

Alterations in the Expression Level of mir-1246 and mir-224 in Breast Cancer Cell Lines After Treatment with Taxol Chemotherapeutic Agent

Haghnavaaz N^{1,2}, Asghari F¹, Sattari Z², Babaei M², Kazemi T*¹

1. Immunology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

2. Students Research Committee, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

* *Corresponding author.* Tel: +984133364665, Fax: +984133364665, E-mail: kazemit@tbzmed.ac.ir

Received: Oct 22, 2018

Accepted: Dec 21, 2018

ABSTARCT

Background & objectives: Breast cancer is one of the most important cancers in women worldwide. Taxol as a chemotherapeutic agent, is used for treatment of breast cancer. The aim of this study was to investigate alterations in the expression of mir-1246 and mir-224 in four breast cancer cell lines after Taxol treatment with the goal of introducing them as a biochemical marker for determining response or resistance of breast cancer to the Taxol therapy.

Methods: In this *in vitro* study, four breast cancer cell lines including MCF-7, MDA-MB-231, SKBR-3 and BT-474 were cultured in RPMI1640 medium supplemented with 10% FBS and antibiotics. Then, MTT assay was performed to determine IC₅₀ concentration of Taxol. Cells were treated for 24 hours and then RNA extraction and cDNA synthesis were performed. Alterations in the expression level of mir-1246 and mir-224 were quantitated using qRT-PCR.

Results: After treatment with Taxol, the expression level of mir-1246 was significantly up-regulated in two HER2-overexpressing cell lines, BT-474 (113 fold) and SKBR-3 (1.4 fold), and down-regulated in two HER2-negative cell lines, MCF-7 (45.5 fold) and MDA-MB-231 (7.7 fold). Expression of mir-224 was detected only in two cell lines including SKBR-3 and MDA-MB-231, and was down-regulated after treatment with Taxol (2.1 and 17.2 fold, respectively).

Conclusions: According to the different pattern of alteration in the expression level of mir-1246 in HER2-overexpressing breast cancer cell lines compared to HER2-negative cell lines after treatment with Taxol, this miRNA could be a useful biomarker for responsiveness to Taxol in different types of HER2-positive and -negative breast cancers.

Keywords: Breast Cancer; Taxol; mir-1246; mir-224

تغییر الگوی بیان mir-1246 و mir-224 در رده‌های سلولی سرطان سینه پس از تیمار با داروی ضد سرطانی تاکسول

نویسنده حق نواز^{۱*}، فائزه اصغری^۱، زینب ستاری^۲، منیره بابایی^۲، توحید کاظمی^{۱*}

۱. مرکز تحقیقات ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۲. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۴۱۳۳۶۴۶۶۵ فاکس: ۰۴۱۳۳۶۴۶۶۵ پست الکترونیک: kazemit@tbzmed.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: سرطان سینه یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها در میان زنان در سراسر دنیا است، که یکی از داروهای مورد استفاده برای درمان آن، تاکسول می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی تغییرات بیان mir-1246 و mir-224 در چهار رده سلولی سرطان سینه پس از تیمار با تاکسول با هدف معرفی آنها به عنوان مارکر زیستی جهت پاسخ‌دهی یا مقاومت به درمان بود.

روش کار: در این مطالعه آزمایشگاهی، چهار رده سلولی MCF-7، MDA-MB-231، SKBR-3 و BT-474 در محیط کشت RPMI1640 دارای FBS ۱۰٪ و آنتی بیوتیک کشت داده شده و سپس برای تعیین IC50 تاکسول، آزمون MTT انجام گرفت. سپس، سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت در معرض غلظت IC50 تاکسول قرار گرفته و پس از این مدت، RNA استخراج و cDNA سنتز گردید. تغییر در الگوی بیان mir-1246 و mir-224 با استفاده از qRT-PCR بصورت کمی بررسی شد.

یافته‌ها: پس از تیمار با تاکسول، mir-1246 در دو سلول دارای بیان بالای HER-2 یعنی BT-474 و SKBR-3 بطور معنی‌دار افزایش (به ترتیب ۱۱۳ و ۱/۴ برابر) و در دو سلول دیگر فاقد بیان HER-2 یعنی MCF-7 و MDA-MB-231 بطور معنی‌داری کاهش نشان داد (به ترتیب ۵/۵ و ۷/۷ برابر). mir-224 تنها در دو سلول SKBR-3 و MDA-MB-231 بیان داشت، که آن هم پس از تیمار با تاکسول بطور معنی‌داری کاهش نشان داد (به ترتیب ۲/۱ و ۱۷/۲ برابر).

