Applied Biology
Online ISSN: 2538-3434
Homepage: http://sjoapb.journal.qom-iau.ac.ir

Review article

The role of miR-182 and FOXO gene in patients with colorectal cancer[1]

Mojgan Saghazadeh Assistant Professor, Department of Microbiology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran. Saghazadeh_99@yahoo.com
Effat Seyedhashemi PhD. Student, Departments of Molecular Medicine, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran. haniehsadatabbasi@gmail.com
Masimo Negrini Professor, Department of Experimental and Diagnostic Medicine and Interdepartmental Center for Research on Cancer, Ferrara University, Ferrara, Italy.Mo.saghazadeh@gmail.com
Shahla Mohammad Ganji Assistant Professor, Departments of Molecular Medicine, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran **(Corresponding author).** shahlamg@yahoo.com

Abstract

Objective: Colorectal cancer (CRC) is the third most common cancer in the world. Every year, more than 2-1 million new patients with this cancer are diagnosed and more than 600,000 people die. In the past decade, it has been established that aberrant changes in microRNA expression play a functional role in the initiation and progression of CRC. The aim of this study is to investigate the role of miR-182 and its effect on the regulation of FOXO proteins, especially in the initiation and progression of tumors in patients with CRC.

Materials and methods: In this research, recent articles and reports from the Cancer Genome Atlas (TCGA) database regarding miR-182, as an oncogene that negatively regulates several tumor suppressor genes, including BRCA1, FOXO1, FOXO3, and MITF, were analyzed and checked.

Findings: The results show that miR-182 is significantly increased in CRC tissue compared to normal intestinal tissue and causes negative regulation of FOXO1 and FOXO3 genes.

Conclusion: The regulation of FOXO proteins by miR-182 is involved in tumor initiation and progression in CRC patients. How signaling networks integrate with FOXO transcription factors to modulate developmental, metabolic, and tumor suppressor functions in normal tissues and colorectal cancer provides a new perspective on tumorigenesis and metastasis.

Keywords: MiR-182, FOXO, Colorectal cancer.

1. **Received:** 2022/04/03 ; **Received in revised form:** 2022/05/06 ; **Accepted:** 2022/06/08 ; **Published online:** 2022/06/22

Cite this article: Saghazadeh M., Seyedhashemi, E., Negrini, M. & Mohammad Ganji, Sh. (2022). The role of miR-182 and FOXO gene in patients with colorectal cancer. *Applied Biology*, 12(46), 87-104.

© the authors

Publisher: Qom Islamic Azad University

بیولوژی کاربردی
شاپا الکترونیکی: ۲۵۳۸-۳۴۳۴
Homepage: http://sjoapb.journal.qom-iau.ac.ir

مقاله مروری

نقش *miR-182* و ژن *FOXO* در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال[۱]

مژگان سقازاده | استادیار، گروه میکروبیولوژی، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران. saghazadeh_99@yahoo.com
عفت سید هاشمی | دانشجوی دکتری، گروه پزشکی مولکولی، پژوهشکده بیوتکنولوژی پزشکی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران. haniehsadatabbasi@gmail.com
ماسیمو نگرینی | استاد، گروه تشخیص و مورفولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه فرارا، فرارا، ایتالیا. mo.saghazadeh@gmail.com
شهلا محمدگنجی | استادیار، گروه پزشکی مولکولی، پژوهشکده بیوتکنولوژی پزشکی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران (نویسنده مسئول). shahlamg@yahoo.com

چکیده

هدف: سرطان کولورکتال (CRC) سومین سرطان شایع در دنیا است. سالانه بیش از ۱-۲ میلیون بیمار جدید مبتلا به این سرطان شناسایی و بیش از ۶۰۰,۰۰۰ نفر مبتلایان فوت می‌کنند. در دهه گذشته، مشخص شده که تغییرات نابجا در بیان microRNA نقشی کاربردی در شروع و پیشرفت CRC دارد. هدف پژوهش حاضر، بررسی نقش *miR-182* و اثر آن بر تنظیم پروتئین‌های *FOXO* بخصوص در شروع و پیشرفت تومور در بیماران مبتلا به CRC است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش مقالات اخیر و گزارش‌های پایگاه داده (TCGA) اطلس ژنوم سرطان در خصوص *miR-182*، به عنوان انکوژنی که باعث تنظیم منفی چندین ژن سرکوبگر تومور از جمله *BRCA1*، *FOXO1*، *FOXO3* و *MITF* می‌شود، مورد تحلیل و بررسی قرار گرفته است.

یافته‌ها: نتایج نشان می‌دهد که *miR-182* به طور قابل توجهی در بافت CRC در مقایسه با بافت طبیعی روده افزایش بیان دارد و باعث تنظیم منفی ژن‌های *FOXO1* و *FOXO3* می‌شود.

نتیجه‌گیری: تنظیم پروتئین‌های *FOXO* توسط *miR-182* در شروع و پیشرفت تومور در بیماران مبتلا به CRC نقش دارد. نحوه ادغام شبکه‌های سیگنالینگ با فاکتورهای رونویسی *FOXO* برای تعدیل عملکردهای رشدی، متابولیک و سرکوب‌کننده تومور در بافت‌های طبیعی و سرطان کولورکتال دیدگاه جدیدی در مورد تومورزایی و متاستاز ارائه می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: *miR-182*، *FOXO*، سرطان کولورکتال.

---

۱. **تاریخ دریافت:** ۱۴۰۱/۰۱/۱۳؛ **تاریخ بازنگری:** ۱۴۰۱/۰۲/۱۶؛ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۱/۰۳/۱۸؛ **تاریخ انتشار:** ۱۴۰۱/۰۴/۰۱
استناد: سقازاده، مژگان؛ سید هاشمی، عفت؛ نگرینی، ماسیمو؛ محمدگنجی، شهلا (۱۴۰۱). نقش *miR-182* و ژن *FOXO* در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال. *بیولوژی کاربردی*، ۱۲(۴۶)، ۸۷-۱۰۴.
© نویسندگان **ناشر:** دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم

۱. مقدمه

سرطان کولورکتال (CRC) یک بیماری پیچیده ناشی از عوامل محیطی، ژنتیکی، اپی ژنتیکی و مکانیسم‌های مولکولی خاص می‌باشد. سه مسیر مولکولی شامل: ناپایداری ریزماهواره‌ها [۱](MSI)، ناپایداری کروموزومی [۲](CIN) و [۳](CIMP) به عنوان عوامل اصلی ایجاد CRC تعریف شده است (۲،۱). اختلال عملکرد چندین ژن در موارد تک گیر[۴] و خانوادگی، با این نوع سرطان مرتبط هستند. این ژن‌ها عبارتند از *KRAS*، *BRAF*، *c-Src*، *c-Myc*، *APC*، *TP53*، *PIK3CA*، *MSH2*، *MLH1*، *STK11*، *MSH6*، *PMS2*، *APC*، *CACNA1G*، *CDKN2A*، *IGF2*، *NEUROG1*، *RUNX3* و *SOCS1* که برخی از آنها به عنوان بیومارکر نیز استفاده می‌شوند. در واقع، از آنجایی که توسعه CRC ممکن است سال‌ها طول بکشد، تشخیص زودهنگام آن و استفاده از ابزارهای تشخیصی بیوشیمیایی و مولکولی/ژنتیکی، کلیدی برای بهبود میزان بقاء است.

