ORIGINAL ARTICLE

Investigating the Relationship between Changes in the Expression Level of the CLU Gene and the Prognosis of Gastric Cancer Patients

Arezoo Farhadi[1]
Erfan Cheraghi[2]
Nastaran Farahani[3]
Fatemeh Khodabandehloo[4]
Mohammad Foad Heidari[5]
Reza Heydari[4,6]
Mehdi Ghorbani[5]
Mahmood Vahidi[5]
Javad Behroozi[4,6]

[1] PhD Student in Molecular Medicine, School of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran
[2] BSc in Nursing, Faculty of Nursing and Midwifery, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] MSc in Genetics, Department of Genetics and Biotechnology, Faculty of Life Science, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
[4] Assistant Professor, Department of Genetics and Advanced Medical Technology, Faculty of Medicine, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[5] Assistant Professor, Department of Medical Laboratory Sciences, School of Allied Health Medicine, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[6] Assistant Professor, Cancer Epidemiology Research Center, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received April 5, 2024 ; Accepted October 2, 2024)

Abstract

Background and purpose: Gastric cancer is one of the most common cancers, with over one million new cases annually, and is the second leading cause of cancer-related deaths worldwide, after lung cancer. This disease is highly heterogeneous, with different primary sites, histological types, molecular classifications, and biological behaviors. The Cancer Genome Atlas has identified four distinct subtypes of gastric adenocarcinoma. In recent decades, various molecular studies have been conducted to understand the mechanisms underlying gastric cancer development and progression, as well as to identify new diagnostic and prognostic biomarkers. Several intracellular processes, including changes in gene expression, can contribute to the development and progression of gastric cancer. Gene expression changes are also implicated in other diseases, such as heart disease, autoimmune disorders, and diabetes. The CLU gene, an evolutionarily conserved gene, encodes the protein clusterin, which plays a role in various cellular processes, including cell-cell adhesion and programmed cell death. Clusterin has multiple roles in carcinogenesis and tumor invasion. This gene is classified as a metastasis suppressor gene, meaning it does not undergo mutations in tumors but is often downregulated in expression. The aim of the current study is to investigate the relationship between changes in CLU gene expression and the prognosis of patients with gastric cancer.

Materials and methods: In this cross-sectional study, fifty tumor tissues and adjacent normal tissues were collected from gastric cancer patients. The relative gene expression of CLU was assessed using quantitative real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction (qRT-PCR). RNA extraction was performed using RNX-plus solution, and cDNA synthesis was carried out using the BIOFACT kit, following the Random Hexamer and oligo(dT) mixed primer method. Gene expression levels were measured using the StepOnePlus thermocycler, with GAPDH serving as the internal control gene. Additionally, a bioinformatics analysis was conducted to evaluate the expression of the CLU gene in two distinct groups of gastric cancer patients. A Kaplan-Meier survival analysis was performed to assess the impact of CLU expression levels on patient survival rates. Furthermore, a comprehensive analysis of CLU expression across multiple types of cancer was conducted using TCGA data.

Results: The analysis of CLU gene expression showed that its expression level in tumor samples was 0.46 compared to adjacent normal tissues. Using data from two additional cohorts, we confirmed that CLU gene expression was consistently lower in tumor samples compared to normal samples. At all stages of gastric cancer, CLU expression was significantly reduced compared to adjacent normal tissue. Survival analysis revealed significant differences in overall survival between patients with high CLU expression and those with lower expression. Lower CLU expression was associated with reduced patient survival time. Further analysis showed that in most cancers studied, CLU expression was generally decreased.

Conclusion: The expression of the CLU gene can be used as a prognostic marker in gastric cancer, and CLU gene therapy may be considered as a potential treatment option for gastric cancer.

Keywords: gastric cancer, CLU, gene expression, prognostic marker, overall survival

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 34 (237): 50-62 (Persian).

Corresponding Author: Javad Behroozi - Cancer Epidemiology Research Center, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran. (E-mail: jvdbehroozi@gmail.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و چهارم شماره ۲۳۷ مهر سال ۱۴۰۳ (۶۲-۵۰)

بررسی ارتباط تغییرات سطح بیان ژن CLU و پیش آگهی بیماران مبتلا به سرطان معده

آرزو فرهادی[۱]
عرفان چراغی[۲]
نسترن فراهانی[۳]
فاطمه خدابنده لو[۴]
محمد فواد حیدری[۵]
رضا حیدری[۴و۶]
مهدی قربانی[۵]
محمود وحیدی[۵]
جواد بهروزی[۴و۶]

چکیده

سابقه و هدف: سرطان معده یکی از سرطان‌های شایع با یک میلیون بیمار جدید در سال بوده و پس از سرطان ریه دومین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان در سراسر دنیا می‌باشد. این بیماری بسیار ناهمگون با محل اولیه، هیستولوژی، طبقه‌بندی مولکولی و رفتار بیولوژیکی متفاوت می‌باشد و اطلس ژنوم سرطان چهار زیرگروه مختلف آدنوکارسینوم معده را مشخص کرده است. طی چند دهه گذشته مطالعات مولکولی مختلفی جهت فهم مکانیسم ایجاد و پیشرفت سرطان معده و هم‌چنین شناسایی بیومارکرهای تشخیصی و پیش‌آگهی دهنده جدید انجام شده است. چندین فرآیند داخل سلولی از جمله تغییر در بیان ژن‌ها می‌تواند منجر به ایجاد و یا پیشرفت سرطان معده گردد. تغییر در پروفایل بیانی ژن‌ها نه تنها در سرطان بلکه در بیماری‌های دیگری از جمله بیماری‌های قلبی، بیماری‌های خود ایمنی و دیابت می‌تواند دخیل باشد. ژن CLU از جمله ژن‌های محافظت شده در طول تکامل است و محصول آن پروتئین کلاسترین می‌باشد که در انواع مختلفی از فرایندهای سلولی از جمله اتصالات بین سلولی و مرگ برنامه‌ریزی شده سلول ایفای نقش می‌کند. کلاسترین دارای نقش چندگانه در سرطان‌زایی و تهاجم تومور می‌باشد. در یک دسته‌بندی، این ژن را در گروه ژن‌های مهارکننده متاستاز طبقه‌بندی می‌کنند. بر خلاف ژن‌های مهارکننده تومور، ژن‌های مهارکننده متاستاز در تومورها دچار جهش نمی‌شوند، درمقابل در اغلب موارد بیان آن‌ها به‌صورت کاهشی تنظیم می‌گردد. لذا هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی ارتباط تغییرات سطح بیان ژن CLU و پیش‌آگهی بیماران مبتلا به سرطان معده می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی، ۵۰ جفت بافت تومور و بافت سالم مجاور از بیماران مبتلا به سرطان معده جمع‌آوری شدند. در ابتدا، بیان نسبی ژن CLU از طریق روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز کمی در زمان‌واقعی (qRT-PCR) ارزیابی شد. استخراج RNA با استفاده از محلول RNX-plus و سنتز cDNA با استفاده از کیت شرکت BIOFACT و به روش مخلوط Random Hexamer و الیگو dT انجام شد. سطوح بیان ژن‌ها به وسیله ترموسایکلر StepOnePlus مورد سنجش قرار گرفت و از GAPDH به عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد. پس از آن جهت بررسی بیش‌تر تغییرات بیان ژن CLU، بیان این ژن در دو گروه از بیماران بررسی گردید. برای ارزیابی اثر بیان ژن CLU در مدت زمان بقای بیماران، آنالیز کاپلا- مایر انجام شد. به‌علاوه، یک آنالیز جامع جهت بررسی بیان ژن CLU در سرطان‌های مختلف با استفاده از داده‌های TCGA انجام شد.

