

Original Article

Study of lncRNADSCR9 expression rate in colorectal cancer patients

Mehrnoosh Davoodi¹ , Noosha Zia Jahromi^{1*} 

ABSTRACT

Background and Aims: Studies have shown that lncRNA *DSCR9* prevents cancer and inflammation and its expression leads to anti-tumor activity. Therefore, this study aimed to investigate the relationship between lncRNA *DSCR9* expression and the risk of colon cancer.

Materials and Methods: Samples were taken from 20 tissues of patients with colorectal cancer and 20 healthy intestinal tissues of healthy individuals. Total RNA extraction was performed, followed by cDNA synthesis. Expression of lncRNA *DSCR9* was investigated using real-time reverse transcription–polymerase chain reaction and primers designed using Beacon Designer software. The relative expression of lncRNA *DSCR9* was calculated, and finally, the results were analyzed by GraphPad Prism software.

Results: The results showed that lncRNA *DSCR9* expression increased in colorectal cancer compared to the control group as well as in tumors of metastatic and non-metastatic individuals. However, the relative expression of lncRNA *DSCR9* in tumors of individuals with stages 1 and 2 and in tumors of with different sizes did not show a significant increase; nevertheless, the relative expression of lncRNA *DSCR9* in tumors of grades 1 and 2 was statistically significant ($P=0.0144$). The specificity and sensitivity of lncRNA *DSCR9* showed that as a marker ($P=0.0001$), it could isolate the patient population from the healthy one.

Conclusion: In the present study, there was a relative increase in the expression of lncRNA *DSCR9* in patients with colorectal cancer compared to control, which possibly could be due to the activation of proteins involved in cancer and increased Wnt/beta-catenin signaling pathway and cause tumor cell growth and angiogenesis in cancer. Therefore, due to changes in the expression of the lncRNA *DSCR9* gene in colorectal cancer, this gene may be used as a biomarker for the detection of tumors.

Keywords: Biomarker, Colorectal cancer, lncRNA, *DSCR9* gene



Citation: Davoodi M, Zia Jahromi N. [Study of lncRNADSCR9 expression rate in colorectal cancer patients]. J Birjand Univ Med Sci. 2023; 30(2): 131-140. [Persian]

 [10.61186/JBUMS.30.2.131](https://doi.org/10.61186/JBUMS.30.2.131)

Received: June 21, 2023

Accepted: September 23, 2023

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

***Corresponding author:** Department of Biology, Sciences Faculty, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
Tel: +983833361000 Fax: +983833361024 E-mail: Nooshazia.59@gmail.com

بررسی میزان بیان lncRNA DSCR9 در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال

مهرنوش داودی^۱، نوشا ضیاء جهرمی^۱ *

چکیده

زمینه و هدف: بررسی‌ها نشان داده است که lncRNA DSCR9 از سرطان و التهاب جلوگیری می‌کند و بیان آن منجر به فعالیت‌های ضد توموری می‌شود. بنابراین هدف از این تحقیق بررسی ارتباط میزان بیان lncRNA DSCR9 با خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ بود.

روش تحقیق: از ۲۰ نمونه بافت بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال و ۲۰ بافت سالم روده افراد سالم نمونه‌گیری انجام شد. استخراج Total RNA و سپس سنتز cDNA انجام شد. بررسی بیان lncRNA DSCR9 با استفاده از روش Real time RT PCR و پرایمرهای طراحی شده با استفاده از نرم‌افزار Beacon Designer انجام شد. میزان بیان نسبی lncRNA DSCR9 محاسبه شد و در نهایت توسط نرم‌افزار GraphPad Prism نتایج مورد تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که بیان lncRNA DSCR9 در سرطان کولورکتال در مقایسه با گروه کنترل و همچنین در تومور افراد دارای متاستاز و فاقد متاستاز افزایش یافت. از طرفی بیان نسبی lncRNA DSCR9 در تومور افراد دارای مرحله ۱ و ۲ و در افراد دارای تومور با اندازه متفاوت افزایش معناداری را نشان نداد؛ اما بیان نسبی lncRNA DSCR9 در تومور افراد دارای گرید ۱ و ۲ افزایش بیان داشت و از نظر آماری معنادار بود ($P=0/0144$). بررسی اختصاصیت و حساسیت lncRNA DSCR9 نشان داد که به‌عنوان یک نشانگر ($P=0/0001$) می‌تواند جمعیت بیمار را از سالم جدا کند.

نتیجه‌گیری: در تحقیق حاضر بیان نسبی lncRNA DSCR9 در افراد مبتلا به سرطان کولورکتال در مقایسه با کنترل افزایش بیان داشت که احتمالاً می‌تواند به دلیل فعال کردن پروتئین‌های دخیل در سرطان و افزایش مسیر سیگنالینگ Wnt/beta-catenin باشد و باعث رشد سلول‌های تومور و رگ‌زایی در سرطان باشد. بنابراین با توجه به تغییرات بیان ژن lncRNA DSCR9 در سرطان کولورکتال احتمالاً می‌توان از این ژن به‌عنوان یک نشانگر زیستی برای تشخیص تومور استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: نشانگر زیستی، سرطان کولورکتال، lncRNA، ژن DSCR9

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۲؛ ۳۰ (۲): ۱۴۰-۱۳۱.

دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۳۱ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۰۱

^۱ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

***نویسنده مسئول:** گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

آدرس: شهرکرد- رحمتیه- دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد

تلفن: ۰۳۸۳۳۳۶۱۰۰۰ نمابر: ۰۳۸۳۳۳۶۱۰۲۴ پست الکترونیکی: Nooshazia.59@gmail.com

مقدمه

سرطان کولورکتال، سومین سرطان شایع در سراسر جهان در مردان و زنان است. در سال‌های اخیر در کشور ما آمارهای به دست آمده از سرطان روده نشان می‌دهد که حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد موارد این سرطان در سنین پایین‌تر از ۵۰ سال بوده است (۱). همچنین در ایران بر اساس آمار وزارت بهداشت سرطان کولون چهارمین سرطان شایع کشور در هر دو جنس است و تشخیص به‌موقع این سرطان بسیار با اهمیت بوده و می‌تواند به درمان و بقا بیماران کمک کند (۲). خوشبختانه در بسیاری از موارد سرطان کولورکتال از ابتدا با علائم درد همراه است که منجر به تشخیص زود هنگام می‌شود. چنانچه بیماری در قسمت چپ شکم باشد ممکن است با احساس نفخ و دل‌پیچه شروع شود و به‌تدریج با رشد تومور و ایجاد تنگی در کولون علائمی شبیه انسداد روده ایجاد شود؛ ولی در قسمت راست شکم، این بیماری تا زمان استقرار کامل، اغلب درد ندارد و ممکن است با علائم دیگری نظیر بی‌اشتهایی، کم‌خونی و به‌دلیل ایجاد زخم و خون‌ریزی همراه با دفع خون باشد. در صورت پیشرفت بیماری، درد در قسمت تحتانی راست شکم و اطراف ناف عارض می‌شود (۳).

از عوامل افزایش میزان بدخیمی‌های سرطان کولورکتال می‌توان به بالا رفتن سن، بیماری‌های التهابی روده از جمله کولیت اولسروز (Ulcerative colitis)، سابقه آدنوم یا سرطان کولون، سندرم‌های پولیپوز خانوادگی، سابقه سرطان پستان، آندومتر و تخمدان، کم بودن فیبر غذایی، زیاد بودن چربی‌های حیوانی غیراشباع و روغن‌های گیاهی غیر اشباع اشاره نمود (۴). سرطان کولورکتال یک بیماری ژنتیکی بوده و ناشی از بروز ناهنجاری یا تغییری در کد ژنتیکی است (۵). دانشمندان تخمین زده‌اند که ۱۰ تا ۱۵ درصد سرطان کولورکتال علت فامیلی دارد و یک نفر از میان ۲۰۰ نفر ممکن است آل‌های پرخطر ژنی به‌وجود آورنده سرطان کولورکتال ارثی را حمل کند. استعداد ژنتیکی برای سرطان کولورکتال در افرادی که پولیپوز آدنوماتوز فامیلی داشته‌اند کاملاً شناخته شده است و درمان جراحی مناسب برای آن‌ها الزامی می‌باشد. سرطان کولورکتال به‌جز پولیپوز ارثی HNPCC

Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer) حداقل

دارای دو نوع توارث اتوزوم غالب است (۶).
 lncRNAهای طویل غیر کدشونده (Long noncoding RNA)، دسته‌ای از RNAهای گردشی موجود در سرم و پلاسمای خون می‌باشند که به‌صورت اختصار lncRNA خوانده می‌شوند. این خانواده از RNAهای گردشی، دارای عملکردهای متعددی از جمله سیگنال رسانی و مهار مولکولی بوده و به عنوان داربست برای ساختمان‌های مولکولی و راهنما برای کمپلکس‌های ریبونوکلوپروتئینی فعالیت می‌کنند. همچنین بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که این دسته از ترکیبات نقش بسیار مهمی در بیماری‌های انسانی ایفا می‌کنند (۷). به‌طور کلی توالی‌یابی ژنوم انسانی نشان می‌دهد که RNAهای غیر کدشونده بیش از ۹۸ درصد از خروجی فرآیندهای رونویسی را تشکیل می‌دهند (۸). RNAهای غیر کدشونده به‌طور کلی به سه دسته RNAهای دخیل در رونویسی (rRNA و tRNA)، RNAهای غیر کدشونده طویل و RNAهای غیر کدشونده کوتاه (siRNA، miRNA، snoRNA و snRNA) تقسیم‌بندی می‌شوند. در این میان lncRNAها دارای طولی بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید بوده و دارای تنوع ساختاری و ویژگی‌های خاص فضایی هستند که به آن‌ها اجازه می‌دهد به DNA، RNA و حتی پروتئین‌های کمکی متصل شده و فعالیت نمایند. مطالعات متعدد بر روی انواع مختلف سلول‌های سرطانی نشان می‌دهد که lncRNAها دارای نقش‌های تنظیمی در بیان ژن‌ها بوده و در فرآیندهای رشد سلول، آپوپتوز، تنظیم اپی-ژنتیک، ترجمه و رونویسی و پیرایش نقش دارند (۹). مطالعات اخیر نشان داده است که عدم بیان صحیح و یا عدم عملکرد صحیح RNAهای طویل غیر کدشونده (۱۰) در توسعه و پیشرفت بسیاری از بیماری‌ها مثل ایدز، آلزایمر، انواع سرطان‌ها و دیگر بیماری‌ها (۱۱) نقش دارند و تاکنون بیماری‌های مرتبط با عدم بیان یا عملکرد صحیح RNAهای طویل غیر کدشونده یافت شده است (۱۲).

