

Research Paper

Evaluation of HOTAIR and HOXC13 Genes in Tumor And Normal Tissues Adjacent to Tumor in Patients with Esophageal Cancer



Mohammad Aryanpour¹, *Hamid Galehdari², Flora Forouzes¹

1. Department of Genetics, Faculty of Modern Sciences and Technologies, Tehran Medical Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2. Department of Genetics, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.



Citation Aryanpour M, Galehdari H, Forouzes F. Evaluation of HOTAIR and HOXC13 Genes in Tumor And Normal Tissues Adjacent to Tumor in Patients with Esophageal Cancer. *Jundishapur Scientific Medical Journal*. 2022; 20(6):586-601. <https://doi.org/10.32598/JSMJ.20.6.2287>

<https://doi.org/10.32598/JSMJ.20.6.2287>



Received: 04 Nov 2021

Accepted: 01 Jan 2021

Available Online: 21 Jan 2022

Keywords:

Esophageal Cancer,
Gene Expression,
HOXC13 Gene,
HOTAIR Gene

ABSTRACT

Background and Objectives One of the molecules that associated with cancer progression are Long non coding RNA (LncRNAs). HOX transcript antisense RNA (HOTAIR) is a member of the lncRNA family. Homeobox C13 (HOXC13) gene is one of the several HOX genes that is located near the HOTAIR. This study was to evaluate the expression of HOTAIR and HOXC13 genes in tumor and normal tissues adjacent to tumor in patients with esophageal cancer.

Methods This is an experimental study. 30 pairs of esophageal tumor tissue and tumor margin tissue were purchased. RNA of these tissues was extracted and Real-time PCR with Beta-actin gene was used for their relative expression. Statistical analysis of data, t-test and Analysis of variance (ANOVA) were performed in GraphPad Prism 8 software.

Results Comparison of target gene expression in esophageal tumor samples relative to tumor margins showed that the relative expression of the HOTAIR genes was 1.95 time ($P=0.0219$) and the HOXC13 14.4 time ($P=0.014$) significantly increased expression. Also, the HOXC13 gene expression shows a significant relationship with metastasis to distant regions, type and degree of tumor. The correlation coefficient between the relative expression of the HOTAIR and the HOXC13 genes was 0.152. It was positive but not significant between the two genes ($P=0.2$).

Conclusion According to the association of the HOTAIR and the HOXC13 genes with cancer, our study may partially express the role of these two genes in the tumorigenesis process in the development of esophageal cancer.

*** Corresponding Author:**

Hamid Galehdari, PhD.

Address: Department of Genetics, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Tel: +98 (916) 6149028

E-Mail: galehdari187@yahoo.com

مقاله پژوهشی

بررسی بیان ژن های HOTAIR و HOXC13 در بافت های توموری و نرمال حاشیه تومور در بیماران مبتلا به سرطان مری

محمد آریانپور^۱، حمید گله داری^۲، فلورا فروزش^۱

۱. گروه ژنتیک، دانشکده علوم و فناوری های نوین، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
 ۲. گروه ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

چکیده

تاریخ دریافت: ۱۳ آبان ۱۴۰۰
 تاریخ پذیرش: ۱۱ دی ۱۴۰۰
 تاریخ انتشار: ۰۱ بهمن ۱۴۰۰

زمینه و هدف: اسیدهای ریبونوکلئیک غیر کدکننده طولانی یکی از مولکول هایی هستند که با پیشرفت سرطان همراهی دارند. HOTAIR عضوی از خانواده اسیدهای ریبونوکلئیک غیر کدکننده طولانی است. ژن HOXC13 یکی از چندین ژن ها کس است که در نزدیکی ژن HOTAIR قرار گرفته است. مطالعه حاضر با هدف بررسی بیان ژن HOTAIR و HOXC13 در بافت های توموری سرطان مری و نرمال حاشیه تومور انجام شد.

روش بررسی: این مطالعه تجربی است. ۳۰ جفت بافت تومور مری و بافت حاشیه تومور آن خریداری شده اسید ریبونوکلئیک این بافت ها استخراج می شود و برای بررسی بیان نسبی آن ها از روش ریل تایم پی سی آر به همراه ژن بتا اکتین استفاده شد. برای آنالیز آماری داده ها از آزمون آماری تی تست و تحلیل واریانس و با نسخه ۸ نرم افزار گراف پد پریمم انجام شد.

یافته ها: مقایسه میزان بیان ژن هدف در نمونه های توموری مری نسبت به حاشیه تومور نشان داد بیان نسبی ژن HOTAIR ۱/۹۵ برابر (P=۰/۰۲۱۹) و HOXC13 ۱۴/۴ برابر (P=۰/۰۱۴) به طور معنادار افزایش بیان وجود دارد. همچنین بیان ژن HOXC13 با متاستاز به نواحی دور، نوع و درجه تومور رابطه معناداری را نشان می دهد. ضریب همبستگی میان بیان نسبی ژن های HOTAIR و HOXC13، ۰/۱۵۲ به دست آمد که میان این دو ژن همراهی مثبت بود، اما معنادار نبود (P=۰/۲).

نتیجه گیری: با توجه به ارتباط دو ژن HOXC13 و HOTAIR با سرطان، این مطالعه تا حدی می تواند بیان کننده نقش این دو ژن در فرآیند تومورزایی در گسترش سرطان مری باشد.

کلیدواژه ها:

سرطان مری، بیان ژن، ژن HOXC13، HOTAIR

مقدمه

سنگفرشی مری^۱ و آدنوکارسینوما مری^۲ که بیش از ۹۰ درصد سرطان مری را تشکیل می دهند [۴].

از نظر مولکولی، اسیدهای ریبونوکلئیک غیر کدکننده طولانی^۳ از مولکول هایی هستند که افزایش بیان آن ها با پیشرفت سرطان همراه است. بنابراین، بیان متفاوت این مولکول ها ممکن است در تشخیص، پیش آگهی و درمان سرطان کمک کننده باشد [۵]. اسیدهای ریبونوکلئیک^۴ غیر کدکننده طولانی طولی بیش

سرطان مری نهمین سرطان شایع در سراسر جهان و ششمین علت شایع مرگ و میر ناشی از سرطان است که هر ساله حدود ۳۰۰ هزار نفر را به کام مرگ می کشاند [۱، ۲]. بیشتر بیماران در ایران از مناطق شمالی و شمال شرقی ایران بوده اند. در یک مطالعه توسط پژوهشکده سرطان ایران^۱، ۹ درصد از کل سرطان ها و ۲۷ درصد از سرطان های دستگاه گوارش، سرطان مری بودند [۳]. از نظر بافت شناسی، سرطان مری دو نوع دارد، سرطان سلول های

2. Esophageal Squamous Cell Carcinoma (ESCC)
3. Esophageal Adenocarcinoma (EAC)
4. Long non coding RNA (LncRNAs)
5. Ribonucleic acid

1. <https://cri.tums.ac.ir>

* نویسنده مسئول:

دکتر حمید گله داری

نشانی: اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم، گروه ژنتیک.

تلفن: ۶۱۴۹۰۲۸ (۹۱۶) ۹۸+

رایانامه: galehdari187@yahoo.com

تیروئید، استئوسارکوما، سرطان پستان و سرطان تخمدان مشاهده شده است [۱۴].

