ORIGINAL ARTICLE

Association Between Genetic Variant in the pre-miR-27a Oncogene and Risk of Breast Cancer and Metastasis

Bentolhoda Shekari[1],
Somayeh Reiisi[2]

[1] MSc Student in Genetics, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Genetics, Faculty of Basic Sciences, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran

(Received November 19, 2016 Accepted May 29, 2017)

Abstract

Background and purpose: Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) within miRNA genes may be related with risk of cancer. A main SNP in the pre-miR-27a (rs895819) with an A to G variation was earlier identified. In this study, we aimed to explore any association between SNP rs895819 in the miR-27a gene and breast cancer susceptibility.

Materials and methods: This case-control study included 120 breast cancer patients and 120 health controls. Genotyping was done by PCR-RFLP method and then verified using direct sequencing. Allele and genotype frequencies for SNP were examined by statistical analysis.

Results: Compared with AA homozygote, samples carrying AG/GG genotypes had a statistically significant reduced predisposition to breast cancer (OR = 0.504, 95% CI = 0.3- 0.846). Frequency of G alleles for rs895819 variation was 20.8% in patients and 30% in controls, indicating a reduced sporadic breast cancer risk ([G] vs. [A]: OR = 0.614, 95% CI 0.405–0.931, P =0.021). Moreover, age investigation showed that the protective influence was mostly detected in women aged ≥45 years ([AG+GG] vs. [AA]: OR = 0.205, 95% CI 0.093–0.452, P = 0.001).

Conclusion: Our study demonstrated that rs895819 in hsa-miR-27a is associated with reduced risk of breast cancer, particularly in younger individuals. Therefore, it might be potentially a useful genetic biomarker for breast cancer screening.

Keywords: breast neoplasms, SNP, miR-27a, oncogene

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 27 (152): 12- 22 (Persian).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-30]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هفتم شماره 152 شهریور سال 1396 (22 -12)

بررسی تغییر ژنتیکی در انکوژن pre-miR-27a و همراهی آن با ریسک سرطان سینه و متاستاز

بنت الهدی شکاری[1]
سمیه رئیسی[2]

چکیده

سابقه و هدف: MicroRNA (miRNAs) ها یک دسته از RNA های غیر کد کننده می‌باشند که در تنظیمات ژنی انکوژن‌ها و مهارکننده‌های تومور نقش دارند. پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNPs) در ژن‌های miRNA می‌تواند با ریسک سرطان همراه باشد. یک SNP مهم در pre-miR-27a (rs895819) با تغییر A به G در لوپ انتهایی آن شناسایی شده است. مطالعات مختلف نقش این SNP را در ریسک سرطان نشان داده‌اند، با این وجود نتایج این مطالعات متناقض می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی همراهی rs895819 در miR-27a با استعداد به سرطان سینه بوده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد-شاهدی، 120 بیمار با سرطان سینه و 120 فرد سالم که از نظر سنی و منطقه جغرافیایی با هم مطابقت داشتند وارد شدند. برای تعیین ژنوتیپ، از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و پلی‌مورفیسم طولی قطعات محدود شونده (PCR-RFLP) استفاده شد و سپس نتایج با روش تعیین توالی مستقیم تایید شد. به‌دنبال آن فرکانس آللی و ژنوتیپی برای SNP بوسیله آنالیز آماری مورد بررسی قرار گرفت (SPSS V.20).

یافته‌ها: در مقایسه با هموزیگوت AA، نمونه‌های دارای ژنوتیپ AG/GG به صورت معناداری استعداد ابتلا به سرطان سینه را کاهش می‌دهد(504/. =OR 0/84-0/3 =95% CI)، فراوانی آلل G برای تغییر rs895819 برابر با 20/8 درصد در بیماران با سرطان سینه و 30 درصد برای افراد کنترل می‌باشد، که ریسک کاهش‌یافته برای سرطان سینه را نشان می‌دهد:)=OR: [A] vs [G] 0/614 95% CI ,P=0/405-0/931, 0/021(به‌علاوه بررسی سن نشان داد که اثر حفاظتی عمدتا در گروه سنی زیر 45 سال آشکار می‌شود)= OR 0/205 ,0/452-0/093 CI 95%، 00/001= P :[AG+GG] vs. [AA]))، در حالی که هیچ اثر معنی‌داری در گروه سنی بالاتر از 45 سال مشاهده نشد. هیچ‌گونه همراهی بین پلی‌مورفیسم و متاستاز و فاکتور HER2 مشاهده نشد.

استنتاج: مطالعه حاضر اثبات کرد که rs895819 در hsa-miR-27a با کاهش ریسک در سرطان سینه ، بویژه در افراد جوانتر همراه می‌باشد. بنابراین ممکن این فاکتور به‌صورت بالقوه به‌عنوان یک بیومارکر ژنتیکی برای غربالگری بیماری مفید باشد.