یافته‌ها: بررسی بیان ژن CLU نشان داد میزان بیان این ژن در نمونه‌های تومور برابر با ۰/۴۶ نمونه‌های حاشیه تومور می‌باشد. در ادامه برای بررسی بیان این ژن از دیتای‌های دو کوهورت دیگر استفاده گردید. نتایج آنالیزها نشان دادند که بیان این ژن در نمونه‌های توموری بیماران نسبت به نمونه‌های نرمال، پایین تر بوده و در تمامی مراحل بیماری سرطان معده نسبت به بافت مجاور تومور، کاهش معنی‌داری دارد. در بررسی بقا کلی بیماران اختلاف معنی‌داری در مدت زمان بقاء بین بیمارانی که بیان بالای ژن CLU داشته‌اند با آن‌هایی که بیان پایین‌تر این ژن را داشته اند، مشاهده گردید. بیان پایین‌تر این ژن همراه با کاهش مدت زمان بقاء بیماران بود. نتایج بررسی جامع نشان داد در اکثر سرطان‌های بررسی شده بیان این ژن کاهش می‌یابد.

استنتاج: براساس یافته‌های مطالعه حاضر، می‌توان از بیان ژن CLU به‌عنوان یک مارکر پیش‌آگهی در سرطان معده استفاده کرد و ژن درمانی CLU را به عنوان یکی از گزینه‌های درمانی سرطان معده در نظر داشت.

واژه های کلیدی: سرطان معده، CLU، بیان ژن، مارکر پیش‌آگهی، بقاء کلی

مولف مسئول: جواد بهروزی- تهران: دانشگاه علوم پزشکی ارتش، مرکز تحقیقات اپیدمیولوژی و پایش سرطان E-mail: jvdbehroozi@gmail.com
۱. دانشجوی دکترای تخصصی پزشکی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران
۲. لیسانس پرستاری، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۳. کارشناسی ارشد ژنتیک، گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران
۴. استادیار، گروه فناوری های نوین و ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، تهران، ایران
۵. استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، تهران، ایران
۶. استادیار، مرکز تحقیقات اپیدمیولوژی و پایش سرطان، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، تهران، ایران
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۲/۱۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۳/۵/۱۷ تاریخ تصویب: ۱۴۰۳/۷/۱۱

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]

مقدمه

سرطان معده یکی از سرطان‌های شایع با یک میلیون بیمار جدید در سال بوده و پس از سرطان ریه دومین عامل مرگ و میر ناشی ازسرطان درسراسر دنیا می‌باشد(۱). با این حال مطالعات نشان داده‌اند شیوع جغرافیایی این سرطان بسیار متفاوت می‌باشد. شیوع این بیماری در نروژ بسیار پایین (۷ مرد و ۳ زن در هر ۱۰۰ هزار نفر) و در مقابل در مناطق کم‌تر توسعه یافته مثل آسیای شرقی تا ۶ برابر بالاتر می‌باشد (تقریبا ۴۲ مرد و ۱۸ زن در هر ۱۰۰ هزار نفر)(۲). سرطان معده در ایران شایع‌ترین سرطان در بین مردان بوده و پس از سرطان پستان و کلورکتال سومین سرطان شایع زنان می‌باشد(۳). این بیماری بسیار ناهمگون با محل اولیه، هیستولوژی، طبقه‌بندی مولکولی و رفتار بیولوژیکی متفاوت می‌باشد. با این حال، ارزیابی خطر بیماری براساس ویژگی‌های تومور، گره‌های لنفاوی و وجود متاستاز (سیستم TNM) است(۵،۴). در این نوع ارزیابی، ویژگی‌های بیولوژیکی تومور اولیه در نظر گرفته نمی‌شود. آنالیزهای ژنومی افق‌های جدیدی را فراتر از این سیستم ارزیابی روشن کرده است. اطلس ژنوم سرطان (The Cancer Genome Atlas: TCGA) چهار زیرگروه مختلف آدنوکارسینوم معده را مشخص کرده است. این زیرگروه‌ها شامل سرطان‌های دارای ویروس اپشتین-بار، سرطان‌های ناپایدار از نظر میکروستلایت، سرطان‌های ناپایدار از لحاظ کروموزومی و سرطان‌های پایدار از نظر ژنتیکی می‌باشند. این سیستم طبقه‌بندی جدید امکان گروه‌بندی بیماران را برای اهداف درمانی فراهم می‌نماید(۶).

طی چند دهه گذشته مطالعات مولکولی مختلفی جهت فهم مکانیسم ایجاد وپیشرفت سرطان‌معده و هم‌چنین شناسایی بیومارکرهای تشخیصی و پیش‌آگهی‌دهنده جدید انجام شده است(۸،۷). چندین فرآیند داخل سلولی از جمله تغییر در بیان ژن‌ها می‌تواند منجر به ایجاد و یا پیشرفت سرطان معده گردد. تغییر در پروفایل بیانی ژن‌ها نه تنها در سرطان بلکه در بیماری‌های دیگری از جمله بیماری‌های قلبی، بیماری‌های خود ایمنی و دیابت می‌تواند دخیل باشد(۱۳-۹). تعیین پروفایل بیانی سرطان معده با استفاده از cDNA و آرایه‌های الیگونوکلئوتیدی توسط چندین‌گروه انجام شده است. این مطالعات گسترده منجر به شناسایی چندین مارکر جدید شد که با زیرگروه‌های هیستولوژیکی سرطان معده مرتبط هستند. به عنوان مثال: ای-کادهرین (E-cadherin)، EGFR، VEGF و کاتنین‌های آلفا، بتا و گاما قابلیت تشخیص و جداسازی نوع منتشره سرطان معده را از نوع روده‌ای دارند. بیان نابجای EGFR یا VEGF و تکثیر HER2 برای ارزیابی پیش‌آگهی سرطان معده مفید و کاربردی هستند(۱۶-۱۴). ژن CLU ازجمله ژن‌های محافظت شده در طول تکامل می‌باشد که بر روی کروموزم ۸ (8p21-p12) قرار گرفته است(۱۷). این ژن از ۹ اگزون تشکیل شده و در طی تحلیل بافتی بسیاری از اندام‌ها ازجمله حذف بافت بین انگشتان بیان می‌شود(۱۸). محصول این ژن، پروتئین کلاسترین می‌باشد که در انواع مختلفی از فرایندهای سلولی از جمله اتصالات بین سلولی و مرگ برنامه‌ریزی شده سلول ایفای نقش می‌کند(۱۹). هم‌چنین در داخل اگزوزوم‌ها یافت شده و به سلول‌های سرطانی برای زنده ماندن در محیط‌های دور از تومور اولیه کمک می‌کند، مورد اخیر برای انجام متاستاز ضروری می‌باشد(۲۰). بنابراین کلاسترین دارای نقش چندگانه در سرطان‌زایی و تهاجم تومور می‌باشد. در یک دسته‌بندی این ژن را در گروه ژن‌های مهار کننده متاستاز طبقه‌بندی می‌کنند. بر خلاف ژن‌های مهارکننده تومور، ژن‌های مهارکننده متاستاز در تومورها دچار جهش نمی‌شوند، در مقابل در اغلب موارد بیان آن‌ها به‌صورت کاهشی تنظیم می‌گردد(۲۱). با وجود این‌که مطالعات مولکولی مختلفی در ارتباط با سرطان معده انجام شده است، هنوز جنبه‌های نامشخص زیادی در مورد این بیماری وجود دارد. لذا هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی ارتباط تغییرات سطح بیان ژن CLU و پیش‌آگهی بیماران مبتلا به سرطان معده می‌باشد.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]

