

بررسی میزان بیان LncRNA HPYR1 در مبتلایان به سرطان کولورکتال

نویسندگان:

الهه کریمی^۱، نوشا ضیاء جهرمی^{۱*}

۱- کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.21, No.2, Summer 2023

چکیده:

مقدمه: سرطان کولون، به دلیل رشد غیرطبیعی سلول‌ها اتفاق می‌افتد که می‌تواند به بافت‌های دیگر بدن حمله کنند (متاستاز) یا در آن‌ها تکثیر یابند. سرطان کولورکتال سومین سرطان شایع در دنیا می‌باشد و میزان مرگ و میر آن تقریباً ۵۰ درصد بیماران است. تحقیقات نشان داده است که LncRNAs نقش مهمی را در تومورزایی، آنژیوژنز، تکثیر، مهاجرت، آپوپتوز و تمایز ایفا می‌کنند. با توجه به مطالب گفته شده پژوهش حاضر به بررسی بیان LncRNA HPYR1 در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال می‌پردازد.

روش کار: پژوهش حاضر، با نمونه گیری از ۲۰ فرد مبتلا به سرطان کولورکتال و ۲۰ بافت سالم انجام شد. سپس استخراج RNA توسط کیت ترايزول و سنتز cDNA توسط کیت تاکارا به انجام رسید و در نهایت بررسی بیان ژن مربوطه با تکنیک Real Time RT PCR انجام شد. میزان بیان نسبی LncRNA HPYR1 محاسبه شد و در نهایت توسط نرم‌افزار GraphPad Prism نتایج مورد تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که بیان LncRNA HPYR1 در سرطان کولورکتال در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری دارد ($p=0/0116$) و همچنین بیان ژن با متاستاز در ارتباط است ($p=0/002$). از طرفی بیان نسبی LncRNA HPYR1 در تومور افراد دارای استیج ۱ و ۲ و در تومور افراد دارای تومور سائز متفاوت افزایش معناداری نشان نداد ($p=0/056$) و ($p=0/8270$)، اما بیان نسبی LncRNA HPYR1 در تومور افراد دارای گرید ۲ نسبت به گرید ۱ افزایش بیان داشت و از نظر آماری معنا دار بود ($p=0/03$).

نتیجه گیری: در تحقیق حاضر بیان نسبی LncRNA HPYR1 در افراد مبتلا به سرطان کولورکتال در مقایسه با کنترل افزایش بیان داشت که می‌تواند به دلیل فعال کردن پروتئین‌ها دخیل در سرطان باشد و باعث رشد سلول‌های تومور و رگ‌زایی در سرطان باشد. بنابراین با توجه به تغییرات بیان ژن LncRNA HPYR1 در سرطان کولورکتال احتمالاً می‌توان از این ژن به عنوان یک بیومارکر برای تشخیص تومور استفاده کرد.

واژگان کلیدی: سرطان کولورکتال، LncRNA، HPYR1

Pars J Med Sci 2023;21(2):68-77

مقدمه:

همیشه‌گی باشد. سرطان روده بزرگ که یکی دیگر از نام‌های آن، سرطان کولون می‌باشد، یک مفهوم کلی از تجمع انواع مختلف تومورهای بدخیم است که در ساختار سلول، محل، اندازه و غیره متفاوت است. وقتی صحبت از سرطان روده بزرگ می‌شود، منظور تشکیل نئوپلاسم (تومور) در روده بزرگ یا رکتوم (راست روده) یا در کانال مقعد می‌باشد. کولون و رکتوم قسمت‌هایی از دستگاه

سرطان روده بزرگ به رشد سلول‌های سرطانی در کولون یا رکتوم (بخشی از روده بزرگ) گفته می‌شود. این بیماری به دلیل رشد غیرطبیعی سلول‌ها اتفاق می‌افتد که می‌تواند به بافت‌های دیگر بدن حمله کنند (متاستاز) یا در آن‌ها تکثیر یابند. نشانه‌ها و علائم این بیماری می‌تواند شامل مواردی همچون خون در مدفوع (هماتوزی)، تغییر در حرکات روده، کاهش وزن و خستگی

* نویسنده مسئول، نشانی: استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.
تلفن تماس: ۰۹۱۳۳۱۴۶۵۰۴
پست الکترونیک: Nooshazia.59@gmail.com

