



افزایش بیان همزمان PVT1 و MYC در بافت توموری پستان بیماران ایرانی: شواهد

تقویت شده‌ای از ارتباط lncRNA ها با انکوژن های مجاور

یوسف رضا رضایی ملک^۱، محمد شفیع^۲، رضا طبری پور^{۳*}

۱. کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

۲. عضو هیأت علمی گروه ژنتیک، دانشکده فناوری های نوین علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

۳. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۱۵

پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۰۴

چاپ: بهار ۱۴۰۴

DOI:

doi.org/10.82415/NACMS.2025.1214215

کلمات کلیدی:

سرطان پستان، lncRNA، MYC، PVT1

* نویسنده مسئول: Email

tabaripoor@gmail.com

سرطان پستان به عنوان شایع ترین نئوپلاسم بدخیم زنان در جهان، به ویژه با روند افزایشی بروز در سنین پایین تر، یکی از چالش های اصلی سلامت عمومی به شمار می رود. با وجود پیشرفت های قابل توجه، بسیاری از جنبه های سلولی، مولکولی و ژنتیکی مرتبط با توموریز و پیشرفت سرطان پستان همچنان ناشناخته باقی مانده و شناسایی آن ها می تواند زمینه ساز توسعه روش های نوین تشخیصی و درمانی شود. در سال های اخیر، RNA های غیررمزگذار بلند (lncRNA) به عنوان تنظیم کننده های کلیدی بیان ژن و فرایندهای سلولی، به ویژه در سرطان، مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته اند؛ یکی از این lncRNA ها، PVT1 است که در کنار انکوژن مجاور خود یعنی MYC، در ناحیه 8q24 کروموزوم ۸ قرار دارد. در حالی که نقش انکوژن MYC در پاتوژنز و پیشرفت سرطان پستان به خوبی اثبات شده است، ارتباط عملکردی آن با PVT1 و تأثیر همزمان این دو ژن بر فرایندهای سرطانی هنوز به طور کامل مشخص نشده است. این مطالعه با هدف بررسی بیان همزمان ژن های MYC و PVT1 در نمونه های بافت توموری و غیر توموری پستان زنان ایرانی انجام شد. برای این کار پس از استخراج RNA، سنتز cDNA و کمی سازی بیان ژن ها با روش RT-qPCR، داده ها به صورت آماری با نمونه های غیر توموری همان بیماران مقایسه و تحلیل شدند. نتایج نشان داد بیان MYC و PVT1 به ترتیب ۲/۷۰ برابر ($p=0.001$) و ۱/۲۴ برابر ($p=0.048$) در نمونه های توموری نسبت به بافت سالم حاشیه تومور افزایش معنی داری دارد. همچنین، ارتباط مثبت و معنی داری بین بیان PVT1 و MYC مشاهده شد ($p<0.01$; $r=0.459$). یافته های این پژوهش برای نخستین بار افزایش بیان ژن های MYC و PVT1 را در بافت توموری سرطان پستان زنان ایرانی نشان می دهد. این نتایج، شواهد نقش MYC و PVT1 را در پاتوژنز و احتمالاً مقاومت دارویی این بیماری پررنگ تر می سازد و می تواند مسیر تحقیقات آینده را برای توسعه نشانگرهای زیستی و درمان های هدفمند مبتنی بر RNA های غیررمزگذار هموارتر کند.

مقدمه

مولکولی، برای توسعه غربالگری هدفمند و ارتقای مراقبت‌های فردمحور در مدیریت سرطان پستان در سطح ملی و بین‌المللی ضرورت زیادی دارد (۳).

lncRNAها مولکول‌های غیرکدکننده‌ای با طول بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید هستند که تنظیم دقیق بیان ژن و فرایندهای سلولی را از طریق مکانیسم‌های متنوعی از جمله تغییرات اپی‌ژنتیکی، کنترل در حین رونویسی و فرایندهای پسارونویسی به‌عهده دارند (۴). از منظر بالینی، تغییرات بیان lncRNAها در طیف وسیعی از بیماری‌ها مشاهده می‌شوند. در سرطان، lncRNAهایی مانند PVT1، HOTAIR و MALAT1 به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های اصلی تومورزایی، متاستاز و مقاومت دارویی شناخته شده‌اند و در سرطان‌های پستان، ریه، کولورکتال، پروستات و دستگاه گوارش به‌عنوان نشانگرهای زیستی با قابلیت تشخیصی و پیش‌آگهی مطرح هستند (۵، ۶). بدلیل نقش‌های گسترده و حیاتی lncRNAها در انواع بیماری‌های انسانی، این مولکول‌ها به‌عنوان اهداف درمانی نوین و نشانگرهای زیستی دقیق در پزشکی شخصی‌سازی‌شده مورد توجه ویژه قرار گرفته‌اند و امکان توسعه راهکارهای تشخیصی و درمانی نوآورانه را فراهم می‌کنند (۴).

lncRNAها در سرطان پستان نیز نقش‌های متنوع و پیچیده‌ای دارند و بر اساس ساختار و موقعیت ژنومی به انواع سنس، آنتی‌سنس، بین‌ژنی، داخل‌ژنی و متصل به پیش‌برنده تقسیم می‌شوند. برای نمونه، lncRNA سنس LINC00511 (با افزایش بیان، موجب رشد سلول‌های سرطانی و مقاومت به شیمی‌درمانی می‌شود)، lncRNA آنتی‌سنس ANRIL (با تنظیم بیان ژن‌های کلیدی مسیرهای آپوپتوز و چرخه سلولی، نقش سرکوبگر توموری دارد)، lncRNAهای بین‌ژنومی مانند HOTAIR و MALAT1 (به ترتیب در بازآرایی کروماتین و تنظیم مهاجرت سلولی