مواد و روش‌ها

این مطالعه مقطعی با مصوبه اخلاق به شناسه IR.AJAUMS.REC.1400.278 و بر روی ۵۰ نمونه بافت توموری و بافت حاشیه توموری انجام گردید. این نمونه‌ها از بانک تومور بیمارستان امام خمینی (ره) در شهر تهران تهیه شد و از بیمارانی به‌دست آمده بود که در انستیتو کانسر تحت عمل جراحی سرطان معده قرار گرفته بودند. معیار ورود نمونه به مطالعه، آدنوکارسینوم‌های معده از نوع منتشره بودند که قبل از جراحی تحت شیمی درمانی قرار نگرفته باشند. نمونه‌های سالم از فاصله حداقل سه سانتی‌متری حاشیه تومور به‌دست آمد و پس از تایید توسط پاتولوژیست در مطالعه استفاده گردید. نمونه‌ها با استفاده از تانک ازت به آزمایشگاه منتقل شده و تا انجام آزمایشات در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

استخراج RNA و سنتز cDNA: RNA تام طبق پروتکل محلول استخراج RNA (RNX-plus) شرکت سیناژن (ایران) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استخراج گردید. قبل از انجام استخراج نمونه‌های بافتی با استفاده از نیتروژن مایع و هاون به‌صورت پودر درآمد. RNA استخراج شده با استفاده از ژل الکتروفورز و دستگاه نانودراپ تحت کنترل کیفی و کمی قرار گرفت و تا مرحله سنتز cDNA در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. به منظور از بین بردن DNA ژنومی، از تیمار با DNase استفاده شد. جهت ساخت cDNA از کیت شرکت BIOFACT (کره) استفاده شد. برای این کار ۱۰۰۰ نانوگرم از RNA استخراج شده با Master Mix، Random Hexamer و الیگو dT مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد (جهت رونویسی معکوس) انکوبه گردید. در نهایت مخلوط واکنش به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد (جهت غیرفعال شدن آنزیم نسخه بردار معکوس توسط تیمار حرارتی) تیمار شد. محصول حاصل در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

بررسی میزان بیان ژن

سطوح بیان ژن‌ها با تکنیک qRT-PCR و به وسیله ترموسایکلر StepOnePlus شرکت Applied Biosystems (آمریکا) اندازه گیری شد. حجم نهایی هر کدام از واکنش‌ها، ۲۰ میکرولیتر بود که شامل ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس Biofact، یک میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای رو به جلو و رو به عقب، ۶ میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز و هم‌چنین ۲ میکرولیتر از cDNA ساخته شده بود. دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ۱۵ دقیقه انجام گردید. در ادامه ۴۰ چرخه تکثیر شامل دناتوراسیون در دمای ۹۰ درجه به مدت ۲۰ ثانیه و اتصال و طویل‌سازی در دمای ۶۰ درجه به‌مدت ۴۰ ثانیه انجام شد. در نهایت بررسی منحنی ذوب در دمای ۶۰ تا ۹۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. کمی سازی نسبی بیان ژن‌ها با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ انجام گردید(۲۲،۹). در این پژوهش بر اساس مطالعات قبلی از ژن GAPDH به عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد. طراحی پرایمر با توجه به توالی ژن‌های انسانی و با استفاده از ابزار Primer BLAST و سایت NCBI انجام گردید. ویژگی‌های پرایمرها در جدول شماره ۱ آورده شده است.

جدول شماره ۱: توالی و ویژگی های پرایمرهای مورد استفاده

ژن	پرایمر	توالی	اندازه محصول
GAPDH	رو به جلو	ACACCCACTCCTCCACCTTTG	۱۱۲ جفت باز
	رو به عقب	TCCACCACCCTGTTGCTGTAG	
CLU	رو به جلو	TGCGGATGAAGGACCAGTGTGA	۱۳۴ جفت باز
	رو به عقب	TTTCCTGGTCAACCTCTCAGCG	

داده کاوی (Data Mining) بیوانفورماتیکی بیان ژن: به منظور بررسی بیش‌تر تغییرات بیان ژن CLU در نمونه‌های سالم وسرطانی از دو پایگاه داده بیوانفورماتیکی دیگر استفاده شد. در ابتدا خوانش‌های توالی یابی مربوط به ۸۰ جفت نمونه آدنوکارسینوم معده و بافت سالم مجاور آن از پایگاه داده Gene Expression Omnibus (GEO) بازیابی گردید(۲۴،۲۳). پس از مراحل کنترل کیفی داده‌ها و حذف خوانش‌های بی‌کیفیت پایین، از

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]

نرم‌افزار Hisat2 جهت مکان‌یابی این خوانش‌ها بر روی ژنوم مرجع استفاده شد(۲۵). جهت تخمین دقیق‌تر میزان بیان ژن، خوانش‌های دوتایی با استفاده از نرم‌افزار MarkDuplicate حذف شدند(۲۶). در نهایت میزان بیان ژن CLU در هر کدام از نمونه‌ها بر حسب تعداد نسخه در هر میلیون خوانش (TPM; Transcript Per Million) محاسبه گردید. جهت بررسی همبستگی بیان ژن CLU با دیگر ژن‌ها، ارتباط بیان این ژن در ۱۶۰ نمونه با سایر ژن‌ها بررسی شد. در نهایت ۶ ژن با بیش‌ترین میزان همبستگی مثبت گزارش شد. هم‌چنین میزان بیان ژن CLU در ۳۵ بافت سالم معده و ۳۶۱ بافت سرطانی معده از پایگاه داده TCGA بازیابی گردید(۲۷) و میزان بیان این ژن درمراحل مختلف سرطان مورد بررسی قرار گرفت.

آنالیز مدت زمان بقاء

باتوجه به گذشت مدت زمان محدود از نمونه‌گیری‌های بالینی، امکان انجام آنالیزهای بقاء بر روی این بیماران وجود نداشت. به همین منظور اطلاعات میزان بیان ژن CLU و مدت زمان بقاء بیماران مبتلا به سرطان معده مربوط به مطالعات GSE29272، GSE15459، GSE14210، GSE51105 و GSE22377 از پایگاه داده کاپلان- مایر دریافت گردید(۲۸) و بر اساس این اطلاعات منحنی‌های مختلف مدت زمان بقاء برای بیماران رسم شد. این مطالعات در مجموع شامل اطلاعات بیان ژن و مدت زمان بقاء ۵۹۲ بیمار مبتلا به سرطان معده می‌باشند. این بیماران براساس میانه بیان ژن CLU در دو گروه بیان بالا و بیان پایین تقسیم‌بندی شده و مدت زمان بقاء آن‌ها سنجیده و مقایسه شد. بررسی بیان ژن در بین سرطان‌ها (Pan-cancer): به منظور بررسی تغییرات بیان ژن CLU در سرطان‌های مختلف داده‌های مربوط به اطلس ژنوم سرطان (TCGA) بازیابی گردید. سرطان‌هایی که تعداد نمونه آن‌ها در هر کدام از گروه‌های سالم و سرطانی کم‌تر از ۱۰ نمونه بود از آنالیز کنار گذاشته شد. درنهایت تغییرات بیان ژن CLU در کارسینوم اوروتلیال مثانه (BLCA)، کارسینوم تهاجمی پستان (BRCA)، آدنوکارسینوم کولون (COAD)، کارسینوم مری (ESCA)، کارسینوم سلول اسکواموس سر و گردن (HNSC)، کارسینوم سلول کروموفوب کلیه (KICH)، کارسینوم سلول رنال کلیه (KIRC)، کارسینوم سلول پاپیلاری کلیه (KIRP)، کارسینوم هپاتوسلولار کبد (LIHC)، آدنوکارسینوم ریه (LUAD)، کارسینوم سلول اسکواموس ریه (LUSC)، آدنوکارسینوم پروستات (PRAD)، آدنوکارسینوم رکتال (READ)، کارسینوم تیروئید (THCA)، آدنوکارسینوم معده (STAD) و کارسینوم اندومتریال رحم (UCEC) بررسی شد(۲۹).

