

پیش‌بینی بیوانفورماتیک miRNAهای هدف‌گیرنده ژن‌های E6 و E7 ویروس پاپیلوما‌ی انسانی تیپ ۱۶ و ۱۸ در سرطان دهانه رحم

طاہره عظیمی^۱، ملیحه باقری^۱، مهدی پریان^۲، بهزاد خوانساری‌نژاد^۳، اشرف زمانی^۴، *مهدیه موندنی‌زاده^۵

۱. گروه زیست فناوری و پزشکی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.
۲. بخش تحقیق و توسعه، مجتمع تولیدی و تحقیقاتی انستیتو پاسور ایران، تهران، ایران.
۳. گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.
۴. گروه زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.
۵. مرکز تحقیقات پزشکی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: سرطان دهانه رحم (CC) سومین بدخیمی شایع در خانم‌هاست که عمده‌ترین علت ایجاد آن، ویروس پاپیلوما‌ی انسانی (HPV) است. دو آنکوژن E6 و E7 این ویروس در روند تومورزایی آن نقش مهمی ایفا می‌کنند. امروزه، روش‌های موجود برای غربالگری CC توانایی تشخیص بیماری را در مراحل اولیه ندارند؛ بنابراین، شناسایی بیومارکرهای جدید جهت تشخیص به‌موقع این سرطان حائز اهمیت است. بدین منظور، در مطالعه حاضر، miRNAهای هدف‌گیرنده دو آنکوژن E6 و E7 ویروس پاپیلوما‌ی انسانی (تیپ ۱۶ و ۱۸) در CC با روش‌های بیوانفورماتیکی مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها: ابتدا با استفاده از پایگاه NCBI توالی ژن‌های E6 و E7 برای هر دو تیپ ۱۶ و ۱۸ ویروس پاپیلوما‌ی انسانی به دست آمد. سپس با استفاده از پایگاه‌های بیوانفورماتیکی miRBase و RNA22 مناسب‌ترین miRNAهای هدف‌گیرنده ژن‌های مذکور انتخاب شدند.

ملاحظات اخلاقی: این مطالعه در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اراک تصویب شد.

یافته‌ها: با توجه به میزان p-value به‌دست‌آمده از پایگاه‌های بیوانفورماتیکی، miRNAهای miR-92a-5p (p-value=7/51e-2)، miR-34a-5p (p-value=2/73e-1)، miR-195-3p (p-value=2/24e-1) و miR-155-5p (p-value=4/95e-2) برای دو ژن E6 و E7 معرفی شدند.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از بررسی‌های بیوانفورماتیکی نشان داد از بین چهار miRNA شناسایی‌شده، احتمالاً miR-155-5p و miR-92a-5p به ترتیب به عنوان miRNAهای هدف‌گیرنده اختصاصی ژن‌های E6 و E7 هستند؛ بنابراین، به نظر می‌رسد این miRNAها می‌توانند کاندید مناسبی برای مطالعات آزمایشگاهی در بیماران مبتلا به CC باشند.

اطلاعات مقاله:

تاریخ دریافت: ۳۱ شهریور ۱۳۹۸

تاریخ پذیرش: ۲۷ آبان ۱۳۹۸

تاریخ انتشار: ۱۱ مرداد ۱۳۹۹

کلیدواژه‌ها:

پایگاه‌های بیوانفورماتیک، miRNA، سرطان دهانه رحم، ویروس پاپیلوما‌ی انسانی

مورد جدید و ۲۴۵۶۷۲ مرگ‌ومیر سالانه در ارتباط با آن گزارش شده است [۴].

عوامل مؤثر در ابتلا به این سرطان ویروس پاپیلوما‌ی انسانی (HPV)، داشتن شرکای جنسی متعدد، سن کمتر از ۱۶ سال در اولین مقاربت، عفونت‌های مقاربتی و نقص و یا سرکوب سیستم ایمنی است [۵]. در این میان عمده‌ترین علت ایجاد CC ویروس پاپیلوما‌ی انسانی است که دو تیپ ۱۶ و ۱۸ آن سبب بیش از ۷۰ درصد موارد این سرطان می‌شوند [۶، ۷]. این ویروس، شایع‌ترین عفونت منتقله از راه جنسی است که می‌تواند در طی چندین سال سبب بروز کارسینوما‌ی سنگفرشی دهانه رحم شود [۸].

سرطان یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشت عمومی در سراسر جهان است که به عنوان دومین علت اصلی مرگ‌ومیر شناخته شده است [۱]. امروزه، سرطان سرویکس^۱ یا سرطان دهانه رحم یکی از بدخیمی‌های شایع است که در اثر رشد غیرطبیعی سلول‌ها در ناحیه انتهایی رحم که به واژن متصل می‌شود، ایجاد می‌شود [۲]. این سرطان سومین سرطان شایع در زنان پس از سرطان‌های سینه و کولورکتال است [۳] که حدود ۵۲۷۶۲۴

1. Cervical Cancer (CC)

* نویسنده مسئول:

مهدیه موندنی‌زاده

نشانی: اراک، دانشگاه علوم پزشکی اراک، مرکز تحقیقات پزشکی و مولکولی.

