خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۳ شماره ۳ پاییز ۹۵ (۲۳۲-۲۲۴)

مقاله پژوهشی

miR-146a : یک سرکوبگر احتمالی تومور در مالتیپل میلوما

شیما کاظم‌زاده[۱]، علیرضا فارسی‌نژاد[۲]، جاوید صبور تکانلو[۱]، سعید کاویانی[۳]، امیر آتشی[۴]، مسعود سلیمانی[۵]، سعید آبرون[۵]

چکیده

سابقه و هدف

میکروRNAها با تنظیم بیان ژن در سطح پس از رونویسی، نقش کلیدی را در کنترل پاسخ‌های ایمنی، التهاب، رشد و مرگ سلولی ایفا می‌نمایند. بسیاری از میکروRNAها به عنوان انکوژن، سرکوبگر تومور و تعدیل‌کننده رشد سلول‌های بنیادی سرطانی عمل می‌نمایند. miR-146a ، از میکروRNAهایی است که نقش مهمی در بروز سرطان‌ها ایفا نموده و می‌تواند به عنوان محرک رشد و یا سرکوبگر تومور عمل کند. مطالعه حاضر به منظور ارزیابی تغییرات بیان miR-146a در رده‌های سلولی میلومایی(L363 ، LP1 ، RPMI 8226 و KMM1) در مقایسه با لکوسیت‌های طبیعی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

در مطالعه تجربی حاضر، چهار رده سلولی میلومایی و لکوسیت‌های طبیعی جدا شده از خون محیطی فرد سالم در شرایطی معین کشت داده شد. پس از استخراج RNA از سلول‌ها، بیان miR-146a به صورت کمی با انجام RT-PCR اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها

برطبق یافته‌ها، بیان miR-146a در رده‌های میلومایی نسبت به لکوسیت‌های طبیعی به طور معناداری کاهش یافته است. آنالیز داده‌ها نشان داد که در مقایسه با لکوسیت‌های طبیعی، بیان miR-146a در رده سلولی L363 به طور میانگین ۰/۲ ± ۰/۳۲ برابر، در رده‌های LP1 به طور میانگین ۰/۰۷ ± ۰/۰۳ برابر و در رده‌های RPMI 8226 و KMM1 به ترتیب و به طور میانگین ۰/۰۲ ± ۰/۰۰۳۵ و ۰/۰۰۱ ± ۰/۰۰۲۲ برابر کاهش یافته است ($p< ۰/۰۱$).

نتیجه گیری

با توجه به یافته‌ها، به نظر می‌رسد که miR-146a می‌تواند به عنوان یک سرکوبگر تومور در لکوسیت‌ها عمل نموده و کاهش بیان این میکرو RNA در سلول‌های میلومایی به احتمال زیاد در پیدایش و یا پیشرفت مالتیپل میلوما مؤثر می‌باشد.

کلمات کلیدی: مالتیپل میلوما، میکرو RNA ها، miR-146a انسانی

تاریخ دریافت : ۹۴/۱۰/۱۴
تاریخ پذیرش : ۹۵/ ۳/۱۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد هماتولوژی و بانک خون ـ دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس ـ تهران ـ ایران
۲- PhD هماتولوژی و بانک خون ـ استادیار گروه هماتولوژی و علوم آزمایشگاهی ـ دانشگاه علوم پزشکی کرمان ـ کرمان ـ ایران
۳- مؤلف مسئول: PhD هماتولوژی و بانک خون ـ دانشیار دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس ـ تهران ـ ایران ـ صندوق پستی: ۳۳۱-۱۴۱۱۵
۴- PhD هماتولوژی و بانک خون ـ استادیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شاهرود ـ شاهرود ـ ایران
۵- PhD هماتولوژی و بانک خون ـ دانشیار دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس ـ تهران ـ ایران

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-10]

مقدمه

مالتیپل میلوما، نوعی بدخیمی است که با تکثیر کلونال پلاسما سل‌ها در مغز استخوان و افزایش تولید ایمنوگلوبولین‌های مونوکلونال مشخص می‌گردد(۱). ناهنجاری‌های سیتوژنتیکی و مولکولی مختلف سبب بروز مالتیپل میلوما می‌شوند(۲). پس از لنفوما، مالتیپل میلوما دومین بدخیمی خونی شایع در جهان است(۳). تلاش‌های بسیاری در جهت افزایش بقای بیماران مبتلا به مالتیپل میلوما صورت گرفته است. پیشرفت‌های اخیر در علم بیولوژی سلولی و مولکولی با توسعه روش‌های درمانی نوین در سرطان‌ها همراه بوده است. در این روش‌ها اختلالات ژنتیکی و اپی ژنتیکی در مسیرهای پیام‌دهی، به ویژه مسیرهای مؤثر در پاتوژنز بدخیمی، به عنوان هدف‌های درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرند. شناسایی میکرو RNA ها و تعیین نقش آن‌ها در تنظیم بیان ژن، زمینه‌ای مناسب در درک هر چه بیشتر بیولوژی سلول‌های سرطانی و تعیین درجه بدخیمی آن‌ها فراهم آورده است(۴). الگوهای بیان میکرو RNA ها در چندین بدخیمی خونی هم چون لوسمی مزمن لنفوئیدی(CLL) و لوسمی حاد میلوئیدی(AML) تا حد زیادی مشخص شده است(۸-۵). به علاوه همبستگی چندین میکرو RNA با زیر گروه‌های ژنتیکی لوسمی‌های حاد و CLL تعیین گردیده است(۱۱-۹). این در حالی است که اطلاعات به دست آمده در این زمینه در مورد مالتیپل میلوما محدود می‌باشد (۱۳، ۱۲). مطالعه‌های اخیر مؤید نقش کلیدی میکرو RNAها در مالتیپل میلوما است، به گونه‌ای که نه تنها در پیشرفت بدخیمی، بلکه در شروع آن، که به دنبال متیلاسیون میکرو RNA های مهارکننده تومور است، مؤثر می‌باشند(۱۴).

