Archive of SID

مجلـه‌ی علمی، پژوهشی دانشگاه علـوم پزشـکی زنجـان
دوره‌ی ۲۵، شمـاره‌ی ۱۱۱، مهـر و آبان ۱۳۹۶، صفحات ۵۷ تا ۶۶

بررسی بیان RNA غیرکدکننده طویل HOTAIR در مبتلایان به لوسمی میلوئیدی مزمن

مونا آقامحمدحسین تجریشی[۱]، دکتر امیر آتشی[۲]، دکتر مسعود سلیمانی[۳]، الهام سجادی[۱]، دکتر پرویز فلاح[۴]،
دکتر سعید کاویانی[۳]، دکتر سعید آبرون[۳]

نویسنده‌ی مسئول: گروه علوم پایه پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود atashia@gmail.com

دریافت: ۹۴/۸/۳۰ پذیرش: ۹۵/۸/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: *RNA های غیرکدکننده طویل (lncRNA)، گروه جدیدی از RNA غیرکدکننده هستند که امروزه در مقیاس ژنـومی گـسترده‌ای مورد مطالعه قرارگرفته‌اند. lncRNA ها نقش‌های بیولوژیکی متنوعی در زمینه‌ی بیان ژن، تمایز سلولی و بیماری‌زایی دارند. مطالعات اخیر نقـش مهم lncRNA ها را در سرطان‌ها از جمله بدخیمی‌های خونی نشان داده‌اند، که مـی‌تواننـد ابـزاری جهـت تـشخیص و پـیش‌آگهـی بـسیاری از بیماری‌ها و به‌عنوان یک جایگزین‌درمانی محسوب شوند. این تحقیق به بررسی بیان RNA غیرکدکننده طویل HOTAIR در لوسمی میلوئیـدی مزمن (CML) که یک اختلال بدخیم در سلول بنیادی خون‌ساز است، می‌پردازد.*

روش بررسی: *نمونه خون محیطی از ۳۰ فرد مبتلا به CML و ۲۰ فرد سالم جمع‌آوری شد. بیماران انتخاب‌شده هیچ‌گونه سابقه‌ی گرفتن درمان نداشتند و در همگی، آزمون BCR-ABL مثبت بود. انتخاب افراد سالم بر مبنای برابری سن و جنس با بیماران بود، و سابقه‌ی ابتلا به‌بیماری‌های زمینه‌ای را نیز نداشتند. RNA تام از افراد بیمار و سالم استخراج و سطح بیان ژن HOTAIR با استفاده از تکنیک qRT-PCR سنجیده شد.*

یافته‌ها: *با مقایسه کمی بیان ژن در بین دو گروه بیمار و نرمال مشخص گردید، بیان ژن HOTAIR در بیماران مبتلا به CML در مقایسه با افراد سالم افزایش معنی‌داری دارد (۰/۰۵).*

نتیجه‌گیری: *یافته‌های ما نشان داد که تغییر در بیان ژن HOTAIR می‌تواند در بیولوژی لوسمی میلوئیدی مزمن دخالت داشته باشد.*

واژگان کلیدی: RNA های غیرکدکننده طویل، HOTAIR، لوسمی میلوئیدی مزمن، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز کمی

مقدمه

لوسمی میلوئیدی مزمن (CML) یک اخـتلال بـدخیم در سلول بنیادی خون ساز با شاخص ژنتیکی کروموزوم فیلادلفیـا (در ۹۵ درصد موارد) و تکثیـر بـیش‌ازحـد سـلول‌هـای رده‌ی میلوئیدی است. افـزایش سـلول‌هـای رده‌ی میلوئیـدی در اثـر فعالیت تیروزین کینازی محـصول انکـوپروتئین ژن کایمریـک BCR-ABL است. پروتئین BCR-ABL پیغام‌های تحریکـی خـود را از طریـق شـبکه‌ای پیچیـده متـشکل از مـسیرهای مولکولی انتقال داده و موجب کاهش مرگ برنامـه‌ریـزی‌شـده

۱- کارشناس ارشد خون‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
۲- دکترای تخصصی خون‌شناسی، استادیار گروه علوم پایه پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود
۳- دکترای تخصصی خون‌شناسی، دانشیار گروه خون‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
۴- دکترای تخصصی خون‌شناسی، استادیار گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج

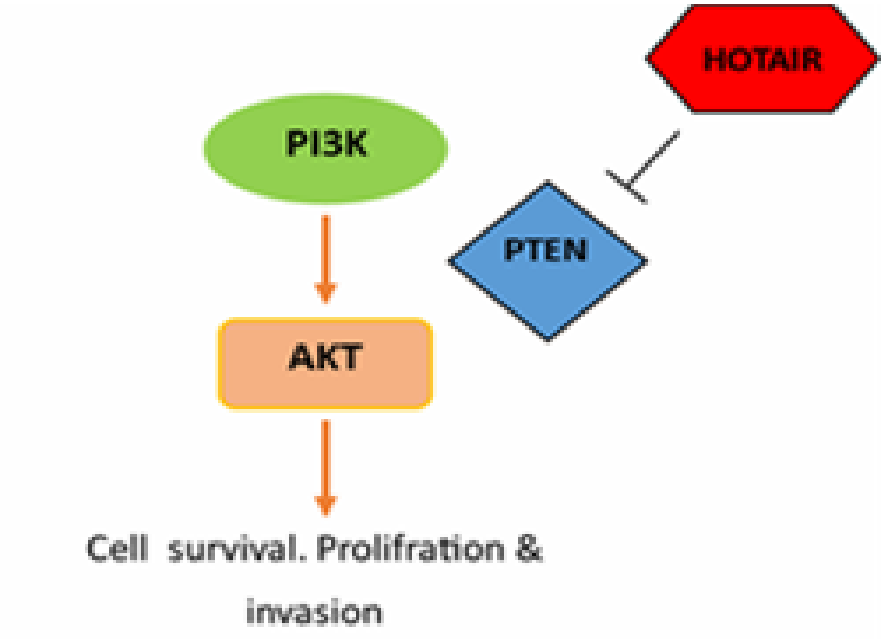
Downloaded from zums.ac.ir at 9:57 IRDT on Wednesday June 7th 2017

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from zums.ac.ir at 9:57 IRDT on Wednesday June 7th 2017

سلول (آپوپتوز) و افزایش رونـد تکثیـر مـی‌گـردد (۱). مـسیر انتقال پیام PI3K، یکی از مسیرهای تیروزین کینازی دخیل در اختلال CML است، که افزایش فعالیـت آن بـر رونـد تکثیـر رده‌ی میلوئیدی تاثیرگذار است. این مسیر دارای فعالیت بسیار زیادی در طیف وسیعی از سرطان ها است. افزایش فعالیت این مسیر تیروزین کینازی منجر به افـزایش تقـسیم، تمـایز، بقـا و متابولیسم سلولی مـی‌شـود (۲). ژن PTEN ، کـه از ژن‌هـای مهارکننده‌ی تومور است، مهارکننده‌ی مسیر سیگنالینگ PI3K اسـت. از تنظـیم خـارج شـدن ژن PTEN در تعـدادی از بدخیمی های انسانی، مانند لوسمی میلوئیـدی مـزمن گـزارش شده است، و متیلاسیون نابجا در ژن های مهارکننـده‌ی تومـور مرتبط با پیشرفت سرطان است (۵-۳) (شکل ۱).



شکل ۱: شکل فوق نشان‌دهنده تاثیر HOTAIR بر PTEN است. بیان ژن HOTAIR اثر مهاری بر PTEN دارد، که نتیجه‌ی آن افزایش فعالیت مسیر PI3K در تکثیر بیش از حد سلول‌های رده‌ی میلوئیدی در بیماری CML است.

لوسمی میلوئیدی مزمن شایع ترین اختلال میلوپرولیفراتیو بوده و حدود ۱۵ تا ۲۰ درصد موارد جدید تشخیص لوسمی را بین بیماری بزرگسالان به خود اختصاص مـی دهـد. میـزان شـیوع بیماری ۱ تا ۱/٦ در ۱۰۰۰۰۰ نفر در سال است. احتمال وقـوع بیماری در هر سنی وجود دارد، اما پیک آن در سن ۵۰ تـا ۷۰ سالگی است و تنها ۳ درصد موارد در کودکان اتفاق مـی‌افتـد. روش های درمانی شامل رادیوتراپی و استفاده از مـواد آلکیلـه کننده به‌ویژه بوسولفان و مهارکننده‌ی تیروزین کیناز اسـت. بـا وجود درمان‌های موجـود میـزان مـرگ‌ومیـر در ایـن بیمـاران بالاست و مکانیسم های پاتوژنیک دخیـل در ایـن بیمـاری اثـر مهـاری بـر روش‌هـای درمـانی دارد (۸-٦). یکـی از راه‌هـای مطالعه کنترل تمایز در سرطان های خـون اسـتفاده از رده‌هـای سلولی مشتق شده از سلول‌های سرطانی اسـت. K562 اولـین رده‌ی سـلولی نـامیرا اسـت کـه در لوسـمی میلوئیـد مـزمن مورداسـتفاده قـرار گرفـت. سـلول‌هـای K562 از نـوع اریترولـوکمی مـی‌باشـند، ژن الحـاقی BCR/ABL در ایـن سلول ها مثبت است (۱۰و۹). ژنوم پستانداران شامل توالی های کدکننده (کمتر از ۲ درصد کل ژنوم) و غیرکدکننـده (بـیش از

