ORIGINAL ARTICLE

Association Analysis of miR423 (rs6505162) and miR608 (rs4919510) Polymorphisms with Lung Cancer Risk

Javad Salehi[1]
Morteza Sadeghi[2]

[1] MSc Student in Human Genetics, Student Research Committee, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2] Assistant Professor, Human Genetics Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received December 30, 2023; Accepted June 1, 2024)

Abstract

Background and purpose: Lung cancer is one of the deadliest cancers in the world, early detection of lung cancer is one of the biggest challenges in treating this disease and can be very effective in saving patients. Considering the role of microRNAs in the development and progression of lung cancer, the effective factors in the expression and function of microRNAs, including the polymorphisms in the genes of microRNAs, can be used as biomarkers for the early diagnosis of lung cancer. This study aims to investigate the relationship between single nucleotide polymorphisms (rs4919510) of miR608 and (rs6505162) of miR-423 with the risk of lung cancer.

Materials and methods: In this case-control study, genotypic analysis of rs6505162 miR-423 and rs4919510 miR-608 polymorphisms was performed on two groups including 110 lung cancer patients and 120 healthy individuals by PCR-RFLP method. After receiving the consent form from the patients, 5 ml of venous blood was collected from each of the study subjects, and the genomic DNA of each person was extracted using the salt precipitation method, the quality of the DNA was measured by absorption spectroscopy, and then all the samples were PCR And by using restriction enzyme digestion by Rsa I and PVUII enzymes, the genotype was determined for both polymorphisms. In the last step, the results of enzyme digestion were checked by electrophoresis on 2% agarose gel, to confirm the RFLP results from sequencing. Random samples were used. Statistical analysis of data was done with SPSS software.

Results: In the investigation of mrs6505162 polymorphism in miR-423, the frequency distribution of CC, CA, and AA genotypes in lung cancer patients was 42.7, 34.5, and 22.7, respectively, and in the control group, 30.8, 54.2, 15, respectively which did not have a significant difference. The genotype CA compared to CC and also CA compared to CC+AA was related to the reduction of lung cancer (P=0.009, 95% CI: 0.256-0.829,

OR=0.460; P=0.003, 95% CI: 0.262-0.760, OR=0.447) which can indicate the protective role of this genotype. In the investigation of rs4919510 polymorphism in miR608, the frequency of allele G was 16.4% in the patient group and 20.4% in the control group, and the frequency of allele C was 83.6% in the patient group and 79.6% in the control group. This allele frequency was not statistically significant with a probability ratio of 0.763 and a confidence interval of 1.227-0.474 (P=0.263). No significant difference was observed between the group of cancer patients and control subjects. Codominant, Dominant, Over dominant, and Recessive, statistically no significant difference was observed.

Conclusion: According to our findings in miR-423, the CA genotype in rs6505162 polymorphism can have a protective role in lung cancer, but rs4919510 polymorphism in miR-608 was not significantly associated with lung cancer, further studies with more samples are suggested to confirm these findings.

Keywords: MicroRNA, lung cancer, polymorphism, PCR-RFLP, restriction enzyme

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 34 (234): 74-83 (Persian).

Corresponding Author: Morteza Sadeghi - Human genetics Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran. (E-mail: Ms.sadeghi@yahoo.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-07-11]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و چهارم شماره ۲۳۴ تیر سال ۱۴۰۳ (۸۳-۷۴)

بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های miR423 (rs6505162) و miR608 (rs4919510) با خطر ابتلا به سرطان ریه

جواد صالحی[1]
مرتضی صادقی[2]

چکیده

سابقه و هدف: سرطان ریه یکی از کشنده‌ترین سرطان‌ها در سطح جهان است، تشخیص زود هنگام سرطان ریه از چالش‌های بزرگ درمان این بیماری است و می‌تواند در نجات جان بیماران بسیار موثر باشد. با توجه به نقش میکرو RNAها در ایجاد و پیشرفت سرطان ریه، از عوامل موثر در بیان و عملکرد میکرو RNA ها از جمله پلی‌مورفیسم‌های موجود در ژن‌های میکرو RNA ها می‌توان به عنوان بیومارکر جهت تشخیص زودرس سرطان ریه استفاده کرد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (rs ۴۹۱۹۵۱۰) miR-۶۰۸ و (rs ۶۵۰۵۱۶۲) miR-۴۲۳ با خطر ابتلا به سرطان ریه است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد- شاهدی، بررسی ژنوتیپی پلی‌مورفیسم‌های rs ۶۵۰۵۱۶۲ miR-۴۲۳ و rs ۴۹۱۹۵۱۰ miR-۶۰۸ بر روی دو گروه شامل ۱۱۰ نفر بیمار سرطان ریه و ۱۲۰ فرد سالم به روش PCR-RFLP انجام شد. پس از دریافت فرم رضایت نامه از بیماران از هرکدام از افراد مورد مطالعه ۵ میلی لیتر خون وریدی دریافت شد و DNA ژنومی هر فرد با استفاده از روش رسوب نمکی استخراج شد، کیفیت DNA توسط طیف سنجی جذبی سنجیده شد و سپس تمامی نمونه‌ها PCR شد و با استفاده از هضم آنزیم محدودکننده توسط آنزیم‌های Rsa I و PVUII تعیین ژنوتیپ برای هر دو پلی‌مورفیسم انجام شد، در مرحله آخر نتایج هضم آنزیمی به‌وسیله الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲ درصد بررسی شد، جهت تایید نتایج RFLP از تعیین توالی تصادفی نمونه‌ها استفاده شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری داده‌ها با نرم‌افزار SPSS انجام شد.