واژه های کلیدی: سرطان سینه، SNP، miR-27a، انکوژن

مقدمه

MicroRNA ها یک دسته بزرگ از RNA های غیرکدکننده درون سلولی می‌باشند که در حدود 20 تا 22 نوکلئوتید طول دارند. این مولکول‌ها بیان ژن‌های هدف را با هیبرید شدن در ناحیه غیرترجمه‌ای 3′ (UTR′3) رونوشت ژن هدف، به طور منفی تنظیم می‌کنند. این عملکرد سبب می‌شود رونوشت ژن هدف تجزیه شده و یا ترجمه آن مهار شود(1). MicroRNA ها در ابتدا به‌صورت یک رونوشت طولانی و اولیه از ژنوم

مولف مسئول: سمیه رئیسی - دانشگاه شهرکرد، دانشکده علوم پایه، گروه ژنتیک Email: s.reiisi@sci.sku.ac.ir, s.reiisi@yahoo.com
1. دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
2. استادیار گروه ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
تاریخ دریافت : 1395/8/29 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : 1395/9/1 تاریخ تصویب : 1396/3/8

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-30]

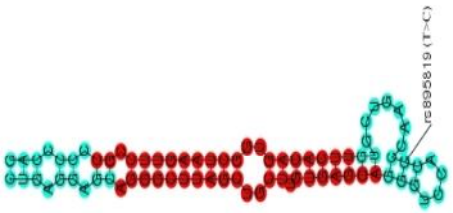
رونویسی می‌شوند (pri- MiRNA) و بعد از آن توسط آنزیم هسته‌ای دروشا به یک پیش‌ساز با ساختار سنجاق سری برش می‌خورند، که این ساختار 60 تا 70 نوکلئونید طول دارد (pre-miRNA) (2). ساختارهای ایجاد شده توسط اکسپورتین 5 به سیتوپلاسم منتقل شده و بعد از آن با برش توسط آنزیم دایسر به یک MicroRNAبالغ دورشته‌ای با تقریبا" 22 نوکلئوتید پردازش می‌شوند(3). در همراهی با کمپلکس القا کننده خاموشی RNA (RNA Inducing Silencing Complex)، یک رشته از این miRNA های بالغ به توالی mRNA ژن هدف در ناحیه 3 UTRمتصل می‌شود. این اتصال نهایتا" منجر به تجزیه رونوشت ژن هدف یا مهار ترجمه آن شده و سبب کاهش بیان پروتئین هدف می‌شود(4،5). نکته‌ای که در اینجا وجود دارد این است که miRNA ها می‌توانند چندین ژن هدف را با هم تنظیم کنند و به این‌صورت در فرایندهای مهمی مانند تنظیم سیستم ایمنی، هومئوستازی، رگ زایی، تکوین سلولی، تکثیر سلولی، تمایز و آپوپتوز دخیل هستند(6،9). کاهش یا افزایش در بیان miRNA ها در تومورهای مختلف سرطانی گزارش شده است. بعضی miRNA ها با توجه به این حالت به‌عنوان انکوژن و یا مهارکننده تومور مورد توجه قرار می‌گیرند(10،11). این مولکول‌ها در شروع سرطان و پیشرفت آن با مهار و بیان ژن‌های وابسته به سرطان درگیر هستند(12). به علاوه پروفایل بیانی miRNA می‌تواند مارکرهای مولکولی برای تشخیص و درمان سرطان باشد(13).

سرطان سینه شایع‌ترین نوع بدخیمی در زنان تقریبا" در اکثر کشورهای جهان و با فراوانی 73 درصد در کشورهای توسعه یافته می‌باشد و 23 درصد تمام انواع سرطان‌ها را شامل می‌شود. مطابق با گزارشات سازمان بهداشت جهانی فراوانی این سرطان به میزان 2 درصد در هر سال افزایش می‌یابد(14). درحقیقت سرطان سینه علت اصلی مرگ در زنان سرتاسر جهان می‌باشد(15). نوع اصلی سرطان سینه به‌صورت تک‌گیر (اسپورادیک) بوده که با محدوده فراوانی از 90 تا 95 درصد ارزیابی شده است، 5 تا 10 درصد باقی‌مانده شامل نوع خانوادگی می‌باشد(16). مطابق با ارزیابی‌ها، مشخص شده است که بیماران با سرطان سینه در ایران معمولا" نسبت به این بیماران در اروپا یا آمریکا جوان‌تر بوده و نوع سرطان در آنها به‌صورت خانوادگی و توارثی بوده و این ریسک فاکتور در آنها بیش‌تر بوده است(17). فراوان‌ترین ژن‌هایی که برای سرطان سینه پیشنهاد شده‌اند و استعداد ابتلا به بیماری را افزایش می‌دهند شامل BRCA1 and BRCA2, p53, PTEN, STK11/LKB1,and CDH1می‌باشند(15). به‌علاوه در سال‌های اخیر، با توجه به تحقیقات زیادی که بر روی miRNAهای مختلف در این سرطان انجام شده است، این مولکول‌ها به عنوان یکی از عوامل درگیر در سرطان در نظر گرفته می‌شوند.

