دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال بیست و یکم، شماره ۳، صفحه ۱۹۶ - ۱۸۶ (مرداد و شهریور ۱۳۹۷)

Iran South Med J 2018; 21(3): 186-196

بررسی بیان ژن JAK2 و MicroRNA-216a برروی بیماران مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد

نازنین سیداسماعیلی (MSc)[1*]، خدیجه عنصری (PhD)[1**]

[1] گروه زیست‌شناسی، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران

(دریافت مقاله: ۹۶/۵/۱۵- پذیرش مقاله: ۹۶/۱۰/۱۶)

چکیده

زمینه: ژن **JAK2** در مسیر **JAK/STAT** که یکی از اصلی‌ترین مسیرهای انتقال اثر فاکتورهای رشد و سیتوکین‌های مختلف به هسته سلول می‌باشد فعالیت می‌کند که بعد از فعال شدن باعث تحریک رشد سلولی، تمایز و مهاجرت می‌شود. افزایش بیان **miR-216a** باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی و افزایش آپوپتوز سلولی از طریق مهار مسیر سیگنال **JAK2/STAT3** می‌شود. هدف از این مطالعه، بررسی بیان **miR-216a** و ژن هدف آن یعنی **JAK2** در بیماران مبتلا به **AML** می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد- شاهدی، بیان **miR-216a** و **JAK2** در ۶۰ بیمار مبتلا به **AML**، مراجعه کننده به بیمارستان میرزا کوچک خان جنگلی و ۳۴ نمونه خون سالم جمع‌آوری شده از بیمارستان دکتر شریعتی، تهران در سال ۹۵-۱۳۹۴، بررسی گردید. پس از استخراج **RNA** و سنتز **cDNA**، بیان این ژن‌ها با روش **Real time PCR** و به روش محاسباتی **ΔΔCT** صورت گرفت.

یافته‌ها: بیان ژن **JAK2** در بیماران در مقایسه با گروه کنترل به طور قابل توجهی افزایش داشته است که از لحاظ آماری نیز معنادار می‌باشد (**P=۰/۰۰۲۳**). در حالی‌که بیان **miR-216a** در بین بیماران در مقایسه با افراد سالم کاهش نشان داده است (**P=۰/۱۳۶۱**). ارتباط معناداری بین سن، جنسیت، پلاکت، هموگلوبین و دسته‌بندی **FAB** با بیان این ژن‌ها وجود نداشت (**P>۰/۰۵**). در حالی‌که ارتباط معناداری بین درصد سلول‌های سفید و بلاست‌ها با افزایش بیان ژن **JAK2** و کاهش بیان **miR-216a** مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: بررسی میزان بیان ژن‌های **miR-216a** و **JAK2** می‌تواند به عنوان عوامل تشخیصی استفاده شود و در تعیین پیش آگهی بیماران مبتلا به **AML** نقش مهمی داشته باشد.

واژگان کلیدی: سرطان میلوئیدی حاد، ژن **JAK2**، **miR-216a**، **Real- time PCR**

** گروه زیست‌شناسی، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران

Email: onsory@gmail.com
***ORCID: 0000-0002-3674-6264**
****ORCID: 0000-0001-5731-6987**

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]