یافته‌ها: در بررسی پلی‌مورفیسم rs ۶۵۰۵۱۶۲ در miR-۴۲۳ توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های CC، CA، AA در بیماران سرطان ریه به ترتیب ۴۲/۷، ۳۴/۵، ۲۲/۷ و در گروه کنترل به ترتیب ۳۰/۸، ۵۴/۲، ۱۵ بود که دارای اختلاف معنی‌داری نبود. ژنوتیپ CA نسبت به CC و هم‌چنین CA نسبت به CC+AA با کاهش ابتلا به سرطان ریه ارتباط داشت (P=۰/۰۰۹، CI:۰/۲۵۶-۰/۸۲۹ ۹۵ درصد، OR=۰/۴۶۰؛ P=۰/۰۰۳، CI: ۰/۲۶۲-۰/۷۶۰ ۹۵ درصد، OR=۰/۴۴۷)، که می‌تواند حاکی از نقش محافظتی این ژنوتیپ باشد. در بررسی پلی‌مورفیسم rs ۴۹۱۹۵۴۰ در miR-۶۰۸ فراوانی الل G در گروه بیماران ۱۶/۴ درصد و در گروه کنترل ۲۰/۴ درصد بود و فراوانی الل C در گروه بیماران ۸۳/۶ درصد و در گروه کنترل ۷۹/۶ درصد بود. این فراوانی الل با نسبت احتمالات ۰/۷۶۳ و فاصله اطمینان ۱/۲۲۷-۰/۴۷۴ از نظر آماری معنی‌دار نبود (P=۰/۲۶۳) و تفاوت معنی‌داری بین گروه بیماران سرطانی و افراد کنترل مشاهده نشد. در بررسی ژنوتایپ‌های افراد سرطانی و افراد سالم به صورت Codominant، Dominant، Over dominant و Recessiv از نظر آماری هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

استنتاج: طبق یافته های مطالعه حاضر، در بررسی miR-۴۲۳ ژنوتیپ CA در پلی‌مورفیسم rs ۶۵۰۵۱۶۲ می‌تواند نقش محافظتی در سرطان ریه داشته باشد ولی پلی‌مورفیسم rs ۴۹۱۹۵۱۰ در miR-۶۰۸ ارتباط معنی‌داری با سرطان ریه مشاهده نشد. مطالعات بعدی با تعداد نمونه بیش‌تر برای تایید این یافته‌ها پیشنهاد می‌گردد.

واژه های کلیدی: میکرو RNA، سرطان ریه، پلی‌مورفیسم، PCR-RFLP، آنزیم محدودکننده

مولف مسئول: مرتضی صادقی- تهران: ملاصدرا، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، پژوهشگاه ژنتیک انسانی E-mail: ms.sadeghi@yahoo.com
۱. دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک انسانی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)، تهران، ایران
۲. استادیار، مرکز تحقیقات ژنتیک انسانی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران
تاریخ دریافت : ۱۴۰۲/۱۰/۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۴۰۲/۱۱/۱ تاریخ تصویب : ۱۴۰۳/۳/۱۲

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-07-11]

مقدمه

سرطان ریه نوعی سرطان است که از ریه ا شروع شده و ناشی از رشد بی‌رویه و کنترل نشده سلول‌ها در بافت ریه است. سرطان ریه عامل اصلی مرگ و میر ناشی از سرطان در سراسر جهان است، بالاترین میزان ابتلا را در بین همه سرطان‌ها دارد و هر سال حدود ۱/۸ میلیون مرگ و میر در آن رخ می‌دهد(۱). سرطان‌های ریه به دو نوع بافت‌شناسی اصلی،کارسینومای سلول‌های کوچک ریه (Small Cell Lung Cancer:SCLC) و کارسینومای سلول‌های غیر کوچک ریه (Non *Small Cell Lung Cance*:NSCLC) طبقه‌بندی می‌شوند. بیش از ۸۵ درصد تومورهای ریه از نوع NSCLC می‌باشد. سرفه شایع‌ترین علامت است که در ۵۰ تا ۷۵ درصد بیماران رخ می‌دهد(۲). Micrornas (miRNA) مولکول‌های RNA کوچک غیر کدکننده هستند که در حدود ۱۸-۲۵ نوکلئوتید طول دارند و می‌توانند به عنوان ژن‌های سرکوب‌کننده تومور (T Smir) یا انکوژن‌ها (Oncomir) رفتار کنند. بیش از ۲۰۰۰ ژن miRNA در انسان کشف شده است که ترجمه یا تخریب mRNA انسانی را تنظیم می‌کند MiRNAها در انواع فرآیندهای فیزیولوژیکی و پاتولوژیک از جمله تکثیر سلولی، تمایز سلولی، مرگ سلولی و سرطان‌زایی نقش دارند، زیرا بر اساس تحقیقات، miRNAها فعالیت ۵۰ درصد از ژن‌های کدکننده پروتئین را در پستانداران کنترل می‌کنند(۳). به عنوان رایج‌ترین نوع تنوع ژنتیکی در ژنوم انسان، پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNPs) که در ژن‌های miRNA رخ می‌دهند، قادرند با تداخل برهمکنش بین miRNAها و mRNAهای هدف مربوطه، بر بیان و عملکرد آن تأثیر بگذارند. تعداد زیادی از مطالعات نشان داده‌اند که SNP ها در ژن‌های miRNA با بروز بیماری‌های مختلف مانند سرطان مرتبط هستند، بنابراین پلی‌مورفیسم‌های microRNA به عنوان یک مکانیسم بالقوه مهم در کسب استعداد ابتلا به سرطان در نظر گرفته می‌شوند(۴). SNP rs ۴۹۱۹۵۱۰ در miR-۶۰۸ یکی از مهم‌ترین SNPهای مرتبط با miRNA است که تا به امروز گزارش شده است؛ پیشنهاد شده است که SNO rs ۴۹۱۹۵۱۰ در miR-۶۰۸ می‌تواند اتصال آن را به ژن‌های هدف تغییر دهد(۵). چندین مطالعه تأثیر miR-۶۰۸ rs ۴۹۱۹۵۱۰ را در خطر ابتلا به انواع سرطان بررسی کردند. گزارش شده است که rs ۴۹۱۹۵۱۰ در miR -۶۰۸ با خطر تغییر یافته ابتلا به سرطان کولورکتال، سرطان سینه، سرطان تیروئید پاپیلاری، سرطان نازوفارنکس و سرطان ریه مرتبط است(۱۱-۶). با این حال، نتایج متناقضی برای ارتباط بین وجود miR-۶۰۸ rs ۴۹۱۹۵۱۰ و حساسیت به تومورها وجود دارد. مطالعات دیگر نشان داده اند که ۴۹۱۹۵۱۰ SNP rs با بروز سرطان پستان و سرطان روده بزرگ مرتبط نیست(۱۳،۱۲). بنابراین، تحقیقات بیش‌تری برای روشن شدن رابطه بین miR-rs ۴۹۱۹۵۱۰ و حساسیت به سرطان ریه مورد نیاز است. از طرفی rs ۶۵۰۵۱۶۲ SNP در pre-miR -۴۲۳ و در کروموزوم انسانی ۱۷q ۱۱/۲ قرار دارد. بیان نابجای هر دو شکل بالغ miR-۴۲۳ به نام (miR-۴۲۳-۳p) و (miR-۴۲۳-۵p) در انواع سرطان‌های متعدد مشاهده شده است(۱۴). وجود پلی‌مورفیسم rs ۶۵۰۵۱۶۲ در mir-۴۲۳ با اتصال این میکرو rna به اهداف خود در ارتباط است(۱۵). ارتباط این پلی‌مورفیسم‌ها تاکنون با چندین سرطان مختلف گزارش شده است(۱۱-۶،۱۵). ولی تاکنون مطالعه‌ای در مورد ارتباط این پلی‌مورفیسم‌ها و سرطان ریه در جمعیت ایران گزارش نشده است. با توجه به نقش mir-۴۲۳ و mir-۶۰۸ در ایجاد سرطان‌ها در این مساله، هدف بررسی پلی‌مورفیسم‌های ذکر شده در بروز سرطان ریه در بخشی از جمعیت ایران است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مورد- شاهدی با شناسه اخلاق IR.BMSU.BLC.1402.042، تعداد ۱۱۰ بیمار مبتلا به سرطان ریه که سرطان ریه در آن ها توسط متخصص