اصلاح: ۱۴۰۲/۰۵/۲۲ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۲۸

دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۰۷

بوده و به عنوان داربست برای ساختمان‌های مولکولی و راهنما برای کمپلکس‌های ریبونوکلئوپروتئینی فعالیت می‌کند. rRNA-های غیر کدشونده به سه دسته RNAهای دخیل در رونویسی (rRNA و tRNA)، RNAهای غیر کدشونده طویل و RNAهای غیر کدشونده کوتاه (snRNA و snoRNA، siRNA، miRNA) تقسیم‌بندی می‌شوند که در این میان lncRNAها دارای طولی بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید بوده و دارای تنوع ساختاری و ویژگی‌های خاص فضایی هستند که به آن‌ها اجازه می‌دهد به DNA، RNA و حتی پروتئین‌های کمکی متصل شده و فعالیت نمایند. مطالعات متعدد بر روی انواع مختلف سلول‌های سرطانی نشان می‌دهد که lncRNAها دارای نقش‌های تنظیمی در بیان ژن‌ها بوده و در فرآیندهای رشد سلول، آپوپتوز، تنظیم اپی‌ژنتیک، ترجمه و رونویسی و پیرایش نقش دارند [۸، ۹]. تحقیقات نشان داده است که HPYRI یک RNA طویل غیر کد کننده می‌باشد و نقش آن مرتبط با پاسخ به باکتری هلیکوباکتر می‌باشد. این باکتری در اکثر بیماری‌ها و سرطان‌های مربوط به دستگاه گوارش دخیل می‌باشد و این LncRNA نقش تنظیمی در فرایندها و مسیرهای سلولی را دارد. ژن مربوط به این LncRNA بر روی کروموزوم ۸ و در جایگاه 8q24.22 قرار دارد و دارای یک اگزون می‌باشد. پاتوزن معده هلیکوباکتر پیلوری که از نزدیک به سطح مجرای اپیتلیوم معده انسان چسبیده است عامل ایجاد کننده ورم معده فعال است. و یک عامل مستعد برای توسعه بیماری‌های گوارش مانند زخم و سرطان‌های دستگاه گوارش است [۵]. بنابراین با توجه به بررسی‌های انجام شده بر روی LncRNA هدف از این تحقیق بررسی ارتباط میزان بیان HPYRI LncRNA با ریسک ابتلا به سرطان کولورکتال بود.

روش کار:

نوع مطالعه، جامعه مورد مطالعه و استخراج RNA

مطالعه حاضر از نوع مورد-شاهدی بود که در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد شهرکرد با کد IR.IAU.SHK.REC.1402.053 به تصویب رسیده است. از بافت توموری ۲۰ فرد مبتلا به سرطان کولورکتال (از بیمارستان شهرکرد) و ۲۰ بافت سالم کولون هر شخص، نمونه‌گیری انجام شد. معیارهای ورود به تحقیق گروه سنی بین ۲۹ تا ۸۷ سال، دارا بودن پرونده پزشکی، دریافت تشخیص سرطان کولورکتال و معیارهای خروج از تحقیق، تومورهای ثانویه کولورکتال و عدم رضایت به شرکت در این تحقیق است. نمونه‌ها بر اساس متاستاز و غیرمتاستاز، گرید سرطان (ظاهر سلول‌ها و بافت‌های سرطانی را توصیف می‌کند) و استیج سرطان (که نشان می‌دهد تومور اولیه چقدر بزرگ است و تا چه اندازه سرطان در بدن بیمار گسترش یافته است)

گوارش هستند، مواد غذایی بعد از عبور از روده باریک وارد روده بزرگ می‌شوند. اولین قسمت روده بزرگ کولون نام دارد که لوله‌ای عضلانی است و به شکل مربعی نیمه کاره در حفره شکم قرار دارد. [۱، ۲]. در تمام دنیا از نظر شیوع بیماری سرطان روده بزرگ سومین نوع سرطان است و ۱۰ درصد تمام سرطان‌ها را شامل می‌شود و شیون آن در مردان بیشتر از زنان است. مراحل تشخیص سرطان روده بزرگ ابتدا از بیمار سوالاتی در مورد علائمی که ذکر شد پرسیده می‌شود و اگر مشکوک به سرطان کولون باشد، علائم به دقت از دیدگاه پزشکی ارزیابی می‌شود. اولین مرحله آزمایش برای تشخیص سرطان روده بزرگ، آزمایش پروتئین رکتوم (راست روده) می‌باشد. در مرحله بعد یک سیگموئیدوسکوپی انجام می‌شود. سپس از بیمار یک آزمایش خون عمومی گرفته می‌شود. بعد از آن مورد آزمایش کولونوسکوپی قرار می‌گیرد. در صورتی که تشخیص سرطان روده بزرگ در روش‌هایی که ذکر شد، نتیجه‌ای نداشته باشد، پزشک می‌تواند آزمایش‌های اضافی برای تشخیص سرطان روده بزرگ را تجویز نماید. آزمایش‌هایی مانند: سونوگرافی شکم، سونوگرافی لگن و سونوگرافی آندورکتال در مراحل بعدی می‌تواند انجام شود. اگر تومورها در قسمت فوقانی روده قرار داشته باشند، تشخیص سرطان روده بزرگ به مراتب دشوار تر از زمانی است که تومورها در قسمت‌های پایین روده قرار دارند، که در این صورت طی آزمایش‌های اولیه می‌تواند سرطان کولون تایید شود [۳، ۴]. درمان‌هایی که برای سرطان روده به کار می‌رود، می‌تواند شامل ترکیبی از جراحی، پرتودرمانی، شیمی‌درمانی و درمان هدفمند باشد. احتمال درمان سرطان‌های محدود به درون دیواره کولون، با جراحی وجود دارد، اما سرطانی که در سراسر بدن گسترش یافته، معمولاً قابل درمان نیست و مدیریت بر روی بهبود کیفیت زندگی و علائم بیماری متمرکز می‌شود [۵، ۶].

