

Increased Expression of lncRNA LINC01139 as a Potential Biomarker of Colorectal Cancer

Shahrbano Nandoust kenari¹

Parisa Mohamadynejad²

Mehdi Moghanibashi³

Abouzar Bagheri⁴

Leila Rouhi²

¹ PhD Student in Molecular Genetics, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

² Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

³ Assistant Professor, Department of Genetics, Faculty of Medicine, Islamic Azad University, Kazerun Branch, Kazerun, Iran.

⁴ Assistant Professor, Department of Clinical Biochemistry and Medical Genetics, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received February 12, 2024; Accepted June 22, 2024)

Abstract

Background and purpose: Colorectal cancer (CRC) ranks fourth and second among all types of cancer in terms of incidence and mortality rates, respectively. Although colorectal cancer screening has been effective in improving the prevention and treatment of this disease, many obstacles, including colorectal cancer metastasis, have severely hampered the prognosis of this disease. Long non-coding RNAs are a type of RNAi molecule that is classified into several functional groups and participates in some important cellular pathways. LncRNA-RNA interactions control mRNA translation and degradation or act as microRNA (miRNA) silencing sponges. LncRNA-protein interaction regulates protein activity in transcriptional activation and silencing. LncRNA guide, decoy, and scaffold transcriptional regulators regulate the enhancer or repressor region of coding genes to alter expression. Non-coding RNAs have attracted increasing attention from researchers due to their key role in regulating gene expression and potential effects on cell signaling pathways. These RNAs, as biomarkers, play an important role in the diagnosis, progression, and prognosis of colorectal cancer. This study investigated the change in the expression level of non-coding RNA LINC01139 in colorectal cancer compared to healthy tissue.

Materials and methods: and Methods: In this study, the expression change of the LncRNA LINC01139 gene from two databases, UALCAN and Gepia2, was investigated in colon adenocarcinoma tumor tissues compared to healthy tissue. Then, total RNA was extracted from 41 colorectal cancer tumor tissue samples and 41 healthy tissue samples adjacent to the tumor, and after qualitative and quantitative analysis of the extracted RNA, cDNA synthesis was performed using the kit. Then, by designing and synthesizing a specific primer, the expression level of LINC01139 non-coding RNA was measured in two tumor and healthy tissues using the Real-time RT-PCR technique. In the end, considering the Gapdh gene as a housekeeping gene, the resulting data were analyzed by Graph pad prism software.

Results: Data analysis of this study based on bioinformatics analysis showed that the expression of non-coding RNA LINC01139 is decreased in colorectal tumors. This is even though the expression of this gene increases significantly in tumor tissues (both metastatic and non-metastatic) compared to the adjacent normal tissue, regardless of gender ($P < 0.0001$). However, It was also shown that increased expression of LINC01139 non-coding RNA in tumor tissues can serve as a biomarker in identifying tumor tissues from healthy colorectal tissues ($AUC = 0.81$, $P < 0.0001$), as no significant expression difference between non-metastatic and metastatic samples ($P > 0.05$).

Conclusion: Considering the known role of LINC01139 lncRNA in the HIF1 α signaling pathway as a scaffold, the oncogenic function of LINC01139 lncRNA in liver cancer through the miR-30/MYBL2 axis and the strong Linc01139-PIP3 lncRNA interaction and the effect on the PIP3-AKT pathway. It seems that increased expression of cytoplasmic lncRNA LINC01139 and its function as an oncogene may be involved in colorectal carcinogenesis through signaling pathways.

Keywords: Colorectal cancer, LINC01139 lncRNA, biomarker, metastasis, UALCAN, Gepia2

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 34 (234): 84-92 (Persian).

Corresponding Author: Parisa Mohamadynejad - Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran. (E-mail: Parisa_mohamadynejad@yahoo.com)

افزایش بیان lncRNA LINC01139 به عنوان نشانگر زیستی بالقوه سرطان کولورکتال

شهربانو ناندوست کناری^۱پریسا محمدی نژاد^۲مهدی مغنی باشی^۳ابوذر باقری^۴لیلا روحی^۲