بی‌نظمی فاکتور رونویسی،[۵] عمدتاً به دلیل حذف، جابجایی، تقویت کروموزومی و جهش‌های نقطه‌ای، یک پدیده گسترده در مورد نئوپلازی‌های بدخیم انسانی است. اختلالات فاکتورهای رونویسی می‌تواند منجر به تغییرات بیانی قابل توجهی در ژن‌های دخیل در فرآیندهای مختلف بیولوژیکی، تنظیم تکثیر و سیگنال‌دهی سلولی شود. این تغییرات عوامل کلیدی در تومورها هستند؛ زیرا در تمایز و تکثیر سلولی، مهاجرت و متاستاز و همچنین مقاومت در برابر عوامل شیمی‌درمانی نقش دارند (۳).

۲. بیولوژی micro RNA

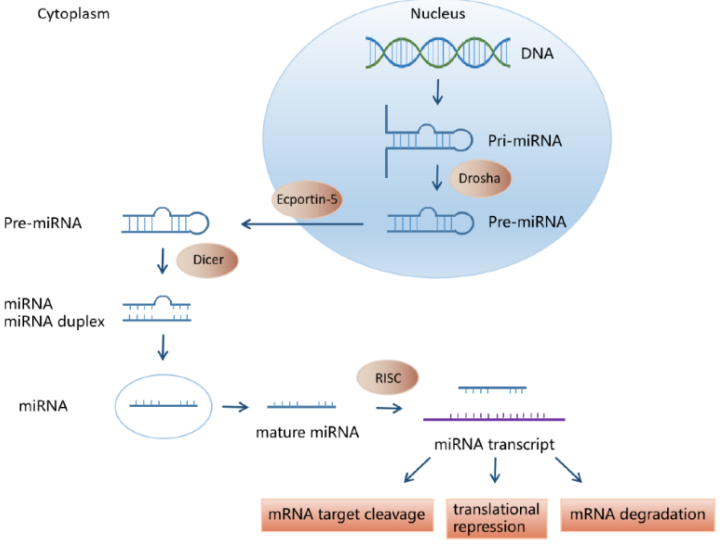
micro RNA ها یک گروه از RNA های غیر کدکننده کوچک ۲۲ نوکلئوتیدی هستند که سرکوب ژن پس از رونویسی را برعهده دارند و این کار را از طریق مهار شروع ترجمه و (یا) تجزیه mRNA توسط اتصال ناحیه حدوداً ۷ نوکلئوتیدی، به نام seed (در قسمت ’5 microRNA) به توالی مکمّل در ناحیه ’3-UTR در mRNA هدف انجام می‌دهند (۴). از آنجایی که شناسایی اولیه

1. Microsatellite instability (MSI)
2. Chromosomal instability (CIN)
3. CpG island methylator phenotype
4. Sporadic
5. Transcription factor

mRNA هدف توسط ناحیه کوتاه seed انجام می‌شود، صدها mRNA هدف که دارای توالی مکمّل باشند، می‌توانند توسط یک miRNA تنظیم شوند (۵).

Micro RNA ها ابتدا در هسته توسط مولکول‌های پیش‌ساز رونویسی می‌شوند که رونوشت اولیه miRNA (pri-miRNA) نامیده می‌شوند. اندازه pri-miRNA ها بیشتراز ۱۰۰۰ باز می‌باشد و به صورت ساختارهای سنجاق سری پیچ می‌خورند، ولی پس از پردازش، توسط آنزیم Drosha به پیش‌سازهای ساقه- حلقه کوچک‌تر (در حدود ۶۰ تا ۱۰۰ نوکلئوتید) شکسته می‌شوند که pre-miRNA نامیده می‌شوند.

Pre-miRNA ها به سیتوپلاسم فرستاده شده و توسط dicer به miRNA های دورشته‌ای شکسته می‌شوند. یکی از رشته‌های miRNA به مولکول miRNA بالغ (با طول ۱۵-۲۲ نوکلئوتید) تبدیل می‌شود. رشته دیگر miR*(star) یا miRNA گذرا (passenger) یا miRNA فرعی (minor) نامیده می‌شود.



شکل۱- بیولوژی Micro RNA (۳۲)

سابقاً تصور بر این بود که miRNA های فرعی تجزیه می‌شوند، ولی داده‌های دقیق توالی‌یابی نشان می‌دهد که تعدادی از minor miRNA ها تجزیه نشده و دارای نقش عملکردی در تنظیم هوموستازی miRNA و اثرات پایین دست رونویسی، ترجمه RNA و DNA هستند. رشته بالغ

miRNA در ترکیب با کمپلکس خاموش‌کننده القاء شونده با RNA (RISC[1]) بیان ژن‌های هدف را با اتصال به توالی‌های مکمّل در ناحیه 3'-UTR از طریق اتصال جفت باز واتسون-کریک تنظیم می‌کند. Micro RNA ها برحسب حفاظت توالی مولکول‌های سنجاق سری و pre-miRNA ها براساس توالی و ساختار، در خانواده‌های مختلفی طبقه‌بندی می‌شوند (۶).

