

بررسی بیان ژن اینترلوکین-۱۱ (IL-۱۱) در بیماری‌های خوش خیم و بدخیم مخاط معده

سعیده قربانعلی پور^۱ ابوالقاسم عجمی^۲ علیرضا رفیعی^۲ ترنگ تقوایی^۳
سید حسن پایلاخی^۴ وحید حسینی^۳

چکیده

سابقه و هدف: سرطان معده دومین عامل مرگ و میر به واسطه سرطان در دنیا است و سالیانه ۲۵ نفر از هر ۱۰۰۰۰ ایرانی به سرطان معده مبتلا می‌شوند. اینترلوکین-۱۱ (IL-۱۱)، عضوی از خانواده اینترلوکین-۶ (IL-۶) بوده و با فعال کردن مسیر انتقال پیام JAK/STAT ممکن است در ایجاد سرطان معده نقش داشته باشد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی میزان بیان ژن IL-۱۱ در نمونه‌های بیوپسی معده افراد سرطانی و غیر سرطانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد-شاهدی، نمونه‌ها از بیمارستان امام خمینی و کلینیک طبوبی شهرستان ساری جمع‌آوری شدند. بیماران بر اساس مشاهدات آندوسکوپی و نتایج پاتولوژی به دو گروه مبتلا به سرطان معده (۴۵ نفر) و مبتلا به سایر عوارض گوارشی (عدم ابتلا به سرطان) (۴۰ نفر) تقسیم شدند. جهت بررسی میزان بیان ژن IL-۱۱ از تکنیک SYBR Green Real-Time PCR استفاده شد. نتایج حاصل با نرم‌افزار REST 2008 و SPSS 16 مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها: در نمونه‌های پاتولوژی، ۹۳/۴ درصد آدنوکارسینومای روده‌ای، ۴/۴ درصد آدنوکارسینومای منتشر و ۲/۲ درصد کارسینوئید بودند. بیان ژن IL-۱۱ در بیماران سرطانی نسبت به غیر سرطانی افزایش معنی‌داری داشت ($p < 0.05$). به علاوه تغییری در بیان این ژن در بین افراد مبتلا به سایر عوارض گوارشی (غیر سرطانی) مشاهده نشد ($P=0.81$).

استنتاج: IL-۱۱ با ایجاد سرطان معده ارتباط داشته و احتمالاً در فرایند تومورزایی، تکثیر تومور و بقای آن از طریق بالا بردن فعالیت ضد آپوپتوزی عمل می‌کند.

واژه‌های کلیدی: IL-۱۱، بیماری خوش خیم معده، بیماری بدخیم معده

مقدمه

واسطه سرطان معده گزارش می‌شود که این آمار، آن را به دومین عامل مرگ و میر به واسطه سرطان در دنیا (۱۰/۴ درصد از مرگ و میرهای بر اثر سرطان) تبدیل کرده است (۳). طبق آمار ارائه شده مرگ و میر ناشی از سرطان

سرطان‌های دستگاه گوارش، بیش از یک سوم سرطان‌های شایع و تقریباً نیمی از سرطان‌هایی که منجر به مرگ می‌شوند را تشکیل می‌دهند (۱). سالانه حدود ۹۰۰۰۰۰ مورد ابتلای جدید (۲) و ۷۰۰۰۰۰ مرگ به

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۱۰۸-۸۸ است که توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران تامین شده است.

E-mail: a.ajami@mazums.ac.ir

مؤلف مسئول: ابوالقاسم عجمی - ساری: کیلومتر ۱۸ جاده خزرآباد- مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد ایمنی شناسی، گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۲. مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۳. گروه داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۴. گروه ژنتیک مولکولی، دانشگاه دامغان

تاریخ دریافت: ۹۰/۳/۱۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۹۰/۴/۱۹ تاریخ تصویب: ۹۰/۴/۲۸

معدده حدود ۳۹ درصد مرگ و میرهای ناشی از سرطان در ایران می‌باشد (۴) و سالیانه ۲۵ نفر از هر ۱۰۰۰۰ ایرانی به سرطان معده مبتلا می‌شوند (۵). اغلب ساکنین مناطق شمالی و شمال غربی ایران به میزان زیادی در معرض خطر ابتلا به سرطان معده قرار دارند (۶). از نظر آسیب‌شناسی ۹۰ درصد سرطان‌های معده آدنوکارسینوما هستند (۷) پس از آن، از نظر شیوع، لنفوم‌ها (۴ درصد) و کارسینوئیدها (۳ درصد) در درجه دوم اهمیت قرار دارند. تومورهای داریستی (استرومایی) ۲ درصد موارد را تشکیل می‌دهند (۸). با وجود اطلاع از تأثیر عوامل محیطی، ژنتیکی، تغذیه‌ای و عفونت هلیکوباکتریلوری در بروز سرطان معده علت شیوع بالای آن در شمال ایران، چین و ژاپن (کمر بند سرطان معده و مری) مشخص نشده است. بروز و پیشرفت سرطان متأثر از حوادثی است که ساختار و یا بیان برخی انکوژن‌ها، عوامل ضد انکوژنی و یا عوامل رشد را تحت تأثیر قرار می‌دهند.

