



## Altered expression of long noncoding RNAs and p53 as a possible genetic signature in luminal A invasive breast ductal carcinoma

Nahal Eshghifar<sup>1</sup>, Fatemeh Rouhollah<sup>2</sup>, Nooshin Barikrow<sup>3</sup>, Farkhondeh Pouresmaeili<sup>5,4\*</sup>, Mohammad Taheri<sup>6\*</sup>

1. Ph.D. Student, Department of Cellular and Molecular Sciences, Faculty of Advanced Sciences and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2. Assistant Professor, Department of Cellular and Molecular Sciences, Faculty of Advanced Sciences and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

3. Instructor, Department of Cellular and Molecular Sciences, Faculty of Advanced Sciences and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

4. Men's Health and Reproductive Health Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5. Associate Professor, Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

6. MSc., Skull Base Research Center, Loghman Hospital, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran- Iran.

**Place of Research:** Department of Cellular and Molecular Sciences, Faculty of Advanced Sciences and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

### Article Info

### Abstract

#### Article History:

received 06.02.2023  
revised 06.17.2023  
accepted 08.04.2023  
online 08.04.2023

#### KeyWords:

breast cancer  
long non-coding RNA  
prognostic biomarker

#### \*Corresponding author:

E-mail address

n.eshghifar@gmail.com  
Frohollah@iautmu.ac.ir  
nooshinbarikrow@gmail.com  
\*pouresfar@gmail.com  
\*mohammad\_823@yahoo.com

**Introduction:** Breast cancer is the second most common cause of cancer-related death among females. The long non-coding RNAs (lncRNAs) are a significant population of non-coding RNAs with well-defined functions in both adjacent normal cells and tumorigenesis. Miss expression of them has been associated with the development of different kinds of cancers.

**Aim:** The aim of this study was to investigate the alterations in 3 lncRNAs and p53 in tissue samples of a group of women with luminal type A breast adenocarcinoma.

**Materials and methods:** In this case-control study, the expression levels of p53 and three lncRNAs were evaluated in association with luminal A breast cancer in 80 ductal carcinoma tumors and adjacent normal breast tissues. Quantitative real-time PCR was used to measure the expression of the mentioned genes.

The data were analyzed using t-tests.

**Results:** The expression levels of IGFBP7-AS1, and RHPN1-AS1, showed a significant increase ( $P > 0.05$ ) while P53 and LINC00861 had a significant decrease in expression level in tumor tissues compared to adjacent normal tissues ( $P > 0.05$ ). Receiver Operating Characteristic (ROC) curve indicated the diagnostic power of LINC00861 in differentiating tumor tissues from adjacent normal tissue with 90% sensitivity and 96% specificity, which can also interact with P53.

P53 and the lncRNAs including Linc00861, RHPN1-AS1, and IGFBP7-AS1 were dysregulated in invasive breast ductal carcinoma samples. Based on the area under the curve (AUC) value, expression of Linc00861, p53, RHPN1-AS1, and IGFBP-AS1 genes can help to differentiate patients from healthy individuals with diagnostic power of 0.855, 0.824, 0.778, and 0.659, respectively.

**Conclusion:** The key roles of the latest genes in the control of cancer-related pathways and the dysregulation of their expression in studied malignancies imply that they can be exploited as biomarkers for cancer diagnosis, prognosis, and possible therapeutic targets. Here, the roles of lncRNAs in invasive breast ductal carcinoma type luminal A and their importance in prognosis and patient treatment are discussed.

**Cite this article:** EshghiFar N., Rouhollah F., BarikRow N., PourEsmaeili F\*, Taheri M\*. Altered expression of long noncoding RNAs and p53 as a possible genetic signature in luminal A invasive breast ductal carcinoma. Iranian Journal of Biological Sciences. 2023; 18(1): 63-74

doi 10.30495/zisti.2023.1987720.1162

DOR 20.1001.1.17354226.1402.18.1.5.2

Publisher: Islamic Azad University of Varamin – Pishva branch

Print ISSN: 1735-4226

Online ISSN: 1727-459X

This is an open access article under the: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



## تغییر بیان RNA های طولانی غیرکدکننده و p53 در سرطان پستان لومینال A

نهاد عشقی فر<sup>۱</sup>، فاطمه روح الله<sup>۲</sup>، نوشین باریک رو<sup>۳</sup>، فرخنده پوراسماعیلی<sup>۴\*</sup>، محمد طاهری<sup>۵</sup>

- ۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم سلولی و مولکولی، دانشکده علوم و فناوریهای نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران  
 ۲- استادیار، گروه علوم سلولی و مولکولی، دانشکده علوم و فناوریهای نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران  
 ۳- استادیار، گروه علوم سلولی و مولکولی، دانشکده علوم و فناوریهای نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران  
 ۴- مرکز تحقیقات سلامت مردان و بهداشت باروری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران  
 ۵- دانشیار، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران  
 ۶- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات مهارت های پایه، بیمارستان لقمان حکیم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

محل انجام تحقیق: گروه علوم سلولی و مولکولی، دانشکده علوم و فناوریهای نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

## اطلاعات مقاله

## چکیده

## تاریخچه مقاله

ارسال ۱۴۰۲/۰۳/۱۲  
 بازنگری ۱۴۰۲/۰۳/۲۷  
 پذیرش ۱۴۰۲/۰۵/۱۳  
 نمایه ۱۴۰۲/۰۵/۱۳

## کلمات کلیدی

سرطان پستان  
 RNA های طولانی غیرکدکننده  
 بیومارکر تشخیصی

## \* نویسنده مسؤل

n.eshghifar@gmail.com  
 Frohollah@iautmu.ac.ir  
 nooshinbarikrow@gmail.com  
 \*pouresfar@gmail.com  
 \*mohammad\_823@yahoo.com

**مقدمه:** سرطان پستان دومین علت شایع مرگ و میر ناشی از سرطان در بین زنان است. RNA های طولانی غیر کد کننده (lncRNA) ها جمعیت قابل توجهی از RNA های غیر کد کننده با عملکردهای کاملاً تعریف شده در سلول های طبیعی مجاور و توموری هستند. عدم بیان آنها با ایجاد انواع مختلف سرطان همراه بوده است.

