

بررسی همبستگی پلی مورفیسم تک نوکلئوتید rs11614913 ژن mir196a2 با استعداد ابتلا به

سرطان پستان در جمعیت جنوب ایران

زهرا اسلامی ثمرین^۱، محمد طهماسب^{۲*} و عباس قادری^۳

دریافت ۱۳۹۴/۶/۱۰ / پذیرش ۱۳۹۴/۹/۲۳

^۱گروه علوم سلولی و مولکولی، پردیس بین المللی دانشگاه خوارزمی، کرج

^۲گروه سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، کرج

^۳گروه ایمنی شناسی، مرکز تحقیقات سرطان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، شیراز

* مسئول مکاتبات: tahmaseb@khu.ac.ir

چکیده. سرطان پستان شایع ترین سرطان در دنیا و دومین علت مرگ و میر پس از سرطان ریه در زنان می باشد. میزان شیوع سرطان پستان در کشورهای آسیایی مانند ایران رو به افزایش است. در طول چند سال گذشته نقش بسیاری از میکرو RNAها (miRNA) در بروز انواع سرطان ها مشخص شده است. چند شکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) در طول توالی miRNA در ارتباط با خطر ابتلا به انواع سرطان ها از جمله سرطان پستان بررسی شده است. هدف این مطالعه بررسی ارتباط میان چند شکلی تک نوکلئوتیدی rs11614913 در mir196a2 و استعداد ابتلا به سرطان پستان می باشد. این مطالعه به بررسی rs11614913 در hsa-mir196a2 در ۱۰۰ مورد مبتلا به سرطان پستان و ۱۰۰ مورد کنترل در جمعیت زنان جنوب ایران می پردازد. روش مورد استفاده برای تعیین این چند شکلی، روش PCR-RFLP بود. محصول PCR تحت اثر آنزیم محدود کننده TaaI قرار گرفت و باندهایی به طول ۱۸۷ و ۱۹۷ جفت باز مشاهده شد. این مطالعه مورد-شاهدی به وسیله نسبت شانس (ORs) با فاصله اطمینان ۹۵٪ (CI) برای آشکار ساختن ارتباط این SNP در mir196a2 با استعداد ابتلا به سرطان پستان تحلیل گردید. فراوانی ال C در mir196a2 در گروه بیماران ۰/۷۴ و در گروه کنترل ۰/۷۵ و فراوانی ژنوتیپی TC، TT و CC به ترتیب ۰/۰۵، ۰/۴۲ و ۰/۵۳ در گروه بیمار و در گروه کنترل ۰/۰۶، ۰/۳۸ و ۰/۵۶ برآورد شد. در ضمن بررسی آماری نشان دهنده وجود تعادل هاردی- واینبرگ بین دو ال این ژن در جمعیت مورد مطالعه بود ($p > 0.05$). باتوجه به مطالعه انجام شده مشخص شد هیچ گونه ارتباط معناداری میان این پلی مورفیسم و استعداد ابتلا به سرطان پستان وجود ندارد.

واژه های کلیدی. میکرو RNA، سرطان پستان، چند شکلی تک نوکلئوتیدی

Evaluation of single nucleotide polymorphism rs11614913 in mir196a2 with breast cancer susceptibility in Southern Iranian population

Zahra Eslami-Samarin¹, Mohammad Tahmaseb^{2*} and Abbas Ghaderi³

Received 01.09.2015 / Accepted 14.12.2015

¹Department of Cell and Molecular Sciences, International Pardis, Kharazmi University, Karaj, Iran

²Department of Cell and Molecular Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Karaj, Iran

³Department of Immunology, Institute for Cancer Research, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

*Correspondent author: tahmaseb@khu.ac.ir

Abstract. Breast cancer is the most common cancer worldwide and is the second leading cause of death in women after lung cancer. Micro RNAs (miRNAs) are among endogenous factors which are involved in many types of cancers, including breast cancer. Single nucleotide polymorphism (SNP) in the miRNAs, might change their biological activities such as their effects on oncogenes and tumor suppressor genes. Therefore some of miRNA's SNPs are associated with the risk of different types of cancer, including breast cancer. The aim of this study was to evaluate the correlation between SNP rs11614913 in mir196a2 and the risk of breast cancer. SNP rs11614913 in hsa-miR-196a2 analyzed in 100 breast cancer cases and 100 controls in women living in southern Iran. Polymorphism was identified by the PCR-RFLP method. The PCR product was digested with TaaI restriction enzyme which produced two bands with the length of 187bp and 196bp. The data from this case-control study were analyzed using odds ratios (ORs) with 95% confidence intervals (CIs) to reveal the associations of SNPs in miRNAs with breast cancer susceptibility. The C allele frequencies in patients and controls for miR-196a2 were 0.74 and 0.75, respectively. The genotype frequencies of TT, TC, and CC were 0.05, 0.42, and 0.53 for the patients and 0.06, 0.38, and 0.56 for the controls, respectively. Statistical analysis showed that the genetic frequencies for this SNP were in Hardy-Weinberg equilibrium ($p > 0.05$). The results of this study indicated no significant association between SNP rs11614913 in mir196a2 and the risk of breast cancer.