اینترلوکین-۱۱ (IL-۱۱) به عنوان عضوی از خانواده سایتوکاینی IL-۶، عملکردهای پلئوتروپیک در بافت‌های مختلف دارد و در سال ۱۹۹۰ به عنوان یک سایتوکاین مشتق از استرومای مغز استخوان شناخته شد. در ابتدا به عنوان واسطه تکثیر سلول پلاسما سیتوما کلون گردید (۹) و بعدها به عنوان محرک مگا کاربوسیتوژنز، ترومبوپوئیزیس، میلوپوئیزیس و لنفوپوئیزیس در محیط کشت معرفی شد (۱۰). از دیگر فعالیت‌های آن، خارج از سیستم هماتوپوئیتیک می‌توان به ممانعت از آدیپوژنز (چربی‌سازی) (۱۲، ۱۱)، القای پروتئین‌های فاز حاد (۱۴، ۱۳)، القای تمایز عصبی (۱۵) و تنظیم عملکرد غضروف و استخوان (۱۷، ۱۶) اشاره کرد. IL-۱۱ اثرات محافظت کننده سلولی (Cytoprotective) نیز دارد (۲۱-۱۸). پس از اتصال IL-۱۱ به گیرنده خود سه مسیر انتقال پیام فعال می‌شوند که عبارتند از: (۱) انتقال پیام به واسطه $JAK^1/STAT^2$ (۲۲)، (۲) انتقال سیگنال توسط

۳- Src-homology Domain Protein Tyrosine Phosphatase-2
 4. Extracellular Signal-Regulated Kinase
 5. Mitogen Activated Protein Kinase
 6. Schmidt-Ruppin A-2 Viral Oncogene
 7. Phosphoinositide 3-Kinase
 8. Protein Kinase B
 9. Activating Protein-1

۱. Janus Kinase
 2. Signal Transducer and Activator of Transcription

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مورد-شاهدی جمعیت مورد مطالعه، بیماران مبتلا به بیماری‌های گوارشی بودند که برای تشخیص بیماری خود به کلینیک گوارش درمانگاه طوبی و بیمارستان امام ساری مراجعه می‌کردند. آن دسته از بیمارانی که برای تشخیص بیماری خود بر

3. Src-homology Domain Protein Tyrosine Phosphatase-2
 4. Extracellular Signal-Regulated Kinase
 5. Mitogen Activated Protein Kinase
 6. Schmidt-Ruppin A-2 Viral Oncogene
 7. Phosphoinositide 3-Kinase
 8. Protein Kinase B
 9. Activating Protein-1

1. Janus Kinase
 2. Signal Transducer and Activator of Transcription

داشت: در ابتدا مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد و انکوباسیون دوم ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و سپس ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد صورت گرفت. در نهایت، واکنش با ۱۰ دقیقه حرارت در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به پایان رسید. cDNA سنتز شده در ۷۰- درجه سانتی گراد برای مصارف بعدی نگهداری شد.

پرایمرها

در این مطالعه ژن IL-11 واقع بر کروموزوم ۱۹ (19q13.3-q13.4) و ژن GAPDH (Glyceraldehyde 3-Phosphate Dehydrogenase) واقع بر کروموزوم ۱۲ (12p13) به ترتیب به عنوان ژن هدف و مرجع مورد بررسی قرار گرفتند. سپس توسط نرم افزار GENERUNNER، PERLPRIMER و پایگاه اطلاعاتی NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST) طراحی پرایمرها انجام شد. توالی پرایمرها در زیر آمده است:

ژن	Forward Primer	Reverse Primer	Amplicon Size (bp)
GAPDH	CCAGGTGGTCTCTCTC TGACTTCAACAG	AGGGTCTCTCTCTT CCTCTGTGTGCTCT	۲۲۳
IL-11	TGTGTTCCACATAGC AAACTG	CTTCTATATCCCA AGCAAGCC	۱۵۵

واکنش *Real-Time PCR (SYBR Green)*

تمام واکنش های *Real-Time PCR* در دستگاه Rotor GeneTM 6000 (Corbett) زمانی - گرمایی دستگاه در سه مرحله تنظیم گردید. مرحله اول که منجر به واسرشتگی (Denaturation) مولکول های cDNA می شود، ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، مرحله دوم ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ ثانیه جهت واسرشتگی، ۵۶ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ ثانیه برای جفت شدن (Annealing) و ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ثانیه جهت کشیدگی (Extension) در ۴۰ سیکل متوالی انجام شد و در مرحله

اساس نظر پزشک معالج نیاز به آندوسکوپی داشتند، به عنوان نمونه های مورد مطالعه انتخاب شدند (فرم رضایت نامه کتبی از بیماران جهت استفاده از نمونه اخذ گردید). نمونه های بیوپی به دست آمده از این دسته از بیماران به دو قسمت تقسیم شد. یک قسمت جهت بررسی پاتولوژی در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد و قسمتی دیگر با وزن تقریبی ۲۰ میلی گرم در ۶۰۰ میکرولیتر محلول نگهدارنده RNA ساخت شرکت Qiagen (RNA later) قرار داده شد و تا زمان استخراج RNA در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید. بیماران بر اساس مشاهدات آندوسکوپی و نتایج پاتولوژی به دو گروه مبتلا به سرطان معده و مبتلا به سایر عوارض گوارشی (عدم ابتلا به سرطان) شامل بیماران مبتلا به رفلاکس (GERD¹)، التهاب معده (Gastritis) و زخم دوازدهه (Du²) و همچنین افرادی که از نظر آندوسکوپی، نرمال بودند (NEGD³) تقسیم شدند.