در برخی بیماری‌ها RNAهای غیر کدشونده به‌عنوان شناساگر وضعیت بیماری استفاده می‌شوند. این مولکول‌ها کمک به شناسایی، پیش‌بینی بیماری و کنترل کلینیکی بیماری‌ها می‌کنند. بررسی

که با آنزیم DNaseI (سینازن) به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس به منظور خنثی کردن آنزیم DNaseI هر نمونه با یک میکرولیتر اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) تیمار شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. سپس با استفاده از کیت شرکت یکتا تجهیز آزما و پرایمر ۶ نوکلئوتیدی تصادفی، طبق پروتکل کیت، cDNA هر نمونه سنتز گردید.

جدول ۱- اطلاعات دموگرافیک و مشخصات تومور

مشخصات	گروه بیمار
سن (سال)	۸۷-۲۹
دامنه سنی	۱۲
زن	۸
مرد	
متاستاز	
تعداد نمونه‌های دارای متاستاز منفی	۱۱
تعداد نمونه‌های دارای متاستاز مثبت	۹
مرحله	
مرحله ۱	۸
مرحله ۲	۱۲
گرید	
گرید ۱	۱۱
گرید ۲	۹
اندازه تومور	
۱-۲ سانتی‌متر	۴
۵-۲/۴ سانتی‌متر	۶
بزرگتر از ۵ سانتی‌متر	۱۰

پرایمرهای اختصاصی

در پژوهش حاضر برای بررسی میزان بیان *lncRNA DSCR9* در ابتدا توالی ژن *lncRNA DSCR9* از پایگاه NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) گرفته شد و سپس طراحی پرایمرهای *lncRNA DSCR9* توسط نرم افزار دقیق Beacon Designer صورت پذیرفت و سپس Blast انجام شد. از میزان بیان GAPDH (3- Glyceraldehyde phosphatedehydrogenase) به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. در جدول شماره دو توالی آغازگرهای مورد استفاده در روش RT-PCR آورده شده است.

مکانیسم‌های تأثیر *lncRNA*های مختلف بر پیشرفت و متاستاز تومور نشان می‌دهد که در تومورهای بازال، *lncRNA*های مرتبط با گیرنده EGFR (Epidermal growth factor receptor) به علت نقش این گیرنده در متاستاز توموری می‌توانند بر پیشرفت تومور و متاستاز آن تأثیر مهمی داشته باشند. بررسی‌ها نشان داده است که *DSCR* از سرطان و التهاب جلوگیری می‌کند و بیان آن منجر به فعالیت‌های ضد توموری می‌شود (۱۳). بیشتر مطالعات بر روی ژن‌های رمزگذار پروتئین در *DSCR* متمرکز است، در حالی که اطلاعات کمی در مورد سه RNA طولانی غیر رمزگذار *DSCR8*، *DSCR9* و *DSCR10* شناخته شده است (۱۴). بنابراین با توجه به بررسی‌های انجام شده بر روی *lncRNA DSCR9* هدف از این تحقیق بررسی ارتباط میزان بیان *lncRNA DSCR9* با خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ بود.

روش تحقیق

تحقیق حاضر از نوع مورد-شاهدی بود. در این پژوهش از بافت توموری ۲۰ فرد مبتلا به سرطان کولورکتال و ۲۰ بافت سالم کولورکتال نمونه‌گیری انجام شد. لازم به ذکر است که نمونه‌ها از بیمارستان شهرکرد گرفته شد. معیارهای ورود به پژوهش حاضر گروه سنی بین ۲۹ تا ۸۷ سال، داشتن پرونده پزشکی و معیارهای خروج از تحقیق عدم رضایت به شرکت و همچنین عدم ورود افراد با سابقه شیمی درمانی در این تحقیق بود. اطلاعات دموگرافیک و مشخصات تومور بیماران در جدول یک آورده شده است. تمام نمونه‌ها توسط پاتولوژیست، بررسی و مورد تأیید قرار گرفتند. در نهایت تمام نمونه‌های بافت پس از جراحی درون محلول RNA Latter غوطه‌ور شدند و به مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انتقال داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه و سپس در دمای ۲۰- درجه قرار داده شدند. به منظور استخراج RNA از ترایزول (Invitrogen) و مطابق با پروتکل آن استفاده شد و پس از آن از لحاظ کیفی و کمی بررسی شدند. سپس به منظور حذف آلودگی احتمالی RNA استخراج شده به DNA ژنومی، هر نمونه RNA استخراج شده تیمار گردید؛ به این صورت

