

Tumor Suppression or Oncogenic Role of miR-100 in Cancer; Implications for Esophageal Cancer

Lida Nariman-Saleh-Fam¹, Milad Bastami², Abbas Yazdanbod^{3,*}

¹ Faculty of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

² Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

³ Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran.

ABSTRACT

Esophageal cancer (EC) is one of the deadliest malignancies worldwide. Esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) constitutes the most common type of EC in Asian countries. Despite advanced surgical techniques, 5-year survival of the affected patients is very low. Therefore, identification of genetic factors and cellular regulatory pathways, including microRNAs (miRNAs), in esophageal carcinogenesis is necessary for early detection. MiRNAs are a class of small non-coding RNA about 18-24 nucleotides in length that negatively regulate gene expression. Deregulation of miRNAs was shown to have a crucial role in the pathways underlying tumorigenesis and tumor progression. Evidence indicates that aberrant expression pattern of miR-100 is associated with pathogenesis of ESCC. The function and expression pattern of miR-100 in ESCC are controversial and its effects in tumor progression has not been fully elucidated. A better understanding of molecular procedures mediated by miR-100 in carcinogenesis, may lead to the opportunity of exploring potential miR-100 based therapeutic applications. In this review, we provide an overview of miR-100, including its important regulation pathways and target genes involved in the development of cancers, emphasizing on its potential role in ESCC.

Keywords: miR-100, cancer, esophagus, miRNA

please cite this paper as:

Nariman-Saleh-Fam L, Bastami M, Yazdanbod A. Tumor Suppression or Oncogenic Role of miR-100 in Cancer; Implications for Esophageal Cancer. *Govaresh* 2018;23:129-140.

*Corresponding author:

Abbas Yazdanbod

Department of Internal Medicine, Imam Khomeini
Hospital, Ataei Avenue, Ardabil, Iran

Tel: + 98 45 3325 1401

Fax: + 98 45 3326 2140

E-mail: yazdan40@yahoo.com

Received: 05 Apr. 2018

Edited: 02 Jul. 2018

Accepted: 03 Jul. 2018

نقش تومور ساپرسوری یا آنکوژنی miR-100 در سرطان، با تمرکز بر سرطان مری

لیدا نریمان صالح فام^۱، میلاد بسطامی^۲، عباس یزدان بد^{۳*}

^۱ دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران
^۲ گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۳ گروه پزشکی داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

چکیده

سرطان مری یکی از کشنده ترین بدخیمی های شناخته شده در جهان است. سرطان سلول سنگفرشی مری شایع ترین نوع این بیماری در کشورهای آسیایی می باشد. علی رغم پیشرفت در تکنیک های جراحی، بقای ۵ ساله این بیماران بسیار ضعیف است. از این رو شناخت عوامل ژنتیکی و مسیرهای تنظیمی سلولی همانند میکروآرناهای دخیل در شکل گیری سرطان مری، در راستای تشخیص زود هنگام، مهم و ضروری به نظر می رسد. میکروآرناها دسته ای از RNA های غیر کد کننده کوچک ۲۴-۱۸ نوکلئوتیدی هستند که به صورت منفی به تنظیم بیان ژن می پردازند. به نظر می رسد بدتنظیمی میکروآرناها نقش مهمی را در مسیرهای مرتبط با تومور زایی ایفا می کند. شواهد بسیاری دال بر ارتباط بیان نابجای miR-100 با پاتوژنز سرطان سلول سنگفرشی مری وجود دارد. عملکرد و الگوی بیان miR-100 در سرطان مری بحث برانگیز است و نقش دقیق آن در پیش روی تومور ناشناخته مانده است. درک بهتر مسیرهای مولکولی متأثر از miR-100 در سرطان زایی فرصتی جدید در راستای یافتن اهداف درمانی بالقوه مبتنی بر آن را فراهم می سازد. در این مقاله، ژن های هدف اصلی miR-100 و مسیرهای تنظیمی منتهی به شکل گیری بدخیمی بویژه عملکرد و نقش احتمالی آن در سرطان سلول سنگفرشی مری را مورد مطالعه قرار می دهیم.

کلید واژه: میکروآرنا-۱۰۰، سرطان، مری، میکروآرنا

گوارش/ دوره ۲۳، شماره ۳/ پاییز ۱۳۹۷/ ۱۴۰-۱۲۹

زمینه و مقدمه:

سرطان مری یکی از کشنده ترین بدخیمی های شناخته شده در جهان است. این بیماری که به عنوان هشتمین سرطان رایج در دنیا مطرح شده است، ششمین علت مرگ و میر ناشی از سرطان را به خود اختصاص می دهد. (۲۰۱۱) بقای ۵ ساله این بیماران بویژه در مراحل پیشرفته بیماری بسیار کم و تقریباً بین ۴۰-۹٪ گزارش شده است. (۳) بار کلینیکی این بیماری در جهان سنگین بوده و به طور میانگین ۷۵٪ افراد مبتلا ظرف یک سال می میرند. (۴) تخمین زده می شود که شیوع آن تا

*نویسنده مسئول: عباس یزدان بد

اردبیل، خیابان عطایی، بیمارستان امام خمینی، گروه پزشکی داخلی

تلفن: ۰۴۵-۳۳۲۵۱۴۰۱

نمبر: ۰۴۵-۳۳۲۶۲۱۴۰

پست الکترونیک: yazdan40@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۷/۱/۱۶

تاریخ اصلاح نهایی: ۹۷/۵/۱۱

تاریخ پذیرش: ۹۷/۵/۱۲

سال ۲۰۲۵ به ۴۵٪ بویژه در کشورهای پیشرفته برسد. در سال ۲۰۱۵ در ایالات متحده آمریکا، ۱۶۹۸۰ مورد جدید سرطان مری رخ داده است که ۱۵۵۹۰ مورد فوت شده است. (۲) در ایران تخمین زده می شود که سالیانه در حدود ۵۱۰۰۰ مورد جدید سرطان رخ می دهد و از ۳۵۰۰۰ مورد مرگ سالیانه ناشی از سرطان، ۵۸۰۰ مورد، به علت سرطان مری می باشد. به عبارتی بیشترین عضو درگیر، دستگاه گوارش است (۳۸٪) که حدود ۶۵۰۰ مورد آن سرطان مری بوده است. (۵) شیوع سرطان مری و نرخ بروز آن بسته به موقعیت جغرافیایی متغیر است و تحت تأثیر سبک زندگی، عوامل محیطی، فاکتورهای ژنتیکی، اپیدمیولوژیکی و قومیتی می باشد. (۶-۸) سرطان مری دو گروه اولیه سلولی شامل سرطان سلول سنگفرشی مری^۱ (ESCC) و آدنوکارسینوما^۲ (ADC) دارد. سرطان مری از لایه های داخلی مری، مخاط^۳، آغاز شده و به تدریج به لایه های خارجی مری، ریز مخاط^۴ و لایه های ماهیچه ای^۵ نفوذ می کند. (۳) در ایران ESCC شایع ترین نوع بیماری مذکور می باشد. به طور دقیق تر، ESCC شایع ترین نوع سرطان مری در کمر بند سرطان مری است. کمر بندی

1. Esophageal squamous cell carcinoma
2. Adenocarcinoma
3. Mucosa
4. Sub mucosa
5. Muscle layer

پیچیده مربوطه را بیابد. میکروآرناها نوعی RNA غیرکدکننده ۲۴-۱۸ نوکلئوتیدی هستند که با اتصال به ناحیه 3'UTR ژن هدف خود در سطح پس از رونویسی و ترجمه به تنظیم منفی بیان ژن منجر می شوند. هر میکروآرنا قادر به تنظیم تعدادی زیادی از ژن های هدف و همچنین پروسه های مختلف سلولی اعم از تکثیر، تمایز و آپوپتوز می باشد. شواهد محکمی دال بر ارتباط میکروآرناها با تومورزایی و نقش کلیدی آن ها در انواع سرطان ها وجود دارد (۲۱-۱۸)، همچنین مطالعات تجربی^۴ و بیوانفورماتیکی نشان داده اند که هر گونه تغییر در بیان، توالی و تنظیم میکروآرناها و ژن های هدف آن ها می تواند نه تنها در شکل گیری سرطان، من جمله سرطان مری، بلکه در برخی دیگر از بیماری های مولتی فاکتوریال مانند دیابت تیپ ۲ و بیماری شریان قلبی^۵ (CAD) نیز حضور داشته باشد. (۲۵-۲۲)