Keywords. microRNA, breast cancer, polymorphism

مقدمه

سرطان پستان شایع ترین سرطان در جهان و دومین علت مرگ و میر ناشی از سرطان پس از سرطان ریه در زنان می باشد (Dumitrescu & Cotarla, 2005). در برخی کشورها تعداد مبتلایان به این بیماری نرخ بالائی دارد. بالاترین میزان شیوع در جهان به کشورهای آمریکای شمالی مربوط می شود که حدود ۹۹/۴ در هر ۱۰۰ هزار نفر است (Sadjadi et al., 2009). مطالعات حاکی از افزایش شیوع این سرطان در کشورهای آسیایی مانند ایران است که احتمالاً به تفاوت در الگوی زندگی، منطقه جغرافیائی و ژنتیک افراد بستگی دارد. آمارها نشان می دهند که سرطان پستان ۳۳٪ کل سرطان های مشاهده شده در زنان و مسئول ۱۹٪ مرگ و میر ناشی از سرطان در آنها می باشد (Hosseinzadeh et al., 2014). بیومارکرهای زیستی و استفاده از آنها نقش مهمی در رابطه با تشخیص سرطان، مراحل و پیش آگهی آن دارد و می تواند منجر به تشخیص سریع و بهبود مراقبت از بیماران مبتلا گردد (Vinci et al., 2011).

miRNA، RNAهای غیر کد کننده به طول ۲۴-۲۰ نوکلئوتیدی هستند که تقریباً در تمام مسیرهای بیولوژیکی در پستانداران و موجودات پرسلولی دیگر نقش مهمی را ایفا می کنند (Saj & Lai, 2011). آنها غالباً به ناحیه 3' UTR ژن های هدف متصل می شوند که این عمل منجر به تخریب یا مهار بیان ژن های هدف می شود (Bartel, 2009). بنابراین نوعی تنظیم بیان ژن در مرحله پس از رونویسی است (Filipowicz et al., 2008). برخلاف mRNA که فقط توانائی تعامل با تعداد محدودی miRNA را دارد، یک miRNA توانائی اتصال به هزاران نسخه متفاوت mRNA را دارد (Lewis et al., 2005). mRNA های ساخته شده از هر ژن از جمله آنهایی که از پروتئانکوژن ها (Johnson et al., 2005) یا ژن های سرکوب کننده تومور (Visone et al., 2007) ساخته می شوند به طور بالقوه می توانند هدف miRNA باشند. بنابراین miRNA نقش مهمی در سازوکار مرتبط با تومورزایی و متاستاز سلول های توموری ایفا می کنند (Garzon et al., 2009).

mir196a2 یکی از انواع miRNA است که اخیراً مطالعات فراوانی در ارتباط با همراهی آن با برخی سرطان ها انجام شده است. این ژن روی کروموزوم ۱۲ (۱۲q۱۲.۱۳) در ناحیه خانوادة ژنی Homeo box C (HOXC) در ژنوم مهره داران قرار دارد (Chen, 2011).

از عوامل موثر بر عملکرد miRNA می توان به وجود چند-شکلی تک نوکلئوتیدی (single nucleotide polymorphism) در این مولکول اشاره کرد. SNP به تغییر تک نوکلئوتید به نوع دیگر نوکلئوتید در طول توالی DNA گفته می شود و رایج ترین شکل تنوع ژنتیکی است (Shastri, 2009). SNP هایی که به خصوص در محل اتصال miRNA به mRNA قرار دارند، می تواند به طور مؤثری بر میزان و عملکرد نهائی miRNA تأثیرگذار باشند. حضور SNP ها در توالی ژنومی miRNA و یا سر 3' UTR ژن های مرتبط با سرطان می تواند با تغییر تنظیم وابسته به miRNA، در استعداد ابتلا به سرطان موثر باشند (Fabbri et al., 2009).

این واقعیت که فراوانی SNP در جمعیت های مختلف، متفاوت است محققین را بر آن داشته است تا نسبت به تعیین فراوانی یک SNP خاص و همراهی آن با بروز به یک بیماری خاص، بررسی های گسترده ای را در جوامع مختلف انجام دهند. این موضوع می تواند به تعیین ریسک ابتلا به سرطان در افراد با یک ژنوتیپ خاص در SNP مورد مطالعه منجر شود.

