بررسی میزان بیان microRNA-601 در بیماران مبتلا به سرطان ریه و ارتباط آن با جنسیت، سن و استعمال سیگار

مهلا گنجعلی[۱]، بابک خیرخواه[۲*]، کیومرث امینی[۳]

۱) گروه زیست‌شناسی، واحد سیرجان، دانشگاه آزاد اسلامی، سیرجان، ایران
۲) گروه میکروب‌شناسی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران
۳) گروه میکروب‌شناسی، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

چکیده:

هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی میزان بیان miR-601 در زنان و مردان مبتلا به سرطان ریه و ارتباط آن با استعمال سیگار، سن و جنسیت بیماران بوده است.

در طی این مطالعه که بصورت توصیفی مقطعی انجام گرفت، سرم ۸۰ بیمار (۵۴ مرد و ۲۶ زن) مبتلا به سرطان ریه در مراحل مختلف بیماری جمع‌آوری شد. سپس مقدار کل RNA سلولی استخراج و با استفاده از RT-PCR میزان بیان miR-601 مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج نشانگر آن بود که میزان بیان miR-601 بطور معنادار در مراحل ۲، ۳ و ۴ بیماری کاهش پیدا کرد. این در حالی می‌باشد که بیان این میکروRNA در مرحله اول بیماری تغییر معناداری را نشان نداد.

مقدار بیان miR-601 می‌تواند بعنوان یک نشانگر زیستی جهت پیش بینی مراحل سرطان ریه مورد استفاده قرار بگیرد. افزایش سن به همراه استعمال سیگار می‌تواند بعنوان دو فاکتور خطر مهم در ابتلا به سرطان ریه در هر دو گروه مردان و زنان مورد توجه باشد.

واژگان کلیدی: سرطان ریه، microRNA-601، استعمال سیگار، سن، جنسیت

* نویسنده مسئول:
دکتر بابک خیرخواه، گروه میکروب‌شناسی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران، کد پستی: ۷۶۳۵۱۳۱۱۶۷، پست الکترونیک: Babakkheirkhah@yahoo.com

مقدمه:

سرطان ریه در میان شایع‌ترین سرطان‌ها در جهان دسته‌بندی می‌شود. این سرطان بسیار کشنده می‌باشد، چرا که در اغلب موارد بیماری در مراحل پیشرفته آن تشخیص داده می‌شود و تجهیزات و داروهای درمانی برای آن بسیار محدود است. بطور کلی از نقطه نظر بافت‌شناسی، سرطان ریه به دو دسته سرطان ریه سلول‌های کوچک[1] (SCLC) و سلول‌های غیرکوچک[2] (NSCC) تقسیم‌بندی می‌شود. از نظر آماری، بیش از ۸۰٪ سرطان‌های ریه از نوع NSCC می‌باشند که خود به سه گروه آدنوکارسینوما[3]، کارسینومای سلول سنگفرشی[4] و کارسینومای سلول بزرگ[5] تقسیم می‌شود [۲،۱].

با وجود تحقیقات گسترده جهت درمان سرطان ریه، تنها ۱۵٪ از بیماران تحت درمان می‌توانند تا پنج سال به زندگی خود ادامه دهند. راه‌های درمانی محدود، متاستاز و مقاومت بیماران به داروهای مورد استفاده از مهم‌ترین چالش‌های درمان سرطان ریه می‌باشد [۳]. به همین دلیل، یافتن راه‌های درمانی جدید به منظور درمان و کاهش مرگ و میر بیماران بسیار ضروری می‌باشد.

تحقیقات بسیاری نقش میکروRNAها را در شناسایی و پیشرفت بیماری‌های مختلف از جمله سرطان ریه مشخص کرده است. میکرو RNAها ریبونوکلئیک اسیدهای غیر کدکننده به طول ۲۵-۱۹ نوکلئوتید می‌باشند که از نظر تکاملی توالی‌های محافظت شده‌ای به شمار می‌آیند [۲]. تاکنون نقش میکروRNAها در تنظیم منفی بیان ژن‌های مختلف پس از رونویسی نشان داده شده است. این مولکول‌ها تنظیم بیان ژن‌ها را از طریق مهار ترجمه mRNA یا تجزیه آن انجام می‌دهند. بدین ترتیب در تنظیم فرایندهای مختلف سلولی مانند تکثیر و رشد سلول، تمایز، تکامل و انتقال سیگنال نقش بسیار مهمی دارند [۴،۱].

