



مطالعه بیان ژن CFL1 در نمونه‌های روده‌ای آدنوکارسینومای معده در جمعیت آذربایجان شرقی

سیده سعیده دریاباری (MSc)^{۱*}، رضا صفرعلیزاده (PhD)^{۱**}، محمدعلی حسین پورفیضی (PhD)^۱،

یعقوب مؤدب (MD)^۲، ریحانه روانبخش گاوگانی (PhD)^۱

^۱ گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

^۲ مرکز تحقیقات بیماری‌های کبد و گوارش، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

(دریافت مقاله: ۹۵/۱۱/۲۰ - پذیرش مقاله: ۹۶/۷/۲۴)

چکیده

زمینه: سرطان معده چهارمین سرطان شایع و دومین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان در سراسر جهان محسوب می‌شود. نواحی شمالی ایران از شمال غرب تا شمال شرق جزو مناطق دارای ریسک بالای این سرطان هستند. جهش ژنتیکی و تغییر در سطح بیان یکی از مهم‌ترین فاکتورهای تأثیرگذار در سرطان‌زایی و پیشرفت سرطان است. از جمله ژن‌هایی که دچار تغییر در سطح بیان می‌شوند می‌توان به ژن CFL1 اشاره نمود. CFL1 ایزوفرم غیرماهجه‌ای خانواده پروتئینی ADF/cofilin هست. پروتئین کدشونده توسط این ژن، پلیمریزه و دپلیمریزه کردن F اکتین و G اکتین به روش وابسته به PH را انجام می‌دهد. در این مطالعه بیان این ژن در آدنوکارسینومای معده از نوع روده‌ای مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه RNA تام از ۲۶ نمونه بیوپسی آدنوکارسینومای معده از نوع روده‌ای استخراج شده و پس از سنتز cdNA آزمایش Real time PCR برای اندازه‌گیری بیان ژن انجام شد. داده‌های حاصل توسط نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶، REST و Sigmaplot مورد آنالیز قرار گرفت.

یافته‌ها: میزان بیان ژن کوفیلین در نمونه‌های توموری نسبت به نمونه‌های سالم حاشیه تومور به میزان معنی‌دار افزایش پیدا کرده است ($P < 0/05$). همچنین شاخص زیستی برای ژن CFL1 ۰/۸۸ به دست آمد.

نتیجه‌گیری: این ژن با شاخص ۰/۸۸ می‌تواند به عنوان بیومارکر در سرطان معده استفاده شود. در مجموع یافته‌های این تحقیق نشان داد که میزان بیان CFL1 با ماهیت سرطانی تومورها ارتباط معناداری داشته است که این بدین معناست CFL1 احتمالاً می‌تواند پتانسیل بالایی به عنوان هدف جدید برای ژن درمانی در سرطان معده داشته باشد.

واژگان کلیدی: سرطان معده، آدنوکارسینوما، CFL1

** تبریز، گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

Email: safaralizadeh@tabrizu.ac.ir

* ORCID: 0000-0003-1951-0847

** ORCID: 0000-0002-6970-6998

مقدمه

سرطان معده چهارمین سرطان شایع جهان و دومین عامل مرگ و میرهای ناشی از سرطان محسوب می‌شود که بیش از ۷۰ درصد موارد آن در کشورهای در حال توسعه گزارش شده است (۱). در آسیا سرطان معده سومین سرطان شایع پس از سرطان‌های سینه و ریه و دومین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان پس از سرطان ریه محسوب شده و یکی از معضلات بهداشتی این قاره به شمار می‌آید (۲). شیوع و نرخ مرگ و میر این سرطان در مناطق جغرافیایی شرق آسیا و شرق اروپا و جنوب آمریکا بسیار زیاد می‌باشد به طور کلی نواحی شمالی ایران از شمال غرب تا شمال شرق جزو مناطق دارای ریسک بالای این سرطان محسوب می‌شوند (۳ و ۴).

سرطان معده یک بیماری چند عاملی است که در نتیجه آسیب سلولی مکرر به دلیل در معرض قرار گرفتن با کارسینوژن‌های مختلف ایجاد می‌شود. از لحاظ آناتومیک سرطان معده اغلب در چهار نوع لنفوما، آدنوکارسینوما، تومور استرومال دستگاه گوارش و کارسینوئید رخ می‌دهد که آدنوکارسینوما از نوع روده‌ای معمول‌ترین نوع سرطان معده بوده و بیش از ۸۰ درصد موارد را شامل می‌شود. متأسفانه در مراحل ابتدایی این بیماری مشخصه خاصی وجود ندارد و زمانی که علائم دیده می‌شود معمولاً بیماری پیشرفته زیادی کرده و غالباً متاستاز داده است، که این مسئله یکی از دلایل اصلی پیش آگاهی ضعیف این بیماری و عدم کارایی روش‌های درمانی مرسوم از جمله جراحی، شیمی درمانی و پرتو درمانی را مطرح می‌نماید (۵) از آنجایی که تومور و متاستاز اثرات مخربی در بیماران در طول پیشرفت مراحل اولیه ایفا می‌کند، دلیل اصلی مرگ بیماران سرطانی محسوب می‌شود. برهم خوردن تنظیم حرکت سلول در سلول‌های سرطانی، عامل اصلی تهاجم و متاستاز است که بر پایه سلولی است که

