

بررسی نقش بیومارکری ژن‌ها در تمیز دادن نمونه‌های سرطانی از بافت نرمال در سرطان پروستات

شهین رمازی^۱، علی فصیحی^۲، مرضیه ابوالحسنی^۳، الهام ایزی^۴

تاریخ دریافت ۱۳۹۵/۰۱/۲۸ تاریخ پذیرش ۱۳۹۵/۰۴/۰۴

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: سرطان پروستات دومین سرطان شایع در مردان در سراسر جهان است. شناسایی بیومارکرهای حساس و اختصاصی در بافت و سرم، برای کاهش مرگ‌ومیر سرطان پروستات از اهمیت زیادی برخوردار است. از آنجایی که تشخیص زودهنگام سرطان نقش مهمی در درمان آن دارد، در این بررسی سعی شده است ژن‌هایی را که می‌توانند به‌صورت بالقوه در غربالگری زودهنگام سرطان پروستات مؤثر باشند شناسایی نمایند.

مواد و روش کار: در این بررسی داده‌های بیان ژن‌ها در نمونه‌های سرطانی و نمونه‌های نرمال پروستات از پایگاه داده NCBI دریافت و با بررسی سطح بیان ژن‌ها در این نمونه‌ها و رسم منحنی ROC ژن‌های دارای ارزش غربالگری شناسایی گردیدند و با استفاده از رگرسیون لجستیک مدل مناسب جهت غربالگری نمونه‌های سرطانی از نمونه‌های نرمال طراحی گردید.

یافته‌ها: با استفاده از رگرسیون لجستیک دو مدل بر اساس افزایش و یا کاهش بیان ژن‌ها طراحی گردید؛ که برای مدل اول سطح زیر منحنی و میزان حساسیت و اختصاصیت به ترتیب برابر ۰.۹۶۸، ۰.۹۱۱ و ۰.۹۱۴ و برای مدل دوم برابر ۰.۹۹۱، ۰.۹۵۱ و ۰.۹۵۶ می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به میزان بالای حساسیت و اختصاصیت مدل‌های طراحی شده، ژن‌های بررسی شده دارای توان بالقوه جهت غربالگری سرطان پروستات در مراحل اولیه و مراحل متاستازی سرطان می‌باشند.

کلیدواژه‌ها: سرطان پروستات، بیومارکر، بیان ژن

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و هفتم، شماره ششم، ص ۵۳۲-۵۲۳، ششم ۱۳۹۵

آدرس مکاتبه: دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران، تلفن: ۰۹۱۳۶۹۶۸۸۴۹

Email: aliac88@gmail.com

مقدمه

پارامترهای بالینی در حال حاضر در توانایی آن‌ها برای تمایز قائل شدن میان اشکال تهاجمی و فرم‌های خاموش از این بیماری، در تعداد قابل توجهی از مردان است (۶، ۷). درک مکانیسم مولکولی مربوط به ایجاد و پیشرفت سرطان پروستات گامی مهم در جهت شناسایی بیومارکرهای جدید با ویژگی‌های جدید و اختصاصیت بالا برای اهداف درمانی تومورهای متاستازی و تومورهای جدید می‌باشد. جستجوهای سیستماتیک انجام شده در زمینه بررسی سطح بیان ژن در سرطان‌های انسانی توسط هیبریداسیون میکروآرای نشان می‌دهد که این یک رویکرد گسترده و کارآمد در جهت شناسایی بیومارکرهای کاندید و اهداف دارویی است (۸، ۹). طبق تعریف

سرطان پروستات دومین سرطان شایع و ششمین عامل منجر مرگ ناشی از سرطان در مردان است و میزان وقوع این سرطان در حال افزایش می‌باشد (۱). علاوه بر ژنتیک، عوامل اجتماعی و محیطی به‌خصوص رژیم غذایی و شیوه زندگی بر بروز این سرطان تأثیرگذارند (۲-۴). باوجود جراحی و پرتودرمانی و امکان تشخیص زودهنگام از طریق آزمایش آنتی‌ژن اختصاصی پروستات در سرم (PSA)، بیش از ۳۰ درصد از بیماران تحت درمان از عود مجدد سرطان پروستات رنج می‌برند (۵). عوامل متعددی ممکن است طول درمان را تحت تأثیر قرار دهد؛ باین‌وجود، مهم‌ترین محدودیت

^۱ دانشجوی دکتری ژنتیک، گروه ژنتیک، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

^۲ دکتری ژنتیک، گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران (نویسنده مسئول)

^۳ کارشناسی ارشد ژنتیک، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

^۴ کارشناسی ارشد، سلولی و تکوینی گیاهی، مرکز تحقیقات طب سنتی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

سرطانی ابتدایی و متاستازی باشد. بعد از انتخاب نمونه‌های مورد فایل‌های داده مربوطه با فرمت CEL از سایت دانلود گردید و توسط نرم‌افزار R و پکیج affy داده‌های هر نمونه قرائت گردید. سپس اعتبار داده‌ها با بررسی سطح نویز پس‌زمینه و کامل بودن خوانش تمام ژن‌ها مورد بررسی قرار گرفت و نمونه‌های مخدوش از بررسی حذف شدند. برای نرمال کردن داده‌ها از روش mas5 استفاده گردید و سپس با استفاده از روش mas5calls ژن‌های که فاقد بیان بوده فیلتر گردیدند. سپس برای نرمال شدن داده‌ها از نظر آماری آن‌ها به داده‌های لگاریتمی بر پایه ۲ تبدیل شدند؛ و سپس با تفریق داده‌های هر نمونه از میانگین داده‌های نمونه‌های غیر توموری فولد چنج هر نمونه برای تمام ژن‌ها محاسبه گردید و ژن‌هایی را که در بافت توموری نسبت به بافت نرمال دارای اختلاف بیانی دو برابر کم‌تر یا بیشتر بودند جهت بررسی‌های بعدی انتخاب گردیدند. جهت محاسبه حساسیت و اختصاصیت هر ژن از نرم‌افزار SPSS استفاده گردید و مدل‌سازی ژن‌ها از طرق رگرسیون لجستیک انجام گرفت. برای تست برازندگی مدل‌ها از آزمون Hosmer and Lemeshow و برای تعیین درصدی از متغیرها که توسط مدل‌ها تبیین می‌شوند از Nagelkerke R Square استفاده گردید. نمونه‌های انتخاب‌شده در این بررسی از سری GSE6919 می‌باشد که شامل ۵۰۴ نمونه از ۱۷۱ فرد مبتلا به سرطان پروستات می‌باشد و بیان ژن‌ها در نمونه‌ها به‌وسیله سه پلتفرم مختلف GPL92، GPL93 و GPL8300 مورد بررسی قرار گرفته است تا امکان خطا در نمونه‌ها کاهش یابد. نمونه‌های مورد بررسی شامل ۸۱ نمونه نرمال، ۶۵ نمونه سرطانی اولیه و ۲۵ نمونه سرطانی متاستازی می‌باشد.