نقش ژن HOTAIR در شکل‌گیری و متاستاز سرطان‌های گوناگونی از جمله پستان، کبد، معده و روده بررسی و ثابت شده است. افزایش بیان ژن HOTAIR در تومورهای استرومایی معده‌ای-روده‌ای متاستازدهنده، اثبات شده است [۱۰]. همچنین تأثیر ژن HOXC13 در سرطان‌هایی مانند سرطان تیروئید، سرطان استئوسارکوما، سرطان پستان و سرطان تخمدان مشاهده شده است [۱۴]. گزارشات بیانگر میزان بیان بالای این ژن در سلول‌ها و بافت‌های سرطانی در مقایسه با افراد نرمال است. با توجه به تحقیقاتی که در دانشگاه شهید چمران اهواز بر روی این ژن‌ها در تومورهای کلون و معده انجام شد، نشان‌دهنده ارتباط بیانی این ژن‌ها با پیشرفت سرطان بود. به دلیل نزدیکی فیزیولوژیکی بافت‌های معده و مری و مجاورت ژن‌های HOTAIR و HOXC13 که هر دو بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱۲ هستند و با توجه به رابطه بیان و عملکرد مشابه ژن‌هایی که در نزدیکی یکدیگر قرار گرفته‌اند و همچنین بر اساس بررسی‌های صورت‌گرفته در پایگاه‌های اطلاعاتی، تاکنون ارتباط بین بیان ژن‌های HOTAIR و HOXC13 در سرطان مری و بافت‌های نرمال حاشیه تومور بررسی نشده است. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی بیان ژن HOTAIR و HOXC13 در بافت‌های توموری سرطان مری و بافت‌های نرمال حاشیه تومور انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه، در مجموع ۶۰ نمونه بافتی شامل ۳۰ نمونه بافت تومور سرطان مری و ۳۰ نمونه بافت غیر توموری (حاشیه تومور) به‌صورت جفت شده بدین صورت که از هر فرد یک جفت بافت گرفته شد (یک نمونه بافت توموری و یک نمونه بافت نرمال حاشیه تومور). این بافت‌ها از بانک بافت‌های توموری انیستیتو کانسر تهران خریداری شد. نمونه‌ها پس از دریافت رضایت کتبی آگاهانه از بیماران و بلافاصله پس از جراحی توسط پاتولوژیست مورد تأیید قرار گرفت و در بانک ذخیره شدند. به‌صورت بافت‌های خریداری‌شده در فریزر ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. فرمول محاسبه حجم نمونه‌ها، تصادفی ساده است. بدین صورت که همه نمونه‌گیری‌ها بدون جایگزینی انجام می‌شود. در این روش تمام اعضای جامعه دارای شانس مساوی یا حداقل شانس معینی برای قرار گرفتن در نمونه خواهند بود. در این نوع نمونه‌گیری شانس انتخاب هر نمونه n/N است. معیار ورود به آزمایش تأیید پاتولوژی تومور توسط پاتولوژیست و تازه بودن نمونه‌ها بود (بیماران تحت شیمی‌درمانی و پرتودرمانی قرار نگرفته بودند). معیار خروج از آزمایش، نمونه‌هایی بودند که تأیید پاتولوژیست را نداشتند و یا تحت درمان قرار گرفته بودند.

از ۲۰۰ نوکلئوتید^۶ دارند و رونویسی از آن‌ها توسط آنزیم اسید ریبونوکلئیک پلیمرز ۲ انجام می‌شود. این مولکول‌ها عملکرد خود را به واسطه میان‌کنش با دی‌ان‌ای، اسیدهای ریبونوکلئیک و پروتئین انجام می‌دهند. نقش اسیدهای ریبونوکلئیک غیر کدکننده طولانی به عنوان عوامل سرکوبگر تومور یا آنکوژن‌ها در بسیاری از سرطان‌های شایع به اثبات رسیده است [۶، ۷].

ژن HOTAIR^۷ یکی از اسیدهای ریبونوکلئیک غیر کدکننده طولانی است. این ژن بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱۲ (12q13.13) واقع شده و حاوی ۷ اگزون است. این ژن طولی در حدود ۲۱۵۸ bp دارد [۸]. HOTAIR تنظیم بیان ژن‌های هاکس انسانی را بر عهده دارد و دارای یک نقش اساسی در تنظیم اپی ژنتیکی سرطان است [۶]. این ژن نقش خود را از طریق اتصال به مجموعه تغییردهنده کروماتین نظیر REST، LSD1، PRC2 و COREST انجام می‌دهد [۹]. بدین صورت که ژن HOTAIR از طریق انتهای ۵ خود به PRC2 متصل شده و باعث متیلاسیون لیزین ۲۷ از هیستون سوم^۸ می‌شود. از طرف دیگر، این ژن از طریق انتهای ۳ خود به مجموعه REST، LSD1، COREST متصل شده و منجر به دمتیلاسیون لیزین ۴ از هیستون سوم می‌شود. حاصل متیلاسیون و دمتیلاسیون لیزین‌های هیستون سوم، سبب غیر فعال شدن ژن‌های هدف HOTAIR می‌شود [۸]. تأثیر ژن HOTAIR در متاستاز سرطان پستان، تومورهای استرومایی معده‌ای-روده‌ای، سرطان کبد و ریه ثابت شده است [۱۰].

ژن‌های خانواده هاکس، کدکننده فاکتورهای رونویسی است. عملکرد حفاظتی ژن‌های هاکس در تنظیم طرح محوری طی تشکیل طرح اولیه بدن در تکامل موجودات زنده نقش مهمی ایفا می‌کند. پژوهش‌های انجام شده بیانگر نقش ژن‌های هاکس در آنکوژن‌زایی بسیاری از بدخیمی‌ها است و سلول‌های سرطانی بیان بالای ژن‌های هاکس را نشان می‌دهند [۱۱].

یکی از اعضای خانواده ژن‌های هاکس، ژن HOXC13^۹ است. HOXC13 یکی از چندین ژن HOXC است که بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱۲ و در نزدیکی ژن HOTAIR قرار گرفته است. ژن HOXC13 حاوی ۲ اگزون بوده و طولی در حدود ۷۷۵۲ bp دارد. این ژن تنها در هسته سلول‌ها یافت می‌شود و عملکرد خود را از طریق اتصال به مجموعه پیش‌همانندساز در اینترفاز G1 انجام می‌دهد و پس از آغاز سنتز از این ناحیه جدا می‌شود. ویژگی‌های ژن‌های HOXC13، نظیر آن دسته از فاکتورهای رونویسی است که به سرعت با مولکول بعد از خود جایگزین می‌شوند و از نظر پایداری و ساکن بودن نیز همانند هیستون‌ها و کوهسین‌ها عمل می‌کنند [۱۱-۱۳]. نقش این ژن در سرطان‌هایی نظیر سرطان

6. Nucleotide
7. HOX transcript antisense RNA (HOTAIR)
8. H3K27me3
9. Homeobox C13 (HOXC13)

جدول ۱. مشخصات کلینیکوپاتولوژی بیماران مورد بررسی

مشخصات	تعداد (درصد)
جنسیت	مرد ۱۷(۵۶)
	زن ۱۳(۴۴)
سن	≤۶۵ ۱۶(۵۴)
	>۶۵ ۱۴(۴۶)
سایز تومور	≥۵ ۱۱(۳۷)
	<۵ ۱۹(۶۳)
درجه تومور	I ۸(۲۷)
	II ۹(۳۰)
	III ۱۳(۴۳)
تهاجم به لنف	بله ۳(۱۰)
	خیر ۲۳(۷۶)
	نامشخص ۴(۱۴)
تهاجم به اطراف عصب	بله ۱۲(۴۰)
	خیر ۱۸(۶۰)
	X ۲(۷)
متاستاز به نواحی دور (M)	۰ ۲۴(۸۰)
	۱ ۴(۱۳)
تهاجم به رگ	بله ۱۳(۴۴)
	خیر ۱۷(۵۶)
نوع تومور	آدنوکارسینوما ۹(۴۳)
	کارسینوم سلول سنگفرشی ۲۱(۵۸)
مرحله	II ۱۰(۳۴)
	III ۲۰(۶۶)

جندی شاپور

میلی گرم نمونه بافت به کمک ازت هموژنیزه شد. یک میلی لیتر محلول تریزول برای لیز شدن سلولها اضافه شد و سپس تمامی محتویات به میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری انتقال یافت. محلول در دمای اتاق به مدت ۵ الی ۱۰ دقیقه انکوبه شد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم افزوده شد. مخلوط با سر و ته کردن شدید به مدت ۱۵ ثانیه همگن شد. میکروتیوب در سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ شدن، مخلوط سه فاز ایجاد شد. اسید ریبونوکلیتیک در فاز بالایی، دی‌ان‌ای و پروتئین در فاز میانی و پایینی قرار گرفتند.

تمامی آزمایش‌ها از جمله استخراج اسید ریبونوکلیتیک از بافت‌ها، سنتز دی‌ان‌ای مکمل^{۱۰} و ریل تایم پی‌سی‌آر^{۱۱} در آزمایشگاه ژنتیک مولکولی دانشگاه شهید چمران اهواز^{۱۲} انجام شد. این مطالعه از نوع تجربی است. مشخصات کلینیک و پاتولوژی بیماران در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

برای استخراج اسید ریبونوکلیتیک از نمونه‌ها، ۵۰ تا ۱۰۰

10. Complementary Deoxyribonucleic acid (cDNA)

11. Real-Time PCR

12. <https://scu.ac.ir>

همچنین به وسیله این دستگاه و حجم ۱ الی ۲ میکرولیتر از نمونه در مدت زمان کمتر از ۱۰ ثانیه، کلیه طول موج‌های موجود در طیف مورد نظر با دقت ۱ نانومتر اسکن شد. با بررسی نسبت ۲۶۰/۲۸۰ و ۲۳۰/۲۶۰ خلوص اسید ریبونوکلیتیک محاسبه شد.

