بررسی بیان ژن اکسپورتین۵ (XPO5) در بیماران مبتلا به سرطان پستان

سمیرا شاکری زاده[۱]، محمد شکاری *[۲]، عبدالعظیم نجاتی زاده[۳]، علی اکبرپورصادق زنوزی[۱]، هدیه فردمنش[۱]، احمد پورصادق زنوی[۴]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک انسانی، مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران
۲. دانشیار، دکتری تخصصی ژنتیک مولکولی، مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران
۳. دانشیار، دکتری تخصصی ژنتیک پزشکی، مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران
۴.کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات زیست فناوری، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

چکیده

زمینه و هدف: تغییر بیان microRNA (miRNA) ها مشخصه عمومی بسیاری از بدخیمی ها می باشد. تغییر بیان و یا عملکرد پروتئین های مسئول بیوژنز miRNA ها، از مکانیسم های پایه ای مولکولی در تغییر بیان miRNAها است. اکسپورتین ۵ (XPO5) نقش رابط بین مرحله هسته ای و سیتوپلاسمی مسیر بیوژنز را برعهده داشته که تا کنون ارتباط آن با چندین سرطان گزارش شده است اما نقش این ژن به خوبی در سرطان پستان مورد پژوهش قرار نگرفته است، لذا این مطالعه با هدف بررسی سطح بیان این ژن در سرطان پستان در جمعیت ایرانی انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه مورد-شاهدی، بافت های توموری و بافت غیرتوموری پیرامونی از ۳۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان که تحت عمل جراحی قرار گرفته بودند، تهیه شد. پس از استخراج RNA و ساخت cDNA با تکنیک quantitative Real-Time PCR بیان ژن اکسپورتین ۵ در سطح mRNA سنجیده شد.

یافته ها: بررسی سطح بیان ژن اکسپورتین ۵ حاکی از افزایش بیان این ژن در ۵۳/۳ درصد بیماران مبتلا به سرطان پستان بود اما سطح بیان ژن اکسپورتین ۵ در نمونه های توموری و غیر توموری پیرامونی از نظر آماری دارای تفاوت معنی داری نبود (P=۰/۸۳۴). همچنین سطح بیان این ژن با شاخص های پاتولوژیکی همبستگی و همراهی معنی داری را نشان نداد.

نتیجه گیری: افزایش بیان ژن اکسپورتین ۵ در بیش از نیمی از بیماران، شاید بتواند نشانگر نقش احتمالی تومورزایی برای افزایش سطح بیان این ژن در سرطان پستان باشد که برای قطعیت نیاز به مطالعات بیشتر و وسیع تر در آینده است.

کلمات کلیدی: اکسپورتین۵، microRNA، سرطان پستان

نویسنده مسئول: محمد شکاری
آدرس: ایران، بندرعباس، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان
ایمیل: mshekariomics@gmail.com

مقدمه

سرطان پستان شایع ترین سرطان در میان زنان سراسر دنیا و دومین علت مرگ ناشی از سرطان در زنان، پس از سرطان ریه است (۱). این سرطان ۲۳ درصد از کل سرطان های جهان و ۱۴ درصد از کل مرگ و میرهای ناشی از سرطان را تشکیل می دهد (۲). هر ساله در سراسر جهان یک میلیون مورد جدید از این بیماری تشخیص داده می شود (۳) که سهم کشور ما سالیانه حدود ۷۰۰۰ مورد است (۲). سرطان پستان اگر در مراحل اولیه تشخیص داده و درمان شود، علاج پذیر است (۴) که مشخص شدن اساس مولکولی فرآیندهای منجر به شکل گیری و پیشرفت تومورهای پستان، برای درمان مؤثر آن ضروری است (۵) اما علی رغم مطالعات وسیع در زمینه سرطان پستان بسیاری از مبانی مولکولی این سرطان تا کنون ناشناخته باقی مانده است.