میکرو RNA ها گروهی از RNAهای تک رشته‌ای کوتاه(۲۳-۲۰ نوکلئوتیدی) هستند که بیان ژن را کنترل می‌نمایند. این RNAهای غیرکد کننده کوچک با شرکت در کمپلکس RISC (RNA-induced silencing complex)، سبب اتصال کمپلکس مذکور به نواحی مکمل در 3′ UTR در mRNA های هدف شده و با تخریب و یا مهار mRNA هدف، بیان ژن را در سطح پس از رونویسی (post-transcriptional)، کنترل می‌نمایند. مطالعه‌های انجام شده بر نقش میکرو RNA ها در فرآیندهای مهم بیولوژیکی از جمله پاسخ‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی، التهاب، رشد و مرگ سلولی تاکید دارند(۱۶، ۱۵، ۴). علاوه بر این، بسیاری از میکرو RNA ها به عنوان انکوژن، سرکوبگر تومور و حتی تعدیل کننده رشد سلول‌های بنیادی سرطانی و متاستاز عمل می‌نمایند(۱۷).

miR-146a از جمله میکرو RNA هایی است که نقش مهمی در بروز بیماری‌های التهابی و سرطان‌های گوناگون ایفا می‌کند. miR-146 نخستین بار به عنوان یک تنظیم‌گر سیستم ایمنی در پاسخ به عفونت‌های میکروبی شناسایی گردید. بررسی‌های بیشتر نشان داد که miR-146a/b در مسیر وابسته به NF-kB قرار داشته و توسط TLR القا می‌گردد. این میکرو RNA با هدف قرار دادن دو پروتئین ضروری در مسیر انتقال پیام پیش‌التهابی به نام‌های TRAF6 (TNF receptor–associated factor 6) و IRAK1 (IL-1 receptor-associated kinase 1)، مسیر NF-Kb را مهار می‌نماید(۱۸، ۱۳). مطالعه‌های گسترده‌ای در زمینه نقش miR-146a در پاتوژنز سرطان‌های گوناگون صورت گرفته که جمع‌بندی نتایج این بررسی‌ها نشان‌دهنده نقش دوگانه miR-146a در سرطان‌ها است. به عبارت دیگر، بسته به ماهیت سلول‌های بدخیم و مسیرهای انتقال پیام فعال شده که miR-146a در آن‌ها دخیل است، میکرو RNA مذکور نقش انکوژنی و یا مهارکنندگی تومور را ایفا می‌نماید(۲۰، ۱۹).

با توجه به اهمیت میکرو RNA ها در بیولوژی سرطان، مطالعه حاضر به‌منظور ارزیابی تغییرات بیان miR-146a به عنوان یکی از عوامل ژنتیکی کلیدی در شروع و پیشرفت بدخیمی، انجام گرفت. به همین منظور میزان بیان miR-146a در رده‌های سلولی مرتبط با مالتیپل میلوما (L363، LP1، RPMI 8226 و KMM1) اندازه‌گیری و با لوکوسیت‌های طبیعی خون مقایسه گردید.

مواد و روش‌ها

کشت سلول:

در مطالعه تجربی حاضر، چهار رده سلولی L363، LP1،

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-10]

8226 RPMI و KMM1 بـه عنـوان گـروه آزمـایش و لکوسیت‌های جدا شده از خون فرد سالم بـه عنـوان گـروه شاهد مورد اسـتفاده قـرار گرفـت. از آن جـا کـه رده‌هـای سلولی میلومایی دارای ترانس لوکاسیون‌ها و موتاسیون‌های متعددی هستند، در این مطالعه، چهار رده سلولی میلومـایی متفـاوت(L363 ، LP1 ، 8226 RPMI و KMM1) مـورد بررسی قرار گرفت تا امکان تعمـیم نتـایج بـه دسـت آمـده وجود داشته باشد. تمامی رده‌هـای سـلولی فـوق‌الـذکر در محیط کشـت RPMI 1640 (آمریکـا، جیبکـو) حـاوی ۱۰٪ FBS (آمریکـا، جیبکـو) و ۱٪ آنتـی‌بیوتیـک پنـی‌سـیلین- استرپتومایسـین(آمریکـا، جیبکـو)، در دمـای ۳۷ درجـه سانتی‌گراد با ۹۵٪ رطوبـت و ۵٪ CO_2 کشـت داده شـدند. زمانی‌که سلول‌ها به پاسـاژ دوم رسـیدند، جهـت اسـتخراج RNA مورد استفاده قرار گرفتند.

جداسازی لکوسیت‌ها از خون محیطی فرد سالم:

برای این منظور مقـدار ۳ میلـی‌لیتـر خـون حـاوی ضـد انعقاد EDTA با ۳ میلی‌لیتر PBS رقیـق شـد، سـپس خـون رقیق شده به آرامی بر روی ۳ میلی‌لیتر فایکول قرار گرفـت و با سـرعت g ۴۰۰ بـه مـدت ۳۰ دقیقـه سـانتریفوژ شـد. سـلول‌هـای تـک هسـته‌ای خـون محیطـی(PBMCs = Peripheral Blood Mononuclear Cells) که در حد فاصـل فایکول و خون رقیق شده تجمع پیدا کرده بودند، به آرامـی جمع‌آوری گردید. به منظور حـذف فـایکول، PBMC جـدا شده سه مرتبه با PBS شسته شده و رسوب سلولی در ۱۰۰ میکرولیتر PBS بـه صـورت سوسپانسـیون در آمـد. تعـداد PBMC جداسـازی شـده بـا اسـتفاده از لام نئوبـار تعیـین گردید.

استخراج Total RNA:

به منظور تخلـیص RNA سـلولی، از کیـت – RNXTM PLUS (ایـران، سـیناژن) کـه بـر پایـه اخـتلاف فـاز فنـل- کلروفرم عمل می‌کند، استفاده شـد. بـر طبـق دسـتورالعمل کیت مربوطـه، RNA از چهـار رده سـلولی مـورد آزمـایش استخراج شـده و رسـوب RNA در ۵۰-۳۰ میکرولیتـر آب DEPC (Diethylpyracarbonate) (و یا آب مقطر فاقد آنزیم RNase و DNase) حل گردید.

جهت ارزیابی کمی و تعیین غلظت RNA تخلیص شده، جذب نوری RNA در طول موج ۲۶۰ نانومتر و با اسـتفاده از اسپکتروفتومتر(Thermo Scientific NanoDrop TM ND-2000c) خوانده شد. به منظور تعیین درجـه خلـوص RNA تخلیص شده، جذب نـوری ۲۶۰/۲۸۰ و ۲۶۰/۲۳۰ نـانومتر نیز سنجیده شـد. در مرحلـه بعـد، جهـت ارزیـابی کیفیـت RNA تخلیص شده، مقدار ۱ میکرولیتـر از RNA تخلـیص شده بر روی ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز شد.

ساخت cDNA:

سـاخت cDNA بـا اسـتفاده از کیـت شـرکت کیـاژن (QuantiTect® Reverse Transcription kit, QIAGEN) و آغازگرهـای Stem-loop اختصاصـی بـرای miR-146a و SNORD-47 (به عنوان کنترل داخلی) و بـا انجـام واکـنش رونویسـی معکـوس(RT-PCR) انجـام گرفـت. تـوالی آغازگرهـای Stem loop اختصاصـی بـرای miR-146a بـه صورت:

GTCGTATGCAGAGCAGGGTCCGAGGTATTCGC ACTGCATACGACAACCCAT

و برای SNORD-47 به صورت:

GTCGTATGCAGAGCAGGGTCCGAGGTATTCGC ACTGCATACGACAACCTC

بـود. طبـق دسـتورالعمل کیت مربوطه، مخلوط واکنش تهیه گردید و سـپس واکـنش رونویسی معکوس با برنامه دمایی زیر انجام گرفت:

۱۵ دقیقـه در ۲۵ درجـه سـانتی‌گـراد، ۱۵ دقیقـه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، ۶۰ دقیقه در ۴۲ درجـه سـانتی‌گـراد و ۵ دقیقه در ۷۰ درجه سانتی‌گراد. آغازگرهای استفاده شـده در Real Time PCR از مرکز تحقیقات و فناوری بن‌یاخته تهیه شد.

Real Time PCR:

به منظور ارزیابی کمـی بیـان miR-146a در نمونـه‌هـای آزمـایش و کنتـرل، روش Real Time PCR بـا توجـه بـه دستورالعمل کیـت مربوطـه انجـام گرفـت. بـدین منظـور، مخلـوطی از SYBR® Green RT-PCR Master Mix (آمپلیکـون، دانمـارک)، آغازگرهـای جلـوبرنده اختصاصی

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-10]

