

## بررسی بیان TrkC-miR1 کشف شده در ژن TrkC انسانی در نمونه‌های سرطان ریه در جمعیت اصفهان

سادات دوکانه‌ای فرد<sup>۱</sup>، بهرام محمد سلطانی<sup>\*۱</sup>

(۱) گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

### چکیده:

ریزRNAها یا miRNAها نقش مهمی در سرطان‌زایی از جمله در سرطان ریه دارند. همچنین جهش‌های مرتبط با ژن TrkC در سرطان ریه گزارش شده است. به تازگی در دانشگاه تربیت مدرس یک ریزRNA جدید مستقر در ژن TrkC انسانی کشف گردیده و با شماره دسترسی HG969187 در پایگاه اطلاعاتی EBI به ثبت رسیده است. هدف از مطالعه حاضر بررسی بیان این ریزRNA، با نام TrkC-miR1، در نمونه‌های سرطانی و سالم بافت ریه انسان می‌باشد. از ۱۱ بیمار مبتلا به سرطان ریه نمونه‌های سرطانی و سالم بافت ریه تهیه و استخراج RNA صورت گرفت. پس از سنتز cDNA از تمام نمونه‌ها، بیان TrkC-miR1 با استفاده از روش real-time PCR سنجیده شد. تحلیل داده‌ها حاکی از آن است که بیان TrkC-miR1 در نمونه‌های اسکواموس سل کارسینوما نسبت به بافت سالم حاشیه توموری در همان افراد افزایش یافته است، درحالی‌که بیان آن در نمونه‌های لارج سل کارسینوما و آدنوکارسینوما نسبت به بافت سالم حاشیه توموری در همان افراد کاهش یافته است. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که TrkC-miR1 در نمونه‌های هیستوپاتولوژی مختلف سرطان ریه بیان متمایزی دارد. به نظر می‌رسد با بررسی بیان TrkC-miR1 در تعداد نمونه‌های توموری بیشتر می‌توان به یک مارکر تشخیصی برای بافت‌های سرطانی مختلف ریه دست یافت.

واژگان کلیدی: سرطان ریه، ریزRNA، TrkC

\* نویسنده مسئول:

دکتر بهرام محمد سلطانی، گروه ژنتیک، طبقه چهارم، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، بزرگراه جلال آل احمد، پل نصر، تهران، ایران، پست الکترونیک: [soltanib@modares.ac.ir](mailto:soltanib@modares.ac.ir)

**مقدمه:**

سرطان ریه یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها در سراسر جهان به‌شمار می‌رود [۱]. بیش از ۸۰ درصد مبتلایان به این بیماری در فاصله پنج سال پس از تشخیص بیماری جان خود را از دست می‌دهند [۳،۲].

بر اساس تقسیم‌بندی انجمن سرطان آمریکا<sup>۱</sup>، دو نوع اصلی سرطان ریه عبارتند از:

۱) **سرطان ریه با سلول‌های کوچک**<sup>۲</sup>: که حدود ۲۰ درصد سرطان‌های ریه از این نوع بوده و شایع‌ترین نوع سرطان ریه می‌باشد. روند تکثیر و رشد این نوع سرطان سریع بوده و در مدت زمان کوتاهی در اندام‌های دیگر پراکنده می‌شود.

۲) **سرطان ریه با سلول‌های غیرکوچک**<sup>۳</sup>: این نوع سرطان با توجه به نوع سلول موجود در بافت ریه که سرطانی شده است تعریف می‌شود. NSCLC خود مشتمل بر دو دسته اصلی کارسینومای سلول‌های غیرپوششی (شامل آدنوکارسینوما<sup>۴</sup> و لارج سل کارسینوما<sup>۵</sup>) و کارسینومای سلول‌های پوششی (اسکواموس سل کارسینوما<sup>۶</sup>) می‌باشد [۴].

سرطان ریه در مراحل اولیه هیچ نشانه هشدار دهنده‌ای ندارد. معمولاً علائم پیشرفت این سرطان غیراختصاصی بوده و شامل مواردی همچون سرفه، درد در قفسه سینه، خس‌خس کردن سینه یا تنگی نفس، بالا آوردن بلغم خونی و خستگی می‌باشد [۵].