چکیده

سابقه و هدف: سرطان کولورکتال (CRC) از نظر میزان بروز و مرگ و میر در بین انواع سرطان‌ها به ترتیب رتبه چهارم و دوم را به خود اختصاص داده است. اگرچه غربالگری سرطان کولورکتال در بهبود پیشگیری و درمان این بیماری موثر بوده اما همچنان موانع متعدد از جمله متاستاز سرطان کولورکتال، پیش‌آگهی این بیماری را به شدت مختل کرده است. RNA های غیر کدکننده طولانی نوعی مولکول RNAi هستند که در چندین گروه عملکردی طبقه‌بندی می‌شوند و در برخی از مسیرهای سلولی مهم شرکت می‌کنند. تعامل LncRNA-RNA ترجمه و تخریب mRNA را کنترل می‌کند یا به‌عنوان اسفنج miRNA (microRNA) برای خاموش کردن عمل می‌کند. تعامل LncRNA-پروتئین فعالیت پروتئین را در فعال‌سازی رونویسی و خاموش کردن تنظیم می‌کند. راهنمای LncRNA، فریب، و داربست تنظیم‌کننده‌های رونویسی ناحیه تقویت‌کننده یا سرکوب‌کننده ژن‌های کدکننده را برای تغییر بیان تنظیم می‌کنند. RNA های غیرکدکننده بلند به دلیل نقش کلیدی در تنظیم بیان ژن و اثرات بالقوه در مسیرهای سیگنالینگ سلولی، توجه روزافزون محققان را به خود جلب کرده‌اند. این RNA ها، به عنوان نشانگرهای زیستی، در تشخیص، پیشرفت و پیش‌آگهی سرطان کولورکتال نقش مهمی ایفا می‌کنند. این مطالعه با هدف بررسی تغییر سطح بیان RNA غیرکدکننده LINC01139 در سرطان کولورکتال در مقایسه با بافت سالم انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ابتدا تغییر بیان ژن LncRNA LINC01139 از دو پایگاه داده UALCAN و Gepia2 در بافت‌های توموری آدنوکارسینوما کولون در مقایسه با بافت سالم بررسی شد. سپس total RNA از ۴۱ نمونه بافت توموری سرطان کولورکتال و ۴۱ نمونه بافت سالم مجاور تومور استخراج شد و پس از بررسی کیفی و کمی RNA استخراج شده، سنتز cDNA با استفاده از کیت انجام گردید. سپس با طراحی و سنتز پرایمر اختصاصی، میزان بیان RNA غیرکدکننده LINC01139 در دو بافت توموری و سالم با استفاده از تکنیک Real time RT-PCR اندازه‌گیری شد. در پایان با در نظر گرفتن ژن Gapdh به‌عنوان ژن خانه‌داری، داده‌های حاصل به‌وسیله نرم‌افزار Graph pad prism تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌های این مطالعه براساس آنالیزهای بیوانفورماتیکی نشان داد که بیان RNA غیرکدکننده LINC01139 در تومورهای کولورکتال کاهش می‌یابد این در حالی است که بیان این ژن به‌طور قابل توجهی در بافت‌های توموری (اعم از متاستازی و غیر متاستازی) در مقایسه با بافت نرمال مجاور مستقل از جنس افزایش می‌یابد ($P < 0.0001$) ولی تفاوت بیان معنی‌داری بین نمونه‌های غیرمتاستازی و متاستازی مشاهده نشد ($P > 0.05$). هم‌چنین نشان داده شد که افزایش بیان RNA غیرکدکننده LINC01139 در بافت‌های توموری می‌تواند به‌عنوان نشانگر زیستی در شناسایی بافت‌های توموری از بافت‌های سالم کولورکتال ($AUC = 0.81$, $P < 0.0001$) عمل کند.

استنتاج: با توجه به نقش شناخته شده LncRNA LINC01139 در مسیر سیگنالینگ HIF1 α به‌عنوان داربست، عملکرد آنکوژنیک LINC01139 در سرطان کبد از طریق محور miR-30/MYBL2 و برهمکنش قوی LncRNA LINC01139-PIP3 و اثر بر مسیر PIP3-AKT، به نظر می‌رسد افزایش بیان LncRNA LINC01139 سیتوپلاسمی و عملکرد آن به‌عنوان یک آنکوژن، احتمالاً می‌تواند از طریق مسیرهای سیگنالینگ در سرطان‌زایی کولورکتال دخیل باشد.

واژه های کلیدی: سرطان کولورکتال، LINC01139 lncRNA، نشانگر زیستی، متاستاز، UALCAN، Gepia2

E-mail: Parisa_mohamadynejad@yahoo.com

مؤلف مسئول: پریسا محمدی نژاد - شهر کرد: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر کرد، دانشکده علوم پایه

۱. دانشجوی دکتری ژنتیک مولکولی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهر کرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهر کرد، ایران

۲. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهر کرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهر کرد، ایران

۳. استادیار، گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

۴. استادیار، گروه بیوشیمی بالینی و ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

✉ تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۲۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۳/۲/۱ تاریخ تصویب: ۱۴۰۳/۴/۲

مقدمه

سرطان کولورکتال (CRC) یکی از شایع ترین نئوپلاسم های بدخیم در سراسر جهان معرفی شده است که بسته به موقعیت جغرافیایی، نوع سرطان یا جنسیت، با بیش از ۱/۸۵ میلیون مورد جدید در سال، از نظر بروز در رتبه های دوم تا چهارم قرار گرفته است. از میان تشخیص های جدید سرطان کولورکتال، ۲۰ درصد بیماران در هنگام مراجعه در مرحله متاستازی می باشند و ۲۵ درصد بیماران بعداً به مرحله متاستازی خواهند رسید. هم چنین با ۸۵۰،۰۰۰ مورد مرگ در سال، سومین علت شایع مرگ و میر ناشی از سرطان گزارش شده است که متأسفانه عوارض و مرگ و میر ناشی از آن مرتباً رو به افزایش است (۱،۲).

