مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۷، شماره ٤، مهر و آبان ١٤٠١(شماره پی در پی ١٥٣)

شناسایی بیوانفورماتیکی شبکه تنظیمی miRNA–mRNA دخیل در تهاجم سرطان ریه

خلیل خاشعی ورنامخواستی، مهدی مغنی باشی*، سیروس نعیمی

گروه ژنتیک، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

تاریخ وصول: ١٤٠٠/١١/٠٢ تاریخ پذیرش: ١٤٠١/٠٣/١٧

چکیده

زمینه و هدف: در طول ۱۵ سال گذشته، بینش قابل توجهی در مورد نقش miRNAها در سرطان حاصل شده است. در سرطان‌های مختلف، miRNAها می‌توانند به عنوان آنکوژن یا سرکوب کننده تومور عمل کنند و یا با تنظیم بیان ژن‌های هدف متعدد، فرآیند متاستاز را کنترل نمایند. لذا هدف از این مطالعه شناسایی بیوانفورماتیکی شبکه تنظیمی miRNA–mRNA دخیل در تهاجم سرطان ریه بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در سال۱٤۰۰ انجام شد پروفایل بیانی ژن‌های بیماران مبتلا به سرطان ریه، از داده‌های RNAseq موجود در پایگاه داده اطلس ژنوم سرطان (TCGA) با استفاده از پکیج TCGAbiolinks تهیه شد. mRNAها و miRNAها با بیان متفاوت با استفاده از پکیج‌های edgeR و limma در نرم‌افزار R شناسایی شدند و در ادامه با کمک دو پایگاه TargetScan و miRWalk، اهداف آنها پیش بینی شد. متعاقباً، شبکه تنظیم‌کننده تعامل miRNA-mRNA با استفاده از نرم‌افزار Cytoscape به تصویر کشیده شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های فرض چندگانه(Multiple hypothesis testing)و میزان کشف اشتباه (False Discovery Rate) تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج بیوانفورماتیکی شناسایی شبکه تنظیمی miRNA-mRNA اختصاصی تهاجم سرطان ریه، نشان داد که شش miRNA هاب، شامل؛ hsa-let-7c-5p، hsa-let-7b-5p، hsa-let-7e-5p، hsa-miR-6838-5p، hsa-miR-320b و hsa-miR-4458 تنظیم کننده ژن-های افزایش یافته در وضعیت تهاجم ریه و چهار miRNA هاب، تنظیم کننده ژن‌های کاهش یافته در این وضعیت، شامل؛ hsa-miR-92a-3p، hsa-miR-204-5p، hsa-miR-24-3p و hsa-miR-506-3P می‌باشند.

نتیجه‌گیری: یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که یک شبکه miRNA-mRNA خاص با تهاجم سرطان ریه مرتبط است که این بینش جدید در مورد مکانیسم مولکولی تهاجم سرطان ریه به شناسایی بیومارکرهای مولکولی و اهداف درمانی برای این بدخیمی می‌انجامد.

واژه‌های کلیدی: بیوانفورماتیک، شبکه تنظیمی miRNA-mRNA، سرطان ریه

***نویسنده مسئول: مهدی مغنی باشی**، کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، گروه ژنتیک

Email: mehdimoghani@yahoo.com

مقدمه

متاستاز، مشخصه بارز اکثر تومورها، شامل انتشار سلول‌های سرطانی از تومور اولیه به اندام‌ها بوده و علت اصلی مرگ و میر ناشی از سرطان محسوب می‌شود(۱). برای وقوع متاستاز، لازم است سلول‌های توموری طی سلسله‌ای از وقایع متوالی و انتخابی، یک فرآیند چند مرحله‌ای شامل از بین رفتن اتصالات بین سلولی، تهاجم به غشای پایه و بافت‌های اطراف، نفوذ به عروق وریدی یا لنفاوی، حفظ بقاء در گردش عروقی، خروج و تکثیر در جایگاه‌های ثانویه را طی کنند(۳ و۲).

غدد لنفاوی مجاور تومور اولیه، اغلب اولین و شایع‌ترین محل‌های متاستاز در بیماران سرطانی به حساب می‌آیند. سیستم لنفاوی تقریباً در سایر بخش-های بدن انسان گسترش یافته و در همه بافت‌ها به جز اپیدرم، غضروف، عدسی چشم، قرنیه، شبکیه و مغز استخوان دیده می‌شود. به این خاطر تومورها غالباً این سیستم را به عنوان وسیله‌ای برای متاستاز به کار می‌گیرند(٤). هم‌چنین به نظر می‌رسد عروق لنفاوی نسبت به عروق خونی، مسیر بهتر و ایمن‌تری را برای انتشار سلول‌های سرطانی فراهم کنند، چراکه ترکیب مایع لنفاوی تقریباً مشابه مایعات میان بافتی است که بقای سلول‌های توموری مهاجر را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، ساختار ناپیوسته اجزاء مویرگی لنفاوی، جریان کم لنفاوی، حداقل تنش برشی و غلظت بالای اسید هیالورونیک، که نقش مهمی در حفاظت و بقای سلول‌ها ایفا می‌کند، به سیستم لنفاوی نسبت به جریان خون برتری می‌بخشد(٦ و٥). بدین ترتیب اکثر سرطان‌ها در ابتدا به غدد لنفاوی متاستاز می‌دهند و از آنجا به سرتاسر بدن منتقل می‌شوند(٤). به عنوان مثال، سیستم لنفاوی، مسیر اصلی متاستاز تومور ریه است(۷). سرطان ریه با نرخ بقای ٥ ساله حدود ١٦ درصد، دومین علت مرگ و میر ناشی از سرطان در بین زنان و مردان و شایع‌ترین بعد از سرطان پستان و پروستات می‌باشد.