آنالیز آماری

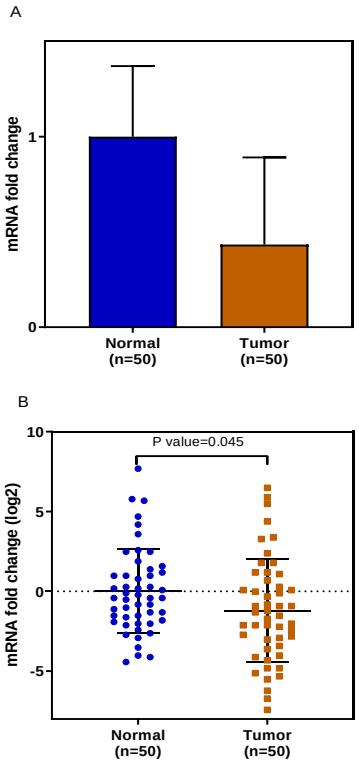
جهت بررسی آماری داده‌ها از نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۸ استفاده شد. برای تعیین معنی‌دار بودن تغییرات بیان ژن از آزمون آماری T جفت شده برای نمونه‌های توموری و سالم به‌دست آمده از یک بیمار و از آزمون آماری T جفت نشده برای نمونه‌های توموری و سالم بیماران مختلف استفاده گردید. برای بررسی ارتباط میزان بیان ژن CLU با ویژگی‌های دموگرافیک و پاتولوژیکی بیماران از آزمون Chi–Square استفاده شد. ارتباط بین بیان ژن و تعداد نسخه آن با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون آنالیز شد. هم‌چنین برای تعیین معنی‌دار بودن تفاوت مدت زمان بقاء در بیماران با بیان بالا و پایین ژن CLU از آزمون Mantel–Cox استفاده گردید. در تمامی موارد $P<0/05$ به‌عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه بیان ژن CLU در نمونه‌های تومور و نرمال ۵۰ بیمار مبتلا به آدنوکارسینوم معده بررسی گردید. در بین بیماران ۳۲ مرد و ۱۸ زن حضور داشتند و میانگین سنی آن‌ها ۶۳ سال بود. بررسی بیان ژن CLU نشان داد میزان بیان این ژن در نمونه‌های تومور برابر

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]

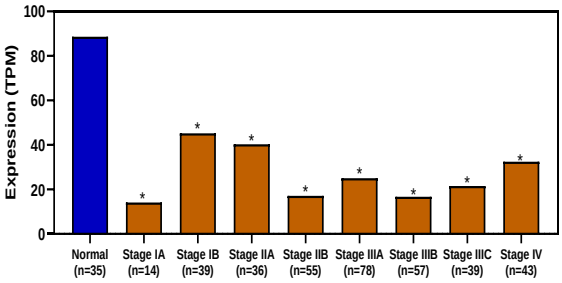
با ۰/۴۶ نمونه‌های حاشیه تومور می‌باشد. این میزان کاهش در بیان ژن از نظر آماری معنی‌دار (P=۰/۰۴۵) بود (نمودار شماره ۱).



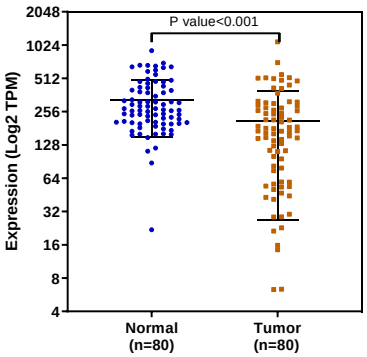
نمودار شماره ۱: بیان ژن CLU در نمونه‌های بالینی بیماران مبتلا به سرطان معده. میزان بیان این ژن در نمونه‌های تومور برابر با ۰/۴۶ نمونه‌های حاشیه تومور می‌باشد(A)، این میزان کاهش بیان از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد(B).

در ادامه برای بررسی بیان این ژن از دیتای‌های دو کوهورت دیگر استفاده گردید. نتایج آنالیزها نشان دادند که بیان این ژن در نمونه‌های توموری بیماران نسبت به نمونه‌های نرمال پایین‌تر بوده و در تمامی مراحل بیماری سرطان معده نسبت به بافت مجاور تومور کاهش معنی‌داری دارد (نمودار شماره ۲).

هم‌چنین بیان ژن CLU در بافت‌های سالم و سرطانی یک کوهورت با ۸۰ بیمار از بیماران پایگاه داده GEO کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۰۱) را در میزان بیان این ژن در بافت توموری نسبت به بافت حاشیه‌ای نشان داد (نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۲: بیان ژن CLU در مراحل مختلف سرطان معده. بیان این ژن در تمامی مراحل سرطان معده نسبت به بافت حاشیه تومور کاهش معنی داری نشان می دهد (*: نشان دهنده P<۰/۰۰۱).



نمودار شماره ۳: بیان ژن CLU در بافت‌های سالم و سرطانی یک کوهورت با ۸۰ بیمار مبتلا به سرطان معده. بیان این ژن در ۸۰ جفت نمونه تومور و حاشیه تومور از بیماران پایگاه داده GEO کاهش نشان می دهد که از لحاظ آماری نیز معنی دار می‌باشد.

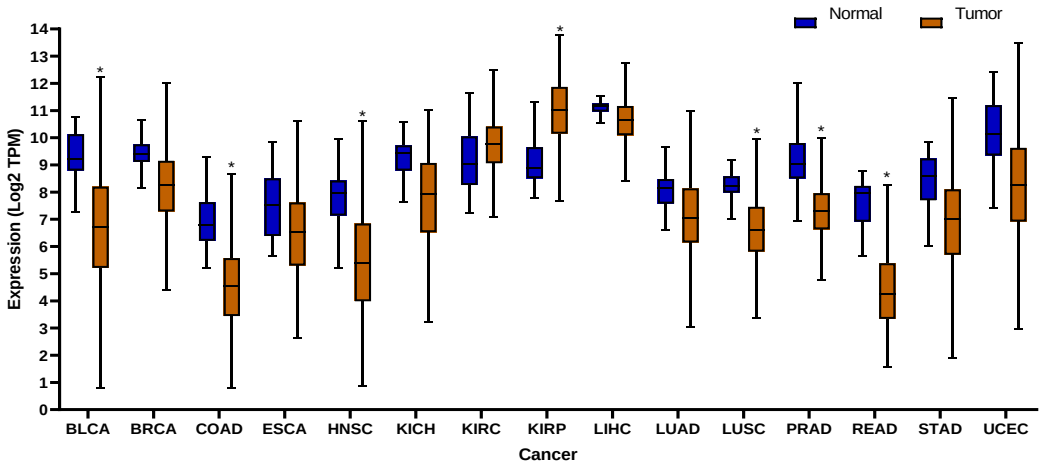
در ادامه به منظور بررسی تغییرات بیان این ژن در سرطان‌های مختلف، بیان این ژن در چندین سرطان بررسی شد. همان‌طورکه در نمودار شماره ۴ مشاهده می‌شود، نتایج این بررسی‌ها نشان داد در اکثر سرطان‌های بررسی شده شامل کارسینوم اوروتلیال مثانه، کارسینوم تهاجمی پستان، آدنوکارسینوم کولون، کارسینوم مری، کارسینوم سلول سنگ فرشی سر و گردن، کارسینوم سلول کروموفوب کلیه، کارسینوم سلول رنال کلیه، کارسینوم سلول پاپیلاری کلیه، کارسینوم هپاتوسلولار کبد، آدنوکارسینوم ریه، کارسینوم سلول سنگ فرشی ریه، آدنوکارسینوم پروستات، آدنوکارسینوم رکتال، کارسینوم تیروئید، آدنوکارسینوم معده و کارسینوم اندومتریال

