Journal of Cell and Tissue 13(4), Winter (2023) 257-267

Journal of Cell and Tissue
http://jct.araku.ac.ir

Regulation of CD44/miRNA-302 expression in glioma cancer cells by long non-coding RNA MIAT

Amirmahani F[a], Vallian S[a]*, Asadi MH[b]*

[a]Department of Cell and Molecular Biology and Microbiology, Faculty of Science and Technology, University of Isfahan, Isfahan, Iran.

[b]Department of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran

Original Article

Use your device to scan and read the article online

Citation:. Amirmahani F, Vallian S, Hossein Asadi M. Regulation of CD44/miRNA-302 expression in glioma cancer cells by long non-coding RNA MIAT. Journal of Cell and Tissue. 2023;13(4):257-267.

https://10.52547/JCT/13.4. 257

KEYWORDS

Long non-coding RNAs, Glioma, CD44, miRNA-302

ABSTRACT

Aim: Long non-coding RNAs (lncRNAs) are a group of RNAs known as key regulators in cancer. The role of these molecules in differenet cellular procecess including cellular growth and differentiation has been documented. Several non-coding RNAs have been identified in the cell. Among the LncRNAs, LnvRNA MIAT is a non-coding RNA whose oncogenic expression is known in different types of cancer. However, uts role in brain tumors in not fully understood. Due to its oncogenic role in other cancers, it is estimated that this molecule to play an important role in brain tumors as well. The aim of this study was to investigate the role of lncRNA MIAT in glioma and identify its regulatory mechanism.

Material and Methods: In this study, the expression of lncRNA MIAT in glioma cancer cells, U87-MG and A172, was evaluated by Quantitative Real-Time PCR (qRT-PCR) method. Then, its expression was inhibited by the RNA interference method, and the expression of CD44 and miRNA-302 target genes was investigated.

Results: The results showed that lncRNA MIAT was highly expressed in glioma cancer cells. Also, after inhibition of the expression of lncRNA MIAT, a decrease in the expression of CD44 and miRNA-302 was observed.

Conclusion: The findings suggested the oncogenic role of lncRNA MIAT in glioma cancer cells through the regulation of CD44/miRNA-302 expression. As a result, lncRNA MIAT could be evaluated as a new biomarker in the prognosis and diagnosis of glioma.

* Corresponding author. Tel. , Fax: +983137932456, +98 342 6233196
E-mail address: svallian@sci.ui.ac.ir , mh.asadi@kgut.ac.ir
DOI: https://10.52547/JCT/13.4.257
Received: Jul 22, 2022; Received in revised form: 20 Nov, 2022; Accepted: 22 Nov, 2022
Original Article
© Author

سلول و بافت، دوره ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۱، صفحات ۲۵۷ تا ۲۶۷

سلول و بافت

تنظیم بیان CD44/miRNA-302 در سلول‌های سرطانی گلیوما توسط RNA غیرکدکننده بلند MIAT

فرزانه امیرماهانی[۱]، صادق ولیان[۱*]، ملک حسین اسدی[۲*]

[۱] گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی و میکروبیولوژی، دانشکده علوم و تکنولوژی، دانشگاه، اصفهان، اصفهان، ایران

۲ گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران

واژگان کلیدی

RNAهای غیرکدکننده بلند، گلیوما، CD44، miRNA-302

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۳۱

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۸/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۰۱

چکیده

هدف: RNAهای غیرکدکننده از جمله مولکول های تنظیم شناخته شده در سلول می باشند که فرایندهای مختلفی را کنترل می کنند. از جمله فرایندهای مرتبط با مولکول های مزبور، تنظیم رشد و نمو و تمایز سلولی می باشد. از این رو نقش آنها در بروز و رشد تومور در سرطان های مختلف در دست بررسی می باشد. در این خصوص ارتباط مستقیمی بین ملکول های مزبور و سرطان های مختلف دیده شده است. انواع مختلفی از RNA های غیر کد کننده شناخته شده است. از جمله این مولکول ها، RNAهای غیرکدکننده بلند (Long non-coding RNAs) می باشند. این گروه از RNAها به‌عنوان تنظیم کننده‌های کلیدی در سرطان شناخته شده‌اند. ازجمله این مولکول ها، LncRNA MIAT یکRNA بلند غیرکدکننده می‌باشد که تقش انکوژنی آن در بسیاری از سرطان‌ها شناخته شده است. نقش این مولکول در سرطان مغز به خوبی شناخته نشده است. با توجه به نقش شناخته شده آن در سایر سرطان ها، پیش بینی می شود در سرطان مغز نیز نقش مهمی خصوصا" در رشد و نمو سلولی بازی کند. هدف از این مطالعه بررسی نقش LncRNA MIAT در گلیوما و شناسایی مکانیسم تنظیمیآن می‌باشد. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه، ابتدا بیان LncRNA MIAT در سلول‌های سرطانی گلیومای U8-MGو A172 با روش Quantitative Real-Time PCR (qRT-PCR) ارزیابی شد. سپس بیان آن با روش RNA interference سرکوب شد و بیان ژن‌های هدف CD44 و miRNA-302 مورد بررسی قرار گرفت. **نتایج:** نتایج نشان داد که LncRNA MIAT به میزان زیادی در سلول‌های سرطانی گلیوما بیان می‌شود. همچنین کاهش بیان آن منجر به کاهش بیان CD44 و miRNA-302 مشاهده می‌شود. **نتیجه گیری:** یافته‌های حاصل نقش انکوژنی lncRNA MIAT را در سلول‌های سرطانی گلیوما از طریق تنظیم بیان CD44/miRNA-302 نشان می‌دهد. در نتیجه lncRNA MIAT می‌تواند به عنوان یک بیومارکر جدید در پیش آگهی و تشخیص گلیوما مورد ارزیابی قرار گیرد.