سرطان پستان نه تنها شایع‌ترین نوع سرطان در میان زنان سراسر جهان است، بلکه یکی از اصلی‌ترین علل مرگ و میر ناشی از سرطان محسوب می‌شود. بر اساس گزارش GLOBOCAN 2022، سالانه بیش از ۲۲۹۶۸۴۰ مورد جدید ابتلا و ۶۶۶۱۰۳ مرگ مرتبط با این بیماری ثبت می‌شود که به ترتیب ۱۱/۶ درصد و ۶/۹ درصد از کل موارد و مرگ‌های سرطانی زنان را تشکیل می‌دهد (۱). درحالی‌که کشورهای توسعه‌یافته به‌واسطه اجرای برنامه‌های غربالگری منظم، بهره‌گیری از فناوری‌های پیشرفته تشخیصی و درمان‌های هدفمند موفق به کاهش چشمگیر مرگ و میر شده‌اند، کشورهای کم‌درآمد و با درآمد متوسط همچنان شاهد افزایش سالانه ۱ تا ۵ درصدی بروز این بیماری هستند (۱). در ایران نیز سرطان پستان با روند افزایشی چشمگیر، به عنوان شایع‌ترین سرطان زنان و دومین علت مرگ ناشی از سرطان مطرح است. داده‌های نظام ثبت سرطان ایران و مطالعات بار جهانی بیماری‌ها (GBD) نشان می‌دهد که نرخ بروز استاندارد شده سنی این سرطان در سال‌های اخیر به حدود ۴۳ مورد در هر ۱۰۰۰۰۰ زن رسیده و پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۲۵، افزایش ۶۳ درصد در تعداد موارد جدید نسبت به دهه گذشته رخ دهد (۲). مدل‌های پیش‌بینی جهانی نیز هشدار می‌دهند که در صورت فقدان مداخلات مؤثر، میزان ابتلا و مرگ و میر ناشی از سرطان پستان تا سال ۲۰۵۰ به ترتیب ۳۸ درصد و ۶۸ درصد افزایش خواهد یافت (۳). با لحاظ این نکته که میانگین سن تشخیص بیماران ایرانی حدود ده سال کمتر از متوسط جهانی است و بیش از ۸۰ درصد موارد در مراحل پیشرفته تشخیص داده می‌شوند، اهمیت گسترش برنامه‌های غربالگری ملی و بهبود زیرساخت‌های تشخیص مولکولی مشخص‌تر می‌شود (۲). در مجموع ضرورت تقویت نظام ثبت سرطان مبتنی بر داده‌های

نقش دارند و با پیشرفت، متاستاز و مقاومت به داروهای شیمی‌درمانی مانند تاکسول مرتبط هستند)، lncRNA پیش‌برنده BCAR4 (مسیرهای سیگنال‌دهی مرتبط با تومور را فعال کرده و موجب افزایش مهاجرت و رشد سلولی می‌شود)، lncRNA داخل‌ژنومی ESR1 (که هم تنظیم‌کننده بیان گیرنده استروژن است و هم تغییر بیان آن با پاسخ به هورمون‌درمانی ارتباط دارد)، و NEAT1 (که در سازماندهی هسته سلول نقش دارد و با افزایش بیان خود، مقاومت به درمان و متاستاز را تقویت می‌کند)، همگی انواعی از lncRNA‌های موثر در سرطان پستان هستند (۷). از کل انواع بسیار زیاد lncRNA‌های شناسایی شده مرتبط با سرطان پستان که در تنظیم بیان ژن، پیشرفت تومور، متاستاز و مقاومت دارویی نقش دارند، بسیاری از این مولکول‌ها در مراحل اولیه تحقیقاتی قرار دارند، اما تعداد محدودی از آنها به عنوان نشانگرهای زیستی و اهداف درمانی در پزشکی شخصی‌سازی شده مورد توجه قرار گرفته‌اند. فناوری‌های نوین توالی‌یابی و ویرایش ژن، امکان بررسی دقیق و هدف‌گیری اختصاصی این مولکول‌ها را فراهم کرده و امید به بهبود نتایج درمان بیماران را افزایش داده است (۸). ناحیه کروموزومی 8q24 یکی از پیچیده‌ترین و کلیدی‌ترین لوکوس‌های ژنتیکی مرتبط با انکوژن در سرطان‌های انسانی است که میزبان انکوژن مهم MYC و lncRNA‌های حیاتی از جمله PVT1 می‌باشد. این منطقه که در بازوی بلند کروموزوم ۸ و در بازه ژنومی تقریباً ۱۲۵ تا ۱۳۴ مگاباز قرار دارد، به دلیل تراکم بالای عناصر تنظیمی، تقویت‌کننده‌ها و ساختارهای سه‌بعدی پیچیده کروماتینی، نقش محوری در تنظیم بیان ژن‌ها ایفا می‌کند. تعاملات فضایی در این لوکوس، از طریق تشکیل حلقه‌های کروماتینی، تماس فیزیکی و هم‌تنظیمی پروموتورها، اگزونها و تقویت‌کننده‌های چندین ژن مجاور را ممکن

ساخته و شبکه‌های تنظیمی پویا و دقیقی در سطح رونویسی ایجاد می‌کند. تغییرات اپی‌ژنتیکی مانند متیلاسیون DNA و اصلاح هیستون در این ناحیه، موجب تثبیت بیان انکوژن MYC و lncRNA‌های مرتبط می‌شود و این مولکول‌ها در قالب هاب‌های تنظیمی سه‌بعدی، حلقه‌های بازخورد مثبت را تقویت کرده و افزایش همزمان بیان و فعالیت مولکولی آنها را موجب می‌شوند. این فرایندها به طور مستقیم در تومورزایی، متاستاز و مقاومت دارویی نقش دارند. اخیراً فناوری‌های نوین نقشه‌برداری سه‌بعدی کروماتین (مانند Hi-C^۱، ChIA-PET و Capture-C^۲) امکان تحلیل دقیق این ساختارهای تنظیمی را فراهم کرده و افق‌های نوینی در فهم مکانیسم‌های مولکولی سرطان‌های مرتبط با ناحیه 8q24 گشوده‌اند (۹). درک جامع این شبکه‌های تنظیمی فضایی و مولکولی، کلید توسعه رویکردهای درمانی هدفمند و «پزشکی دقیق» در سرطان‌های مختلف، به ویژه سرطان پستان است و تمرکز تحقیقات بر این لوکوس می‌تواند منجر به کشف نشانگرهای زیستی حساس‌تر و درمان‌های دقیق‌تر گردد (۱۰-۱۴).

اونکوژن MYC که در ناحیه 8q24 کروموزوم انسان رمزگذاری می‌شود (شکل ۱) یکی از فاکتورهای رونویسی هسته‌ای کلیدی و چندمنظوره است که نقش مرکزی در تنظیم بیان ژن‌های کنترل‌کننده فرایندهای حیاتی سلولی مانند رشد، تمایز، متابولیسم و آپوپتوز دارد و به‌طور گسترده در پاتوژنز انواع سرطان‌ها از جمله سرطان پستان نقش ایفا می‌کند. این انکوژن با فعال‌سازی مسیرهای سیگنال‌دهی حیاتی مانند PI3K/AKT و Wnt/ β -catenin و تنظیم ژن‌های مربوط به چرخه سلولی، تقسیم سلولی بی‌رویه و تغییر متابولیسم به سمت گلیکولیز را تسهیل می‌کند (۱۵). افزایش

³ Chromosome Conformation Capture

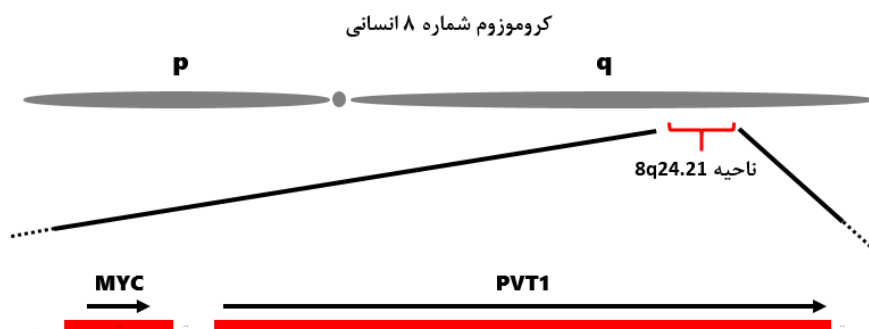
¹ High-throughput Chromosome Conformation Capture

² Chromatin Interaction Analysis by Paired-End Tag Sequencing

بیان و تثبیت فعالیت MYC در سرطان پستان با پیشرفت تومور، متاستاز و مقاومت به درمان‌های شیمی‌درمانی و هورمونی ارتباط نزدیکی دارد (۱۶).