نتیجه گیری: بدلیل تفاوت در الگوی تغییر بیان mir-1246 در انواع سرطان سینه دارای بیان بالای HER-2 و انواع دارای فاقد بیان آن به تیمار با تاکسول، این miRNA می‌تواند به عنوان یک مارکر زیستی برای پاسخ‌دهی انواع سرطان سینه متفاوت از نظر بیان HER-2 به شیمی درمانی با تاکسول مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: سرطان سینه، تاکسول، mir-1246، mir-224

پذیرش: ۱۳۹۷/۰۹/۳۰

دریافت: ۱۳۹۷/۰۷/۳۰

مقدمه

ابتلا و تشخیص بیماری حدود ۱۰ سال کمتر از کشورهای غربی می‌باشد [۳،۲]. عوامل متعددی در بروز سرطان سینه دخیل شناخته شده‌اند. برای مثال سن، عوامل ژنتیکی، موقعیت جغرافیایی، سابقه بیماری‌های خوش خیم سینه، سن پایین شروع قاعدگی و سابقه مصرف داروهای پیشگیری از بارداری (۴). تقسیم بندی‌های متعددی برای سرطان سینه وجود

سرطان سینه شایع‌ترین نوع سرطان در بین زنان در کل جهان و نیز در ایران می‌باشد، به طوری که ۲۳ درصد کل سرطان‌ها را در زنان و ۱۴ درصد از موارد مرگ در اثر سرطان را در بین زنان شامل می‌شود [۱]. در ایران تعداد بیشتری از بیماران در زمان شناسایی، مبتلا به سرطان پیشرفته سینه بوده و سن

دارد. بعنوان مثال این نوع سرطان بر اساس منشأ بافتی تومور به شش نوع تقسیم می‌شود که هر کدام از این انواع، ویژگی‌های خاص خود را داشته و الگوی بیان منحصر به فردی از گیرنده‌های استروژن، پروژسترون و فاکتور رشد اپیدرمی شماره دو انسانی (HER-2)^۱ را نشان می‌دهد. الگوی بیان این گیرنده‌ها در انتخاب راهبرد درمانی و نیز پیش‌آگهی بیماری مهم می‌باشد [۵]. در مطالعات آزمایشگاهی برای تحقیق در رابطه با این سرطان از رده‌های سلولی به عنوان مدل تجربی استفاده می‌شود. یکی از مهمترین مزایای استفاده از رده‌های سلولی این است که یک منبع نامحدود از جمعیت سلولی هموژن را فراهم می‌کند که در محیط کشت استاندارد خاصیت خودهمانندسازی دارند. از جمله پرکاربردترین رده‌های سلولی در رابطه با سرطان سینه عبارتند از: MDA-MB-231 و BT-474، SKBR3، MCF-7 رده‌های سلولی از نظر بیان گیرنده‌های استروژن (ER)، پروژسترون (PR) و نیز بیان HER2 متفاوت می‌باشند [۸-۶]. داروهای بسیاری برای درمان سرطان سینه تأیید شده و یا تحت بررسی می‌باشند که البته بسیاری از آن‌ها منشأ گیاهی دارند. در این میان عوامل ضدسرطانی تاکسان‌ها گروه مهمی هستند که مکانیسم‌های منحصر به فردی برای عملکرد خود دارند. Paclitaxel (Taxol) اولین دارو از این گروه بود که به علت عملکرد ضد سرطانی قدرتمند در تومورهایی که در برابر عوامل شیمی درمانی معمول مقاوم بودند، تأیید شد و امروزه خط اول درمان در موارد سرطان سینه متاستاتیک محسوب می‌شود. مهمترین مکانیسم ثابت شده برای عملکرد این دارو، تداخل در عملکرد میکروتوبول‌ها می‌باشد. این دارو منجر به ثبات و پایداری غیرطبیعی در میکروتوبول‌ها شده و با تداخل در دینامیک طبیعی میکروتوبول‌ها که برای تقسیم سلولی مورد نیاز است،

منجر به مرگ سلول می‌شود [۹-۱۱]. miRNA^۲ ها گروه حفاظت‌شده‌ای از RNAهای کوچک با طول حدود ۲۲ نوکلئوتید هستند که عملکردشان تنظیم بیان ژن در سطح پسا ترجمه ای می‌باشد. در واقع miRNA بالغ به ناحیه ترجمه ناشدنی^۳ از mRNAها متصل شده و مانع از ترجمه آن‌ها شده یا بیان آن را کاهش می‌دهند [۱۲، ۱۳]. بر اساس یافته‌های مطالعات قبلی، نشان داده شده است که mir-1246 و mir-224 در رشد، تکثیر، تهاجم و مقاومت دارویی سلول‌های بدخیم در سرطان سینه دارای نقش مهمی هستند [۱۵، ۱۴].