سرطان کولورکتال یک "بیماری خاموش" است و بیش تر علائم در مراحل پایانی بیماری ظاهر می شوند و تعداد کمی از بیماران در مراحل اولیه تشخیص داده می شوند. به همین دلیل، اگر چه مسیر توسعه و پیشرفت سرطان کولورکتال قابل پیش بینی است، با این حال، CRC یکی از شایع ترین و کشنده ترین بدخیمی ها در سراسر جهان شناخته می شود (۳،۴). بنابراین شناسایی نشانگرهای پیش بینی کننده و پیش آگهی برای غربالگری و تشخیص بیماری در مراحل اولیه بسیار مهم است، زیرا احتمال درمان تومورها و میزان بقای بیماران را افزایش می دهد و عوارض CRC و مرگ و میر ناشی از آن را به شدت کاهش می دهد (۳،۵). RNA های بلند غیر کد کننده (lncRNAs)، با الگوی بیان اختصاصی بسته به نوع سلول و ساختار ثانویه نسبتاً پایدار در پلاسما و ادرار به عنوان نشانگرهای زیستی، در تشخیص، پیشرفت و پیش آگهی سرطان نقش مهمی ایفا می کنند (۳،۶). این گروه از RNA ها که در ابتدا به عنوان RNA های بدون عملکرد بیولوژیکی معرفی شدند، امروزه به عنوان یک کلاس بزرگ و ناهمگن از تنظیم کننده های بیان ژن در فرایندهای متعدد سلولی از جمله تکثیر سلول، آپوپتوز، تمایز و متابولیسم، هم چنین ترمیم DNA، سازماندهی کروماتین، و حفظ یکپارچگی

ژنوم، شناخته می شوند (۷). بیان نابجای lncRNA ها با اختلال در هر یک از این فرایندها، می تواند منجر به شروع و پیشرفت سرطان شود (۸). اگر چه lncRNA ها عمدتاً در هسته قرار دارند، با این حال درصد قابل توجهی از lncRNA ها یا در سیتوزول قرار دارند یا بین هسته و سیتوپلاسم در رفت و آمد هستند؛ نقش مهمی در تعدیل ترجمه mRNA ها، تخریب و جابه جایی پروتئین های سیتوپلاسمی ایفا می کنند (۶). مطالعات کنونی نشان می دهد که lncRNA های سیتوپلاسمی می توانند از طریق دامین های غیرمتعارف متصل شونده به rRNA، به بسیاری از پروتئین کینازها و آنزیم های متابولیک متصل شوند و در تنظیم فرایندهای سلولی بنیادی نقش مهمی ایفا کنند (۹،۱۰). LINC01139 lncRNA یک سیتوپلاسمی است که اخیراً شناسایی شده است. گزارش شده است که اختلال در بیان LINC01139 از طریق فعال کردن مسیر سیگنالینگ AKT، باعث افزایش بروز، تهاجم و متاستاز سرطان پستان می شود (۱۱). هم چنین ارزش پیش آگهی LINC01139 در تشخیص تومورهای مختلف، از جمله سرطان پستان، سرطان ریه سلول غیر کوچک و گلیوم گزارش شده است (۱۴-۱۲). با این حال، بیان و ارزش پیش آگهی LINC01139 lncRNA در CRC هنوز نامشخص است. در این مطالعه با بررسی بیوانفورماتیکی و آزمایشگاهی تغییرات بیان LINC01139 lncRNA در بافت های توموری غیر متاستازی (M0) و توموری متاستازی (M1) در بیماران CRC، LINC01139 lncRNA به عنوان یک نشانگر زیستی امیدوار کننده اختصاصی تومورهای متاستازی در هر دو جنس معرفی گردید.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، با استفاده از پایگاه داده Gene Expression Profiling Interactive Analysis (GEPIA2)، نسخه ۲، توسط "Expression DIY"، تحت تنظیمات $\log_2FC \text{ cutoff} = 1$ ، $p \text{ cutoff} = 0.05$ و هم چنین پایگاه UALCAN، اختلاف سطح بیان

LncRNA Linc01139 در نمونه‌های آدنوکارسینوم کولون و نمونه‌های سالم تجزیه و تحلیل شد.

نمونه‌های بافتی بیماران

در مطالعه حاضر، ۴۱ نمونه (۲۳ زن و ۱۸ مرد) بافت توموری (متاستازی و غیرمتاستازی) کلورکتال همراه با نمونه بافت سالم مجاور آن از بیمارستان امام خمینی تهران تهیه شد. دامنه سنی بیماران ۳۰-۹۳ سال و میانگین سنی $57 \pm 3/67$ سال گزارش شده بود. این پژوهش در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد با کد اخلاق IR.IAU.SHK.REC.1401.063 به تصویب رسیده است.