از نظر آسیب‌شناسی، سرطان ریه به دو دسته، سرطان سلول کوچک ریه(SCLC) و سرطان سلول‌های غیر کوچک ریه(NSCLC) تقسیم می‌شود. سرطان سلول‌های غیر کوچک ریه شامل؛ کارسینومای سلول سنگفرشی، کارسینومای سلول بزرگ و آدنوکارسینوما، تقریبا ۸۵ درصد از سرطان‌های ریه را تشکیل می‌دهند(۹ و۸). وضعیت متاستاز به غدد لنفاوی در این گروه مهم‌ترین پارامتر تعیین کننده مراحل و پیش‌آگهی است(۱۰ و۷). با این حال، علی‌رغم اهمیت بالینی آشکار متاستاز لنفاوی، مکانیسم‌های مولکولی گسترش تومور ریه به غدد لنفاوی ناشناخته مانده است.

در طول دو دهه گذشته، با ظهور تکنیک‌های دقیق توالی‌یابی RNA، microRNAها (miRNA)، به عنوان تنظیم کننده‌های مهم تقریباً همه فرآیندهای سلولی مطرح شده‌اند(۱۲و۱۱). miRNAها، RNAهای غیر کد کننده کوچکی هستند که به طور متوسط ۲۲ نوکلئوتید طول دارند. اکثر آنها از توالی‌های DNA به miRNAهای اولیه(pri-miRNAs) رونویسی می‌شوند و بعد از

پردازش به miRNAهـای پـیش سـاز(pre-miRNA) و در نهایت miRNAهای بالغ، بیان ژن را پس از رونویسی با اتصال به توالی مکمل خود در مناطق ترجمه نشده mRNAهای هدفشان تنظیم می‌کنند. در بیشتر موارد، miRNAها با 3′ UTR از ملکول mRNA هدف خود برای سرکوب بیان تعامل دارند. با این حال، تعامل miRNAها با سایر مناطق، از جمله 5′UTR توالی کدکننده و پروموترهای ژن نیز گزارش شده است. علاوه بر این، miRNAها نشان داده‌اند که بیان ژن را تحت شرایط خاصی فعال می‌کنند(۱۳)، لذا پژوهش‌های اخیر بیانگر آن هستند که miRNAها با هدف قرار دادن mRNAهای دخیل در فرآیندهای فیزیولوژیکی نقش مهمی در کنترل آنها دارند.

اهمیت عملکردی miRNAها نه تنها در فرآیندهای بیولوژیکی طبیعی بلکه در فرآیندهای پاتولوژیک مانند سرطان نیز به طور گسترده گزارش شده است(۱٤). توسعه چشمگیر حوزه miRNAهای مرتبط با سرطان در طول ۱۵ سال گذشته، بینش‌های مهمی را در مورد نقش miRNAها در سرطان حاصل کرده است. بسته به نوع سرطان، miRNAهای دچار تغییر بیان می‌توانند، به عنوان miRNAهای انکوژنی، سرکوبگر تومور(oncomiRها) یا تنظیم کننده متاستاز(metastamiRs) عمل کنند(۱۵). miRNAهای تنظیم کننده متاستاز بر تومور اولیه در مراحل شروع تومورزایی تأثیر نمی‌گذارند، بلکه با هدف قرار دادن mRNAهای دخیل در فرآیندهای متاستاتیک مانند گذر اپیتلیال ــ مزانشیمال و رگزایی باعث مهاجرت و تهاجم سلولی می‌شوند (۱٦)، لذا هم اکنون با توجه به وجود درک ناقص از متاستاز که عدم درمان مبتلایان را به دنبال دارد و به دلیل پیشرفت قابل توجهی که در درک عملکرد miRNAهای خاص در متاستاز حاصل شده است، می‌توان از آنها به عنوان کاندیدای نشانگرهای زیستی مهم برای کمک به تشخیص و پیش آگهی استفاده کرد. خوشبختانه پیشرفت‌های شگرف علم بیوانفورماتیک در دهه‌های اخیر، تحلیل پروفایل ژنومی بدخیمی‌های مختلف را ممکن ساخته و شناسایی بیومارکرهای مولکولی ناشناخته را تسهیل کرده است(۱۷). از این رو، این مطالعه با هدف شناسایی شبکه ملکولی miRNA-mRNA تنظیم کننده متاستاز لنفاوی سرطان سلول‌های غیر کوچک ریه با رویکرد بیوانفورماتیکی انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه پژوهشی که به صورت تجربی در سال ۱٤۰۰ در راستای شناسایی miRNAها و mRNAهای مربوط به متاستاز لنفاوی سرطان سلول-های غیر کوچک ریه انجام شد، از داده‌های RNAseq پایگاه داده اطلس ژنوم سرطان(TCGA) با استفاده از پکیج TCGAbiolinks نرم‌افزار R استفاده شد. هم‌چنین معیارهای ورود به داده‌های مطالعه به شرح زیر تنظیم گردید: نمونه‌ها از بافت ریه انسانی با متاستاز لنفاوی وضعیت N plus (شامل؛ N1(تهاجم موضعی به گره پری برونشیال، بین لوبلاری، هیلاری)، N2 (درگیری غدد لنفاوی همان طرف مدیاستن و یا ساب کارینا) و

N3 (درگیری غدد لنفاوی طرف مقابل مدیاستن، یا غدد لنفاوی سوپراکالویکوالر)) بودند و داده‌ها گروه مورد(شامل ۱۷٦ نمونه با وضعیت متاستاز به گره-های لنفاوی) و گروه شاهد(شامل ٤۹ نمونه سالم)، را شامل می‌شدند.

