۵،۴].

۲-مواد و روش ها

۲-۱ جمعیت مورد مطالعه و روش نمونه گیری

نمونه ها شامل بافت تازه از زوائد روده، شامل پولیپ های اولیه و همچنین بافت تازه از تومور سرطانی روده بود. همچنین، بافت نرمال از فاصله ۱ تا ۱۰ سانتی متر از زوائد برداشته شد. جمعیت مورد مطالعه شامل ۴۰ نمونه زوائد اولیه توموری روده (پولیپ)، ۳۰ نمونه توموری و ۴۰ نمونه بافت نرمال مجاور تومور بود که از مراجعه کنندگان به مرکز تحقیقات گوارش و کبد انتخاب شدند.

^۳ Myc-induced lncRNA^۴ Colorectal Adenoma^۱ Long non-coding RNA^۲ Colorectal cancer

نوع انتخاب و نمونه‌گیری در این مطالعه تصادفی بوده است. به این صورت که تعداد ۱۲۰ نفر از بیماران دارای علائم بالینی گوارشی برای غربالگری به بخش گوارش و کولونوسکوپی بیمارستان طالقانی مراجعه کرده و بررسی شدند. اطلاعات بالینی افراد توسط پرسشنامه‌های تهیه شده ثبت شد. در مرحله بعد اطلاعات دموگرافیک بیماران و افراد سالم شامل سن، جنس، وزن، شاخص توده بدنی (BMI)^۱، مصرف سیگار، مصرف الکل، فشار خون، دیابت و سابقه ابتلا به بیماری التهابی مزمن (IBD) گردآوری شد.

این مطالعه توسط کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی (کد کمیته اخلاق IR1392/704) و هیئت اخلاقی کارآزمایی کنترل تصادفی ایران (IRCT) (شماره کارآزمایی بالینی: IRC89001357) تایید شد. علاوه بر این، رضایت نامه کتبی آگاهانه از هر شرکت کننده قبل از ورود به پژوهش جمع‌آوری شد.

۲-۱-۲ معیارهای ورود افراد بیمار

بیمارانی مراجعه کننده برای مشاوره به مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی برای انجام کولونوسکوپی، پس از ثبت اطلاعات بالینی، سابقه خانوادگی و تایید لزوم کولونوسکوپی بر اساس معاینات، مشخص شده و توسط پزشک به واحد کولونوسکوپی معرفی شدند. بیمارانی که اطلاعات کلینیکی و پاتولوژی آنها معتبر است و نمونه‌ی پاتولوژی حاصل از کولونوسکوپی آنها در دسترس است. بیمارانی که اطلاعات کلینیکی و پاتولوژی آنها معتبر است و بافت تومور، پولیپ و نرمال آنها قابل جدا شدن بود نیز جزو معیارهای ورود به مطالعه بودند.

۲-۱-۲ معیارهای خروج افراد بیمار

افرادی که در گذشته تحت درمان قرار گرفته و داروی شیمی درمانی استفاده کرده بودند و بیمارانی که اطلاعات کلینیکی و پاتولوژی آنها معتبر نیست یا نمونه‌ی پاتولوژی حاصل از کولونوسکوپی آنها در دسترس نمی‌باشد از مطالعه خارج شدند.

۲-۲ استخراج RNA از بافت تازه

استخراج RNA از نمونه‌های بافتی با استفاده از کیت شرکت کیاژن انجام شد (QIAasympyphony RNA KIT (Germany). پس از استخراج RNA، کمیت و کیفیت آن با استفاده از دستگاه Nonodrop و الکتروفورز ژل آگارز بررسی شد. در ادامه برای ساخت رشته‌های DNA از محصول RNA ی استخراجی فرایند cDNA سازی انجام شد. cDNA از روی RNA به دست آمده به کمک کیت Thermo Scientific RevertAid Reverse Transcriptase ساخته شد.