مقدمه

سرطان خون حدود ۸ درصد کل سرطان‌های جمعیت انسانی و حدود ۷ درصد مرگ ومیر ناشی از بدخیمی‌ها را تشکیل می‌دهد و رتبه پنجم کشندگی در جهان و رتبه دوم را در ایران به خود اختصاص داده است. در این بین، سرطان خون میلوئید حاد (Acute Myeloid Leukemia)، از لحاظ فنوتیپی و ژنوتیپی یک بیماری هتروژن است که با تجمع، تکثیر و مقاومت به آپوپتوز سلول‌های پیش‌ساز خونساز میلوئیدی و همچنین مهار تمایز آنها در مغز استخوان و خون محیطی همراه می‌باشد که سلول‌های لوسمیک موجب اختلال در بلوغ سلول‌های پیش‌ساز نرمال رده میلوئید، اریتروئید و مگاکاریوسیتی می‌شوند (۱). بلاست‌ها یا سلول‌های خونی سرطانی در AML غیرطبیعی‌اند و به گلبول‌های سفید سالم تبدیل نمی‌شوند. سلول‌های خونی سرطانی در مغز استخوان و خون جمع می‌شوند، بنابراین فضای کم‌تری برای گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز و پلاکت‌های سالم باقی می‌ماند. در این هنگام، ابتلا به عفونت، خونریزی شدید و در نتیجه کم‌خونی حاصل می‌گردد (۲). این سرطان رایج‌ترین لوسمی حاد در بزرگسالان و افراد بالای ۶۰ سال است و شیوع آن در مردان بیشتر از زنان می‌باشد (۳). این نوع سرطان دومین سرطان خون شایع (۱۸/۵ درصد) و سومین سرطان خون کشنده در ایران گزارش شده است. تغییر در بیان بسیاری از ژن‌ها باعث افزایش خطر ابتلا به این بیماری می‌گردد. یکی از این ژن‌ها، ژن JAK2 (Janus Kinase 2)، کد کننده پروتئین تیروزین کیناز سیتوپلاسمی است که در انتقال پیام سیتوکین‌ها و هورمون‌های رشد دخالت دارد. این آنزیم معمولاً با گیرنده پرولاکتین همراه می‌باشد و به اینترفرون گاما متصل می‌شود. در دو دهه اخیر، اهمیت و نقش JAK2 در نئوپلاسم میلوپرولیفراتیو شناخته شده است و نتایج گزارشات حاکی از ارتباط بین اختلالات تکثیری رده میلوئیدی با وقوع موتاسیون در دمین کینازی کاذب این گیرنده می‌باشد. مطالعات بیوشیمیایی نشان داده است که JAK2 در مسیر سیگنالی اعضایی از گیرنده‌های تک زنجیره (خانواده گیرنده اینترلوکین ۳، خانواده گیرنده گلیکوپروتئین ۱۳۰ و خانواده سیتوکین گیرنده کلاس ۲) فعال می‌شود (۴). اعضای خانواده JAK شامل TYK2، JAK3، JAK2 و JAK1 می‌باشد که این کینازهای سیتوپلاسمی دارای دو ناحیه فعال و غیرفعال هستند (۸-۵). این گیرنده تیروزین کینازی از نظر ساختمانی دارای هفت ناحیه شامل نواحی همولوژی JH1 تا JH7 می‌باشد که چهار حوزه اصلی گیرنده را تشکیل می‌دهند. ژن JAK2 که اولین بار در سال ۱۹۸۹ کلون شد، بر روی کروموزوم 9p24 قرار داشته و دارای ۲۵ اگزون می‌باشد و پروتئین JAK2 را که دارای ۱۱۳۲ اسید آمینه و ۱۳۰/۷ کیلو دالتون است کد می‌کند (۹ و ۱۰). ژن JAK2 در مسیر JAK/STAT که یکی از اصولی‌ترین سیگنال‌ها جهت انتقال اثر فاکتورهای رشد و سیتوکین‌های مختلف به هسته سلول می‌باشد فعالیت می‌کند. این سیگنال بعد از فعال شدن باعث تحریک رشد سلولی، رگ زایی، تمایز، مهاجرت و آپوپتوز می‌شود (۱۳-۱۱). موتاسیون‌هایی که باعث ایجاد اختلال در تنظیم این مسیر گشته و یا باعث فعال ماندن این سیگنال به‌طور ممتد و مداوم می‌شوند، شروع بیماری‌های التهابی و انواع لوسمی را به همراه دارند. اتصال لیگاندهای مختلفی مانند اینترفرون، اینترلوکین و فاکتورهای رشد به گیرنده‌های سلولی وابسته به سیگنال JAK، باعث افزایش فعالیت کینازی این گیرنده‌ها می‌شود (۱۴). پروتئین‌های فعال

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]

شده، دنباله تیروزینی گیرنده‌ها را فسفریله کرده و باعث ایجاد جایگاه‌های اتصال برای پروتئین‌هایی که دارای دمین‌های SH2 هستند می‌شوند. از جمله این پروتئین‌ها STATs هستند که بعد از اتصال به گیرنده‌ها، دمین‌های ناحیه تیروزین آنها توسط JAKs فسفریله و به صورت دایمر در می‌آیند. این STATs فعال شده فرم‌های هترو و هومو دایمر تشکیل داده، از سطح سلول به هسته مهاجرت نموده و درون هسته تجمع پیدا می‌کنند و توانایی اتصال به نواحی تنظیمی (پروموتر و افزایش دهنده‌ها) ژن‌ها و فعال کردن ژن‌های پایین دست رونویسی را پیدا می‌کنند (۱۷-۱۵).