دو دهه قبل مولکول های تنظیم گری به نام miRNA شناسایی شدند که فعالیت اغلب ژن های کد کننده پروتئین را در انسان تحت کنترل دارند (۷-۶). miRNAها خود، مولکول های کوچک غیرکد کننده هستند (۸) که در سطح پس از رونویسی بیان ژن ها را از طریق تخریب mRNA هدف و یا ممانعت از ترجمه آن تنظیم می کند (۹). این مولکول ها به سبب خاموش سازی بیان ژن های سرکوبگر تومور، دارای نقش تومورزایی و از طریق خاموش سازی بیان ژن های انکوژن دارای نقش سرکوبگری تومور هستند (۱۰) و از این رو تغییر در سطح بیان آن ها در روند تومورزایی بسیاری از سرطان ها می تواند نقش تعیین کننده ای داشته باشد. سرطان پستان نیز در این مورد مستثنا نبوده و تغییر بیان miRNAها در تمام مراحل آن گزارش شده است (۱۲-۱۱). یکی از دلایل عمده تغییر بیان این مولکول ها عدم تنظیم پروتئین های مسیر بیوژنز آن هاست (۱۳). بیوژنز این مولکول ها در دو مرحله متوالی هسته ای و سیتوپلاسمی صورت می گیرد که پروتئین کد شده توسط ژن اکسپورتین ۵ نقش رابط را بین دو مرحله هسته ای و سیتوپلاسمی بلوغ miRNAها ایفا می کند (۱۴) و همچنین محصول پردازش هسته ای miRNA ها (pre-miRNA) که در نتیجه عمل آنزیم Drosha و DGCR8 شکل می گیرد، از عوامل تخریبی درهسته حفظ و برای ادامه روند بلوغ به سیتوپلاسم منتقل می کند تا در سیتوپلاسم توسط سایر اعضای این مسیر مورد پردازش قرار گیرد (۱۵و۹). مرحله انتقال pre-miRNA از هسته به سیتوپلاسم یک مرحله تعیین کننده بلوغ این مولکول هاست و به عنوان یک کلید روشن-خاموش بیان برخی miRNAها عمل می کند (۱۵).

مطالعات اخیر نشان داده اند که در شمار قابل توجهی از تومورهای انسانی pre-miRNA ها در هسته محبوس می مانند (۱۴). در سرطان کولورکتال توسط Melo و همکاران مشاهده گردید که در اثر جهش در اکسپورتین ۵ بیان ۵۰ درصد از miRNA ها از دست می رود و تنها جایگزین کردن تیپ وحشی اکسپورتین ۵، می تواند بیان این miRNA ها را اصلاح کند (۱۶). اکسپورتین ۵ علاوه بر مسیر بیوژنز miRNA ها، می تواند باعث پیشبرد چرخه سلولی شود به گونه ای که مهار آن منجر به توقف و نقص رشد سلولی می گردد (۱۷). در سال های اخیر، به موجب نقش های برجسته منتسب به اکسپورتین ۵، این ژن همواره به عنوان یکی از اهداف درمانی سرطان های مختلف مطرح بوده است (۱۸). تا کنون ارتباط میان واریانت ها و همچنین تغییرات بیان اکسپورتین ۵ با خطر بدخیمی، درجه تهاجم تومور، میزان کنترل بیماری و بقای بیماران در برخی سرطان ها گزارش شده است (۲۴-۱۹). با این وجود در مورد تغییرات بیان این ژن در سرطان پستان، تنها یک مطالعه تا کنون به انجام رسیده است (۱۹). از این رو این مطالعه با هدف ارزیابی تغییرات بیان ژن اکسپورتین ۵ در

سطح mRNA و همچنین بررسی همراهی و همبستگی تغییرات بیان اکسپورتین ۵ با شاخص های پاتولوژیکی در سرطان پستان طراحی شد و به اجرا در آمد.

روش بررسی

این مطالعه مورد-شاهدی از سال ۱۳۹۲ تا سال ۱۳۹۴ بر روی۳۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان که در بیمارستان نورنجات تبریز مورد جراحی قرار گرفته بودند و قبل از جراحی پرتو درمانی و شیمی درمانی انجام نداده بودند صورت پذیرفت. یک قسمت از هر نمونه جهت بررسی پاتولوژی در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد و قسمت دیگر بلافاصله در محلول پایدارکننده RNA Later Qiagen, (Germany) و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. بافت های توموری (n=۳۰) و غیرتوموری پیرامونی (n=۳۰) بیماران پس از تأیید نهایی توسط پاتولوژیست به ترتیب به عنوان گروه های مورد و شاهد در نظر گرفته شدند. تمام نمونه ها در محلول پایدارکننده RNA و ضمن رعایت زنجیره دمایی به مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی بندرعباس منتقل گردید. این پژوهش با تأیید کمیته اخلاق در پژوهش های پزشکی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان انجام شد و به منظور استفاده از نمونه های بافتی و اطلاعات پاتولوژیکی از کلیه بیماران رضایت نامه کتبی آگاهانه اخذ گردید.

