

Original Article

Investigation of Long Non-coding RNA *HOXA11-AS* Expression in Iranian Patients with Glioblastoma: A Quantitative Study

Mansoureh Shabani¹ , Shahla Mohammad Ganji^{2*} , Iman Salahshouri Far¹ 

¹ Islamic Azad University, Science and Research Branch, Faculty of Basic Sciences, Department of Genetics, Tehran, Iran.

² National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Institute of Medical Biotechnology, Department of Molecular Medicine, Tehran, Iran.

*Corresponding Author:
Shahla Mohammad Ganji;
National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Institute of Medical Biotechnology, Department of Molecular Medicine, Tehran, Iran.

Email:
shahlamg@yahoo.com,
shshla@nigeb.ac.ir

Received: 14 May, 2020
Accepted: 22 Jul, 2020

Abstract

Background and Objectives: Glioblastoma is one of the most malignant and common brain tumors, accounting for about half of all gliomas. Glioblastoma is a central nervous system tumor that originates from the glial tissue of the brain. The present study aimed to investigate changes in the expression of long non-coding RNA *HOXA11-AS* as a possible biomarker in glioma.

Methods: For the purposes of the present study, first, the medical records of the patients in Imam Hossein Hospital in Tehran, Iran were reviewed. The ethical considerations were respected as well; accordingly, written informed consent was obtained from the patients and the code of ethics was achieved as well. Finally, the paraffin blocks, including the biopsy of brain tumor tissue of the patients who referred to Imam Hossein Hospital during 2015-17 were collected and their degrees were confirmed by the pathologist. In total, 50 samples of grades 1 and 2 as well as 50 samples of grades 3 and 4 were examined in this research project. The RNA extraction and cDNA synthesis were performed for all the tissue samples donated by the patients. Subsequently, a specific primer and probe were designed and the expression of the *HOXA11-AS* gene was investigated using real-time polymerase chain reaction technique. The mean age of the subjects was 43.70 ± 16.416 years. The collected data were analyzed in SPSS software (version 20) using descriptive and analytical statistics. Moreover, the expression levels of this gene in lower- and higher-grade tumor tissues were compared using the unpaired samples t-test.




Results: Based on the results, the tumor samples with grade three and four underwent a 2.76 fold increase in expression (fold change), compared to tumor samples with grade one and two. This difference was statistically significant.

Conclusion: Based on the findings, it can be concluded that the expression of the *HOXA11-AS* gene has a significant positive relationship with the degree of disease ($P=0.0002$).

Key words: Glioblastoma; *HOXA11 protein*; Long non-coding; RNA; *Xenopus*.

DOI: 10.29252/qums.14.5.22

مطالعه کمی میزان بیان *lncRNA HOXA11-AS* در بیماران ایرانی مبتلابه گلیوبلاستوما

منصوره شعبانی^۱ ، شهلا محمدگنجی^{۲*} ، ایمان سلحشوری^۱ 

چکیده

زمینه و هدف: گلیوبلاستوما یکی از بدخیم‌ترین و رایج‌ترین تومورهای مغزی است که حدود نیمی از گلیوماها را به خود اختصاص می‌دهد. گلیوبلاستوما یکی از تومورهای سیستم عصبی مرکزی (CNS: Central Nervous System) است که از بافت گلیال مغز نشئت می‌گیرد. هدف از این مطالعه بررسی تغییرات بیان *HOXA11-AS lncRNA* به عنوان بیومارکر احتمالی در گلیوماست.

روش بررسی: بدین منظور پس از بررسی پرونده پزشکی بیماران بیمارستان امام حسین تهران، گرفتن رضایت‌نامه کتبی از بیماران و گرفتن کد اخلاق این پژوهش در بیمارستان امام حسین انجام شد. بلوک‌های پارافینه شامل بیوپسی بافت توموری مغز از سال ۱۳۹۴ تا ۱۳۹۶ جمع‌آوری شد و متخصص پاتولوژیست آن‌ها را تأیید و تعیین درجه کرد. در این پروژه، ۵۰ نمونه درجه ۱ و ۲ و ۵۰ نمونه درجه ۳ و ۴ بررسی شد. برای تمام نمونه‌های بافتی اهداشده بیماران، استخراج RNA و سنتز cDNA صورت گرفت. سپس پرایمر و پروب اختصاصی طراحی و میزان بیان ژن *HOXA11-AS* با استفاده از روش Real-time PCR بررسی شد. میانگین سن افراد بررسی شده $43/70 \pm 16/416$ سال بود. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به صورت توصیفی و تحلیلی با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شود. همچنین برای مقایسه میزان بیان این ژن در بافت تومورال با درجه پایین‌تر و بافت تومورال با درجه بالاتر از آزمون آماری تی مستقل استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد نمونه‌های توموری با درجه سه و چهار، $2/76$ برابر نمونه‌های توموری با درجه یک و دو افزایش بیان (fold change) داشتند که از نظر آماری این فاصله معنی‌دار است.