PVT1 نیز که در ناحیه 8q24 کروموزوم انسان (در همسایگی ژنتیکی انکوژن MYC) رمزگذاری میشود (شکل ۱) نوعی lncRNA است که نقش برجسته‌ای در پاتوژنز انواع سرطان‌ها از جمله سرطان پستان ایفا می‌کند. ارتباط نزدیک ژن این دو مولکول باعث شکل‌گیری حلقه‌های بازخوردی تقویت‌کننده می‌شود که به تثبیت و افزایش فعالیت MYC منجر می‌گردد (۱۷). افزایش بیان PVT1 در سرطان‌های مختلف مانند پستان، با افزایش رشد تومور، مهاجرت سلولی، مقاومت به داروهای شیمی‌درمانی و پیش‌آگهی ضعیف بیماران همراه است. به‌ویژه در سرطان پستان، PVT1 با جذب میکروRNAهای تنظیم‌کننده مسیرهای سیگنال‌دهی

حیاتی مانند PI3K/AKT و Wnt/ β -catenin به تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با چرخه سلولی و آپوپتوز کمک کرده و تکثیر و بقای سلول‌های سرطانی را افزایش می‌دهد. همچنین، PVT1 قادر است با تشکیل کمپلکس‌های پروتئینی، فرایندهای اپی‌ژنتیکی همچون متیلاسیون DNA و اصلاح هیستون را تحت تأثیر قرار دهد و بدین ترتیب بیان ژن‌های سرکوبگر تومور را کاهش دهد. از منظر بالینی، PVT1 به عنوان نشانگر زیستی تشخیصی و پیش‌آگهی در نمونه‌های بافت و مایعات بدن شناخته می‌شود و هدف‌گیری آن با فناوری‌های RNAi و ویرایش ژن، نویدبخش توسعه درمان‌های هدفمند و مؤثر در سرطان پستان و سایر بدخیمی‌هاست. با توجه به نقش چندوجهی PVT1 در پاتوژنز سرطان، مطالعه بیشتر این lncRNA می‌تواند به توسعه راهکارهای نوین «پزشکی دقیق» کمک شایانی نماید (۱۸).



شکل ۱. نمای شماتیک ناحیه 8q24 کروموزوم ۸ انسان که در آن موقعیت مجاور هم ژنهای MYC و PVT1 مشخص شده اند.

غیررمزگذار بلند PVT1 در نمونه‌های توموری سرطان پستان منتشر نشده است. گزارش حاضر برای نخستین بار به بررسی همزمان سطح بیان ژن MYC به عنوان یک انکوژن کلیدی در مسیرهای ایجاد و پیشرفت سرطان، و RNA غیررمزگذار بلند مجاور آن یعنی PVT1 در نمونه‌های بافت توموری سرطان پستان زنان ایرانی می‌پردازد. امید است نتایج این مطالعه، در کنار سایر گزارش‌های منتشرشده در زمینه بررسی همزمان بیان RNAهای غیررمزگذار مجاور انکوژن‌ها در بافت توموری سرطان پستان، بتواند به درک بهتر مکانیسم‌های

ضرورت انجام این تحقیق با توجه به چندعاملی بودن بیماری سرطان و نقش عوامل ترانسکریپتومیک هر جمعیت در بروز و پیشرفت این بیماری با نگاه نوین «پزشکی دقیق» از یک سو، و همچنین با در نظر گرفتن نقش کلیدی ژن‌های MYC و PVT1 در تنظیم فرایندهای سلولی و ارتباط آن‌ها با سرطان که پیش‌تر در مقدمه به آن اشاره شد، آشکار می‌شود. تا جایی که نگارندگان اطلاع دارند، تاکنون گزارشی از ایران درباره بررسی همزمان بیان ژن MYC و RNA

مولکولی این بیماری و توسعه راهکارهای درمانی هدفمند برای پژوهشگران و فناوران آینده کمک نماید.

مواد و روش کار

متدولوژی و نوع مطالعه: مطالعه حاضر یک مطالعه

مشاهده‌ای تحلیلی با طراحی جفت شده^۴ در حوزه بیولوژی مولکولی است که به بررسی مقایسه‌ای بیان دو هدف مولکولی شامل انکوژن MYC و lncRNA مجاور آن در ناحیه 8q24 کروموزوم شماره ۸ انسانی، در نمونه‌های بافت توموری و غیرتوموری مجاور بیماران مبتلا به سرطان پستان می‌پردازد. در طراحی روش این تحقیق، عوامل زیستی و ژنتیکی کنفاندینگ^۵ مانند سن، وضعیت فیزیولوژیک، تنوع ژنتیکی و متغیرهای محیطی که می‌توانند به طور مستقل بر سطح بیان ژن‌ها تأثیر گذاشته و واریانس داده‌ها را افزایش دهند، مورد توجه قرار گرفتند. به همین منظور، با استفاده از طراحی جفت‌شده که در آن نمونه‌های بافت توموری و غیرتوموری به طور همزمان از یک بیمار جمع‌آوری می‌شوند، این عوامل تا حد زیادی کنترل شده و تفاوت‌های بین‌فردی کاهش یافته است. این رویکرد باعث افزایش حساسیت و قدرت شناسایی تغییرات حتی جزئی در بیان ژن‌های هدف شده است. بنابراین، تحلیل داده‌ها به صورت مقایسه درون‌فردی^۶ انجام شد تا اعتبار نتایج حاصل ارتقا یابد.