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]

رحم، ژن CLU به‌صورت کاهشی تنظیم می‌گردد. تنها مورد استثناء مربوط به کارسینوم سلول رنال کلیه (KIRC) و کارسینوم سلول پاپیلاری کلیه (KIRP) بود که بیان این ژن به صورت افزایشی تنظیم شده بود، در بقیه سرطان‌های مورد بررسی به‌صورت کاهشی تنظیم می‌شود.

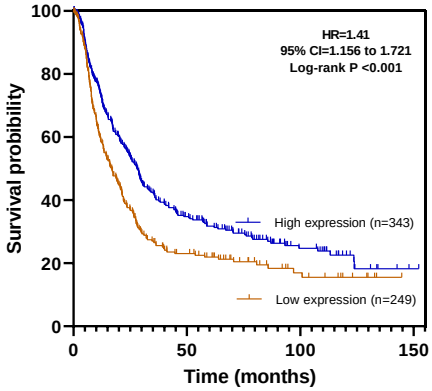
با استفاده از آنالیز منحنی بقاء ارتباط میان بیان ژن CLU و پیش‌آگهی بیماران مبتلا به سرطان معده بررسی گردید. بدین منظور بیماران در دو گروه بیان بالا و بیان پایین ژن تقسیم‌بندی شدند و مدت زمان بقاء آن‌ها بررسی گردید. همان‌طورکه در نمودار شماره ۵ مشاهده می‌شود، اختلاف معنی‌داری در مدت زمان بقاء بین بیمارانی که بیان بالای ژن CLU داشته اند با آن‌هایی‌که بیان پایین‌تر این ژن را داشته‌اند، مشاهده می‌شود. بیان پایین‌تر این ژن همراه با کاهش مدت زمان بقاء بیماران بود به‌طوری‌که مطالعه ما نشان داد که میانگین مدت زمان بقاء برای بیماران مبتلا به سرطان معده که بیان بالای این ژن را دارند برابر با ۲۸ ماه و در طرف مقابل برای بیمارانی که بیان پایین این ژن را دارند برابر با ۱۶/۸ ماه می‌باشد. به منظور اطلاع در مورد این‌که ژن CLU با چه ژن‌های دیگری الگوی بیان مشترک دارد از آنالیز هم- بیانی استفاده گردید. نتایج مطالعه ما نشان داد بیش‌ترین همبستگی مثبت بیان در بین ۸۰ جفت نمونه بررسی شده با ژن MEIS2 و با ضریب همبستگی r=۰/۶۸ وجود دارد. بعد از ژن MEIS2، ژن‌های ZNF690-AS1، SCARA3، RIA2، EPHX1 و CPE به ترتیب بیش‌ترین همبستگی مثبت بیان را با ژن CLU نشان دادند (نمودار شماره ۶).

ارتباط میان ویژگی‌های کلینوپاتولوژیکی بیماران با میزان بیان ژن CLU بررسی گردید. برای این کار نمونه‌های توموری بیماران بر اساس میانگین بیان این ژن در دو گروه بیان بالا و بیان پایین تقسیم بندی شدند. سپس ارتباط بین متغیرهای مختلف و میزان بیان سنجیده شد. بر این اساس ۱۷ بیمار در گروه بیان بالا و ۳۳ بیمار در گروه بیان پایین قرار گرفتند. همان‌طورکه در جدول شماره ۲ مشاهده می‌شود، ارتباط معنی‌داری بین میزان بیان این ژن و متغیرهای دموگرافیک شامل سن، جنس، مصرف سیگار و الکل و مواد مخدر، محل اولیه تومور، متاستاز، سطح تمایز تومور و اندازه اولیه تومور دیده نشد (جدول شماره ۱).

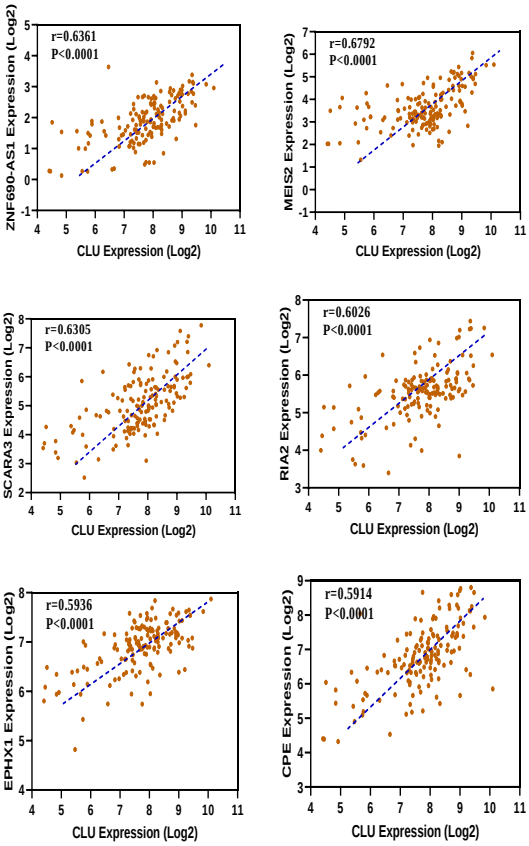


تصویر شماره ۴: تغییرات بیان ژن CLU در سرطان‌های مختلف نسبت به بافت های سالم. میزان بیان این ژن به غیر از کارسینوم سلول رنال کلیه (KIRC) و کارسینوم سلول پاپیلاری کلیه (KIRP)، در بقیه سرطان های مورد بررسی به صورت کاهشی تنظیم می شود (* نشان دهنده P<۰/۰۵).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]



تصویر شماره ۵: احتمال بقاء بیماران مبتلا به سرطان معده در دو گروه بیان بالا و پایین ژن CLU. بقاء کلی بیماران با بیان بالای ژن CLU نسبت به بیماران با بیان پایین این ژن، به‌طور معنی‌داری بالاتر می‌باشد.



تصویر شماره ۶: همبستگی مثبت بیان ژن CLU با ژن های دیگر. ژن های MEIS2، ZNF690-AS1، SCARA3، RIA2، EPHX1 و CPE به ترتیب بیشترین همبستگی مثبت بیان را با ژن CLU نشان دادند.