۱- مقدمه

تومورهای مغزی به‌عنوان تومورهای اولیه داخل جمجمه ای در مغز تعریف می‌شوند. این تومورها ۱,۸ درصد سرطان‌های تازه تشخیص داده شده و ۲,۳ درصد از مرگ و میرهای مرتبط با سرطان در سراسر جهان را تشکیل می‌دهند (۳-۱). گلیوما

* نویسنده مسئول؛ تلفن و فکس: ۰۳۱۳۷۹۳۲۴۵۶و ۰۳۴۲ ۶۲۳۳۱۹۶

آدرس پست الکترونیک: svallian@sci.ui.ac.ir و mh.asadi@kgut.ac.ir

شایع ترین نوع سرطان مغز بوده که تنوع قابل توجه بین توموری و درون توموری آن، تشخیص آن را چالش برانگیز می‌کند. متنوع ترین و غیرقابل درمان ترین زیرگروه گلیوما، گلیوبلاستوما مولتی فرم بوده که به‌دلیل شدت و نرخ بالای مرگ و میر، به‌عنوان یک هدف کلیدی در تحقیقات زیست شناسی انتخاب شده است (۴). پیشرفت در درک دلایل مولکولی گلیوما، طبقه‌بندی تومورهای مغزی را تغییر داده است. همچنین گسترش دانش در ژنتیک پزشکی و اپی ژنتیک نیز به درک بهتر اختلالات مولکولی گلیوما کمک می‌کند (۵).

RNA های غیر کد کننده بلند (lncRNAs)، RNAهای غیر کد کننده ای هستند که طول آن‌ها بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید است. LncRNAها از طریق مسیرهای بیولوژیکی مختلفی از جمله تغییرات اپی ژنتیکی، رونویسی و پس از رونویسی عمل می‌کنند (۶). اختلال عملکرد LncRNA با ایجاد چندین بدخیمی مانند سرطان مغز مرتبط است (۷). تحقیقات جدید نشان می‌دهد که lncRNAها نقش مهمی در مقاومت به درمان سرطان، از جمله گلیوما (۸)، سرطان مثانه (۹)، سرطان پستان (۱۰) و سرطان ریه (۱۱) دارند. چندین lncRNA با مسیرهای انکوژنیک در گلیوماها، از جمله تداخل با تمایز سلول‌های گلیال و حفظ حالت چند توانی در سلول‌های بنیادی سرطان، مرتبط شده اند (۱۲). تفاوت در بیان lncRNA بین تومور و بافت‌های طبیعی و همچنین تفاوت در بیان بین تومورها با ویژگی‌های بالینی مختلف، نشان می‌دهد که lncRNAها می‌توانند به‌عنوان نشانگرهای زیستی تشخیصی و پیش آگهی و اهداف دارویی در گلیوما استفاده شوند (۱۳). MIAT یک RNA غیرکد کننده بلند می‌باشد که در ناحیه 22q12 یافت می‌شود که با خطر انفارکتوس میوکارد (myocardial infarction) MI (همراه است (۱۴). lncRNA MIAT همچنین با انواع اختلالات، از جمله MI (۱۵)، رتینوپاتی دیابتی (diabetic retinopathy) (۱۶)، اسکیزوفرنی پارانوئید (paranoid schizophrenia) (۱۷)، اختلال عملکرد میکرو واسکولار (microvascular dysfunction) (۱۸) و سرطان (۱۹) مرتبط است. تحقیقات اخیر گزارش داده اند که MIAT در بسیاری از انواع سرطان نقش انکوژنی دارد (۲۰). MIAT یک حلقه تنظیمی مثبت (positive feedback regulatory loop) با تنظیم کننده رونویسی پروتئین متصل شونده به octamer 4 (OCT4) برای القای تکثیر سلولی سرطان خون لنفوسیتی مزمن سلول B بدخیم انسان تشکیل می‌دهد و به‌عنوان یک ceRNA (competing endogenous RNA) برای miRNA (miR) -155-5p سبب تنظیم دوگانه فسفاتاز ۷ در سرطان پستان می‌شود (۲۱, ۲۲). نشان داده شده است که MIAT قادر به القای تکثیر و متاستاز سرطان ریه سلول غیر کوچک (NSCLC (از طریق فعال‌سازی ماتریکس متالوپروتئیناز ۹ است (۲۳). همچنین مشخص شده است که MIAT با کنترل miR-155-5p سبب تنظیم بیان DUSP7 در سرطان پستان شده (۲۲) و همچنین با تاثیر بر miR-214 سبب افزایش تکثیر و تهاجم سلول‌های سرطان کبد می‌شود (۲۴).CD44 به‌عنوان یک مارکر سلول‌های بنیادی سرطان، در چسبندگی سلول، رشد سلول (۲۵) و بسیاری از مسیرهای سیگنالینگ سرطان از جمله رشد و متاستاز (۲۶) نقش داشته و امروزه در بسیاری از سرطان‌ها به‌عنوان یک مولکول کلیدی از طریق برهم کنش با miRNAها در رشد و پیشرفت سرطان دخالت دارد (۲۷). مولکول CD44 در بسیاری از سرطان‌ها به‌عنوان یک سرکوب‌گر تومور عمل می‌کند (۲۸, ۲۹) اگر چه نقش آن به‌عنوان انکوژن در سرطان پروستات مشخص شده است (۳۰). بسیاری ازlncRNA ها از جمله LncRNA LOC100507144 از طریق برهم کنش با CD44 و تغییر بیان miRNAهای هدف از جمله miR-302 در رشد و پیشرفت سرطان نقش دارند (۳۱). به‌علاوه، در اواخر دهه ۸۰ میلادی مطالعات و بررسی‌های به‌عمل آمده روشن نمود که مکانیسم‌های مولکولی در زمره مهم‌ترین فرایندهای ژنتیکی (مشتمل بر همانندسازی DNA، رونویسی، ترجمه و حتی نحوه تنظیم ژن‌ها) هستند (۳۲). تاکنون شواهد بسیاری در رابطه با اهمیت بیان ژن‌ها در فرایندهای مختلف دخیل در سرطان از جمله چرخه سلولی، آپوپتوزیس، متاستاز و پیری سلولی گزارش شده است (۳۳-۳۶). ماده ژنتیکی (DNA) یک سلول دارای تعداد زیادی ژن می‌باشد که هیچ گاه به‌طور هم‌زمان بیان

