



Original Paper

Can use NKX2-1 Gene as Indicator of Differentiation of Papillary Thyroid Carcinoma?

Mohammad Mokhtari¹ , Seyed-Morteza Javadirad (Ph.D)^{*2} , Mohsen Kolehdozan (Ph.D)³ 

¹ M.Sc Student of Cellular and Molecular Biology, Department of Cell and Molecular Biology and Microbiology, Faculty of Biological Science and Technology, University of Isfahan, Isfahan, Iran. ² Assistant Professor, Department of Cell and Molecular Biology and Microbiology, Faculty of Biological Science and Technology, University of Isfahan, Isfahan, Iran. ³ Associate Professor, Department of Surgery, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

Abstract

Background and Objective: Thyroid cancer is a common cancer of the endocrine system, and knowing the etiology can be effective in its treating. On the other hand, the FNA technique is not accurate enough, so finding a biomarker for thyroid cancer is of importance. This study was done to evaluate the NKX2-1 gene as indicator of differentiation of papillary thyroid carcinoma (PTC).

Methods: In this case-control study, 17 fresh PTC tissue samples and 20 adjacent-healthy tissues were collected during thyroidectomy in Isfahan, Iran. RNA extraction was followed by cDNA synthesis. The expression of the NKX2-1 gene was performed using specific primers (exon-junction and intron spanning) using the RT-qPCR method.

Results: An examination of the quality and quantity of extracted RNAs showed that they were intact and suitable for making cDNA. Examination of the melting curve showed a specific amplification of the NKX2-1 gene. The difference in expression of the NKX2-1 gene between PTC and healthy-adjacent tissues was 0.947.

Conclusion: No difference in the expression of the NKX2-1 gene between the healthy tissue adjacent to the tumor and the tissue of the PTC tumor indicates that the PTC tumors were differentiated.

Keywords: Papillary Thyroid Carcinoma, Cell Differentiation, NKX2-1

*Corresponding Author: Seyed-Morteza Javadirad (Ph.D), E-mail: javadirad@yahoo.com

Received 26 Sep 2020

Revised 21 Oct 2020

Accepted 10 Mar 2021

Published online 12 Mar 2022

Cite this article as: Mokhtari M, Javadirad SM, Kolehdozan M. [Can use NKX2-1 Gene as Indicator of Differentiation of Papillary Thyroid Carcinoma?] J Gorgan Univ Med Sci. 2022; 23(4): 33-39. [Article in Persian]



تحقیقی

امکان استفاده از ژن NKX2-1 به عنوان نشانگر تمایز یافتگی کارسینوم پاپیلاری تیروئید

محمد مختاری^۱، دکتر سیدمرتضی جوادی راد^{۲*}، دکتر محسن کلاهدوزان^۳

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی مولکولی، گروه زیست شناسی سلولی مولکولی و میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.
^۲ استادیار، گروه زیست شناسی سلولی مولکولی و میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.
^۳ دانشیار، گروه جراحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: نئوپلاسم تیروئید، سرطان رایج سیستم درون ریز است و شناخت رفتارشناسی آن می تواند در نحوه درمان موثر باشد. از طرفی تکنیک FNA، از دقت کافی برخوردار نیست و بنابراین یافتن مارکری زیستی مختص نئوپلاسم تیروئید، بسیار مورد توجه است. این مطالعه به منظور امکان استفاده از ژن NKX2-1 به عنوان نشانگر تمایز یافتگی کارسینوم پاپیلاری تیروئید انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه مورد شاهدهی از مراجعین به بیمارستان های الزهراء و سینا شهر اصفهان برای تیروئیدکتومی، تعداد ۱۷ نمونه بافت تازه کارسینوم پاپیلاری تیروئید (Papillary Thyroid Carcinoma: PTC) و ۲۰ نمونه بافت سالم مجاور تومور طی مدت ۸ ماه جمع آوری شد. استخراج RNA و به دنبال آن ساخت cDNA انجام شد. بیان ژن NKX2-1 به کمک پرایمرهای اختصاصی (تقاطع اگزون و گسترش اینترون) و به روش RT-qPCR انجام شد.

یافته ها: ارزیابی کیفیت و کمیت RNA های استخراج شده، دست نخورده بودن آنها و مناسب بودن برای ساخت cDNA را نشان داد. بررسی منحنی ذوب، نشان دهنده تکثیر اختصاصی ژن NKX2-1 بود. تفاوت بیان mRNA ژن NKX2-1 بین بافت PTC و بافت سالم مجاور ۰/۹۴۷ و از نظر آماری غیرمعنی دار بود.