جدول ۱: توالی آغازگرهای Real time PCR

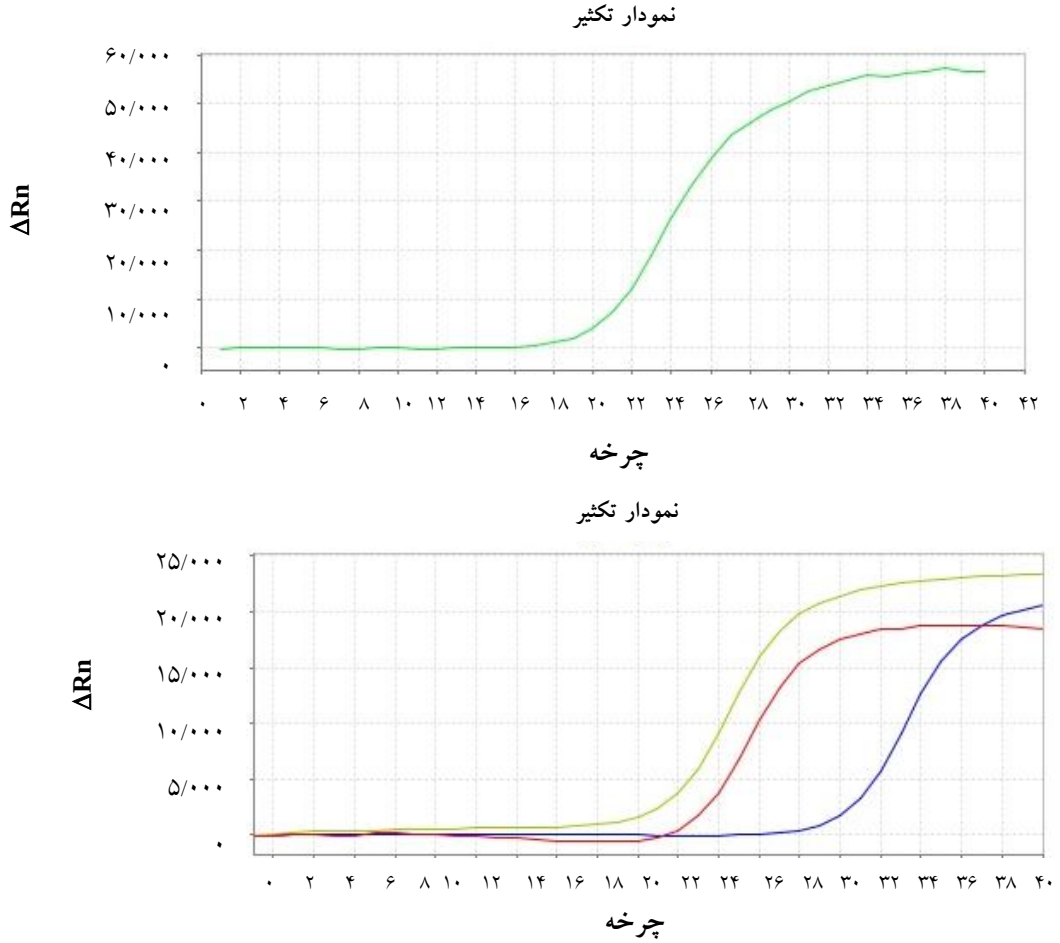
	توالی آغازگر	دمای اتصال (°C)
miR-146a	F- 5'TCCGTGAGAACTGAATTCC-3'	۶۰
SNORD-47	F-5'ATCACTGTAAAACCG TTCCA-3'	۶۰
Common Reverse	R-5'GAGCAGGGTCCGAGGT-3'	۶۰

بـرای miR-146a (و یـا SNORD-47) و آغـازگر معکـوس مشترک، رنگ ROX ، cDNA و آب فاقد آنزیم RNase بـر روی یخ تهیـه شـده و پـس از اسـپین کوتـاه، بـه دسـتگاه StepOne™ Real-Time PCR انتقـال یافتنـد. واکـنش RT-PCR با برنامه دمایی روبرو انجام گرفـت: ۱۵ دقیقـه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد و سپس ۴۰ سیکل شامل ۳۰ ثانیـه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد و ۶۰ ثانیه در ۶۰ درجه سانتی‌گراد(جدول ۱). به منظور آنالیز داده‌های به دست آمده از نـرم‌افـزار ۱۸ SPSS و آزمون Paired-Samples t test استفاده شد.

یافته‌ها

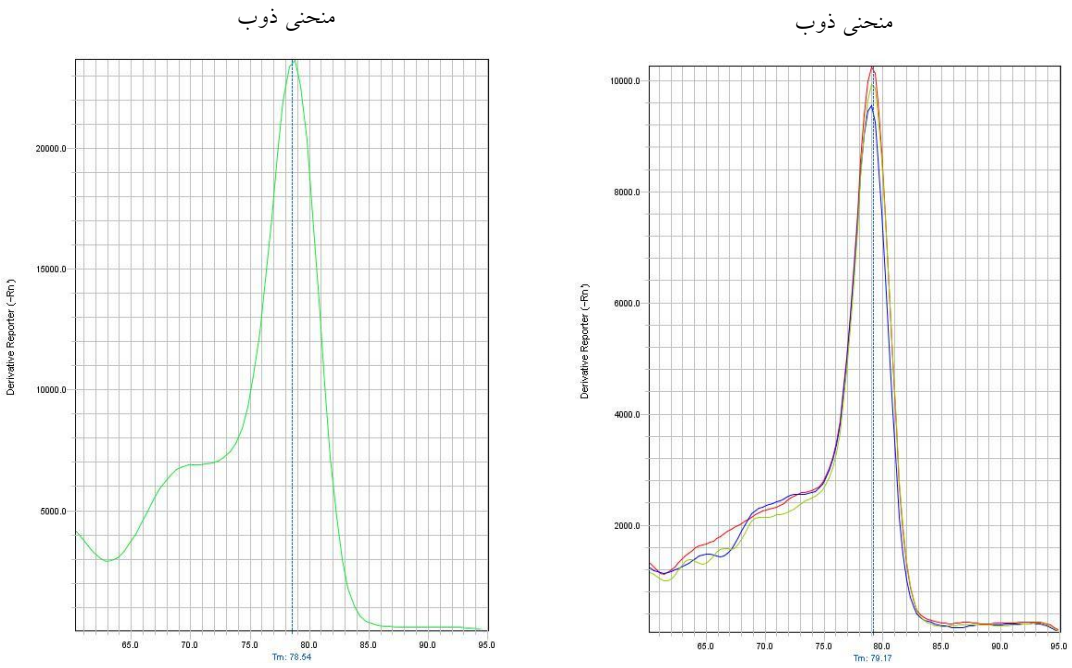
ارزیـابی بیـان miR-146a در رده‌هـای سـلولی میلومـایی و لکوسیت‌های طبیعی:

در مطالعه حاضر، تخلیص RNA از نمونه‌های میلومایی (سلول‌هـای چهـار رده L363 ، LP1 ، RPMI و KMM1) و نمونه کنترل (لکوسیت‌های طبیعی خـون)، سـاخت cDNA از RNAهای تخلیص شده و بررسی کمی بیـان miR-146a با روش RT-PCR در شرایطی یکسان صورت گرفت.