به نظر می‌رسد، موتاسیون‌ها و یا بیان نامناسب miRNA ها با خطر ابتلا به انواع سرطان‌ها همراه باشد (13). با وجود اینکه پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) در جایگاه‌های هدف miRNA ها به میزان زیادی مورد بررسی قرار گرفته است(18،19)، اما اثر این تغییرات تک نوکلئوتیدی در miRNA ها تا حدود زیادی به صورت ناشناخته باقی‌مانده است. گزارش‌های مختلفی بیان کرده‌اند که تغییرات ژنتیکی در pre-miRNA می‌تواند سبب تغییر در بیان یا عملکرد بیولوژیکی miRNA بالغ شود و بدین وسیله بر روی استعداد ابتلا به سرطان تاثیر داشته باشد(20،21). مطالعات اخیر در حدود 323 واریانت را در توالی 227 miRNA بالغ و نواحی اطراف آن شناسایی کرده‌اند و 12 واریانت در درون پیش‌سازهای مربوط به miRNA قرار دارند(22). پلی مورفیسم rs895819 سبب تغییر نوکلئوتید(A>G و یا T>C) می‌شود و در ناحیه لوپ مربوط به pre-miR-27a قرار دارد (شکل 1). مطالعات مختلفی نشان داده‌اند که تغییرات تک نوکلئوتیدی در has-miR-27a می‌تواند به احتمال زیاد در استعداد ابتلا به سرطان نقش داشته باشد،

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-30]

با این وجود نتایج در این مطالعات تا حدودی متناقض هستند به‌صورتی‌که نقش همراهی در بعضی مطالعات دیده شده و در برخی دیگر عدم همراهی بین پلی‌مورفیسم و ریسک بیماری مشاهده شده است؛ البته این مورد را می‌توان به نوع توارث بیماری (اسپورادیک یا خانواگی) نیز نسبت داد(26 ،23). بنابراین هدف از این مطالعه تعیین نقش این پلی‌مورفیسم در همراهی با ریسک سرطان سینه اسپورادیک می‌باشد. به‌علاوه در این مطالعه همراهی بین پلی مورفیسم rs895819 و خصوصیات بالینی -پاتولوژیکی و پیشرفت بیماری مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از این بررسی می‌توان تغییر ژنتیکی در miR-27a را به‌عنوان بیومارکر استفاده کرد تا از این طریق به عنوان مارکری برای تشخیص زودهنگام سرطان سینه به کار رود و هم‌چنین از طرف دیگر امکان شناسایی افراد مستعد و دارای ریسک تا حدودی فراهم شود.



شکل شماره 1: ساختار پلی مورفیسم mir-27a همراه با ناحیه پلی مورفیسم، نواحی قرمز رنگ توالی mir بالغ را نشان می دهند.

مواد و روش ها

جمعیت مورد مطالعه

این مطالعه توصیفی- تحلیلی به روش مورد-شاهد انجام گرفت. نمونه‌های خونی پس از کسب رضایت نامه کتبی از افراد و ثبت اطلاعات دموگرافیک و بالینی آنها از طریق پرسش‌نامه، زیر نظر پزشک از بیمارستان هاجر شهرکرد جمع‌آوری شد. نمونه‌گیری به صورت تصادفی ساده از میان 120 فرد مراجعه‌کننده به بخش سرطان بیمارستان با تایید پاتولوژیک بیماری توسط پزشک متخصص انجام شد. بیماران مورد بررسی بدون تاریخچه خانوادگی مثبت برای بیماری بودند و موارد با بدخیمی‌های ثانویه و یا عودکننده از مطالعه حذف شدند. 120 نمونه کنترل از زنان سالمی که به پزشک مراجعه کرده بودند و هیچ‌گونه سابقه بیماری سرطان در آنها یا خانواده‌شان نبود گرفته شد. نمونه‌های کنترل و بیمار از نظر سن (5± سال) و منطقه جغرافیایی سکونت با افراد بیمار مطابقت داشتند. افراد کنترل با داشتن تاریخچه خانوادگی مثبت از نظر سرطان و یا علایم مشکوک از مطالعه حذف شدند. هم‌چنین تمامی افراد بیمار و سالم رابطه خویشاوندی با یک‌دیگر نداشتند.

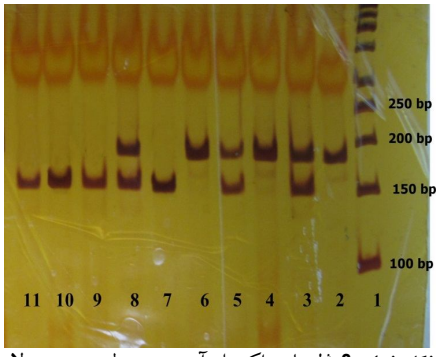
استخراج DNA ژنومیک و تعیین ژنوتیپ

از هر فرد (کنترل و بیمار) به میزان 2 میلی‌لیتر خون برای آزمایشات مولکولی گرفته شد. سپس نمونه‌های خونی به ظرف حاوی ماده ضد انعقاد EDTA (نیم مولار) منتقل شدند.نمونه‌ها تا زمان استخراج در فریزر 20- نگهداری شدند و سپس DNA ژنومیک با استفاده از روش فنل - کلروفرم استخراج شد و کیفیت و کمیت DNAاستخراج شده با اسپکتروفتومتر نانودراپ مورد بررسی قرار گرفت. برای تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها، ابتدا توالی ناحیه مورد نظر که شامل تغییر نوکلئوتیدی می‌باشد، از پایگاه داده‌های ژنومی گرفته شد و پرایمرهای مورد نظر برای تکثیر آن توسط نرم افزار Primer3طراحی شد. پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه به صورت پرایمر مستقیم: '5 'GAACTTAGCCACTGTGAACACCACTTGG 3و پرایمر معکوس: '5 TTGCTTCCTGTCACAAATCACATTG3' می‌باشند. انجام واکنش PCR جهت بررسی تغییر مورد نظر بر روی نمونه‌های DNA با استفاده از دستگاه ترموسا یکلر طبق شرایط دمایی زیر انجام شد: مرحله واسرشت اولیه 95 (Pre denaturation) درجه به مدت 5 دقیقه، 35 سیکل شامل 94 درجه (Denaturation) به مدت 40 ثانیه، دمای 61 (Annealing) درجه به مدت