تاکسول یک داروی ضدسرطان است که مکانیسم مولکولی پاسخ‌دهی به آن به خوبی شناخته نشده است. هدف از این مطالعه، بررسی و تعیین تغییر الگوی بیان miRNAهای mir-1246 و mir-224 در رده‌های سلولی سرطان سینه تحت اثر داروی ضدسرطان تاکسول و معرفی کاندیداهای احتمالی و بالقوه جهت پیشگویی پاسخدهی به درمان است.

روش کار

رده‌های سلولی

در این مطالعه آزمایشگاهی^۳، رده‌های سلولی سرطان سینه MCF-7، MDA-MB-231، SKBR-3 و BT-474 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شده و در محیط کشت RPMI1640 (شرکت Gibco، آلمان) حاوی ۱۰٪ FBS (شرکت Gibco، آلمان) و آنتی بیوتیک‌های پنی سیلین و استرپتومایسین در انکوباتور کشت سلولی دارای رطوبت اشباع و ۵٪ CO₂ کشت داده شدند.

آزمون MTT

سلول‌ها با فراوانی ۱۵۰۰۰ سلول در هر چاهک در پلیت‌های کشت ۹۶ خانه ای افزوده شدند. بعد از ۲۴ ساعت، محیط کشت رویی سلول‌ها برداشته شده و با

^۲ microRNA

^۳ in vitro

^۱ Human Epidermal Growth Factor Receptor-2

محیط کشت تازه حاوی غلظت‌های مختلفی از داروی تاکسول (۱/۰ نانومول تا ۱۰۰ میکرومول) تعویض گردید. سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور نگهداشته شده و سپس مایع رویی آنها برداشته شد. سلول‌ها با بافر PBS (شرکت Gibco، آلمان) شستشو داده شده و بر روی آنها ۵۰ میکرولیتر محلول MTT (شرکت Sigma، ایالات متحده) با غلظت ۲ میلی گرم در میلی لیتر افزوده شد. سلول‌ها به مدت ۴ ساعت در انکوباتور CO₂ دار و دمای ۳۷°C قرار داده شده و پس از این مدت، مایع رویی با دی متیل سولفو کساید (DMSO) (شرکت Sigma، ایالات متحده) و بافر سورنسون جایگزین گردید. بعد از انکوباسیون به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور CO₂ دار و دمای ۳۷°C، جذب نوری چاهک‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شده و غلظت IC50 تاکسول برای هر رده سلولی با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism محاسبه گردید.

استخراج RNA و سنتز cDNA

RNA تام سلول‌های تیمار نشده (بعضاً کنترل) و سلول‌های تیمار شده با تاکسول (با غلظت IC50 محاسبه شده) با استفاده از محلول RNX-PLUS (شرکت سینا کلون، تهران، ایران) و بر اساس پروتکل پیشنهادی شرکت تولید کننده استخراج شده و غلظت آن توسط اسپکتروفتومتری و با دستگاه NanoDrop

تعیین گردید. کیفیت RNA استخراج شده نیز با الکتروفورز در ژل آگارز تأیید شد. جهت بررسی میزان بیان miRNA، RNA تام با استفاده از کیت Universal cDNA Synthesis Kit II (شرکت Exiqon، دانمارک) و مطابق پروتکل پیشنهادی شرکت تولید کننده تبدیل به cDNA گردید.

Real-Time PCR کمی

qRT-PCR با استفاده از مستر میکس سایبر گرین (یکتا تجهیز آزما، ایران) و دستگاه Corbett Rotor-Gene 6000 (استرالیا) انجام گرفت. از پرایمرهای اختصاصی هر miRNA (شرکت Exiqon، دانمارک) در کنار پرایمر اختصاصی U6 بعنوان کنترل داخلی استفاده شد. مقادیر استفاده شده از مواد مختلف و برنامه مربوطه در جدول ۱ آمده است. فرمول مورد استفاده برای بررسی تغییر در بیان miRNAهای مورد مطالعه، 2^{-CT} بود.

آنالیز آماری

داده‌های بدست آمده توسط نرم افزار GraphPad Prism 6.01 آنالیز گردید. نتایج بصورت میانگین \pm انحراف معیار سه آزمون و برای دو گروه سلول‌های تیمار شده و نشده با تاکسول نشان داده شده است. آزمون آماری مورد استفاده، تست student t بوده و مقادیر p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

