

مطالعه ارتباط پلی مورفیسم rs34059726 ژن *miR-124-a-3* با بروز سرطان پروستات در شهرستان گنبد کاووس

تاریخ دریافت مقاله: ۹۷/۲/۲۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۱

چکیده

زمینه و هدف: میرها یکی از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های ژنتیکی هستند که بیش از ۵۰ درصد از ژنوم انسان توسط آن‌ها تنظیم می‌شود. *miR-124-a-3* یک میر با عملکرد سرکوبگر توموری می‌باشد که بیان آن در سلول‌های توموری سرطان پروستات بشدت کاهش می‌یابد. از آنجایی که میرها از طریق توالی هسته‌ای به رونوشت ژن‌های هدف خود متصل می‌گردند هرگونه جهش و تغییر در این ناحیه می‌تواند بر نحوه عملکرد آن‌ها و شناسایی ژن‌های هدف موثر باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد - شاهدی، بمنظور بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs34059726 ژن *miR-124-a-3* با بروز سرطان پروستات از بلوک‌های پارافینه ۴۰ بیمار سرطانی و ۵ میلی لیتر نمونه خون ۲۰ فرد سالم استفاده گردید. پس از استخراج DNA، پلی مورفیسم نمونه‌ها با استفاده از تکنیک PCR-RFLP تعیین گردید.

یافته‌ها: توزیع ژنوتیپ GG در تمام افراد بیمار و سالم در جایگاه rs34059726 ژن *miR-124-a-3* مشاهده شد. گروه خونی A با ۴۲/۲٪ بیشترین میزان فراوانی را در بیماران بدخیم داشت و همچنین فراوانی افراد معتاد در بیماران بدخیم ۱۵٪ و خوش خیم ۵٪ گزارش گردید.

نتایج: پلی مورفیسم در جایگاه rs34059726 ژن *miR-124-a-3* همبستگی با بروز سرطان پروستات در جمعیت گنبد کاووس نشان نداد و احتمالاً مکانیزم‌های دیگری در کاهش بیان *miR-124-A-3-3p* در سرطان پروستات در این جمعیت دخیل می‌باشند. در این جمعیت اعتیاد بعنوان عامل خطری برای بروز سرطان پروستات می‌باشد و اکثر مبتلایان گروه خونی A داشتند.

کلمات کلیدی: سرطان پروستات، میر، *miR-124-A-3-3p* پلی مورفیسم، PCR-RFLP

* نویسنده مسئول:

استادیار، گروه زیست شناسی،
دانشکده علوم پایه، دانشگاه
گنبد کاووس، گنبد کاووس،
گلستان، ایران