در این مطالعه برای تکثیر اسید ریبونوکلیتیک از پرایمرهای الیگو dT و 6mer و از کیت شرکت کایژن استفاده شد. بدین منظور، ابتدا اسیدهای ریبونوکلیتیک استخراج شده با تست آنزیم دئوکسی ریبونوکلیتاز^{۱۶} تیمار شدند. سپس سنتز دی‌ان‌ای مکمل از روی اسید ریبونوکلیتیک الگو انجام شد. مراحل و شرایط دمایی و زمانی آن به شرح ذیل است:

برای تیمار با دئوکسی ریبونوکلیتاز^{۱۶}، ۱ میکروگرم اسید ریبونوکلیتیک استخراج شده به همراه ۰/۵ میکرولیتر بافر دئوکسی ریبونوکلیتاز 10X و ۰/۵ میکرولیتر نوترکیب^{۱۷} دئوکسی ریبونوکلیتاز^{۱۸} (ساخت آزمایشگاه بایو-راد^{۱۹}) قرار گرفتند. سپس برای از بین بردن دئوکسی ریبونوکلیتاز^{۱۸} احتمالی، مقدار ۰/۲۵ اسید اتیلن دی آمین تترا استیکو ۰/۵ مولار به میکروتیوب افزوده شد. سپس به مدت ۲ دقیقه و در دمای ۸۰°C در دستگاه ترموسایکلر قرار گرفتند. در بخش سنتز دی‌ان‌ای مکمل پرایمرهای 6mer و dT به مخلوط میکروتیوب افزوده شد. سپس به مدت ۵ دقیقه و در دمای ۶۵°C در دستگاه ترموسایکلر قرار داده شدند. در انتها، آنزیم رونوشت‌بردار معکوس^{۲۰} به همراه بافر آن برای آغاز رونوشت‌برداری معکوس و ساخت دی‌ان‌ای مکمل افزوده شد. این فرآیند به مدت ۳۰ دقیقه و در دمای ۳۷°C درجه انجام شد. سپس برای صحت انجام واکنش و سالم بودن دی‌ان‌ای مکمل سنتز شده، نمونه‌ها به وسیله یک ژن خانه‌دار مانند بتا

سپس برای جلوگیری از آلودگی با پروتئین و دی‌ان‌ای، تقریباً ۹۰ درصد فاز بالایی به آرامی به تیوب جدید منتقل شد. ایزوپروپانول به اندازه حجم مایع انتقال یافته اضافه شد. پس از مخلوط شدن به مدت ۲۰ دقیقه در فریزر ۲۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. نمونه در سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. فاز رویی تخلیه شد و ۱ میلی‌لیتر اتانول ۷۵ درصد تهیه شده با آب تیمار شده با دیس افزوده شد و مخلوط تا کنده شدن رسوب ته میکروتیوب ورتکس شد. نمونه در سرعت ۷۸۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی با وارونه کردن تیوب روی دستمال کاغذی تخلیه شد و خشک کردن نسبی رسوب در دمای اتاق به مدت چند دقیقه انجام شد (خشک شدن کامل رسوب حلالیت آن را کاهش می‌دهد). رسوب در آب تیمار شده با دی‌اتیل پیروکربنات^{۱۳} حل شد و نمونه‌ها در دمای ۵۵ درجه به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شدند. کلیه مراحل برای به حداقل رساندن فعالیت آنزیم ریبونوکلیتاز^{۱۴} زیر هود لامینار انجام شد. کلیه محلول‌ها روی یخ نگهداری و جابه‌جایی مواد روی یخ انجام شد.

کیفیت و کمیت اسید ریبونوکلیتیک استخراج شده به ترتیب توسط الکتروفورز و دستگاه نانودراپ ترموفیشر^{۱۵} مورد بررسی قرار گرفت. الکتروفورز برای جداسازی مولکول‌های زیستی از یکدیگر با وارد کردن آن‌ها در یک میدان الکتریکی انجام می‌شود. نمونه اسید ریبونوکلیتیک که از نظر شیمیایی دست نخورده باشد و از نظر زیستی کیفیت استاندارد داشته باشد، نشان‌دهنده الگوی باند ویژه‌ای روی ژل آگارز است. وجود باندهای اسید ریبونوکلیتیک ۱۸S و ۲۸S بیانگر اسید ریبونوکلیتیک سالم و تام بودن است. عدم اسمیر یا کم بودن میزان آن در ژل نشان‌دهنده نمونه‌هایی با کیفیت بالا است. نسبت باند 28-S تقریباً دو برابر باند 18-S است. عدم حضور باندهای ریبوزومی 18-S و 28-S در ژل آگارز بیانگر تجزیه نمونه اسید ریبونوکلیتیک به وسیله آنزیم ریبونوکلیتاز است.

13. Diethyl pyrocarbonate (DEPC)
14. Ribonuclease (RNase)
15. Thermofisher

جدول ۲. پرایمرهای مورداستفاده در ریل تایم پی سی آر

ژن	پرایمر	ترادف	طول قطعه (bp)
β-Actin	F	5'ATTGGCAATGAGCGGTTCC 3'	۹۱
	R	5'TGAAGGTAGTTTCGTGGATG 3'	
HOTAIR	F	5'GAAAGGTCTGCTCCGCTTC 3'	۱۰۹
	R	5'TCCTCTCGCCGCCGTCTG 3'	
HOXC13	F	5'TCTCCCTCCAGACGTGGT 3'	۸۶
	R	5'CGCTCAGAGAGTTCTGTGGT 3'	

جدول ۳. برنامه دمایی و زمانی ریل تایم پی سی آر

مرحله	دما (درجه)	زمان (ثانیه)	تعداد سیکل
واسرشتگی اولیه	۹۵	۱۸۰	۱
گسترش	۹۵	۵	۴۵
	۶۲	۳۰	
	۹۵	۱۰	
ذوب	۶۵	۶۰	۱
	۹۵	۶۰	

جندی شاپور

ثانیه در دمای 72°C و گسترش نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای 72°C انجام شد. محصولات حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای ژن‌های آکتین-بتا HOTAIR و HOXC13 بر روی ژل آگارز ۱ درصد تفکیک شده و با دستگاه ژل داکيومنتیشن از ژل عکس برداری شد.

در این مطالعه پرایمرها با نرم‌افزار آلیگو طراحی شدند. بررسی اختصاصی بودن عملکرد پرایمرها نیز با پرایمر بلاست و از پایگاه داده مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی آمریکا^{۲۵} صورت گرفت (جدول شماره ۲).

برای بررسی کمی بیان اسید ریبونوکلیک بر روی دی‌ان‌ای مکمل سنتز شده، واکنش ریل تایم پی سی آر از نوع کمی

25. National Center for Biotechnology Information (NCBI)

آکتین به همراه واکنش زنجیره‌ای پلیمرز^{۲۱} بررسی شدند.

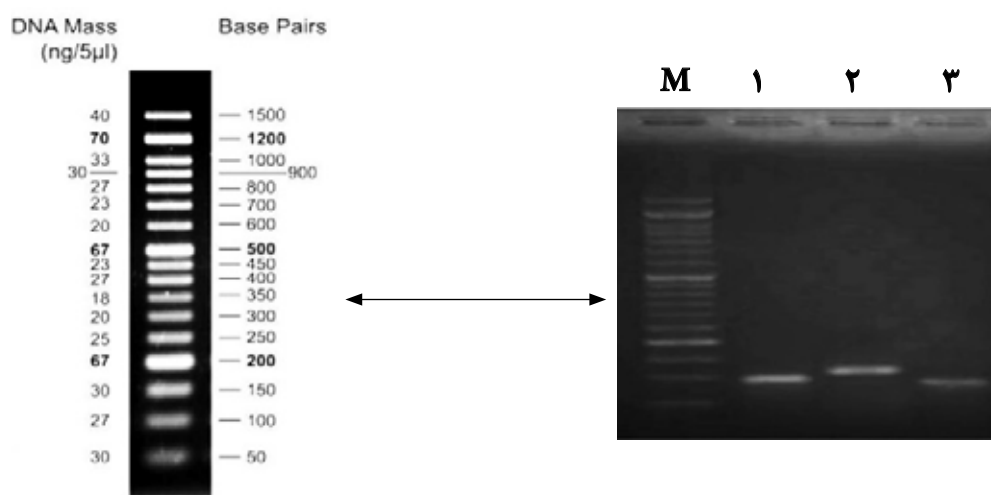
برای انجام هر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، میزان 0.5 میکرولیتر (شرکت کیاژن) مسترمیکس به همراه 0.5 میکرولیتر پرایمر رفت^{۲۲} و 0.5 میکرولیتر پرایمر برگشت^{۲۳} و 1 میکرولیتر دی‌ان‌ای مکمل ($20 \text{ ng}/\mu\text{l}$) که با 3 میکرولیتر آب دیونیزه^{۲۴} شده به حجم نهایی 10 میکرولیتر رسانیده شد و در برنامه دمایی و زمانی که به شرح ذیل آمده است در دستگاه ترموسایکر قرار گرفتند. ابتدا واسرشت اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای 95°C ، سپس 45 سیکل (واسرشت به مدت 30 ثانیه در دمای 95°C ، اتصال به مدت 30 ثانیه در دمای 60°C و گسترش به مدت زمان 30