استخراج RNA و ساخت cDNA:

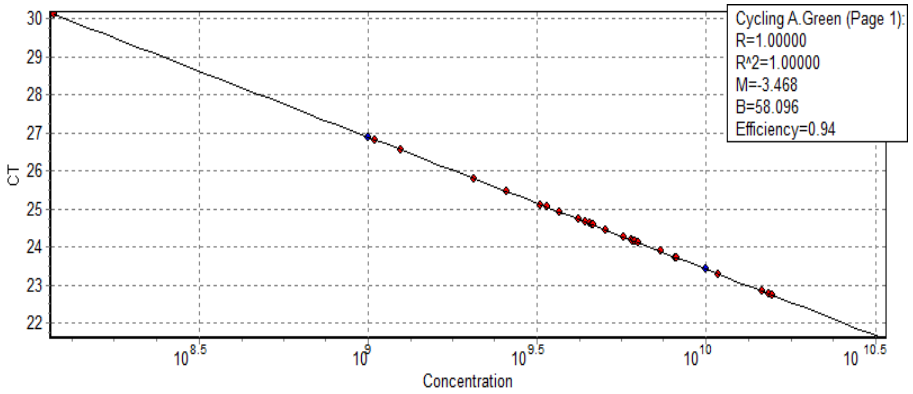
RNA تام از میزان ۱۰۰ میلی گرم بافت مربوط به هر نمونه و با استفاده از محلول استخراج RNA، Tri-pure (Roche, Germany) Isolation Reagent از بافت ها استخراج گردید. غلظت و خلوص RNA استخراجی در دستگاه نانودراپ (Thermo Scientific, USA) اندازه گیری شد. ۱میکروگرم از هر نمونه به منظور حذف هر گونه آلودگی با DNA ژنومی با آنزیم DNaseI (ThermoScientific, USA) تیمار گردید و از کل ۱میکروگرم RNA تیمار شده با استفاده از آنزیم رونوشت بردار معکوس و پرایمر رندوم هگزامر، cDNA (Fermentas, Canada) ساخته شد.

مرحله Quantitative real-time PCR:

Quantitative real-time PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی هر ژن که در جدول ۱ نشان داده شده است و کیت (Bioneer, Korea) و با بکارگیری دستگاه (Corbett, Australia) انجام شد. محتوای هر واکنش ۱۰۰ نانوگرم cDNA، Master Mix 2X وROX50X و ۱۰ پیکومول پرایمر اختصاصی هر ژن، در حجم کلی ۲۵ میکرولیتر بود که با شرایط دمایی نشان داده شده در جدول ۲ انجام پذیرفت. جهت حذف هرگونه اثر خطا و آلودگی، از هر نمونه سه تکرار انجام و در هر سری آزمایش ها یک کنترل منفی که حاوی تمام محتویات آزمایش جز cDNA بود، گذاشته شد و منحنی استاندارد و منحنی ذوب مربوطه مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل های۱و۲).

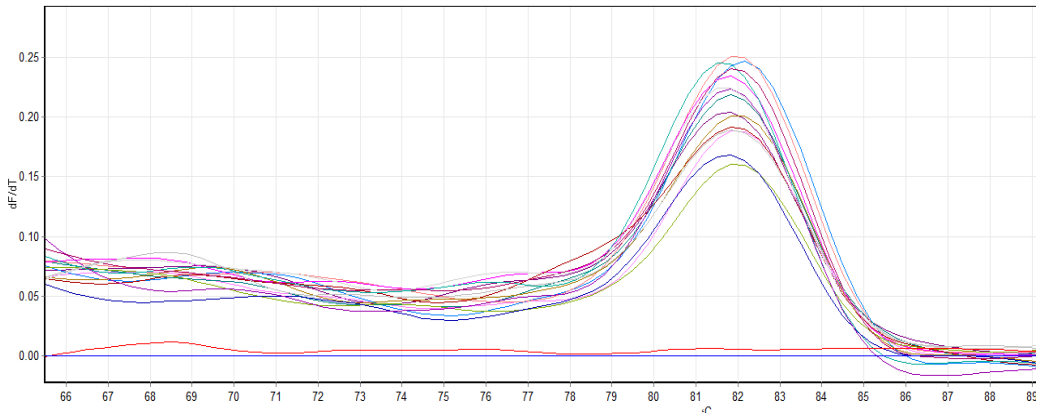
جدول۱: توالی پرایمرهای اختصاصی ژن های XPO5 و β-Actin