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-07-11]

آنکولوژی و متخصص ریه تایید شده بود، انتخاب شدند. نمونه‌های خون افراد سرطانی از بیمارستان‌های تهران و اصفهان تهیه شد. گروه کنترل نیز شامل ۱۲۰ نفر از افراد سالم که داوطلبانه و برای چکاپ آزمایش‌های روزمره به بیمارستان مراجعه‌کرده بودند و هیچ‌گونه علائم سرطان ریه در آن‌ها مشاهده نشده بود، انتخاب شدند. افراد از لحاظ سن و جنسیت مورد پرسش قرار گرفته و یکسان سازی شدند و هم‌چنین فرم رضایت‌نامه آگاهانه با آگاهی کامل از اهداف مطالعه توسط افراد بیمار و گروه شاهد تکمیل شد. در جدول شماره ۱، اطلاعات دموگرافیک افراد مورد مطالعه آورده شده است.

جدول شماره ۱: اطلاعات دموگرافی افراد مورد مطالعه

متغیرها	بیماران تعداد(درصد)	کنترل تعداد(درصد)	سطح معنی داری
سن(متوسط±انحراف معیار)	۶۵/۲±۱۲/۱	۶۴/۸±۱۱/۷	۰/۰۲۱
جنسیت			۰/۹۹
مرد	۶۶	۷۲	
زن	۴۴	۴۸	
سابقه سیگار			۰/۰۰۱
هرگزسیگار نکشیده اند	۲۰ (۱۸/۲)	۵۶ (۴۶/۷)	
قبلا سیگار کشیده اند	۸۰ (۷۲/۷)	۴۴ (۳۶/۷)	
سیگاری فعلی	۱۰ (۹/۱)	۲۰ (۱۶/۷)	
سابقه خانوادگی سرطان			۰/۰۲
بدون سابقه سرطان ریه	۶۸ (۶۱/۸)	۸۴ (۷۰)	
سابقه خانوادگی سرطان ریه	۲۴ (۲۱/۸)	۱۸ (۱۵)	
سابقه خانوادگی سایر انواع سرطان	۱۸ (۱۶/۴)	۱۸ (۱۵)	
وضعیت اشتغال			۰/۱۲
شاغل	۵۵ (۵۰)	۶۶ (۵۵)	
بازنشسته	۳۸ (۳۴/۵)	۳۳ (۲۷/۵)	
بیکار	۱۷ (۱۵/۵)	۲۱ (۱۷/۵)	

انتخاب snp و استخراج DNA ژنومی

براساس مطالعات پیشین در مورد پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی و خطر سرطان rs ۶۵۰۵۱۶۲ C>A miR-۴۲۳ واقع در کروموزوم ۱۷ با فراوانی آلل مینور (MAF) معادل ۰/۴۸ برای بررسی انتخاب شد و هم‌چنین rs ۴۹۱۹۵۱ C>G miR-۶۰۸ واقع در کروموزوم ۱۰ با فراوانی آلل مینور (MAF) معادل ۰/۲۱ برای بررسی انتخاب شد(۲۱). از تمامی افراد ۵ میلی‌لیتر خون گرفته شد و با استفاده از روش Salting out (روش استخراج DNA به روش رسوب‌دهی نمک) استخراج DNA انجام شد. کمیّت و درجه تخریب DNA را به‌وسیله الکتروفورز DNA بر روی ژل آگارز ۱ درصد وخوانش جذب در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر ارزیابی شد.