نتیجه‌گیری: نتایج بررسی کمی نشان داد بیان ژن *HOXA11-AS* افزایش معنی‌داری با افزایش درجه بیماری دارد ($P=0/0002$).

کلیدواژه‌ها: پروتئین *HOXA11* زنوپوس؛ گلیوبلاستوما؛ RNA بلند بدون کدگذاری.

^۱ گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

^۲ گروه پزشکی مولکولی، پژوهشکده بیوتکنولوژی پزشکی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول مکاتبات:

شهلا محمدگنجی؛ گروه پزشکی مولکولی، پژوهشکده بیوتکنولوژی پزشکی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری، تهران، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:

shahlamg@yahoo.com,
shshla@nigeb.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۰۱

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Shabani M, Mohammad Ganji S, Salahshouri Far I. Investigation of Long Non-coding RNA *HOXA11-AS* Expression in Iranian Patients with Glioblastoma: A Quantitative Study. Qom Univ Med Sci J 2020;14(5):22-29. [Full Text in Persian]

مقدمه

گلیوبلاستوما مولتی‌فرم (GBM: Glioblastoma Multiforme) شایع‌ترین و مهاجم‌ترین نوع گلیوماست که معمولاً در مخ ایجاد می‌شود که این ناحیه کنترل‌کننده فرایندهایی مثل تکلم و احساسات است. این تومور با تراکم سلولی بالا، آناپلازی واضح سلولی همراه با نکروز و تکثیر عروق یا تکثیر اندوتلیوم رگ‌ها مشخص می‌شود (۱). درحالی‌که گلیوبلاستوما مولتی‌فرم مهاجم زیادی به سلول‌های اطراف تومور در مغز دارد، به‌ندرت در ارگان‌های دیگر پخش می‌شود. گلیوبلاستوما مولتی‌فرم سرطانی مهاجم بالا و رشد سریعی دارد و معالجه به مکان تومور و توانایی بیمار به تحمل جراحی بستگی دارد؛ بنابراین، این سرطان به‌سختی درمان می‌شود (۲). گلیوما ۲۹ تا ۳۵ درصد از تومورهای سیستم عصبی مرکزی را در نوجوانان تشکیل می‌دهد. از این مقدار دوسوم گلیومای درجه پایین (I و II) و بقیه گلیومای درجه بالاتر (III و IV) هستند (۳). آمار اخیر اداره ثبت تومور مغزی ایالات‌متحده آمریکا (CBTRUS: Central Brain Tumor Registry of the United States) از کل تومورهای مغز و سیستم عصبی مرکزی بیان می‌کند که ۱۵/۱ درصد از تومورهای مغزی، گلیوبلاستوما هستند که دومین گروه بزرگ بعد از مننژیوم خوش‌خیم (۳۵/۹ درصد) هستند (۴). استفاده از بیومارکرها به‌عنوان هدف جدیدی برای درمان بسیار اهمیت دارد (۵). امروزه RNAهای بلند غیرکدکننده (lncRNA: Long non-coding RNA) به‌عنوان نشانگر بالقوه‌ای برای تشخیص انواع مختلف سرطان استفاده می‌شوند. بسیاری از مطالعات آشکار کرده‌اند که این RNAهای بلند غیرکدکننده به‌عنوان عصر جدیدی، در تشخیص و مدیریت سرطان نقش دارند. اخیراً RNAهای بلند غیرکدکننده به‌عنوان بیومارکر فعال شناسایی و معرفی می‌شوند و در تشخیص و پیش‌آگاهی سرطان‌های مختلف مسیرهای انکوژنیک و ساپرسیو مهمی هستند (۶). از میان RNAهای بلند غیرکدکننده، می‌توان به Homebox A11 Antisense RNA (HOXA11-AS) اشاره کرد. RNAهای بلند غیرکدکننده محافظت‌شده در خوشه ژن HOXA در کروموزوم 7، p15/۲ قرار دارد که شامل ژن‌های کدکننده و غیرکدکننده پروتئین هستند.