۲-۳ آنالیز آماری

در این مطالعه برای آنالیز آماری نتایج از نرم‌افزار SPSS (version 21, Co Ltd,) استفاده شد. برای بررسی همبستگی معنادار بین انواع مختلف پولیپ و گروه‌های کنترل با شاخص‌های کیفی دموگرافیک بالینی بیماران از آزمون مربع کای و Fisher's exact test استفاده و $p < 0.05$ معنادار در نظر گرفته شد.

سطح بیان mRNA ژن‌های هدف با مقیاس foldchange محاسبه شد. میزان تغییرات بیان ژن‌های هدف در پولیپ‌ها با بیان ژن کنترل داخلی (بتا گلوبین) نرمالیزه شد. در واقع ارتباط معنادار میان گروه‌های مختلف پولیپ با گروه کنترل توسط مقادیر $2^{-\Delta\Delta\text{act}}$ یا foldchange مورد سنجش قرار گرفت. توالی پرایمرها طبق جدول ۱ تعیین شد.

^۱ Body Mass Index

جدول ۱ توالی پرایمرها

عنوان	پرایمر	توالی	تعداد نکلئوتید
<i>miR-194</i>	U- <i>miR-194</i>	GTCGTATCCAGTGCcAGGACAGTCCGAGGACTGTC CTGGCACT GGATACGCA TCCTCT	53
	F- <i>miR-194</i>	TCGTGTAACAGCAACTCCA	19
<i>miR-22</i>	U- <i>miR-22</i>	GTCGTATCCAGTGCC AGGCACGTCC GAGGACGCGCTGCACTGGATAACGACAGATAA	53
	F- <i>miR-22</i>	AGTTCTTCAGTGGCAACAAC	20
Reverse		GAAAGAAGGCGAGGAGCAG	19
STEM LOOP		5- GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAG GTATTCGCACCAGAGCCAAC-3	44

نمونه‌های سالم روده بزرگ به‌عنوان کالیبراسیون برای نورمالیزاسیون استفاده شد.

۳- نتایج

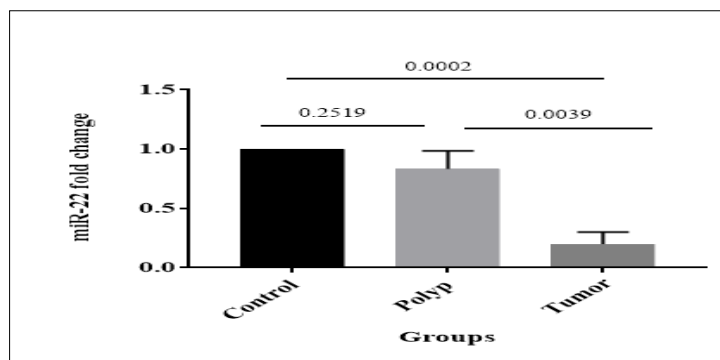
۳-۱ بیان ژن *miR-22* در نمونه‌های بافتی مورد مطالعه

بر اساس نتایج به‌دست آمده از میزان بیان *miR-22* در نمونه‌های پولیپ و توموری در مقایسه با بافت نرمال اطراف آن، تغییر بیان مشاهده شد. به‌طوری که همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود کاهش بیان ۰/۸ برابری و ۰/۲ برابری در نمونه‌های پولیپ و توموری در مقایسه با بافت نرمال دیده شد.