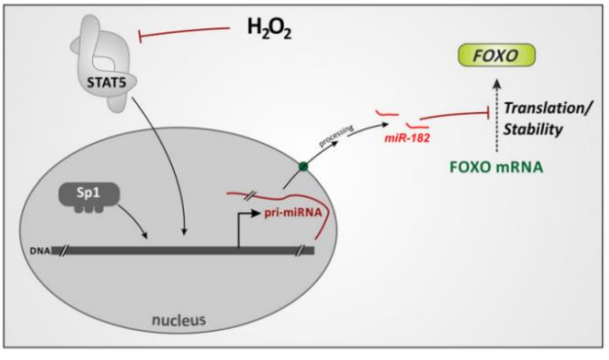
شواهد نشان می‌دهد miRNA های خاصی در CRC با مرحله بیماری، متاستاز و شانس زنده ماندن در ارتباط هستند. نتایج جستجوهای Mazeh و همکاران در سال ۲۰۱۳ در PubMed با دو کلیدواژه miRNA و colorectal cancer، پیدا شدن ۱۱۸ miRNA بود که همه مورد تائید و مرتبط با CRC هستند (۷). از میان آنها شصت miRNA دارای افزایش بیان و ۵۸ miRNA دارای کاهش بیان در CRC نسبت به بافت مجاور سالم هستند. تعدادی از miRNA ها به عنوان سرکوبگر تومور گزارش شده‌اند، مانند: let7a، mir-34 a/b/c، mir-126، mir-143، mir-145 و خانواده mir-200. این miRNA ها انکوژن‌ها را هدف قرار می‌دهند و همیشه در CRC دچار کاهش بیان می‌شوند. از طرف دیگر، کلاستر mir-17-92، mir-21 و mir-135، miRNA های انکوژن به نظر می‌رسند که ژن‌های سرکوبگر تومور را مهار می‌کنند و همیشه در CRC نسبت به بافت نرمال دچار افزایش بیان می‌شوند (۸). اخیراً تکنولوژی‌های جدید (مثل تکنولوژی high-throughput illumine sequencing) برای کشف miRNA های جدید در CRC بکار گرفته شده است. در نتیجه تعداد miRNA جدید مرتبط با CRC رو به افزایش است (۹). نتایج استفاده از این تکنولوژی‌ها در مطالعه Nishida و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که ۳۷ miRNA، به طور قابل توجهی از تنظیم خارج شده‌اند. از این میان، ۲۱ miRNA مرتبط با CRC بود، مانند mir-1، mir-96 و mir-145 که در مقالات معرفی شده بودند. مطالعات نشان داد از میان شانزده miRNA دیگر که ارتباط‌شان برای اولین بار مرتبط با CRC معرفی شد، برخی افزایش بیان و برخی نیز کاهش بیان نشان دادند. در این میان *MiR-182*-3p افزایش بیان نشان می‌دهد که در ادامه به طور مفصّل توضیح داده شده است (۱۰).

۳. miR-182

miR-182 جزو کلاستر 183-96-*miR-182* است و بر روی کروموزوم ۷ و جایگاه 7q32 قرار دارد. بیان *miR-182* در ۲۶ درصد از تومورهای اولیه CRC و در ۳۰ درصد از بیماران با متاستاز

1. RNA-induced silencing complex (RISC)

کبد افزایش بیان داشته است. *miR-182* باعث افزایش بقای سلول‌های توموری و پیشرفت CRC می‌شود (۱۱). تجزیه و تحلیل نمونه‌های بالینی نشان‌دهنده ارتباط بیان *miR-182* با پیش‌آگهی ضعیف در بیماران مبتلاء به سرطان کولورکتال می‌باشد. *miR-182* با مسیرهای سیگنال‌دهی سرطان از جمله مسیر TGFB و NFKB در ارتباط است. تاکنون برای *miR-182*، چندین تارگت مانند *MITF*، *MIM* و *FOXO* شناسایی شده است. در این میان گزارش‌ها حاکی از این است که فاکتور رونویسی *FOXO1* در انواع مختلف سلول‌ها توسط *miR-182* سرکوب می‌شود.



شکل۲- تنظیم بیان FOXO از طریق miR-182 (فاکتورهای رونویسی STAT5 یا Sp1، تولید miR-182 را تحریک می‌کنند. MiR-182 به نوبه خود، ترجمه FOXO1 mRNA و FOXO3 را مسدود کرده یا پایداری آن را کاهش می‌دهد) (۳۳)

FOXO1 در استخوان‌سازی، توسعه سلول‌های T و تومورزایی نقش دارد. *FOXO1* به عنوان یک سرکوب‌گر احتمالی تومور در نظر گرفته می‌شود. مهار *miR-182* در سلول‌های سرطان سینه (MCF7) باعث افزایش بیان *FOXO1* و افزایش آپپتوز سلول‌ها گردید. همچنین کاهش بیان *miR-182* با کمک siRNAها باعث افزایش بیان *FOXO1* شد. مطالعاتی از این دست نشان داده‌اند که *FOXO1* یکی از اهداف *miR-182* است. تنظیم مثبت *miR-182* در بافت‌های تومور روده بزرگ در مقایسه با نمونه‌های طبیعی، به طور مداوم توسط مطالعات متعدد گزارش شده است. مطالعات عملکردی اولیه نشان داد که بیان بیش از حد *miR-182* باعث تکثیر و بقای سلول‌های تومور کولورکتال می‌شود (۱۲).

تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک روی مجموعه داده‌های پروفایل بیان ژن‌ها، حاکی از کاهش بیان *FOXO1* در بافت تومور بیماران کولورکتال نسبت به بافت طبیعی کلون است. همچنین نشان داده

شد که افزایش بیان *FOXF2* در سلول‌های CRC، باعث سرکوب بتاکاتنین می‌شود و به طور همزمان رشد و تهاجم سلولی را مهار می‌کند. FOXF2 یکی از ژن‌های هدف *miR-182* می‌باشد. کاهش بیان *miR-182* به وسیله آنتی *miR-182* در سلول‌های CRC باعث افزایش بیان *FOXF2* و کاهش همزمان بیان بتاکاتنین می‌شود. همچنین اتصال مستقیم *miR-182* با ناحیه 3utr mRNA FOXF2 با استفاده از ژن گزارشگر لوسیفراز تأیید شده است. بنابراین، پیوند *miR-182* و FOXF2 باعث کمک به توسعه CRC می‌شود (۱۳).

٤. خانواده فاکتورهای رونویسی FOX

خانواده فاکتور رونویسی جعبه چنگال (FOX)[1] شامل گروهی از تنظیم‌کننده‌های رونویسی است که به طور تکاملی حفظ شده‌اند و اختلال در عملکرد آنها با بیماری ارتباط دارد (۱۴). خانواده ژن *FOX* به عنوان ژن‌های فاکتورهای رونویسی شناخته می‌شوند. اختلال در این زیرگروه، بر چندین آبشار مولکولی پیچیده تأثیر می‌گذارد، که با طیف وسیعی از انواع سرطان‌ها مرتبط می‌باشد که نقش آنها را به عنوان نشانگرهای زیستی مولکولی برجسته می‌کند. حداقل ۱۴ زیرگروه *FOX* با پاتوژنز CRC مرتبط است. بنابراین، بر نقش آنها جهت اهداف تشخیص، پیش‌آگهی و درمان تأکید شده است.