جدول ۲- توالی آغازگرهای مورد استفاده در روش Real Time RT-PCR

پرایمر	توالی پرایمر	دمای اتصال (°C)	سایز باند (bp)
<i>lncRNA DSCR9</i> - F	5'-GGCTTTATCTCT GGGGTGCTTCC -3'	۵۹	۱۲۸ bp
<i>lncRNA DSCR9</i> - R	5'- CCCTGGCGTTCT GTGACCTC -3'		
<i>GAPDH-R</i>	5'-GAGTCAACGG ATTTGGTTCGT-3'	۵۹	۱۵۸ bp
<i>GAPDH-F</i>	5'-GGTGCCATG GAATTTGCCAT-3'		

تکنیک PCR

برای بررسی صحت سنتز cDNA از روش PCR استفاده شد. برای انجام روش PCR، ۱۰ میکرولیتر PCR Master Mix (شرکت یکتاتجهیز آزما)، یک میکرولیتر پرایمرهای رفت و برگشت (۵pmol/ μ L) و یک میکرولیتر از نمونه cDNA (۲۵ ng/ μ L) که در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر و با آب مقطر استریل تهیه شد. لازم به ذکر است که برنامه دمایی فعال سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، واسرشت در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، برای اتصال آغازگرها در دمای مناسب (بهترین دما برای انجام PCR برای ژن کنترل داخلی ۵۹ درجه سانتی گراد بود) به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه و طولیل سازی نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد و به مدت ۱۰ دقیقه تکثیر انجام شد. در نهایت محصولات به دست آمده روی ژل آگارز یک درصد الکتروفورز بررسی شدند. در پژوهش حاضر برای بررسی بیان ژن از تکنیک Real Time -RT PCR (دستگاه Corbett rotor gene 6000) به منظور سنجش کمی سطح بیان ژن مورد نظر استفاده گردید. در این روش از SYBR Green (یکتاتجهیز آزما) استفاده شد و واکنش Real Time -RT PCR برای ژن مورد نظر و ژن کنترل داخلی به صورت دو تکرار و به همراه یک واکنش کنترل منفی برای ژن مورد نظر صورت گرفت (۱۵).

روش های آماری

در پژوهش حاضر برای آنالیز داده های به دست آمده از نرم افزارهای GraphPad Prism نسخه ۹ و Excel استفاده گردید و جهت بررسی اختلاف بیان ژن در بافت توموری بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال و بافت سالم از آزمون T-test استفاده شد. سپس برای مقایسه بیان ژن در مراحل مختلف از آزمون one way ANOVA استفاده گردید و در نهایت برای بررسی همبستگی بیان ژن های مورد نظر در این پژوهش از آزمون pearson استفاده شد و در تمام محاسبات آماری انجام شده P value کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معناداری در نظر گرفته شد.

ملاحظات اخلاقی

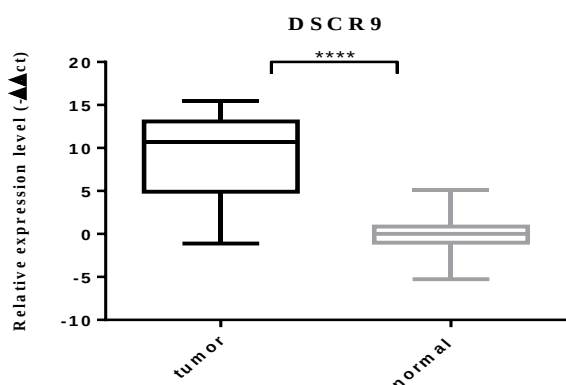
این پژوهش در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد شهرکرد با کد IR.IAU.SHK.REC.1402.053 به تصویب رسیده است.

یافته ها

تأیید صحت سنتز cDNA

پس از الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز، باند ۱۵۸ جفت بازی مربوط به ژن کنترل داخلی دیده شد که مؤید سنتز مناسب cDNA است که در شکل یک نشان داده شده است.

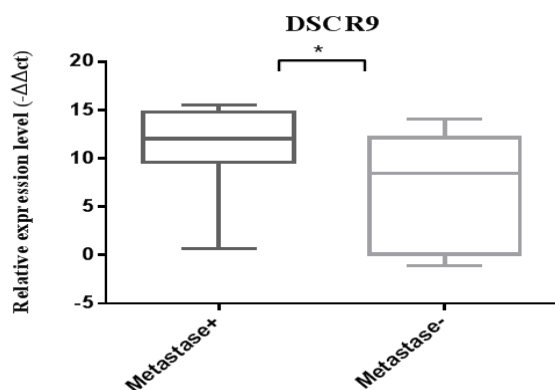
تغییر سطح بیان *lncRNA DSCR9* در بافت تومور نسبت به بافت کنترل قابل ملاحظه است.



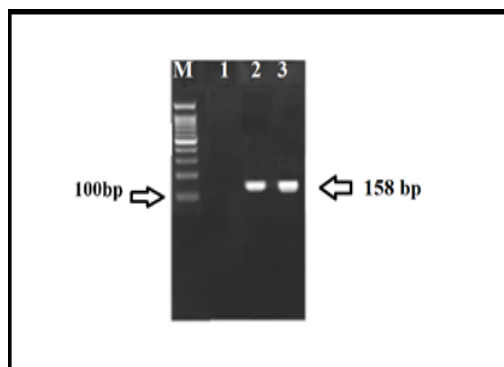
نمودار ۱- نمودار مقایسه بیان نسبی *lncRNA DSCR9* در دو گروه کنترل و تومور ($P=0/0001$).