تجزیه تحلیلی آماری

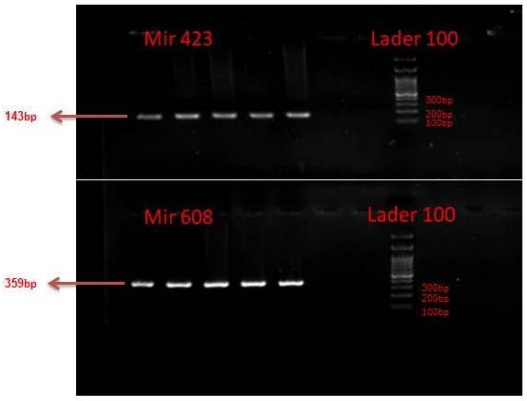
مقایسه بین گروه‌ها به وسیله آزمون‌های آماری Pearson chi squar، کای مربع (خی دو) و محاسبه ریسک خطر (odd ratio) به همراه CI ۹۵ درصد انجام شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری یافته‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. P کم‌تر از ۰/۰۵ در تمامی محاسبات معنی‌دار در نظر گرفته شد. افزون بر الگو توارثی هم بارزی، فراوانی ژنوتیپی در مدل‌های غالب، مغلوب و بیش بارزی نیز محاسبه شد.

تعیین ژنوتیپ

برای تعیین ژنوتیپ جایگاه rs ۶۵۰۵۱۶۲ miR-۴۲۳ و rs ۴۹۱۹۵۱۰ miR-۶۰۸ از روش PCR-RFLP با استفاده از آنزیم Rsa I برای miR-۴۲۳ و PVUII برای miR-۶۰۸ استفاده شد. برای طراحی پرایمر پس از جستجو در پایگاه NCBI، توالی ژن رفرنس miR-۴۲۳ و miR-۶۰۸ استخراج شد. سپس با استفاده از سایت primer3 پرایمر اختصاصی طراحی شد. توالی پرایمرهای مستقیم و معکوس برای miR-۴۲۳ به‌ترتیب به‌صورت '5'-CCCCTCAGTCTTGCTTCGTA-3 و 5'-AAGGGCGGGAATCAGGAC-3' وبرای miR-۶۰۸ به‌صورت 5´-TCTGGCTAGGTAATGGCTCC-3´ و 5´-GCATCTGTGGCCTTCCATGA-3´ می‌باشد. واکنش PCR با دستگاه ترموسایکلر در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس، ۶/۴ میکرولیتر آب مقطر،۲ میکرولیتر DNA و ۰/۸ از هر پرایمر انجام شد. چرخه حرارتی جهت تکثیر به صورت واسرشته سازی نخستین در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه به صورت ۲۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۱۰ ثانیه در دمای ۵۸ درجه سانتی‌گراد،۲۰ ثانیه در دمای ۷۲ در جه سانتی‌گراد و گسترش نهایی در

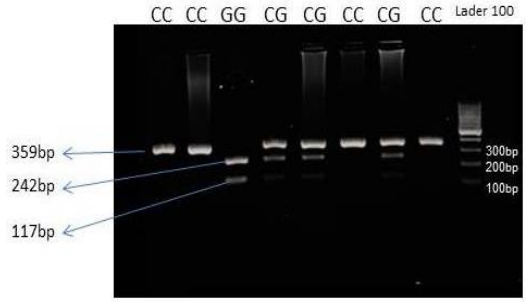
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-07-11]

دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه بود. برای درستی انجام PCR فراورده‌ها در ژل ۲ درصد الکتروفورز شدند (تصویر شماره ۱).

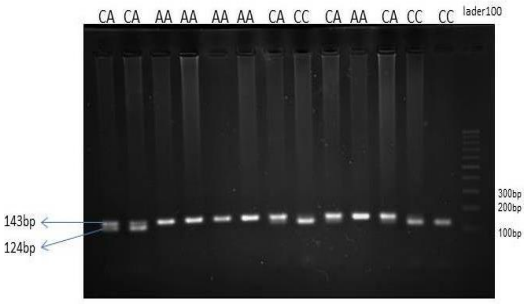


تصویر شماره ۱: تصویر ژل آگارز محصولات PCR، تصویر بالا مربوط به MIR-۴۲۳ که پس از PCR قطعه ای معادل ۱۴۳ جفت باز تکثیر شده است تصویر پایین مربوط به miR-۶۰۸ که پس از PCR قطعه ای معادل ۳۵۹ جفت باز تکثیر شده است

در گام پسی‌k، برای واکنش هضم آنزیمی، محلولی حاوی ۱۰ میکرولیتر از محصول pcr با مقدار ۱/۵میکرو لیتر بافرتانگو، ۰/۵میکرو لیتر آنزیم (Rsa I برای miR-۴۲۳ و PVUII برای miR-۶۰۸) و مقدار ۳ میکرولیتر آب مقطر استریل شده به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد و محصول هضم شده برای تعیین ژنوتیپ با Self-stain رنگ آمیزی و بر روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شد و درنهایت شناسایی محصولات هضم DNA انجام شد (تصویر شماره ۲و۳).