**هدف:** هدف از این مطالعه بررسی تغییرات در ۳ مورد lncRNA و p53 در نمونه های بافتی گروهی از زنان مبتلا به آدنوکارسینوم پستان نوع لومینال بود.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه مورد-شاهدی، سطح بیان ژن p53 و سه مورد lncRNA در ارتباط با سرطان پستان لومینال A در ۸۰ تومور کارسینوم مهاجم مجاری پستان و بافت های طبیعی مجاور مورد بررسی قرار گرفت. برای اندازه گیری بیان ژن های مذکور از روش Real-time PCR کمی استفاده شد. داده ها با استفاده از آزمون t مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

**نتایج:** نتایج نشان دهنده افزایش معنی دار سطح بیان AS1-IGFBP1 و AS1-RHPN1 در بافت های توموری در مقایسه با بافت های طبیعی مجاور بود ( $p < 0.05$ )، در حالی که بیان p53 و LINC00811 در بافت های توموری کاهش معنی داری را نشان داد ( $p < 0.05$ ). منحنی مشخصه عملیاتی گیرنده ROC (Receiver Operating Characteristic) قدرت تشخیصی LINC00811 را در تمایز بافت های توموری از بافت طبیعی مجاور با حساسیت ۹۰ درصد و اختصاصیت ۹۶ درصد نشان می دهد که می تواند با p53 نیز تعامل داشته باشد. بر اساس سطح زیر منحنی (AUC)، بیان ژن های LINC00811، p53، AS1-RHPN1 و IGFBP-AS1 می تواند به تمایز بیماران از افراد سالم با قدرت تشخیصی به ترتیب ۰/۸۵۵، ۰/۸۲۴، ۰/۷۷۸ و ۰/۶۵۹ کمک کند.

**نتیجه گیری:** نقش کلیدی این ژن ها در کنترل مسیرهای مرتبط با سرطان و تغییر بیان آنها در بدخیمی های مورد مطالعه نشان می دهد که می توان از آنها به عنوان نشانگرهای زیستی برای تشخیص سرطان، پیش آگهی و اهداف درمانی احتمالی استفاده کرد. در پژوهش حاضر، نقش lncRNA ها و p53 در کارسینوم مهاجم مجاری پستان نوع لومینال A و اهمیت آنها در پیش آگهی و درمان بیماران مورد بحث قرار می گیرد.

**شبهه آدرس دهی این مقاله:** عشقی فر ن، روح الله ف، باریک رو ن، پوراسماعیلی ف، طاهری م. تغییر بیان RNA های طولانی غیرکدکننده و p53 در سرطان پستان لومینال A. مجله دانش زیستی ایران. ۱۴۰۲؛ ۱۸(۱): ۷۴-۶۳

doi 10.30495/zisti.2023.1987720.1162

DOR 20.1001.1.17354226.1402.18.1.5.2

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا | **شاپا چاپی:** ۱۷۳۵-۴۲۲۶ | **شاپا الکترونیکی:** ۲۷۱۷-۴۵۹X | **نویسندگان:** © حق مؤلف

## مقدمه:

مطالعات متعددی نشان داده است که IGFBPV با شماری از بدخیمی‌ها مانند سرطان پروستات، کارسینوم سلول‌های کبدی، سرطان‌های مری، پستان، و سرطان روده بزرگ مرتبط است (۱۲). P۵۳ مهمترین ژن سرکوبگر تومور است. جهش‌های این ژن در سرطان‌های انسانی شایع است و باعث رشد تومور، افزایش رگ‌زایی، اختلال در آپوپتوز و مقاومت در برابر درمان می‌شود. تغییرات ژنتیکی در p۵۳ با تومورزایی، به ویژه تومورهای بافت جامد مانند سرطان سینه، روده بزرگ و ریه در ارتباط است (۱۳، ۱۴). از سوی دیگر، LINC۰۰۸۶۱ در ایجاد و پیش‌آگهی انواع سرطان‌ها نقش دارد. در مطالعات پیشین نشان داده شد که بیان کم LINC۰۰۸۶۱ با سرطان‌های مرحله پیشرفته، بقاء ضعیف و متاستاز غدد لنفاوی مرتبط است (۱۵). علت انتخاب ژن‌های مذکور، پیش‌بینی ارتباط احتمالی آن‌ها با یکدیگر در بروز کارسینوم مجاری سرطان پستان بر مبنای مطالعات پیشین و آنالیزهای بیوانفورماتیک بود. بنابراین، رمزگشایی عملکرد lncRNA‌ها در کارسینوم مهاجم مجاری پستان می‌تواند دانش ما را در مورد مکانیسم‌های مولکولی زمینه‌ساز پیشرفت سرطان پستان بهبود بخشد. هدف از این مطالعه مورد-شاهدی، مروری جامع از ارتباط بین بیان p۵۳، lncRNAs و کارسینوم مهاجم مجاری پستان لومینال A در جمعیت ایرانی بود.