یافته‌ها

در میان ژن‌های مورد بررسی قرار گرفته ۴۵ ژن در نمونه‌های سرطانی افزایش بیان بالای ۲ برابر را نشان دادند و ۲۳۰ ژن در نمونه‌های سرطانی کاهش بیان دو برابری را نشان دادند که از بین این ژن‌هایی که دارای بیشترین سطح زیر منحنی ROC بودند در جدول ۱ نشان داده شده‌اند. از بین ژن‌هایی که افزایش بیان را نشان می‌دهند ژن‌های SIM2، HOXC6، NUP210، HPN به ترتیب دارای بیشترین سطح زیر منحنی و بالای ۰.۸۰ می‌باشند و در ژن‌هایی که کاهش بیان یافته‌اند ژن‌های MYH11، TPM2، ILK، MEIS2 و PCP4 دارای بیشترین سطح زیر منحنی می‌باشند.

موسسه ملی سرطان یک بیومارکر "مولکول‌های بیولوژیکی یافت شده در خون، سایر مایعات بدن یا بافت است که نشانه‌ای از یک فرآیندهای طبیعی بیولوژیکی یا غیرطبیعی و یا نشان‌دهنده‌ی یک شرایط خاص یا بیماری در بدن است". مقادیر یک بیومارکر می‌تواند در ایجاد و توسعه روش‌های درمانی جدید مؤثر باشد. اغلب بیومارکرهای توموری هم در سلول نرمال و هم در سلول سالم وجود دارند ولی مقدار آن‌ها در سلول توموری افزایش یافته است (۱۱)، (۱۰). استفاده از بیومارکرها در غربالگری، پیش‌بینی و تشخیص بیماری سرطانی پروستات انقلابی را در تشخیص و مدیریت این بیماری ایجاد نموده است. رویکرد مطالعات بالینی موجود تا حد زیادی به سمت استفاده از آنتی‌ژن اختصاصی پروستات (PSA) می‌باشد اما عدم اختصاصیت بالای PSA برای سرطان پروستات منجر به نمونه‌گیری‌های غیرضروری و تشخیص اشتباه سایر سرطان‌های خاموش شده می‌گردد (۱۲). پیشرفت‌های فناوری در بخش‌های ژنومی مانند میکروآرای، پروفایلینگ ترانسکرپتوم و تعیین توالی جزئیات دقیقی از بیولوژی سرطان را آشکار کردند (۱۳). در نتیجه دنیای تحقیقات بیومارکرها به سمت استفاده از روش‌های "omics" پیش رفت (۱۴، ۱۰). از آنجایی که غربالگری افراد مبتلا به سرطان پروستات در مراحل اولیه از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد و روش‌های درمانی مؤثری در درمان سرطان‌های پیشرفته متاستازی وجود ندارد، تعیین افراد با ریسک بالای ابتلا و تشخیص سریع این سرطان وقتی که هنوز محدود به بافت پروستات می‌باشد. اهمیت بالایی دارد و می‌تواند شانس موفقیت اقدامات درمانی را ارتقا بخشد. (۱۵) بنابراین ما در این مقاله به بررسی ژن‌هایی که به‌عنوان بیومارکرهای ژنتیکی می‌توانند به‌صورت بالقوه در غربالگری زود هنگام سرطان پروستات مؤثر باشند. خواهیم پرداخت.

مواد و روش کار

در این مطالعه تحلیلی موردی-شاهدی برای یافتن داده‌های بیان ژن در نمونه‌های سرطانی پروستات و نمونه بافت عادی از پایگاه داده NCBI به آدرس <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo> استفاده گردید. در میان جستجوهای انجام‌گرفته داده‌هایی انتخاب گردید که دارای جامعه آماری مناسب بوده و نمونه‌ها دارای power مناسب باشند و همچنین داده‌ها شامل نمونه‌های بافت عادی و

جدول (۱): سطح زیر منحنی زن‌ها بر اساس تفکیک نمونه‌های سرطانی از نمونه‌های سالم و تفکیک نمونه‌های سرطانی ابتدایی از