استخراج RNA، سنتز cDNA و بررسی بیان ژن

به منظور استخراج RNA از محلول Trizol (Invitrogen, USA) مطابق پروتکل استفاده شد و کیفیت RNA استخراج شده هر نمونه با الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲ درصد بررسی گردید. هم‌چنین غلظت RNAها با استفاده از دستگاه نانودراپ اندازه‌گیری شد. به منظور حذف هرگونه آلودگی احتمالی با DNA، RNA استخراج شده با آنزیم DNase I تیمار شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس به منظور خنثی‌سازی آنزیم DNase I، هر نمونه با یک میکرو لیتر EDTA (اتیلن دی آمین تترا استیک اسید) تیمار و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. در مرحله بعد با استفاده از آنزیم RT در حضور آغازگرهای oligo dt و هگزامرهای تصادفی مطابق با پروتوکول شرکت سازنده (یکتا تجهیز)، cDNA ساخته شد. توالی آغازگرهای ژن موردنظر و ژن B-Actin به عنوان ژن مرجع، توسط نرم‌افزار اختصاصی beacon designer 7 طراحی شده و اختصاصی بودن

آغازگرهای طراحی شده برای ژن هدف با برنامه BLAST در پایگاه اینترنتی NCBI تایید گردید و سپس توسط شرکت پیشگام سنتز شد (جدول شماره ۱).

پس از تایید سنتز cDNA، با استفاده از کیت مبتنی بر SYBR Green (یکتا تجهیز آزما ساخت ایران) و تکنیک RT-qPCR (دستگاه Corbet Rotor gene 6000) سطح بیان ژن به صورت کمی بررسی شد. Real Time RT-PCR در حجم کل ۱۰ میکرولیتر، شامل ۵ میکرولیتر SYBR Green، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر (پرایمر رفت و برگشت) با غلظت ۵ پیکو مول، ۱ میکرولیتر cDNA و ۳ میکرو لیتر آب DEPC، تحت شرایط چرخه حرارتی شامل یک مرحله فعال‌سازی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، به دنبال آن ۴۰ چرخه، شامل مرحله دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه و در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه برای اتصال پرایمر و گسترش آن بهینه گردید. برای محاسبه بیان نسبی، از فرمول $2^{-\Delta CT}$ استفاده شد. لازم به ذکر است از ژن B-actin به عنوان ژن خانه‌داری برای نرمالیز کردن داده‌ها استفاده شد که توالی پرایمرهای آن در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود.

بیان نسبی ژن هدف در بافت‌های توموری در مقایسه با بافت سالم، با استفاده از GraphPad Prism 9.5 و آزمون paired Student's t-test محاسبه شد. مقدار $P < 0/05$ به عنوان سطح آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

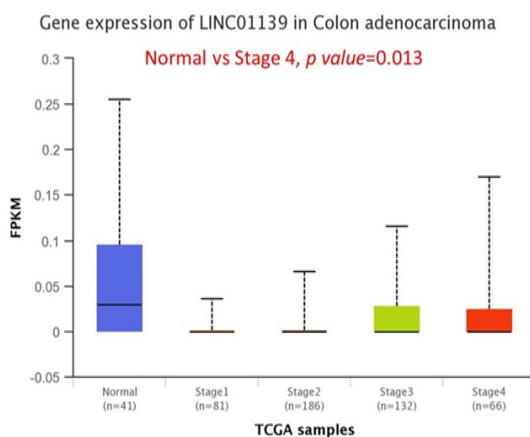
یافته‌ها

ابتدا سطح بیان LincRNA LINC01139 در آدنوکارسینوم کولون اولیه (COAD) بر اساس داده‌های TCGA از طریق دو پایگاه داده GEPIA2 و UALCAN

جدول شماره ۱: مشخصات آغازگرهای مورد استفاده

نام ژن	F primer	R primer	اندازه محصول	دمای اتصال
B-Actin	5'-CACCATTGGCAATGAGCGGTC-3'	5'-AGGCTCTTTCGGGATGCCACGT-3'	bp127	۵۸ °C
LINC01139	5'-ATGGGCCTCTGACTGATG-3'	5'-CTGCTTATTCCTCCCGTCT-3'	bp136	۵۶ °C

همچنین ارزیابی سطح بیان lncRNA LINC01139 در مراحل مختلف سرطان داد که اگرچه بیان lncRNA LINC01139 در مراحل مختلف سرطان در بافت‌های توموری نسبت به بافت سالم کاهش می‌یابد اما این کاهش فقط در مرحله ۴ نسبت به بافت سالم معنادار است (نمودار شماره ۲).

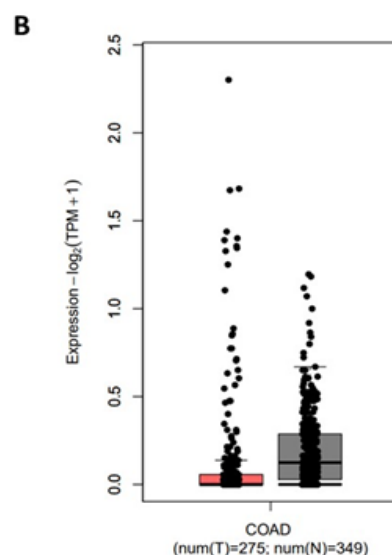
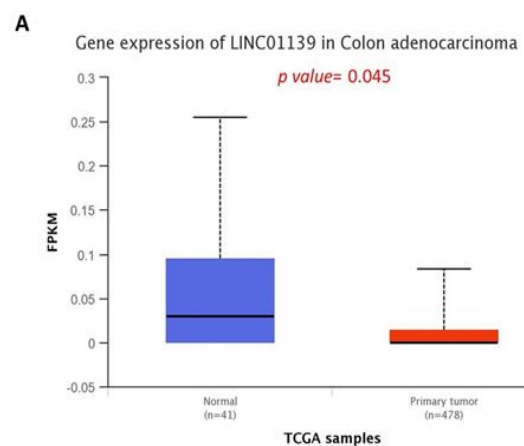


نمودار شماره ۲: کاهش سطح بیان lncRNA LINC01139 در بافت COAD در مقایسه با بافت سالم براساس مراحل مختلف سرطان براساس پایگاه داده UALCAN بیان lncRNA LINC01139 در بافت COAD در مقایسه با بافت سالم فقط در مرحله ۴ کاهش معناداری نشان می‌دهد.