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from zums.ac.ir at 9:57 IRDT on Wednesday June 7th 2017

۹۰ درصد کل ژنوم) است. توالی های کدکننده و غیرکدکننده با همکاری یکدیگر موجب ساخت، سازمان دهی ساختارهای سلولی و تنظیم الگوهای بیان ژن می‌شوند و در نهایت باعث تعیین هویت سلول و عملکرد آن می‌شوند. توالی‌های غیرکدکننده فاقد ظرفیت برای سنتز پروتئین است و در طیف گسترده‌ای از اعمال سلولی شرکت می کنند. این وظایف شامل: سازمان دهی سنتز پروتئین (مانند RNA ریبوزومی و tRNA)، تنظیم سنتز پروتئین (مانند MicroRNA ها) و تنظیم بیان ژن در سطوح رونویسی و پس از رونویسی (مانند Long non coding RNA ها) است(۱۳-۱۱). LncRNA ها اخیرا در مقیاس ژنومی وسیعی شناسایی شده‌اند و تنها بخش کوچکی از عملکردشان تا به امروز شناخته‌شده است. lncRNA ها بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید طول دارند و توسط RNA پلیمرازII رونویسی می‌شوند. lncRNA های انسانی در طیفی از فرایندهای بیولوژیکی شرکت می کنند، این فرایندها شامل: اپی ژنتیک، پردازش فرعی، تخریب RNA و ترجمه است. مطالعات به‌دست‌آمده اختلال در تنظیم بیان lncRNA ها را در سرطان‌های متعددی نشان داده است، و این مطلب بیان‌کننده‌ی آن است که lncRNA ها می‌توانند نقش بالقوه‌ایی را به عنوان انکوژن و یا مهارکننده‌ی تومور داشته باشند (۱۶-۱۴). شواهدی دال بر این موضوع وجود دارد که سطح بیان lncRNA ها در نمونه های بیمار در مقایسه با نمونه های افراد سالم متفاوت است (۱۷).

ژن HOTAIR یکی از بیشترین lncRNA هایی است که در اصلاح ژنوم مورد مطالعه قرارگرفته است. جایگاه کروموزومی رونوشت HOTAIR بین HOXC11 و HOXC12 است، اما عملکرد آن مهار گروه‌های دیستال ژن‌های HOXD همولوگ در ترانس است. تاثیر HOTAIR بر بیان ژن، به‌واسطه‌ی مدیفکاسیون هیستونی است. مطالعات نشان داده‌اند که میزان بیان ژن HOTAIR در سرطان های سینه سلول های کبدی، کارسینومای حنجره، کولورکتال و پانکراس به طور قابل توجهی بالا است (۲۲-۱۸). سطح بیان ژن HOTAIR، از lncRNA های مشتق شده از ژن‌های کلاستر HOX، در سرطان‌های مختلفی مورد مطالعه قرارگرفته است. ژن HOTAIR، واقع بر کلاستر HOXC، در ارتباط با PRC2 است و از طریق مدیفیکاسیون هیستون‌ها دارای اثر مهاری بر روی ژن های کلاستر HOXD است (۲۴و۲۳). همچنین ژن HOTAIR با متیلاسیون نواحی CPG در پروموتر PTEN باعث مهار این ژن شده و در نهایت موجب افزایش فعالیت تیروزین کینازی و افزایش تومورزایی می‌گردد (۲۵).

برای اولین بار در این مطالعه، به بررسی بیان ژن غیرکدکننده‌ی طویل HOTAIR در ۳۰ بیمار مبتلا به لوسمی میلوئیدی مزمن و رده‌ی سلولی K562 پرداخته‌شده است. همچنین نسبت بیان این ژن بین دو گروه بیمار و سالم مورد بررسی قرارگرفته است.

روش بررسی

تهیه گروه‌های مورد آزمایش: مطالعه‌ی انجام‌شده از نوع تجربی بود و بر روی ۳۰ نمونه خون محیطی از بیماران مبتلا به لوسمی میلوئیدی مزمن مراجعه‌کننده به آزمایشگاه پیوند، پس از کسب رضایت و پر کردن فرم‌های رضایت‌نامه توسط بیمار انجام گرفت. نکاتی که در انتخاب بیماران مدنظر قرار گرفت، عدم مصرف قرص های مهارکننده‌ی تیروزین کیناز (مانند ایماتینیب) و یا عدم گرفتن سابقه‌ی درمان دیگر و همچنین مثبت بودن نتایج آزمون BCR/ABL در همه‌ی این بیماران بود. بیماران سابقه‌ی مصرف دارو و یا بیماری زمینه‌ای خاصی نداشتند. میانگین سنی بیماران ۴۵ سال، و نسبت جنسیت زن به مرد ۱ به ۴ بود.

