زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس

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

سجاد چراغی[1]، حمید اسدزاده[2*]، غلام رضا جوادی[3]

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

دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۰۵ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۰۵

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 اپی‌ژنتیک گسترش می‌یابد. شناخت مسیرهای مولکولی در این تغییرات ژنتیکی و اپی ژنتیکی می‌تواند چشم انداز روشنی را در درمان سرطان ایجاد کند. این مطالعه برروی 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-194*, *miR-22*, *LncRNA MINCR* با استفاده از روش Real time PCR انجام شد. در این مطالعه میزان بیان *LncRNA MINCR* در نمونه‌های 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-194*, *miR-22* 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 می‌با شد 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* به‌عنوان یکی از مسیرهای سیگنالینگ می‌باشد که اولین بار در سرطان کولورکتال بررسی شده است. وابسته بودن بیان این lncRNA و microRNA که همبستگی معنا داری نیز می‌باشد در نمونه‌های پولیپ و تومور برای اولین بار در سرطان کولورکتال بررسی شده است. تکمیل مسیرهای سیگنالیک می‌تواند امیدواری در تشخیص و درمان را در انواع مختلف سرطان‌ها در پی داشته باشد. *MINCR* یکی از جدیدترین lncRNAهای شناسایی شده می‌باشد 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

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-01-13]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.14.1.3.9]

۱-مقدمه

RNA بلند غیرکدکننده (lncRNA)[1] 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 سرطان‌های مختلف بررسی کرده‌اند. سرطان کولورکتال[2] دومین سرطان شایع در دنیا و چهارمین عامل مرگ‌ومیر در بین سرطان‌های شایع است. در دهه‌های اخیر تلاش‌های بسیاری برای کشف متدهایی برا تشخیص و درمان سرطان کولورکتال انجام شده است. این روش‌های 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 مرگ‌ومیر سرطان کولورکتال نقش دارند ولی مکانیسم ایجاد این سرطان به طور واضح مشخص نمی‌باشد[۲،۱]. LncRNA ها که طول آنها از ۲۰۰ نولکئوتید تا ۱۰۰۰ نوکلئوتید متفاوت می‌باشد و به پروتئین ترجمه نمی‌شوند و مطالعات مختلف نشان داده‌اند 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 سلول‌ها در مطالعات مختلف بررسی شده است و انواع مختلفی از این lncRNA در سلول‌ها و بافت‌های مختلف شناسایی شده است. گروهی دیگری ازRNA های غیر کدشونده microRNA ها می‌باشند که در تنظیم بیان بسیاری از ژن‌ها فعالیت دارند که در بسیاری از سرطان‌ها نقش مهارکننده یا فعال کننده انکوژن‌ها را بر عهده دارند[۳،۱].

یک از اعضای خانواده RNA های غیر کدشونده MINCR [3] می‌باشد که اولین بار در لنفوم بورکیت شناسایی شد. این lncRNA رونویسی از ژن *Myc* را انجام می‌دهد و بررسی ها نشان می‌دهد که MINCR در بافت‌های مغز، سینه، پروستات و بیضه‌ها شناسایی شده است[۳]. *miR-22* و *miR-194* از دسته RNA های غیر کد شونده می‌باشند که در سرطان‌های مختلف بررسی شده‌اند. *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)[4] و بیماران مبتلا به CRC کاهش می یابد، بنابراین *miR-194* ممکن است به‌عنوان یک نشانگر باشد و همچنین می‌تواند به‌عنوان 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 سرطان‌های مختلف به تشخیص و حتی راه های درمان بسیاری از سرطان‌ها می‌تواند کمک کند. در این پژوهش هدف بررسی بیان MINCR و ارتباط این lncRNA با *miR-22* و *miR-194* می‌باشد که برای اولین در سرطان کولورکتال انجام می شود. این lncRNA به تازگی شناسایی شده به همین دلیل در تعداد محدودی از سرطان‌ها بررسی شده است. ارتباط lncRNA و microRNA ها نیز برای کشف تشخیص و کشف راهکارهای درمان بسیار مفید می‌باشد[۵،۴].

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱جمعیت مورد مطالعه و روش نمونه‌گیری

نمونه‌ها شامل بافت تازه از زوائد روده، شامل پولیپ‌های اولیه و همچنین بافت تازه از تومور سرطانی روده بود. همچنین، بافت نرمال از فاصله ۱ تا ۱۰ سانتی‌متر 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.