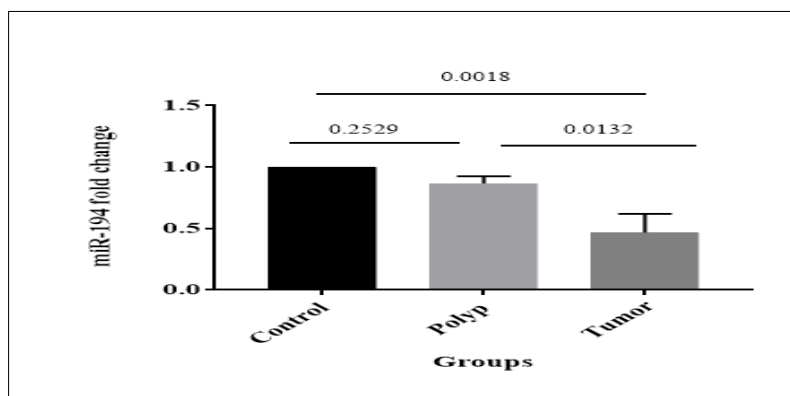
۲-۴ بررسی سطح بیان *miR-194*, *miR-22*, *MINCR* با

استفاده از تکنیک (qRT-PCR)

برای انجام qRT-PCR از دستگاه Rotor Gene (Qiagene) استفاده شد. برای انجام این واکنش مستر میکس مربوطه بر طبق دستورالعمل کیت تهیه شد. در این پژوهش از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ برای مقایسه و بررسی میزان بیان ژن *miR-194*, *miR-22* و *MINCR* میان انواع تومورها و پولیپ‌های روده‌ی بزرگ با بافت نرمال روده بزرگ استفاده شد. در این روش از ژن بتا گلوبین به‌عنوان ژن کنترل و



شکل ۱ میزان بیان ژن *miR-22* در گروه‌های مورد مطالعه پولیپ و تومور در مقایسه با گروه نرمال



شکل ۲ میزان بیان ژن *miR-194* در گروه‌های مورد مطالعه پولیپ و تومور در مقایسه با گروه نرمال

همانطور که در بسیاری از مطالعات اشاره شده است *lncRNA* ها در مسیرهای پاتوبیولوژیکی بیماری ها شامل تمایز سلولی، توسعه و تنظیم اپی ژنتیکی درگیرند. برخی از مطالعات نشان داده است که *lncRNA* ها ممکن است در تقسیم سلولی، تهاجم و پیشرفت سرطان نقش داشته باشند. علاوه بر آن *lncRNA* ها در تنظیمات پس از رونویسی ژن‌ها نیز عملکرد دارند [۱]. یکی از این جدیدترین *lncRNA* ها، *MINCR* است که یک *lncRNA* جدید شناخته شده است و با بیان ژن *MYC* مرتبط بوده و باعث پیشبرد برخی از سرطان‌ها می‌شود. بیان بالای *MINCR* با حجم تومور و متاستاز به غدد لنفاوی ارتباط دارد [۳]. *lncRNA* های بسیار زیادی در سرطان‌های مختلف شناسایی شده است. تا سال ۲۰۱۷ تعداد *lncRNA* دارای نقش‌های بسیار مهم در تکثیر و تقسیم سلولی در سرطان کولورکتال حدود ۲۰ عدد بوده است و این تعداد با تحقیقات بیشتر در حال افزایش می‌باشد [۶]. یکی از معروفترین *lncRNA* ها که در سرطان کولورکتال، سرطان تخمدان، سرطان مثانه و سرطان معده نقش دارد *H19* است. این *lncRNA* از اولین موارد بررسی شده در سرطان‌ها می‌باشد [۲]. به‌طور قطع، تحقیقات و بررسی‌ها برای شناسایی نقش و عملکرد این *lncRNA* در درمان پیشگیری و تشخیص سرطان‌ها کمک خواهد کرد.

۲-۳ بیان ژن *miR-194* در نمونه‌های بافتی مورد مطالعه

همانطور که در نمودار زیر رسم شده مشاهده می‌شود کاهش بیان ۰/۸ برابری و ۰/۵ برابری در نمونه‌های پولیپ و توموری در مقایسه با بافت نرمال دیده شد و با توجه به میزان *p value* بیشتر از ۰/۰۵ ارتباط معناداری در این نتایج به‌دست نیامد. نتایج در شکل ۲ نشان داده شده است.