این یک مشخصه و گام ضروری در متاستاز است. شبکه پروتئینی اکتین به عنوان موتور پایه‌ای برای تحرک سلول پذیرفته شده است. رشته‌های اکتین زنجیره‌هایی به قطر هفت نانومتر هستند که در تمام سلول‌های یوکاریوتی به وفور یافت می‌شوند. رشته‌های اکتین از واحدهای پروتئینی کروی به نام G-اکتین تشکیل شده‌اند که به صورت منظم به دنبال یکدیگر قرار گرفته‌اند (۶). این رشته‌ها در اعمال و رفتارهای سلولی نظیر سیکلوز، حرکت، میتوز، تشکیل دوک تقسیم، تبدیل سل ژل و بالعکس و شکافتگی سلولی وارد عمل می‌شود. در نتیجه تنظیم این پروتئین نقش مهم در پیشرفت و متاستاز سلول‌های سرطانی ایفا می‌کند (۷). CFL1 (کوفیلین ۱) مهم‌ترین پروتئین تنظیم کننده برای تغییر عملکرد پروتئین اکتین و پلیمریزه و دپلیمریزه کردن اکتین می‌باشد (۸).

ژن CFL1 از خانواده (Actin depolymerization factor) ADF، با طول ۱۲۶۰bp در بازوی بلند کروموزوم ۱۱ قرار دارد و پروتئین CFL1 با وزن ۱۹kDa را کد می‌کند. با اتصال CFL1 به اکتین، F اکتین دپلیمریزه شده و همچنین مانع پلیمریزه شدن G اکتین به روش وابسته به pH می‌شود. به این ترتیب نقش مهمی در حرکت سلول ایفا (۸). موجودات زنده ساده مانند ساکارومیسس سرویزیه (۹)، مگس سرکه ملانوگاستر (۱۰) و Dictyostelium discoideum، یک ژن منفرد Cofilin را دارند، که برای زنده ماندن آنها ضروری است (۱۱). درحالی که در پستانداران سه ژن جداگانه ADF/Cofilin وجود دارد: Cofilin-1، Cofilin-2 و ADF (destrin) (۱۲). Cofilin2 در عضلات یافت می‌شود (۱۳)، اما همچنین در مغز، کبد، الیگودندروسیت و کراتینوسیت نیز وجود دارد (۱۴). ADF و CFL1 در ۷۰ درصد توالی

می‌طلبند. در سال‌های اخیر محققان پیشنهاد می‌کنند، ویژگی‌های بیولوژیکی مولکولی در تشخیص و درمان سرطان معده نقش مهم ایفا می‌کنند. با توجه به اثرات مخرب تومور و متاستاز در طول پیشرفت مراحل اولیه، که خود دلیل اصلی مرگ بیماران سرطانی محسوب می‌شود، در این مطالعه از ژن CFL1 که در تنظیم اکتین و در نتیجه حرکت سلولی و متاستاز نقش مهمی دارند استفاده شد تا تغییرات این ژن‌ها در نمونه‌های توموری نسبت به سالم بررسی شود. در نهایت با بررسی نتایج به دست آمده تعیین احتمالی این ژن‌ها به‌عنوان تومور مارکر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری از بیمار

بافت‌های سرطانی یاد شده به تعداد ۲۶ نمونه از ناحیه توموری بیمار مبتلا به سرطان معده از نوع روده‌ای به صورت تصادفی توسط اندوسکوپی از بخش اندوسکوپی بیمارستان مدنی و امام رضا تبریز (با کسب رضایت‌نامه کتبی از تمام بیماران و کد اخلاق: ۹۱۱-۱۰/۷/۱۳۹۶) گرفته و همچنین ۲۶ نمونه بافت سالم نیز از بافت‌های اطراف تومور (در تومور پروکزیمال معده نمونه از بافت سالم دیستال معده و همچنین در تومور دیستال معده نمونه از بافت سالم پروکزیمال معده) گرفته شد. بلافاصله بعد از قرار دادن در میکروتیوب‌های عاری از RNase به نیتروژن مایع جهت نگهداری برای آزمایشات آتی منتقل شد. همچنین، برای بررسی‌های پاتولوژی، یک نمونه آندوسکوپی از تومور درون محلول فرمالین به آزمایشگاه پاتولوژی ارسال گردید که با تأیید نتایج توموری بودن نمونه‌ها بقیه مراحل

شبهه یکدیگر هستند و عملکرد آنها همپوشانی دارد، ولی CFL1 ایزوفرم اصلی غیرماه‌یچه‌ای ADF/Cofilin در انواع مختلف سلولی است (۱۵). در سال ۱۹۸۷ کتابخانه cDNA از mRNA مغز خوک، ساخته شد و طول کامل کلون cDNA cofilin مغز، توسط غربالگری با پروب الیگونوکلئوتیدی جدا شد (۱۶).

