بررسی بیان miRNA-21 در سرطان کولورکتال

نیوشا صمدائیان
سید محمد حسین مدرسی
مریم مباشری
رضا ابراهیم‌زاده وصال
سید محمد اکرمی *

گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

دریافت: ۱۳۹۳/۰۱/۲۹ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۳/۲۴ آنلاین: ۱۳۹۳/۰۴/۲۵

چکیده

زمینه و هدف: ریز RNAها ۲۳-۲۱ نوکلئوتید طول دارند و بیان بعضی از آنها در بافت نرمال و توموری متفاوت است. در این مطالعه ما بیان miRNA-21 را در بافت تومورال روده بزرگ بیماران با نمونه طبیعی کنار آن مورد بررسی و مقایسه قرار دادیم.

روش بررسی: در این مطالعه مورد- شاهدی که از فروردین تا بهمن ۱۳۹۲ در دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گردید، ۳۵ نمونه سرطان کولورکتال بر مبنای ویژگی‌های کلینیکی و پاتولوژیکی شامل اندازه تومور، Stage سرطان و متاستاز گروه‌بندی شدند. سپس بررسی بیان با واکنش زنجیره پلیمراز با زمان واقعی (Real Time PCR) انجام شد.

یافته‌ها: نسبت بیان miRNA-21 در Stageهای I، II و III به‌ترتیب ۱/۸۰۴ و ۴/۵۷۴ به‌دست آمد اما تنها در Stage III این مقدار از نظر آماری معنادار بود (P=۰/۰۳۷). همچنین در بررسی بر اساس سایز تومور (۴≤ و ۴>) نیز افزایش بیان به‌ترتیب ۲/۰۴۵ (P=۰/۵۰۵) و ۱/۲۴۲ (P=۰/۶۵۳) مشاهده شد. از طرف دیگر نمونه‌ها بر اساس متاستاز (+ و -) نیز بررسی شدند که هر دو گروه بیان افزایش یافته‌ی به‌ترتیب ۲/۵۴۵ (P=۰/۴۲۳) و ۱/۳۴۸ (P=۰/۷۴۱) را نشان دادند ولیکن هیچ‌کدام از نظر آماری معنادار نبود.

نتیجه‌گیری: miRNA-21 در Stage III سرطان کولورکتال نسبت به بافت نرمال کنار آن بیان افزایش یافته معناداری دارد. این یعنی، شاید بتوان در آینده از miRNA-21 به‌عنوان یک بیومارکر پیش‌آگهی‌دهنده در تعیین نوع درمان در بیماران Stage III سرطان کولورکتال و یا به‌عنوان یک هدف مولکولی در طراحی استراتژی‌های جدید کنترل سرطان استفاده کرد.

کلمات کلیدی: سرطان کولورکتال، miRNA-21، Real-Time PCR، Gene expression.

* نویسنده مسئول: تهران، بلوار کشاورز، خیابان قدس، خیابان پورسینا، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه ژنتیک پزشکی
تلفن: ۸۸۹۵۳۰۰۵-۰۲۱
E-mail: akramism@tums.ac.ir

مقدمه

سرطان کولورکتال به‌عنوان یک بیماری شایع و کشنده و در عین حال قابل پیشگیری همواره توجه مراکز سلامت سراسر دنیا را به خود جلب کرده است. این سرطان سومین سرطان شایع در دنیا است. سالانه بیش از ۲-۱ میلیون بیمار مبتلا به این سرطان تشخیص داده می‌شوند و بیش از ۶۰۰,۰۰۰ نفر از این بیماری می‌میرند. شیوع آن در مناطق جغرافیایی مختلف بسیار متفاوت بوده و ارتباط نزدیکی با سبک زندگی به اصطلاح غربی دارد. بروز آن در مردان بیشتر از زنان است و با افزایش سن زیاد می‌شود، به‌طوری که میانگین سن تشخیص آن در کشورهای توسعه‌یافته در حدود ۷۰ سالگی است. علی‌رغم نقش بالای وراثت، اکثر موارد سرطان کولورکتال تک‌گیر بوده و در طی چندین سال به آرامی پیشرفت می‌کند. مشخص شده که غربالگری می‌تواند میزان بروز و مرگ‌و میر ناشی از این سرطان را به‌طور قابل‌توجهی کاهش دهد، اما در حال حاضر برنامه‌های غربالگری سازمان‌دهی‌شده‌ای در اکثر کشورها تحقق نیافته است.[1]

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-04]

به‌دلیل آنکه بیش از ۸۰٪ موارد سرطان کولورکتال از پولیپ‌های آدنوماتوز مشتق می‌شوند، غربالگری آن مشکل است. به‌کمک غربالگری می‌توان مبتلایان را دو تا سه سال پیش از بروز علایم شناسایی کرد.

تلاش‌های بسیاری برای توسعه غربالگری این سرطان به‌منظور کاهش نرخ مرگ‌و میر ناشی از آن در سال‌های اخیر انجام شده است. در طی سه دهه اخیر، روش‌های ژنتیک مولکولی بر پایه‌ی آنالیز پروتیین‌های مدفوع، DNA و RNA در حال توسعه‌اند.[۲] یکی از جدیدترین آنها، تحقیقات در زمینه miRNA (small non-coding endogenous RNA) می‌باشد. RNAهای کوچک می‌توانند با اتصال به ناحیه‌ی 3' UTR mRNA ژن هدف به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های بیان ژن باشند. این کشف منجر به اعطای جایزه نوبل پزشکی به Craig Mello و Andrew Fire شد. برای اولین‌بار miRNA در سال ۱۹۹۳ کشف شد.[۳] با مطالعات بیوانفورماتیکی مشخص شد که بیان تا ۳۰٪ کل ژن‌های کدکننده پروتیین‌ها به‌وسیله miRNA ها کنترل می‌شود.[۴]

در حال حاضر miRNA ها به‌عنوان یک عامل کنترلی مهم در تنظیم بیان ژن در مرحله Post Transcription مطرح می‌باشند. miRNA ها در یک مسیر از روی ژن‌های miRNA ها رونویسی می‌شوند. به این صورت که ابتدا miRNA Pri- از روی ژن نسخه‌برداری می‌شود و سپس به‌وسیله آنزیمی به‌نام Drosha تبدیل به Pre-miRNA ۷۰ نوکلئوتیدی شده[۵] و در نهایت تبدیل به یک RNA ۲۲ نوکلئوتیدی توسط آنزیم Dicer می‌شود. سپس این miRNAهای بالغ توانایی اتصال به mRNA هدف از طریق یافتن توالی مکمل را خواهد داشت.[۶]

هفت سال قبل برای اولین‌بار نقش miRNAها در سرطان به‌صورت قطعی در CLL مشخص شد. سپس Profile آنها در سرطان‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت.[۷] miRNAها می‌توانند به‌عنوان یک نشان زیستی (Biomarker) احتمالی برای سرطان باشند و از نکات جالب توجه اینکه بر خلاف RNA های دیگر در شرایط In vivo[۸] و In vitro[۹] پایدار می‌باشند. در بررسی Iorio تعداد ۱۵ miRNA که می‌توانند بین بافت سرطانی و نرمال افتراق ایجاد نمایند مشخص شد.[۱۰] یکی از آنها miRNA-21 می‌باشد که به آن انکومیر هم گفته می‌شود. در گزارشات مختلفی بیان این miRNA در اکثر تومورهای سرطانی مشتق از بافت اپیتلیال از جمله سرطان مری، پستان، معده، ریه افزایش یافته است.

در حالت نرمال انواعی از mRNAها که اکثرشان توسط ژن‌های فرونشاننده‌ی تومور (TSG) کد می‌شوند به‌عنوان هدف برای miRNA-21 گزارش شده‌اند. افزایش میزان این miRNA در بافت‌های سرطانی با سرکوب بیان ژن‌های فرونشاننده‌ی تومور و در نتیجه افزایش تکثیر سلولی، تهاجم، ناپایداری ژنومی و غیره منجر به پیشرفت سرطان می‌شود.[۱۱] این پدیده نشان می‌دهد که miRNA-21 با مهار آپوپتوز یک اثر انکوژنیک دارد. هدف ما در این مطالعه بررسی بیان miRNA-21 در گروه‌های مختلف سرطان کولورکتال به‌منظور یافتن بیومارکر احتمالی جهت تعیین Stage و یا پیش‌آگهی بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال بود.

روش بررسی

مطالعه مورد- شاهدی حاضر که از فروردین تا بهمن سال ۱۳۹۲ در دپارتمان ژنتیک پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران به‌طول انجامید ۳۵ نمونه تومور کولورکتال و ۳۵ نمونه بافت سالم کنار تومور از بین مراجعه‌کنندگان به انستیتو کانسر بیمارستان امام خمینی (ره) دانشگاه علوم پزشکی تهران در سال ۱۳۹۲ مورد ارزیابی قرار گرفتند. نمونه‌های انتخاب‌شده هیچ‌کدام پیش‌تر جراحی، شیمی‌درمانی یا رادیوتراپی انجام نداده بودند. قبل از شروع کار از تمامی بیماران رضایت‌نامه کتبی دریافت شد. این مطالعه توسط کمیته اخلاقی انستیتو کانسر مورد تأیید قرار گرفت. نمونه‌ها بر اساس سایز تومور (۴< و ۴>)، متاستاز (+ و -) و Stage بیماری تقسیم‌بندی شدند.

استخراج ریز RNA: برای استخراج RNAهای کوچک از کیت Mirvana PARIS (Qiagen, USA) استفاده شد. با این روش RNAهای کوچک با طولی کمتر از ۲۰۰ جفت باز که در میان آنها ریز RNAها نیز وجود دارند استخراج شدند. سپس اندازه‌گیری غلظت RNAهای کوچک توسط NanoDrop, Thermo Fisher Scientific, Wilmington, Delaware USA انجام و در ۸۰- °C قرار داده شدند.

سنتز cDNA از RNAهای کوچک: برای ساخت cDNA از miScript II RT Kit (Qiagen, USA) استفاده شد. بر طبق پروتکل ابتدا با استفاده از آنزیم Poly A Polymerase به انتهای ۳' تمام miRNAs دم poly A اضافه شد. سپس از پرایمر Oligo dT-VN استفاده شد. وقتی قطعه پرایمر مورد نظر به RNA هیبرید شد، آنزیم

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-04]

Revers-Transcriptase از انتهای پرایمر رشته مکمل را ساخت. با کمک این پرایمر از تمامی RNAهای کوچک cDNA ساخته شد.

پلیمراز با زمان واقعی (Real Time PCR (RT-PCR: RT-PCR با کمک دو پرایمر انجام شد. پرایمر مستقیم مشابه سکانس miRNA-21 و پرایمر معکوس نیز مکمل ناحیه منحصر به فرد '5 پرایمر Oligo dT VN است. در هر واکنش از ۱۰ نانوگرم در هر میکرولیتر cDNA برای هر نمونه به‌صورت دوتایی (Duplicate) برای Real Time در دستگاه Rottor Gene Q (Qiagen, USA) استفاده شد. در ضمن برای نرمالیزه کردن بیان، از ژن خانه‌دار RNU6B (House Keeping Gene) استفاده شد.

داده‌های نوری از دستگاه وارد نرم‌افزار PCR LinReg ویراست ۱۱ شد. سپس در این نرم‌افزار برای هر نمونه CP (سیکلی که در آن منحنی تزاید خط آستانه را قطع می‌کند) و همچنین PCR efficiency Mean مشخص شد.[۱۲] در نهایت بر اساس فرمول زیر نسبت بیان (Expression ratio) برای miRNA-21 در نمونه‌های توموری نسبت به بافت نرمال کنار تومور با نرم‌افزار REST-2009 تعیین شد. در ضمن نوع تست در این نرم‌افزار randomization test Pair Wise fixed reallocation می‌باشد.

$$\text{MiRNA Expression Ratio} = \frac{(E^{*}_{miR})^{\Delta cp\ miR\ (mean\ NNDT-mean\ Tumor)}}{(E_{U6})^{\Delta cp\ U6\ (mean\ NNDT-mean\ Tumor)}}$$

NNDT: Normal Neighbering Dissected Tumor و E: Efficacy

یافته‌ها

بررسی بیان miR-21 به‌روش RT-PCR با استفاده از رنگ SYBR 1 Green انجام شد. منحنی ذوب miR-21 و RNA-U6 به‌صورت تک‌قله‌ای به‌دست آمد که این خود بیانگر تنها یک محصول اختصاصی در PCR است (شکل ۱).

افزون بر این محصول PCR بر روی ژل پلی‌آکریل‌آمید قرار گرفت و مشاهده شد که در هر کدام از واکنش‌های انجام‌شده با پرایمرهای miR-21 و RNA-U6 تنها یک باند اختصاصی وجود دارد که این نیز اختصاصی بودن محصولات PCR در نمونه‌های ما را تایید کرد. miR-21 در نمونه‌های توموری Crossing Point (CP) کمتری نسبت به نمونه سالم کنار آن دارد (در مقایسه با CP کنترل داخلی در نمونه توموری نسبت به نمونه سالم کنار آن).

نتیجه اینکه miR-21 در تومور نسبت به بافت سالم بیان بیشتری دارد. زمانی که نمونه‌ها بر اساس اندازه به دو گروه تقسیم‌بندی شدند، گروه تومورهای کوچک‌تر از ۴ cm و گروه تومورهای ۴ cm و بزرگ‌تر، هر دو گروه افزایش بیان را نشان دادند به‌طوری که این نسبت در گروه تومورهای کوچک‌تر از ۴ cm معادل ۱/۲۴۲ و در تومورهای بزرگ‌تر از ۴ cm معادل ۲/۰۴۵ به‌دست آمد. البته هیچ‌کدام از نظر آماری معنادار نبود (P>۰/۰۵).

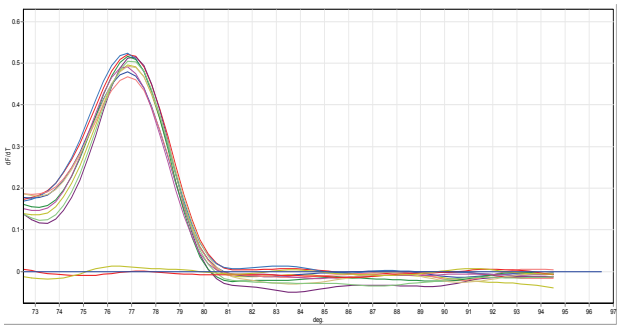
علاوه بر اندازه تومور، تمام نمونه‌ها از نظر متاستاز در دو گروه

جدول ۱: نسبت بیان miR-21 در گروه‌بندی با توجه به شاخص‌های کلینیکی و پاتولوژیک تومور

اطلاعات کلینیکی و پاتولوژیکی	تعداد نمونه‌ها (درصد نمونه‌ها)	نسبت بیان miR-21	P*
سایز تومور			
کوچک‌تر از ۴ cm	۷(٪۲۵)	۱/۲۴۲	۰/۶۵۳
مساوی یا بزرگ‌تر از ۴ cm	۲۸(٪۸۰)	۲/۰۴۵	۰/۵۰۵
متاستاز			
مثبت	۲۰(٪۵۷/۱)	۲/۵۴۵	۰/۴۲۳
منفی	۱۵(٪۴۲/۹)	۱/۳۴۸	۰/۷۴۱
مرحله بالینی سرطان			
I, II	۲۰(٪۷۱/۴)	۱/۸۰۴	۰/۵۵۰
III	۱۰(٪۲۸/۶)	۴/۵۷۴	۰/۰۳۷

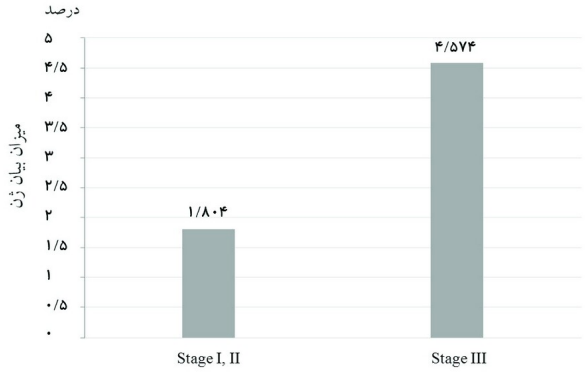
* آزمون آماری: Pair Wise fixed reallocation randomization test، P≤ ۰/۰۵ معنادار.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-04]



شکل ۱: منحنی ذوب miR-21 در تومور

محور افقی دما بر حسب سانتی‌گراد و محور عمودی میزان فلورسانت است



نمودار ۱: تغییر بیان miR-21 در بر مبنای Stage بیماری

مثبت و منفی قرار گرفتند که نسبت بیان نسبت به بافت نرمال کنار آن به‌ترتیب ۲/۵۴۵ و ۱/۳۴۸ به‌دست آمد که علی‌رغم افزایش بیان، این افزایش معنادار نبود. با در نظر گرفتن مرحله‌ی بالینی تومور، نمونه‌هایی که در Stage III قرار داشتند با نسبت بیان ۴/۵۷۴، افزایش بیان را به‌صورت معنادار نشان دادند (P=۰/۰۳۷) (نمودار ۱)، در صورتی که تومورهایی که در مرحله‌ی بالینی یک و دو قرار داشتند با وجود افزایش بیان، افزایش بیان معناداری را نشان ندادند (جدول ۱).

بحث

هدف از انجام این مطالعه بررسی بیان miR-21 در نمونه‌های توموری و نرمال کولون بود و هدف نهایی امکان استفاده از آن به‌عنوان یک بیومارکر جهت تعیین Stage و پیش‌آگهی پاسخ به درمان بود. در مطالعات مختلفی ارتباط میان افزایش بیان miR-21 با سایز تومور و متاستاز آن گزارش شد.[11] در مطالعه‌ی ما رابطه‌ی معناداری میان افزایش بیان miR-21 و وضعیت تومور و متاستاز مشاهده نشد که به احتمال زیاد ناشی از محدودیت حجم نمونه بود، ولی در نمونه‌هایی که در Stage III قرار داشتند افزایش بیان miR-21 معنادار بود. به‌طور کلی ۵۳ miRNA به‌عنوان انکوژن و ۹۳ miRNA به‌عنوان فرونشاننده‌ی تومور در نظر گرفته می‌شوند.

از میان آنهایی که خاصیت انکوژنیک دارند، ۲۴ مورد موجب افزایش تکثیر، ۳۲ مورد مهار آپوپتوز و سه مورد هر دو عملکرد را دارند و از میان آنهایی که خاصیت مهاری دارند، ۵۴ مورد موجب مهار تکثیر، ۵۸ تا القای آپوپتوز و ۱۹ تا در هر دو مسیر نقش دارند. در میان انکومیرها، miRNA-181b بیشترین نقش را در تکثیر دارد، به‌طوری که موجب افزایش تکثیر تا چهار برابر می‌شود و miRNA-21، miRNA-182 و miR-15b بیشترین اثر مهاری را بر آپوپتوز در سرطان کولورکتال دارد.[13] از این‌روی انجام مطالعات بیشتر در جهت توسعه‌ی روش‌های درمانی جدید سرطان برای مثال، درمان با طراحی آنتی‌سنس بر علیه miRNA-21 به‌منظور مهار اثر انکوژنیک آن و بیان افزایشی ژن‌های پایین دست پیشنهاد می‌شود. بررسی بیان miRNA-21 بر اساس Stage بیماری نشان داد که افزایش بیان تنها در Stage III معنادار است اما از آنجایی‌که تشخیص سرطان در Stageهای بالا اهمیت بالینی زیادی ندارد، به‌نظر نمی‌رسد miRNA-21 به‌عنوان یک بیومارکر تشخیصی در سرطان کولورکتال ارزش بالینی چندانی داشته باشد.

جهش ژن K-RAS در حال حاضر تنها مارکر پیش‌آگهی‌دهنده‌ی در دسترس برای انتخاب نوع درمان در سرطان کولورکتال است. بیماران با جهش در کدون ۱۲ یا ۱۳ ژن KRAS منفعتی از درمان بر پایه‌ی anti-EGFR نمی‌برند و غربالگری برای این جهش به بیماران مبتلا به Stage IV که کاندید اصلی برای درمان با anti-EGFR هستند پیشنهاد می‌شود.