نتایج بیان نسبی *lncRNA* متاستاز

مقایسه بیان نسبی *lncRNA DSCR9* در گروه‌های مورد مطالعه، حاکی از افزایش بیان *lncRNA* در افراد دارای متاستاز نسبت به افراد فاقد متاستاز می‌باشد که از نظر آماری این افزایش بیان معنادار بود ($P=0/0273$) و در نمودار ۲ نشان داده شده است.



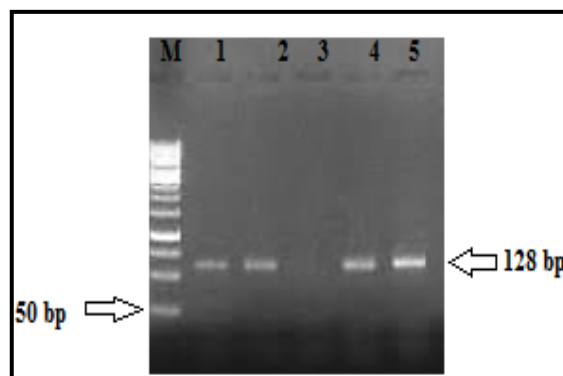
نمودار ۲- نمودار مقایسه بیان نسبی *lncRNA DSCR9* در دو گروه متاستاز مثبت و منفی ($P=0/0273$).



شکل ۱- تأیید صحت سنتز cDNA. چاهک M نشانگر، چاهک ۱ کنترل منفی، چاهک ۲ نمونه سالم، چاهک ۳ نمونه بیمار

تأیید صحت ژن *lncRNA DSCR9*

تأیید صحت ژن *lncRNA DSCR9* با استفاده با پرایمرهای اختصاصی ژن *lncRNA DSCR9* و واکنش PCR انجام شد. پس از الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز، باند ۱۲۸ جفت بازی مشاهده شد که در شکل ۲ نشان داده شده است.



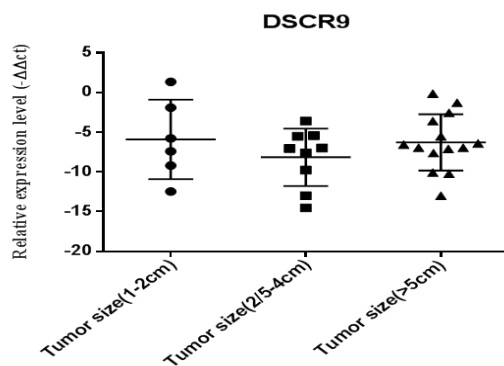
شکل ۲- تأیید صحت ژن *lncRNA DSCR9*. چاهک ۱ DNA ۵۰bp Ladder، چاهک ۳ کنترل منفی، چاهک ۱، ۲، ۴ و ۵ باند ۱۲۸ bp مربوط به ژن *lncRNA DSCR9*

نتایج بیان نسبی *lncRNA*

مقایسه بیان نسبی *lncRNA DSCR9* در گروه‌های مورد مطالعه، حاکی از افزایش بیان این *lncRNA* در افراد مبتلا به سرطان کولورکتال در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد که این افزایش بیان از نظر آماری معنادار بود ($P=0/0001$). در نمودار یک، نمودار

نتایج بیان نسبی lncRNA در تومور با اندازه متفاوت

مقایسه بیان نسبی lncRNA DSCR9 در گروه‌های مورد مطالعه، حاکی از افزایش بیان این lncRNA در تومور افراد دارای تومور اندازه متفاوت نمی‌باشد که از نظر آماری نیز معنادار نبود ($P=0/4430$). در نمودار ۵، نمودار تغییر سطح بیان lncRNA DSCR9 در تومور اندازه‌های متفاوت قابل ملاحظه است.



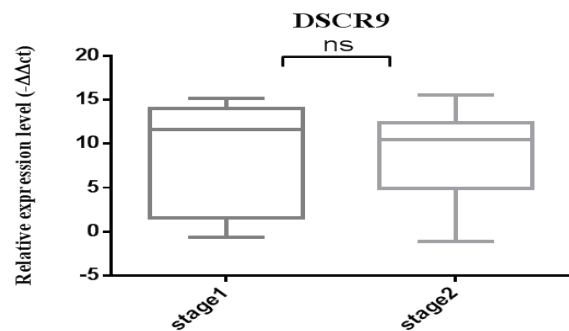
نمودار ۵- نمودار تغییر سطح بیان lncRNA DSCR9 در تومور با اندازه‌های متفاوت ($P=0/4430$).

تعیین اختصاصیت و حساسیت برای lncRNA

سطح زیر منحنی ROC یا AUC پتانسیل یک lncRNA جهت معرفی به عنوان نشانگر زیستی را نشان می‌دهد. AUC بزرگ‌تر از ۰/۷ بیانگر این است که lncRNA مورد نظر می‌تواند نقش نشانگر زیستی داشته باشد و هر چه این عدد به یک نزدیک‌تر باشد این پتانسیل بالاتر می‌رود. نتایج نشان داد که lncRNA DSCR9 به عنوان یک نشانگر به طور معنی‌داری ($P=0/0001$) می‌تواند جمعیت بیمار را از سالم جدا کند و با مساحت زیر سطح نمودار $AUC=0.9567$ و $CI=0.6143-0.9229$ می‌تواند به بهبود تشخیص بیماری سرطان کولورکتال کمک کند (نمودار ۶).

