

بررسی بیان دو ژن از خانواده هموباکس در سرطان پستان

ابوالفضل عدلی^۱، سولماز خلدی^۱، محمدرضا بهروز یخوآه^۲، محمدمهدی فرقانی فرد^{۱*}

۱. گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران.

۲. گروه بیوشیمی و تغذیه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران.

چکیده

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۵/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۹/۲۶

مقدمه سرطان پستان یکی از کشنده‌ترین سرطان‌ها در بین زنان است. این نوع سرطان یک بیماری به شدت ناهمگن بوده و شامل CIS، (Lobular carcinoma in situ)، DCIS، (Ductal carcinoma in situ) و کارسینوم مهاجم است. شناسایی مسیرهای مولکولی می‌تواند در پیشگیری و راه‌های درمان این بیماری کمک کننده باشد. در این مطالعه، بیان دو ژن *CDX1*، *CDX2* در سرطان پستان بررسی شد.

روش کار در این مطالعه نخست استخراج RNA توسط کیت‌های استخراج RNA تام از ۴۰ بافت توموری و بافت نرمال مجاور در همان بیماران صورت گرفت. سپس سنتز cDNA توسط کیت تاکارا انجام شد و در ادامه میزان بیان ژن *CDX1*، *CDX2* توسط تکنیک Real time PCR به صورت نسبی مقایسه‌ای ارزیابی شد.

نتایج نتایج نشان داد که بیان ژن *CDX1* در بافت‌های توموری مبتلایان به سرطان پستان به میزان ۵۰ درصد و *CDX2* به میزان ۴۵ درصد به صورت معنادار کاهش پیدا کرده است. همچنین مطالعات آماری نشان داد که کاهش بیان *CDX1* با سایز تومور ارتباط مستقیمی دارد.

بحث و نتیجه‌گیری مسیرهای مختلف پیام‌رسانی سلولی سرطان‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند، با توجه به نتایج ما در این مطالعه، کاهش بیان دو ژن *CDX1*، *CDX2* در این سرطان احتمالاً نشان دهنده نقش تومور ساپرسوری آن‌ها است. مطالعات بیشتری نیاز است تا نقش دقیق این دو ژن را در سرطان پستان روشن کند.

کلیدواژه‌ها:

سرطان پستان، کاهش بیان ژن، *CDX1*، *CDX2*

مقدمه

نیز درگیر کند در سلول‌های سوماتیک جهش‌های خود به خودی زیادی اتفاق می‌افتد که در برخی موارد این جهش‌ها موجب تغییر در عملکرد سلول می‌شود [۱-۴]. سرطان پستان بعد از سرطان ریه، دومین علت مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در زنان ایالات متحده آمریکا بوده است. این سرطان شایع‌ترین سرطان زنان در کشورهای پیشرفته و در حال توسعه است [۵-۸].

سرطان به گروهی از بیماری‌ها گفته می‌شود که می‌تواند هر قسمتی از بدن را تحت تأثیر خود قرار دهد. به طور عادی رشد تکثیر تمایز و مرگ سلول‌ها با مکانیسم کاملاً دقیق و حساب‌شده‌ای انجام می‌شود اما گاهی گروهی از سلول‌ها از این کنترل خارج می‌شوند و با تقسیم بی‌رویه، توده سلولی به نام تومور را به وجود می‌آورند که می‌تواند بافت‌های مجاور را

۱ مہارکننده (سرکوب‌کننده)

* نویسنده مسئول: اکبر احمدی آسور

نشانی: سبزوار - دانشکده بهداشت - گروه مهندسی بهداشت حرفه‌ای

دورنگار:

تلفن: ۰۹۱۵۳۷۱۰۲۸۵

رایانه: Asour50@yahoo.com

شناسه ORCID: 0000-0002-5858-4251

شناسه ORCID نویسنده اول: 0000-0002-5144-8775

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دوره ۲۵، شماره ۶، بهمن و اسفند ۱۳۹۷، ص ۸۹۵-۹۰۲

آدرس سایت: <http://jsums.medsab.ac.ir> رایانامه: journal@medsab.ac.ir

شاپای چاپی: ۱۶۰۶-۷۴۸۷

جدول ۱. انواع سرطان و تخمین تعداد موارد شناسایی و مرگ آن‌ها در سال ۲۰۱۶ [۹]