فعالیت غیرطبیعی JAK/STAT ممکن است به علت سرپیچی از تکثیر، تمایز و مرگ سلولی زمینه را برای لوسمی فراهم کند (۸). در کنار نقش اولیه فاکتورهای رونویسی، در چند سال اخیر، miRNAs به عنوان عناصر تنظیمی اپی ژنتیک نقش تعیین کننده‌ای در تمایز بافتی، تکامل اندام‌ها، تکثیر سلولی، تولید و ترشح پروتئین‌ها، تنظیم بیان ژن‌ها، تداوم توانایی سلول‌های بنیادی و آپوپتوز ایفا می‌کنند. تغییر بیان miRNAs در بسیاری از سرطان‌های انسانی گزارش شده است و شواهد مستدلی مبنی بر نقش کلیدی آنها به عنوان انکوژن یا سرکوبگر تومور در توسعه بسیاری از بدخیمی‌های انسانی موجود می‌باشد (۱۸ و ۱۹). این MicroRNAs بالغ، از طریق جفت شدن با 3'UTR مولکول mRNAs هدف، باعث تجزیه یا مهار ترجمه شده و نقش تنظیمی خود را اعمال می‌نمایند. تغییر بیان MicroRNAs در مسیر JAK/STAT بر روی آنکوژن‌ها و ژن‌های سرکوب کننده تومور تأثیر گذاشته و در فرآیند سرطانی شدن سلول‌ها نقش بسزایی دارد. تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که JAK2 یک ژن هدف برای miR216-a می‌باشد، به طوری که STAT فسفریله شده توسط miR-216a مهار می‌گردد. درمان سلول‌های سرطانی با miR-216a به طور قابل توجهی رشد سلولی را مهار کرده و آپوپتوز سلولی را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، بیان ژن‌های پایین دست JAK2/STAT3 (که ژن‌های ضد آپوپتوز هستند) توسط miR-216a کاهش می‌یابد. از طرفی، افزایش بیان miR-216a به طور قابل توجهی باعث مهار مسیر سیگنال JAK2/STAT3 و مهار رشد تومور می‌گردد (۲۰). بنابراین، هدف از این مطالعه، بررسی تغییر بیان ژن JAK2 به عنوان ژن هدف miR-216a و تأثیر آنها در ایجاد بیماری AML در جمعیت مورد مطالعه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مورد- شاهدی، بررسی بیان miR-216a و ژن هدف JAK2 در ۶۰ نفر از بیماران مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد از بیمارستان میرزا کوچک خان جنگلی، تهران در یک بازه زمانی ۹ ماهه (۹۵-۹۴) جمع‌آوری و با ۳۴ نمونه خون از افراد سالم مراجعه کننده به بیمارستان شریعتی، تهران مقایسه گردید. بعد از کسب رضایت‌نامه کتبی آگاهانه از بیماران و افراد سالم بر طبق رهنمود اخلاقی و با کد ۲۹۸۴۰۵۱۳۹۷۲۰۱۳ نمونه‌گیری به‌صورت تصادفی انجام گرفت. خون بیماران پس از تشخیص نوع سرطان، در داخل لوله‌های آزمایشگاهی حاوی EDTA جمع‌آوری و پس از استخراج RNA، بیان ژن JAK2 و miR-216a در آنها بررسی و با گروه کنترل مقایسه گردید. محدوده سنی بیماران بین ۳۲ تا ۷۴ سال و محدوده سنی افراد سالم بین ۳۱ تا ۷۸ سال می‌باشد. تشخیص نوع سرطان خون بر اساس طبقه‌بندی FAB با رنگ‌آمیزی رومانوسکی لام خون محیطی انجام گردید.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]

آزمایش CBC برای بررسی خون محیطی بیماران به منظور اندازه‌گیری WBC، PLT، Hb و تعیین درصد بلاست بیماران به‌طور جداگانه صورت گرفت.

استخراج RNA و تهیه cDNA

از نمونه‌های جمع‌آوری شده، استخراج RNA توسط ترایزول صورت گرفت. نتایج جذب نوری RNAs استخراج شده جهت استفاده در مرحله سنتز cDNA توسط اسپکتروفوتومتر (Eppendorf ،England) خوانده شد. در این مرحله نمونه‌هایی با طول موج ۲۶۰/۲۸۰ نانو مولار با غلظت ۱/۷ تا ۱/۹ مورد تأیید بودند برای سنتز استفاده گردید. سنتز cDNA با استفاده از آنزیم ترانس کریپتاز معکوس و طبق مواد زیر که شامل ۱ میکرولیتر Random Hegzamer، ۱ میکرولیتر پرایمر Oligi dT، ۱ میکرولیتر dNTP، ۵ میکرولیتر RNA، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم MMULV، ۲ میکرولیتر MMULV Buffer، ۹/۵ میکرولیتر DEPC به هر میکروتیوب افزوده شد. کل واکنش در حجم ۲۰ میکرولیتر در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه برای سنتز cDNA و سپس ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد برای غیرفعال کردن آنزیم انجام شد. در انتهای این مرحله کل cDNA تک رشته‌ای حاصل شد و با خاصیت RNase موجود در آنزیم ترانس کریپتاز معکوس، RNA حذف شد.