نمونه‌های سرطانی متناسازی

زن	سطح زیر منحنی متناسازی به ابتدایی	سطح زیر منحنی تومری به سالم	زن	سطح زیر منحنی متناسازی به ابتدایی	سطح زیر منحنی تومری به سالم	زن	سطح زیر منحنی متناسازی به ابتدایی	سطح زیر منحنی تومری به سالم	زن	سطح زیر منحنی متناسازی به ابتدایی	سطح زیر منحنی تومری به سالم
TPM2	۰/۹۱۸	۰/۸۴۸	CNN1	۰/۹۴	۰/۸۱۶	PARM1	۰/۸۱۵	۰/۸۰۲	ALDH2	۰/۷۳۵	۰/۷۸۹
SIM2	۰/۶۳۴	۰/۸۳۸	AOC3	۰/۸۴۹	۰/۸۱۶	HPN	۰/۵۵۸	۰/۸۰۱	FAM155B	۰/۸۶۸	۰/۷۸۹
MYH11	۰/۹۳۹	۰/۸۳۸	RARRES2	۰/۸۶۶	۰/۸۱۵	CRISP3	۰/۶۶۵	۰/۸۰۰	PKIG	۰/۸۸۷	۰/۷۸۸
ILK	۰/۹۷۷	۰/۸۳۳	DMD	۰/۸۳۸	۰/۸۱۴	CLU	۰/۷۴۳	۰/۷۹۹	SH3GLB1	۰/۷۰۴	۰/۷۸۸
HOXC6	۰/۹۱	۰/۸۳۳	LDHB	۰/۷۱	۰/۸۱۴	WWTR1	۰/۸۱۱	۰/۷۹۹	PYCR1	۰/۶۹۷	۰/۷۸۷
MEIS2	۰/۹۳۵	۰/۸۳۲	ACTG2	۰/۹۴۴	۰/۸۱۴	AOX1	۰/۷۴۳	۰/۷۹۹	TAGLN	۰/۹۲۹	۰/۷۸۷
PCP4	۰/۹۷	۰/۸۳۲	LMOD1	۰/۹۳۸	۰/۸۱۴	CAV1	۰/۸۲۸	۰/۷۹۹	NPTN	۰/۷۹۴	۰/۷۸۷
SYNM	۰/۹۲۶	۰/۸۳۲	MYLK	۰/۹۰۵	۰/۸۱۳	LGALS3	۰/۷۹۴	۰/۷۹۹	PRNP	۰/۷۸۵	۰/۷۸۶
DPYSL3	۰/۸۱۲	۰/۸۳۱	C9orf3	۰/۹۳	۰/۸۱۳	ITGA5	۰/۸۰۸	۰/۷۹۸	PDLIM4	۰/۹۱۷	۰/۷۸۶
LGALS1	۰/۸۸۳	۰/۸۳۱	CALD1	۰/۸۷۸	۰/۸۱۲	ZMYND8	۰/۹۲۹	۰/۷۹۸	BIN1	۰/۸۷۴	۰/۷۸۵
GJA1	۰/۷۵۲	۰/۸۳۱	GSTM4	۰/۹۱۶	۰/۸۱۲	GSN	۰/۸۷۲	۰/۷۹۸	SH3BGR	۰/۷۷۳	۰/۷۸۴
NACC2	۰/۸۴۱	۰/۸۳۰	PGM1	۰/۸۴۲	۰/۸۱۰	ACTA2	۰/۹۱۴	۰/۷۹۸	PPP1R12B	۰/۹۱۸	۰/۷۸۳
PTRF	۰/۸۹۱	۰/۸۲۹	FERMT2	۰/۷۵۸	۰/۸۱۰	LHFPL2	۰/۶۹۲	۰/۷۹۷	IGFBP6	۰/۹۲۸	۰/۷۸۳
EMP3	۰/۷۷۷	۰/۸۲۹	ZCCHC24	۰/۹۱۱	۰/۸۱۰	SPARCL1	۰/۸۷۳	۰/۷۹۷	PDLIM7	۰/۹۱۷	۰/۷۸۳
GSTP1	۰/۸۸۲	۰/۸۲۸	RRAS	۰/۸۷	۰/۸۰۹	C16orf45	۰/۸۱۴	۰/۷۹۵	AXL	۰/۹	۰/۷۸۳
ATP2A2	۰/۷۷۶	۰/۸۲۶	MXRA7	۰/۷۸۱	۰/۸۰۹	PRUNE2	۰/۸۹۹	۰/۷۹۵	HSPD1	۰/۹۷۲	۰/۷۸۳
TPM1	۰/۹۱۲	۰/۸۲۵	MYOF	۰/۸۸۱	۰/۸۰۹	TNC	۰/۷۰۸	۰/۷۹۵	SLC12A4	۰/۸۹۳	۰/۷۸۲
CSRP1	۰/۹۵۷	۰/۸۲۲	MEIS1	۰/۹۲۵	۰/۸۰۹	GAS1	۰/۷۷۳	۰/۷۹۳	MAOB	۰/۹۴۱	۰/۷۸۲
PALLD	۰/۸۰۲	۰/۸۲۱	ACTA1	۰/۹۴۲	۰/۸۰۸	EFS	۰/۹۲۱	۰/۷۹۱	FASN	۰/۷۱۸	۰/۷۸۲
ACTC1	۰/۸۹۶	۰/۸۲۰	CHRDL1	۰/۸۷۸	۰/۸۰۸	ATP2B4	۰/۷۰۵	۰/۷۹۰	INPP1	۰/۸۰۷	۰/۷۸۱
FLNC	۰/۹۴۸	۰/۸۲۰	RBPM5	۰/۸۲	۰/۸۰۷	ZWINT	۰/۷۹۷	۰/۷۹۰	FBLN1	۰/۹۱۲	۰/۷۸۰
ADH5	۰/۹۱۲	۰/۸۲۰	SMARCD3	۰/۷۵۷	۰/۸۰۷	CRYAB	۰/۶۷۴	۰/۷۹۰	CDK16	۰/۸۶۸	۰/۷۸۰
SMTN	۰/۹۲۷	۰/۸۲۰	STOM	۰/۸۰۷	۰/۸۰۶	FOXF1	۰/۹۰۲	۰/۷۹۰	ALDH1A2	۰/۸۵۷	۰/۷۸۰
TGFB111	۰/۹۰۱	۰/۸۱۹	MGST3	۰/۸۳۴	۰/۸۰۶	JAM3	۰/۷۵۹	۰/۷۹۰	MT1X	۰/۷۳۵	۰/۷۷۹
FHL2	۰/۸۸۶	۰/۸۱۹	PTN	۰/۹۴۵	۰/۸۰۶	ITGA7	۰/۸۸۵	۰/۷۹۰	CAPG	۰/۸۶۶	۰/۷۷۸
COX7A1	۰/۸۹۵	۰/۸۱۸	EDNRA	۰/۹۳	۰/۸۰۴	MARCKSL1	۰/۵۱۹	۰/۷۹۰	PRRC1	۰/۹۷۴	۰/۷۷۸
CALM1	۰/۷۶۹	۰/۸۱۷	NUP210	۰/۸۷۲	۰/۸۰۳	FHL1	۰/۹۲۱	۰/۷۹۰	LGALS3BP	۰/۹۱۲	۰/۷۷۸
MYL9	۰/۹۴۵	۰/۸۱۷	FZD7	۰/۹۰۱	۰/۸۰۳	FLNA	۰/۹۳۱	۰/۷۹۰	PEX14	۰/۸۱۵	۰/۷۷۷
DES	۰/۹۴۲	۰/۸۱۶	PPP3CB	۰/۸۹۷	۰/۸۰۳	COL4A6	۰/۸۰۲	۰/۷۸۹	CAMK2G	۰/۸۵۹	۰/۷۷۶
KCNMB1	۰/۸۶۵	۰/۸۱۶	ROR2	۰/۷۷۵	۰/۸۰۲	CES1	۰/۷۹۴	۰/۷۸۹	PTGIS	۰/۷۵۳	۰/۷۷۶