همچنین در این مطالعه ۲۰ نمونه خون محیطی از افراد سالم به‌صورت داوطلب گرفته شد که همگی از سلامت کامل برخوردار بودند. معیار انتخاب این افراد بر مبنای سن و جنس ایشان و بر اساس یکسان سازی با بیماران بود.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from zums.ac.ir at 9:57 IRDT on Wednesday June 7th 2017

جداسازی لایه بافی کوت: ۵ میلی متر از نمونه‌ی خون بیماران مبتلا به CML و افراد سالم را در لوله‌های حاوی ضد انعقاد EDTA ریخته، و به‌مدت ۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰ سانتریفیوژ شد و در ادامه پس از دور ریختن پلاسما، لایه سفید تشکیل شده بین پلاسما و گلبول های قرمز (بافی کوت) جدا گردید. لایه‌ی بافی کوت از تمام نمونه‌ها استخراج شده و سپس محلول گوانیدیوم تیوسیانات (Guanidinium Thiocyanate) به آن‌ها اضافه شد و فورا به ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد منتقل شدند.

کشت سلولی: به‌منظور انجام کشت سلول، رده سلولی K562 از بانک سلولی انستیتوپاستور تهیه شد. سپس به‌منظور کسب اطمینان تست BCR/ABL بر روی رده‌ی سلولی K562 انجام گرفت. سلول‌ها در محیط کشت RPMI 1640 همراه با ۱۰ FBS درصد کشت داده شدند و در حرارت ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد همراه با CO_2 ۵ درصد و رطوبت انکوباتور نگهداری شد. هر ۲ تا ٤ روز یک‌بار محیط آن‌ها تعویض شدند و پس از پاساژ سوم و رشد کافی سلول‌ها، شمارش سلولی انجام و برای استخراج RNA استفاده گردید.

استخراج RNA: پس از تهیه‌ی نمونه‌ها، به منظور مقایسه بیان ژن HOTAIR در بافی کوت بیماران مبتلابه CML و نمونه های خون محیطی افراد سالم و رده‌ی سلولی K562، Total RNA با بهره‌گیری از RNX^{TM}(plus) (CinnaGen Inc, Iran) بر پایه اختلاف فاز فنل کلروفرم استخراج گردید. جهت بررسی کنترل کیفی RNA استخراج شده، مقدار و خلوص RNA استخراج شده به‌واسطه جذب در طول موج ۲٦۰ نانومتر سنجیده شد. نتایج استخراج RNA از لحاظ غلظت و درجه خلوص، از طریق نسبت جذب در طول موج ۲٦۰ نانومتر به ۲۸۰ نانومتر، در رده سلولی K562 و نمونه بیماران مبتلا به CML و افراد نرمال مطابق جدول ۱ است.

جدول ۱: نتایج میانگین استخراج RNA در رده سلولی K562 و نمونه افراد مبتلا به CML و افراد نرمال

نمونه RNA	غلظت(ng/µl)	OD(۲٦۰/۲۳۰)	OD(۲٦۰/۲۸۰)
K562	۷۵۰	۱/٦	۱/۷۳
CML	۵۵۰ – ۲۳۰۰	۱/٤ – ۲	۱/۷ –۲
Normal	۳۰۰ – ۱۱۵۰	۱/۱ – ۱/۸	۱/۸ – ۲

واکنش رونویسی معکوس (RT-PCR): پس از تعیین میزان خلوص RNA به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر، مقدار ۵ میکروگرم RNA برای ساخت cDNA مورد استفاده قرار گرفت. سنتز cDNA با استفاده از کیت سنتز cDNA (CinnaGen Inc, Iran) از رده سلولی K562، نمونه‌های خون محیطی افراد مبتلابه CML و نمونه‌های خون محیطی افراد سالم با استفاده از آنزیم M-MLV و پرایمر Oligo (dt) انجام گرفت.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR): بیان ژن کیفی HOTAIR در رده‌ی سلولی K562، بر روی نمونه‌های خون محیطی افراد مبتلابه CML و نمونه های خون محیطی افراد سالم با استفاده از EmeraldAmp MAX PCR (Takara Inc., Japan) انجام گردید. توالی پرایمرهای رفت و برگشت مورد نیاز، مطابق جدول ۲ بر اساس استفاده از نرم‌افزار AlellID طراحی و سنتز گردید. از β-Actin به‌عنوان کنترل داخلی PCR استفاده گردید. حجم نهایی واکنش ۱۳ میکرولیتر بود. فرآیند

www.SID.ir

Archive of SID

PCR نیز بدین ترتیب انجام شد: ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۱ دقیقه، ۴۰ چرخه شامل ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد ۴۰ ثانیه، دمای آنلینگ (Annealing) به مدت ۴۰ ثانیه و ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه برنامه‌ریزی‌شده و نهایتا دمای بسط انتهایی ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه صورت پذیرفت. محصول نهایی PCR در ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شده و با اتیدیوم بروماید مورد ارزیابی قرار گرفت.