یکی از میکروآرناهایی که ارتباط آن با بسیاری از سرطان ها در سال های اخیر مورد بررسی قرار گرفته است، miR-100 می باشد. miR-100 از طریق تحت تأثیر قرار دادن ژن های هدف مختلف، نقش مهمی در تنظیم انواع پروسه های سلولی دخیل در تومورزایی، رشد و تکثیر سلولی ایفا می کند. (۲۶) miR-100 یکی از بحث برانگیزترین میکروآرناهای شناخته شده است. یافته های اخیر نشان می دهد که miR-100 در سرطان های مختلف، دارای الگوی بیان متفاوتی بوده است. (۲۶ و ۲۷) در برخی از سرطان ها مانند سرطان تخمدان (۲۶ و ۳۱-۲۸)، سرطان مثانه (۳۲)، سرطان پستان (۳۳ و ۳۴) و سرطان پروستات (۳۷-۳۵) کاهش بیان آن گزارش شده است، در حالی که در برخی دیگر مانند کارسینوم کلیه (۲۷) و لوسمی میلوئید حاد (AML) (۳۸ و ۳۹) افزایش بیان آن با بیماری همراه بوده است. پیچیدگی miR-100 صرفاً به نوع بیماری مربوط نمی باشد بلکه بسته به نوع بافت مورد مطالعه نیز این تناقضات مشاهده می شود و اوج پیچیدگی در بیان miR-100، مربوط به تفاوت سطح بیان آن متناسب با وضعیت و شرایط موجود در سلول، نوع مسیر فعال شده، گیرنده های مرتبط و ژن های هدف می باشد. به عنوان مثال برخی محققین در بافت، سرم و رده سلولی سرطان معده افزایش بیان miR-100 را مشاهده کرده اند. (۴۲-۴۰) در صورتی که گروهی دیگر از محققین در بافت سرطان معده کاهش بیان گزارش کرده اند. (۴۳) در هیپاتوسلولار کارسینوما در مطالعات بافتی کاهش (۴۶-۴۴) و در سرم افزایش بیان (۴۷) مشاهده شده است. در آدنوکارسینوما پانکراس در رده سلولی متاستازی و بافت افزایش بیان (۵۰-۴۸)، و در رده سلولی سرطانی و سرم کاهش بیان (۵۳-۵۱) گزارش شده است.

سرطان سلول سنگفرشی مری جزء آن دسته از بیماری هایی است که بیان miR-100 در آن متفاوت و بحث برانگیز بوده است. در حالی که برخی از محققین با کاهش بیان miR-100 در بافت بیماران مواجه شده اند (۵۸-۵۴)، عده ای دیگر افزایش بیان آن را در بافت (۵۹) و سرم (۶۰ و ۶۱) گزارش کرده اند. در این مطالعه تلاش کرده ایم تا با مروری بر مقالات مرتبط و مکانیسم های دخیل، در جهت جستجو و یافتن علت این تناقضات حرکت کنیم. مطالعات در ارتباط با جزئیات مکانیسم miR-100 در سرطان مری چندان زیاد نیست، به همین دلیل مسیری احتمالی

که از مناطق شمالی چین آغاز شده و تا آسیای مرکزی، شمال هند و مناطقی از شمال ایران ادامه می یابد. استان گلستان واقع در بخشی از این کمربند به عنوان یکی از بالاترین نرخ های بروز این بیماری محسوب می شود. میزان بروز تطبیق داده شده سنی^۱ (ASR) سرطان مری در گنبد (استان گلستان) در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر، در مردان ۲۴/۳ و در زنان ۱۹/۱ می باشد. در واقع دو منطقه در جهان دارای بالاترین ASR گزارش شده برای این بیماری است: شهر گنبد در استان گلستان و شهر لینگزاین در چین. در حالی که به طور متوسط میزان شیوع این بیماری در مردان ۶ برابر زنان می باشد اما در ایران مرد و زن، هر دو جنس، تقریباً به یک نسبت از آن رنج می برند و این الگوی نسبت جنسی مشابه با آنچه که در لینگزاین^۲ گزارش شده است می باشد. (۱۰ و ۹۱) در ایران سرطان مری در بسیاری از استان های شمالی، شمال غرب و شمال شرق در محدوده ۵ سرطان شایع قرار می گیرد. به عنوان مثال در اردبیل در مردان با ASR ۱۵/۴ و در زنان با ASR ۱۴/۴ در زمره کشنده ترین و شایع ترین ها سرطان ها قرار می گیرد. (۱۱)

همانگونه که ذکر شد این بیماری بسیار کشنده و تهاجمی است. علی رغم پیشرفت های گسترده در زمینه تکنیک های مختلف مانند جراحی، رادیوتراپی، شیمی درمانی، بقای این بیماران هنوز هم ضعیف می باشد. شایع ترین علامت در ESCC اختلال در بلع پیشرونده است. عموماً بیماران زمانی که نمی توانند غذاهای جامد را بلع کنند به پزشک مراجعه می کنند و متأسفانه معمولاً این مرحله از ESCC مرحله پیشرفته بیماری است و در این مرحله شانس بیماران برای درمان جراحی قابل علاج بسیار کاهش می یابد. از طرفی محققین بیان کرده اند که ۹۰ درصد از این بیماران در صورت تشخیص و درمان زود هنگام می توانند بقای بالاتر از ۵ سال داشته باشند. (۱۲ و ۶) بنابراین یک روش تشخیصی سریع و مؤثر برای درمان بیماران مبتلا به ESCC می تواند بسیار حیاتی و با ارزش باشد اما زمانی این امر میسر است که ابتدا فاکتورها خطر و مکانیسم های دخیل در پروسه شکل گیری بیماری شناخته شوند. (۱۵-۱۳) تاکنون برخی از فاکتورها خطر محیطی و ژنتیکی شناخته شده اند. به عنوان مثال مشخص شده است که در ایران نوشیدن مایعات داغ و مصرف تریاک از مهمترین عوامل خطر محیطی محسوب می گردند. (۵) در ارتباط با عوامل خطر ژنتیکی، هر چند که طبق مطالعات انجام شده توسط محققین مختلف، تغییرات مولکولی و ژنتیکی از بازیکنان اصلی حاضر در این بدخیمی کشنده هستند، اما هنوز جزئیات مسیرهای ژنتیکی دخیل در شکل گیری این بیماری بسیار ناشناخته مانده است و پیشرفت در راستای درک پاتوژنز و اتیولوژی پیچیده سرطان مری آهسته و کند می باشد.

یکی از مهمترین مسیرهای ژنتیکی مرتبط با سرطان، که اخیراً بخش مهمی از تحقیقات سرطان را به خود اختصاص داده است، شبکه تنظیمی میکروآرناها^۳ (miRNA) است. (۱۶ و ۱۷) هر چند حلقه های مربوط به شبکه میکروآرناها بسیار گسترده است اما مطالعات هر یک از محققین، در راستای تکمیل زنجیره پژوهشی، می تواند راه حل قطعه ای از پازل

1. Age-Standardized incidence rate (ASR)
2. Linxian
3. MiRNA's Regulatory Network

4. Experimental
5. Coronary Artery Disease

در ESCC، شواهد نسبتاً محکمی دال بر دخالت mTOR و ارتباط آن با miR-100 وجود دارد. در بررسی مکانیسم مولکولی مرتبط با آپوپتوز، متأثر از القای miR-100 در رده سلولی سرطان مری، و با کمک گرفتن از تکنیک های وسیعی همچون وسترن بلات^۵ و لوسیفراز اسی^۶، مورد هدف قرار گرفتن 3UTR در mTOR توسط miR-100 در سطح پس از رونویسی^۷ رویت گردید و تکثیر رده سلولی نیز مهار شد. (۵۵) موازی با آن، تهاجم و مهاجرت سلول های سرطانی به دنبال کاهش بیان miR-100 گزارش شد. همچنین در سطح بالینی نیز، کاهش بیان miR-100 با بقای پایین و متاستاز در بیماران مبتلا به ESCC همراهی نشان داد. (۵۶و۵۵) چنان چه جزئیات مطرح شده در مسیر مذکور، در ESCC به قطعیت برسد، القای آپوپتوز در سرطان مری از طریق افزایش بیان miR-100 می تواند به عنوان یک ابزار درمانی مفید و سودمند مورد بررسی قرار گیرد.

miR-100 و IGF1R

IGF1R نوعی رسپتور تیروزین کینازی دخیل در پاتوژنز بسیاری از سرطان ها است. بعد از اتصال به لیگاند، با فعال کردن مسیرهایی چون PI3K/AKT/mTOR و Ras/Raf/MEK/MAPK تنظیم پروسه های تکثیر، تمایز، آپوپتوز، تهاجم و رگ زایی تحت تأثیر قرار می دهد. (۶۷) در سال های اخیر IGF1R به عنوان یکی از مهم ترین اهداف مولکولی در مداخلات درمانی مطرح شده است. (۶۸و۶۹) حضور IGF1R در کنار mTOR و فعالیت هماهنگ این دو در اکثر پژوهش های مرتبط، به اثبات رسیده است. (۷۰و۷۱) علاوه بر سرطان سلول سنگفرشی ریه که محل بحث واقع شد، در رده های سلولی هیپاتوسلولار کارسینوما^۸، miR-100 با اتصال به 3UTR مربوط به mTOR و IGF1R و سرکوب بیان آن ها و در نهایت کاهش سطح بیان شان، پدیده اتوفژی^۹ را در این سلول ها ترغیب می کند و به عبارتی IGF1R به عنوان یکی از اهداف miR-100 مطرح شده است. (۷۲و۷۳) کاهش بیان miR-100 و ارتباط آن با مسیر مربوطه در لوسمی لنفوبلاستیک حاد^{۱۰} (ALL) نیز مشاهده شده است. (۷۳)