در تایید نتایج بیوانفورماتیک، بیان نسبی lncRNA LINC01139 در ۴۱ نمونه بافتی (جدول شماره ۲) توموری کولورکتال و بافت‌های سالم مجاور با استفاده از RT-qPCR بررسی شد.

تجزیه و تحلیل آماری در بافت‌های توموری و سالم کولورکتال نشان داد که بیان نسبی رونوشت lncRNA LINC01139 به طور قابل توجهی در بافت‌های توموری کولورکتال در مقایسه با بافت سالم مجاور افزایش می‌یابد ($P < 0.001$) (نمودار شماره ۳، A). همچنین آنالیز داده‌ها نشان داد که بیان ژن lncRNA LINC01139 در تومورهای متاستازی (نمودار شماره ۳، B) و غیرمتاستازی (نمودار شماره ۳، C) نسبت به بافت سالم مجاور افزایش می‌یابد. این در حالی است که بیان این ژن در بافت‌های

تجزیه و تحلیل شد. نتایج پایگاه داده UALCAN نشان داد که سطح بیان lncRNA LINC01139 به طور معناداری در بافت‌های COAD اولیه نسبت به بافت سالم کاهش می‌یابد ($P = 0.04$) (نمودار شماره ۱، A)، در حالی که براساس نتایج پایگاه داده GEPIA2 اگرچه بیان lncRNA LINC01139 در بافت‌های توموری کاهش می‌یابد؛ اما از لحاظ آماری معنی‌دار نیست (نمودار شماره ۱، B).



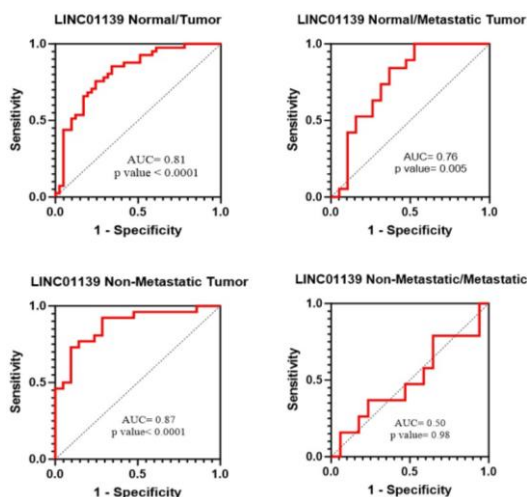
نمودار شماره ۱: کاهش سطح بیان lncRNA LINC01139 در بافت COAD در مقایسه با بافت سالم، بر اساس پایگاه داده UALCAN بیان lncRNA LINC01139 در بافت COAD به طور معناداری کاهش می‌یابد (A)، در حالی که این کاهش بیان در پایگاه داده GEPIA2 معنادار نیست (B).

توموری متاستازی و غیرمتاستازی تغییر نمی کند (نمودار شماره ۳، D).

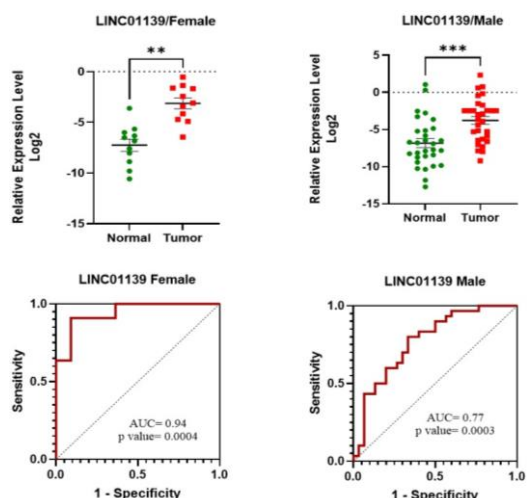
جدول شماره ۲: ویژگی های بیماران CRC

ویژگی های بیمار	تعداد (درصد)
خصوصیات پاتولوژیکال N	
N0	۱۷ (۴۱/۵)
N1	۱۵ (۳۶/۶)
N2	۹ (۲۲/۰)
متاستاز	
M0	۲۱ (۵۱/۲)
M1	۲۰ (۴۸/۸)
مرحله بیماری	
Stage I	۱۲ (۲۸/۵)
Stage IIA	۱۲ (۲۸/۵)
Stage IIIA	۲ (۴/۹)
Stage IIIB	۷ (۱۷/۱)
Stage IIIC	۲ (۴/۹)
Stage IV	۲۰ (۴۸/۸)
تاریخچه خانوادگی	
دارد	۱۵ (۳۶/۶)
ندارد	۲۶ (۶۳/۴)
وضعیت مصرف سیگار	
غیر سیگاری	۳۵ (۸۵/۴)
ترک کرده	۱ (۲/۴)
سیگاری	۱۵ (۳۶/۶)
انحراف معیار $\pm$ میانگین	
هموگلوبین	12.03 ± 2.03
اندازه تومور (cm)	5.86 ± 3.21
از دست رفتن وزن (Kg)	9.78 ± 6.8 UJN