جدول شماره ۲: همبستگی میزان بیان ژن CLU با متغیرهای دموگرافیک و پاتولوژیکی بیماران

متغیر	بیان CLU		سطح معنی داری
	بالا	پایین	
سن			
بالای ۶۳ سال	۸	۱۸	۰/۶۱۵۷
زیر ۶۳ سال	۹	۱۵	
جنس			
مرد	۱۲	۲۰	۰/۴۸۶۱
زن	۵	۱۳	
استعمال سیگار			
ندارد	۱۰	۲۶	۰/۱۳۶۴
دارد	۷	۷	
استعمال الکل			
ندارد	۱۵	۳۱	۰/۴۸۱۳
دارد	۲	۲	
استعمال مواد مخدر			
ندارد	۱۶	۲۷	۰/۲۳۵۱
دارد	۱	۶	
متاستاز			
ندارد	۱۰	۲۵	۰/۲۱۵۸
دارد	۷	۸	
محل تومور اولیه			
آنتروم	۶	۱۰	۰/۸۰۶۰
بدنه معده	۵	۱۱	
کاردیا	۴	۸	
فوندوس	۲	۴	
سطح تمایز			
خوب	۰	۶	۰/۱۹۵۸
متوسط	۳	۸	
ضعیف	۶	۱۰	
بدون تمایز	۸	۹	
اندازه تومور اولیه			
بیش‌تر از ۵/۸ سانتی متر	۸	۱۸	۰/۶۱۵۷
کم‌تر از ۵/۸ سانتی متر	۹	۱۵	

بحث

پروتئین کلاسترین یک گلیکوپروتئین هترودیمر است که به شکل ایزوفرم‌های هسته‌ای (nCLU) و ترشحی (sCLU) وجود دارد و به ترتیب نقش مهمی در پیشروی آپوپتوز و بقای سلول ایفا می‌کند(۳۰). CLU به‌عنوان نشانگر زیستی بالقوه برای مرگ سلولی، بدخیمی، پیشرفت سرطان و مقاومت دارویی در نظر گرفته می‌شود(۳۱) و نقش آن در سرطان‌زایی و تهاجم تومور مشاهده شده‌است(۳۳،۳۲).

در حالی که مطالعات متعدد در سرطان‌های مختلف ارتباط بین سطح بیان کلاسترین و پیش‌آگهی تومور را نشان می‌دهد(۳۴)، نتایج متناقضی در زمینه تغییرات بیانی CLU و پیش‌آگهی بیماری در سرطان معده وجود دارد، این مطالعه تغییرات بیانی و پیش‌آگهی بیماری را بر روی

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]

۵۰ بافت و حاشیه تومور مورد مطالعه قرار داد، ۶ ژن که با CLU همبستگی بالایی داشتند شناسائی شد. با استفاده از پایگاه داده *کاپلان* مایر، این تحقیق نشان داد که کاهش بیان CLU با کاهش نرخ بقای بیماران مرتبط است. داده‌های TCGA نشان داد بیان ژن CLU در نمونه‌های تومور بیماران در مقایسه با نمونه‌های نرمال کم‌تر بود. علاوه بر این، تجزیه و تحلیل بیان ژن CLU در بافت‌های سالم و سرطانی یک کوهورت دیگر نشان داد، کاهش قابل‌توجهی در بیان ژن در بافت تومور در مقایسه با بافت حاشیه‌ای مجاور وجود دارد.

در یک مطالعه تغییرات بیان ژن CLU را در چندین سرطان مختلف بررسی کردند و نتایج آنها نشان داد که بیان ژن CLU به صورت کاهشی، تنظیم می‌گردد(۳۴)، که این یافته‌ها همسو با نتایج مطالعه ما بود. در مطالعه‌ای دیگر کاهش قابل توجه در بیان رونوشت‌های CLU ترشحی (sCLU) در رده‌های سلولی سرطان دهان و تومور در مقایسه با سلول‌های طبیعی مشاهده شد، در حالی‌که رونوشت‌های CLU هسته‌ای (nCLU) قابل تشخیص نبودند(۳۵). نتایج مطالعات Fu و همکاران در سال ۲۰۲۲ نشان داد که کاهش بیان کلاسترین در بدخیمی‌ها با پیش‌آگهی بقای کلی ضعیف‌تر در افراد مبتلا به تومورهای متعدد مرتبط بود. علاوه بر این، تقریباً در همه بدخیمی‌ها حذف در ژن کلاسترین دیده شد(۳۴) و با تحقیقات ما که نشان داد بین کاهش بیان ژن و کاهش مدت بقای بیماران ارتباط وجود دارد همسو بود. بیماران مبتلا به سرطان معده با بیان بالای این ژن، میانگین زمان بقای ۲۸ ماهه داشتند، در حالی که افراد با بیان پایین ژن، میانگین زمان بقای کوتاه‌تری ۱۶/۸ ماه داشتند. یک مطالعه اخیر، اهمیت پیش‌بینی‌کننده CLU را در افراد مبتلا به سرطان ریه سلول غیرکوچک (NSCLC) در مراحل اولیه که برداشتن ریه داشتند، مورد بررسی قرار داد. یافته آنها نشان داد که سطوح افزایش یافته CLU در بافت ریه با پیش‌آگهی بهتر در سه سال پس از جراحی همراه بود. مطالعه Panico و همکاران نشان داد کاهش بیان CLU در سرطان ریه با پیشروی بدخیمی همراه می‌باشد(۳۶). هم‌چنین CLU در حین پیشروی سرطان پروستات کاهش می‌یابد. نقش اپی‌ژنتیک در کنترل CLU در سرطان پروستات مشخص بود. مراحل اولیه تبدیل سلول‌های پروستات شامل سرکوب CLU ازطریق بازسازی کروماتین می‌باشد(۳۷). علی‌رغم مطالعات بالا، در مطالعه دیگر که بر روی کارسینوم سلول کبد انجام شد، نشان داده شد که کاهش sCLU به‌طور قابل توجهی میزان تهاجم را کاهش می‌دهد در حالی که بیان بیش از حد sCLU به طور قابل توجهی تعداد سلول‌های مهاجم را از طریق واسطه سطح بیان MMP-2 و E-cadherin در سلول‌های Bel-7402 و SMMC-7721 افزایش می‌دهد، هم‌چنین نشان داده شد بیان بیش از حد sCLU به‌طور قابل توجهی بیان p-AKT و MMP-2 را تقویت می‌کند. هدف قرار دادن sCLU ممکن است یک استراتژی درمانی جدید در برابر تهاجم و مهاجرت در سرطان‌ها باشد(۳۸).

نتایج یک مطالعه بالینی نشان داد که بیان بیش از حد sCLU به‌طور قابل توجهی با متاستاز به غدد لنفاوی، تهاجم تومور و مرحله TNM مرتبط است و نقش انکوژنی آن می‌تواند با ناهنجاری‌های p53 مرتبط باشد(۳۹). بیان افزایش یافته sCLU با پیش‌آگهی نامطلوب در کارسینوم سلول کلیوی(۴۰)، سرطان کولورکتال(۴۱)، سرطان دهانه رحم(۴۲) و کارسینوم سلول کبدی(۴۳) مرتبط است.