استخراج RNA و تهیه cDNA

استخراج RNA کل با استفاده از RNeasy Mini Kit (Qiagen, Germany) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام شد (۳۱). مقدار و خلوص RNA استخراج شده با استفاده از دستگاه پیکودراپ (Picodrop spectrometer, UK) تعیین و نسبت جذب نوری (Optical Density: OD) در طول موج های ۲۶۰ نانومتر به ۲۸۰ نانومتر سنجیده شد. از نمونه هایی که نسبت OD ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر آنها بین ۱/۸ تا ۲/۲ بود برای سنتز cDNA استفاده گردید. در این مطالعه مقدار ۱ میکروگرم از RNA را با استفاده از پرایمر Random Hexamer (Fermentas RevertAidTM First Strand cDNA synthesis Kit) طبق پروتکل شرکت سازنده به cDNA تک رشته ای تبدیل نمودیم (۳۲). در اینجا دو مرحله انکوباسیون وجود

1. Gastroesophageal Reflux Disease
2. Duodenal Ulcer
3. Normal Esophagogastroduodenoscopy

سیکل های آستانه (Ct values) بدست آمده از نمونه های افراد غیر سرطانی و افراد مبتلا به سرطان معده را با نرم افزار REST² ویرایش ۲۰۰۸ مورد تجزیه و تحلیل و میزان بیان ژن IL-۱۱ را در این نمونه ها مورد مقایسه قرار دادیم. اساس مدل ریاضی این نرم افزار بر بازده PCR و میانگین انحراف نقطه گذر (Cp³) یا سیکل آستانه (Ct) بین گروه شاهد و مورد استوار است و با استفاده از تکنیک تصادفی سازی، نسبت بیان ژن را نشان می دهد (۳۳). از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ نیز برای بررسی متغیرها استفاده شد.

یافته ها

اطلاعات مربوط به ۴۵ بیمار مبتلا به سرطان معده و ۴۰ نفر از افراد غیر سرطانی به ترتیب در جدول شماره ۱ و ۲ آمده است. در ضمن مرحله پیشرفت بیماری (Stage) (جدول شماره ۳) و نوع آسیب شناسی تومور (Grade) (جدول شماره ۴) نیز در بیماران مبتلا به سرطان معده مشخص شد و بیان ژن در آن ها مورد بررسی قرار گرفت.

جدول شماره ۱: اطلاعات مربوط به ۴۵ فرد مبتلا به سرطان

متغیر	تعداد (درصد)
جنسیت	زن ۳۱/۱ (۱۴)
	مرد ۶۸/۹ (۳۱)
سن	≤ ۶۰ ۲۶/۷ (۱۲)
	> ۶۰ ۷۳/۳ (۳۳)
نوع سرطان معده	آدنوکارسینوما نوع روده ای ۹۳/۴ (۴۲)
	آدنوکارسینوما نوع منتشر ۴/۴ (۲)
	کارسینوئید ۲/۲ (۱)

جدول شماره ۲: اطلاعات مربوط به ۴۰ بیمار غیر سرطانی

متغیر	تعداد (درصد)
جنسیت	زن ۵۷/۵ (۲۳)
	مرد ۴۲/۵ (۱۷)
سن	≤ ۶۰ ۷۲/۵ (۲۹)
	> ۶۰ ۲۷/۵ (۱۱)
نوع عارضه	نرمال ۲۰ (۸)
	گاستریت ۳۵ (۱۴)
	زخم دوازدهه ۲۲/۵ (۹)
	رفلاکس ۲۲/۵ (۹)

نهایی جهت ترسیم منحنی ذوب (Melting Curve)، دما در هر تکرار از ۵۰ تا ۹۹ درجه سانتی گراد، هر ۵ ثانیه ۱ درجه افزایش یافت. این واکنش ها در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر به صورت تکرار دوتایی (Duplicate) در میکروتیوب های ۰/۱ میلی لیتری انجام شد. ترکیبات هر واکنش شامل ۵ میکرولیتر از 2X QuantiFast SYBR Green PCR Master Mix، ۰/۵ میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای رفت و برگشت با غلظت ۱۰ پیکومولار، ۲ میکرولیتر آب فاقد RNase، ۲ میکرولیتر cDNA الگو بود.

رسم منحنی استاندارد:

یکی از cDNA های کنترل دارای غلظت مناسب، انتخاب شد و سپس رقت های متوالی از آن (۵^۱-۵^۵) را برای رسم منحنی استاندارد مورد استفاده قرار دادیم. منحنی استاندارد بر اساس لگاریتم غلظت cDNA (محور افقی) و سیکل آستانه (Ct¹) (محور عمودی) برای هر ژن ترسیم شد. میزان بازده PCR بر اساس منحنی استاندارد برای هر ژن تعیین گردید. از نمونه فاقد cDNA الگو [No Template Control (NTC)] به عنوان کنترل منفی استفاده شد. برای هر واکنش Real-Time PCR یک منحنی تکثیر (Amplification Curve) رسم شد. تجزیه و تحلیل بر اساس مقایسه سیکل های آستانه (Ct values) نمونه های غیر سرطانی صورت گرفت.