جدول ۱. مقادیر مواد مورد استفاده و نیز برنامه روش qRT-PCR

نام microRNA	مقادیر مواد مورد استفاده	برنامه دستگاه real-time PCR
mir-1246, mir-224	مستر میکس سایبر گرین ۲×: ۵ میکرولیتر cDNA (۵ نانوگرم در میکرولیتر): ۴ میکرولیتر پرایمر (۴ پیکومول در میکرولیتر): ۱ میکرولیتر	هولد ۳، ۹۴ °C دقیقه ۴۵ چرخه شامل: مرحله اول: ۱۰، ۹۴ °C ثانیه مرحله دوم: ۶۰، ۶۰ °C ثانیه ذوب: ۹۵-۶۰ °C

یافته‌ها

غلظت IC50 داروی تاکسول

با استفاده از آزمون MTT غلظت IC50 تاکسول برای چهار رده سلولی سرطان سینه MCF-7، MDA-

MB-231، SKBR-3 و BT-474 به ترتیب ۳/۵، ۳/۰ و ۴ میکرو مولار، و ۱۹ نانومولار تعیین گردید (شکل ۱). IC50 تعیین شده برای تاکسول در چهار رده سلولی سرطان سینه در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲. نتایج تعیین غلظت IC50 تاکسول و تغییرات بیان mir-1246 و mir-224 در چهار رده سلولی سرطان سینه پس از تیمار با تاکسول

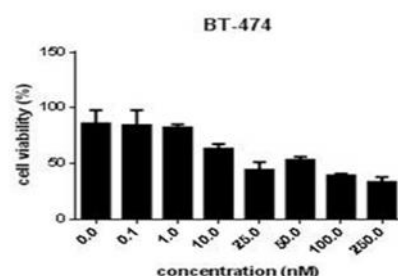
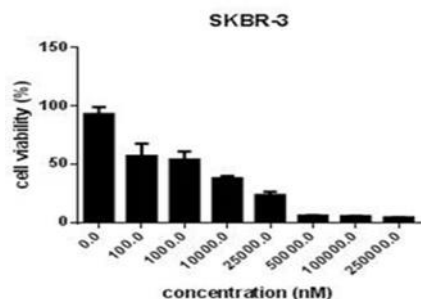
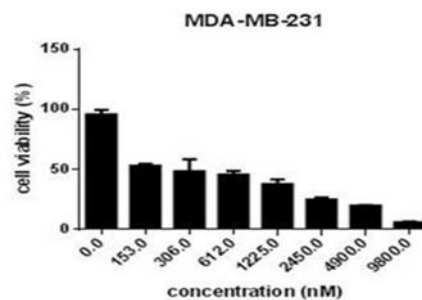
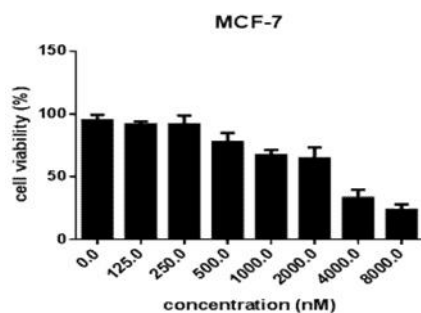
رده سلولی	غلظت IC50	mir-1245		mir-224	
		برابر	مقدار p	برابر	مقدار p
MCF-7	۳/۵ میکرومول	- ۴۵/۵	< ۰/۰۰۰۱	- *	-
MDA-MB-231	۰/۳ میکرومول	- ۷/۷	< ۰/۰۰۰۱	- ۱۷/۲	< ۰/۰۰۰۱
SKBR-3	۴ میکرومول	+ ۱/۴	۰/۰۲	- ۲/۱	۰/۰۱
BT-474	۱۹ نانومول	+ ۱۱۳	< ۰/۰۰۰۱	- *	-

"+" نشان دهنده افزایش بیان، "-" نشان دهنده کاهش بیان، "***" نشان دهنده عدم بیان است.

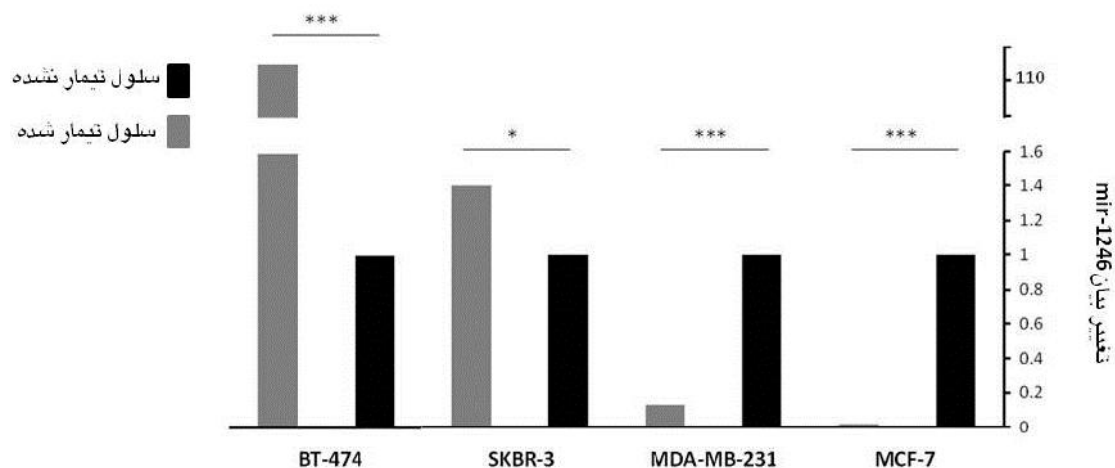
الگوی تغییر در بیان mir-1246 و mir-224 پس از تیمار با تاکسول