Real time PCR

برای انجام Real time-PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر، از Master mix مقدار ۱۰ میکرولیتر، پرایمرهای R و F هر کدام ۰/۲ میکرولیتر و ۹/۱ میکرولیتر آب برداشت شد. از هر کدام در استریپ‌های هشت تایی ریخته و به هر استریپ مقدار ۰/۵ میکرولیتر از نمونه‌ها اضافه شد. پرایمر اختصاصی برای GAPDH (ژن رفرنس)، miR-216a و ژن JAK2 با استفاده از نرم‌افزار Gene Runner طراحی شد (جدول ۱).

جدول ۱) مشخصات و توالی پرایمرهای اختصاصی ژن‌های JAK2، miR-216a و ژن مرجع

ژن	Sequences 5′→3′	دما (Tm)
JAK2-F	TGCCAAAGGACATTCTTCAG	۵۸/۸۵
JAK2-R	ACTCCATTTGTCTGTTGCCA	۵۹/۱۴
miR-216a-F	GGGTAATCTCAGCTGGCAA	۵۱/۰۹
miR-216a-R	GTGCAGGGTCCGAGGT	۵۱/۰۶
GAPDH-F	ATGGAGAAGGCTGGGGCT	۶۲/۰۵
GAPDH-R	ATCTTGAGGCTGTTGTCATACTTCTC	۶۱/۶۲

اختصاصیت پرایمر و عدم آلودگی به DNA ژنومی توسط پیک منحنی ذوب اختصاصی (۸۲/۰۹، ۷۷/۱۷، ۷۴/۶۴ درجه سانتی‌گراد به ترتیب برای ژن‌های GAPDH، JAK2 وmiR-216a) مشخص گردید. تعیین کمیت نسبی در Real time-PCR (ABL-7500 ،USA) به وسیله اندازه‌گیری افزایش تشعشع فلورسنس در نتیجه اتصال رنگ سایبرگرین انجام گرفت. برنامه دمایی طبق جدول ۲ صورت گرفت و واکنش‌ها به صورت سه تایی به همراه یک واکنش بدون الگو برای هر ژن در پلیت ۹۶ چاهکی انجام شد. پس از انجام واکنش، داده‌های خام به صورت Ct از دستگاه استخراج شد و اندازه‌گیری

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]

میزان بیان با روش ΔΔCt انجام شد. از آزمون t نمونه‌های مستقل به منظور بررسی ارتباط بین پارامترهای کلینیکی بیماران مانند سن، جنس، شمارش سلول‌های سفید، هموگلوبین، پلاکت، بلاست و زیر گروه‌های FAB با بیان ژن JAK2 و miR-216a استفاده شد.

جدول ۲) برنامه حرارتی برای تکثیر ژن‌های JAK2، miR-216a و GAPDH

مرحله	چرخه	دما (درجه سانتی‌گراد)	زمان
واسرشتگی اولیه	۱	۹۵	۱۰ ثانیه
واسرشتگی	۴۰	۹۵	۵ ثانیه
اتصال و گسترش		JAK2=57 miR-216a=55 GAPDH=59	۶۰ ثانیه

آنالیز آماری

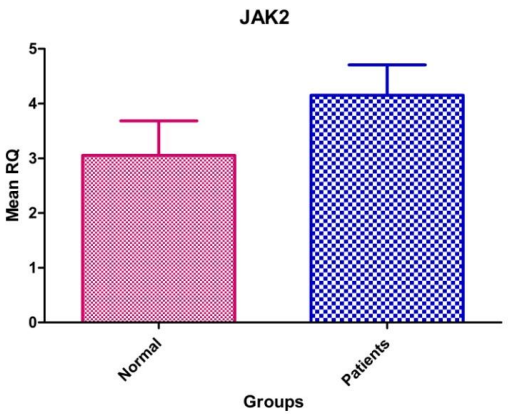
یافته‌ها توسط نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۱ و GraphPad prism 5 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. به منظور بررسی میزان بیان ژن از مقایسه میانگین Ct (چرخه آستانه) در سه بار تکرار استفاده شد. مقایسه میزان بیان ژن‌ها در دو گروه مورد و شاهد بر مبنای آزمون آماری T-test برای دو گروه مستقل انجام شد که در آن مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