سرطان روده بزرگ را می‌توان با گرفتن نمونه کولون در طول سیگموئیدوسکوپی یا کولونوسکوپی تشخیص داد. معمولاً بعد از این امر تصویربرداری پزشکی انجام می‌شود تا معلوم شود که بیماری منتشر شده یا خیر. غربالگری در کاهش احتمال مرگ ناشی از سرطان روده بزرگ مؤثر است و با شروع سن ۵۰ سالگی و بعد از آن به صورت مداوم تا سن ۷۵ سالگی توصیه می‌شود. هنگام کولونوسکوپی پولیپ‌ها برداشته می‌شوند. آسپیرین و دیگر داروهای ضدالتهابی و غیراستروئیدی خطر را کاهش می‌دهند. البته استفاده عمومی آن‌ها، به دلیل اثرات جانبی توصیه نمی‌شود [۷].

lncRNAهای طویل غیر کدشونده، دسته‌ای از RNAهای گردشی هستند که به آن‌ها lncRNA نیز گفته می‌شود و دارای عملکردهای متعددی از جمله سیگنال رسانی و مهار مولکولی

RT-PCR برای ژن GAPDH ۶۰ درجه سانتی‌گراد و برای ژن IncRNA HPYRI ۵۹ (بود) به مدت ۳۰ ثانیه، بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و طول‌سازی نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه تکثیر انجام شد و در نهایت روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز انجام گردید. در ادامه در این مطالعه از تکنیک Real Time-RT PCR (دستگاه Corbett rotor gene 6000) به منظور سنجش کمی سطح بیان ژن‌های مورد نظر استفاده شد. برای انجام این تکنیک از SYBR Green (یکتاتجهیز آزما) استفاده شد. لازم به ذکر است که واکنش Real Time-RT PCR برای ژن‌های مورد نظر و ژن خانه داری به صورت دو تکرار و به همراه یک واکنش کنترل منفی برای هر ژن صورت گرفت. برنامه دمایی: فعال‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، واسرشت در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ثانیه، برای اتصال آغازگرها برای ژن IncRNA HPYRI ۶۰ و ژن GAPDH ۵۹ به مدت ۳۰ ثانیه و اتصال در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و طول‌سازی نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه تکثیر انجام شد. پس از محاسبه $\Delta\Delta CT$ نسبت بیان ژن هدف در نمونه مورد نظر (بیمار) نسبت به نمونه کنترل (سالم) با فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد [۱۰-۱۲].

روش‌های آماری

برای آنالیز داده‌ها از نرم افزارهای GraphPad Prism [۱۳-۱۵] و Excel استفاده شد. سپس جهت بررسی اختلاف بیان ژن‌ها در بافت توموری بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال و بافت سالم از آزمون T-test استفاده شد. بررسی ارتباط بیان ژن با سائز تومور به علت وجود بیش از دو گروه با استفاده از آزمون آماری ANOVA انجام شد. لازم به ذکر است که در تمام محاسبات آماری انجام شده p value کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معناداری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها:

بررسی صحت سنتز cDNA

پس از الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز، باند ۱۵۸ جفت بازی مربوط به GAPDH دیده شد که موید سنتز مناسب cDNA است که در شکل ۱ نشان داده شده است.

تایید تکثیر قطعه

تایید صحت ژن Lnc RNA HPYRI نیز با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن Lnc RNA HPYRI و واکنش PCR انجام شد.

تقسیم‌بندی شدند. همه نمونه‌های بافتی (توموری و سالم) توسط پاتولوژیست، بررسی و طبق معیارهای گزارش شده مورد تایید قرار گرفتند. نمونه‌های بافت پس از جراحی درون محلول RNA Lateral غوطه‌ور شدند و به مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد منتقل شدند و سپس در دمای ۲۰- درجه فریز شدند. به منظور استخراج RNA تام از تریزول (Invitrogen) مطابق پروتکل استفاده شد سپس RNA استخراج شده از لحاظ کیفی و کمی بررسی گردید. به منظور بررسی کمی RNA استخراج شده با استفاده از دستگاه نانودراپ (۲۰۰۰ Thermo) میزان جذب نوری در طول موج ۲۶۰ به ۲۸۰ اندازه گیری شد که محدوده غلظت RNAها ۲-۱/۸ بود. در ادامه برای بررسی کیفی، RNA استخراج شده بر روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز بررسی شد. همچنین به منظور حذف آلودگی احتمالی RNA استخراج شده به DNA ژنومی، هر نمونه RNA استخراج شده با آنزیم DNaseI (سینازن) به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تیمار شد. سپس به منظور خنثی‌سازی آنزیم DNaseI هر نمونه با ۱ میکرولیتر اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) تیمار و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. در نهایت با استفاده از کیت شرکت یکتا تجهیز آزما و پرایمر ۶ نوکلئوتیدی تصادفی، طبق پروتکل کیت، cDNA هر نمونه سنتز شد.

پرایمرهای اختصاصی

به منظور بررسی میزان بیان ژن‌های مورد نظر، پرایمرهای رفت و برگشت اختصاصی هر ژن، پس از طراحی با نرم افزار الیگو ورژن ۷ و BLAST در پایگاه اینترنتی NCBI، توسط شرکت پیشگام سنتز شد. ژن GAPDH به دلیل تغییرات بیان بسیار ناچیز در بافت کولورکتال به عنوان ژن خانه‌داری بررسی شد. در جدول شماره ۱ توالی آغازگرهای مورد استفاده در روش RT-PCR آورده شده است.