تعیین حجم نمونه: حجم نمونه این مطالعه بر اساس

مرور سیستماتیک مطالعات پیشین تعیین شد. بررسی پارامترهای آماری استخراج شده از مطالعات مرتبط نشان داد که «اندازه اثر» تغییرات بیان ژن‌ها معمولاً در محدوده متوسط تا بزرگ (اندازه اثر کوهن^۷ بین ۰/۵ تا ۰/۸) و انحراف معیار

بیان ژن‌ها بین (۰/۴ تا ۰/۷) متغیر است (۱۹-۲۲). جهت اطمینان از توان آماری کافی، کوچک‌ترین اندازه اثر مشاهده‌شده ($d = 0.5$) به عنوان مبنا قرار گرفت. با فرض سطح معنی‌داری $\alpha = 0.05$ و توان آماری ۸۰ درصد، حجم نمونه مورد نیاز تقریباً ۳۴ بیمار برآورد شد. در نهایت، با توجه به امکان حذف برخی نمونه‌های ناکافی و به منظور حفظ قدرت و اعتبار تحلیل، ۳۶ نمونه بالینی برای مطالعه انتخاب گردید.

نمونه‌گیری بالینی و معیارهای ورود و خروج: ۳۶

نمونه بالینی شامل بافت توموری جامد و بافت غیرتوموری حاشیه‌ای همان تومورها با رعایت اصول اخلاقی و پس از تأیید پاتولوژیست از مازاد بافت بیماران مبتلا به سرطان پستان جمع‌آوری شد. بیماران تحت عمل جراحی اولیه بودند و پیش از جراحی هیچ گونه درمان سیستمیک (شیمی‌درمانی یا پرتودرمانی) دریافت نکرده بودند. معیارهای ورود شامل زنان مبتلا به سرطان پستان با تشخیص قطعی و نمونه‌های دارای RNA با کیفیت مناسب بود. معیارهای خروج نیز شامل سابقه درمان سیستمیک پیش از نمونه‌برداری، نمونه‌های آلودگی شدید یا RNA با کیفیت پایین بودند. نمونه‌ها در کرایوتیوپ‌های عاری از RNase و به صورت منجمد در دمای -196°C درجه سانتی‌گراد (نیتروژن مایع) با فلاسک نیتروژن مایع قابل حمل به آزمایشگاه، منتقل و تا زمان استخراج RNA در دمای -80°C درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برخی ویژگی‌های دموگرافیک و پاتولوژیک بیماران مبتلا به سرطان پستان تحت عمل جراحی مورد بررسی در این تحقیق در جدول ۱ ارائه شده است.

⁶ within-subject comparison

⁷ Cohen's d

⁴ Paired Observational Analytical Study

⁵ Confounding Factors

جدول ۱. برخی مشخصات دموگرافیک و پاتولوژیک بیماران مبتلا به سرطان پستان تحت عمل جراحی.

ویژگی	مقدار
تعداد بیماران	۳۶ نفر (۱۰۰ درصد)
جنسیت	زن (۱۰۰ درصد)
سن (سال)	بازه: ۳۲-۷۲ میانگین: ۴۸/۵
درجه تومور	I: ۴ نفر (۱۱/۱ درصد) II: ۱۹ نفر (۵۲/۸ درصد) III: ۱۳ نفر (۳۶/۱ درصد)

پس از ۵ دقیقه انکوباسیون در

۳۷ درجه سانتی‌گراد، آنزیم ترانسکریپتاز معکوس (RT) به واکنش اضافه گردید. سنتز cDNA در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸۰ دقیقه ادامه یافت.

طراحی پرایمرها برای واکنش Real-Time PCR:

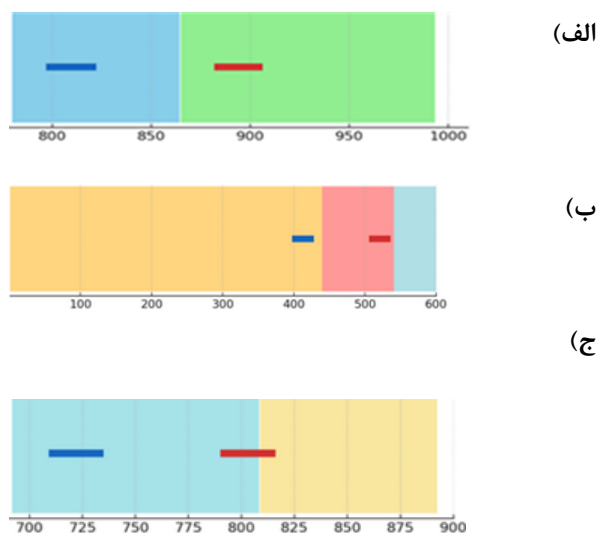
برای ارزیابی سطح بیان ژن‌های هدف، پرایمرهای اختصاصی بر اساس توالی cDNA هر ژن با استفاده از نرم‌افزارهای PerI Primer و Oligo 7 طراحی شدند. اندازه پرایمر (۱۸-۲۵ نوکلئوتید)، دمای ذوب و جلوگیری از تشکیل ساختارهای ثانویه و دایمر پرایمرها در طراحی مدنظر قرار گرفت. در خصوص ژن PVT1، طراحی پرایمرها بر روی دو اگزون آخر انجام شد تا رونوشت مرجع این ژن (NR_003367.3) که بلندترین و کامل‌ترین رونوشت در میان حدود ۲۵ رونوشت گزارش شده است، در واکنش تکثیری پوشش داده شود. پرایمرهای پیشرو و پس‌رونده ژن‌ها به گونه‌ای طراحی شدند که روی اگزون‌های جداگانه قرار گیرند تا از تکثیر DNA ژنومی جلوگیری شود و محصولات PCR مشتق از cDNA از محصولات غیرهدف تفکیک شوند (شکل ۲). اختصاصیت پرایمرها با ابزار بیوانفورماتیکی Primer-BLAST (۲۳) در پایگاه NCBI بررسی و تأیید گردید. اطلاعات توالی پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن‌های هدف و مرجع در جدول ۲ ارائه شده است.

استخراج RNA کل:

استخراج RNA کل از نمونه‌های منجمد بافتی با استفاده از محلول TRIzol™ (Invitrogen) مطابق پروتکل سازنده انجام شد. نمونه‌ها به صورت مکانیکی تحت هود لامینار کلاس II هموژنیزه و سپس ۱ میلی‌لیتر محلول TRIzol™ به آن‌ها افزوده شد. پس از انکوباسیون با کلروفرم و سانتریفیوژ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، فاز آبی حاوی RNA جدا و با افزودن ایزوپروپانول رسوب داده شد. رسوب RNA با اتانول ۷۵ درصد شسته و در آب عاری از RNase حل و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. کمیت و کیفیت RNA استخراج شده به ترتیب، با استفاده از خوانش نسبت جذب ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر نمونه‌ها در دستگاه PicoDrop و حفظ یکپارچگی RNA نمونه‌ها با الکتروفورز ژل آگارز ارزیابی شدند. تمامی مراحل تحت شرایط استریل و ضد RNase انجام شد. برای حذف آلودگی‌های احتمالی DNA، RNA استخراجی با آنزیم DNAase I تیمار گردید.