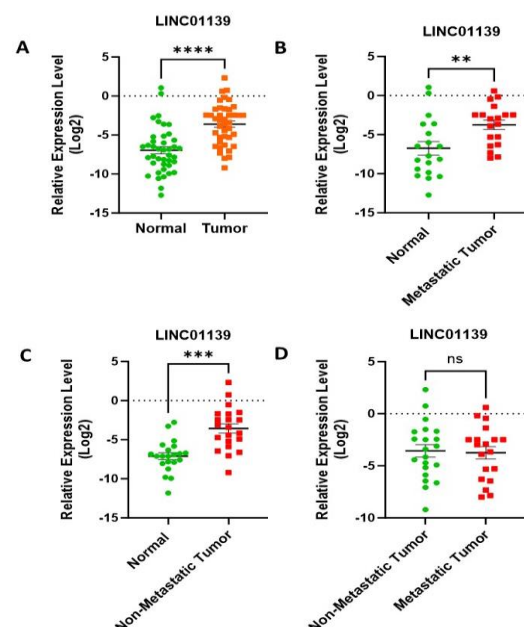
هم چنین آنالیز ROC نشان داد که افزایش بیان lncRNA LINC01139 در تمایز بافت توموری، اعم از بافت توموری متاستازی و غیرمتاستازی، از بافت سالم، به عنوان بیومارکر تشخیصی خوب عمل می کند (نمودار شماره ۴). آنالیز تغییر بیان این ژن در دو جنس به صورت جداگانه حاکی از آن است که بیان رونوشت LINC01139 در lncRNA در زنان ($P=0.006$) و مردان ($P=0.005$) نسبت به بافت سالم افزایش معناداری می یابد و در زنان می تواند به عنوان یک نشانگر زیستی عالی ($AUC=0.94$) عمل کند (نمودار شماره ۵).



نمودار شماره ۴: تجزیه و تحلیل منحنی ROC از lncRNA LINC01139



نمودار شماره ۵: نمودار بیان lncRNA LINC01139 در بافت های توموری زنان و مردان در مقایسه با بافت های سالم مجاور در بیماران CRC و نمودارهای ROC مربوط به هر جنس



نمودار شماره ۳: نمودار بیان lncRNA LINC01139 در بافت های توموری (A)، توموری غیرمتاستازی (C) و متاستازی (B) در مقایسه با بافت های سالم مجاور در بیماران CRC و هم چنین در بافت های توموری متاستازی در مقایسه با بافت توموری غیرمتاستازی (D).

بحث

در مطالعه حاضر نشان داده شد که بیان lncRNAs LINC01139 در بافت‌های توموری کولورکتال (متاستازی و غیر متاستازی) در هر دو جنس، افزایش می‌یابد و می‌تواند به عنوان یک بیومارکر بالقوه در شناسایی بافت‌های توموریکولورکتال از بافت نرمال عمل کند. اگرچه براساس تئوری جهان RNA فرض شده است که RNA ها در منشأ حیات نقش اساسی دارند، اما عملکرد RNA ها به عنوان واسطه در فرآیندهای سلولی بنیادی تا حد زیادی ناشناخته باقی مانده است. شواهد روز افزون حاکی از آن است که lncRNA های سیتوزولی، مسیرهای سیگنالینگ را با رویکردهای مختلف، از تعدیل اجزای مسیرهای سیگنالینگ گرفته تا تنظیم بیان ژن‌های هدف، کنترل می‌کنند و اختلال در این lncRNA ها می‌تواند با تنظیم مثبت یا منفی مسیرهای سیگنالینگ، بر شروع، توسعه و پیشرفت انواع سرطان‌ها تأثیر بگذارد (۱۵). از آنجایی که مسیرهای سیگنالینگ با تنظیم انواع فرآیندهای بیولوژیکی سلول، صفات یک موجود زنده را تعیین می‌کنند، فعال‌سازی نابجای مسیرهای سیگنالینگ، از جمله فسفوئینوزیتید ۳-کیناز (PI3K) / سرین-ترئونین-پروتئین کیناز (AKT)، Wnt، Hippo/YAP و Notch، که به تکثیر سلول‌های سرطانی، فعال‌سازی رگ‌زایی، تهاجم و متاستاز کمک می‌کند، در همه انواع تومورها گزارش شده است. در همین راستا، افزایش بیان lncRNA LINC01139 و نقش انکوژنیک آن در چندین تومور، مانند سرطان سینه و کارسینوم تخمدان گزارش شده است که هم راستا با نتایج این مطالعه می‌باشد (۱۶، ۱۷).