نمی‌شوند و در یک زمان خاص فقط تعداد کمی از آن‌ها بیان شده و پروتئین یا آنزیم مورد نیاز سلول را تولید می‌نمایند (۳۷). نیاز به بیان ژن توسط محیطی که در آن رشد می‌کند کنترل می‌شود و در صورت عدم نیاز به فرآورده ژن، آن ژن به‌صورت خاموش و غیرفعال باقی خواهد ماند (۳۸). ساز و کار بیان ژن اولین بار در باکتری E.coli کشف شد (۳۹). بیان ژن های یوکاریوتی تحت کنترل موقت و چندبعدی می باشد (۴۰). تنها یک مجموعه نسبتا کوچک از تمام ژنوم در هر یک از انواع بافت‌ها بیان می‌شود و نیز بیان ژن‌ها به مرحله نمو بستگی دارد (۴۱). بنابراین، بیان ژن در یوکاریوت‌ها برای هر بافت اختصاصی است (۴۲). همچنین مقدار محصولات ژن که در همان بافت و نیز در سایر بافت‌هایی که آن محصول را می‌سازند، ساخته شده سبب تنظیم بیان آن ژن می‌شود (۴۳). یکی از اقدامات اساسی مطالعه ژن‌ها و پروتئین‌های مرتبط با صفات مهم و و مطالعه آن‌ها در سطح سلولی یا کروموزومی است (۴۴). بنابراین، در این تحقیق، نقش RNA غیرکدکننده بلند MIAT در سرطان مغز و اثر مهار آن بر بیان ژن‌های هدف، CD44 و miR-302 ، مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

کشت سلول: رده‌های سلولی U87-MG و A172 (سلول‌های گلیوبلاستوم انسانی) از بانک سلول ایران (انسیتو پاستور، تهران، ایران) گرفته شد. سلول‌ها در محیط DMEM با گلوکز بالا (گیبکو، آلمان) و RPMI 1640 (گیبکو، آمریکا) حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاو، ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر استرپتومایسین و ۱۰۰ واحد بر میلی‌لیتر پنی‌سیلین کشت داده شدند و در انکوباتور حاوی ۵ درصد CO_2نگه‌داری شدند.

کاهش بیان MIAT: سلول‌های گلیوبلاستوما با SMART pool siRNA MIAT و scramble siRNA (دارماکون، آمریکا) با استفاده از Lipofectamine 2000 (اینویتروژن، آمریکا) طبق پروتکل سازنده تیمار شدند. تمام آزمایش‌ها ۴۸ ساعت پس از ترانسفکشن انجام شد و غلظت نهایی siRNA ۵۰ نانومولار بود.

استخراج RNA، و ساخت cDNA: RNA کل با استفاده از معرف Trizol، (اینویتروژن، آمریکا) طبق دستورالعمل سازنده استخراج شد(۴۵). پس از تیمار با DNase بدون RNase، (ترموفیشر، آمریکا)، برای از بین بردن آلودگی DNA ژنومی، RNA کل استخراج شده با استفاده از آنزیم ترانس کریپتاز معکوس MMLV (200 U/L) (فرمنتاز، آمریکا)، بازدارنده RNase (20 U)، مخلوط dNTP ۱میلی‌مولار و پرایمر هگزامر تصادفی به cDNA رونویسی شد.

بررسی بیان ژن با روش Quantitative Real-Time PCR (qRT-PCR): طراحی پرایمرهای اختصاصی با استفاده از نرم افزار Gene Runner نسخه ۴ انجام شد (جدول ۱).

جدول۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه.

Accession number	نام ژن	پرایمر رو به جلو (′3–′5)	پرایمر برگشتی (′3–′5)	طول محصول (جفت باز)
NC_000022.11	MIAT	CAAAGAGCCCTCTGCACTAG	ACCTTGGTTACCCCTGTGATG	۱۲۸
NC_000011.10	CD44	GCTTCAATGCTTCAGCTCCAC	GGGTTGCTGGGGTAGATGTC	۱۶۶
NC_000007.14	β-actin	ACCACCTTCAACTCCATCATG	CTCCTTCTGCATCCTGTCG	۱۲۰

TaqTM II SYBR Premix Ex (تاکارا، ژاپن) برای انجام واکنش qRT-PCR توسط دستگاه Rotor- Gene 6000 (سیدنی، استرالیا) مورد استفاده قرار گرفت. مخلوط واکنش در حجم نهایی ۱۲ میکرولیتر با استفاده از 2x Cyber Green Master و پرایمرهای رفت و برگشت ۱۰pmol تهیه شد (جدول ۲).

جدول۲:مخلوط qRT-PCR مورد استفاده برای تجزیه و تحلیل بیان ژن.

