

The Role of MicroRNA-21 in Colorectal Cancer and Its Potential Value as a Predictive, Diagnostic and Prognostic Biomarker: A Review Article

Tayebeh Ranjbarnejad¹,
Fatemeh Ranjbarnejad²,
Massoud Saidijam³

¹ MSc in Biotechnology, Molecular Medicine Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

² MSc in Medical Genetics, Research Center for Genetic and Molecular Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

³ Professor, Department of Genetics and Molecular Medicine, Molecular Medicine Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

(Received May 19, 2018 ; Accepted August 7, 2018)

Abstract

Colorectal cancer (CRC) is one of the most common types of cancers worldwide. Despite the improved therapeutic and diagnostic strategies and screening programs, morbidity and mortality of CRC is still considerable. Currently, most common approaches for diagnosis of CRC are colonoscopy and fecal occult blood test (FOBT). Because of the invasive nature of colonoscopy and low sensitivity of FOBT, it is essential to find precise and noninvasive methods for early diagnosis, monitoring, and control of colorectal cancer. In recent years, there has been growing interest in finding sensitive and non-invasive molecular biomarkers by evaluating expression profiles of miRNAs in patients with colorectal cancer. Many studies have shown the important role of microRNAs in regulating the expression of genes involved in tumorigenesis, which has led researchers to evaluate their ability in diagnosis and treatment of various cancers such as colorectal cancer. In this regard, miR-21 was studied in many researches. miR-21 is one of the earliest identified cancer-promoting 'oncomiRs', targeting numerous tumor suppressor genes associated with proliferation, apoptosis, and invasion. Overexpression of miR-21 is observed in colorectal cancer and some other cancers. Recent studies have focused on the diagnostic and prognostic value of miR-21 and its implication in drug resistance of human cancers. The present study is a review of recent findings on the role of miR-21 in the regulation of target genes involved in colorectal carcinogenesis and its potential as a diagnostic and prognosis biomarker in this cancer.

Keywords: colorectal neoplasms, miR-21, biomarker

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 28 (169): 192-209 (Persian).

* **Corresponding Author:** Massoud Saidijam - Research Center for Molecular Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran (E-mail: sjam110@yahoo.com)

نقش microRNA-21 در سرطان کولورکتال و قابلیت آن به عنوان یک بیومارکر پیش بینی کننده، تشخیصی و پیش آگهی؛ مقاله مروری

طیبه رنجبرنژاد^۱فاطمه رنجبرنژاد^۲مسعود سعیدی جم^۳

چکیده

سرطان کولورکتال یکی از رایج ترین انواع سرطان ها در سراسر جهان می باشد. مرگ و میر و شیوع سرطان کولورکتال با وجود پیشرفت روش های تشخیصی و درمانی و برنامه های غربال گری هنوز قابل ملاحظه می باشد. در حال حاضر، کولونوسکوپی و سنجش خون مخفی مدفوع (FOBT) رایج ترین روش ها برای تشخیص سرطان کولورکتال هستند. به علت ماهیت تهاجمی کولونوسکوپی و حساسیت پایین روش FOBT، یافتن روش های دقیق و غیر تهاجمی برای تشخیص اولیه، پایش و کنترل سرطان کولورکتال ضروری به نظر می رسد. در سال های اخیر، علاقه زیادی به یافتن بیومارکرهای مولکولی حساس و غیر تهاجمی با ارزیابی پروفایل های بیانی miRNA در بیماران دارای سرطان کولورکتال به وجود آمده است. مطالعات بسیاری نقش مهم microRNA ها را در تنظیم بیان ژن های دخیل در تومورزایی نشان داده است که محققین را به ارزیابی قابلیت آن ها در تشخیص و درمان سرطان های مختلف از قبیل سرطان کولورکتال واداشته است. در این زمینه، miR-21 در مطالعات بسیاری مورد توجه قرار گرفته است. miR-21 یکی از اولین oncomiR های شناخته شده در القای سرطان است که ژن های سرکوبگر تومور متعددی که مرتبط با تکثیر، آپوپتوز و تهاجم هستند را مورد هدف قرار می دهد. بیان بیش از حد miR-21 در سرطان کولورکتال و برخی از سرطان های دیگر مشاهده شده است. مطالعات اخیر بر ارزش تشخیصی و پیش آگهی miR-21 و همچنین نقش آن در مقاومت دارویی سرطان های انسان تمرکز کرده اند. مطالعه حاضر، مروری بر یافته های اخیر مرتبط با نقش miR-21 در تنظیم ژن های هدف دخیل در سرطان زایی کولورکتال و قابلیت آن به عنوان یک بیومارکر تشخیصی و پیش آگهی در این سرطان می باشد.

واژه های کلیدی: سرطان کولورکتال، miR-21، بیومارکر

مقدمه

سرطان، علت اصلی مرگ و میر در کشورهای توسعه یافته و دومین علت مرگ و میر در کشورهای در حال توسعه می باشد (۱). سرطان های سیستم گوارشی به طور عمده شامل سرطان معده، کولورکتال و هپاتوسلولار،

منجر به بیشترین شیوع و مرگ و میر می گردند (۲). سرطان کولورکتال (Colorectal cancer CRC) با بیش از ۱/۲ میلیون مورد جدید و ۶۰۰۰۰۰ مرگ سالانه در سراسر جهان، رایج ترین سرطان در سیستم گوارشی

مؤلف مسئول: مسعود سعیدی جم - همدان: چهارراه خواجه رشید، بلوار آیت اله کاشانی، دانشگاه علوم پزشکی، مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی E-mail: sjam110@yahoo.com

۱. کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی پزشکی، مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

۲. کارشناسی ارشد ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران

۳. استاد، گروه ژنتیک و پزشکی مولکولی، مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۲/۲۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۷/۳/۱۲ تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۵/۱۶

می‌باشد (۳). همچنین سرطان کولورکتال به‌عنوان یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها در ایران، سومین سرطان رایج در مردان و چهارمین سرطان رایج در زنان به ترتیب با نرخ شیوع ۸/۳-۸/۱ و ۶/۵-۷/۵ در هر ۱۰۰,۰۰۰ نفر ایرانی می‌باشد (۴). با وجود بهبود روش‌های درمانی و تشخیصی و برنامه‌های غربالگری، شیوع و مرگ و میر سرطان کولورکتال هنوز چشمگیر می‌باشد (۵). نرخ بالای مرگ و میر در این سرطان به طور محسوسی با مرحله تشخیص بیماری مرتبط است. برای بقای بیشتر بیماران، تشخیص بیماری در مرحله I/IIa بسیار بهتر از مراحل بعدی می‌باشد. گزارش شده است که نرخ بقای ۵ ساله در مرحله I بیش‌تر از ۹۳ درصد اما در مرحله IV به کم‌تر از ۸ درصد می‌رسد (۶). بنابراین تشخیص سرطان کولورکتال در مراحل اولیه برای زندگی طولانی‌تر بیماران با اهمیت می‌باشد. در حال حاضر روش‌های غربالگری سرطان کولورکتال به‌طور معمول شامل کولونوسکوپی و سنجش خون مخفی در مدفوع (fecal occult blood test (FOBT) می‌باشد. اگرچه کولونوسکوپی معتبرترین ابزار تشخیصی در دسترس می‌باشد اما به علت تهاجمی بودن، هزینه بالا و طبیعت ناخوشایند آن برای بسیاری از بیماران قابل پذیرش نمی‌باشد. از طرفی روش‌های کم‌تر تهاجمی از قبیل FOBT نیز حساسیت پایینی برای تشخیص سرطان کولورکتال دارند (۷). از آنجایی که یافتن اهداف مولکولی برای درمان سیستم گوارشی می‌تواند به بهبود بقای بیماران دارای بیماری کشنده کمک کند، مطالعات بسیاری بر شناسایی فاکتورهای بیولوژیکی درگیر در پیش‌آگهی ضعیف بیماران تمرکز یافته‌اند (۲). بنابراین شناسایی بیومارکرهای جدید و دقیق‌تر با استفاده از روش‌های با تهاجم کم‌تر برای تشخیص سرطان کولورکتال در مراحل اولیه و همچنین پیش‌آگهی و پیش‌بینی پاسخ به درمان در این بیماری حائز اهمیت می‌باشد (۸). به منظور درمان موفق و تشخیص بهتر سرطان، مارکرهای مولکولی در فازهای مختلف بیماری