AS در ابتدا در کتابخانه cDNA جنینی موش با استفاده از پروب از توالی HOXA11 Sense cDNA کشف شده است. HOXA11-AS در چند سرطان به‌عنوان بیومارکر برای تشخیص زودهنگام عمل می‌کند؛ مانند سرطان‌های تخمدان، اپی‌تلیال، دهانه رحم و گلیوبلاستوما (۷).

در این مطالعه بیان HOXA11-AS در بافت گلیوما و سطوح تنظیمی در بافت تومور در مقایسه با بافت طبیعی مجاور بررسی شد. آزمایش‌های اعتبارسنجی تأییدشده مطالعه حاضر نقش HOXA11-AS را بر گلیوما نشان می‌دهد (۸). HOXA11-AS یک RNA غیرکدکننده با توالی بلند است که با مراحل چرخه سلولی در ارتباط می‌باشد و اگر از آن رونویسی شود، دارای عملکرد انکوژنیک خواهد داشت و به‌عنوان بیومارکر در مراحل پیشرفته گلیوما معرفی می‌شود. HOXA11-AS از طریق تنظیم روند پیشرفت چرخه سلول، باعث ارتقای گلیوماژنز می‌شود (۸).

هدف از این پژوهش، سنجش بیان lncRNA HOXA11-AS در مبتلایان به گلیوما و بررسی نقش بیان RNAهای بلند غیرکدکننده HOXA11-AS در تشخیص و افتراق درجات مختلف گلیوما است.

روش بررسی

پس از گرفتن رضایت‌نامه کتبی از بیماران (موجود در پرونده پزشکی بیمارستان امام حسین)، نمونه‌های مغز (شامل بیوپسی بافت توموری) را که پزشک متخصص جراح مغز و اعصاب در سال‌های ۹۴ تا ۹۶ برداشته و جمع‌آوری کرده بود، متخصص پاتولوژیست تأیید و تعیین درجه کرد. برای انجام این پروژه ۵۰ نمونه بافت توموری گلیوما از نوع درجه ۲ و ۱ و ۵۰ نمونه بافت توموری از نوع درجه ۴ و ۳، مورد نیاز بود. تمام بیماران اهداکننده فرم رضایت‌نامه را برای استفاده از نمونه‌های بافتی آن‌ها در پروژه تحقیقاتی امضا کرده بودند. همچنین بانک ملزم به رعایت اصول اخلاقی مربوطه در زمینه جمع‌آوری و استفاده از نمونه‌ها بود. جراحان در اتاق عمل نمونه را تهیه کردند و پس از تأیید پاتولوژی در این بانک زیستی ذخیره شدند. بافت‌های استفاده‌شده در این پژوهش شامل این دو گروه بودند: ۱. بافت توموری متعلق

پروپ شامل *CGCAGAGCCTCAGGGACCCT HOXA11-AS-P* است. در طراحی پروپ های Taqman، انتخاب رنگ مناسب گزارشگر و خاموش کننده که برای نشان دار کردن پروپ استفاده می شود مهم است که باید با دستگاه Real-Time PCR استفاده شده در آزمایشگاه نیز پشتیبانی شود. برنامه دمایی داده شده به دستگاه ترموسیکلر بدین صورت بود: ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۵۶ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه با ۴۰ سیکل.

یافته‌ها

اطلاعات دموگرافیک جمعیت مطالعه شده نشان داد میانگین سن افراد ۴۳/۷۰±۱۶/۴۱۶ سال بود و بیشترین درصد نمونه‌ها مربوط به درجه ۴ بود (جدول ۱).

تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از آزمایش کمی میزان بیان ژن *HOXA11-AS* در بافت‌های توموری نشان داد بین بیان این ژن با درجه بیماری رابطه مستقیم و معناداری مشاهده می شود؛ بدین معنا که هرچه درجه بالاتر باشد، میزان بیان نیز افزایش می یابد ($P=۰/۰۰۰۲$) (نمودار ۱).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به صورت توصیفی و تحلیلی با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد. برای مقایسه میزان بیان این ژن در بافت تومورال با درجه پایین تر و بافت تومورال با درجه بالاتر از آزمون آماری تی مستقل استفاده شد. سنجش نرمال سازی داده‌ها نیز با استفاده از آزمون کولموگوروف اسمیرانف یک نمونه‌ای انجام شد (جدول ۲).

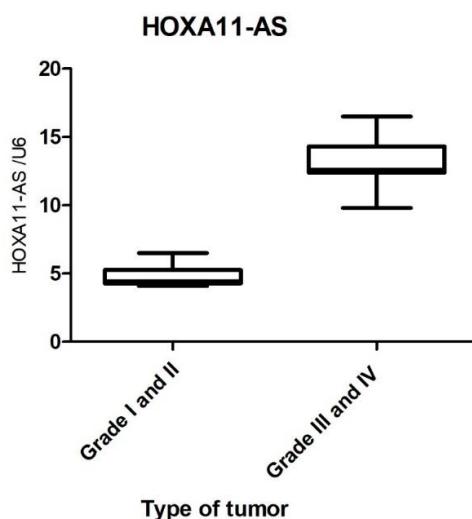
جدول شماره ۱: خلاصه‌ای از اطلاعات دموگرافیک و پاتولوژیک نمونه‌ها

ویژگی	درصد
سن (سال)	
میانگین سنی	۴۳/۷۰ ± ۱۶/۴۱۶
فاصله سنی	۱۰-۷۵
درجه (Grade)	
I	۵/۳
II	۳۱/۹
III	۱۱/۷
IV	۳۵/۱
غیر قابل تشخیص	۱۶

به بیماران مبتلا به تومور مغزی گلیوما از نوع درجه ۱ و ۲؛ ۲. بافت توموری متعلق به بیماران مبتلا به تومور مغزی گلیوما از نوع درجه ۳ و ۴. این نمونه‌های بافتی به صورت پارافینه نگهداری می شدند. برای برش زدن میزان لازم از بافت‌های مذکور به منظور استخراج RNA، هر یک از بافت‌ها درون یک پلیت خاص روی یخ خشک برش زده و سپس توزین شدند. میزان لازم برای استخراج RNA ۸ تا ۱۰ میلی گرم منظور شد. سپس بافت مذکور به میکروتیوب‌های ۱/۵ استریل عاری از DNase/RNase منتقل، پارافینه و نگهداری شدند. استخراج RNA از نمونه بافت‌های جمع آوری شده با به کارگیری کیت استخراج miRNA شرکت MN آلمان به شماره کاتالوگ ۷۴۰۳۰۴ انجام شد. سپس برای سنجش کمی RNA استخراج شده رقت ۱/۵۰ از RNA تهیه و با دستگاه اسپکتروفوتومتر غلظت و نسبت ۲۶۰/۲۸۰ اندازه گیری شد. RNA استخراج شده در آب فوق العاده خالص RNase-free در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

به منظور کنترل کیفیت RNAهای به دست آمده، ۳ میکرولیتر از آن روی ژل ۰/۸ درصد آگارز روان شد و کیفیت RNA استخراج شده از نظر وجود و کیفیت باندهای RNA ریوزومی 18s و 28s کنترل شد. وجود این باندها و نیز دو برابر بودن شدت باند 28S rRNA نسبت به 18S rRNA نشانگر سالم بودن RNA است. در صورتی که RNA به طور نسبی خرد و قطعه قطعه شده باشد، ظاهر لکه‌ای دارد و فاقد باندهای واضح rRNA یا نسبت ۲:۱ است. RNA کاملاً مضمحل شده به صورت لکه‌ای با وزن مولکولی بسیار کم دیده می شود.