در ادامه، پیش پردازش‌های اولیه برای داده‌های ترانسکریپتومی شامل؛ حذف ژن‌هایی با بیان صفر یا نزدیک به صفر با معیار CMP (Cladistic Maximum Parsimony) کمتر از ۱۰ در ۵۰ درصد نمونه‌ها با استفاده از پکیج edgeR در نرم‌افزار R انجام گرفت. نرمال سازی داده‌ها بر اساس روش TMM(میانگین پیراسته مقادیرM ، The Trimmed Mean of the M-values) و انتقال داده‌ها به حالت لگاریتمی بر پایه ۲ به وسیله پکیج limma صورت گرفت.

برای محاسبه تفاوت بیان بین گروه‌های مورد مقایسه یعنی نمونه‌های بافت ریه با متاستاز لنفاوی و کنترل‌های سالم از روش linear model استفاده شد و محاسبه سطح معنی داری بین گروه‌ها از طریق آزمون فرض چندگانه (Multiple hypothesis testing)انجام گرفت. در تمامی آنالیزها معیار FDR<۰/۰۵ (میزان کشف اشتباه ، False Discovery Rate) به عنوان معیار انتخاب mRNAها و miRNAهای دارای تغییر بیان به کار گرفته شد. در نهایت از ماتریکس پروفایل بیانی به دست آمده جهت انجام آنالیزهای بعدی مطالعه استفاده شد.

متعاقبا برای mRNAهای اختصاصی شناسایی شده، با استفاده از پایگاه TargetScan (http://www.targetscan.org/) و miRWalk (http://mirwalk.umm.uni-heidelberg.de/)، که در آنها همبستگی بین miRNAها و ژن‌های هدف از طریق آزمایشات تأیید شده است، miRNAهایی که می‌توانند آنها را هدف قرار دهند شناسایی شدند. miRNAهای پیش‌بینی شده به وسیله هر دو الگوریتم برای mRNAهای به دست آمده، در نظر گرفته شدند. در نهایت شبکه تنظیم‌کننده تعامل miRNA-mRNA با استفاده از نرم‌افزار سایتواسکیپ نسخه ٤(Cytoscap V4) به تصویر کشیده شد.

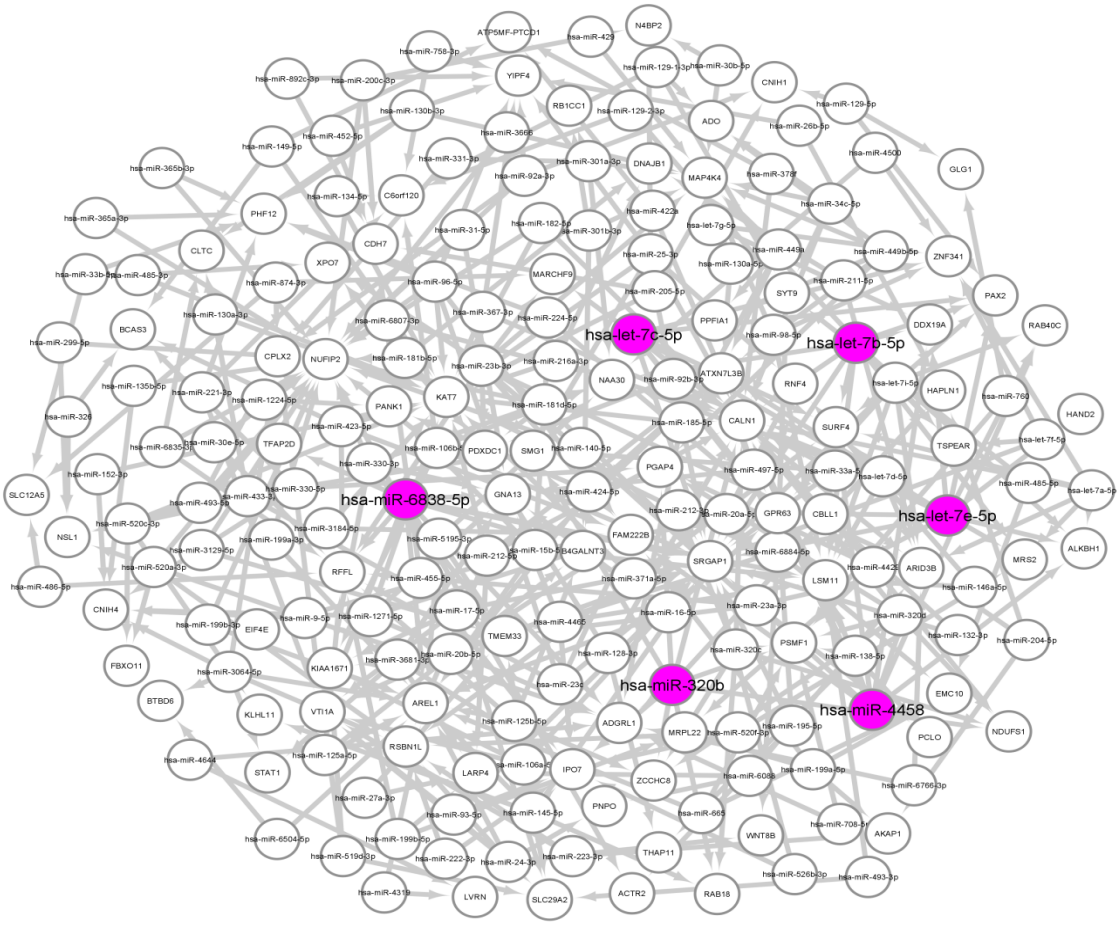
داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های فرض چندگانه و میزان کشف اشتباه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