نتایج بیان نسبی lncRNA بر حسب مراحل (staging)

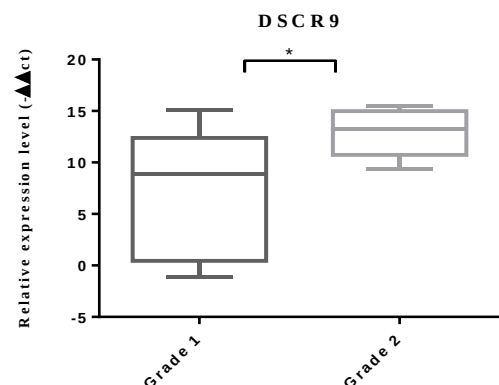
مقایسه بیان نسبی lncRNA DSCR9 در گروه‌های مورد مطالعه، حاکی از افزایش بیان این lncRNA در تومور افراد دارای مرحله ۱ و ۲ نمی‌باشد و از لحاظ آماری معنادار نبود ($P=0/9055$) که در نمودار ۳ نشان داده شده است.



نمودار ۳- نمودار تغییر سطح بیان lncRNA DSCR9 در تومور افراد دارای مرحله ۱ و ۲ ($P=0/9055$).

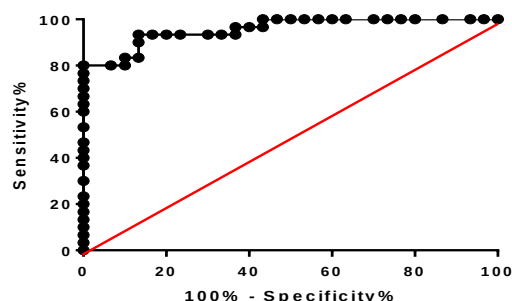
نتایج بیان نسبی lncRNA بر حسب گرید (Grade)

مقایسه بیان نسبی lncRNA DSCR9 در گروه‌های مورد مطالعه، حاکی از افزایش بیان این lncRNA در تومور افراد دارای گرید یک و دو می‌باشد که از نظر آماری معنادار بود ($P=0/0144$) و در نمودار ۴ نشان داده شده است.



نمودار ۴- نمودار تغییر سطح بیان lncRNA DSCR9 در تومور افراد دارای نمره ۱ و ۲ ($P=0/0144$).

ROC curve: NORMAL & TUMOR of DSCR9



نمودار ۶- منحنی ROC برای *lncRNA DSCR9* در دو گروه کنترل و تومور ($P=0/0001$).

بحث

اثر و عملکرد *lncRNA* های مرتبط با ژن های اختصاصی با متاستاز در سرطان کولورکتال کمتر مورد بررسی قرار گرفته است که در این مطالعه نتایج بررسی *lncRNA DSCR9* در بافت های سرطانی در مقایسه با بافت های نرمال نشان داد که بیان *DSCR9* در افراد مبتلا به سرطان کولورکتال در مقایسه با گروه کنترل افزایش می یابد و احتمالاً *lncRNA DSCR9* به عنوان یک نشانگر می تواند جمعیت بیمار را از سالم جدا کند و می تواند به بهبود تشخیص بیماری سرطان کولورکتال کمک کند. در این راستا مطالعاتی انجام شده است که در ادامه به بررسی آن ها می پردازیم. در راستای نتایج ما نتایج بررسی اخیر حاکی از کاهش فعالیت کلسینورین توسط *DSCR1* همراه با ژن دیگر *DYRK1A* بود که باعث کاهش چشمگیر رگ زایی خواهد شد. این داده ها مکانیسم کاهش سرطان را فراهم می کند و مسیر سیگنالینگ کلسینورین و تنظیم کننده های که شامل *DSCR1* و *DYRK1A* است و به عنوان اهداف درمانی بالقوه در سرطان ها است (۱۶). هم راستا با نتایج ما، در سرطان تخمدان بیان *lncRNA DSCR9* به طور معنی داری افزایش می یابد و مهار آن در شرایط آزمایشگاهی، سبب مهار تکثیر سلولی، تشکیل کلنی، مهاجم و مهاجرت شده و بدین ترتیب از تومورزایی جلوگیری خواهد شد (۱۷). نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد که بیان *lncRNA DSCR9* در افراد مبتلا به