در ارتباط با سرطان‌ها، مولکول‌های میکروRNA می‌توانند در نقش سرکوبگر تومور یا انکوژن ظاهر شوند، هرچند مطالعات مختلف اثبات کرده است که بسته به نوع تومور و دیگر شرایط می‌توانند هر دو نقش را داشته باشند. یافته‌های مختلف نشان می‌دهد که می‌توان از میکروRNAها به عنوان زیست نشانگرهای اختصاصی و غیر تهاجمی در پیش‌بینی انواع مختلفی از سرطان‌ها بهره جست [۶،۵].

مطابق با مطالعات اپیدمیولوژیک، استعمال دخانیات با خطر ابتلا به سرطان ریه ارتباط مستقیم دارد؛ به گونه‌ای که افراد سیگاری در مقایسه با افراد غیر سیگاری سه برابر بیشتر در معرض ابتلا به سرطان ریه قرار دارند. از طرف دیگر، گزارشات نشان می‌دهد که نیمی از مرگ و میرهای بیماران مبتلا به سرطان ریه در اثر استعمال سیگار می‌باشد [۸،۷]. دود حاصل از سوختن سیگار حاوی ترکیباتی می‌باشد که کارسینوژن هستند که این ترکیبات در سه گروه هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک، آمین‌های آروماتیک و نیتروزآمین‌های ویژه تنباکو قرار می‌گیرند [۹]. کارسینوژن‌ها معمولا اثر سمی خود را در بدن پس از تبدیل شدن به مولکول‌های حدواسط که از نظر متابولیکی فعال می‌باشند اعمال می‌کنند. این حدواسط‌ها توانایی اتصال به مولکول DNA و ایجاد جهش و در نتیجه سرطان را دارند [۱۰].

گزارشات نشان می‌دهد که با ۱/۸ میلیون بیمار مبتلا به سرطان ریه در سال، این بیماری پیشروترین عامل مرگ ناشی از سرطان در تمام دنیا بویژه در مردان در مناطق آمریکا و اروپا می‌باشد. یکی از مهم‌ترین دلایل بالاتر بودن سرطان ریه در مردان در این گزارشات می‌تواند به دلیل بالاتر بودن آمار استعمال سیگار در مردان نسبت به زنان باشد. هر چند ارتباط میان سرطان ریه و جنسیت موضوع بسیار بحث برانگیزی می‌باشد و فاکتورهای مختلفی آن را تحت تاثیر قرار می‌دهند [۱۱]. در طول سال‌های ۲۰۰۶ تا ۲۰۱۰، متوسط شیوع سرطان ریه در میان مردان در آمریکا از ۱/۳ مورد در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر در رده سنی ۳۰-۳۴ سال تا ۵۸۵/۵ مورد در رده سنی ۸۹-۸۵ سال گزارش شد. در مورد زنان، شیوع این بیماری ۱/۴ در رده سنی ۳۴-۳۰ سال تا ۳۵۶/۸ در رده سنی ۷۹-۷۵ سال گزارش شد [۱۲]. هدف از مطالعه حاضر بررسی بیان

[1] Small cell lung cancer
[2] Non-small cell non cancer
[3] Adenocarcinoma
[4] Squamous cell carcinoma
[5] Large cell carcinoma

miR-601 در سرم بیماران مبتلا به سرطان ریه و بررسی ارتباط آن با استعمال سیگار، جنسیت و سن بیماران می‌باشد.

مواد و روش‌ها:

تهیه سرم از بیماران

در این مطالعه توصیفی - مقطعی، ۸۰ بیمار مبتلا به سرطان ریه که تحت هیچ‌گونه درمان شیمی درمانی و یا جراحی قرار نگرفته بودند به همراه ۸۰ فرد غیر بیمار (کنترل) بعنوان جامعه آماری در نظر گرفته شدند. بیماران از نظر مشخصات فردی، جنسیت و سابقه استعمال دخانیات با رضایت و رعایت اصول اخلاقی مورد پرسش قرار گرفتند. از افراد مورد مطالعه با استفاده از سرنگ‌های معمولی خونگیری انجام شد و به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۵۰۰۰ سانتریفیوژ شد. نمونه‌های سرم در لوله‌های درپوش‌دار جمع‌آوری گردید و در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