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-30]

40 ثانیه و سنتز قطعات 72 درجه (Extension) به مدت 40 ثانیه و طویل سازی نهایی (Terminal extension) در 72 درجه به مدت 5دقیقه. مخلوط واکنش شامل : 2/5µL بافر PCR (10X) ، 1µL MgCl2 (mM)، 0/5µL از مخلوط dNTP(40mM) ،0/4µL ازهر کدام پرایمرهای مستقیم (F)و ریورس (R) (10pmol) ، 2µL از DNA ژنومیک (~100 (ngو نهایتا" نیم واحد آنزیم Taqپلیمراز (5(U/µLبود که با ddH2O به حجم 25 میکرولیتر رسانده شد. کلیه محصولات برای تایید نهایی روی ژل پلی اکریل آمید 8 درصد (نسبت 29:1 بیس اکریل آمید/ اکریل آمید) به مدت یک ساعت با ولتاژ 200 الکتروفورز شدند و ژل بدست آمده توسط نیترات نقره رنگ‌آمیزی گردید.

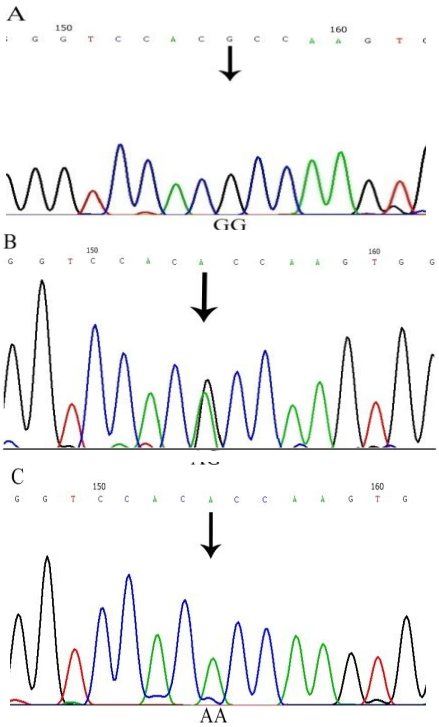
برای مشخص کردن ژنوتیپ نمونه‌های مورد نظر از روش RFLP استفاده شد. محصول PCR تحت تاثیر آنزیم DraIII (فرمنتاز) برای برش قرار گرفت. برای این منظور در هر میکروتیوب 10 µlاز محصولات PCR را با 0,5 µlآنزیم محدودکنندهٔ مورد نظر) 5 (U/µlو 2 µl بافر و 7,5 µlآب مقطر مخلوط نموده و به مدت 16 تا 24 ساعت در 37 درجه سانتیگراد قرار دادیم، سپس محصولات بدست آمده بر روی ژل 10 درصد پلی آکریل آمید به مدت 1 ساعت و با ولتاژ 200 الکتروفورز گردیدند. در صورت تغییر نوکلئوتیدی در جایگاهSNP ، جایگاه برش برای آنزیم ایجاد می‌شود و بر روی ژل دو قطعه 27 و 155 جفت بازی بوجود می‌آید، البته باند 27 جفت بازی به‌دلیل کوچک بودن از ژل خارج می‌شود. در صورت عدم تغییر در توالی جایگاه برش وجود نخواهد داشت و باند 182 جفت بازی) محصول (PCR دیده می‌شود. افراد هتروزیگوت بر روی ژل سه باند را ایجاد می کنند (شکل شماره 2).



شکل شماره 2: ژل پلی اکریل آمید مربوط به محصولات RFLP- شماره1 نشانگر اندازه، نمونه های ۲،۴ و 6 نمونه دارای ژنوتیپGG، نمونه های 3، 5 و 8 نمونه دارای ژنوتیپ GA، نمونه های 7، 9 تا 11 نمونه های دارای ژنوتیپ AA

تعیین توالی محصولات PCR-RFLP

برای تایید نتایج، در نهایت از روش تعیین توالی استفاده شد. برای این منظور، حدود 20 درصد نمونه‌های هموزیگوت و هتروزیگوت با حجم بیش‌تر توسط PCR تکثیر شده و برای تعیین توالی آماده شدند. واکنش تعیین توالی توسط دستگاه ABI (Capillary 3730XL (Systemانجام شد (شکل شماره 3).



شکل شماره 3: کروماتوگرام مربوط به تعیین توالی - نمونه های هموزیگوت بدون واریانت A، هتروزیگوت B و هموزیگوت دارای واریانت مورد نظر C

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-30]

آنالیز آماری

فرکانس آللی پلی مورفیسم برای تعادل هاردی- واینبرگ با استفاده از پایگاه آنلاین آمار عمومی و با اعتبار سنجی انجام شد(27) و نتایج با مقدار P کمتر از 0/05 به‌عنوان حالت تعادل در نظر گرفته شد. برای بررسی فرکانس آللی و ژنوتیپی بین افراد بیمار و سالم از آزمون کای اسکوئر استفاده شد. هم‌چنین برای محاسبه ریسک و سپس ارتباط بین فاکتورهای مختلف و ژنوتیپ‌های مورد بررسی از آزمون ANOVA استفاده شد. کلیه آزمون‌های انجام شده توسط نرم افزار SPPSS(v.20.0) انجام شد. میزان معناداری برای آزمون‌های استفاده شده کم‌تر از 0/05 در نظر گرفته شد.