اطلاعات دموگرافیک و خون‌شناسی بیماران در جدول ۳ نشان داده شده است. محدوده سنی بیماران بین ۳۲ تا ۷۴ سال و میانگین سنی ۵۳ سال می‌باشد و محدوده سنی افراد سالم بین ۳۱ تا ۷۸ سال و میانگین سنی ۵۴/۵ سال می‌باشد. انحراف معیار سن برای بیماران (±SD=۹/۸۱) و برای نمونه‌های سالم (±SD=۱۰/۰۳) می‌باشد. از ۶۰ نمونه جمع‌آوری شده از میان بیماران، ۴۱ نفر (۶۸/۳ درصد) را مرد و ۱۹ نفر (۳۱/۷) را زن تشکیل می‌دهند. در هنگام تشخیص ۳۴ درصد بیماران کمتر از ۱۰ در 10^9 گلبول سفید، ۲۰ درصد بیماران هموگلوبین کمتر از ۸۰ گرم/ دسی لیتر و ۴۰ درصد افراد بلاست بیش از ۵۰ داشتند. بر اساس طبقه‌بندی FAB شامل گروه‌های M1=۳ (٪۵)، M2=۲۱ (٪۳۵)، M3=۱۳ (٪۲۱/۶)، M4=۱۱ (٪۱۸/۳)، M5=۷ (٪۱۱/۷)، M6=۱ (٪۱/۷)، M7=۴(۶/۶۷) نفر بودند که بیشترین فراوانی بیمار مربوط به زیر گروه M۲ بوده است و ارتباط معناداری بین زیرگروه‌های FAB با بیان ژن JAK_2 و miR-216a در بیماران AML مورد مطالعه مشاهده نشد.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]

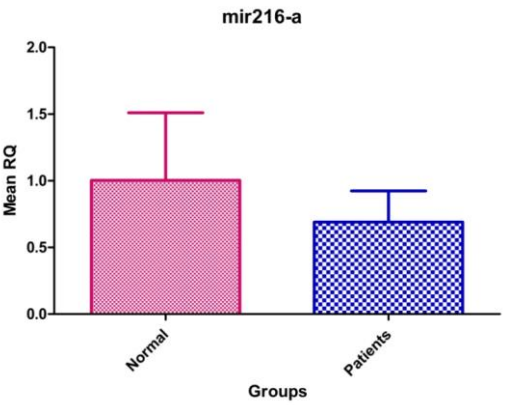
جدول ۳) مشخصات دموگرافیک و خون‌شناسی بیماران			
شاخص			
میانگین±انحراف معیار Mean(±SD)		۵۳ (± SD=۹/۸۱)	
سن بیماران(سال)		۳۲-۷۴	
جنس / تعداد بیماران(درصد)		مرد	۴۱ (٪۶۸/۳)
		زن	۱۹ (٪۳۱/۷)
متغیرهای بالینی بیماران/ تعداد بیماران (درصد)			
	≤۱۰	سلول‌های سفید ($\times 10^9$/L)	(٪۶۶)۳۹
	۱۰>		(٪۳۴)۲۱
	≤۸۰	هموگلوبین (g/dl)	(٪۸۰)۴۳
	۸۰>		(٪۲۰)۱۷
	<۵۰	پلاکت ($\times 10^9$/L)	(٪۴۴)۲۷
	۵۰>		(٪۵۶)۳۳
	<۵۰	پلاست مغز استخوان	(٪۴۰)۲۷
	۵۰>		(٪۶۰)۳۳
دسته‌بندی بر اساس *FAB	M1		(٪۵)۳
	M2		(٪۳۵)۲۱
	M3		(٪۲۱/۶)۱۳
	M4		(٪۱۸/۳)۱۱
	M5		(٪۱۱/۷)۷
	M6		(٪۱/۷)۱
	M7		(٪۶/۶۷)۴
*FAB French American British			

میانگین بیان JAK2 در بین دو گروه نشان دهنده افزایش بیان این ژن در بیماران در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد و از لحاظ آماری نیز معنادار گزارش شده است (P=۰/۰۰۲۳) (نمودار ۱). در حالی‌که میانگین بیان miR-216a در بیماران کمتر از افراد سالم می‌باشد ولی این کاهش بیان معنادار نمی‌باشد (P=۰/۱۳۶۱) (نمودار ۲).



نمودار ۱) نمودار مقایسه بیان ژن JAK2 در گروه افراد بیمار و سالم
Fig 1) JAK2 gene expression among patients and control

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]



نمودار ۲) نمودار مقایسه بیان miR-216a در گروه افراد بیمار و سالم
Fig 2) miR-216a expression among patients and control

پروتئین تیروزین کیناز JAK2 در تکثیر، رگزایی و ضدآپوپتوزی بودن سلول‌های سرطانی نقش دارد و اختلالات بیانی آن موجب بروز بیماری‌های متعددی از جمله سرطان می‌شود (۱۱). از طرفی تغییردر بیان MicroRNAs که در انواع پردازش‌های سلولی مانند تکثیر، تمایز و مرگ سلولی، نقش دارند احتمال ابتلا به انواع سرطان‌ها را افزایش می‌دهند (۲۱ و ۲۲). بیان غیرعادی MicroRNAs در مسیر JAK/STAT بر روی آنکوژن‌ها و ژن‌های سرکوب کننده تومور تأثیر گذاشته و در فرآیند سرطانی شدن سلول‌ها نقش مهمی ایفا می‌کنند (۲۳ و ۲۴).

