بررسی افزایش میزان میکرو RNA ۲۱ (MiR-21) در سرم بیماران مبتلا به آدنوکارسینومای معده

پگاه پرتو[۱]، ناهید مسعودیان[۱*]

۱) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه ، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۷/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/۲٤

چکیده

مقدمه: میکرو RNA ها گروه جدیدی از RNA های تنظیمی هستند که حدود ۲۲ نوکلئوتید طول دارند. هم چنین میکرو RNA ها در بسیاری از سرطان های انسانی نقش دارند، در واقع می توانند به عنوان انکوژن و سرکوبگر عمل کنند. در این بررسی ارتباط بین میزان miR-21 در سرم افراد بیمار و سالم و ارتباط غلظت بالای این میکرو RNA با مرحله بندی تومور و پیشرفت سرطان برای اولین بار در ایران بر روی سرطان آدنوکارسینومای معده انجام گرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه که بر روی ۴۰ بیمار مبتلا به سرطان آدنوکارسینومای معده و ۴۰ بیمار که به عنوان گروه شاهد انتخاب گردید، انجام گرفت گروه شاهد از میان افرادی انتخاب شد که به علت ناراحتی گوارشی مراجعه کرده اند ولی بعد از تشخیص سالم و یا غیر سرطانی بوده اند. میزان miR-21 سرم آن ها با استفاده از تکنیک Real-Time PCR اندازه گیری گردید. ارتباط بین غلظت این میکرو RNA در سرم با مرحله بندی تومور و پیشرفت سرطان مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته های پژوهش: افزایش غلظت miR-21 در نمونه های سرمی، میزان miR-21 سرم در بیماران حدود ۳/۵ برابر افراد کنترل بود($P<0.0001$)، میزان miR-21 سرم در بیماران ارتباط معنی داری با مرحله بندی تومور نشان داد($\tau=0.56$, $P<0.01$)، نشانگر ارتباط معنی دار و مستقیم miR-21 با افزایش اندازه تومور می باشد که بیانگر اهمیت این میکرو RNA در پیشرفت سرطان معده است.

بحث و نتیجه گیری: با توجه به نقش miR-21 در پیشرفت سرطان معده و با توجه به ارتباط آن با فاکتورهای کلینیکوپاتولوژیکی، می توان آن را به عنوان مارکر تشخیصی جدید معرفی کرد. هم چنین می توان از این روش به عنوان یک روش غیر تهاجمی در تشخیص زود هنگام بیماران سرطان آدنوکارسینومای معده استفاده کرد. در این بررسی، miR-21 نقش انکوژنی دارد که با سنجش میزان آن در سرم بیماران می توان پیشرفت سرطان معده را بررسی کرد.

واژه های کلیدی: آدنوکارسینومای معده، میکرو RNA، miR-21

*نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

Email: nahidmasoudian@yahoo.com

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]

مقدمه

سرطان نتیجه خروج سلول ها از مسیرهای درست تنظیمی، تکثیری، و تمایزی است. غیر حساس شدن به سیگنال های مهارکننده رشد، اجتناب از مرگ سلولی برنامه ریزی شده، پتانسیل نامحدود تکثیر، حفظ رگ زایی و تهاجم بافتی و متاستاز منجر به بدخیم شدن سرطان می شوند(۱). میکرو RNA ها زیر گروه بزرگی از RNA های غیر کدکننده ۲۵-۱۸ نوکلئوتیدی هستند که از نظر تکاملی حفاظت شده می باشند. مطالعات متعددی تعیین کننده این مطلب است که میکرو RNA ها نقش مهمی در شروع و پیشرفت سرطان دارند(۵). میکرو RNA ها بسته به نوع mRNA هایی که مهار می کنند می توانند بازدارنده توموری یا انکوژن باشند. miR-21 باعث تحریک، تکثیر و تهاجم سلولی شده و آپوپتوزیس را مهار می کند(۶). برهمکنش میکرو RNA ها با ژن های هدف، نقش آن ها را در رشد، مرگ برنامه ریزی شده، تمایز و تکثیر سلولی مشخص کرده و عملکرد مستقیم میکرو RNA را در سرطان تایید می کند. ساختار میکرو RNA ها و نحوه عملکرد آن ها نشان می دهد که بسیاری از میکرو RNA ها در نمونه های سرطانی به صورت غیر طبیعی بیان می شوند. علاوه بر این، تفاوت های عملکردی بین انواع تومورها و مراحل مختلف سرطان با بیان میکرو RNA ها مرتبط است. بیان میکروRNA با ویژگی های بالینی و زیستی تومور از قبیل نوع بافت، تمایز، تهاجم و پاسخ به درمان مرتبط است(۲). استفاده از میکرو RNA ها به عنوان نشانگرهای تشخیصی از طریق بررسی سرم یا پلاسمای انسانی امکان پذیر است، از این رو می توان میکرو RNA های سرطانی و سلول های توموری موجود در سرم یا پلاسما را بدون هیچ گونه روش تهاجمی شناسایی کرد. به استثنای لوسمی ها که سلول های بدخیم به آسانی در دسترس هستند(۳). استفاده از میکرو RNA هایی که با فنوتیپ های بدخیم ارتباط تنگاتنگ دارند به عنوان نشانگرهای تشخیصی جهت تشخیص بیماری در مراحل آغازین آن بسیار کمک کننده است(۳،۴). با در نظر گرفتن این واقعیت که اغلب روش های رایج برای غربال گری سرطان در مراحل اولیه قادر به تشخیص بیماری نمی باشند، شناسایی میکرو RNA های توموری که طی پیشرفت تدریجی بیماری در جریان خون منتشر می شوند، روش کلیدی در تشخیص به موقع سرطان محسوب می شود(۴). در بررسی های مختلفی که توسط گروهی از دانشمندان انجام گرفته است به نقش انکوژنی و ضد آپوپتوزی miR-21 اشاره شده است(۴). هدف اصلی این مطالعه، بررسی میزان miR-21 در سرم بیماران مبتلا به آدنوکارسینومای معده می باشد.