مورد نیاز می‌باشد. به تازگی بیومارکرهای محدودی برای تشخیص مطمئن سرطان در مراحل اولیه شناسایی شده‌اند (۹). در بین بیومارکرها، مارکرهای RNA از قبیل microRNAها (miRNA) به‌طور رایجی در سرطان‌های گوارشی مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۱۰) و به عنوان کاندیدهای بالقوه‌ای برای تشخیص اولیه سرطان، در بافت، مدفوع و سرم قابل تشخیص می‌باشند (۸). microRNAها مولکول‌های غیر کدکننده‌ای با طول ۱۸-۲۵ نوکلئوتید می‌باشند که با هدف‌گیری mRNA در تنظیم بیان ژن‌ها نقش دارند و با تنظیم ژن‌های درگیر در فرآیندهای مرتبط با سرطان‌زایی در تمایز، تکثیر، آپوپتوز و متاستاز سلول‌های سرطانی دخالت می‌کنند (۱۱). بیوژن miRNA در هسته و سیتوپلاسم انجام می‌گیرد. در طی این فرآیند، رونویسی از ژن‌های miRNA یک miRNA اولیه (pri-miRNA) تولید می‌کند. بعد از پردازش pri-miRNA بوسیله آنزیم Drosha در هسته، pre-miRNA (در حدود ۷۰ نوکلئوتید) تولید می‌شود. pre-miRNA به سیتوپلاسم منتقل می‌شود و در سیتوپلاسم پردازش نهایی توسط آنزیم Dicer انجام می‌شود. عملکرد Dicer یک RNA دو رشته‌ای شامل یک رشته راهنما و یک رشته مسافر تشکیل می‌دهد. رشته مسافر تخریب می‌شود و رشته راهنما با اتصال به کمپلکس خاموش‌کننده القا شده با miRNA (RNA-induced silencing complex RISC RNA) بالغ را تولید می‌کند؛ سپس کمپلکس RISC فعال شده mRNA هدف را هدف‌گیری می‌کند (۱۲). تنظیم نامناسب miRNAهای خاصی در بسیاری از سرطان‌های انسان گزارش شده است و نقش مهم miRNAها به عنوان فاکتورهای اپی ژنتیکی در پاتوژنز سرطان کولورکتال در مطالعات بسیاری ارزیابی و تایید شده است؛ بنابراین miRNAها می‌توانند به عنوان بیومارکر مولکولی برای تشخیص و پیش‌آگهی سرطان استفاده شوند (۱۳). miR-21 یکی از miRNAهایی است که به‌طور گسترده‌ای در سرطان‌های متعدد بررسی شده

در PubMed و ترکیبی از کلیدواژه‌های زیر در سایر پایگاه‌های اطلاعاتی انجام شد:

[miR-21 OR microRNA-21 OR miRNA-21 OR hsa-mir-21] AND [Colorectal OR Colon] AND [Cancer OR Neoplasm]

یافته‌ها

ژن‌های هدف miR-21 در سرطان کولورکتال

شواهد بسیاری نقش miR-21 را به عنوان یک فاکتور کلیدی برای شروع، پیشرفت و متاستاز انواع گسترده‌ای از تومورها با عملکرد هدف گیری ژن‌های سرکوب گر تومور متعدد تایید می‌کنند. ۲۱۰ هدف پیش‌بینی شده از miR-21 در پایگاه داده TargetScan (<http://www.targetscan.org/>) و ۱۷۵ مورد در پایگاه داده Pictar (<http://pictar.mdccberlin.de/>) گزارش شده است. اگرچه تنها تعداد کمی از این اهداف با تجارب آزمایشگاهی تایید شده‌اند، اما بسیاری نیز تاکنون ناشناخته باقی مانده‌اند. به هر حال اهداف تایید شده miR-21 نقش قابل توجهی در چرخه سلول، آپوپتوز، مهاجرت، تمایز و خود تجدیدی سلول بنیادی دارند و نسبت بزرگی از این اهداف در شروع سرطان، ترانسفورماسیون، تهاجم و متاستاز درگیر می‌باشند. همان‌طور که قبلاً ذکر شد، بیان miR-21 در سرطان کولورکتال به صورت غیر عادی می‌باشد و این بیان غیر عادی با پیشرفت و پیش‌آگهی ضعیف در این بیماران مرتبط می‌باشد. بنابراین درک مکانیسم‌های عملکرد miR-21 و شناسایی اهداف پایین دست آن در سرطان کولورکتال حائز اهمیت می‌باشد (۱۸). یکی از ژن‌های هدف مستقیم miR-21 (Programmed Cell Death 4) PDCD4 است. PDCD4 به عنوان یک ژن سرکوبگر تومور در پایین دست مسیر PI3K-mTOR فعالیت می‌کند و سطح بیان آن ارتباط معکوسی را با miR-21 در برخی از بافت‌ها و رده‌های سلولی توموری از قبیل سرطان کولورکتال نشان داده است (۱۹). این ارتباط معکوس در هر مرحله‌ای

است. مطالعات نشان داده‌اند که بیان miR-21 به طور قابل توجهی در اکثر سرطان‌ها شامل سرطان پستان، سرطان مری، سرطان معده، سرطان کولورکتال، سرطان هپاتوسلولار، سرطان پانکراس، گلیوبلاستوما، لوسمی، لنفومای سلول B، کلانژیوکارسینوما، سرطان ریه، کارسینومای سلول سنگفرشی سر و گردن، سرطان سلول سنگفرشی زبان، سرطان گردن و سرطان پروستات افزایش می‌یابد. این miRNA با تکثیر، آپوپتوز و مهاجرت سلولی مرتبط بوده و همچنین تهاجم و متاستاز را در سلول‌های سرطانی القا می‌کند (۱۷، ۱۸، ۱۹). یافته‌های اخیر نشان می‌دهند که miR-21 در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال به صورت نابجا بیان می‌شود و بیان غیرعادی آن با تشخیص و پیش‌آگهی سرطان کولورکتال مرتبط است. به هر حال بیش تر تحقیقات بر روی نمونه‌های به نسبت کمی انجام شده است و همچنین در تعداد محدودی از مطالعات نتایج متناقضی مشاهده شده است؛ بنابراین در این مطالعه، مروری جامع بر تحقیقات اخیر در مورد نقش miR-21 در سرطان کولورکتال و قابلیت آن به عنوان یک بیومارکر بالقوه برای تشخیص و پیش‌آگهی سرطان انجام شده است؛ با این امید که اطلاعات ارائه شده به فهم بهتری از پاتوژنز و توسعه روش‌های درمانی و تشخیصی جدید برای این بیماری منجر شود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مروری روایتی جستجوی منابع مختلف در پایگاه‌های اطلاعاتی PubMed، Proquest، Science Direct، Scopus و موتور جستجوی Google Scholar و پایگاه‌های داخلی Iranmedex تا ژانویه سال ۱۳۹۸ انجام گرفت. در این مطالعه محدودیت زبانی اعمال نشد و مقالاتی که عنوان آن‌ها با موضوع مورد مطالعه همخوانی نداشت، حذف شدند. جستجو در این مطالعه با استفاده از کلیدواژه‌های استاندارد MeSH ["MIRN21" AND "Colorectal Neoplasms"[Mesh

از پیشرفت تومور (مرحله A، B، C و D) مشاهده شده است که پیشنهاد دهنده این است که ممکن است سطح PDCD4 mRNA به طور منفی توسط miR-21 در هر مرحله توموری سرطان کولورکتال تنظیم شود (۲۲-۲۰). علاوه بر این Asangani و همکارانش مهار PDCD4 توسط miR-21 را بررسی کردند و دریافتند که بیان بیش از حد miR-21 باعث می شود که سلول های توموری پیوند شده به مدل موشی، با شدت بیشتری تهاجم و متاستاز پیدا کنند. همچنین PDCD4 به طور منفی توسط miR-21 القا کننده تهاجم و متاستاز در سلول های Colo206f تنظیم می شود. هنگامی که این سلول ها با miR-21 ترانسفکت آلوده شدند، گزارشگر لوسیفراز دربردارنده 3'-UTR PDCD4 به طور برجسته ای مهار شد و بیان miR-21 در Colo206f افزایش یافت ولی با وجود کاهش شدید پروتئین PDCD4، بیان mRNA آن تغییری نکرد. در مقابل، ترانسفکشن RKO با anti-miR-21 فعالیت این سازه را افزایش داده و این سلول ها توانستند بیان پروتئین PDCD4 را افزایش دهند که نشان دهنده اینست که PDCD4 به صورت منفی توسط miR-21 کنترل می شود (۱۹). به طور مشابهی افزایش بیان miR-21 در سلول های HCT-116 از طریق ترانسفکشن پایدار منجر به کاهش بیان PDCD4 شده است (۲۳). یک ژن سرکوبگر تومور به نام Sprouty2 (Spry2) از دیگر اهداف ژنی miR-21 می باشد. اعضای خانواده Sprouty در پیام رسانی گیرنده تیروزین کینازی در پاسخ به فاکتورهای رشد درگیر هستند و همچنین در تنظیم مسیر map کیناز نقش دارند (۱۶). در مطالعه ای گزارش شده است که Spry2 رشد رده سلولی HCT-11 سرطان کولورکتال را مهار کرده و منجر به پیش برد آپوپتوز و القای حساسیت به 5-FU و متفورمین می شود؛ اما با ناک دان miR-21 در این سلول ها بیان Spry2 افزایش می یابد و منجر به کاهش سرعت تکثیر سلول های HCT-116 می شود که نشان دهنده اینست که عملکرد Spty2 در سرطان

کولورکتال توسط miR-21 تنظیم می شود (۲۴). PTEN (phosphatase and tensin homolog) فسفاتازی است که از طریق تنظیم منفی مسیر پیام رسانی PI3K-AKT عمل می کند (۲۵) و به عنوان یک ژن سرکوبگر تومور در سرطان های مختلفی جهش می یابد و تکثیر، رشد و آپوپتوز سلول ها را تنظیم می کند (۲۶). مطالعات نشان داده اند که بیان و پروتئین PTEN در بافت های توموری در مقایسه با بافت های غیر توموری اطراف به طور عمده ای کاهش می یابد (۲۷، ۲۸). همچنین مشاهده شده است که بیان PTEN با بیان miR-21 در بافت های توموری کولورکتال و سلول های HTC-116 ارتباط معکوسی دارد و توانایی تکثیر و مهاجرت سلول HTC به طور برجسته ای با مهار miR-21 سرکوب می شود. مهار miR-21 می تواند بیان PTEN را در رده های سلولی HCT-116 افزایش دهد که نشان دهنده این است که miR-21 می تواند حالت بیولوژیکی بدخیمی را از طریق غیرفعال سازی ژن هدف PTEN، تشدید کند (۲۷). miR-21 فسفریلاسیون focal adhesion kinase و بیان MMP2/9 (matrix metalloproteinase 2/9) که هر دو از واسطه های پایین دست PTEN و دخیل در مهاجرت و متاستاز هستند را تغییر می دهد. تنظیم کاهشی PTEN به وسیله miR-21 احتمالاً منجر به افزایش مسیر PI3K-AKT یا MMPs و در نهایت افزایش بقا و تحرک سلولی می شود (۲۹). سنجش لوسیفراز یکی از روش های رایج برای تایید اهداف مستقیم miRNA ها می باشد.