سرطان کولورکتال در مقایسه با گروه کنترل افزایش می یابد. Vitiello و همکاران در سال ۲۰۱۵ اظهار داشتند اظهار داشتند بسیاری از *lncRNA* ها به طور ویژه در تومور بیان می شوند و در بافت های طبیعی حضور ندارند. نواحی تنظیمی چنین *lncRNA* هایی را می توان برای هدایت بیان ویژه توموری ژن های درمانی ضد سرطان یا سمی مورد استفاده قرار داد (۱۸). بررسی *lncRNA DSCR1* در سرطان کارسینومای هیپوفارنکس حاکی از سرطان زایی و رشد تومور بود. فعال سازی فاکتور رشد اندوتلیال عروقی مسیر سیگنالینگ *lncRNA DSCR9* را تنظیم می کند که میزان بیان mRNA نسبی *DSCR1* و *VEGF-C* و *MVD* در نمونه های بافت سرطانی بیماران مبتلا به سرطان هیپوفارنکس به طور قابل توجهی افزایش می یابد (۱۹) که این نتایج با نتایج حاصل از پژوهش حاضر همسو بود. در بررسی اخیر ژن *DSCR9* با ژن -هایی که به عنوان فاکتورهای مهمی در پیشرفت ها و عملکردهای سیستم عصبی شناخته شده بودند ارتباط زیادی داشت و این نشان می دهد که *DSCR9* ممکن است پروتئین های عصبی را در سایر بیماری های مرتبط با نورولوژی تنظیم کند (۱۴). و به بررسی *DSCR1-4* نشان می دهد که *DSCR1-4* یک هدف جدید برای کنترل گلوکونئوز کبدی در دیابت است و دیگر بیماری هاست (۲۰). بررسی *lncRNA DSCR9* در سرطان لوزالمعده بیان می کند که این *lncRNA* ها ممکن است در مسیرهای مختلف مربوط به سرطان از جمله فعال سازی خانواده *Ras*، اتوفازی در سرطان، مسیر سیگنالینگ *MAPK*، مسیر سیگنالینگ *HIF-1*، مسیر سیگنالینگ *PI3K-Akt* و غیره درگیر باشند (۲۱). نتایج بررسی نشانگرهای زیستی RNA طولی غیر کدکننده (*lncRNA*) در تومور کلیه حاکی از آن بود که *DSCR9*، *ADAMTS9-AS2*، *HOTAIR*، *HNF1A-AS1*، *HCG22*، *EMX2OS*، *SNHG6* و *TPTEP1* و *ZNF503-AS2* با پیش آگهی سرطان کلیه در ارتباط هستند و می توان به عنوان نشانگرهای بالقوه در سرطان کلیه مورد استفاده قرار گیرند (۲۲) که با نتایج حاصل از این تحقیق همسو بود.

نتیجه گیری

کولورکتال کمک کند.

تقدیر و تشکر

این پژوهش برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد با کد پروپوزال ۱۶۲۳۹۵۵۲۶ بوده است و بدین وسیله از تمام افرادی که در انجام این پژوهش یاری رساندند صمیمانه سپاسگزاری می گردد.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

نتایج تحقیق حاضر حاکی از آن بود که بیان نسبی lncRNA *DSCR9* در افراد مبتلا به سرطان کولورکتال در مقایسه با گروه کنترل افزایش دارد که می تواند به دلیل فعال کردن پروتئین های دخیل در سرطان و افزایش مسیر سیگنالینگ Wnt/beta-catenin باشد و باعث رشد سلول های تومور و رگ زایی در سرطان باشد. همچنین بیان lncRNA *DSCR9* در تومور افراد دارای متاستاز و فاقد متاستاز افزایش یافت که نشانه انکوژن بودن این lncRNA می باشد. بررسی اختصاصیت و حساسیت ژن lncRNA *DSCR9* نشان داد که احتمالاً lncRNA *DSCR9* به عنوان یک نشانگر به طور معنی داری می تواند جمعیت بیمار را از سالم جدا کند و می تواند به بهبود تشخیص بیماری سرطان

منابع:

- 1- Sadat Kia F, Nazemalhosseini-Mojarad E, Forouzesh F. A quantitative investigation of the Bid gene expression in biopsies from colorectal adenomas. Tehran Univ Med J. 2018; 76(2): 120-8. [Persian] URL: <http://tumj.tums.ac.ir/article-1-8772-en.html>.
- 2- Setareh S, Zahiri Esfahani M, Zare Bandamiri M, Raeesi A, Abbasi R. Using Data Mining for Survival Prediction in Patients with Colon Cancer. Iran J Epidemiol. 2018; 14(1): 19-29. [Persian] URL: <http://irje.tums.ac.ir/article-1-5961-en.html>.
- 3- Pourfarzi F, Yazdanbod A, Daneshvar R, Saberi SH. Evaluation of effective factors in incidence of colorectal cancer. J Ardabil Univ Med Sci. 2012; 12(5): 56-64. [Persian] URL: <http://jarums.arums.ac.ir/article-1-99-en.html>.
- 4- Han-Shiang C. Curative resection of colorectal adenocarcinoma: multivariate analysis of 5-year follow-up. World J Surg. 1999; 23(12): 1301-6. DOI: [10.1007/s002689900666](https://doi.org/10.1007/s002689900666).
- 5- Nadeem MS, Kumar V, Al-Abbasi FA, Kamal MA, Anwar F. Risk of colorectal cancer in inflammatory bowel diseases. Semin Cancer Biol. 2020;64: 51-60. DOI: [10.1016/j.semcancer.2019.05.001](https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.05.001)
- 6- Dehghan H, Salari A. Evaluation and treatment of colorectal cancer in Shahid Rahneemoon and Afshar hospitals, Yazd-Iran. J Shaheed Sadoughi Univ Med Sci. 2007; 15(3): 20-5. URL: <http://jssu.ssu.ac.ir/article-1-644-en.html>
- 7- Chen X, Yan G-Y. Novel human lncRNA-disease association inference based on lncRNA expression profiles. Bioinformatics. 2013; 29(20): 2617-24. DOI: [10.1093/bioinformatics/btt426](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt426)
- 8- Consortium IHGS. Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature. 2001; 409(6822): 860. DOI: [10.1038/35057062](https://doi.org/10.1038/35057062)
- 9- Carter G, Miladinovic B, Patel AA, Deland L, Mastorides S, Patel NA. Circulating long noncoding RNA GAS5 levels are correlated to prevalence of type 2 diabetes mellitus. BBAClin. 2015; 4: 102-7. DOI: [10.1016/j.bbacli.2015.09.001](https://doi.org/10.1016/j.bbacli.2015.09.001)
- 10- Yu B, Liu L, Sun H, Chen Y. Long noncoding RNA AK056155 involved in the development of Loeys-Dietz syndrome through AKT/PI3K signaling pathway. Int J Clin Exp Pathol. 2015; 8(9): 10768-75. PMID: [26617788](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26617788/)
- 11- Chen G, Wang Z, Wang D, Qiu C, Liu M, Chen X, et al. LncRNADisease: a database for long-non-coding RNA-associated diseases. Nucleic Acids Res. 2012; 41(D1): D983-D6. DOI: [10.1093/nar/gks1099](https://doi.org/10.1093/nar/gks1099)