سنتز cDNA: سنتز cDNA از RNA تیمار شده با

DNAase I با پرایمرهای رندوم هگزامر انجام شد. نمونه‌ها در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انکوبه شدند تا ساختارهای ثانویه RNA از بین رود. سپس مخلوط واکنش شامل dNTPها، بافر اختصاصی و آب دیونیزه افزوده شد و



شکل ۲. نمای شماتیک جایگاه پرایمرهای Real-Time PCR روی اگزون‌های ژن‌های PVT1 (الف)، MYC (ب) و GAPDH (ج). مستطیل‌های رنگی نمایانگر اگزون‌ها و خطوط ضخیم درون آنها جایگاه پرایمرهای پیشرو (آبی) و پسرونده (قرمز) را نشان می‌دهند. محل هر پرایمر در شماره اگزون مندرج در جدول ۲ در اشکال فوق بوضوح مشخص شده است. همه آمپلیکون‌ها مرز اگزون-اگزون را پوشش می‌دهند و اختصاصیت واکنش نسبت به cDNA را تضمین می‌کنند.

جدول ۲- مشخصات ژنهای هدف و مرجع، و پرایمرهای مورد استفاده برای انجام واکنش‌های Real-Time PCR

نام ژن	نماد ژن	شماره دسترسی	توالی پرایمر و محل وقوع
پلاسموسیتوما واریانت ترنسلوکیشن ۱ (انکوژن PVT1)	PVT1	NR_003367.4	F: 5'-TGAGAACTGCTTACGTGACC-3' (اگزون ۹) R: 5'-AGAGCACCAAGACTGGCTCT-3' (اگزون ۱۰)
پروتو-انکوژن MYC، فاکتور رونویسی bHLH	MYC	NM_002467.6	F: 5'-AGCGACTCTGAGGAGGAACAAG-3' (اگزون ۱) R: 5'-TGCGTAGTTGTGCTGATGTGTG-3' (اگزون ۲)
گلیسر آلدهید-۳-فسفات دهیدروژناز	GAPDH	NM_002046.7	F: 5'-GGTGGTCTCCTCTGACTTCAACA-3' (اگزون ۸) R: 5'-GTTGCTGTAGCCAAATTCGTTGT-3' (اگزون ۹)

محاسبه شد تا مقایسه دقیق سطح بیان ژن‌ها در نمونه‌های توموری و غیرتوموری فراهم گردد.

ارزیابی نرمال بودن داده‌ها و تحلیل آماری: برای هر

ژن هدف، توزیع داده‌های بیان ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) در هر گروه با آزمون شاپیرو-ویلک^۸ ارزیابی شد. داده‌های با توزیع نرمال با آزمون زوجی^۹ (پارامتریک) و داده‌های با توزیع غیرنرمال با آزمون رتبه‌ای علامت‌دار ویلکاکسون^{۱۰} (غیرپارامتریک) تحلیل گردیدند. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش

کمی‌سازی بیان ژن‌ها با تکنیک RT-qPCR: بیان

ژن‌های PVT1 و MYC با استفاده از تکنیک RT-qPCR و پرایمرهای اختصاصی در دستگاه ABI 7500 (Applied Biosystems) با کیت SYBR Green اندازه‌گیری شد. هر نمونه در سه تکرار فنی مستقل ارزیابی گردید. برای نرمال‌سازی بیان ژن‌های هدف این تحقیق از ژن مرجع GAPDH استفاده شد. بیان نسبی ژن‌ها با روش $2^{-\Delta\Delta C_t}$

¹ Wilcoxon signed-rank test

0

⁸ Shapiro-Wilk test

⁹ Paired t-test

شدند و سطح معنی‌داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد. تحلیل‌های آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ انجام شد.

نتایج

۱. نتایج کیفیت داده‌ها و کنترل‌های کیفی: توزیع

داده‌های بیان ژنی برای هر ژن در گروه‌های بافت توموری و غیرتوموری با آزمون شاپیرو-ویلک نشان داد که بیان ژن‌های PVT1 و MYC در هر دو گروه دارای توزیع نرمال است ($p > 0.05$). تمامی نمونه‌ها دارای RNA با کیفیت و کمیت مطلوب بودند، بطوریکه نتایج نسبت جذب $260/280$ نانومتر در اسپکتروفتومتری بین $1/8$ تا $2/0$ و الکتروفورز ژل آگارز نشان‌دهنده حفظ یکپارچگی RNA بود. واکنش‌های RT-qPCR با تکرارپذیری بالا و ضریب تغییرات کمتر از ۵ درصد انجام شدند که اعتبار و دقت داده‌ها را تضمین می‌کند. کنترل کیفیت اختصاصیت واکنش‌ها نیز با بررسی منحنی ذوب تأیید گردید و هیچ محصول غیر اختصاصی یا دایمر پرایمر مشاهده نشد.

۲. افزایش معنادار بیان PVT1 در نمونه‌های

توموری: نتایج نشان داد که بیان PVT1 در بافت‌های

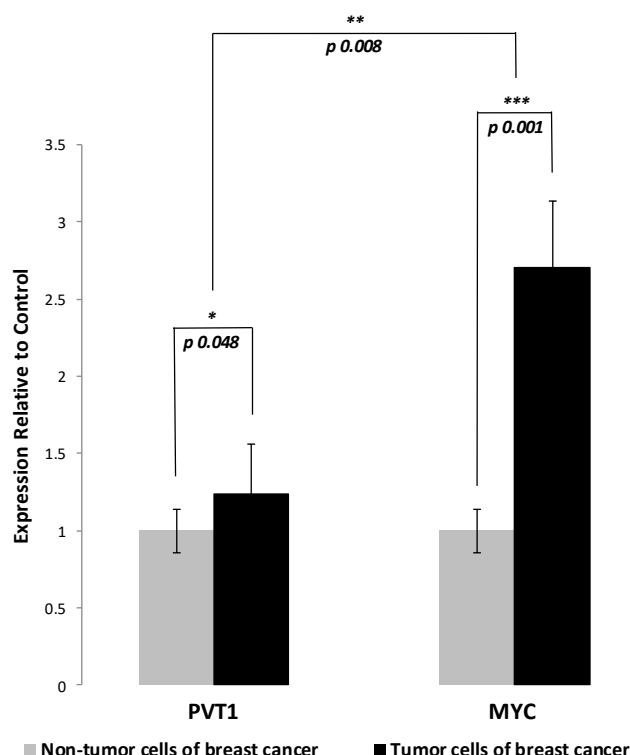
توموری نسبت به بافت‌های غیرتوموری مجاور، بطور معناداری افزایش یافته است. میانگین نسبت افزایش بیان (تغییر نسبی بیان) ژن PVT1 برابر با $1/24$ بود و آزمون پارامتریک تی جفت‌شده این افزایش را از نظر آماری معنی‌دار نشان داد ($p = 0.048$) (شکل ۳).