مواد و روش ها

جامعه آماری در این مطالعه شامل بیماران مراجعه کننده به انستیتو کانسر تهران بودند که بر اساس معاینات فیزیکی به کانسر معده مشکوک بودند و برای تایید بیماری تحت آندوسکپی معده و بیوپسی متعدد از ضایعات معده قرار گرفتند. بدین ترتیب ۴۰ فرد بیمار مبتلا به کانسر معده برای این مطالعه انتخاب گردید. هم چنین تعداد ۴۰ بیمار که به علت ناراحتی گوارشی مراجعه کرده اند ولی بعد از تشخیص سالم و یا غیر سرطانی بوده اند نیز به عنوان گروه شاهد انتخاب گردیدند. اطلاعات دموگرافی بیماران از طریق مصاحبه حضوری با آن ها و نیز مطالعه پروتده پزشکی آن ها جمع آوری گردید. همه افراد با رضایت کتبی آگاهانه در این مطالعه شرکت نمودند و این مطالعه هیچ گونه محدودیت درمانی یا ضرر جانی متوجه افراد تحت مطالعه نمی کرد. این مطالعه به تصویب کمیته اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی ایلام و انستیتو کانسر تهران رسیده بود.

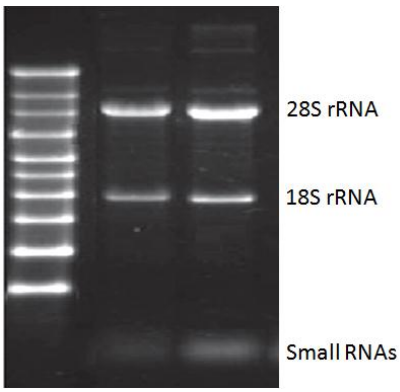
تهیه سرم از بیماران: از افراد تحت مطالعه ۵ میلی لیتر خون به صورت ناشتا از طریق سرنگ خون گیری معمولی در لوله های آزمایش شیشه ای تهیه و بعد از نیم ساعت انکوبه گذاری در دمای محیط در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس با کمک سمپلر نمونه های سرم در آلیکوت های یک میلی لیتری در لوله های پلی پروپیلنی درپوش دار مخصوص جمع آوری گردیدند و در دمای۸۰- درجه سانتی گراد تا زمان آنالیز بیوشیمیایی بعدی نگهداری شدند. RNA سرم با استفاده از کیت mirVana™ PARIS

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]