پس از تیمار سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت و با غلظت IC50 تعیین شده در مرحله قبل، و استخراج RNA و سنتز cDNA، آنالیز آماری نتایج حاصل از qRT-PCR نشان داد که بیان mir-1246 در هر دو سلول دارای بیان بالای HER-2 پس از تیمار با تاکسول افزایش معنی‌داری داشت. این افزایش برای رده سلولی SKBR-3 به مقدار ۱/۴ برابر ($p=۰/۰۲$) و برای رده سلولی BT-474 به مقدار ۱۱۳ برابر ($p<۰/۰۰۰۱$) بود. در مقابل، بیان mir-1246 در رده‌های سلولی فاقد بیان HER-2 پس از تیمار با

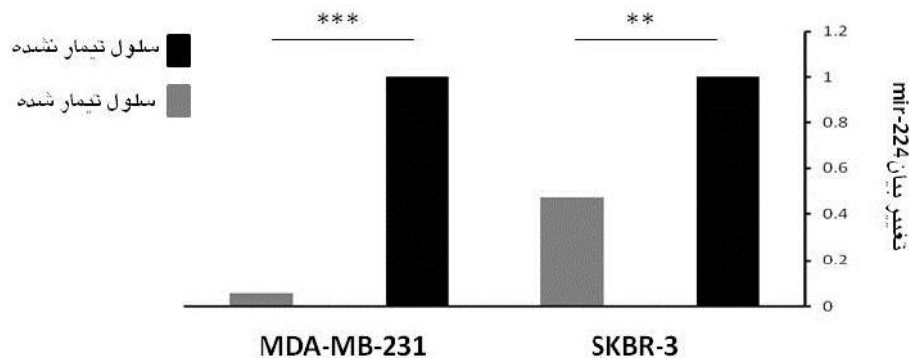
تاکسول بطور معنی‌دار کاهش نشان داد. این کاهش در بیان در مورد سلول MCF-7 ۴۵/۵ برابر ($p<۰/۰۰۰۱$) و در مورد سلول MDA-MB-231 ۷/۷ برابر ($p<۰/۰۰۰۱$) بود. خلاصه نتایج بدست آمده در مورد mir-1246 در شکل ۲ و جدول ۲ نشان داده شده است. بیان mir-224 تنها در دو رده سلولی SKBR-3 و MDA-MB-231 مشاهده شد که پس از تیمار با تاکسول بطور معنی‌داری کاهش نشان داد که به ترتیب ۲/۱ برابر ($p<۰/۰۰۱$) و ۱۷/۲ ($p<۰/۰۰۰۱$) بود. خلاصه نتایج بدست آمده در مورد mir-224 در شکل ۳ و جدول ۲ نشان داده شده است.



شکل ۱. نتایج تست MTT برای تعیین غلظت IC50 تاکسول در چهار رده سلولی سرطان سینه. برای تعیین غلظت IC50 مربوط به تاکسول در رده‌های سلولی مورد مطالعه، تست MTT با غلظت‌های مختلف تاکسول در چهار رده ی مختلف سرطان سینه انجام گرفت.



شکل ۲. تغییر در الگوی بیان miR-1246 در چهار رده سلولی سرطان سینه پس از تیمار با تاکسول. چهار رده سلولی سرطان سینه به مدت ۲۴ ساعت با داروی تاکسول تیمار شده و بیان miR-1246 در آنها در مقایسه با سلول‌های تیمار نشده با استفاده از qRT-PCR مقایسه گردید.



شکل ۳. تغییر در الگوی بیان miR-224 در دو رده سلولی سرطان سینه پس از تیمار با تاکسول. چهار رده سلولی سرطان سینه به مدت ۲۴ ساعت با داروی تاکسول تیمار شده و بیان miR-224 در آنها در مقایسه با سلول‌های تیمار نشده با استفاده از qRT-PCR مقایسه گردید.