تلفن: ۳۴۱۷۲۵۲۶ (۸۶) ۰۹۸+

پست الکترونیکی: m_mondanizadeh@yahoo.com



ارتباط بین miR-195-5p و مسیر سیگنالینگ TNF را در CC تایید کردند [۲۰]. در مطالعات دیگر با استفاده از آنالیزهای بیوانفورماتیکی نشان داده شد ژن‌های هدف miR-155-5p و miR-92a در CC می‌تواند به ترتیب ژن‌های TP53INP1 و FBXW7 باشد [۲۲، ۲۱]. همچنین، miRNAهای مؤثر در فرایند مهار رگ‌زایی در سرطان با استفاده از آنالیزهای بیوانفورماتیکی شناسایی شد [۲۳].

در این مطالعه نیز با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی به پیش‌بینی miRNAهای هدف‌گیرنده ژن‌های E6 و E7 و ویروس پاپیلومای انسانی تیپ ۱۶ و ۱۸ در CC پرداخته شد و miRNAهای منتخب بر اساس بهترین اتصال به ژن‌های هدف جهت استفاده در پژوهش‌های آزمایشگاهی شناسایی شدند.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر یک بررسی تئوری بیوانفورماتیک است.

اخذ توالی ژن‌های E6 و E7 از بانک جهانی ژنی NCBI

در مرحله اول به منظور اخذ توالی مربوط به ژن‌های E6 و E7 از تیپ ۱۶ و ۱۸ ویروس پاپیلومای انسانی سایت NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>) مورد استفاده قرار گرفت. بدین صورت که ابتدا در پایگاه داده Gene نام ژن‌های موردنظر با نمادهای رسمی E6 و E7 به ترتیب مورد جست‌وجو قرار گرفت و سپس توالی ژن E6 برای HPV16 و HPV18 به ترتیب با شماره‌های دسترسی NC_001526/4 (توالی ۷۱۲۵ تا ۷۶۰۱) و NC_001357.1 (توالی ۱۰۵ تا ۵۸۱) و همچنین توالی ژن E7 برای HPV16 و HPV18 به ترتیب با شماره‌های دسترسی NC_001526/4 (توالی ۷۶۰۴ تا ۷۹۰۰) و NC_001357/1 (توالی ۵۹۰ تا ۹۰۷) با فرمت FASTA دریافت شد.

پیش‌گویی miRNAهای هدف‌گیرنده ژن‌های E6 و E7 از پایگاه‌های بیوانفورماتیکی Miranda, Vir-Mir, Target scan و miRNA path

به منظور پیش‌گویی miRNAهای هدف‌گیرنده ژن‌های E6 و E7 از پایگاه‌های بیوانفورماتیکی Miranda, Vir-Mir, Target scan و miRNApath استفاده شد.

پیش‌گویی miRNAهای هدف‌گیرنده ژن‌های E6 و E7 از پایگاه بیوانفورماتیکی miRBase

پایگاه اطلاعاتی miRBase (www.mirbase.org) یک منبع آنلاین است. این پایگاه در پیش‌گویی خیلی نقشی ندارد و بیشتر برای شناسایی توالی و خصوصیت miRNAها مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این مطالعه، برای تعیین توالی miRNAهای شناسایی‌شده، از پایگاه miRBase استفاده شد. بدین صورت

پروتئین‌های E6 و E7 در ژنوم HPV به عنوان انکوژن‌های ویروسی شناخته شده‌اند [۹]. این دو پروتئین از طریق مهار ژن‌های سرکوبگر تومور P53 و Rb سبب طولانی شدن چرخه سلولی، مهار آپوپتوز و پیشروی سلول‌ها به سمت بدخیمی می‌شوند [۱۱، ۱۰]. این سرطان یک بدخیمی بسیار کشنده است، اما به دلیل دارا بودن مراحل پیش‌سرطانی طولانی، در صورتی که در مراحل اولیه شناسایی و درمان شود، قابل پیشگیری است [۱۲]. با وجود پیشرفت‌های اخیر در زمینه غربالگری CC باز هم تکنیک‌ها و روش‌های موجود جهت شناسایی و تشخیص این سرطان، تهاجمی و نامناسب هستند [۱۳]؛ بنابراین، ضرورت نیاز به بیومارکرهایی که توانایی تشخیص بیماری را در مراحل اولیه به صورت سریع و با حساسیت و اختصاصیت بالا داشته باشند، احساس می‌شود.