ژن	توالی پرایمر	Tm	طول قطعه PCR
XPO5	F5′-CATCCTGTCCTGCGTCCTTAC-3′ 5′-GGGCAGGAACTCTGGTCTGTA-3′ R	۶۰	۱۲۴
β-Actin	F 5′-CAGCCATGTACGTTGCTATCCAGG-3′ R 5′-AGGTCCAGACGCAGGATGGCATG-3′	۵۹/۸	۱۳۲



شکل۱: منحنی استاندارد ژن XPO5

شکل ۱: بررسی نمودار استاندارد در تعیین مطلوبیت یک واکنش Real Time PCR دارای اهمیت بسزایی است. برای یک واکنش Real Time PCR کارآمد حداقل باید سه پارامتر در نظر گرفته شود. Efficiency (کارایی)؛ که در خروجی داده های دستگاه به صورت E نشان داده می شود و مقدار عددی آن باید برابر ۱ یا نزدیک به آن باشد. R^2 value (ضریب همبستگی نمودار استاندارد) که مقدار عددی مطلوب برای این معیار باید برابر ۰/۹۹ یا نزدیک به آن باشد، Slope (شیب خط)؛ که در خروجی داده های دستگاه به صورت M نشان داده می شود و مقدار عددی آن باید برابر ۳/۳۳- یا نزدیک به آن باشد.



شکل۲: منحنی ذوب قطعه سنتز شده مربوط به ژن XPO5 (تک پیک بودن نمودار نشان دهنده اختصاصیت پرایمر است)

شکل۲: نقطه ذوب معیاری برای تعیین صحت قطعه سنتز شده می باشد به عبارتی یک جفت پرایمر هر ژن در صورت داشتن اختصاصیت مطلوب برای ژن مورد مطالعه باید دارای یک پیک در نمودار ذوب باشد که مربوط به قطعه تکثیر شده است. وجود بیش از یک پیک نشانگر عدم اختصاصیت و یا وجود دایمر پرایمر می باشد.

جدول۲: شرایط دمایی برنامه Quantitative Real-Time PCR برای ژن XPO5

مرحله	دما(°c)	زمان	تعدادچرخه
واسرشت اولیه (hold)	۹۴	۱′	۱
واسرشت	۹۴	۵′′	۵۰
اتصال	۶۰	۱۵′′	
طویل سازی	۷۲	۱۰′′	
ذوب	۶۵-۹۵	-	-

آنالیز آماری

به منظور انجام آنالیزهای آماری از نرم افزار (SPSS Inc, Chicago, IL, USA (SPSS 16.0 استفاده شد. در بررسی سطح معنی داری تفاوت بیان ژن ها میان نمونه های توموری و غیرتوموری، آزمون Student T test به کار گرفته شد. از آزمون های independent-sample T test و One way ANOVA برای بررسی همراهی میان

تغییرات بیان ژن مورد مطالعه و شاخص های پاتولوژیکی بیماران و آزمون Pearson جهت بررسی همبستگی میان تغییرات بیان ژن های مورد مطالعه و شاخص های پاتولوژیکی بیماران استفاده شد.

یافته ها

بیان ژن اکسپورتین ۵ در بافت های توموری و بافت های غیرتوموری پیرامونی

در این مطالعه برای سنجش سطح بیان ژن اکسپورتین ۵ در بیماران مبتلا به سرطان پستان، از تکنیک quantitative Real-Time PCR و متد $^{-\Delta\Delta ct}$ ۲ استفاده و میانگین بیان ژن β-Actin به عنوان کنترل جهت نرمال سازی تغییرات بیان ژن مورد مطالعه در نظر گرفته شد. از آنجایی که نحوه توزیع داده ها نرمال بود از میانه به عنوان معیاری (cut-off) جهت تعیین کاهش یا افزایش بیان ژن اکسپورتین ۵ در نمونه های مورد مطالعه استفاده شد. ژن اکسپورتین ۵ در ۵۳/۳ درصد از مجموع ۳۰ بیمار دچار افزایش بیان و در ۴۶/۷ درصد این تعداد دچار کاهش بیان شده بود، اما سطح بیان این ژن در نمونه های توموری و نمونه های غیرتوموری پیرامونی ازنظر آماری تفاوت معنی داری را دارا نبود (P=۰/۸۳۴) (جدول۳).