در نتیجه شناسایی mRNAها و miRNAهای دارای تفاوت بیان، با استفاده از پکیج‌های edgeR و limma و بررسی شبکه تعاملی آنها مشخص شد که ٦ miRNA شامل hsa-let-7c-5p، hsa-let-7b-5p، hsa-let-7e-5p، hsa-miR-6838-5p، hsa-miR-320b و hsa-miR-4458تعداد زیادی از مجموع ٦۱۱، mRNA اختصاصی شناسایی شده با افزایش بیان در متاستاز لنفاوی ریه را تنظیم می‌کنند(شکل ۱). این نتایج نشان می‌دهد که miRNAها شناسایی شده در فرآیند متاستاز ریه به گره‌های لنفاوی پری برونشیال، بین لوبلاری، هیلاری،

گره‌های لنفاوی همان طرف مدیاستن و یا ساب کارینا و گره لنفاوی طرف مقابل مدیاستن، یا گره لنفاوی سوپراکالویکوالر دخیل می‌باشند. miRNAهای دارای بیشترین تعامل (هاب)تنظیم کننده mRNAهای دچار افزایش بیان در جدول ۱ به همراه اهداف ژنی آنها فهرست شده‌اند.

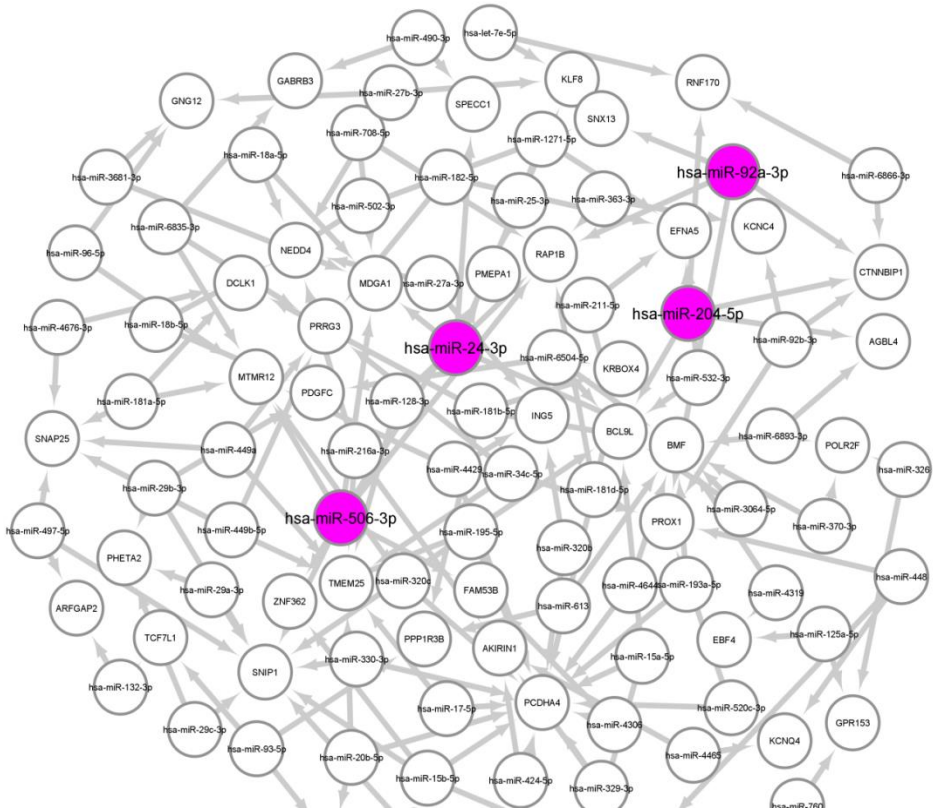
هم‌چنین برای ژن‌های اختصاصی کاهش یافته در نمونه‌های بافت ریه با متاستاز لنفاوی که شامل ۳۳۹ mRNA بودند، miRNAهایی که می‌توانند این ژن‌ها را هدف قرار دهند پیش‌بینی شد. نتایج نشان داد که ٤ miRNA شامل؛ hsa-miR-92a-3p، hsa-miR-204-5p، hsa-miR-24-3p و hsa-miR-506-3P با تعداد زیادی از ژن‌های کاهش یافته در وضعیت متاستاز لنفاوی ریه می‌توانند برهمکنش داشته باشند(شکل ۲). از این رو miRNAهای هاب شناسایی شده می‌توانند در متاستاز ریه به گره‌های لنفاوی ذکر شده نقش داشته باشند و در پیشرفت بیماری تأثیرگذار باشند. miRNAهای هاب تنظیم کننده mRNAهای دچار کاهش بیان در جدول ۲ به همراه اهداف ژنی آنها فهرست شده‌اند.



شکل ۱: شبکه تعاملی miRNA-mRNA تنظیم کننده متاستاز لنفاوی سرطان سلول‌های غیر کوچک ریه. نقاط رنگی نشان دهنده miRNAهای هاب تنظیم کننده mRNAهای دچار افزایش بیان در بافت سرطانی ریه با متاستاز لنفاوی می‌باشد.