تکنیک Real Time RT-PCR

در این تحقیق برای بررسی صحت سنتز cDNA از تکنیک PCR استفاده شد. برای انجام تکنیک PCR، ۱۰ میکرولیتر Master Mix (یکتاتجهیز آزما)، ۰/۵ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای رفت و برگشت (۱ μL / Δpmol)، ۱ میکرولیتر نمونه cDNA (۲۵ $\text{ng}/\mu\text{L}$)، در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر (با آب مقطر استریل) تهیه و مخلوط شد. در ادامه با برنامه دمایی: فعال‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، واسرشت در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، برای اتصال آغازگرها در دمای مناسب (بهترین دما برای انجام PCR

نتایج بررسی *LncRNA* در دو گروه تومور استیج ۱ و

۲

مقایسه‌ی بیان نسبی *HPYRI* در گروه‌های تومور افراد دارای استیج یک و دو مورد مطالعه حاکی از آن بود که بیان *Lnc RNA* در تومور افراد دارای استیج دو نسبت به استیج ۱ دارای افزایش معناداری نمی‌باشد و بیان ژن با استیج احتمالا در ارتباط نیست ($p=0/56$) (نمودار ۳).

نتایج بررسی آماری بیان نسبی *LncRNA* در گرید ۱

و ۲

مقایسه‌ی بیان نسبی *HPYRI* در گروه‌های گرید یک و دو مورد مطالعه، حاکی از افزایش بیان این *Lnc RNA* در تومور افراد دارای گرید دو نسبت به گرید یک می‌باشد ($p=0/03$) (نمودار ۴).

نتایج بررسی *LncRNA* در سایر تومور

مقایسه‌ی بیان نسبی *HPYRI* در گروه‌های مورد مطالعه با سایر تومور (۲-۱، ۴-۲ و بزرگتر از ۵ سانتی‌متر)، حاکی از آن بود که بیان *Lnc RNA HPYRI* با سایر تومور در ارتباط نیست ($p=0/8270$) (نمودار ۵).

پس از الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز، باند ۱۱۶ جفت بازی مشاهده شد که در شکل ۲ نشان داده شده است.

نتایج بیان نسبی *LncRNA* در دو گروه سرطان و کنترل

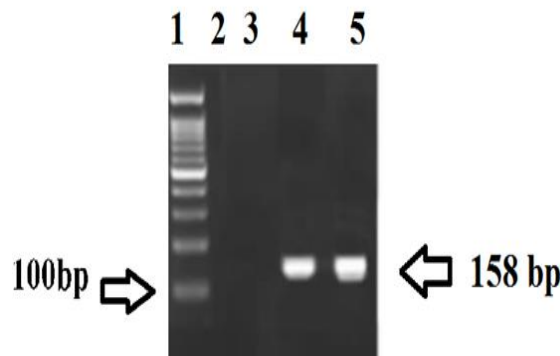
مقایسه‌ی بیان نسبی *Lnc RNA HPYRI* در گروه‌های مورد مطالعه، حاکی از افزایش بیان این *Lnc RNA* در افراد مبتلا به سرطان کولورکتال در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد ($p=0/0116$) (نمودار ۱).

نتایج بررسی *LncRNA* در دو گروه متاستاز و فاقد متاستاز

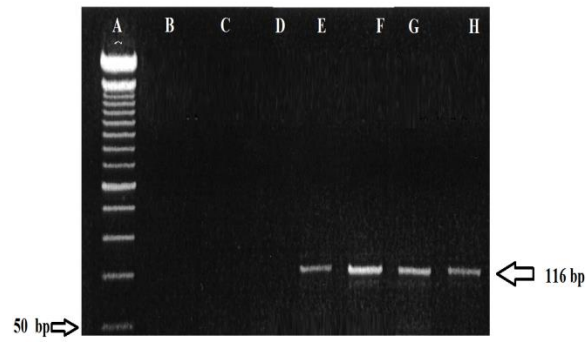
مقایسه‌ی بیان نسبی *HPYRI* در دو گروه تومور افراد دارای متاستاز نسبت به فاقد متاستاز، حاکی از افزایش بیان این *Lnc RNA* در تومور افراد دارای متاستاز نسبت به فاقد متاستاز می‌باشد ($p=0/002$) (نمودار ۲).