از هنگام شروع تا مراحل پیشرفت سرطان ریه ویژگی‌های متفاوتی مثل اندازه تومور، ضخامت تومور، محل تومور، تغییر بافتی و وضعیت متاستازی در آن دیده می‌شود و بر این اساس به مراحل I، II، III و IV تقسیم می‌شود. در حالت کلی بیماران در زمانی که سرطان گسترش پیدا نموده و در حالت متاستازی قرار گرفته است، یعنی مرحله III و یا IV، به پزشک مراجعه می‌کنند [۶].

با اینکه حدود ۹۸٪ ژنوم مهره‌داران رونوشت برداری می‌شود اما فقط ۲٪ آنها ژن‌های کد کننده پروتئین

هستند و بقیه نوعی RNA عملکردی را کد می‌کنند که عموماً قابلیت ترجمه به پروتئین را ندارند. ملکول‌های ریز RNA<sup>۷</sup> جزء این مجموعه RNAها به حساب می‌آیند [۸،۷]. ریز RNAها، RNAهای کوچک غیر کد کننده‌ای با اندازه تقریبی ۱۸ تا ۲۷ نوکلئوتید هستند که قادر به تنظیم بیان صدها ژن بطور هم‌زمان می‌باشند [۹]. این ملکول‌ها، در تنظیم بسیاری از فرایندهای سلولی از جمله تمایز، مرگ برنامه‌ریزی شده، تکثیر، نمو و میانکنش‌های میزبان-پاتوژن دخیل هستند [۱۱،۱۰].

بیان بسیاری از ریز RNAها در بیماری‌ها از جمله سرطان تغییر می‌کند که بیانگر نقش مهم این عوامل در ایجاد این بیماری‌ها است [۱۳،۱۲]. در سال ۲۰۰۲ اولین گزارش مبنی بر نقش ریز RNA در ایجاد سرطان ارائه شد [۱۴]. پس از آن در سال ۲۰۰۴، ریز RNA به عنوان یک بیومارکر<sup>۸</sup> در تشخیص و میزان پیشرفت بیماری مدنظر قرار گرفت [۱۵]. میانکنش بین ریز RNA و ژن‌های هدف آن در سرطان [۱۶] و تغییرات بیان ریز RNA در طی رشد و شکل‌گیری تومور در بدن [۱۷]، تاثیر تغییر بیان ریز RNAها در ایجاد بیماری‌های قلبی-عروقی [۱۸]، نقش این عوامل در ایجاد بیماری‌های کهنه عصبی، متاستاز و خودایمنی [۱۹]، در گزارشات متعددی آمده است. امروزه مشخص شده است که بیش‌بیان تنها یک ریز RNA می‌تواند سبب ایجاد سرطان گردد [۲۰]. حتی وجود برخی از پلی‌مورفیسیم‌های تک نوکلئوتیدی<sup>۹</sup> در ریز RNAهای مرتبط با بیماری گزارش شده است [۲۱].

تقریباً نیمی از ژن‌های ریز RNA داخل و یا نزدیک نواحی شکننده کروموزومی، نقاط شکست و یا نواحی که متحمل زیادشدگی<sup>۱۰</sup> می‌شوند قرار دارند [۲۲]. شواهد نشان می‌دهد ریز RNAها می‌توانند به‌عنوان سرکوبگر تومور و یا پیش‌برنده تومور عمل کنند [۲۳]. ریز RNAها نه تنها می‌توانند برای مشخص ساختن زیرگروه‌های NSCLC بکار روند [۲۴] بلکه پروفایل بیانی آن‌ها می‌توانند در تشخیص و عود مجدد بیماری در مرحله اولیه NSCLC مفید باشد [۲۵-۲۷].

<sup>1</sup> American Cancer Society (ASC)

<sup>2</sup> Small Cell Lung Cancer (SCLC)

<sup>3</sup> Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC)

<sup>4</sup> Adenocarcinoma

<sup>5</sup> Large Cell Carcinoma (LCC)

<sup>6</sup> Squamous Cell Carcinoma (SCC)

<sup>7</sup> microRNA (miRNA)

<sup>8</sup> Biomarker

<sup>9</sup> Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

<sup>10</sup> Amplification

مدت ۳۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام شد. سپس جهت غیرفعال نمودن آنزیم DNaseI، از EDTA با غلظت ۵۰ میلی‌مولار در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد استفاده شد.