بحث

شناخته شده‌اند. مقاومت دارویی در درمان سرطان یکی از مهمترین نگرانی‌ها در این حوزه بوده و محققان همواره درصدد یافتن مکانیسم‌های ایجاد مقاومت دارویی و راهکارهای مقابله با آن بوده‌اند. از جمله مولکول‌هایی که اخیراً در مورد مقاومت دارویی مطرح شده‌اند، miRNAها هستند که در مقاومت به داروهای مختلف شیمی درمانی و از طریق مکانیسم‌های متعددی نقش دارند [۱۵].

در این مطالعه نشان داده شد که تاکسول موجب افزایش در بیان miR-1246 در دو رده سلولی سرطان سینه دارای بیان بالای HER-2 و کاهش بیان در دو رده فاقد بیان HER-2 گردید. در مقابل، بیان

مطالعات نشان داده‌اند که الگوی بیان miRNAها در طی مصرف دارو از جمله داروهای شیمی درمانی تغییر می‌کند و این تغییر بیان احتمالاً در حساسیت یا مقاومت به دارو مؤثر می‌باشد. یکی از داروهای پر مصرف شیمی درمانی تاکسول است که مکانیسم اثر سلولی این دارو مشخص بوده، ولی تغییر در الگوی بیان ژن‌ها و miRNAهای مرتبط با سرطان در اثر این دارو توسط مطالعات محدودی مورد توجه بوده است. از جمله miRNAهای مرتبط با سرطان، miR-1246 و miR-224 می‌باشند که از نوع القاگر تومور بوده و حتی با مقاومت دارویی نیز مرتبط

mir-224 تنها در دو رده سلولی SKBR-3 و MDA-MB-231 دیده شد که در آنها هم پس از تیمار با تاکسول کاهش یافت.

ژو^۱ و همکاران mir-125b را به عنوان مولکولی که نشانگر مقاومت به درمان توسط عوامل شیمی درمانی متعدد در سرطان سینه است، معرفی کردند [۱۶]؛ که این یافته بصورت بالینی توسط مطالعه دیگری تأیید گردید [۱۷]. در این راستا mir-30c در مورد داروهای پاکلی تاکسل و دوکسوروبیسین [۱۸]، و mir-21 در مورد تاکسول در سرطان سینه نیز مورد مطالعه و تأیید قرار گرفتند [۱۹]. در سال ۲۰۱۴ بود که نشان داده شد mir-1246 در رده‌های سلولی کراتینوسیتی موجب القاء مقاومت به اشعه ماوراء بنفش می‌شود [۲۰]. تاکنون نقش mir-1246 در رشد، تکثیر، مهاجرت و تهاجم سلول‌های سرطانی مولتیپل میلوما [۲۱]، سینه [۱۴]، گردن رحم [۲۲]، دهان [۲۳]، ریه [۲۴]، کولورکتال [۲۵]، هپاتوسلولار [۲۶] و پانکراس [۲۷] نشان داده شده است. در مطالعه حاضر، نتایج نشان داد که تحت تأثیر داروی تاکسول، mir-1246 در رده‌های سلولی دارای بیان بالای HER-2 افزایش می‌یابد، که این افزایش در رده سلولی BT-474 که دارای بیان بالاتری از رده سلولی SKBR-3 است، بیشتر می‌باشد. از آنجایی که بیان بالای HER-2 در سرطان سینه همراه با تهاجم بالا و پیش آگهی بد برای بیمار است [۲۸]، به نظر می‌رسد بالا بردن بیان mir-1246 توسط سلول‌های سرطانی در اثر مواجهه با داروی شیمی درمانی تاکسول یک مکانیسم مقاومت یا جبرانی در برابر دارو باشد، که سلول‌ها در مقابل مکانیسم سلول کشی آن انجام می‌دهند. این یافته، با کاهش بیان mir-1246 در دو رده سلولی فاقد بیان HER-2 با نام‌های MCF-7 و MDA-MB-231 پس از تیمار با داروی تاکسول تأیید گردید. mir-224 یکی از miRNAهای القاگر توموری است که در مطالعات مختلفی نشان داده شده است

که با رشد، تهاجم، مقاومت دارویی و عود سلول‌های سرطانی در سرطان‌های کولورکتال [۲۹]، پانکراس [۳۰]، پروستات [۳۱]، هپاتوسلولار [۳۲]، لنفوم [۳۳] و سرطان‌های دیگر [۳۴] مرتبط می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که mir-224 تنها در رده‌های سلولی SKBR-3 که رده سلولی دارای بیان HER-2 است، و MDA-MB-231 که فاقد بیان این مولکول است، بیان می‌گردد، و در هر دو رده سلولی پس از تیمار با داروی تاکسول کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد. بنابراین نمی‌توان mir-224 را به عنوان یک مارکر برای مقاومت یا حساسیت به شیمی درمانی توسط تاکسول معرفی نمود.