سرطان پستان یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌ها در زنان در سطح جهانی است (۱). اگرچه درمان‌های هدفمند و جراحی، پیش‌آگهی بیماران مبتلا به سرطان پستان را در سال‌های اخیر بهبود بخشیده است، عود، متاستاز و مقاومت دارویی همچنان مشکلات بالینی هستند که موجب بقاء پایین<sup>۱</sup> در این بیماران بوده است (۲-۵). بنابراین، برای مدیریت بهتر سرطان پستان و درمان بیماران، بیومارکرهای پیش‌آگهی دقیق و قوی و اهداف درمانی نوآورانه باید شناسایی شوند. در پژوهش‌های اخیر نشان داده شده است که lncRNA‌ها در توسعه توده‌های پستانی و سرطان پستان نقش دارند (۶). این مولکول‌ها به عنوان بیومارکرهای احتمالی برای تشخیص کارسینوم مهاجم مجاری پستان توصیه شده‌اند (۷). با توجه به الگوهای بیان ژنی و نقش آنها در بافت‌های توموری، lncRNA‌ها را می‌توان هم به عنوان انکوژن و هم ژن سرکوبگر تومور<sup>۲</sup> طبقه‌بندی کرد (۸). این ژن‌ها بر بیان سلول‌های بنیادی سرطانی<sup>۳</sup> تأثیر گذار می‌باشند. بر اساس مطالعات اخیر، بیان AS1-RHPN1 معمولاً در تومورهای مهاجمی مانند ملانوم و سرطان ریه از نوع "non-small cell lung cancer" افزایش می‌یابد (۹، ۱۰). به علاوه آنکه افزایش بیان AS1-RHPN1 بطور قابل توجهی با پیش‌آگهی ضعیف و بدخیمی غدد پستانی همراه است و برعکس، کاهش بیان این ژن از متاستاز و تکثیر سلول‌های سرطانی پیشگیری می‌کند (۱۱).

Overall survival/OS	۱
Tumor suppressor genes/TSG	۲
Cancer stem cells	۳

## مواد و روش‌ها

## بیماران و نمونه بافت

۸۰ نمونه تازه شامل ۴۰ نمونه از تومورهای لومینال A و ۴۰ نمونه از بافت‌های طبیعی مجاور، در نیتروژن مایع از بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان جمع‌آوری و تا زمان استفاده برای استخراج RNA در دمای -۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. آسیب‌شناسان بیمارستان مرجع نمونه‌های بافت طبیعی مجاور را مشخص و تایید کردند. هیچ یک از بیماران قبل از عمل رادیوتراپی یا شیمی‌درمانی دریافت نکرده بودند. همچنین بیماران مورد مطالعه یک فرم رضایت آگاهانه امضا

### سنتز DNA مکمل (cDNA)

برای سنتز cDNA، طبق پروتوکول شرکت سازنده، حدود ۵۰۰ نانوگرم RNA با آنزیم ترانس کریپتاز معکوس، پرایمرهای اولیگو dt و پرایمرهای هگزامر تصادفی در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. سپس، به مدت ۵ ثانیه در دمای ۸۰ درجه سانتی-گراد قرار داده شد تا آنزیم غیرفعال شود. تمامی مراحل روی یخ و داخل قفسه آلومینیومی انجام شد. محصولات در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. RT-PCR کمی<sup>۱</sup> برای ارزیابی سطوح بیان lncRNA با استفاده از PCR مستر میکس سایبرگرین و StepOne Plus system با سیکل های دمایی زیر انجام شد: ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۴۰ چرخه در ۹۵ درجه سانتی گراد برای ۱۵ ثانیه، و ۶۰ درجه سانتی گراد برای ۴۵ ثانیه. در هر آزمایش یک کنترل منفی در نظر گرفته شد. هر یک نمونه در دو نسخه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای استانداردسازی، به عنوان یک کنترل داخلی، ژن خانه دار<sup>۲</sup>، HPRT<sup>۱</sup> انتخاب شد. پرایمرهایی که برای PCR طراحی شدند، ابتدا با آنالیز BLAST در بانک ژن مطابقت داده شده و سپس در واکنش ها مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۱).

شده برای تجزیه و تحلیل مطالعه ارائه نمودند. کلیه پروتکل ها توسط کمیته اخلاق شورای تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تایید شده و مراحل کار طبق دستورالعمل ها و مقررات مناسب انجام شده است.

### استخراج RNA و تجزیه و تحلیل RT-qPCR

RNA کل از بافت های تازه با استفاده از معرف ترایزول (Thermo Fisher Scientific, Inc, USA) استخراج شد و با استفاده از Nanodrop ۲۰۰۰ بر اساس دستورالعمل سازنده برای خلوص، اندازه گیری شد. یکپارچگی و سلامت اسیدهای نوکلئیک استخراج شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز تعیین شد. سپس با استفاده از هگزامرهای تصادفی و چند نویسه رونوشت معکوس (Applied Biosystems) بر اساس پروتکل سازنده، استفاده شد و سرعت جذب RNA در ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر با استفاده از دستگاه نانو دراپ اندازه گیری شد. به منظور حذف آلودگی احتمالی DNA، واکنش RNA قبل از انجام RT-PCR با DNaseI تیمار شد، RNA تیمار شده با ۰/۵ میکرولیتر آنزیم هگزامر تصادفی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد انکوبه شد.

Real Time PCR system- Thermo Fisher Scientific, Inc ۷۵۰۰ Applied Biosystem	۱
Housekeeping gene	۲

جدول ۱ - توالی پرایمرهای استفاده شده در Real-Time PCR.

Gene name	Primer sequences
Linc00861	<b>F:</b> GGGAAATCAGAATACACAGT <b>R:</b> AGAGAGACAAGGAGCATC
TP53	<b>F:</b> CTGICATCTTCTGTCCCTTC <b>R:</b> TGGAATCAACCCACAGCTGCA
IGFBP7-AS1	<b>F:</b> AGCAGCAGAAGACTATGA <b>R:</b> GTATGAGAGCAGGTGGTA
RHPN1-AS1	<b>F:</b> GCTCCTGGTCATCAAGTTCCTCT <b>R:</b> GCACAGGCACCAGAATGATCC
HPRT1	<b>F:</b> AGCCTAAGATGAGAGTTC <b>R:</b> CACAGAACTAGAACATT

## آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل آماری برای همه آزمایش ها با استفاده از SPSS نسخه ۲۴ (SPSS, Chicago, IL, USA) انجام شد. داده های آماری به عنوان تخمین بیزی (Bayesian) جایگزین آزمون t برای تعیین تفاوت معنی دار بین میانگین سطح بیان سلول های سرطانی و بافت های طبیعی مجاور ارائه شده اند. تجزیه و تحلیل بقا با استفاده از آزمون کاپلان مایر برای ارزیابی معنی داری آماری بین دو گروه انجام شد.  $P\text{-value} < 0.05$  برای نشان دادن تفاوت آماری معنی دار در نظر گرفته شد. برای پارامترها، یک آزمون (t- student prior family) در نظر گرفته شد. ارزشهای P از روش Frequentist شامل آزمون میانه محاسبه شد. آزمون اسپیرمن برای ارزیابی همبستگی بین بیان ژنی نسبی انجام شد. برای پیاده سازی آنالیز در نرم افزار R 4.03 از بسته های jags و ggplot2 استفاده شد.  $P\text{-value} < 0.05$  از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