در مطالعه ای Xiong و همکارانش پلاسמידهای گزارشگر- لوسیفرازی دربردارنده قطعات نوع وحشی یا 3'-UTR موتانت از PTEN را ساختند و به همراه مهار کننده miR-21 به داخل سلول های HCT-11 ترانسفکت کردند و نشان دادند که مهار کننده miR-21 هنگامی که به همراه پلاسמיד گزارشگر نوع وحشی ترانسفکت می شود، به طور برجسته ای فعالیت نسبی لوسیفراز را افزایش می دهد اما پلاسמיד گزارشگر موتانت، افزایش فعالیت لوسیفراز به واسطه مهار کننده miR-21 را از بین

می‌برد که این موضوع نشان می‌دهد PTEN، miR-21 را با اتصال مستقیم به 3'-UTR آن مهار می‌کند (۲۷). miR-21 به طور مستقیم همولوگ mutS انسانی ۶ و ۶ (hMSH2/6) که با هم کمپلکس ترمیم تشخیص جفت باز ناجور (DNA mismatch repair (MMR)) تشکیل می‌دهند را هدف‌گیری می‌کند. اختلال عملکرد در این مسیر باعث می‌شود که سلول‌های سرطانی کولورکتال به 5-Fluoruracil (5-FU)، یک داروی شیمی درمانی که منجر به آسیب DNA و القای یک مسیر آپوپتوز/ترمیم می‌شود، مقاوم شوند. با فرار از این مسیر سلول‌های آسیب دیده به تکثیر ادامه می‌دهند. کاهش بیان این کمپلکس احتمالاً به عنوان یک شاخص بازده درمانی در سرطان کولورکتال محسوب می‌شود. به علاوه تومورهای کولورکتال که سطح بالایی از miR-21 را بیان می‌کنند، بیان کاهش یافته‌ای از پروتئین همولوگ ۲ mutS (hMSH2) و همولوگ ۶ mutS (hMSH6) را نشان می‌دهند به صورتی که مشاهده شده است ترانسفکشن miR-21 در سلول‌های Colo-320DM و SW620 بیان hMSH2/6 را در این سلول‌ها کاهش می‌دهد (۲۶). همچنین سلول‌های HCT-116 و RKO که با یک نوکلئیک اسید locked (LNA) بر علیه miR-21 (anti-miR-21) ترانسفکت شدند، افزایش بیان پروتئین hMSH2 و hMSH6 را نشان دادند. در تایید این یافته می‌توان اشاره کرد که Deng و همکارانش جایگاه اتصال miR-21 را در 3'-UTR دچار جهش نمودند، به طوری که این گزارشگر موتانت دیگر به miR-21 پاسخ نمی‌داد (۳۰). RECK (reversion-induced cystine-rich protein with Kazal motifs) یک مهارکننده ماتریکس متالوپروتیناز (MMP) لنگری غشا است که با مهار تجزیه غشای پایه توسط MMPs نقش مهمی در سرکوب تهاجم سلول توموری و متاستاز دارد و به سلول‌های توموری اجازه ورود به جریان خون و تهاجم به بافت‌های دیگر را می‌دهد (۱۶). RECK به عنوان یک هدف مستقیم

miR-21 شناسایی شده است و در بسیاری از سرطان‌ها به شدت مهار شده است (۳۱، ۳۲). RECK به طور عمده از طریق MMPs شامل MMP9، MMP2 و MMP14 که در متاستاز و رگ‌زایی تومور درگیر هستند فعالیت می‌کند. در مجموع این مشاهدات نشان می‌دهند که miR-21 احتمالاً تحرک سلولی را با تنظیم بیان MMPها از طریق PTEN و RECK افزایش می‌دهد (۳۳، ۳۴). فیروبلاست‌هایی که miR-21 را به صورت پایدار بیان می‌کنند، کاهش بیان mRNA و پروتئین RECK را نشان داده‌اند و فیروبلاست‌های روده‌ای اولیه ترانسفکت شده با miR-21 نیز کاهش بیان RECK را نشان داده‌اند اما در پلاسمیدهای کنترل، بیان RECK در سطح پایه مشاهده شده است (۳۵). علاوه بر این موارد، سلول‌های سرطان کولورکتال (Caco2، SW620، SW116، SW480، RKO، HCT-116، COLO320، DLD1، LM 1863) ترانسفکت شده با miR-21 می‌توانند به طور عمده‌ای بیان ژن‌های CCL20 (Chemokine (C-C motif) ligand 20)، RhoB (Ras homolog gene family, member B)، TIAM1، Cdc25A (Cell division cycle 25 A) و T Cell Lymphoma Invasion And Metastasis 1 (Transforming growth factor beta-receptor type II) را که از ژن‌های شناخته شده در مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط با سرطان هستند، مهار کنند. در مقابل، تیمار این سلول‌ها با anti-miR-21 به طور محسوسی بیان همه این ژن‌های هدف را افزایش داده است (۳۶-۳۸). TGFβR2 که به عنوان یکی از اهداف miR-21 در برخی از سرطان‌ها شناسایی شده است، گیرنده‌ای برای TGFβ می‌باشد که پروتئین‌ها را فسفریله و جابه‌جایی آن‌ها را به هسته تسهیل کرده و متعاقب آن ژن‌های درگیر در تکثیر را تنظیم می‌کند (۱۶). مطالعات نشان داده‌اند که بیان بیش از حد miR-21 در سلول‌های HCT-116 می‌تواند بیان TGFβR2 را کاهش داده و بیان Cyclin-D، c-Myc، β-catenin و فعالیت TCF/LEF را تقویت کند که با افزایش تشکیل تومور

در موش SCID همراه است (۲۳). در مقابل، سلول‌های HCT-116 ترانسفکت شده با $TGF\beta 2$ فعالیت لوسیفراز TCF/LEF را متوقف کرده از دست داده و بیان β -catenin، c-Myc و Cyclin-D را کاهش می‌دهند که نشان می‌دهد که miR-21 با تأثیر بر پیام‌رسانی $TGF\beta 2$ نقش مهمی را در تنظیم بنیادی بودن (stemness) ایفا می‌کند. کموکاین CCL20 به عنوان یکی دیگر از اهداف تنظیمی miR-21 در رده‌های سلولی سرطان کولورکتال گزارش شده است (۲۳). بیان لیگاند کموکاین CCL20 و گیرنده آن در سرطان کولورکتال به‌طور عمده‌ای افزایش یافته و در افزایش تکثیر و مهاجرت سلول‌های سرطانی دخیل می‌باشد. گزارش شده است که miR-21 بیان یک سازه لوسیفراز دربردارنده 3'-UTR CCL20 mRNA را تنظیم می‌کند. و بیان بیش از حد miR-21 با ترانسفکشن پیش ساز miR-21 منجر به کاهش قابل توجه سطوح بیان ژن، mRNA و پروتئین CCL20 در دو رده سلولی سرطان کولورکتال (SW480 و SW620) و کاهش قابل توجه تنها در سطح پروتئین CCL20 در رده سلولی Caco-2 می‌شود (۳۷). RhoB از خانواده GTPase‌های کوچکی است که می‌تواند تکثیر سلولی، بقا، تهاجم و متاستاز را در سرطان محدود نماید. مشاهده شده است که بیان بیش از حد miR-21 یا یک RhoB siRNA (si-RhoB) در سلول‌های SW1116، به‌طور عمده‌ای قابلیت تکثیر این سلول‌ها را تقویت کرده و از طرفی منجر به کاهش قابل توجهی در سرعت آپتوتوز می‌شود (۳۸). جالب توجه است که سلول‌های SW1116 ترانسفکت شده با miR-21 یا si-RhoB افزایش قابل توجهی را در فعالیت تهاجمی نشان می‌دهند و به‌طور مشابه مهار بیان بیش از حد miR-21 یا RhoB در سلول‌های Colo320، به‌طور برجسته‌ای تکثیر و فعالیت‌های تهاجمی این سلول‌ها را سرکوب می‌نماید. از طرفی آپتوتوز سلولی تقویت یافته نشان دهنده این است که محور پیام‌رسانی miR-21-RhoB