یافته ها

در این مطالعه، DNA از نمونه‌های خون جمع‌آوری شده از زنان با سرطان سینه اسپورادیک و با سابقه خانوادگی (n=120) که سرطان در آنها توسط پزشک تایید شده بود جمع‌آوری شد. هم‌چنین از افراد کنترل (n=120) برای انجام مطالعه مقایسه‌ای نیز نمونه‌گیری انجام شد. سن بیماران در دامنه 26 تا 77 سال با میانگین 11± 51/8 سال و سن افراد شاهد در دامنه 16 تا 70 سال با میانگین 10/1± 36/9 سال بود (P<0/01). هیچ ارتباط معناداری بین BMI، یائسگی و دیگر پارامترهای مربوطه بین دو گروه مشاهده نشد (جدول 1).

جدول شماره 1: اطلاعات دموگرافیک افراد کنترل سالم و افراد با سرطان سینه

اطلاعات دموگرافیک		سرطان سینه میانگین± انحراف معیار	کنترل سالم میانگین± انحراف معیار	سطح معنی داری
سن		51/8±11	36/9± 10/1	0/01
BMI		23/8±3/1	24/1±2/8	0/094
تعداد حاملگی		3/8 ± 2/2	3/1 ± 2/3	0/011
کل مدت شیردهی		5/7 ± 4/5	4/7 ± 4/6	0/06
سن اولین یائسگی		20/3 ± 3/8	20/8 ± 4/1	0/312
سن تشخیص بیماری		50/5±11	-	-
مدت بیماری از زمان تشخیص		1/45±1/5	-	-
سن منارک		13/4 ± 1/1	13/25 ± 1/2	0/427
سن یائسگی		50/7 ± 4	48/8 ± 4/4	* 0/226
درجه	< 3	82	-	-
تومور	> 3	38	-	-
متاستاز به	+	68	-	-
گره لنفی	-	52	-	-
HER2	+	76	-	-
	-	44	-	-

* بر اساس آزمون من ویتنی

بعد از تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم rs895819 در تمامی افراد، آزمون مربع کای برای بررسی اینکه آیا افراد از تعادل هاردی واینبرگ تبعیت می کنند، استفاده شد. هیچ‌کدام از گروه‌ها از حالت تعادل منحرف نشدند، به‌صورتی‌که مقدار 2 χ برای افراد کنترل و بیمار به ترتیب برابر 0/12 و 2/39 بود (p>0/05). برای تعیین اینکه آیا پلی‌مورفیسم مورد مطالعه مشخص کننده استعداد ابتلا به سرطان سینه می‌باشد، توزیع پلی‌مورفیسم بین افراد کنترل و بیمار بررسی شد. نتایج مورد بررسی در جدول شماره 2 ارائه شده است.

جدول شماره 2: ارتباط همراهی بین ژنوتیپ های پلی مورفیسم rs895819 و ریسک بیماری سرطان سینه

ژنوتیپ	افراد سالم (٪) n=120	سرطان سینه (٪) n=120	OR(95%CI)	سطح معنی داری
AA	(48/3) 58	(65)78	1	-
AG	(43/3)52	(28/3)34	(0/843-0/281)/486	0/01
GG	(8/3)10	(6/7)8	(1/601-0/221) 0/595	0/3
AG+GG	62	42	(0/846- 0/3)0/504	0/009
آلل A	(70)168	(79/2)190	1	-
آلل G	(30)72	(20/8)50	(0/931-0/405)0/614	0/021

فرکانس آلل G در گروه کنترل به میزان 30 درصد و این میزان در افراد کنترل به مقدار کوچکی کم‌تر بود (20/8). و تغییر آللی در پلی‌مورفیسم سبب کاهش ریسک سرطان سینه در زنان می‌شد. در افرادی که دارای آلل G بودند ارتباط معناداری بین بیماری و تغییر آللی مشاهده نشد (0/061). در بررسی ارتباط بین سن افراد بیمار و ریسک بیماری، اثر وابسته به سن در پلی مورفیسم در افراد 45 سال مشاهده شد. مطالعه نشان داد که در مقایسه بین ژنوتیپ AA، ژنوتیپ‌های AG/GG ارتباط معنی‌داری با کاهش ریسک سرطان سینه دارد (95%CI=0/846-0/3, OR=0/504)، هیچ نوع همراهی معناداری با ریسک سرطان سینه در افراد 45 سال و بیش‌تر مشاهده نشد. به‌علاوه، همراهی بین پلی‌مورفیسم و ویژگی‌های کلینوپاتولوژیکی نیز مورد بررسی قرار گرفت (جدول 3). نتایج نشان داد هیچ نوع همراهی بین

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-30]

پلی‌مورفیسم و متاستاز به گره لنفی وجود ندارد. البته بین ژنوتیپ AG/GG و درجه تومور (grad) و HER2 ارتباط معناداری دیده شد (جدول3).