[1] Long non-coding RNA
[2] Colorectal cancer
[3] Myc-induced lncRNA
[4] Colorectal Adenoma

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-01-13]
[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.14.1.3.9]

نوع انتخاب و نمونه‌گیری در این مطالعه تصـــادفی بوده اســت. به این صــورت که تعداد ۱۲۰ نفر از بیماران دارای علائم بالینی گوارشـــی برای غربالگری به بخش گوارش و کولونو سکوپی بیمار ستان طالقانی مراجعه کرده و برر سی شــدند. اطلاعات بالینی افراد توسـط پرسـشـنامه‌های تهیه شده ثبت شد. در مرحله بعد اطلاعات دموگرافیک بیماران و افراد سالم شامل سن، جنس، وزن، شاخص توده بدنی (BMI)[1]، مصرف سیگار، مصرف الکل، فشار خون، دیابت و ســـابقه ابتلا به بیماری التهابی مزمن (IBD) گردآوری شد.

این مطالعه توســط کمیته اخلاق پزشــکی دانشــگاه علوم پز شکی شهید بهشتی (کد کمیته اخلاق IR1392/704) و هیئت اخلاقی کارآزمایی کنترل تصـــادفی ایران (IRCT) (شـــماره کارآزمایی بالینی: IRC89001357) تایید شـــد. علاوه بر این، رضـــایت نامه کتبی آگاهانه از هر شـــرکت کننده قبل از ورود به پژوهش جمع‌آوری شد.

۲-۱-۱ معیارهای ورود افراد بیمار

بیمارانی مراجعه کننده برای مشـــاوره به مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی بـرای انجام کولونوسـکوپی، پس از ثبت اطلاعات بالینی، سـابقه خانوادگی و تایید لزوم کولونو سکوپی بر ا ساس معاینات، م شخص شده و تو سط پز شک به واحد کولونو سکوپی معرفی شــدند. بیمارانی که اطلاعات کلینیکی و پاتولوژی آنها معتبر است و نـمـونـه‌ی پاتولوژی حـاصـــــل ازکولونوســـکوپی آنها در دسترس است. بیمـارانی کـه اطلاعات کلینیکی و پاتولوژی آنها معتبر است و با فت تومور، پولیپ و نرمال آنها قابل جدا شـــدن بود نیز جزو معیارهای ورود به مطالعه بودند.

۲-۱-۲ معیارهای خروج افراد بیمار

افرادی که در گذشـــته تحت درمان قرار گرفته و داروی شیمی درمانی ا ستفاده کرده بودند و بیمارانی که اطلاعات کلینیکی و پاتولوژی آنها معتبر نیست یا نمونه‌ی پاتولوژی حاصــل از کولونوســکوپی آنها در دسترس نمی‌باشــد از مطالعه خارج شدند.

۲-۲ استخراج RNA از بافت تازه

اســـتخراج RNA از نمونه‌های بافتی با اســـتفاده از کیت شـــرکت کیاژن انجام شـــد (QIAsymphony RNA KIT Germany). پس از اســتخراج RNA، کمیت و کیفیت آن با اسـتفاده از دسـتگاه Nonodrop و الکتروفورز ژل آگارز بررســی شــد. در ادامه برای ســاخت رشــته‌های DNA از محصول RNA ی ا ستخراجی فرایند cDNA سازی انجام شــد. cDNA از روی RNA به‌دســت آمده به کمک کیت Thermo Scientific RevertAid Reverse Transcriptase، ساخته شد.

۲-۳ آنالیز آماری

در این مطـالعـه برای آنـالیز آمـاری نتـایج از نرم‌افزار SPSS (version 21, Co Ltd,) ا ستفاده شد. برای برر سی همبســـتگی معنادار بین انواع مختلف پولیپ و گروه های کنترل با شـــاخص‌های کیفی دموگرافیک بالینی بیماران از آزمون مربع کای وFisher´s exact test اسـتفاده و$p<0.05$ معنادار در نظر‌گرفته شد.

ســـطح 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 توسـط مقادیر 2-ΔΔct یا foldchange مورد سـنجش قرار گرفت. توالی پرایمرها طبق جدول ۱ تعیین شد.