مدل های موشی و رده های سلولی ESCC و ADC، عملکرد آنکوژنی IGF1R که به مقاومت به شیمی درمانی و تومورزایی منتهی گشته است را مورد تأیید قرار داده اند. (۷۴و۷۵) همچنین مشاهده شده است که تحریک مسیر Ras/MAPK در سلول های سرطان مری، منجر به مقاومت نسبت به مهارگر IGF1R، گشته است. از این رو محققین معتقدند که همراه کردن مهارگر IGF1R با آنتی بادی علیه Ras/MAPK می تواند نوعی ابزار درمانی مؤثر در سرطان مری تلقی گردد. (۷۵) از سویی دیگر با اثبات IGF1R به عنوان ژن هدف miR-100 برای اهمیت پتانسیل درمانی برای IGF1R دو چندان شده است. (۷۶و۷۷)

مرتبط با miR-100 را از چندین زاویه مورد بررسی قرار خواهیم داد. ابتدا مسیرهایی که در آن miR-100 دچار کاهش بیان می شود و به عبارتی نقش تومورسایرسوری را ایفا می کند و سپس مسیرهایی که به نقش آنکوژنی miR-100 اشاره دارند را بررسی می کنیم. همچنین در راستای درک بهتر مکانیسم متأثر از miR-100، جزئیات مسیر یافت شده در سرطان مربوطه را شرح می دهیم و سپس در انتهای مبحث هر مسیر، ارتباط شناخته شده آن را با سرطان مری و مکانیسم احتمالی را بازگو می کنیم. اعتقاد بر آن است که در آینده با شناخت ژن های هدف و عملکردشان در مسیرهای دخیل در بیماری زایی، امکان پیشرفت استراتژی های بالقوه درمانی برای هدف گرفتن ژن های مرتبط به بیماری میسر می گردد.

مسیرهای احتمالی مرتبط با miR-100 در نقش تومورسایرسور:

miR-100 و مسیر mTOR

یکی از مهم ترین مسیرهای سلولی که در طی تکامل بسیار محافظت شده و بدتنظیمی یا هر گونه اختلالی در آن، با انواع بیماری ها بخصوص سرطان در ارتباط می باشد، مسیر^۱ mTOR است. (۶۲) mTOR که نوعی سرین/تره ژونین کیناز است با دریافت سیگنال های مختلف از مسیرهای سلولی دیگر، طیف وسیعی از عملکردهای سلولی مانند رونویسی، ترجمه، رشد سلول، تمایز، متابولیسم و پاسخ به استرس و تعادل انرژی را کنترل می کند. (۶۳) توانایی مهار mTOR توسط miR-100 از جمله مواردی بوده است که توانسته پتانسیل تومورسایرسوری miR-100 را در ذهن محققین پررنگ تر کند. (۶۴) از آنجایی که مطالعات تعدادی از محققین صحت این ایده را در برخی از سرطان ها به اثبات رسانده است. به طور مثال اشاره ای می کنیم به نوعی از سرطان تخمدان (clear cell ovarian cancer)، که بیان میکروآرناهای مذکور به شدت در آن کاهش و بالعکس هدف آن، FRAP1/mTOR افزایش یافته است و با بالا بردن بیان miR-100، مهار mTOR و افزایش حساسیت به آنالوگ داروی راپامایسین^۲ مشاهده شده است. (۶۶) طبق گزارش های بدست آمده از آزمایشی که بر رده سلولی سرطانی پستان، در راستای درک نقش miR-100 در حساسیت و پاسخ به داروی پکلی تاکسل^۳ بدست آمد، افزایش بیان این میکروآرنا تأثیر دارو را در جهت توقف سیکل سلولی، تمایز و آپوپتوز بیشتر کرد، در حالی که ناک داون^۴ میکروآرناهای مذکور نتیجه ای کاملاً معکوس در پی داشته و همچنین مشاهده شد که بیماران با سطح بیان کمتر miR-100 پیش آگهی ضعیف تری دارند. (۶۵) تحقیقات انجام شده در سرطان سلول سنگفرشی ریه نیز نشان می دهد که mTOR تمایل به همکاری با شرکایی چون PI3K و AKT دارد و مسیر PI3K/AKT/mTOR با فعالیت نابجای خود، به شکل گیری مکانیسم مقاومت نسبت به مهارگر مربوط به FGFR، کمک می رساند. (۶۶) علاوه بر mTOR ثابت شده است که AKT و هماتهای دیگر آن مانند IGF1R، از جمله ژن های هدف miR-100 هستند و miR-100 همراه با miR-99 کنترل برخی از اعضای این شبکه پیچیده را برعهده می گیرد. (۶۶)

1. Mammalian target of rapamycin
2. Rapamycin
3. Paclitaxel
4. Knock down

5. Western blot
6. Luciferase assay
7. Post-transcriptional
8. Hepatocellular carcinoma
9. Autophagy
10. Acute Lymphoblastic Leukemia

miR-100 و FGFR3:

بیان PIK1 mRNA را افزایش داده است. (۸۸) در سرطان نازوفارنژیال^۷، مشاهده شده است که PIK1 افزایش و miR-100 کاهش بیان می یابد. (۸۹) همچنین در رده سلولی SPC-A1/DTX، القای بیان miR-100 به سرکوب تکثیر سلولی و توقف در فاز G2/M و در نهایت حساسیت به داروی دوستاکسال^۸ و آپوپتوز انجامیده است. ناک داون PIK1 نیز دقیقاً نتیجه ای مشابه نشان داده و ارتباط معکوس بین این دو پیشنهاد می کند که احتمالاً کاهش بیان miR-100 در آدنوماکارسینومای ریه^۹، منجر به افزایش بیان PIK1 و در نتیجه مقاومت به شیمی درمانی توسط داروی دوستاکسال می گردد. (۹۰)

در مطالعات بر رده سلولی مرتبط با سرطان مری^{۱۰}، بیان بالای PIK1 مشاهده شده، در حالی که در رده سلول نرمال اپی تلیال مری، خبری از بیان آن نبوده است و ناک داون PIK1 در رده سلولی سرطان مری به توقف سیکل سلولی، کاهش تکثیر، و مهمتر از آن به عدم توانایی ترانسفورماسیون منتهی گشته است. (۹۱) همچنین مطالعات در مدل های موشی نشان داد که PIK1 با STAT3 در شکل گیری ESCC همکاری می کند. به عبارتی دیگر، این دو به صورت هم راستا و با افزایش بیان یکدیگر و فسفریلاسیون STAT3 به سمت بقای سلول سرطانی حرکت می کنند. (۹۲) و از طرفی دیگر، در سال های اخیر CYC140 به عنوان یکی از مهارکنندگان Pik1 پتانسیل درمانی در سرطان مری را یافته است. (۹۳) بنابراین مطابق با یافته های مذکور، miR-100 با هدف قرار دادن PIK1 قادر به ایفای نقش تومورسپرسوری است و به نظر می رسد که PIK1 در آینده به عنوان یک هدف درمانی مهم جهت درمان در سرطان مری کاربرد خواهد داشت.

miR-100 و WNT2/B-catenin:

WNT نه تنها در دوره جنینی بلکه در بیولوژی سرطان نیز اهمیت فراوانی دارد. به اثبات رسیده است که WNT2 بسته به نوع سلول، قادر به فعال کردن مسیرهای مختلف سلولی می باشد و مسیر WNT2/B-catenin یکی از شناخته شده ترین این مسیرها می باشد که با فعال کردن و انتقال B-catenin از سطح سلول به داخل هسته، چسبندگی بین سلولها توسط E-cadherin، تکثیر و همچنین متاستاز را تحت کنترل خود در می آورد. (۹۴ و ۹۵)

در مطالعه ای که در بیماران مبتلا به ESCC انجام گرفت افزایش بیان WNT2/B-catenin به وضوح ملاحظه شد البته هنوز ارتباط آن با بقا و پیش آگهی مشخص نشده است. (۹۶) هرچند که در رده سلولی سرطان پستان القای miR-100 می تواند منجر به مهار مسیر سیگنالینگ WNT و کاهش بیان ژن های هدف B-catenin گردد. (۹۵) بررسی miR-100 توام با WNT2/B-catenin و عناصر حاضر در آن، در رده های سلولی سرطان مری از موضوعاتی است که در آینده به شفاف سازی نقش miR-100 در بیماری مدنظر کمک خواهد کرد.