نتیجه گیری: عدم تفاوت بیان ژن NKX2-1 بین بافت سالم مجاور تومور و بافت تومور PTC نشان می دهد که تومورهای PTC از نوع تمایز یافته هستند.

واژه های کلیدی: کارسینوم پاپیلاری تیروئید، تمایز سلولی، NKX2-1

* نویسنده مسؤول: دکتر سیدمرتضی جوادی راد، پست الکترونیکی javadirad@yahoo.com

نشانی: اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم و فناوری های زیستی، تلفن ۰۳۱۳۷۹۳۲۴۷۷، نامبر ۰۳۱۳۷۹۳۲۴۵۶

وصول ۱۳۹۹/۷/۵ اصلاح نهایی ۱۳۹۹/۷/۳۰ پذیرش ۱۳۹۹/۱۲/۲۰ انتشار ۱۴۰۰/۱۲/۲۱

مقدمه

تومورهای تمایز یافته، خود شامل کارسینوم فولیکولار تیروئید (Follicular Thyroid Carcinoma: FTC)، کارسینوم مدولاری تیروئید (Medullary Thyroid Carcinoma: MTC)، و کارسینوم پاپیلاری تیروئید (Papillary Thyroid Carcinoma: PTC) هستند.^۱ تومورهای PTC شایع ترین نوع بدخیمی غده تیروئید در دنیا و ایران است و فراوانی آن بیش از ۷۰ درصد گزارش می شود.^۲ عوامل متعدد هورمونی، ژنتیکی و همچنین عوامل محیطی (مثل فجایع اتمی و حتی دوز اشعه گرافی دندان) می توانند در القا PTC موثر باشند.^{۳،۴} معمولاً تومورهای PTC به صورت چند کانونی و با رفتار تهاجمی (خصوصاً به غدد لنفاوی اطراف تومور) شناخته می شوند و نسبت به سایر تومورهای تیروئید، جهش ها و تغییرات کروموزومی کمتری در آنها گزارش شده است.^۵ شایع ترین جهش

نئوپلاسم تیروئید با نرخ شیوع ۱۶/۵ در هر صد هزار نفر، شایع ترین سرطان غدد درون ریز بدن است.^۱ الگوی زنگوله ای شیوع نئوپلاسم تیروئید، نشان دهنده قله ابتلا در دهه های چهارم و پنجم زندگی است و این در حالی است که آمار دو دهه اخیر، نرخ افزایشی نئوپلاسم تیروئید را نشان می دهد.^۲ این افزایش نرخ ابتلا، می تواند به دلیل تغییر در سبک زندگی، پیشرفت تکنولوژی های تشخیصی و افزایش نرخ غربالگری نیز باشد.^۳ هر دونوع تومورهای خوش خیم (گواتر) و بدخیم، در نئوپلاسم تیروئید گزارش شده اند و انواع بدخیم به دو دسته تمایز یافته و تمایز نیافته تقسیم می شوند. به نوع تمایز نیافته نئوپلاسم تیروئید، کارسینوم آناپلاستیک تیروئید (Anaplastic Thyroid Carcinoma: ATC) اطلاق شده و

است که می‌تواند کمک شایانی در تشخیص و انتخاب روش درمان باشد. از طرف دیگر، روش RT-qPCR به عنوان استاندارد طلایی تشخیصی (Gold standard) شناخته می‌شود و کاربرد روزافزونی یافته است.^{۱۷} این مطالعه به منظور امکان استفاده از ژن NKX2-1 به عنوان نشانگر تمایز یافتگی کارسینوم تیروئید پایلاری انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه مورد شاهدی از مراجعین به بیمارستان‌های الزهراء و سینا شهر اصفهان برای تیروئیدکتومی، تعداد ۱۷ نمونه بافت تازه کارسینوم پایلاری تیروئید و ۲۰ نمونه بافت سالم مجاور تومور از آذر ۱۳۹۷ لغایت مرداد ۱۳۹۸ جمع‌آوری شدند.

مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه اصفهان (IR.UI.REC.1397.170) قرار گرفت. از بیماران رضایت‌نامه کتبی شرکت آگاهانه در مطالعه اخذ گردید.