**واکنش PolyA دار کردن RNA و سنتز cDNA:** از آنجا که ریز RNAها فاقد توالی ploy A در انتهای ۳' خود بوده و دارای طول کوتاهی هستند نمی‌توان به راحتی آن‌ها را تبدیل به cDNA نمود مگر اینکه به طریقی چندین باز آدنین به انتهای ۳' آن‌ها اضافه شود. بنابراین، با استفاده از آنزیم باکتریایی پلی A پلیمراز<sup>۳</sup> و در حضور ATP، ابتدا مجموعه RNAی استخراج شده از سلول را تیمار و به انتهای ۳' تمامی RNAهای سلولی PolyA اضافه شد. سپس، با استفاده از آنزیم Reverse Transcriptase (RT) شرکت Fermentas و با استفاده از پرایمر اختصاصی Anchored-Oligo-dT سنتز cDNA طبق پروتکل استاندارد صورت گرفت.

**Real Time PCR:** بیان TrkC-miR1 با استفاده از تکنیک Real time PCR و با دستگاه ABI 7500 (Applied Biosystems, Foster City CA, USA) اندازه‌گیری شد. این واکنش در حضور اواگرین<sup>۴</sup> برای ۴۰ سیکل در شرایط دمایی ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه انجام شد. برای نرمال کردن<sup>۵</sup> مقدار RNA استفاده شده در نمونه‌ها، از ژن SNORNA-U48 به‌عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد. این مقادیر در نمونه‌های توموری نسبت به نمونه‌های حاشیه توموری در همان فرد مبتلا به تومور نرمال شد. مقادیر تغییرات بیان ژن TrkC-miR1 با روش  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  محاسبه شد.

**پرایمرها:** پرایمرهای به‌کار گرفته شده در این مطالعه عبارتند از Anchored-Oligo-dT جهت سنتز cDNA، پرایمر رفت اختصاصی TrkC-miR1 و پرایمر برگشت عمومی که به ناحیه Anchor بر روی توالی Anchored-Oligo-dT متصل می‌شود و پرایمر

یان‌لو و همکارانش در مطالعه‌ای بر روی نمونه‌های توموری NSCLC نشان دادند که بیان بسیاری از ژن‌های مرتبط با ماندگاری، تمایز و مرگ سلولی از جمله ژن TrkC دست‌خوش تغییر می‌شود [۲۸]. TrkC یا NTRK3 از دسته خانواده تیروزین کینازها می‌باشد. این خانواده ژنی جزء گروه تنظیم‌کننده‌های اصلی انتقال سیگنال در تکثیر سلول می‌باشند که نقش‌های مهمی در تومورزایی دارند. برخی از ژن‌های این خانواده بزرگ از جمله TrkC در سرطان ریه، سینه و پانکراس دچار جهش شده‌اند [۲۹]. هم‌چنین فیوژن‌هایی از ژن‌های NTRK3، NTRK2 و NTRK1 در تومورهای NSCLC ریه گزارش شده است [۳۰]. علاوه بر این وجود جهش‌های سوماتیک در نمونه‌های آدنوکارسینوما ریه نیز گزارش شده است [۳۱]. از آنجا که TrkC-miR1 درون ژن TrkC گرفته است و بعنوان یک نقطه داغ<sup>۱</sup> درون ژنی برای بروز سرطان تلقی می‌شود، هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی بیان TrkC-miR1، در نمونه‌های سرطان ریه می‌باشد.

### مواد و روش‌ها:

**بیماران و بافت‌ها:** تمامی نمونه‌های مورد بررسی در این مطالعه از استان اصفهان جمع‌آوری شدند. این نمونه‌ها شامل بافت ریه در افراد مبتلا به سرطان ریه به همراه بافت حاشیه تومور ریه در همان افراد مبتلا می‌باشند. به‌عبارت دیگر تمامی نمونه‌های مورد بررسی در این مطالعه به‌صورت جفت توموری-سالم بودند. نمونه‌های بافت توموری و سالم تهیه شده تا زمان استفاده جهت استخراج RNA در تانک نیتروژن مایع نگهداری شدند.