۳-۳ تجزیه و تحلیل همبستگی بین ژن‌های *MINCR*، *miR-194* و *miR-22*

میزان تغییرات بیان ژن *MINCR* در نمونه‌های توموری، پولیپ و بافت نرمال مجاور آن بررسی شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده از میزان بیان *MINCR* در نمونه‌های پولیپ و تومور در مقایسه با بافت نرمال اطراف آن افزایش بیان معناداری داشت. تجزیه و تحلیل همبستگی Pearson بین ژن‌های *MINCR*، *miR-22* و *miR-194* با استفاده از آزمون Pearson انجام شد. طبق اطلاعات به‌دست آمده ارتباط بین بیان ژن *MINCR* با *miR-22* و *miR-194* ضریب همبستگی منفی می‌باشد. با توجه به مقدار $P < 0.05$ (r = -0.77, r = -0.225) این ارتباطات معنی‌دار است. پس مطابق نتایج به‌دست آمده افزایش بیان *MINCR* با کاهش بیان *miR-22* و *miR-194* همراه خواهد بود.

۴- بحث

تغییرات بیان ژن *MINCR* در نمونه‌های توموری، پولیپ و بافت نرمال مجاور آن برای اولین بار در این مطالعه بررسی شده است. بر اساس نتایج به دست آمده، میزان بیان *MINCR* در نمونه‌های پولیپ در مقایسه با بافت نرمال اطراف آن، تغییر بیان مشاهده نشد ($P \geq 0.05$). اما افزایش بیان تقریباً $\frac{2}{3}$ برابری بین نمونه‌های توموری در مقایسه با نمونه‌های نرمال و همچنین افزایش $\frac{1}{3}$ برابری نمونه‌های پولیپ در مقایسه با بافت نرمال مشاهده می‌شود. همچنین، میزان ارتباط این *MINCR* با ژن‌های دیگر سنجیده شد و مشاهده شد ارتباط و همبستگی بین بیان این ژن با *miR-22* و *miR-194* وجود دارد. *MINCR* به عنوان یک انکوژن در سرطان کولورکتال می‌تواند نقش داشته باشد. *MicroRNA* ها، بیان ژن‌ها را پس از رونویسی از طریق تجزیه mRNA یا مهار ترجمه آنها کنترل می‌کنند. این ساختارهای مولکولی در کنترل فرایندهای فیزیولوژیک سلولی شرکت کرده و بسیاری از آنها می‌توانند به عنوان انکوژن و یا سرکوبگرهای توموری عمل کنند و بنابراین، بروز موتاسیون در آنها می‌تواند منجر به سرطان شود. بنابراین، شناسایی *microRNA* ها و مولکول هدف آنها می‌تواند افق روشنی را برای شناخت مسیرهایی منجر به سرطان فراهم کنند [۲، ۱].

microRNA ها در حال گردش از تومور آزاد شده و در وزیکول‌های اگزوزومی و اجسام‌های آپوپتوزیس حمل می‌شوند. می‌توان از بیان *microRNA* های غالب برای طبقه‌بندی سرطان‌ها استفاده کرد و استفاده از آنها برای طبقه‌بندی تومور به مراتب مناسب‌تر از mRNA های هدف می‌باشد [۶]. *microRNA* ها در نمونه‌های سرطانی به صورت غیرطبیعی بیان می‌شوند. علاوه بر این تفاوت‌های عملکردی بین انواع تومورها و مراحل مختلف سرطان با بیان *microRNA* ها وجود دارد [۷]. تغییر در بیان *microRNA* ها از طریق کاهش بیان ژن‌های ضروری درگیر در تکثیر یا بقای سلول منجر به تشکیل تومور