جدول ۱. توالی آغازگرهای مورد استفاده در روش Real Time RT-PCR

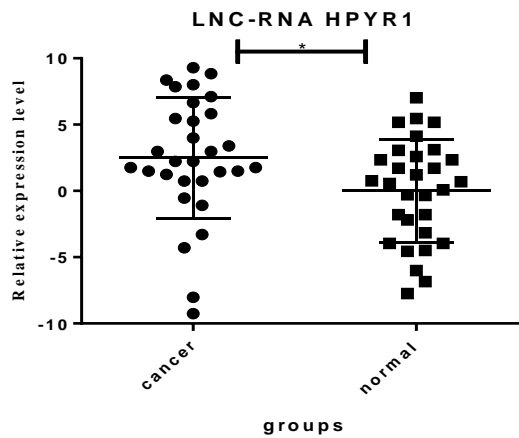
| پرایمر | توالی پرایمر | دمای اتصال (°C) | سایز باند (bp) |
|------------------------|-----------------------------------|-----------------|----------------|
| <i>lncRNA HPYRI</i> -F | 5'-CCGCAG AGAGAAAGGTAGGATCTTGT-3' | | |
| <i>lncRNA HPYRI</i> -R | 5'-CCCTCCTCC TGCCCTGTTCTAAG-3' | ۵۵ | bp۱۱۶ |
| <i>GAPDH</i> -R | 5'-GAGTCAACGG ATTTGGTCGT-3' | ۵۹ | bp۱۵۸ |
| <i>GAPDH</i> -F | 5'-GGTGCCATG GAATTTGCCAT-3' | | |



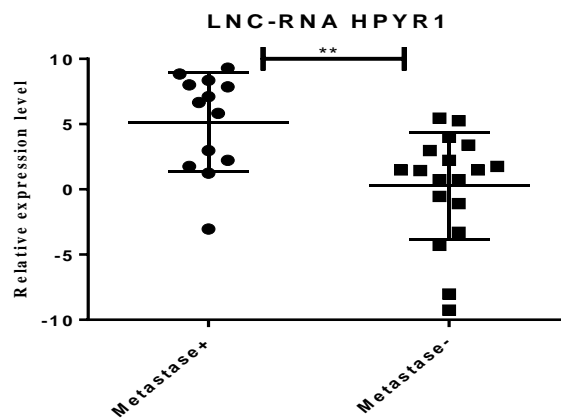
شکل ۱: تایید صحت سنتز cDNA. چاهک ۱ مارکر ۱۰۰ bp، چاهک ۲ و ۳ کنترل منفی، چاهک ۴ نمونه سالم، چاهک ۵ نمونه بیمار.



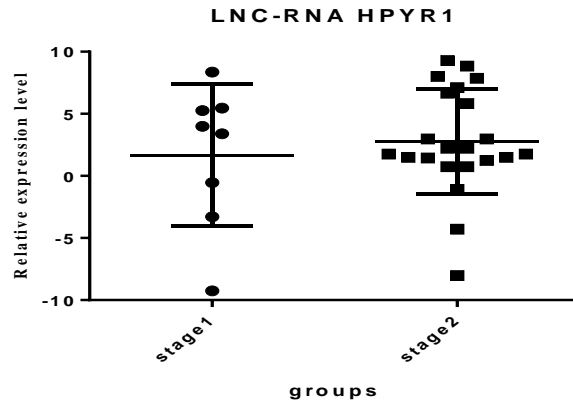
شکل ۲: بررسی صحت بیان Lnc RNA *HPYR1* با استفاده از تکنیک RT PCR. چاهک A مارکر چاهک‌های B تا D کنترل منفی، چاهک‌های E تا H نمونه سالم و نمونه بیمار.



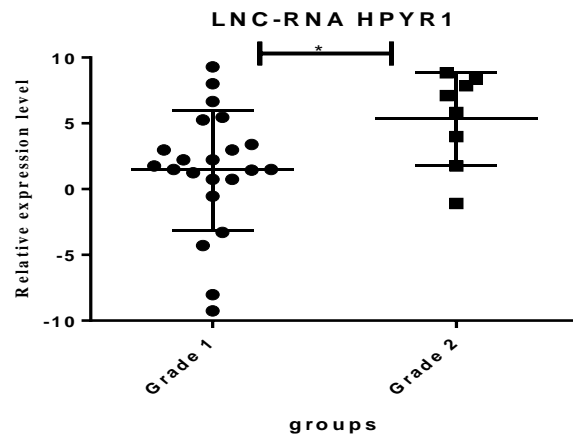
نمودار ۱: نمودار مقایسه بیان نسبی *HPYR1* در دو گروه کنترل و تومور.



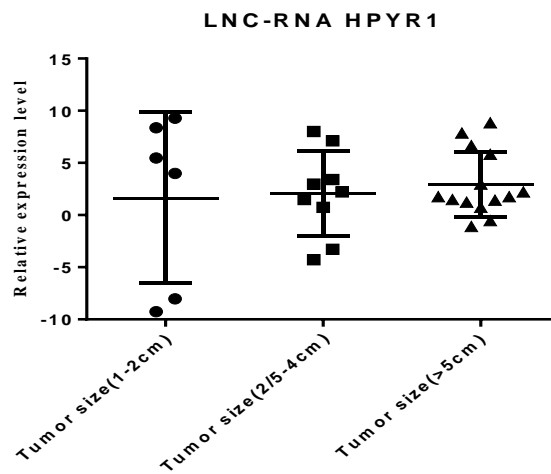
نمودار ۲: نمودار مقایسه بیان نسبی *HPYR1* در دو گروه مناساز مثبت و منفی ($p=0/002$).