در مطالعه Lin و همکاران در سال ۲۰۱۶، نشان دادند lncRNA LINC01139 در مسیر سیگنالینگ HIF1 α ، به عنوان داربست با جذب دو پروتئین کیناز BRK (کیناز تومور پستان) و LRRK2 (تکرار کیناز ۲ غنی از لوسین)، کمپلکس ریبونوکلوپروتئینی تشکیل داده و منجر به تغییر شکل فضایی و فعالیت کینازی هر دو آن‌ها می‌شود.

پروتئین کینازهای BRK و LRRK2 فعال، HIF-1 α را به ترتیب در Tyr 565 و Ser 797 فسفریله می‌کنند. قابل ذکر است، فسفوریلاسیون Tyr 565 هیدروکسیل Pro 564 مجاور را مهار کرده و از تخریب HIF-1 α جلوگیری می‌کند، در حالی که فسفوریلاسیون Ser 797 تعامل بین HIF-1 α و کوفاکتور p300 را تسهیل می‌کند و مسیر سیگنالینگ HIF-1 α را در پاسخ به ژن‌های هدف فعال می‌کند (۱۲). HIF-1 α به عنوان یک فاکتور رونویسی با تنظیم بیان ژن‌های مختلف، فرآیندهای مختلف سلولی مانند تغییر واکنش‌های متابولیک، افزایش تکثیر، کاهش آپوپتوز، رگ‌زایی و بقای سلول را تسهیل می‌کند (۱۷). بنابراین، فعال شدن مسیرهای HIF-1، با تشکیل تومورهای تهاجمی و نتایج درمانی ضعیف در انواع مختلف سرطان گزارش شده است (۱۸). جالب است که Huang و همکاران در سال ۲۰۱۸ نیز گزارش کردند بیان HIF-1 α در بافت‌های آدنوکارسینوم کولون به طور قابل توجهی بیش تر از بافت‌های نرمال می‌باشد و با مرحله TNM بالاتر، تهاجم عروقی و گره‌های لنفاوی، متاستاز به دور دست و کاهش بقا بیمار همراه می‌گردد (۱۹). در حالی که به نظر می‌رسد در سرطان تخمدان، lncRNA LINC01139 از طریق فعال کردن مسیر سیگنالینگ TGF- β 1 می‌تواند منجر به انتقال از وضعیت اپیتلیالی به مزانشیمی (EMT) شده و متاستاز را القا کند (۱۵). هم چنین LINC01139 در بافت‌ها و رده‌های سلولی کارسینوما کبد بیش از حد بیان می‌شود، و افزایش بیان آن با پیشرفت TNM، متاستاز به غدد لنفاوی و پیش‌آگهی بالینی ضعیف بیماران کارسینوما کبد همراه می‌شود. بر این اساس Li و همکاران lncRNA LINC01139 به عنوان یک هدف درمانی بالقوه و یک نشانگر زیستی برای پیش‌آگهی بیماران کارسینوما کبد پیشنهاد کردند. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد عملکرد انکوژنیک lncRNA LINC01139 در HCC از طریق محور miR-30/MYBL2 اعمال می‌شود. در این مسیر، lncRNA LINC01139 به عنوان یک اسفنج برای

بیوانفورماتیکی با توجه به محدودیت‌های آنالیزهای این نوع مطالعات، بدون تایید آزمایشگاهی قابل استناد نیست همواره بایستی از طریق تکنیک‌هایی مانند RT-PCR، وسترن بلات و آزمایش‌های ایمنوهیستوشیمیایی تایید گردد. در این مطالعه عدم تطابق نتایج دو نوع مطالعه می‌تواند ناشی از تعداد نمونه‌های مورد بررسی در هر مطالعه و همچنین عدم تطابق نمونه‌های سالم و توموری مورد بررسی در آنالیزهای بیوانفورماتیکی باشد. با این حال با توجه به شواهد حاصل از سایر مطالعات که ذکر گردید، نقش آنکوژنی LncRNA Linc01139 در سرطان کولورکتال که حاصل نتایج آزمایشگاهی می‌باشد، منطقی تر به نظر می‌رسد. براساس نتایج این مطالعه بیان LncRNA Linc01139 سیتوپلاسمی در تومورهای کولورکتال افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد نقش آنکوژن این LncRNA می‌تواند از طریق مسیرهای سیگنالینگ در سرطان‌زایی دخیل باشد.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از پایان نامه دکتری شهربانو ناندوست کناری با کد اخلاق IR.IAU.SHK.REC.1401.063 از دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد می‌باشد.