چند شکلی تک نوکلئوتیدی rs11614913 در ناحیه pre-miRNA، miRNA196a2 قرار دارد که دارای دو فرم الی C و T است (Hu et al., 2008). هدف این مطالعه بررسی ارتباط میان پلی مورفیسم rs11614913 ژن mir196a2 با ابتلا به سرطان پستان است.

مواد و روش ها

جمع آوری نمونه

در این مطالعه مورد- شاهد ۱۰۰ بیمار زن مبتلا به سرطان پستان مراجعه کننده به بیمارستان شهید فقیهی شیراز و ۱۰۰ کنترل زن بدون سابقه ابتلا به هرگونه سرطان در خود و یا بستگان درجه اول فرد از مراجعه کنندگان به سازمان انتقال خون شیراز پس از

تکمیل پرسش‌نامه و رضایت‌نامه کتبی آگاهانه مورد بررسی قرار گرفتند. هر دو گروه از نظر مشخصات سن، جنس و منطقه جغرافیایی با یکدیگر مطابقت داشتند.

استخراج DNA ژنومی

در این مطالعه استخراج DNA به روش خارج‌سازی نمکی (Miller *et al.*, 1988) انجام شد. DNA استخراج شده هم از نظر کیفی و هم از نظر کمی به روش الکتروفورز و نورسنجی مورد بررسی قرار گرفت.

تکثیر ژن mir196a2

ژن mir196a2 با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تکثیر شد (Mirtalebi *et al.*, 2014). توالی پرایمرها عبارت بودند از: F: 5'-GTCTACTCTCTAGTCC و R: 5'-TTGAGAGGACGGCATAAAGC. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر با استفاده از ۱۲/۵ میکرو محلول مسترمیکس (شرکت Amplicon) و ۱ میکرومولار از هر دو پرایمر و ۱۰۰ نانوگرم DNA استخراج شده ژنومی انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در ۳۵ سیکل و با پروفایل دمایی به ترتیب زیر انجام گردید: دناتوراسیون اولیه به مدت ۵ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد که پس از آن ۳۵ سیکل سه مرحله‌ای شامل دناتوراسیون (به مدت ۴۵ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد)، اتصال پرایمر به هدف (به مدت ۴۰ ثانیه در ۶۸/۳ درجه سانتی‌گراد) و طولیل شدن به مدت ۴۵ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و در آخر ۵ دقیقه طولیل شدن نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. برای اطمینان از کارایی PCR، قطعه تکثیر شده روی ژل آگارز ۲٪ که با DNA Green Viewer رنگ‌آمیزی شده بود، الکتروفورز گردید.

تعیین ژنوتیپ mir196a2

برای تعیین ژنوتیپ‌های حاصل از پلی مورفیسم rs11614913 از روش RFLP استفاده شد. محصول PCR تحت اثر آنزیم محدودکننده TaaI شرکت Fermentas قرار گرفت. برای واکنش هضم آنزیمی، محلولی حاوی ۱۰ میکرولیتر محصول PCR همراه با ۲ ماکرولیتر بافر تانگو با غلظت ۱×، ۲ واحد

آنزیم TaaI و ۶ میکرولیتر از ddH₂O تهیه و در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت انکوبه شد. محصول هضم شده برای تعیین ژنوتیپ بر روی ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز گردید. در صورت حضور باز C در جایگاه SNP، جایگاه برش برای آنزیم TaaI ایجاد نشده و لذا باند ۳۸۳ جفت بازی که در واقع اندازه محصول PCR است مشاهده می‌شود. در صورت حضور باز T در این جایگاه، محل برش آنزیم 5' ACN^GT 3' ایجاد شده و لذا قطعات ۱۸۷ و ۱۹۶ جفت بازی مشاهده می‌شود. افراد هتروزیگوت (C/T) سه باند با طول‌های ۳۸۳، ۱۸۷ و ۱۹۶ جفت باز ایجاد می‌کنند که البته به علت نزدیکی اندازه دو قطعه ۱۸۷ و ۱۹۶، تنها دو باند قابل مشاهده خواهد بود.

نتایج

توزیع نمونه‌ها

در این مطالعه ۱۰۰ بیمار زن مبتلا به سرطان پستان که میانگین سنی آنها (۴۸/۶۶±۱۱/۶۴) سال و ۱۰۰ نفر شاهد سالم زن با میانگین سنی (۳۴/۲۱±۱۱/۴) سال شرکت داشتند (جدول ۱).