## نتایج

در این مطالعه اطلاعات دموگرافیک بیماران همانطور که اطلاعات بالینی آسیب شناسی آنها در نظر گرفته شد، مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲). RNA از نمونه ها استخراج شد و در ۲۸۰/۲۶۰ با نسبت های بین ۱/۷ و ۱/۹ کمیت سنجی شد. سطح بیان نسبی ژن های تحت بررسی به عنوان نشانگرهای زیستی تشخیصی ممکن با روش Real-Time Quantitative PCR مورد ارزیابی قرار گرفت. منحنی (ROC) شامل تمامی معیارها تهیه گردید. منطقه زیر منحنی (AUC) که عدد قابل توجهی برای نشان دادن دقت تشخیصی سطح بیان ژن است، اندازه گیری شد.

جدول ۲ - اطلاعات دموگرافیک بیماران

Parameters	Values	Parameters	Values
Age (mean±SD), (range)	(۲۵-۳۲) ۱۱/۲۵ ±۵۱/۸۲	Vascular invasion	
Site of primary tumor		Yes	۳۲ (۸۲.۵٪)
Right breast	۲۱ (۵۲.۵٪)	No	۷ (۱۷.۵٪)
Left breast	۱۹ (۴۷.۵٪)	Tumor size (%)	
Cancer stage (%)		≤ 2 cm	۵ (۱۲.۵٪)
I	۲ (۵٪)	> 2	۳۵ (۸۷.۵٪)
II	۲۴ (۶۰٪)	Estrogen receptor (%)	
III	۱۴ (۳۵٪)	Positive	۱۳ (۳۲.۵٪)
Overall grade (%)		Negative	۴ (۱۰٪)
I	۵ (۱۲.۵٪)	Unknown	۲۳ (۵۷.۵٪)
II	۱۹ (۴۷.۵٪)	Progesterone receptor (%)	
III	۱۴ (۳۵٪)	Positive	۱۱ (۲۷.۵٪)
Unknown	۲ (۵٪)	Negative	۴ (۱۰٪)
Lymphatic invasion		Unknown	۲۵ (۶۲.۵٪)
Yes	۳۲ (۸۰٪)	Her2/neu expression (%)	
No	۸ (۲۰٪)	Positive	۴ (۱۰٪)
		Negative	۱۴ (۳۵٪)
		Unknown	۲۲ (۵۵٪)

جدول ۳ - ارتباط بین سطح بیان P53 و پارامترهای شرکت کنندگان.

Parameters	P53 up-regulation	P53 down-regulation	P value	Parameters	P53 up-regulation	P53 down-regulation	P value
Age			۰/۷۲	Vascular invasion			۰/۴۸
<55	۱۱ (۵۵٪)	۹ (۴۵٪)		Yes	۱۵ (۴۵٪)	۱۸ (۵۵٪)	
≥55	۹ (۴۵٪)	۱۱ (۵۵٪)		No	۶ (۸۵٪)	۱ (۱۵٪)	
Site of primary tumor			۰/۶۴	Tumor size			۰/۸
Right breast	۱۰ (۴۷٪)	۱۱ (۵۳٪)		≤2	۴ (۸۰٪)	۱ (۲۰٪)	
Left breast	۱۰ (۵۲٪)	۹ (۴۸٪)		>2	۱۸ (۵۱٪)	۱۷ (۴۹٪)	
Stage			۰/۰۳	ER status			۰/۶۹
۱	۰ (۰٪)	۲ (۱۰۰٪)		Positive	۴ (۳۱٪)	۹ (۶۹٪)	
۲	۱۲ (۵۰٪)	۱۲ (۵۰٪)		Negative	۴ (۱۰۰٪)	۰ (۰٪)	
۳	۷ (۵۰٪)	۷ (۵۰٪)		PR status			۰/۱
Histological Grade			۰/۵۴	Positive	۶ (۵۴٪)	۵ (۴۶٪)	
۱	۳ (۶۰٪)	۲ (۴۰٪)		Negative	۲ (۷۵٪)	۱ (۲۵٪)	
۲	۱۱ (۵۷٪)	۸ (۴۳٪)		Her2 status			۰/۹
۳	۶ (۴۳٪)	۸ (۵۷٪)		Positive	۲ (۵۰٪)	۲ (۵۰٪)	
Lymphatic invasion			۰/۶۹	Negative	۸ (۵۷٪)	۶ (۴۳٪)	۰/۴۸
Yes	۱۶ (۵۰٪)	۱۶ (۵۰٪)					
No	۷ (۸۷.۵٪)	۱ (۱۲.۵٪)					