الکتروفورز با ژل آگارز (Agarose Gel Electrophoresis):

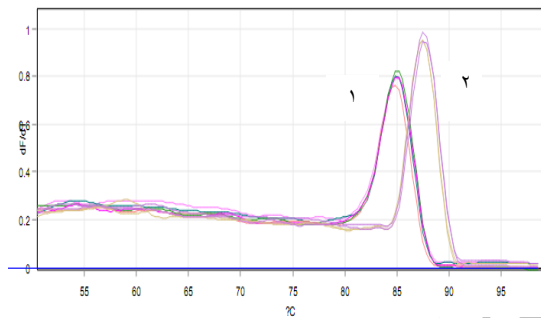
ژل آگارز ۱/۵ درصد مخلوط با رنگ اتیدیوم بروماید (Ethidium Bromide) را آماده کرده و سپس محصولات تکثیر شده ژن هدف و مرجع طی Real-Time PCR، روی ژل آگارز بارگذاری و الکتروفورز شد. این مرحله برای تأیید تکثیر قطعات اختصاصی هر ژن و عدم حضور محصولات غیر اختصاصی و جفت شدن پرایمرها انجام شد.

2. Relative Expression Software Tool
3. Crossing point

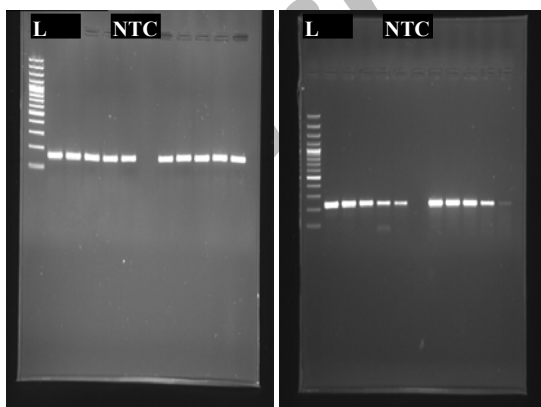
1. Cycle threshold

تکثیر اختصاصی قطعات ژنی مورد نظر، عدم جفت شدن پرایمرها و عدم تکثیر غیر اختصاصی برای هر ژن با استفاده از منحنی ذوب تعیین شد (نمودار شماره ۲). همچنین محصولات PCR هر ژن الکتروفورز شد. نتایج حاصل، تکثیر اختصاصی قطعات مورد نظر را تأیید نمود (تصویر شماره ۱).

با قرار دادن مقادیر سیکل آستانه (Ct) ژن های مرجع و IL-11 در نرم افزار REST، تغییرات بیان این ژن در نمونه های سرطانی و غیرسرطانی ارزیابی شد. نتایج نشان داد که میزان بیان ژن IL-11 در نمونه های سرطانی نسبت به غیر سرطانی افزایش معنی داری



نمودار شماره ۲: منحنی ذوب (Melting curve) ژن IL-11 (۱) و ژن GAPDH (۲)



ب

الف

تصویر شماره ۱: الکتروفورز محصولات تکثیری ژن های GAPDH (الف) و IL-11 (ب) روی ژل آگارز ۱/۵ درصد؛ طول قطعه تکثیری GAPDH ۲۲۳ جفت باز، طول قطعه تکثیری IL-11 ۱۵۵ جفت باز و Ladder ۱۰۰ جفت بازی می باشد. (کنترل منفی).

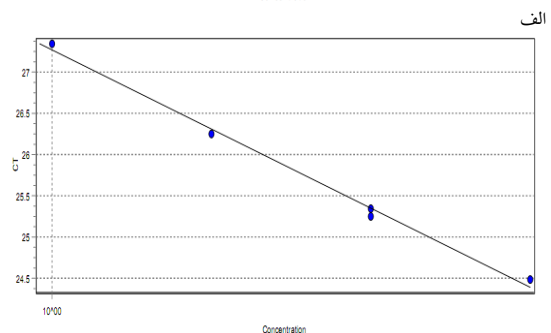
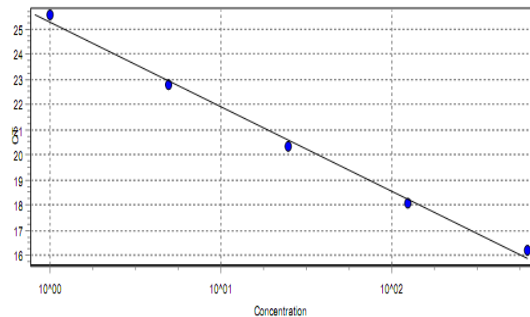
جدول شماره ۳: اطلاعات مربوط به مرحله پیشرفت تومور (Staging) در بیماران مبتلا به سرطان معده