تصویر شماره ۲: نتایج مربوط به پلی‌مورفیسم rs ۴۹۱۹۵۱۰ miR-۶۰۸ در ژل آگارز



تصویر شماره ۳: نتایج مربوط به پلی‌مورفیسم rs ۶۵۰۵۱۶۲ miR-۴۲۳ در ژل آگارز

پلی‌مورفیسم rs ۴۹۱۹۵۱۰، در اثر تغییر نوکلئوتیدی C به G ایجاد می‌شود که ژنوتیپ‌های ژنوتیپ‌های مختلف آن را می‌توان با آنزیم PVUII شناسایی کرد. آلل G توسط آنزیم PVUII برش خورده و دو توالی ۲۴۲ و ۱۱۷ جفت بازی ایجاد می‌شود؛ در حالی که آلل C توسط آنزیم PVUII برش نمی‌خورد و در نتیجه یک توالی به‌طول ۳۵۹ جفت باز ایجاد می‌شود. پس در صورت وجود ژنوتیپ CC تنها یک باند بر روی ژل ظاهر می‌شود ودر صورتی که ژنوتیپ GG باشد؛ دو باند به طول ۲۴۲ و۱۱۷ جفت بازی تشکیل می‌شود و در صورت وجود ژنوتیپ هتروزیگوت GC آنزیم یک آلل را برش داده و دیگری برش نمی‌دهد و در نتیجه ۳ باند به طول ۳۵۹، ۲۴۲، ۱۱۷ بر روی ژل تشکیل می‌گردد (تصویر شماره ۲).

پلی‌مورفیسم rs ۶۵۰۵۱۶۲ در اثر تغییر نوکلئوتیدی C به A ایجاد می‌شود که ژنوتیپ‌های مختلف آن را می‌توان با آنزیم RsaI شناسایی کرد. C آلل توسط آنزیم برش خورده و دو توالی ۱۲۴ و ۱۹ جفت بازی ایجاد می‌شود، در حالی که آلل A توسط آنزیم برش نمی‌خورد و یک قطعه ۱۴۳ جفت بازی ایجاد می‌شود. پس در صورت وجود ژنوتیپ CC دو قطعه به طول ۱۲۴ و ۱۹ جفت بازی روی ژل تشکیل می‌شود و در صورتی که ژنوتیپ AA باشد تنها یک قطعه ۱۴۳ جفت بازی تشکیل می‌شود و در صورت وجود ژنوتیپ CA آنزیم یک آلل را برش داده و دیگری برش نمی‌دهد؛

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-07-11]

در نتیجه سه قطعه ۱۴۳، ۱۲۴ و ۱۹ جفت بازی تشکیل می‌شود (تصویر شماره ۳). قطعه ۱۹ جفت بازی را به علت اندازه کوچک نمی‌توان در ژل شناسایی کرد. برای تایید صحت ژنوتایپی ۲۰ درصد نمونه‌ها به‌صورت تصادفی انتخاب و دوباره تعیین ژنوتایپ شدند و هم‌چنین بر روی تعداد ۱۰ نمونه به‌صورت تصادفی توالی یابی سکانس انجام شد.

یافته‌ها

در بررسی rs ۴۹۱۹۵۱۰ که در آن الل C به عنوان الل وحشی و الل G به عنوان الل عامل موتانت است. فراوانی الل G در افراد دارای تومور ۱۶/۴ درصد و در افراد کنترل ۲۰/۴ درصد است و فراوانی الل C در افراد دارای تومور ۸۳/۶ درصد و در افراد کنترل ۷۹/۶ درصد است. این فراوانی الل با نسبت احتمالات ۰,۷۶۳ و فاصله اطمینان ۱/۲۲۷-۰/۴۷۴ از نظر آماری با P=۰/۲۶۳ معنی‌دار نمی‌باشد. در بررسی ژنوتایپ‌های افراد سرطانی و افراد سالم به صورت Codominant، Dominant، Over dominant و Recessiv از نظر آماری هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲: مقایسه افراد گروه سالم و بیمار بر اساس ژنوتیپ miR-608 rs4919510

CO Dominant		OR	95% Confidence Interval		سطح معنی داری
			Lower	Upper	
	GG vs CC	۰/۳۲۹	۰/۰۳۳	۳/۳۲۴	۰/۶۲۰
	CG vs CC	۰/۷۸۰	۰/۴۴۹	۱/۳۵۶	۰/۳۷۸
Recessive	GG VS CC+CG	۰/۳۵۸	۰/۰۳۷	۳/۴۹۲	۰/۶۳۳
Dominant	CG+GG VS CC	۰/۷۵۱	۰/۴۳۶	۱/۲۹۴	۰/۳۰۱
Over dominant	CG VS CC+GG	۰/۸۰۱	۰/۴۶۲	۱/۳۸۹	۰/۴۲۹
Allele	G VS C	۰/۷۶۳	۰/۴۷۴	۱/۲۲۷	۰/۲۶۳

در بررسی rs ۶۵۰۵۱۶۲ miR-۴۲۳ با استفاده از نرم‌افزار SPSS که در آن آلل C به‌عنوان آلل وحشی و آلل A به عنوان آلل موتانت می‌باشد. توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های CC، CA، AA در بیماران دچار سرطان به ترتیب ۴۲/۷، ۳۴/۵، ۲۲/۷ و در گروه کنترل به ترتیب ۳۰/۸، ۵۴/۲، ۱۵ بود. ژنوتیپ CA نسبت به CC و هم‌چنین CA نسبت به CC+AA در rs ۶۵۰۵۱۶۲ کاهش میزان سرطان ریه را داشت (جدول شماره ۳) (P=۰/۰۰۹، ۰/۸۲۹-۰/۲۵۶ :CI ۹۵ درصد، OR=۰/۴۶۰؛ P=۰/۰۰۳، ۰/۷۶۰-۰/۲۶۲ :CI ۹۵ درصد، OR=۰/۴۴۷).