چندین post-translational modifications، مانند فسفوریلاسیون، استیلاسیون و یوبی کوئیتیناسیون شرح داده شده است که به تعدیل عملکردهای مختلف پروتئین‌های FOX، از جمله میل اتصال به DNA آنها کمک می‌کند. مناطق عملکردی علاوه بر DBD برای برخی از پروتئین‌های FOX، مانند زیرخانواده *FOXO*، دارای بخش‌های trans-activation domain (TAD) و the nuclear localization sequence (NLS) می‌باشند. فاکتورهای FOX تنظیم‌کننده کلیدی مسیرهای سیگنالینگ مختلف فیزیولوژیکی و پاتولوژیک است. این مسیرها عبارتند از: فسفاتیدیل ۳-کیناز/پروتئین کیناز (PI3K-AKT)، فاکتور رشد بتا (TGF-β)، WNT/β، Sonic-Hedgehog و Jagged-Notch.

نقش *FOXO* در پاتوفیزیولوژی سرطان اینگونه است که پیامدهایی را در مورد زمان شروع

1. Human Forkhead-box (FOX) gene family

بیماری،[1] پیشرفت بیماری[2]، مقاومت دارویی[3] و حفظ وضعیت بیمار[4] تحت تاثیر قرار می‌دهد، بنابراین می‌تواند به عنوان بیومارکری مفید استفاده شود.

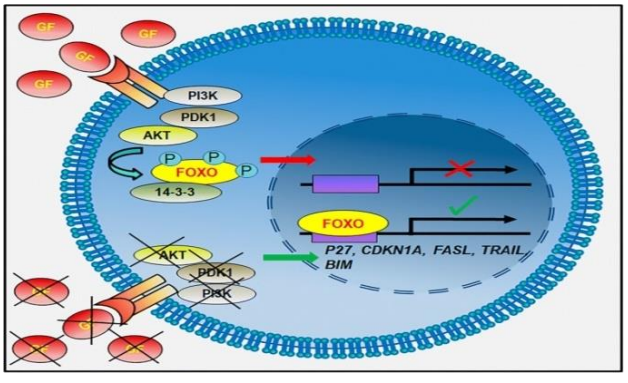
۵. نقش دوگانه *FOXO*s در سرطان‌ها

بررسی‌ها نشان می‌دهد که *FOXO*s در سرطان‌ها دارای نقش دوگانه هستند. ممکن است به عنوان سرکوبگر تومور و یا به عنوان پروتئین‌های انکوژن عمل کنند. مولکول‌های *FOXO* درطول رشد جنین و زندگی بزرگسالی، در بافت‌های متعددی بیان می‌شوند و با عملکردهای مختلفی مانند تمایز/ تکثیر سلولی، کنترل متابولیسم، ایمنی، آپوپتوز، سم‌زدایی، ترمیم آسیب DNA، توقف چرخه سلولی، اتوفاژی، حفظ هموستاز مرتبط هستند. خانواده *FOXO* در پستانداران از چهار عضو *FOXO*1، *FOXO*3A، *FOXO*4 و *FOXO*6 تشکیل شده است.

تنظیمات بالادستی[5] اعضای زیرخانواده *FOXO* به خوبی مشخص شده است. به ویژه مکانیسم مربوط به phosphoinositide-3-kinase–protein kinase B (AKT) (PI3K-AKT) که در پاسخ به انسولین و تحریک فاکتور رشد و فسفوریلاسیون *FOXO*s توسط AKT انجام می‌شود و در نهایت کمپلکس تشکیل شده از هسته به سیتوپلاسم منتقل می‌گردد. علاوه برAKT، کینازهای دیگر (مانند SGK، IKK، ERK) تنظیم‌کننده منفی *FOXO* هستند، در حالی که JNK و MST1 قادر به فعال کردن آن هستند. با توجه به بیولوژی سرطان، پروتئین‌های *FOXO* در پایین دست چندین مسیر انکوژنی مانند: PI3K-AKT، ERK و NF-κB-IKKβ عمل می‌کنند. *FOXO* ها عمدتاً به عنوان سرکوب‌گرهای تومور توصیف شده‌اند؛ زیرا دارای خواص ضد تکثیر و پروآپوپتوز هستند. عملکرد ضد تومور *FOXO*s با تنظیم ژن‌های کلیدی شرکت‌کننده در مرگ سلولی و توقف چرخه سلولی، مانند p27KIP1، CDKN1A/p21، FasL، Trail و Bim مرتبط است (شکل۱). *FOXO* ها همچنین در شبکه‌های پیچیده دیگری از جمله ژن‌های متعددی که فرآیند مربوط به تومورزایی را تنظیم می‌کنند، مانند پیری ناشی از انکوژن، رگ‌زایی، تهاجم، تنظیم استرس اکسیداتیو و

1. Onset
2. Progression
3. Drug resistance
4. Maintenance
5. Upstream regulation

تعامل با سایر سرکوب‌کننده‌ها (مانند p53) درگیر هستند (۱).



شکل ۳- فعالیت درون سلولی *FOXO* از طریق فعال‌سازی (PI3K/AKT) (۱).[۱]

٦. نقش *FOXOs* در سرطان کولورکتال

مطالعات نشان می‌دهد که مولکول‌های *FOXO* در سرطان کولورکتال نیز دارای نقش دوگانه و در عین حال متناقض هستند؛ زیرا می‌توانند به عنوان یک ژن سرکوب‌گر سرطان یا یک انکوژن عمل کنند. در سلول‌های مشتق شده از سرطان کولون نشان داده شده است که فعال‌سازی/مهار سیستم *FOXO* از طریق بیان بیش از حد ژن/خاموش کردن یا اختلال فارماکولوژیک چندین مسیر سیگنالینگ (PI3K-AKT، Wnt، β-کاتنین، EGFR) منجر به سرطان‌زایی CRC می‌شود (۱۵).

چندین مطالعه بررسی اثر فعال‌سازی و یا غیرفعال‌سازی *FOXO* بر روی بیولوژی CRC گزارش شده است. Ericson و همکاران از نوترکیبی همولوگ هدف در سلول‌های CRC برای غیرفعال کردن ژن‌های AKT1، AKT2 یا PDPK1 استفاده کرده‌اند که منجر به کاهش قابل توجه تکثیر سلولی در شرایط آزمایشگاهی و متاستاز در موش شد (۱۶).

