Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2017; 20(118): 35-43

Association Study of MiR-34b/c Genetic Variation and Ulcerative Colitis in Guilan Province

Zeynab Hosseinpour[1], Zivar Salehi[2]*, Soheila Talesh Sasani[3], Keyvan Aminian[4]

1.MSc in Genetics, Department of Biology, University of Guilan, Rasht, Iran
2.Professor, Department of Bioloy, University of Guilan, Rasht, Iran
3.Assistant Professor, Department of Biology, University of Guilan, Rasht, Iran
4. Assistant Professor, Research Center for Gastroenterology and Liver Diseases, Razi Hospital, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

Received: 19 Dec 2016, Accepted: 24 Jan 2017

Abstract

Background: Ulcerative colitis (UC) is a chronic disease that specifically affects the mucosa of the rectum and colon. The pathogenesis of UC is not well defined, but it is proposed that genetic and environmental factors result in an aberrant immune response to a subset of commensal enteric bacteria.The aim of this study was to investigate whether miR-34b/c rs4938723 T/C polymorphism is associated with UC risk.

Materials and Methods: Blood samples were collected from 50 patients diagnosed with UC and 100 healthy control subjects. Genomic DNA was extracted from peripheral blood. Genetic variation of miR34b/c was determined by tetra-primers ARMS-PCR (amplification refractory mutation system-polymerase chain reaction). All statistical analyses were conducted using the MedCalc version 12.1.

Results: There was a significant difference in genotype and allele distributions between cases and controls. It was observed that the CT heterozygotes had a 2.29-fold increase in risk of UC (OR=2.29, 95%CI=1.08-4.82, p=0.02).

Conclusion: It is suggested that the miR34b/c (rs4938723 T>C) polymorphism may be associated with the risk of UC. However, larger studies with more patients and controls are needed to confirm this result.

Keywords: Polymorphism, Ulcerative colitis, MiR34b/c

*Corresponding Author:
Address: Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
Email: geneticzs@yahoo.co.uk.

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال ۲۰، شماره ۱ (شماره پیاپی ۱۱۸)، فروردین ۱۳۹۶، ۴۳-۳۵

مطالعه پیوستگی تنوع ژنتیکی miR-34b/c با کولیت‌اولسرو در استان گیلان

زینب حسین پور[۱]، زیور صالحی[۲*]، سهیلا طالش ساسانی[۳]، کیوان امینیان[۴]

۱. کارشناسی ارشد ژنتیک، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۲. استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۳. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۴. استادیار، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، بیمارستان رازی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۵

چکیده

زمینه و هدف: کولیت اولسرو، بیماری مزمن التهابی روده است که مخاط رکتوم و کولون را در برمی‌گیرد. پاتوژنز این بیماری به خوبی شناخته شده نیست، اما به نظر می‌رسد عوامل ژنتیکی و محیطی سبب پاسخ ایمنی نامناسب به برخی باکتری‌های هم زیست روده می‌شوند. هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم miR-34b/c (rs4938723T/C) با خطر بروز بیماری کولیت‌اولسرو است.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های جمع‌آوری‌شده شامل ۵۰ نفر دارای بیماری کولیت اولسرو و ۱۰۰ نفر کنترل می‌باشند. استخراج DNA ژنومی از نمونه خون محیطی صورت گرفت. تنوع ژنتیکی miR-34b/c با روش tetra primers ARMS-PCR تعیین شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MedCalc (نسخه ۱/ ۱۲) انجام گرفت.

یافته‌ها: اختلاف معنی‌داری در خصوص توزیع ژنوتیپی و آللی در گروه‌های بیمار و شاهد مورد مطالعه وجود داشت. هتروزیگوت‌های CT به میزان ۲/۲۹ برابر بیش‌تر در معرض خطر بیماری کولیت اولسرو قرار گرفتند(OR=۲/۲۹,۹۵٪CI=۱/۰۸-۴/۸۲, p=۰/۰۲).

نتیجه‌گیری: اظهارات حاکی از این است که پلی‌مورفیسم miR-34b/c (rs4938723) ممکن است با خطر بیماری کولیت اولسرو مرتبط باشد. با این وجود، مطالعات وسیع‌تر با تعداد نمونه‌های بیمار و کنترل بیش‌تر جهت تأیید این نتیجه ضروری است.