میکرو RNAها (miRNAs) مولکول‌های RNA غیرکدکننده با طول تقریبی ۱۸ تا ۲۳ نوکلئوتید هستند که سبب تنظیم بیان ژن در یوکاریوت‌ها می‌شوند. این مولکول‌ها از طریق اتصال به mRNA هدف سبب تجزیه آن یا مهار ترجمه شده و بدین صورت سبب تنظیم بیان ژن در مرحله بعد از رونویسی می‌شوند [۱۴]. شواهد مختلف نشان داده است که یک نوع miRNA توانایی اتصال به چندین ژن هدف را دارد. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که یک miRNA می‌تواند بیان تعداد زیادی از پروتئین‌ها را تنظیم کند [۱۵]. همچنین، نقش miRNAها در تنظیم فرایندهای مختلف از جمله رشد، تکثیر، تمایز، آپوپتوز و چرخه سلولی نشان‌دهنده نقش مستقیم miRNAها در سرطان‌هاست [۱۶]. از این رو استفاده از این مولکول‌ها به عنوان بیومارکرهای غیرتهاجمی در تشخیص سرطان‌ها از جمله CC در بین محققین بسیار مورد توجه قرار گرفته است.

از طرفی استفاده از پایگاه‌های بیوانفورماتیکی متعدد برای پیش‌بینی miRNAها موجب می‌شود تا در ابتدا برهم‌کنش احتمالی ژن‌ها با miRNAها پیش‌بینی شود و سپس آزمایشات تجربی برای اثبات این ارتباط صورت پذیرد که این امر خود باعث کاهش هزینه و اتلاف وقت خواهد شد [۱۷]؛ بنابراین رویکردهای بیوانفورماتیکی بسیار حساسی برای پیش‌گویی miRNAها طراحی شده است که مطالعات گسترده‌ای با بهره‌گیری از این رویکردها، به پیش‌گویی miRNAها در بیماری‌های مختلف پرداخته‌اند. مطالعه مرادی و همکاران به پیش‌بینی miRNAهای هدف‌گیرنده ژن‌های HBx و NOTCHE1 در هیپاتوسلولار کارسینوما با استفاده از نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی با الگوریتم‌های مختلف پرداخته است [۱۸]. علاوه بر این، مطالعه رستمیان دل‌اور و همکاران نشان‌دهنده پیش‌بینی miRNAهای هدف‌گیرنده ژن‌های Sirt1 و Bcl2 در مدل بیماری پارکینسون با بهره‌گیری از ابزارهای بیوانفورماتیکی بود [۱۹].

لی و همکارانش با استفاده از پایگاه بیوانفورماتیکی DIANA

یافته‌ها

نتایج حاصل از پیش‌گویی miRNA های هدف‌گیرنده ژن‌های E6 و E7 از پایگاه‌های بیوانفورماتیکی Miranda، Vir-Mir، miRNA path و Target scan

در این مطالعه از پایگاه‌های بیوانفورماتیکی متعددی از جمله Target scan، Miranda، Vir-Mir و miRNA path برای پیش‌گویی miRNA های هدف‌گیرنده ژن‌های E6 و E7 ویروس پاپیلومای انسانی تیپ ۱۶ و ۱۸ استفاده شد، اما به دلیل اختصاصیت این پایگاه‌ها به توالی‌های انسانی و همچنین ناقص بودن بانک‌های ویروسی امکان پیش‌گویی برای ژن‌های این ویروس میسر نبود و هیچ داده‌ای به دست نیامد؛ بنابراین، با استفاده از نتایج مطالعات پیشین، miRNA های مربوط به ژن‌های ویروسی E6 و E7 از جمله miR-92a-5p، miR-195-3p، miR-34a-5p و miR-155-5p شناسایی شدند [۲۲، ۲۰] و با استفاده از پایگاه‌های miRBase و RNA22 مورد تأیید قرار گرفتند.

که در قسمت By miRNA identifier or keyword نام هر miRNA وارد شد و بعد از submit و انتخاب miRNA موردنظر توالی مربوط به آن دریافت شد.

پیش‌گویی miRNA های هدف‌گیرنده ژن‌های E6 و E7 از پایگاه بیوانفورماتیکی RNA22

این پایگاه اطلاعاتی از طریق سایت <http://cm.jefferson.edu/rna22/Interactive> در دسترس است و از آن برای تأیید پیش‌گویی‌های صورت‌گرفته استفاده شد. بدین صورت که با قرار دادن توالی miRNA که از سایت miRBase به دست آمده بود و توالی ژن موردنظر که از سایت NCBI به دست آمده بود با فرمت FASTA، رابطه مکملی بین miRNA و ژن هدف بر اساس p-value مشخص شد. مقدار p-value امکان تصادفی متصل شدن به miRNA هدف را بیان می‌کند؛ به طوری که هر چه میزان p-value کمتر باشد، معنادارتر است و نشان می‌دهد که miRNA شانس بیشتری برای اتصال به ژن هدف دارد.