استخراج RNA از نمونه‌های سرم

به‌منظور استخراج RNA از نمونه‌های سرم، از کیت RNA Extraction kit DNP, EX6071 (سیناکلون) استفاده شد. تمامی مراحل مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده انجام پذیرفت. ابتدا، محلول لیز کننده بر روی ۱۰۰ میکرولیتر نمونه سرم ریخته و به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس شد. سپس، ۳۰۰ میکرولیتر از محلول رسوب دهنده به محلول فوق اضافه و به مدت ۵ ثانیه ورتکس شد. مقدار ۸۰۰ میکرولیتر از محلول استخراج RNA (RNX-PLUS) به نمونه سرم خون هموژن در داخل میکروتیوب اضافه شد (۵۰۰ میکرولیتر سرم). پس از ورتکس نمودن میکروتیوب به مدت ۵ الی ۱۰ ثانیه، ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم اضافه گردید و به مدت ۱۵ ثانیه بر روی ورتکس قرار داده شد. سپس نمونه‌ها در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردیدند. آنگاه فاز رویی به داخل میکروتیوب جدید انتقال داده شد. در مرحله بعد، هم‌حجم فاز رویی ایزوپروپانول اضافه گردید و یک شبانه روز در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد قرار داده شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، سانتریفوژ به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه انجام گرفت. در این مرحله پس از مشاهده رسوب، محلول رویی دور ریخته شد و ۱ میلی‌لیتر الکل ۷۵٪ به رسوب حاصل اضافه گردید. سپس نمونه‌ها در ۷۵۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ دقیقه سانتریفوژ شدند. پس از دور ریختن محلول رویی اجازه داده شد تا محتویات میکروتیوب خشک شود. آنگاه به رسوب ۲۰ میکرولیتر آب دی‌اتیل‌پیروکربنات اضافه گشت و ۱۰ دقیقه زمان داده شد تا RNA استخراج شود.

ارزیابی کیفیت و بازده RNA استخراج شده

مقدار ۱/۵ میکرولیتر از RNA استخراج شده برداشته شد و جذب آن با استفاده از دستگاه نانودراپ (Thermo scientific, USA) در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر خوانده شد. با توجه به نسبت جذب RNA در این دو طول موج از میزان خلوص RNA اطمینان حاصل شد. جهت ارزیابی کیفیت RNA استخراج شده از روش ژل الکتروفورز استفاده گردید. به این منظور، مقدار ۲ میکرولیتر از RNA استخراج شده بر روی ژل آگارز ۱/۲ درصد بارگذاری شد و با استفاده از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید کیفیت آن مورد سنجش قرار گرفت.

سنتز cDNA و واکنش Real-Time PCR

سنتز cDNA با استفاده از کیت First Strand cDNA Synthesis Kit (سیناکلون) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده انجام پذیرفت. واکنش Real-Time PCR، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و کیت Quantitative Real-time PCR kit (سیناکلون) برای miR-601 و بتا اکتین به‌عنوان مرجع انجام گرفت (جدول ۱). محلول واکنش حاوی ۱۰ میکرولیتر SYBR Green PCR Master Mix، ۴ میکرولیتر cDNA سنتز شده الگو، ۱ میکرولیتر پرایمر و آب فاقد نوکلئاز بود که در دستگاه Real-Time PCR که برنامه دمایی آن بصورت زیر تنظیم شده بود قرار داده شد. مرحله اول که مرحله فعال سازی اولیه بود به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ سانتی‌گراد در نظر گرفته شد. سپس، مرحله دناتوراسیون به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد، انیلینگ[1] به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد و طویل شدن به مدت ۳۰ ثانیه در دمای

[1] Annealing

جدول ۱ - توالی آغازگرهای طراحی شده برای ردیابی miR-601

Target	Sequence primer(5´-3´)
miRNA-601	U6-F: 5'GCTCGCTTCGGCAGCACATATAC 3' U6-R: 5'GGTCCGAGGTATTCGCACTGGATA 3'
β-actin	F: 5' CGGCCAGGTCATCACCATT 3' R: 5' CACAGGACTCCATGCCCAG 3'

۷۲ درجه سانتیگراد در نظر گرفته شد. این مرحله بصورت ۳۵ چرخه تکرار گردید.

آنالیز آماری

آنالیز آماری داده‌های بیان miR-601 با استفاده از نرم‌افزار REST انجام شد. تفاوت آماری بیان miR-601 در مراحل مختلف سرطان در میان افراد بیمار و غیر بیمار با سطح معناداری p<۰/۰۵ مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار اندازه‌گیری شد.

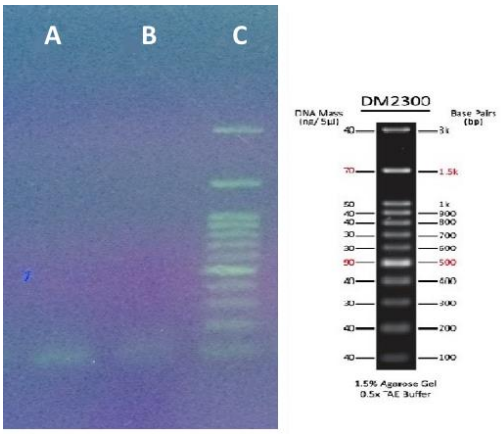
یافته‌ها:

نتایج مربوط به ژل آگارز الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز[1] نشان داد که نمونه‌های RNA استخراج شده بر روی ژل دارای دو باند شاخص بدون اسمیر مربوط به 28S rRNA و 18S rRNA می‌باشند که نشان دهنده کیفیت RNA استخراج شده است. همچنین محاسبه جذب ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر مقدار بسیار ناچیزی از پروتئین و ناخالصی را نشان داد. تصاویر مربوط به ژل الکتروفورز محصولات ریل تایم PCR همچنین حضور یک باند اختصاصی برای miR-601 و β-actin را نشان داد (شکل ۱). آنالیز بیان miR-601 این موضوع را روشن ساخت که میکروRNA در مراحل ۲، ۳ و ۴ بیماری دارای سیکل آستانه[2] (Ct) بیشتری نسبت به کنترل (سرم افراد بدون سرطان ریه) می‌باشد. از طرف دیگر، تفاوت معناداری در بیان miR-601 در مرحله اول بیماری در سرم افراد دارای سرطان ریه و افراد بدون بیماری دیده نشد (p>۰/۰۵). بدین ترتیب بیان miR-601 در مراحل ۲، ۳ و ۴ بیماری کاهش معنادار داشته، ولی در مرحله اول بیماری تغییر معناداری نشان نداده است (شکل ۲).

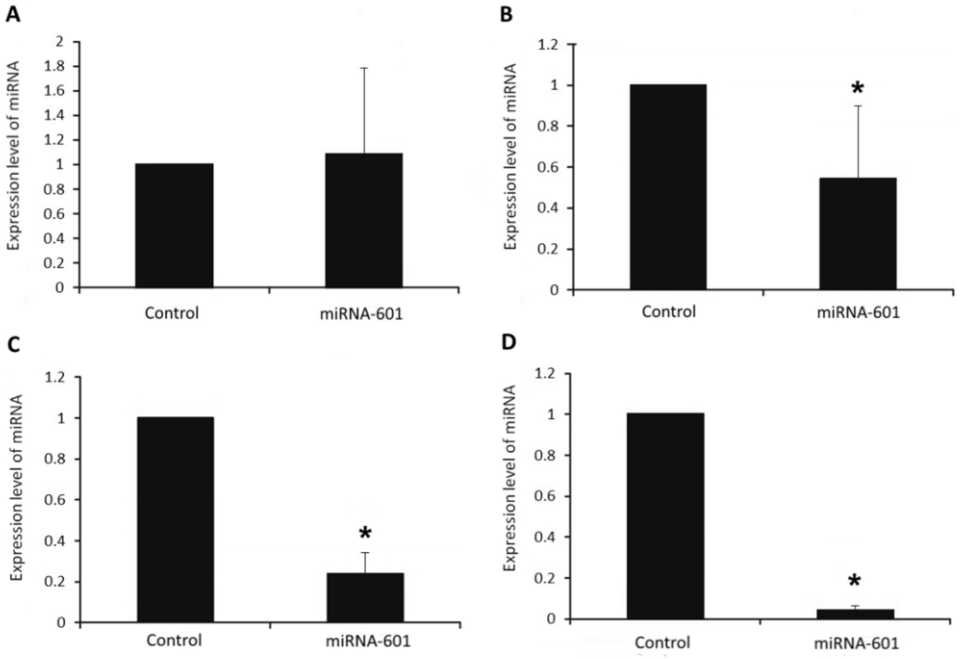
[1] Polymerase chain reaction (PCR)

[2] Cycle of threshold (CT)

از ۸۰ بیمار مورد مطالعه، ۵۴ بیمار مرد و ۲۶ بیمار زن بودند. نتایج بدست آمده نشان داد که ۲۹/۶٪ از مردان در مرحله اول، ۲۴٪ در مرحله دوم، ۲۷/۷٪ در مرحله سوم و ۱۸/۵٪ در مرحله چهارم بیماری بودند. در مورد زنان نیز، ۲۶/۹٪ در مرحله اول، ۳۰/۸٪ در مرحله دوم، ۱۵/۴٪ در مرحله سوم و ۲۶/۹٪ در مرحله سوم بیماری بودند. مطابق با این نتایج، بیشتر مردان در مرحله ابتدایی بیماری و بیشتر زنان در مرحله دوم بیماری بسر می‌بردند (شکل ۳). شکل ۴، درصد مبتلایان به سرطان ریه را در رده‌های سنی مختلف نمایش می‌دهد. مطابق با این نمودار، در رده‌های سنی ۴۹-۴۰ سال، ۶۹-۶۰ سال و ۷۰-۷۹ سال، تعداد زنان مبتلا به سرطان ریه بیشتر از مردان است. این در حالی است که تعداد مردان بیمار در رده‌های سنی ۵۹-۵۰ و ۹۰-۸۰ بیشتر از زنان می‌باشد. مطابق با نتایج حاصل شده، بیشترین تعداد زنان و مردان مبتلا به سرطان ریه در رده سنی ۶۹-۶۰ سال و کمترین تعداد در رده سنی ۴۹-۴۰ سال مشاهده شد. در رده