Stage	فراوانی (درصد)
۱	۰
۲	۵ (۱۱)
۳	۲۶ (۵۸)
۴	۱۴ (۳۱)
مجموع	۴۵ (۱۰۰)

جدول شماره ۴: اطلاعات مربوط به نوع آسیب شناختی تومور (Grading) در بیماران مبتلا به سرطان معده

Grade	فراوانی (درصد)
۱	۸ (۱۷/۸)
۲	۳۰ (۶۶/۷)
۳	۷ (۱۵/۵)
مجموع	۴۵ (۱۰۰)

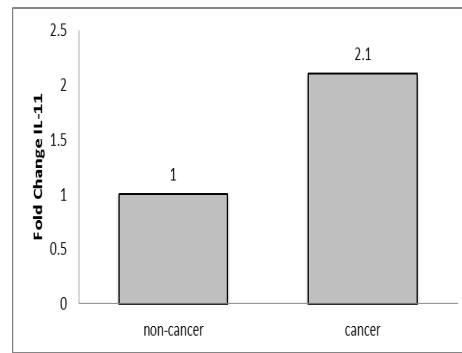
پس از ترسیم منحنی استاندارد برای ژن های مرجع (GAPDH) و IL-11 شیب منحنی استاندارد برای این ژن ها به ترتیب ۳/۳۶- و ۳/۴۷- محاسبه شد (نمودار شماره ۱). میزان بازده واکنش با استفاده از شیب منحنی استاندارد برای ژن IL-11 برابر با ۹۴ درصد و برای ژن GAPDH برابر با ۹۸ درصد بدست آمد.



ب

نمودار شماره ۱: الف) منحنی استاندارد ژن مرجع (GAPDH)، ب) منحنی استاندارد ژن IL-11، که در آن مقادیر Ct در برابر رقت های متوالی cDNA (۵^۱-۵^۵) رسم شده است.

یافتیم، بیان بالای ژن IL-11 در نمونه‌های سرطانی بود که این یافته با نتایج حاصل از سایر تحقیقات انجام شده در این زمینه مطابقت دارد. از میان فاکتورهای نسخه‌برداری متفاوت، NF- κ B و STAT3 در اغلب سرطان‌ها فعال می‌شوند و به عنوان انکوژن‌های غیر کلاسیک عمل می‌کنند و ژن‌های کنترل‌کننده بقا، تکثیر و رشد مانند رگزایی، تهاجم، تحرک و تولید کموکاین و سایتوکاین، را فعال می‌نمایند (۳۶). از آنجایی که مسیر انتقال پیام JAK/STAT مهم‌ترین مسیر انتقال پیام IL-11 می‌باشد، افزایش بیان این سایتوکاین و تحریک گیرنده آن باعث فسفریلاسیون STAT (pSTAT)، فاکتور نسخه‌برداری ناشی از آبشار انتقال پیام gp130 می‌گردد. STAT3 در القای بیان ژن‌های بالابرنده آنژیوژن [مثل VEGF (Vegf)], پیشبرنده چرخه سلولی (مثل سیکلین D1) و بقای سلولی (مثل Survivin, Bcl-xL) دخالت دارد (۳۸،۳۷). همچنین گفته می‌شود IL-11 از طریق فعال‌سازی مسیر JAK1-STAT3 بدون القای اثرات ضد التهابی یا محافظتی در سلول‌های اپی‌تلیال کلون به انتقال پیام می‌پردازد (۳۱). افزایش pSTAT3 در بسیاری از رده‌های سلولی سرطانی مثل تومورهای ابتدایی سینه، سر و گردن، پروستات، پوست، تخمدان، ریه، مغز، پانکراس و کلیه نشان داده شده است (۳۸). کاهش فعالیت STAT3 سبب کاهش تعدادی از ژن‌های دخیل در پیشرفت چرخه سلولی، ضد آپوپتوزی، رگزایی، تهاجم سلولی توموری و التهاب، می‌گردد، که نشان می‌دهد بیان نابجای STAT3 برای بسیاری جنبه‌های تومورزایی ضروری است (۳۹). گزارشات فراوانی نشان داده‌اند که بیان زیاد pSTAT3 در سرطان‌های کلون و کلورکتال، مارکر پیش‌آگهی ضعیفی می‌باشد (۴۱،۴۰). نشان داده شده است که pSTAT3 در محیط کشت با تهاجم سلول‌های سرطانی کلورکتال از طریق ژن‌های تهاجمی متنوع مانند فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) و MMPها مرتبط است (۴۰). در سرطان معده و رده‌های سلولی سرطان معده، بیان pSTAT3 مانند عفونت با



نمودار شماره ۳: نمودار، اختلاف معنی دار بیان ژن IL-11 را در نمونه‌های سرطانی نسبت به غیر سرطانی نشان می‌دهد ($P=0/032$).