جدول ۱. نتایج پیش‌گویی miR-92a-5p هدف‌گیرنده ژن E7 در پایگاه RNA22

P	Type HPV	miRNA
-	HPV16 E6	miR-92a-5p
7.51e-2	HPV16 E7	miR-92a-5p
-	HPV18 E6	miR-92a-5p
-	HPV18 E7	miR-92a-5p



جدول ۲. نتایج پیش‌گویی miR-195-3p هدف‌گیرنده ژن‌های E6 و E7 در پایگاه RNA22

P	Type HPV	miRNA
-	HPV16 E6	miR-195-3p
2.24e-1	HPV16 E7	miR-195-3p
3.99e-2	HPV18 E6	miR-195-3p
-	HPV18 E7	miR-195-3p



جدول ۳. نتایج پیش‌گویی miR-34a-5p هدف‌گیرنده ژن‌های E6 و E7 در پایگاه RNA22

P	Type HPV	miRNA
-	HPV16 E6	miR-34a-5p
-	HPV16 E7	miR-34a-5p
2.73e-1	HPV18 E6	miR-34a-5p
5.33e-2	HPV18 E7	miR-34a-5p



جدول ۴. نتایج پیش‌گویی miR-155-5p هدف‌گیرنده ژن E6 در پایگاه RNA22

P	Type HPV	miRNA
4.95e-2	HPV16 E6	miR-155-5p
-	HPV16 E7	miR-155-5p
-	HPV18 E6	miR-155-5p
-	HPV18 E7	miR-155-5p



جدول ۵. کلیه miRNAهای انتخاب‌شده جهت بررسی میزان بیان در افراد مبتلا به سرطان دهانه رحم

شماره شناسایی	miRNA	نام ژن
MIMAT0000646	has-miR-155-5p	E6 (HPV16)
MIMAT0004615	has-miR-195-3p	E6 (HPV18)
MIMAT0000255	has-miR-34a-5p	E6 (HPV18)
MIMAT0004507	has-miR-92a-5p	E7 (HPV16)
MIMAT0004615	has-miR-195-3p	E7 (HPV16)
MIMAT0000255	has-miR-34a-5p	E7 (HPV18)



miR-92a-5p با p-value برابر با $7/5e-2$ فقط ژن E7 مربوط به HPV16 را هدف‌گیری می‌کند (جدول شماره ۱). همچنین، miR-195-3p قابلیت اتصال به ژن‌های E7 مربوط به HPV16 و E6 مربوط به HPV18 را به ترتیب با میزان p-value $1-2/24e$ و $2-3/99e$ را دارد (جدول شماره ۲)؛ بنابراین، miR-195-3p می‌تواند به هر دو ژن E6 و E7 اتصال یابد که در این بین به دلیل میزان p-value کمتر اتصال قوی‌تری را با ژن E7 مربوط

نتایج حاصل از پیش‌گویی miRNAهای هدف‌گیرنده ژن‌های E6 و E7 از پایگاه بیوانفورماتیکی RNA22

پیش‌گویی miRNA هدف‌گیرنده ژن‌های E6 و E7 در دو تیپ HPV18 و HPV16 در پایگاه بیوانفورماتیکی RNA22 برای هر چهار miRNA موردنظر (miR-92a-5p، miR-195-3p، miR-34a-5p و miR-155-5p) صورت گرفت. این نتایج نشان داد که

همکاران در سال ۲۰۱۹ با استفاده از داده‌های بیوانفورماتیکی و روش Real time PCR، miR-5193 را به عنوان یکی از بیومارکرهای اختصاصی در تشخیص هیپاتوسلولار کارسینوما معرفی کردند [۳۵]. بختیاری و همکاران نیز در سال ۲۰۱۵ مبتنی بر تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک و بررسی بیان، miR-29 را به عنوان مهارکننده مسیر PI3K/AKT در رده‌های سلولی سرطان پروستات معرفی کردند [۳۶]. همچنین، مطالعات پیشین نشان‌دهنده وجود شش miRNA شامل miR-565-5p، miR-454-5p، miR-6841-3p، miR-4779-3p، miR-6779-3p و miR-3156-3p در سلول‌های دارای ژن‌های E6 و E7 بود که در این میان miR-3156-3p کاهش بیان را در ضایعات CC نشان می‌داد. از این رو مشخص شد که این miRNA دارای نقش سرکوب‌کنندگی در CC است و کاهش بیان آن در استقرار CC در افراد مبتلا به سویه‌های High Risk ویروسی نقش دارد [۳۷]. همچنین، در مطالعه‌ای دیگر مشخص شد که در سلول‌های آلوده با ژن‌های E6 و E7 ویروسی، میزان بیان miRNAهایی از جمله miR-17-5p، miR-7-5p، miR-629-5p، miR-378f، miR-378a-3p، miR-186-5p و miR-186-5p کاهش یافت و miRNAهایی از جمله miR-27b-3p، miR-23b-3p، miR-23a-3p و miR-143-3p دچار افزایش بیان شدند. این نتیجه نشان داد که بیان آنکوژن‌های ویروسی E6 و E7 احتمالاً پروفاایل بیانی برخی از miRNAهای سلولی را تغییر می‌دهد [۳۸].