FGFR3 نوعی گیرنده فاکتور رشد فیبروبلاستی است که در بسیاری از سرطان ها دچار افزایش بیان می گردد و ارتباط معکوس بین بیان این دو در چندین بدخیمی شامل سرطان مثانه، گلیوبلاستوما، استئوسارکوما و سرطان سلول سنگفرشی دهان گزارش شده است. (۷۷ و ۷۸) این ژن به عنوان یکی از ژن های هدف miR-100 پیش بینی شده است و یکی از مکانیسم های شناخته شده برای آن به هایپوکسی مربوط می شود. (۷۹ و ۸۰) هایپوکسی یکی از ابعاد مهم در بیولوژی تومور می باشد که با تغییر در برنامه ریزی متابولیسم^۱ سلول به فعال سازی سیگنال های تومورزایی یاری می رساند. به عنوان مثال در رده سلولی سرطان مثانه RT4، هایپوکسی منجر به فعال شدن FGFR3 می گردد و از طرفی مطالعات در این رده سلولی نشان داده اند که هایپوکسی به سرکوب بیان miR-100 منتهی می شود. (۷۹) مکانیسم کاهش بیان میکروآرناها توسط هایپوکسی مشخص نیست. لکن در رده سلولی RT4 به محض ترانسفکشن anti-miR-100 سطح بیان FGFR3 افزایش یافته و به نوعی همراهی بین تنظیم بیان FGFR3 با سطح بیان miR-100 به تأیید رسیده است. قابل ذکر است که ناک داون FGFR3 نیز به شدت توانایی بقا و تکثیر را در RT4 کاهش داده است. به عبارتی تنظیم فعالیت FGFR3 متناسب با وضعیت هایپوکسی، تا حد زیادی وابسته به سطح بیان miR-100 در برخی از سرطان ها مانند سرطان مثانه است و به صورت واضح در این مطالعه نشان داده شده که کاهش بیان miR-100 منتهی به افزایش بیان FGFR3 و در نتیجه تحریک تکثیر در رده سلولی این نوع از سرطان مثانه گشته است. (۷۹ و ۸۱)

در سرطان مری FGFR3 به عنوان انکوژن همانند اکثر بدخیمی ها معرفی می گردد. هر چند که جزئیات مرتبط به هایپوکسی با FGFR3 و بیان miR-100 در سرطان مری هنوز مشخص نیست، اما فیوژن FGFR3 با TACC3^۲ در سرطان مری و سرطان معده گزارش شده است. هر چند که این نوع فیوژن آنکوژنیک در سرطان های دستگاه گوارش نسبتاً نادر است اما اخیراً توالی یابی نسل جدید^۳ قادر به شناسایی آن شده است. (۸۲) شناسایی چنین فیوژن آنکوژن در بیمار، احتمالاً در آینده بتواند فرد را در راستای درمانی هدفمند و مقرون به صرفه تر قرار بدهد.

miR-100 و PIK1:

PIK1^۵ در بسیاری از سرطان ها افزایش بیان نشان می دهد. (۸۳ و ۸۴) مطالعات in-vitro نشان داده اند PIK1 توسط miR-100 سرکوب شده و بیان آن کاهش می یابد. PIK1 از تنظیم کننده های مهم مراحل میتوز است و یافته های اخیر نشان داده اند که بیان بالای آن با پیش آگهی ضعیف در بیماران همراه بوده است. (۸۷-۸۵) در ارتباط با نوعی از سرطان ریه^۶ (NSCLC)، ترانسفکت رده سلولی A549 توسط anti-miR100

1. Fibroblast growth factor receptor
2. Metabolic reprogramming
3. Transforming acid coiled coil 3
4. Next generation sequencing
5. Polo-like kinase 1
6. Non-small cell lung cancer

7. Nasopharyngeal cancer
8. Docetaxel
9. Lung adenocarcinoma
10. EC cell-line

HOXA1 و miR-100

سرطانی معده (و دارای تمایز ضعیف^۸) و نه سلول های غیر سرطانی منجر می شود. (۱۰۶) در چندین مطالعه صورت گرفته در بیماران مبتلا به لوسمی میلوئید حاد^۹ (AML) افزایش بیان miR-100 مشاهده شده است. (۳۸ و ۳۹ و ۴۰ و ۴۱) در AML با کاربوتایپ پیچیده^{۱۰} (CK-AML)، شایع ترین نقص مولکولی مربوط به TP53 می باشد و miR-100 یکی از میکروآرناهایی است که بیان آن به شدت افزایش می یابد. (۳۸) یکی از بحث برانگیزترین مقالات مرتبط با افزایش miR-100 و ارتباط آن با TP53، مطالعه ای است که اخیراً بر روی سلول های سرطانی مثانه^{۱۱} شامل رده سلولی RT4 فاقد جهش و T24 دارای جهش TP53 به چاپ رسیده است. در این مطالعه تأثیر داروی ضدسرطانی سیلیبینین^{۱۲} مورد بررسی قرار گرفت. (۱۰۹) میکروآرناها در زمره عناصری قرار می گیرند که این دارو، توسط آن ها، قادر به تحت کنترل درآوردن بیان بسیاری از ژن ها می شود. ایجاد آسیب در DNA و تحریک TP53 جهت آپوپتوز، یکی از مکانیسم های عملکردی شناخته شده برای سیلیبینین است. (۱۱۲-۱۱۰) بعد از القا این دارو در هر دو نوع سلول، آسیب در DNA مشاهده شد، اما در RT4 سیستم NER^{۱۳}، نوعی سیستم ترمیم DNA، نیز فعال شد. از طرفی دیگر تکثیر^{۱۴} در T24 کاهش پیدا کرد در صورتی که در RT4 هیچ تغییری مشاهده نشد، جالب تر این که در T24 آپوپتوز به دوصورت زود هنگام^{۱۵} و دیر هنگام^{۱۶} ملاحظه شد اما در RT4 فقط آپوپتوز زود هنگام صورت گرفت. این نتایج نشان می دهد که ممانعت از رشد و تکثیر توسط سیلیبینین، احتمالاً هیچ گونه ارتباطی با آپوپتوز ندارد. همچنین تحت تأثیر دارو، بیان ژن های مرتبط با TP53 مانند FRAP/mTOR، FGFR3، DNMT1، AKT2 و miR-100 در RT4 کاهش یافتند در صورتی که در T24 هیچ تغییری نیافتند به عبارتی در سلول فاقد جهش TP53 عملکردشان مشاهده شد و برخلاف آنچه که انتظار می رفت بیان miR-100 هم راستا با ژن هایی که مطرح کردیم، گزارش شد. (۱۰۹) هرچند که جزئیات ارتباط سیلیبینین و miR-100 مشخص نیست ولی بر اساس چنین مطالعاتی می توان این نتیجه گیری را کرد که نوع بیان miR-100 و ژن های زیردست آن، در یک سلول سرطانی، می تواند به شدت به وضعیت TP53 مرتبط باشد. (۱۰۹)

اخیراً کاهش بیان پروتئین و mRNA مربوط به TP53 فاقد جهش^{۱۷} در سرطان مری گزارش شده است. طبق نتایج حاصل از آنالیز KEGG و GO annotation در سرطان مری، یکی از اصلی ترین ژن هایی که در چسبندگی سلولی^{۱۸} غنی^{۱۹} می باشد و به عنوان یکی از اهداف miR-100 پیش بینی می شود، TP53 است، از طرفی دیگر کاهش بیان پروتئین و

به نظر می رسد که در برخی از سرطان ها مانند سرطان پستان HOXA1 همانند یک آنکوژن عمل کرده و بیان افزایش یافته آن در سلول های اپی تلیالی پستان به القای تهاجم، نامیرایی و ترانسفورماسیون می انجامد. (۹۷) HOXA1 در آبشار تومورزایی، به مثابه نوعی هدایت گر، ژن های زیردست خود را مانند CCND1، MET، SMO و SEMA3C در جهت سرطان و متاستاز فعال می کند. (۳۳) HOXA1 به عنوان نوعی ژن هدف برای miR-100 شناخته شده است. (۹۸) یکی از جالب ترین و متفاوت ترین مطالعات در ارتباط با miR-100 نشان داده است که این میکروRNA می تواند با القا مسیر EMT و با سرکوب بیان HOXA1، نقش تومورسایرسوری را ایفا کند. (۳۳ و ۹۹) در توضیح این مطلب باید متذکر شویم که محققین دریافتند در سرطان پستان بیان miR-100 کاهش می یابد. (۱۰۰) هر چند که مسیر EMT غالباً با تومورزایی همراهی مثبت نشان می دهد لکن مشاهده شد که miR-100 نوعی القاء کننده EMT است. به عبارتی miR-100 با سرکوب بیان SMARCA5، نوعی تنظیم کننده پروموتور CDH1، بیان E-cadherin را کاهش داده و در نتیجه منجر به القای مسیر^۱ EMT می گردد. همچنین موازی با آن، با کاهش بیان HOXA1، مسیر تومورزایی حاصل از ژن های زیردست HOXA1 را نیز سرکوب می کند. این گونه مطالعات نشان داده اند که EMT لزوماً همیشه با تومورزایی همراه نیست و miR-100 می تواند همزمان به عنوان یک القاء کننده EMT، حکم یک تومورسایرسور را هم داشته باشد و البته احتمالاً به این علت است که توام با هدف گرفتن سرکوبگر مسیر EMT، آنکوژن ها را نیز تحت کنترل خود در می آورد. (۳۳ و ۱۰۱ و ۱۰۲)

در رده های سلولی مرتبط با سرطان مری مانند ECA109 مشاهده شده است که کاهش بیان HOXA1، منجر به کاهش تکثیر و تهاجم سلول ها می شود و میکروآرناهایی که بتوانند HOXA1 را مورد هدف قرار بدهند مانع متاستاز و تومورزایی خواهند شد و در مطالعه انجام شده این عملکرد برای miR-30b به تأیید رسید. (۱۰۳) اثبات این عملکرد برای miR-100 موضوعی است که در آینده باید مورد بررسی قرار بگیرد.