ترکیبات	غلظت	حجم
PCR مسترمیکس	2X	6 µl
پرایمر رو به جلو	10pmol	0.4 µl
پرایمر برگشتی	10pmol	0.4 µl
cDNA		1µl
ddH_2O		4.2µl
حجم نهایی		12µl

شرایط واکنش برای آنالیز بیان ژن به شرح زیر بود: پیش دناتوراسیون: ۹۵ درجه سانتی گراد، ۵ دقیقه، دناتوراسیون: ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه، اتصال: ۶۰ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه؛ و گسترش ۷۲ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه (جدول ۳). ژن بتااکتین به‌عنوان کنترل داخلی مورد استفاده قرار گرفت. جهت تایید محصولات PCR از ژل آگارز ۲ درصد استفاده شد.

جدول۳: شرایط qRT-PCR برای تجزیه و تحلیل بیان ژن.

مرحله	دما	زمان	تعداد سیکل
پیش دناتوراسیون	95°C	5 min	1
دناتوراسیون	94°C	30s	
اتصال	60°C	30s	40
گسترش	72°C	30s	

بررسی بیان miRNA پس از کاهش بیان lncRNA MIAT میزان بیان miR-302 به‌صورت کمی اندازه گیری شد. به این منظور، پس از استخراج RNA کل، qPCR با استفاده از کیت BonMiR BON209002 (بن یاخته، ایران) طبق دستورالعمل سازنده انجام شد. واکنش‌های qPCR با استفاده از پرایمرهای رو به جلو اختصاصی miRNA و پرایمر برگشتی یونیورسال با دستگاه Rotor-Gene 6000 (سیدنی، استرالیا) انجام شد.

۳-آنالیز آماری

برای تمامی تحلیل‌های آماری از نرم افزار GraphPad Prism 8 (San Diego, CA, USA, RRID:SCR) 002798 استفاده شد. سطح معنی‌داری در مطالعات با استفاده از ANOVA یک‌طرفه و پس از آن پس آزمون توکی یا آزمون تی تعیین شد. مقادیر P بیشتر از ۰/۰۵ از نظر آماری بی‌معنی در نظر گرفته شد. داده‌ها در سه تکرار مستقل، به‌عنوان میانگین ±انحراف معیار ارائه شدند.

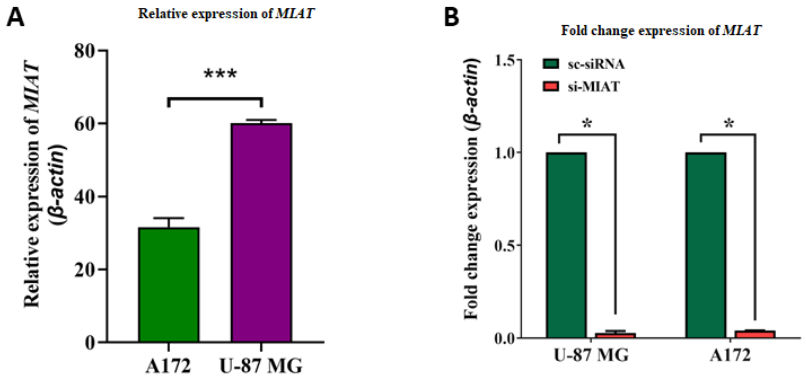
۳- نتایج

بیان lncRNA MIAT در سلول‌های سرطانی گلیوما

در این مطالعه، در ابتدا بیان lncRNA MIAT در دو رده سلولی گلیوما (U87-MG و A172) ارزیابی شد. نتایج نشان داد که سطح بالایی از lncRNA MIAT به طور معنی داری در این دو رده سلولی بیان می‌شود، و میزان بیان lncRNA MIAT در رده سلولی U8-MG بیشتر از رده سلولی A172 بود (شکل ۱A). در نتیجه این دو رده سلولی جهت انجام مطالعات بعدی تایید شدند.

کاهش میزان بیان lncRNA MIAT در رده‌های سلولی گلیوما پس از تیمار با siRNA

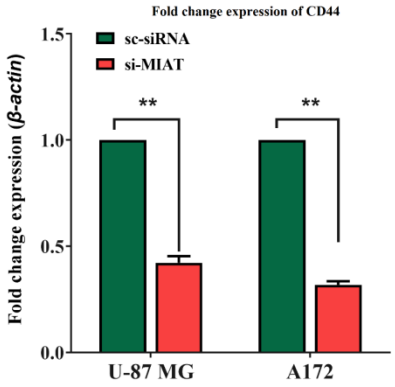
پس از ترانسفکت کردن رده‌های سلولی گلیوما با siRNA و scramble siRNA، جهت تایید مهار بیان ژن، میزان بیان MIAT اندازه گیری شد. داده‌ها نشان دهنده کاهش معنی‌داری در بیان lncRNA MIAT در سلول‌های تیمار شده با siRNA نسبت به سلول‌های تیمار شده با scramble siRNA بود (شکل ۱B).



شکل ۱: (A) میزان بیان LncRNA MIAT در سلول‌های سرطانی گلیوما نشان دهنده بیان بالاتر آن در رده سلولی U-87MG می‌باشد. (B) کاهش بیان LncRNA MIAT با روش RNA interference در رده‌های سلولی سرطانی گلیوما، نتایج تایید کننده کاهش بیان ژن مورد نظر پس از تیمار سلول‌ها با siRNA می‌باشد. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بر اساس سه تکرار مستقل نمایش داده شدند (*p<0.05، **p<0.01، ***p<0.001، ****p<0.0001()).