Tenbaum و همکاران، ارتباط متقابل بین مسیرهای WNT-β-catenin و PI3K-AKT-*FOXO*3A را در تومورزایی CRC مورد مطالعه قرار داده و اثر همزمان فعال‌سازی مولکول WNT-β-catenin و مهار PI3K-AKT را بر روی بیولوژی CRC بررسی کردند (۱۷). این سناریو باعث تجمع هسته‌ای *FOXO*3A و β-کاتنین بود. *FOXO*3A بسیاری از ژن‌های مرتبط با متاستاز مانند:

۱. این شکل برگرفته از مقاله Laissue در سال ۲۰۱۹ می‌باشد.

IQGAP2، CYR61، CLDN1، CAV1، EDN1 و KIT را تنظیم می‌کنند. در واقع فرآیندهای بیولوژیکی مختلف مرتبط با متاستاز توسط *FOXO*3A و β-کاتنین تعدیل می‌شود. این تعدیل از طریق ژن‌های هدف و به منظور تحرک و مهاجرت سلولی، رگ‌زایی، فرار از سیستم ایمنی و سازماندهی مجدد اسکلت سلولی انجام می‌شود. مقاومت هسته‌ای β-کاتنین به آپوپتوز با واسطه *FOXO*3A توسط مهارکننده‌های PI3K و AKT در سلول‌های CRC اولیه القاء می‌شود. جالب توجه است که غلظت‌های بالای *FOXO*3A و β-کاتنین هسته‌ای با مرحله متاستاتیک CRC مرتبط بوده و بر زمان بقای کوتاه‌تر بیماران تأثیر گذاشته است. برخلاف آنچه که توسط برخی محققان گزارش شده است، این یافته‌ها اطلاعاتی را در مورد ماهیت انکوژنیک بالقوه *FOXO*3A اضافه می‌کند (۱۸).

Shorning و همکاران نشان داده‌اند که مهار آلدوز ردوکتاز، از طریق PI3K/AKT، باعث فعال‌سازی *FOXO*3A در سلول‌های CRC می‌شود که باعث نکروز شدن سلول‌های تومور می‌شود. چندین مطالعه دیگر اثر تجمع *FOXO* را در هسته سلول‌های CRC توصیف کرده‌اند که برخی از آنها براساس استفاده از انواع مختلف مولکول‌ها بوده‌اند. به عنوان مثال، سیس پلاتین به رده‌های سلولی مختلف CRC برای ارزیابی نقش مسیر PI3K/*FOXO* در عملکرد دارویی و مقاومت تجویز شد (۱۹). سیس پلاتین باعث آپوپتوز در سلول‌های حساس شد و بقای سلولی درازمدت را تغییر داد که با جابجایی هسته‌ای *FOXO*3A مرتبط بود. دفسفوریلاسیون *FOXO*3A در سلول‌های مقاوم دچار اختلال شد و در نتیجه باعث فعال شدن پروموتر ژن هدف (یعنی p27Kip1 و BIM) گردید. همچنین نشان داده شد که استفاده از سیس پلاتین، همراه با مهار دارویی p38α، با کاهش زنده ماندن سلول‌های سرطانی مرتبط است. این ارتباط از طریق افزایش مرگ سلولی آپوپتوز وابسته به BAX با فعال کردن خواص سرکوبگر تومور *FOXO*3A است. چنین فعال‌سازی مربوط به p21، PTEN، BIM و GADD باعث آپوپتوز در سلول‌های CRC می‌شود (۲۰).

گزارش‌های متعددی نشان می‌دهد که کاهش بیان رونوشت *FOXO*، درک مکانیسم‌های تنظیمی بالقوه دخیل در پاتوژنز سرطان کولورکتال را امکان‌پذیر کرده است. در واقع، نتایج مطالعه microRNA های مختلف در داخل بدن و در شرایط آزمایشگاهی برای ارزیابی خواص سرکوبگر تومور *FOXO*، نشان داده است که miR-544 به *FOXO*1 متصل می‌شود، در حالی که miR-153 و miR-592 به *FOXO*3A متصل می‌گردد. از طرفی miR-96 به عنوان اتصال به *FOXO*1 و *FOXO*3A توصیف شده است (۲۱). در همه این موارد، اثرات مولکول‌ها به بیولوژی CRC کمک

کرده است. بیشتر گزارش‌های هیستوپاتولوژیک با هدف بررسی بیان[1] و محل تمرکز[2] *FOXO* با پیامد بیماری در بیماران سرطانی، نقش *FOXO* ها را به عنوان سرکوبگرهای تومور توصیف کرده‌اند. مطالعه بافت‌های CRC اولیه و متاستاز آن‌ها نشان داده است که سطوح *FOXO*3A در طول متاستاز کاهش می‌یابد و در نتیجه نقش این پروتئین را به عنوان یک سرکوب‌کننده سرطان برمی‌انگیزد. با این حال، localization هسته‌ای آن نیز با بقای کلی CRC، ارتباط کمتری دارد. در مجموع، این نتایج پیچیدگی شبکه‌های نظارتی *FOXO* را مشخص می‌کند و نقش دوگانه این عوامل رونویسی را به عنوان سرکوب‌کننده‌های سرطان و انکوژن‌ها تقویت می‌کند (۲۲).

۷. FOXM1

بررسی‌ها نشان می‌دهند که اختلال در فعال‌سازی چندین گیرنده تیروزین کیناز، مانند RTK، RAF، RAS و MAPK2، در سلول‌های سرطانی، منجر به تجمع هسته‌ای *FOXM1* از طریق فسفوریلاسیون ERK می‌گردد. *FOXM1* یک عامل اصلی در انتقال چرخه سلولی G1/S و G2/M و پیشرفت فاز M است و این نقش را از طریق حفظ ثبات کروموزومی و جداسازی طبیعی کروموزوم‌ها در تقسیم میتوز ایفا می‌کند (۲۳). FOXM1 با پیری سلولی، نوسازی مجدد[3] سلول‌های بنیادی، تمایز و تکثیر سلولی، هموستاز بافتی، مهاجرت و تهاجم سلولی، ترمیم آسیب DNA و رگزایی، تنظیم استرس اکسیداتیو و مقاومت دارویی در طول تومورزایی مرتبط است. در مورد بیولوژی CRC، سطوح بیان FOXM1 با پیشرفت سرطان، متاستاز به غدد لنفاوی، کبد و مراحل TNM (Tumour–Node–Metastasis) بالا گزارش شده است. این یافته‌ها با کاهش میزان بقای بیمار همراه بود. جالب توجه است که بیان بیش از حد همزمان FOXM1 و CAV-1 (caveolin 1) نقش مهمی در توسعه و پیشرفت CRC با تنظیم منفی E-cadherin ایفا می‌کند (۲۴). با توجه به مکانیسم‌های miRNA که منجر به کاهش بیان FOXM1 می‌شود، نشان داده شده است که تنظیم منفی miR-320، miR-149، mi-R-342 به بیولوژی CRC مربوط است. قابل ذکر است که miR-320 و miR-342 سرکوبگرهای *FOXM1* و *FOXQ1* هستند و ابزارهای درمانی بالقوه جالبی

1. Expression
2. Localization
3. Self-renewal

برای CRC را تشکیل می‌دهند. از نظر بالینی، *FOXM1* ممکن است مستقیماً به‌عنوان یک نشانگر تشخیصی/پیش‌آگهی مورد استفاده قرار گیرد، زیرا سطوح بیان بالا، در گروه‌های مستقل بیماران CRC، با بقای ضعیف مرتبط است. علاوه بر این، به دلیل ماهیت انکوژنیک واضح آن، *FOXM1* به عنوان هدف اصلی برای درمان دارویی سرطان ظاهر شده است (۲۵).