مسیرهای احتمالی مرتبط با miR-100 در نقش آنکوژن:**miR-100 و TP53:**

مطالعات نشان داده اند که TP53 از طریق تعامل با پردازش^۲ Drosha، به تسهیل پروسه تبدیل میکروآرناهای اولیه^۳ به پرکسورها^۴ کمک می کند. (۱۰۴) فعالیت P53 از دو طریق یوبی کوئیتینه^۵ و دیوبی کوئیتینه^۶ تنظیم می شود. (۱۰۵) مطالعات انجام شده در سرطان معده نشان داده است که آنتاگونیسم miR-100 با فعال کردن یوبی کوئیتین لیگاز مانع تخریب P53 یوبی کوئیتینه^۷ می گردد و به القای آپوپتوز در سلول های

1. Epithelial-mesenchymal transition
2. Processing
3. Primary microRNA
4. Precursor
5. Ubiquitination
6. Deubiquitination
7. Ubiquitin-mediated P53

8. Poorly differentiated
9. Acute myeloid leukemia
10. Complex karyotype
11. Bladder
12. Silibinin
13. Nucleotide excision repair
14. Proliferation
15. Early
16. Late
17. Wild type
18. Cell adhesion
19. Enriched

جدول ۱: تناقض های عملکردی miR-100 و مواردی که در مطالعه بیان این دو ژن، باید لحاظ گردد.

ژن هدف miR-100	MiR-100 در نقش آنکوژن	MiR-100 در نقش تومور ساپرسور	مواردی که باید در بررسی بیان ژن هدف، در نمونه بالینی سرطان مری در نظر گرفته شود	مسیر پیشنهادی که باید همزمان با مطالعه بیان ژن هدف، در رده سلولی سرطان مری بررسی گردد	Cell line
IGF1R	سرطان پانکراس	هپاتو سلولار کارسینوما (HCC)	وضعیت متاستاز	mTOR Ras/MAPK	(۴۸و۴۵)
HOXA1	سرطان سلول کوچک ریه (SCLC)	سرطان پستان	قبل و بعد از شیمی درمانی	EMT	(۱۱۵و۳۳)
mTOR	-	رده سلولی سرطان مری	-	Apoptosis	(۵۶و۵۵)
FGFR3	-	سرطان مثانه	فیوژن های آنکوژنیک	Hypoxia	(۸۱و۷۹)
PLK1	-	سرطان سلول غیر کوچک ریه (NSCLC)	بررسی پیش آگهی و درمان های دارویی	Cell cycle checkpoints	(۸۸)
ژن های زیردست مسیر WNT2/B-catenin	-	In-vitro رده سلولی بن یاخته سرطان پستان	-	Cellular proliferation	(۹۵)
TP53	رده سلولی سرطان معده	-	-	DNA damage repair	(۱۱۳و۱۰۶)

* Cell line

miR-100 و IGF1R:

هر چند که ارتباط بین این دو عنصر در بالا مورد بحث قرار گرفت لکن مشاهده شده است که بیان miR-100 در سلول های متاستازی افزایش بیان نشان داده و مهمتر از آن، با القا مهارگر miR-100 در S2VP10، یکی از انواع رده های متاستازی، بیان IGF1R کاهش پیدا کرده است و به عبارتی دیگر IGF1R و miR-100 در سلول سرطانی متاستازی پانکراس هم راستا عمل می کنند. (۴۸و۴۵) از آن جایی که سرکوب کردن بیان miR-100 موجب کاهش بیان IGF1R شده و به عبارتی بیان این دو ژن در رده سلولی متاستازی سرطان پانکراس هم راستا، و نه معکوس، تغییر می کند، احتمال هدف گرفتن IGF1R به صورت مستقیم توسط miR-100 در این رده سلولی رد شده و احتمال تنظیم به صورت غیر مستقیم را مطرح می کند.

در سرطان مری به نظر می رسد که IGF1R همان طور که پیش تر بحث کرده بودیم نوعی ژن هدف برای miR-100 باشد، اما با توجه به مطالعه ای که در سرطان پانکراس انجام شده به نظر می رسد لازم است بسته به حضور یا عدم حضور متاستاز، ارتباط بین این دو عنصر سنجیده شود.

چالش های پیش رو مرتبط با miR-100 در سرطان سلول

سنگفرشی مری:

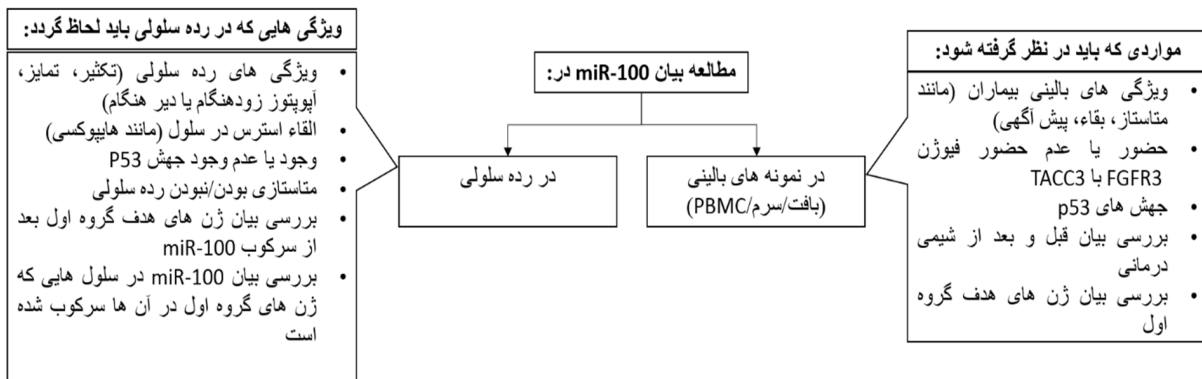
ارتباط miR-100 با سرطان سلول سنگفرشی مری، مطابق با یافته های محققین، مسلم و قطعی است، لکن عملکرد دقیق آن در این بیماری هنوز ناشناخته است. در بین مسیرهای بحث شده، بیشترین تناقض را می توانیم به دو ژن هدف IGF1R و HOXA1 نسبت بدهیم و به نظر می رسد که این نکته در مورد سرطان مری نیز مصداق داشته باشد. لذا بررسی بیان این دو ژن در سرطان سلول سنگفرشی مری و همچنین لحاظ کردن موارد مطرح شده، جهت متمرکز کردن مطالعات، ضروری به نظر می آید (جدول ۱).

mRNA مربوط به TP53 فاقد جهش در سرطان مری نیز گزارش شده است. (۱۱۴و۱۱۳) چگونگی ارتباط miR-100 با TP53 به خصوص با توجه به یافته های مقاله مذکور، به چالشی جدید در ذهن محققین منتهی می شوند.

miR-100 و HOXA1:

برخلاف مطالب ذکر شده در مورد HOXA1 در سرطان پستان، به نظر می رسد که در نوعی از سرطان ریه (SLCLC) HOXA1 عملکردی کاملاً متفاوت دارد. (۱۱۵) در این مطالعه که ارتباط سطح بیان HOXA1 با پاسخ به داروی شیمی درمانی مورد بررسی قرار گرفته است، محققین مشاهده کرده اند که در رده سلولی H69 سطح HOXA1 بعد از شیمی درمانی نسبت به قبل از آن کمتر می شود و HOXA1 آپوپتوز القا شده توسط دارو را افزایش می دهد. miR-100 در SLCLC ارتباطی کاملاً معکوس با HOXA1 داشته و برخلاف سرطان پستان، miR-100 دچار افزایش بیان بوده و با هدف گرفتن HOXA1 نقش آنکوژنی را ایفا می کند. به طور کلی به نظر می رسد که سطح بیان HOXA1 در سلول های سرطانی مقاوم به شیمی درمانی کمتر است و سطح HOXA1 به طور مستقل می تواند جهت پیش بینی نسبت به پاسخ به درمان مورد استفاده قرار بگیرد. (۱۱۵و۳۳) در مورد سرطان مری همانطور که بیان شد تاکنون صرفاً کاهش بیان HOXA1 گزارش شده است. (۱۰۳) اما با توجه به این که گزارش های رسیده از بیان miR-100 متناقض بوده است و از طرفی جزئیات ارتباط بین miR-100 و HOXA1 برخلاف مطالعات مربوط به سرطان ریه و سرطان پستان، به طور دقیق شناخته شده نیست، بررسی نوع ارتباط و عملکرد عناصر حاضر در همراهی با این دو در سرطان مری، بیش از پیش ضرورت می یابد.

1. Small cell lung cancer



شکل ۱: نکات پیشنهادی در بررسی miR-100 در سرطان سلول سنگفرشی مری

باشد و در مراحل پیشرفته بیماری، به علت مسیرهای غیرطبیعی فعال شده، بقای سلول، و نه فرد، در اولویت miR-100 باشد و به همین دلیل نقشی متفاوت از آنچه را که دارد، به نمایش بگذارد و در حالی که به عنوان مهارگر مسیری مانند mTOR معرفی شده و ژن های زیر دست این مسیر به عنوان ژن هدف برای miR-100 شناخته شده اند، اما در عمل با مهار سرکوبگران اصلی مسیر مربوطه، به طور غیرمستقیم فعال کننده آن باشد. با این وجود شفاف سازی موارد مطرح شده و تأیید عملکرد دقیق miR-100 در تغییر پروسه های سلولی و تعدیل تنظیم مسیرهای دخیل در سرطان سلول سنگفرشی مری، نیاز به مطالعات گسترده تر در آینده دارد. با شناسایی ژن های هدف miR-100 در سرطان مری و در نتیجه مشخص شدن نقش آن به عنوان توموسایرسور و یا آنکوژن، پتانسیل و قابلیت miR-100 به عنوان ابزاری سودمند در درمان سرطان میسر خواهد شد.