تخلیص DNA و تکثیر ژن miR196a2

مقدار A260/A280 برای DNA تخلیص شده در محدوده ۱/۶۲ الی ۲/۲ قرار داشت و الکتروفورز آنها نیز بیان‌گر حفظ تمامیت مولکول‌های DNA بود. همچنین طول قطعه تکثیر شده مطابق با طول مورد انتظار (۳۸۳ bp) بود (شکل ۱).

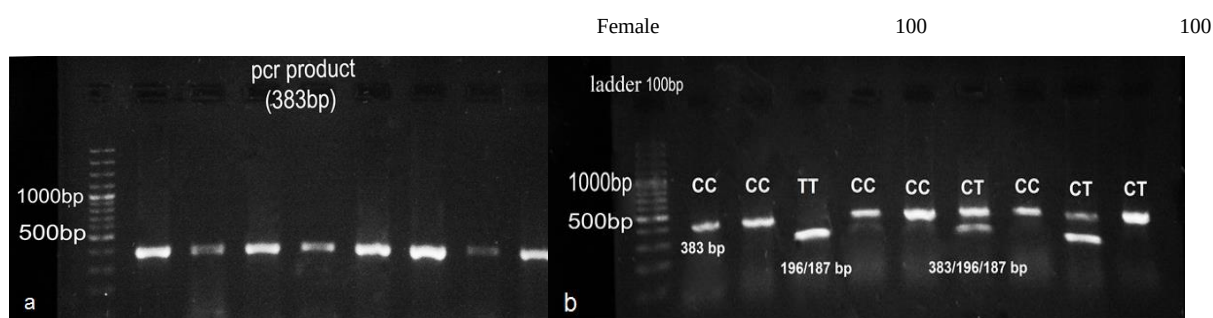
هضم آنزیمی نمونه‌های تکثیر شده

برای تعیین الگوی الی نمونه‌های مورد مطالعه، حدود ۵ μl از نمونه هضم شده روی ژل ۲ درصد آگارز و با ولتاژ ۹۰-۱۰۰V در کنار اندازه نمای ۱۰۰ bp الکتروفورز شدند. نمونه‌هایی که تنها دارای باندهای ۳۸۳ bp بودند، نمونه CC، نمونه‌هایی که دارای باندهای ۱۹۶ و ۱۸۷ جفت بازی بودند، TT و نمونه‌هایی که دارای هر سه باند (۳۸۳، ۱۹۶ و ۱۸۷ جفت بازی) بودند، CT محسوب شدند (شکل ۱).

جدول ۱- توزیع سن در دو گروه بیمار و شاهد.

Table 1. Age distribution in patient and control groups.

	Patients	Control	p-value
Variables	n=100	n=100	
Age(years)(mean±SD)	48.6±11.6	34.5±11.5	<0.001
Age(years)	n(%)	n(%)	
>55	28(0.28)	8(0.8)	0.0002
<55	72(0.72)	92(0.92)	
Gender			



شکل ۱- ژل الکتروفورز محصول PCR و هضم آنزیمی. (a) الکتروفورز محصول PCR روی ژل ۲ درصد، اندازه محصول PCR در حدود ۳۸۰ جفت باز بود. (b) ژنوتایپینگ با روش RFLP. محصول PCR در ابتدا با آنزیم TaaI هضم و سپس روی ژل الکتروفورز گردید. ال C با آنزیم هضم نشد در صورتی که ال T در جایگاه پلی مورفیسم برش می خورد.

Fig. 1. Gel electrophoresis of PCR and enzyme digestion. (a) Running the electrophoresis of PCR products on 2% gel. The size of PCR product was around 380 bp (b) RLFP genotyping. The PCR products were digested by TaaI restriction enzyme and then run on the gel. Allele C was not digested with enzyme while allele T was cut at polymorph site.

فراوانی ژنوتیپی و الی

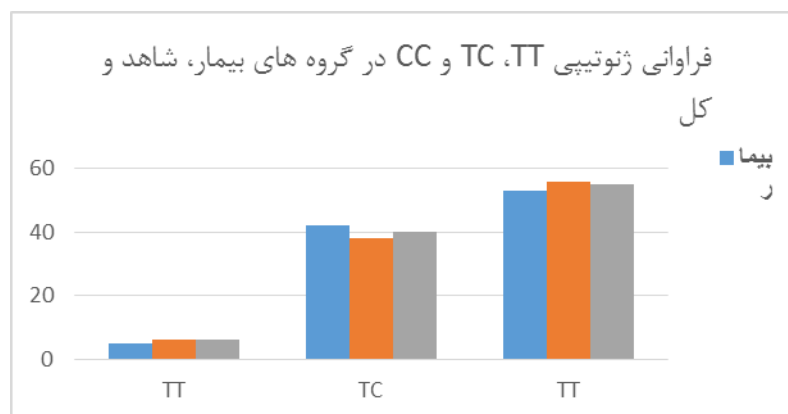
بررسی های آماری نشان داد که فراوانی ژنوتیپی در هر سه گروه بیمار، شاهد و کل در تعادل هاردی-واینبرگ قرار دارند ($p>0.05$). انجام تحلیل رگرسیون لجستیک روی داده های به دست آمده نشان داد که تفاوت قابل ملاحظه ای بین ژنوتیپ های CC، CT و TT بین افراد بیمار و شاهد وجود ندارد (شکل ۲). بررسی مدل غالبیت و مدل مغلوبیت نیز فاقد تفاوت معنی دار بین افراد بیمار و شاهد بود. دسته بندی افراد بر حسب سن (بیشتر و کمتر از ۵۵ سال) نیز نتیجه مشابهی داشت (جدول ۲).

بررسی الگوی هضم آنزیمی نشان داد که ژنوتیپ CC در SNP rs11614913، در افراد بیمار دارای فراوانی ۵۳ درصد، CT با فراوانی ۴۲ درصد و TT با فراوانی ۵ درصد است. فراوانی ژنوتیپ سه گانه فوق در همین جایگاه در افراد شاهد به ترتیب برابر با ۵۶، ۳۸ و ۶ درصد می باشد. فراوانی الی C و T در گروه بیمار به ترتیب ۷۴ درصد و ۲۶ درصد و در گروه شاهد ۷۵ درصد و ۲۵ درصد بود. فراوانی ژنوتیپی CC، CT و TT نیز در کل جمعیت مورد مطالعه به ترتیب ۵۴/۵، ۴۰ و ۵/۵ درصد بود.

جدول ۲- فراوانی الی و ژنوتیپی زن پلی مورفسم rs11614913 در زن mir196a2 بین افراد بیمار و شاهد و بررسی همراهی این SNP با خطر ابتلا به سرطان پستان.

Table 2. Allelic and genotypic frequencies of rs11614913 in mir196a2 in patient and control individuals and determination of association between this SNP and breast cancer susceptibility.

Variables	n(%)				P-value
	Genotypes	Patient(n=100)	Control(n=100)	OR(95%CI)	
Total	T allele	52(26)	50(25)	1	0.92
	C allele	148(74)	150(75)	1.05(0.67-1.65)	
	TT	5(5)	6(6)	1	0.83
	TC	42(42)	38(38)	0.75(0.21-2.67)	
	CC	53(53)	56(56)	0.88(0.25-3.05)	1
	TTvsTC/CC	95(95)	94(94)	0.82(0.24-2.79)	
	CCvsTC/TT	47(47)	44(44)	0.88(0.5-1.54)	
Age (year)					
>55	T allele	15(27)	7(43.75)	1	0.37
	C allele	39(73)	9(56.25)	0.49(0.15-1.5)	
	TT	1(3.7)	1(12.5)	1	0.4
	TC	13(48.1)	5(62.5)	0.38(0.02-7.04)	
	CC	13(48.1)	2(25)	0.15(0.006-3.57)	0.92
	TTvsTC/CC	26(96.2)	7(87.5)	0.27(0.01-4.86)	
	CCvsTC/TT	14(51.8)	6(7.5)	2.78(0.47-16.34)	
<55	T allele	37(25.3)	43(23.3)	1	0.67
	C allele	109(74.6)	141(76.6)	1.11(0.67-1.84)	
	TT	4(5.47)	5(5.43)	1	0.87
	TC	29(39.7)	33(35.8)	0.91(0.22-3.7)	
	CC	40(54.7)	54(58.6)	1.08(0.27-4.27)	0.74
	TTvsTC/CC	69(94.5)	87(94.5)	1.008(0.26-3.89)	
	CCvsTC/TT	33(45.2)	38(41.3)	0.92(0.49-1.72)	



شکل ۲- نمودار مقایسه فراوانی ژنوتیپی TT، TC و CC در گروه‌های بیمار، شاهد و کل. همان‌طور که مشاهده می‌شود، تفاوت معنی‌داری بین فراوانی ژنوتیپی در گروه‌های فوق وجود ندارد.

Fig. 2. Comparison between genotype frequencies of TT, TC and CC in patient, control and total groups. There were no significant differences between genotype frequencies among these three groups.

بحث

سرطان به عنوان سومین عامل مرگ و میر در ایران در نظر گرفته می شود (Mousavi et al., 2009). شیوع سرطان پستان در زنان یک سوم کل سرطان ها و دومین سرطان رایج بعد از سرطان ریه و بیشترین علت مرگ و میر ناشی از سرطان در زنان را شامل می شود. نرخ شیوع آن در زنان ایرانی ۱۷/۸٪ است (Otaghvar et al., 2015). miRNA ها، RNA های کوچک غیر کد کننده هستند که بیان ژن را تنظیم می کنند و در بسیاری از مسیرهای مهم از جمله سرطانی شدن و گسترش آن دخیل اند. بیان متفاوت miRNA ها در برخی از حالات پاتولوژیک از جمله سرطان ها، استفاده بالقوه از این مولکول ها به عنوان بیومارکرهای مناسب را مطرح ساخته است (Lin et al., 2011). miRNA های که به طور معمول کنترل بیان انکوژن ها را کنترل می کنند در صورتی که عملکرد خود را از دست دهند (جهش از دست رفتن عملکرد یا loss of function)، سلول را در مسیر توموری شدن پیش می برند. آنهایی که بیان ژن های سرکوب کننده ی تومور را کنترل می کنند، با افزایش بیان (که نوعی جهش کسب عملکرد یا gain of function می باشد)، سلول را به سمت توموری شدن هدایت می کنند. در این دو حالت miRNA نقش انکوژنی خواهد داشت (Hoffman et al., 2009). یکی از عواملی که می تواند سبب این تغییرات (از دست رفتن عملکرد یا کسب عملکرد) در ژن miRNA شود، تغییر در توالی آن و از جمله SNP است. بنابراین ارتباط SNP با برخی از حالات پاتولوژی از جمله سرطان ها چندان تعجب آور نخواهد بود که البته شواهدی نیز در این خصوص ارائه شده است (Landi et al., 2012). برخی از مطالعات نشان داده است که پلی مورفیسم rs11614913 به طور قابل توجهی با استعداد ابتلا به بیماری های مختلف از جمله سرطان ریه (Yoon et al., 2012)، سرطان سینه (Landi et al., 2008)، سرطان معده (Okubo et al., 2010)، سرطان کبد (Akkiz et al., 2011)، سرطان کیسه صفرا (Srivastava et al., 2010)، سرطان پروستات (George et al., 2011) و سرطان مری (Wang et al., 2010) در ارتباط است. اگرچه در این مطالعه ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم rs11614913 و سرطان پستان مشاهده نشد اما

مطالعات در جوامع دیگر بیان گر چنین ارتباطی است. برای مثال Hu و همکاران (2009) در مطالعه ای که در جمعیت زنان چینی انجام دادند گزارش کردند که افرادی که دارای ژنوتیپ های CC یا CT (CT + TT) هستند نسبت به افرادی که دارای ژنوتیپ TT هستند، در معرض خطر بیشتری برای ابتلا به سرطان پستان هستند. در برخی دیگر از مطالعات نیز شواهدی مبنی بر همبستگی فرم های مختلف ژنوتیپی با سرطان پستان گزارش شده است (Gao et al., 2011; Linhares et al., 2012). این درحالی است که در دو جمعیت آلمانی و ایتالیایی این همبستگی مورد تأیید قرار نگرفت (Catucci et al., 2010). بررسی داده های جمعیتی این ایده را مطرح می کند که تأثیر پلی مورفیسم rs11614913 روی سرطان پستان هر چه از غرب به سمت شرق حرکت می کنیم، بیشتر می شود. در این راستا به نظر می رسد وضعیت جمعیتی ایران (عدم تأثیر ژنوتیپ این پلی مورفیسم روی بیماری) مشابه جمعیت های اروپایی است.

اطلاعات موجود در سایت HapMap (<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>) نشان می دهد فراوانی الل های C و T با سه جمعیت ناحیه Southwest در آمریکا (که دارای اجداد آفریقایی هستند)، افراد سرخپوست در هوستن آمریکا و افراد ماساسایی در کنیا قرابت زیادی دارد. در سایر جمعیت های مورد مطالعه (به خصوص جمعیت چینی و ژاپنی) این تفاوت حداکثر است. در بررسی های بعدی تأثیر حضور توأمان الل های rs11614913 و الل های سایر جایگاه های SNP که در نزدیکی آن قرار دارند در ریسک سرطان مورد بررسی خواهد گرفت. بدین ترتیب می تون تأثیر یک هاپلوتایپ مشخص را با ریسک بیماری تشخیص داد.

تشکر و قدردانی

این مطالعات با حمایت مرکز تحقیقات سرطان دانشگاه علوم پزشکی شیراز و نیز دانشکده علوم زیستی دانشگاه خوارزمی صورت گرفته است. از آقای مهیار ملک زاده (مرکز تحقیقات سرطان) برای همکاری در این پروژه و بازخوانی متن مقاله قدردانی می شود.

References

Akkiz, H., Bayram, S., Bekar, A., Akgollu, E. and Ulger, Y. 2011. A functional polymorphism in pre-microRNA-196a-2 contributes to the susceptibility of hepatocellular carcinoma in a Turkish population: a case-control study. – *J. Viral Hepat.* 18: e399–407.

Bartel D.P. 2009: MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. – *Cell* 136: 215-233.

Catucci, I., Yang, R., Verderio, P., Pizzamiglio, S., Heesen, L., Hemminki, K., Sutter, C., Wappenschmidt, B., Dick, M., Arnold, N., Bugert, P., Niederacher, D., Meindl, A., Schmutzler, R.K., Bartram, C.C., Ficarazzi, F., Tizzoni, L., Zaffaroni, D., Manoukian, S., Barile, M., Pierotti, M.A., Radice, P., Burwinkel, B. and Peterlongo, P. 2010. Evaluation of SNPs in miR-146a, miR196a2 and miR-499 as low-penetrance alleles in German and Italian familial breast cancer cases. – *Hum. Mutat.* 31: E1052-7.

Chen, C., Zhang, Y., Zhang, L., Weakley, S.M. and Yao, Q. 2011. MicroRNA-196: critical roles and clinical applications in development and cancer. – *J. Cell Mol. Med.* 15: 14-23.

Dumitrescu, R.G. and Cotarla, I. 2005. Understanding breast cancer risk - where do we stand in 2005? – *J. Cell Mol. Med.* 9: 208-221.

Fabbri, M., Valeri, N. and Calin, G.A. 2009. MicroRNAs and genomic variations: from Proteus tricks to Prometheus gift. – *Carcinogenesis* 30: 912-917.

Filipowicz, W., Bhattacharyya, S.N. and Sonenberg, N. 2008. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? – *Nat. Rev. Genet.* 9: 102-114.

Gao, L.B., Bai, P., Pan, X.M., Jia, J., Li, L.J., Liang, W.B., Tang, M., Zhang, L.S., Wei, Y.G. and Zhang, L. 2011. The association between two polymorphisms in pre-miRNAs and breast cancer risk: a meta-analysis. – *Breast Cancer Res. Treat.* 125: 571-574.

Garzon, R., Calin, G.A. and Croce, C.M. 2009. microRNAs in cancer. – *Annu. Rev. Med.* 60:167-179

George, G.P., Gangwar, R., Mandal, R.K., Sankhwar, S.N. and Mittal, R.D. 2011. Genetic variation in microRNA genes and prostate cancer risk in North Indian population. – *Mol. Biol. Rep.* 38: 1609-1615.

Hoffman, A.E., Zheng, T., Yi, C., Leaderer, D., Weidhaas, J., Slack, F., Zhang, Y., Paranjape, T. and Zhu, Y. 2009. microRNA miR-196a-2 and breast cancer: a genetic and epigenetic association study and functional analysis. – *Cancer Res.* 15: 5970-5979.

Hosseinzadeh, M., Eivazi Ziaei, J., Mahdavi, N., Aghajari, P., Vahidi, M., Fateh, A. and Asghari, E. 2014. Risk factors for breast cancer in Iranian women:

a hospital-based case-control study in Tabriz, Iran. – *J. Breast Cancer* 17: 236-243.

Hu, Z., Chen, J., Tian, T., Zhou, X., Gu, H., Xu, L., Zeng, Y., Miao, R., Jin, G., Ma, H., Chen, Y. and Shen, H. 2008. Genetic variants of miRNA sequences and non-small cell lung cancer survival. – *J. Clin. Invest.* 118: 2600-2608.

Hu, Z., Liang, J., Wang, Z., Tian, T., Zhou, X., Chen, J., Miao, R., Wang, Y., Wang, X. and Shen, H. 2009. Common genetic variants in pre-microRNAs were associated with increased risk of breast cancer in Chinese women. – *Hum. Mutat.* 30: 79-84.

Johnson, S.M., Grosshans, H., Shingara, J., Byrom, M., Jarvis, R., Cheng, A., Labourier, E., Reinert, K.L., Brown, D. and Slack, F.J. 2005. RAS is regulated by the let-7 microRNA family. – *Cell* 120: 635-647.

Landi, D., Gemignani, F. and Landi, S. 2012. Role of variations within microRNA-binding sites in cancer. – *Mutagenesis* 27: 205-210.

Landi, D., Gemignani, F., Naccarati, A., Pardini, B., Vodicka, P., Vodickova, L., Novotny, J., Försti, A., Hemminki, K., Canzian, F. and Landi, S. 2008. Polymorphisms within micro-RNA-binding sites and risk of sporadic colorectal cancer. – *Carcinogenesis* 29: 579-584.

Lewis, B.P., Burge, C.B. and Bartel, D.P. 2005. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. – *Cell* 120: 15-20.

Lin, P.Y. and Yang, P.C. 2011: Circulating miRNA signature for early diagnosis of lung cancer. – *EMBO Mol. Med.* 3: 436-437.

Linhares, J.J., Azevedo, M., Siufi, A.A., de Carvalho, C.V., Wolgast Mdel, C., Noronha, E.C., Bonetti, T.C. and da Silva, I.D. 2012. Evaluation of single nucleotide polymorphisms in microRNAs (hsa-miR-196a2 rs11614913 C/T) from Brazilian women with breast cancer. – *BMC Med. Genet.* 13:119. doi: 10.1186/1471-2350-13-119.

Miller, S.A., Dykes, D.D. and Polesky, H.F. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. – *Nucleic Acids Res.* 16: 12-15.

Mirtalebi, H., Heydari, N.M., Pourhoseingholi, M. and Asadzadeh-Aghdai, H. 2014. Association of miR-196a2 (rs11614913) polymorphism with colorectal cancer in Tehran population. – *Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch* 23: 11-15

Mousavi, S.M., Gouya, M.M., Ramazani, R., Davanlou, M., Hajsadeghi, N. and Seddighi, Z. 2009. Cancer incidence and mortality in Iran. – *Ann. Oncol.* 20: 556-563.

Okubo, M., Tahara, T., Shibata, T., Yamashita, H., Nakamura, M., Yoshioka, D., Yonemura, J., Ishizuka, T., Arisawa, T. and Hirata, I. 2010. Association between common genetic variants in pre-microRNAs and gastric cancer risk in Japanese population. – *Helicobacter* 15: 524-531.

Otaghvar, H.A., Hosseini, M., Tizmaghz, A., Shabestanipour, G.H. and Noori, H. 2015. A review on metastatic breast cancer in Iran. – *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 5: 429-433.

Sadjadi, A., Nouraie, M., Ghorbani, A., Alimohammadian, M. and Malekzadeh, R. 2009. Epidemiology of breast cancer in the Islamic Republic of Iran: first results from a population-based cancer registry. – *East Mediterr. Health J.* 15: 1426-1431.

Saj, A. and Lai, E.C. 2011. Control of microRNA biogenesis and transcription by cell signaling pathways. – *Curr. Opin. Genet. Dev.* 21: 504-510.

Shastri, B.S. 2009. SNPs: impact on gene function and phenotype. – *Methods Mol. Biol.* 578: 3-22.

Srivastava, K., Srivastava, A. and Mittal, B. 2010. Common genetic variants in pre-microRNAs and risk of gallbladder cancer in North Indian population. – *J. Hum. Genet.* 55: 495-499.

Vinci, S., Gelmini, S., Pratesi, N., Conti, S., Malentacchi, F., Simi, L., Pazzagli, M. and Orlando, C. 2011. Genetic variants in miR-146a, miR-149, miR-196a2, miR-499 and their influence on relative expression in lung cancers. – *Clin. Chem. Lab. Med.* 49: 2073-2080.

Visone, R., Russo, L., Pallante, P., De Martino, I., Ferraro, A., Leone, V., Borbone, E., Petrocca, F., Alder, H., Croce, C.M. and Fusco, A. 2007. MicroRNAs (miR)-221 and miR-222, both overexpressed in human thyroid papillary carcinomas, regulate p27Kip1 protein levels and cell cycle. – *Endocr. Relat. Cancer* 14: 791-798.

Wang, K., Guo, H., Hu, H., Xiong, G., Guan, X., Li, J., Xu, X., Yang, K. and Bai, Y. 2010. A functional variation in pre-microRNA-196a is associated with susceptibility of esophageal squamous cell carcinoma risk in Chinese Han. – *Biomarkers* 15: 614-618.

Yoon, K.A., Yoon, H., Park, S., Jang, H.J., Zo, J.I., Lee, H.S. and Lee, J.S. 2012. The prognostic impact of microRNA sequence polymorphisms on the recurrence of patients with completely resected non-small cell lung cancer. – *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 144: 794-780.

Eslami-Samarin, Z., Tahmaseb, M. and Ghaderi, A. 2015. Evaluation of single nucleotide polymorphism rs11614913 in mir196a2 with breast cancer susceptibility in Southern Iranian population. – *Nova Biologica Reperta* 2: 227-234.

اسلامی ثمرین، ز.، طهماسب، م. و قادری، ع. بررسی همبستگی پلی مورفیسم تک نوکلئوتید rs11614913 ژن mir196a2 با استعداد ابتلا به سرطان پستان در جمعیت جنوب ایران. – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۲: ۲۳۴-۲۲۷.