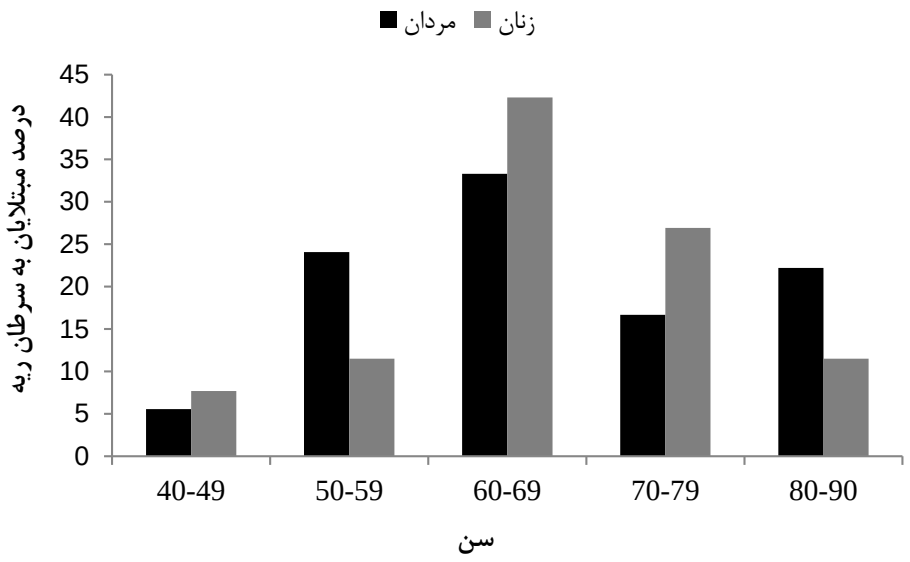
شکل ۱ - ژل آگارز الکتروفورز برای محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
A: miR-601، B: β-actin،
C: شاخص وزن مولکولی استاندارد



شکل ۲ - مقدار بیان miR-601 در مراحل مختلف سرطان ریه. A: مرحله اول، B: مرحله دوم، C: مرحله سوم، D: مرحله چهارم. (* نشان دهنده سطح معناداری P<۰/۰۵)

شکل ۳ - درصد مبتلایان به بیماری سرطان ریه در میان مردان و زنان در مراحل مختلف بیماری

سنی ۶۹-۶۰ سال، درصد بیشتری از زنان در مراحل ۳ و ۴ بیماری و درصد بیشتر مردان در مراحل ۱ و ۲ بیماری قرار داشتند. از تعداد کل ۸۰ بیمار، ۴۴ مورد در مراحل ۱ و ۲ سرطان ریه قرار داشتند که از این تعداد ۶۱/۳٪ دارای سابقه استعمال سیگار بودند. از ۱۹ بیمار دارای سرطان ریه در مرحله سوم بیماری و ۱۷ بیمار در مرحله چهارم، به ترتیب ۱۴ (۷۳/۷٪) و ۱۲ (۷۰/۶٪) بیمار سیگاری بودند (شکل ۵).



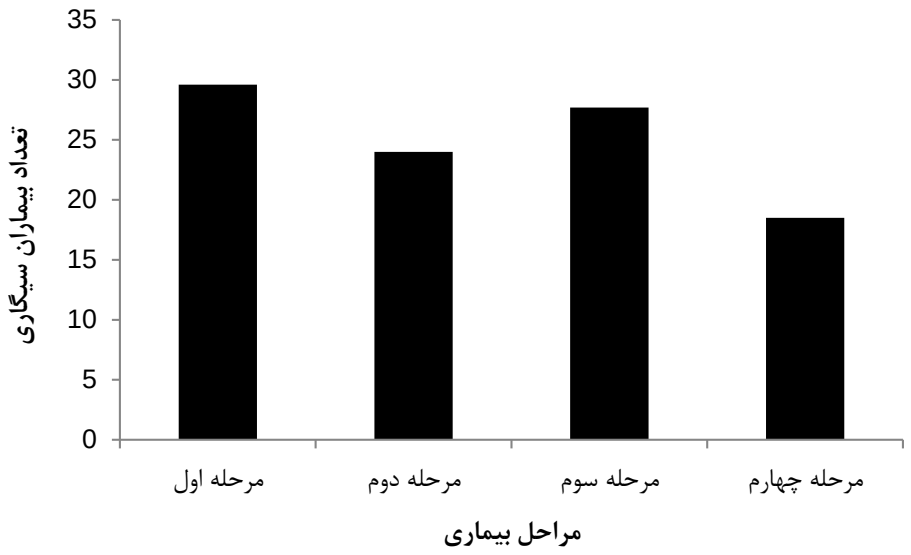
شکل ۴ - درصد مبتلایان مرد و زن به سرطان ریه در رده‌های سنی مختلف