۰۱۷۳۳۲۶۲۶۶۰

E-mail: so.boozarpour@gmail.com

مقدمه

سرطان پروستات دومین سرطان شایع در جهان است و ۱/۱ میلیون فرد مبتلا به این بیماری در جهان تشخیص داده شده است که ۷۰٪ مبتلایان در مناطق پیشرفته دنیا زندگی می کنند^۱. همچنین سرطان پروستات بیشترین نوع بدخیمی را پس از سرطان معده، در جمعیت مردان تهرانی تشکیل می دهد^۲. عوامل خطر ابتلا به سرطان پروستات عبارتند از: سابقه خانوادگی، سن بالا، هورمون ها، موقعیت جغرافیایی، اعتیاد، مصرف زیاد چربی و گوشت قرمز^{۳،۴}. همچنین امروزه پژوهشگران بر این باورند که نوع گروه خونی افراد می تواند در استعداد ابتلا به بیماری های مختلف از جمله سرطان ها دخیل باشد^۵. مطالعات انجام شده بر روی دو قلوهای مونوزیگوت و دی-زیگوت نقش پررنگ عوامل ژنتیکی را در بروز این بیماری نشان می دهد^۶. سلول های سرطانی در اثر اختلال در تنظیم بیان ژن ها ایجاد می شوند. یکی از مولکول های کلیدی در تنظیم بیان ژن ها میرا می باشند که RNAs کوچک غیر کدکننده به طول ۲۰-۲۲ نوکلئوتید هستند^۷. زمانی که عملکرد یک میر موجب کاهش بیان یک انکوژن می گردد آن میر بعنوان یک مهار کننده تومور شناخته می شود و بالعکس، میرهایی که رونوشت ژن های مهار کننده تومور را هدف قرار می دهند نقش انکوژنی دارند^۸. *miR-124-a-3* برای اولین بار در سال ۲۰۰۲ در سلول های عصبی موش شناسایی شد^۹. مطالعات متعددی حاکی از کاهش بیان ژن *miR-124-a-3* در برخی سرطان ها از جمله سرطان معده، کبد و پروستات می باشد^{۱۰-۱۳}. این ژن در منطقه کروموزومی 20q13.33 قرار گرفته و ۸۷ نوکلئوتید طول دارد که پس از طی مراحل پردازش، یک رشته راهنما به طول ۲۱ نوکلئوتید ایجاد می شود. پلی مورفیسم های متعددی در توالی ۸۷ نوکلئوتیدی از *miR-124-a-3* شناسایی شده که هر یک با کد توالی مرجع (Reference sequence) خاص خود مشخص شده اند. بررسی های انجام شده نشان می دهد که *miR-124-a-3* مستقیماً از ناحیه هسته ای خود به توالی غیر ترجمه شونده ی ژن گیرنده آندروژن متصل و سبب تنظیم و کاهش بیان آن می شود. با توجه به نقش گیرنده آندروژن در تکثیر سلول های پروستات، کاهش آن می تواند منجر به کاهش تکثیر سلولی گردد^{۱۴}. امروزه مطالعات زیادی نشان می دهند که پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی (SNPs)

در نقطه هدف و یا در ژن میرها با بیماری های مختلفی در ارتباط است. rs34059726 جایگاه یک پلی مورفیسم است که در ناحیه هسته ای ژن *miR-124-a-3* واقع شده که در حالت معمول نوکلئوتید گوانین (G) در این موقعیت قرار دارد و در موارد نادرتر (بروز پلی-مورفیسم) نوکلئوتید آدنین (A) جایگزین آن می شود^{۱۵}. در نتیجه ی وقوع این پلی مورفیسم، *miRNA-124-a-3* قادر به اتصال به گیرنده ی آندروژنی در سلول های پروستات نبوده و بدین ترتیب رشد سلول ها و دیگر مکانیسم های دخیل در آن ها از تنظیم خارج می گردد که این امر می تواند در تحریک وقوع سرطان پروستات نقش داشته باشد^{۱۶}. در این پژوهش بدلیل شیوع بالای انواع سرطان ها در شهرستان گنبد کاووس، وقوع پلی مورفیسم rs34059726 در مبتلایان به سرطان پروستات و همچنین ارتباط اعتیاد و نوع گروه خونی با بروز سرطان پروستات در میان جمعیت مردان شهرستان گنبد کاووس بررسی گردید.

مواد و روش ها

در این مطالعه مورد - شاهدی بمنظور بررسی ارتباط پلی-مورفیسم rs34059726 ژن *miRNA-124-a-3* با بروز سرطان پروستات از بلوک های پارافینه جمع آوری شده بیماران سرطانی طی سال های ۱۳۸۶ تا ۱۳۹۲ در بایگانی پاتولوژی بیمارستان خاتم الانبیا گنبد کاووس استفاده گردید. این نمونه ها شامل ۲۰ نمونه بدخیم و ۲۰ نمونه خوش خیم سرطان پروستات بودند. ۵ میلی لیتر خون از ۲۰ فرد سالم نیز بعنوان نمونه شاهد در آزمایشات ژنتیکی اخذ شد. اطلاعات مربوط به سن، گروه خونی و اعتیاد در افراد مورد مطالعه ثبت گردید. استخراج DNA از نمونه خون افراد سالم با روش رسوب نمکی انجام شد و DNA نمونه های بلوک پارافینه بیماران با استفاده از QIAamp DNA FFPE Tissue (Qiagen, USA) استخراج گردید. جهت تکثیر ژن *miRNA-124-a-3* پرایمرهای رفت 3'-TGTTCACAGCGACCTTGATTT-5' و برگشت 5'-GCATTGTTCGCCGATTGT-3' با نرم افزار Gene Runner طراحی و با Primer-BLAST اختصاصیتشان تایید گردید.