در شرایط استرس اکسیداتیو باعث القای آپوپتوز شده و این پروتئین دارای یک توالی از لیزین- لیزین- آرژنین- لیزین- لیزین است که بسیار شبیه به توالی سیگنال انتقال هسته‌ای می‌باشد (۱۷). که در استرس سلولی، انتقال G اکتین (بدون سیگنال انتقال به هسته) به هسته را بر عهده دارد (۱۸). این پروتئین که توسط LIMK ۱،۲ کیناز فسفریله و غیرفعال و با دفسفریله شدن توسط پروتئین دفسفاتاز (slingshot) فعال می‌گردد (۲۲-۱۹). کوفیلین و تنظیم آن حداقل در ۳ مرحله از پیشرفت سرطان از جمله روند اولیه تحول سلول، افزایش تحرک سلول در طی متاستاز و تقسیم سلول نقش مهمی ایفا می‌کند. این پروتئین با دپلمریزه کردن اکتین تحرک و پویایی اسکلت سلولی را تحریک و افزایش می‌دهد که این برای بسیاری از فرایندها از جمله سیتوکینز و حرکت سلولی ضروری است. با توجه به کارهای صورت گرفته، گزارش شده که کوفیلین به طور مستقیم با متاستاز و تهاجم و مقاومت به درمان تومورهای مختلف در انسان همراه است و یک گام مهم برای متاستاز سلول‌های توموری می‌باشد (۱۵ و ۲۳).

متأسفانه به‌علت پیش‌آگهی ضعیف سرطان معده و تشخیص در مراحل پیشرفته، معمولاً روش‌های درمانی مرسوم در این مرحله کارایی کافی ندارند. این مسأله رویکردی جدید در ارائه روش‌هایی برای کارایی بهتر درمان و افزایش طول عمر بیمار را

Real time PCR

برای اندازه‌گیری کمی میزان بیان ژن CFL1 با استفاده از کیت CyberGreen (شرکت امپلیکون) (RealQ PCR 2 x Master Mix Green) (Ampliqon) واکنش Real-Time PCR برای محصول cDNA سنتز شده انجام گرفت. برای انجام این واکنش از پرایمرهای Forward و Reverse برای ژن $\beta 2m$ (۲۴) و CFL1 (از روی توالی به دست آمده از Gene Bank (Gene ID:1072) توسط نرم‌افزار Gene Runner طراحی شده و توسط کمپانی metabion آلمان سنتز گردید که مشخصات آنها در جدول ۱ آمده، استفاده شد. همچنین شرایط واکنش برای دو ژن یکسان بوده و در جدول ۲ ذکر شده است.

آزمایش انجام شد.

استخراج RNA کل از نمونه‌ها و سنتز cDNA

۳۰ میلی‌گرم از هر کدام از نمونه بافت‌ها جدا کرده و RNA تام آن توسط کیت مخصوص استخراج RNA، تریزول (Invitrogen, Carlsbad, CA)، مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شد و خلوص آن از لحاظ کمی با دستگاه پیکودراپ اندازه‌گیری شد. همچنین از نظر کیفی با ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز بررسی شد.

قبل از سنتز cDNA به منظور حذف DNA ژنومی که احتمال دارد به همراه RNA استخراج شده باشد، از آنزیم DNase I استفاده گردید. سپس با به کارگیری کیت فرمتاز (Fermentase, Lithuania, Co)، مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده سنتز cDNA انجام شد.

جدول ۱) مشخصات پرایمرهای استفاده شده در Real time PCR

| نام ژن | نوع پرایمر | توالی پرایمر | طول پرایمر | طول قطعه تکثیری |
|--------|------------|-------------------------------|------------|-----------------|
| CFL1 | Forward | 5'-TCTCGTCTTCTGCGGCTCTC-3' | ۲۰ | ۱۹۸ |
| | Reverse | 5'-TCCAGGATGATGTTCTTCTTGTC-3' | ۲۳ | |
| B2M | Forward | 5'-CTACTCTCTTTCTGGCCTG-3' | ۲۱ | ۱۹۱ |
| | Reverse | 5'-GACAAGTCTGAATGCTCCAC-3' | ۲۰ | |

جدول ۲) شرایط واکنش مربوط به پرایمرهای استفاده شده در

| Real time PCR | | |
|-------------------|-------------|------|
| مراحل | دما (°C) | زمان |
| واسرشت‌سازی اولیه | ۹۵ | ۱۵' |
| cycle | واسرشت‌سازی | ۲۵" |
| | اتصال | ۳۰" |
| | بسط | ۲۵" |
| بسط نهایی | ۷۲ | ۵' |
| تعداد چرخه‌ها | ۴۰ | |

جدولی جهت سنجش میزان بیان ژن‌ها در بافت مورد نظر تنظیم شده سپس میزان تغییرات بیان به وسیله

بعد از انجام Real Time PCR و اندازه‌گیری Ct مربوط به نمونه‌ها، Ct محاسبه شده مربوط به هر واکنش در