**استخراج RNA:** استخراج RNA تام از بافت‌های توموری و سالم حاشیه توموری با استفاده از تریزول<sup>۲</sup> و طبق دستورالعمل شرکت Invitrogen انجام شد. تمام RNAهای استخراج شده تا زمان استفاده در فریزر -۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. کیفیت RNAهای استخراج شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز، و غلظت آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفومتری اندازه‌گیری شد. حذف آلودگی DNA در نمونه‌های RNA استخراج شده، با تیمار آنزیم DNaseI شرکت Fermentas به

<sup>۳</sup> Poly A polymerase

<sup>۴</sup> EvaGreen

<sup>۵</sup> Normalizing

<sup>۱</sup> Hot point

<sup>۲</sup> TRIzol®

## جدول ۱ - توالی پرایمرهای استفاده شده در این مطالعه

نام پرایمر	توالی
Anchored-Oligo-dT	CGCTCGACTAGTACAACCTCAAGGTTCTTCCAGTCACGACG(T)18N
TrkC-miR1	GGCTGGGGATTCTGAGCT
پرایمر برگشت عمومی	AACTCAAGGTTCTTCCAGTCACG
پرایمر رفت U48	TGACCCCAGGTAACCTCTGAGTGTGT

اندازه‌گیری غلظت RNAها با دستگاه اسپکتروفوتومتر نیز حاکی از آن بود که از غلظت و کیفیت خوبی برخوردارند.

آنالیز داده‌های حاصل از Real Time PCR با استفاده از روش t-test نشان داد که افزایش بیان TrkC-miR1 در نمونه‌های توموری ریه با هیستوپاتولوژی اسکواموس سل کارسینوما نسبت به بافت سالم حاشیه توموری در همان افراد معنی‌دار است، درحالی‌که کاهش بیان معنی‌دار TrkC-miR1 در نمونه‌های توموری ریه با هیستوپاتولوژی لارج سل کارسینوما و آدنوکارسینوما نسبت به بافت سالم حاشیه توموری در همان افراد مشاهده شد (شکل ۲).

## بحث:

ملکول‌های ریز RNA جزء مجموعه RNAهای عملکردی و غیر کد کننده به حساب می‌آیند [۳۲] که به پروتئین کد نمی‌شوند [۸،۷]. این عوامل، در تنظیم بسیاری از فرآیندهای سلولی دخیل هستند [۱۱،۱۰]. بر اساس گزارشات متعدد، بیان ریز RNAها در بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان ریه تغییر می‌کند [۲۳،۱۳،۱۲]. این گزارشات حاکی از آن است که اغلب ژن‌های ریز RNA در نواحی مرتبط با سرطان واقع شده‌اند [۲۲]

رفت ژن U48. توالی این پرایمرها در جدول ۱ نشان داده شده است.

**آنالیز آماری داده‌ها:** نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار اندازه‌گیری شد. از t-test برای مقایسه داده‌ها بین نمونه‌های سالم و توموری استفاده شد و هر آزمایش دو بار تکرار شد. داده‌های حاصل از Real Time PCR با روش  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  آنالیز شدند.

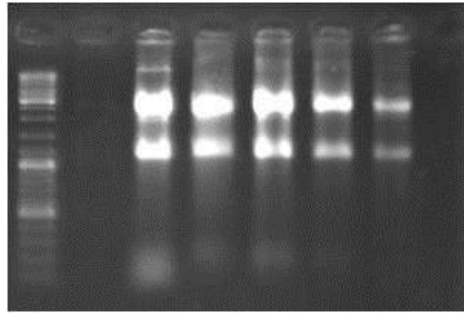
## نتایج:

این مطالعه بر روی ۱۱ بیمار، شامل ۲ زن (۱۸٪) و ۹ مرد (۸۲٪)، با متوسط سنی ۵۱ سال و پهنه سنی ۳۵ تا ۷۴ سال انجام پذیرفت. بیماران مورد بررسی از شماره ۱ تا ۱۱ نام‌گذاری شده‌اند. نوع هیستوپاتولوژی بیماران مورد بررسی شامل ۲ مورد اسکواموس سل کارسینوما، ۲ مورد لارج سل کارسینوما و ۷ مورد آدنوکارسینوما بود. مشخصات بیماران مورد مطالعه در این تحقیق در جدول ۲ آورده شده است.