21. Polymerase chain reaction (PCR)

22. Primer Forward

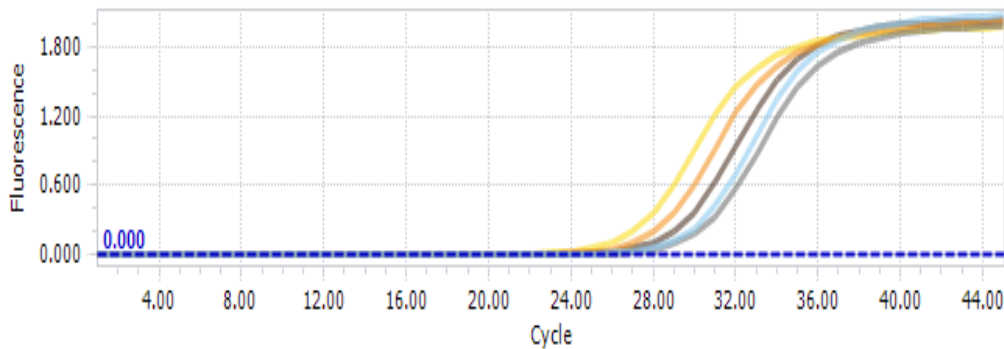
23. Primer Reverse

24. Deionized Water



جندی شاپور

تصویر ۱. الکتروفورز محصول PCR برای ژن‌های بتا آکتین، HOTAIR و HOXC13، چاهک M ژن‌های بتا آکتین، HOTAIR و HOXC13، چاهک M مربوط به مارکر 50 bp به شماره کاتالوگ PR901633 ساخت شرکت سیناژن است. چاهک شماره ۱ محصول مربوط به ژن بتا آکتین با طول 91 bp ، چاهک شماره ۲ محصول مربوط به ژن HOTAIR با طول 109 bp و چاهک شماره ۳ محصول مربوط به ژن HOXC13 با طول 86 bp است.



تصویر ۳. منحنی تکثیر ژن HOTAIR

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

در این رابطه ΔCt نمونه حاصل اختلاف بین سیکل‌های آستانه ژن هدف و کنترل داخلی در نمونه مورد آزمایش است و ΔCt کنترل نیز حاصل اختلاف میان سیکل‌های آستانه ژن هدف و کنترل داخلی در نمونه کنترل است.

آنالیز آماری داده‌ها به وسیله نسخه ۱۳ نرم‌افزار SPSS انجام شد و از آزمون آماری تی‌تست و آنووا در نرم‌افزار گراف پد پرسم ۸ استفاده شد و سطح معنادار $P \leq 0.05$ مورد قبول واقع شد.

یافته‌ها

برای بررسی کیفیت اسید ریبونوکلیک استخراج شده، میزان ۱ تا ۲ میکرولیتر از آن را بر روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز شد و سه باند شارپ 5-S rRNA، 18-s rRNA و 28-s rRNA رویت شد که در آن شکستگی و اسمیر وجود نداشت و تأییدکننده صحت اسید ریبونوکلیک استخراج شده بود.

در بررسی بانودراپ، خوانش برای نسبت جذب نوری ۲۶۰/۲۸۰ انجام شد که بین بازه ۱/۸ تا ۲ بودند که بیانگر خلوص بالای اسید ریبونوکلیک تخلیص یافته است و این اسید عاری از هر گونه آلودگی با پروتئین و سایر نمک‌های آلی بودند.

برای اطمینان از صحت انجام واکنش و سالم بودن دی‌ان‌ای

سنجی نسبی^{۲۶} توسط دستگاه LightCycler مدل ۹۶ و ساخت شرکت Roch به روش سایبرگرین^{۲۷} و با استفاده از کیت شرکت (TAKARA) در حجم ۲۰ میکرولیتر انجام شد.

۲ میکرولیتر دی‌ان‌ای مکمل (۵۰ ng/μl) را به همراه ۱۰ پیکومول^{۲۸} پرایمر رفت، ۱۰ پیکومول پرایمر برگشت، میزان ۱۰ میکرولیتر SYBR premix Ex Taq II (2x) و ۶ میکرولیتر آب استریل به چاهک افزوده شد و مطابق با برنامه دمایی و زمانی انجام شد (جدول شماره ۳).

برای بررسی تغییرات بیان ژن‌ها و مقایسه بیان ژن‌ها در بافت توموری نسبت به بافت حاشیه تومور از قانون Livak و روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ استفاده شد (فرمول شماره ۱).

$$\Delta Ct(\text{sample}) = Ct(\text{HOTAIR or HOXC13}) - Ct(\beta\text{-ACTIN})$$

$$1. \Delta Ct(\text{control}) = Ct(\text{HOTAIR or HOXC13}) - Ct(\beta\text{-ACTIN})$$

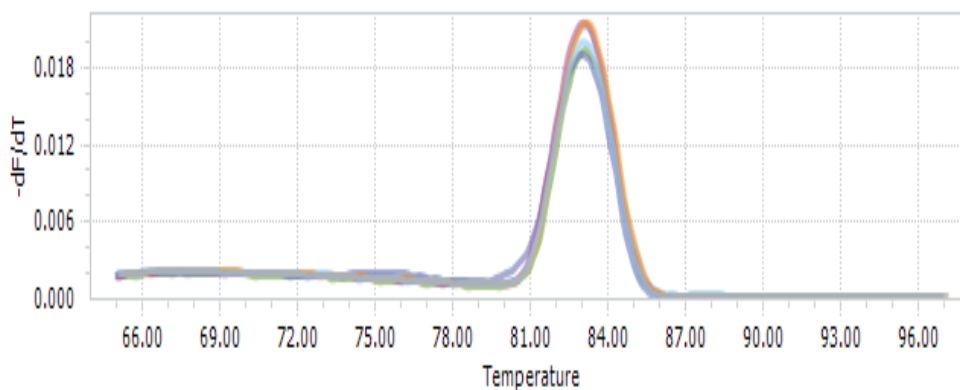
$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct(\text{sample}) - \Delta Ct(\text{control})$$

$$2^{-\Delta\Delta Ct} = \text{Livak}$$

26. Relative Quantification

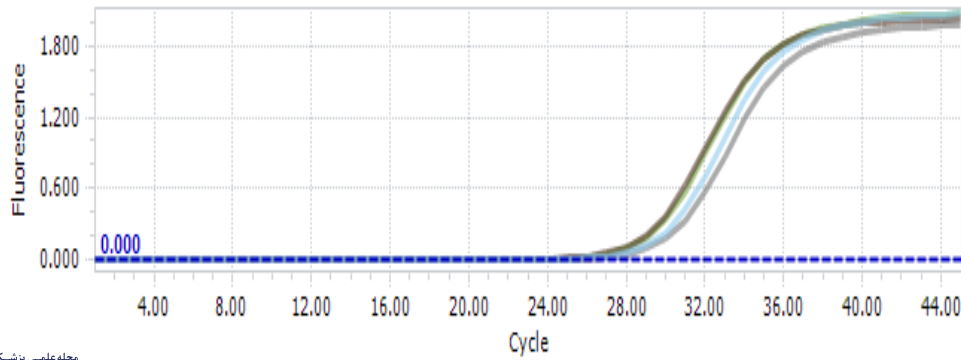
27. SYBR Green I (SG)

28. 10 Picomles (10 PMol)



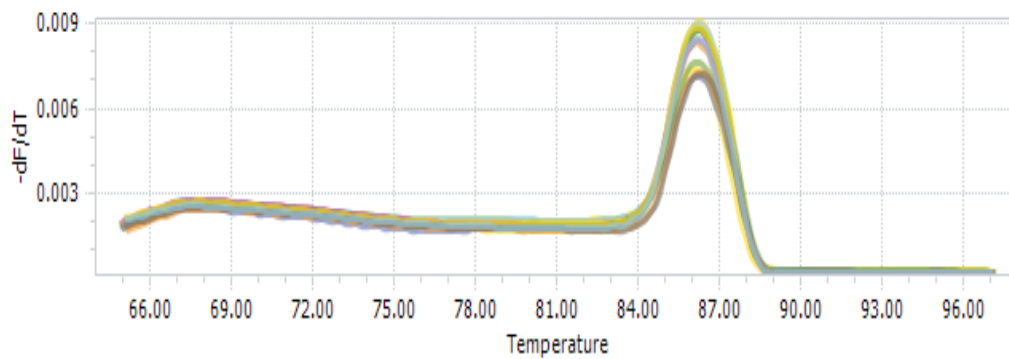
تصویر ۷. دمای ذوب ژن HOXC13 است و دمای ذوب (Tm) ۸۳ درجه برای آن تعیین شد.