در راستای درک عملکرد صحیح miR-100 در سرطان سلول سنگفرشی مری بهتر است از چندین بعد مطالعات انجام شوند و به عبارتی صرفاً به سطح بیان این میکروآرنا در بافت یا سرم بسنده نکنیم. مرور تحقیقات گذشته، شکاف های حاضر در مطالعات مربوط به miR-100 در سرطان مری را، آشکار می سازد. لذا با تحلیل مطالعات مذکور و جهت هدفمندتر کردن تحقیقات آینده و همچنین پر کردن خلاء های مرتبط با بررسی بیان miR-100 در سرطان مری، نکاتی را جهت ورود به مطالعات مربوطه پیشنهاد می کنیم. شاید با بررسی توام و همزمان موارد مطرح شده در شکل ۱، از جمله ژن های هدف بویژه IGF1R, mTOR, FGFR3, PIK1, HOXA و ژن های مربوط به ترمیم DNA (که به عنوان ژن های هدف گروه اول نام گذاری کرده ایم)، در کنار بررسی miR-100 درک تناقض ها راحت تر گردد و تفاوت مربوط به سطح بیان آن در مطالعات مختلف منطقی به نظر آید. به طور مثال ممکن است یکی از علت های تفاوت بیان بین مطالعات مختلف، به مرحله سرطان مربوط

REFERENCES:

- Zhang Y. Epidemiology of esophageal cancer. *World J Gastroenterol* 2013;19:5598-606.
- Wang C, Guan S, Liu F, Chen X, Han L, Wang D, et al. Prognostic and diagnostic potential of miR-146a in oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2016;114:290-7.
- Sugihara H, Ishimoto T, Miyake K, Izumi D, Baba Y, Yoshida N, et al. Noncoding RNA Expression Aberration Is Associated with Cancer Progression and Is a Potential Biomarker in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Int J Mol Sci* 2015;16:27824-34.
- Akbari MR, Malekzadeh R, Shakeri R, Nasrollahzadeh D, Foumani M, Sun Y, et al. Candidate gene association study of esophageal squamous cell carcinoma in a high-risk region in Iran. *Cancer Res* 2009;69:7994-8000.
- Malekzadeh R, Semnani SH, Sajjadi A. Esophageal cancer in Iran A Review. *Govareh* 2008;13:25-34 .
- Ohashi S, Miyamoto S, Kikuchi O, Goto T, Amanuma Y, Muto M. Recent Advances From Basic and Clinical Studies of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Gastroenterology* 2015;149:1700-15.
- Akbari MR, Malekzadeh R, Lepage P, Roquis D, Sadjadi AR, Aghcheli K, et al. Mutations in Fanconi anemia genes and the risk of esophageal cancer. *Hum Genet* 2011;129:573-82.
- Nariman-Saleh-Fam Z, Bastami M, Somi MH, Behjati F, Mansoori Y, Daraei A, et al. miRNA-Related Polymorphisms in miR-423 (rs6505162) and PEX6 (rs1129186) and Risk of Esophageal Squamous Cell Carcinoma in an Iranian Cohort. *Genet Test Mol Biomarkers* 2017;21:382-90.
- Gholipour M, Islami F, Roshandel G, Khoshnia M, Badakhshan A, Moradi A, et al. Esophageal Cancer in Golestan Province, Iran: A Review of Genetic Susceptibility and Environmental Risk Factors. *Middle East J Dig Dis* 2016;8:249-66.
- Taghavi N, Nasrollahzadeh D, Merat S, Yazdanbod A, Hormazdi M, Sotoudeh M, et al. Epidemiology of upper gastrointestinal cancers in Iran: a sub site analysis of 761 cases. *World J Gastroenterol* 2007;13:5367-70.
- Sadjadi A, Malekzadeh R, Derakhshan MH, Sepehr A, Nouraei M, Sotoudeh M, et al. Cancer occurrence in Ardabil: results of a population-based cancer registry from Iran. *Int J Cancer* 2003; 107:113-8.

12. Fang Y, Fang D, Hu J. MicroRNA and its roles in esophageal cancer. *Med Sci Monit* 2012;18:Ra22-30.
13. Harada K, Baba Y, Ishimoto T, Shigaki H, Kosumi K, Yoshida N, et al. The role of microRNA in esophageal squamous cell carcinoma. *J Gastroenterol* 2016;51:520-30.
14. Komatsu S, Ichikawa D, Takeshita H, Tsujiura M, Morimura R, Nagata H, et al. Circulating microRNAs in plasma of patients with oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2011;105:104-11.
15. Samadi F, Babaei M, Yazdanbod A, Fallah M, Nouraei M, Nasrollahzadeh D, et al. Survival rate of gastric and esophageal cancers in Ardabil province, North-West of Iran. *Arch Iran Med* 2007;10:32-7.
16. Ryan BM, Robles AI, Harris CC. Genetic variation in microRNA networks: the implications for cancer research. *Nat Rev Cancer* 2010;10:389-402.
17. He B, Yin B, Wang B, Xia Z, Chen C, Tang J. MicroRNAs in esophageal cancer (review). *Mol Med Rep* 2012;6:459-65.
18. Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006;6:259-69.
19. Mendell JT, Olson EN. MicroRNAs in stress signaling and human disease. *Cell* 2012;148:1172-87.
20. Ebert MS, Sharp PA. Roles for microRNAs in conferring robustness to biological processes. *Cell* 2012;149:515-24.
21. Ghaedi H, Bastami M, Zare-Abdollahi D, Alipoor B, Movafagh A, Mirfakhraie R, et al. Bioinformatics prioritization of SNPs perturbing microRNA regulation of hematological malignancy-implicated genes. *Genomics* 2015;106:360-6.
22. Bastami M, Nariman-Saleh-Fam Z, Saadatian Z, Nariman-Saleh-Fam L, Omrani MD, Ghaderian SMH, et al. The miRNA targetome of coronary artery disease is perturbed by functional polymorphisms identified and prioritized by in-depth bioinformatics analyses exploiting genome-wide association studies. *Gene* 2016;594:74-81.
23. Nariman-Saleh-Fam Z, Bastami M, Somi MH, Samadi N, Abbaszadegan MR, Behjati F, et al. In silico dissection of miRNA targetome polymorphisms and their role in regulating miRNA-mediated gene expression in esophageal cancer. *Cell Biochem Biophys* 2016;74:483-97.
24. Bastami M, Ghaderian SM, Omrani MD, Mirfakhraie R, Vakili H, Parsa SA, et al. MiRNA-Related Polymorphisms in miR-146a and TCF21 Are Associated with Increased Susceptibility to Coronary Artery Disease in an Iranian Population. *Genet Test Mol Biomarkers* 2016;20:241-8.
25. Saadatian Z, Masotti A, Nariman Saleh Fam Z, Alipoor B, Bastami M, Ghaedi H. Single-Nucleotide Polymorphisms Within MicroRNAs Sequences and Their 3' UTR Target Sites May Regulate Gene Expression in Gastrointestinal Tract Cancers. *Iran Red Crescent Med J* 2014;16:e16659.
26. Nagaraja AK, Creighton CJ, Yu Z, Zhu H, Gunaratne PH, Reid JG, et al. A link between mir-100 and FRAP1/mTOR in clear cell ovarian cancer. *Mol Endocrinol* 2010;24:447-63.
27. Wang G, Chen L, Meng J, Chen M, Zhuang L, Zhang L. Overexpression of microRNA-100 predicts an unfavorable prognosis in renal cell carcinoma. *Int Urol Nephrol* 2013;45:373-9.
28. Chen Y, Zhang L, Hao Q. Candidate microRNA biomarkers in human epithelial ovarian cancer: systematic review profiling studies and experimental validation. *Cancer Cell Int* 2013;13:86.
29. Gadducci A, Sergiampietri C, Lanfredini N, Guiggi I. MicroRNAs and ovarian cancer: the state of art and perspectives of clinical research. *Gynecol Endocrinol* 2014;30:266-71.
30. Nam EJ, Yoon H, Kim SW, Kim H, Kim YT, Kim JH, et al. MicroRNA expression profiles in serous ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res* 2008;14:2690-5.
31. Peng DX, Luo M, Qiu LW, He YL, Wang XF. Prognostic implications of microRNA-100 and its functional roles in human epithelial ovarian cancer. *Oncol Rep* 2012;27:1238-44.
32. Oliveira JC, Brassesco MS, Morales AG, Pezuk JA, Fedatto PF, da Silva GN, et al. MicroRNA-100 acts as a tumor suppressor in human bladder carcinoma 5637 cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011;12:3001-4.
33. Chen D, Sun Y, Yuan Y, Han Z, Zhang P, Zhang J, et al. miR-100 induces epithelial-mesenchymal transition but suppresses tumorigenesis, migration and invasion. *PLoS Genet* 2014;10:e1004177.
34. Gebeshuber CA, Martinez J. miR-100 suppresses IGF2 and inhibits breast tumorigenesis by interfering with proliferation and survival signaling. *Oncogene* 2013;32:3306-10.
35. Leite KR, Morais DR, Reis ST, Viana N, Moura C, Florez MG, et al. MicroRNA 100: a context dependent miRNA in prostate cancer. *Clinics (Sao Paulo)* 2013;68:797-802.
36. Wang M, Ren D, Guo W, Wang Z, Huang S, Du H, et al. Loss of miR-100 enhances migration, invasion, epithelial-mesenchymal transition and stemness properties in prostate cancer cells through targeting Argonaute 2. *Int J Oncol* 2014;45:362-72.
37. Leite KR, Tomiyama A, Reis ST, Sousa-Canavez JM, Sannudo A, Dall'Oglio MF, et al. MicroRNA-100 expression is independently related to biochemical recurrence of prostate cancer. *J Urol* 2011;185:1118-22.
38. Rucker FG, Russ AC, Cocciardi S, Kett H, Schlenk RF, Botzenhardt U, et al. Altered miRNA and gene expression in acute myeloid leukemia with complex karyotype identify networks of prognostic relevance. *Leukemia* 2013;27:353-61.
39. Bai J, Guo A, Hong Z, Kuai W. Upregulation of microRNA-100 predicts poor prognosis in patients with pediatric acute myeloid leukemia. *Oncol Targets Ther* 2012;5:213-9.
40. Yang G, Gong Y, Wang Q, Wang Y, Zhang X. The role of miR-100-mediated Notch pathway in apoptosis of gastric tumor cells. *Cell Signal* 2015;27:1087-101.
41. Wang H, Wang L, Wu Z, Sun R, Jin H, Ma J, et al. Three dysregulated microRNAs in serum as novel biomarkers for gastric cancer screening. *Med Oncol* 2014;31:298.