بحث:

میکروRNAها مولکول‌های کوچک RNA غیر کدشونده هستند که موجب تنظیم منفی بیان ژن‌ها از طریق اتصال به ناحیه غیر ترجمه شونده '۳ رونوشت می‌شوند که بدین ترتیب مانع از ترجمه mRNA می‌گردند. مطالعات کلینیکی نشان داده‌اند که بیان میکروRNAها تحت سرطان‌های مختلف تغییر می‌کند [۱۳]. در مطالعه حاضر، بیان miR-601 در ۸۰ بیمار زن و مرد مبتلا به سرطان ریه در مراحل مختلف بیماری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل در این مطالعه نشان داد که سطح بیان miR-601 در مراحل ۲، ۳ و ۴ بیماری بطور معناداری کاهش پیدا کرده است. اگرچه نقش دقیق miR-601 در سرطان ریه بطور واضح مشخص نیست، مطالعات بسیاری بر روی یافتن نقش میکروRNAها در روند این بیماری متمرکز شده‌اند. در این راستا، با استفاده از روش‌های ژنومیک چهار میکروRNA به نام‌های miR-486, miR-30d, miR-1, miR-499 در سرطان ریه شناسایی شده‌اند که می‌توانند بعنوان زیست نشانگر غیر تهاجمی در سرم جهت پیش بینی مراحل بیماری و چگونگی روند آن مورد استفاده قرار بگیرند [۱۴].

تحقیقات گسترده‌ای نشان داده‌اند که گروه بزرگی از میکرو RNAها در چگونگی روند سرطان ریه دخیل هستند و تغییرات تنظیم بیان این عوامل می‌تواند بیان سایر ژن‌ها را در بیماران مبتلا به سرطان ریه دستخوش تغییر کند. بعنوان مثال، در بیماران با کارسینومای سلول سنگفرشی بیان ژن KRT6A با سطوح miR-375 نسبت معکوسی را نشان داده است. همچنین، در مقایسه با بیماران مبتلا به آدنوکارسینوما، بیان *KRT6A* بطور معناداری افزایش پیدا کرده است. پروتئین KRT6A متعلق به خانواده پروتئین کراتین می‌باشد که مسئول ساخت اپیتلیوم سنگفرشی و پروتئین‌های فیبری کراتین می‌باشد و بیان آن می‌تواند توسط miR-375 کنترل گردد [۱۵].

مطالعات بیوانفورماتیک نشان می‌دهد که میکروRNAها می‌توانند نزدیک به ۳۰٪ تمام ژن‌های کدکننده پروتئین را تحت تنظیم خود قرار دهند [۱۶]. بنابراین، تنظیم پس از رونویسی بسیاری از ژن‌ها بوسیله میکروRNAها می‌تواند در بروز بسیاری از فنوتیپ‌های بافت‌شناسی در سرطان ریه نقش داشته باشد که این ارتباط می‌تواند اهداف درمانی گسترده‌ای را به همراه آورد. با توجه به این موضوع، اثرات miR-601 بر روی مسیرهای مولکولی در



شکل ۵ - تعداد افراد سیگاری در مراحل مختلف سرطان ریه

سلول‌های سرطان ریه انسانی مورد مطالعه قرار گرفته است. مطابق نتایج بدست آمده، miR-601 بطور منفی آغاز ترجمه را تنظیم می‌کند. معرفی این میکروRNA به سلول‌ها، موجب افزایش تنظیمی بیان اسکلت سلولی اکتین و کاهش تنظیمی بیان مسیر آپوپتوسیس القا شده با Fas می‌گردد. این تغییرات بطور غیر مستقیم می‌تواند با تنظیم سرکوبگر NF-kappaB در ارتباط باشد [۱۸،۱۷].