نتیجه گیری

نتیجه گیری نهایی از یافته‌های این مطالعه، معرفی mir-1246 به عنوان یک مارکر زیستی برای پاسخ‌دهی یا عدم پاسخ‌دهی انواع مختلف سرطان سینه دارای بیان HER-2 و فاقد بیان HER-2 به داروی تاکسول می‌باشد. در صورتی که این miRNA در سرم و یا بافت سرطانی بیماران مبتلا به سرطان سینه که تحت شیمی درمانی با تاکسول قرار گرفته اند، مورد مطالعه قرار گیرد، نتایج بهتر و قابل استنادتری در خصوص معرفی mir-1246 برای پایش پاسخ‌دهی به درمان بدست خواهد آمد. از سوی دیگر، مطالعه اثر طولانی‌مدت تاکسول بر میزان بیان mir-1246 و mir-224 که در این مطالعه پس از ۲۴ ساعت صورت گرفت، و نیز چنین مطالعه ای بر روی رده‌های سلولی بیشتر سرطان سینه و حتی انواع دیگر سرطان‌ها نتایج قابل قبول‌تری در پی خواهد داشت.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل یک کار تحقیقاتی با حمایت مالی از سوی کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و با کد اخلاق IR.TBZMED.REC.1393.234 می‌باشد.

¹ Zhou

References

- 1- Ghoncheh M, Pournamdar Z, Salehiniya H. Incidence and mortality and epidemiology of breast cancer in the world. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2016;17(S3):43-6.
- 2- Akbari ME, Sayad S, Sayad S, Khayamzadeh M, Shojaei L, Shormaji Z, et al. Breast cancer status in iran: Statistical Analysis of 3010 Cases between 1998 and 2014. *Int J Breast Cancer*. 2017;2017:2481021.
- 3- Ghoncheh M, Momenimovahed Z, Salehiniya H. Epidemiology, incidence and mortality of breast cancer in asia. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2016 Jun;17(S3):47-52.
- 4- Tao Z, Shi A, Lu C, Song T, Zhang Z, Zhao J. Breast cancer: epidemiology and etiology. *Cell Biochem Biophys*. 2015 Jun;72(2):333-8.
- 5- Sinn HP, Kreipe H. A brief overview of the WHO classification of breast tumors, 4th Edition, Focusing on Issues and Updates from the 3rd Edition. *Breast Care (Basel)*. 2013 May;8(2):149-54.
- 6- Rondón-Lagos M, Di Cantogno LV, Marchiò C, Rangel N, Payan-Gomez C, Gugliotta P, et al. Differences and homologies of chromosomal alterations within and between breast cancer cell lines: a clustering analysis. *Molecular cytogenetics*. 2014 Jan;7(1):8.
- 7- Kao J, Salari K, Bocanegra M, Choi Y-L, Girard L, Gandhi J, et al. Molecular profiling of breast cancer cell lines defines relevant tumor models and provides a resource for cancer gene discovery. *PloS one*. 2009 Jul;4(7):e6146.
- 8- Holliday DL, Speirs V. Choosing the right cell line for breast cancer research. *Breast Cancer Res*. 2011 Aug;13(4):215.
- 9- Wood AJ, Rowinsky EK, Donehower RC. Paclitaxel (taxol). *N Engl J Med*. 1995;332(15):1004-14.
- 10-Rowinsky EK, Cazenave LA, Donehower RC. Taxol: a novel investigational antimicrotubule agent. *J Natl Cancer Inst*. 1990 Aug;82(15):1247-59.
- 11-Perez EA. Paclitaxel in breast cancer. *Oncologist*. 1998;3(6):373-89.
- 12-Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature*. 2005 Jun;435(7043):834-8.
- 13-Iorio MV, Ferracin M, Liu C-G, Veronese A, Spizzo R, Sabbioni S, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer research*. 2005 Aug;65(16):7065-70.
- 14-Li XJ, Ren ZJ, Tang JH, Yu Q. Exosomal microRNA MiR-1246 promotes cell proliferation, invasion and drug resistance by targeting CCNG2 in breast cancer. *Cell Physiol Biochem*. 2017 Dec;44(5):1741-1748 .
- 15-Kutanzi KR, Yurchenko OV, Beland FA, Checkhun VF, Pogribny IP. MicroRNA-mediated drug resistance in breast cancer. *Clin Epigenetics*. 2011Aug;2(2):171-185.
- 16-Zhou M, Liu Z, Zhao Y, Ding Y, Liu H, Xi Y, et al. MicroRNA-125b confers the resistance of breast cancer cells to paclitaxel through suppression of pro-apoptotic Bcl-2 antagonist killer 1 (Bak1) expression. *J Biol Chem*. 2010 Jul;285:21496–21507 .
- 17-Wang H, Tan G, Dong L, Cheng L, Li K, Wang Z, et al. Circulating MiR-125b as a marker predicting chemoresistance in breast cancer. *PLoS One*. 2012 Apr;7:e34210 .
- 18-Bockhorn J, Dalton R, Nwachukwu C, Huang S, Prat A, Yee K, et al. MicroRNA-30c inhibits human breast tumour chemotherapy resistance by regulating TWF1 and IL-11. *Nat Commun*. 2013 Jul;4:1393 .
- 19-Mei M, Ren Y, Zhou X, Yuan XB, Han L, Wang GX, et al. Downregulation of miR-21 enhances chemotherapeutic effect of taxol in breast carcinoma cells. *Technol Cancer Res Treat*. 2010 Feb;9:77–86.
- 20-Li W, Wu YF, Xu RH, Lu H, Hu C, Qian H. miR-1246 releases RTKN2-dependent resistance to UVB-induced apoptosis in HaCaT cells. *Mol Cell Biochem*. 2014 Sep;394(1-2):299-306.
- 21-Ren Y, Li X, Wang W, He W, Wang J, Wang Y. Expression of peripheral blood miRNA-720 and miRNA-1246 can be used as a predictor for outcome in multiple myeloma patients. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2017 Jul;17(7):415-423.