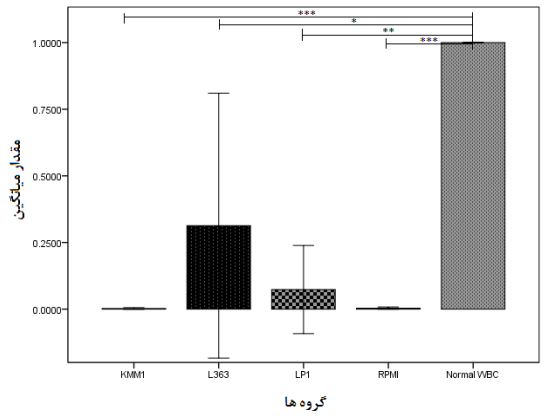


نمودار ۱ : نمودار بالا مربوط به منحنی تکثیر miR-146a در لکوسیت‌های طبیعی خون است و نمودار پایین، منحنی تکثیر miR-146a در رده‌های سلولی میلومایی را نشان می‌دهد.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-10]



نمودار ۲: نمودار سمت راست منحنی ذوب miR-146a در رده‌های سلولی میلومایی(Tm: 79.17) و نمودار سمت چپ منحنی ذوب miR-146a در لکوسیت‌های طبیعی خون (Tm: 78.54) را نشان می‌دهد.



نمودار ۳: ارزیابی کمی بیان miR-146a در رده‌های سلولی میلومایی و لکوسیت‌های نرمال با Real Time PCR

منحنی تکثیر miR-146a در لکوسیت‌های طبیعی خون و سلول‌های میلومایی و منحنی ذوب miR-146a در این سلول‌ها در نمودار نشان داده شده است(نمودارهای ۱ و ۲).

جهت آنالیز داده‌های به دست آمده و سنجش نسبی بیان miR-146a ، از مدل $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد. در این روش با فرض برابری راندمان تکثیر(Efficiency) بین ژن مورد نظر و ژن مرجع، مقایسه انجام می‌شود.

نتایج به دست آمده حاکی از آن است که بیان miR-146a در چهار رده سلولی میلومایی نسبت به لکوسیت‌های طبیعی خون به طور قابل توجهی کاهش یافته است(نمودار ۳). آنالیز داده‌های RT-PCR نشان دهنده کاهش بیان معنادار miR-146a در رده سلولی L363 نسبت به لکوسیت‌های طبیعی خون است($p = ۰/۰۳$). در رده سلولی مذکور، کاهش بیان به طور میانگین ۰/۲ ± ۰/۳۲ برابر گزارش شد. در رده سلولی LP1 نیز کاهش بیان miR-146a معنادار بوده و به طور میانگین ۰/۰۷ ± ۰/۰۳ برابر است ($p= ۰/۰۰۲$). کاهش بیان معنادار miR-146a در رده‌های سلولی RPMI و KMM1 نسبت به لکوسیت‌های طبیعی خون به ترتیب و به طور میانگین ۰/۰۲ ± ۰/۰۰۳۵ و ۰/۰۰۱ ± ۰/۰۰۲۲ برابر مشاهده شد($p = ۰/۰۰۱$).

بحث

یافته‌های مطالعه حاضر کاهش بیان معنادار miR-146a را در سلول‌های رده میلومایی نسبت به لکوسیت‌های

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-10]

طبیعی خون نشان می‌دهد. مطالعه‌ها حاکی از آن است که miR-146a نقشی مهم و کلیدی را در پاتوژنز سرطان‌ها ایفا می‌کند و از یک سو با تقویت پتانسیل تومورزایی به عنوان یک آنکوژن عمل کرده و از سوی دیگر با اثر بر قدرت تکثیر، تمایز و تهاجم سلول‌ها، مانع از رشد تومور می‌گردد. نوع و ماهیت سلول‌های بدخیم و هم چنین مسیرهای انتقال پیام فعال شده که miR-146a در آن‌ها دخیل است، تعیین‌کننده تاثیر مثبت و یا منفی میکرو RNA مذکور بر رشد سلول‌های سرطانی است(۲۰). با تکیه بر نتایج مطالعه حاضر، به نظر می‌رسد که miR-146a به عنوان یک سرکوبگر تومور در لکوسیت‌ها عمل می‌کند. به عبارت دیگر، سلول‌های میلومایی از طریق کاهش بیان miR-146a بر فعالیت سرکوبگر توموری میکرو RNA مذکور غلبه کرده و موجب پیشرفت بدخیمی می‌گردند. مسأله مورد سؤال این است که کاهش بیان miR-146a در پلاسماسل‌ها یک رویداد اولیه بوده و سبب شروع میلوما می‌گردد و یا این که یک رویداد ثانویه است و در پیشرفت بدخیمی دخالت دارد. این موضوع لزوم بررسی‌های تکمیلی در زمینه نقش miR-146a در مالتیپل میلوما و مسیرهای انتقال پیام پایین دست آن را خاطر نشان می‌نماید.