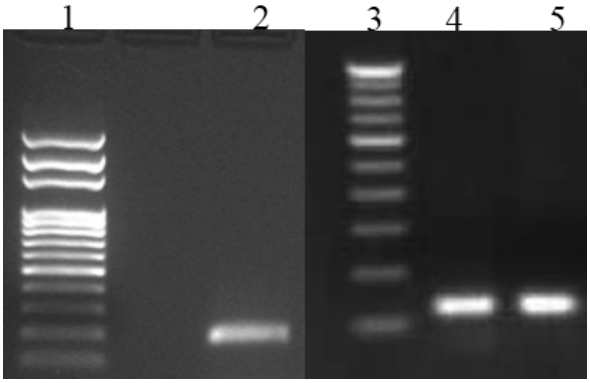
کاهش میزان بیان CD44 در سلول‌های تیمار شده با siRNA

پس تایید کاهش بیان lncRNA MIAT در دو رده سلولی مورد نظر، جهت بررسی مکانیسم مولکولی دخیل در تنظیم بیان lncRNA MIAT در گلیوما، بیان ژن CD44 مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان دهنده کاهش معنی‌دار بیان ژن مذکور در سلول‌های تیمار شده با siRNA MIAT در مقایسه با سلول‌های تیمار شده با scramble siRNA بود (شکل ۲).



شکل ۲: کاهش بیان ژن CD44 در سلول‌های تیمار شده با siRNA نسبت به سلول‌های کنترل. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بر اساس سه تکرار مستقل نمایش داده شدند (*p<0.05، **p<0.01، ***p<0.001، (****p<0.0001).

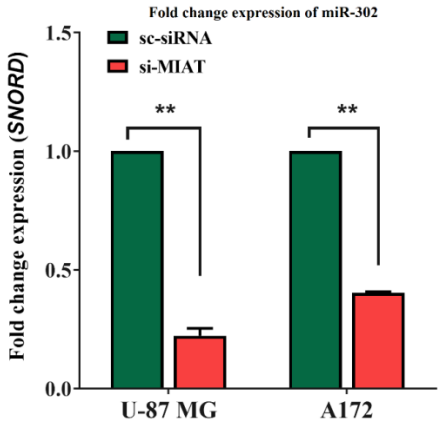
نتایج تایید محصولات حاصل از qRT-PCR بر روی ژل آگارز در شکل ۳ آورده شده است.



شکل ۳: تایید محصولات حاصل از qRT-PCR بر روی ژل آگارز (۱: مارکر ۱۰۰DNA جفت بازی، ۲: باند ۱۶۶جفت بازی مربوط به ژن CD44، ۳: مارکر DNA ۱۰۰ جفت بازی، ۴: باند ۱۲۰ جفت بازی مربوط به ژن β-Actin، ۵: باند ۱۲۸ جفت بازی مربوط به ژن MIAT).

کاهش میزان بیان miR-302 در سلول‌های تیمار شده با siRNA

پس از تایید کاهش بیان lncRNA MIAT در دو رده سلولی مورد نظر و کاهش بیان ژن CD44، بیان miR-302 به‌عنوان یکی از اهداف lncRNA MIAT و ژن CD44 مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان بیان miR-302 در سلول‌های تیمار شده با siRNA MIAT در مقایسه با سلول‌های تیمار شده با scramble siRNA به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۴).



شکل ۴: کاهش بیان miRNA-302 در در سلول‌های تیمار شده با siRNA نسبت به سلول‌های کنترل. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بر اساس سه تکرار مستقل نمایش داده شدند (*p<0.05، **p<0.01، ***p<0.001، (****p<0.0001).

۴- بحث

شواهد اخیر نشان می‌دهد که lncRNAها در فرایندهای مختلف بیولوژیکی نقش داشته و تغییر بیان آن‌ها در بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان گزارش شده است (۴۶). گلیوبلاستوما که به‌عنوان گلیوبلاستوما مولتی فرم نیز در نظر گرفته می‌شود، پیشرونده‌ترین نوع تومور مغزی در بزرگسالان است (۴۷). به‌طور خاص، lncRNAها می‌توانند با تومورزایی و پیشرفت تومورهای مغزی مرتبط باشند و در تمایز، تکثیر، مهاجرت، بقا، پاسخ به آسیب DNA و تعدیل کروماتین نقش دارند (۴۸).