بهترین مدلی که به وسیله رگرسیون لجستیک و بر اساس زن‌های افزایش بیان یافته (مدل شماره یک) در سرطان پروستات طراحی گردیده

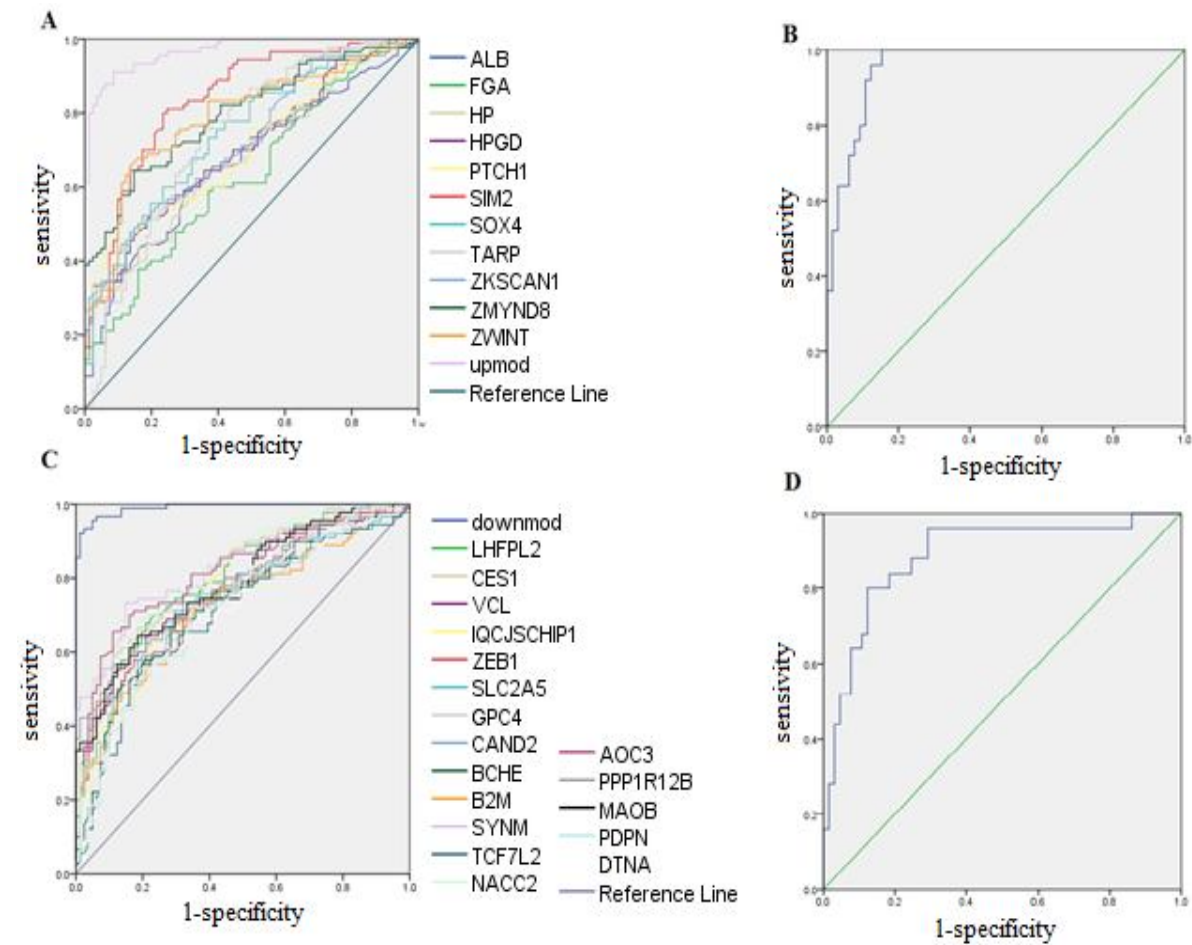
است به صورت جدول شماره ۲ می‌باشد:

جدول (۲): ضرایب B و ضریب ثابت ژن‌ها در مدل شماره یک که به وسیله رگرسیون لجستیک محاسبه گردیده است

ژن	ALB	FGA	HP	HPGD	PTCH1	SIM2	SOX4	TARP	ZKSCAN1	ZMYND8	ZWINT	Constant
B	۱/۳۵۸	-۰/۶۹۷	۱/۱۶۶	-۰/۴۱۴	-۰/۷۳۳	۱/۰۸۰	-۱/۲۷۸	۱/۰۰۵	-۰/۸۲۱	۲/۰۳۷	۱/۸۷۶	-۴/۰۱۶
p-value	۰/۰۰۳	۰/۰۰۷	۰/۰۱۶	۰/۰۴۴	۰/۰۳۳	۰/۰۰۶	۰/۰۱۵	۰/۰۰۲	۰/۰۱۶	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰

برای این ژن‌ها برابر با ۰.۸۳۸ برای ژن SIM2 می‌باشد درحالی‌که سطح زیر منحنی مدل برابر با ۰.۹۶۸ می‌باشد که این حساسیت و اختصاصیت برابر با ۰.۹۱۱ و ۰.۹۱۴ را دارا می‌باشد (شکل ۱ A). همچنین این مدل می‌تواند نمونه‌های سرطانی غیرمتاستازی و متاستازی را نیز از هم تفکیک نموده که میزان حساسیت و اختصاصیت آن برابر با ۰.۹۲۰ و ۰.۸۹۲ می‌باشد (شکل ۱ B).