تکثیر و تهاجم را در سلول‌های سرطانی کولورکتال تنظیم می‌کند (۳۸). Cdc25A یک تنظیم‌کننده چرخه سلول است. miR-21 به‌طور مستقیم به جایگاه هدف در 3'UTR Cdc25A متصل شده و در شرایط استرس، بدون تأثیر بر آپتوتوز، با سرکوب بیان آن منجر به تنظیم پیشرفت چرخه سلول می‌شود (۳۹). در سلول‌های سرطان کولون، کمبود سرم و آسیب DNA، بیان miR-21 را القا می‌کند که در سرطان‌های کولون با بیان بیش از حد Cdc25A، کاهش یافته بود. به‌طور مشابه مشاهده شده است که هاپوکسی، سطح پروتئین و Cdc25A mRNA را در سلول‌های سرطانی کولون کاهش می‌دهد و منجر به توقف فاز S با یک کاهش جمعیت میتوتیک می‌شود. این کاهش به p21 و miR-21 وابسته است که هر دو در طول هاپوکسی در سلول‌های سرطانی کولون افزایش بیان می‌یابند (۴۰). علاوه بر این Wang و همکارانش نشان دادند که miR-21 تکثیر سلول‌های RKO و DLD1 را به دنبال نبود سرم سرکوب می‌کند و انتقال G1/S را از طریق Cdc25A به تأخیر می‌اندازد و همچنین نقطه بازرسی G2/M متأثر از آسیب DNA را از طریق Cdc25A تنظیم می‌کند (۳۹). همچنین برخی از مطالعات تأثیر miR-21 را بر ژن‌های دخیل در مسیرهای التهابی و تومورزایی از قبیل آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ (COX2/PTGS2) نشان داده‌اند. افزایش بیان COX2/PTGS2 و محصول آن PGE2، که در القای مسیرهای التهابی و تومورزایی دخیل هستند در سرطان کولورکتال مشاهده شده است (۵، ۴۱). محققان مشاهده نموده‌اند که سطح بالای بیان miR-21 با سطح بالای بیان ژن‌های درگیر در پاسخ‌های التهابی در سرطان کولورکتال مرتبط است (۴۲، ۴۳). همچنین miR-21 بیان محصولات ژنی که تجزیه PGE2 را کاتالیز می‌کنند، کاهش می‌دهد و رشد تومور را در یک مدل زئوگرافت تسریع می‌کند (۴۴). به‌طور مشابه Kosuke Mima و همکارانش یک میانکنش قابل توجه بین سطح بیان miR-21 و PTGS1 مشاهده کردند و پیشنهاد دادند که

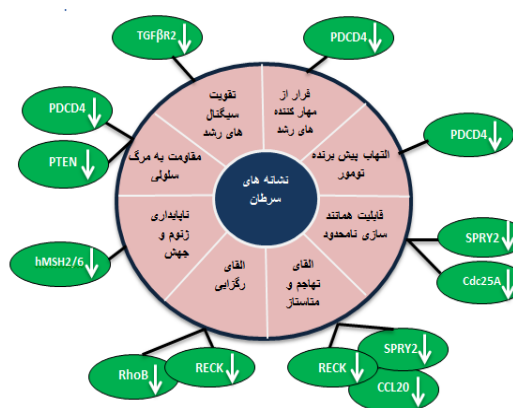
یک نظر قطعی در این زمینه مشکل به نظر می‌رسد (۸). از طرفی تنظیم نابجای miR-21 در انواعی از سرطان‌های مختلف شناسایی شده است و مسیرهای مهم بسیاری که در ترانسفورماسیون، تهاجم و متاستاز درگیر هستند را تنظیم می‌کند. همچنین در مطالعات مختلفی بیان غیرعادی miR-21 در سرطان کولورکتال مشاهده شده و افزایش سطح بیان آن در بافت توموری، پلازما، سرم و مدفوع بیماران مبتلا به این سرطان گزارش شده است (۴۷).

بیان نابجای miR-21 در بافت توموری

مطالعات نشان داده‌اند که بیان miRNAها در تومورها بسیار متفاوت از بیان آنها در سلول‌های نرمال است. بیان تغییر یافته miRNA با نوع تومور، مرحله و متغیرهای بالینی اختصاصی مرتبط می‌باشد. در مطالعه‌ای با بررسی پروفایل بیانی ۲۱ miRNA در مقیاس گسترده‌ای در ۵۴۰ نمونه انسانی از شش نوع تومور جامد پستان، کولون، ریه، پانکراس، پروستات و معده، miR-21 تنها miRNAی بود که افزایش بیان را در همه شش نوع سرطان فوق نشان داد (۴۸).

مطالعات مختلفی نشان داده‌اند که بیان miR-21 به طور قابل توجهی در تومورهای کولورکتال در مقایسه با بافت‌های نرمال اطراف بالاتر است (۵۱-۴۹). همچنین با توجه به فاز بالینی بیماری، miR-21 بیان بالاتری را در نمونه‌های توموری در مراحل III، IV بیماران سرطان کولورکتال در مقایسه با نمونه‌های نرمال نشان می‌دهد (۵۲، ۵۳). Faltejskova و همکارانش تفاوت بیان عمده‌ای را در بیان miR-21 بین مراحل I و II و همچنین بین مراحل I و IV با سطوح بیان بالاتر در مراحل پیشرفته‌تر سرطان کولورکتال مشاهده کردند (۵۴). علاوه بر این Vicinus و همکارانش نشان دادند که بیان بالای قابل توجه miR-21 به مراحل T، G و مراحل بالینی پیشرفته (III+IV، G3+G4 و T3+T4) مرتبط می‌باشد (۵۵). به طور مشابه Oue و همکارانش دریافتند که سطوح بیان miR-21 در موارد T4 نسبت به موارد T1، T2 و T3 و

رابطه پیش‌آگهی نامساعد در تومورهای دارای بیان بالای miR-21 در سرطان‌هایی با PTGS2 بالا شدیدتر از سرطان‌هایی با PTGS2 پایین یا فاقد PTGS2 می‌باشد (۴۵). مجموع این یافته‌ها بر این موضوع دلالت دارد که miR-21 ژن‌های هدف بسیاری را که در ارتباط با سرطان کولورکتال هستند، تنظیم می‌کند و احتمالاً miR-21 از طریق تنظیم این ژن‌ها نقش مهمی را در سرطان کولورکتال ایفا می‌کند (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۱: تنظیم ژن‌های هدف توسط miR-21 در سرطان کولورکتال. miR-21 با اثر بر ژن‌های هدف دخیل در مسیرهای پیام‌رسانی مختلف منجر به القای فرآیند سرطانزایی شده و در تحریک رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی و تهاجم و متاستاز تومور نقش دارد. در این تصویر برخی از اهداف مولکولی که در سرطان کولورکتال تحت تأثیر miR-21 قرار می‌گیرند، نشان داده شده است. فلش‌ها با جهت پایین کاهش بیان ژن‌ها را توسط miR-21 نشان می‌دهد.

نقش miR-21 به عنوان یک بیومارکر تشخیصی و پیش‌آگهی سرطان کولورکتال

طیف گسترده‌ای از مطالعات نشان داده‌اند که miRNAها بیومارکرهای موثری برای تشخیص و پیش‌آگهی سرطان هستند (۴۶). حضور miRNAها در بافت‌های مختلف از قبیل مدفوع، ادرار و سرم خون آنها را به اهدافی عالی برای توسعه بیومارکرهای مولکولی موثر تبدیل کرده است. تاکنون، چندین miRNA جالب توجه به عنوان بیومارکرهای مولکولی سرطان کولورکتال کاندید شده‌اند. با این وجود ارائه

بیان miR-21 در موارد node-positive (N1) در مقایسه با موارد node-negative (N0) به طور برجسته‌ای بالاتر است. این یافته‌ها نشان می‌دهد که بیان افزایش یافته miR-21 با یک هیستولوژی توموری تهاجمی‌تری نسبت به تومور اولیه مرتبط می‌باشد (۵۶). بیان miR-21 در تومورهای اولیه‌ای که متاستاز نداده‌اند نسبت به بافت‌های کولونی نرمال اطراف افزایش نشان می‌دهد؛ همچنین افزایش بیان miR-21 در تومورهای اولیه که متاستاز داده‌اند نسبت به تومورهایی که متاستاز نداده‌اند مشاهده شده است. این موضوع نشان می‌دهد که گرایش قابل توجهی بین سطوح بالاتر miR-21 و پیشرفت بیماری وجود دارد (۵۷).

بیان بالای miR-21 در بافت‌ها به طور قابل توجهی به اندازه تومور، مرحله تومور، تهاجم عروقی، مثبت بودن گره لنفی، متاستاز به فواصل دور و تمایز ضعیف مرتبط می‌باشد (۵۹، ۵۸، ۲۷، ۲۰). مطالعات نشان داده است که نرخ بقای عمومی (OS) و بقای بدون بیماری (DFS) در بیماران دارای بیان بالای miR-21 به طور قابل توجهی از بیمارانی با بیان پایین‌تر miR-21 وخیم‌تر می‌باشد و سطح بیان miR-21 در بافت سرطان کولورکتال غیر مستقل از فاکتورهای پیش‌آگهی برای OS و DFS می‌باشد (۶۰، ۴۲، ۲۰). قابل توجه است که افراد دارای بیان بالای miR-21 نسبت به آن‌هایی که بیان پایین‌تری دارند، به طور قابل توجهی مرگ و میر بیش‌تری نشان می‌دهند (۵۶). یک مطالعه با پیگیری ۲۲ ماهه در بین بیمارانی که به منظور درمان تحت عمل جراحی قرار گرفتند، نشان داد که افرادی که عود بیماری را بعد از عمل جراحی نشان دادند نسبت به آن‌هایی که بدون عود باقی ماندند، دارای بیان بالاتری از miR-21 بودند (۲۱).