واژگان کلیدی: پلی‌مورفیسم، کولیت‌اولسرو، miR-34b/c

*__نویسنده مسئول__: ایران، رشت، دانشگاه گیلان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

Email: geneticzs@yahoo.co.uk

مقدمه

کولیت‌اولسرو، بیماری التهابی روده است که کولون و راست‌روده را درگیر می‌کند(۱). در این بیماری، درگیری از رکتوم شروع می‌شود(پروکتیت) و ممکن است به سایر بخش‌های کولون نیز گسترش یابد. در برخی از موارد، درگیری تمامی بخش‌های کولون یا پان کولیت ایجاد می‌شود(۲). کولیت اولسرو و بیماری کرون در مجموعه بیماری‌های التهابی روده (Inflammatory bowel diseases=IBD) قرار دارند. اگرچه علت دقیق کولیت اولسرو مشخص نشده است اما به نظر می‌رسد عوامل محیطی و ژنتیکی در ایجاد و پیشرفت بیماری مؤثر باشند(۳). در این بیماری، سیستم ایمنی بدن به طور نابه جا جدار داخلی کولون را مورد حمله قرار می‌دهد و باعث ایجاد زخم، خون‌ریزی و اسهال می‌شود(۴). علائم بیماری می‌توانند خفیف، متوسط یا شدید باشند(۵). این بیماری در هر سنی می‌تواند رخ دهد، اما شایع‌ترین سن ابتلا به کولیت‌اولسرو بین ۱۵ تا ۳۵ سالگی است و با کم‌ترین فراوانی در سنین ۵۰ تا۷۰ سالگی رخ می‌دهد. میزان بروز بیماری در مردان و زنان یکسان است(۶، ۷). بیماری‌های التهابی روده در ایران، نسبت به کشورهای غربی فراوانی کم‌تری دارد، اگرچه گزارش‌ها نشان از افزایش تعداد بیماران طی دهه گذشته دارد(۸).

کولیت‌اولسرو به عنوان یک ریسک فاکتور برای سرطان روده است، اما مکانیزم ایجاد آن به طور کامل مشخص نیست(۹). به طورکلی، ناپایداری ژنومی، ناپایداری میکروساتلیتی(MSI)، آسیب‌های DNA میتوکندری، تغییرات اپی‌ژنتیکی، آنوپلوئیدی، آپوپتوزیس و سایتوکاین‌های التهابی با سرطان کولون ناشی از کولیت‌اولسرو مرتبط می‌باشد(۱۲ -۱۰). اهمیت برخی از ژن‌ها در خصوص سرطان کولون ناشی از UC توسط محققین مورد ارزیابی قرار گرفته است که از آن جمله می‌توان به *Kras*، *APC*، *Dapk*، *MLh1*، *p53* اشاره نمود(۱۳، ۱۴). مطالعات اخیر نقش تنظیمی *P53* در بیان برخی از RNAهای کوچک تنظیمی از جمله microRNA(miRNAs) ها را نشان می‌دهند. تا به امروز حدود ۲۰۰۰ miRNA در ژنوم انسان در بانک اطلاعاتی mirbase ثبت شده است. miRNA، RNA تنظیمی غیرکدکننده کوچک است که طولی حدود nt ۲۵-۲۱ دارد و در گیاهان، جانوران و در برخی از ویروس‌ها وجود دارند. این مولکول‌ها، معمولاً به ناحیهUTR-´ 3 در mRNAهای هدف خود متصل شده و منجر به ناپایداری، خاموشی یا سرکوب ترجمه آن می‌شوند. بنابراین miRNAها از عوامل تنظیم‌کننده بیان ژن در طی تکوین، مرگ سلولی و تمایز، در سطح پس از رونویسی یا ترجمه می‌باشند(۱۵). بیان غیرطبیعی miRNAها در بسیاری از بیماری‌های انسانی، نشان‌دهنده نقش آن‌ها در ایجاد و پیشرفت برخی از بیماری‌ها از جمله سرطان‌ها است(۱۶).

از انواع مختلف miRNAها، می‌توان به خانواده miR-34 اشاره کرد(۱۷). miR-34 شامل سه miRNA است که از پردازش دو miRNA اولیه حاصل می‌شوند. miR-34b و miR-34c از یک رونوشت اولیه مشترک پردازش می‌شوند(۱۸). این miRNAها به علت مهار ژن‌های هدف خود از جمله *c-MYC* و *BCL2*، دارای فعالیت سرکوب‌گر توموری می‌باشند. آن‌ها در تنظیم فرآیندهای مختلف مرتبط با سرطان مانند تکثیر، آپوپتوزیس، مهاجرت، تهاجم و متاستاز دخیل می‌باشند(۱۹). ژن کد کننده miR-34b/c دارای ۹۰ جایگاه پلی‌مورفیک است که یکی از مهم‌ترین آن‌ها،rs4938723 T>C است که در برخی از سرطان‌ها، مورد بررسی قرارگرفته است. جایگاه پلی‌مورفیک مذکور در ناحیه پروموترmiRNA (۴۲۳ جفت باز در بالادست جایگاه شروع رونویسی) قرار دارد. اعضای خانواده GATA به یک توالی عمومی [(A/T)GATA(A/G)]DNA متصل می‌شوند(۲۰، ۲۱). در حضور آلل C، فاکتور رونویسی GATA-X به جایگاه خود در ژن miR-34b/c متصل شده رونویسی از آن اجرا می‌شود. در حضور آلل T، فاکتور GATA-X نمی‌تواند به