شیوع بالای مالتیپل میلوما در جهان و درصد بالای مرگ و میر ناشی از آن که به دلیل غیر قابل درمان بودن بدخیمی رخ می‌دهد و هم چنین طولانی و پر هزینه بودن دوره درمان، لزوم تشخیص بیماری در مراحل اولیه و تعیین به موقع پیش‌آگهی بیماری را خاطر نشان می‌نماید(۲۱). از طرفی، پیشرفت‌های اخیر در علم بیولوژی سلولی و مولکولی سبب توسعه روش‌های درمانی نوین در سرطان‌ها گردیده است. در این روش‌ها، اختلالات ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی در مسیرهای پیام‌دهی، به ویژه مسیرهای مؤثر در پاتوژنز بدخیمی، به عنوان هدف‌های درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرند. درمان‌های بر پایه اپی‌ژنتیک به ویژه هدف قرار دادن میکرو RNA ها، یک رویکرد درمانی نوین در مالتیپل میلوما به شمار می‌آید(۴). از این رو مطالعه‌های گسترده‌ای در زمینه شناسایی و تعیین عملکرد میکرو RNAهای مؤثر در مالتیپل میلوما صورت گرفته است(۲۲). همانند نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر، نقش سرکوبگری تومور برای میکرو RNA های دیگری از جمله let-7b-5p ، miR-186 ، miR-125b ، miR-145 ، miR-181a/b ، miR-222 ، miR-221 ، miR-382 ، miR-15a ، miR-16 ، miR-137/197 ، miR-29b ، miR-152 ، miR-10b-5p و miR-34c-3p در مالتیپل میلوما گزارش شده است(۲۳). از طرفی، با نگاهی به مطالعه‌های انجام شده می‌توان به آسانی دریافت که میکرو RNA ها با شرکت در فرآیندهای مهم بیولوژیکی از جمله پاسخ‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی، التهاب، سرنوشت سلولی، تکثیر، مرگ و مسیرهای انتقال پیام، نقشی کلیدی را در تکامل و عملکرد سلول‌های ایمنی ایفا می‌نمایند(۱۶، ۱۵، ۴). یکی از میکرو RNA های مهم در سلول‌های ایمنی، miR-146a است که تغییر در الگوی بیانی این میکرو RNA در بیماری‌های التهابی و سرطان‌های گوناگون به چشم می‌خورد. بر اساس مطالعه‌های بولدین و همکارانش در سال ۲۰۱۱ ، با تکامل و فعال شدن سلول‌های ایمنی، بیان miR-146a در این سلول‌ها به شدت افزایش می‌یابد، به همین دلیل حذف هدفمند miR-146a ، نقایص ایمنی مختلفی را به دنبال خواهد داشت. از سوی دیگر، miR-146a در کنترل تکثیر و تمایز سلول‌های ایمنی دخیل می‌باشد، به‌گونه‌ای که موش‌های پیر فاقد miR-146a تولید مفرطی از سلول‌های میلوئیدی را داشته و در ارگان‌های لنفاوی ثانویه این موش‌ها، تومورهای متعددی قابل ردیابی است. نتایج فوق مؤید نقش کلیدی miR-146a به عنوان یک سرکوبگر تومور در سیستم ایمنی و هم چنین مهارکننده مولکولی (molecular brake) در التهابات، تکثیر سلول‌های میلومایی و ترانسفورماسیون انکوژنی است(۲۰). در کنار پتانسیل مهارکنندگی تومور، گروهی از مطالعه‌ها به نقش انکوژنی miR-146a در بدخیمی‌های خونی و تومورهای توپر اشاره دارند. برای مثال، بررسی‌های استراسزینوسکی و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان داد که افزایش بیان miR-146a در ALL کودکان، AML ، سرطان‌های سینه، پانکراس و پروستات دیده می‌شود(۲۴، ۳). به منظور روشن‌تر شدن نقش miR-146a در تقویت پتانسیل تومورزایی، گروهی از محققان به بررسی مسیرهای انتقال پیام پایین دست و بالا دست miR-146a پرداختند. بر طبق یافته‌های مطالعه‌های

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-10]

انجام شده، القای بیان miR-146a در سلول با مهار رونویسی از دو مولکول عملگر مهم در مسیر NF-κB به نام‌های IRAK1 و TRAF6 ، سبب کنترل منفی مسیر NF-κB می‌گردد. غیر فعال شدن مسیر انتقال پیام مذکور با مهار تکثیر سلولی و القای آپوپتوز در سلول‌ها همراه است. به عبارت دیگر، miR-146a قادر است تا با مهار کردن مسیر NF-κB در سلول‌های سرطانی، به عنوان یک مهارکننده رشد تومور عمل نماید(۲۶، ۲۵). از سویی، جمع‌بندی یافته‌های مطالعه‌های انجام شده به نقش مسیر TGFβ/SMAD4 به عنوان سرکوبگر رشد تومور در بسیاری از سرطان‌ها اشاره دارد. به طوری که مشاهده شده که با غیر فعال شدن *SMAD4* ، به واسطه تاثیر میکرو RNA های مشخص بر آن و یا در اثر موتاسیون‌های صورت گرفته در ژن *SMAD4* ، مسیر TGFβ مهار می‌گردد که این امر، پیشرفت بدخیمی را به دنبال خواهد داشت. با توجه به نقش تنظیمی miR-146a بر بیان ژن *SMAD4* ، احتمال می‌رود که miR-146a با کاهش سطح پروتئینی *SMAD4* و مهار مسیر TGFβ به عنوان یک محرک رشد تومور در سرطان‌ها عمل نماید(۲۸، ۲۷). در مجموع، روشن شدن این موضوع که miR-146a با تاثیر بر کدام مسیرهای انتقال پیام، از رشد و تکثیر سلول‌های میلومایی ممانعت نموده و سبب افزایش آپوپتوز در این سلول‌ها می‌گردد، مستلزم بررسی‌های بیشتر در این زمینه می‌باشد.