نمودار ۳: مقایسه بیان نسبی HPYR1 در دو گروه استیج ۱ و ۲ (p=۰/۵۶)



نمودار ۴: مقایسه بیان نسبی HPYR1 در دو گروه گرید ۱ و ۲ (p=۰/۰۳)



نمودار ۵: مقایسه بیان نسبی HPYR1 در تومور سایزهای تفاوت (p=۰/۸۲۷۰)

بحث:

اگرچه تاکنون نرخ بالایی از مرگ و میر در سرطان کولورکتال گزارش شده است اما هنوز فاکتورهای کلیدی در جنبه‌های مختلف این بیماری ناشناخته مانده است [۱۶]. اثر و عملکرد lncRNAهای مرتبط با ژن‌های اختصاصی با متاستاز در سرطان کولورکتال کمتر مورد بررسی قرار گرفته است که در این مطالعه برای اولین بار به بررسی *lncRNA HPYRI* در بافت‌های سرطانی کولورکتال در مقایسه با بافت‌های نرمال پرداخته شد و نتایج نشان داد که بیان *HPYRI* در افراد مبتلا به سرطان کولورکتال در مقایسه با گروه کنترل افزایش می‌یابد. به علاوه بیان ژن در افراد دارای متاستاز نسبت به افراد فاقد متاستاز نیز افزایش می‌یابد. از سوی دیگر بیان نسبی *HPYRI* در تومور افراد دارای گرید دو نسبت گرید یک افزایش بیان داشت که این ژن با متاستاز و گرید در ارتباط است. در این راستا مطالعاتی انجام شده است که در ادامه به بررسی آن‌ها می‌پردازیم. به عنوان مثال انگوییت و همکاران (۲۰۱۷) مشاهده کردند که افزایش *HPYRI* با عفونت هلیکوباکتریپیلوری و عفونت‌های مخاط معده در ارتباط است [۱۷]. از سوی دیگر نقش *lncRNA HPYRI* بر روی تکثیر و مهاجم سلول‌های کارسینوم سلول‌های کبدی در شرایط *in vivo* و *in vitro* نشاد داد که کاهش بیان *HPYRI* باعث افزایش بیان پروتئین‌های کادهرین E و ZO-1 و کاهش بیان کادهرین N، *slug*، *twist* و *vimentin* می‌شود که نتیجه آن مهار انتقال اپیتلیال-مزانشیمی است [۱۸]. نقش *HPYRI* در شروع و پیشرفت سرطان روده بزرگ نیز توسط محققین مختلف اثبات شده است. لیو و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که یک ارتباط معنی‌دار بین افزایش بیان *lncRNA* و پاتوژنر بیماری‌های مختلف از جمله سرطان‌های کارسینوم سلول سنگفرشی ریه و آدنوکارسینوم ریه نقش بسیار مهمی دارند [۱۹]. اونگ و همکاران در سال ۲۰۱۸ به منظور بررسی تغییرات بیان *lncRNA*ها در بیماری سرطان کولورکتال و تاثیر آن‌ها در مراحل مختلف این بیماری پرداختند. مشاهده می‌شود. در این مطالعه محققان بیان داشتند که *lncRNA*ها با تاثیر بر میزان تاثیر داروهای مورد استفاده در فرایند درمان بیماری سرطان کولورکتال می‌توانند بر فرایند درمان تاثیرگذار باشند. نهایتاً نتایج گردآوری شده توسط تیم اونگ و همکاران بیان داشت که تغییرات بیان *lncRNA*ها در فرایندهایی همچون تکثیر، مهاجم، مهاجرت و متاستاز سلول‌های سرطانی تاثیر مستقیم دارند و از این رو از اطلاعات به دست آمده از بررسی تغییرات بیان *lncRNA*ها می‌توان به‌عنوان یک بیومارکر مناسب جهت پیش‌بینی، تشخیص و یا درمان سرطان کولورکتال بهره جست [۲۰]. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان *HPYRI* در