برخلاف مطالعه حاضر مشخص شده است که کلاسترین درچندین سرطان انسانی مانند سرطان پروستات، سینه و کارسینوم سلول سنگفرشی بیش از حد بیان می‌شود. سرکوب بیان کلاسترین در این سرطان‌ها، سلول‌های سرطانی انسان را به آپوپتوز با واسطه داروی شیمی‌درمانی حساس می‌کند. افزایش غلظت کلاسترین در سرطان‌های انسانی ممکن است با ایجاد اختلال در فعالیت‌های پروآپوپتوز Bax، تبدیل انکوژنیک و پیشرفت تومور را تسهیل کند(۴۴). بیان CLU همبستگی مثبتی را با نفوذ سلول‌های ایمنی در سرطان‌های مختلف مانند BLCA، CESC، HNSC، LGG و PRAD نشان

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]

می‌دهد. در زیرگروه پرخطر C3 سرطان پروستات، مشاهده شد که CLU در سطح پایین‌تری بیان می‌شود. این زیرگروه به‌طور قابل توجهی نفوذ سلول‌های CD8، مونوسیت‌ها، سلول‌های دندریتیک در حال استراحت، سلول‌های دندریتیک فعال و ماست سل‌های فعال را کاهش داد. این مشاهدات نشان می‌دهد که CLU ممکن است نفوذ سلول‌های ایمنی را از طریق مکانیسم های خاصی تحت تاثیر قرار دهد. Fu و همکاران پیشنهاد کردند که CLU به طور بالقوه می‌تواند با تعدیل نفوذ سلول‌های ایمنی در ریزمحیط تومور بر بقای بیمار تأثیر بگذارد که نیاز به تحقیقات بیش‌تری دارد(۳۴). در حالی‌که در مطالعه دیگر نشان داده شد که بیان بیش از حد sCLU با بقای کوتاه‌تر بیمار درمرحله آخر سرطان معده مرتبط می‌باشد(۳۹) که نتایج این مطالعات بر خلاف مطالعه ما بود.

در مطالعه حاضر ارتباط معنی‌داری بین سطح بیان ژن و عوامل دموگرافیک، شامل سن، جنسیت، مصرف سیگار، مصرف الکل و مواد مخدر، محل تومور اولیه، متاستاز، سطح تمایز تومور و اندازه اولیه تومور یافت نشد. از نظر تحلیل هم‌بیانی، بیش‌ترین ضریب همبستگی بین ژن CLU و ژن MEIS2 مشاهده شد. بعد از MEIS2، ژن‌های ZNF690-AS1، SCARA3، RIA2، EPHX1 و CPE بالاترین همبستگی مثبت را در بیان با ژن CLU نشان دادند.

مکانیسم مولکولی که بوسیله آن CLU در سرطان معده نقش دارد، شناخته شده نیست. اما مشخص شده است که پروتئین کیناز D3 (Protein kinase D3) به عنوان تنظیم‌کننده کلیدی CLU در سرطان پستان منفی سه گانه در ترویج رشد تومور می‌باشد(۴۵). هم‌چنین مشخص شده است که در کارسینوم کبدی، sCLU با سرکوب فعالیت Gadd45a مانع آپوپتوز میتوکندری می‌شود. Gadd45a معمولاً به عنوان یک تنظیم‌کننده منفی عملکردهای آپوپتوز AKT عمل می‌کند. این مهار منجر به فعال شدن مسیر PI3K/AKT می‌شود و متعاقباً منجر به افزایش بیان پروتئین آپوپتوز سلول B لنفوم-۲ (Bcl-2) می‌شود(۴۶).

مطالعه ما ارتباط بین تغییرات خاص در بیان ژن CLU و پیامدهای پیش‌آگهی در بیماران مبتلا به سرطان معده را نشان می‌دهد. سطوح بیان ژن CLU به عنوان نشانگر زیستی برای ارزیابی شدت و پیشرفت سرطان معده می‌باشد. این یافته‌ها پیامدهایی برای پزشکی شخصی‌سازی شده دارند که نشان‌دهنده امکان توسعه استراتژی‌های درمانی مناسب براساس پروفایل‌های ژنتیکی منحصربه‌فرد بیماران است. با این حال، مهم است که محدودیت‌های مطالعه، مانند نیاز به گروه‌های بیماران بزرگ‌تر و متنوع‌تر برای تأیید یافته‌های موجود را بپذیریم. علاوه بر این، مکانیسم‌های مولکولی که از طریق آن بیان ژن CLU بر پیش‌آگهی سرطان معده تأثیر می‌گذارد، نیاز به کاوش بیش‌تر دارد. علی‌رغم این محدودیت‌ها، مطالعات ما پایه‌ای برای تحقیقات آینده ایجاد می‌کند و بر ارتباط بالینی بالقوه هدف‌یابی بیان ژن CLU در مدیریت سرطان معده تأکید می‌کند.

سپاسگزاری

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی ارتش جهت حمایت مالی از این تحقیق تقدیر و تشکر می‌گردد.

References

1. Lott PC, Carvajal-Carmona LG. Resolving gastric cancer aetiology: an update in genetic predisposition. Lancet Gastroenterol Hepatol 2018; 3(12): 874-883 PMID: 30507471.

2. Eftang LL, Esbensen Y, Tannæs TM, Blom GP, Bukholm IR, Bukholm G. Up-regulation of CLDN1 in gastric cancer is correlated with reduced survival. BMC Cancer 2013; 13(1): 586 PMID: 24321518.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]

3. Babaei M, Pourfarzi F, Yazdanbod A, Chiniforush MM, Derakhshan MH, Mousavi SM, et al. Gastric cancer in Ardabil, Iran--a review and update on cancer registry data. Asian Pac J Cancer Prev 2010; 11(3): 595-599. PMID: 21039022.
4. Machlowska J, Baj J, Sitarz M, Maciejewski R, Sitarz R. Gastric cancer: epidemiology, risk factors, classification, genomic characteristics and treatment strategies. Int J Mol Sci 2020; 21(11): 4012 PMID: 32512697.
5. Van Cutsem E, Sagaert X, Topal B, Haustermans K, Prenen H. Gastric Cancer Lancet 2016; 388(10060): 2654-2664. PMID: 27156933.
6. The Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. Nature 2014; 513(7517): 202-209.
7. Jiang HB, Yang TJ, Lu P, Ma YJ. Gene expression profiling of gastric cancer. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2014;18(15):2109-2115. PMID: 25070814.
8. Behroozi J, Shahbazi S, Bakhtiarizadeh MR, Mahmoodzadeh H. Genome-wide characterization of RNA editing sites in primary gastric Adenocarcinoma through RNA-Seq data analysis. Int J Genomics 2020; 2020: 6493963. PMID: 33415135.
9. Esmaeili H, Nasrollahzadeh Sabet M, Mosaed R, Chamanara M, Hadi S, Hazrati E, et al. Oleanolic acid increases the anticancer potency of doxorubicin in pancreatic cancer cells. J Biochem Mol Toxicol 2023; 37(10): e23426. PMID: 37345903.
10. Hahn VS, Knutsdottir H, Luo X, Bedi K, Margulies KB, Haldar SM, et al. Myocardial gene expression signatures in human heart failure with preserved ejection fraction. Circulation 2021; 143(2): 120-134 PMID: 33118835.
11. Marselli L, Piron A, Suleiman M, Colli ML, Yi X, Khamis A, et al. Persistent or transient human β cell dysfunction induced by metabolic stress: specific signatures and shared gene expression with type 2 diabetes. Cell Rep 2020; 33(9): 108466. PMID: 33264613.
12. Ehtesham N,Habibi Kavashkohie MR, Mazhari SA, Azhdari S, Ranjbar H, Mosallaei M, et al. DNA methylation alterations in systemic lupus erythematosus: A systematic review of case-control studies. Lupus 2023; 32(3): 363-379.
13. Moaveni AK, Amiri M, Shademan B, Farhadi A, Behroozi J, Nourazarian A. Advances and challenges in gene therapy strategies for pediatric cancer: a comprehensive update. Front Mol Biosci 2024; 11: 1382190.
14. Marimuthu A, Jacob HK, Jakharia A, Subbannayya Y, Keerthikumar S, Kashyap MK, et al. Gene expression profiling of gastric cancer. J Proteomics Bioinform 2011; 4(4): 74-82. PMID: 27030788 .
15. Zeng D, Zhou R, Yu Y, Luo Y, Zhang J, Sun H, et al. Gene expression profiles for a prognostic immunoscore in gastric cancer. Br J Surg 2018; 105(10): 1338-1348. PMID: 29691839.
16. Izumi D, Gao F, Toden S, Sonohara F, Kanda M, Ishimoto T, et al. A genomewide transcriptomic approach identifies a novel gene expression signature for the detection of lymph node metastasis in patients with early stage gastric cancer. EBioMedicine 2019; 41: 268-275. PMID: 30772302 .
17. Garcia-Aranda M, Serrano A, Redondo M. Regulation of clusterin gene expression. Curr Protein Pept Sci 2018; 19(6): 612-622. PMID: 28925903.
18. Koltai T. Clusterin: a key player in cancer chemoresistance and its inhibition. Onco Targets Ther 2014; 7: 447-456.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]