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور



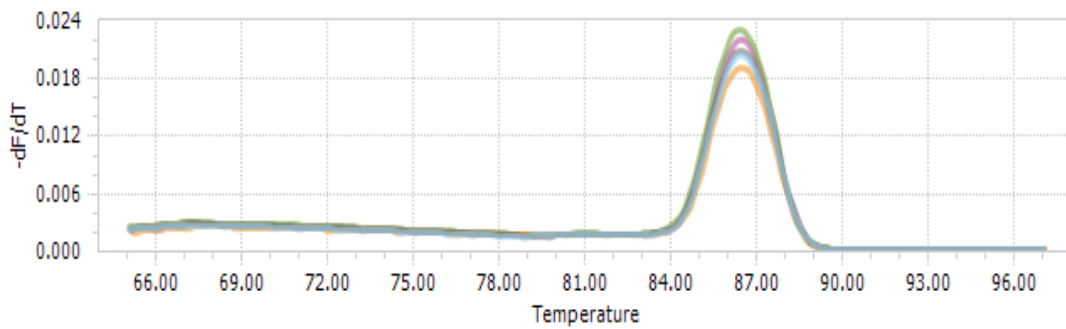
مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

تصویر ۴. منحنی تکثیر ژن HOXC13



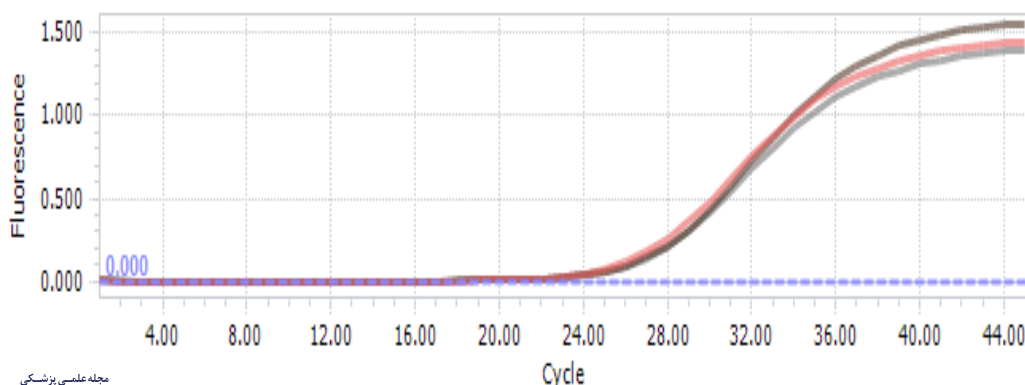
مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

تصویر ۵. دمای ذوب ژن بتا اکتین است و دمای ذوب (Tm) ۸۶/۵ درجه برای آن تعیین شد.



مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

تصویر ۶. دمای ذوب ژن HOTAIR است و دمای ذوب (Tm) ۸۶/۵ درجه برای آن تعیین شد.



مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

تصویر ۲. منحنی تکثیر ژن بتا اکتین

جدول ۶. نتایج ارتباط بیان ژن های HOTAIR و HOXC13

ژن ها	ضریب همبستگی	P
HOTAIR و HOXC13	۰/۱۵۲	۰/۲

جندی شاپور

همچنین به منظور اطمینان از عملکرد اختصاصی پرایمرهای طراحی شده، محصولات حاصل از ریل تایم پی سی آر برای هر یک از ژن بتا اکتین، HOTAIR و HOXC13 بر روی ژل آگارز ۲ درصد بارگزاری شدند. بدین صورت که برای هر ژن یک نمونه توموری و یک نمونه حاشیه تومور گذاشته شد. برای هر یک از ژن ها تک باند اختصاصی مشاهده شد که بیانگر عملکرد اختصاصی پرایمرها و عدم حضور باند دایمری و غیر اختصاصی است (تصویر شماره ۸).

برای مقایسه بیان ژن های مذکور در نمونه های توموری نسبت به نمونه های حاشیه تومور (گروه کنترل) از قانون لیواک و روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ و برای آنالیز داده ها از آزمون آماری تی تست و آنووا با استفاده از نرم افزار گراف پد پرایسم ۸ در سطح معناداری ۹۵ درصد ($P \leq 0.05$) انجام شد که نتایج حاصل از این بررسی در سطور زیر مطرح می شود.

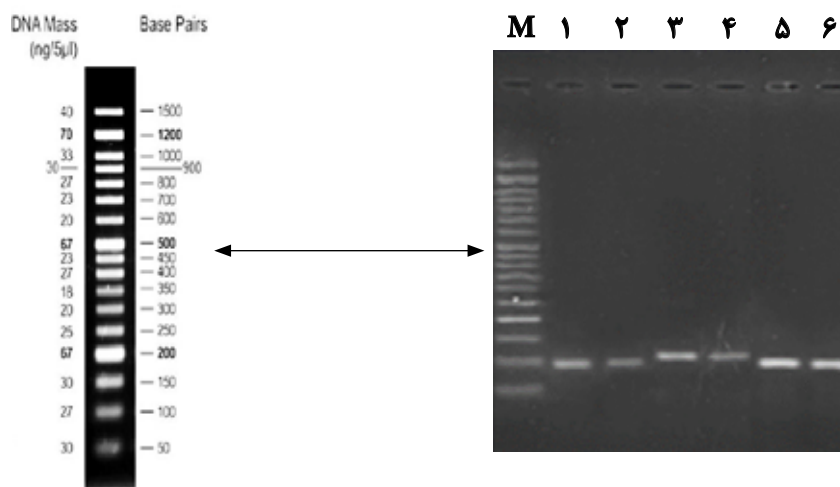
مقایسه میزان بیان نسبی ژن HOTAIR در نمونه های بافت توموری مری نسبت به حاشیه تومور نشان داد بیان نسبی این ژن در نمونه های توموری نسبت به حاشیه تومور افزایش بیان $1/95$ برابری داشته که از لحاظ آماری معنادار می باشد ($P=0.0219$) (تصویر شماره ۹) (جدول شماره ۴).

مکمل سنتز شده، نمونه ها به همراه ژن بتا اکتین توسط واکنش زنجیره ای پلیمرز مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج هر ژن روی ژل آگارز ۱ درصد برده شد. اندازه قطعات تکثیر شده مطابق اندازه های مورد انتظار در جدول طراحی پرایمر که به ترتیب $109/91$ bp و 86 است، مشاهده شدند (تصویر شماره ۱).

پس از فراهم کردن شرایط تکثیر قطعه مورد نظر، بیان کمی ژن های HOTAIR و HOXC13 با استفاده از واکنش Real-Time واکنش زنجیره ای پلیمرز در 30 جفت نمونه بافت توموری مری و بافت حاشیه تومور بررسی شد و داده های حاصل برای تمام نمونه ها با استفاده از قانون لیواک $2^{\Delta\Delta Ct}$ و روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ و نسبت به ژن کنترل داخلی بتا اکتین نرمال سازی انجام شد. تکثیر ژن بتا اکتین، HOTAIR و HOXC13 طی مراحل مختلف انجام واکنش ریل تایم پی سی آر طی 45 سیکل صورت گرفت. (هر منحنی بیانگر تکثیر ژن در یک نمونه است) (تصاویر شماره ۲، ۳، ۴).

منحنی ذوب محصولات ریل تایم پی سی آر بیانگر تکثیر اختصاصی پرایمرها برای هر ژن است که در این مطالعه منحنی ذوب هر ژن مورد بررسی قرار گرفت و عدم وجود پرایمر دایمر و آلودگی تأیید شد (تصاویر شماره ۵، ۶، ۷).