افراد مبتلا به سرطان کولورکتال در مقایسه با گروه کنترل افزایش می‌یابد. به علاوه بیان ژن با متاستاز و گرید نیز در ارتباط است. در سال ۲۰۲۰ وو و همکاران به شناسایی نشانگرهای زیستی RNA طولیل غیر کدکننده در تومور کلیه پرداختند و نتایج حاکی از آن بود که *ADAMTS9-AS2*، *DSCR9*، *EMX2OS*، *HCG22*، *HNF1A-AS1*، *HOTAIR*، *SNHG6*، *TPTEP1* و *ZNF503-AS2* با پیش آگهی سرطان کلیه در ارتباط هستند و می‌توانند به عنوان مارکرهای بالقوه در سرطان کلیه مورد استفاده قرار گیرند [۲۱]. در سال ۲۰۲۱ پورشیخوانی و همکاران اظهار داشتند که اگرچه انواع روش‌های غربالگری در سرطان کولورکتال توسعه یافته است، بسیاری از بیماران در مراحل پیشرفته کولورکتال با تهاجم تومور و متاستاز تشخیص داده می‌شوند. مطالعات متعدد RNAهای طولانی غیرکدکننده را به عنوان یکی از عوامل اصلی تومورزایی کولورکتال پیشنهاد کرده‌اند، اگرچه مکانیسم زیربنایی دقیق *lncRNA*ها در کولورکتال هنوز ناشناخته است. مطالعات متعدد بیان نابجای *lncRNA*ها را در سرطان کولورکتال از طریق روش‌های مختلف عمل مانند تکثیر سلولی، آپوپتوز، چرخه سلولی، مقاومت به دارو، مهاجرت و متاستاز نشان داده‌اند بر این اساس، *lncRNA*ها می‌توانند به عنوان نشانگرهای زیستی تشخیصی یا پیش‌آگهی امیدوارکننده و همچنین اهداف درمانی مطلوبی که بر نتیجه بیماران مبتلا به کولورکتال تأثیر می‌گذارند، خدمت کنند. [۲۲]. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان *HPYRI* در افراد مبتلا به سرطان کولورکتال در مقایسه با گروه کنترل افزایش می‌یابد. به علاوه بیان ژن با متاستاز و گرید نیز در ارتباط است. از سوی دیگر در سال ۲۰۲۲ کاوا و همکاران به بررسی *lncRNA* در سرطان سینه پرداختند و اظهار داشتند *lncRNA* می‌تواند شواهد اولیه‌ای را برای شناسایی نشانگرهای زیستی جهت پیش‌آگهی و اهداف درمانی برای سرطان فراهم کند [۲۳]. براساس گزارشات غیرفعال کردن این رونوشت غیرکدکننده منجر به مهار تکثیر سلول‌های سرطانی روده بزرگ و القای مرگ برنامه‌ریزی شده در آن‌ها در هردو حالت *in vivo* و *in vitro* می‌شد که نتیجه آن کاهش اندازه تومور است. باوجود پیشرفت در روش‌های تشخیص، بیش از نیمی از بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ تسلیم بیماری می‌شوند که دلیل آن تشخیص بیماری در مراحل پیشرفته است. به همین دلیل با توجه به کمبود روش‌های پیش‌آگهی و تشخیصی غیرتهاجمی و کم هزینه برای سرطان کولورکتال، شناسایی نشانگرهای زیستی جدید و بالقوه موثر در تحقیقات اخیر سرطان توجه بیش‌تری را به‌خود جلب کرده است.

نتیجه گیری:

در افراد مبتلا به سرطان کلورکتال در مقایسه با کنترل LncRNA HPYRI افزایش بیان داشت. بنابراین با تغییر بیان ژن HPYRI در سرطان کلورکتال با تایید در مطالعات وسیع تر می تواند به عنوان یک هدف درمانی در سرطان کولورکتال مطرح باشد و از این ژن احتمالاً بتوان به عنوان یک بیومارکر برای تشخیص تومور استفاده کرد.

ملاحظات اخلاقی:

این پژوهش در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد شهرکرد با کد IR.IAU.SHK.REC.1402.053 به تصویب رسیده است.

تعارض منافع:

بنابر اظهار نویسندگان هیچ گونه تعارض منافع وجود ندارد.

تشکر و قدردانی:

این پژوهش برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد بوده است و بدین وسیله از تمام افرادی که در انجام این پژوهش یاری رساندند صمیمانه سپاسگزاری می شود.

References:

- Vajhi A, Zehtabvar O, Masoudifard M, Moghim M. Digestive system anatomy of the *Acipenser persicus*: New features. *Iranian J Fish Sci.* 2013;12(4):939-46.
- Nath SK, Das S, Afrin K, Dash AK, Akter S. Topographical and biometrical anatomy of the digestive tract of White New Zealand Rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *J Adv Vet Anim Res.* 2016;3(2).
- Zhang H, Zhang Y-S, Jin X-W, Li M-Z, Fan J-S, Yang Z-H. Transanal single-port laparoscopic total mesorectal excision in the treatment of rectal cancer. *Tech Coloproctol.* 2013;17(1):117-23.
- Munkholm P. The incidence and prevalence of colorectal cancer in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003;18:1-5.
- Cox JM, Clayton CL, Tomita T, Wallace DM, Robinson PA, Crabtree JE. cDNA array analysis of cag pathogenicity island-associated *Helicobacter pylori* epithelial cell response genes. *Infect and Immu.* 2001;69(11):6970-80.
- Froehlich F, Wietlisbach V, Gonvers J-J, Burnand B, Vader J-P. Impact of colonic cleansing on quality and diagnostic yield of colonoscopy: the European Panel of Appropriateness of Gastrointestinal Endoscopy European multicenter study. *Gastrointest Endosc.* 2005;61(3):378-84.
- Kanthan R, Senger J-L, Kanthan SC. Molecular events in primary and metastatic colorectal carcinoma: a review. *PatholRes Int.* 2012;2012.
- Carter G, Miladinovic B, Patel AA, Deland L, Mastorides S, Patel NA. Circulating long noncoding RNA GAS5 levels are correlated to prevalence of type 2 diabetes mellitus. *BBA Clin.* 2015;4:102-7.
- Sun W, Yang Y, Xu C, Guo J. Regulatory mechanisms of long noncoding RNAs on gene expression in cancers. *Cancer Genet.* 2017;216:105-10.
- Vester D, Lagoda A, Hoffmann D, Seitz C, Heldt S, Bettenbrock K, et al. Real-time RT-qPCR assay for the analysis of human influenza A virus transcription and replication dynamics. *J Virol Methods.* 2010;168(1-2):63-71.
- Ferns R, Nastouli E, Garson J. Quantitation of hepatitis delta virus using a single-step internally controlled real-time RT-qPCR and a full-length genomic RNA calibration standard. *J Virol Methods.* 2012;179(1):189-94.
- Ling D, Salvaterra PM. Robust RT-qPCR data normalization: validation and selection of internal reference genes during post-experimental data analysis. *PloS one.* 2011;6(3).
- Berkman SJ, Roscoe EM, Bourret JC. Comparing self-directed methods for training staff to create graphs using Graphpad Prism. *J Appl Behav Anal.* 2019;52(1):188-204.
- Calliess T, Bauer K, Stukenborg-Colsman C, Windhagen H, Budde S, Ettinger M. PSI kinematic versus non-PSI mechanical alignment in total knee arthroplasty: a prospective, randomized study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2017;25(6):1743-8.
- Touret F, Gilles M, Barral K, Nougairède A, van Helden J, Decroly E, et al. In vitro screening of a FDA approved chemical library reveals potential inhibitors of SARS-CoV-2 replication. *Sci Rep.* 2020;10(1):1-8.
- Sun L-N, Zhi Z, Chen L-Y, Zhou Q, Li X-M, Gan W-J, et al. SIRT1 suppresses colorectal cancer metastasis by transcriptional repression of miR-15b-5p. *Cancer Lett.* 2017;409:104-15.
- Enguita FJ, Costa MC, Fusco-Almeida AM, Mendes-Giannini MJ, Leitão AL. Transcriptomic crosstalk between fungal invasive pathogens and their host cells: opportunities and challenges for next-generation sequencing methods. *J Fungi.* 2016;2(1):7.
- Shahmoradi M, Rezvani Z. Functional Prediction of Long Noncoding RNAs in Cutaneous Melanoma Using a Systems Biology Approach. *Bioinform Biol Insights.* 2021;15:1177932220988508.
- Liu B, Chen Y, Yang J. LncRNAs are altered in lung squamous cell carcinoma and lung adenocarcinoma. *Oncotarget.* 2017;8(15):24275.
- Ong MS, Cai W, Tan TZ, Huang RY-J, Hooi SC, Yap CT, et al. Long non-coding RNA landscape in colorectal cancer. *RNA Dis.* 2019;6.
- Wu X, Liu J, Zhu C, Ma M, Chen X, Liu Y, et al. Identification of Potential Biomarkers of Prognosis-Related Long Non-Coding RNA (lncRNA) in Pediatric Rhabdoid Tumor of the Kidney Based on