به منظور سنتز cDNA از RNA استخراج شده از کیت QuantiTect Reverse Transcription محصول شرکت کیاژن استفاده شد که در زیر روش انجام آن توضیح داده شده است. تمام مراحل ایجاد cDNA روی یخ انجام شد. طراحی پرایمر و پروب و بررسی کیفیت آن‌ها با استفاده از نرم افزار Gene runner صورت گرفت. پرایمرهای اختصاصی برای ژن‌های مدنظر به منظور بررسی بیان در سطح RNA در نرم افزار Gene runner (نسخه ۳/۰۵) طراحی شد. توالی‌ها شامل *HOXA11-AS-R: CTCAGGGATGGTAGTCCCCA* و *HOXA11-AS-F: TGGTCAGCAAAAACAGACCCA* است. پروب‌ها به صورت آماده از شرکت Bioneer خریداری شد. توالی



نمودار شماره ۱: تغییر بیان HOXA11-AS در بافت توموری درجه ۳ و ۴ در مقایسه با بافت حاضر در درجه ۱ و ۲

جدول شماره ۲: جدول تفکیکی بیان کننده الگوی معنی داری ژن *HOXA11-AS* با کارگیری آزمون تی مستقل

مقایسه		مقادیر محاسبه شده
درجه ۱ و ۲	درجه ۳ و ۴	
Fold Change tumor in IV and III grade/tumor in I and II grade		۲/۷۶
p***		۰/۰۰۰۲
t		۱۳/۶۳
df		۱۸
آیا با فرض فاصله اطمینان ۹۵ درصد، تفاوت معنی دار است؟		بلی

دارد، ولی ۵/۲ درصد از مرگ‌های سرطانی را به خود اختصاص داده است (۱۰).

مطابق دستورالعمل انجمن ملی سرطان (NCI: National Cancer Institute)، بیومارکرها مولکول‌های بیولوژیکی هستند که می‌توانند در خون یا بافت‌های بدن حضور داشته باشند. بیومارکرهای سرطان نشانگرهایی هستند که حاصل ترشح سلول تومورال یا حاصل نکروز و آپوپتوز این سلول‌ها هستند. تغییرات اختصاصی مولکول‌های سلول‌های سرطانی قابل اندازه‌گیری است. بیومارکرها می‌توانند DNA، RNA، پروتئین و متابولیت باشند (۱۱).

سرطان بیماری پیچیده‌ای است که بیان ژن در آن به صورت نامتعادل انجام می‌پذیرد. شواهد نشان داده‌اند بخش زیادی از عوامل مستعدکننده سرطان را نمی‌توان به تغییر در توالی‌های

نتایج نشان داد نمونه‌های توموری با درجه سه و چهار، ۲/۷۶ برابر نمونه‌های توموری با درجه یک و دو افزایش بیان (fold change) داشتند.

بحث

در میان انواع سرطان، تومورهای مغزی جزء کشنده‌ترین سرطان‌ها محسوب می‌شوند. توانایی درمان این تومورها تا حدودی به خصوصیات منحصر به فرد سلول‌های ذاتی و ریزمحیطی بافت‌های عصبی مربوط می‌شود (۹). تومورهای مغز حاصل رشد غیرعادی سلول‌هاست که ممکن است خوش‌خیم یا بدخیم باشند. در این میان، گلیوبلاستوما مولتی‌فرم شایع‌ترین و در واقع کشنده‌ترین نوع تومور مغزی اولیه در بزرگسالان است. مدت زنده ماندن بعد از تشخیص اولیه ۱۲ تا ۱۵ ماه است. این سرطان شیوع نسبتاً کمی

HOXA11-AS در بافت استئوسارکوما بیشتر از بافت‌های مجاور و رده‌های سلولی استئوبلاست طبیعی انسان است. سطح بیان بالاتر *HOXA11-AS* با مرحله بالینی شدید و پیش‌آگاهی ضعف سیستماتیک رابطه مثبت داشت. مهار بیان *HOXA11-AS* می‌تواند متاستاز و تهاجم خطوط سلولی استئوسارکوما را کاهش دهد (۱۵).

در مطالعه حاضر بیان ژن‌ها در سلول‌های بافت گلیوما بررسی شد. در مطالعه Li و همکاران که در سال ۲۰۱۹ روی سلول‌های سنگ‌فرشی دهان انجام شد، با روش کار RT-PCR نتایج مشابهی گزارش شد. آنان بیان کردند *HOXA11-AS* به‌طور قابل‌توجهی تکثیر سلولی را افزایش می‌دهد، ولی درصد سلول‌های فاز صفر و یک را کاهش می‌دهد و تهاجم سلول را در OSCC تقویت می‌کند. در یک مدل موشی OSCC، بیان بیش‌ازحد *HOXA11-AS* باعث رشد تومور شد (۱۶). می‌توان با استناد به این مطالعه، این‌گونه مطرح کرد که بیان ژن *HOXA11-AS* در تمام سلول‌های سرطانی، بدون در نظر گرفتن اندام درگیر با سرطان، موجب افزایش رشد تومور و ورود بیماری به فاز حادتر می‌شود.