جدول ۴ - مقایسه بیان ژن نسبی بین نمونه های توموری و سالم

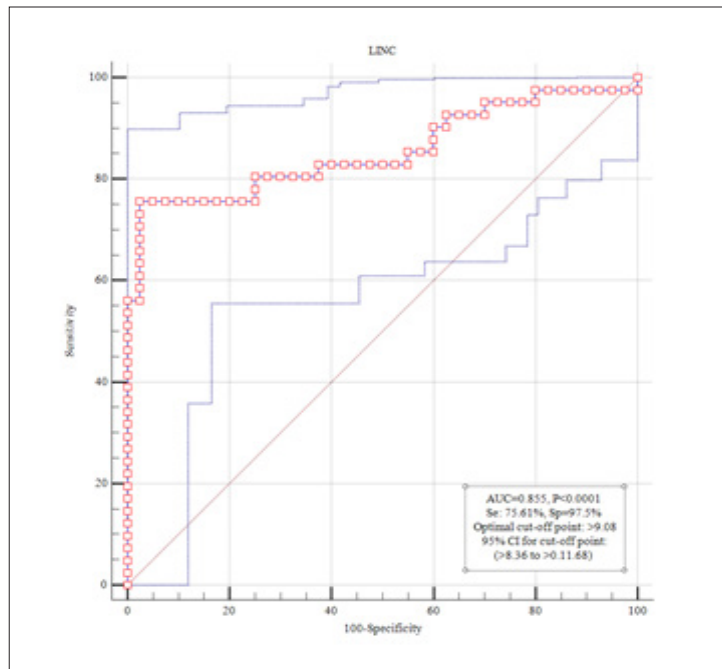
Gene	Posterior mean diff.	SD	Effect size	P-value	HDI 95%
IGFBP7-AS1	-۱/۶۵۲	۳/۴۱	-۰/۴۹۷	۰/۰۰۴	-۲/۹۹۰، -۰/۳۸
LINC00861	-۴/۸۸۶	۳/۴۵	-۱/۴۹۹	<۰/۰۰۰۱	-۶/۱۸۰، -۳/۵۱
P53	-۳/۱۸۴	۳/۶	-۰/۹۱۴	<۰/۰۰۰۱	-۴/۴۶۰، -۱/۸۷
RHPN-AS1	-۱/۸۶۱	۲/۰۶	-۰/۹۳۲	<۰/۰۰۰۱	-۲/۶۶۰، -۱/۰۸

بیان همزمان هر یک از LncRNA های بررسی شده و P53 به طور قابل توجهی با متاستاز غدد لنفاوی مرتبط بود (جدول ۳). بر اساس تجزیه و تحلیل t-Test، بیان تمام LncRNA ها در دو گروه از نمونه های بافتی تفاوت معنی داری داشت (جدول ۴).

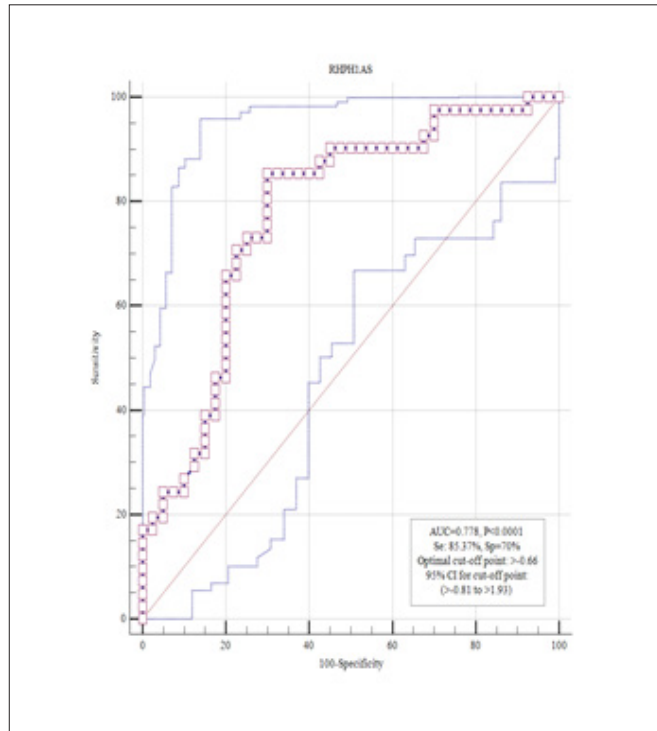
توجه به داده ها، میتوان چنین استنتاج کرد که بیماریاری با سطح بیان پایین تر LINC۰۰۸۶۱ نرخ بقای کوتاه تری نسبت به بیماریاری با سطح بیان بالاترین ژن داشته باشند (شکل ۱).

در مطالعه حاضر نشان داده شد که بیان AS1-IGFBPV در بافت های توموری در مقایسه با سلول های طبیعی مجاور افزایش می یابد. این تغییر در بیان، ارتباط معنی داری با متاستاز غدد لنفاوی و سن نشان نداد (شکل ۳). از آنجایی که AS1-IGFBPV دارای اثرات میتوژنیک و ضد آپوپتوز است، ممکن است خطر ابتلا به سرطان سینه را افزایش دهد. بنابراین، این بیومارکر می تواند به عنوان یک شاخص پیش آگهی در سرطان مهاجم مجاری پستان نوع لومینال A استفاده شود. همچنین در مقایسه با بافت طبیعی مجاور، سطح بیان پایین p۵۳ در نمونه های تومور تشخیص داده شد (شکل ۴). این تغییر در بیان ژن p۵۳ با پیش آگهی ضعیف در سرطان مهاجم مجاری پستان همراه بود. ارتباط معنی داری بین سن، اندازه تومور و سطح بیان p۵۳ مشاهده نشد.