ناحیه مورد نظر متصل شود(۲۲، ۲۳). با توجه به نقش تنظیمی miR-34b/c و اهمیت جایگاه پلی‌مورفیک rs4938723 T>C، هدف از این مطالعه بررسی فراوانی‌های ژنوتیپی و آللی در جایگاه miR-34b/c (rs4938723 T>C) در بیماران مبتلا به کولیت اولسرو و مقایسه آن‌ها با گروه کنترل می‌باشد.

مواد و روش‌ها

استخراج DNA:

در این مطالعه مورد- شاهدی، ۵۰ بیمار مبتلا به کولیت‌اولسرو و ۱۰۰ فرد سالم مورد ارزیابی قرار گرفتند. تشخیص کولیت اولسرو بر اساس یافته‌های بالینی، کولونوسکوپی و آسیب‌شناسی صورت گرفت. افراد سالم در محدوده سنی یکسان با بیماران، عاری از بیماری‌های التهابی و سرطان بودند. از افراد متعلق به گروه‌های بیمار و کنترل ۱ میلی‌لیتر خون تهیه شد و به‌منظور جلوگیری از لخته شدن، نمونه‌های خون درون لوله‌های آغشته به EDTA (ونوجکت‌های EDTA-Coated) ذخیره و لوله‌های حاوی نمونه به فریزر آزمایشگاه دانشکده علوم پایه دانشگاه گیلان با دمای ۲۰- درجه منتقل تا در مراحل بعدی جهت استخراج DNA مورد استفاده قرار گیرند. استخراج DNA از لکوسیت‌های خون محیطی با استفاده از کیت استخراج Gpp Solution(ژن پژوهان، ایران) طبق دستورالعمل انجام شد. غلظت DNA توسط اسپکتروفتومتری و الکتروفورز افقی با ژل آگارز ۱ درصد ارزیابی شد. تعیین ژنوتیپ جایگاه پلی‌مورفیک rs4938723 در miR-34b/c با روش Tetra Primers ARMS-PCR انجام شد. در این واکنش از دو آغازگر رو به جلو(یک آغازگر جهت شناسایی آلل C و آغازگر دیگر برای آلل T) و دو آغازگر رو به عقب(یک آغازگر برای آلل T و آغازگر دیگر برای آلل C) که توالی آن‌ها در جدول ۱ آورده شده، استفاده گردید. به عبارت دیگر جهت تعیین ژنوتیپ، هر نمونه دو بار PCR صورت گرفت. طول قطعه تکثیر شده حاصل از PCR، برای آلل C، ۳۱۴ جفت باز و برای آلل T، ۱۷۰ جفت باز بود. حجم کلی هر واکنش PCR، ۲۵µl و متشکل از ۳۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۲ pmol از هر پرایمر، ۰/۱ mM dNTP، µl PCR ۱۰buffer (۱۰mM Trise HCl، ۵۰ mM KCl، ۰/۱Triton X-100 درصد)، ۱/۵$MgCl_2$ و ۰/۵ واحد Taq DNA polymeraseبود. شرایط PCR با واسرشته سازی اولیه ۵ دقیقه‌ای در دمای ۹۴°C، ۳۵ سیکل در دمای ۹۴°C (۳۰ ثانیه)، ۵۴°C (۳۰ ثانیه)، ۷۲ °C (۳۰ ثانیه) و سرانجام به مدت ۲ دقیقه در دمای ۷۲°C در دستگاه ترموسایکلر (شرکت بیوراد) تنظیم شد. سپس فرآورده PCR روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شد و آشکارسازی باندها توسط دستگاهGel Documentation (شرکت بیوراد) انجام گردید. جهت اطمینان از نتایج حاصله، ۲۰٪ از تمامی نمونه‌ها، مجدداً تعیین ژنوتیپ شدند.