به‌دلیل فراوانی و تنوع lncRNA ها، برررسی مکانیسم‌های مولکولی دخیل در تنظیم آن‌ها در سرطان منجر به شناسایی بیومارکرهای جدید در پیش آگهی و درمان سرطان خواهد شد (۴۹). در این مطالعه، ابتدا بیان lncRNA MIAT در سلول‌های سرطانی گلیوما مورد ارزیابی قرار گرفت، نتایج نشان داد که این lncRNA به‌میزان زیادی در سلول‌های توموری گلیوما بیان می‌شود. در مرحله بعد، به‌منظور بررسی نقش این lncRNA در رشد و تمایز سلول‌های سرطانی، بیان مارکر CD44 مورد ارزیابی قرار گرفت. براساس نظریه سلول‌های بنیادی سرطان، این سلول‌ها گروهی از سلول‌های سرطانی می‌باشند که دارای ویژگی‌های تمایزی از جمله خودنوسازی و چندتوانی می‌باشند (۵۰). گزارش‌ها اخیر نشان می‌دهند که این سلول‌ها در شروع، پیشرفت و متاستاز سلول‌های سرطانی نقش دارند (۵۱). مشخص شده است که فاکتورهای رونویسی مرتبط با سلول‌های بنیادی جنینی و lncRNAها ویژگی‌های کلیدی سلول‌های بنیادی از جمله خودنوسازی و حفظ حالت بنیادی را کنترل می‌کنند (۵۲). CD44 یک فاکتور کلیدی سلول‌های بنیادی می‌باشد که در سطح سلول‌های بنیادی سرطان بیان می‌شود. مشخص شده است که CD44 از طریق برهم کنش با دیگر فاکتورهای سلول‌های بنیادی جنینی، از جمله SOX2 ، OCT4 و Nanog بیان miR-302 را تنظیم کرده و سبب تنظیم رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی خواهد شد (۵۳). همچنین مشخص شده است که CD44 از طریق میانکنش با هیالورونیک اسید بیان SOX2/Nanog را تنظیم کرده و سبب تنظیم بیان miR-21 خواهد شد (۵۴). براساس یافته‌های حاضر در این تحقیق، کاهش بیان CD44 پس از مهار lncRNA MIAT تایید کننده نقش انکوژنی آن می‌باشد. در مرحله بعد، بیان miRNA هدف CD44 یعنی miR-302 مورد ارزیابی قرار گرفت. گزارش شده است که miR-302a می‌تواند مسیرهای مختلف سلولی، از جمله تمایز نورونی و خود نوسازی سلول‌های بنیادی را تنظیم کند (۵۵, ۵۶) افزایش بیان miR-302 در بسیاری از سرطان‌ها گزارش شده است و نقش آن در تنظیم بیان فاکتورهای رونویسی Nanog/SOX2 اثبات شده است (۳۱, ۴۵). بنابراین براساس یافته‌های موجود، نقش lncRNA MIAT در حفظ حالت چندتوانی سلول‌های بنیادی سرطان مغز از طریق تنظیم بیان ژن CD44 و همچنین miR-302 اثبات می‌شود.

۵- نتیجه‌گیری

براساس یافته های حاصل از این مطالعه، lncRNA MIAT می تواند از طریق مسیر CD44/miR-302 رشد و تکثیر سلول های سرطانی گلیوما را تنظیم کند. در نتیجهٔ نتایج این مطالعه می‌تواند lncRNA MIAT را به‌عنوان یک بیوماکر در پیش آگهی و تشخیص گلیوما معرفی کند، اگرچه شناسایی مکانیسم‌های مولکولی دقیق نیاز به مطالعات بیشتر سلولی و درون تنی دارد.

۶- تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه اصفهان و دانشگاه تحصیلات تکمیلی و فناوری پیشرفته کرمان تشکر و قدردانی می‌شود.

7- منابع

1. Siegal R, Miller K, Jemal A. Cancer statistics, 2012. Cancer Journal for Clinicians. 2014; 64(1):9-9.

2. Xie T, Cho YB, Wang K, Huang D, Hong HK, Choi Y-L, Ko YH, Nam D-H, Jin J, Yang H. Patterns of somatic alterations between matched primary and metastatic colorectal tumors characterized by whole-genome sequencing. Genomics. 2014; 104(4):234-41.

3. Hodges TR, Ott M, Xiu J, Gatalica Z, Swensen J, Zhou S, Huse JT, De Groot J, Li S, Overwijk WWJN-o. Mutational burden, immune checkpoint expression, and mismatch repair in glioma: implications for immune checkpoint immunotherapy. Neuro-oncology. 2017; 19(8):1047-57.

4. Whitehead CA, Kaye AH, Drummond KJ, Widodo SS, Mantamadiotis T, Vella LJ, Stylli SS. Extracellular vesicles and their role in glioblastoma. Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences. 2020; 57(4):227-52.

5. Oliver L, Lalier L, Salaud C, Heymann D, Cartron PF, Vallette F. Drug resistance in glioblastoma: are persisters the key to therapy? Cancer Drug Resistance. 2020; 3:Online ahead of print.

6. Chen L-L. Linking long noncoding RNA localization and function. Trends in Biochemical Sciences. 2016; 41(9):761-72.

7. Huang Z-W, Tian L-H, Yang B, Guo R-M. Long noncoding RNA H19 acts as a competing endogenous RNA to mediate CTGF expression by sponging miR-455 in cardiac fibrosis. DNA and Cell Biology. 2017; 36(9):759-66.

8. Yan Y, Xu Z, Li Z, Sun L, Gong Z. An insight into the increasing role of LncRNAs in the pathogenesis of gliomas. Frontiers in Molecular Neuroscience. 2017; 10:53 .

9. Xue M, Chen W, Li X. Urothelial cancer associated 1: a long noncoding RNA with a crucial role in cancer. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology. 2016; 142(7):1407-19.

10.Yousefi H, Maheronnaghsh M, Molaei F, Mashouri L, Reza Aref A, Momeny M, Alahari SK. Long noncoding RNAs and exosomal lncRNAs: classification, and mechanisms in breast cancer metastasis and drug resistance. Oncogene. 2020; 39(5):953-74.

11. Liu X, Wang P, Zhang C, Ma Z. Epidermal growth factor receptor (EGFR): A rising star in the era of precision medicine of lung cancer. Oncotarget. 2017; 8(30):50209.

12.Pop S, Enciu AM, Necula LG, Tanase C. Long non- coding RNA s in brain tumours: Focus on recent epigenetic findings in glioma. Journal of Cellular and Molecular Medicine. 2018; 22(10):4597-610.

13. Paul Y, Thomas S, Patil V, Kumar N, Mondal B, Hegde AS, Arivazhagan A, Santosh V, Mahalingam K, Somasundaram K. Genetic landscape of long noncoding RNA (lncRNAs) in glioblastoma: identification of complex lncRNA regulatory networks and clinically relevant lncRNAs in glioblastoma. Oncotarget. 2018; 9(51):29548.