علاوه بر نقش میکروRNAها در سرطان، این مولکول‌ها قادر به اعمال نقش تنظیمی در کنترل سیستم ایمنی نیز هستند. این عملکرد به دلیل نقش آن‌ها در کنترل بسیاری از فرایندهای سلولی مانند رشد، تمایز و مرگ سلول است. سلول‌ها تحت التهاب مزمن می‌توانند به سلول‌های سرطانی تغییر پیدا کنند. بنابراین، میکروRNAها با کنترل سیستم ایمنی می‌توانند نقش مهمی در جلوگیری از این روند داشته باشند. مولکول NF-kappaB یک مولکول مهم مرکزی در مسیر سیگنالینگ پاسخ‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی انسان و گسترش سرطان است [۱۸]. با توجه به یافته‌های بدست آمده در مطالعه حاضر، بیان miR-601 در مراحل ۲، ۳ و ۴ بیماری به طور معناداری کاهش یافته است که می‌تواند در ارتباط با نقش آن در کنترل منفی مسیرهای آپوپتوسیس و سرکوب مولکول NF-kappaB باشد. مطابق با یافته‌های پیشین، NF-kappaB قویا در انواع مختلفی از سرطان‌ها مانند سرطان پروستات، سرطان پستان و سرطان ریه فعال می‌گردد [۲۰،۱۹].

استعمال سیگار مهم ترین عامل ایجاد کننده سرطان ریه می‌باشد و بیماران مبتلا به سرطان ریه معمولا سابقه طولانی استعمال دخانیات دارند. در این مطالعه، نشان داده شد که ۷۵٪ از بیماران در مرحله دوم سرطان، ۷۴٪ بیماران در مرحله سوم سرطان و ۷۱٪ از بیماران در مرحله چهارم سرطان مصرف کننده سیگار نیز بوده‌اند. نیکوتین و مشتقات آن نقش تنظیمی بر روی ازدیاد و آپوپتوز سلول‌های اپیتلیال برونش دارند که این عمل را از طریق اتصال به گیرنده‌های نیکوتین استیل کولین (nAChR) و فعال کردن مسیر Akt انجام می‌دهند. توالی یابی ژنوم و رونوشت‌های بیماران مبتلا به سرطان ریه نشان داده است که ۳۷۲۶ جهش نقطه‌ای با فرکانس جهش ۱۰ برابر بیشتر در افراد سیگاری نسبت به افراد غیر سیگاری وجود دارد [۲۱].

بیشترین آمار مبتلایان به سرطان ریه در هر دو گروه مردان و زنان در رده سنی ۶۹-۶۰ سال مشاهده شد که

در این رده سنی ۳۳/۳٪ از مردان و ۴۲/۳٪ از زنان در مراحل مختلف از بیماری قرار داشتند که مطابق با این نتایج این رده سنی را می‌توان پرخطرترین رده سنی برای ابتلا به سرطان ریه در میان گروه‌های مورد مطالعه در نظر گرفت. اگرچه، فاکتورهای بسیاری در ایجاد سرطان ریه دخیل هستند و ارتباط مستقیم آن با سن و جنسیت بسیار پیچیده به نظر می‌رسد. مطالعات کلینیکی در طول تاریخ نشان داده است که نرخ مرگ و میر ناشی از سرطان ریه در میان زنان کمتر از مردان است. در مردان سرطان ریه عامل اول مرگ و میر و در زنان دومین عامل مرگ و میر پس از سرطان پستان است. با این وجود، فاکتورهای دیگر مانند نژاد، منطقه جغرافیایی و شیوه زندگی نیز بر میزان شیوع این بیماری تاثیرگذار است.

نتیجه‌گیری:

مطالعه حاضر نشان داد که بیان کاهش یافته miR-601 در مراحل پیشرفته‌تر سرطان ریه می‌تواند بعنوان یک نشانگر غیر تهاجمی جهت پیش بینی مراحل بیماری و روند پیشرفت آن در نظر گرفته شود. اندازه‌گیری و تعیین پروفایل میکروRNAها در سرطان ریه می‌تواند بعنوان یک راهکار تشخیصی در درمان به موقع مورد توجه قرار بگیرد. نتایج حاصل بر اهمیت پیش بینی سرطان ریه در مراحل ابتدایی بیماری و پیش از وخیم شدن آن با استفاده از miR-601 تاکید می‌کند. همچنین، در این مطالعه نشان داده شد که استعمال سیگار از فاکتورهای مهم خطر در پیشرفت بیماری به سوی مراحل بالاتر است که درمان بیماری را با مشکل مواجه می‌سازد و خطر مرگ و میر را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، همزمان با افزایش سن خطر ابتلا به سرطان ریه در هر دو گروه مردان و زنان نیز افزایش می‌یابد که مطابق با نتایج این مطالعه، از ۵۰ تا ۷۹ سال خطر ابتلا به سرطان ریه بیشتر از سایر رده‌های سنی می‌باشد.

سپاسگزاری:

از مسئولان و پرسنل محترم آزمایشگاه پاسارگارد جهت همکاری در امور پژوهشی این تحقیق سپاسگزاری و تشکر می‌شود.