References

1. Sawicki T, Ruszkowska M, Danielewicz A, Niedzwiedzka E, Arlukowicz T, Przybyłowicz KE. A review of colorectal cancer in terms of epidemiology, risk factors, development, symptoms and diagnosis. *Cancers* 2021; 13(9): 2025.
2. Biller LH, Schrag D. Diagnosis and treatment of metastatic colorectal cancer: a review. *JAMA* 2021; 325(7): 669-685.
3. Olovo CV, Huang X, Zheng X, Xu M. Faecal microbial biomarkers in early diagnosis of colorectal cancer. *J Cell Mol Med* 2021; 25(23): 10783-10797.
4. 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; 68(6): 394-424.
5. Chen X, Xie K, Xie S, Sun W, Yang C, Yang Z. Sparse gene Coexpression network analysis reveals EIF3J-AS1 as a prognostic marker for breast Cancer. *Complexity* 2018.
6. Oo JA, Pálfi K, Warwick T, Wittig I, Prieto-Garcia C, Matkovic V, et al. Long non-miR-30 عمل کرده که منجر به افزایش بیان فاکتور رونویسی MYBL2 می‌گردد. در واقع بیان بیش از حد MYBL2، از نظر عملکردی، از طریق افزایش بیان ژن‌های مرتبط با تومور، منجر به مقاومت در برابر عوامل شیمی درمانی شده و تأثیر مثبتی در تکثیر، متاستاز و پیشرفت EMT در چندین نوع تومور از جمله HCC را به همراه دارد (۱۰). از طرف دیگر LncRNA Linc01139 با فسفولپید غشایی PIP3 که توسط PI3K ساخته می‌شود، برهمکنش می‌دهد. برهمکنش قوی LncRNA Linc01139-PIP3، جذب پروتئین AKT به PIP3 را تسهیل و برهمکنش AKT-PIP3 را تثبیت می‌کند که منجر به تشکیل ساختار "بازتر"، تسهیل فسفریلاسیون AKT و افزایش فعال‌سازی آنزیمی AKT بر اثر تحریک EGF می‌گردد از آنجایی که مسیر PIP3-AKT در انتقال سیگنال‌های خارجی سلول و ایجاد هموستازی و بسیاری از سرطان‌های انسانی دخیل است، بنابراین برهمکنش LncRNA Linc01139-PIP3 در هموستاز و در سرطان مهم شمرده می‌شود (۱۱). لازم به ذکر است در مطالعه حاضر نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌های بیوانفورماتیکی از پایگاه‌های داده متفاوت، نتایج یکسانی نشان ندادند و با نتایج آزمایشگاهی نیز همخوانی نداشت. از آنجایی که یافته‌های مطالعات

- coding RNA PCAT19 safeguards DNA in quiescent endothelial cells by preventing uncontrolled phosphorylation of RPA2. *Cell Rep* 2022; 41(7):111670.
7. Wilusz JE, Sunwoo H, Spector DL. Long noncoding RNAs: functional surprises from the RNA world. *Genes Dev* 2009; 23(13): 1494-1504.
 8. Soibam B. Super-lncRNAs: identification of lncRNAs that target super-enhancers via RNA: DNA: DNA triplex formation. *RNA* 2017; 23(11): 1729-1742.
 9. Zhao W, Li W, Dai W, Huang N, Qiu J. LINK-A promotes cell proliferation through the regulation of aerobic glycolysis in non-small-cell lung cancer. *Onco Targets Ther* 2018; 11: 6071-6080.
 10. Li ZB, Chu HT, Jia M, Li L. Long noncoding RNA LINC01139 promotes the progression of hepatocellular carcinoma by upregulating MYBL2 via competitively binding to miR-30 family. *Biochem Biophys Res Commun* 2020; 525(3): 581-588.
 11. Lin A, Hu Q, Li C, Xing Z, Ma G, Wang C, et al. The LINK-A lncRNA interacts with PtdIns (3,4,5) P3 to hyperactivate AKT and confer resistance to AKT inhibitors. *Nat Cell Biol* 2017; 19(3): 238-251.
 12. Lin A, Li C, Xing Z, Hu Q, Liang K, Han L, et al. The LINK-A lncRNA activates normoxic HIF1 α signalling in triple-negative breast cancer. *Nat Cell Biol* 2016; 18(2): 213-24.
 13. Hua X, Li G, Liu Z, Niu Z. LINK-A lncRNA participates in the pathogenesis of glioma by interacting with survivin. *Exp Ther Med* 2019; 18(3): 1581-1586.
 14. Liu J, Song W, Li J, Li X, Zhao R, Gong T. LINK-A lncRNA is upregulated in metastatic non-small cell lung cancer and is associated with poor prognosis. *Oncol Lett* 2019. 18(3): 3049-3057.
 15. Ma J, Xue M. LINK-A lncRNA promotes migration and invasion of ovarian carcinoma cells by activating TGF- β pathway. *Biosci Rep* 2018; 8(5):BSR20180936.
 16. Fu PF, Zheng X, Fan X, Lin AF. Role of cytoplasmic lncRNAs in regulating cancer signaling pathways. *J Zhejiang Univ Sci B* 2019; 20(1): 1-8.
 17. Semenza GL. Oxygen sensing, hypoxia-inducible factors, and disease pathophysiology. *Annu Rev Pathol* 2014; 9: 47-71.
 18. Shih JW, Kung HJ. Long non-coding RNA and tumor hypoxia: new players ushered toward an old arena. *J Biomed Sci* 2017; 24(1): 53.
 19. Huang ZY, Zhang LH, Zhao C, Liu R, Tong H, Gan C. High HIF-1 α expression predicts poor prognosis of patients with colon adenocarcinoma. *Int J Clin Exp Pathol* 2018; 11(12): 5635-5646.