جدول شماره 3: ارتباط بین ژنوتیپ های پلی مورفیسم rs895819 و ویژگی های بالینی در بیماران سرطان سینه

متغیر		کنترل/ مورد	ژنوتیپ (کنترل/مورد) AA	AG/ GG	OR(95% CI)	سطح معنی داری
کل افراد مطالعه		120/120	78/58	42/62	(0/846- 0/3)0/504	0/009
سن	≤45		42/24	14/39	(0/452- 0/093) 0/205	0/001
	>45		36/34	28/23	(2/371-0/558) 1/150	0/705
متاستاز به	+	68/-	48/-	20/-	1	1
گره لنفی	-	52/-	30/-	22/-	(3/756-0/825) 1/760	0/14
درجه تومور	3 و بایستر	82/-	62/-	20/-	1	1
	بالاتر از 3	38 /-	19/-	19/-	(6/978 - 1/377) 3/1	0/005
HER2	+	76 /-	34 /-	42/-	1	1
	-	44/-	26/-	18/-	(1/189- 0/264) 0/560	0/13

بحث

در مطالعه حاضر، همراهی بین پلی‌مورفیسم rs895819در pre-miR-27a و سرطان سینه مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به فرکانس پایین ژنوتیپ GGو هم‌چنین بررسی OR در افراد هتروزیگوت و هموزیگوت AA ، این نتیجه حاصل می‌شود که احتمالا در اینجا یک مدل ژنتیکی غالب وجود دارد. بنابراین در بررسی‌ها، ژنوتیپ AG/GG به‌صورت یک ژنوتیپ ترکیبی در نظر گرفته شد. در مطالعه حاضر این نتیجه حاصل شد که افراد با ژنوتیپ AG/GG در مقایسه با افراد با ژنوتیپ AA به‌طور قابل توجهی دارای ریسک کاهش‌یافته سرطان‌سینه می‌باشند. به‌علاوه این اثر در افراد با سن زیر 45 سال و درجه توموری زیر 3 و داشتن فاکتور HER2 نیز به خوبی قابل مشاهده بود. تا جایی که اطلاعات ما آگاهی می‌دهد، این مطالعه اولین مطالعه بررسی نقش پلی‌مورفیسم rs895819 در pre-miR-27a در زنان با سرطان‌سینه در ایران می‌باشد.

در مطالعات اخیر، گزارشات متعددی ارایه شده‌اند که miRNA ها فاکتورهای بسیار مهمی در پیشرفت سرطان به عنوان انکوژن یا مهارکننده تومور با تجزیه رونوشت‌های ژن‌های هدف یا مهار ترجمه آنها می‌باشند(28). هم‌چنین miRNA ها به‌عنوان مارکرهای بالقوه تشخیصی و هدف‌های درمانی در سرطان‌های انسانی مورد توجه بسیار قرار گرفته‌اند(29). در مورد سرطان سینه نیز موارد بسیاری از miRNA ها درگیر هستند(30). بیان متغیر در میزان miRNA ها نیز می‌تواند در اثر واریانت‌های مختلف در توالی آن مانند موتاسیون و SNP رخ دهد(31). از آن‌جایی که rs895819 در لوپ مربوط به pre-miR-27a قرار دارد، اطلاعات مربوط به تغییر واریانت بر روی ساختار ثانویه آن با استفاده از برنامه RNAfold بررسی شد(32). مطابق با پیش‌بینی این برنامه مشخص شد که واریانت G در پلی مورفیسم بر روی کونفورماسیون ساختاری miRNA و نیز بر روی انرژی آزاد آن تاثیر نمی‌گذارد. پیش بینی می شود که موتاسیون‌های موجود در نواحی مهم miRNAکه بر روی ساختار آن تاثیر می‌گذارند، می توانند در بلوغ و پردازش آن نقش بسزایی داشته باشند(33).

Yang و همکاران اولین بار اثر حفاظتی پلی مورفیسم rs895819 را در یک گروه بزرگ از افراد با سرطان سینه فامیلی در آلمان با روش تعیین توالی مستقیم نشان دادند؛ با این وجود Catucci و همکاران(23) هیچ‌گونه همراهی بین این پلی مورفیسم و ریسک سرطان سینه در افراد ایتالیایی با سرطان سینه خانوادگی پیدا نکردند. بعد از آن Yang و همکارانش برای این نتیجه متناقض بیان کردند که احتمالا نوع روش بررسی در نمونه‌ها بر روی نتایج حاصل از مطالعه می‌تواند تاثیرگذار باشد. مطالعه حاضر نشان داد که افراد با G آلل کاهش قابل توجهی در ریسک سرطان سینه را نشان می دهند که به خصوص در افراد جوان (45 ≤) واضح‌تر است (P=0/001)، اما در افراد با سن بالاتر اینگونه نبود. در مطالعه Yang و همکاران(34)، آلل G همراه با کاهش ریسک سرطان سینه بوده و این اثر در گروه سنی کوچکتر از 50 سال مشاهده شده است. با این وجود، مطالعه قبلی توسط Yang گزارش داد که