معیارهای ورود به مطالعه شامل بیماران کاندید تیروئیدکتومی و اخذ رضایت بیمار برای شرکت در مطالعه بودند. معیارهای عدم ورود به مطالعه شامل وجود خون در بافت، وجود چربی به همراه بافت، عدم توانایی تشخیص بافت شناختی تومور، اندازه کم بافت جداشده، فقدان باند در ژل آگارز و نسبت جذب اسپکتروفوتومتر نامناسب بودند. در ابتدا تعداد بیماران شناسایی شده سه برابر تعداد نمونه‌های وارد شده به مطالعه بودند که به دلیل عدم رضایت شخصی و یا دارا بودن معیارهای عدم ورود به مطالعه، حذف شدند.

حدود ۵۰ تا ۸۰ میلی‌گرم بافت تازه تومور تیروئید و بافت سالم مجاور تومور، درون محلول فیکس کننده RNAlater (شرکت Ambion life science، امریکا) و طبق پروتکل شرکت سازنده غوطه ور شد. پس از انکوباسیون در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، بافت‌ها از محلول RNAlater خارج شدند و فرایند استخراج RNA انجام گردید. در غیر این صورت بافت‌ها برای نگهداری طولانی مدت به فریزر با دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

استخراج RNA و ستر DNA: میزان 5 ± 5 میلی‌گرم از بافت تیمار شده با محلول RNAlater، پس از شست و شو با سرم فیزیولوژی، در

گزارش شده در تومورهای PTC، BRAF V600E، (OMIM:164757) است که در ۹۵ درصد از تمامی تومورهای PTC گزارش می‌شود.^{۱۸} جهش‌های ژن RAS (OMIM: 190070) نیز در تومورهای PTC مشاهده می‌شوند و بازآرایی‌های کروموزومی نظیر RET/NTRK1، RET/NTRK3 و RET/ALK نیز در افرادی که در معرض تابش رادیواکتیو قرار گرفته‌اند؛ گزارش شده است.^{۱۱} از طرفی بیماران با تومورهای پیشرفته PTC، از مجموعه جهش‌های ژن رونوشت بردار تلوگرام انسانی (C228T, C250T) نیز رنج می‌برند. زیرا این جهش‌ها، با متاستاز و نرخ بالای بازگشت بیماری در ارتباط هستند.^{۱۲}

ژن‌های خانواده هومئوباکس انسانی نقش ویژه‌ای در همئوستازی دارند و یکی از مهم‌ترین ژن‌های این خانواده، فاکتور رونویسی شماره ۱ (NKX2-1) با عدد دسترسی (NCBI:7080) است که در تکوین، ریختزایی و عملکرد غده تیروئید موثر است.^{۱۳} ژن NKX2-1 مسؤول کنترل بیان بسیاری از ژن‌های اختصاصی بافت تیروئید نظیر تیروگلوبولین (Tg) و تیروئید پراکسیداز (TPO) است و با ژن‌های مهم دیگری نظیر PAX 8 و FOXE1 از طریق ارتباطاتی نظیر هم‌بیانی، هم‌وقوعی و الحاق در ارتباط نزدیک است. از طرف دیگر ژن NKX2-1 به عنوان یک آنکوژن اختصاصی بافت تیروئید معرفی شده است. زیرا بقای سلول‌های آدنوکارسینوما، به بیان پایدار آن وابسته است.^{۱۴}

تشخیص سریع و دقیق نئوپلاسم تیروئید (به دلیل نرخ شیوع بالا و احتمال بالای بروز متاستاز و مرگ سریع)، بالقوه مهم است. بنابراین استفاده از روش‌های سریع و دقیق می‌تواند از وقوع رخدادهای ناگوار بعدی جلوگیری کند. با این وجود، نمونه‌گیری ظریف با سوزن (FNA) همراه با انواع روش‌های تشخیصی رایجی چون ایمنوهِستوشیمی (IHC) یا وسترن بلاتینگ (WB)، وقت‌گیر و پرهزینه بوده و نرخ خطای بالایی دارند و لذا یافتن یک روش تشخیصی دقیق و سریع، ضروری به نظر می‌رسد.^{۱۵،۱۶} روش PCR کمی مبتنی بر رونوشت برداری معکوس (RT-qPCR) یکی از دقیق‌ترین، ارزان‌ترین و ساده‌ترین روش‌های تشخیص بیماری‌ها

جدول ۱: امتیازات پرایمرها و محصولات تکثیر شونده

نام ژن	Refseq IDs	امتیازات نرم افزار Beacon			امتیازات نرم افزار Oligo 7		
		پیشرو	پیرو	محصول	پیشرو	پیرو	محصول
NKX2-1	NM_003317.4	۶۶/۶	۵۵/۹	۶۶	۷۴/۱	۹۴/۸	
GAPDH	NM_005228.5	۷۳/۶	۸۱	۸۲/۵	۹۱/۳	۸۱/۴	

جدول ۲: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده

نام ژن	توالی	طول پرایمر	دمای ذوب پرایمر	اندازه محصول
NKX2-1 (NG_013365.1)	F: 5'- CAGGACACCATGAGGAACAGCG -3' R: 5'- GCCATGTTCTTGCTCACGTCCC G-3'	24 bp	۶۰	151 bp
GAPDH (NG_007073.2)	F: 5'- CCACTCCTCCACCTTTGACG -3' R: 5'- CCACCACCCTGTTGCTGTAG-3'	20 bp	۵۸	107 bp

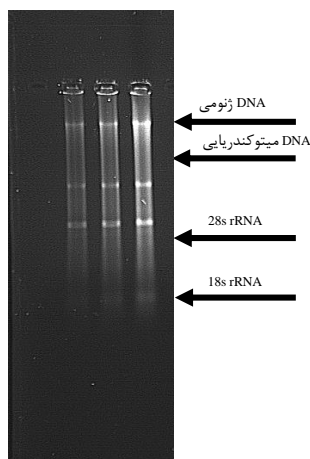
همراه خوانش چاهک‌ها در انتهای هر سیکل بود. تمامی واکنش‌ها به صورت تکرار سه تایی و به همراه نمونه کنترل منفی (فاقد الگوی cDNA) انجام شدند.

آنالیز Melting Curve: اختصاصیت واکنش RT-qPCR با استفاده از رسم منحنی ذوب، در انتهای سیکل انجام شد. شروع رسم منحنی ذوب در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد، افزایش تدریجی یک درجه سانتی‌گراد و خاتمه رسم منحنی ذوب در ۹۵ سانتی‌گراد در نظر گرفته شدند. تغییرات فلوروسنت در کانال سبز رنگ و به ازای هر یک درجه افزایش از سطح پایه، قرائت و ثبت شدند.

محاسبات آماری: از آزمون t برای مقایسه میانگین بیان ژن NKX2-1 بین نمونه‌های تومور PTC و نمونه بافت سالم مجاور تومور استفاده شد. بررسی بیان نسبی ژن NKX2-1 بین نمونه‌های تومور PTC و نمونه بافت سالم مجاور تومور، توسط روش لیواک (Livak) انجام شد. نتایج مقایسه میانگین کل داده‌های بین دو گروه PTC و کنترل به کمک نرم‌افزار REST 2009 انجام شد و سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بررسی کیفیت و کمیت RNA های استخراج شده: تمامی RNA های استخراج شده از بافت‌های توموری و سالم، با استفاده از ژل الکتروفورز آگارز ۲ درصد بررسی شدند. مشاهده باندهای RNA ریوزومی، دست نخورده ماندن RNA طی استخراج را تایید کرد (شکل یک). عدد نسبت جذب ۲۶۰ نانومتر به ۲۸۰ نانومتر و همچنین نسبت جذب ۲۶۰ نانومتر به ۲۳۰ نانومتر، برای تمامی RNA های دست نخورده، در بازه ۱/۸ تا ۲/۲ بود. هر کدام از نمونه‌ها که فاقد باندهای RNA ریوزومی بر روی ژل بودند؛ یا نسبت‌های جذب خارج از بازه مورد قبول داشتند؛ از ادامه پژوهش حذف شدند. در نهایت تعداد ۱۷ نمونه بافت تازه توموری PTC و ۲۰ بافت سالم مجاور تومور در مطالعه وارد شدند.



شکل ۱: باند RNA ریوزومی (rRNA): تایید دست نخورده ماندن RNA های استخراج شده توسط شدت دوپرابری باند ۲۸S نسبت به باند ۱۸S

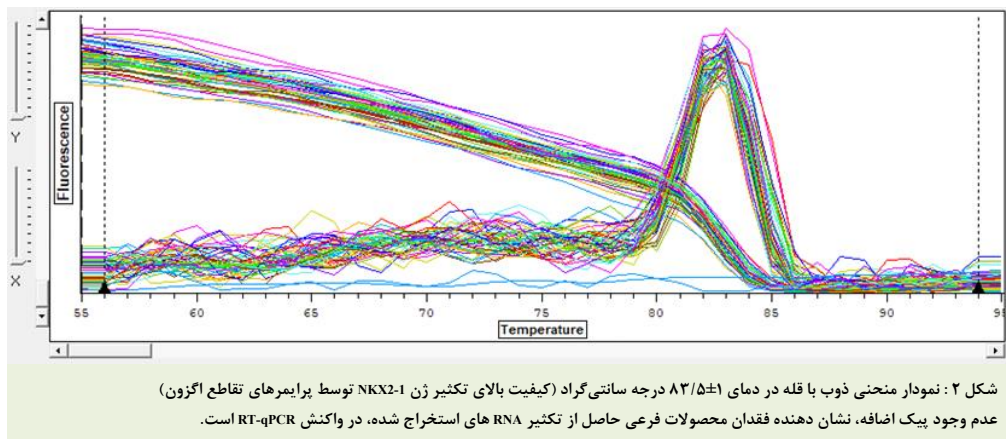
هاون چینی و توسط نیتروژن مایع خرد شد. فرایند استخراج RNA به کمک کیت استخراج RNA شرکت بایویسیک کانادا (Bio Basic- lot:BS410A-N116DR0J) و طبق دستورالعمل این شرکت صورت گرفت. کیفیت تمامی RNA های استخراج شده، با استفاده از ژل آگارز ۲ درصد سنجیده شد. همچنین اسپکتروفوتومتری (نانودراپ مدل OneC-آمریکا) بر روی RNA های استخراج شده، انجام شد تا خلوص و عدم وجود آلودگی پروتئین مشخص گردد.

به منظور حذف باقی مانده‌های DNA ژنومی، تیمار با آنزیم DNase I شرکت Thermofisher (آلمان، Lot: 00645766) و طبق دستورالعمل این شرکت انجام شد. به این منظور، یک میکروگرم از RNA استخراج شده، تحت تیمار آنزیم DNase I قرار گرفت. سپس ساخت cDNA با استفاده از کیت شرکت Thermofisher (USA, Lot: 00645766) و مطابق با پروتکل انجام شد.

طراحی پرایمر و انتخاب ژن کالیبره کننده: به منظور طراحی پرایمر، از نرم‌افزار Beacon Designer 8 (Premier Biosoft, USA) استفاده شد و الگوی طراحی تقاطع اگزون (Exon-junction) و یا گسترش اینترون (Intron-spanning) به کار گرفته شد. پرایمرهایی با بالاترین امتیاز برای بررسی‌های بعدی انتخاب شدند. نرم‌افزار Oligo7 (Molecular Biology Insights, USA)، برای بررسی بیشتر پرایمرها و به منظور درک امکان تشکیل دایمر پرایمر و اتصال و تشکیل لوپ اضافه، استفاده شد. پرایمرهای فاقد ساختارهای ثانویه و با بالاترین امتیاز، انتخاب شدند. امتیازهای کسب شده پرایمرهای مورد استفاده در **جدول یک** و مشخصات پرایمرها در **جدول ۲** خلاصه شده است. ژن GAPDH به عنوان ژن کالیبره کننده در واکنش RT-qPCR انتخاب شد تا استانداردسازی داده‌ها به کمک آن انجام شود.^{۲۰،۲۱}

به منظور تعیین دقیق دمای ذوب پرایمرها، از PCR گرادیان دمایی و کیت شرکت سینا کلون (SinaClone PCR Kit, Tehran, Iran) استفاده شد. محدوده دمایی بین ۵۵ تا ۶۵ درجه سانتی‌گراد و براساس Tm پرایمرها در نظر گرفته شد. پس از اتمام فرایند PCR، محصولات بر روی ژل آگارز بررسی شدند و دمای بهینه اتصال پرایمرها با توجه به شدت باند، تعیین گردید.

واکنش RT-qPCR: واکنش RT-qPCR با استفاده از کیت شرکت امپلیکان (SYBR Green RealQ Plus 2x Master Mix, Denmark, lot: A323402) و توسط دستگاه Bio-Rad chromo4 (Bio-Rad-USA) و در حجم نهایی ۱۲ میکرولیتر انجام شد. برنامه مورد استفاده شامل، دناتوراسیون اولیه و فعال‌سازی آنزیم در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۵ دقیقه، ۴۰ سیکل شامل ۳۰ ثانیه دمای ۹۵ سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه دمای اتصال پرایمر و ۳۰ ثانیه دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به



mRNA، ارتباط بسیار نزدیکی بین بیان ژن‌های اختصاصی تیروئید (Tg و Tpo) و بیان ژن NKX2-1 را نشان داده‌اند.^{۲۸} در نتیجه شاید ژن NKX2-1 توانایی فعال‌سازی رونویسی از پروموتورهای دو ژن Tg و TPO را داشته باشد. با توجه به عملکرد و وظایف ژن NKX2-1، انتظار می‌رود بیان این ژن در سرطان‌های مرتبط، از جمله نئوپلاسم تیروئید دستخوش تغییر شود.

مطالعه بیان ژن NKX2-1 به کمک روش IHC و WB نشان داده که بیان این ژن در تمامی موارد PTC (و نه ATC) مشاهده می‌شود.^{۲۹،۲۸،۲۹} همچنین بیان ژن NKX2-1 به روش PCR کیفی مبتنی بر رونوشت برداری معکوس RT-PCR در بافت نرمال، تومور تمایز یافته و تومور تمایز نیافته بررسی و مشخص شده که این ژن تنها در نمونه‌های سالم و تمایز یافته PTC بیان می‌شود و جزایر CpG پروموتور ژن NKX2-1 در نمونه‌های PTC و بافت سالم، غیرمتیله است؛ اما در نمونه‌های تمایز نیافته متیله می‌شود.^{۳۰} در هیچ کدام از این مطالعات از روش دقیق و سریع RT-qPCR استفاده نشده بود و در همین راستا، مطالعه حاضر به بررسی بیان ژن NKX2-1 در نمونه‌های PTC و مقایسه آن با نمونه‌های سالم پرداخت و نمونه‌های تمایز نیافته از مطالعه حذف شدند. بررسی بیان ژن NKX2-1 در سطح mRNA و به کمک روش RT-qPCR نشان داد که بیان این ژن بین تومورهای PTC و بافت سالم مجاور، تفاوت معنی‌داری ندارد. عدم تفاوت بیان ژن مذکور بین تومور PTC و بافت سالم مجاور، این مفهوم را القا می‌کند که این ژن نقش یکسانی در این دو نوع سلول بر عهده دارد. به عبارت دیگر، ژن NKX2-1 نه تنها برای بقای سلول توموری^{۱۴} لازم است؛ بلکه در حفظ تمایز یافتگی تومور نیز نقش ایفا می‌کند که تاییدکننده این فرضیه است که ژن NKX2-1 می‌تواند بیومارکر تمایز یافتگی تومورهای PTC باشد.

نتیجه‌گیری

عدم تفاوت بیان ژن NKX2-1 بین بافت سالم مجاور تومور و بافت تومور PTC نشان دهنده تمایز یافتگی تومورهای PTC است.

بررسی و منحنی ذوب محصول RT-qPCR: مطابق با شکل ۲، همه نمونه‌ها یک قله منفرد در دمای برابر با $83/5 \pm 1$ درجه سانتی‌گراد، مطابق محدوده دمای پیش‌بینی شده به روش بیوانفورماتیک را نشان دادند که صحت انجام واکنش RT-qPCR توسط پرایمرهای تقاطع آگزون طراحی شده را نشان داد. از طرف دیگر، فقدان هر گونه قله غیراختصاصی به معنی فقدان دایمر پرایمر و محصولات غیراختصاصی بود (شکل ۲).

مقایسه داده‌های حاصل از RT-qPCR بهینه: با توجه به نتایج مقایسه میانگین کل داده‌های بین دو گروه PTC و کنترل، بیان ژن NKX2-1 بین بافت PTC و بافت سالم مجاور تومور، تفاوت غیرمعنی‌دار آماری نشان داد (جدول ۳).

جدول ۳: مقایسه بیان ژن NKX2-1 بین نمونه‌های بافت تازه کارسینوم پایپلاری تیروئید و نمونه‌های بافت سالم مجاور تومور

نام ژن	بیان	p-value
GAPDH	۱	-
NKX2-1	۰/۹۴۷	۰/۸۸۵

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه، بین بافت سالم مجاور تومور و بافت تومور PTC از نظر بیان ژن NKX2-1 تفاوتی وجود نداشت که نشان‌دهنده تمایز یافته بودن تومورهای PTC بود.

نئوپلاسم تیروئید، ۹۰ درصد از سرطان‌های غدد درون ریز بدن را تشکیل می‌دهند و رفتارشناسی این نئوپلاسم، می‌تواند پیش از تصمیم‌گیری در مورد نحوه درمان، تاثیرگذار باشد. بیان mRNA و پروتئین NKX2-1، در قسمت حلق و در محل تکوین سلول‌های پیش‌ساز اپیتلیال غده تیروئید (طی تکوین) مشاهده می‌شود و بیان آن در دوران بلوغ و بزرگسالی نیز ادامه می‌یابد.^{۲۱ و ۲۲} بررسی ریخت‌زایی و عملکرد صحیح ترشح هورمون تیروئید در مطالعات متعدد نشان داد که تولید فولیکول، بقای پیش‌سازهای سلول‌های فولیکول و بیان ژن‌های مختص به تیروئید در افراد بالغ ارتباط تنگاتنگی با بیان ژن NKX2-1 دارد.^{۲۷-۲۳} چنانچه تکنیک‌های لکه‌گذاری پروتئین و

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه (شماره ۱۱۰۹۷۹۱۹۷ الف) آقای محمد مختاری برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست‌شناسی سلولی مولکولی از دانشگاه اصفهان بود. هزینه‌های اجرای این پژوهش توسط معاونت محترم پژوهش و فن آوری دانشگاه اصفهان تامین شده است و در این خصوص صمیمانه تشکر

می‌نمایم. نمونه‌های مورد استفاده در این پژوهش از بیمارستان‌های الزهرا و سینای شهر اصفهان و با همکاری صمیمانه کارکنان اتاق عمل به‌دست آمدند. نویسندگان از بیماران به خاطر همکاری در این مطالعه، کمال تشکر را دارند. نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچگونه تضاد منافی وجود ندارد.

References

- Safavi A, Azizi F, Jafari R, Chaibakhsh S, Safavi AA. Thyroid Cancer Epidemiology in Iran: a Time Trend Study. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2016; 17(1): 407-12. DOI: 10.7314/apjcp.2016.17.1.407
- Shah JP. Thyroid carcinoma: epidemiology, histology, and diagnosis. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2015 Apr; 13(4 Suppl 4): 3-6.
- Hughes DT, Haymart MR, Miller BS, Gauger PG, Doherty GM. The most commonly occurring papillary thyroid cancer in the United States is now a microcarcinoma in a patient older than 45 years. *Thyroid*. 2011 Mar; 21(3): 231-36. DOI: 10.1089/thy.2010.0137
- Reiners C, Wegscheider K, Schicha H, Theissen P, Vaupel R, Wrbitzky R, et al. Prevalence of thyroid disorders in the working population of Germany: ultrasonography screening in 96,278 unselected employees. *Thyroid*. 2004 Nov; 14(11): 926-32. DOI: 10.1089/thy.2004.14.926
- DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Endocrine Organs. International Agency for Research on Cancer. 2004.
- Lloyd RV, Buehler D, Khanafshar E. Papillary thyroid carcinoma variants. *Head Neck Pathol*. 2011 Mar; 5(1): 51-56. DOI: 10.1007/s12105-010-0236-9
- Memon A, Rogers I, Paudyal P, Sundin J. Dental X-Rays and the Risk of Thyroid Cancer and Meningioma: A Systematic Review and Meta-Analysis of Current Epidemiological Evidence. *Thyroid*. 2019 Nov; 29(11): 1572-93. DOI: 10.1089/thy.2019.0105
- Memon A, Godward S, Williams D, Siddique I, Al-Saleh K. Dental x-rays and the risk of thyroid cancer: a case-control study. *Acta Oncol*. 2010 May; 49(4): 447-53. DOI: 10.3109/02841861003705778
- diMarco A, Palazzo F. Goitre and thyroid cancer. *Medicine*. 2017; 45(8): 517-22. DOI: 10.1016/j.mpmed.2017.05.004
- Kim SJ, Lee KE, Myong JP, Park JH, Jeon YK, Min HS, et al. BRAF V600E mutation is associated with tumor aggressiveness in papillary thyroid cancer. *World J Surg*. 2012 Feb; 36(2): 310-17. DOI: 10.1007/s00268-011-1383-1
- Leeman-Neill RJ, Brenner AV, Little MP, Bogdanova TI, Hatch M, Zurnadzy LY, et al. RET/PTC and PAX8/PPAR γ chromosomal rearrangements in post-Chernobyl thyroid cancer and their association with iodine-131 radiation dose and other characteristics. *Cancer*. 2013 May; 119(10): 1792-99. DOI: 10.1002/cncr.27893
- Szymańska K, Bosman FT. Thyroid Cancer. Pathology and Genetics, Diagnosis and Treatment. In: Boffetta P, Hainaut P. *Encyclopedia of Cancer*. 3rd ed. Oxford: Academic Press. 2018; pp: 471-82.
- Zhang P, Zuo H, Nakamura Y, Nakamura M, Wakasa T, Kakudo K. Immunohistochemical analysis of thyroid-specific transcription factors in thyroid tumors. *Pathol Int*. 2006 May; 56(5): 240-45. DOI: 10.1111/j.1440-1827.2006.01959.x
- Lambert M, Jambon S, Depauw S, David-Cordonnier MH. Targeting Transcription Factors for Cancer Treatment. *Molecules*. 2018 Jun; 23(6): 1479. DOI: 10.3390/molecules23061479
- Hall TL, Layfield LJ, Philippe A, Rosenthal DL. Sources of diagnostic error in fine needle aspiration of the thyroid. *Cancer*. 1989 Feb; 63(4): 718-25. DOI: 10.1002/1097-0142(19890215)63:4<718::aid-cncr2820630420>3.0.co;2-n
- Nikiforova MN, Nikiforov YE. Molecular diagnostics and predictors in thyroid cancer. *Thyroid*. 2009 Dec; 19(12): 1351-61. DOI: 10.1089/thy.2009.0240
- Adamski MG, Gumann P, Baird AE. A method for quantitative analysis of standard and high-throughput qPCR expression data based on input sample quantity. *PLoS One*. 2014 Aug; 9(8): e103917. DOI: 10.1371/journal.pone.0103917
- Randazzo W, Vasquez-García A, Aznar R, Sánchez G. Viability RT-qPCR to Distinguish Between HEV and HAV With Intact and Altered Capsids. *Front Microbiol*. 2018 Aug; 9: 1973. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01973
- Prasad NB, Kowalski J, Tsai HL, Talbot K, Somervell K, Kouniavsky G, et al. Three-gene molecular diagnostic model for thyroid cancer. *Thyroid*. 2012 Mar; 22(3): 275-84. DOI: 10.1089/thy.2011.0169
- Onda M, Emi M, Yoshida A, Miyamoto S, Akaishi J, Asaka S, et al. Comprehensive gene expression profiling of anaplastic thyroid cancers with cDNA microarray of 25 344 genes. *Endocr Relat Cancer*. 2004 Dec; 11(4): 843-54. DOI: 10.1677/erc.1.00818
- Lazzaro D, Price M, de Felice M, Di Lauro R. The transcription factor TTF-1 is expressed at the onset of thyroid and lung morphogenesis and in restricted regions of the foetal brain. *Development*. 1991 Dec; 113(4): 1093-104.
- De Felice M, Di Lauro R. Thyroid development and its disorders: genetics and molecular mechanisms. *Endocr Rev*. 2004 Oct; 25(5): 722-46. DOI: 10.1210/er.2003-0028
- Civitareale D, Lonigro R, Sinclair AJ, Di Lauro R. A thyroid-specific nuclear protein essential for tissue-specific expression of the thyroglobulin promoter. *EMBO J*. 1989 Sep; 8(9): 2537-42.
- Francis-Lang H, Price M, Polycarpou-Schwarz M, Di Lauro R. Cell-type-specific expression of the rat thyroperoxidase promoter indicates common mechanisms for thyroid-specific gene expression. *Mol Cell Biol*. 1992 Feb; 12(2): 576-88. DOI: 10.1128/mcb.12.2.576-588.1992
- Civitareale D, Castelli MP, Falasca P, Saiardi A. Thyroid transcription factor 1 activates the promoter of the thyrotropin receptor gene. *Mol Endocrinol*. 1993 Dec; 7(12): 1589-95. DOI: 10.1210/mend.7.12.8145764
- Kimura S. Thyroid-specific enhancer-binding protein: Role in thyroid function and organogenesis. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 1996; 7(7): 247-52. DOI: 10.1016/S1043-2760(96)00115-4
- Alotaibi H, Tuzlakoglu-Öztürk M, Tazebay UH. The Thyroid Na⁺/I⁻ Symporter: Molecular Characterization and Genomic

- Regulation. *Mol Imaging Radionucl Ther.* 2017 Feb; 26(Suppl 1): 92-101. DOI: 10.4274/2017.26.suppl.11
28. Fabbro D, Di Loreto C, Beltrami CA, Belfiore A, Di Lauro R, Damante G. Expression of thyroid-specific transcription factors TTF-1 and PAX-8 in human thyroid neoplasms. *Cancer Res.* 1994 Sep; 54(17): 4744-49.
29. Sethi K, Sarkar S, Das S, Mohanty B, Mandal M. Biomarkers for the diagnosis of thyroid cancer. *J Exp Ther Oncol.* 2010; 8(4): 341-52.
30. Kondo T, Nakazawa T, Ma D, Niu D, Mochizuki K, Kawasaki T, et al. Epigenetic silencing of TTF-1/NKX2-1 through DNA hypermethylation and histone H3 modulation in thyroid carcinomas. *Lab Invest.* 2009 Jul; 89(7): 791-99. DOI: 10.1038/labinvest.2009.50