جدول ۱: برنامه PCR برای تکثیر ژن *miR-124-a-3*

مرحله	دما	زمان	تعداد چرخه
واسرشته شدن اولیه	۹۵°C	۳ دقیقه	۱
واسرشته شدن ثانویه	۹۴°C	۴۵ ثانیه	
اتصال	۵۹°C	۴۵ ثانیه	۴۰
طویل سازی	۷۲°C	۳۵ ثانیه	
طویل سازی نهایی	۷۲°C	۵ دقیقه	۱

نتایج

DNA بدست آمده از نمونه‌های بلوک پارافینه بصورت اسمیر بر روی ژل آگارز مشاهده شدند که حاکی از شدت تخریب DNA در نمونه‌های بلوک پارافینه به علت استفاده از فرم آلدئید در تهیه بلوک‌ها می‌باشد اما نمونه‌های استخراج شده از خون افراد شاهد بدون شکستگی و بصورت یک باند واضح بر روی ژل آگارز مشاهده شدند. سپس از DNAs استخراج شده به عنوان الگو برای تکثیر ژن *miR-124-a-3* در واکنش PCR استفاده گردید و با مشاهده باند ۱۹۳ جفت بازی در ژل آگارز ۱/۵٪، تکثیر صحیح ژن مذکور تایید گردید (شکل ۱).

نتایج هضم آنزیمی نمونه‌ها بر روی ژل پلی آکریل آمید ۶٪ نشان داد که نوکلئوتید G در تمام نمونه‌های بدخیم، خوش‌خیم و سالم در جایگاه rs34059726 بصورت هموزیگوت وجود دارد (شکل ۲).

در نتایج حاصل از بررسی فراوانی گروه‌های خونی در بیماران بدخیم، گروه خونی A بیشترین و AB کمترین میزان فراوانی را در نمونه‌های مورد مطالعه داشتند. اما در بیماران خوش‌خیم گروه خونی O بیشترین و گروه خونی B کمترین فراوانی را دارند (جدول ۳). آنالیز واریانس داده‌ها، ارتباط معنی‌داری بین گروه‌های خونی و گرید گلیسون در نمونه‌های بدخیم نشان نداد که این نتیجه با آزمون دانکن نیز تایید گردید ($P>0.05$). فراوانی افراد معتاد در سه گروه بدخیم، خوش‌خیم و سالم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از آزمون دانکن نشان داد که بین نمونه‌های بدخیم و سالم تفاوت معنی‌داری از لحاظ اعتیاد با درجه اطمینان ۹۵٪ وجود دارد.

PCR به روش استاندارد با استفاده از Master Mix (CinnaGen, Iran) (جدول ۱) انجام گرفت و محصولات برای تایید تکثیر صحیح، بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ الکتروفورز شدند. به منظور هضم آنزیمی، محصولات PCR طبق پروتکل (جدول ۲) با آنزیم محدود کننده AseI (Thermo Scientific, USA) در دمای ۳۷°C به مدت یک شب انکوبه شدند. پس از اتمام زمان انکوباسیون و غیر فعال کردن آنزیم در دمای ۶۵°C به مدت ۲۰ دقیقه، محصولات هضم آنزیمی بر روی ژل پلی آکریل آمید ۶٪ الکتروفورز شدند. چنانچه پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs34059726 در ژن *miRNA-124-a-3* رخ داده باشد دو قطعه ۳۶ و ۱۵۷ جفت بازی ایجاد می‌شود و در صورتی که توالی نرمال باشد توسط آنزیم AseI بریده نمی‌شود. بعنوان کنترل مثبت واکنش هضم آنزیمی قسمتی از ژن $\beta 2M$ که دارای جایگاه برش برای آنزیم AseI است استفاده گردید. ارتباط وقوع پلی‌مورفیسم و سرطان پروستات و همچنین فراوانی انواع گروه‌های خونی و افراد معتاد در بیماران مذکور با SPSS ورژن ۲۳ بررسی گردید.