می‌شود. با این وجود، تغییرات زیادی در سلول‌های سرطانی رخ می‌دهد که می‌تواند در یک مسیر مستقیم یا غیرمستقیم بیان *microRNA* ها را تحت تاثیر قرار دهند. بر هم‌کنش *microRNA* ها با ژن‌های هدفشان، نقش آنها را در رشد، مرگ برنامه ریزی شده، تمایز و تکثیر سلولی در سرطان تایید می‌کند. استفاده از *microRNA* ها به عنوان نشانگرهای تشخیصی از طریق بررسی بافت‌های انسانی امکان پذیر است. بنابراین، می‌توان *microRNA* های سرطانی و سلول‌های توموری را بدون هیچ روش تهاجمی شناسایی کرد. در این بین بررسی مکانیسم‌های تنظیمی توسط *microRNA* ها برای مطالعه روابط متقابل بین اتوفاژی و سرطان می‌تواند موثر باشد [۱۳]. *Mir-194* و *Mir-22* به عنوان یک تومور ساپرسور عمل می‌کنند و در جلوگیری از گسترش، پیشرفت و متاستاز تومور دخالت دارند و با هدف قرار دادن تعدادی از مولکول‌ها در سرطان‌های مختلف منجر به مقاومت در برابر داروهای شیمی درمانی می‌شوند [۱۰، ۱۲].

مطالعات نشان می‌دهند که *miR-22* در انواع مختلفی از سرطان‌ها کاهش بیان دارد و مهار *miR-22* یا کاهش بیان آن با پیش‌آگهی بدتری ارتباط دارد و همه این مطالعات نشان می‌دهد که *miR-22* به عنوان یک سرکوبگر تومور است [۹]. همچنین، بیان پایین *miR-22* باعث افزایش بیان فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) و افزایش تکثیر و مهاجرت سلول‌های سرطانی روده بزرگ می‌شود که نشان دهنده اثربخشی *miR-22* در تنظیم رگ‌زایی تومور است. *miR-22* از طریق کنترل مسیرهای مهم و اساسی مانند *PTEN* فعالیت ژن *PI3K/AKT* را مهار می‌کند و در نتیجه می‌تواند در جلوگیری از به وجود آمدن تومورهای بدخیم نقش اساسی را ایفا کند. این *microRNA* همچنین با مهار فعالیت ژن‌های *wnt1* و *Rb* می‌تواند در تنظیم چرخه سلولی و تمایز سلول‌ها نقش مهمی داشته باشد. همه این یافته‌ها نشان می‌دهد که *miR-22* در متاستاز سلول‌های

پیش‌آگهی با شد و همچنین می‌تواند به‌عنوان یک بیومارکر امیدوار کننده برای تشخیص و درمان CRC استفاده شود [۸،۷].

همچنین، مشاهده شد که بیان این microRNA می‌تواند با MINCR در ارتباط باشد و دارای همبستگی معنا داری نیز می‌باشد. این ارتباط و همچنین ارزیابی این microRNA در نمونه‌های پولیپ و تومور برای اولین بار در سرطان کولورکتال مورد بررسی قرار گرفته است. تجزیه و تحلیل همبستگی Pearson بین ژن‌های MINCR، miR-22 و miR-194 با استفاده از آزمون Pearson انجام شد. طبق اطلاعات به دست آمده ارتباط بین ژن MINCR با miR-22 و miR-194 ضریب همبستگی منفی می‌باشد. میزان عدد $P < /05$ و $r = -.225$ ، $r = -.77$ می‌باشد که در نتیجه این ارتباطات معنی دار می‌باشد. پس با توجه به نتایج به دست آمده افزایش بیان MINCR با کاهش بیان miR-22 همراه خواهد بود. ارتباط بین مسیرهای مولکولی بین LncRNA و microRNA ها می‌تواند در شناخت مسیرهای مولکولی درمان و تشخیص بسیار کمک کننده می‌باشد.