- 12- Guo Z-H, You Z-H, Wang Y-B, Yi H-C, Chen Z-H. A learning-based method for LncRNA-disease association identification combining similarity information and rotation forest. *J IScience*. 2019; 19: 786-95. DOI: 10.1016/j.isci.2019.08.030.
- 13- Minami T. Down Syndrome Expressed Protein; DSCR-1 Deters Cancer and Septic Inflammation. *Genetics and Etiology of Down Syndrome*. 2011: 121. DOI: 10.5772/20975
- 14- Chen M, Wang J, Luo Y, Huang K, Shi X, Liu Y, et al. Identify Down syndrome transcriptome associations using integrative analysis of microarray database and correlation-interaction network. *Hum Genomics*. 2018; 12(1): 1-12. DOI: [10.1186/s40246-018-0133-y](https://doi.org/10.1186/s40246-018-0133-y)
- 15- Ferns R, Nastouli E, Garson J. Quantitation of hepatitis delta virus using a single-step internally controlled real-time RT-qPCR and a full-length genomic RNA calibration standard. *J Virol Methods*. 2012; 179(1): 189-94. DOI: [10.1016/j.jviromet.2011.11.001](https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2011.11.001)
- 16- Baek K-H, Zaslavsky A, Lynch RC, Britt C, Okada Y, Siarey RJ, et al. Down's syndrome suppression of tumour growth and the role of the calcineurin inhibitor DSCR1. *J Nature*. 2009; 459(7250): 1126-30. DOI: <https://www.nature.com/articles/nature08062>
- 17- Cho S-H, Jeon J, Kim SI. Personalized medicine in breast cancer: a systematic review. *J Breast Cancer*. 2012; 15(3): 265-72. DOI: [10.4048/jbc.2012.15.3.265](https://doi.org/10.4048/jbc.2012.15.3.265)
- 18- Vitiello M, Tuccoli A, Poliseno L. Long non-coding RNAs in cancer: implications for personalized therapy. *Cell Oncol (Dordr)*. 2015; 38(1): 17-28. DOI: [10.1007/s13402-014-0180-x](https://doi.org/10.1007/s13402-014-0180-x)
- 19- Lv C, Liu D, Wei X. Down syndrome critical region 1 positively correlates with angiogenesis in hypopharyngeal cancer. *Mol Med Rep*. 2017; 15(1): 263-70. DOI: [10.3892/mmr.2016.5989](https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5989)
- 20- Seo DS, Chau GC, Baek K-H, Um SH. A single extra copy of Down syndrome critical region 1–4 results in impaired hepatic glucose homeostasis. *Mol Metab*. 2019; 21: 82-9. DOI: [10.1016/j.molmet.2018.12.002](https://doi.org/10.1016/j.molmet.2018.12.002)
- 21- Zhuang H, Huang S, Zhou Z, Ma Z, Zhang Z, Zhang C, et al. A four prognosis-associated lncRNAs (PALnc) based risk score system reflects immune cell infiltration and predicts patient survival in pancreatic cancer. *Cancer Cell Int*. 2020; 20(1): 1-10. DOI: [10.1186/s12935-020-01588-y](https://doi.org/10.1186/s12935-020-01588-y)
- 22- Wu X, Liu J, Zhu C, Ma M, Chen X, Liu Y, et al. Identification of Potential Biomarkers of Prognosis-Related Long Non-Coding RNA (lncRNA) in Pediatric Rhabdoid Tumor of the Kidney Based on ceRNA Networks. *Med Sci Monit*. 2020; 26: e927725-1-9. DOI: [10.12659/MSM.927725](https://doi.org/10.12659/MSM.927725)