جدول ۱: لیست miRNAهای هاب و mRNAهای افزایشی هدف در بافت سرطانی ریه با متاستاز لنفاوی

miRNAهای هاب	mRNAهای افزایشی هدف
hsa-miR-6838-5p	ACTR2, ADGRL1, RFFL, AREL1, VTI1A, TFAP2D, LSM11, GNA13, SRGAP1, B4GALNT3
hsa-let-7c-5p	PAX2 , CALN1, GPR63, MRS2, ARID3B, MARCHF9, LSM11, SURF4, ZNF341, SRGAP1
hsa-miR-320b	ADGRL1, CALN1, NDUFS1, RAB18, ZCCHC8, HAPLN1, IPO7, SMG1, PGAP4, PSMF1
hsa-let-7b-5p	PAX2, NAA30, CALN1, MRS2, DDX19A, ALKBH1, LSM11, TSPEAR, SURF4, SRGAP1
hsa-let-7e-5p	PAX2, CALN1, GPR63, DDX19A, ALKBH1, HAND2, LSM11, ATXN7L3B, RAB40C, SRGAP1
hsa-miR-4458	CALN1, GPR63, ARID3B, DDX19A, ALKBH1, LSM11, FAM222B, RAB40C, SURF4, SRGAP1



شکل ۲: شبکه تعاملی miRNA-mRNA تنظیم کننده متاستاز لنفاوی سرطان سلول‌های غیر کوچک ریه. نقاط رنگی نشان دهنده miRNAهای هاب تنظیم کننده mRNAهای دچار کاهش بیان در بافت سرطانی ریه با متاستاز لنفاوی می‌باشد.

جدول ۲: لیست miRNAهای هاب و mRNAهای کاهشی هدف در بافت سرطانی ریه با متاستاز لنفاوی

miRNAهای هاب	mRNAهای کاهشی هدف
hsa-miR-92a-3p	RAP1B, CTNNBIP1, KCNC4, PROX1, SNX13
hsa-miR-204-5p	CTNNBIP1, RNF170, AGBL4, BCL9L, EFNA5, ZNF699
hsa-miR-24-3p	BMF, SPECC1, KLF8, PMEPA1, MDGA1
hsa-miR-506-3p	RAP1B, MTMR12, PMEPA1, ZNF362, FAM53B, SNIP1, MDGA1

بحث

سیستم لنفاوی، مسیر اصلی متاستاز تومور ریه است(۷). وضعیت متاستاز به غدد لنفاوی در این گروه مهم‌ترین پارامتر تعیین کننده مراحل و پیش-آگهی است(۱۰ و۷). با این حال، علی‌رغم اهمیت بالینی آشکار متاستاز لنفاوی، مکانیسم‌های مولکولی گسترش تومور ریه به غدد لنفاوی ناشناخته مانده است. لذا هدف از این مطالعه شناسایی بیوانفورماتیکی شبکه تنظیمی miRNA–mRNA دخیل در تهاجم سرطان ریه بود.

در طول دهه گذشته، بیش از ۲۵۰۰۰ پژوهش در مورد جنبه‌های مختلف miRNAها، ازجمله؛ ژنومیک، بیوژنز و مکانیسم‌های عملکردی آنها در مدل‌های تجربی و بیماری‌ها انجام شده است که حدود ٤٠ درصد از آنها بر نقش miRNAها در سرطان متمرکز می‌باشد. در چندین مطالعه با استفاده از تکنیک‌هایی با توان عملیاتی بالا نظیر؛ RNAseq و تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی، نشان داده شده است که miRNAها کنترل کننده بیان یک سوم پروتئوم انسانی می‌باشند و در حفظ تعادل شبکه‌های تنظیم کننده ژن که سرنوشت سلول‌ها را تعیین می‌کنند، مشارکت دارند. انحراف بیان miRNAها، که یک رخداد شایع در تقریباً همه انواع سرطان‌های انسانی است، حفظ این تعادل را کاهش می‌دهد و در نتیجه به پیشرفت سرطان کمک می‌کند(۱۹ و۱۸).

برای مثال زو و همکاران با استفاده از پژوهش‌های بیوانفورماتیکی، به افزایش بیان miR-671-5p در سرطان پروستات پی برده‌اند و نشان داده‌اند که miR-671-5p دچار انحراف بیان با اتصال به mRNAهای هدف خود از جمله NFIA و CRYAB در شبکه تعاملی به توسعه و متاستاز سرطان پروستات کمک می‌کند(۲۰). زو نیز با تحلیل بیوانفورماتیکی در مطالعه‌ای دیگر، به افزایش بیان miR-636 در سرطان پروستات پی برد و بیان داشت miR-636 دچار انحراف بیان با هدف قرار دادن ژن‌های MBNL2، TNS1وSTAB1 متاستاز پروستات به استخوان را باعث می‌شود(۲۱). در مطالعه‌ای دیگر چن و همکاران به شناسایی بیوانفورماتیکی miRNAها تنظیمی مرتبط با سرطان کلون و ژن‌های هدف آنها پرداختند. نتایج این مطالعه به شناسایی ۸ مورد miRNA دخیل در سرطان‌زایی کلون و ١٤ ژن هدف برای آنها انجامید(۲۲). بررسی بیوانفورماتیکی ارتباط miRNAهای دچار تغییر بیان و ژن‌های هدف آنها با سرطان‌زایی سلول‌های کوچک ریه نیز به وسیله لی و همکاران صورت گرفته است. نتایج این بررسی نقش انحراف بیان miRNAها در سرطانی شدن سلول‌های کوچک ریه را نشان می‌دهد(۲۳).