[1] Body Mass Index

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.14.1.3.9]
[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-01-13]

جدول ۱ توالی پرایمرها

عنوان	پرایمر	توالی	تعداد نکلوئوتید
miR -194	U- miR 194	GTCGTATCCAGTGCcAGGACAGTCCGAGGACTGTC CTGGCACT GGATACGCA TCCTCT	53
	F- miR 194	TCGTGTAACAGCAACTCCA	19
miR – 22	U- miR 22	GTCGTATCCAGTGCC AGGCACGTCC GAGGACGCGCCTGCACTGGATAACGACAGATAA	53
	F- miR 22	AGTTCTTCAGTGGCAACAAC	20
Reverse		GAAAGAAGGCGAGGAGCAG	19
STEM LOOP		5- GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAG GTATTCGCACCAGAGCCAAC-3	44

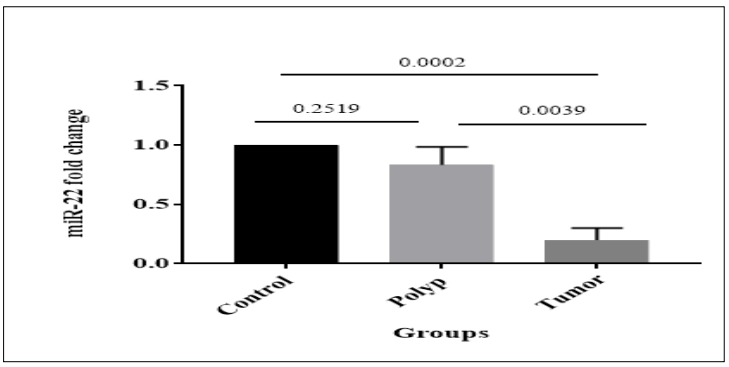
۲-٤ بررسی سطح بیان MINCR, *miR-22, miR-194* با استفاده از تکنیک (qRT-PCR)

برای انجام qRT-PCR از دستگاه Rotor Gene (Qiagene) ا ستفاده شد. برای انجام این واکنش م ستر میکس مربوطه بر طبق دستورالعمل کیت تهیه شد. در این پژوهش از روش 2-ΔΔCT 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 نمونه‌های سالم روده بزرگ به‌عنوان کالیبراسیون برای نرمالیزاسیون استفاده شد.

۳- نتایج

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

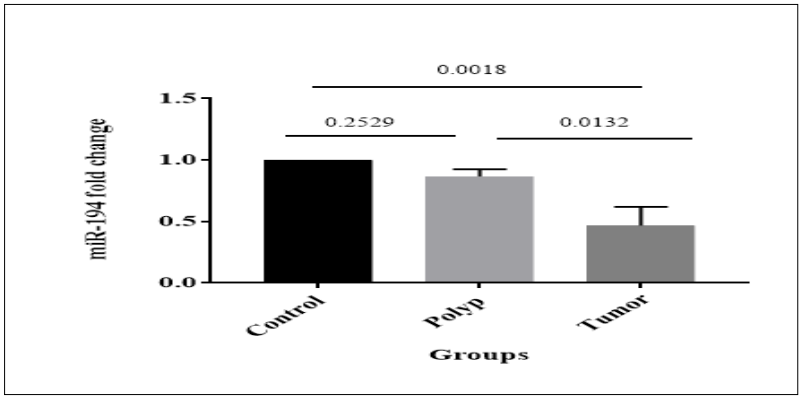
بر اساس نتایج به‌دست آمده از میزان بیان *miR-22* در نمونه‌های پولیپ و توموری در مقایسه با بافت نرمال اطراف آن، تغییر بیان مشاهده شد. به‌طوری که همانطور که در شکل ۱ م شاهده می شود کاهش بیان ۰/۸ برابری و ۰/۲ برابری در نمونه‌های پولیپ و توموری در مقایسه با بافت نرمال دیده شد.



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

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-01-13]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.14.1.3.9]



شکل۲ میزان بیان ژن *miR-194* در گروه‌های مورد مطالعه پولیپ و تومور در مقایسه با گروه نرمال

۳-۲ 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 تجزیه‌وتحلیل همبستگی بین ژن‌های *MINCR*، *miR-22* و *miR-194*

میزان تغییرات بیان ژن *MINCR* در نمونه های 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 ژن های *MINCR* ، *miR-22* و *miR-194* با استفاده از آزمون Pearson انجام شد. طبق اطلاعات به‌دست آمده ارتباط بین بین ژن *MINCRR* با *miR-22* و *miR-194* ضریب همبستگی منفی می‌باشد. با توجه به مقدار 05/ >*P* (r= -.225 , r= -.77) این ارتباطات معنی‌دار است. پس مطابق نتایج به‌دست آمده افزایش بیان *MINCR* با کاهش بیان *miR-22* و *miR-194* همراه خواهد بود.

٤- بحث

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[۱]. 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.