جدول ۲: توالی پرایمرهای به کار رفته در این مطالعه برای Real-time PCR

پرایمر	توالی پرایمر	دمای انیلینگ (C°)	طول محصول (bp)
HOTAIR (F)	5` GAAAGCTTCCACAGTGAGGACT 3`	۶۰	۶۸
HOTAIR (R)	5` AAATCCGTTCCATTCCACTG 3`		
β-Actin(F)	5` TGAAGATCAAGATCATTGCTCCC 3`	۶۰	۱۶۸
(R) β-Actin	5` AGTCATAGTCCGCCTAGAAGC 3`		

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز کمی (Real-time PCR): بیان کمی ژن HOTAIR در رده سلولی K562، نمونه‌های خون محیطی افراد مبتلابه CML و نمونه های خون محیطی افراد سالم، با استفاده از RealQ (Ampliqon, Denmark) SYBR PCR 2 x Master Mix و (StepOne system, Real Time PCR Applied BioSytem, USA) به صورت دو بار تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در Real Time PCR برای ژن HOTAIR همان توالی مورداستفاده در RT-PCR است که در جدول ۲ آورده شده است. همچنین ژن بتا اکتین به‌عنوان کنترل داخلی و نرمالایزر مورد استفاده قرار گرفت. حجم نهایی واکنش ۱۳ میکرولیتر بود و مطابق برنامه‌ی تغییرات دمایی به شرح زیر انجام گرفت: ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه. اختصاصی بودن محصولات PCR از طریق آنالیز منحنی ذوب مورد تایید قرار گرفت. برای بررسی‌های آماری داده‌های به‌دست‌آمده از Real Time PCR، در ابتدا با فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ میزان بیان ژن HOTAIR نسبت به β-Actin نرمال‌سازی شد و نتایج Quantitative Reverse Transcriptase PCR به صورت بیان نسبی ژن گزارش گردید. میانگین Ct ها با استفاده از نرم‌افزار SSPS۲۱ مورد بررسی قرار گرفت و از آزمون t-test مستقل برای تمامی داده‌ها و در نظر گرفتن P<۰/۰۵ برای معناداری نتایج استفاده شد. برای بررسی میزان اختلاف داده‌ها از میانگین از شاخص پراکندگی انحراف معیار (SD) استفاده شد.

یافته‌ها

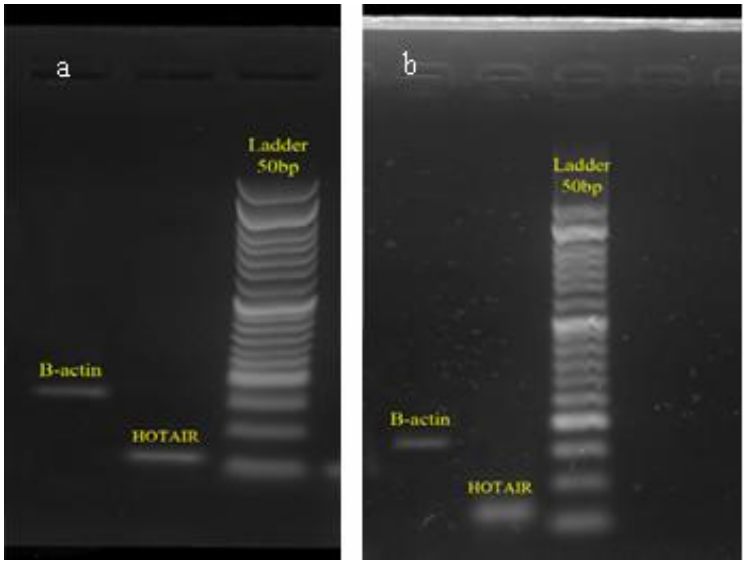
نتایج حاصل از بررسی کیفی بیان ژن‌های HOTAIR و β-actin: بیان کیفی ژن HOTAIR و β-actin، با استفاده از تکنیک RT-PCR ارزیابی گردید. طول محصول PCR برای HOTAIR با توجه به پرایمر طراحی شده ۶۸ bp و طول ژن β-actin با توجه به پرایمر طراحی‌شده ۱۶۸ bp است که تصویر باندهای مذکور در شکل ۲ قابل‌مشاهده است. نتایج نشان داد که رده‌ی سلولی K562 و همچنین نمونه بیماران CML دارای بیان ژنی HOTAIR می‌باشند.

Downloaded from zums.ac.ir at 9:57 IRDT on Wednesday June 7th 2017

www.SID.ir

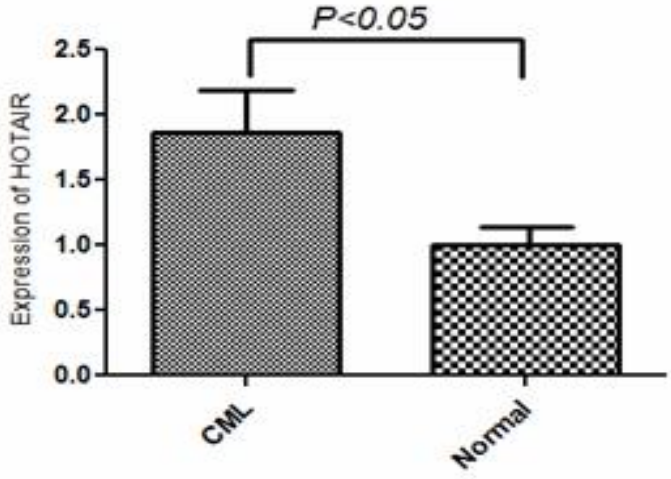
Archive of SID

Downloaded from zums.ac.ir at 9:57 IRDT on Wednesday June 7th 2017



شکل ۲: بررسی کیفی بیان ژن HOTAIR و β-actin در رده سلولی K562 (a) و نمونه بیمار CML (b)

نتایج حاصل از بررسی کمی بیان ژن HOTAIR : در مطالعه حاضر پس از استخراج RNA از رده‌ی سلولی K562، نمونه‌های افراد مبتلابه لوسمی میلوئیدی مزمن و نمونه‌های نرمال ، سنتز cDNAها انجام شد. واکنش Real time PCR برای بررسی کمی ژن HOTAIR و ژن بتا اکتین بروی cDNA های تهیه‌شده، انجام شد. نتایج حاصل از Real time PCR نشان داد که بیان ژن HOTAIR در بیماران CML در مقایسه با افراد سالم دارای افزایش بیانی معادل ۱/۸۶ برابر بوده و نیز معناداری آماری در سطح P< ۰/۰۵ وجود دارد (شکل ۳).

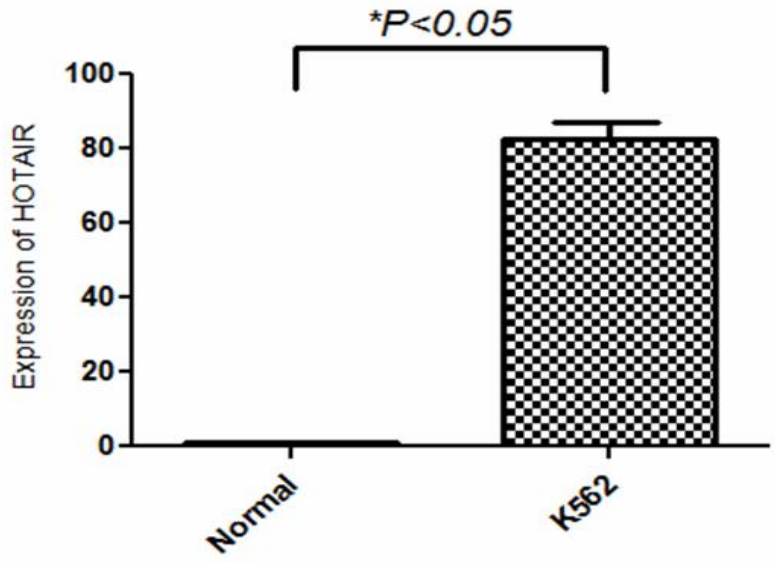


شکل ۳: بررسی کمی بیان ژن غیرکدکننده HOTAIR در سلول‌های بیماران CML

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from zums.ac.ir at 9:57 IRDT on Wednesday June 7th 2017



شکل ٤: بررسی کمی بیان ژن غیرکدکننده HOTAIR در رده سلولی K562

همچنین آنالیز بیان ژن HOTAIR در رده‌ی سلولی K562 در مقایسه با CT میانگین افراد سالم با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ انجام گرفت. همان‌طور که در شکل ٤ مشاهده می‌شود، افزایش بیانی معادل ٨٢/٦ برابر در K562 نسبت به میانگین افراد سالم وجود دارد (P<٠/٠٥).