نتایج مربوط به Real Time PCR

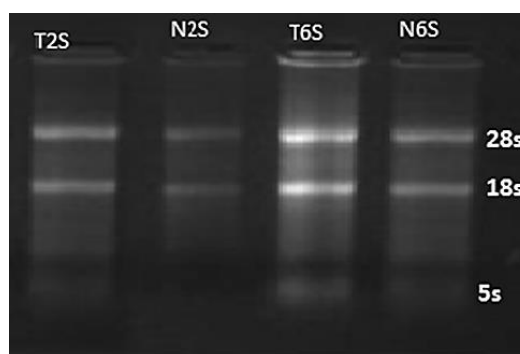
منحنی استاندارد

تعیین efficiency (E) پرایمرها برای سنجش Ct واکنش Real time PCR الزامی است که با استفاده از رسم منحنی استاندارد صورت گرفت. Efficiency برای پرایمر CFL1 برابر ۰/۹۸ و ضریب همبستگی برابر ۰/۹۹۷ و همچنین efficiency پرایمر $\beta 2m$ برابر ۱ و ضریب همبستگی برابر ۰/۹۹ محاسبه گردید. همچنین برای اطمینان از صحت عملکرد پرایمر، محصول واکنش به وسیله ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز مورد بررسی قرار گرفت. (شکل ۲)

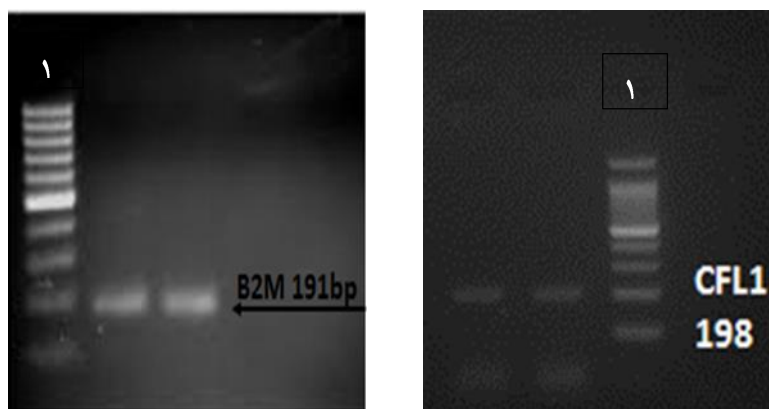
نرم افزار REST و معنی دار بودن آن به وسیله نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶، از مودن independent T-Test و شاخص بیومارکری آن نیز با نرم افزار Sigmaplot مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

خلوص RNA استخراج شده از لحاظ کمی با دستگاه پیکودراپ و از نظر کیفی با ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز بررسی شد (شکل ۱) همان گونه که در تصویر نشان داده شده است حضور باندهای ۲۸ s و ۱۸ s، ۵ s ریبوزومی نشانگر کیفیت مطلوب RNA استخراج شده می باشند.



شکل ۱) الکتروفورز RNAهای استخراج شده بر روی ژل آگارز. حضور باندهای ۲۸ s و ۱۸ s، ۵sهای ریبوزومی در ژل بالا نشانگر کیفیت مطلوب RNA استخراج شده می باشد.

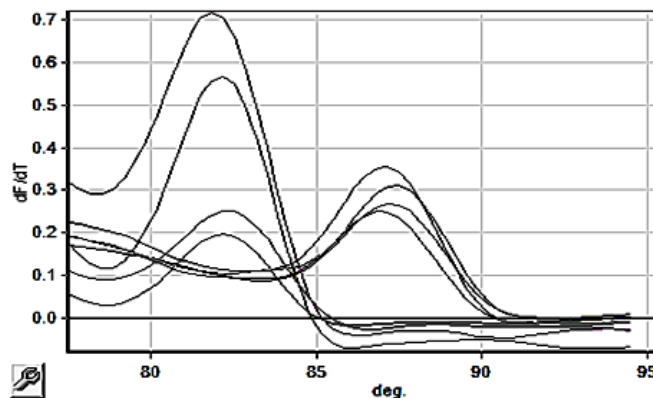


شکل ۲) تکثیر قطعه ۱۹۸ مربوط به ژن CFL1 و تکثیر قطعه ۱۹۱ مربوط به ژن $\beta 2m$. (تعیین اندازه قطعه تکثیری بوسیله ladderهایی با اندازه ۱۰۰bp که در شکل با شماره یک مشخص شده‌اند)

منحنی ذوب

به‌ازای شدت فلورسنت در مقابل دما توسط دستگاه رسم می‌شود. تصاویر زیر نمونه‌ای از منحنی ذوب واکنش Real time PCR مربوط به CFL1 و $\beta 2m$ (شکل ۳) می‌باشد.

منحنی ذوب در Real time PCR بیانگر TM محصول تکثیرشده در واکنش، وجود یا عدم وجود پرایمر دایمر و یا محصول غیراختصاصی می‌باشد، که



شکل ۳ منحنی ذوب: پیک‌های تند و دمای TM تقریباً یکسان برای تمامی نمونه‌ها بیانگر صحت و اختصاصیت واکنش برای پرایمرهای طراحی شده می‌باشد. TM حاصل برای ژن $\beta 2m$ ۸۳۰ و برای ژن CFL1 ۸۷ می‌باشد.