Common types of cancer	Estimated new cases 2016	Estimated deaths 2016
1. Breast cancer (female)	246,660	40,450
2. Lung and bronchus cancer	224,390	158,080
3. Prostate cancer	180,890	26,120
4. Colon and rectum cancer	134,490	49,190
5. Bladder cancer	76,960	16,390
6. Melanoma of the skin	76,380	10,130
7. Non-Hodgkin lymphoma	72,580	20,150
8. Thyroid cancer	64,300	1,980
9. Kidney and renal pelvis cancer	62,700	14,240
10. Leukemia	60,140	24,400

بازوهای بزرگ ۱۷، ۱۲ و ۲ به ترتیب با حروف A، B، C، D نشان می‌دهند. [۱۳، ۱۴]

*CDX*ها را به دو زیر مجموعه اصلی *CDX1* و *CDX2* می‌توان تقسیم‌بندی کرد. بیان این دو ژن نخستین بار در سلول‌های اپی تلیالی کولورکتال به خوبی مطالعه شدند و نشان دادند که نقش ممانعت از تکثیر *antiprolifration* را از طریق تنظیم چرخه سلولی و *cdk*ها دارند. مطالعات نشان داده است که با توجه به نقش این دو ژن، آن‌ها به عنوان تومور ساپرسور معرفی شدند. به طوری که کاهش بیان این ژن‌ها از طریق متیله شدن پروموتورشان و از ناحیه جزایر CpG در ایجاد سرطان کولون نقش دارند. وانگ و همکاران [۱۵] نشان دادند که در سرطان برت (سرطان سلول‌های مری) بیان این دو ژن کاهش بیان پیدا کرده است و این کاهش بیان از طریق متیله شدن جزایر CpG پرموتور است. مطالعات بیشتر آن‌ها همچنین روشن کرد که این فاکتورهای التهابی متیله شدن را فعال می‌کنند.

مطالعات دیگر نشان دادند که این دو ژن با مسیرهای سیگنالینگ *Notch*، *Hedgehog*، *WNT* در ارتباط هستند. مطالعات تا کنون تأکید بر تومورساپرسور بودن این دو ژن داشتند ولی مطالعه کلی روی هموباکس‌ها نشان داده است که می‌توانند هر دو نقش تومور ساپرسوری و انکوژنی را داشته باشند و این به دلیل اختصاصیت هر بافت از نظر پروفایل بیان ژنی است.

اگرچه مطالعاتی که روی بیان ژن‌های *CDX1* و *CDX2* در سرطان کولورکتال و سرطان‌های گلیوما انجام شده است بیانگر آن است که ژن‌های *CDX1* و *CDX2* می‌توانند هر دو نقش تومور ساپرسوری و انکوژنی را داشته باشند، تاکنون مطالعه‌ای بیان ژن‌های *CDX1* و *CDX2* را در سلول‌های سرطانی پستان نشان نداده است، از این رو هدف ما در این

با وجود تشخیص زودهنگام درمان سرطان پستان در کشورهای پیشرفته این بیماری دومین سرطان رایج در بین زنان بوده که در کشورهای در حال توسعه طی چند دهه اخیر به ۳ تا ۴ برابر رسیده است [۱۰].

در ایران سرطان پستان بیشترین میزان را در میان سرطان‌ها به خود اختصاص می‌دهد، براساس آمارهای سازمان جهانی بهداشت در سال ۲۰۱۴ تعداد مبتلایان به سرطان پستان در ایران ۹۷۹۵ زن بود [۱۱].