29. Livak



جندی شاپور

تصویر ۸. الکتروفورز محصولات ریل تایم پی سی آر برای سه ژن HOTAIR و HOXC13 بر روی ژل آگارز ۲ درصد، چاهک M مربوط به مارکر 50 bp به شماره کاتالوگ PR901633 ساخت شرکت سینازن است. چاهک شماره ۱ و ۲ به ترتیب مربوط به نمونه توموری و حاشیه تومور برای ژن بتا اکتین با طول 91 bp، چاهک شماره ۳ و ۴ به ترتیب مربوط به نمونه توموری و حاشیه تومور برای ژن HOTAIR با طول 109 bp و چاهک شماره ۵ و ۶ به ترتیب مربوط به نمونه توموری و حاشیه تومور برای ژن HOXC13 با طول 86 bp است.

جدول ۴. میزان P و Fold Change آنالیز داده‌های مربوط به بیان ژن‌های HOTAIR و HOXC13

ژن	ضروری	مورد
HOTAIR	P	۰/۰۲۱۹
	fold change	۱/۹۵
HOXC13	P	۰/۰۱۴
	P	۱۴/۴

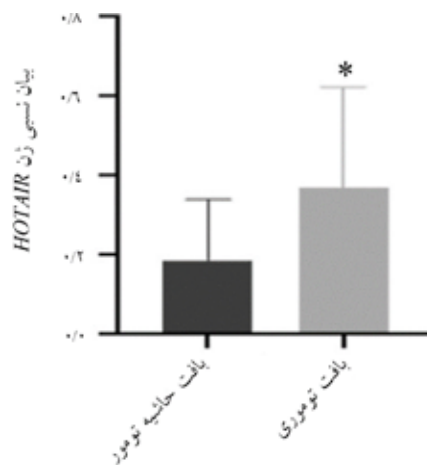
مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

جدول ۵. جدول رابطه بیان ژن‌های HOTAIR و HOXC13 با ویژگی‌های کلینیکی پاتولوژیک مبتلا به بیماران سرطان مری

متغیر	تعداد (درصد)	P (HOTAIR)	P (HOXC13)
جنسیت	مرد (۱۷/۵۶)	۰/۵۰	۰/۷۱
	زن (۱۳/۴۴)		
سن	≤ ۶۵ (۱۶/۵۴)	۰/۹۰	۰/۲۲
	> ۶۵ (۱۴/۴۶)		
سایز تومور	≥ ۵ (۱۱/۳۷)	۰/۰۶	۰/۶۱
	< ۵ (۱۹/۶۳)		
درجه تومور (Grade)	I (۸/۲۷)	۰/۶۰	۰/۰۵*
	II (۹/۳۰)		
	III (۱۳/۴۳)		
مرحله (Stage)	II (۱۰/۴۴)	۰/۰۷	۰/۶۵
	III (۲۰/۶۶)		
تهاجم به لنف	بله (۳/۱۰)	۰/۸۴	۰/۱۵
	خیر (۲۳/۷۶)		
	نامشخص (۴/۱۴)		
تهاجم به اطراف عصب	بله (۱۲/۴۰)	۰/۷۹	۰/۲۹
	خیر (۱۸/۶۰)		
متاستاز به نواحی دور (M)	X (۲/۷)	۰/۵۸	۰/۰۲*
	۰ (۲۴/۸۰)		
	۱ (۴/۱۳)		
تهاجم به رگ	بله (۱۳/۴۴)	۰/۴۶	۰/۴۵
	خیر (۱۷/۵۶)		
نوع تومور	آدنوکارسینوما (۹/۴۲)	۰/۳۶	۰/۰۵*
	کارسینوم سلول سنگفرشی (۲۱/۵۸)		

* نشان‌دهنده تغییرات معنادار ($P \leq 0.05$) است.

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور



تصویر ۹. مقایسه بیان ژن HOTAIR در نمونه‌های بافت توموری و حاشیه تومور به عنوان گروه کنترل * نشان‌دهنده تغییرات معنادار ($P \leq 0.05$)

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

معنادار ۱۴/۴ برابری دارد که این افزایش بیان به علت نقش آنکوژنی ژن HOXC13 است. این نتیجه افزایش بیان در بافت تومور مری نسبت به بافت‌های حاشیه تومور با مطالعات دیگر که روی این ژن در سرطان‌های مختلف انجام شده است، همانند ملانوم [۲۷] و کولون [۲۸] مطابقت دارد. همچنین در بررسی ارتباط بیان ژن HOXC13 همانند ژن HOTAIR با سن و جنس افراد مبتلا به سرطان مری رابطه معناداری نشان نداد، اما میان میزان بیان ژن HOXC13 و متاستاز به نواحی دور، نوع و درجه تومور ارتباط معنادار وجود دارد (جدول شماره ۴).

گالتا^{۳۳} و همکارانش در سرطان لیپوسارکوم نیز مطالعاتی بر روی بافت ۵۷ بیمار در ارتباط با تأثیر بیان ژن HOXC13 بر شکل‌گیری سرطان و بدخیمی انجام دادند و گزارش کردند رابطه‌ای بین افزایش بیان این ژن و بدخیمی در لیپوسارکوم

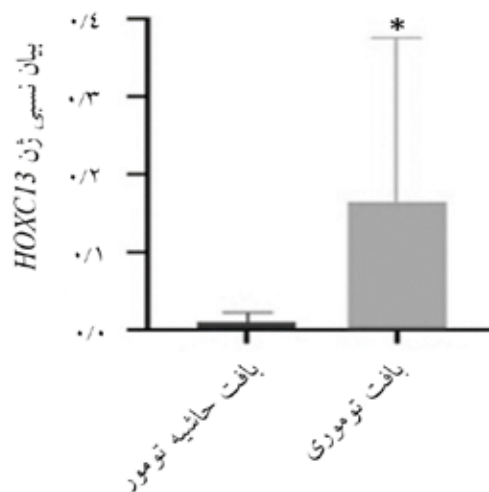
33. Galetta

همچنین ناک‌داون کردن ژن HOTAIR باعث کاهش پیشرفت سرطان می‌شود [۲۵].

اندو^{۳۲} و همکارانش با تحقیق بر روی بیان HOTAIR در نمونه‌های سرطان معده، گزارش کردند که افزایش بیان این ژن در پیشرفت سرطان نقش دارد که این افزایش بیان ژن به علت نقش آنکوژنی ژن HOTAIR است. پس از بررسی ویژگی‌های کلینیکوپاتولوژی در تهاجم به گره لنفاوی، ارتباط معنادار مشاهده شد [۲۶].

ژن حاضر دیگر در این مطالعه HOXC13 بود که بر اساس نزدیکی این ژن با HOTAIR و با توجه به نقش آن در شکل‌گیری سرطان انتخاب شد. در بررسی کمی بیان ژن HOXC13، نتیجه این مطالعه نشان داد میانگین بیان نسبی ژن HOXC13 در بافت‌های توموری نسبت به بافت‌های حاشیه تومور افزایش بیان

32. Endo



تصویر ۱۰. مقایسه بیان ژن HOXC13 در نمونه‌های بافت توموری و حاشیه تومور به عنوان گروه کنترل * نشان‌دهنده تغییرات معنادار ($P \leq 0.05$)

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

بعضی از ژن‌های هاکس در سرطان‌های گوناگون به صورت غیر طبیعی و خلاف حالت‌های نرمال بافت دیده شده‌اند که نقش این ژن‌ها کد کردن فاکتورهای رونویسی است. پس به نظر می‌رسد یک شبکه تنظیمی بر روی ژن‌های هاکس قرار گرفته است که در سرطان‌ها مختل می‌شود و عدم تنظیم آن می‌تواند منجر به شکل‌گیری و پیشرفت سرطان شود [۱۹]. ژن HOXC13 یکی از اعضای خانواده هاکس است که بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱۲ (12q13.13) و در نزدیک HOTAIR واقع شده است. HOXC13 برخلاف HOTAIR، کدکننده پروتئین است. این ژن شامل ۲ اگزون است و کدکننده فاکتورهای حفظ شده رونویسی مؤثر در تکامل جنین است [۲۰]. گزارشات بیانگر وجود پروتئین‌های HOXC13 در روند تکثیر و همانندسازی است و نمایانگر نقش مهم این پروتئین‌ها در سرطان و پیشرفت آن است. از آنجایی که HOXC13 نقش بسزایی در حیات سلولی بازی می‌کند، در فرایند چرخه سلولی نیز مشاهده شده است. کاهش میزان بیان ژن‌های HOXC13 باعث القای آپاپتوز و افزایش بیان آن در القای تومورزایی نقش مهمی دارند. پس استفاده از این ژن به عنوان یک مارکر می‌تواند در تشخیص یا پیشرفت سرطان سودمند باشد [۲۱، ۲۲].