آنالیزهای آماری

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار MedCalc (version 12.1) ارزیابی شدند. فراوانی آللی با استفاده از روش شمارش محاسبه گردید. تفاوت در فراوانی های آللی و ژنوتیپی در دو گروه مورد مطالعه، با استفاده از تست کای دو صورت گرفت. میزان OR و CI ۹۵ دزصد با حضور آلل و ژنوتیپ آورده شده در جدول ۲ محاسبه گردید. $p<۰/۰۵$ از لحاظ آماری، مقدار معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

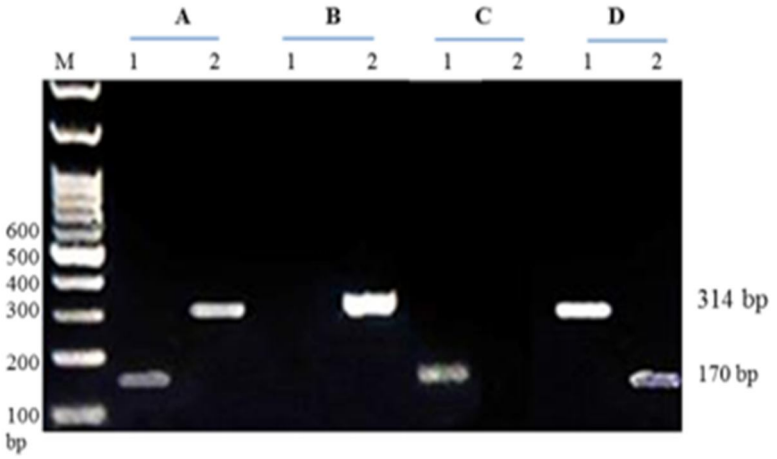
خصوصیت نمونه‌ها

محدوده سنی افراد مبتلا به کولیت‌اولسرو از ۱۸ تا ۴۳ سال در زنان و ۲۰ تا ۴۵ سال در مردان بود(میانگین سنی در گروه بیمار ۸/۶±۳۲). از ۵۰ فرد مبتلا، ۲۲ نفر مذکر و ۲۸ نفر مؤنث بودند. طول دوره بیماری از ۱ تا ۲۵ سال بود. از نظر شدت بیماری، ۵ نفر(۱۰ درصد) پان کولیت، ۱۸ نفر(۳۶ درصد) پروکیت، ۲۷ نفراز بیماران(۵۴ درصد) درگیری رکتوم و سیگموئید را نشان دادند. گروه کنترل شامل ۴۴ مرد و ۵۶ زن

سالم بودند. در این گروه، محدوده سنی زنان (۴۴ -۲۰)سال و مردان(۴۴-۱۹) بود(میانگین سنی در کنترل ۲/۵±۳۳ سالگی). تفاوت معنی‌داری در خصوص جنسیت و سن بین گروه بیمار و کنترل وجود نداشت(p>۰/۰۵).