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-30]

rs895819 همراه با افزایش ریسک سرطان معده در بین افراد بالاتر از 58 سال نسبت به افراد جوانتر بوده است(35،25). در مطالعه Zhang نیز آلل G در افراد جوان کاهش ریسک سرطان را به‌همراه دارد(36). این نتایج مختلف البته می‌تواند به تومورزایی متفاوت انواع مختلف تومور نسبت داده شود. بنابراین در مورد نتایج وابسته به سن، داده‌های این مطالعه در مورد فراوانی آللی با نتایج دیگر مطالعات مطابقت دارد. مطالعات دیگری نیز اثبات کرده‌اند که نواحی مهم در توالی miRNA ها می‌تواند بر عملکرد بیولوژیکی و بیان آن تاثیر داشته باشد(37). Sun و همکاران(25) گزارشی از تاثیر قابل توجه ژنوتیپ rs895819 بر روی بیان miR-27a در سرطان معده ارائه دادند و اثبات کردند که بیان miR-27a در موارد با ژنوتیپ AG/GG به طور قابل توجهی در مقایسه با ژنوتیپ AA کمتر بود. در مطالعه Zhang و همکاران(36) نیز مشخص شد که بیان miR-27a در نمونه‌های سرطان سینه با ژنوتیپ AG/GG در مقایسه با نمونه‌های دارای ژنوتیپ AA بسیار کم‌تر بود و این نشان داد که تبدیل A به G باعث کاهش بیان این miRNA می‌شود. از طرف دیگر، در بررسی متاستاز به گره لنفی هیچ‌گونه همراهی بین متاستاز و پلی‌مورفیسم و هم‌چنین HER2 و تغییر ژنتیکی miR-27a مشاهده نشد. اما در درجه توموری بالاتر از 3 میزان ریسک با تغییر آللی به میزان زیادی معنادار بوده است. عدم همراهی با فاکتور HER2 در مطالعات Zang در جمعیت چین در مورد سرطان سینه اسپورادیک نیز مشاهده شد. در همین مطالعه همراهی بین درجه تومور و ریسک سرطان سینه نیز مشاهده نشد(36). هم‌چنین در مطالعه Tang و همکاران(38) نیز که بر روی میزان بیان miR-27a در افراد با سرطان سینه کار شده است نیز مشخص شد که تغییرات بیان در اثر تغییرات آللی همراهی معناداری با HER2 ندارد، اما می‌تواند بر روی درجه تومور تاثیر داشته باشد.

در پایان می‌توان نتیجه گرفت که مطالعه حاضر نشان داد آلل G که عامل کاهش میزان miR-27a می‌باشد، سبب کاهش ریسک سرطان سینه اسپورادیک، به خصوص در افراد جوانتر می‌شود. اما با این وجود، نتایج با مطالعات گسترده‌تر و هم‌چنین بررسی مکانیسم‌های مولکولی درگیر در آن از جمله ژن‌های هدف می‌تواند این ارتباط را مشخص‌تر کند.

سپاسگزاری

بدین وسیله از کلیه افرادی که در این مطالعه ما را یاری کردند سپاسگزاری می کنیم به خصوص عزیزانی که با دادن نمونه پیشبرد مطالعه را امکان‌پذیر ساختند. این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم بنت‌الهدی شکاری برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته ژنتیک می‌باشد.

References

1. Sun K, Lai EC. Adult-specific functions of animal microRNAs. Nat Rev Genet. 2013;14(8):535-548.
2. Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. Nature. 2003;425(6956):415-419.
3. Kim YK, Kim B, Kim VN. Re-evaluation of the roles of DROSHA, Exportin 5, and DICER in microRNA biogenesis. Proc Natl Acad Sci USA. 2016;113(13):E1881-E1889.
4. Martinez J, Patkaniowska A, Urlaub H, Lührmann R, Tuschl T. Single-stranded antisense siRNAs guide target RNA cleavage in RNAi. Cell. 2002;110(5):563-574.
5. Schwarz DS, Hutvágner G, Haley B, Zamore PD. Evidence that siRNAs function as guides, not primers, in the

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-30]

Drosophila and human RNAi pathways. Mole Cell. 2002;10(3):537-548.

6. Baltimore D, Boldin MP, O'Connell RM, Rao DS, Taganov KD. MicroRNAs: new regulators of immune cell development and function. Nat Immunol. 2008;9(8):839-845.
7. Chang T-C, Wentzel EA, Kent OA, Ramachandran K, Mullendore M, Lee KH, et al. Transactivation of miR-34a by p53 broadly influences gene expression and promotes apoptosis. Mol Cell. 2007;26(5):745-752.
8. Calin GA, Cimmino A, Fabbri M, Ferracin M, Wojcik SE, Shimizu M, et al. MiR-15a and miR-16-1 cluster functions in human leukemia. Proceedings of the National Academy of Sciences(PNAS). 2008;105(13):5166-5171.
9. Xiao C, Rajewsky K. MicroRNA control in the immune system: basic principles. Cell. 2009;136(1):26-36.
10. Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, Byrom M, Jarvis R, Cheng A, et al. RAS is regulated by the let-7 microRNA family. Cell. 2005;120(5):635-647.
11. He L, Thomson JM, Hemann MT, Hernando-Monge E, Mu D, Goodson S, et al. A microRNA polycistron as a potential human oncogene. Nature. 2005;435(7043):828-833.
12. Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs—microRNAs with a role in cancer. Nat Rev Cancer. 2006;6(4):259-269.
13. Hayes J, Peruzzi PP, Lawler S. MicroRNAs in cancer: biomarkers, functions and therapy. Trends Mol Med. 2014;20(8):460-469.
14. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. CA Cancer J Clin. 2015;65(1):5-29.
15. Kuusisto KM, Bebel A, Vihinen M, Schleutker J, Sallinen S-L. Screening for BRCA1, BRCA2, CHEK2, PALB2, BRIP1, RAD50, and CDH1 mutations in high-risk Finnish BRCA1/2-founder mutation-negative breast and/or ovarian cancer individuals. Breast Cancer Res. 2011;13(1):R20.
16. García JM, Silva J, Peña C, Garcia V, Rodríguez R, Cruz MA, et al. Promoter methylation of the PTEN gene is a common molecular change in breast cancer. Genes Chromosomes Cancer. 2004;41(2):117-124.
17. Karami F, Mehdipour P. A Comprehensive Focus on Global Spectrum of BRCA1 and BRCA2 Mutations in Breast Cancer. BioMed Res Int. 2013;2013: 928562.
18. Tchatchou S, Jung A, Hemminki K, Sutter C, Wappenschmidt B, Bugert P, et al. A variant affecting a putative miRNA target site in estrogen receptor (ESR) 1 is associated with breast cancer risk in premenopausal women. Carcinogenesis. 2009;30(1):59-64.
19. Landi D, Gemignani F, Naccarati A, Pardini B, Vodicka P, Vodickova L, et al. Polymorphisms within micro-RNA-binding sites and risk of sporadic colorectal cancer. Carcinogenesis. 2008;29(3):579-584.
20. Gao LB, Bai P, Pan XM, Jia J, Li LJ, Liang WB, et al. The association between two polymorphisms in pre-miRNAs and breast cancer risk: a