در مطالعه‌ای مشابه که Xu و همکاران (۲۰۱۷) در چین روی ۴۵ بافت گلیومای اولیه و رده سلولی با استفاده از روش RT-PCR انجام دادند، مشاهده کردند که حذف ژن *HOXA11-AS* باعث مهار تکثیر سلولی گلیوما، مهاجرت و تهاجم در شرایط آزمایشگاهی و رشد تومور در داخل بدن می‌شود و هرچقدر بیان این ژن بیشتر باشد، بیماری حادتر و مرگ‌ومیر در بیماران بیشتر است (۱۷). این مطالعه از نظر نوع بافت نمونه‌گیری شده و همچنین روش کار با مطالعه حاضر مشابه است و نتایج به‌دست‌آمده نیز مشابهت دارد.

از سوی دیگر در مطالعه‌ای متاآنالیز که در سال ۲۰۱۸ روی ۱۳۲۰ بیمار سرطانی با انواع مختلف سرطان‌ها انجام شد، ارتباط ژن *HOXA11-AS* و متاستاز بررسی شد که خاصیت تازه‌ای از این ژن را مطرح کرد. در مطالعه متاآنالیز مشاهده شد با افزایش بیان ژن *HOXA11-AS* میزان متاستاز نیز در بیماران سرطانی بیشتر می‌شود که به‌صورت ویژه، بیشترین متاستاز در غدد لنفاوی مطرح شده است (۱۸). می‌توان از این مطالعه نتیجه گرفت که افزایش بیان ژن *HOXA11-AS* باعث حادث‌تر شدن بیماری می‌شود که متقابلاً باعث

کدکننده پروتئین نسبت داد. شناسایی شمار زیادی از RNAهای بلند غیرکدکننده با طول بیش از ۲۰۰ جفت باز در انسان که زیرمجموعه‌هایی از ncRNAs است، کمک شایانی به آشکارسازی جایگاه این مولکول‌ها در آسیب‌شناسی سرطان و نقش آن‌ها به‌عنوان اجزای مهم در توموزایی کرده است. نقش RNAهای بلند غیرکدکننده به‌عنوان عامل‌های سرکوبگر تومور، در انواع متعددی از سرطان‌ها به اثبات رسیده است.

مطالعات اخیر نشان می‌دهند چندین جایگاه خطر مؤثر در ایجاد سرطان به RNAهای بلند غیرکدکننده رونویسی می‌شوند و رونوشت‌های حاصل، نقش‌های کلیدی در فرایند تومورزایی ایفا می‌کنند (۱۲). بررسی عملکرد همه آن‌ها در آزمایشگاه مشکل نیست. به همین دلیل در این مطالعه به پیش‌بینی عملکرد RNAهای بلند غیرکدکننده مختلف با یکپارچه‌سازی بیان ژن و بیان RNAهای بلند غیرکدکننده شناخته‌شده جدید پرداخته شده است. ژن‌های HOX جزء ژن‌های بسیار محافظت‌شده هستند که نقش مهمی در آپوپتوز، سیگنالینگ گیرنده، تمایز، متاستاز و آنژیوژنز دارند. اختلال و تغییرات در بیان این ژن در توسعه غیرطبیعی و بدخیمی مؤثر است و می‌تواند در سرطان‌زایی و حتی سرکوب تومور نقش داشته باشد. از این‌رو، شناسایی این ژن در تشخیص و درمان سرطان اهمیت دارد (۱۳). ژن *HOXA11-AS* یکی از مهم‌ترین RNAهای بلند غیرکدکننده است که عمدتاً به‌عنوان نوعی فاکتور پیش‌آگاهی برای بقای بیمار گلیوما عمل می‌کند. اولین بار Wang و همکاران در سال ۲۰۱۶، یک RNAهای بلند غیرکدکننده جدید را به نام *HOXA11-AS* معرفی کردند که نوعی رونویسی آنتی‌سنس از *HOXA11* بود و بیان آن با زیرتیب‌های مولکولی گلیوما ارتباط داشت (۱۴). در بررسی ژن *HOXA11-AS* در مطالعه حاضر با افزایش درجه بیماری بیان *HOXA11-AS* افزایش می‌یابد. در مطالعه Wang و همکاران در سال ۲۰۱۶ نتایجی مطابق مطالعه حاضر گزارش شده است. آن‌ها در شناسایی این ژن از روش Microarray استفاده کردند، ولی در مطالعه حاضر از روش RT-PCR استفاده شده است.