بحث

اختلال در انکوژن‌ها یا غیرفعال شدن ژن‌های سرکوبگر تومور نقش محوری در پاتوژنز بیماری‌های بدخیم دارد. در بسیاری از انواع سرطان ها، مخصوصا لوسمی‌ها و لنفوم‌ها، توصیف دقیق این اختلالات می تواند مبنایی بر طبقه‌بندی این اختلالات و فهم درستی از پیش‌آگهی این بیماری‌ها در اختیار محققین قرار دهد. علاوه بر این شناسایی دقیق اهداف این اختلالات درک ما را از مکانیسم تومورزایی بالا می برد و منجر به طراحی روش های مولکولی در تشخیص بیماری ها و نظارت بر درمان آن‌ها می‌گردد. مطالعاتی که تاکنون انجام‌شده شواهد روبه رشدی از نقش‌های مهم ncRNA ها در سرطان، هم از طریق تنظیم تومورساپرسورها و هم تنظیم مسیرهای انکوژنتیک را نشان می‌دهد (٢٦). یکی از اهداف کلیدی برای پیشرفت‌های آینده، شناسایی LncRNA هایی است که می‌توانند به‌صورت بالقوه به‌عنوان بیومارکرهایی برای وضعیت‌های خاص بیماری استفاده شوند (١٦-١٤).

در مطالعه‌ی حاضر، سطح بیان ژن HOTAIR با توجه به نقش مهاری آن در ارتباط با ژنPTEN ، در لوسمی میلوئیدی مزمن (CML) بررسی گردید. تا کنون مطالعه‌ی مشابهی که به بررسی بیان ژن HOTAIR در لوسمی میلوئیدی مزمن پرداخته شده باشد، انجام نگرفته است. نتایج به دست آمده در مطالعه‌ی حاضر مشابه آنچه در سرطان‌های سینه، کبد، کولورکتال، حنجره و ریه گزارش شده است، تایید کننده این حقیقت است که میزان بیان ژن HOTAIR در بیماران مبتلا به لوسمی میلوئیدی مزمن نسبت به افراد سالم دارای افزایش (up- regulated) معنی‌داری است. این الگوی بیان در CML می‌تواند نشان‌دهنده‌ی وجود نقش بالقوه این RNA تنظیمی در بیولوژی این سرطان باشد و لذا یافته های این مطالعه که

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from zums.ac.ir at 9:57 IRDT on Wednesday June 7th 2017

به‌عنوان اولین قدم در بررسی این RNA تنظیمی در سرطان های خون انجام شد، می تواند از نقش احتمالی ژن HOTAIR خبر داده و نیاز به بررسی بیشتر این RNA در این نوع سرطان را قوت بخشد. این الگوی بیان می تواند دریچه‌ای برای انجام مطالعات بیشتر در راستای کشف عملکرد این RNA تنظیمی باشد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان داد که تغییر در بیان ژن HOTAIR می تواند در بیولوژی لوسمی میلوئیدی مزمن دخالت داشته باشد. اثبات این موضوع با انجام آزمایشات بیشتر در سطح سلولی و ملکولی، می‌تواند موضوع مطالعات آینده باشد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از ریاست و کلیه پرسنل مرکز تحقیقات فناوری بن یاخته که همکاری صمیمانه در این پژوهش داشته‌اند، تقدیر و تشکر به عمل آورند.

References

1- Hoffbrand V, Higgs DR, Keeling DM, Mehta AB. Postgraduate haematology. New Jersey: John Wiley & Sons; 2016.

2- Vivanco I, Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-kinase–AKT pathway in human cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2002; 2: 489-501.

3- Stambolic V, Suzuki A, De La Pompa JL, et al. Negative regulation of PKB/Akt-dependent cell survival by the tumor suppressor PTEN. *Cell.* 1998; 95: 29-39.

4- Peng C, Chen Y, Yang Z, et al. PTEN is a tumor suppressor in CML stem cells and BCR-ABL–induced leukemias in mice. *Blood.* 2010; 115: 626-35.

5- Blume-Jensen P, Hunter T. Oncogenic kinase signalling. *Nature.* 2001; 411: 355-65.

6- Sawyers CL. Chronic myeloid leukemia. N Engl J Med. 1999; 340: 1330-40.

7- Sokal JE, Cox EB, Baccarani M, et al. Prognostic discrimination in" good-risk" chronic granulocytic leukemia. *Blood.* 1984; 63: 789-99.

8- O'Dwyer ME, Mauro MJ, Druker BJ. Recent advancements in the treatment of chronic myelogenous leukemia. *Annu Rev Med.* 2002; 53: 369-81.

9- Andersson LC, Nilsson K, Gahmberg CG. K562—a human erythroleukemic cell line. *Int J Cancer*. 1979; 23: 143-7.

10- Klein E, Vánky F, Ben‐Bassat H, et al. Properties of the K562 cell line, derived from a patient with chronic myeloid leukemia. *Int J Cancer*. 1976; 18: 421-31.

11- Khalil AM, Coller J. Molecular Biology of Long Non-coding RNAs: Springer; 2013.