۸. FOXP3

جهش در *Foxp3* در موش منجر به یک اختلال لنفوپرولیفراتیو کشنده می‌شود، در حالی که بیان بیش از حد آن باعث فنوتیپ نقص ایمنی می‌گردد. جهش‌های *FOXP3* در انسان با سندرم اختلال خودایمنی- آلرژیک مرتبط با X، که به نام‌های تنظیم ایمنی، Polyendocrinopathy، Enteropathy و سندرم وابسته به X (IPEX)[1] نیز شناخته می‌شود، مرتبط است. FOXP3 عمدتاً توسط سلول‌های T تنظیمی (*Treg*) بیان می‌شود، اما در سلول‌های دیگر (مانند لنفوسیت‌های B) و بافت‌های طبیعی مختلف (مانند سینه، پروستات، ریه، تیموس، روده بزرگ، کلیه، تخمدان) نیز یافت شده است. رده‌های سلولی سرطانی زیادی دارای سطوح مختلف بیان *FOXP3* هستند که امکان ارزیابی عملکرد آن را در شرایط آزمایشگاهی مختلف فراهم کرده است. در این میان رده‌های سلولی با منشاء کولورکتال مانند HCA 2.6، HCA 3.2 نیز مورد بررسی قرار گرفته‌اند. اگرچه نقش *FOXP3* در بیوژنز CRC هنوز به طور کامل شناخته نشده است، گزارش‌های متعددی به نفع عملکرد محافظتی سلول‌های FoxP3+ Treg با کنترل سرطان‌زایی، بهبود التهاب در بیماران عنوان کرده‌اند.

۹. Other FOX

چندین پروتئین FOX دیگر به عنوان تنظیم‌کننده‌های مهم تومورزایی CRC توصیف شده‌اند. به عنوان مثال، *FOXC1* و *FOXC2* متاستاز CRC را با تنظیم بیان ITGA7/FGFR4 و MET به ترتیب ترویج می‌کنند. گزارش‌ها نشان می‌دهد که *FOXQ1* نقش تنظیمی کلیدی در انتقال اپیتلیال- مزانشیمی انواع مختلف سرطان از جمله CRC دارد و بیان بیش از حد *FOXQ1* نقش مرتبطی در افزایش تومورزایی CRC، رشد تومور و مهاجرت/ تهاجم به سلول‌های تومور با اثرگذاری بر

1. Immunodysregulation polyendocrinopathy enteropathy X-linked (or IPEX) syndrome

مسیرهای مولکولی WNT و TGF-B دارد. سایر پروتئین‌های FOX که دارای خواص انکوژنیک در CRC هستند، عبارتند از: *FOXA1*، *FOXD1*، *FOXD3*، *FOXF1*، *FOXJ1* *FOXF2*، *FOXK1*، *FOXK2*، *FOXN3* و *FOXR2* مطالعات اضافی FOX خواص سرکوب‌گر تومور را برای برخی از آنها گزارش کرده است، مانند *FOXE1*، *FOXF1*، *FOXF2* و *FOXJ3* (۲۶).

۱۰. microRNA و *FOXO*

Micro-RNA ها سطح *FOXO* را در سرطان‌ها تنظیم می‌کنند. برخی از میکرو RNA ها از جمله miR-183، *miR-182* و miR-96 به عنوان تنظیم‌کننده بیان *FOXO* در انواع مختلف سرطان عمل می‌نمایند. مطالعات اخیر در سرطان سینه نشان می‌دهد که بیان بیش از حد miR-96 با هدف قرار دادن *FOXO*3 و *FOXO*1 منجر به تکثیر سلول‌های تومور می‌شود. *miR-182*، *FOXO*3 را در سلول‌های ملانوما MITF هدف قرار می‌دهد که منجر به افزایش ویژگی‌های تهاجم می‌گردد. همچنین در رده سلولی سرطان سینه انسان MCF7، miR-27a همراه با *miR-182* و *FOXO*1 را هدف قرار داده و رشد سلول‌های تومور را افزایش می‌دهند. در لنفوم هوچکین کلاسیک، *FOXO*1 تا حدی از طریق عملکرد متقابل *miR-182*، miR-183 و miR-96 کاهش می‌یابد. در سرطان آندومتر، میکرو RNA ها، از جمله: *miR-182*، miR-183 و miR-96، *FOXO*1 را کاهش می‌دهند که بقاء و تکثیر سلول‌های سرطانی را هدایت می‌کنند (۲۷).

۱۱. FOXF2 و miR-182

شواهد نشان می‌دهد که *miR-182* با انواع مختلفی از تومورها از جمله سرطان پروستات، ملانوم، سرطان سینه و گلیوم در ارتباط است. مطالعات نقش‌های متفاوت و حتی متناقضی از *miR-182* را در تومورزایی گزارش می‌کنند. در نمونه‌های توموری کولورکتال، *miR-182* افزایش بیان دارد و تنظیم مثبت آن به طور قابل توجهی با متاستاز به غدد لنفاوی، مرحله TNM و پیش‌آگهی ضعیف مرتبط است. Jiramongkol و همکاران گزارش کردند که بیان ژن *miR-182* در ۲۶ درصد تومورهای اولیه CRC و ۳۰ درصد از متاستازهای کبدی تقویت شده است (۲۸). افزایش بیان *miR-182* در آدنوم‌ها و CRC های اولیه در مقایسه با مخاط طبیعی کولون مشاهده می‌شود. علاوه بر این، افزایش *miR-182* با مرحله تومور پیشرفته، مرتبط است. سرکوب همزمان رشد سلولی در شرایط آزمایشگاهی، تشکیل کلنی، مهاجرت، تهاجم به سلول‌های CRC با مهار *miR-182* نشان داده شده است (۲۹). در مجموع ویژگی‌های عملکردی، *miR-182* را به عنوان