نتایج حاصل از آنالیز با نرم‌افزار REST

وجود داشت. به طوری که بیان ژن CFL1 در نمونه‌های بیمار ۸ برابر بیشتر از افراد سالم ($P < 0.05$) بود (جدول ۳). که این معنی‌دار بودن نیز با نرم‌افزار SPSS independent T-Test مورد تأیید قرار گرفت.

Ct ‌های به‌دست آمده نمونه‌های توموری و سالم به‌وسیله نرم‌افزار REST آنالیز گردید و تفاوت معنی‌داری در میزان بیان ژن CFL1 در افراد بیمار و گروه سالم مورد مطالعه

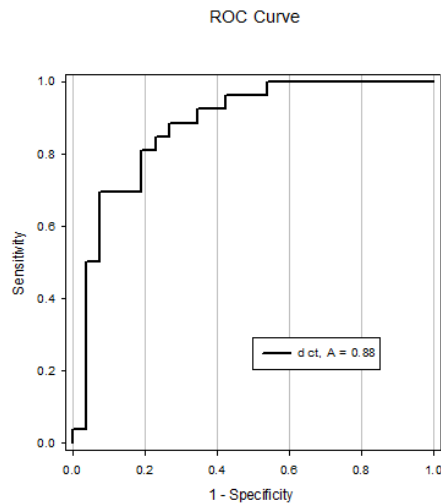
جدول ۳ نتایج آنالیز آماری بیان ژن CFL1 در نمونه‌های توموری نسبت به نمونه‌های سالم حاشیه تومور توسط نرم‌افزار REST. که افزایش بیان ۸ برابری را با $P < 0.05$ را نشان می‌دهد.

| Relative Expression Results | | | | | | |
|---|-------|---------------------|------------|-----------------|--------------------|--------------|
| Parameter | Value | | | | | |
| Iterations | 2000 | | | | | |
| Gene | Type | Reaction Efficiency | Expression | Std. Error | 95% C.I. | P(H1) Result |
| b2m | REF | 1.0 | 1.000 | | | |
| cfl1 | TRG | 0.98 | 8.024 | 1.141 - 64.940 | 0.276 - 366.725 | 0.000 UP |
| Interpretation | | | | | | |
| cfl1 is UP-regulated in sample group (in comparison to control group) by a mean factor of 8.024 (S.E. range is 1.141 - 64.940). | | | | | | |
| cfl1 sample group is different to control group. P(H1)=0.000 | | | | | | |
| Non-Normalised Results | | | | | | |
| Gene | Type | Reaction Efficiency | Expression | Std. Error | 95% C.I. | P(H1) Result |
| b2m | REF | 1.0 | 4.757 | 0.123 - 163.543 | 0.005 - 4,115.652 | 0.034 UP |
| cfl1 | TRG | 0.98 | 38.166 | 1.980 - 830.385 | 0.079 - 10,584.299 | 0.000 UP |

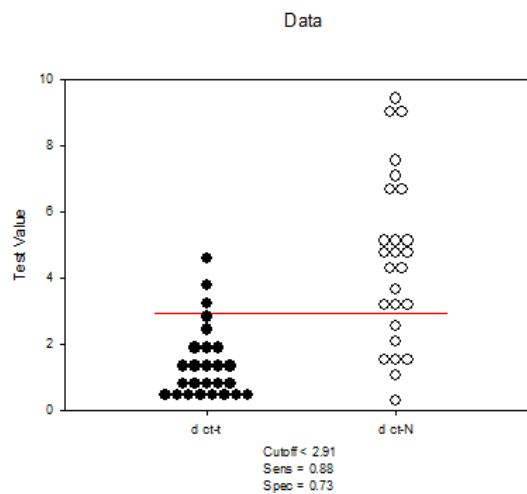
نتایج حاصل از آنالیز با نرم‌افزار Sigmaplot

این ژن به وسیله نرم‌افزار Sigmaplot مورد آنالیز قرار گرفت (شکل ۴ و ۵).

با توجه به معنی‌دار بودن افزایش ۸ برابری بیان ژن CFL1 در نمونه‌های توموری، شاخص بیومارکری بودن



شکل ۴ نمودار ROC



شکل ۵ نمودار دات هیستوگرام مربوط به آنالیز سیگماپلات

می‌باشد را به‌عنوان یک بیومارکر مناسب در نظر گرفت.

بحث

سرطان معده یک بیماری چند فاکتوری با پیش‌آگهی

باتوجه به شکل‌های بالا شاخص بیومارکری این ژن $A=0/88$ محاسبه گردید. نظر به اینکه $A>0/7$ با $P<0/001$ است می‌توان CFL1 را که دارای حساسیت (sensitivity) $0/88$ و اختصاصیت (specificity) $0/73$

بسیار ضعیف می‌باشد که با تأخیر در تشخیص بیماری، تهاجم سریع و تشخیص پس از گسترش متاستاز همراه می‌باشد. متأسفانه به دلیل ناکارآمدی روش‌های درمانی مرسوم میزان بقای ۵ ساله در ایران (۱۲/۸ درصد) در مقایسه با میانگین جهانی (۲۵-۲۰ درصد) کمتر است.