از طرفی در مطالعه لوئیس و همکارانش نمونه‌های دارای ضایعات پیش‌بدخیم و نمونه‌های مبتلا به CC در کنار نمونه کنترل از افراد سالم مورد بررسی قرار گرفت و نشان داده شد که هشت miRNA از جمله miR-16، miR-25، miR-92a، miR-29a، miR-27a، miR-22، miR-378، miR-100 و miR-100 دارای بالاترین دقت برای تشخیص CC هستند و می‌توانند برای تمایز بین بیماران مبتلا به CC و افراد سالم مورد استفاده قرار گیرند [۳۹]. همچنین، نتایج مطالعات دیگر کاهش بیان miR-195 را در بافت‌های سرطانی نشان داد از این رو پیشنهاد شد که این مولکول نیز می‌تواند جهت افتراق بافت نرمال و سرطانی در مراحل اولیه بیماری مورد استفاده قرار گیرد [۴۰]. بنابراین، با توجه به نتایج مطالعات پیشین می‌توان اظهار کرد داشتن یک پروفاایل بیانی از miRNAها دارای ارزش بالینی قابل توجهی در تشخیص CC است.

در این مطالعه، با توجه به نقش ژن‌های E6 و E7 ویروس پاپیلوما انسانی در ایجاد CC، از نرم‌افزارها و پایگاه‌های بیوانفورماتیکی مختلفی به منظور شناسایی و پیشگویی miRNAهای هدف‌گیرنده ژن‌های مذکور استفاده شد که هیچ‌یک از آن‌ها قادر به شناسایی توالی‌های ویروسی نبودند که این مسئله از جمله موارد محدودیت در این مطالعه به حساب می‌آید. بدین منظور از دو سایت اختصاصی پیشگویی مربوط به ویروس‌ها از جمله RNA22 و Vir-Mir استفاده شد که سایت Vir-Mir نیز با

به HPV16 نسبت به E6 مربوط به HPV18 دارد. هرچه میزان p-value کمتر باشد اتصال miRNA موردنظر با ژن هدف بیشتر است. miR-34a-5p نیز قابلیت اتصال به هر دو ژن E6 و E7 مربوط به HPV18 را به ترتیب با p-value برابر با ۱-۲/۷۳e و ۲-۵/۳۳e دارد (جدول شماره ۳). اما به دلیل داشتن میزان p-value کمتر، اتصال قوی‌تری با ژن E6 دارد. miR-155-5p نیز بهترین اتصال را با ژن E6 مربوط به HPV16 با میزان p-value برابر با ۲-۴/۹۵e دارد (جدول شماره ۴). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از پایگاه RNA22 پیشگویی چهار miRNA موردنظر (miR-155-5p، miR-92a-5p، miR-195-3p، miR-34a-5p) برای هدف‌گیری ژن‌های E6 و E7 به اثبات رسید و این miRNAها با احتمال اتصال بهتر به ژن‌های هدف، در این مطالعه انتخاب شدند (جدول شماره ۵).

بحث

سرطان دهانه رحم یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌ها در سراسر جهان است که در صورت غربالگری و تشخیص زودهنگام قابل درمان است [۲۷]. امروزه، از روش‌های مختلفی نظیر پاپ اسمیر، کولوپوسکوپی و بیوپسی برای تشخیص ضایعات پیش‌سرطانی دهانه رحم استفاده می‌شود [۲۸]. مشکل عمده این روش‌ها اختصاصیت و حساسیت پایین و تهاجمی بودن آن‌هاست؛ بنابراین، این سرطان همچنان یکی از مشکلات جدی سلامتی در جهان باقی مانده است [۲۹]. در حال حاضر مشخص شده است که بین miRNAها با بیماری‌های مختلف از جمله سرطان ارتباط نزدیکی وجود دارد؛ زیرا این مولکول‌ها در تمام فرایندهای بیولوژیکی از جمله رشد و تمایز سلولی، تنظیم چرخه سلولی، پاسخ به استرس و آپوپتوز نقش دارند [۱۶].

ساختار و عملکرد miRNAها حاکی از آن است که بیان بسیاری از miRNAها در بافت‌های سرطانی نسبت به بافت نرمال به صورت غیرطبیعی تغییر می‌کند [۳۰]. مطالعات گسترده پیشین حاکی از ارتباط بین بیان نابجای miRNAها با شروع و پیشرفت انواع سرطان‌هاست. بنابراین، تغییر پروفاایل بیانی miRNAها می‌تواند به عنوان بیومارکرهایی برای شروع و تشخیص محدوده وسیعی از بیماری به کار برده شود [۳۱]. از این رو مطالعات گسترده‌ای در جهت توسعه روش‌های تشخیص و سنجش این مولکول‌ها صورت گرفته است. امروزه از روش‌هایی نظیر میکروآرای، هیبریدیزاسیون درجا، نورترن بلات و Real Time PCR برای سنجش miRNAها استفاده می‌شود، اما به دلیل وقت‌گیر بودن و هزینه بالای این تکنیک‌ها امکان استفاده از آن‌ها در همه شرایط میسر نیست؛ در حالی که روش‌های بیوانفورماتیکی روش‌های مؤثر و کم‌هزینه‌ای هستند که با کمک آن‌ها می‌توان برهم‌کنش بین miRNAها با ژن‌های هدف را پیش‌بینی کرد [۳۲، ۳۳]. مطالعه مو و همکاران در سال ۲۰۱۲ به بررسی miRNAهای دخیل در سرطان و نقش آن‌ها به عنوان بیومارکرهای زیستی پرداخت [۳۴]. مرادی و

حامی مالی

این مقاله مستخرج از پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد نویسنده اول در گروه زیست فناوری و پزشکی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک است.