بیماری سرطان برپایه و اساس اختلالات ژنتیکی بنا نهاده شده است. به همین دلیل امروزه نقشی بسیار مهمی در این دسته از بیماری‌ها را برای آن در نظر می‌گیرند. این اختلالات می‌تواند بزرگ (درمقیاس مولکولی) در حد کروموزوم یا بسیار کوچک در حد نوکلئوتید باشد که نهایتاً به تغییرات غیرقابل بازگشت در سلول می‌انجامد. روش‌های تکنیکی موسوم در ژنتیک سرطانی عمدتاً برپایه بررسی‌های مولکولی یا سیتوژنتیکی است. براین اساس قادر خواهیم بود سرطان‌های فامیلیال را در خانواده غربال کرده و در برخی موارد خواهیم توانست به تشخیص بیماری یا بررسی احتمال عود، میزان پاسخگویی به درمان و پیش‌بینی پیش‌آگهی سرطان کمک کنیم در بعد درمانی، روش‌های ژن درمانی عمدتاً به‌عنوان درمان مکمل و نه قطعی به کار می‌روند.

ژن‌های هموباکس نخستین بار در دروزفیلای شناسایی شدند که جهش در این ژن‌ها باعث بدشکلی (*malformation*) در مگس سرکه می‌شد. همان‌طور که از اسم این ژن‌ها مشخص است، در توسعه و رشد جنین و در زمان تعیین محور پشتی شکمی رشد و نمو درگیر هستند [۱۲].

هموباکس‌ها به دو دسته اصلی شامل *HOX*ها و غیر *HOX*ها دسته‌بندی می‌شوند. در انسان‌ها ۳۹ ژن *HOX* شناسایی شده است که در کروموزوم‌های بازوی کوچک ۷،

جدول ۲. مشخصات پرایمرژن‌های *CDX1*, *CDX2*

نام توالی ژن	توالی
<i>CDX1</i> revers	CATTACAGCCGTTACATCAACAATC
<i>CDX1</i> forward	CTGCTGCTGTTTCTTCTTGTTACAC
<i>CDX2</i> revers	AGCCAAGTGAAAACCAGGACGA
<i>CDX2</i> forward	TCTCCTTTGCTCTGCGGTTCTG

یافته‌ها

بیان ژن‌های *CDX1*, *CDX2*

مطالعات ما نشان داد که بیان دو ژن *CDX1* و *CDX2* به ترتیب به ۴۵ و ۵۰ درصد کاهش پیدا کرده است. اگرچه بیان این دو ژن در بعضی افراد افزایش بیان را نشان می‌داد ولی در مجموع جمعیت مورد مطالعه ما نشان از کاهش بیان این دو ژن بود.

ارتباط بیان ژن‌های *CDX1*, *CDX2* با فاکتورهای بالینی

در این مطالعه ارتباط بیان این دو ژن و فاکتورهای بالینی توسط تست‌های آماری انجام گرفت که ارتباط بیان ژن‌های *CDX1*, *CDX2* با سن بیمار معنادار نبوده است ($p=0/997$) ($p=0/059$) به ترتیب. همچنین نشان دادیم که ارتباط بیان ژن‌های *CDX1*, *CDX2* با سطح هموگلوبین بیمار معنادار نبوده است ($p=0/907$) ($p=0/414$).

ارتباط بیان ژن‌های *CDX1*, *CDX2* با سایز تومور و گرید (درجه) تمایز

در این بررسی نشان داده شد که ارتباط بیان ژن *CDX1* با سایز تومور معنادار بود ($p=0/000$) اما ارتباط بیان ژن *CDX2* با سایز تومور معنادار نبوده است ($p=0/829$). همچنین در این بررسی نشان داده شد که ارتباط بیان ژن‌های *CDX1*, *CDX2* با گرید (درجه) تمایز معنادار نبوده است ($p=0/228$) ($p=0/184$).

ارتباط بیان ژن‌های *CDX1*, *CDX2* با سطح بندی نوع T با invasion Perineural

ارتباط بیان ژن‌های *CDX1*, *CDX2* با سطح بندی نوع T (عمق تهاجم تومور) معنادار نبوده است ($p=0/065$) ($p=0/810$) همچنین در این مطالعه نشان داده شد که ارتباط بیان ژن *CDX1* با invasion Perineural معنادار نیست ($p=0/230$) اما کاهش بیان ژن *CDX2* با invasion Perineural معنادار است ($p=0/044$).

مطالعه بررسی بیان این ژن‌ها در سرطان پستان و بررسی ارتباط آن با فاکتورهای بالینی بیماران بود.