نتایج حاصل از آنالیز ریل تایم پی‌سی‌آر در این مطالعه نشان داد میانگین بیان نسبی ژن HOTAIR در بافت‌های توموری مری نسبت به بافت‌های حاشیه تومور به‌طور معناداری ۱/۹۵ برابر افزایش بیان دارد که این افزایش بیان ژن HOTAIR در بافت توموری نسبت به حاشیه تومور به علت نقش آنکوژنی ژن HO-TAIR است. علاوه بر این، در بررسی ارتباط بیان ژن HOTAIR با سن و جنس افراد مبتلا به سرطان مری، رابطه معناداری دیده نشد (جدول شماره ۴).

در پژوهشی، آقای یانگ^{۳۰} و همکارانش عنوان کردند میزان بالای بیان HOTAIR می‌تواند به عنوان یک نشانگر زیستی برای پیشگیری از عود تومور در بیماران مبتلا به کارسینومای هپاتوسلولار کمک کند [۲۳].

در پژوهشی که توسط هانگ^{۳۱} بر روی بافت‌های توموری و حاشیه تومور در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال انجام شد، نشان دادند بیان ژن HOTAIR به طرز چشمگیری در نمونه‌های توموری نسبت به نمونه‌های حاشیه تومور دارای فراتنظیمی است که این افزایش بیان ژن HOTAIR در بافت توموری نسبت به حاشیه تومور به علت نقش آنکوژنی ژن HOTAIR است [۲۴].

لو و همکارانش طی تحقیقاتی که بر روی نقش HOTAIR بر پیشرفت سرطان کولورکتال انجام دادند گزارش کردند HOTAIR در سرطان کولورکتال دارای بیان بالایی است و

مقایسه میزان بیان نسبی ژن HOXC13 در نمونه‌های بافت توموری مری نسبت به حاشیه تومور به عنوان گروه کنترل نشان داد بیان نسبی این ژن در نمونه‌های توموری نسبت به حاشیه تومور افزایش بیان ۱۴/۴ برابری دارد که از نظر آماری معنادار است (P=۰/۰۱۴) (تصویر شماره ۱۰) (جدول شماره ۴).

رابطه بیان ژن‌های HOTAIR و HOXC13 با ویژگی‌های کلینیکیوپاتولوژیک نمونه‌های سرطان مری مورد بررسی قرار گرفت (جدول شماره ۵).

در این مطالعه ضریب همبستگی بین تغییرات بیان ژن‌های HOTAIR و HOXC13 مورد ارزیابی قرار گرفتند و نسبت Fold change ژن HOTAIR با ژن HOXC13 مقایسه شد که ضریب همبستگی میان این دو ژن ۰/۱۵۲ بود (P=۰/۰۲) (جدول شماره ۶).

بحث

سرطان مری از لحاظ مرگ‌ومیر ششمین سرطان رایج در جهان است. در ایران نیز به عنوان یکی از ۵ سرطان کشنده شناخته می‌شود. بروز سرطان مری در میان مردان بیشتر از زنان است و در سنین بالا مرگ‌ومیر ناشی از آن بیشتر اتفاق می‌افتد [۱۵، ۱۶]. پیشرفت‌هایی در زمینه درمان این سرطان حاصل شده است، اما پیش‌آگهی این سرطان کماکان ضعیف است و شانس بقای ۵ ساله بیماران مبتلا به سرطان مری بسیار اندک است. یکی از علل اصلی بقای بسیار کم این بیماران، فقدان مولکول مناسب برای تشخیص زودهنگام این سرطان است. شناسایی چنین مولکول‌هایی علاوه بر پیش‌آگهی در درمان نیز سودمند خواهند بود [۱۶].

علل تشکیل دهنده سرطان از جنبه‌های گوناگونی به‌ویژه از نظر ژنتیکی مورد بررسی‌های فراوانی قرار گرفته است که بخش مهمی از این عوامل مستعدکننده در ارتباط با اسیدهای ریبونوکلیتیک غیرکدکننده است. وجود تعداد بسیاری از انواع اسیدهای ریبونوکلیتیک غیرکدکننده بلند با طول بیش از ۲۰۰ جفت باز در انسان به اثبات رسیده است که در بسیاری از پژوهش‌ها از نقش آن‌ها به عنوان یکی از عوامل مهم در تومورزایی، عوامل سرکوبگر تومور یا آنکوژن‌ها در تعداد زیادی از سرطان‌ها عنوان شده است [۱۷]. اغلب اسیدهای ریبونوکلیتیک غیر کدکننده طولانی به صورت محدود به بافت و مختص به یک سرطان بیان می‌شوند و می‌توان از آن‌ها به عنوان مارکرهای پیش‌آگهی مفید استفاده کرد [۱۸]. یکی از ژن‌ها در مطالعه پیش‌رو HOTAIR است. HOTAIR جزء اسیدهای ریبونوکلیتیک غیر کدکننده طولانی است و بر روی بازوی کروموزوم ۱۲ (12q13.13) واقع شده است و تنظیم بیان ژن‌های هاکس انسانی را بر عهده دارد. افزون بر اینکه HOTAIR در تکامل و الگوگیری محور بدن نقش مهمی دارد، اما هنگامی که تنظیم آن بهم می‌خورد منجر به القا پیشرفت سرطان می‌شود [۱۸].

تهران است و هیچ گونه کمک مالی از سازمان‌های تأمین مالی در بخش‌های عمومی، تجاری یا غیرانتفاعی دریافت نکرد.

مشارکت‌نویسندگان

مفهوم‌سازی: حمید گله‌داری؛ تحقیق و بررسی: محمد آریانپور و فلورا فروزش؛ ویراستاری و نهایی‌سازی: محمد آریانپور، حمید گله‌داری، فلورا فروزش.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

وجود دارد که این افزایش بیان به علت نقش آنکوژنی ژن HOXC13 است، اما رابطه معناداری میان سن و جنسیت با بیان ژن HOXC13 وجود ندارد [۲۹].

در مطالعه‌ای دیگر که به وسیله ژانگ و همکارانش بر روی ژن HOXC13 و ۴۷ نمونه مخاط دهان افراد مبتلا به سرطان آملوبلاستوم انجام شد، مشخص کردند این ژن در سرطان آملوبلاستوم به شدت بیان می‌شود [۳۰]. همچنین در این مطالعه، رابطه همبستگی بین بیان نسبی ژن‌های HOTAIR و HOXC13 بررسی شد که میان این دو ژن همراهی مثبت مشاهده شد، اما معنادار نبود.

نتیجه‌گیری

مطالعه دقیق عوامل تنظیمی و درک صحیح مسیرهای مولکولی آن‌ها در شکل‌گیری تومور اولیه و گسترش آن، یکی از اهداف مهم برای پیشگیری و درمان سرطان است. در این مطالعه باید به این نکته توجه داشت که مطالعه حاضر به علت تعداد کم نمونه‌ها، تنها یک بررسی آزمایشی بوده که برای رسیدن به نتایج قابل اطمینان، نیاز به پژوهش‌های بیشتر در این زمینه و همچنین جامعه آماری وسیع‌تر است. استراتژی این مطالعه به‌ویژه در رابطه با اسیدهای ریبونوکلیئیک غیر کدکننده طولانی در بررسی تومورها، دستیابی به یک مارکر بیولوژیک است که پس از تأییدات مکرر آن‌ها، این مارکرها می‌توانند در ادرار، خون یا در بافت فرد مورد شناسایی قرار گیرند. این پژوهش مقدمه‌ای بر تحقق این کار است. بنابراین، مطالعه حاضر تا حدی می‌تواند بیان‌کننده نقش این دو ژن در فرآیند تومورزایی در گسترش سرطان مری باشد. پس به علت ارتباط دو ژن HOTAIR و HOXC13 با سرطان و انجام مطالعات بیشتر در این زمینه، از این دو ژن می‌توان به عنوان اهداف راهبردی مناسب برای ایجاد استراتژی‌های تشخیصی و درمانی برای سرطان مری استفاده کرد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

کد اخلاق این پژوهش IR.IAU.PS.REC.1398.285 است. تمامی نمونه‌ها مورد تأیید پاتولوژیست بوده‌اند و از آن‌ها رضایت کتبی آگاهانه دریافت شد.