جدول ۲: واکنش هضم آنزیمی با AseI

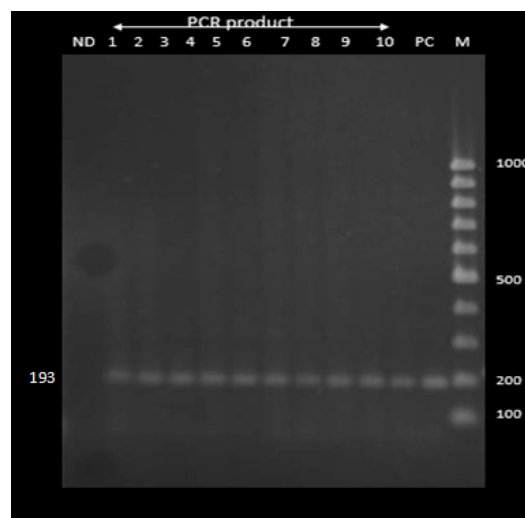
نوع ماده	مقدار برای یک نمونه
آب مقطر استریل	۸/۵ میکرولیتر
بافر O (10 X)	۱ میکرولیتر
آنزیم AseI	۰/۵ میکرولیتر
محصول PCR	۶ میکرولیتر

جدول ۳: توزیع فراوانی گروه‌های خونی و افراد معتاد در نمونه‌های مورد مطالعه

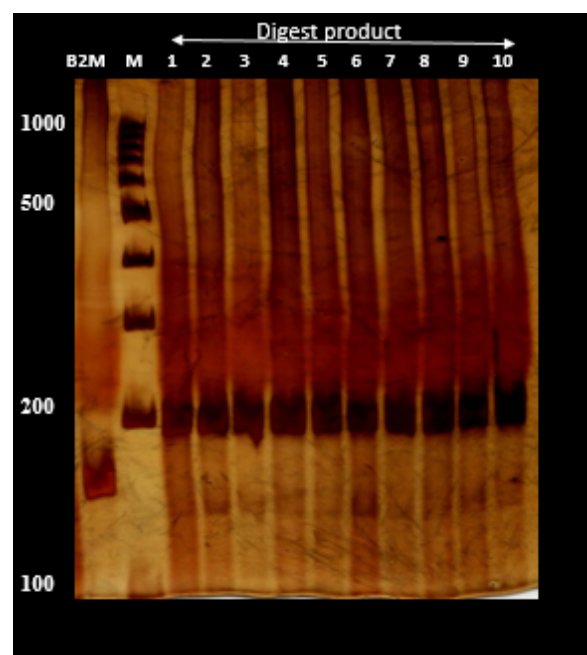
افراد سالم n=20	بیماران بدخیم n=20	بیماران خوش خیم n=20
۱۰۰٪ سالم	۱۵٪ اعتیاد	۵٪ اعتیاد
O=٪۴۵	O=٪۲۸/۹	O=٪۴۵
A=٪۲۱	A=٪۴۲/۲	A=٪۳۵
B=٪۲۴	B=٪۲۸/۹	B=٪۵
AB=٪۱۰	AB=٪۰	AB=٪۱۵