جدول شماره ۳: مقایسه افرادگروه سالم و بیمار براساس ژنوتیپ‌های miR-423 rs6505162

CO Dominant		OR	95% Confidence Interval		سطح معنی داری
			Lower	Upper	
	AA vs CC	۱/۰۹۳	۰/۵۲۰	۲/۲۹۹	۰/۸۱۳
	CA vs CC	۰/۴۶۰	۰/۲۵۶	۰/۸۲۹	۰/۰۰۹
Recessive	AA VS CC+CA	۱/۶۶۷	۰/۸۵۲	۳/۲۶۰	۰/۱۳۳
Dominant	CA+AA VS CC	۰/۵۹۸	۰/۳۴۸	۱/۰۲۷	۰/۰۶۱
Over dominant	CA VS CC+AA	۰/۴۴۷	۰/۲۶۲	۰/۷۶۰	۰/۰۰۳
Allele	A VS C	۰/۹۱۷	۰/۶۳۲	۱/۳۳۱	۰/۶۵۰

بحث

به روشنی ثابت شده است پیشرفت بیماری ها در افراد با وقوع چندین تغییر ژنتیکی همراه است. پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNPs) ایجاد شده توسط تغییرات در توالی‌های DNA ژن‌های کد کننده miRNA یا در یک محل اتصال به miRNA در mRNAها، می‌توانند بر بیوژنز و عملکرد miRNA تأثیر بگذارند. نشان داده شده است که بسیاری از پلی مورفیسم‌های miRNA با بیماری‌ها مرتبط هستند، زیرا افزایش عملکرد یک پلی‌مورفیسم miRNA ممکن است ترکیب miRNA را به اهداف جذب یا تقویت کند، در نتیجه اثرات تنظیمی مانند ژن‌های سرکوبگر تومور را تقویت کند.

در مقابل، از دست دادن عملکرد ممکن است منجر به از دست دادن کنترل mRNAها به‌خصوص آنکوژن‌ها و اهداف دارویی شود. علاوه بر این SNPها در مکان‌های هدف mRNA ها نیز ممکن است منجر به فرار از مهار یا تخریب توسط miRNA شوند(۱۶). به همین منظور در راستای درک بهتر مکانیسم اثر پلی‌مورفیسم‌ها در سرطان ریه این مطالعه را طراحی گردید که در آن بررسی ژنوتیپی پلی مورفیسم rs ۶۵۰۵۱۶۲ miR-۴۲۳ و rs ۴۹۱۹۵۱۰ miR-۶۰۸ به‌روش PCR-RFLP بر روی

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-07-11]

تعداد ۱۱۰ بیمار مبتلا به سرطان ریه و ۱۲۰ نفر از افراد سالم انجام شد.

در بررسی miR-۶۰۸ rs ۴۹۱۹۵۱۰ از نظر آماری هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است. در بررسی miR-۴۲۳ rs ۶۵۰۵۱۶۲ ژنوتیپ CA در گروه کنترل بیش تر از بیماران بود؛ به عبارتی دیگر ژنوتیپ CA کاهش میزان سرطان ریه را داشت و همچنین CA نسبت به CC+AA در rs ۶۵۰۵۱۶۲ کاهش میزان سرطان ریه را داشت.

در یک مطالعه مورد-شاهدی که یینگ زو همکاران در سال۲۰۱۵ با عنوان بررسی بیان microRNA سرم برای تشخیص سرطان ریه، شامل miR-۴۲۳-۳p انجام دادند و به طور خلاصه گزارش کردند که miR-۴۲۳ می‌تواند به عنوان نشانگر زیستی برای تشخیص سرطان ریه از افراد غیر سرطانی استفاده شود. همچنین پیشنهاد گردید که مطالعات بیش تری برای تایید نتایج مورد نیاز است(۱۷).

در مطالعه ای دیگری که روکون وانگ و همکاران در یک مطالعه مورد شاهدی در بیمارستان سرطان ویفانگ با عنوان بیان بیش از حد microRNA-۴۲۳-۳p نشان دهنده پیش‌آگهی ضعیف است و تکثیر سلولی، مهاجرت و تهاجم به سرطان ریه را افزایش می‌دهد، انجام دادند. نتایج آنالیزهای عملکردی نشان داد که بیان بیش از حد miR-۴۲۳-۳p باعث افزایش تکثیر سلولی، مهاجرت و تهاجم به سلول‌های سرطان ریه می‌شود. این نتایج نشان داد که miR-۴۲۳-۳p به عنوان یک انکوژن عمل می‌کند و مهاجرت تکثیر سلولی و تهاجم سرطان ریه را افزایش می دهد. miR-۴۲۳-۳p ممکن است به عنوان نشانگر بیولوژیکی پیش‌آگهی بالقوه و هدف درمانی برای درمان سرطان ریه عمل کند(۱۸).

در مطالعه ای دیگر یی-فی وانگ و همکاران در سال ۲۰۱۹ مطالعه‌ای در بیمارستان وابسته دانشگاه چینگدائو با عنوان microRNA-۶۰۸ از طریق مهار TFAP4، آپوپتوز را در سلول‌های سرطانی سلول غیر کوچک ریه که با دوکسوروبیسین درمان می‌شوند، ارتقا می‌دهد. با هدف شناسایی این که آیا چند شکلی miRNA(miR)-۶۰۸ rs ۴۹۱۹۵۱۰ بر بروز سرطان ریه تأثیر می گذارد، و مکانیسم‌های اساسی miR-۶۰۸ را در پاتوژنز بیماری بررسی می‌کند انجام دادند. هم‌چنین گزارش کردند که وجود چند شکلی miR-۶۰۸ rs ۴۹۱۹۵۱۰ با بروز NSCLC مرتبط نیست و rs ۴۹۱۹۵۱۰ بر بلوغ miR-۶۰۸ تأثیر نمی‌گذارد(۱۹).

در مطالعه‌ای دیگر که توسط هنگ ژانگ و همکاران در سال ۲۰۱۷ با عنوان بررسی ارتباط پلی مورفیسم miR-۴۲۳ rs ۶۵۰۵۱۶۲ با خطر ابتلا به سرطان انجام شد،گزارش کردند که پلی‌مورفیسم rs ۶۵۰۵۱۶۲ به طور قابل توجهی با کاهش خطر سرطان در سرطان ریه مرتبط می‌باشد. به طور خلاصه، rs ۶۵۰۵۱۶۲ یک عامل محافظتی برای سرطان ریه بود(۲۰).