از آنجایی که تنظیم ژن‌های متعدد دخیل در توسعه سرطان به واسطه miRNAها در پژوهش‌های مختلف گزارش شده است و شناسایی شبکه‌های تعاملی miRNA-mRNA می‌تواند به عنوان نشانگرهای تشخیصی جهت بهبود پیش‌آگهی مبتلایان مفید واقع شود، در مطالعه حاضر هدف، شناسایی شبکه ملکولی miRNA-mRNA تنظیم کننده متاستاز لنفاوی سرطان

سلول‌های غیر کوچک ریه قرار گرفت، چرا که دلیل مرگ هر ۷ نفر از ۱۰ بیمار مبتلا به NSCLC تنها از نبود یک روش غربالگری قابل اعتماد جهت تشخیص در مراحل اولیه (I یا II) ناشی می‌شود(۲۵ و ۲٤). در این بررسی، شبکه‌ای از mRNAها و miRNAها به عنوان نشانگرهای مولکولی تنظیم کننده متاستاز لنفاوی سرطان سلول‌های غیر کوچک ریه با رویکرد بیوانفورماتیکی شناسایی شد. به طور مشابه گائو و همکاران در مطالعه خود به شناسایی miRNAها و mRNAهای هدفشان در متاستاز لنفاوی سرطان پستان پرداخته‌اند. تحلیل بیوانفورماتیکی داده‌های این مطالعه شبکه‌ای تعاملی از miRNAها و mRNAهایی با تغییر بیان، دخیل در متاستاز لنفاوی سرطان پستان را نشان داده است(۲٦). جو و همکاران نیز به شناسایی شبکه ملکولی miRNA-mRNA دخیل در متاستاز لنفاوی سرطان کلورکتال پرداختند. نتایج این پژوهش همانند مطالعه حاضر به شناسایی miRNAها و mRNAهای هدف آنها در متاستاز لنفاوی سرطان کلورکتال انجامید تا بتوان از آنها برای اهداف تشخیصی و درمانی سرطان کلورکتال استفاده کرد(۲۷).

با توجه به پیچیدگی فرآیند متاستاز لنفاوی و از آنجایی که در بررسی آن لازم است هر گونه انحراف بیان در فاکتورهای دخیل مورد ارزیابی قرار گیرد، این شبکه تنظیمی مجموعه‌های کاملی از mirهای تنظیم کننده ژن‌های افزایشی اختصاصی متاستاز لنفاوی ریه شامل؛ hsa-let-7c-5p، hsa-let-7b-5p، hsa-let-7e-5p، hsa-miR-6838-5p، hsa-miR-320b و hsa-miR-4458 و ژن‌های کاهشی اختصاصی متاستاز لنفاوی ریه شامل؛ hsa-miR-92a-3p، hsa-miR-204-5p، hsa-miR-24-3p و hsa-miR-506-3P را شامل می‌شود. هم‌چنین براساس پیشینه تحقیق، miRNAهای هاب شناسایی شده در این مطالعه به عنوان نشانگرهای زیستی کارآمد در بدخیمی‌های دیگر معرفی شده‌اند، لذا به نظر می‌رسد miRNAهای شناسایی شده از دقت پیش‌بینی کافی برای تشخیص، پیش‌آگهی و احتمالا درمان سرطان سلول‌های غیر کوچک ریه برخوردارند. به عنوان مثال، چن و همکاران در مطالعه خود به نقش hsa-let-7e-5p در متاستاز سلول‌های سرطانی رکتال به کبد اشاره کرده‌اند(۲۸). حامدی و همکاران نیز hsa-miR-320b را به عنوان نشانگری با دقت صد در صدی در تشخیص سرطان تخمدان معرفی نموده‌اند(۲۹). اهمیت hsa-miR-92a-3p به عنوان نشانگری برای سرطان کلورکتال و متاستاز آن در نتایج مطالعه فو و همکاران گزارش شده است(۳۰). نقش hsa-miR-204-5p در متاستاز سرطان اندومتر به گره لنفی نگهبان(سنتینل) به وسیله وو و همکاران منتشر شده است(۳۱). در گزارش کانگ و همکاران تغییر بیان hsa-miR-24-3p به طور کلی با متاستاز سلول سرطانی در نظر گرفته شده است(۳۲). یانگ و همکاران نیز تغییر بیان hsa-miR-506-3P را با توسعه و تهاجم سرطان کلیه مرتبط دانسته‌اند(۳۳).

با این حال علی‌رغم شناسایی تعداد زیادی از miRNAها به عنوان نشانگرهای زیستی، miRNAها

تاکنون برای استفاده بالینی ناشناخته مانده‌اند، اما انتظار می‌رود که آنها به عنوان نشانگرهای زیستی جدید بسیار مفید و به عنوان ابزارهای درمانی مؤثر مسیر خود را در امور بالینی در آینده نزدیک پیدا کنند. شناسایی آنها در فرآیندهای مختلف تومورزایی به صورت بیوانفورماتیکی و تأیید آنها از طریق تکنیک‌های کاربردی در شرایط آزمایشگاهی به وسیله محققان به پیدا کردن این مسیر سرعت می‌بخشد. حجم کوچک نمونه‌ها و نتیجه‌گیری صرفا بر اساس تحلیل‌های بیوانفورماتیکی از محدودیت‌های مطالعه حاضر به شمار می‌روند. بنابراین مطالعات بیشتر با حجم نمونه‌های بزرگتر و تأیید یافته‌های حاضر در شرایط آزمایشگاهی در آینده مورد انتظار است.