با افزایش بیان miR-216a رشد سلولی مهار گشته و آپوپتوزیس افزایش می‌یابد. این فعالیت از طریق مهار STAT فسفریله شده و کاهش بیان ژن‌های پایین دست JAK2/STAT3 که ژن‌های ضد آپوپتوز هستند صورت می‌گیرد. بنابراین، افزایش بیان miR-216a به طور قابل توجهی باعث مهار مسیر سیگنال JAK2/STAT3 و مهار رشد تومور می‌گردد (۲۰). در تحقیقی که توسط ونگ بر روی چهار رده سلولی NSCLC انجام گرفت، میزان بیان miR-204 و ژن هدف آن با رده‌های سلولی سالم ریه مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان بیان miR-204 در رده سلول‌های سرطانی کاهش و بیان ژن JAK2 افزایش یافته است. بیان بالای miR-204 باعث مهار سلول‌های مهاجم می‌گردد. بنابراین افزایش بیان JAK2 به طور مؤثری باعث کاهش بیان miR-204 و در نتیجه متاستاز می‌گردد. نتایج به‌دست آمده از آن تحقیق حاکی از آن است که miR-204 به عنوان تومور سوپرسور عمل کرده و کاهش بیان آن باعث افزایش روند سرطانی شدن سلول‌ها می‌گردد، از این رو می‌توان از miR-204 به عنوان یک بیومارکر برای تشخیص و درمان سلول‌های ریوی بهره جست (۲۵). نتایج تحقیقات بر روی بیماران مبتلا به سرطان پانکراس نشان داد که miR-216a باعث کاهش JAK2 در سطح mRNA و پروتئین شده است. کاهش فسفریلاسیون مسیر سیگنالینگ STAT توسط miR-216a باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی و افزایش مرگ سلولی شده است. miR-216a عملکرد خود را با اتصال به mRNA مربوط به JAK2 و تداخل در روند ترجمه آن انجام داده و با کاهش میزان این محصول باعث کاهش تکثیر سلولی و افزایش آپوپتوز می‌شود (۲۶). ونگ و همکاران در تحقیق دیگری نشان دادند که miR-101 می‌تواند تکثیر سلول را با هدف قرار دادن مسیر سیگنالی JAK2/STAT3 مهار کند. این مسیر که با افزایش میزان IL-6 تحریک شده بود، توسط افزایش بیان miR-101 که در اثر کاهش بیان ژن JAK2 ایجاد شده بود، مهار گردید. بنابراین نتیجه این تحقیق نشان داد که مهار تکثیر سلول‌های اندوتلیال ریوی ممکن است یک استراتژی جدید برای جلوگیری از سندرم هپاتوپولمونر باشد (۲۷). در تحقیقی که نشان داد بیان miR-204 در بافت سرطان سینه و همچنین رده سلولی کشت شده سرطان سینه به میزان قابل توجهی کاهش بیان ژن JAK2 به عنوان یک هدف

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]

مستقیم در این دو دسته سلول‌ها افزایش یافته است. افزایش بیان miR-204 باعث مهار تکثیر سلولی شده و با انجام آپوپتوزیس باعث ایجاد اختلال در روند سرطانی شدن سلول‌ها شده است. در این تحقیق نشان داده شد که میزان بیان miR-204 با ژن‌های ضدآپوپتوز مانند BCL-2 و همچنین بقاء سلولی رابطه معکوس دارد. افزایش میزان miR-204 و تأثیر در میزان بیان ژن JAK2 مانع از فعال سازی STAT3، BCL-2 و زنده ماندن سلول شده است (۲۸). تحقیق انجام شده در سال ۲۰۱۰ حاکی از آن است که رابطه معکوسی بین میزان بیانmiR-375 و پروتئین JAK2 وجود دارد (۲۹). بیان miR-375 در سلول‌های سرطان معده به طور قابل ملاحظه‌ای میزان پروتئین JAK2 را کاهش داد و این افزایش بیان miR-375 باعث مهار تکثیر سلول‌های سرطان معده در *in vivo* و *in vitro* گردید. تحقیق فوق نشان داد که miR-375 به عنوان تومور سوپرسورعمل کرده و با هدف قرار دادن آنکوژن JAK2 باعث تنظیم تکثیر سلولی شده است (۲۹). نتایج حاصله از تحقیق حاضر هم‌راستا و مطابق با تحقیقات دیگر محققین نشان می‌دهد که کاهش بیان miR-216a در بیماران با افزایش بیان ژن هدف JAK2 همراه بوده است. بنابراین ژن JAK2 ژن هدف بسیاری از MicroRNAs می‌باشد که با تأثیر از این مولکول‌ها میزان فعالیت و عملکرد آن تنظیم می‌گردد و در صورت اختلال در عملکرد و تنظیم آن، در تکثیر سلولی و آپوپتوزیس اختلال ایجاد شده و سلول به سمت سرطانی شده پیش می‌رود.

نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه AML دومین سرطان خون شایع (۱۸/۵ درصد) و سومین سرطان خون کشنده در ایران به شمار می‌آید شناسایی و درک عملکرد ژن‌های دخیل می‌تواند در پیشگیری و یا درمان بیماری حائز اهمیت باشد. تغییر بیان MicroRNAs و ژن JAK2 در مسیر JAK/STAT و تأثیر آن بر روی دیگر ژن‌های هدف می‌تواند در تشخیص به هنگام این بیماری مؤثر باشد. با توجه به نتایج حاصله از این تحقیق می‌توان با بررسی میزان بیان miR-216a و ژن JAK2 در پیش آگهی این بیماری استفاده نمود. با توجه به نتایج به‌دست آمده از تحقیق پیش رو و با تکیه بر نقش miR-216a و ژن JAK2 هدف آن در تنظیم فعالیت‌های حیاتی سلول همچون آپوپتوز و ارتباط آن با بروز سرطان خون، انجام مطالعات تعقیبی در سایر اقوام ایرانی و در حجم وسیع‌تر به منظور دست‌یابی به یک جمع‌بندی مستدل امری اجتناب‌ناپذیر می‌باشد.

سپاس و قدردانی

این تحقیق نتیجه پایان‌نامه دانشجویی در دانشگاه آزاد واحد پرند می‌باشد و نویسندگان از پرسنل محترم بیمارستان‌های میرزاکوچک خان جنگلی و شریعتی که در جمع‌آوری نمونه‌ها یاریمان نمودند نهایت امتنان و تشکر را دارند.

تضاد منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1.Appelbaum FR, Rowe JM, Radich J, Dick JE. Acute myeloid leukemia. Hematology American Society of Hematology Education Program 2001: 62-86.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]

2.Jackson N, Menon BS, Zarina W, et al. Why is acute leukemia more common in males? A possible sex-determined risk linked to the ABO blood group genes. Ann Hetol. 1999;78(5):233-6.
3.Estey E, Döhner H. Acute myeloid leukaemia. The Lancet 2006; 368(9550): 1894-1907.
4.Schindler C, Strehlow I. Cytokines and STAT signaling. Advances in pharmacology 1999; 47: 113-74.
5.Ortmann RA, Cheng T, Visconti R, Frucht DM, O'Shea JJ. Janus kinases and signal transducers and activators of transcription: their roles in cytokine signaling, development and immunoregulation. Arthritis Res 2000; 2(1): 16-32.
6.Kaushansky K. On the molecular origins of the chronic myeloproliferative disorders: it all makes sense. Blood 2005; 105(11): 4187-90.
7.Mc Lornan D, Percy M, Mc Mullin MF. JAK2 V617F: a single mutation in the myeloproliferative group of disorders. The Ulster Medical J 2006; 75(2): 112-9.
8.Garofalo C, Surmacz E. Leptin and cancer. Journal of cellular physiology 2006; 207(1): 12-22.
9.Wilks AF. Two putative protein-tyrosine kinases identified by application of the polymerase chain reaction. Proceedings of the National Academy of Sciences 1989; 86(5): 1603-7.
10.Pritchard MA. Baker E, David F, et al. Two members of the JAK family of protein tyrosine kinases map to chromosomes 1p31. 3 and 9p24. Mammalian Genome 1992; 3(1): 36-8.
11.Wang T, Niu G, Kortylewski M, et al. Regulation of the innate and adaptive immune responses by Stat-3 signaling in tumor cells. Nature medicine 2004; 10(1): 48-54.
12.Chan KS, Sano S, Kiguchi K, et al. Disruption of Stat3 reveals a critical role in both the initiation and the promotion stages of epithelial carcinogenesis. The Journal of clinical investigation 2004; 114(5): 720-8.
13.Frank DA. STAT3 as a central mediator of neoplastic cellular transformation. Cancer letters 2007; 251(2): 199-210.
14.Leonard WJ, Imada K, Nakajima H, et al. Signaling via the IL-2 and IL-7 receptors from the membrane to the nucleus. Cold Spring Harb Symp Quant Biol. 1999; 64: 417-24.
15.Shuai K, Horvath CM, Huang LHT, et al. Interferon activation of the transcription factor Stat91 involves dimerization through SH2-phosphotyrosyl peptide interactions. Cell 1994; 76(5): 821-8.
16.Zhong Z, Wen Z, Darnell Jr JE. Stat3: a STAT family member activated by tyrosine phosphorylation in response to epidermal growth factor and interleukin-6. Science 1994; 264(5155): 95-8.
17.Lal A, Navarro F, Maher CA, et al. miR-24 Inhibits cell proliferation by targeting E2F2, MYC, and other cell-cycle genes via binding to "seedless" 3'UTR microRNA recognition elements. Mol Cell 2009;35(5):610-25.
18.Rosa A, Ballarino M, Sorrentino et al. The interplay between the master transcription factor PU. 1 and miR-424 regulates human monocyte/macrophage differentiation. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2007, 104(50): 19849-54.
19.Scholz M, Heinze S, Detjen KM, et al. Activated signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) supports the malignant phenotype of human pancreatic cancer. Gastroenterology 2003; 125(3): 891-905.
20.Wang S, Chen X, Tang M. MicroRNA-216a inhibits pancreatic cancer by directly targeting Janus kinase 2. Oncology reports 2014; 32(6): 2824-30.
21.Lujambio A, Lowe SW. The microcosmos of cancer. nature 2012; 482:(15) 347-55.
22.Mendell JT, Olson EN. MicroRNAs in stress signaling and human disease. Cell 2012; 148(6): 1172-87.
23.Croce CM. Causes and consequences of microRNA dysregulation in cancer. Nature reviews genetics 2009; 10(10): 704-14.
24.Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]