($p=0/032$)، تقریباً ۲ برابری داشته است (نمودار شماره ۳). تفاوتی در بیان ژن IL-11 در انواع تومور (Grade) مشاهده نشد ولی در مراحل پیشرفته بیماری افزایش بیان ژن را شاهد بودیم بدین ترتیب که بیان ژن در بیمارانی که تومور آنها در Stage سه بود افزایش معنی‌داری نسبت به بیماران واجد تومورهای Stage دو نشان داد ($p=0/001$). همچنین در بیماران واجد تومورهای Stage چهار نسبت به بیماران دارای تومورهای Stage دو نیز افزایش معنی‌داری در بیان ژن IL-11 مشاهده کردیم ($p=0/000$). در این مطالعه همچنین به مقایسه میزان بیان ژن IL-11 در گروه‌های مختلف دارای عوارض گوارشی (غیر سرطانی) پرداختیم و تفاوت معنی‌داری در میزان بیان این ژن در افراد مبتلا به رفلاکس، زخم دوازدهه، گاستریت و افراد نرمال از نظر آندوسکوپی مشاهده نشد ($p=0/8$).

بحث

بیان IL-11 در انواع سلول‌ها مانند فیروبلاست‌ها، کندروسیت‌ها، اپی‌تلیوم سینیویال، ریه و روده بزرگ (کلون) گزارش شده است (۳۴). این سایتوکاین عملکردهای پلئوتروپیک در سلول‌های هماتوپوئیتیک، کبدی، استرومایی، اپی‌تلیالی، عصبی و استئوکلاستی دارد (۳۵). در مطالعه حاضر، سطح بیان ژن IL-11 در بافت‌های غیر سرطانی و سرطانی مقایسه گردید. آنچه

انکوژنیک را مانند بیان ژن های آنتی آپوپتوتیک، پروآنژیوژنیک و تکثیر را که سبب تومورزایی می شوند، افزایش می دهند (۴۴). همچنین مشاهده کردیم که بیان این ژن با تهاجم تومور مرتبط است زیرا در مراحل پیشرفته بیماری شاهد افزایش بیان ژن IL-11 بودیم که با مطالعه صورت گرفته توسط Toshiyuki و همکاران در سال ۲۰۰۷ تطابق دارد (۴۵). ولی برخلاف آن ها ارتباطی میان بیان ژن IL-11 و تمایز تومور نیافتیم. بنابر نتایج حاصل از این مطالعه نیز می توان گفت بیان ژن IL-11 در آدنوکارسینوما معده افزایش می یابد. این مشاهدات نشان می دهد که مطالعاتی از این دست می تواند اساس درمان های جدید، بوسیله ممانعت از اتصال IL-11 و فعال شدن STAT3 و نسخه برداری از ژن های هدف باشد. تحقیقات بیشتر در این زمینه و یا در مورد مکانیسم های دیگر انتقال پیام این سایتوکاین احتمالاً استراتژی های درمانی و یا پیشگیرانه مؤثری را در سرطان معده آشکار خواهد کرد.

سپاسگزاری

با تشکر و قدردانی از تمامی بیماران شرکت کننده در پژوهش و پرسنل گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مازندران و پرسنل بخش اندوسکوپی کلینیک طبوبی و بیمارستان امام خمینی ساری که در این طرح نهایت همکاری را مبذول داشتند. این مقاله حاصل پایان نامه دوره کارشناسی ارشد سعیده قربانعلی پور می باشد.

References

1. Jemal A, Murray T, Ward E, Samuels A, Tiwari RC, Ghafour A, et al. Cancer statistics, 2005. *CA Cancer J Clin* 2005; 55(1): 10-30.
2. Parkin DM, Bray FI, Devesa SS. Cancer burden in the year 2000, the global picture.

هلیکوباکتریلوری به شدت افزایش می یابد (۴۲). بعلاوه، فعال شدن STAT3 با کاهش بقای بیماران مبتلا به سرطان معده پیوستگی دارد و قویاً نقش پاتوژنیک آن را نشان می دهد. تا به امروز، هیچ جهشی در ژن STAT3 انسانی که بیان کننده فعال شدن آن در بسیاری از موارد سرطان باشد، شناسایی نشده است (۳۹). اما فعالیت مداوم STAT3 با بدخیمی های هماتولوژیک و تومورهای با منشأ اپی تلیال، مرتبط است (۴۳)، که نشان می دهد این اختلال در فعالیت پروتئین های مهار کننده انتقال سیگنال سایتوکاین¹ SOCS و یا تحریک شدید gp130 توسط سایتوکاین های خانواده IL-6 مانند IL-11 و یا عرضه بیش از حد لیگاند برای گیرنده های تیروزین کیناز و یا گیرنده های سایتوکاینی فعال کننده STAT3، احتمالاً مسئول فعال شدن شدید (Hyperactivation) آن می باشد. بیان بالای IL-11/STAT3 با ایجاد سرطان معده ارتباط دارد. معده متاپلاستیک و واجد آدنوکارسینوما ۵ تا ۱۵ برابر آنتروم نرمال، IL-11 سنتز می کند. احتمالاً افزایش سطح IL-11/STAT3 در فرایند تومورزایی، تکثیر تومور و بقای آن شرکت کرده و فعالیت ضد آپوپتوزی را بالا می برد (۳۹). در مطالعه ای دیگر گفته می شود، IL-11 توسط سلول های اپی تلیوم و التهابی تولید شده و به زیر واحد gp130 گیرنده واقع در سلول های اپی تلیوم در آنتروم معده متصل می گردد. STAT3، بیان IL-11 را در سلول اپی تلیال با یک مکانیسم Feed-forward افزایش می دهد و سبب تکثیر سلولی مداوم می شود. مجموعه این حوادث فرایندهای

Eur J Cancer 2001; 37(Suppl 8): S4-S66.