نتیجه‌گیری

درک بیشتر از بیولوژی و ژنتیک متاستاز لنفاوی سرطان سلول‌های غیر کوچک ریه در پی انجام بررسی‌های مولکولی می‌تواند به شناخت نشانگرهای زیستی در راستای غربالگری، بهبود پیش‌آگهی، تسریع در توسعه اهداف درمانی جدید یا به کارگیری روش‌های درمانی موثر در مراحل اولیه بیماری منجر گردد. در این بین شناسایی پروفایل مولکولی miRNAهای دارای تغییر بیان به عنوان عامل موثر بر انحراف مکانیسم‌های تنظیم بیان ژن می‌تواند رویکردی مناسب برای تشخیص و درمان هدفمند سرطان پیچیده و ناهمگن ریه باشد.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه مقطع دکتری تخصصی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون به کد اخلاق IR.IAU.KAU.REC.1400.141 می‌باشد که با حمایت مالی نویسندگان انجام شده است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از آقای محمد مهدور و کلیه عزیزانی که نهایت همکاری را در اجرای این پژوهش داشته‌اند، کمال تشکر و قدردانی را به عمل آورند.

REFERENCES

1.Neophytou CM, Panagi M, Stylianopoulos T, Papageorgis P. The role of tumor microenvironment in cancer metastasis: molecular mechanisms and therapeutic opportunities. Cancers 2021; 13(9): 2053.
2.Oue N, Kitadai Y, Yasui W. Molecular mechanisms of lymph node metastasis. Lymph Node Metastasis in Gastrointestinal Cancer 2019; 69-92.
3.Jie XX, Zhang XY, Xu CJ. Epithelial-to-mesenchymal transition, circulating tumor cells and cancer metastasis: Mechanisms and clinical applications. Oncotarget 2017; 8(46): 81558.
4.Alderfer L, Wei A, Hanjaya-Putra D. Lymphatic tissue engineering and regeneration. J Biol Eng 2018; 17(12): 32.
5.Zhou H, Lei P J, Padera TP. Progression of metastasis through lymphatic system. Cells 2021; 10(3): 627.
6. Paduch R. The role of lymphangiogenesis and angiogenesis in tumor metastasis. Cell Oncol (Dordr) 2016; 39(5): 397-410.
7.Sun G, Sun Y, Zou Z, Xu S. Analysis of Segmental Lymph Node Metastasis and Clinical Features in cT1N0M0 Lung Adenocarcinoma. Biomed Res Int 2020; 2842604.
8.Wankhede D. Evaluation of eighth AJCC TNM sage for lung cancer NSCLC: A meta-analysis. Ann Surg Oncol 2021; 28(1):142-7.
9.Kumar V, Yadavilli S, Kannan R. A review on RNAi therapy for NSCLC: Opportunities and challenges. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol 2021; 13(2): e1677.
10.Bi L, Zhang H, Ge M, Lv Z, Deng Y, Rong T, Liu C. Intrapulmonary lymph node (stations 13 and 14) metastasis in peripheral non-small cell lung cancer. Medicine 2021; 100(27): e26528.
11.Kreth S, Hübner M, Hinske LC. MicroRNAs as clinical biomarkers and therapeutic tools in perioperative medicine. Anesth Analg 2018; 126(2): 670-81.
12.Gabra MM, Salmena L. MicroRNAs and acute myeloid leukemia chemoresistance: a mechanistic overview. Front Oncol 2017; 7: 255.
13.O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, Peng C. Overview of microrna biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. Front Endocrinol (Lausanne) 2018; 9: 402.
14.Orellana EA, Kasinski AL. MicroRNAs in cancer: A historical perspective on the path from discovery to therapy. Cancers(Basel) 2015; 7(3):1388-405.
15.Kim J, Yao F, Xiao Z, Sun Y, Ma L. MicroRNAs and metastasis: small RNAs play big roles. Cancer Metastasis Rev 2018; 37(1): 5-15.
16.Lopez-Camarillo C, Marchat LA, Arechaga-Ocampo E, Perez-Plasencia C, Del Moral-Hernandez O, Castaneda-Ortiz EJ, Rodriguez-Cuevas S. MetastamiRs: non-coding MicroRNAs driving cancer invasion and metastasis. Int J Mol Sci 2012; 13(2): 1347-79.
17.Nishiwada S, Sho M, Banwait JK, Yamamura K, Akahori T, Nakamura K, Baba H, Goel A. A MicroRNA signature identifies pancreatic ductal adenocarcinoma patients at risk for lymph node metastases. Gastroenterology 2020; 159(2): 562-74.
18.Ling H, Fabbri M, Calin GA. MicroRNAs and other non-coding RNAs as targets for anticancer drug development. Nat Rev Drug Discov 2013; v12(11): 847-65.
19.Baranwal S, Alahari SK. miRNA control of tumor cell invasion and metastasis. Int J Cancer 2010; 126(6): 1283-90.
20.Zhu Z, Luo L, Xiang Q, Wang J, Liu Y, Deng Y, Zhao Z. MiRNA-671-5p Promotes prostate cancer development and metastasis by targeting NFIA/CRYAB axis. Cell Death Dis 2020; 11(11): 949.
21.Zhu Z, Wen Y, Xuan C, Chen Q, Xiang Q, Wang J, Liu Y, Luo L, Zhao S, Deng Y, Zhao Z. Identifying the key genes and microRNAs in prostate cancer bone metastasis by bioinformatics analysis. FEBS Open Bio 2020; 10(4): 674-688.
22.Chen W, Gao C, Liu Y, Wen Y, Hong X, Huang Z. Bioinformatics analysis of prognostic mirna signature and potential critical genes in colon cancer. Front Genet 2020; 11: 478.
23.Li X, Ma C, Luo H, Zhang J, Wang J, Guo H. Identification of the differential expression of genes and upstream microRNAs in small cell lung cancer compared with normal lung based on bioinformatics analysis. Medicine(Baltimore) 2020; 99(11): e19086.
24.Hussen BM, Abdullah ST, Rasul MF, Salihi A, Ghafouri-Fard S, Hidayat HJ, Taheri M. MicroRNAs: important players in breast cancer angiogenesis and therapeutic targets. Front Mol Biosci 2021; 8: 764025.