42. Ueda T, Volinia S, Okumura H, Shimizu M, Taccioli C, Rossi S, et al. Relation between microRNA expression and progression and prognosis of gastric cancer: a microRNA expression analysis. *Lancet Oncol* 2010;11:136-46.
43. Shi DB, Xing AY, Gao C, Gao P. [Expression of microRNA-100 in human gastric cancer]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 2013;42:15-9.
44. Chen P, Zhao X, Ma L. Downregulation of microRNA-100 correlates with tumor progression and poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Mol Cell Biochem* 2013;383:49-58.
45. Ge YY, Shi Q, Zheng ZY, Gong J, Zeng C, Yang J, et al. MicroRNA-100 promotes the autophagy of hepatocellular carcinoma cells by inhibiting the expression of mTOR and IGF-1R. *Oncotarget* 2014;5:6218-28.
46. Petrelli A, Perra A, Schernhuber K, Cargnelutti M, Salvi A, Migliore C, et al. Sequential analysis of multistage hepatocarcinogenesis reveals that miR-100 and PLK1 dysregulation is an early event maintained along tumor progression. *Oncogene* 2012;31:4517-26.
47. Wang Y, Gao Y, Shi W, Zhai D, Rao Q, Jia X, et al. Profiles of differential expression of circulating microRNAs in hepatitis B virus-positive small hepatocellular carcinoma. *Cancer Biomark* 2015;15:171-80.
48. Huang JS, Egger ME, Grizzle WE, McNally LR. MicroRNA-100 regulates IGF1-receptor expression in metastatic pancreatic cancer cells. *Biotech Histochem* 2013;88:397-402.
49. Panarelli NC, Chen YT, Zhou XK, Kitabayashi N, Yantiss RK. MicroRNA expression aids the preoperative diagnosis of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pancreas* 2012;41:685-90.
50. LaConti JJ, Shivapurkar N, Preet A, Deslattes Mays A, Peran I, Kim SE, et al. Tissue and serum microRNAs in the Kras(G12D) transgenic animal model and in patients with pancreatic cancer. *PLoS One* 2011;6:e20687.
51. Li Z, Li X, Yu C, Wang M, Peng F, Xiao J, et al. MicroRNA-100 regulates pancreatic cancer cells growth and sensitivity to chemotherapy through targeting FGFR3. *Tumour Biol* 2014;35:11751-9.
52. Permuth-Wey J, Chen YA, Fisher K, McCarthy S, Qu X, Lloyd MC, et al. A genome-wide investigation of microRNA expression identifies biologically-meaningful microRNAs that distinguish between high-risk and low-risk intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *PLoS One* 2015;10:e0116869.
53. Jung DE, Wen J, Oh T, Song SY. Differentially expressed microRNAs in pancreatic cancer stem cells. *Pancreas* 2011;40:1180-7.
54. Fu HL, Wu DP, Wang XF, Wang JG, Jiao F, Song LL, et al. Altered miRNA expression is associated with differentiation, invasion, and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) in patients from Huaian, China. *Cell Biochem Biophys* 2013;67:657-68.
55. Sun J, Chen Z, Tan X, Zhou F, Tan F, Gao Y, et al. MicroRNA-99a/100 promotes apoptosis by targeting mTOR in human esophageal squamous cell carcinoma. *Med Oncol* 2013;30:411.
56. Zhang N, Fu H, Song L, Ding Y, Wang X, Zhao C, et al. MicroRNA-100 promotes migration and invasion through mammalian target of rapamycin in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 2014;32:1409-18.
57. Zhou S, Yang B, Zhao Y, Xu S, Zhang H, Li Z. Prognostic value of microRNA-100 in esophageal squamous cell carcinoma. *J Surg Res* 2014;192:515-20.
58. Zhou SM, Zhang F, Chen XB, Jun CM, Jing X, Wei DX, et al. miR-100 suppresses the proliferation and tumor growth of esophageal squamous cancer cells via targeting CXCR7. *Oncol Rep* 2016;35:3453-9.
59. Ko MA, Zehong G, Virtanen C, Guindi M, Waddell TK, Keshavjee S, et al. MicroRNA expression profiling of esophageal cancer before and after induction chemoradiotherapy. *Ann Thorac Surg* 2012;94:1094-102.
60. Wu C, Wang C, Guan X, Liu Y, Li D, Zhou X, et al. Diagnostic and prognostic implications of a serum miRNA panel in oesophageal squamous cell carcinoma. *PLoS One* 2014;9:e92292.
61. Zhang C, Wang C, Chen X, Yang C, Li K, Wang J, et al. Expression profile of microRNAs in serum: a fingerprint for esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Chem* 2010;56:1871-9.
62. Pópulo H, Lopes JM, Soares P. The mTOR Signalling Pathway in Human Cancer. *Int J Mol Sci* 2012;13:1886-918.
63. Watanabe R, Wei L, Huang J. mTOR signaling, function, novel inhibitors, and therapeutic targets. *J Nucl Med* 2011;52:497-500.
64. Wang AP, Li XH, Gong SX, Li WQ, Hu CP, Zhang Z, et al. miR-100 suppresses mTOR signaling in hypoxia-induced pulmonary hypertension in rats. *Eur J Pharmacol* 2015;765:565-73.
65. Zhang B, Zhao R, He Y, Fu X, Fu L, Zhu Z, et al. MicroRNA 100 sensitizes luminal A breast cancer cells to paclitaxel treatment in part by targeting mTOR. *Oncotarget* 2016;7:5702-14.
66. Fumarola C, Bonelli MA, Petronini PG, Alfieri RR. Targeting PI3K/AKT/mTOR pathway in non small cell lung cancer. *Biochem Pharmacol* 2014;90:197-207.
67. Ma W, Zhang T, Pan J, Shi N, Fan Q, Wang L, et al. Assessment of insulin-like growth factor 1 receptor as an oncogene in esophageal squamous cell carcinoma and its potential implication in chemotherapy. *Oncol Rep* 2014;32:1601-9.
68. Ekyalongo RC, Yee D. Revisiting the IGF-1R as a breast cancer target. *NPJ Precis Oncol* 2017;1:14.
69. Shali H, Ahmadi M, Kafil HS, Dorosti A, Yousefi M. IGF-1R and c-met as therapeutic targets for colorectal cancer. *Biomed Pharmacother* 2016;82:528-36.
70. Cheaib B, Auguste A, Leary A. The PI3K/Akt/mTOR pathway in ovarian cancer: therapeutic opportunities and challenges. *Chin J Cancer* 2015;34:4-16.
71. Cheng H, Xue J, Yang S, Chen Y, Wang Y, Zhu Y, et al. Co-targeting of IGF1R/mTOR pathway by miR-497 and