بحث

miR-124-a-3 یک مولکول RNA کوچک سلولی است که کاهش بیان آن در بسیاری از سرطان‌ها نشان داده شده است^{۱۷،۱۶}. بیان *miR-124-a-3* در سرطان پروستات کاهش چشمگیری می‌یابد^{۱۸}. ورود *miR-124-a-3* به رده‌های سلول‌های سرطان پروستات، رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی را متوقف می‌نماید که این امر تاییدی بر نقش سرکوبگری تومور این ژن می‌باشد^{۱۴}. یکی از مکانیزم‌هایی که موجب تغییر بیان میرها در سرطان‌ها می‌گردد، پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در توالی ژنی آن‌ها می‌باشد^{۱۹}. امروزه مطالعات زیادی نشان می‌دهند که SNPs ممکن است در نواحی مختلفی از توالی میر، محل اتصال آن در رونوشت هدف و یا در هر یک از کمپلکس‌های دخیل در پردازش و بلوغ میرها اتفاق بیافتد و بسته به اهمیت جایگاه پلی مورفیسم و تاثیر آن بر عملکرد و بیان میرها، آن‌ها می‌توانند در ایجاد بیماری‌ها و سرطان‌های مختلف دخیل باشند^{۲۰-۲۴}. نقطه شناسایی و اتصال میرها به ژن هدفشان یک توالی ۶-۸ نوکلئوتیدی به نام منطقه‌ی هسته‌ای (seed sequence) می‌باشد و بررسی‌های بیوانفورماتیکی نشان داده است که تغییر در rs34059726 واقع در منطقه‌ی هسته‌ای *miR-124-a-3* موجب تغییر ساختار آن و در نتیجه تغییر در برهمکنش آن با ژن‌های پایین‌دستی و در نهایت سرطانی شدن سلول‌های پروستات می‌گردد^{۱۵}. از جمله این ژن‌ها، ژن گیرنده‌ی آندروژن است که در بروز سرطان پروستات نقش بسزایی دارد^{۱۴}. بررسی نمونه‌های مورد آزمایش نشان داد که تنها نوکلئوتید G در جایگاه rs34059726 وجود دارد و



شکل ۱: نتایج حاصل از PCR ژن *miR-124-a-3* بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد. M: مارکر DNA، PC: کنترل مثبت، ND: کنترل منفی، ۱-۱۰: نمونه‌های بیماران.



شکل ۲: نتایج حاصل از واکنش هضم آنزیمی ژن *miR-124-a-3* با آنزیم AseI و B2M (کنترل). M: مارکر DNA، ۱-۱۰: هضم آنزیمی نمونه‌های بدخیم

ژاپن نشان داده شد که احتمال عود مجدد سرطان پروستات بعد از جراحی در افراد دارای گروه خونی A بیشتر از سایر گروه‌های خونی بوده اما احتمال بروز مجدد سرطان پروستات در گروه خونی O کمتر می‌باشد.^{۳۰}

نتایج ما همسو با حسینی و همکاران نشان داد با وجود فراوانی ۴۰، ۳۲، ۱۹، ۹ درصدی گروه‌های خونی O، A، B و AB در جمعیت گنبدکاووس، گروه خونی A بیشترین فراوانی را در بین مبتلایان به سرطان پروستات (گروه بدخیم) در جمعیت گنبدکاووس تشکیل می‌دهد.^{۳۱}

سیگار کشیدن خطر بروز و عود مجدد، متاستاز و مرگ و میر ناشی از سرطان پروستات را افزایش می‌دهد.^{۳۳،۳۲} بررسی داده‌های ما نیز هم راستا با مطالعات انجام شده، نشان داد که بین نمونه‌های بدخیم و سالم از نظر اعتیاد تفاوت معنی‌دار وجود دارد.

از آنجایی که تاکنون هیچ مطالعه‌ی ژنتیکی از سرطان پروستات در شهرستان گنبدکاووس صورت نگرفته است و همچنین شیوع بالای این سرطان، این بررسی شروعی برای مطالعات بیشتر و جامع‌تر در این زمینه می‌باشد.