12- Zuckerkandl E, Cavalli G. Combinatorial epigenetics,"junk DNA", and the evolution of complex organisms. *Gene.* 2007; 390: 232-42.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from zums.ac.ir at 9:57 IRDT on Wednesday June 7th 2017

13- Lu J, Getz G, Miska EA, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature*. 2005; 435: 834-8.

14- Gibb EA, Brown CJ, Lam WL. The functional role of long non-coding RNA in human carcinomas. *Mol Cancer*. 2011; 10: 1-17.

15- Shi X, Sun M, Liu H, Yao Y, Song Y. Long non-coding RNAs: a new frontier in the study of human diseases. *Cancer Lett*. 2013; 339: 159-66.

16- Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs. *Cell*. 2009; 136: 629-41.

17- Szymanski M, Barciszewska MZ, Erdmann VA, Barciszewski J. A new frontier for molecular medicine: noncoding RNAs. *Biochim Biophys Acta*. 2005; 1756: 65-75.

18- Woo CJ, Kingston RE. HOTAIR lifts noncoding RNAs to new levels. *Cell*. 2007; 129: 1257-9.

19- Yang Z, Zhou L, Wu L-M, et al. Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR predicts tumor recurrence in hepatocellular carcinoma patients following liver transplantation. *Ann Surg Oncol*. 2011; 18: 1243-50.

20- Nakagawa T, Endo H, Yokoyama M, et al. Large noncoding RNA HOTAIR enhances aggressive biological behavior and is associated with short disease-free survival in human non-small cell lung cancer. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013; 436: 319-24.

21- Kogo R, Shimamura T, Mimori K, et al. Long noncoding RNA HOTAIR regulates polycomb-dependent chromatin modification and is associated with poor prognosis in colorectal cancers. *Cancer Res*. 2011; 71: 6320-6.

22- Tang L, Zhang W, Su B, Yu B. Long noncoding RNA HOTAIR is associated with motility, invasion, and metastatic potential of metastatic melanoma. *BioMed Res Int*. 2013; 2013.

23- Sun G, Alzayady K, Stewart R, et al. Histone demethylase LSD1 regulates neural stem cell proliferation. *Molec Cell Biol*. 2010; 30: 1997-2005.

24- Tsai M-C, Manor O, Wan Y ,et al. Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes. Science. 2010; 329: 689-93.

25- Li D, Feng J, Wu T, et al. Long Intergenic Noncoding RNA HOTAIR Is Overexpressed and Regulates PTEN Methylation in Laryngeal Squamous Cell Carcinoma. *Am J Pathol*. 2013; 182: 64-70.

26- Han B-W, Chen Y-Q. Potential pathological and functional links between long noncoding RNAs and hematopoiesis. *Sci Signal*. 2013; 6: re5-re.

www.SID.ir

Archive of SID

Evaluating the Expression of Long Non-Coding RNA HOTAIR in Patients with Chronic Myeloid Leukemia

Aghamohammadhossein Tajrishi M[1], Atashi A[2], Soleimani M[1], Sajjadi E[1], Fallah P[3], Kaviani S[1], Abroun S[1]

[1]Dept. of Hematology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

[2]Dept. of Basic Medical Sciences, Faculty of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran

[3]Dept. of Laboratory Sciences, Faculty of Allied Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

Corresponding Author: Atashi A, Dept. of Basic Medical Sciences, Faculty of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran

E-mail: atashia@shmu.ac.ir

Received: 21 Nov 2015 **Accepted:** 7 Nov 2016

***Background and Objective*:** Long noncoding RNAs (lncRNAs) are a new class of non-coding RNAs that are currently being studied extensively. LncRNAs have many biological roles in gene expression, cell development and diseases. Recent studies showed that lncRNAs have an important role in cancers, including hematopoietic disorders which can be a tool for easier diagnosis and prognosis of many diseases and also a possible alternative treatment. This study investigates the expression of long non-coding RNA HOTAIR, in chronic myelogenous leukemia (CML).

***Materials and Methods*:** Peripheral blood samples were collected from 30 patients with CML and 20 healthy controls. The selected patients had no history of treatment and all patients were positive for BCR-ABL. Healthy controls were chosen based on similarity with the patients' age and gender and had no history of disease. Total RNA was extracted from the patients and healthy controls and HOTAIR gene expression levels were measured using qRT-PCR technique.

Results: Quantitative comparison of gene expression between the patients and normal controls showed that HOTAIR gene expression in patients with CML is significantly increased compared to healthy individuals ($p<0.05$).

***Conclusion**:* Our findings showed that changes in the expression of HOTAIR gene can be involved in the biology of chronic myeloid leukemia.

Keyword: LncRNAs, HOTAIR, Chronic Myeloid Leukemia, qRT-PCR

Downloaded from zums.ac.ir at 9:57 IRDT on Wednesday June 7th 2017

www.SID.ir