oncomiR در CRC برجسته می‌کند. اگرچه برخی گزارش‌ها نشان می‌دهد *miR-182* در انواعی از سرطان‌ها، هدفی برای چندین سرکوبگر تومور از جمله *PTEN*، *MTSS1*، *Slug* و *CYLD* می‌باشد. مطالعات در مورد بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال نشان می‌دهد *miR-182* ژن‌های خاصی را که در توسعه این بیماری نقش دارند، هدف قرار می‌دهد. *FoxF2*، عضوی از خانواده فاکتورهای رونویسی جعبه پیشانی (FOX)، به عنوان یک هدف *miR-182* می‌باشد. FoxF2 برای رشد اندام، سنتز ماتریکس خارج سلولی (ECM) و برهمکنش اپیتلیال- مزانشیمی لازم است و می‌توان آن را با سیگنال‌دهی Bmp و Wnt محدود کرد. FoxF2 در بافت‌های CRC اولیه و رده‌های سلولی CRC کاهش می‌یابد. بازسازی FoxF2 در سلول‌های CRC به طور قابل توجهی رشد سلول، تشکیل کلنی و تحرک سلول را سرکوب می‌کند که نشان‌دهنده نقش سرکوب‌کننده تومور FoxF2 است. مطالعات نشان داده‌اند که FoxF2 با مهار سیگنال‌دهی Wnt/β-catenin باعث کاهش تشکیل آدنوم در روده موش شد. کاهش FoxF2 منجر به افزایش بیان و فعالیت β-کاتنین می‌شود. با توجه به اینکه *miR-182* به۳ UTR mRNA ژن FoxF2 متصل می‌شود و در نتیجه منجر به کاهش بیان FoxF2 می‌گردد، افزایش *miR-182* به طور نابهنجار تا حدی مسئول خاموش کردن FoxF2 و افزایش فعالیت β-کاتنین درCRC است. مطالعات اخیر نشان می‌دهد *miR-182* انتقال β-کاتنین هسته‌ای را از طریق سرکوب SMAD4 در سرطان مثانه تحریک می‌کند، در حالی که *miR-182* توسط β-کاتنین در سرطان سینه فعال می‌شود که نشان‌دهنده نقش مهم حلقه بازخورد β-کاتنین/*miR-182* در پیشرفت تومور می‌باشد (۳۰). *FoxF2* به عنوان یک واسطه درگیر در این حلقه انکوژن است. همچنین *miR-182* آنتاگونیست متالوپروتئینازهای ماتریکس (MMPs) را سرکوب می‌کند، در حالی که FoxF2 بیان بازدارنده بافتی متالوپروتئیناز ۳ (TIMP3)، آنتاگونیست قوی دیگر MMPs را افزایش می‌دهد. این نکته نشان می‌دهد که پیوند *miR-182*/FoxF2 ممکن است در تنظیم بازسازی ECM برای تسهیل تهاجم و متاستاز سلول‌های تومور نقشی ایفا کند (۳۱).

۱۲. نتیجه‌گیری

خانواده فاکتور رونویسی جعبه چنگال (FOX) دارای نقش دوگانه در بیوژنز بیماری کولورکتال می‌باشد و از طریق بیان بیش از حد و یا خاموش کردن مسیر سیگنالیگ منجر به سرطان کولورکتال می‌شود، با این حال اغلب به عنوان سرکوبگر تومور توصیف شده‌اند، چون دارای خواص ضدتکثیری و ضد آپوپتوزی هستند. عوامل مختلفی باعث افزایش بیان یا کاهش بیان *FOXO* ها

می‌شود. MicroRNA ها بر میزان بیان ژن‌ها تاثیر می‌گذارد. بیان *miR-182* در بافت بیماران مبتلا به CRC نسبت به بافت طبیعی روده افزایش پیدا می‌کند و به عنوان یک پیش‌آگهی ضعیف در بیماران نشان داده شده است. *miR-182* علاوه بر اینکه با سیگنال‌های مسیر سرطان مثل TGFBوNFKB در ارتباط است، بر روی بیان ژن‌های خانواده FOX هم تاثیرگذار است و باعث کاهش بیان ژن‌های خانواده *FOXO* مثل *FOXO*1 و*FOXF2* می‌شود. این ژن‌ها جزو ژن‌های سرکوبگر تومور در نظر گرفته می‌شوند. فاکتورهای رونویسی خانواده *FOXO* در مسیرهای سیگنالینگ از جمله WNT، BMP وPI3K/AKT نقش دارند و همچنین فاکتورهای رونویسی مزانشیمی را رمزگذاری کرده و از این طریق تکثیر و بقای اپیتلیال را کنترل می‌کنند. در واقع مجموعه‌ای از بیان ژن‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند. عواملی مانند افزایش بیان *miR-182* که باعث اختلال در میزان بیانشان می‌شود، سبب بروز بدخیمی‌هایی مثل CRC می‌گردد. از این‌رو می‌توان *miR-182* را به عنوان استراتژی بالقوه در برابر CRC در نظر گرفت، البته مستلزم مطالعه بیشتر در این زمینه است.

۱۳. تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر در راستای طرح پژوهشی مصوب در ICRP با کد شماره ۷۳۷ است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از مرکز مطالعات و همکاری‌های علمی بین‌المللی وزارت علوم، تحقیقات و فناوری (Center for International Scientific Studies & Collaborations (CISSC), Ministry of Science Research and Technology of Iran) به جهت حمایت مالی از پژوهش حاضر، قدردانی نمایند.