۵- منابع

- [1] Siddiqui, H., AL-ghafari, A., Choudhry, H., and AL doghaither, H. (2019). Roles of long non-coding RNAs in colorectal cancer tumorigenesis. *Molecular AND Clinical Oncology*. 11, 167-172.
- [2] Bhan, A., Milad Soleimani, M., and Subhrangsu, S. (2017) Long Noncoding RNA and Cancer: A New Paradigm. *American Association for Cancer Research*. 15, 145-187.
- [3] Wang, S-H., Yang, Y., Wu, X-C., Zhang, M-D., Weng, M-Z., and Zhou, D. (2016) long non-coding RNA MINCR promotes gallbladder cancer progression through stimulating EZH2 expression. *Cancer letters*. 1, 380-122.
- [4] Zhang, J., Yang, Y., Yang, T., Liu, Y., Li, N., and Fu, S. (2010) microRNA-22, downregulated in hepatocellular carcinoma and correlated with prognosis. *Suppresses cell proliferation and tumourigenicity. British journal of cancer*. 8, 103.
- [5] Zhao, H-J., Ren, L-L., Wang, Z-H., Sun, T-T., Yu, Y-N., and Wang, Y-C. (2014) MiR-194 deregulation contributes to colorectal carcinogenesis via targeting AKT2 pathway. *Theragnostic*. 4(12), 1193-208.

توموری نقش به‌سزایی را ایفا می‌کند و این microRNA می‌تواند ارزش پیش‌آگهی بالقوه‌ای در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال داشته باشد [۱۰]. بر اساس نتایج به دست آمده در این مطالعه تغییر بیان محسوس در میزان بیان miR-22 در نمونه‌های پولیپ و توموری در مقایسه با بافت نرمال اطراف آن مشاهده شد. همانطور که در شکل ۱ نیز مشاهده می‌شود کاهش بیان ۰/۸ برابری و ۰/۲ برابری به ترتیب در نمونه‌های پولیپ و توموری در مقایسه با بافت نرمال دیده شد و با توجه به میزان p value کمتر از ۰/۰۵ ارتباط معناداری در بین نمونه‌های پولیپ و تومور و همچنین بین تومور و کنترل به دست آمد.

تغییر بیان جزیی محسوس در میزان بیان miR-194 در نمونه‌های پولیپ و توموری در مقایسه با بافت نرمال اطراف آن مشاهده شد. به‌طوری که کاهش بیان ۰/۸ برابری و ۰/۵ برابری در نمونه‌های توموری و پولیپ در مقایسه با بافت نرمال دیده شد و با توجه به میزان p value بیشتر از ۰/۰۵ ارتباط معناداری در این نتایج به دست نیامد. اما کاهش بیان محسوس میان نمونه‌های تومور و بافت نرمال تا حدی مشاهده می‌شود. کاهش بیان miR-194 در کبد، ریه، سرطان معده و مایلوما گزارش شده است و این نشان از عملکرد آن به‌عنوان سرکوبگر تومور است. با این حال، تا به امروز، هنوز عملکرد miR-194 به‌طور دقیق در CRC تا حد زیادی ناشناخته و بحث برانگیز باقی مانده است [۸]. عملکرد نابجای miR-194 می‌تواند منجر به تکثیر سلولی CRC از طریق سرکوب بیان مسیر PDK / XIAP AKT2 و بیان کم آن هم در بافت و هم در نمونه مدفوع بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال نه تنها شدیداً با وقوع CRC ارتباط دارد بلکه با بقای ضعیف بیماران مبتلا به سرطان روده مرتبط است [۱۳، ۱۴]. مطالعات دیگر نیز نشان داده‌اند که بیان miR-194 در CRA (آدنوم کولورکتال) و بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال کاهش می‌یابد. بنابراین، miR-194 ممکن است به‌عنوان یک نشانگر