در مدل‌های ارائه‌شده ارزش هر ژن برابر فولد چنج هر ژن نسبت به میانگین افراد نرمال می‌باشد. میزان R2 این مدل برابر با 0.919 و $p=0.000$ می‌باشد همچنین میزان p برای سنجش برازندگی مدل بر اساس آزمون Hosmer and Lemeshow برابر $p=0.808$ می‌باشد که نشان‌دهنده برازندگی مناسب این مدل می‌باشد. در این مدل از یازده ژن استفاده شده است که بالاترین سطح زیر منحنی



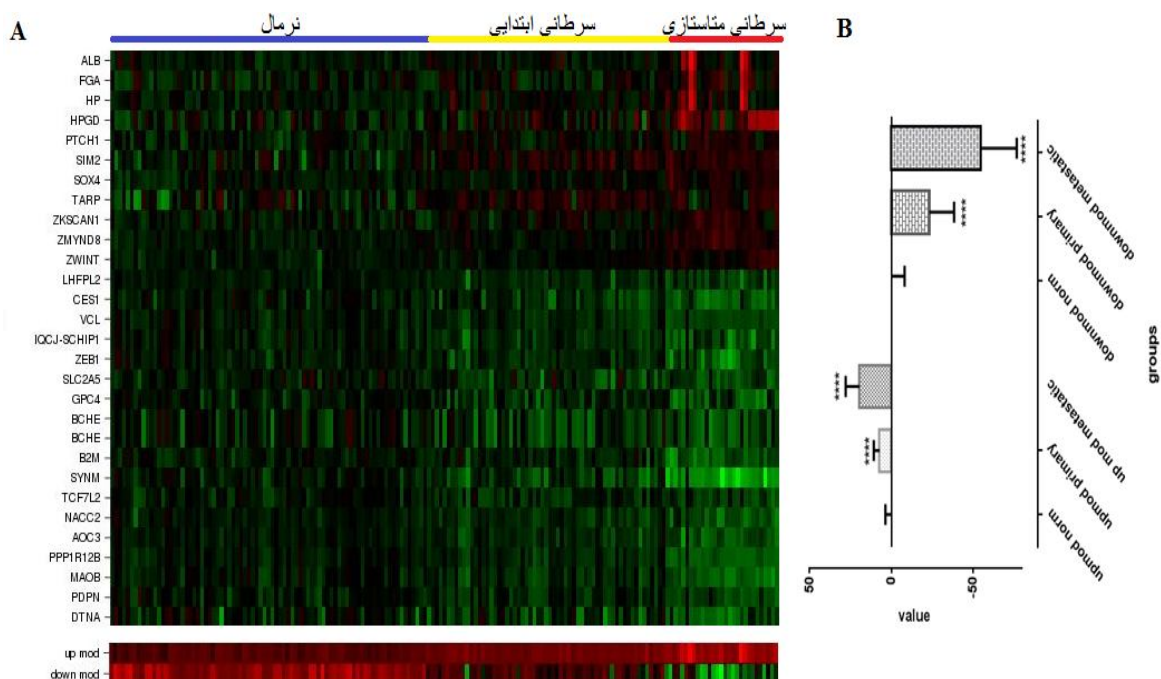
شکل (۱): منحنی ROC برای ژن‌ها و مدل‌های شماره ۱ و ۲. A: ژن‌های به‌کاررفته در مدل ۱ و مدل مربوطه در تفکیک نمونه‌های سالم و تومری. B: مدل ۱ در تفکیک نمونه‌های متاستازی از نمونه‌های سرطانی ابتدایی C: ژن‌های به‌کاررفته در مدل ۲ و مدل مربوطه در تفکیک نمونه‌های سالم و تومری D: مدل ۲ در تفکیک نمونه‌های متاستازی از نمونه‌های سرطانی ابتدایی

جدول (۳): ضرایب B و ضریب ثابت زن‌ها در مدل شماره ۲ که به وسیله رگرسیون لجستیک محاسبه گردیده است

ژن	B	p-value
Constant	۱۰/۱۴۰-	۰/۰۰۰
DTNA	۲/۶۹۲	۰/۰۰۳
PDPN	۵/۱۷۵	۰/۰۰۰
MAOB	۲/۶۸۲	۰/۰۱۰
PPP1R12B	۹/۴۰۴	۰/۰۰۳
AOC3	۲/۸۰۶-	۰/۱۳۹
NACC2	۷/۴۷۱-	۰/۰۰۴
TCF7L2	۲/۳۳۹-	۰/۰۰۸
SYNM	۲/۷۷۸-	۰/۰۲۲
B2M	۴/۳۳۷-	۰/۰۰۱
BCHE	۱/۸۱۶-	۰/۰۰۷
CAND2	۱/۰۹۶-	۰/۰۲۲
GPC4	۲/۱۷۰-	۰/۰۰۶
SLC2A5	۴/۱۰۸-	۰/۰۰۱
ZEB1	۸/۱۲۶-	۰/۰۰۲
IQGJ-SCHIP1	۴/۰۶۰-	۰/۰۱۲
VCL	۸/۴۷۵	۰/۰۰۲
CESI	۵/۹۶۰-	۰/۰۰۰
LHFPL2	۶/۴۴۳-	۰/۰۰۱

نمونه‌های نرمال، سرطانی ابتدایی و سرطانی متاستازی می‌باشد که این سبب تفکیک این نمونه‌ها از یکدیگر می‌باشد (شکل ۲).