روش‌ها

اطلاعات بالینی نمونه‌ها

در این مطالعه ۸۰ نمونه از ۴۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان (۴۰ عدد نرمال و ۴۰ عدد توموری) از بیمارستان امام خمینی (ره) تهیه شد. از نمونه‌های به دست آمده، برش‌های کوچک تهیه و در میکروتیوپ‌های ۱/۵ میلی‌لیتری استریل قرار داده شد و میکروتیوپ‌های حاوی نمونه به فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد انتقال یافتند. فرم رضایت‌نامه آگاهانه توسط تمام بیماران تکمیل و از ایشان دریافت شد.

استخراج RNA و سنتز cDNA

RNA تام با استفاده از کیت Rnplus (شرکت سیناژن) (Cat No: EX6101) و با استفاده از پرتوکل شرکت استخراج شد و تا لحظه ساختن cDNA در فریزر منفی ۸۰ نگهداری شد. به منظور سنتز cDNA از کیت تاکارا (شرکت ژاپن) (Cat# RR037A) استفاده شد و با توجه به مقادیر تعیین شده در دستورالعمل کیت، cDNA از RNA تام ساخته شد.

انجام Real Time PCR

در این مرحله توسط پرایمرهای طراحی شده در جدول ۲ توسط دستگاه Real-time (BIO RAD) و با استفاده از روش Syber Green، بیان ژن‌های *CDX1*, *CDX2* ارزیابی شدند. در این مطالعه از ژن خانگی GAPDH برای نرمالایز کردن واکنش استفاده شد. بدین منظور در هر بار واکنش Real-time PCR نمونه‌های نرمال و تومور به صورت تکرارهای دوتایی گذاشته شدند و برای هر نمونه برای نرمال‌سازی GAPDH نیز استفاده شد. مشخصات دمایی به کار رفته دارای ۲ قسمت بوده که قسمت اول شامل ۹۴ درجه ۱۰ دقیقه که در این مرحله آنزیم پلی‌مراز فعال می‌شود و قسمت دوم شامل ۳۹ سیکل PCR یعنی ۹۵ درجه، ۱۵ ثانیه، ۵۶ درجه، ۲۰ ثانیه و ۷۲ درجه، ۳۰ ثانیه است. دستگاه در پایان هر سیکل روند تکثیر را نشان می‌دهد.

آنالیز داده‌ها

در این مطالعه آنالیز آماری با استفاده از SPSS19.9 انجام گرفت. برای بررسی ارتباط بین ژن‌ها از تست Pearson و بررسی ارتباط بیان ژن‌ها با فاکتورهای کلینیک و پاتولوژیکی از T-test و ANOVA استفاده شد. در این بررسی Pvalue کمتر از ۰/۰۵ قابل تعمیم به جامعه آماری است.

جدول ۳. ارتباط داده‌های کلینیکی و بیان ژن‌ها

		N	CDX1 expression P value	CDX2 expression P value
Age (years)	>50	20	.997	.059
	<50	20		
Tumor size	0-2	2	*.000	.829
	2-5	28		
	5<	8		
Pathological (T)	Tx	2	.065	.810
	T1a	2		
	T2	25		
	T3	9		
	T4	2		
Pathological (N)	Nx	4	.388	.018
	NOITC	2		
	NO(NOC)	12		
	N1	13		
	N2	7		
	N3	2		
Clinical Metastasis	Mx	3	.230	*.044
	M0	35		
	M1	1		
	M pending	1		
Histology grade	I	7	.228	.184
	II	18		
	III	8		
	X	7		
Lobular carcinoma in situ histology				

* نشان دهنده معنادار بودن است

بحث

پستان شایع‌ترین سرطان تشخیص داده شده در زنان است اما در زنان بالای ۴۰ سال، شایع‌تر است. [۱۶، ۱۷] سرطان پستان، شایع‌ترین سرطان زنان در کشورهای پیشرفته و در حال توسعه است که میزان بروز آن در سال‌های اخیر به‌طور چشمگیری افزایش یافته است. تخمین زده می‌شود که سالانه ۱/۱ میلیون مورد جدید سرطان پستان در سراسر دنیا تشخیص داده می‌شود که این میزان بالغ بر ۲۰ درصد کل بدخیمی‌های زنان را تشکیل می‌دهد. آمارها نشان داده است که تعداد موارد سرطان پستان تازه تشخیص داده شده در اروپا ۹۴/۳ و در آمریکا ۱۲۵/۳ به ازای هر صد هزار زن در سال است. [۱۸، ۱۹]

مطالعات مولکولی تاکنون بیان ژن‌های مختلف را در سرطان پستان بررسی کرده‌اند و ارتباط خوبی پیدا شده است.