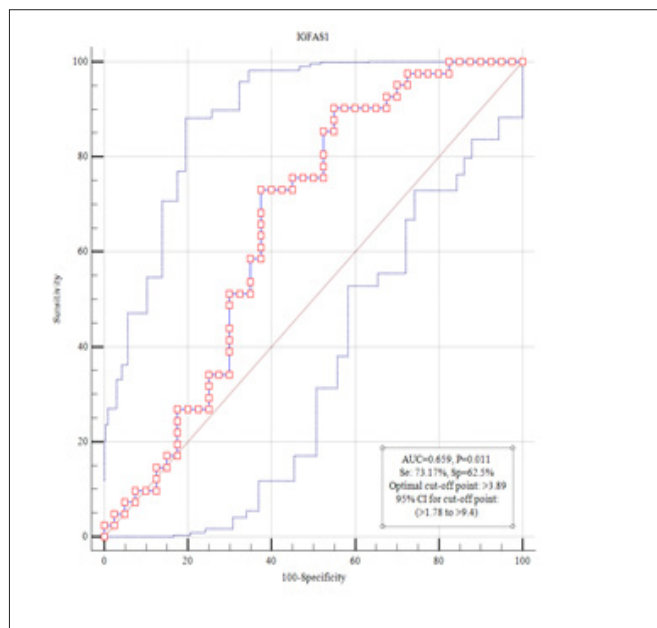
بیان AS1-RHPN1 در نمونه های توموری افزایش یافت که به طور قابل توجهی با پیش آگهی بد سرطان پستان مرتبط بود (شکل ۲). علاوه بر این، AS1-RHPN1 به عنوان یک پیش بینی کننده مستقل و قابل توجه برای پیش آگهی سرطان پستان در مطالعات تک متغیره و چند متغیره مشخص شد. این داده ها نشان می دهد که AS1-RHPN1 ممکن است یک نشانگر زیستی پیش بینی کننده و هدف درمانی برای سرطان پستان باشد. LINC۰۰۸۶۱ در مکانیسم بیولوژیکی مهم سرطان مهاجم مجاری پستان نقش دارد. ارتباط احتمالی بین LINC۰۰۸۶۱ و نشانگرهای زیستی بالینی وجود دارد. سطح بیان این ژن در بافت توموری به طور قابل توجهی در مقایسه با بافت طبیعی مجاور کاهش نشان داد. نتایج این مطالعه نشان داد که Linc۰۰۸۶۱ می تواند به عنوان یک سرکوب کننده تومور در پیشرفت سرطان سینه تهاجمی لومینال نوع A نقش داشته باشد. علاوه بر این، هیچ ارتباطی بین سطوح LINC۰۰۸۶۱ و تمایز، اندازه تومور، سن و ظاهر بافت شناسی نمونه ها وجود نداشت (جدول ۴). با



شکل ۱ - منحنی کاپلان - مایر (KM). ارتباط بین بیان LINC۰۰۸۶۱ و پیش آگهی کارسینوم مهاجم مجاری پستان نوع A. این منحنی نشان دهنده دقت LINC۰۰۸۶۱ در تشخیص بافت توموری و سالم است.

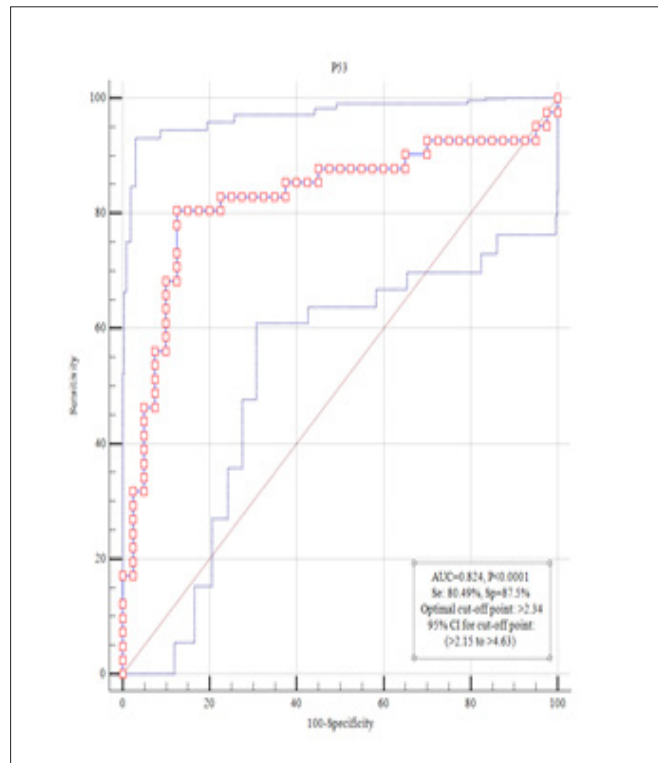


شکل ۲ - منحنی کاپلان - مایر (KM). ارتباط بین بیان AS1-RHPN1 و پیش آگهی کارسینوم مهاجم مجاری پستان نوع A. این منحنی نشان دهنده دقت AS1-RHPN1 در تشخیص بافت توموری و سالم است.



شکل ۳ منحنی کاپلان - مایر (KM). ارتباط بین بیان AS1-IGFBPV و پیش آگهی سرطان مهاجم مجاری پستان نوع A. این منحنی نشان دهنده دقت AS1-IGFBPV در تمایز بین بافت توموری و بافت سالم است.





شکل ۴ منحنی کاپلان - مایر (KM). ارتباط بین بیان P53 و پیش آگهی سرطان مهاجم مجاری پستان نوع A. این منحنی نشان دهنده دقت P53 در تشخیص بافت توموری از بافت سالم است.

## بحث

در عود غیر زودرس و زودرس بیماران مبتلا به کارسینوم سلولی کبدی میتواند به عنوان یک نشانگر زیستی برای پیش بینی وقوع مجدد و زودرس سرطان کبد پس از برداشت بافت توموری جهت درمان، استفاده شود (۲۳). گزارش شده است که بیان کم LINC ۰۰۸۶۱ با پیش آگهی ضعیف در سرطان تخمدان همراه است (۲۴). Linc ۰۰۸۶۱ می تواند یک بیومارکر مهم برای تشخیص و درمان زود هنگام این بیماری باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که LINC ۰۰۸۶۱ می تواند با p53 تعامل داشته باشد. LINC ۰۰۸۶۱ ممکن است فرآیندهای بیولوژیکی پایه را کنترل کند و ممکن است به عنوان یک بیومارکر بالینی بالقوه برای تشخیص استفاده شود. از آنجایی که lncRNA ها می توانند به عنوان انکوژن و یا سرکوب

بیان غیرطبیعی lncRNA ها به طور قابل توجهی در انواع سرطان ها، از جمله سرطان روده بزرگ (۱۶)، دهانه رحم (۱۷)، و پروستات نقش دارد (۱۸). تحقیقات متعدد شواهدی را ارائه کرده اند که نشان می دهد lncRNA ها بر سرطان تأثیر گذارند، مثلا در سرطان مهاجم پستان، که به عنوان سرکوبگر تومور یا انکوژن عمل می کنند (۱۹). علیرغم پیشرفتهای زیاد در تکنیک های درمانی سرطان پستان، پیش آگهی بیماران سرطان مهاجم پستان هنوز ناشناخته باقی مانده است (۲۰-۲۲).