حامی مالی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه «بررسی بیان ژن‌های HOTAIR و HOXC13 در بافت‌های توموری و نرمال حاشیه تومور در بیماران مبتلا به سرطان مری» در مقطع کارشناسی ارشد (سال ۱۳۹۸) با شماره پایان‌نامه ۹۷۲۰۲۸ در دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی

References

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018; 86(6):394-424. [DOI:10.3322/caac.21492] [PMID]
- [2] Chai J, Jamal MM. Esophageal malignancy: A growing concern. *World J Gastroenterol.* 2012; 18(45):6521-6. [DOI:10.3748/wjg.v18.i45.6521] [PMID] [PMCID]
- [3] Ghavamzadeh A, Moussavi A, Jahani M, Rastegarpanah M, Irvani M. Esophageal cancer in Iran. *Semin Oncol.* 2001; 28(2):153-7. [DOI:10.1016/S0093-7754(01)90086-7] [PMID]
- [4] Daly JM, Fry WA, Little AG, Winchester DP, McKee RF, Stewart AK, et al. Esophageal cancer: Results of an American College of Surgeons patient care evaluation study. *J Am Coll Surg.* 2000; 190(5):562-72. [DOI:10.1016/S1072-7515(00)00238-6]
- [5] Tang H, Wu Z, Zhang J, Su B. Salivary lncRNA as a potential marker for oral squamous cell carcinoma diagnosis. *Mol Med Rep.* 2013; 7(3):761-6. [DOI:10.3892/mmr.2012.1254] [PMID]
- [6] Noori-Dalooi MR, Eshaghkhani Y. [lncRNAs: Significance and function mechanisms (Persian)]. *Med Sci J Islam Azad Univ.* 2015; 25(2):79-94. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20153355315>
- [7] Slavoff SA, Mitchell AJ, Schwaib AG, Cabili MN, Ma J, Levin JZ, et al. Peptidomic discovery of short open reading frame-encoded peptides in human cells. *Nat Chem Biol.* 2013; 9(1):59-64. [DOI:10.1038/nchembio.1120] [PMID] [PMCID]
- [8] Huang X, Lu S. MicroR-545 mediates colorectal cancer cells proliferation through up-regulating epidermal growth factor receptor expression in HOTAIR long non-coding RNA dependent. *Mol Cell Biochem.* 2017; 431(1-2):45-54. [DOI:10.1007/s11010-017-2974-4] [PMID]
- [9] Tsai MC, Manor O, Wan Y, Mosammaparast N, Wang JK, Lan F, et al. Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes. *Science.* 2010; 329(5992):689-93. [DOI:10.1126/science.1192002] [PMID] [PMCID]
- [10] Gupta RA, Shah N, Wang KC, Kim J, Horlings HM, Wong DJ, et al. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature.* 2010; 464(7291):1071-6. [DOI:10.1038/nature08975] [PMID] [PMCID]
- [11] Marchetti L, Comelli L, D'Innocenzo B, Puzzi L, Luin S, Arosio D, et al. Homeotic proteins participate in the function of human-DNA replication origins. *Nucleic Acids Res.* 2010; 38(22):8105-19. [DOI:10.1093/nar/gkq688] [PMID] [PMCID]
- [12] Lemons D, McGinnis W. Genomic evolution of Hox gene clusters. *Science.* 2006; 313(5795):1918-22. [DOI:10.1126/science.1132040] [PMID]
- [13] Jave-Suarez LF, Schweizer J. The HOXC13-controlled expression of early hair keratin genes in the human hair follicle does not involve TALE proteins MEIS and PREP as cofactors. *Arch Dermatol Res.* 2006; 297(8):372-6. [DOI:10.1007/s00403-005-0623-3] [PMID]
- [14] Yamashita T, Tazawa S, Yawei Z, Katayama H, Kato Y, Nishiwaki K, et al. Suppression of invasive characteristics by antisense introduction of overexpressed HOX genes in ovarian cancer cells. *Int J Oncol.* 2006; 28(4):931-8. [PMID]
- [15] Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: Defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. *J Clin Oncol.* 2006; 24(14):2137-50. [DOI:10.1200/JCO.2005.05.2308] [PMID]
- [16] Wang YL, Bai Y, Yao WJ, Guo L, Wang ZM. Expression of long non-coding RNA ZEB1-AS1 in esophageal squamous cell carcinoma and its correlation with tumor progression and patient survival. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015; 8(9):11871-6. [PMCID]
- [17] Zhuang Y, Wang X, Nguyen HT, Zhuo Y, Cui X, Fewell C, et al. Induction of long intergenic non-coding RNA HOTAIR in lung cancer cells by type I collagen. *J Hematol Oncol.* 2013; 6:35. [DOI:10.1186/1756-8722-6-35] [PMID] [PMCID]
- [18] Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: The 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nat Rev Cancer.* 2003; 3(6):453-8. [DOI:10.1038/nrc1098] [PMID]
- [19] Ma XJ, Wang Z, Ryan PD, Isakoff SJ, Barmettler A, Fuller A, et al. A two-gene expression ratio predicts clinical outcome in breast cancer patients treated with tamoxifen. *Cancer cell.* 2004; 5(6):607-16. [DOI:10.1016/j.ccr.2004.05.015] [PMID]
- [20] Taylor HS. Endocrine disruptors affect developmental programming of HOX gene expression. *Fertil Steril.* 2008; 89(S 2):e57-8. [DOI:10.1016/j.fertnstert.2007.12.030] [PMID] [PMCID]
- [21] Falaschi A, Abdurashidova G, Biamonti G. DNA replication, development and cancer: A homeotic connection? *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2010; 45(1):14-22. [DOI:10.3109/10409230903365608] [PMID]
- [22] Del Bene F, Wittbrodt J. Cell cycle control by homeobox genes in development and disease. *Semin Cell Dev Biol.* 2005; 16(3):449-60. [DOI:10.1016/j.semcdb.2005.02.001] [PMID]
- [23] Yang Z, Zhou L, Wu LM, Lai MC, Xie HY, Zhang F, et al. Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR predicts tumor recurrence in hepatocellular carcinoma patients following liver transplantation. *Ann Surg Oncol.* 2011; 18(5):1243-50. [DOI:10.1245/s10434-011-1581-y] [PMID]
- [24] Yang XD, Xu HT, Xu XH, Ru G, Liu W, Zhu JJ, et al. Knockdown of long non-coding RNA HOTAIR inhibits proliferation and invasiveness and improves radiosensitivity in colorectal cancer. *Oncol Rep.* 2015; 35(1):479-87. [DOI:10.3892/or.2015.4397] [PMID]
- [25] Lu X, Liu Z, Ning X, Huang L, Jiang B. The long noncoding RNA HOTAIR promotes colorectal cancer progression by sponging miR-197. *Oncol Res.* 2018; 26(3):473-81. [DOI:10.3727/096504017X15105708598531] [PMID] [PMCID]
- [26] Endo H, Shiroki T, Nakagawa T, Yokoyama M, Tamai K, Yamamoto H, et al. Enhanced expression of long non-coding RNA HOTAIR is associated with the development of gastric cancer. *PLoS One.* 2013; 8(10):e77070. [DOI:10.1371/journal.pone.0077070] [PMID] [PMCID]

- [27] Cantile M, Scognamiglio G, Anniciello A, Farina M, Gentilcore G, Santonastaso C, et al. Increased HOX C13 expression in metastatic melanoma progression. *J Transl Med.* 2012; 10:91. [\[DOI:10.1186/1479-5876-10-91\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [28] Kasiri S, Ansari KI, Hussain I, Bhan A, Mandal SS. Antisense oligonucleotide mediated knockdown of HOXC13 affects cell growth and induces apoptosis in tumor cells and over expression of HOXC13 induces 3D-colony formation. *RSC Adv.* 2013; 3(10):3260-9. [\[DOI:10.1039/c2ra22006g\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [29] Cantile M, Galletta F, Franco R, Aquino G, Scognamiglio G, Marra L, et al. Hyperexpression of HOXC13, located in the 12q13 chromosomal region, in well differentiated and dedifferentiated human liposarcomas. *Oncol Rep.* 2013; 30(6):2579-86. [\[DOI:10.3892/or.2013.2760\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [30] Zhong M, Wang J, Gong Y, Li J, Zhang B, Hou L. [Expression of HOXC13 in ameloblastoma (Chinese)]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* 2007; 42(1):43-6. [\[PMID\]](#)

This Page Intentionally Left Blank