در مطالعه‌ای مشابه، Cao و همکاران در سال ۲۰۱۹، سطح بیان *HOXA11-AS* را در بافت‌های توموری و بافت‌های مجاور آن به روش RT-PCR تشخیص دادند. مشخص شد که میزان بیان

ممکن است علت این تناقض در نتایج، تفاوت درجات در نمونه‌های مطالعه شده Zhang و همکاران باشد؛ زیرا در میان ۲۲۰ نمونه، ۹۷ نمونه درجه دو، ۳۴ نمونه درجه سه و ۸۹ نمونه گلیوبلاستوما مولتی‌فرم یا درجه ۴ بودند.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر هدف بررسی ارزش بیومارکری *lncRNA HOXA11-AS* در تشخیص گلیوما و افتراق درجات کم و زیاد این سرطان بود. نتایج حاضر نشان داد بیان ژن *HOXA11-AS* افزایش بیان معنی‌داری در درجه ۳ و ۴ نسبت به درجه ۱ و ۲ پیدا می‌کند. به‌طور کلی پژوهش حاضر نشان داد بیان ژن *HOXA11-AS* در بیماران مبتلا به گلیوبلاستوما درجه ۳، در مقایسه با بیماران مبتلا به درجات کمتر، افزایش معنی‌داری داشته است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از همکاری صمیمانه متخصصان پاتولوژیست و مغز و اعصاب بیمارستان امام حسین تهران در تهیه نمونه‌های بیوپسی بیماران کمال تشکر را دارند.

متاستاز بیشتر می‌شود که با مطالعه حاضر همسو است؛ زیرا ما مشاهده کردیم که افزایش بیان ژن *HOXA11-AS* در درجه ۳ و ۴ بیماری بیشتر از درجه ۱ و ۲ است. به‌طور کلی افزایش بیان ژن *HOXA11-AS* باعث کاهش سطح رشد تومور می‌شود. ممکن است این تضاد به علت تفاوت در بافت سرطانی بررسی شده در دو نمونه باشد. از سوی دیگر این تناقض می‌تواند مؤثر از مکان مطالعاتی باشد که پژوهش Wenlei در شانگهای چین انجام شده است و از نظر شرایط اپیدمیولوژی و سبک زندگی، دو کشور باهم متفاوت بوده‌اند.

Zhang و همکاران در سال ۲۰۱۷ با دو روش RT-PCR و Microarray روی ۲۲۰ نمونه گلیوما توانستند متوجه خاصیتی جدید از ژن *HOXA11-AS* شوند که با حذف *HOXA11-AS* بیان مارکرهای استرس سرطان در داخل بدن را کاهش می‌دهد (۱۹). بر این اساس می‌توان اظهار کرد که هرچقدر بیان مارکرهای استرس سرطان در داخل بدن کاهش یابد، پیشرفت بیماری کندتر و سطح رشد تومور کمتر می‌شود. این نتایج با مطالعه حاضر همسو نیست؛ زیرا در مطالعه حاضر ما مشاهده کردیم که افزایش بیان ژن *HOXA11-AS* در درجه ۳ و ۴ بیماری بیشتر از درجه ۱ و ۲ است.