3. Parkin DM. International variation. *Oncogene* 2004; 23(38): 6329-6340.

4. Yaghoobi M, Rakhshani N, Sadr F, Bijarchi R, Joshaghani Y, Mohammadkhani A, et al.

- Hereditary risk factors for the development of gastric cancer in younger patients. *BMC Gastroenterol* 2004; 4: 28.
5. Yazdanbod A, Arshi S, Derakhshan M, Sadjadi A, Malekzadeh R. Gastric cardia cancer; the most common type of upper gastrointestinal cancer in Ardabil, Iran: an endoscopy clinic experience. *Arch Iran Med* 2001; 4(2): 76-79.
 6. Malekzadeh R, Derakhshan MH, Malekzadeh Z. Gastric Cancer in Iran: Epidemiology and Risk Factors, *Arch Iran Med* 2009; 12(6): 576-583.
 7. Correa P, Piazuelo MB, Camargo MC. The future of gastric cancer prevention. *Gastric Cancer* 2004; 7(1): 9-16.
 8. Kumar V, Abbas AK, Fasusto N. Robbins and Cotran Pathologic basis of disease. 7th ed. Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier Saunders, 2005.
 9. Paul SR, Bennett F, Calvetti JA, Kelleher K, Wood CR, O'Hara RM Jr, et al. Molecular cloning of a cDNA encoding interleukin 11, a novel stromal cell-derived lymphopoietic and hematopoietic cytokine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87(19): 7512-7511.
 10. Hirayama F, Katayama N, Neben S, Donaldson D, Nickbarg EB, Clark SC, et al. Synergistic interaction between interleukin-12 and steel factor in support of proliferation of murine lymphohematopoietic progenitors in culture. *Blood* 1994; 83(1): 92-98.
 11. Kawashima I, Ohsumi J, Mita-Honjo K, Shimoda-Takano K, Ishikawa H, Sakakibara S, et al. Molecular cloning of cDNA encoding adipogenesis inhibitory factor and identity with interleukin-11. *FEBS Lett* 1991; 283(2): 199-202.
 12. Keller DC, Du XX, Srour EF, Hoffman R, Williams DA. Interleukin-11 inhibits adipogenesis and stimulates myelopoiesis in long term marrow cultures. *Blood* 1993; 82(5): 1428-1435.
 13. Baumann H, Schendel P. Interleukin-11 regulates the hepatic expression of the same plasma proteins genes as interleukin-6. *J Biol Chem* 1991; 266(30): 20424-20427.
 14. Fukuda Y, Sassa S. Effect of interleukin-11 on levels of mRNAs encoding heme oxygenase and haptoglobin in human HepG2 hepatoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 193(1): 297-302.
 15. Mehler MF, Rozental R, Dougherty M, Spray DC, Kessler JA. Cytokine regulation of neuronal differentiation of hippocampal progenitor cells. *Nature* 1993; 362(6415): 62-65.
 16. Maier R, Ganu V, Lotz M. Interleukin-11, an inducible cytokine in human articular chondrocytes and synoviocytes, stimulates the production of the tissue inhibitor of metalloproteinases. *J Biol Chem* 1993; 268(29): 21527-21532.
 17. Girasole G, Passeri G, Jilka RL, Manolagas SC. Interleukin-11: a new cytokine critical for osteoclast development. *J Clin Invest* 1994; 93(4): 1516-1524.
 18. Schwertschlag US, Trepicchio WL, Dykstra KH, Keith JC, Turner KJ, Dorner AJ. Hematopoietic, immunomodulatory and epithelial effects of interleukin-11. *Leukemia* 1999; 13(9): 1307-1315.
 19. Peterson RL, Bozza MM, Dorner AJ. Interleukin-11 induces intestinal epithelial cell growth arrest through effects on retinoblastoma protein phosphorylation. *Am J Pathol* 1996; 149(3): 895-902.
 20. Orazi A, Du X, Yang Z, Kashai M, Williams DA. Interleukin-11 prevents apoptosis and accelerates recovery of small intestinal mucosa in mice treated with combined