در کارسینوم مهاجم مجاری پستان، بیان کم LINC ۰۰۸۶۱ با پیش آگهی ضعیف همراه بوده است. همچنین شواهد نشان میدهند که LINC ۰۰۸۶۱ در پیشرفت و بروز انواع مختلف سرطان نقش دارد. بیان افتراقی LINC ۰۰۸۶۱

AS1 تکثیر و متاستاز سلول های سرطانی را سرکوب می کند (۱۱). این مشاهدات نشان می دهد که بسته به نوع سرطان، AS1-RHPN1 ممکن است نقش انکوژنیک یا سرکوب گر داشته باشد. از سوی دیگر، p53 یکی از مهمترین اهداف درمانی سرطان به دلیل عملکردهای حیاتی آن در پیشگیری از سرطان زایی است. درمان های مختلفی را می توان با ترکیبی از تومور و سلول های طبیعی مجاور، بر اساس نوع تنوع ژنتیکی در p53 انجام داد.

کننده تومور عمل کنند، تنظیم نادرست بیان آنها موجب پیش آگهی ضعیف در بیماران می شود (۲۵). AS1-RHPN1 در تکثیر سلولی، مهاجرت و ترویج تهاجم سلولی نقش دارد. در مطالعه Lu و همکاران، افزایش بیان AS1-RHPN1 در رده سلولی ملانوما گزارش شد (۱۰). در مقابل، مطالعه دیگری در سرطان ریه نشان داد که بیان AS1-RHPN1 در بافت توموری در مقایسه با بافت سالم کاهش یافته است، که نشان دهنده نقش سرکوب کننده AS1,9-RHPN1 می باشد (۹). Xu و همکارانش، گزارش کرده اند که بیان کم RHPN1-

### نتیجه گیری:

به نظر می رسد اندازه گیری سطح AS1-IGFBPV در بافت پستان می تواند به عنوان یک شاخص پیش آگهی برای تشخیص سرطان مهاجم مجاری پستان نوع A استفاده شود. همچنین، با توجه به تومور زایی سیستم IGF، تداخلات دارویی این سیستم در حال بررسی است و راهکارهای مختلفی در این زمینه می تواند در درمان این نوع سرطان موثر باشد. علاوه بر این، با بررسی مسیرهای سیگنال دهی درگیر به طور جامع تر، می توان پروتئین های بالادستی و پایین دستی جدیدی را که به عنوان هدف عمل می کنند، کشف کرد. شناسایی مرحله، زیرگروه یا حتی بیان lncRNA های متاستاز در کارسینوم مهاجم مجاری پستان ممکن است آنها را به نشانگرهای زیستی پرباری برای پیش آگهی و تشخیص کارآمد تبدیل کند. پیشرفت روش های درمانی مبتنی بر RNA، lncRNA های مرتبط با سرطان پستان که عملکرد آنها به طور تجربی تأیید شده است را به عنوان اهداف جدیدی برای درمان سرطان پستان تبدیل کرده است.

### مصوبات:

کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تهران تمامی جوانب این طرح را بررسی و تصویب کرد (کد رهگیری طرح ۲۰۷۹۳). بیماران فرم های رضایت آگاهانه را تکمیل کردند تا امکان استفاده از نمونه های خود را برای اهداف تحقیقاتی فراهم آورند. این مطالعه هیچ هزینه اضافی برای بیماران در بر نداشت.

### تقدیر و تشکر:

از مدیران و کارشناسان محترم گروه زیست شناسی سلولی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، سرکار خانم اشرفی، حوزه معاونت پژوهشی کل، سرکار خانم پورکشاورز بابت زحمات بی دریغ و ارزشمندشان تشکر و قدردانی می گردد.

### تعارض منافع:

نویسندگان هیچ تضاد منافی را اعلام نمی کنند.