همچنین قابلیت پیش‌آگهی miR-21 به‌طور گسترده‌ای در حداقل ۱۰ کارآزمایی مستقل شامل ۲۰۳۹ بیمار سرطان کولورکتال از سال ۲۰۰۸ ارزیابی شده است (۶۱): Nielsen و همکارانش بیان miR-21 را با استفاده از

آنالیز هیبریداسیون in situ نیمه کمی نمونه‌های بافتی غوطه‌ور در پارافین و فیکس شده با فرمالین از ۱۹۷ بیمار در مرحله II در سرطان کولورکتال بررسی کردند و دریافتند که رنگ‌آمیزی شدید برای miR-21 به طور قابل توجهی با بقای بدون بیماری (DFS) و بقای کلی (OS) کم‌تری مرتبط است (۶۲). علاوه بر این، یک کارآزمایی گذشته‌نگر رابطه بین miRNA ها و مرحله II سرطان کولون را در یک جمعیت چینی سنجید. شش miRNA شاخص منتخب شامل چهار miRNA با تنظیم مثبت (miR-21، miR-20، miR-103 و miR-106) و دو miRNA با تنظیم منفی (miR-143 و miR-215) برای پیش‌بینی عود بیماری ارزیابی شدند که در ۴۶ درصد از افراد دارای خطر بالا و ۱۵ درصد از افراد دارای خطر پایین، عود بیماری رخ داد (۶۳). در سرطان کولون، یک تحقیق مشهور شامل دو کوهورت است: در کوهورت Maryland، در افرادی که شیمی درمانی شده بودند، بیان بالای miR-21 در تومور با بقای کلی وخیم‌تری همراه بود که نشان می‌دهد بیان بالای miR-21 با پیامد درمانی ضعیف همراه می‌باشد. در کوهورت Hong Kong نیز بیان بالای miR-21 در تومور با یک پاسخ ضعیف به درمان مرتبط بود (۴۲، ۶۴). به طور مشابه Schetter و همکارانش نشان دادند که بیان بیش از حد miR-21 با پیش‌آگهی بد و پاسخ ضعیف‌تر به شیمی درمانی در سرطان کولورکتال همراه است (۴۲، ۶۵).

آنالیز RNA جداسازی شده از نمونه‌های فریز شده در دو مطالعه مستقل نشان داده است که بیان بالای miR-21 در بافت‌های تومور کولورکتال با مرگ و میر بیش‌تری همراه است. miR-21 پیش‌آگهی بدی برای مرحله II یا III سرطان کولورکتال دارد که قابلیت آن را به عنوان یک شاخص پیش‌آگهی برای سرطان کولورکتال اثبات می‌کند (۴۲). نتایج موافق در دیگر بدخیمی‌هایی که افزایش بیان miR-21 را نشان داده‌اند نیز گزارش شده است. در این مطالعات افزایش بیان miR-21 با پیش‌آگهی و پیامد درمانی وخیم‌تر در

سرطان‌های ریه (۶۶)، کولون (۶۷)، پانکراس (۶۸)، پستان (۶۹)، سر و گردن (۷۰)، زبان (۷۱)، آستروسیتوما (۷۲) و لوسمی لنفوسیتیک مزمن (۷۳) همراه بوده است. همچنین در مطالعه‌ای با برآورد بیان miR-21 در بافت توموری کولورکتال در ۱۰۶ بیمار سیاه پوست و ۲۳۹ بیمار سفید پوست، مشاهده شد که بیان بالای miR-21 با پیش‌آگهی ضعیف در بیماران سفید پوست در مرحله IV سرطان کولورکتال همراه است. نتایج این مطالعه مشابه با سایر یافته‌های ذکر شده در قبل نشان داد که بیان بالای miR-21 در مراحل پیشرفته سرطان کولورکتال با متاستاز به بافت‌های دورتر و بقای کم‌تر بیماران مرتبط است (۲۰، ۷۴). علاوه بر این Vickers و همکارانش مشاهده کردند که بیان بالای miR-21 در مرحله IV سرطان کولورکتال از مرحله II و III رایج‌تر است. در این مطالعه، بیان بالای miR-21 به عنوان یک شاخص پیش‌آگهی در بیماران مرحله IV سرطان کولورکتال معرفی شده است (۵۷). همچنین Kristina Schee و همکارانش بیان شش miRNA (miR-21، miR-92a، miR-31، miR-101، miR-106a، miR-145) را در تومورهای ۱۹۳ بیمار دارای سرطان کولورکتال بررسی کردند. در این مطالعه miR-21 بالاترین بیان را نسبت به مرجع (RNU44) نشان داد اما برخلاف دیگر یافته‌ها در این مطالعه هیچ ارتباط قابل توجهی بین بیان miR-21 و سوابق بالینی و پاتولوژیکی و پیامد بیماری در سرطان کولورکتال یافت نشد (۴۹). در مجموع این یافته‌ها نشان می‌دهند که سطوح miR-21 همراه با پیشرفت سرطان کولورکتال افزایش می‌یابد و بیان miR-21 می‌تواند به عنوان یک بیومارکر موثر برای پیش‌بینی پیش‌آگهی در نظر گرفته شود.

بیان نابجای miR-21 در پلاسما، سرم و مدفوع بیماران
تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که miRNAهای مشتق از تومور در پلاسما و سرم انسان به طور قابل ملاحظه‌ای به صورت پایدار هستند و برای اندازه‌گیری بیومارکرها

برای تشخیص تومور به اندازه کافی وجود دارند (۷۵). این miRNAها به وسیله تومورها به فرم یک اگزوزوم برای پیشبرد ارتباطات سلولی ترشح می‌شوند. اگزوزوم‌ها وزیکول‌های غشایی کوچکی هستند که بسته به منشأ سلول‌های ترشح‌کننده پروتئین، لیپیدها، mRNAs و miRNAs را در خود جای می‌دهند و miRNAs این وزیکول‌های فعال زیستی از ریبونوکلازهای سلولی محافظت می‌شوند (۷۶). اگزوزوم‌ها می‌توانند از خون بیماران با استفاده از سانتریفیوژ افتراقی یا با استفاده از مارکرهای توموری جداسازی شوند. بنابراین یک روش راحت و غیرتهاجمی برای تشخیص تومور در اختیار می‌گذارند. مطالعات اخیر نشان می‌دهند که miRNAهای اگزوزومی توجه زیادی را به عنوان بیومارکرهای تشخیصی سرطان به خود جلب کرده‌اند (۷۸، ۷۷). Ogata Kawata و همکارانش، سطوح اگزوزومی بالاتری از miR-21 را در سرم بیماران سرطانی کولورکتال اولیه حتی در فاز اولیه بیماری (مرحله I TNM) نسبت به کنترل‌های سالم مشاهده کردند که بعد از جراحی برش تومور به طور قابل توجهی کاهش یافته بود. نسبت مثبت واقعی (true positive rate) miR-21 برای تشخیص سرطان کولورکتال ۶۱/۴ درصد بود که نشان می‌دهد که miR-21 اگزوزومی سرم احتمالاً بیومارکر مفیدی برای تشخیص زودهنگام تومورهای کولورکتال اولیه باشد (۷۹). به طور مشابهی، آنالیز سرم از ۱۲ بیمار دارای سرطان کولورکتال که برای درمان تحت عمل جراحی بوده‌اند، نشان داد که سطح بیان افزایش یافته miR-21 در سرم بیماران سرطان کولورکتال بعد از عمل جراحی نسبت به قبل از عمل، به‌طور برجسته‌ای کاهش یافته است (۵۸). Atsushi Yamada و همکارانش در یک کوهورت، بیان miR-21 و هشت miRNA کاندید دیگر را در سرم ۱۶۰ بیمار دارای نئوپلازی کولورکتال اولیه بررسی کرده و نشان دادند که سطح سرمی miR-21، miR-29a و miR-125b در بیماران دارای نئوپلازی کولورکتال اولیه در مقایسه با

گروه کنترل بالاتر بود. AUC برای این miRNA ها به ترتیب به میزان ۰/۷۴۱، ۰/۷۰۶ و ۰/۸۰۶ گزارش شده است (۸۰). در مطالعه‌ای دیگر مشاهده شده است که سطوح سرمی miR-21، قابلیت تشخیص بیماران سرطان کولورکتال را از کنترل دارد ($AUC = 0/919$ ، $0/867$ تا $0/958$ CI = ۹۵ درصد) و بیان بالای miR-21 به شدت به اندازه تومور، متاستاز به فواصل دور و بقای ضعیف مرتبط می‌باشد (۵۸). در مطالعه‌ای دیگر، Jie Yin و همکارانش بیان ۱۱ miRNA از قبیل miR-21 را در سرم ۱۱۶ بیمار سرطان کولورکتال که شامل ۷۲ نفر با متاستاز کبد و ۳۶ نفر با متاستاز دیگر اندام‌ها بودند، بررسی کردند. در این مطالعه، افزایش بیان قابل توجه miR-21 در هر دو گروه از بیماران با متاستاز کبد و متاستاز دیگر اندام‌ها مشاهده شد و miR-21 ($\log_{10} RC = 0/2285$) cut-off با حساسیت ۷۳/۶۱ درصد و اختصاصیت ۶۶/۳۸ درصد با $AUC = 0/7479$ داشت (۸۱). در تایید این یافته‌ها می‌توان به مطالعه Liu و همکارانش اشاره کرد که در آن بیان سرمی بالای miR-21 با مرحله پیشرفته pTNM و تمایز ضعیف بیماران مرتبط می‌باشد ($ROC = 0/802$) افتراق دهنده بیماران سرطان کولورکتال از کنترل‌ها، در cut-off value = ۰/۰۰۴۳ حساسیت ۶۵ درصد و اختصاصیت ۸۵ درصد (۸۲). به علاوه بیان miR-21 در پلاسما ۳۰ بیمار دارای سرطان کولورکتال و ۳۰ فرد سالم سنجش شده و ثابت شده است که miR-21 بیماران دارای سرطان کولورکتال را از افراد سالم با اختصاصیت و حساسیت ۹۰ درصد افتراق می‌دهد (۵۱). به طور مشابهی، در مطالعه‌ای با هدف بررسی قابلیت miR-21 به عنوان یک بیومارکر تشخیصی در سرطان کولورکتال، سطح بیان miR-21 در سرم و مدفوع بیماران اندازه‌گیری شده و مشاهده شد که سطح بیان miR-21 در سرم و مدفوع بیماران به ترتیب ۱۲/۱ و ۱۰/۰ برابر نسبت به کنترل افزایش یافته است. حساسیت و اختصاصیت miR-21 در این مطالعه به ترتیب حدود ۸۶/۰۵ درصد و ۷۲/۹۷ درصد گزارش