نتیجه‌گیری

از آن جا که miR-146a به عنوان یکی از میکرو RNAهای اثر گذار در شروع و پیشرفت بسیاری از بدخیمی‌ها شناخته می‌شود، در مطالعه حاضر میزان بیان این میکرو RNA در رده‌های سلولی مرتبط با مالتیپل میلوما اندازه‌گیری و با لکوسیت‌های طبیعی خون مقایسه گردید. آنالیز یافته‌های مطالعه حاضر حاکی از آن است که miR-146a می‌تواند به‌عنوان یک سرکوبگر تومور در لکوسیت‌ها عمل نموده و کاهش بیان این میکرو RNA در سلول‌های میلومایی، به احتمال زیاد در آغاز و یا پیشرفت مالتیپل میلوما مؤثر می‌باشد. هر چند به نظر می‌رسد عوامل متعددی از جمله ماهیت سلول‌های بدخیم، مسیرهای انتقال پیام فعال شده و دیگر عوامل مؤثر بر تغییرات بیان ژن هم چون تغییرات اپی‌ژنتیکی، بر تعیین نوع اثرگذاری این میکرو RNA در روند بدخیمی و هم چنین نقش آن در سرطان‌ها مؤثر باشد. این امر لزوم انجام بررسی‌های تکمیلی در این زمینه را خاطر نشان می‌نماید.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در قالب بخشی از پایان‌نامه دانشجویی و با مساعدت‌های مالی دانشکده علوم پزشکی تربیت مدرس انجام گرفت است. از آقایان دکتر مسعود سلیمانی، امیر آتشی، نادر وظیفه شیران و فخرالدین صبا جهت مساعدت در تامین مواد و رده‌های سلولی نهایت تشکر به عمل آورده می‌شود.

References:

1- de Mel S, Lim SH, Tung ML, Chng WJ. Implications of heterogeneity in multiple myeloma. Biomed Res Int 2014; 2014: 232546.
2- Gutiérrez NC, Sarasquete ME, Misiewicz-Krzeminska I, Delgado M, De Las Rivas J, Ticona F, *et al*. Deregulation of microRNA expression in the different genetic subtypes of multiple myeloma and correlation with gene expression profiling. Leukemia 2010; 24(3): 629-37.
3- Ocio E, Richardson P, Rajkumar S, Palumbo A, Mateos M, Orlowski R, *et al*. New drugs and novel mechanisms of action in multiple myeloma in 2013: a report from the International Myeloma Working Group (IMWG). Leukemia 2014; 28(3): 525-42.
4- Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers. Nat Rev Cancer 2006; 6(11): 857-66.
5- Calin GA, Liu CG, Sevignani C, Ferracin M, Felli N, Dumitru CD, *et al*. MicroRNA profiling reveals distinct signatures in B cell chronic lymphocytic leukemias. Proc Natl Acad Sci U S A 2004; 101(32): 11755-60.
6- Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, Iorio MV, Ferracin M, Shimizu M, *et al*. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. Proc Natl Acad Sci U S A 2005; 102(39): 13944-9.
7- Jongen-Lavrencic M, Sun SM, Dijkstra MK, Valk PJ, Löwenberg B. MicroRNA expression profiling in relation to the genetic heterogeneity of acute myeloid leukemia. Blood 2008; 111(10): 5078-85.
8- Li Z, Lu J, Sun M, Mi S, Zhang H, Luo RT, *et al*. Distinct microRNA expression profiles in acute myeloid leukemia with common translocations. Proc

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-10]