همچنین مشخص شد، ناپایداری میکروساتلایت که در حدود ۱۵٪ از بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال رخ می‌دهد با بقای بیشتر بیماران صرف‌نظر از نوع درمان مرتبط است. گرچه در برخی از مطالعات پیشنهاد شده که بررسی وضعیت متیلاسیون جزایر CpG یا بیان ژن‌های درگیر در ترمیم DNA یا متابولیسم دارو مانند ERCC1 و

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-04]

TYMS ممکن است پتانسیل کافی برای به‌کارگیری به‌عنوان یک بیومارکر را داشته باشند، در حال حاضر داده‌های کافی برای تایید آگاهی بخش بودنشان موجود نیست. در نتیجه با وجود پیشرفت‌های بسیار در زمینه‌ی ژنتیک و اپی‌ژنتیک سرطان کولورکتال، هنوز بیومارکری که بتوان از آن برای پیش‌بینی نتایج درمان با شیمی‌درمانی بیماران Stage III, IV استفاده کرد وجود ندارد. از آنجایی که miRNA ها نقش حیاتی در کارسینوژنز دارند، توجه زیادی بر شناسایی miRNA های پیش‌آگهی‌دهنده در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال شده است.[۱۴]

مطالعات نشان داده‌اند که میزان بیان miRNA ها از جمله miRNA-21 با Stage بالای سرطان، متاستاز، درگیری غدد لنفاوی، پاسخ ضعیف به درمان و بقای کوتاه‌مدت بیماران مرتبط است. به‌تازگی نقش miRNA-21 در پیش‌بینی پاسخ به درمان با 5FU بررسی شده است. در مطالعه‌ای که بر روی دو سل‌لاین سرطان کولورکتال به‌منظور بررسی اثر 5FU بر روی بیان miRNA صورت گرفت، مشخص شد 5FU اثر افزایشی بر روی بیان miRNA-21 دارد. در مطالعه‌ی دیگری که بر روی سل‌لاین سرطان کبد تیمار شده با pre-miRNA-21 انجام شد نتایج نشان داد سلول‌های تیمار شده با pre-miRNA-21 به 5FU مقاوم شده‌اند. این نوع مطالعات نمایانگر توانایی miRNA ها در پیش‌بینی پاسخ به شیمی‌درمانی است. گرچه تایید یافته‌ها در سطح کلینیکی قدم مهمی است که باید در آینده برداشته شود.[۱۵] با توجه به اینکه در مطالعه‌ی ما ارتباط معناداری میان بیان miR-21 و Stage III مشاهده شد امید است که در آینده بتوان از آن به‌عنوان یک بیومارکر پیش‌آگهی‌دهنده‌ی برای کمک به تعیین نوع درمان استفاده کرد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه تحت عنوان "بررسی بیان miRNA-21 و PTEN در بافت سرطانی روده بزرگ در مقایسه با بافت نرمال روده بزرگ" در مقطع کارشناسی ارشد ژنتیک انسانی در سال ۱۳۹۲ و کد ۵۸ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی تهران اجرا شده است.

References

1. Brenner H, Kloor M2, Pox CP3. Colorectal cancer. *Lancet* 2014;383 (9927):1490-502.
2. Koga Y, Yamazaki N, Matsumura Y. New molecular diagnosis and screening methods for colorectal cancer using fecal protein, DNA and RNA. *Expert Rev Mol Diagn* 2014;14(1):107-20.
3. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell* 1993;75(5):843-54.
4. Lim LP, Glasner ME, Yekta S, Burge CB, Bartel DP. Vertebrate microRNA genes. *Science* 2003;299(5612):1540.
5. Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003;425 (6956):415-9.
6. Brennecke J, Stark A, Russell RB, Cohen SM. Principles of microRNA-target recognition. *PLoS Biol* 2005;3(3):e85.
7. Lu J1, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* 2005;435(7043):834-8.
8. Lim LP, Lau NC, Garrett-Engele P, Grimson A, Schelter JM, Castle J, et al. Microarray analysis shows that some microRNAs downer gulate large numbers of target mRNAs. *Nature* 2005;433(7027): 769-73.
9. Tang F, Hajkova P, Barton SC, Lao K, Surani MA. MicroRNA expression profiling of single whole embryonic stem cells. *Nucleic Acids Res* 2006;34(2):e9.
10. Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, Veronese A, Spizzo R, Sabbioni S, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res* 2005;65(16):7065-70.
11. Buscaglia LE, Li Y. Apoptosis and the target genes of microRNA-21. *Chin J Cancer* 2011;30(6):371-80.
12. Ruijter JM, Ramakers C, Hoogaars WM, Karlen Y, Bakker O, van den Hoff MJ, et al. Amplification efficiency: linking baseline and bias in the analysis of quantitative PCR data. *Nucleic Acids Res* 2009;37(6):e45.
13. Cekaite L, Rantala JK, Bruun J, Guriby M, Agesen TH, Danielsen SA, et al. MiR-9, -31, and -182 deregulation promote proliferation and tumor cell survival in colon cancer. *Neoplasia* 2012;14(9):868-79.
14. Tsai HL, Yang IP, Huang CW, Ma CJ, Kuo CH, Lu CY, et al. Clinical significance of microRNA-148a in patients with early relapse of stage II stage and III colorectal cancer after curative resection. *Transl Res* 2013;162(4):258-68.
15. Li T, Leong MH, Harms B, Kennedy G, Chen L. MicroRNA-21 as a potential colon and rectal cancer biomarker. *World J Gastroenterol* 2013;19(34):5615-21.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-04]

TUMJ monthly Tehran University Medical Journal
Tehran University Medical Journal, August 2014; Vol. 72, No. 5: 301-306 *Original Article*

miRNA-21 expression analysis in 35 colorectal cancer

Niusha Samadaian M.Sc.
Mohammad Hossein Modaresi M.D., Ph.D.
Maryam Mobasheri M.Sc.
Reza Ebrahim Zadeh Vesal M.Sc., Ph.D.
Seyed Mohammad Akrami M.D., Ph.D.*

Department of Medical Genetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Abstract

Received: 18 Apr. 2014 Accepted: 14 Jun. 2014 Available online: 16 Jul. 2014

Background: Colorectal cancer is the third most common cancer in the world. Non-coding RNA especially miRNAs have important regulatory roles in cancer. miRNAs are small non coding RNA 21-23 nucleotides long which have different levels of expression between tumors and normal tissues. This study was designed to compare expression level of miRNA-21 between Iranian population colorectal cancer tissues and normal tissue.

Methods: This case-control study has performed in medical genetics department of Tehran University of Medical Sciences from January to November 2013. We used 35 samples. The samples were isolated from tumor and adjacent normal tissues of colon. Thirty-five samples were divided into different groups according to cliniopathologic features including tumor size (>4 and <4 cm), metastasis (+ and -) and stage. After small RNA extraction from tissues by small RNA purification kit the quality and quantity of extracted RNA was determined using spectrophotometry. cDNAs were synthesized and real-time polymerase chain reaction carried out. Finally expression levels were statistically analyzed by LinRegPCR and REST software.

Results: miRNA-21 expression ratio in stages I, II and III were 1/804 and 4/574, respectively, the increase from stage III was statistically significant (P= 0.037). The expression were also studied according to different clinicopathologic status of colon cancer, tumor size (>4 and <4 cm) and metastatic (+ and -), miRNA-21 over expressed in both groups, however the increase was not statistically significant.

Conclusion: In this study, we found miR-21 over-expression in advanced stage in tumoral tissue comparing with normal adjacent tissue. This means perhaps in the future it would be possible to use miRNA-21 as an informative prognostic biomarker to guide for better treatment strategies for colorectal cancer patients. Our findings also indicate that miRNA-21 is a promising new molecular target for designing novel therapeutic strategies to control colorectal cancer.

Keywords: colorectal neoplasms, gene expression, miRNA-21, real-time polymerase chain reaction.

* Corresponding author: Department of Medical Genetics, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Keshavarz Blvd., Qods St., Poursina St., Tehran, Iran.
Tel: +98-21-88953005
E-mail: akramism@tums.ac.ir

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-04]