نتایج بررسی‌های مولکولی

در شکل ۱، شناسایی آلل C با تکثیر قطعه‌ای به طول ۳۱۴ جفت باز و آلل T با قطعه ای به طول ۱۷۰ جفت باز در ژل آگارز ۲ درصد صورت گرفت. در گروه بیمار، ۱۵ نمونه(۳۰ درصد) دارای ژنوتیپ هموزیگوت TT، ۲۹ نمونه(۵۸ درصد) دارای ژنوتیپ هتروزیگوت CT و ۶ نمونه(۱۲ درصد) دارای ژنوتیپ CC بودند. گروه کنترل، ۵۱ نمونه (۵۱ درصد) دارای ژنوتیپ TT، ۴۳ نمونه(۴۳ درصد) دارای ژنوتیپ هتروزیگوت CT و ۶ نمونه(۶ درصد) دارای ژنوتیپ CC بودند. به طورکلی در گروه بیمار، ژنوتیپ CT و در گروه کنترل ژنوتیپ TT، بیش‌ترین فراوانی را به خود اختصاص دادند. کم‌ترین فراوانی در هر دو گروه مورد بررسی، متعلق به ژنوتیپ CC بود. با استفاده از نرم‌افزار MedCalc (نسخه ۱۲/۱)، در آزمون Chi-Square مقدار ۶/۴۰ =χ^2 و p=۰/۰۴ محاسبه شد. به عبارت دیگر، در دو گروه مورد بررسی، تفاوت معنی‌داری در توزیع ژنوتیپی وجود داشت. با توجه به آنالیز آماری افراد حامل ژنوتیپ هتروزیگوت (CT) تقریباً ۲/۲۹ برابر بیشتر از افراد دارای ژنوتیپ TT در معرض خطر ابتلا به کولیت‌اولسرو قرار دارند(p=۰/۰۲, ٪۹۵CI=۱/۰۸-۴/۸۲,OR=۲/۲۹). هم‌چنین محاسبه ژنوتیپ‌های CC+CT/TT با میزان OR=۲/۴۲، مؤید اهمیت آلل C در بیماران بود(p=۰/۰۱, ٪۹۵CI=۱/۱۸-۴/۹۹,OR=۲/۴۲). با توجه به مقدار p= ۰/۰۵ برای ژنوتیپ CC مرتبط با ریسک خطر کولیت‌اولسرو نیست(OR=۳/۴,٪۹۵CI=۰/۹۵-۱۲/۱۰,p=۰/۰۵). فراوانی آلل C و T در بیماران، به ترتیب ۰/۴۱ و ۰/۵۹ بود. در گروه کنترل، فراوانی آلل T، ۰/۷ و آللC، ۰/۳ بود. مقدار ۴/۹۸ =χ^2 و p=۰/۰۲ مؤید تفاوت معنی‌دار در توزیع آللی در دو جمعیت مورد مطالعه بود. آنالیز آماری نشان داد که آلل C با افزایش خطر ۱/۸ برابری در بروز بیماری کولیت‌اولسرو همراه است (p=۰/۰۱, ٪۹۵CI=۱/۱۰-۳/۰۳,OR=۱/۸۳). در جدول ۲ فراوانی ژنوتیپی و آللی پلی‌مورفیسم miR-34b/c T>C (rs4938723) مقایسه شده است.



شکل ۱. ژنوتایپینگ miR-34b/c. در چاهک های شماره ۱ محصول PCR با جفت پرایمرهای آلل T و در چاهک های شماره ۲، محصول PCR با جفت پرایمرهای آلل C برای چهار نمونه A, B, C , D در ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز شد C=TT, D=CT A=CT, B=CC .

جدول ۱. توالی آغازگرهای مورد استفاده در PCR.

پرایمرها	توالی آغازگرها (′۳→′۵)
T allele	F: 5′- GGGAACCTTCTTTGACCTATT-3′ R: 5′- GTTAGTTACATCAAATCGTGGT-3′
C allele	F: 5′- GGGAACCTTCTTTGACCTATC-3′ R: 5′- GTAGCCTCTGACATATGGGA-3′

جدول ۲. فراوانی ژنوتیپی و آللی miR-34b/c و میزان اثر آن در بروز بیماری کولیت‌اولسرو.

ژنوتیپ ها	n(٪) کنترل ها	n(٪) بیماران	OR(95%CI)	p
TT	۵۱(۵۱)	۱۵(۳۰)	۱/۰۰(Ref)	–
CT	۴۳(۴۳)	۲۹(۵۸)	۲/۲۹(۱/۰۸–۴/۸۲)	۰/۰۲
CC	۶(۶)	۶ (۱۲)	۳/۴(۰/۹۵–۱۲/۱۰)	۰/۰۵
CC+CT/TT	۴۹(۴۹)	۳۵(۷۰)	۲/۲۹(۱/۱۸–۴/۹۹)	۰/۰۱
الل ها				
T	۱۴۵(۷۰)	۵۹(۵۹)	۱/ ۰۰(Ref)	–
C	۵۵(۳۰)	۴۱(۴۱)	۱/۸۳(۱/۱۰–۳/۰۳)	۰/۰۱

بحث

در پژوهش حاضر، به بررسی اهمیت پلی‌مورفیسم miR-34b/c (rs4938723 T>C)در بیماران مبتلا به کولیت‌اولسرو پرداخته شد. بدین منظور، تعداد ۵۰ بیمار و ۱۰۰ نفر به عنوان کنترل مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان دهنده رابطه مستقیمی بین پلی‌مورفیسم miR-34b/c درجایگاه rs4938723 T>C با خطر ابتلا به کولیت‌اولسرو در جمعیت مورد مطالعه است (p<۰/۰۵). به عبارت دیگر، آلل C در جایگاه مذکور با افزایش خطر بیماری کولیت اولسرو مرتبط می‌باشد (P=۰/۰۱,۳/۰۳–OR=۱/۸۳,٪۹۵CI=۱/۱۰). این اولین گزارش مورد–شاهدی در خصوص بررسی پلی‌مورفیسم miR-34b/c (rs4938723 T>C) در بیماری کولیت‌اولسرو است.