بررسی الگوی مدل‌های شماره ۱ و ۲ نشان‌دهنده روند افزایشی پیوسته مدل شماره یک و رونده کاهش پیوسته مدل شماره ۲ در



شکل (۲): A: میزان بیان ژن‌های به‌کاررفته در مدل‌های ۱ و ۲ در نمونه‌های نرمال، سرطانی ابتدایی و سرطانی متاستازی. B: تغییرات بیانی مدل‌ها در نمونه‌های نرمال، سرطانی ابتدایی و سرطانی متاستازی

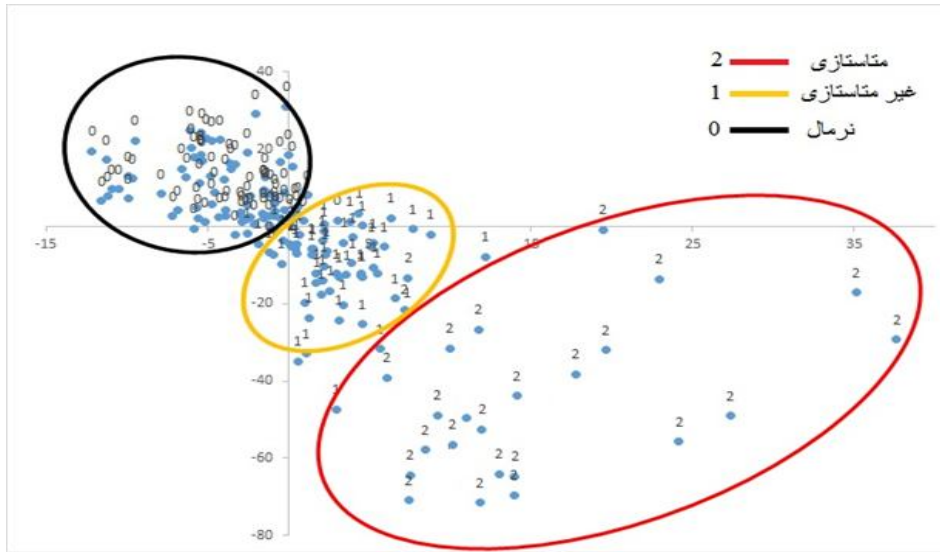
مداوم برای مشخص نمودن و پیشرفت سرطان از بیومارکرها استفاده می‌کنند. بیومارکر مناسب به پزشک این اجازه را می‌دهد که بافت سرطانی را از بافت غیر سرطانی و شاید حتی سرطان متاستاتیک را از فرم موضعی تشخیص دهد (۱۹، ۱۸). انتخاب ژن‌ها برای بیومارکرها جهت تشخیص سرطان‌ها و بیماری دارای چند مرحله می‌باشد که مرحله اول انتخاب بررسی بیان ژن‌ها در بافت‌های سالم و توموری است تا ژن‌هایی انتخاب گردند که بتوانند بین بافت سالم و توموری تمایز ایجاد نمایند و به‌اشتباه ژن‌هایی که در سایر بیماری‌ها دچار تغییرات بیانی می‌گردند به‌عنوان بیومارکر یک

بحث و نتیجه‌گیری

سرطان پروستات دومین سرطان شایع مردان در سراسر جهان است (۱۶). در ایالات متحده آمریکا در طی یک سال، در حدود ۲۴۰۰۰۰ تشخیص ابتلا به سرطان پروستات گزارش شده است (۱۷) برخلاف سایر تومورها که به‌صورت یک توده تنها مشخص می‌شوند، سرطان پروستات معمولاً به‌صورت چند کانونی و با تشخیص بسیار مشکل همراه می‌باشد. علاوه بر آن علائم سرطان پروستات معمولاً تا زمانی که سرطان به مراحل پیشرفته نرسیده است به‌صورت مشخص بروز پیدا نمی‌کند. در نتیجه پزشکان به‌طور

تشخیص سرطان در مراحل اولیه بیماری و قبل از متاستازی شدن آن می‌باشد. در مدل‌های ارائه‌شده در این بررسی می‌توان نمونه‌های سرطانی ابتدایی و متاستازی را از یکدیگر تفکیک نمود (شکل ۳) که می‌تواند نقش مهمی در نحوه درمان سرطان داشته باشد.

بیماری خاص انتخاب نگردند (۲۰). در این بررسی نیز سعی شده است که ژن‌هایی که توانایی تفکیک کردن بافت‌های سالم و توموری را دارا می‌باشند شناسایی نموده و ژن‌هایی را که می‌توانند بهترین مدل را جهت بیومارکر شدن ارائه دهند جهت بررسی‌های بعدی معرفی نماییم. یکی از جنبه‌های مهم در انتخاب بیومارکرها توانایی



شکل (۳): دسته‌بندی بافت‌های سالم، سرطانی ابتدایی و سرطانی متاستازی بر اساس مدهای افزایشی و کاهشی در سرطان پروستات. محور X بر اساس مدلی افزایشی و محور Y بر اساس مدل کاهشی می‌باشد.

و TMRSS2-ERG نیز در حال حاضر به‌عنوان کمک‌کننده به تست PSA هستند و آزمایش‌هایی که تعیین کند که آیا این تست‌ها در غیاب غربالگری PSA نیز به‌خوبی عمل می‌کنند، وجود ندارد (۲۶).

روبین و همکاران در سال ۲۰۰۵ ژن AMACR را به‌عنوان یک بیومارکر مثبت برای سرطان پروستات به‌شمار معرفی نمودند (۲۷) اگرچه دارای یکسری محدودیت‌هایی می‌باشد (۲۸، ۲۷) و ژن این بیومارکر خاص سرطان پروستات نمی‌باشد و همچنین برای تشخیص غیرتهاجمی در ادرار مناسب نیست و بیشتر به‌عنوان یک بیومارکر بافتی زمانی که هسته‌های نمونه‌برداری از پروستات حاصل نتایج آسیب‌شناسی مبهمی باشد عملکرد دارد. (۲۰) یکی دیگر از محدودیت‌های AMACR ناهمگنی داخل توموری است که در ۴۵ درصد نمونه‌های سرطان پروستات دیده شده است (۲۹).