شده است. این مطالعه نشان می‌دهد که سطح بیان miR-21 در مدفوع، توانایی تشخیص قابل توجه تومور سرطان کولورکتال، node و متاستاز مرحله III-IV را از مرحله I-II با حساسیت ۸۸/۱ درصد و اختصاصیت ۸۱/۶ درصد دارد (۸). همچنین در مطالعه‌ای با آنالیز بیان miR-21 در مدفوع بیماران دارای سرطان کولورکتال و بافت‌های توموری، افزایش سطح بیان آن در بیماران نسبت به گروه کنترل و بافت‌های نرمال اطراف تومور مشاهده شده است. همچنین برداشت بافت توموری منجر به کاهش سطح miR-21 در این بیماران شده است (۸۳). دیگر مطالعات نشان داده‌اند که miR-21 در دیگر مایعات یا ترشحات بدن به عنوان یک بیومارکر سرطان حضور دارد. برای مثال، miR-21 در خلط به شکل پایداری حضور دارد و سطوح بیان آن در نمونه‌های خلط به طور عمده‌ای در بیماران سرطان ریه سلولی غیر کوچک افزایش یافته است ولی در سرطان کولورکتال گزارشی از این مورد در دست نیست (۸۴). در مجموع این یافته‌ها نشان می‌دهند که miR-21 موجود در سرم، پلاسما و مدفوع بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال می‌تواند به عنوان یک بیومارکر نوید بخش برای تشخیص و پیش‌آگهی سرطان کولورکتال مورد استفاده قرار گیرد.

اثر miR-21 بر مقاومت دارویی در سرطان کولورکتال

مقاوت دارویی به عنوان یک پدیده چند فاکتوری در نظر گرفته می‌شود که شامل توزیع مجدد تجمع داخل سلولی داروها، ترمیم آسیب افزایش یافته DNA، تغییر شکل مولکول‌های هدف دارویی، سرکوب آپوپتوز القا شده در اثر دارو و ... می‌باشد. با این حال تاکنون عامل کلیدی مقاومت دارویی ناشناخته باقی مانده است (۱۴). مقاومت دارویی بواسطه miRNA مکانیسم دیگری از مقاومت دارویی محسوب می‌شود. مطالعات متعددی نشان می‌دهند که بسیاری از miRNA ها با هدف قرار دادن مسیرهای پیام‌رسانی

مختلف، نقش مهمی در مقاومت دارویی ایفا می کنند. یک miRNA احتمالاً هزاران رونوشت از ژن های مرتبط با تومور را هدف گیری می کند و یک هدف نیز ممکن است توسط چندین miRNA تنظیم شود. مکانیسم مقاومت دارویی بر مبنای miRNA در سرطان بسیار پیچیده است. آنتاگونیست های miRNA می توانند به عنوان یک کلاس جدید و مهم دارویی برای تعدیل حساسیت سلول سرطانی به شیمی درمانی به کار روند (۸۵، ۸۶). برخی از مطالعات با هدف بررسی مقاومت دارویی در سرطان کولورکتال نشان داده اند که miR-21 می تواند مقاومت به ۵-فلوروووراسیل (5-FU) را که یک داروی معمول در شیمی درمانی سرطان کولورکتال است، با کاهش بیان hMSH2 القا کند (۸۷). سلول های دارای بیان بیش از حد miR-21 به طور قابل توجهی کاهش در توقف چرخه سلولی و آپوپتوز القا شده با 5-FU را نشان می دهند (۸۸). به طور مشابهی مشاهده شده است که شیمی درمانی ادجوانت بر مبنای 5-FU به تنهایی برای بیماران سرطان کولورکتال که بیان بالای miR-21 را نشان می دهند، مفید نمی باشد. در مقابل، بیماران با بیان پایین miR-21 پاسخ خوبی را به شیمی درمانی ادجوانت بر پایه 5-FU نشان می دهند. بنابراین بیماران با بیان بالای miR-21 در خطر بالایی برای عود بیماری بوده و به تنهایی از شیمی درمانی ادجوانت بر مبنای 5-FU سودی نمی برند و احتمالاً استراتژی های درمانی جایگزین شامل درمان ترکیبی با 5-FU یا دیگر عوامل درمانی منفرد از درمان با 5-FU به تنهایی موثرتر باشد (۴۲). مجموع این شواهد نشان می دهد که سطح بالای miR-21 احتمالاً تا حدی مسئول پاسخ ضعیف به 5-FU باشد. بنابراین، بیماران دارای بیان بالای miR-21 دارای خطر بالایی برای عود مجدد بیماری هستند. از طرفی، درمان به صورت کاهش miR-21 می تواند منجر به بازدهی بیشتر درمان با 5-FU شود. اخیراً، پیشرفت هایی در زمینه درمان بر مبنای مهار

کننده های miRNA ایجاد شده است و استراتژی های مشابهی می تواند برای استفاده از درمان هایی بر مبنای anti-miR-21 برای درمان سرطان کولورکتال یافت شود. برای مثال ترکیب یک مهار کننده miR-21 با درمان های برپایه 5-FU احتمالاً موثرتر از استفاده از 5-FU به صورت تنها باشد (۵۶).

با توجه به آنچه که گفته شد می توان استنتاج کرد که miR-21 به عنوان یک انکوژن در سرطان کولورکتال نقش مهمی دارد و با تاثیر بر برخی از اهداف مولکولی دخیل در مسیرهای پیام رسانی منجر به رشد، متاستاز و تهاجم تومور می شود. افزایش بیان miR-21 در مراحل مختلف رشد تومور در بافت توموری، سرم، پلاسما و مدفوع بیماران مبتلا افزایش می یابد و همچنین سطح بالای آن با پیش آگهی ضعیف و بقای کم تر در بیماران مرتبط می باشد. همچنین در برخی از مطالعات افزایش سطح miR-21 با مقاومت به درمان با 5-FU همراه بوده است. با توجه به مجموع این شواهد می توان miR-21 را به عنوان یک بیومارکر موثر برای تعیین پیش آگهی بیماران و همچنین پیش بینی پاسخ به درمان در آنان به کار برد. از طرفی با توجه به مجموع مطالعات انجام شده در زمینه بررسی قابلیت miR-21 به عنوان یک بیومارکر تشخیصی در سرطان کولورکتال، به طور کلی می توان نتیجه گرفت که miR-21 یک بیومارکر با حساسیت مناسب و اختصاصیت بالا برای تشخیص سرطان کولورکتال می باشد اما با توجه به بیان نامعمول آن در دیگر سرطان ها، استفاده از این بیومارکر به صورت منفرد برای تشخیص سرطان کولورکتال مفید نمی باشد و به منظور افزایش اختصاصیت آن پیشنهاد می شود که همراه با ابزارهای دیگری از قبیل تومورمارکرهای اختصاصی سرطان کولورکتال و یا به صورت ترکیبی با دیگر miRNA ها با بیان نامعمول در این سرطان به صورت یک مجموعه با اختصاصیت بالا مورد استفاده قرار گیرد.

References

1. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics for hispanics/latinos, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62(5): 283-298.
2. Yin C, Zhou X, Dang Y, Yan J, Zhang G. Potential role of circulating MiR-21 in the diagnosis and prognosis of digestive system cancer: a systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2015; 94(50): e 2123.
3. Conev NV, Donev IS, Konsoulova-Kirova AA, Chervenkov TG, Kashlov JK, Ivanov KD. Serum expression levels of miR-17, miR-21, and miR-92 as potential biomarkers for recurrence after adjuvant chemotherapy in colon cancer patients. *Biosci Trends* 2015; 9(6): 393-401.
4. Dolatkhah R, Somi MH, Bonyadi MJ, Asvadi Kermani I, Farassati F, Dastgiri S. Colorectal cancer in Iran: molecular epidemiology and screening strategies. *J Cancer Epidemiol* 2015; 2015.
5. Ranjbarnejad T, Saidijam M, Moradkhani S, Najafi R. Methanolic extract of *Boswellia serrata* exhibits anti-cancer activities by targeting Microsomal Prostaglandin E Synthase-1 in human colon cancer cells. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2017; 131: 1-8.
6. O'Connell JB, Maggard MA, Ko CY. Colon cancer survival rates with the new American Joint Committee on Cancer sixth edition staging. *J Nati Cancer Inst* 2004; 96(19): 1420-1425.
7. Zeng W, Tu Y, Zhu Y, Wang Z, Li C, Lao L, et al. Predictive power of circulating miRNAs in detecting colorectal cancer. *Tumor Biol* 2015; 36(4): 2559-2567.
8. Bastaminejad S, Taherikalani M, Ghanbari R, Akbari A, Shabab N, Saidijam M. Investigation of microRNA-21 expression levels in serum and stool as a potential non-invasive biomarker for diagnosis of colorectal cancer. *Irani Biomed J* 2017; 21(2): 106-113 (Persian).
9. Jafarzadeh-Samani Z, Sohrabi S, Shirmohammadi K, Effatpanah H, Yadegarazari R, Saidijam M. Evaluation of miR-22 and miR-20a as diagnostic biomarkers for gastric cancer. *Chin Clin Oncol* 2017; 6(2): 16.
10. Effatpanah H, Yadegarazari R, Karami M, Majlesi A, Shabab N, Saidijam M. Expression analysis of mir-21 and mir-221 in cancerous tissues from Iranian patients with gastric cancer. *Iran Biomed J* 2015; 19(4): 188-193.
11. Mahdavinezhad A, Mousavi-Bahar SH, Poorolajal J, Yadegarazari R, Jafari M, Shabab N, et al. Evaluation of miR-141, miR-200c, miR-30b expression and clinicopathological features of bladder cancer. *Int J Mol Cell Med* 2015; 4(1): 32-39.
12. Mahmoudian-sani MR, Mehri-Ghahfarrokhi A, Ahmadinejad F, Hashemzadeh-Chaleshtori M, Saidijam M, Jami MS. MicroRNAs: effective elements in ear-related diseases and hearing loss. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2017; 274(6): 2373-1380.
13. Khoshinani HM, Afshar S, Pashaki AS, Mahdavinezhad A, Nikzad S, Najafi R, et al. Involvement of miR-155/FOXO3a and miR-222/PTEN in acquired radioresistance of colorectal cancer cell line. *Jpn J Radiol* 2017; 35(11): 664-672.
14. Hong L, Han Y, Zhang Y, Zhang H, Zhao Q, Wu K, et al. MicroRNA-21: a therapeutic target for reversing drug resistance in cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2013; 17(9):1073-1080.

15. Selcuklu SD, Donoghue MT, Spillane C. miR-21 as a key regulator of oncogenic processes. Portland Press Limited; 2009.
16. Buscaglia LE, Li Y. Apoptosis and the target genes of microRNA-21. *Chin J Cancer* 2011; 30(6): 371-380.
17. Tazawa H, Kagawa S, Fujiwara T. MicroRNAs as potential target gene in cancer gene therapy of gastrointestinal tumors. *Expert Opin Biol Ther* 2011; 11(2): 145-55.
18. Li S, Liang Z, Xu L, Zou F. MicroRNA-21: a ubiquitously expressed pro-survival factor in cancer and other diseases. *Mol Cell Biochem* 2012; 360(1-2): 147-158.
19. Asangani I, Rasheed S, Nikolova D, Leupold J, Colburn N, Post S, et al. MicroRNA-21 (miR-21) post-transcriptionally downregulates tumor suppressor Pdc4 and stimulates invasion, intravasation and metastasis in colorectal cancer. *Oncogene* 2008; 27(15): 2128-2136.
20. Shibuya H, Iinuma H, Shimada R, Horiuchi A, Watanabe T. Clinicopathological and prognostic value of microRNA-21 and microRNA-155 in colorectal cancer. *Oncology* 2010; 79(3-4): 313-320.
21. Chang K, Miller N, Kheirleisid E, Ingoldsby H, Hennessy E, Curran C, et al. MicroRNA-21 and PDCD4 expression in colorectal cancer. *Eur J Surg Oncol (EJSO)* 2011; 37(7): 597-603.
22. Horiuchi A, Iinuma H, Akahane T, Shimada R, Watanabe T. Prognostic significance of PDCD4 expression and association with microRNA-21 in each Dukes' stage of colorectal cancer patients. *Oncol Rep* 2012; 27(5): 1384-1392.
23. Yu Y, Kanwar SS, Patel BB, Oh P-S, Nautiyal J, Sarkar FH, et al. MicroRNA-21 induces stemness by downregulating transforming growth factor beta receptor 2 (TGFβR2) in colon cancer cells. *Carcinogenesis* 2011; 33(1): 68-76.
24. Feng YH, Wu CL, Shiao AL, Lee JC, Chang JG, Lu PJ, et al. MicroRNA-21-mediated regulation of Sprouty2 protein expression enhances the cytotoxic effect of 5-fluorouracil and metformin in colon cancer cells. *Int J Mol Med* 2012; 29(5): 920-926.
25. Jiang BH, Liu LZ. PI3K/PTEN signaling in tumorigenesis and angiogenesis. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1784(1): 150-158.
26. Meng F, Henson R, Wehbe Janek H, Ghoshal K, Jacob ST, Patel T. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. *Gastroenterology* 2007; 133(2): 647-658.
27. Xiong B, Cheng Y, Ma L, Zhang C. MiR-21 regulates biological behavior through the PTEN/PI-3 K/Akt signaling pathway in human colorectal cancer cells. *International Journal of Oncology* 2013; 42(128-219).
28. Bakirtzi K, Hatziaepostolou M, Karagiannides I, Polytarchou C, Jaeger S, Iliopoulos D, et al. Neurotensin signaling activates microRNAs-21 and-155 and Akt, promotes tumor growth in mice, and is increased in human colon tumors. *Gastroenterology* 2011; 141(5): 1749-1761.
29. Wickramasinghe NS, Manavalan TT, Dougherty SM, Riggs KA, Li Y, Klinge CM. Estradiol downregulates miR-21 expression and increases miR-21 target gene expression in MCF-7 breast cancer cells. *Nucleic Acids Res* 2009; 37(8): 2584-2595.
30. Deng J, Lei W, Fu JC, Zhang L, Li JH, Xiong JP. Targeting miR-21 enhances the sensitivity of human colon cancer HT-29 cells to chemoradiotherapy in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 443(3): 789-795.

31. Ziyan W, Shuhua Y, Xiufang W, Xiaoyun L. MicroRNA-21 is involved in osteosarcoma cell invasion and migration. *Med Oncol* 2011; 28(4): 1469-1474.
32. Zhang Z, Li Z, Gao C, Chen P, Chen J, Liu W, et al. miR-21 plays a pivotal role in gastric cancer pathogenesis and progression. *Lab Invest* 2008; 88(12):1358-1366.
33. Zhu S, Si ML, Wu H, Mo YY. MicroRNA-21 targets the tumor suppressor gene tropomyosin 1 (TPM1). *J Biol Chem* 2007; 282(19):14328-14336.
34. Mahadev K, Raval G, Bharadwaj S, Willingham MC, Lange EM, Vonderhaar B, et al. Suppression of the transformed phenotype of breast cancer by tropomyosin-1. *Exp Cell Res* 2002; 279(1): 40-51.
35. Bullock M, Pickard KM, Nielsen B, Sayan A, Jenei V, Mellone M, et al. Pleiotropic actions of miR-21 highlight the critical role of deregulated stromal microRNAs during colorectal cancer progression. *Cell Death Dis* 2013; 4(6): e684.
36. Cottonham CL, Kaneko S, Xu L. miR-21 and miR-31 converge on TIAM1 to regulate migration and invasion of colon carcinoma cells. *J Biol Chem* 2010; 285(46): 35293-35302.
37. Vicinus B, Rubie C, Faust SK, Frick VO, Ghadjar P, Wagner M, et al. miR-21 functionally interacts with the 3' UTR of chemokine CCL20 and down-regulates CCL20 expression in miR-21 transfected colorectal cancer cells. *Cancer Lett* 2012; 316(1): 105-112.
38. Liu M, Tang Q, Qiu M, Lang N, Li M, Zheng Y, et al. miR 21 targets the tumor suppressor RhoB and regulates proliferation, invasion and apoptosis in colorectal cancer cells. *FEBS Lett* 2011; 585(19): 2998-3005.
39. Wang P, Zou F, Zhang X, Li H, Dulak A, Tomko RJ, et al. microRNA-21 negatively regulates Cdc25A and cell cycle progression in colon cancer cells. *Cancer Res* 2009; 69(20): 8157-8165.
40. Queiroz de Oliveira PE, Zhang L, Wang Z, Reese C. Hypoxia-mediated regulation of Cdc25A phosphatase by p21 and miR-21. *Cell Cycle* 2009; 8(19): 3157-3164.
41. Ranjbarnejad T, Saidijam M, Tafakh MS, Pourjafar M, Talebzadeh F, Najafi R. Garcinol exhibits anti-proliferative activities by targeting microsomal prostaglandin E synthase-1 in human colon cancer cells. *Hum Exp Toxicol* 2017; 36(7): 692-700.
42. Schetter AJ, Leung SY, Sohn JJ, Zanetti KA, Bowman ED, Yanaihara N, et al. MicroRNA expression profiles associated with prognosis and therapeutic outcome in colon adenocarcinoma. *JAMA* 2008; 299(4): 425-436.
43. Schetter AJ, Nguyen GH, Bowman ED, Mathé EA, Yuen ST, Hawkes JE, et al. Association of inflammation-related and microRNA gene expression with cancer-specific mortality of colon adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2009; 15(18): 5878-5887.
44. Lu L, Byrnes K, Han C, Wang Y, Wu T. miR-21 targets 15-PGDH and promotes cholangiocarcinoma growth. *Mol Cancer Res* 2014; 12(6): 890-900.
45. Mima K, Nishihara R, Yang J, Dou R, Masugi Y, Shi Y, et al. MicroRNA MIR21 (miR-21) and PTGS2 expression in colorectal cancer and patient survival. *Clin Cancer Res* 2016; 22(15): 3841-3848.
46. Kosaka N, Iguchi H, Ochiya T. Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Sci* 2010; 101(10): 2087-2092.