نتیجه مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۴، نشان داد که در جمعیت آسیایی مورد بررسی، در مقایسه با جمعیت آفریقا–آمریکایی و قفقازی، جایگاه پلی مورفیک rs4938723T>C با خطر سرطان نازوفارژیال و استوسارکوما مرتبط است (OR $_{TT}$=۱/۱۳; ٪۹۵CI=۱/۰۳–۱/۲۴,p=۰/۰۰۷) (۲۴). Liu و همکاران اهمیت ژنوتیپ CT در miR-34b/c را با افزایش خطر سرطان کولورکتال در نمونه‌های مورد بررسی پیشنهاد کردند(p=۰/۰۱,OR=۱/۱۰,٪۹۵CI=۱/۰۱–۱/۲۰) (۲۵). در تأیید این نتیجه، Gao و Weng نیز به اهمیت ژنوتیپ CT در خطر سرطان کولورکتال و کارسینوم هپاتوسلولار اشاره نموده‌اند(۲۳، ۲۶). در حالی که مطالعه Sanaei و همکاران، مؤید عدم ارتباط سرطان پستان با تنوع ژنتیکی miR-34b/c است(۲۷). به علاوه، در متاآنالیز انجام شده در سال ۲۰۱۳، عدم ارتباط جایگاه rs4938723 در miR-34b/cبا کارسینوم هپاتوسلولار مطرح گردید(۲۸). علت تفاوت در نتایج، می‌تواند ناشی از اختلاف در خزانه

ژنتیکی، اندازه جمعیت مورد بررسی و نقش عوامل محیطی در بروز بیماری باشد.

بر اساس نتایج حاصل از مطالعات قبلی، بیش از ۵۰ درصد ژن‌های miRNA در نواحی ژنومی مرتبط با سرطان یا در مکان‌های شکنده که نقاط داغی برای حذف، تکثیر یا جهش‌های ژنی هستند، جایگیری شده‌اند(۲۹). این موضوع به عملکردهای عمده miRNAها در تنظیم رشد و تکثیر سلول اشاره دارد. به علاوه miRNAها در طیف متنوعی از سرطان‌های انسان شامل کولون، پانکراس، پستان، پروستات، کبد و تخمدان دخیل می‌باشند. این موضوع به نقش تنظیم کننده miRNA در کنترل رشد و تکثیر سلول‌ها اشاره دارد(۳۰).

بیماری کولیت اولسرو با افزایش خطر سرطان کولورکتال همراه است. مهم‌ترین جهش‌ها در این بیماری، جهش در *p53* است. یکی از ژن‌های هدف *p53*، miR-34b/c می‌باشد. لذا هرگونه تغییر در توالی پروموتر miR-34b/c ممکن است در اتصال *p53* به آن مؤثر باشد. پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در ناحیه پروموتر می‌توانند در تغییر بیان یا عملکرد miR-34b/c بالغ و درنتیجه در مسیرهای مرتبط با تومور مؤثر می‌باشند(۳۱). محل rs4938723در درون جزیره CPG، pri-miR-34b/c (۴۲۳ جفت باز بالادست مکان شروع رونویسی) است. این مکان، یک جایگاه اتصال بالقوه برای فاکتورهای رونویسی GATA-X می‌باشد. طبق ابزار آنالیز (web-SNP based TFSEARCH1.3)، اعضای خانواده GATA به پروموتر بسیاری از ژن‌ها متصل و به‌طور مستقیم بیان ژن‌های هدف درگیر را تحت تأثیر قرار می‌دهند(۳۲). بررسی‌ها نشان می‌دهند که اعضای خانواده miR-34 می‌تواند صدها ژن هدف از جمله *CDK4/6*، *MET*، *CyclinE2*، *BCL2* که همگی نقش مهمی در روند التهاب و تومورزایی دارند، را مورد تنظیم قرار دهند(۳۳).

مطالعه حاضر دارای چندین محدودیت است. ۱) نمونه‌های مورد بررسی در این تحقیق، افراد مراجعه کننده به یک مرکز بود. لذا جهت تأیید نتیجه حاضر، لازم است که مطالعات آتی در جمعیت‌های بزرگتر انجام شود. ۲) فاکتورهای ژنتیکی دخیل در بیماری کولیت اولسرو متفاوت می‌باشند. لذا مطالعات در نژادهای مختلف می‌توانند کمک کننده باشند ۳) بیماری کولیت اولسرو، یک صفت پیچیده و چند عاملی است و عوامل ژنتیکی و محیطی در ایجاد آن دخیل هستند. بنابراین بررسی نقش عوامل محیطی علاوه بر عوامل ژنتیکی مهم می‌باشد.