سرطان معده بیشتر در مردان شایع است و معمولاً سنین بالای ۴۰ سال را شامل می‌شود که با افزایش سن خطر ابتلا به این سرطان افزایش می‌یابد (۲۵). بنابراین یافتن روش‌های جدید جهت تشخیص زود هنگام سرطان معده دارای اهمیت بسیار است. در سال‌های اخیر محققان پیشنهاد می‌کنند، ویژگی‌های بیولوژیکی ملکولی در تشخیص و درمان سرطان معده نقش مهم ایفا می‌کنند. برهم خوردن تنظیم حرکت سلول در سلول‌های سرطانی، عامل اصلی تهاجم و متاستاز است. تومور و متاستاز ایجاد شده اثرات مخربی در طول پیشرفت مراحل اولیه بیماری دارد و بنابراین عامل اصلی مرگ بیماران سرطانی محسوب می‌شود (۲۶). کوفیلین ۱ مهم‌ترین پروتئین تنظیمی جهت تغییر عملکرد پروتئین اکتین و در نتیجه تنظیم حرکت سلول و متاستاز است (۸). بر همین اساس در این مطالعه بررسی بیان CFL1 در آدنوکارسینومای معده از نوع روده‌ای مورد توجه واقع گرفت و افزایش بیان معناداری در نمونه‌های تومور نسبت به حاشیه تومور مشاهده گردید.

کاسترو (Castro) و همکاران با مطالعه بر روی سلول‌های غیر کوچک سرطانی ریه (NSCLC) بیان کردند که افزایش سطح CFL1 با تهاجم سلولی ارتباط مثبت دارد و می‌توان از این ژن به عنوان بیومارکر تشخیص در NSCLC استفاده کرد، همچنین با بررسی ۶ رده سلولی مختلف و تأثیر ۱۱۸ داروی شیمی درمانی نشان دادند که سطح بالای mRNA مربوط به CFL1 با مقاومت به داروهای ضد سرطان مختلف همراه است. بنابراین با خاموش‌سازی این ژن می‌توان پاسخ به دارو را در افراد بیمار به نسبت زیادی افزایش داد (۲۷).

لی (LI) و همکاران در مطالعه دیگری افزایش بیان CFL1 در ۷۰ درصد از بیماران مبتلا به سرطان پروستات را گزارش کردند. CFL1 باعث توسعه و پیشرفت سرطان پروستات شده و بیان بالای آن در مزانشیم با پیشرفت متاستاز غده لنفاوی ارتباط دارد در حالی که هیچ بیان بالایی در هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات مشاهده و گزارش نشد (۲۲).

ژو (Zhou) و همکاران نیز افزایش بیان CFL1 را در ۶۴ درصد از تومورهای تخمدان مورد بررسی گزارش نمودند و نقش مهم CFL1 در تهاجم و متاستاز را اعلام نمودند (۲۸). در پژوهش حاضر که برای نخستین بار در جهان، بیان ژن CFL1 در نمونه‌های آدنوکارسینومای روده‌ای معده سنجیده شد، که افزایش بیان مشاهده شده با نتایج گزارش شده در مطالعات ذکر شده همخوانی دارد. وانگ (Wang) و همکاران با مشاهده افزایش بیان CFL1 در ۶۴/۳ درصد از بیماران، افزایش بیان CFL1 در کارسینومای سلول سنگفرشی مری (ESCC) را گزارش کردند. بر این اساس CFL1 را به عنوان یک بیومارکر خوب و رضایت‌بخش در پیش‌بینی نتایج بالینی در ESCC دانستند (۲۹).

مطالعه دیگری که توسط پرز مارتینز (Pérez-Martínez) و همکاران با خاموش‌سازی ژن CFL1 به وسیله CFL1 Si RNA در رده سلولی سرطان پروستات انجام دادند، نشان داد که خاموش‌سازی ژن CFL1، متاستاز و حرکت سلولی در سلول‌های رده سلولی سرطان پروستات را کاهش می‌دهد (۳۰). نتایج پژوهش حاضر حاکی از آن است که بیان این ژن در نمونه‌های توموری نسبت به نمونه‌های حاشیه تومور با اختلاف معنادار ($P < 0.05$)، ۸ برابر افزایش پیدا کرده است. همچنین این ژن با شاخص بیومارکری ۰/۸۸

اولیه برای این ادعاست و برای تأیید قطعی آن مطالعات و آنالیزهای بیشتری باید صورت گیرد. -این مقاله تحت حمایت جایی نیست.

سپاس و قدردانی

بدین وسیله از پرستارهای بخش آندوسکوپی بیمارستان مدنی و امام رضا تبریز برای مساعدت فراوان در پیشبرد این مطالعه تشکر و قدردانی می‌گردد. این مقاله ماحصل پایان نامه دوره کارشناسی ارشد سیده سعیده دریاباری می‌باشد.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

می‌تواند یک بیومارکر مناسب برای تشخیص و پیشرفت بیماری باشد. داده‌های اولیه این مطالعه نشان می‌دهد که CFL1 احتمالاً می‌تواند به عنوان بیومارکر برای سرطان معده مطرح باشد ولی برای تثبیت قطعیت بیومارکری بودن، مطالعات بیشتر و در حجم نمونه بالاتر و آنالیزهای بیشتری باید صورت گیرد.