به طور عادی رشد، تکثیر، تمایز و مرگ سلول‌ها با مکانیسمی کاملاً دقیق و حساب شده انجام می‌گیرد. اما گاهی گروهی از سلول‌ها از این کنترل خارج می‌شوند و با تقسیم‌های بی‌رویه، توده‌ای سلولی به نام تومور (غده یا نئوپلاسم) را به وجود می‌آورند. تومورها در کل به دو صورت خوش‌خیم و بدخیم وجود دارند.

سرطان پستان، رشد غیرطبیعی سلول‌های لنفاوی یا مجاری سینه است. این سلول‌ها به سرعت رشد می‌کنند و به دیگر قسمت‌های بدن گسترش می‌یابند. زنان و مردان می‌توانند به سرطان پستان مبتلا شوند، اگرچه سرطان پستان در مردان بسیار نادر است. با توجه به مطالعات انجام شده در کشور استرالیا بعد از سرطان پوست غیر ملانوم، سرطان

بدن، همچنین از سوی دیگر اختلالات بدن دارند. یومیگو فوجی [۲۴] در مطالعه‌ای که روی سلول‌های سرطانی معده انجام داد، نشان داد که بیان دو ژن حفظ سلول‌های بنیادی، SALL4 و KLF4 که باعث حالت stemness می‌شوند، تحت تأثیر کاهش بیان *CDX1* افزایش بیان پیدا کرده و باعث سرطانی شدن بیشتر این سلول‌ها می‌شوند.

با توجه به یافته‌های ما در این مطالعه، کاهش بیان ژن *CDX2* با حمله به سلول‌های پیش نوروبی در ارتباط بوده است. یا اندازه تومور از فاکتورهای دیگر سرطان پستان است که در مطالعات ما ارتباط مستقیمی بین کاهش بیان *CDX1* و افزایش اندازه تومورها دیده شده است. همسو با داده‌های این مطالعه کسپا [۲۵] نشان داده است که *HOXA11* نیز در سرطان پستان هایپرمتیله شده است و این کاهش بیان با متاستاز و *invasive ductal carcinomas* در ارتباط است. در همین مطالعه نشان داده شد که با افزایش بیان این ژن از رشد سلول‌های سرطانی در رده‌های سلولی مختلف پستان کم می‌شود.

لی و همکاران [۲۶] در مطالعه‌ای روی بیان ژن‌های همودمین و سرطان پستان نشان دادند که ژن *HOXA9* هایپر متیله است و در سلول‌های مختلف این سرطان به اثبات رسیده است. ژنگ و همکاران [۲۷] با بررسی بیان ژن *HOXD13* نشان دادند که پرموتور این ژن هایپرمتیله شده و باعث کاهش بیان این ژن شده است. ارتباط داده‌های کلینیکی با بیان این ژن نشان داد که همسو با داده‌های ما، کاهش بیان این ژن با اندازه تومور پستان در ارتباط است. همچنین این کاهش بیان باعث پروگنوز بد در سرطان می‌شود.

لی و همکاران [۲۸] در مقاله‌ای نشان دادند که بیان *HOXB5* در سرطان پستان افزایش پیدا کرده است و این افزایش بیان با بیان ژن‌های *RET*, *ERBB2*, and *EGFR* در ارتباط مستقیم است. همچنین افزایش بیان این ژن موجب تکثیر و حمله به بافت‌های دیگر می‌شود.