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-01-13]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.14.1.3.9]

تغییرات بیان ژن *MINCR* در نمونه‌های توموری، پولیپ و بافت نرمال مجاور آن برای اولین باردر این مطالعه بررسی شده است. بر اساس نتایج به‌دست آمده، میزان بیان *MINCR* در نمونه‌های پولیپ در مقایسه با بافت نرمال اطراف آن، تغییر بیان مشاهده نشد ($P\geq0.05$). اما افزایش بیان تقریبا ۲/۳ برابری بین نمونه‌های توموری در مقایسه با نمونه‌های نرمال و همچنین افزایش ۱/۳ برابری نمونه‌های پولیپ در مقایسه با بافت نرمال مشاهده می‌شود. همچنین، میزان ارتباط این *MINCR* با ژن‌های دیگر سنجیده شد و مشاهده شد ارتباط وهمبستگی بین بیان این ژن با *miR-22* و *miR-194* وجود دارد. *MINCR* به‌عنوان یک انکوژن در سرطان کولورکتال می‌تواند نقش داشته باشد. MicroRNA ها، بیان ژن ها را پس از رونویسی از طریق تجزیه mRNA یا مهار ترجمه آنها کنترل می‌کنند. این ساختار های مولکولی در کنترل فرایندهای فیزیولوژیک سلولی شرکت کرده و بسیاری از آنها می‌توانند به‌عنوان 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 می‌توانند 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 طبقه بندی تومور به مراتب مناسب‌تر از mRNA های هدف می‌باشد[۶]. microRNA ها در نمونه‌های سرطانی به‌صورت غیرطبیعی بیان می‌شوند. علاوه بر این تفاوت های 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 می‌توانند در یک مسیر مستقیم یا غیرمستقیم بیان microRNA ها را تحت تاثیر قراردهند. 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 به‌عنوان 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* به‌عنوان یک تومور ساپرسور عمل می‌کنند و در جلوگیری از گسترش، پیشرفت و متاستاز تومور دخالت دارند و با هدف قرار دادن تعدادی از مولکول ها در سرطان‌های مختلف منجر به مقاومت در برابر داروهای شیمی درمانی می‌شوند[۱۲،۱۰].

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* به‌عنوان 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 بد خیم نقش اساسی را ایفا کند. این microRNA همچنین با مهار فعالیت ژن های *wnt1* و *Rb* می‌تواند در تنظیم چرخه سلولی و تمایز سلول‌ها نقس مهمی داشته باشد. همه این یافته‌ها نشان می‌دهد که *miR-22* در متاستاز سلول‌های

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-01-13]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.14.1.3.9]

توموری نقش به‌سزایی را ایفا می‌کند و این microRNA می‌توا ند ارزش پیش‌آگهی بالقوه‌ای در بیماران مبتلا به سرطان کلورکتال داشته باشد[۱۰]. بر اساس نتایج به‌دست آمده در این مطالعه تغییر بیان محسوسی در میزان بیان *miR-22* در نمونه های 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 به‌دست آمد.

تغییر بیان جزیی محسوسی 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 نمونه های 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 به‌دست نیامد. اما کاهش بیان محسوسی میان نمونه‌های تومور و بافت نرمال تا حدی مشاهده می شود. 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/ AKT2، XIAP* و بیان کم آن هم در بافت و هم در نمونه مدفوع بیماران مبتلا به سرطان کلورکتال نه تنها شدیدا با وقوع CRC ارتباط دارد بلکه با بقای ضعیف بیماران مبتلا به سرطان روده مرتبط است[۱۴،۱۳]. مطالعات دیگر نیز نشان داده‌اند که بیان *miR-194* در CRA (آدنوم کولورکتال) و بیماران مبتلا به سرطان کلورکتال کاهش می یابد. بنابراین، *miR-194* ممکن است به‌عنوان یک نشانگر 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. تجزیه‌وتحلیل همبستگی Pearson بین ژن‌های *MINCR*، *miR-22* و *miR-194* با استفاده از آزمون Pearson انجام شد. طبق اطلاعات به‌دست آمده ارتباط بین ژن *MINCR* با *miR-22* و *miR-194* ضریب همبستگی منفی می‌باشد. میزان عدد (r= -.77 , r= -.225) و $P< /05$ می‌باشد که در نتیجه این ارتباطات معنی‌دار می‌باشد. پس با توجه به نتایج به‌دست آمده افزایش بیان *MINCR* با کاهش بیان *miR-22* همراه خواهد بود. ارتباط بین مسیرهای مولکولی بین LncRNA و microRNA ها می‌تواند در شناخت مسیر های 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.

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-01-13]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.14.1.3.9]

[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.
[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.

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-01-13]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.14.1.3.9]

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

Sajjad cheraghi[1], Hamid asadzadeh aghdaie2, Gholam reza javadi[3]

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

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-01-13]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.14.1.3.9]