References

1. Gonzalez-Pons M & Cruz-Correa M. Colorectal cancer biomarkers: where are we now? *Biomed Res Int.* 2015; 2015: 1–14.
2. PICARD, E. & et al. Relationships between immune landscapes, genetic subtypes and responses to immunotherapy in colorectal cancer. *Frontiers in Immunology*. 2020; 11: 369.
3. Laissue, P. The forkhead-box family of transcription factors: key molecular players in colorectal cancer pathogenesis. *Molecular cancer*. 2019; 18(1): 1-13.
4. Fabian MR, Sonenberg N & Filipowicz W. Regulation of mRNA translation and stability by microRNAs. *Annual review of biochemistry*. 2010; 79: 351-79.
5. Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *cell.* 2009; 136(2): 215-33.
6. Bernardo BC, Charchar FJ, Lin RC & McMullen JR. A microRNA guide for clinicians and basic scientists: background and experimental techniques. *Heart, Lung and Circulation.* 2012; 21(3): 131-42.
7. Mazeh, Haggi & et al. The diagnostic and prognostic role of microRNA in colorectal cancer-a comprehensive review. *Journal of cancer.* 4.3 (2013): 281.
8. Ma Y, Li W & Wang H. Roles of miRNA in the initiation and development of colorectal carcinoma. *Current pharmaceutical design*. 2013; 19(7): 1253-61.
9. Hamfjord J, Stangeland AM, Hughes T, Skrede ML, Tveit KM, Ikdahl T & et al. Differential expression of miRNAs in colorectal cancer: comparison of paired tumor tissue and adjacent normal mucosa using high-throughput sequencing. *PloS one.* 2012; 7(4): e34150.
10. Nishida N, Nagahara M, Sato T, Mimori K, Sudo T, Tanaka F & et al. Microarray analysis of colorectal cancer stromal tissue reveals upregulation of two oncogenic miRNA clusters. *Clinical Cancer Research*. 2012; 18(11): 3054–3070.
    DOI: https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-1078
11. Cekaite, L. & et al. MiR-9,-31, and-182 deregulation promote proliferation and tumor cell survival in colon cancer. *Neoplasia*. 2012, 14.9: 868-IN21.
12. WEI Q & LEI R. Roles of miR-182 in sensory organ development and cancer. *Thoracic cancer*. 2015; 6.1: 2-9.
13. Zhang, YU & et al. *miR-182* promotes cell growth and invasion by targeting forkhead box F2 transcription factor in colorectal cancer. *Oncology reports*. 2015; 33.5: 2592-2598.
14. Jiramongkol, Y. & Eric W-F. FOXO transcription factor family in cancer and metastasis. *Cancer and Metastasis Reviews*. 2020; 39.3: 681-709.
15. Qi W, Weber CR, Wasland K & Savkovic SD. Genistein inhibits proliferation of colon cancer cells by attenuating a negative effect of epidermal growth factor on tumor suppressor. *FOXO*3 activity. *BMC Cancer.* 2011; 11: 219.
    DOI: 10.1186/1471-2407-11-219.
16. Ericson K, Gan C, Cheong I, Rago C, Samuels Y, Velculescu VE & et al. Genetic inactivation of AKT1, AKT2, and PDPK1 in human colorectal cancer cells clarifies their

roles in tumor growth regulation. *Proc Natl Acad Sci.* 2010; 107: 2598–2603. **DOI:** 10.1073/pnas.0914018107

17. Tenbaum SP, Ordóñez-Morán P, Puig I, Chicote I, Arqués O, Landolfi S & et al. β-catenin confers resistance to PI3K and AKT inhibitors and subverts *FOXO*3a to promote metastasis in colon cancer. *Nat Med.* 2012; 18: 892–901. **DOI:** 10.1038/nm.2772
18. Shorning, BY & et al. The PI3K-AKT-mTOR pathway and prostate cancer: at the crossroads of AR, MAPK, and WNT signaling. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21.12: 4507.
19. Fernández de Mattos S, Villalonga P, Clardy J & Lam EW-F. *FOXO*3a mediates the cytotoxic effects of cisplatin in colon cancer cells. *Mol Cancer Ther*. 2008; 7: 3237–3246. **DOI:** 10.1158/1535-7163.MCT-08-0398.
20. Germani A, Matrone A, Grossi V, Peserico A, Sanese P, Liuzzi M & et al. Targeted therapy against chemoresistant colorectal cancers: inhibition of p38α modulates the effect of cisplatin in vitro and in vivo through the tumor suppressor *FOXO*3A. *Cancer Lett.* 2014; 344: 110–118. **DOI:** 10.1016/j.canlet.2013.10.035.
21. Gao F & Wang W. MicroRNA-96 promotes the proliferation of colorectal cancer cells and targets tumor protein p53 inducible nuclear protein 1, forkhead box protein O1 (*FOXO*1) and *FOXO*3a. *Mol Med Rep.* 2015; 11: 1200–1206. **DOI:** 10.3892/mmr.2014.2854.
22. Hornsveld M, Dansen TB, Derksen PW & Burgering BMT. Re-evaluating the role of *FOXO*s in cancer. *Semin Cancer Biol.* 2018; 50: 90–100. **DOI:** 10.1016/j.semcancer.2017.11.017.
23. Koo C-Y, Muir KW & Lam EW-F. FOXM1: from cancer initiation to progression and treatment. *Biochim Biophys Acta.* 1819; 2012: 28–37.
24. Zhang J, Zhang K, Zhou L, Wu W, Jiang T, Cao J & et al. Expression and potential correlation among Forkhead box protein M1, Caveolin-1 and E-cadherin in colorectal cancer. *Oncol Lett.* 2016; 12: 2381–2388. **DOI:** 10.3892/ol.2016.4915.
25. Weng W, Okugawa Y, Toden S, Toiyama Y, Kusunoki M & Goel A. FOXM1 and FOXQ1 are promising prognostic biomarkers and novel targets of tumor-suppressive miR-342 in human colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 2016; 22: 4947–4957. **DOI:** 10.1158/1078-0432.CCR-16-0360.
26. Dai Y, Wang M, Wu H, Xiao M, Liu H & Zhang D. Loss of FOXN3 in colon cancer activates beta-catenin/TCF signaling and promotes the growth and migration of cancer cells. *Oncotarget*. 2017; 8: 9783-93.
27. Marzi L, Combes E, Vié N, Ayrolles-Torro A, Tosi D, Desigaud D & et al. *FOXO*3a and the MAPK p38 are activated by cetuximab to induce cell death and inhibit cell proliferation and their expression predicts cetuximab efficacy in colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2016; 115: 1223–1233. **DOI:** 10.1038/bjc.2016.313.
28. Jiramongkol Y, LAM, Eric W.-F. FOXO transcription factor family in cancer and metastasis. *Cancer and Metastasis Reviews*. 2020; 39: 681-709.
29. Garcia-Alonso, L & et al. Benchmark and integration of resources for the estimation of

human transcription factor activities. *Genome research*. 2019; 29.8: 1363-1375.

30. Eric W.-F. & et al. Forkhead box proteins: tuning forks for transcriptional harmony. *Nature Reviews Cancer*. 2013; 13.7: 482-495.
31. Yusuf D, Butland SL, Swanson MI, Bolotin E, Ticoll A, Cheung WA & et al. The transcription factor encyclopedia. *Genome Biol.* 2012; 13: R24.
DOI: 10.1186/gb-2012-13-3-r24.
32. LIU, J & et al. The Biogenesis of miRNAs and Their Role in the Development of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Cells*. 2022; 11.3: 572.
33. Urbánek P & Klotz L-O. Posttranscriptional regulation of FOXO expression: microRNAs and beyond. *British journal of pharmacology*. 2017; 174.12 (2017): 1514-1532.