References:

1. Malmer B, Henriksson R, Grönberg H. Familial brain tumours-genetics or environment? A nationwide cohort study of cancer risk in spouses and first-degree relatives of brain tumour patients. *Int J Cancer* 2003;106(2):260-3. [PMID: 12800203](#)
2. Holland EC. Glioblastoma multiforme: the terminator. *Proc Natl Acad Sci* 2000;97(12):6242-4. [PMID: 10841526](#)
3. Diwanji TP, Engelman A, Snider JW, Mohindra P. Epidemiology, diagnosis, and optimal management of glioma in adolescents and young adults. *Adolesc Health Med Ther* 2017;8:99-113. [PMID: 28989289](#)
4. Baskaran S. New molecular approaches to glioblastoma therapy. [Doctoral Dissertation]. Uppsala: Acta Universitatis Upsaliensis; 2017. [Link](#)
5. Li Q, Jia H, Li H, Dong C, Wang Y, Zou Z. LncRNA and mRNA expression profiles of glioblastoma multiforme (GBM) reveal the potential roles of lncRNAs in GBM pathogenesis. *Tumour Biol* 2016;37(11):14537-52. [PMID: 27604987](#)
6. Chen G, Cao Y, Zhang L, Ma H, Shen C, Zhao J. Analysis of long non-coding RNA expression profiles identifies novel lncRNA biomarkers in the tumorigenesis and malignant progression of gliomas. *Oncotarget* 2017;8(40):67744-53. [PMID: 28978068](#)
7. Wheeler TM, Leger AJ, Pandey SK, MacLeod AR, Nakamori M, Cheng SH, et al. Targeting nuclear RNA for in vivo correction of myotonic dystrophy. *Nature* 2012;488(7409):111-5. [PMID: 22859208](#)
8. Seydoux G, Braun RE. Pathway to totipotency: lessons from germ cells. *Cell* 2006;127(5):891-904. [PMID: 17129777](#)
9. Aldape K, Brindle KM, Chesler L, Chopra R, Gajjar A, Gilbert MR, et al. Challenges to curing primary brain tumours. *Nat Rev Clin Oncol* 2019;16(8):509-20. [PMID: 30733593](#)

10. Rahmati S, Emadi Baigi M. Glioblastoma multi form. First National Conference on Biological Sciences, Islamic Azad University, Falavarjan, Iran; 2012. [Link](#)
11. Califf RM. Biomarker definitions and their applications. *Exp Biol Med* (Maywood) 2018;243(3):213-21. [PMID: 29405771](#)
12. Noori-Dalooi MR, Eshaghkhani Y. lncRNAs roles in cancer occurrence. *Med Sci J Islam Azad Univ Tehran Med Branch* 2015;25(3):163-82. [Link](#)
13. Reardon DA, Wen PY. Therapeutic advances in the treatment of glioblastoma: rationale and potential role of targeted agents. *Oncologist* 2006;11(2):152-64. [PMID: 16476836](#)
14. Wang Q, Zhang J, Liu Y, Zhang W, Zhou J, Duan R, et al. A novel cell cycle-associated lncRNA, HOXA11-AS, is transcribed from the 5-prime end of the HOXA transcript and is a biomarker of progression in glioma. *Cancer Lett* 2016;373(2):251-9. [PMID: 26828136](#)
15. Cao K, Fang Y, Wang H, Jiang Z, Guo L, Hu Y. The lncRNA HOXA11-AS regulates Rab3D expression by sponging miR-125a-5p promoting metastasis of osteosarcoma. *Cancer Manag Res* 2019;11:4505-18. [PMID: 31191012](#)
16. Li B, Wang W, Miao S, Li G, Lv Y, Xiang C, et al. HOXA11-AS promotes the progression of oral squamous cell carcinoma by targeting the miR-518a-3p/PDK1 axis. *Cancer Cell Int* 2019;19(1):140. [PMID: 31139017](#)
17. Xu C, He T, Li Z, Liu H, Ding B. Regulation of HOXA11-AS/miR-214-3p/EZH2 axis on the growth, migration and invasion of glioma cells. *Biomed Pharmacother* 2017;95:1504-13. [PMID: 28946213](#)
18. Mu S, Ai L, Fan F, Sun C, Hu Y. Prognostic and clinicopathological significance of long noncoding RNA HOXA11-AS expression in human solid tumors: a meta-analysis. *Cancer Cell Int* 2018;18:1. [PMID: 29308050](#)
19. Zhang Z, Zhou J, Zhang J, Duan R, Pu P, Han L. Downregulation of lncRNA-HOXA11-AS modulates proliferation and stemness in Glioma cells. *Chin Neurosurg J* 2017;3(1):1-7. [Link](#)