مشارکت نویسندگان

تمامی نویسندگان در نگارش این مقاله مشارکت داشته‌اند.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله هیچ‌گونه تعارضی در منافع اعلام نکردند.

تشکر و قدردانی

تمامی نویسندگان مراتب قدردانی خود را از همکاران محترم در انستیتو پاستور و آزمایشگاه ویروس شناسی دانشگاه علوم پزشکی اراک اعلام می‌دارند.

وجود ذکر افزایش یا کاهش میزان بیان miRNA های موردنظر به ژن هدف، برای ویروس HPV تعریف نشده است؛ بنابراین با استفاده از نتایج مطالعات پیشین، miRNA های مربوط به ژن های E6 و E7 ویروسی شناسایی شدند.

نتایج این مطالعات حاکی از تغییر بیان miRNA هایی از جمله miR-34a، miR-195، miR-92a و miR-155 در CC بود؛ به طوری که بیان miR-34a و miR-195 کاهش و بیان miR-92a و miR-155 افزایش را در CC نشان داده است [۲۵]. بنابراین، با استفاده از پایگاه‌های بیوانفورماتیکی RNA22 اتصال و عدم اتصال این miRNA ها به ژن های موردنظر بر اساس میزان p-value مشخص شد و در نهایت miRNA های هدف گیرنده ژن های E6 و E7 شناسایی و چهار miR-92a-5p (miR-92a-5p)، miR-34a-5p (miR-34a-5p)، miR-195-3p (miR-195-3p) و miR-155-5p (miR-155-5p) به عنوان بهترین کاندیدا برای ژن های موردنظر انتخاب شدند. سطح بیان این miRNA های منتخب می‌تواند در CC نسبت به افراد سالم در پژوهش های آزمایشی مورد سنجش قرار بگیرد و در صورت مشاهده تفاوت بیان در دو گروه ذکر شده می‌توانند به عنوان بیومارکرهای تشخیصی در CC مورد تحقیق بیشتر قرار بگیرد. بنابراین، انجام چنین مطالعاتی می‌تواند به عنوان مطالعات پایه‌ای به منظور مشخص شدن هرچه بهتر miRNA های دخیل در CC و به دنبال آن شناسایی miRNA های مناسب با هدف تشخیص سرطان سرویکس حائز اهمیت باشد.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده از پایگاه های بیوانفورماتیکی می‌توان بیان کرد که احتمالاً miRNA های miR-92a-5p، miR-34a-5p، miR-195-3p و miR-155-5p مهارکننده های مناسب برای دو ژن E6 و E7 ویروس پاپیلوما ی انسانی هستند. از طرف دیگر می‌توان اذعان داشت که احتمالاً miR-155-5p و miR-92a-5p به ترتیب به عنوان miRNA های اختصاصی هدف گیرنده ژن ها E6 و E7 هستند. بنابراین، به نظر می‌رسد که این miRNA ها گزینه مناسبی برای بررسی در افراد مبتلا به CC در شرایط in vitro باشند؛ زیرا در صورت تفاوت بیان، این عوامل مولکولی در افراد مبتلا به CC نسبت به افراد نرمال می‌توانند در جهت تشخیص در این سرطان به کار برده شوند.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اراک با کد IR.ARAKMU.REC.1396.296 تصویب شد.