در کنار کاهش بیشتر ژن‌های همودمین (*HOX* و غیر *HOX*) بررسی مکانیسم علت کاهش تنها به متیله شدن پرموتور نباید محدود باشد. ژهوانگ [۲۹] در مطالعه‌ای نشان داد که *HOX antisense intergenic RNA (HOTAIR)* نقش بسیار مهمی در کاهش بیان ژن‌های همودمین از طریق *EZH2* دارند. این مطالعه نشان داد که افزایش بیان این *HOTAIR* ها علاوه بر به هم ریختگی بیان ژن‌های مختلف باعث تکثیر رشد شدید در رده سلولی *MCF7* می‌شود. *HOTAIR* ها جز *RNA* های عملکردی و غیر کد شونده‌ای به نام *long non-coding RNA* هستند که این نوع ژن‌های

به طور مثال، افزایش بیان *her2* بر همگان ثابت شده و افراد سرطانی که این مشکل را دارند داروی هرسپتین برای آن‌ها استفاده می‌شود. در واقع همین مثال نشان می‌دهد که برای هر فردی باید بر اساس مشکل مولکولی خاصی که دارد دارو استفاده شود. در این مطالعه ما با بررسی دو ژن مهم مربوط به همودمین‌ها نشان دادیم که این دو ژن مهم نیز در سرطان پستان نقش مهمی دارند و بیان این دو ژن کاهش پیدا کرده است. کاهش بیان این ژن‌ها در سرطان‌های مختلف نشان داده شده و مکانیسم‌های مختلفی برای آن‌ها ذکر شده است. جان لینگ [۲۰] نشان داد که کاهش بیان ژن سرطان سلول‌های روده را افزایش می‌دهد، آن‌ها با مطالعات بیشتر متوجه شدند در واقع بیان *CDX1* موجب کاهش بیان سیکلین *D1* می‌شود (سیکلین *D1* در تنظیم چرخه سلولی نقش دارد) و از این طریق باعث کاهش تکثیر سلول‌های سرطانی روده می‌شود.

مکانیسم دیگری که باعث کاهش بیان این دو ژن می‌شود، متیله شدن پرموتور این ژن‌ها است. وانگ و همکاران [۱۵] نشان دادند که در سرطان بررت (سرطان سلول‌های مری) بیان این دو ژن کاهش بیان پیدا کرده است و این کاهش بیان از طریق متیله شدن جزایر *CpG* پرموتور است. مطالعات بیشتر آن‌ها همچنین روشن کرد که این فاکتورهای التهابی متیله شدن را فعال می‌کنند.

ژانگ و همکاران [۲۱] اثر اکسیداتیو استرس را بر *CDX1* سنجیدند و مشاهده کردند که *H2O2* با فعال کردن *DNA methyltransferase 1 (DNMT1)* and *histone deacetylase (HDAC1)* 1 (این آنزیم در متیله کردن *CpG*‌ها نقش دارد). با خاموش کردن این ژن باعث تشدید سرطان کلورکتال می‌شوند.

مطالعات دیگری در سال‌های ۲۰۱۶ و ۲۰۱۷ نقش *miRNA*ها را در سرطان‌های گلیوما نشان داد که با تأثیر گذاشتن بر بیان ژن‌های *CDX1* و *CDX2* و کاهش بیان این ژن‌ها در تشدید این سرطان نقش دارند. نقش *miRNA*ها در مکانیسم طبیعی بدن تنظیم بیان ژن‌های مختلف و خاموش کردن آن‌ها بعد از رونویسی است. حال اگر بیان این *miRNA*ها اختلال داشته باشد باعث بی‌نظمی از جمله سرطان در بدن می‌شود. برای مثال بیان *miR-155* در سرطان گلیوما افزایش پیدا کرده است و این افزایش به کاهش بیان *CDX1* انجامید و از این طریق سرطان تشدید شده است [۲۲]. مطالعه دیگری در سال ۲۰۱۲ بیان *miRNA*ها مختلف را در سرطان کوروکتال سنجید و نشان داد که چندین *miRNA* هستند که بر بیان این دو ژن اثر دارند [۲۳].

ارتباط ژن‌ها با یکدیگر نقش بسیار مهمی در نظم طبیعی

می‌شوند می‌توان با متیله شدن CPGها، متیله شدن هیستون‌های مختلف، افزایش بیان miRNA ها مختلف اشاره کرد که پیشنهاد می‌شود مطالعات Highthroughput برای این موارد صورت گیرد.