involved in cancers. PNAS 2004; 101(9): 2999-3004.
25.Wang P, Lv HY, Zhou DM, et al. miR-204 suppresses non-small-cell lung carcinoma (NSCLC) invasion and migration by targeting JAK2. Genet Mol Res. 2016; 15(2): 1-9
26.Hou BH, Jian ZX, Cui P, et al. miR-216a may inhibit pancreatic tumor growth by targeting JAK2. FEBS letters 2015; 589(17): 2224-32.
27.Wang L, Zhuang L, Rong H, Guo Y, Ling X, Wang R, et al. MicroRNA-101 inhibits proliferation of pulmonary microvascular endothelial cells in a rat model of hepatopulmonary syndrome by targeting the JAK2/STAT3 signaling pathway. Molecular medicine reports 2015;12(6):8261-7.
28.Wang X, Qiu W, ZhangG, Xu S, Gao Q, Yang Z. MicroRNA-204 targets JAK2 in breast cancer and induces cell apoptosis through the STAT3/BCl-2/survivin pathway." International journal of clinical and experimental pathology 2015; 8(5): 5017-25.
29.Ding L, Xu Y, Zhang W, et al. MiR-375 frequently downregulated in gastric cancer inhibits cell proliferation by targeting JAK2. Cell research 2010; 20(7): 784-93.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]

Iran South Med J 2018; 21(3): 186-196

Original Article

Expression of JAK2 and MicroRNA-216a in Patients with Acute Myeloid Leukemia

N. Seyedesmaeili (MSc)[1], Kh. Onsory (PhD)[1**]*

[1] Department of Biology, Parand Branch, Islamic Azad University, Parand, Iran

(Received 6 Aug, 2017 Accepted 6 Jan, 2018)

Abstract

Background: Janus Kinase 2 (JAK2) gene functions in JAK/STAT signaling pathway which is one the most important pathways to transfer the effect of growth factors and cytokines to the cell nucleus. Cell growth, differentiation and migration occur after JAK2 is activated. Moreover, overexpression of miR-216a markedly inhibits the JAK2/STAT3 signaling pathway and tumor growth. The purpose of this study was to determine the expression of miR-216a and JAK2 as its target gene in AML patients.

Materials and Methods: In this case-control study, the miR-216a and JAK2 expression was investigated in 60 AML patients admitted to Mirza Chochak Khane Jangali Hospital and 34 healthy individuals from Dr. Shariati Hospital, Tehran in 2015-2016. After RNA extraction and cDNA synthesis, the expression of these genes was evaluated using Real-time PCR (ΔΔCT computational).

Results: JAK2 gene expression was significantly increased in patients (P=0.0023). Meanwhile, miR-216a expression decreased in healthy individuals (P=0.1361). No significant relationship was observed between variables of age, sex, PLT, HGB, and FAB subtype and expression of the genes (P>0.05). However, a significant relationship was observed between variables of WBC and Blasts and expression of genes.

Conclusion: Expression of miR-216a and JAK2 can therefore be used as a diagnostic agent. They can have a role in prognosis of patients with AML.

Key words: Acute Myeloid Leukemia, JAK2 gene, miR-216a, Real-time PCR

©Iran South Med J. All rights reserved.

Cite this article as: Seyedesmaeili N, Onsory Kh. Expression of JAK2 and MicroRNA-216a in Patients with Acute Myeloid Leukemia. Iran South Med J 2018;21(3) :186-196

Copyright © 2018 Seyedesmaeili, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

[**]*Address for correspondence*: Department of Biology, Parand Branch, Islamic Azad University, Parand, Iran. Email: onsory@gmail.com
*ORCID: 0000-0002-3674-6264
**ORCID: 0000-0001-5731-6987

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]