منابع:

1) Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. Nature Reviews Genetics. 2010;11(9):597-610.
2) Huang Y, Shen XJ, Zou Q, et al. Biological functions of microRNAs: a review. Journal of physiology and biochemistry. 2011;67(1):129-139.
3) DeSantis C, Ma J, Bryan L, Jemal A. Breast cancer statistics, 2013. CA: A Cancer Journal for Clinicians. 2014;64(1):52-62.
4) Acunzo M, Romano G, Wernicke D, Croce CM. MicroRNA and cancer–a brief overview. Advances in Biological Regulation. 2015;57:1-9.
5) Ambros V. The functions of animal microRNAs. Nature. 2004;431(7006):350-355.
6) Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs—microRNAs with a role in cancer. Nature Reviews Cancer. 2006;6(4):259-269.
7) Song N, Tan W, Xing D, Lin D. CYP 1A1 polymorphism and risk of lung cancer in relation to tobacco smoking: a case–control study in China. Carcinogenesis. 2001;22(1):11-16.
8) Hecht S. Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. Journal of the National Cancer Institute. 1999;91(14):1194-210.
9) Bartsch H, Nair U, Risch A, et al. Genetic polymorphism of CYP genes, alone or in combination, as a risk modifier of tobacco-related cancers. Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers. 2000;9(1):3-28.
10) Kiyohara C, Ohno Y. Role of metabolic polymorphisms in lung carcinogenesis. [Nihon koshu eisei zasshi] Japanese Journal of Public Health. 1999;46(4):241-249.
11) Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. CA: A Cancer Journal for Clinicians. 2005;55(2):74-108.
12) Torre LA, Siegel RL, Jemal A. Lung cancer statistics. In: Ahmad A, Gadgeel Sh, editors. Lung cancer and personalized medicine. Springer International Publishing; 2016. p. 1-19.
13) Vannini I, Fanini F, Fabbri M. Emerging roles of microRNAs in cancer. Current Opinion in Genetics & Development. 2018;48:128-133.
14) Hu Z, Chen X, Zhao Y, et al. Serum microRNA signatures identified in a genome-wide serum microRNA expression profiling predict survival of non-small-cell lung cancer. Journal of Clinical Oncology. 2010;28(10):1721-1726.
15) Molina-Pinelo S, Gutiérrez G, Pastor MD, et al. MicroRNA-dependent regulation of transcription in non-small cell lung cancer. PloS one. 2014;9(3):e90524.
16) Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional

regulation by microRNAs: are the answers in sight? Nature Reviews Genetics. 2008;9(2):102-114.
17) Baltimore D, Boldin MP, O'connell RM, Rao DS, Taganov KD. MicroRNAs: new regulators of immune cell development and function. Nature Immunology. 2008;9(8):839-845.
18) Ohdaira H, Nakagawa H, Yoshida K. Profiling of molecular pathways regulated by microRNA 601. Computational Biology and Chemistry. 2009;33(6):429-433.
19) Karin M, Greten FR. NF-κB: linking inflammation and immunity to cancer development and progression. Nature Reviews Immunology. 2005;5(10):749-759.
20) Li J, Jia H, Xie L, et al. Association of constitutive nuclear factor-κB activation with aggressive aspects and poor prognosis in cervical cancer. International Journal of Gynecologic Cancer. 2009;19(8):1421-1426.
21) Govindan R, Ding L, Griffith M, et al. Genomic landscape of non-small cell lung cancer in smokers and never-smokers. Cell. 2012;150(6):1121-1134.

Nafas, Vol. 6, No. 2, Summer 2019, Pages: 22-30

Original Article

Evaluation of MicroRNA-601 Expression in Lung Cancer and Its Association with Gender, Age, and Smoking

Mahla Ganjali[1], Babak Kheirkhah[2*], Kumarss Amini[3]

1) Department of Biology, Sirjan Branch, Islamic Azad University, Sirjan, Iran
2) Department of Microbiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran
3) Department of Microbiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

Abstract:
The aim of this study was to evaluate the miRNA-601 expression level in patients with lung cancer and its relation with gender, age, and smoking.
Totally 80 patients (54 male, 26 female) who had confirmed lung cancer were selected. Following of total RNA was extraction, the expression level of miRNA-601 was evaluated by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR).
The results showed that expression level of miRNA-601 significantly decreased in patients at the stages of II, III, and IV. However, the expression level of miRNA-601 in first stage of the disease did not show significant alteration.
Serum miRNA-601 level may serve as a potential non-invasive biomarker for lung cancer prognosis. Moreover, age and smoking are two important risk factors in both men and women.
Keywords: Lung cancer, microRNA-601, smoking, age, gender.

[*] **Corresponding Author:**
Babak Kheirkhah, Department of Microbiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran. Postal code: 7635131167, Email: Babakkheirkhah@yahoo.com