Natl Acad Sci U S A 2008; 105(40): 15535-40.
9- Garzon R, Garofalo M, Martelli MP, Briesewitz R, Wang L, Fernandez-Cymering C, *et al*. Distinctive microRNA signature of acute myeloid leukemia bearing cytoplasmic mutated nucleophosmin. Proc Natl Acad Sci U S A 2008; 105(10): 3945-50.
10- Visone R, Rassenti LZ, Veronese A, Taccioli C, Costinean S, Aguda BD, *et al*. Karyotype-specific microRNA signature in chronic lymphocytic leukemia. Blood 2009; 114(18): 3872-9.
11- Marcucci G, Radmacher MD, Maharry K, Mrózek K, Ruppert AS, Paschka P, *et al*. MicroRNA expression in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. N Engl J Med 2008; 358(18): 1919-28.
12- Roccaro AM, Sacco A, Thompson B, Leleu X, Azab AK, Azab F, *et al*. MicroRNAs 15a and 16 regulate tumor proliferation in multiple myeloma. Blood 2009; 113(26): 6669-80.
13- Suzuki Y, Kim HW, Ashraf M, Haider HK. Diazoxide potentiates mesenchymal stem cell survival via NF-κB-dependent miR-146a expression by targeting Fas. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2010; 299(4): H1077-82.
14- Yuan Y, Kasar S, Underbayev C, Prakash S, Raveche E. MicroRNAs in Acute Myeloid Leukemia and Other Blood Disorders. Leuk Res Treatment 2012; 2012: 603830.
15- Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs-microRNAs with a role in cancer. Nat Rev Cancer 2006; 6(4): 259-69.
16- Ebert MS, Sharp PA. Roles for microRNAs in conferring robustness to biological processes. Cell 2012; 149(3): 515-24.
17- Cho WC. MicroRNAs: potential biomarkers for cancer diagnosis, prognosis and targets for therapy. Int J Biochem Cell Biol 2010; 42(8): 1273-81.
18- Omrane I, Kourda N, Stambouli N, Privat M, Medimegh I, Arfaoui A, *et al*. MicroRNAs 146a and 147b biomarkers for colorectal tumor's localization. Biomed Res Int 2014; 2014: 584852.
19- Hasani SS, Hashemi M, Eskandari-Nasab E, Naderi M, Omrani M, Sheybani-Nasab M. A functional polymorphism in the miR-146a gene is associated with the risk of childhood acute lymphoblastic leukemia: a preliminary report. Tumour Biol 2014; 35(1): 219-25.
20- Boldin MP, Taganov KD, Rao DS, Yang L, Zhao JL, Kalwani M, *et al*. miR-146a is a significant brake on autoimmunity, myeloproliferation, and cancer in mice. J Exp Med 2011; 208(6): 1189-201.
21- Kumar SK, Rajkumar SV, Dispenzieri A, Lacy MQ, Hayman SR, Buadi FK, *et al*. Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. Blood 2008; 111(5): 2516-20.
22- Huang Y, Shen XJ, Zou Q, Wang SP, Tang SM, Zhang GZ. Biological functions of microRNAs: a review. J Physiol Biochem 2011; 67(1): 129-39.
23- Sun CY, She XM, Qin Y, Chu ZB, Chen L, Ai LS, *et al*. miR-15a and miR-16 affect the angiogenesis of multiple myeloma by targeting VEGF. Carcinogenesis 2013: 34(2): 426-35.
24- Starczynowski DT, Morin R, McPherson A, Lam J, Chari R, Wegrzyn J, *et al*. Genome-wide identification of human microRNAs located in leukemia-associated genomic alterations. Blood 2011; 117(2): 595-607.
25- Liu R, Liu C, Chen D, Yang WH, Liu X, Liu CG, *et al*. Foxp3 controls an miR-146/NF-κB negative feedback loop that inhibits apoptosis in breast cancer cells. Cancer Res 2015; 75(8): 1703-13.
26- Hurst DR, Edmonds MD, Scott GK, Benz CC, Vaidya KS, Welch DR. Breast cancer metastasis suppressor 1 up-regulates miR-146, which suppresses breast cancer metastasis. Cancer Res 2009; 69(4): 1279-83.
27- Xiao B, Zhu ED, Li N, Lu DS, Li W, Li BS, *et al*. Increased miR-146a in gastric cancer directly targets SMAD4 and is involved in modulating cell proliferation and apoptosis. Oncol Rep 2012; 27(2): 559-66.
28- Zhong H, Wang HR, Yang S, Zhong JH, Wang T, Wang C, *et al*. Targeting Smad4 links microRNA-146a to the TGF-β pathway during retinoid acid induction in acute promyelocytic leukemia cell line. Int J Hematol 2010; 92(1): 129-35.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-10]

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2016; 13(3): 224-232

Original Article

miR-146a: A possible tumor suppressor in multiple myeloma

Kazemzadeh S.[1], Farsinejad A.[2], Sabour Takanlu J.[1], Kaviani S.[1], Atashi A.[3], Soleimani M.[1], Abroun S.[1]

[1]Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
[2]Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
[3]School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran

Abstract

Background and Objectives

MicroRNAs play a crucial role in controlling the innate and adaptive immune responses, inflammation, cell growth, and apoptosis by regulating gene expression at post-transcriptional level. In addition, many microRNAs act as oncogenes, tumor suppressors, and the mediators of cancer stem cells. MiR-146a is one of the important microRNAs in inflammatory diseases and tumors which has a dual effect on cancers and acts as a tumor promoter or a tumor suppressor. The present study aimed to evaluate the expression of miR-146a in multiple myeloma cell lines (L363, LP1, RPMI 8226 and KMM1) in comparison with normal leukocytes.

Materials and Methods

In this experimental study, four myeloma cell lines and peripheral blood leukocytes isolated from healthy individuals were cultured under specific conditions. After RNA extraction, miR-146a expression was measured by quantitative Real Time PCR.

Results

The research results showed that the expression of miR-146a in multiple myeloma cell lines was significantly decreased compared with normal leukocytes. Data analysis also revealed that the expression of miR-146a was decreased in average of 0.32 ± 0.2 folds in L363 cell line and for LP1, RPMI 8226, and KMM1 cell lines in average of 0.03 ± 0.07, 0.0035 ± 0.02, 0.0022±0.001 folds, respectively ($p < 0.01$).

Conclusions

The researchers' results suggest that miR-146a can act as a tumor suppressor in leukocytes, and the decreased expression of this microRNA in myeloma cells is likely to be effective at the onset and progression of multiple myeloma.

Key words: Multiple Myeloma, MicroRNAs, miR-146a، human

Received: 4 Jan 2016
Accepted: 1 Jun 2016

Correspondence: Kaviani S., PhD of Hematology. Associate Professor of Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University.
P.O.Box: 14115-331, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 82883832; Fax: (+9821) 82884507.
E-mail: *kavianis@modares.ac.ir*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-10]