نتایج استخراج RNA نمونه‌های تومور ریه و بافت حاشیه تومور روی ژل آگارز ۱٪ در شکل ۱ نشان داده شده است. RNAهای استخراج شده کیفیت خوبی داشتند و تمامی باندهای مورد انتظار در نمونه‌های RNA استخراج شده روی ژل آگارز مشاهده شدند.

## جدول ۲ - مشخصات بیماران مورد مطالعه در تحقیق حاضر

شماره	جنسیت	سن/سال	نوع هیستوپاتولوژی	وضعیت تمایز یافتگی	مرحله
۱	مرد	نامشخص	آدنوکارسینوما	نامشخص	IIA
۲	مرد	۵۷	آدنوکارسینوما	به‌خوبی تمایز یافته	نامشخص
۳	نامشخص	۶۰	آدنوکارسینوما	نامشخص	نامشخص
۴	مرد	۶۴	آدنوکارسینوما	نامشخص	نامشخص
۵	مرد	۵۲	آدنوکارسینوما	متاستاتیک	نامشخص
۶	مرد	۳۵	آدنوکارسینوما	متاستاتیک	نامشخص
۷	مرد	۵۴	آدنوکارسینوما	متوسط تمایز یافته	IIB
۸	زن	۵۲	لارج سل کارسینوما	نامشخص	نامشخص
۹	مرد	۵۷	لارج سل کارسینوما	نامشخص	نامشخص
۱۰	زن	۶۵	اسکواموس سل کارسینوما	به‌خوبی تمایز یافته	نامشخص
۱۱	مرد	۷۴	اسکواموس سل کارسینوما	به‌خوبی تمایز یافته	IIB



شکل ۱ - RNA استخراج شده از بافت‌های توموری و حاشیه توموری (سالم) بیماران مبتلا به سرطان ریه، بارگذاری شده روی ژل آگارز ۱٪

اسکواموس سل کارسینوما، ۲ مورد لارج سل کارسینوما و ۷ مورد آدنوکارسینوما بود که شایع‌ترین آن در این مطالعه آدنوکارسینوما می‌باشد (جدول ۲). از این جنبه این مطالعه مشابه مطالعاتی است که توسط یانگ در مرکز پزشکی May [۳۴] و مطالعه مور در آمریکا [۳۵] انجام گرفت. همچنین مطالعه مشابه دیگری نیز گزارش شده است [۳۶]. در مطالعه حاضر ارتباط معنی‌داری بین تغییرات بیانی مشاهده شده در میان ۱۱ نمونه بیمار مورد بررسی با سن و جنس بیماران، مرحله و وضعیت تمایز یافتگی بافت‌های توموری دیده نشد (جدول ۲). اگرچه همواره استفاده از تعداد نمونه‌های بیشتر می‌تواند نتایج دقیق‌تری را در اختیارمان قرار دهد.

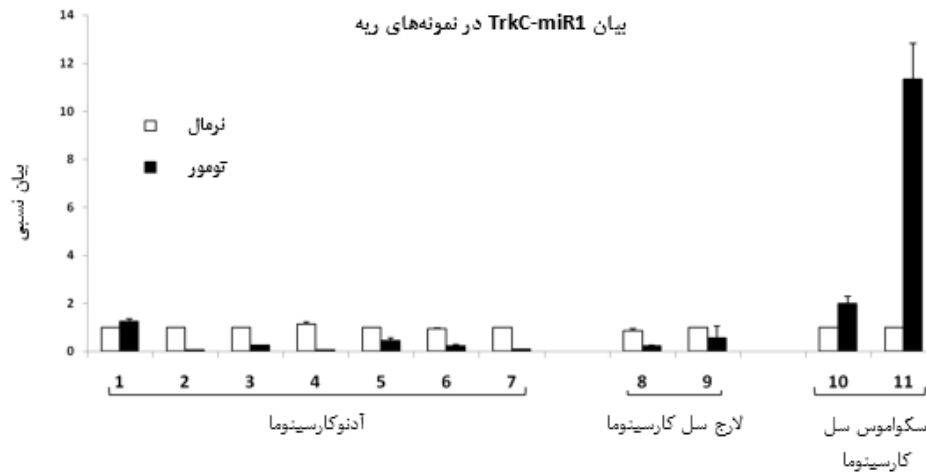
در تحقیق حاضر، بیان TrkC-miR1 در نمونه‌های توموری ریه با هیستوپاتولوژی اسکواموس سل کارسینوما نسبت به بافت سالم حاشیه توموری در همان افراد افزایش یافته بود (شکل ۲). اگرچه بیان TrkC-miR1 در نمونه‌های توموری ریه با هیستوپاتولوژی لارج سل کارسینوما و آدنوکارسینوما نسبت به بافت سالم حاشیه توموری در همان افراد کاهش نشان داد (شکل ۲). این نتایج حاکی از بیان متفاوت این ریز RNA در انواع مختلف سرطان ریه است. با توجه به اینکه تومور اسکواموس سل کارسینوما جزء دسته کارسینومای سلول‌های پوششی و تومورهای لارج سل کارسینوما و آدنوکارسینوما جزء دسته کارسینومای سلول‌های غیرپوششی می‌باشد [۴]، شاید این تفاوت بیان به منشا سلولی که تومور از آن نشأت گرفته است مرتبط باشد. اگرچه تومورهای ریه اسکواموس سل کارسینوما، لارج سل کارسینوما و آدنوکارسینوما، همه از بافت اپیتلیال منشا گرفته‌اند و هر سه از نوع کارسینومای سلول‌های غیرکوچک (NSCLC) هستند [۴].