19. Oh SB, Kim MS, Park S, Son H, Kim SY, Kim MS, et al. Clusterin contributes to early stage of Alzheimer's disease pathogenesis. Brain Pathol 2019; 29(2): 217-231. PMID: 30295351.
20. Guitart K, Loers G, Buck F, Bork U, Schachner M, Kleene R. Improvement of neuronal cell survival by astrocyte-derived exosomes under hypoxic and ischemic conditions depends on prion protein. Glia 2016; 64(6): 896-910. PMID: 26992135.
21. Yan J, Yang Q, Huang Q. Metastasis suppressor genes. Histol Histopathol 2013; 28(3): 285-292. PMID: 23348381.
22. Jadid MFS, Jahangirzadehd G, Behroozi J. Anti-proliferation effects of Apatinib in combination with Curcumin in breast cancer cells. Horm Mol Biol Clin Investig 2022; 44(1): 27-32. PMID: 36056785 .
23. Clough E, Barrett T. The gene expression omnibus database.Methods Mol Biol 2016; 1418: 93-110. PMID: 27008011.
24. Heiat M, Rezaei E, Gharechahi J, Abbasi M, Behroozi J, Abyazi MA, et al. Knockdown of SIX4 inhibits pancreatic cancer cells via apoptosis induction. Medical Oncology 2023; 40(10): 287.
25. Kim D, Langmead B, Salzberg SL. HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements. Nature Methods 2015; 12(4): 357-360.
26. Ebbert MT, Wadsworth ME, Staley LA, Hoyt KL, Pickett B, Miller J, et al. Evaluating the necessity of PCR duplicate removal from next-generation sequencing data and a comparison of approaches. BMC Bioinformatics 2016; 17(7): 239.
27. Tomczak K, Czerwińska P, Wiznerowicz M. The Cancer Genome Atlas (TCGA): an immeasurable source of knowledge. Contemp Oncol 2015; 19(1A): A68-A77. PMID: 25691825.
28. Szász AM, Lánczky A, Nagy Á, Förster S, Hark K, Green JE, et al. Cross-validation of survival associated biomarkers in gastric cancer using transcriptomic data of 1,065 patients. Oncotarget 2016; 7(31): 49322-49333.
29. Chandrashekar DS, Karthikeyan SK, Korla PK, Patel H, Shovon AR, Athar M, et al. UALCAN: An update to the integrated cancer data analysis platform. Neoplasia 2022; 25: 18-27.
30. Praharaj PP, Patra S, Panigrahi DP, Patra SK, Bhutia SK. Clusterin as modulator of carcinogenesis: A potential avenue for targeted cancer therapy. Biochim Biophys Acta Rev Cancer 2021; 1875(2): 188500. PMID: 33385484.
31. Das L, Shekhar S, Chandrani P, Varma AK. In silico structural analysis of secretory clusterin to assess pathogenicity of mutations identified in the evolutionarily conserved regions. J Biomol Struct Dyn 2023; 41(2): 469-478.
32. Tian Y, Wang C, Chen S, Liu J, Fu Y, Luo Y. Extracellular Hsp90α and clusterin synergistically promote breast cancer epithelial-to-mesenchymal transition and metastasis via LRP1. J Cell Sci 2019; 132(15): jcs228213. PMID: 31273033 .
33. Mitsufuji S, Iwagami Y, Kobayashi S, Sasaki K, Yamada D, Tomimaru Y, et al. Inhibition of Clusterin represses proliferation by inducing cellular senescence in pancreatic cancer. Ann Surg Oncol 2022; 29(8): 4937-4946.
34. Fu Y, Du Q, Cui T, Lu Y, Niu G. A pan-cancer analysis reveals role of clusterin (CLU) in carcinogenesis and prognosis of human tumors. Front Genet 2022; 13: 1056184.
35. Kadam R, Harish M, Dalvi K, Teni T. Novel nucleolar localization of clusterin and its associated functions in human oral cancers:

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]

An in vitro and in silico analysis. Cell Biochem Funct 2021; 39(3): 380-391. PMID: 33155695.

36. Panico F, Rizzi F, Fabbri L, Bettuzzi S, Luppi F. Clusterin (CLU) and lung cancer. Adv Cancer Res 2009; 105: 63-76. PMID: 19879423.
37. Rizzi F, Bettuzzi S. Clusterin (CLU) and prostate cancer. Adv Cancer Res 2009; 105: 1-19. PMID: 19879420.
38. Zhong J, Yu X, Dong X, Lu H, Zhou W, Li L, et al. Therapeutic role of meloxicam targeting secretory clusterin-mediated invasion in hepatocellular carcinoma cells. Oncol Lett 2018; 15(5): 7191-7199. PMID: 29731881 .
39. Bi J, Guo A, Lai Y, Li B, Zhong J, Wu H, et al. Overexpression of clusterin correlates with tumor progression, metastasis in gastric cancer: a study on tissue microarrays. Neoplasma 2010; 57(3): 191-197. PMID: 20353268.
40. Liu Y, Men C, Xu Y, Zhao K, Luo L, Dong D, et al. Clusterin promotes growth and invasion of clear cell renal carcinoma cell by upregulation of S100A4 expression. Cancer Biomark 2018; 21(4): 915-923. PMID: 29400663.
41. Hlavca S, Chan WH, Engel RM, Abud HE. Clusterin: a marker and mediator of chemoresistance in colorectal cancer. Cancer Metastasis Rev 2024; 43(1): 379-391. PMID: 38319453.
42. Watari H, Ohta Y, Hassan MK, Xiong Y, Tanaka S, Sakuragi N. Clusterin expression predicts survival of invasive cervical cancer patients treated with radical hysterectomy and systematic lymphadenectomy. Gynecol Oncol 2008; 108(3): 527-532.
43. Xiu P, Dong XF, Li XP, Li J. Clusterin: Review of research progress and looking ahead to direction in hepatocellular carcinoma. World J Gastroenterol 2015; 21(27): 8262-8270.
44. Zhang H, Kim JK, Edwards CA, Xu Z, Taichman R, Wang CY. Clusterin inhibits apoptosis by interacting with activated Bax. Nat Cell Biol 2005; 7(9): 909-915. PMID: 16113678 .
45. Liu Y, Zhou Y, Ma X, Chen L. Inhibition lysosomal degradation of clusterin by protein kinase D3 promotes triple- negative breast cancer tumor growth. Adv Sci 2021; 8(4): 2003205.
46. Wang X, Zou F, Zhong J, Yue L, Wang F, Wei H, et al. Secretory clusterin mediates oxaliplatin resistance via the Gadd45a/ PI3K/Akt signaling pathway in hepatocellular carcinoma. J Cancer 2018; 9(8): 1403-1413.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]