25.Goebel C, Louden CL, McKenna R Jr, Onugha O, Wachtel A, Long T. Diagnosis of non-small cell lung cancer for early stage asymptomatic patients. Cancer Genomics Proteomics 2019; 16(4): 229-44.
26.Gao G, Shi X, Yao Z, Shen J, Shen L. Identification of lymph node metastasis-related microRNAs in breast cancer using bioinformatics analysis. Medicine(Baltimore) 2020; 99(39): e22105.
27.Ju Q, Zhao YJ, Dong Y, Cheng C, Zhang S, Yang Y, Li P, Ge D, Sun B. Identification of a miRNA-mRNA network associated with lymph node metastasis in colorectal cancer. Oncol Lett 2019; 18(2):1179-88.
28.Chen W, Lin G, Yao Y, Chen J, Shui H, Yang Q, et al. MicroRNA hsa-let-7e-5p as a potential prognosis marker for rectal carcinoma with liver metastases. Oncol Lett 2018; 15(5): 6913-24.
29.Hamidi F, Gilani N, Belaghi RA, Sarbakhsh P, Edgünlü T, Santaguida P. Exploration of potential mirna biomarkers and prediction for ovarian cancer using artificial intelligence. Front Genet 2021; 12: 724785.
30.Fu F, Jiang W, Zhou L, Chen Z. Circulating exosomal mir-17-5p and mir-92a-3p predict pathologic stage and grade of colorectal cancer. Transl Oncol 2018; 11(2): 221-32.
31.Wu C, Zhou X, Li J, Xiao R, Xin H, Dai L, Zhu Y, Bao W. Serum miRNA-204-5p as a potential non-invasive biomarker for the diagnosis of endometrial cancer with sentinel lymph node mapping. Oncol Lett 2022; 24(2):248.
32.Kang H, Rho JG, Kim C, Tak H, Lee H, Ji E, et al. The miR-24-3p/p130Cas: a novel axis regulating the migration and invasion of cancer cells. Sci Rep 2017; 7: 44847.
33.Yang FQ, Zhang HM, Chen SJ, Yan Y, Zheng JH. MiR-506 is down-regulated in clear cell renal cell carcinoma and inhibits cell growth and metastasis via targeting FLOT1. PLoS One 2015; 10(3): e0120258.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Bioinformatics Identification of miRNA-mRNA Regulatory Network Contributing to Lung Cancer Invasion

Khashei Varnamkhasti KH, Moghanibashi M*, Naeimi S

Department of Genetics, Kazerun branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

Received: 22 Jan Sep 2022 Accepted: 07 Jun 2022

Abstract

Background & aim: Over the past 15 years, significant insights have been gained into the roles of miRNAs in cancer. In various cancers, miRNAs can act as oncogenes, tumor suppressors, or control the metastasis process by modulating the expression of numerous target genes. The aim of the present study was to identify molecular network of miRNA-mRNA regulating lung cancer invasion, by bioinformatics approaches.

Methods: In this experimental study that was done in 2022, gene expression profiles of patients with lung cancer were collected from the RNASeq data of Cancer Genome Atlas (TCGA), by TCGAbiolinks package. Differentially expressed miRNAs and mRNAs were identified using “limma” and “edgeR” R packages and their targets were predicted by 2 databases; miRWalk, and Targetscan. Subsequently, the interaction regulatory network of miRNA-mRNA visualized using Cytoscape software. Data analysis was performed using Testing Multiple Hypotheses and False Discovery Rate.

Results: The results of bioinformatics analysis of the lung cancer invasion specific miRNA-mRNA regulatory network, showed that six hub miRNAs including; hsa-let-7c-5p, hsa-let-7b-5p, hsa-let-7e-5p, hsa-miR-6838-5p, hsa-miR-320b and hsa-miR-4458, are regulator of the lung cancer invasion up-regulated genes and four hub miRNAs are regulator of this situation down-regulated gene including; hsa-miR-92a-3p, hsa-miR-204-5p, hsa-miR-24-3p and hsa-miR-506-3P.

Conclusion: The results in our study suggest that a specific miRNA-mRNA network is associated with the lung cancer invasion which this new insight into the molecular mechanism of lung cancer invasion result in the identification of molecular biomarkers and therapeutic targets for this malignancy.

Keywords: Bioinformatics, miRNA-mRNA regulatory network, Lung cancer

***Corresponding author: Moghanibashi M**, Department of Genetics, Kazerun branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran
Email: mehdimoghani@yahoo.com

Please cite this article as follows: Khashei Varnamkhasti KH, Moghanibashi M, Naeimi S. Bioinformatics Identification of miRNA-mRNA Regulatory Network Contributing to Lung Cancer Invasion. Armaghane-danesh 2022; 27(4): 430-441.