- miR-99a impairs hepatocellular carcinoma development. *Oncotarget* 2017;8:47984-97.
72. Jin Y, Tymen SD, Chen D, Fang ZJ, Zhao Y, Dragas D, et al. MicroRNA-99 family targets AKT/mTOR signaling pathway in dermal wound healing. *PLoS One* 2013;8:e64434.
 73. Li XJ, Luo XQ, Han BW, Duan FT, Wei PP, Chen YQ. MicroRNA-100/99a, deregulated in acute lymphoblastic leukaemia, suppress proliferation and promote apoptosis by regulating the FKBP51 and IGF1R/mTOR signalling pathways. *Br J Cancer* 2013;109:2189-98.
 74. Doyle SL, Donohoe CL, Finn SP, Howard JM, Lithander FE, Reynolds JV, et al. IGF-1 and its receptor in esophageal cancer: association with adenocarcinoma and visceral obesity. *Am J Gastroenterol* 2012;107:196-204.
 75. Bao XH, Takaoka M, Hao HF, Wang ZG, Fukazawa T, Yamatsuji T, et al. Esophageal cancer exhibits resistance to a novel IGF-1R inhibitor NVP-AEW541 with maintained RAS-MAPK activity. *Anticancer Res* 2012;32:2827-34.
 76. Kong N, Lu X, Li B. Downregulation of microRNA-100 protects apoptosis and promotes neuronal growth in retinal ganglion cells. *BMC Mol Biol* 2014;15:25.
 77. Bi Y, Jing Y, Cao Y. Overexpression of miR-100 inhibits growth of osteosarcoma through FGFR3. *Tumour Biol* 2015;36:8405-11.
 78. Henson BJ, Bhattacharjee S, O'Dee DM, Feingold E, Gollin SM. Decreased expression of miR-125b and miR-100 in oral cancer cells contributes to malignancy. *Genes Chromosomes Cancer* 2009;48:569-82.
 79. Blick C, Ramachandran A, Wigfield S, McCormick R, Jubb A, Buffa FM, et al. Hypoxia regulates FGFR3 expression via HIF-1alpha and miR-100 and contributes to cell survival in non-muscle invasive bladder cancer. *Br J Cancer* 2013;109:50-9.
 80. Luan Y, Zhang S, Zuo L, Zhou L. Overexpression of miR-100 inhibits cell proliferation, migration, and chemosensitivity in human glioblastoma through FGFR3. *Onco Targets Ther* 2015;8:3391-400.
 81. Li C, Gao Y, Zhang K, Chen J, Han S, Feng B, et al. Multiple Roles of MicroRNA-100 in Human Cancer and its Therapeutic Potential. *Cell Physiol Biochem* 2015;37:2143-59.
 82. Mizukami T, Sakai K, Naruki S, Taniyama T, Horie Y, Iizawa N, et al. Identification of a FGFR3-TACC3 fusion in esophageal cancer. *Ann Oncol* 2017;28:437-8.
 83. Liu Z, Sun Q, Wang X. PLK1, A Potential Target for Cancer Therapy. *Transl Oncol* 2017;10:22-32.
 84. Li Z, Liu J, Li J, Kong Y, Sandusky G, Rao X, et al. Polo-like kinase 1 (Plk1) overexpression enhances ionizing radiation-induced cancer formation in mice. *J Biol Chem* 2017;292:17461-72.
 85. Zhang R, Shi H, Ren F, Liu H, Zhang M, Deng Y, et al. Misregulation of polo-like protein kinase 1, P53 and P21 WAF1 in epithelial ovarian cancer suggests poor prognosis. *Oncol Rep* 2015;33:1235-42.
 86. Ramani P, Nash R, Sowa-Avugrah E, Rogers C. High levels of polo-like kinase 1 and phosphorylated translationally controlled tumor protein indicate poor prognosis in neuroblastomas. *J Neurooncol* 2015;125:103-11.
 87. Tut TG, Lim SH, Dissanayake IU, Descallar J, Chua W, Ng W, et al. Upregulated Polo-Like Kinase 1 Expression Correlates with Inferior Survival Outcomes in Rectal Cancer. *PLoS One* 2015;10:e0129313.
 88. Liu J, Lu KH, Liu ZL, Sun M, De W, Wang ZX. MicroRNA-100 is a potential molecular marker of non-small cell lung cancer and functions as a tumor suppressor by targeting polo-like kinase 1. *BMC Cancer* 2012;12:519.
 89. Shi W, Alajez NM, Bastianutto C, Hui AB, Mocanu JD, Ito E, et al. Significance of Plk1 regulation by miR-100 in human nasopharyngeal cancer. *Int J Cancer* 2010;126:2036-48.
 90. Feng B, Wang R, Chen LB. MiR-100 resensitizes docetaxel-resistant human lung adenocarcinoma cells (SPC-A1) to docetaxel by targeting Plk1. *Cancer Lett* 2012;317:184-91.
 91. Ito T, Sato F, Kan T, Cheng Y, David S, Agarwal R, et al. Polo-like kinase 1 regulates cell proliferation and is targeted by miR-593* in esophageal cancer. *Int J Cancer* 2011;129:2134-46.
 92. Zhang Y, Du XL, Wang CJ, Lin DC, Ruan X, Feng YB, et al. Reciprocal activation between PLK1 and Stat3 contributes to survival and proliferation of esophageal cancer cells. *Gastroenterology* 2012;142:521-30.e3.
 93. Moureau S, Pohler E, Kroboth K, Saladino C, MacKay C, Hollick J, et al. Therapeutic potential of novel PLK1 inhibitor CYC140 in esophageal cancer and acute leukemia. *Europ J Cancer* 2016;69:S117.
 94. Tian X, Liu Z, Niu B, Zhang J, Tan TK, Lee SR, et al. E-cadherin/beta-catenin complex and the epithelial barrier. *J Biomed Biotechnol* 2011;2011:567305.
 95. Petrelli A, Carollo R, Cargnelutti M, Iovino F, Callari M, Cimino D, et al. By promoting cell differentiation, miR-100 sensitizes basal-like breast cancer stem cells to hormonal therapy. *Oncotarget* 2015;6:2315-30.
 96. Deng F, Zhou K, Cui W, Liu D, Ma Y. Clinicopathological significance of wnt/beta-catenin signaling pathway in esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol* 2015;8:3045-53.
 97. Wang X, Li Y, Qi W, Zhang N, Sun M, Huo Q, et al. MicroRNA-99a inhibits tumor aggressive phenotypes through regulating HOXA1 in breast cancer cells. *Oncotarget* 2015;6:32737-47.
 98. Chen D, Chen Z, Jin Y, Dragas D, Zhang L, Adjei BS, et al. MicroRNA-99 family members suppress Homeobox A1 expression in epithelial cells. *PLoS One* 2013;8:e80625.
 99. Yang J, Chen Z, Wang X, Xu M, Fang H, Li F, et al. Inactivation of miR-100 combined with arsenic treatment enhances the malignant transformation of BEAS-2B cells via stimulating epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Biol Ther* 2017;18:965-973.

100. Gong Y, He T, Yang L, Yang G, Chen Y, Zhang X. The role of miR-100 in regulating apoptosis of breast cancer cells. *Sci Rep* 2015;5:11650.
101. Lebrun JJ. The Dual Role of TGF in Human Cancer: From Tumor Suppression to Cancer Metastasis. *ISRN Mol Biol* 2012;2012:381428.
102. Jakowlew SB. Transforming growth factor-beta in cancer and metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 2006;25:435-57.
103. Li Q, Zhang X, Li N, Liu Q, Chen D. miR-30b inhibits cancer cell growth, migration, and invasion by targeting homeobox A1 in esophageal cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2017;485:506-12.
104. Suzuki HI, Yamagata K, Sugimoto K, Iwamoto T, Kato S, Miyazono K. Modulation of microRNA processing by p53. *Nature* 2009;460:529-33.
105. Brooks CL, Gu W. p53 regulation by ubiquitin. *FEBS Lett* 2011;585:2803-9.
106. Yang G, Gong Y, Wang Q, Wang L, Zhang X. miR-100 antagonism triggers apoptosis by inhibiting ubiquitination-mediated p53 degradation. *Oncogene* 2017;36:1023-37.
107. Zheng YS, Zhang H, Zhang XJ, Feng DD, Luo XQ, Zeng CW, et al. MiR-100 regulates cell differentiation and survival by targeting RBSP3, a phosphatase-like tumor suppressor in acute myeloid leukemia. *Oncogene* 2012;31:80-92.
108. Zhang H, Luo XQ, Zhang P, Huang LB, Zheng YS, Wu J, et al. MicroRNA patterns associated with clinical prognostic parameters and CNS relapse prediction in pediatric acute leukemia. *PLoS One* 2009;4:e7826.
109. DE Oliveira DT, Savio AL, Marcondes JP, Barros TM, Barbosa LC, Salvadori DM, et al. Cytotoxic and toxicogenomic effects of silibinin in bladder cancer cells with different TP53 status. *J Biosci* 2017;42:91-101.
110. Rigby CM, Roy S, Deep G, Guillermo-Lagae R, Jain AK, Dhar D, et al. Role of p53 in silibinin-mediated inhibition of ultraviolet B radiation-induced DNA damage, inflammation and skin carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2017;38:40-50.
111. Guillermo-Lagae R, Deep G, Ting H, Agarwal C, Agarwal R. Silibinin enhances the repair of ultraviolet B-induced DNA damage by activating p53-dependent nucleotide excision repair mechanism in human dermal fibroblasts. *Oncotarget* 2015;6:39594-606.
112. Zadeh MM, Motamed N, Ranji N, Majidi M, Falahi F. Silibinin-Induced Apoptosis and Downregulation of MicroRNA-21 and MicroRNA-155 in MCF-7 Human Breast Cancer Cells. *J Breast Cancer* 2016;19:45-52.
113. Zhao JY, Wang F, Li Y, Zhang XB, Yang L, Wang W, et al. Five miRNAs Considered as Molecular Targets for Predicting Esophageal Cancer. *Med Sci Monit* 2015;21:3222-30.
114. Zhou P, Dong H, He S, Fang L, Jiang N, Sun Q. miR612 is associated with esophageal squamous cell carcinoma development and metastasis, mediated through TP53. *Mol Med Rep* 2017;16:1855-63.
115. Xiao F, Bai Y, Chen Z, Li Y, Luo L, Huang J, et al. Down-regulation of HOXA1 gene affects small cell lung cancer cell survival and chemoresistance under the regulation of miR-100. *Eur J Cancer* 2014;50:1541-54.