## References

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2018;68(6):394-424.  
**doi.org/10.3322/caac.21492**
2. Nagini S. Breast Cancer: Current Molecular Therapeutic Targets and New Players. *Anti-cancer Agents in Medicinal Chemistry*. 2017;17(2):152-63.  
**doi:10.2174/1871520616666160502122724.**
3. Zoorob RJ, Salemi JL, Mejia de Grubb MC, Modak S, Levine RS. A nationwide study of breast cancer, depression, and multimorbidity among hospitalized women and men in the United States. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2019;174(1):237-48.  
**DOI: 10.1007/s10549-018-5059-5**
4. Marinovich ML, Bernardi D, Macaskill P, Ventriglia A, Sabatino V, Houssami N. Agreement between digital breast tomosynthesis and pathologic tumour size for staging breast cancer, and comparison with standard Mammography. *Breast (Edinburgh, Scotland)*. 2019;43:59-66.  
**doi.org/10.1016/j.breast.2018.11.001**
5. Zhao Q, Zhang X, Cai H, Zhang P, Kong D, Ge X, Du M, Liang R, and Dong W. Anticancer effects of plant derived Anacardic acid on human breast cancer MDA-MB-231 cells. *American Journal of Translational Research*. 2018;10(8):2424-34.  
**DOI: 10.4014/jmb.1311.11052**
6. Hansji H, Leung EY, Baguley BC, Finlay GJ, Askarian-Amiri ME. Keeping abreast with long non-coding RNAs in mammary gland development and breast cancer. *Frontiers in Genetics*. 2014;5:379.  
**doi.org/10.3389/fgene.2014.00379**
7. Kosir MA, Jia H, Ju D, Lipovich L. Challenging paradigms: long non-coding RNAs in breast ductal carcinoma in situ (DCIS). *Frontiers in Genetics*. 2013;4:50.  
**doi.org/10.3389/fgene.2013.00050**
8. Eshghifar N, Rouhollah F, Barikrow N, Pouresmaeili F, Taheri M. The role of long noncoding RNAs in patients with Luminal A invasive breast ductal carcinoma. *Pathology, Research and Practice*. 2021;227:153645.  
**doi.org/10.1016/j.prp.2021.153645**
9. Li X, Zhang X, Yang C, Cui S, Shen Q, Xu S. The lncRNA RHPN1-AS1 downregulation promotes gefitinib resistance by targeting miR-299-3p/TNFSF12 pathway in NSCLC. *Cell Cycle (Georgetown, Tex)*. 2018;17(14):1772-83.  
**https://doi.org/10.1080/15384101.2018.1496745**
10. Lu L, Yu X, Zhang L, Ding X, Pan H, Wen X, Xu S, Xing Y, Fan J, Ge S, Zhang H, Jia R, and Fan X. The Long Non-Coding RNA RHPN1-AS1 Promotes Uveal Melanoma Progression. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(1).  
**doi.org/10.3390/ijms18010226**
11. The Long Non-Coding RNA RHPN1-AS1 Promotes Uveal Melanoma Progression. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(1).  
**doi.org/10.3390/ijms18010226**
12. Xu C, Ping Y, Zhao H, Ning S, Xia P, Wang W, Wan L, Li J, Zhang L, Yu L, and Xiao Y. LncNetP, a systematical lncRNA prioritization approach based on ceRNA and disease phenotype association assumptions. *Oncotarget*. 2017;8(70):114603-12.  
**doi:10.18632/oncotarget.23059**
13. LncNetP, a systematical lncRNA prioritization approach based on ceRNA and disease phenotype association assumptions. *Oncotarget*. 2017;8(70):114603-12.  
**doi: 10.18632/oncotarget.23059**
14. Jin L, Shen F, Weinfeld M, Sergi C. Insulin Growth Factor Binding Protein 7 (IGFBP7)-Related Cancer and IGFBP3 and IGFBP7 Crosstalk. *Frontiers in Oncology*. 2020;10:727.  
**doi: 10.3389/fonc.2020.00727**
15. Peterson LF, Mitrikeska E, Giannola D, Lui Y, Sun H, Bixby D, Peterson LF, Mitrikeska E, Giannola D, Lui Y, Sun H, Bixby D. p53 stabilization induces apoptosis in chronic myeloid leukemia blast crisis cells. *Leukemia*. 2011;25(5):761-9. p53 stabilization induces apoptosis in chronic myeloid leukemia blast crisis cells. *Leukemia*. 2011;25(5):761-9.  
**DOI: 10.1038/leu.2011.7**
16. Liang Y, Besch-Williford C, Benakanakere I, Thorpe PE, Hyder SM. Targeting mutant p53 protein and the tumor vasculature: an effective combination therapy for advanced breast tumors. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2011;125(2):407-20.  
**DOI: 10.1007/s10549-010-0851-x**
17. Liu H, Zhang L, Ding X, Sui X. LINC00861 inhibits

the progression of cervical cancer&nbsp;cells by functioning as a ceRNA for miR-513b-5p and&nbsp;regulating the PTEN/AKT/mTOR signaling pathway. *Molecular Medicine Reports*. 2021;23(1). **doi.org/10.3892/mmr.2020.11662**

**18.** Bai J, Xu J, Zhao J, Zhang R. LncRNA NBR2 suppresses migration and invasion of colorectal cancer cells by downregulating miRNA-21. *Human Cell*. 2020;33(1):98-103.

**DOI: 10.1007/s13577-019-00265-1**

**19.** Liang H, Zhang C, Guan H, Liu J, Cui Y. LncRNA DANCR promotes cervical cancer progression by upregulating ROCK1 via sponging miR-335-5p. *Journal of Cellular Physiology*. 2019;234(5):7266-78.

**DOI:10.1002/jcp.27484**

**20.** Hu R, Lu Z. Long non-coding RNA HCP5 promotes prostate cancer cell proliferation by acting as the sponge of miR-4656 to modulate CEMIP expression. *Oncology Reports*. 2020;43(1):328-36.

**doi.org/10.3892/or.2019.7404**

**21.** Sanchez Calle A, Kawamura Y, Yamamoto Y, Takeshita F, Ochiya T. Emerging roles of long non-coding RNA in cancer. *Cancer Science*. 2018;109(7):2093-100.

**doi:10.1111/cas.13642**

**22.** Wang Y, Zhang Y, Chen G, Liu F, Liu C, Xu T, and Ma Z. Huge borderline phyllodes breast tumor with repeated recurrences and progression toward more malignant phenotype: a case report and literature review. *OncoTargets and Therapy*. 2018;11:7787-93.

**doi:10.2147/OTT.S171714**

**23.** Ren Z, Yang T, Ding J, Liu W, Meng X, Zhang P, Liu K, and Wang P. MiR-520d-3p antitumor activity in human breast cancer via post-transcriptional regulation of spindle and kinetochore associated 2 expression. *American Journal of Translational Research*. 2018;10(4):1097-10. PMID: PMC5934569

**24.** Wu J, Zhu H, Wu J, Chen W, Guan X. Inhibition of N-acetyltransferase 10 using remodelin attenuates doxorubicin resistance by reversing the epithelial-mesenchymal transition in breast cancer. *American Journal of Translational Research*. 2018;10(1):25.64-6. PMID: PMC5801363

**25.** Lv Y, Wei W, Huang Z, Chen Z, Fang Y, Pan L. Long non-coding RNA expression profile can predict early recurrence in hepatocellular carcinoma after curative resection. *Hepatology Research : The Official Journal of the Japan Society of Hepatology*. 2018;48(13):1140-8.

**DOI: 10.1111/hepr.13220**

**26.** Zheng M, Hu Y, Gou R, Nie X, Li X, Liu J. Identification three LncRNA prognostic signature of ovarian cancer based on genome-wide copy number variation. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie.*,2020,124:109810.

**DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109810**

**27.** Gholipour Maralan, F., Zare Karizi, S., & Ebrahim Zadeh, M. (2021). Evaluation of CCND1 and ITGB1 genes expression in patients with breast cancer. *Iranian Journal of Biological Sciences*, 16(1), 33-40.

**DOI:20.1001.1.17354226.1400.16.1.4.7**