- chemotherapy and radiation. *Lab Invest* 1996; 75(1): 33-42.
21. Potten CS. Protection of the small intestinal clonogenic stem cells from radiation-induced damage by pretreatment with interleukin 11 also increases murine survival time. *Stem Cells* 1996; 14(4): 452-459.
 22. Peters M, Muller AM, Rose-John S. Interleukin-6 and soluble interleukin-6 receptor: direct stimulation of gp130 and hematopoiesis. *Blood* 1998; 92(10): 3495-3504.
 23. Kamimura D, Ishihara K, Hirano T. IL-6 signal transduction and its physiological roles: the signal orchestration model. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 2003; 149: 1-38.
 24. Ernst M, Jenkins BJ. Acquiring signalling specificity from the cytokine receptor gp130. *Trends Genet* 2004; 20(1): 23-32.
 25. Fasnacht N, Muller W. Conditional gp130 deficient mouse mutants. *Semin Cell Dev Biol* 2008; 19(4): 379-384.
 26. Hemmann U, Gerhartz C, Heesel B, Sasse J, Kurapkat G, Grotzinger J, et al. Differential activation of acute phase response factor/Stat3 and Stat1 via the cytoplasmic domain of the interleukin 6 signal transducer gp130. II. Src homology SH2 domains define the specificity of stat factor activation. *Biol Chem* 1996; 271(22): 12999-13007.
 27. Bollrath J, Pheesse TJ, von Burstin VA, Putoczki T, Bennecke M, Bateman T, et al. gp130-mediated Stat3 activation in enterocytes regulates cell survival and cell-cycle progression during colitis-associated tumorigenesis. *Cancer Cell* 2009; 15(2): 91-102.
 28. Kanda N, Seno H, Konda Y, Marusawa H, Kanai M, Nakajima T, et al. STAT3 is constitutively activated and supports cell survival in association with survivin expression in gastric cancer cells. *Oncogene*. 2004; 23(28): 4921-4929.
 29. Gong W, Wang L, Yao JC, Ajani JA, Daoyan W, Aldape KD, et al. Expression of activated signal transducer and activator of transcription 3 predicts expression of vascular endothelial growth factor in and angiogenic phenotype of human gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11(4): 1386-1393.
 30. Ellmark P, Ingvarsson J, Carlsson A, Lundin BS, Wingren C, Borrebaeck CA. Identification of protein expression signatures associated with *Helicobacter pylori* infection and gastric adenocarcinoma using recombinant antibody microarrays. *Mol Cell Proteomics* 2006; 5(9): 1638-1646.
 31. Kiessling S, Muller-Newen G, Leeb SN, Hausmann M, Rath HC, Strater J, et al. Functional expression of the Interleukin-11 receptor α -chain and evidence of antiapoptotic effects in human colonic epithelial cells. *J Bio Chem* 2004; 279(11): 10304-10315.
 32. Chen Y, Shu W, Chen W, Wu Q, Liu H, Cui G. Curcumin, both histone deacetylase and p300/CBP-Specific Inhibitor, represses the activity of Nuclear Factor Kappa B and Notch 1 in Raji cells. *J Campil* 2007; 101(6): 427-433.
 33. Pffaf MW, Horgan GW, Dempfle L. Relative expression software tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative exoression results in real-time PCR. *Nucleic Acid Res* 2002; 30(9): e36.
 34. Yang YC. Interleukin 11: an overview. *Stem Cells* 1993; 11(6): 474-486.
 35. Morris JC, Neben S, Bennett F, Finnerty H, Long A, Beier DR, et al. Molecular cloning and characterization of murine interleukin-11. *Exp Hematol* 1996; 24(12): 1369-1376.

36. Grivennikov SI, Karin M. Dangerous liaisons: STAT3 and NF-kappaB collaboration and crosstalk in cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 2010; 21(1): 11-19.
37. Jenkins B J, Grail D, Nheu T, Najdovska M, Wang B, Waring P, et al. Hyperactivation of Stat3 in gp130 mutant mice promotes gastric hyperproliferation and desensitizes TGF-beta signaling. *Nat Med* 2005; 11(8): 845-852.
38. Bromberg J. Stat proteins and oncogenesis. *J Clin Invest*. 2002; 109(9): 1139-1142.
39. Howlett M, Menheniott TR, Judd LM, Giraud AS. Cytokine signalling via gp130 in gastric cancer. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1793(11): 1623-1633.
40. Xiong H, Zhang ZG, Tian XQ, Sun DF, Liang QC, Zhang YJ, et al. Inhibition of JAK1,2 /STAT3 signaling induces apoptosis, cell cycle arrest, and reduces tumor cell invasion in colorectal cancer cells. *Neoplasia* 2008; 10(3): 287-297.
41. Kusaba T, Nakayama T, Yamazumi K, Yakata Y, Yoshizaki A, Nagayasu T, et al. Expression of p-STAT3 in human colorectal adenocarcinoma and adenoma; correlation with clinicopathological factors. *J Clin Pathol* 2005; 58(8): 833-838.
42. Jackson CB, Judd LM, Menheniott TR, Kronborg I, Dow C, Yeomans ND, et al. Augmented gp130-mediated cytokine signalling accompanies human gastric cancer progression. *J Pathol* 2007; 213(2): 140-151.
43. Ernst M, Najdovska M, Grail D, Lundgren-May T, Buchert M, Tye H, et al. STAT3 and STAT1 mediate IL-11-dependent and inflammation-associated gastric tumorigenesis in gp130 receptor mutant mice. *J Clin Invest* 2008; 118(5): 1727-1738.
44. Merchant JL. What lurks beneath: IL-11, via Stat3, promotes inflammation-associated gastric tumorigenesis. *J Clin Invest* 2008; 118(5): 1628-1631.
45. Toshiyuki N, Yoshizaki A, Izumida S, Suehiro T, Miura S, Uemura T, et al. Expression of interleukin-11 (IL-11) and IL-11 receptor in human gastric carcinoma and IL-11 upregulates the invasive activity of human gastric carcinoma cells. *Inter J Oncol* 2007; 30(4): 825-833.