(Ambion) مطابق دستورالعمل سازندگان آن برای نمونه های مایع استخراج گردید. برای جداسازی RNA از سرم ۶۲۵ میکرولیتر سرم با هم حجم آن محلول ۲-مرکاپتواتانل در دمای اتاق مخلوط گردید. سپس به هم حجم مخلوط مذکور محلول اسید-فنل:کلروفرم(۱۲۵۰ میکرولیتر) اضافه گردید و به مدت ۶۰ ثانیه ورتکس گردید تا به خوبی مخلوط گردد. مخلوط حاصل به مدت ۵ دقیقه با دور حداکثر ۱۰۰۰۰ x g در دمای اتاق در یک میکروفیوژ سانتریفوژ گردید. بدین ترتیب مخلوط مذکور به دو فاز آبی(مایع روئی) و آلی تبدیل گردید. فاز آبی(مایع روئی) بدون به هم خوردن فاز آلی به یک لوله اپندورف جدید منتقل گردید. به ۳۰۰ میکرولیتر از فاز آبی(مایع روئی) به دست آمده ۳۷۵ میکرولیتر اتانل ۱۰۰ درصد(هم دما با محیط آزمایش) در یک لوله اپندورف جدید اضافه گردید و خوب مخلوط گردید. یک فیلتر کارتریج برای هر نمونه در داخل لوله جمع کننده مربوط به قرار داده شد و با کمک سمپلر مخلوط مایع روئی/اتانل مذکور بر روی فیلتر کارتریج ریخته شد. لوله جمع کننده به همراه کارتریج به مدت ۳۰ ثانیه سانتریفوژ گردید تا مخلوط مذکور از فیلتر کارتریج عبور کند و در لوله جمع کننده جمع آوری شود. مایع جمع شده در لوله جمع کننده دور ریخته شد. در مرحله بعد ۷۰۰ میکرولیتر از محلول شستشوی 1 آماده شده بر روی فیلتر کارتریج ریخته شد. سپس فیلتر کارتریج به همراه لوله جمع کننده ۱۵ ثانیه سانتریفوژ گردید تا مخلوط مذکور از فیلتر کارتریج عبور کند و در لوله جمع کننده جمع آوری شود. باز هم مایع جمع شده در لوله جمع کننده دور ریخته شد. در مرحله بعد ۵۰۰ میکرولیتر محلول اتانل ۱۰۰ درصد از این فیلتر کارتریج مطابق مرحله قبلی عبور داده شد. این مرحله برای بار دوم تکرار گردید. سپس یک بار دیگر فیلتر کارتریج این بار به مدت یک دقیقه به همراه لوله جمع کننده سانتریفوژ گردید تا همه بقایای مایع از فیلتر جدا شود. در مرحله بعد، فیلتر کارتریج در داخل یک لوله جمع کننده جدید دیگر قرار داده شد. ۱۰۰ میکرولیتر آب فاقد نوکلئاز(که از قبل تا دمای ۹۵ درجه سانتی گراد گرم شده بود) بر روی مرکز فیلتر کارتریجی ریخته شد. فیلتر کارتریج به همراه لوله جمع کننده جدید به مدت ۳۰ ثانیه سانتریفوژ گردید تا RNA از فیلتر جدا شده و در لوله جدید جمع آوری شود.

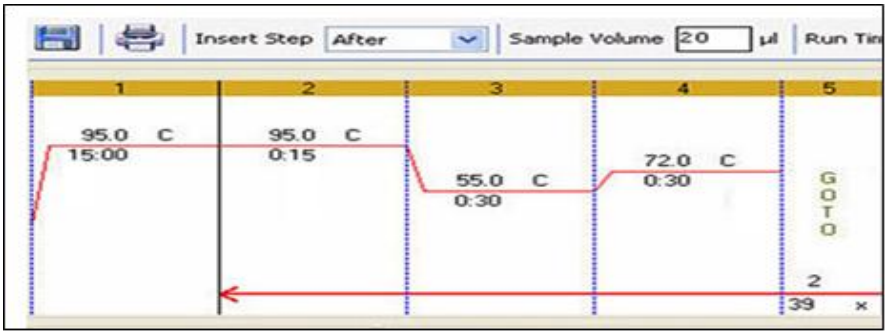
ارزیابی بازده و کیفیت RNA جدا شده: ۱/۵ میکرولیتر از محلول RNA جمع آوری شده در لوله جدید به طور مستقیم در یک دستگاه اسپکتروفوتومتر ۱۰۰۰A نانودراپ(NanoDrop, Wilmington, DE, USA) مورد ارزیابی قرار گرفت و میزان جذب آن در طول موج های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر سنجش گردید. بر اساس میزان جذب در ۶۰ نانومتر غلظت RNA در هر کدام از نمونه های تخمین زده می شد. هم چنین با توجه به این که نسبت جذب در ۲۶۰ نانومتر به جذب در ۲۸۰ متر برای نمونه ها در محدوده تقریباً ۱/۸ تا ۲/۱ بود، از خلوص RNA جدا شده اطلاع پیدا می کردیم. برای اطلاع از کیفیت RNA جدا شده از الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱/۲ درصد و اتیدیوم بروماید استفاده شد. وجود دو باند شاخص rRNA ۲۸S و ۱۸ S rRNA نشان دهنده کیفیت خوب RNA جدا شده بود(شکل شماره ۱).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]



شکل شماره ۱. با استفاده از الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱/۲ درصد و اتیدیوم بروماید برای اطلاع از کیفیت RNA جدا شده و مشاهده دو باند شاخص ۲۸S rRNA و ۱۸S rRNA از کیفیت خوب RNA جدا شده اطمینان حاصل نمودیم.

انجام واکنش Real-Time PCR: عمل Real-Time PCR با استفاده از پرایمر های ویژه (miScript Primer Assay, Qiagen)، و کیت (Qiagen) miScript SYBR Green PCR Kit انجام پذیرفت. در ابتدا محلول های 2x QuantiTect Universal SYBR Green PCR Master Mix، 10x miScript Primer، 10x miScript Primer Assay، آب فاقد نوکلئاز و cDNA سنتز شده الگو به دمای اتاق رسانده شدند و هر کدام به صورت جداگانه به خوبی مخلوط گردید. به هر کدام از چاهک های پلیت کیت Real-Time PCR، ۲۲/۵ میکرولیتر مخلوط مستر میکس رونویسی معکوس(شامل ۱۲/۵ میکرولیتر 2x QuantiTect SYBR Green PCR Master Mix، ۲/۵ میکرولیتر 10x miScript Universal Primer، ۲/۵ میکرولیتر 10x miScript Primer Assay و ۵ میکرولیتر آب فاقد نوکلئاز) و ۲/۵ میکرولیتر cDNA سنتز شده الگو مربوط به هر نمونه اضافه گردید. صفحه پلیت توسط یک لایه فیلم به طور محکم پوشیده گردید. صفحه مذکور به مدت یک دقیقه و در دمای اتاق در دور g ۱۰۰۰ سانتریفوژ گردید تا حباب های هوا درون چاهک های پلیت خارج گردند. سپس پلیت مذکور در دستگاه Real-Time PCR (CFX96TM Real-Time PCR Detection System, Bio-Rad, Hercules, CA, USA) که قبلاً برنامه دمائی آن به صورت زیر تنظیم گردیده بود قرار داده شد. مرحله فعال سازی اولیه PCR به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد که در اثر آن آنزیم HotStarTaq DNA پلیمراز فعال می شود. مرحله دوره ای شامل دناتوراسیون به مدت ۱۵ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد، آنیلینگ به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد، طویل شدن به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد. این مرحله ۳۹ بار تکرار گردید(شکل شماره ۲).



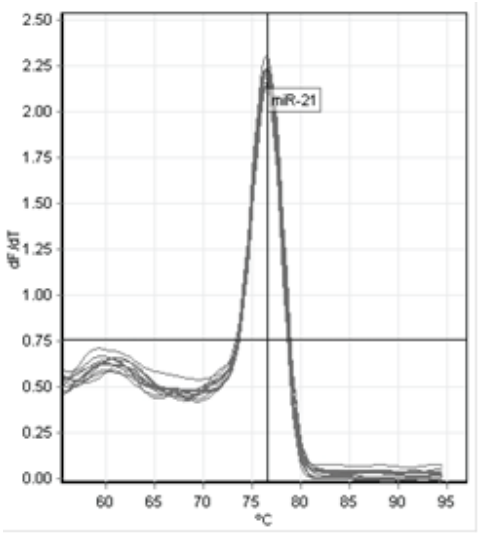
شکل شماره ۲.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]

تعیین سیگنال پایه (baseline): با ارزیابی نمای خطی منحنی تکثیر Real-Time PCR، محل ۲ سیکل یا چرخه قبل از اولین سیگنال تکثیر قابل مشاهده به عنوان سیگنال پایه در نظر گرفته شد.

تعیین سیکل آستانه(Threshold cycle or C_t): با ارزیابی نمای لگاریتمی منحنی تکثیر Real-Time PCR، سیگنال یا سیکل آستانه در محلی بالاتر از سیگنال زمینه اما در ناحیه نیمه پائینی محدوده لگاریتمی نمودار تکثیر واقع گردید.

آنالیز منحنی ذوب(Melting curve analysis): در پایان تکثیر با کمک دستگاه آنالیز منحنی ذوب بر روی محصول تکثیر انجام پذیرفت تا اختصاصیت و هویت محصول اصلی تکثیر یافته تایید گردد. برای این آنالیز، دمای پلیت به آرامی از ۶۵ درجه سانتی گراد تا ۹۵ درجه سانتی گراد افزایش داده شد و طی آن سیگنال فلوئورسانس محصول تکثیر یافته به طور پیوسته توسط دستگاه خوانش گردید. سپس دستگاه منحنی یا نمودار شدت فلوئورسانس را در مقابل دما ترسیم می کند. با ارزیابی پیک اختصاصی و انحصاری محصول تحت مطالعه یعنی miRNA-21 و نیز پیک دیمر پرایمرها از اختصاصیت تکثیر Real-Time PCR مطمئن شدیم(شکل شماره ۳).



شکل شماره ۳. با ارزیابی پیک اختصاصی و انحصاری محصول تحت مطالعه یعنی miRNA-21 از اختصاصیت تکثیر Real-Time PCR مطمئن شدیم.

همه نمونه ها به صورت دوتائی سنجش شدند. RNA هسته ای کوچک آندروژن(که نقش Housekeeping gene را دارد) RNU6B نیز برای نرمالیزه کردن سنجش همراه نمونه ها در همه مراحل(هم زمان با سنجش نمونه ها به صورت دوتائی و بر روی همان پلیت) سنجش گردید. این کار نیز با خرید کیت مربوط به آن(Human RNU6B (RNU6-2) miScript Primer Assay, Qiagen) صورت گرفت. در ابتدای سنجش ۵ رقت سریال یکسان هم از RNU6B cDNA و هم از یک نمونه پولد شده miRNA-21 (مخلوط یکنواخت ۱۰ نمونه از بیماران) تهیه گردید و محصول تکثیر Real-Time PCR آن ها آنالیز گردید. نمودار Ct آن ها در مقابل رقت آن ها ترسیم گردید. با ارزیابی آن ها مشخص گردید که کارائی این سنجش برای RNU6B و miRNA-21 تقریباً برابر است. در ضمن یک نمونه کنترل منفی بدون cDNA (به صورت دوتائی) نیز در پلیت به همراه بقیه نمونه ها گنجاده شد. ۱۰ نمونه سالم نیز با هم مخلوط گردیده و بعد از ورتکس کردن در واقع یک نمونه پولد تهیه شد. این نمونه پولد اخیر به عنوان کالیبراتور به کار رفت.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]

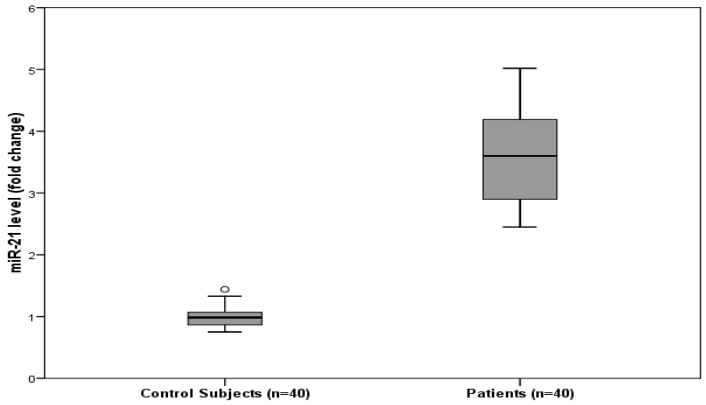
محاسبه میزان بیان ژن miRNA-21 نمونه های تحت مطالعه: برای نرمالیزه کردن میزان miR-21 در بین نمونه ها از RNU6B RNA مطابق متد $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Livak) عمل شد. ۱۰ نمونه سرم سالم نیز که همراه افراد تحت مطالعه تهیه گردیده بود با هم مخلوط گردیده و بعد از ورتکس کردن در واقع یک نمونه پولد سالم تهیه شد. این نمونه پولد اخیر به عنوان کالیبراتور به کار رفت که همراه نمونه های بقیه افراد روی پلیت سنجش گردیده بود. ابتدا C_t هر نمونه مطابق روشی که قبلاً ذکر گردید، تعیین شد. سپس ΔC_t محاسبه می شود. مقدار ΔC_t مطابق رابطه زیر به دست می آید: [ΔC_t= C_t (هر نمونه)–C_t RNU6B)]. در مرحله بعد مقدار $\Delta\Delta C_t$ و مقدار نرمال شده هر نمونه محاسبه می گردد: [(ΔC_t نمونه سرم کالیبراتور)–(ΔC_t نمونه سرم افراد سرطانی یا کنترل) = $\Delta\Delta C_t$]. مقدار miRNA نرمال شده هر نمونه برابر با $2^{-\Delta\Delta Ct}$ خواهد بود. داده های این پژوهش پس از ورود به رایانه با نرم افزار آماری SPSS vol.16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تفاوت آماری مقادیر miR-21 بین بیماران و افراد کنترل از طریق آزمون دو طرفه من–ویتنی(two tailed Mann-Whitney U test) امتحان گردید. آنالیز منحنی راک(Receiver-operating characteristic ROC) انجام گردید تا ارزش تشخیصی میزان miR-21 سرم در افتراق دادن بیماران از افراد کنترل مشخص گردد. مقدار p کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری منعی دار در نظر گرفته شد.

یافته های پژوهش

یافته های پژوهش به شرح ذیل آمده است.

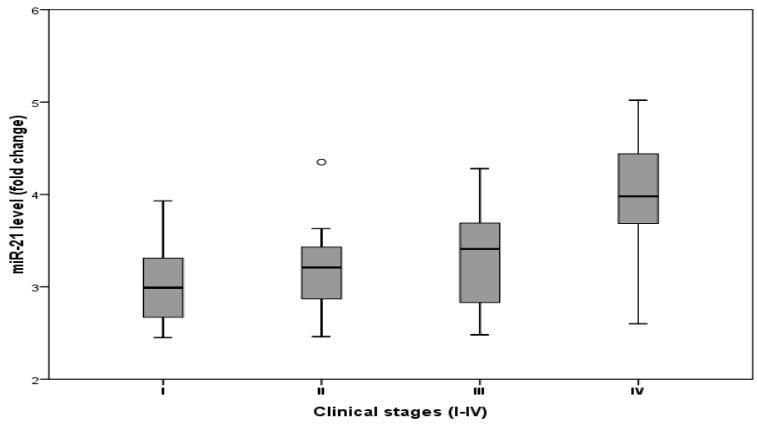
جدول شماره ۱. خصوصیات بالینی و دموگرافیک افراد تحت مطالعه

متغیر		بیماران(۴۰ نفر)	افراد کنترل(۴۰ نفر)	P
جنسیت	مرد	۲۱	۲۰	۰/۸۲
	زن	۱۹	۱۹	۰/۸۲
	سن(سال)	۵۷/۳۵±۱۰/۱۳	۵۷ ±۱۰/۳۴	۰/۸۵
	سیگاری	٪۲۰	٪۱۵	۰/۵۶
مرحله بندی تومور (گرید I-IV)	I	۹	–	
	II	۷	–	
	III	۷	–	
	IV	۱۷	–	



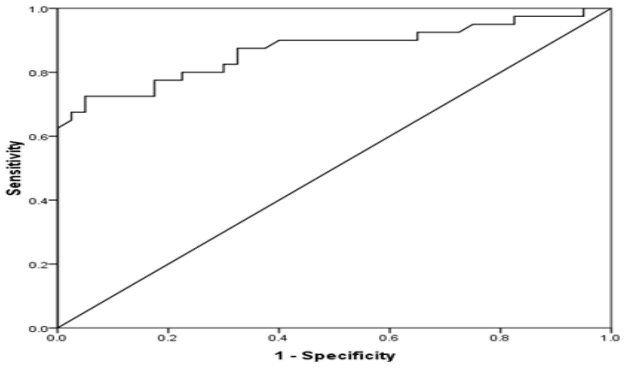
شکل شماره ٤. مقادیر miR-21 در سرم بیماران و افراد کنترل. میزان miR-21 سرم در بیماران حدود ۳/۵ برابر افراد کنترل بود(P=0.0001)

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]



شکل شماره ۵. مقادیر miR-21 در سرم بیماران. میزان miR-21 سرم در بیماران ارتباط معنی داری با مرحله بندی تومور نشان داد(τ=0.56, P=0.01)

آنالیز منحنی راک(Receiver-operator characteristic; ROC) نشان داد که مقدار miR-21 سرم می تواند به خوبی بین بیماران و افراد کنترل به خوبی افتراق قائل شود(شکل شماره ۳-۲). با آنالیز منحنی و تهیه مقدار cut-off برای این بیومارکر، مشخص گردید که مقدار miR-21 سرم در حد بالاتر از ۱/۴۷ برابر افراد سالم(کالیبراتور) می تواند بیماران را با اختصاصیت ۷۷ درصد و حساسیت ۷۹ درصد از افراد سالم تشخیص دهد. بر اساس نتایج مشخص شد که میکرو RNA ۲۱، ارتباط معناداری با مرحله بندی(staging) تومور دارد، هم چنین سنجش میزان این میکرو RNA در سرم معیار مناسبی جهت افتراق دادن بیماران از افراد سالم می باشد.



شکل شماره ٦. منحنی راک مربوط به میزان سرمی miR-21 برای افتراق دادن بیمارا از افراد کنترل. سطح زیر منحنی راک برای این آنالیز(۰/۹٦-۰/۷۳ CI:۹۵٪) ۰/۸٦ بود.

بحث و نتیجه گیری

پس از تصادفات جاده ای و بیماری های قلب و عروق، سرطان سومین علت مرگ و میر در کشور ایران می باشد. سالانه بیش از ۳۰۰۰۰ هزار نفر در ایران بر اثر سرطان جان خود را از دست می دهند. سرطان معده شایع ترین سرطان در مردان و سومین سرطان شایع در زنان پس از سرطان سینه و روده بزرگ است(۷). از آن جا که بیشتر سرطان ها در افراد مسن بروز می کند و کشور ایران جمعیت به نسبت جوانی دارد، با افزایش امید به زندگی انتظار می رود که در آینده نزدیک میزان

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]

بروز و مرگ و میر این بیماری مهلک در کشور به سرعت افزایش یابد. بنا بر این توجه به اهمیت مبارزه با این بیماری مهلک و وجود برنامه کنترل سرطان در کشور ضرورت دارد. با توجه به اهمیت موضوع و تشخیص دیر هنگام بیماری تلاش ما بر این اصل است که بتوان روش هایی برای تشخیص زودهنگام و به موقع سرطان معده ارائه کرد. در بیماران با سرطان معده افزایش بیان میکرو miR-21 در خون ممکن است به عنوان یک نشانگر تشخیصی عمل نماید. هم چنین افزایش این میکرو RNA باعث کاهش بیان پروتئین های بازدارنده تومور و افزایش بیان پروتئین های انکوژن می شود(۸). با توجه به این نقش ها miR-21 می تواند گزینه مناسبی جهت بررسی ایجاد سرطان و متاستاز باشد. با توجه به افزایش بیان miR-21 در بافت های سرطانی می توان از آن برای تشخیص به موقع و پیشگیری از متاستاز بهره برد و چون این میکرو RNA بر روی سلول های تومور اثر گذاشته و خاصیت آنکوژنی و ضد آپوپتوزی دارد باعث اختلال در مسیر آپوپتوز می گردد که به نفع بقای سلول سرطانی می باشد(۹). مطالعه بر روی نقش ضد آپوپتوزی این بیومارکر تا حدی نامشخص باقی مانده است با این وجود با توجه به اطلاعات فوق تحقیقات روی آن می تواند چشم اندازی در تشخیص مراحل اولیه و درمان سرطان باشد. هم چنین مطالعات دیگری نیز با استفاده از روش فلوسایتومتری سطح بیان miRNA های تنظیمی را در انواع سرطان مورد بررسی قرار داده اند و با استفاده از آن ها به طبقه بندی انواع سرطان پرداخته اند(۱۵). در مطالعات بالینی نشان داده شده است که بیان miR-21 در بافت توموری سرطان معده در مقایسه با بافت سالم کناری آن به شدت بالاتر می رود(۱۰). افزایش میزان miR-21 در بافت توموری سرطان معده با قدرت تهاجم بیماری، اندازه تومور، و مرحله بندی ارتباط قوی نشان داده است(۱۱). miR-21، میکرو RNA شناخته شده ای است که مطالعات زیادی بر روی آن انجام شده است. این میکرو RNA نقش انکوژنی دارد و با خاموش کردن یک سری ژن های مهم در سلول، سلول را به سمت سرطانی شدن پیش می برد. در سرطان های مختلف رد پای این میکرو RNA وجود دارد(۱۲). در این تحقیق که بر روی ۴۰ فرد بیمار مبتلا به کانسر معده و هم چنین تعداد ۴۰ فرد سالم نیز به عنوان گروه شاهد انتخاب شده بود انجام گرفت ما به ارتباط مستقیم افزایش بیان miR-21 با مرحله بندی تومور پی بردیم. هم چنین نتایج این تحقیق نشان داد که در بیماران، میزان miR-21 سرم ارتباط معنی داری با مرحله بندی تومور نشان داد. هم چنین در مطالعاتی که در سال ۲۰۱۲ توسط گروهی از محققین انجام گرفته است به ارتباط مثبت این میکرو RNA با اندازه تومور اشاره شده است هم چنین این موضوع را روشن ساخته که بیماران با بیان بالای miR-21 دارای تومورهای بزرگتری هم می باشند(۱۳). در تحقیق حاضر بررسی افزایش میزان miR-21 در سرم به خوبی به افتراق افراد بیمار و گروه شاهد کمک می کند که این یافته با نتایج به دست آمده توسط SONG(۲۰۱۳) که به ارتباط این میکرو RNA با پیشرفت سرطان و افزایش بیان آن در بافت توموری اشاره دارد، هم خوانی دارد البته تفاوت کار ما با این روش در بررسی سنجش miR-21 در سرم توسط ما و بررسی افزایش بیان miR-21 در بافت تومور توسط این محقق بوده است. miR-21 در ارتباط مستقیم است با اندازه تومور، مرحله بندی تومور(staging) و پیشرفت سرطان، اما قادر به پیش بینی پیش آگهی بیماری نیست(۱۴). با توجه به این مدارک و شواهد می توان نتیجه گرفت که miR-21 توسط بافت توموری سرطان معده تولید می شود، هم چنین میزان سرمی آن در بیماران نسب به افراد کنترل به طور قابل توجهی بالاتر می رود در نتیجه به افتراق این دو گروه باهم کمک شایانی می نماید و هم چنین هرچه میزان بیان miR-21 در سرم بیشتر باشد با اندازه تومور و مرحله بندی(staging) تومور وقدرت تهاجم بیماری ارتباط بیشتری نشان می دهد. در نتیجه سنجش میزان miR-21 در سرم می تواند به عنوان یک روش غیر تهاجمی در تشخیص زود هنگام بیماران سرطان معده به کار رود. در واقع بیان این میکرو RNA را در سرم به عنوان نشانگر تشخیصی در نظر گرفت.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]

References

1.Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 2011; 144:646-74.

2.Kim M, Kasinski AL, Slack FJ. MicroRNA therapeutics in preclinical cancer models. Lancet Oncol 2011;12:319-21.

3.Negrini M, Nicoloso MS, Calin G. MicroRNAs and cancer new paradigms in molecular oncology . CurrOpin Cell Biol 2009;21:470-9.

4.Schaefer A, Jung M, Kristiansen G, Lein M, Schrader M, Miller K, Stephan C, Jung K . MicroRNAs and cancer: current state and future perspectives in urologic oncology. Urol Oncol 2010;28:4-13.

5.Montano M. MicroRNAs: miRRORS of health and disease. Transl Res 2011;157:157-62.

6.Zhang BG, Li JF, Yu BQ, Zhu ZG, Liu BY, Yan M. MicroRNA-21 promotes tumor proliferation and invasion in gastric cancer by targeting PTEN. Oncol Rep 2012;27:1019-26 .

7.Mousavi S M, Gouya M M, Ramazani R, Davanlou M, Hajsadeghi N, Seddighi Z. Cancer incidence and mortality in Iran. Annals of Oncology2009; 20: 556-63.

8.Kanellopoulou C, Monticelli S . A role for microRNAs in the development of the immune system and in the pathogenesis of cancer. Semin Cancer Biol 2008;18:79-88.

9.Büssing I, Slack FJ, Grosshans H. let-7 microRNAs in development, stem cells and cancer. Trends Mol Med 2008; 14:400-9.

10.Jiang J, Zheng X, Xu X, et al. Prognostic significance of miR-181b and miR-21 in gastric cancer patients treated with S-1/Oxaliplatin or Doxifluridine/Oxaliplatin. PLos One 2011;6:23271.

11.Babashah S, Soleimani M. The oncogenic and tumour suppressive roles of microRNAs in cancer and apoptosis. Eur J Cancer 2011;47:1127-37.

12.Lim LJ , Ding X , He M , Chang SY . microRNA and Cancer . AAPS J2010;12:309-17.

13.Ruan K, Fang X, Ouyang G. MicroRNAs: novel regulators in the hallmarks of human cancer . Cancer Lett 2009; 285:116-26.

14.Jianning SZB, Jun Z, Hua M, Jun C. Serum microRNA21 levels are related to tumor size in gastric cancer patients but cannot predict prognosis. Oncol Let2013; 6:1733-7.

15.Huarte M, Rinn JL. Large non-coding RNAs: missing links in cancer? Hum Mol Genet 2010; 19:152-61.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]

The Expansion of Micro-RNA 21 (miR-21) in the Serum of Patients with Gastric Cancer

Parto P[1], Masoudian N[1]*

(Received: October 14, 2014 Accepted: November 15, 2014)

Abstract

Introduction: MicroRNAs (miRNAs) are new group of regulatory RNAs with approximately 22 nucleotides in length. The miRNAs have important role in human cancers and apparently function as either oncogenes or tumor suppressors. In this study, serum level of miR-21 was determined in patients with gastric adenocarcinoma and its correlation with tumor staging was assessed in the patients, for the first time, in Iran.

Materials & methods: The study was conducted on 40 patients with gastric adenocarcinoma and 40 control subjects who had referred to cancer institute due to gastrointestinal irritation but were diagnosed as healthy on noncancerous. Serum levels of miR-21 were measured using a quantitative Real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) assay. The correlation of miR-21 serum level with tumor staging was assessed in the patients.

Results: Serum level of miR-21 was approximately 3.5 fold higher in patients with gastric adenocarcinoma than control subjects ($P<0.0001$). Increased level of miR-21 in serum was associated with clinical stages of tumors in the patients ($\tau = 0.56$, $P < 0.01$).

Discussion & Conclusions: Given the importance of miR-21 in the progression of gastric adenocarcinoma and its correlation with clinicopathological factors, the serum level of miR-21 can be served as a new noninvasive diagnostic biomarker for gastric adenocarcinoma.

Keywords: Gastric adenocarcinoma, MicroRNA, MiR-21

1. Dept of Biology, Faculty of Science, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran
** Correspondin author Email: nahidmasoudian@yahoo.com*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]