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج این بررسی مورد شاهدی همراهی پلی‌مورفیسم(rs4938723T>C) miR-34b/c را با بیماری کولیت اولسرو را پیشنهاد می‌کند. بر این اساس آلل C جایگاه پلی مورفیک rs4938723 می‌تواند به عنوان فاکتور خطر در ابتلا به کولیت اولسرو در جمعیت مورد مطالعه مطرح شود. اگر چه جهت اهمیت این پلی مورفیسم در بیماری کولیت اولسرو، لازم است مطالعات وسیع‌تر در جوامع مختلف صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

از دانشگاه گیلان به جهت حمایت مالی بخشی از پروژه، و همچنین از کلیه افرادی که با مشارکت خود انجام این تحقیق را امکان پذیر نمودند، تشکر می‌شود. این مقاله نتیجه پایان نامه دانشجویی زینب حسین پور کارشناسی ارشد ژنتیک مولکولی دانشگاه گیلان با عنوان "اهمیت تنوع ژنتیکی miR-34b/c در کولیت اولسرو" می‌باشد. نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد و منافعی ندارند.

منابع

1. Ogawa T, Takezawa K, Tojima I, Shibayama M, Kouzaki H, Ishida M, Okabe

H, Shimizu T (2012): Successful treatment of rhino-orbital mucormycosis by a new combination therapy with liposomal amphotericin B and micafungin. *Auris Nasus Larynx* 39: 224-228.
2. Carter MJ, Lobo AJ, Travis SP (2004): Guidelines for the management of inflammatory bowel disease in adults. *Gut 53 Suppl* 5: V1-16.
3. Vind I, Riis L, Jess T, Knudsen E, Pedersen N, Elkjaer M, Bak Andersen I, Wewer V, Norregaard P, Moesgaard F, Bendtsen F, Munkholm P (2006): Increasing incidences of inflammatory bowel disease and decreasing surgery rates in Copenhagen City and County, 2003-2005: a population-based study from the Danish Crohn colitis database. *Am J Gastroenterol* 101: 1274-1282.
4. Yashiro M (2014): Ulcerative colitis-associated colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 20: 16389-16397.
5. Chang JC, Cohen RD (2004): Medical management of severe ulcerative colitis. *Gastroenterol Clin North Am* 33: 235-250, viii.
6. Strober W, Fuss I, Mannon P (2007): The fundamental basis of inflammatory bowel disease. *J Clin Invest* 117: 514-521.
7. Russel MG, Stockbrugger RW (1996): Epidemiology of inflammatory bowel disease: an update. *Scand J Gastroentero* l 31: 417-427.
8. Vahedi H, Merat S, Momtahen S, Olfati G, Kazzazi AS, Tabrizian T, Rashtak S, Khaleghnejad R, Khademi H, Malekzadeh F, Nasseri-Moghaddam S, Malekzadeh R (2009): Epidemiologic characteristics of 500 patients with inflammatory bowel disease in Iran studied from 2004 through 2007. *Arch Iran Med* 12: 454-460.
9. Jess T, Rungoe C, Peyrin-Biroulet L (2012): Risk of colorectal cancer in patients with ulcerative colitis: a meta-analysis of population-based cohort studies. *Clin Gastroenterol Hepatol* 10: 639-645.
10. Lao VV, Grady WM (2011): Epigenetics and colorectal cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 8: 686-700.
11. Scarpa M, Castagliuolo I, Castoro C, Pozza A, Kotsafti A, Angriman I (2014): Inflammatory colonic carcinogenesis: a review on pathogenesis and immunosurveillance mechanisms in ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 20: 6774-6785.
12. Agoff SN, Brentnall TA, Crispin DA, Taylor SL, Raaka S, Haggitt RC, Reed MW, Afonina IA, Rabinovitch PS, Stevens AC, Feng Z, Bronner MP (2000): The role of cyclooxygenase 2 in ulcerative colitis-associated neoplasia. *Am J Pathol* 157: 737-745.
13. van der Woude CJ, Jansen PL, Tiebosch AT, Beuving A, Homan M, Kleibeuker JH, Moshage H (2002): Expression of apoptosis-related proteins in Barrett's metaplasia-dysplasia-carcinoma sequence: a switch to a more resistant phenotype. *Hum Pathol* 33: 686-692.
14. Fujii S, Katake Y, Tanaka H (2010): Increased expression of DNA methyltransferase-1 in non-neoplastic epithelium helps predict colorectal neoplasia risk in ulcerative colitis. *Digestion* 82: 179-186.
15. Gregory RI, Chendrimada TP, Cooch N, Shiekhattar R (2005): Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell* 123: 631-640.
16. Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, Sweet-Cordero A, Ebert BL, Mak RH, Ferrando AA, Downing JR, Jacks T, Horvitz HR, Golub TR (2005): MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* 435: 834-838.
17. Thomson JM, Newman M, Parker JS, Morin-Kensicki EM, Wright T, Hammond SM (2006): Extensive post-transcriptional regulation of microRNAs and its implications for cancer. *Genes Dev* 20: 2202-2207.
18. Hermeking H (2010): The miR-34 family in cancer and apoptosis. *Cell Death Differ* 17: 193-199.