پلی‌مورفیسمی در این ناحیه مشاهده نشد. احتمالاً وقوع پلی‌مورفیسم در نواحی دیگری از *miR-124-a-3* می‌تواند در عدم عملکرد *miR-124-a-3* و یا کاهش بیان آن و در نتیجه بروز سرطان پروستات دخیل باشد. یکی از علل اصلی وجود پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی، تفاوت ژنتیکی در اقوام و نژادهای مورد مطالعه می‌باشد بطوریکه آزمایشات انجام شده در نقاط مختلف جهان نشان داده است که فراوانی پلی‌مورفیسم‌ها در بین نژادهای متفاوت یکسان نمی‌باشد.^{۲۱،۲۵} همچنین عوامل اپی‌ژنتیکی با توجه به نقش موثری که در ایجاد سرطان‌ها دارند و موقعیت خاص شهرستان گنبدکاووس بعنوان یکی از مراکز عمده‌ی سرطان‌ها به ویژه سرطان‌های گوارشی در دنیا می‌توانند یکی از فاکتورهای موثر در الگوی پلی‌مورفیسمی متفاوت و خاص در جمعیت مورد مطالعه باشد.^{۲۶}

ارتباط گروه خونی با سرطان پروستات در چندین مطالعه اپیدمیولوژیکی در نقاط مختلف بررسی شده است.^{۲۷،۲۸} در مطالعه‌ای در آمریکا نشان داده شد که نوع گروه خونی با امکان ابتلا به سرطان پروستات ارتباطی ندارد ولی بطور کلی احتمال ابتلا به سرطان پروستات در افراد دارای گروه خونی AB نسبت به افراد دارای گروه خونی O کمتر می‌باشد.^{۲۹} همچنین در مطالعه‌ی دیگری در

References

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International journal of cancer* 2015;136(5):E359-86.
2. Mohagheghi MA, Mosavi-Jarrahi A, Malekzadeh R, Parkin M. Cancer incidence in Tehran metropolis: the first report from the Tehran Population-based Cancer Registry, 1998-2001. *Archives of Iranian medicine* 2009;12(1):15-23.
3. Bostwick DG, Burke HB, Djakiew D, Euling S, Ho SM, Landolph J, et al. Human prostate cancer risk factors. *Cancer* 2004;101(10 Suppl):2371-490.
4. Tang B, Han CT, Gan HL, Zhang GM, Zhang CZ, et al. Smoking increased the risk of prostate cancer with grade group ≥ 4 and intraductal carcinoma in a prospective biopsy cohort. *The Prostate* 2017;77(9):984-9.
5. Wang Z, Liu L, Ji J, Zhang J, Yan M, Zhang J, et al. ABO blood group system and gastric cancer: a case-control study and meta-analysis. *International journal of molecular sciences* 2012;13(10):13308-21.
6. Mucci LA, Hjelmborg JB, Harris JR, Czene K, et al. Familial Risk and Heritability of Cancer Among Twins in Nordic Countries. *Jama* 2016;315(1):68-76.
7. Djuranovic S, Nahvi A, Green R. miRNA-mediated gene silencing by translational repression followed by mRNA deadenylation and decay. *Science* 2012;336(6078):237-40.
8. Shenouda SK, Alahari SK. MicroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor? *Cancer metastasis reviews* 2009;28(3-4):369-78.

9. Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, Meyer J, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of tissue-specific microRNAs from mouse. *Current biology: CB*. 2002;12(9):735-9.
10. Ando T, Yoshida T, Enomoto S, Asada K, Tatematsu M, Ichinose M, et al. DNA methylation of microRNA genes in gastric mucosae of gastric cancer patients: its possible involvement in the formation of epigenetic field defect. *International journal of cancer* 2009;124(10):2367-74.
11. Furuta M, Kozaki KI, Tanaka S, Arai S, Imoto I, Inazawa J. miR-124 and miR-203 are epigenetically silenced tumor-suppressive microRNAs in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 2010;31(5):766-76.
12. Lujambio A, Ropero S, Ballestar E, Fraga MF, Cerrato C, Setien F, et al. Genetic unmasking of an epigenetically silenced microRNA in human cancer cells. *Cancer research* 2007;67(4):1424-9.
13. Chen J, Xiao H, Huang Z, Hu Z, Qi T, Zhang B, et al. MicroRNA124 regulate cell growth of prostate cancer cells by targeting iASPP. *International journal of clinical and experimental pathology* 2014;7(5):2283-90.
14. Shi XB, Xue L, Ma AH, Tepper CG, Gandour-Edwards R, Kung HJ, et al. Tumor suppressive miR-124 targets androgen receptor and inhibits proliferation of prostate cancer cells. *Oncogene* 2013;32(35):4130-8.
15. Gong J, Tong Y, Zhang HM, Wang K, Hu T, Shan G, et al. Genome-wide identification of SNPs in microRNA genes and the SNP effects on microRNA target binding and biogenesis. *Human mutation* 2012;33(1):254-63.
16. Xie C, Han Y, Liu Y, Han L, Liu J. miRNA-124 down-regulates SOX8 expression and suppresses cell proliferation in non-small cell lung cancer. *International journal of clinical and experimental pathology* 2014;7(10):6534-42.
17. Hunt S, Jones AV, Hinsley EE, Whawell SA, Lambert DW. MicroRNA-124 suppresses oral squamous cell carcinoma motility by targeting ITGB1. *FEBS letters* 2011;585(1):187-92.
18. Walter BA, Valera VA, Pinto PA, Merino MJ. Comprehensive microRNA Profiling of Prostate Cancer. *Journal of Cancer*. 2013;4(5):350-7.
19. Yang W, Chendrimada TP, Wang Q, Higuchi M, Seeburg PH, Shiekhattar R, et al. Modulation of microRNA processing and expression through RNA editing by ADAR deaminases. *Nature structural & molecular biology*. 2006;13(1):13-21.
20. Catucci I, Yang R, Verderio P, Pizzamiglio S, Heesen L, Hemminki K, et al. Evaluation of SNPs in miR-146a, miR196a2 and miR-499 as low-penetrance alleles in German and Italian familial breast cancer cases. *Human mutation* 2010;31(1):E1052-7.
21. Hu Z, Liang J, Wang Z, Tian T, Zhou X, Chen J, et al. Common genetic variants in pre-microRNAs were associated with increased risk of breast cancer in Chinese women. *Human mutation* 2009;30(1):79-84.
22. Yang H, Dinney CP, Ye Y, Zhu Y, Grossman HB, Wu X. Evaluation of genetic variants in microRNA-related genes and risk of bladder cancer. *Cancer research*. 2008;68(7):2530-7.
23. Sun J, Zheng SL, Wiklund F, Isaacs SD, Li G, Wiley KE, et al. Sequence variants at 22q13 are associated with prostate cancer risk. *Cancer research* 2009;69(1):10-5.
24. Qi P, Dou TH, Geng L, Zhou FG, Gu X, Wang H, et al. Association of a variant in MIR 196A2 with susceptibility to hepatocellular carcinoma in male Chinese patients with chronic hepatitis B virus infection. *Human immunology* 2010;71(6):621-6.
25. Pourshams A, Khademi H, Malekshah AF, Islami F, Nouraei M, Sadjadi AR, et al. Cohort Profile: The Golestan Cohort Study--a prospective study of oesophageal cancer in northern Iran. *International journal of epidemiology* 2010;39(1):52-9.
26. Pourshams A, Saadatian-Elahi M, Nouraei M, Malekshah AF, Rakhshani N, Salahi R, et al. Golestan cohort study of oesophageal cancer: feasibility and first results. *British journal of cancer* 2005;92(1):176-81.
27. El Jellas K, Hoem D, Hagen KG, Kalvenes MB, Aziz S, Steine SJ, et al. Associations between ABO blood groups and pancreatic ductal adenocarcinoma: influence on resection status and survival. *Cancer medicine* 2017;6(7):1531-40.
28. Cozzi GD, Levinson RT, Toole H, Snyder MR, Deng A, Crispens MA, et al. Blood type, ABO genetic variants, and ovarian cancer survival. *PloS one* 2017;12(4):e0175119.
29. Urun Y, Wilson KM, Shui IM, Giovannucci EL, Wolpin BM, Nguyen PL, et al. ABO blood group and risk of lethal prostate cancer. *Journal of Clinical Oncology* 2014;32:69-69.
30. Markt SC, Shui IM, Unger RH, Urun Y, Berg CD, Black A, et al. ABO blood group alleles and prostate cancer risk: Results from the breast and prostate cancer cohort consortium (BPC3). *The Prostate* 2015;75(15):1677-81.
31. Mirhosseini MA, Baniagheel SS, Balkhi MR, Seydin MS. Frequency of ABO and Rh blood groups in Golestan populations blood donors in 2006-2010. *Quarterly journal of blood* 2012;9(3):358-362 [in Persian].