14. Ishii N, Ozaki K, Sato H, Mizuno H, Saito S, Takahashi A, Miyamoto Y, Ikegawa S, Kamatani N, Hori MJJohg. Identification of a novel non-coding RNA, MIAT, that confers risk of myocardial infarction. Journal of Human Genetics. 2006; 51(12):1087-99.

15. Liao J, He Q, Li M, Chen Y, Liu Y, Wang J. LncRNA MIAT: myocardial infarction associated and more. Gene. 2016; 578(2):158-61.

16. Li Q, Pang L, Yang W, Liu X, Su G, Dong Y. Long non-coding RNA of myocardial infarction associated transcript (LncRNA-MIAT) promotes diabetic retinopathy by upregulating transforming growth factor-β1 (TGF-β1) signaling. Medical science monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research. 2018; 24:9497.

17. Rao S-Q, Hu H-L, Ye N, Shen Y, Xu Q. Genetic variants in long non-coding RNA MIAT contribute to risk of paranoid schizophrenia in a Chinese Han population. Schizophrenia Research. 2015; 166(1-3):125-30.

18.Yan B, Yao J, Liu J-Y, Li X-M, Wang X-Q, Li Y-J, Tao Z-F, Song Y-C, Chen Q, Jiang Q. lncRNA-MIAT regulates microvascular dysfunction by functioning as a competing endogenous RNA. Circulation Research. 2015; 116(7):1143-56.

19. Alipoor FJ, Asadi MH, Torkzadeh- Mahani M. MIAT lncRNA is overexpressed in breast cancer and its inhibition triggers senescence and G1 arrest in MCF7 cell line. Journal of Cellular Biochemistry. 2018; 119(8):6470-81.

20. Zhao L, Hu K, Cao J, Wang P, Li J, Zeng K, He X, Tu P-F, Tong T, Han L. lncRNA miat functions as a ceRNA to upregulate sirt1 by sponging miR-22-3p in HCC cellular senescence. Aging (Albany NY). 2019; 11(17):7098.

21. Sattari A, Siddiqui H, Moshiri F, Ngankeu A, Nakamura T, Kipps TJ, Croce CM. Upregulation of long noncoding RNA MIAT in aggressive form of chronic lymphocytic leukemias. Oncotarget. 2016; 7(34):54174.

22. Luan T, Zhang X, Wang S, Song Y, Zhou S, Lin J, An W, Yuan W, Yang Y, Cai H. Long non-coding RNA MIAT promotes breast cancer progression and functions as ceRNA to regulate DUSP7 expression by sponging miR-155-5p. Oncotarget. 2017; 8(44):76153.

23. Zhang H-Y, Zheng F-S, Yang W, Lu J-BJG. The long non-coding RNA MIAT regulates zinc finger E-box binding homeobox 1 expression by sponging miR-150 and promoteing cell invasion in non-small-cell lung cancer. Gene. 2017; 633:61-5.

24. Huang X, Gao Y, Qin J, Lu S. lncRNA MIAT promotes proliferation and invasion of HCC cells via sponging miR-214. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. 2018; 314(5):G559-G65.

25. Marhaba R, Zöller M. CD44 in cancer progression: adhesion, migration and growth regulation. Journal of Molecular Histology. 2004; 35(3):211-31.

26. Guo Q, Yang C, Gao F. The state of CD44 activation in cancer progression and therapeutic targeting. The FEBS Journal. 2021.

27. Bourguignon LY. Matrix hyaluronan-CD44 interaction activates MicroRNA and LncRNA signaling associated with chemoresistance, invasion, and tumor progression. Frontiers in Oncology. 2019; 9:492.

28. Herrlich P, Morrison H, Sleeman J, ORIANROUSSEAU V, König H, WEGREMERS S, Ponta H. CD44 acts both as a growth and invasiveness promoting molecule and as a tumor- suppressing cofactor. Annals of the New York Academy of Sciences. 2000; 910(1):106-20.

29. Horak CE, Lee JH, MARSHALL JC, Shreeve SM, Steeg PS. The role of metastasis suppressor genes in metastatic dormancy. Apmis. 2008; 116(7- 8):586-601.

30. Liu C, Kelnar K, Liu B, Chen X, Calhoun-Davis T, Li H, Patrawala L, Yan H, Jeter C, Honorio S. The microRNA miR-34a inhibits prostate cancer stem cells and metastasis by directly repressing CD44. Nature Medicine. 2011; 17(2):211-5.

31. Ebrahimi N, Rezanejad H, Asadi MH, Vallian S. LncRNA LOC100507144 acts as a novel regulator of CD44/Nanog/Sox2/miR- 302/miR- 21 axis in colorectal cancer. BioFactors. 2022; 48(1):164-80.

32. Mohammadabadi M, Tohidinejad F. Characteristics determination of Rheb gene and protein in Raini Cashmere goat. Iranian Journal of Applied Animal Science. 2017; 7(2):289-95.

33. Ebrahimi N, Amirmahani F, Akbari M, Ghahfarokhi AM, Hajihashemi B, Hamblin MR. Two long non-coding RNAs, CAT179 and CAT1796, differentiate between benign prostate hyperplasia and prostate cancer. Archives of Biological Sciences. 2021; 73(3):399-406.

34. Amirmahani F, Ebrahimi N, Askandar RH, Rasouli Eshkaftaki M, Fazeli K, Hamblin MR. Long Noncoding RNAs CAT2064 and CAT2042 may Function as Diagnostic Biomarkers for Prostate Cancer by Affecting Target MicrorRNAs. Indian Journal of Clinical Biochemistry. 2021:1-9.