نتیجه‌گیری

این ژن با شاخص ۰/۸۸ احتمالاً می‌تواند به عنوان بیومارکر برای سرطان معده استفاده شود. در مجموع یافته‌های این تحقیق نشان داد که میزان بیان CFL1 با ماهیت سرطانی تومورها ارتباط معناداری داشته است که این بدین معناست CFL1 احتمالاً می‌تواند پتانسیل بالایی به عنوان هدف جدید برای ژن درمانی در سرطان معده داشته باشد. قابل ذکر است که این مطالعه یک بررسی

References:

1. Rahman R, Asombang AW, Ibdah JA. Characteristics of gastric cancer in Asia. *World J Gastroenterol* 2014; 20(16):4483-90.
2. Malekzadeh R, Derakhshan MH, Malekzadeh Z. Gastric cancer in Iran: epidemiology and risk factors. *Arch Iran Med* 2009;12(6):576-83.
3. Kolahdoozan Sh, Sadjadi AR, Radmard AR, et al. Five common cancers in Iran. *Archives of Iranian medicine* 2010;13(2):143-6.
4. Azarbarzin SH, Hosseinpour Feizi MA, Sa-faralizadeh R, et al. The Value of miR-299-5p in Diagnosis and Prognosis of Intestinal-Type Gastric Adenocarcinoma. *Bio-chem Genet* 2016; 54(4):413-20
5. Layke JC, Lopez PP. Gastric cancer: diagnosis and treatment options. *American family physician* 2004; 69(5): 1133-40.
6. Otterbein LR, Graceffa P, Dominguez R. The crystal structure of uncomplexed actin in the ADP state. *Science* 2001; 293(5530):708-11.
7. Vindin H, Gunning P. Cytoskeletal tropomyosins: choreographers of actin filament functional diversity. *Journal of muscle research and cell motility* 2013; 34(3-4): 261-74.
8. Wang W, Eddy R, Condeelis J. The cofilin pathway in breast cancer invasion and metastasis. *Nature Reviews Cancer* 2007;7(6):429-40.
9. Moon AL, Janmey PA, Louie KA, Drubin DG. Cofilin is an essential component of the yeast cortical cytoskeleton. *The Journal of Cell Biology* 1993; 120(2): 421-35.
10. Gunsalus KC, Bonaccorsi S, Williams E, Verni F, Gatti M, Goldberg ML. Mutations in twinstar, a Drosophila gene encoding a cofilin/ADF homologue, result in defects in centrosome migration and cytokinesis. *The Journal of cell biology* 1995; 131(5): 1243-59
11. Aizawa H, Sutoh K, Tsubuki S, et al. Identification, characterization, and intracellular distribution of cofilin in Dictyostelium discoideum. *Journal of Biological Chemistry* 1995; 270(18):10923-32