References

- [1] Torre LA, Islami F, Siegel RL, Ward EM, Jemal A. Global cancer in women: burden and trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2017; 26(4):444-57. [DOI:10.1158/1055-9965.EPI-16-0858] [PMID]
- [2] Trott P. International classification of diseases for oncology. *J Clin Pathol Suppl Coll Pathol.* 1977; 30(8):782. [DOI:10.1136/jcp.30.8.782-c] [PMCID]
- [3] Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer.* 2010; 127(12):2893-917. [DOI:10.1002/ijc.25516] [PMID]
- [4] Shrestha AD, Neupane D, Vedsted P, Kallestrup P. Cervical cancer prevalence, incidence and mortality in low and middle income countries: A systematic review. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2018; 19(2):319-24. [DOI:10.22034/APJCP.2018.19.2.319]
- [5] Kashyap N, Krishnan N, Kaur S, Ghai S. Risk factors of cervical cancer: A case-control study. *Asia Pac J Oncol Nurs.* 2019; 6(3):308-14. <http://www.apjon.org/text.asp?2019/6/3/308/255384>
- [6] Cox JT. Human papillomavirus testing in primary cervical screening and abnormal Papanicolaou management. *Obstet Gynecol Surv.* 2006; 61(6):S15-S25. [DOI:10.1097/01.ogx.0000221011.01750.25] [PMID]
- [7] Clifford G, Smith J, Plummer M, Munoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: A meta-analysis. *Br J Cancer.* 2003; 88(1):63-73. [DOI:10.1038/sj.bjc.6600688] [PMID] [PMCID]
- [8] Khodakarami N, Farzaneh F, Yavari P, Khayamzadeh M, Taherippanah R, Esmail Akbari M. [The new guideline for cervical cancer screening in low risk Iranian women (Persian)]. *Iran J Obstet Gynecol Infertility.* 2014; 17(95):8-17. [DOI:10.22038/IJOGI.2014.2801]
- [9] Narisawa-Saito M, Kiyono T. Basic mechanisms of high-risk human papillomavirus-induced carcinogenesis: Roles of E6 and E7 proteins. *Cancer Sci.* 2007; 98(10):1505-11. [DOI:10.1111/j.1349-7006.2007.00546.x] [PMID]
- [10] Wallace NA, Galloway DA. Novel functions of the human papillomavirus E6 oncoproteins. *Annu Rev Virol.* 2015; 2:403-23. [DOI:10.1146/annurev-virology-100114-055021] [PMID]
- [11] Mittal S, Banks L. Molecular mechanisms underlying human papillomavirus E6 and E7 oncoprotein-induced cell transformation. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2017; 772:23-35. [DOI:10.1016/j.mrrev.2016.08.001] [PMID]
- [12] Ndikom CM, Ofi BA. Pre-screening counseling in cervical cancer prevention: Implications for nursing. *Int Jof Nurs Midwifery.* 2011; 3(10):158-64. <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.1027.9690&rep=rep1&type=pdf>
- [13] Reddy KB. MicroRNA (miRNA) in cancer. *Cancer Cell Int.* 2015; 15(1):38. [DOI:10.1186/s12935-015-0185-1] [PMID] [PMCID]
- [14] Cai Y, Yu X, Hu S, Yu J. A brief review on the mechanisms of miRNA regulation. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2009; 7(4):147-54. [DOI:10.1016/S1672-0229(08)60044-3]
- [15] Ben-Hamo R, Efroni S. MicroRNA regulation of molecular pathways as a generic mechanism and as a core disease phenotype. *Oncotarget.* 2015; 6(3):1594-04. [DOI:10.18632/oncotarget.2734] [PMID] [PMCID]
- [16] Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs-microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev cancer.* 2006; 6(4):259-69. [DOI:10.1038/nrc1840] [PMID]
- [17] Riffo-Campos Á, Riquelme I, Brebi-Mieville P. Tools for sequence-based miRNA target prediction: What to choose? *Int J Mol Sci.* 2016; 17(12):1987. [DOI:10.3390/ijms17121987] [PMID] [PMCID]
- [18] Moradi N, Paryan M, Khansarinejad B, Rafiei M, Mondanizadeh M. [Bioinformatic prediction of miRNAs targeting Notch1 and Hbx genes in chronic hepatitis B-induced hepatocellular carcinoma (Persian)]. *Arak Med Univ J.* 2017; 19(12):89-101. <https://www.sid.ir/fa/journal/ViewPaper.aspx?ID=287922>
- [19] Rostamian Delavar M, Baghi M, Yadegari E, Ghaedi K. [Bioinformatic prediction and introducing of some targeting microRNAs of Sirt1 and Bcl2 genes in model of Parkinson's disease (Persian)]. *J Arak Univ Med Sci.* 2017; 20(8):61-72. <https://www.researchgate.net/publication/324476337>
- [20] Li M, Ren CX, Zhang JM, Xin XY, Hua T, Wang HB, et al. The effects of miR-195-5p/MMP14 on proliferation and invasion of cervical carcinoma cells through TNF signaling pathway based on bioinformatics analysis of microarray profiling. *Cell Physiol Biochem.* 2018; 50(4):1398-413. [DOI:10.1159/000494602] [PMID]
- [21] Zhou C, Shen L, Mao L, Wang B, Li Y, Yu H. MiR-92a is upregulated in cervical cancer and promotes cell proliferation and invasion by targeting FBXW7. *Biochem Biophys Res Commun.* 2015; 458(1):63-9. [DOI:10.1016/j.bbrc.2015.01.066] [PMID]
- [22] Li N, Cui T, Guo W, Wang D, Mao L. MiR-155-5p accelerates the metastasis of cervical cancer cell via targeting TP53INP1. *Onco Targets Ther.* 2019; 12:3181-96. [DOI:10.2147/OTT.S193097] [PMID] [PMCID]
- [23] Toroghi F, Toroghi Y. [Bioinformatics analysis to predict potential microRNAs inhibiting processes of angiogenesis in cancer (Persian)]. *J Gorgan Univ Med Sci.* 2017; 19(1):83-8. <http://goums.ac.ir/journal/article-1-3021-fa.html>
- [24] Li J, Yu L, Shen Z, Li Y, Chen B, Wei W, et al. MiR-34a and its novel target, NLRC5, are associated with HPV16 persistence. *Infect Genet Evol.* 2016; 44:293-9. [DOI:10.1016/j.meegid.2016.07.013] [PMID]
- [25] Kim HJ, Cho H, Choi CH, Chung J, Hewitt SM, Hewitt SM. MicroRNA as biomarkers for cervical cancer. *SM J Gynecol Obstet.* 2015; 1(2):1-8. <https://www.researchgate.net/publication/306538125>
- [26] Tian Q, Li Y, Wang F, Li Y, Xu J, Shen Y, et al. MicroRNA detection in cervical exfoliated cells as a triage for human papillomavirus-positive women. *J Natl Cancer Inst.* 2014; 106(9):dju241. [DOI:10.1093/jnci/dju241] [PMID] [PMCID]
- [27] Denny L. Cervical cancer: Prevention and treatment. *Discov Med.* 2012; 14(75):125-31. [PMID]
- [28] Brown AJ, Trimble CL. New technologies for cervical cancer screening. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2012; 26(2):233-42. [DOI:10.1016/j.bpobgyn.2011.11.001] [PMID] [PMCID]
- [29] Fitzmaurice C, Dicker D, Pain A, Hamavid H, Moradi-Lakeh M, MacIntyre MF, et al. The global burden of cancer 2013. *JAMA Oncol.* 2015; 1(4):505-27. [DOI:10.1001/jamaoncol.2015.0735] [PMID] [PMCID]
- [30] Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature.* 2005; 435(7043):834. [DOI:10.1038/nature03702] [PMID]
- [31] McManus MT. MicroRNAs and cancer. *Semin Cancer Biol.* 2003; 13(4):253-8. [DOI:10.1016/S1044-579X(03)00038-5]
- [32] Le Quesne J, Caldas C. Micro-RNAs and breast cancer. *Mol Oncol.* 2010; 4(3):230-41. [DOI:10.1016/j.molonc.2010.04.009] [PMID] [PMCID]