بررسی همراهی سطح بیان ژن اکسپورتین ۵ و شاخص های پاتولوژیکی:

همان گونه که در جدول ۳ نشان داده شده است بیماران بر اساس هریک از شاخص های پاتولوژیکی سن، درجه پاتولوژیکی تومور، اندازه تومور و وضعیت متاستاز به گره های لنفاوی به گروه های مختلف تقسیم شده اند تا رابطه هر یک از این شاخص ها با سطح بیان ژن اکسپورتین ۵ مشخص شود. بر حسب سن بیماران، بیان ژن اکسپورتین ۵ در ۵۴/۵۵ درصد از بیماران کمتر از ۵۰ سال و نیمی از افراد بالای ۵۰ سال افزایش یافته بود. در بررسی رابطه درجه پاتولوژیکی تومور با سطح بیان ژن اکسپورتین ۵ مشاهده گردید که هرچه درجه پاتولوژیکی تومور افزایش می یابد درصد افزایش بیان این ژن نیز بیشتر می شود (جدول۳). بر حسب اندازه تومور، مجموع ۳۰ نمونه توموری در دو دسته تومورهای با اندازه ۳≤ و۳< قرار داده شدند و مشخص شد درصد افزایش بیان ژن اکسپورتین ۵ در تومورهای با اندازه بالاتر از ۳ سانتی متر (۶۲/۵درصد) بیشتر از تومورهای با اندازه کمتر از ۳ سانتی متر است (۴۲/۸۶درصد). آخرین شاخص مورد بررسی در مطالعه متاستاز یا عدم متاستاز تومور به گره های لنفاوی بود که در این شاخص مانند شاخص های مورد بررسی دیگر، ژن اکسپورتین ۵ چه در نمونه های دارای متاستاز (۵۷/۱۵درصد) و چه نمونه های بدون متاستاز (۵۵/۵۶) در درصد بیشتری از نمونه ها افزایش بیان را نشان می داد (جدول۳).

علی رغم تفاوت بیان ژن اکسپورتین ۵ برحسب شاخص های سن بیماران، درجه، اندازه و وضعیت متاستاز تومورها، هیچ یک از شاخص های مذکور دارای همراهی معنی داری از نظر آماری با سطح بیان ژن اکسپورتین ۵ نبودند (این شاخص ها رابطه معنی داری با سطح بیان ژن اکسپورتین ۵ نداشتند) (جدول۳).

جدول۳: بررسی همراهی سطح بیان ژن XPO5 و شاخص های پاتولوژیکی بیماران

		تعداد(درصد)	کاهش بیان (درصد)	میانه	افزایش بیان (درصد)	میانه	**P value
تعداد کل بیماران		۳۰ (۱۰۰)	۱۴(۴۶/۷)	۴/۲۰۳	۱۶ (۵۳/۳)	۰/۴۰۸	۰/۸۳۴
سن	۵۰≤	۲۲	۱۰(۴۵/۴۵)	۳/۳۱۰	۱۲ (۵۴/۵۵)	۰/۳۰۲	۰/۶۴۵
	۵۰>	۸	۴(۵۰)	۴/۹۵۴	۴ (۵۰)	۰/۵۰۹	
درجه پاتولوژیکی	I	۵	۳(۶۰)	۲/۶۲۰	۲ (۴۰)	۰/۹۰۲	۰/۲۲۶
	II	۱۵	۷ (۴۶/۶۶)	۵/۵۰۲	۸ (۵۳/۳۴)	۰/۲۵۶	
	III	۱۰	۴ (۴۰)	۱/۸۵۷	۶ (۶۰)	۰/۴۰۸	
اندازه تومور	۳≤	۱۴	۸ (۵۷/۱۴)	۳/۵۱۴	۶ (۴۲/۸۶)	۰/۴۴۲	۰/۲۲۶
	۳>	۱۶	۶ (۳۷/۵۰)	۴/۲۵۰	۱۰ (۶۲/۵۰)	۰/۴۰۸	
متاستاز به گره های لنفاوی	متاستاز	۲۱	۹ (۴۲/۸۵)	۴/۵	۱۲ (۵۷/۱۵)	۰/۳۴۱	۰/۸۵۲
	عدم متاستاز	۹	۴ (۴۴/۴۴)	۳/۵۱۴	۵(۵۵/۵۶)	۰/۸۴۰	

بررسی همبستگی سطح بیان ژن اکسپورتین ۵ و شاخص های پاتولوژیکی:

در این مطالعه علاوه بر همراهی شاخص های پاتولوژیکی با سطح بیان ژن اکسپورتین ۵، همبستگی این شاخص ها با سطح بیان ژن اکسپورتین ۵ نیز مورد بررسی قرار گرفت. آزمون آماری Pearson نشان داد که هیچ گونه همبستگی معنی داری از نظر آماری بین سطح بیان ژن اکسپورتین ۵ و شاخص های سن بیماران، درجه، اندازه و وضعیت متاستاز تومورها وجود ندارد (جدول۴).

جدول۴: بررسی همبستگی سطح بیان ژن XPO5 و شاخص های پاتولوژیکی بیماران

شاخص پاتولوژیکی	r*	P value**
سن	۰/۱۶۲	۰/۳۹۴
درجه پاتولوژیکی	-۰/۲۰۳	۰/۲۸۲
اندازه تومور	-۰/۲۲۸	۰/۲۲۶
متاستاز به گره های لنفاوی	-۰/۰۳۶	۰/۸۵۲

بحث و نتیجه گیری

به دلیل نقش مهم و حیاتی miRNA ها در اعمال مختلف سلولی، تا کنون حجم وسیعی از مطالعات به روشن سازی نقش این مولکول ها در سرطان های مختلف اختصاص یافته است. گزارش های متعددی از ارتباط میان اختلال درتنظیم بیان miRNAها و درجه و شدت پاتولوژیکی، تهاجم، متاستاز به گره های لنفاوی و نحوه پاسخ به درمان سرطان پستان وجود دارد (۲۵و۴). از آن جایی که یکی از مهم ترین علل اختلال تنظیم miRNAها، اختلال تنظیم و یا عملکرد پروتئین هایی است که در مسیر بیوژنز این مولکول ها ایفای نقش می کنند. در این مطالعه بر آن شدیم تا بیان ژن اکسپورتین ۵، یکی از اجزای حیاتی در مسیر بلوغ miRNA ها را در نمونه های توموری و غیر توموری پیرامونی ۳۰ بیمار

مبتلا به سرطان پستان مورد مطالعه قرار دهیم.

نتایج این مطالعه نشان داد که بیان ژن اکسپورتین ۵ در ۵۳/۳ درصد بیماران افزایش یافته است (جدول۳). این یافته، با نتیجه حاصل از مطالعه ی Derek و همکارانش هم راستا می باشد که در آن، بیان ژن اکسپورتین ۵ در بیماران مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با افراد کنترل افزایش یافته بود (۱۹). علاوه بر این، افزایش بیان ژن اکسپورتین ۵ در کارسینومای اوروتلیال مثانه در دو مطالعه جداگانه گزارش شده است (۲۶و۲۰). از سویی دیگر مطالعات نشان داده اند که بیان پروتئین اکسپورتین ۵ در سلول های درحال تقسیم نسبت به سلول هایی که در حال استراحت هستند به طرز معنی داری افزایش می یابد (۱۷) و مهار بیان آن باعث سرکوب رشد سلولی و القای آپوپتوز می شود (۲۶) از این رو، به نظر می رسد افزایش بیان ژن اکسپورتین ۵ یک شاخصه سلول های سرطانی، که دارای رشد بی رویه وخارج کنترل هستند، باشد. مشاهده افزایش بیان اکسپورتین ۵ در بیش از نیمی از بیماران این مطالعه می تواند نشانگر نقش احتمالی تومورزایی برای افزایش سطح بیان این ژن در سرطان پستان باشد اگرچه از لحاظ آماری تفاوت معنی داری مشاهده نگردید.

کاهش بیان ژن اکسپورتین ۵ در آدنوکارسینومای ریه مغایر با یافته های این مطالعه است (۲۷). علاوه بر این، نتایج حاصل از مطالعه Sonia A melo نشان داد که اکسپورتین ۵ در سرطان کلورکتال به عنوان یک ژن سرکوبگر تومور عمل می کند نیز مخالف با نتیجه حاصل از مطالعه حاضر است (۸). توضیح قابل قبول برای این مشاهدات موافق و مخالف با یافته های پژوهش پیش رو، می تواند این باشد که عدم تنظیم بیان ژن اکسپورتین ۵ بسته به نوع سلول می تواند اثرات متفاوت در روند تومورزایی سلول داشته باشد. از آن جایی که اکسپورتین ۵ یک عامل تنظیم کننده میزان سنتز و عملکرد miRNAها است (۱۵) شاید بتوان گفت در سرطان های ناشی از افزایش بیان این ژن، بیان miRNAهای تومورژنیک افزایش یافته و بالعکس در سرطان های ناشی از کاهش بیان این ژن، بیان miRNAهای سرکوبگر تومور کاهش یافته است.

در این مطالعه با وجود معنی دار نبودن همراهی و همبستگی سطح بیان ژن اکسپورتین ۵ و شاخص های پاتولوژیکی از نظر آماری مشاهده گردید که هرچه درجه پاتولوژیکی تومور بالاتر باشد درصد افزایش سطح بیان ژن اکسپورتین ۵ نیز بیشتر خواهد بود که همسو با این یافته، نتیجه ای توسط Han وهمکارانش در رابطه با ارتباط میان درجه پاتولوژیکی تومورهای مثانه و سطح بیان ژن اکسپورتین ۵ در سال ۲۰۱۳ اخذ گردیده است (۲۶). با این حال قطعیت نقش ژن اکسپورتین ۵ در سرطان پستان و همراهی و همبستگی آن با شاخص های مختلف این سرطان نیاز به مطالعات بیشتر و وسیع تر در آینده دارد.

تقدیر و تشکر

این طرح با شماره ۵-ژ-۹۱ در دفتر تحصیلات تکمیلی دانشکده پزشکی بندرعباس به ثبت رسیده و با تأمین بودجه از سوی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان انجام شد. از تمامی بیماران که در این مطالعه شرکت نموده اند، ریاست و پرسنل محترم بیمارستان نورنجات تبریز و کلیه عوامل مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی بندرعباس که ما را در انجام این مطالعه یاری نموده اند صمیمانه قدردانی و سپاس به عمل می آید.

References

1.Haji HA, Khoshnazar AK, Gherati R, Javan B, Asadi J. valproic acid and radiation therapy effects on MCF-7 breast cancer cell line viability. Journal of Gorgan University of medical sciences. 2014;16(3(. (persian)

2.Shiri Y, Aghaalinejad H, Gharakhanloo R, Shalamzari SA, Saee M. study of 6 weeks endurance training effect on IL-10 level in breast tumor tissue of female mouses. Iran metabolism and endocrinology journal. 2014;16(3):205-10.(persian)

3.Sheikhpour R, Taghipourzoheir S. study of codon 27 polymorphism of P53 gene and resulting protein in women with breast cancer in Yazd. Iran breast diseases. 2014;7(3 ((persian (

4.Heneghan H, Miller N, Lowery A, Sweeney K, Kerin M. MicroRNAs as novel biomarkers for breast cancer. Journal of oncology. 2009;2010.

5.Takahashi R-u, Miyazaki H, Ochiya T. The Roles of MicroRNAs in Breast Cancer. Cancers. 2015;7(2):598-616.

6.Friedman RC, Farh KK-H, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. Genome research. 2009;19(1):92-105.

7.Bajan S, Hutvagner G. Regulation of miRNA Processing and miRNA Mediated Gene Repression in Cancer. Microrna (Shariqah, United Arab Emirates). 2014;3(1):10.

8.Melo SA, Esteller M. Dysregulation of microRNAs in cancer: playing with fire. FEBS letters. 2011;585(13):2087-99.

9.Romero-Cordoba SL, Salido-Guadarrama I, Rodriguez-Dorantes M, Hidalgo-Miranda A. miRNA biogenesis: biological impact in the development of cancer. Cancer biology & therapy. 2014;15(11):1444-55.

10.Davis-Dusenbery BN, Hata A. microRNA in Cancer The involvement of aberrant microRNA biogenesis regulatory pathways. Genes & cancer. 2010;1(11):1100-14.

11.Hata A, Lieberman J. Dysregulation of microRNA biogenesis and gene silencing in cancer. Science signaling. 2015;8(368):re3.

12.Bouyssou JM, Manier S, Huynh D, Issa S, Roccaro AM, Ghobrial IM. Regulation of microRNAs in cancer metastasis. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer. 2014;1845(2):255-65.

13.Deng S, Calin GA, Croce CM, Coukos G, Zhang L. Mechanisms of microRNA deregulation in human cancer. Cell cycle. 2008;7(17):2643-6.

14.Melo SA, Esteller M, editors. Disruption of microRNA nuclear transport in human cancer. Seminars in cancer biology; 2014: Elsevier.

15.Yi R, DOEHLE BP, Qin Y, MACARA IG, CULLEN BR. Overexpression of exportin 5 enhances RNA interference mediated by short hairpin RNAs and microRNAs. Rna. 2005;11(2):220-6.

16.Melo SA, Moutinho C, Ropero S, Calin GA, Rossi S, Spizzo R, et al. A genetic defect in exportin-5 traps precursor microRNAs in the nucleus of cancer cells. Cancer cell. 2010;18(4):303-15.

17.Iwasaki YW, Kiga K, Kayo H, Fukuda-Yuzawa Y, Weise J, Inada T, et al. Global microRNA elevation by inducible Exportin 5 regulates cell cycle entry. Rna. 2013;19(4):490-7.

18.Huang J-T, Wang J, Srivastava V, Sen S, Liu S-M. MicroRNA machinery genes as novel biomarkers for cancer. Frontiers in oncology. 2014;4.

19.Leaderer D, Hoffman AE, Zheng T, Fu A, Weidhaas J, Paranjape T, et al. Genetic and epigenetic association studies suggest a role of microRNA biogenesis gene exportin-5 (XPO5) in breast tumorigenesis. International journal of molecular epidemiology and genetics. 2011;2(1):9.

20.Catto JW, Miah S, Owen HC, Bryant H, Myers K, Dudziec E, et al. Distinct microRNA alterations characterize high-and low-grade

bladder cancer. Cancer research. 2009;69(21):8472-81.

21.Mach C, Kim J, Anderson M. Loss of miR-143 promotes the proliferation of UPSC by enhancing exportin-5 expression. Gynecologic Oncology. 2012;125:S161.

22.Boni V, Zarate R, Villa J, Bandres E, Gomez M, Maiello E, et al. Role of primary miRNA polymorphic variants in metastatic colon cancer patients treated with 5-fluorouracil and irinotecan. The pharmacogenomics journal. 2011;11(6):429-36.

23.Guo Z, Wang H, Li Y, Li B, Li C, Ding C. A microRNA‐related single nucleotide polymorphism of the XPO5 gene is associated with survival of small cell lung cancer patients. Biomedical reports. 2013;1(4):545-8.

24.Ding C, Li C, Wang H, Li B, Guo Z. A miR-SNP of the XPO5 gene is associated with advanced non-small-cell lung cancer. OncoTargets and therapy. 2013;6:877.

25.Heneghan HM, Miller N, Kerin MJ. MiRNAs as biomarkers and therapeutic targets in cancer. Current opinion in pharmacology. 2010;10(5):543-50.

26.Han Y, Liu Y, Gui Y, Cai Z. Inducing cell proliferation inhibition and apoptosis via silencing Dicer, Drosha, and Exportin 5 in urothelial carcinoma of the bladder. Journal of surgical oncology. 2013;107(2):201-5.

27.Chiosea S, Jelezcova E, Chandran U, Luo J, Mantha G, Sobol RW, et al. Overexpression of Dicer in precursor lesions of lung adenocarcinoma. Cancer research. 2007;67(5):2345-50.

Investigation of *Exportin 5* (XPO5) mRNA expression in breast cancer patients

Samira Shakerizadeh[1], Mohammad Shekari[2*], Abdolazim Nejatizadeh[2], Aliakbar Poursadegh zonouzi[1], Hedieh fardmanesh[1], Ahmad Poursadegh zonouzi[3]

1. M.Sc. Student in Human Genetics, Molecular Medicine Research Center, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran
2. Associate Professor, PhD of Molecular Genetics, Molecular Medicine Research Center ,Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran
3. M.Sc. in cellular and molecular biology, Biotechnology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Abstract

Background & Objective: Deregulation in the expression of microRNAs is involved in the pathogenesis of various malignancies. Impaired microRNAs processing pathway is one possible mechanism for global deregulation of the miRNAs. *Exportin 5* (XPO5) is a key member of this pathway that links nuclear and cytoplasmic steps of miRNAs biogenesis together. XPO5 deregulation has been reported in some cancers but very little is known about its role in breast cancer. Therefore, this study aimed to evaluate the mRNA expression of XPO5 in breast cancer in an Iranian population.

Method: In this case-control study, 30 tumoral tissues and 30 tumor-free margins were collected from breast cancer patients. After RNA extraction and cDNA synthesis, XPO5 mRNA expression level was assessed using quantitative Real-Time PCR.

Results: Our results showed that XPO5 was overexpressed in 53.3% of tumoral tissues but the difference in the gene expression level between tumoral tissues and tumor-free margins was not statistically significant (P=0.834). XPO5 expression level showed no statistically significant correlation and association with clinical and pathological parameters.

Conclusion: Overexpression of XPO5 in large percent of patients indicates that high level of XPO5 expression may be a tumorigenic factor for breast cancer which needs to be investigated more deeply.

Key words: Exportin 5, microRNA, breast cancer

Corresponding Author: Mohammad Shekari

Address: Molecular Medicine Research Center ,Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.

E-mail: mshekariomics@gmail.com