12. Kanellos G, Zhou J, Patel H, et al. ADF and Cofilin1 control actin stress fibers, nuclear integrity, and cell survival. *Cell reports* 2015;13(9):1949-64.
13. Vartiainen MK, Mustonen T, Mattila PK, Ojala PJ, Thesleff I, Partanen J, et al. The Three Mouse Actin-depolymerizing Factor/Cofilins Evolved to Fulfill Cell-Type-specific Requirements for Actin Dynamics. *Molecular biology of the cell* 2002;13(1):183-94.
14. Zuchero JB, Fu M-m, Sloan SA, et al. CNS myelin wrapping is driven by actin disassembly. *Developmental cell* 2015; 34(2):152-67.
15. Hotulainen P, Paunola E, Vartiainen MK, Lappalainen P. Actin-depolymerizing factor and cofilin-1 play overlapping roles in promoting rapid F-actin depolymerization in mammalian nonmuscle cells. *Molecular biology of the cell* 2005;16(2):649-64.
16. Matsuzaki F, Matsumoto S, Yahara I, et al. Cloning and characterization of porcine brain cofilin cDNA. Cofilin contains the nuclear transport signal sequence. *Journal of Biological Chemistry* 1988; 263(23): 11564-8.
17. Lanford RE, Kanda P, Kennedy RC. Induction of nuclear transport with a synthetic peptide homologous to the SV40 T antigen transport signal. *Cell* 1986; 46(4): 575-82.
18. Wang W, Mouneimne G, Sidani M, Wyckoff J, Chen X, Makris A, et al. The activity status of cofilin is directly related to invasion, intravasation, and metastasis of mammary tumors. *The Journal of cell biology* 2006;173(3):395-404.
19. Arber S, Barbayannis FA, Hanser H, et al. Regulation of actin dynamics through phosphorylation of cofilin by LIM-kinase. *Nature* 1998; 393(6687): 805-9.
20. Nishita M, Wang Y, Tomizawa C, Suzuki A, Niwa R, Uemura T, et al. Phosphoinositide 3-kinase-mediated activation of cofilin phosphatase Slingshot and its role for insulin-induced membrane protrusion. *Journal of Biological Chemistry* 2004; 279(8): 7193-8.
21. Lee Y-J, Sheu T-J, Keng PC. Enhancement of radiosensitivity in H1299 cancer cells by actin-associated protein cofilin. *Biochemical and biophysical research communications*. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 335(2):286-91.
22. Lu L, Fu N, Luo X, et al. Overexpression of cofilin 1 in prostate cancer and the corresponding clinical implications. *Oncology letters* 2015; 9(6): 2757-61.
23. Tammana TS, Sahasrabudhe AA, Bajpai VK, et al. ADF/cofilin-driven actin dynamics in early events of Leishmania cell division. *J Cell Sci* 2010; 123(11): 1894-901.
24. Babaei E, Montazeri V. Study of the Expression of Stem Cell Oct-4 Gene as a Diagnostic Molecular Marker in Specimens of Thyroid Papillary Carcinoma in Northwest of Iran 2016; 16(3): 292-9. (Persian)
25. Saffari Chaleshtary J, Moradi MT, Farrokhi E, et al. Study of P53 gene mutations in promoter and exons 2-4 and 9-11 in patient with gastric cancer by PCR-SSCP in Chaharmahal Va Bakhtiari province. *Iran South Med J* 2011; 14 (4) :220-9. (Persian)
26. Movahedi M, Afsharfard A, Moradi A, et al. Survival rate of gastric cancer in Iran. *Journal of Research in Medical Sciences* 2009;14(6): 367-73.
27. Castro MAA, Dal-Pizzol F, Zdanov S, et al. CFL1 expression levels as a prognostic and drug resistance marker in nonsmall cell lung cancer. *Cancer* 2010; 116(15): 3645-55.
28. Zhou J, Wang Y, Fei J, et al. Expression of cofilin 1 is positively correlated with the differentiation of human epithelial ovarian cancer. *Oncology letters* 2012; 4(6):1187-90.
29. Wang WS, Zhong HJ, Xiao DW, et al. The expression of CFL1 and N-WASP in esophageal squamous cell carcinoma and its correlation with clinicopathological features. *Diseases of the Esophagus* 2010; 23(6): 512-21.
30. Pérez-Martínez FC, Carrión B, Lucío MI, et al. Enhanced docetaxel-mediated cytotoxicity in human prostate cancer cells through knockdown of cofilin-1 by carbon nanohorn delivered siRNA. *Biomaterials* 2012; 33(32): 8152-9.

Original Article

CFL1 Gene Expression in the Intestinal Samples of Gastric Adenocarcinoma in East Azarbaijan Population

SS. Daryabari (MSc)^{1*}, R. Safaralizadeh (PhD)^{1**}, MA. Hosseinpour Feizi (PhD)¹,
Y. Moaddab (MD)², R. Ravanbakhsh Gavvani (PhD)¹

¹ Department of Animal Biology, University of Tabriz, Tabriz, Iran

² Liver and Gastroenterology Diseases Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

(Received 8 Feb, 2017

Accepted 16 Oct, 2017)

Abstract

Background: Gastric cancer is the fourth most common cancer and the second most common cause of cancer-related death around the world. Northern areas of Iran from northwest to northeast have a high risk of this cancer. Genetic mutations and changes in expression level are the most effective factors in carcinogenesis and cancer progression. CFL1 is one of the genes affected by changes in expression level. CFL1 is isoform of the ADF/cofilin protein family. The protein encoded by this gene can polymerize and depolymerize F-actin and G-actin in a pH-dependent manner. In this research, we studied the expression of this gene in intestinal samples of gastric adenocarcinoma.

Material and Methods: In this study, mRNA was extracted from the intestinal type of gastric adenocarcinoma of 26 biopsy samples. Next, real-time polymerase chain reaction was performed to measure gene expression after cDNA synthesis.

Results: The rate of CFL1 gene expression in tumor samples significantly increased compared with healthy tumor margins ($p < 0.05$). Furthermore, the biomarker index for CFL1 was obtained 0.88.

Conclusion: This gene can be used as a biomarker in gastric cancer. Overall, the results of this study showed that the expression of CFL1 has a significant association with the nature of cancer tumors. This implies that CFL1 has a high potential as a novel target for gene therapies in gastric cancer.

Key words: Stomach Neoplasm, Adenocarcinoma, CFL1

©Iran South Med J. All rights reserved.

Cite this article as: Daryabari SS, Safaralizadeh R, Hosseinpour Feizi MA, Moaddab Y, Ravanbakhsh R. CFL1 Gene Expression in the Intestinal Samples of Gastric Adenocarcinoma in East Azarbaijan Population. Iran South Med J 2018; 21(1): 29-39

Copyright © 2018 Daryabari, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

**Address for correspondence: Department of Animal Biology, University of Tabriz, Tabriz, Iran. Email: safaralizadeh@tabrizu.ac.ir

* ORCID: 0000-0003-1951-0847

**ORCID: 0000-0002-6970-6998

Website: <http://bpums.ac.ir>
Journal Address: <http://ismj.bpums.ac.ir>