32. Rohrmann S, Linseisen J, Allen N, Bueno-de-Mesquita HB, Johnsen NF, Tjonneland A, et al. Smoking and the risk of prostate cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *British journal of cancer* 2013;108(3):708-14.
33. Moreira DM, Aronson WJ, Terris MK, Kane CJ, Amling CL, Cooperberg MR, et al. Cigarette smoking is associated with an increased risk of biochemical disease recurrence, metastasis, castration-resistant prostate cancer, and mortality after radical prostatectomy: results from the SEARCH database. *Cancer* 2014;120(2):197-204.

Mina Lashkarboloki¹, Sohrab Boozarpour^{*2}, Eisa Jorjani², Hossein Sabouri³, Masood Fahimi⁴

¹ M.Sc Student of Molecular and Cell Biology-Genetics, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Gonbad kavous University, Gonbad kavous, Golestan, Iran

² Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Gonbad kavous University, Gonbad kavous, Golestan, Iran

³ Associate Professor, Department of Plant Production, Collage of Agriculture Science and Natural Resource, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Golestan, Iran

⁴ Ph.D Laboratory Sciences, Central Medical Lab, Khatamolanbia Hospital, Gonbad Kavous, Golestan, Iran

Association Study of *miR-124-a-3* Gene rs34059726 Polymorphism with Prostate Cancer in Gonbad Kavous

Received: 18 May 2018; Accepted: 21 Jan. 2019

Abstract

Background: MiRNAs are one of the most important genetic regulators that regulate more than 50 percent of the human genome. *MiR-124-a-3* is a tumor suppressor miRNA which its expression dramatically reduced in prostate cancer tumor cells. Since miRNA binding to the transcript of target genes by seed sequence, any mutations and changes in this region could be effective on its performance and identify target genes.

Methods: Case-control study, used for assessment of association rs3405976 polymorphism in *miR-124-a-3* gene with prostate cancer occurrence in 40 paraffin embedded tissue cancer samples and 5 ml control blood samples. After DNA extraction, the polymorphism determined with PCR-RFLP technique.

Results: The GG genotype distribution in rs34059726 position of *miR-124-a-3* gene showed in all patients and normal individuals. Blood group A with 42.2% have the most frequency in malignant patients and also, frequency of addicted patients reported 15% in malignant and 5% in benign patients.

Conclusion: rs34059726 polymorphism in *miR-124-a-3* does not have associated with incidence of prostate cancer in the Gonbad kavous population and possibly other mechanisms are involved in decreased expression of *miR-124-a-3* in prostate cancer in this population. In this population, addiction is a risk factor for prostate cancer and patients frequently have blood group A.

Keywords: Prostate cancer, miRNA, *miR-124-a-3*, Polymorphism, PCR-RFLP

*Corresponding Author:

Assistant Professor,
Department of Biology,
Faculty of Basic Sciences,
Gonbad Kavous
University, Gonbad
Kavous, Golestan, Iran

Tel: 01733262660
E-mail: so.boozarpour@gmail.com