در مطالعه‌ای دیگر که مینگ چن و همکاران در سال ۲۰۲۱ جهت بررسی ارتباط miR-۴۲۳ rs ۶۵۰۵۱۶۲ با سرطان ریه انجام دادند؛ بعد از تجزیه وتحلیل داده‌ها به این تنیجه رسیده است که miR-۴۲۳ rs ۶۵۰۵۱۶۲ با خطر سرطان ریه مرتبط نیست(۲۱).

در مطالعه‌ای دیگر که شوانگ وو و همکاران در سال ۲۰۱۷ با عنوان چند شکلی miR-۶۰۸ rs ۴۹۱۹۵۱۰ ممکن است حساسیت سرطان را بر اساس نوع تغییر دهد؛انجام دادند. در مجموع با تجزیه وتحلیل ۱۸ مطالعه مورد- شاهدی، شامل ۱۲۵۱۷ مورد و ۱۵۶۲۴ کنترل ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم rs ۴۹۱۹۵۱۰ خطر سرطان در بین افراد چینی مشاهده شد. در تجزیه و تحلیل‌های طبقه‌بندی شده بیش‌تر براساس نوع سرطان،گزارش کردند پلی‌مورفیسم rs ۴۹۱۹۵۱۰ به طور قابل توجهی با افزایش خطر سرطان تیروئید پاپیلاری، سرطان معده و ریه مرتبط می‌باشد اما خطر ابتلا به سرطان کولورکتال کاهش می‌یابد. این یافته‌ها شواهدی را ارائه می‌دهند که نشان می‌دهد

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-07-11]

پلی‌مورفیسم miR-۶۰۸ rs ۴۹۱۹۵۱۰ ممکن است حساسیت سرطان را به شیوه‌ای خاص تغییر دهد و هم‌چنین پیشنهاد گردید که مطالعات بیش‌تر با ارزیابی‌های تجربی ضروری است(۲۲).

در مطالعه‌ای دیگر که چو هوانگ و همکاران در سال ۲۰۲۰ در بیمارستان بیمارستان کیلو با عنوان بررسی بیان miR-۶۰۸ در سرطان ریه سلول غیر کوچک انجام دادند. بعد از تعیین ژنوتیپ با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) و هم‌چنین توالی یابی DNA و همچنین بعد از تشخیص تغییرات در سطح پروتئین با استفاده از روش وسترن بلات این تیجه را گزارش کردند که miR-۶۰۸ rs ۴۹۱۹۵۱۰ بر بروز بیماران NSCLC تأثیری ندارد. علاوه بر این، بیان miR-۶۰۸ در بافت تومور بیماران NSCLC کاهش یافت(۲۳).

در مطالعه‌ای دیگر که دنگروی لی و همکاران در سال ۲۰۱۶ با عنوان بررسی ارتباط بین انواع واریانت‌های ژنتیکی واقع در microRNA های بالغ و خطر سرطان ریه انجام دادند. بعد از نمونه‌گیری خون کامل و استخراج DNA و انجام تجزیه و تحلیل آماری گزارش کردند که rs ۴۹۱۹۵۱۰ در miR-۶۰۸ به‌طور قابل توجهی با افزایش خطر سرطان ریه مرتبط می‌باشد و نتیجه گرفتند که miR-۶۰۸ rs ۴۹۱۹۵۱۰ ممکن است نقش مهمی در استعداد ابتلا به سرطان ریه داشته باشد(۲۴).

از علل تفاوت در نتایج مطالعات پلی‌مورفیسم ژنتیکی می‌توان به اختلاف در اندازه مورد جمعیت مورد بررسی، قومیت، روش بررسی، هتروژنی بیماری و هم‌چنین نقش عوامل محیطی اشاره کرد. از آن‌جا که سرطان ریه بیماری چند عاملی است که عوامل محیطی و ژنتیکی در ایجاد آن دخیلند بنابراین بررسی نقش عوامل محیطی افزون بر عوامل ژنتیکی در این بیماری مهم است(۲۳).

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان گفت که در این مطالعه به بررسی یک جایگاه پلی‌مورفیک از هر کدام میکرو RNAها پرداخته شد. با توجه به اهمیت میکروRNAها در سرطان ریه لازم است سایر جایگاه‌های پلی‌مورفیک در miR-۶۰۸ و miR-۴۲۳ ارزیابی شوند و با توجه به این که عوامل محیطی هم در ایجاد سرطان ریه نقش دارند، بنابراین لازم است افزون بر عوامل ژنتیکی، نقش عوامل محیطی هم بررسی شوند. به طور کلی با توجه نتیجه این مطالعه مورد-شاهدی همراهی پلی‌مورفیسم miR-۴۲۳ rs ۶۵۰۵۱۶۲ با سرطان ریه پیشنهاد می‌گردد.

سپاسگزاری

از مرکز تحقیقات ژنتیک انسانی دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله (عج)، مرکز ژنتیک پزشکی نور دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله (عج)، بیمارستان حضرت بقیه‌الله (عج)، بیمارستان امام خمینی تهران، بیمارستان سیدالشهدا اصفهان، آزمایشگاه جامع تحقیقاتی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و برادر محمدرضا پور رضا، دکتر جواد قره چاهی کمال تشکر را داریم. این مقاله بخشی ازنتایج پایان‌نامه آقای جواد صالحی دانشجوی کارشناسی ارشد رشته ژنتیک پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌اله (عج) بود. نویسندگان مقاله از تمامی شرکت‌کنندگان این طرح سپاسگزاری می‌نمایند.