- 22-Chen J, Yao D, Zhao S, He C, Ding N, Li L, et al. MiR-1246 promotes SiHa cervical cancer cell proliferation, invasion, and migration through suppression of its target gene thrombospondin 2. *Arch Gynecol Obstet*. 2014 Oct;290(4):725-32.
- 23-Sakha S, Muramatsu T, Ueda K, Inazawa J. Exosomal microRNA miR-1246 induces cell motility and invasion through the regulation of DENND2D in oral squamous cell carcinoma. *Sci Rep*. 2016 Dec 8;6:38750.
- 24-Kim G, An HJ, Lee MJ, Song JY, Jeong JY, Lee JH, et al. Hsa-miR-1246 and hsa-miR-1290 are associated with stemness and invasiveness of non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2016 Jan;91:15-22.
- 25-Wang S, Zeng Y, Zhou JM, Nie SL, Peng Q, Gong J, et al. MicroRNA-1246 promotes growth and metastasis of colorectal cancer cells involving CCNG2 reduction. *Mol Med Rep*. 2016 Jan;13(1):273-80.
- 26-Sun Z, Meng C, Wang S, Zhou N, Guan M, Bai C, et al. MicroRNA-1246 enhances migration and invasion through CADM1 in hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer*. 2014 Aug 27;14:616.
- 27-Hasegawa S, Eguchi H, Nagano H, Konno M, Tomimaru Y, Wada H, et al. MicroRNA-1246 expression associated with CCNG2-mediated chemoresistance and stemness in pancreatic cancer. *Br J Cancer*. 2014 Oct 14;111(8):1572-80.
- 28-Ménard S, Fortis S, Castiglioni F, Agresti R, Balsari A. HER2 as a prognostic factor in breast cancer. *Oncology*. 2001;61 Suppl 2:67-72.
- 29-Li T, Lai Q, Wang S, Cai J, Xiao Z, Deng D, et al. MicroRNA-224 sustains Wnt/ β -catenin signaling and promotes aggressive phenotype of colorectal cancer. *J Exp Clin Cancer Res*. 2016 Jan 29;35:21.
- 30-Zhu G, Zhou L, Liu H, Shan Y, Zhang X. MicroRNA-224 promotes pancreatic cancer cell proliferation and migration by targeting the TXNIP-Mediated HIF1 α pathway. *Cell Physiol Biochem*. 2018 Aug;48(4):1735-1746.
- 31-Mavridis K, Stravodimos K, Scorilas A. Downregulation and prognostic performance of microRNA 224 expression in prostate cancer. *Clin Chem*. 2013 Jan;59(1):261-9.
- 32-Lan SH, Wu SY, Zuchini R, Lin XZ, Su JJ, Tsai TF, et al. Autophagy-preferential degradation of MIR224 participates in hepatocellular carcinoma tumorigenesis. *Autophagy*. 2014 Sep;10(9):1687-9.
- 33-Ni H, Wang X, Liu H, Tian F, Song G. Low expression of miRNA-224 predicts poor clinical outcome in diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Biomarkers*. 2015;20(4):253-7.
- 34-Zhang Y, Guo CC, Guan DH, Yang CH, Jiang YH. Prognostic value of microRNA-224 in Various Cancers: A Meta-analysis. *Arch Med Res*. 2017 Jul;48(5):472-482.