- ceRNA Networks. Medical Science Monitor: Int Med J Exp Clin Res. 2020;26:e927725-1.
- 22.Poursheikhani A, Abbaszadegan MR, Kerachian MA. Mechanisms of long non- coding RNA function in colorectal cancer tumorigenesis. Asia Pac J Clin Oncol 2021;17(1):7-23.
- 23.Cava C, Armaos A, Lang B, Tartaglia GG, Castiglioni I. Identification of long non-coding RNAs and RNA binding proteins in breast cancer subtypes. Sci Report. 2022;12(1):693.

Evaluation of lncRNA *HPYR1* expression in colorectal cancer patients

Elahe Karimi¹, Noosha Zia-Jahromi^{1*}

Received: 2023.06.28

Revised: 2023.08.15

Accepted: 2023.09.19

1. Department of Biology, Science Faculty, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.21, No.2, Summer 2023

Pars J Med Sci 2023;21(2):68-77

Abstract:

Introduction:

Colon cancer is caused by abnormal growth of cells that can invade (Metastasis) or multiply in other tissues in the body. Colorectal cancer is the third most common cancer in the world and its mortality rate is almost 50% of patients. Research has shown that LncRNAs play an important role in tumorigenesis, angiogenesis, proliferation, migration, apoptosis and differentiation. Based on the above, the present study investigates the expression of LncRNA *HPYR1* in patients with colorectal cancer.

Materials & Methods:

The present study was performed by sampling 20 patients with colorectal cancer and 20 healthy tissues. Then RNA extraction was performed by Trizol kit and cDNA synthesis was performed by Takara kit and finally the expression of the relevant gene was performed by Real Time RT PCR technique. The relative expression level of LncRNA *HPYR1* was calculated and finally the results were analyzed by GraphPad Prism software.

Results:

The results showed that the expression of *HPYR1* lncRNA in colorectal cancer has a significant increase compared to the control group ($p=0.0116$) and also the expression of the gene is related to metastasis ($p=0.002$). On the other hand, the relative expression of *HPYR1* lncRNA in the tumor of people with stage 1 and 2 and in the tumor of people with different size tumors did not show a significant increase ($p=0.56$) and ($p=0.8270$), but the relative expression of lncRNA *HPYR1* in the tumor of people with grades 2 had an increase in expression compared to grade 1 and it was statistically significant ($p=0.03$).

Conclusion:

In the present study, the relative expression of LncRNA *HPYR1* in people with colorectal cancer was increased compared to the control, which could be due to the activation of proteins involved in cancer and the growth of tumor cells and blood vessels. Birth in cancer. Therefore, considering the changes in LncRNA *HPYR1* gene expression in colorectal cancer, it is possible to use this gene as a biomarker for tumor diagnosis.

Keywords: Colorectal cancer, lncRNA, *HPYR1*

* Corresponding author Email: Nooshazia.59@gmail.com