35. Amirmahani F, Vallian S, Asadi MH. The LncRNA MIAT is identified as a regulator of stemness-associated transcript in glioma. Molecular Biology Reports. 2022:1-14.

36. Oliayi AJ, Asadi MH, Amirmahani F. SNHG6 203 Transcript Could be Applied as an Auxiliary Factor for more Precise Staging of Breast Cancer. Journal of Kerman University of Medical Sciences. 2019; 26(4):253-9.

37. Arabpour Z, Mohammadabadi M, Khezri A. The expression pattern of p32 gene in femur, humeral muscle, back muscle and back fat tissues of Kermani lambs. Agricultural Biotechnology Journal. 2021; 13(4):183-200.

38. Mohammadabadi M. Expression of ESR1 gene in Raini Cashmere goat using Real Time PCR. Agricultural Biotechnology Journal. 2020; 12(1):177-92.

39. Mohammadabadi M, Masoudzadeh SH, Khezri A, Kalashnyk O, Stavetska RV, Klopenko NI, Oleshko VP, Tkachenko SV. Fennel (Foeniculum vulgare) seed powder increases Delta-Like Non-Canonical Notch Ligand 1 gene expression in testis, liver, and humeral muscle tissues of growing lambs. Heliyon. 2021; 7(12):e08542.

40. Masoudzadeh SH, Mohammadabadi M, Khezri A, Stavetska RV, Oleshko VP, Babenko OI, Yemets Z, Kalashnik OM. Effects of diets with different levels of fennel (Foeniculum vulgare) seed powder on DLK1 gene expression in brain, adipose tissue, femur muscle and rumen of Kermani lambs. Small Ruminant Research. 2020; 193:106276.

41. Mohammadabadi M, Kord M, Nazari M. Studying expression of leptin gene in different tissues of Kermani Sheep using Real Time PCR. Agricultural Biotechnology Journal. 2018; 10(3):111-23.

42. Shahsavari M, Mohammadabadi M, Khezri A, Asadi Fozi M, Babenko O, Kalashnyk O, Oleshko V, Tkachenko S. Correlation between insulin-like growth factor 1 gene expression and fennel (Foeniculum vulgare) seed powder consumption in muscle of sheep. Animal Biotechnology. 2021:1-11.

43. Mohammadabadi M. Tissue-specific mRNA expression profile of ESR2 gene in goat. Agricultural Biotechnology Journal. 2021; 12(4):167-81.

44. Mohammadabadi M, Soflaei M. Tissue-specific mRNA expression profile of BMP15 gene in goat. Agricultural Biotechnology Journal. 2020; 12(3):191-208.

45. Keshavarz M, Asadi MH. Long non- coding RNA ES 1 controls the proliferation of breast cancer cells by regulating the Oct4/Sox2/miR- 302 axis. The FEBS Journal. 2019; 286(13):2611-23.

46. Li J, Tian H, Yang J, Gong Z. Long noncoding RNAs regulate cell growth, proliferation, and apoptosis. DNA and Cell Biology. 2016; 35(9):4: 59-70.

47. Mahinfar P, Baradaran B, Davoudian S, Vahidian F, Cho WC-S, Mansoori B. Long Non-Coding RNAs in Multidrug Resistance of Glioblastoma. Genes. 2021; 12(3):455.

48. Xu K, Jiang X, Gabriel ANA, Li X, Wang Y, Xu S. Evolving Landscape of Long Non-coding RNAs in Cerebrospinal Fluid: A Key Role From Diagnosis to Therapy in Brain Tumors. Frontiers in Cell and Developmental Biology. 2021; 9.

49. Chen X, Clarence Yan C, Luo C, Ji W, Zhang Y, Dai Q. Constructing lncRNA functional similarity network based on lncRNA-disease associations and disease semantic similarity. Scientific Reports. 2015; 5(1):1-12.

50. Gil J, Stembalska A, Pesz KA, Sąsiadek MM. Cancer stem cells: the theory and perspectives in cancer therapy. Journal of Applied Genetics. 2008; 49(2):193-9.

51. Sullivan JP, Minna JD, Shay JW. Evidence for self-renewing lung cancer stem cells and their implications in tumor initiation, progression, and targeted therapy. Cancer and Metastasis Reviews. 2010; 29(1):61-72.

52. Chanmee T, Ontong P, Kimata K, Itano N. Key roles of hyaluronan and its CD44 receptor in the stemness and survival of cancer stem cells. Frontiers in Oncology. 2015; 5:180.

53. Bourguignon LY, Wong G, Earle C, Chen L. Hyaluronan-CD44v3 interaction with Oct4-Sox2-Nanog promotes miR-302 expression leading to self-renewal, clonal formation, and cisplatin resistance in cancer stem cells from head and neck squamous cell carcinoma. Journal of Biological Chemistry. 2012; 287(39):32800-24.

54. Chen L, Bourguignon LY. Hyaluronan-CD44 interaction promotes c-Jun signaling and miRNA21 expression leading to Bcl-2 expression and chemoresistance in breast cancer cells. Molecular Cancer. 2014; 13(1):1-13.

55. Chang SM, Kuhn JG, Rizzo J, Robins HI, Schold Jr SC, Spence AM, Berger MS, Mehta MP, Bozik ME, Pollack I. Phase I study of paclitaxel in patients with recurrent malignant glioma: a North American Brain Tumor Consortium report. Journal of Clinical Oncology. 1998; 16(6):2188-94.

56. Dixon ML, De La Vega A, Mills C, Andrews-Hanna J, Spreng RN, Cole MW, Christoff K. Heterogeneity within the frontoparietal control network and its relationship to the default and dorsal attention networks. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2018; 115(7):E1598-E607.