47. Xu F, Xu L, Wang M, An G, Feng G. The accuracy of circulating micro RNA 21 in the diagnosis of colorectal cancer: a systematic review and meta analysis. *Colorectal Dis* 2015; 17(5): 0100-0107.
48. Volinia S, Calin GA, Liu CG, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F, et al. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Nati Acad Sci U S A* 2006; 103(7): 2257-2261.
49. Schee K, Boye K, Abrahamsen TW, Fodstad Ø, Flatmark K. Clinical relevance of microRNA miR-21, miR-31, miR-92a, miR-101, miR-106a and miR-145 in colorectal cancer. *BMC Cancer* 2012; 12(1): 505.
50. Link A, Balaguer F, Shen Y, Nagasaka T, Lozano JJ, Boland CR, et al. Fecal MicroRNAs as novel biomarkers for colon cancer screening. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19(7): 1766-1774.
51. Kanaan Z, Rai SN, Eichenberger MR, Roberts H, Keskey B, Pan J, et al. Plasma miR-21: a potential diagnostic marker of colorectal cancer. *Ann Surg* 2012; 256(3): 544-551.
52. Brunet Vega A, Pericay C, Moya I, Ferrer A, Dotor E, Pisa A, et al. microRNA expression profile in stage III colorectal cancer: circulating miR-18a and miR-29a as promising biomarkers. *Oncoly Rep* 2013; 30(1): 320-366.
53. Bovell LC, Shanmugam C, Putcha BDK, Katkoori VR, Zhang B, Bae S, et al. The prognostic value of microRNAs varies with patient race/ethnicity and stage of colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2013; 19(14): 3955-3965.
54. Faltejiskova P, Besse A, Sevcikova S, Kubiczekova L, Svoboda M, Smarda J, et al. Clinical correlations of miR-21 expression in colorectal cancer patients and effects of its inhibition on DLD1 colon cancer cells. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27(11):1401-1408.
55. Vicinus B, Rubie C, Stegmaier N, Frick VO, Kölsch K, Kauffels A, et al. miR-21 and its target gene CCL20 are both highly overexpressed in the microenvironment of colorectal tumors: significance of their regulation. *Oncol Rep* 2013; 30(3): 1285-1292.
56. Oue N, Anami K, Schetter AJ, Moehler M, Okayama H, Khan MA, et al. High miR 21 expression from FFPE tissues is associated with poor survival and response to adjuvant chemotherapy in colon cancer. *Int J Cancer* 2014; 134(8): 1926-1934.
57. Vickers MM, Bar J, Gorn-Hondermann I, Yarom N, Daneshmand M, Hanson JE, et al. Stage-dependent differential expression of microRNAs in colorectal cancer: potential role as markers of metastatic disease. *Clin Exp Metastasis* 2012; 29(2): 123-132.
58. Toiyama Y, Takahashi M, Hur K, Nagasaka T, Tanaka K, Inoue Y, et al. Serum miR-21 as a diagnostic and prognostic biomarker in colorectal cancer. *J Nati Cancer Inst* 2013; 105(12): 849-859.
59. Slaby O, Svoboda M, Fabian P, Smerdova T, Knoflickova D, Bednarikova M, et al. Altered expression of miR-21, miR-31, miR-143 and miR-145 is related to clinicopathologic features of colorectal cancer. *Oncology* 2007; 72(5-6): 397-402.
60. Kulda V, Pesta M, Topolcan O, Liska V, Treska V, Sutnar A, et al. Relevance of miR-21 and miR-143 expression in tissue samples of colorectal carcinoma and its liver metastases. *Cancer Genet Cyogenet* 2010; 200(2): 154-160.
61. Dong Y, Yu J, Ng SS. MicroRNA dysregulation as a prognostic biomarker in colorectal cancer. *Cancer Manag Res* 2014; 6: 405- 422.

62. Nielsen BS, Jørgensen S, Fog JU, Søkilde R, Christensen IJ, Hansen U, et al. High levels of microRNA-21 in the stroma of colorectal cancers predict short disease-free survival in stage II colon cancer patients. *Clin Exp Metastasis* 2011; 28(1): 27-38.
63. Zhang JX, Song W, Chen ZH, Wei JH, Liao YJ, Lei J, et al. Prognostic and predictive value of a microRNA signature in stage II colon cancer: a microRNA expression analysis. *Lancet Oncol* 2013; 14(13): 1295-1306.
64. Xie L, Qian X, Liu B. MicroRNAs: novel biomarkers for gastrointestinal carcinomas. *Mol Cell Biochem*. 2010; 341(1-2): 291-299.
65. Yang L, Belaguli N, Berger DH. MicroRNA and colorectal cancer. *World J Surg* 2009; 33(4): 638-646.
66. Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, Seike M, Kumamoto K, Yi M, et al. Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Cell* 2006; 9(3): 189-198.
67. Kjaer-Frifeldt S, Hansen T, Nielsen B, Joergensen S, Lindebjerg J, Soerensen F, et al. The prognostic importance of miR-21 in stage II colon cancer: a population-based study. *Br J Cancer* 2012; 107(7): 1169-1174.
68. Giovannetti E, Funel N, Peters GJ, Del Chiaro M, Erozenski LA, Vasile E, et al. MicroRNA-21 in pancreatic cancer: correlation with clinical outcome and pharmacologic aspects underlying its role in the modulation of gemcitabine activity. *Cancer Res*. 2010; 70(11): 4528-4538.
69. Yan LX, Huang XF, Shao Q, Huang MY, Deng L, Wu QL, et al. MicroRNA miR-21 overexpression in human breast cancer is associated with advanced clinical stage, lymph node metastasis and patient poor prognosis. *RNA* 2008; 14(11): 2348-2360.
70. Avissar M, McClean MD, Kelsey KT, Marsit CJ. MicroRNA expression in head and neck cancer associates with alcohol consumption and survival. *Carcinogenesis*. 2009; 30(12): 2059-2063.
71. Li J, Huang H, Sun L, Yang M, Pan C, Chen W, et al. MiR-21 indicates poor prognosis in tongue squamous cell carcinomas as an apoptosis inhibitor. *Clin Cancer Res*. 2009;15(12): 3998-4008.
72. Zhi F, Chen X, Wang S, Xia X, Shi Y, Guan W, et al. The use of hsa-miR-21, hsa-miR-181b and hsa-miR-106a as prognostic indicators of astrocytoma. *Eur J Cancer* 2010; 46(9):1640-1649.
73. Rossi S, Shimizu M, Barbarotto E, Nicoloso MS, Dimitri F, Sampath D, et al. microRNA fingerprinting of CLL patients with chromosome 17p deletion identify a miR-21 score that stratifies early survival. *Blood* 2010; 116(6): 945-952.
74. Bovell L. Clinical Consequences of MicroRNAs in Colorectal Cancer. USA: University of Alabama at Birmingham, Graduate School; 2012.
75. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(30): 10513-10518.
76. Keller S, Sanderson MP, Stoeck A, Altevogt P. Exosomes: from biogenesis and secretion to biological function. *Immunol Lett* 2006; 107(2): 102-108.
77. Taylor DD, Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2008; 110(1): 13-21.
78. Cheshmi H. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote

- tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *New Cell Mol Biotechnol J* 2011; 1(3): 75-88.
79. Ogata-Kawata H, Izumiya M, Kurioka D, Honma Y, Yamada Y, Furuta K, et al. Circulating exosomal microRNAs as biomarkers of colon cancer. *PloS One* 2014; 9(4): e92921.
 80. Yamada A, Horimatsu T, Okugawa Y, Nishida N, Honjo H, Ida H, et al. Serum miR-21, miR-29a, and miR-125b are promising biomarkers for the early detection of colorectal neoplasia. *Clin Cancer Res* 2015; 21(18): 4234-4242.
 81. Yin J, Bai Z, Song J, Yang Y, Wang J, Han W, et al. Differential expression of serum miR-126, miR-141 and miR-21 as novel biomarkers for early detection of liver metastasis in colorectal cancer. *Chin J Cancer Res* 2014; 26(1): 95-103.
 82. Liu GH, Zhou ZG, Chen R, Wang MJ, Li Y, Sun XF. Serum miR-21 and miR-92a as biomarkers in the diagnosis and prognosis of colorectal cancer. *Tumor Biol* 2013; 34(4): 2175-2181.
 83. Wu CW, Ng SS, Dong YJ, Ng SC, Leung WW, Lee CW, et al. Detection of miR-92a and miR-21 in stool samples as potential screening biomarkers for colorectal cancer and polyps. *Gut* 2012; 61(5): 739-745.
 84. Xie Y, Todd NW, Liu Z, Zhan M, Fang H, Peng H, et al. Altered miRNA expression in sputum for diagnosis of non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2010; 67(2): 170-176.
 85. Vera J, Lai X, Schmitz U, Wolkenhauer O. MicroRNA-regulated networks: the perfect storm for classical molecular biology, the ideal scenario for systems biology. *MicroRNA Cancer Regulation: Springer*; 2013. p. 55-76.
 86. Hong L, Han Y, Zhang H, Zhao Q, Qiao Y. miR-210: a therapeutic target in cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2013; 17(1): 21-28.
 87. Valeri N, Gasparini P, Braconi C, Paone A, Lovat F, Fabbri M, et al. MicroRNA-21 induces resistance to 5-fluorouracil by down-regulating human DNA MutS homolog 2 (hMSH2). *Proc Nati Acad Sci USA* 2010; 107(49): 21098-21103.
 88. Krichevsky AM, Gabriely G. miR 21: a small multi faceted RNA. *J Cellular Mol Med* 2009; 13(1): 39-53.