و از پروفایل بیانی آن‌ها در تشخیص و عود بیماری استفاده می‌شود [۲۵-۲۷].

بیان بسیاری از ژن‌های مرتبط با ماندگاری، تمایز و مرگ سلولی از جمله ژن TrkC در سرطان ریه تغییر می‌کند [۲۸]. ژن TrkC در بسیاری از سرطان‌ها از جمله سرطان ریه دستخوش جهش یا فیوژن با سایر ژن‌ها می‌شود [۲۹، ۳۰]. علاوه بر این وجود جهش‌های سوماتیک در نمونه‌های آدنوکارسینومای ریه نیز گزارش شده است [۳۱]. از این‌رو در این مطالعه بر آن شدیم تا در نمونه‌های تومور ریه و بافت حاشیه توموری بیان یک ریز RNA مستقر در ژن TrkC انسانی را بررسی کنیم. این ریز RNA به‌تازگی توسط دوکانه‌ای و همکاران در دانشگاه تربیت مدرس کشف و با شماره دسترسی EMBL EBI HG969187 در پایگاه اطلاعات ژنی ثبت شده است. تاکنون هیچ گزارشی از عملکرد این ریز RNA منتشر نشده است، اگرچه مطالعات در حال انجام است.

تهیه بلوک‌های پارافینه منجر به شکسته شدن اسیدهای نوکلئیک و بویژه RNA می‌شود. از این‌رو بررسی بیان ژن از نمونه RNAهای تهیه شده از بلوک‌های پارافینه با دشواری‌های بسیاری روبروست و چنانچه بتوان از نمونه‌های تازه برای استخراج RNA استفاده کرد نتایج رضایت بخش‌تر خواهد بود. با این حال در مطالعه حاضر از نمونه‌های پارافینه به صورت موفقیت‌آمیزی برای بررسی بیان TrkC-miR1 استفاده شد.

گستره و میانگین سنی در این مطالعه، مشابه مطالعاتی است که توسط سایر محققین نیز گزارش شده است بطوری‌که بیشترین تعداد این بیماران را مرد تشکیل می‌دهد [۳۳]. نوع هیستوپاتولوژی بیماران مورد بررسی که از شماره ۱ تا ۱۱ نام‌گذاری شده‌اند، شامل ۲ مورد



شکل ۲ - بیان نسبی  $TrkC$ -miR1 در نمونه‌های بافت توموری ریه، نسبت به بافت ریه سالم حاشیه همان تومور، در افراد مبتلا به این بیماری. بیان این ریز RNA در نمونه‌های آدنوکارسینوما و لارج سل کارسینوما نسبت به بافت حاشیه توموری ریه کاهش معنی‌داری نشان داد ولی بیان آن در نمونه‌های توموری اسکواموس سل کارسینوما به‌طور معنی‌داری نسبت به بافت حاشیه توموری ریه افزایش یافته بود.

Society/European Respiratory Society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *Journal of Thoracic Oncology*. 2011;6(2):244-285.