- [11] Zhu, X., Li, D., Yu, F., Jia, C., Xie, J., and Ma, Y. (2016) miR-194 inhibits the proliferation, invasion, migration, and enhances the chemosensitivity of non-small cell lung cancer cells by targeting forkhead box A1 protein. *Oncotarget*. 7(11), 13139-13152.
- [12] Zhang, J., Yang, Y., Yang, T., Liu, Y., Li, A., and Fu, S. (2010) microRNA-22, downregulated in hepatocellular carcinoma and correlated with prognosis, suppresses cell proliferation and tumourigenicity. *British journal of cancer*. 103(8), 1215-1220.
- [13] Thorpe, LE. Mostashari, F., Hajat, A., Nash, D., Karpati, A., and Weber, T. (2005) Colon cancer screening practices. *International Journal of the American Cancer Society*. 104 (5), 1075-82.
1. Potter, JD. (1999) colorectal cancer molecules and populations. *Journal of the National Cancer Institute*. 91(11), 916-32.
- [6] Dalmay, T. (2008) MicroRNAs and cancer. *Journal of internal medicine*. 263(4), 366-75.
- [7] Garzon, R., Calin, GA., and Croce, CM. (2009) MicroRNAs in cancer. *Annual review of medicine*. 167-79.
- [8] Wu, X., Liu, T., Fang, O., Leach, L., Hu, X., and Luo, Z. (2014) miR-194 suppresses metastasis of non-small cell lung cancer through regulating expression of BMP1 and p27 kip1. *Oncogene*. 33(12), 1506-1514.
- [9] Borkman, R. F., Tassin, J. D., and Lerman, S. (1981) the rates of photodestruction of tryptophan residues in human and bovine lens proteins. *Exp. Eye Res*. 32, 747-754.
- [10] Wang, S-H., Wu, X-C., Zhang, M-D., Weng, M-Z., Zhou, D., and Quan, Z-W. (2016) Long noncoding RNA H19 contributes to gallbladder cancer cell proliferation by modulated miR-194-5p targeting AKT2. *Tumor Biology* 37(7), 9721-30.

Expression of *miR-22*, *miR-194* in colorectal cancer and the association of these genes with *LncRNA MINCR*

Sajjad cheraghi¹, Hamid asadzadeh aghdaie², Gholam reza javadi³

1. Ph.D. Student of Department of biology, science and research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Ph.D. Student of Department of biology, science and research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Hamid.asadzadeh@gmail.com

Receipt: 2021/08/27

Accepted: 2022/07/27

Abstract

Colorectal cancer (CRC) is the third most common cancer after lung and breast cancer and the fourth leading cause of oncological death in the world. Great efforts have been made to develop effective methods for CRC diagnosis and treatment. Long Non-coding RNAs (lncRNAs) have been demonstrated to have important roles in gene regulation and numerous lncRNAs have been discovered. They have been found to be important regulators of gene expression in development, physiology and when dysfunctional in the presence of disease.

This study was conducted on 40 samples of polyps, 30 tumor samples and 40 normal tissue adjacent to the tumor. RNA and tissue DNA extraction, miR-22, miR-194 *LncRNA MINCR* gene expression analysis was performed using Real time PCR method. The expression level of *LncRNA MINCR* in tumor and polyp samples was increased compared to the adjacent normal tissue, and the expression level of miR-194, miR-22, and decreased. A negative correlation coefficient was observed between the expression levels of miR-22, miR-194 and MINCR, and a significant correlation was also observed between the expression of these lncRNAs and microRNAs. MINCR is one of the most recently identified lncRNAs that have not been investigated in colon cancer and its signaling pathways have not been properly investigated. The dependence of MINCR expression with miR-22 and miR-194 is one of the signaling pathways that has been investigated for the first time in colon cancer. The dependence of the expression of this lncRNA and microRNA, which is also a significant correlation, has been investigated in polyp and tumor samples for the first time in colon cancer. Completing signaling pathways can lead to hope in the diagnosis and treatment of various types of cancer. MINCR is one of the most recently identified lncRNAs that have not been investigated in colon cancer and its signaling pathways have not been properly investigated.

Keyword: Colorectal cancer- lncRNAs- MiRNAs- miR-194 - miR-22 - MINCR