References

1. Tinè M, Biondini D, Damin M, Semenzato U, Bazzan E, Turato G. Extracellular Vesicles in Lung Cancer: Bystanders or Main Characters? Biology (Basel) 2023; 12(2): 246.
2. Alduais Y, Zhang H, Fan F, Chen J, Chen B. Non-small cell lung cancer (NSCLC): A review of risk factors, diagnosis, and treatment. Medicine (Baltimore) 2023; 102(8): e32899.
3. Li Y, Gu F, He Y, Xiang J, Huang X, Wang Y, et al. MicroRNA in adenoid cystic carcinoma (Review). Int J Oncol 2023; 62(1): 17.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-07-11]

4. Lee A-R, Park J, Jung KJ, Jee SH, Kim-Yoon S. Genetic variation rs7930 in the miR-4273-5p target site is associated with a risk of colorectal cancer. Onco Targets Ther 2016; 9: 6885-6895.
5. Landi D, Gemignani F, Barale R, Landi S. A catalog of polymorphisms falling in microRNA-binding regions of cancer genes. DNA Cell Biol 2008; 27(1): 35-43.
6. Ying HQ, Peng HX, He BS, Pan YQ, Wang F, Sun HL, et al. MiR-608, pre-miR-124-1 and pre-miR26a-1 polymorphisms modify susceptibility and recurrence-free survival in surgically resected CRC individuals. Oncotarget 2016; 7(46):75865-75773.
7. Huang AJ, Yu KD, Li J, Fan L, Shao ZM. Polymorphism rs4919510:C>G in mature sequence of human microRNA-608 contributes to the risk of HER2-positive breast cancer but not other subtypes. PLoS One 2012; 7(5): e35252.
8. Wei WJ, Wang YL, Li DS, Wang Y, Wang XF, Zhu YX, et al. Association study of single nucleotide polymorphisms in mature microRNAs and the risk of thyroid tumor in a Chinese population. Endocrine 2015; 49(2): 436-444.
9. Qiu F, Yang L, Zhang L, Yang X, Yang R, Fang W, et al. Polymorphism in mature microRNA-608 sequence is associated with an increased risk of nasopharyngeal carcinoma. Gene 2015; 565(2):180-186.
10. Wang YF, Ao X, Liu Y, Ding D, Jiao WJ, Yu Z, et al. MicroRNA-608 Promotes Apoptosis in Non-Small Cell Lung Cancer Cells Treated With Doxorubicin Through the Inhibition of TFAP4. Front Genet 2019; 10: 809.
11. Yin Z, Cui Z, Ren Y, Xia L, Wang Q, Zhang Y, et al. Association between polymorphisms in pre-miRNA genes and risk of lung cancer in a Chinese non-smoking female population. Lung Cancer 2016; 94: 15-21.
12. Dai ZM, Kang HF, Zhang WG, Li HB, Zhang SQ, Ma XB, et al. The Associations of Single Nucleotide Polymorphisms in miR196a2, miR-499, and miR-608 With Breast Cancer Susceptibility: A STROBE-Compliant Observational Study. Medicine (Baltimore) 2016; 95(7): e2826.
13. Ranjbar R, Chaleshi V, Aghdaei HA, Morovvati S. Investigating the Association Between miR-608 rs4919510 and miR-149 rs2292832 with Colorectal Cancer in Iranian Population. Microrna 2018; 7(2): 100-106.
14. Chen R, Zheng Y, Zhuo L, Wang S. The association between miR-423 rs6505162 polymorphism and cancer susceptibility: a systematic review and meta-analysis. Oncotarget 2017; 8(25): 40204-40213.
15. Saeidi Saedi H, Mashayekhi S, Salehi Z, Soltanipour S, Mirzajani E. The relationship between miR-423 genetic variation and women breast cancer risk in the north of Iran. JGUMS 2018; 26(104): 14-21 (Persian).
16. Cai Y, Yu X, Hu S, Yu J. A brief review on the mechanisms of miRNA regulation. Genomics Proteomics Bioinformatics 2009; 7(4): 147-154.
17. Zhu Y, Li T, Chen G, Yan G, Zhang X, Wan Y, et al. Identification of a serum microRNA expression signature for detection of lung cancer, involving miR-23b, miR-221, miR-148b and miR-423-3p. Lung Cancer 2017; 114: 6-11.
18. Wang R, Li G, Zhuang G, Sun S, Song Z. Overexpression of microRNA-423-3p indicates poor prognosis and promotes cell proliferation, migration, and invasion of lung cancer. Diagn Pathol 2019; 14(1): 53.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-07-11]

19. Wang Y-F, Ao X, Liu Y, Ding D, Jiao W-J, Yu Z, et al. MicroRNA-608 promotes apoptosis in non-small cell lung cancer cells treated with doxorubicin through the inhibition of TFAP4. Frontiers in genetics. 2019; 10: 809.
20. Zhang H, Zhang Y, Zhao X, Ma X, Yan W, Wang W, et al. Association of two microRNA polymorphisms miR-27 rs895819 and miR-423 rs6505162 with the risk of cancer. Oncotarget 2017; 8(29): 46969-46980.
21. Chen M, Cai D, Gu H, Yang J, Fan L. MALAT1 rs619586A/G polymorphisms are associated with decreased risk of lung cancer. Medicine (Baltimore) 2021; 100(12): e23716.
22. Wu S, Yuan W, Shen Y, Lu X, Li Y, Tian T, et al. The miR-608 rs4919510 polymorphism may modify cancer susceptibility based on type. Tumour Biol 2017; 39(6): 1010428317703819.
23. Huang C, Yue W, Li L, Li S, Gao C, Si L, et al. Expression of MiR-608 in Nonsmall Cell Lung Cancer and Molecular Mechanism of Apoptosis and Migration of A549 Cells. Biomed Res Int 2020; 2020: 8824519.
24. Li D, Zhu G, Di H, Li H, Liu X, Zhao M, et al. Associations between genetic variants located in mature microRNAs and risk of lung cancer. Oncotarget 2016; 7(27): 41715-41724.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-07-11]