19. Rokavec M, Li H, Jiang L, Hermeking H (2014): The p53/miR-34 axis in development and disease. *J Mol Cell Biol* 6: 214-230.
20. Chou J, Provot S, Werb Z (2010): GATA3 in development and cancer differentiation: cells GATA have it! *J Cell Physiol* 222: 42-49.
21. Bossard P, Zaret KS (1998): GATA transcription factors as potentiators of gut endoderm differentiation. *Development* 125: 4909-4917.
22. Son MS, Jang MJ, Jeon YJ, Kim WH, Kwon CI, Ko KH, Park PW, Hong SP, Rim KS, Kwon SW, Hwang SG, Kim NK (2013): Promoter polymorphisms of pri-miR-34b/c are associated with hepatocellular carcinoma. *Gene* 524: 156-160.
23. Gao LB, Li LJ, Pan XM, Li ZH, Liang WB, Bai P, Zhu YH, Zhang L (2013): A genetic variant in the promoter region of miR-34b/c is associated with a reduced risk of colorectal cancer. *Biol Chem* 394: 415-420.
24. Wang X, Lu X, Fang Y, Chen H, Deng X, Peng C, Li H, Shen B (2014): Association between miR34b/c polymorphism rs4938723 and cancer risk: a meta-analysis of 11 studies including 6169 cases and 6337 controls. *Med Sci Monit* 20: 1977-1982.
25. Liu Q, Yang G, Song XL, Wang Z, Shi G (2015): Association between rs4938723 functional polymorphism in the promoter region of miR-34b/c gene and cancer risk. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 39: 526-533.
26. Weng Y, Lu L, Yuan G, Guo J, Zhang Z, Xie X, Chen G, Zhang J (2012): p53 codon 72 polymorphism and hematological cancer risk: an update meta-analysis. *PLoS One* 7: e45820.
27. Sanaei S, Hashemi M, Rezaei M, Hashemi SM, Bahari G, Ghavami S (2016): Evaluation of the pri-miR-34b/c rs4938723 polymorphism and its association with breast cancer risk. *Biomed Rep* 5: 125-129.
28. Liang TJ, Liu HJ, Zhao XQ, Yu CH, Li CS (2013): Lack of association of MiR-34b/c polymorphism (rs4938723) with hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *PLoS One* 8: e68588.
29. Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, Shimizu M, Rattan S, Bullrich F, Negrini M, Croce CM (2004): Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101: 2999-3004.
30. Gramantieri L, Ferracin M, Fornari F, Veronese A, Sabbioni S, Liu CG, Calin GA, Giovannini C, Ferrazzi E, Grazi GL, Croce CM, Bolondi L, Negrini M (2007): Cyclin G1 is a target of miR-122a, a microRNA frequently down-regulated in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 67: 6092-6099.
31. Tao T, Chen S, Xu B, Liu C, Wang Y, Huang Y, Chen M (2014): Association between hsa-miR-34b/c rs4938723 T > C promoter polymorphism and cancer risk: a meta-analysis based on 6,036 cases and 6,204 controls. *Chin J Cancer Res* 26: 315-322.
32. Oh J, Kim JW, Lee BE, Jang MJ, Chong SY, Park PW, Hwang SG, Oh D, Kim NK (2014): Polymorphisms of the pri-miR-34b/c promoter and TP53 codon 72 are associated with risk of colorectal cancer. *Oncol Rep* 31: 995-1002.
33. Bommer GT, Gerin I, Feng Y, Kaczorowski AJ, Kuick R, Love RE, Zhai Y, Giordano TJ, Qin ZS, Moore BB, MacDougald OA, Cho KR, Fearon ER (2007): p53-mediated activation of miRNA34 candidate tumor-suppressor genes. *Curr Biol* 17: 1298-1307.