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-30]

meta-analysis. Breast Cancer Res Treat. 2011;125(2):571-574.

21. Peng S, Kuang Z, Sheng C, Zhang Y, Xu H, Cheng Q. Association of microRNA-196a-2 gene polymorphism with gastric cancer risk in a Chinese population. Dig Dis Sci. 2010;55(8):2288-2293.
22. Duan R, Pak C, Jin P. Single nucleotide polymorphism associated with mature miR-125a alters the processing of pri-miRNA. Hum Mol Genet. 2007;16(9):1124-1131.
23. Catucci I, Verderio P, Pizzamiglio S, Bernard L, Dall'olio V, Sardella D, et al. The SNP rs895819 in miR-27a is not associated with familial breast cancer risk in Italians. Breast Cancer Res Treat. 2012;133(2):805-807.
24. Hezova R, Kovarikova A, Bienertova-Vasku J, Sachlova M, Redova M, Vasku A, et al. Evaluation of SNPs in miR-196-a2, miR-27a and miR-146a as risk factors of colorectal cancer. World J Gastroenterol. 2012;18(22):2827-2831.
25. Sun Q, Gu H, Zeng Y, Xia Y, Wang Y, Jing Y, et al. Hsa-mir-27a genetic variant contributes to gastric cancer susceptibility through affecting miR-27a and target gene expression. Cancer Sci. 2010;101(10):2241-2247.
26. Shi D, Li P, Ma L, Zhong D, Chu H, Yan F, et al. A genetic variant in pre-miR-27a is associated with a reduced renal cell cancer risk in a Chinese population. PLoS One. 2012;7(10):e46566.
27. Rodriguez S, Gaunt TR, Day IN. Hardy-Weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for Mendelian randomization studies. Am J Epidemiol. 2009;169(4):505-514.
28. Lin S, Gregory RI. MicroRNA biogenesis pathways in cancer. Nat Rev Cancer. 2015;15(6):321-333.
29. Osaki M, Takeshita F, Ochiya T. MicroRNAs as biomarkers and therapeutic drugs in human cancer. Biomarkers. 2008;13(7): 658-670.
30. Verghese ET, Hanby AM, Speirs V, Hughes TA. Small is beautiful: microRNAs and breast cancer—where are we now? J Pathol. 2008;215(3):214-221.
31. Kapeller J, Houghton LA, Mönnikes H, Walstab J, Möller D, Bönisch H, et al. First evidence for an association of a functional variant in the microRNA-510 target site of the serotonin receptor-type 3E gene with diarrhea predominant irritable bowel syndrome. Hum Mol Genet. 2008;17(19):2967-2977.
32. Markham NR, Zuker M. DINAMelt web server for nucleic acid melting prediction. Nucleic Acids Res. 2005;33(suppl 2):W577-W81.
33. Hu Z, Chen J, Tian T, Zhou X, Gu H, Xu L, et al. Genetic variants of miRNA sequences and non–small cell lung cancer survival. J Clin Invest. 2008;118(7):2600-2608.
34. Yang R, Schlehe B, Hemminki K, Sutter C, Bugert P, Wappenschmidt B, et al. A genetic variant in the pre-miR-27a oncogene is associated with a reduced familial breast cancer risk. Breast Cancer Res Treat. 12(13):693-702.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-30]

35. Yang Q, Jie Z, Ye S, Li Z, Han Z, Wu J, et al. Genetic variations in miR-27a gene decrease mature miR-27a level and reduce gastric cancer susceptibility. Oncogene. 2014;33(2):193-202.
36. Zhang N, Huo Q, Wang X, Chen X, Long L, Jiang L, et al. A genetic variant in pre-miR-27a is associated with a reduced breast cancer risk in younger Chinese population. Gene. 2013;529(1):125-130.
37. Calin GA, Ferracin M, Cimmino A, Di Leva G, Shimizu M, Wojcik SE, et al. A MicroRNA signature associated with prognosis and progression in chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med. 2005;353(17):1793-1801.
38. Tang W, Zhu J, Su S, Wu W, Liu Q, Su F, et al. MiR-27 as a prognostic marker for breast cancer progression and patient survival. PloS One. 2012;7(12):e51702.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-30]