۳. افزایش چشمگیر بیان انکوژن MYC: نتایج

نشان داد بیان ژن MYC در نمونه‌های توموری بافت پستان نسبت به نمونه‌های غیرتوموری، بیان بسیار بالاتری دارد. میانگین نسبت افزایش بیان (تغییر نسبی بیان) ژن MYC برابر با $2/70$ بود و تحلیل آماری نشان داد که این افزایش از نظر آماری بسیار معنادار است ($p = 0.001$) (شکل ۳).

۴. تحلیل همبستگی بین بیان ژن‌ها: نتایج بررسی

ارتباط احتمالی بین بیان ژن‌های PVT1 و MYC با تحلیل همبستگی پیرسون و اسپیرمن بر اساس توزیع داده‌ها نشان داد بیان PVT1 و MYC دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار هستند ($r = 0.459$; $p = 0.008$). (شکل ۳) که این امر از احتمال وجود شبکه‌های تنظیمی مشترک و حلقه‌های بازخوردی بین این دو مولکول در ناحیه کروموزومی 8q24 حکایت دارد.



شکل ۳. تغییرات همزمان بیان ژنهای PVT1 و MYC در نمونه‌های بافت توموری پستان در مقایسه با بافت سالم حاشیه همان تومورها.

افزایش معنی‌دار PVT1 را در نمونه‌های توموری سرطان پستان گزارش کرده‌اند که با بدخیمی بیشتر، افزایش رشد و متاستاز همراه بوده است. گزارش‌های قبلی در مورد ارتباط افزایش بیان PVT1 با پیش‌آگهی ضعیف بیماران و پاسخ نامطلوب به درمان‌های هدفمند سرطان، می‌تواند بیانگر پتانسیل بالینی PVT1 در نقش بیومارکر تشخیصی و پیش‌بینی پاسخ به درمان باشد. از آنجایی که PVT1 قادر است با تنظیم مسیرهای سیگنالینگ حیاتی مانند PI3K/AKT و Wnt/ β -catenin، فرایندهای تکثیر سلولی، بقای سلول و مقاومت دارویی را تسهیل کند لذا یافته‌های ما در این زمینه با مطالعات مولکولی اخیر نیز که تلاش می‌کنند PVT1 را به عنوان یک lncRNA کلیدی در پشتیبانی از انکوژن و پیشرفت سرطان پستان معرفی می‌کنند تطابق دارد (۱۸، ۲۰، ۲۴-۲۷).

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که در نمونه‌های بافت توموری زنان ایرانی مبتلا به سرطان پستان، بیان PVT1 و انکوژن MYC به‌طور معناداری افزایش یافته است. بررسی جامع مطالعات پیشین نیز بیانگر آن است که نقش PVT1 و انکوژن MYC در سرطان پستان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار بوده و یافته‌های قبلی، کاملاً با نتایج مطالعه حاضر همسو هستند. افزایش بیان PVT1 در این مطالعه، با توجه به گزارش‌های قبلی مبنی بر نقش این lncRNA در تثبیت و تقویت فعالیت انکوژن کلیدی مجاور خود (MYC) در انواع سرطان‌ها به‌ویژه سرطان پستان، هم‌راستا با یافته‌های سایر پژوهشگران در جمعیت‌های مختلف است. افزایش بیان PVT1 در بافت‌های توموری سرطان پستان یکی از یافته‌های پایدار و مکرر در گزارش‌های قبلی است. مطالعات قبلی،

در مورد انکوژن MYC، نتایج مطالعه حاضر مبنی بر افزایش بیان آن در بافت توموری نیز با گزارش‌های فراوانی همسوست. افزایش بیان قابل توجه MYC در یافته‌های این تحقیق، تاییدی دیگر بر نقش این انکوژن کلیدی به عنوان محرک اصلی در مسیرهای مولکولی تومورزایی است. این ویژگی‌ها، MYC را به هدفی کلیدی در «پزشکی دقیق» برای توسعه درمان‌های شخصی‌سازی شده سرطان پستان تبدیل کرده است. به عنوان مثال، وجود مقالاتی در مورد امکان حضور MYC پلاسمایی و آنتی بادی ضد آن در گردش خون بیماران سرطانی، امید به بهبود نتایج درمانی بیماران را افزایش می‌دهد. گزارش‌های قبلی در مورد نقش حیاتی MYC در تنظیم مسیرهای سلولی نشان داده اند که این افزایش فعالیت موجب مقاومت به درمان‌های هورمونی و شیمی‌درمانی می‌شود. همچنین افزایش بیان MYC که در زیرگروه‌های مختلف سرطان پستان گزارش شده و ارتباط آن با پیشرفت بیماری و کاهش بقاء بیماران قبل از نشان داده شده است. این یافته‌های سلولی و مولکولی که بیان MYC را به عنوان یکی از عوامل اصلی تومورزایی و مقاومت درمانی در سرطان پستان برجسته می‌کنند همسو با یافته‌های این تحقیق هستند (۱۵، ۱۶، ۲۸-۳۱).

از دیدگاه تلفیقی، نتایج این تحقیق در مورد ارتباط مثبت افزایش بیان همزمان PVT1 و MYC، با فرضیات جاری سلولی و مولکولی در این خصوص همخوانی داشته و موید نقش PVT1 به عنوان تنظیم‌کننده کلیدی در پاتوژنز سرطان پستان می‌باشد (۳۲). افزایش همزمان PVT1 و MYC می‌تواند بازتابی از هم‌افزایی این مولکول‌ها در ایجاد و پیشرفت فرایندهای انکوژنز باشد. این الگوهای بیان می‌توانند به عنوان بیومارکرهای مولکولی بالقوه برای تشخیص یا پیش‌بینی پاسخ درمانی در سرطان پستان، هدف بررسی توسط محققین آتی قرار گیرند. همانطور که در بخش مقدمه این مقاله به نقش تثبیت‌کننده PVT1 در فعالیت انکوژن MYC از طریق

فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ اشاره شد، افزایش بیان این دو مولکول موجب افزایش تکثیر و بقای سلول‌های سرطانی می‌شود. تغییر بیان همزمان این دو ژن که در نتایج این بررسی مشاهده شد، می‌تواند تایید کننده فرضیات جدید تعاملات پیچیده MYC با PVT1 و وجود شبکه‌های بازخوردی تنظیمی مهمی باشد که در تثبیت و تنظیم فعالیت این انکوژن نقش دارند (۲۵). به‌ویژه اگر به این نکته توجه شود که از نگاه هدف درمانی سرطان، هدف‌گیری مستقیم MYC به دلیل پیچیدگی‌های ساختاری و عملکردی آن دشوار است؛ درحالی‌که استفاده از مهارکننده‌های مولکولی کوچک، RNAi و فناوری‌های نوین ویرایش ژن، علیه PVT1 می‌تواند نویدبخش توسعه روش‌های درمانی نوین و مؤثر باشد (۲۸، ۲۹، ۳۱). تعاملات پیچیده بین PVT1 و MYC که در مطالعات متعددی اثبات شده‌اند، نقش این دو ژن را در ایجاد شبکه‌های تنظیمی مولکولی تقویت می‌کنند. اخیراً گزارش‌های جدید، PVT1 را به عنوان یک هاب تنظیم‌کننده سب‌بعدی کروماتینی در ناحیه 8q24 و با نقش کمک‌کننده در تثبیت و افزایش فعالیت MYC مطرح می‌کنند. این گزارش‌ها نشان‌دهنده اهمیت هدف‌گیری همزمان این دو مولکول در رویکردهای درمانی آینده است. این موضوع تطابق نزدیکی با یافته‌های ما دارد (۱۰، ۱۱، ۱۴). همچنین، نتایج ترکیبی این مطالعه با سایر مطالعات قبلی نشان می‌دهد که تحلیل همزمان بیان PVT1 و MYC می‌تواند دید جامعی از شبکه‌های تنظیمی و مسیرهای مولکولی در سرطان پستان ارائه دهد. این رویکرد چندبُعدی برای شناسایی نشانگرهای زیستی مولکولی با قابلیت پیش‌بینی و درمان هدفمند در «پزشکی دقیق» بسیار ارزشمند است (۳۳).

یافته‌های مطالعه حاضر، ضرورت انجام پژوهش‌های تکمیلی دقیق و چندجانبه در حوزه بیان و تنظیم مولکولی lncRNAهای اطراف انکوژن MYC علاوه بر PVT1 را برجسته می‌سازد. مطالعات بعدی می‌تواند با افزایش حجم

توسعه نشانگرهای زیستی و درمان‌های هدفمند مبتنی بر RNAهای غیررمزگذار مفید باشد.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی و فن‌آوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل و پرسنل آزمایشگاه‌های مرتبط بابت همکاری در تصویب و اجرای این پروژه که در قالب پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته زیست‌شناسی سلولی و مولکولی نویسنده اول، تحت راهنمایی نویسنده مسوول و مشاوره نویسنده دوم انجام شد قدردانی می‌گردد.

نمونه بیشتر و گسترش مطالعات به جمعیت‌های متنوع‌تر با مشخصات بالینی و مولکولی متفاوت صورت پذیرد تا اثر متقابل متغیرهای جمعیتی و مرحله بیماری بر الگوهای بیان کلیه ژن‌های واقع در هاب ناحیه 8q24 دقیق‌تر تبیین شود. به منظور درک مکانیزم‌های تنظیمی پیچیده، مطالعات عملکردی با بهره‌گیری از فناوری‌های پیشرفته نظیر کروماتین ایمونوپریفینگ (ChIP-Seq)، تکنولوژی‌های ویرایش ژنوم مانند CRISPR-Cas9، و تحلیل‌های RNA-Seq برای شناسایی تعاملات RNA-پروتئین و مسیرهای سیگنال‌دهی مرتبط، امری حیاتی است. توسعه پانل‌های بیومارکری ترکیبی شامل PVT1 و MYC ممکن است در آینده به دقت تشخیص مولکولی و پیش‌آگهی سرطان پستان کمک نماید و امکان پایش پاسخ درمانی را بهبود بخشد. همچنین، بررسی نقش این مولکول‌ها در مقاومت دارویی از طریق مدل‌های *in vitro* و *in vivo* می‌تواند به تحقیقات همسو با کشف اهداف درمانی نوین برای مهار مسیرهای مرتبط کمک نماید. در نهایت، به‌کارگیری استراتژی‌های درمانی نوین مبتنی بر RNAi، آنتی‌سنس اولیگونوکلوئوتیدها و سیستم‌های ویرایش ژن هدفمند، با هدف تعدیل بیان lncRNAها، پتانسیل تحول در درمان شخصی‌سازی شده سرطان پستان را داراست. این رویکردها زمینه‌ساز ترجمه مؤثر یافته‌های مولکولی به درمان‌های بالینی پیشرفته و افزایش بقای بیماران خواهند بود.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش برای نخستین بار افزایش بیان ژن‌های PVT1 و MYC را در بافت توموری سرطان پستان زنان ایرانی نشان می‌دهد و شواهد جدیدی درباره نقش آن‌ها در پاتوژنز و احتمالاً مقاومت دارویی این بیماری فراهم می‌کند. این نتایج می‌تواند در مسیر تحقیقات آینده برای

مراجع

1. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2024;74(3):229–63.
2. Saedi S, Saedi A, Ghaemi MM, Milani FM. Epidemiological study of breast cancer in Iran: a micro review study. *Eurasian Journal of Science and Technology*. 2022; 2(3):227–35.
3. Bray F, Laversanne M, Weiderpass E, Soerjomataram I. The ever-increasing importance of cancer as a leading cause of premature death worldwide. *Cancer*. 2021;127(16):3029–30.
4. Statello L, Guo C-J, Chen L-L, Huarte M. Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2021; 22 (2): 96-118.
5. Mitra AG. Non-Coding RNA in Cancer: Pathogenesis to therapeutic targets. *Current Opinion in Physiology*. 2025:100847.
6. El-Ashmawy NE, Khedr EG, Abo-Saif MA, Hamouda SM. Long noncoding RNAs as regulators of epithelial mesenchymal transition in breast cancer: A recent review. *Life Sciences*. 2024; 336:122339.
7. Shaikh M, Doshi G. Unraveling non-coding RNAs in breast cancer: mechanistic insights and therapeutic potential. *Medical Oncology*. 2024; 42(1): 37-45.
8. Ahmadi S, Yazdi F, Khastar S, Kaur I, Ahmed MH, Kumar A, et al. Molecular Mechanism of lncRNAs in Regulation of Breast Cancer Metastasis; a Comprehensive Review. *Cell Biochemistry and Biophysics*. 2024:1–17.
9. Zhang M, Wang Z, Obazee O, Jia J, Childs EJ, Hoskins J, et al. Three new pancreatic cancer susceptibility signals identified on chromosomes 1q32. 1, 5p15. 33 and 8q24. 21. *Oncotarget*. 2016; 7(41):66328.
10. Grisanzio C, Freedman ML. Chromosome 8q24-associated cancers and MYC. *Genes & Cancer*. 2010; 1(6):555–9.
11. Li R, Qin Z, Tang J, Han P, Xing Q, Wang F, et al. Association between 8q24 gene polymorphisms and the risk of prostate Cancer: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Cancer*. 2017; 8(16): 3198.
12. Shi J, Zhang Y, Zheng W, Michailidou K, Ghoussaini M, Bolla MK, et al. Fine-scale mapping of 8q24 locus identifies multiple independent risk variants for breast cancer. *International journal of cancer*. 2016; 139(6):1303–17.
13. Teerlink CC, Leongamornlert D, Dadaev T, Thomas A, Farnham J, Stephenson RA, et al. Genome-wide association of familial prostate cancer cases identifies evidence for a rare segregating haplotype at 8q24. 21. *Human Genetics*. 2016; 135:923–38.
14. Wilson C, Kanhere A. 8q24. 21 locus: a paradigm to link non-coding RNAs, genome polymorphisms and cancer. *International journal of Molecular Sciences*. 2021; 22(3):1094.
15. Gao F-y, Li X-t, Xu K, Wang R-t, Guan X-x. c-MYC mediates the crosstalk between breast cancer cells and tumor microenvironment. *Cell Communication and Signaling*. 2023; 21(1):28.
16. Qu J, Zhao X, Wang J, Liu X, Yan Y, Liu L, et al. MYC overexpression with its prognostic and clinicopathological significance in breast cancer. *Oncotarget*. 2017; 8(55):93998.
17. Jin K, Wang S, Zhang Y, Xia M, Mo Y, Li X, et al. Long non-coding RNA PVT1 interacts with MYC and its downstream molecules to synergistically promote tumorigenesis. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2019; 76(21):4275–89.

18. Baljon KJ, Ramaiah P, Saleh EAM, Al-Dolaimy F, Al-Dami FH, Gandla K, et al. LncRNA PVT1: as a therapeutic target for breast cancer. *Pathology-Research and Practice*. 2023; 248:154675.
19. Gupta RA, Shah N, Wang KC, Kim J, Horlings HM, Wong DJ, et al. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *nature*. 2010; 464(7291):1071–6.
20. Liu S, Chen W, Hu H, Zhang T, Wu T, Li X, et al. Long noncoding RNA PVT1 promotes breast cancer proliferation and metastasis by binding miR-128-3p and UPF1. *Breast Cancer Research*. 2021;23(1):115.
21. Zhang D, Sun G, Zhang H, Wang X, Li Y. Long non-coding RNA PVT1 facilitates cervical cancer progression through negative modulation of miR-128-3p. *Int J Clin Exp Pathol*. 2017;10(4):4522–9.
22. Dang CV. MYC on the path to cancer. *Cell*. 2012; 149(1):22–35.
23. Samal KC, Sahoo JP, Behera L, Dash T. Understanding the BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) program and a step-by-step guide for its use in life science research. *Bhartiya Krishi Anusandhan Patrika*. 2021; 36(1):55–61.
24. Lu D, Luo P, Wang Q, Ye Y, Wang B. lncRNA PVT1 in cancer: a review and meta-analysis. *Clinica Chimica Acta*. 2017 ;474:1–7.
25. Mirmazhari SP, Abdi MJ, Mosadeghrad AH, Bonab RA, Babadi AA, Rigi G, et al. Unraveling the Complex Interplay between lncRNAs and Myc in Breast Cancer. 2023.
26. Li R, Wang X, Zhu C, Wang K. lncRNA PVT1: a novel oncogene in multiple cancers. *Cellular & molecular biology letters*. 2022; 27(1):84.
27. Ren B, Ren J, Gu M, Liu X, You L, Zhao Y. Construction of a novel model based on PVT1-MYC duet-related genes for predicting survival and characterization of the tumor microenvironment in pancreatic cancer. *Frontiers in Immunology*. 2024; 15:1435593.
28. Stipp MC, Acco A. c-Myc-targeted therapy in breast cancer: A review of fundamentals and pharmacological Insights. *Gene*. 2025:149209.
29. Shi W, Xu X, Huang R, Yu Q, Zhang P, Xie S, et al. Plasma C-MYC level manifesting as an indicator in progression of breast cancer. *Biomarkers in Medicine*. 2019; 13(11):917–29.
30. Kevin K. A systematic review on MYC inhibition in the treatment of Breast cancer: BRAC University; 2025.
31. Whitfield JR, Soucek L. MYC in cancer: from undruggable target to clinical trials. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2025:1–13.
32. Maqsood Q, Khan MU, Fatima T, Khalid S, Malik ZI. Recent Insights Into Breast Cancer: Molecular Pathways, Epigenetic Regulation, and Emerging Targeted Therapies. *Breast Cancer: Basic and Clinical Research*. 2025;19:11782234251355663.
33. Wang Y, Bu N, Luan X-f, Song Q-q, Ma B-F, Hao W, et al. Harnessing the potential of long non-coding RNAs in breast cancer: From etiology to treatment resistance and clinical applications. *Frontiers in Oncology*. 2024;14:1337579.

Co-upregulation of PVT1 and MYC in Breast Tumor Tissues of Iranian Patients: Enhanced Evidence for lncRNA and Neighboring Oncogene Crosstalk

Yousof Reza Rezaei-Malek ¹, Mohammad Shafiee ², Reza Tabaripour ^{3*}

1. Master's Degree in Cellar and Molecular Biology, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran
2. Department of Genetics, School of Advanced Medical Sciences, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran
3. Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran

*Corresponding author: tabaripoor@gmail.com

Abstract

Breast cancer is the most common malignant neoplasm among women worldwide, and its rising incidence, particularly at younger ages, poses a major public health challenge. Despite significant advances, many cellular, molecular, and genetic mechanisms underlying breast tumorigenesis and progression remain unclear. In recent years, long non-coding RNAs (lncRNAs) have emerged as key regulators of gene expression and cellular processes, especially in cancer. The 8q24 region of human chromosome 8 contains two adjacent genes: MYC, a well-established oncogene, and PVT1, a lncRNA with diverse regulatory functions. While the oncogenic role of MYC in breast cancer pathogenesis is well characterized, the functional relationship between MYC and PVT1 and their combined effects on tumorigenic pathways remain to be fully elucidated. This study aimed to investigate the co-expression of MYC and PVT1 in paired tumor and adjacent non-tumor breast tissues from Iranian women. Expression levels of MYC and PVT1 were assessed in 36 paired samples using RT-qPCR following RNA isolation and cDNA synthesis. The results demonstrated that MYC and PVT1 expression was significantly increased by 2.70-fold (p 0.001) and 1.24-fold (p 0.048), respectively, in tumor tissues compared to adjacent normal tissues. Moreover, a significant positive correlation was observed between the expression levels of PVT1 and MYC ($r=0.459$; $p<0.01$). The findings of this study, for the first time, demonstrate the upregulation of PVT1 and MYC genes in breast tumor tissues of Iranian women. These results further highlight the roles of PVT1 and MYC in the pathogenesis and possibly drug resistance of this disease, and may be beneficial for future research aimed at developing novel biomarkers and targeted therapies based on long non-coding RNAs.

Keywords: breast cancer, lncRNA, MYC, PVT1