- [33] Ritchie W, Rasko JE, Flamant S. MicroRNA target prediction and validation. In *MicroRNA Cancer Regulation*. Berlin: Springer; 2013. pp. 39-53. [DOI:10.1007/978-94-007-5590-1_3] [PMID]
- [34] Mo MH, Chen L, Fu Y, Wang W, Fu SW. Cell-free circulating miRNA biomarkers in cancer. *J Cancer*. 2012; 3:432-48. [DOI:10.7150/jca.4919] [PMID] [PMCID]
- [35] Moradi N, Paryan M, Khansarinejad B, Sarmadian H, Mondanizadeh M. Plasma level of miR-5193 as a novel biomarker for diagnosis of HBV-related hepatocellular carcinoma. *Hepat Mon*. 2019; 19(2):e84455. [DOI:10.5812/hepatmon.84455]
- [36] Aghaee-Bakhtiari SH, Arefian E, Soleimani M, Mirab Samiee S, Noorbakhsh F, Mahdian R, et al. [Bioinformatic evaluations for locating the microRNA suppressing PI3K/AKT Pathway and analysis in prostate cancer cell lines (Persian)]. *Pathobiol Res*. 2015; 17(4):1-12. <https://mjms.modares.ac.ir/article-30-11898-en.pdf>
- [37] Xia YF, Pei GH, Wang N, Che YC, Yu FS, Yin FF, et al. MiR-3156-3p is downregulated in HPV-positive cervical cancer and performs as a tumor-suppressive miRNA. *Virology*. 2017; 14(1):20. [DOI:10.1186/s12985-017-0695-7] [PMID] [PMCID]
- [38] Honegger A, Schilling D, Bastian S, Sponagel J, Kuryshev V, Sültmann H, et al. Dependence of intracellular and exosomal microRNAs on viral E6/E7 oncogene expression in HPV-positive tumor cells. *PLoS Pathog*. 2015; 11(3):e1004712. [DOI:10.1371/journal.ppat.1004712] [PMID] [PMCID]
- [39] Wang X, Wang HK, Li Y, Hafner M, Banerjee NS, Tang S, et al. microRNAs are biomarkers of oncogenic human papillomavirus infections. *Proc Natl Acad Sci*. 2014; 111(11):4262-7. [DOI:10.1073/pnas.1401430111] [PMID] [PMCID]
- [40] Song R, Cong L, Ni G, Chen M, Sun H, Sun Y, et al. MicroRNA-195 inhibits the behavior of cervical cancer tumors by directly targeting HDGF. *Oncol Lett*. 2017; 14(1):767-75. [DOI:10.3892/ol.2017.6210] [PMID] [PMCID]=

This Page Intentionally Left Blank