از سوی دیگر ارتباط کاهش بیان این ژن با ژن‌های دیگر از مطالعات مهم دیگری است که در آینده باید صورت بگیرد. این مطالعات بیان ژن‌های مستر را روشن می‌کند و می‌تواند هدف درمان‌های پزشکی خود محور قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

در این مطالعه از همکاران مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار که ما را در انجام این طرح یاری کردند بسیار سپاسگزاریم.

References

- [1] Haghghat S, Akbari ME, Ghaffari S, Yavari P. Health expenditure in initial diagnostic and treatment approach to non-metastatic breast cancer in Iran. 2013; 6(2): 14-25.
- [2] Ganz PA. Psychological and social aspects of breast cancer. *Oncology*. 2008; 22(6):642.
- [3] Yabroff KR, Lund J, Kepka D, Mariotto A. Economic burden of cancer in the United States: estimates, projections, and future research. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2011;20(10):2006-14.
- [4] Martincorena I, Campbell PJ. Somatic mutation in cancer and normal cells. *Science*. 2015;349(6255):1483-9.
- [5] Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2015;65(2):87-108.
- [6] Naghibi SA, Shojazadeh D, Yazdani CJ, Montazeri A. Breast cancer preventive behaviors among Iranian women: a systematic review. 2015; 2: 181-191.
- [7] Hayat MJ, Howlader N, Reichman ME, Edwards BK. Cancer statistics, trends, and multiple primary cancer analyses from the Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program. *The oncologist*. 2007; 12(1):20-37.
- [8] Miller KD, Siegel RL, Lin CC, Mariotto AB, Kramer JL, Rowland JH, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, CA: a cancer journal for clinicians. 2016;66(4):271-89.
- [9] Kimberly S. Peairsa b, n, Youngjee Choia, Rosalyn W. Stewart, Heather F. Sateiaa. Screening for breast cancer. www.elsevier.com/locate/ysonc. 2017.
- [10] Salehzadeh R, Abdullah R. Solid lipid nanoparticles as new drug delivery system. *International Journal of Biotechnology and Molecular Biology Research*. 2011; 2(13):252-61.
- [11] Mohagheghi MA, Mosavi-Jarrahi A. Review of cancer registration and cancer data in Iran, a historical prospect. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2010; 11(4):1155-7.
- [12] Haria D, Naora H. Homeobox gene deregulation: impact on the hallmarks of cancer. *Cancer hallmarks*. 2013;1(2-3):67-76.
- [13] Shah N, Sukumar S. The Hox genes and their roles in oncogenesis. *Nature Reviews Cancer*. 2010;10(5):361.
- [14] Platais C, Hakami F, Darda L, Lambert DW, Morgan R, Hunter KD. The role of HOX genes in head and neck squamous cell carcinoma. *Journal of Oral Pathology & Medicine*. 2016;45(4):239-47.
- [15] Wong N, Britton M, Choi G, Stanton T, Bicknell D, Wilding J, et al. Loss of CDX1 expression in colorectal carcinoma: promoter methylation, mutation, and loss of heterozygosity analyses of 37 cell lines. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004;101(2):574-9.
- [16] Antoniou A, Easton D. Models of genetic susceptibility to breast cancer. *Oncogene*. 2006;25(43):5898.
- [17] Kissane DW, Clarke DM, Ikin J, Bloch S, Smith GC, Vitetta L, et al. Psychological morbidity and quality of life in Australian women with early-stage breast cancer: a cross-sectional survey. *The Medical Journal of Australia*. 1998; 169(4):192-6.
- [18] HasanpourDehkordi A. Factors affecting quality of life in cancer patients under chemotherapy in tehran (2004). *Journal of Kermanshah University of Medical Sciences (J Kermanshah Univ Med Sci)*. 2006;10(2)
- [19] Karimi Z, Houshyar-Rad A, Rashidkhan B. Dietary patterns and breast cancer among women. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2012;14(1):53-62.
- [20] Lynch J, Keller M, Guo R-J, Yang D, Traber P. Cdx1 inhibits the proliferation of human colon cancer cells by reducing cyclin D1 gene expression. *Oncogene*. 2003;22(41):6395.
- [21] Zhang R, Kang KA, Kim KC, Na S-Y, Chang WY, Kim GY, et al. Oxidative stress causes epigenetic alteration of CDX1 expression in colorectal cancer cells. *Gene*. 2013;524(2):214-9.
- [22] Yang L, Li C, Liang F, Fan Y, Zhang S. MiRNA-155 promotes proliferation by targeting caudal-type homeobox 1 (CDX1) in glioma cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017;95:1759-64.
- [23] Tagawa T, Haraguchi T, Hiramatsu H, Kobayashi K, Sakurai K, Inada K-I, et al. Multiple microRNAs induced by Cdx1 suppress Cdx2 in human colorectal tumour cells. *Biochemical Journal*. 2012;447(3):449-55.
- [24] Fujii Y, Yoshihashi K, Suzuki H, Tsutsumi S, Mutoh H, Maeda S, et al. CDX1 confers intestinal phenotype on gastric epithelial cells via induction of stemness-associated reprogramming factors SALL4 and KLF5. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012;109(50):20584-9.
- [25] Xia B, Shan M, Wang J, Zhong Z, Geng J, He X, et al. Homeobox A11 hypermethylation indicates unfavorable prognosis in breast cancer. *Oncotarget*. 2017;8(6):9794.
- [26] Li M, Li X, Zhuang Y, Wang Y, Burow ME, Collins-Burow B, et al. Induction of HOXA9 expression in three-dimensional organotypic culture of the Claudin-low breast cancer cells. *Oncotarget*. 2016;7(32):51503-51514.
- [27] Zhong Z, Shan M, Wang J, Liu T, Xia B, Niu M, et al. HOXD13 methylation status is a prognostic indicator in breast cancer. *International journal of clinical and experimental pathology*. 2015;8(9):10716.
- [28] Lee J-Y, Hur H, Yun HJ, Kim Y, Yang S, Kim SI, et al. HOXB5 promotes the proliferation and invasion of breast cancer cells. *International journal of biological sciences*. 2015;11(6):701.

[29] Zhuang Y, Nguyen HT, Burow ME, Zhuo Y, El-Dahr SS, Yao X, et al. Elevated expression of long intergenic non-coding RNA HOTAIR in a basal-like variant of MCF-7 breast cancer cells. *Molecular carcinogenesis*. 2015;54(12):1656-67.

[30] Cai B, Song X, Cai J, Zhang S. HOTAIR: a cancer-related long non-coding RNA. *Neoplasma*. 2014;61(4):379-91.

The Expression of Two Homeobox Genes in Breast Cancer

Abolfazl Adli¹, Solmaz Kholdi¹, Mohammad Reza Behroozikhah², Mohammad Mahdi Forghanifard^{1*}

1. Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran
2. Department of Biochemistry and Nutrition, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

Abstract

Introduction Breast cancer is one of the main cause of cancer-related death in women in the world. This cancer is heterogeneous consisting of three types including LCIS (Lobular carcinoma in situ), DCIS (Ductal carcinoma in situ), and invasive carcinoma. Although there are different therapeutic modalities such as chemotherapy and surgery, investigation of the involved molecular mechanisms help to diagnosis the disease at primary stages. In this study, we aimed to analyze the expression of CDX1 and CDX2 in breast cancer.

Materials & Methods In this study, total RNA was extracted from 40 tumor and their corresponded margin normal tissues using RNA extraction kit. After cDNA synthesis with Takara cDNA synthesis kit, expressional analysis of CDX1 and CDX2 gene was evaluated by Real time PCR techniques.

Results The data showed that the expression of CDX1 and CDX2 genes were decreased in breast cancer in 50% and 45%, respectively. Also, statistical analysis demonstrated that the underexpression of CDX1 was correlated with tumor size.

Conclusion To the best our knowledge, this is the first study that shows the reduced expression of these gene in breast cancer. We suggest that these genes may have tumor suppressor role in breast cancer although more studies are needed to show the main mechanism of their role in breast cancer.

Received: 2018/08/08

Accepted: 2018/12/17

Keywords: breast cancer, CDX1, CDX2, realtime PCR.