در سال ۲۰۱۶ نقش بیومارکری ژن PVT1 در تشخیص سرطان پروستات توسط ایلبودو و همکارانش مورد بررسی گرفت مطالعات این گروه نشان داد علی‌رغم اینکه اگزون شماره ۹ این ژن در سرطان پروستات متاستازی دارای افزایش بیان می‌باشد اما دارای

تاکنون مطالعاتی در خصوص استفاده ترکیبی از ژن‌ها در تشخیص بیماری پروستات صورت نگرفته است اما در چند بررسی استفاده از یک یا چند ژن به‌صورت جداگانه برای تشخیص بیماری گزارش گردیده است که از آن جمله می‌توان به آنتی‌ژن اختصاصی پروستات (PSA)، ژن PCA3، AMACR و ترانسلوکاسیون TMRSS2-ERG اشاره نمود. اگرچه PSA سرم به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان تومور مارکر پروستات در حال حاضر شناخته‌شده ولی PSA لزوماً نشانه سرطان نمی‌باشد (۲۱). حتی در بعضی از افراد مبتلا به سرطان پروستات سطح PSA کمتر از ۴ ng/ml است که اختصاصیت PSA را به‌عنوان یک بیومارکر سرطان کاهش می‌دهد به همین دلیل نقش PSA همیشه مورد بحث می‌باشد (۸). PCA3 یک lncRNA است که بر روی کروموزوم 9q21-22 قرار گرفته و در بیش از ۹۰ درصد بافت‌های سرطان پروستات افزایش نشان داده است ولی در بافت‌های نرمال یا BPH افزایشی دیده نشده است (۲۰-۲۳). ترانسلوکاسیون TMRSS2-ERG نیز اختصاصی سرطان پروستات بوده و در ۵۰ درصد موارد سرطان پروستات دیده شده است (۲۴، ۲۵) تست‌های PCA3

انجام می‌پذیرد (۲۰) که می‌تواند روشی غیرتهاجمی برای غربالگری افراد باشد. همچنین به دلیل اینکه ژن‌های ارائه‌شده در این بررسی توانایی تمایز قائل شدن بین بافت سرطانی ابتدایی و متاستازی را دارا می‌باشند و امتیاز مدل‌ها از بافت‌های سرطانی ابتدایی به سرطان‌های متاستازی تغییر می‌یابد و می‌توان از آن‌ها در تعیین پیشرفت بیماری از نمونه‌های بیوپسی نیز استفاده نمود. از مزیت‌های دیگر این بررسی می‌توان به تعداد مناسب نمونه‌های اشاره نمود به‌صورتی که power ژن‌های انتخاب‌شده در این بررسی بالای ۰/۸ می‌باشد و این سبب می‌شود که خطای نوع دوم در این بررسی کاهش یابد. مزیت دیگر حساسیت و اختصاصیت بالای مدل‌های ارائه‌شده برای تفکیک بافت نرمال از بافت سرطانی می‌باشد و در صورت استفاده از هر دو مدل می‌توان خطای یک مدل را به‌وسیله مدل دیگر پوشش داد تا به حساسیت و اختصاصیت بالاتر دست یافت. مزیت دیگر مدل‌های پیشنهادشده تفکیک کردن نمونه‌های متاستازی و نمونه‌های اولیه بیماری می‌باشد.

اختصاصیت و حساسیت قابل قبولی نمی‌باشد (۳۰). در مطالعه‌ای دیگر که در سال ۲۰۱۶ بر روی بیان ژن PBX3 به‌وسیله RT-PCR در سلول‌های سرطانی و نرمال صورت گرفته است مشخص گردید که تجمع این ژن در هسته سلول‌های نرمال نسبت به سیتوپلاسم بیشتر بوده اما در سلول‌های سرطانی این پروتئین بیشتر در سیتوپلاسم تجمع می‌یابد و افزایش بیان این ژن سبب رشد آهسته‌تر سلول‌های سرطانی می‌گردد بر اساس این بررسی میزان سطح زیر منحنی برای ارزش بیماری‌گری این ژن برابر با ۰.۸۲ می‌باشد؛ اما برای بررسی این ژن باید از روش‌های ایمونوهیستوشیمی استفاده گردد جایگیری پروتئین این ژن در سلول را نشان دهد (۳۱).

از محدودیت‌های این مطالعه حاضر، بررسی سطح بیان ژن‌ها در بافت می‌باشد درحالی‌که یکی از خصوصیات بیومارکرها غیرتهاجمی بودن آن‌ها می‌باشد اما با توجه به اینکه غده پروستات به مجرای اداری مرتبط می‌باشد بنابراین می‌توان سلول‌های این بافت را در ادراک جداسازی نمود و نسبت به بررسی بیان ژن‌ها در آن‌ها اقدام نمود (همان‌گونه که برای تست‌های TMPRSS2-ERG و PCA3

References:

1. Bock CH, Schwartz AG, Ruterbusch JJ, et al. Results from a prostate cancer admixture mapping study in African-American men. *Hum Genet* 2009; 126: 637-42.
2. Chikezie O. Madu and Yi Lu. Novel diagnostic biomarkers for prostate cancer. *J Cancer* 2010; 1: 150-77.
3. DeMarzo AM, Nelson WG, Isaacs WB, Epstein JI. Pathological and molecular aspects of prostate cancer. *Lancet* 2003; 361: 955-64.
4. Shingo A, Hidewaki N, Toyomasa K. Molecular Features of the Transition from Prostatic Intraepithelial Neoplasia (PIN) to Prostate Cancer: Genome-wide Gene-expression Profiles of Prostate Cancers and PINs. *Cancer Res* 2004; 5963-72.
5. Di Cristofano A, De Acetis M, Koff A, Cordon-Cardo C, Pandolfi PP. Pten and p27KIP1 cooperate in prostate cancer tumor suppression in the mouse. *Nat Genet* 2001; 27: 222-4.
6. Lu-Yao GL, Albertsen PC, Moore DF, Shih W, Lin Y, DiPaola RS, et al. Outcomes of localized prostate cancer following conservative management. *JAMA* 2009;302(11):1202-9.
7. Carter H, Albertsen P, Barry M, Etzioni R, Freedland S, et al. Early detection of prostate cancer: AUA guideline. *J Urol* 2013; 190: 419-26.
8. Welsh JB, Sapinoso LM, Su AI, Kern SG, Wang-Rodriguez J, Moskaluk CA, et al. Analysis of gene expression identifies candidate markers and pharmacological targets in prostate cancer. *Cancer Res* 2001;61(16):5974-8.
9. Liotta L, Petricoin E. Molecular profiling of human cancer. *Nat Rev Genet* 2000; 1: 48-56.
10. Sawyers CL. The cancer biomarker problem. *Nature* 2008; 452: 548-52.
11. Colburn WA, DeGruttola VG, DeMets DL, Downing GJ, Hoth DF, Oates JA, et al. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Biomarkers Definitions*