- Al-Kattan K, Sepsas E, Fountain SW, Townsend ER. Disease recurrence after resection for stage I lung cancer. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*. 1997;12(3):380-384.
- Rami-Porta R, Crowley JJ, Goldstraw P. The revised TNM staging system for lung cancer. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2009;15(1):4-9.
- Birney E, Stamatoyannopoulos JA, Dutta A, et al. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. *Nature*. 2007;447(7146):799-816.
- Washietl S, Pedersen JS, Korbil JO, et al. Structured RNAs in the ENCODE selected regions of the human genome. *Genome Research*. 2007;17(6):852-864.
- Rodriguez A, Griffiths-Jones S, Ashurst JL, Bradley A. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units. *Genome Research*. 2004;14(10a):1902-1910.
- Carthew RW, Sontheimer EJ. Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs. *Cell*. 2009;136(4):642-655.
- Cullen BR. Transcription and processing of human microRNA precursors. *Molecular Cell*. 2004;16(6):861-865.
- Creighton CJ, Reid JG, Gunaratne PH. Expression profiling of microRNAs by deep sequencing. *Briefings in Bioinformatics*. 2009;10(5):490-497.

این مطالعه نشان می‌دهد که  $TrkC$ -miR1 به شکل متمایزی در نمونه‌های اسکواموس سل کارسینوما، لارج سل کارسینوما و آدنوکارسینوما بیان می‌شود و این امید وجود دارد که با جمع‌آوری و بررسی تعداد نمونه‌های توموری بیشتر بتوانیم به یک مارکر تشخیصی موثر برای انواع مختلف هیستوپاتولوژی ریه دست پیدا کنیم. علاوه بر این با توجه به گزارشی که از بیان متفاوت ژن  $TrkC$  در بافت‌های مختلف در دست است می‌توانیم تغییرات بیان ژن‌های  $TrkC$  و  $TrkC$ -miR1 در بافت‌های مختلف توموری و حاشیه توموری را بررسی کنیم تا در صورت امکان به اختصاصی بودن یا نبودن این مارکر احتمالی در سرطان ریه نسبت به سایر سرطان‌ها پی ببریم.

#### منابع:

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2011;61(2):69-90.
- Forgacs E, Zöchbauer-Müller S, Oláh E, Minna JD. Molecular genetic abnormalities in the pathogenesis of human lung cancer. *Pathology Oncology Research*. 2001;7(1):6-13.
- Risch A, Plass C. Lung cancer epigenetics and genetics. *International Journal of Cancer*. 2008;123(1):1-7.
- Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic

- 27) Seike M, Goto A, Okano T, et al. MiR-21 is an EGFR-regulated anti-apoptotic factor in lung cancer in never-smokers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009;106(29):12085-12090.
- 28) Lu Y, Lemon W, Liu PY, et al. A gene expression signature predicts survival of patients with stage I non-small cell lung cancer. *PLoS Medicine*. 2006;3(12):e467.
- 29) Wood LD, Calhoun ES, Silliman N, et al. Somatic mutations of GUCY2F, EPHA3, and NTRK3 in human cancers. *Human Mutation*. 2006;27(10):1060-1061.
- 30) Doebele RC. A new TRAcK in lung cancer: NTRK1 gene fusions as a therapeutic target. *Clinical Cancer Research*. 2014;20(2Suppl):Abstract Nr. IA41.
- 31) Ding L, Getz G, Wheeler DA, et al. Somatic mutations affect key pathways in lung adenocarcinoma. *Nature*. 2008;455(7216):1069-1075.
- 32) Wilusz JE, Sunwoo H, Spector DL. Long noncoding RNAs: functional surprises from the RNA world. *Genes & Development*. 2009;23(13):1494-1504.
- 33) Kim JH, Cho JH, Park MS, et al. Pulmonary inflammatory pseudotumor-a report of 28 cases. *The Korean Journal of Internal Medicine*. 2002;17(4):252-258.
- 34) Yang P, Allen MS, Aubry MC, et al. Clinical features of 5,628 primary lung cancer patients: experience at Mayo Clinic from 1997 to 2003. *CHEST*. 2005;128(1):452-462.
- 35) Moore R, Doherty D, Chamberlain R, Khuri F. Sex differences in survival in non-small cell lung cancer patients 1974-1998. *Acta Oncologica*. 2004;43(1):57-64.
- 36) Salari A, Taghipour S, Moghimi M, Mirshamsi M, Ghaisari F, Niazbakhsh E. Evaluation of frequency of clinical and pathological findings in lung diseases in Shahid Sadoughi university of medical sciences of yazd, during 2001-2006. *Iranian Journal of Surgery*. 2012;20(1). (in farsi)
- 13) Lu J, Getz G, Miska EA, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature*. 2005;435(7043):834-838.
- 14) Eiring AM, Harb JG, Neviani P, et al. miR-328 functions as an RNA decoy to modulate hnRNP E2 regulation of mRNA translation in leukemic blasts. *Cell*. 2010;140(5):652-665.
- 15) Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, et al. Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. *Cancer Research*. 2004;64(11):3753-3756.
- 16) Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, et al. RAS Is Regulated by the let-7 microRNA family. *Cell*. 2005;120(5):635-647.
- 17) He L, Thomson JM, Hemann MT, et al. A microRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature*. 2005;435(7043):828-833.
- 18) Rooij EV, Sutherland LB, Liu N, et al. A signature pattern of stress-responsive microRNAs that can evoke cardiac hypertrophy and heart failure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006;103(48):18255-18260.
- 19) Almeida MI, Reis RM, Calin GA. MicroRNA history: discovery, recent applications, and next frontiers. *Mutation Research*. 2011;717(1-2):1-8.
- 20) O'Donnell KA, Wentzel EA, Zeller KI, Dang CV, Mendell JT. c-Myc-regulated microRNAs modulate E2F1 expression. *Nature*. 2005;435(7043):839-843.
- 21) Lu M, Zhang Q, Deng M, et al. An analysis of human microRNA and disease associations. *PloS One*. 2008;3(10):e3420.
- 22) Lin PY, Yu SL, Yang PC. MicroRNA in lung cancer. *British Journal of Cancer*. 2010;103(8):1144-1148.
- 23) Croce CM. Causes and consequences of microRNA dysregulation in cancer. *Nature Reviews Genetics*. 2009;10(10):704-714.
- 24) Bishop JA, Benjamin H, Cholakh H, Chajut A, Clark DP, Westra WH. Accurate classification of non-small cell lung carcinoma using a novel microRNA-based approach. *Clinical Cancer Research*. 2010;16(2):610-619.
- 25) Patnaik SK, Kannisto E, Knudsen S, Yendamuri S. Evaluation of microRNA expression profiles that may predict recurrence of localized stage I non-small cell lung cancer after surgical resection. *Cancer Research*. 2010;70(1):36-45.
- 26) Raponi M, Dossey L, Jatkoe T, et al. MicroRNA classifiers for predicting prognosis of squamous cell lung cancer. *Cancer Research*. 2009;69(14):5776-5783.



# The Expression Study of TrkC-miR1, Discovered in Human TrkC Gene, in Lung Cancers of Isfahan Population

Sadat Dokanehiifard<sup>1</sup>, Bahram Mohammad Soltani<sup>1\*</sup>

1) Genetics Department, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

## Abstract:

MicroRNAs play pivotal role in tumorigenesis, including lung tumors. Mutations of TrkC gene are also related to lung cancers. Recently, we have discovered a novel miRNA named TrkC-miR1 (has-miR11181), located in the human TrkC gene (EBI acc # HG969187). Here, we intended to investigate TrkC-miR1 expression status in pairs of lung tumors and their marginal tissues.

Total RNAs from 11 lung tumors and their marginal tissue samples were extracted. Then, real-time PCR was performed to analyze TrkC-miR1 expression, following cDNA synthesis.

Data analysis revealed that TrkC-miR1 expression was elevated in squamous cell carcinoma related to marginal tumor tissues. However, TrkC-miR1 expression was decreased in large cell carcinoma and adenocarcinoma, compared to the marginal tumor tissues.

Results of current study shows that TrkC-miR1 has a distinct expression pattern in different histopathological types of lung tumor. It remains to be tested in more tumor samples, if TrkC-miR1 could be used as a tumor marker for distinction of lung tumor subtypes.

**Keywords:** Lung tumor, TrkC-miR1, TrkC

---

## \* Corresponding Author:

Bahram Mohammad Soltani, PhD. Faculty of Biological Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran,  
Email: [soltanib@modares.ac.ir](mailto:soltanib@modares.ac.ir)