- Working Group. *Clin Pharmacol Therapeutics* 2001;69:89–95.
12. Cary KC, Cooperberg MR. Biomarkers in prostate cancer surveillance and screening: past, present, and future. *Ther Adv Urol* 2013;5(6):318–29.
 13. Berger MF, Lawrence MS, Demichelis F, Drier Y, Cibulskis K, Sivachenko AY, et al. The genomic complexity of primary human prostate cancer. *Nature* 2011;470(7333):214–20.
 14. Prensner JR, Iyer MK, Balbin OA, Dhanasekaran SM, Cao Q, Brenner JC, et al. Transcriptome sequencing across a prostate cancer cohort identifies PCAT-1, an unannotated lincRNA implicated in disease progression. *Nat Biotechnol* 2011;29(8):742–9.
 15. Ashida S, Nakagawa H, Katagiri T, Furihata M, Iizumi M, Anazawa Y, et al. Molecular features of the transition from prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) to prostate cancer: genome-wide gene-expression profiles of prostate cancers and PINs. *Cancer Res* 2004;64(17):5963–72.
 16. Tavoosidana G, Ronquist G, Darmanis S, Yan J, Carlsson L, Wu D, et al. Multiple recognition assay reveals prostasomes as promising plasma biomarkers for prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108(21):8809–14.
 17. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin* 2013; 63: 11–30.
 18. Halpem EJ. Contrast-enhanced ultrasound imaging of prostate cancer. *Rev Urol* 2006; 8 (suppl 1): 29-37.
 19. Grubb RL, Kibel AS. Prostate cancer: screening, diagnosis and management in 2007. *Mo Med* 2007;104(5):408-413-4.
 20. Prensner JR, Rubin MA, Wei JT, Chinnaiyan AM. Beyond PSA: the next generation of prostate cancer biomarkers. *Sci Transl Med* 2012;4(127):127rv3.
 21. Oberaigner W, Horninger W, Klocker H, Schönitzer D, Stühlinger W, Bartsch G. Reduction of prostate cancer mortality in Tyrol, Austria, after introduction of prostate-specific antigen testing. *Am J Epidemiol* 2006;164(4):376–84.
 22. Hessels D, Schalken J. The use of PCA3 in the diagnosis of prostate cancer. *Nat Rev Urol* 2009; 6: 255–61.
 23. de Kok JB, Verhaegh GW, Roelofs RW, Hessels D, Kiemeneij LA, Aalders TW, et al. DD3(PCA3), a very sensitive and specific marker to detect prostate tumors. *Cancer Res* 2002;62(9):2695–8.
 24. Prensner JR, Chinnaiyan AM. Oncogenic gene fusions in epithelial carcinomas. *Curr Opin Genet Dev* 2009; 19: 82–91.
 25. Han B, Mehra R, Lonigro RJ, Wang L, Suleman K, Menon A, et al. Fluorescence in situ hybridization study shows association of PTEN deletion with ERG rearrangement during prostate cancer progression. *Mod Pathol* 2009;22(8):1083–93.
 26. Tomlins SA, Aubin SMJ, Siddiqui J, Lonigro RJ, Sefton-Miller L, Miick S, et al. Urine TMPRSS2:ERG fusion transcript stratifies prostate cancer risk in men with elevated serum PSA. *Sci Transl Med* 2011;3(94):94ra72.
 27. Hessels D, Smit FP, Verhaegh GW, Witjes JA, Cornel EB, Schalken JA. Detection of TMPRSS2-ERG fusion transcripts and prostate cancer antigen 3 in urinary sediments may improve diagnosis of prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 5103–8.
 28. Rubin MA, Bismar TA, Andren O, Mucci L, et al. Decreased alpha-methylacyl CoA racemase expression in localized prostate cancer is associated with an increased rate of biochemical recurrence and cancer-specific death. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 1424–32.
 29. Amrallah A M. Biomarkers in prostate cancer: new era and prospective. *Med Oncol* (2014) 31: 140.

30. Ilboudo A, Chouhan J, McNeil BK, Osborne JR, Ogunwobi OO. PVT1 Exon 9: A Potential Biomarker of Aggressive Prostate Cancer? *Int J Environ Res Public Health* 2016;13(1):ijerph13010012.
31. Ramberg H, Grytli HH, Nygård S, Wang W, Ögren O, Zhao S, et al. PBX3 is a putative biomarker of aggressive prostate cancer. *Int J Cancer* 2016;139(8):1810–20.

STUDY OF GENES AS BIOMARKERS IN DISTINGUISH CANCEROUS FROM NORMAL TISSUE SAMPLES IN PROSTATE CANCER

Shahin Ramazi¹, Ali Fasihi^{2}, Marziye Abolhassani³, Elham Izziy⁴*

Received: 17 Apr, 2016; Accepted: 29 Jun, 2016

Abstract

Background & Aims: Prostate cancer (PCa) is the second most common cancer in men worldwide. The identification of sensitive and specific biomarkers in tissue and serum is of utmost importance to reduce the mortality of prostate cancer. Since that, early detection of cancer has an important role in treatment, in this study we tried to identify genes that could potentially effective in early screening for prostate cancer. Using logistic regression, suitable model to screen tumor samples from normal samples was designed.

Materials & Methods: In this study, gene expression data of metastatic and non-metastatic cancer samples and normal prostate samples were collected from the NCBI database. By examining the expression level of genes in these samples, valuable genes for screening were identified.

Results: Using logistic regression two model were designed based on the increase or decrease in the expression of genes. The Area under the curve, sensitivity and specificity for the first model were, respectively, 0.968, 0.911 and 0.914 and for the second model 0.991, 0.951 and 0.956, respectively.

Conclusion: Due to the high value of sensitivity and specificity in the designed models, studied Genes have the potential for screening prostate cancer in the early stages and metastasis stages of cancer.

Keywords: Prostat cancer, Biomarker, Gene Expression

Address: Department of Genetic, Biology Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Tel: +989136968849

Email: aliac88@gmail.com

SOURCE: URMIA MED J 2016; 27(6): 532 ISSN: 1027-3727

¹ Ph.D. Candidate, Department of Genetic, Biology Faculty, Tabriz University, Tabriz, Iran

² Ph.D., Department of Genetic, Biology Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran (Corresponding Author)

³ Master, Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

⁴ Master, Traditional and Complementary Medicine Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran