

## Investigating FGF11 gene transcription level in cancer cells among colorectal cancer patients

Golshan Khalafian<sup>1</sup>, Maliheh Entezari<sup>2</sup>, Maryam Bikhof Torbati<sup>3</sup>

<sup>1</sup> MSc, Department of Genetics, Faculty of Advanced Science and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Associate Professor, Department of Genetics, Faculty of Advanced Science and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>3</sup> Assistant professor, Department of Biology Faculty of Science, Yadegar - e- Imam Khomeini (RAH) Shahre- Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

### Abstract

**Background:** Colorectal cancer (CRC) is the fourth leading cause of cancer-caused death around the world. Reports of the unnecessary transcription of family genes of the fibroblast growth factor in several types of cancer indicate the role of these factors in tumorigenesis and progression of cancer. Therefore, the level of FGF11 transcription was evaluated in colorectal cancer tumor tissues relative to the normal tissue adjacent to cancer.

**Materials and methods:** In this study, 30 tumor tissue samples and 30 adjacent tumor tissue samples were collected from patients with colorectal cancer among those referred to Imam Khomeini Hospital. After extracting the entire RNA from the samples and synthesizing cDNA, quantitative real-time PCR method was used to evaluate the level of FGF11 transcription in the mRNA level.

**Results:** The level of FGF11 transcription in cancer tissues was 1.55 times higher than in non-cancer tissues, but a significant difference was not found between the two healthy and tumor groups ( $P=0.402$ ). Increased FGF11 transcription in patients with stages III and IV (high stage) was significantly different from those with stages 0, I and II (low stage) ( $P=0.057$ ). The transcription of this gene did not show a significant relationship with tumor grade ( $P=0.193$ ), age ( $P=0.896$ ), size of tumor ( $P=0.428$ ), and lymphatic invasion ( $P=0.651$ ).

**Conclusion:** Based on the results, increasing the FGF11 transcription in atages III and IV of colorectal cancer than that at stages 0, I and II may indicate the potential role of this gene in tumorigenesis of colorectal cancer, while further investigations are required in this regard.

**Keywords:** Colorectal cancer, FGF11, Biomarker.

**Cited as:** Khalafian G, Entezari M, Bikhof Torbati M. Investigating FGF11 gene transcription level in cancer cells among colorectal cancer patients. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2020; 30(1): 51-58.

**Correspondence to:** Maliheh Entezari

**Tel:** +98 2122006664

**E-mail:** mentezari@iautmu.ac.ir

**ORCID ID:** 0000-0003-4191-3351

**Received:** 3 Dec 2019; **Accepted:** 16 Apr 2019

## بررسی سطح رونوشت ژن FGF11 در سلول های سرطانی بیماران مبتلا به سرطان کلورکتال

گلشن خلیان<sup>۱</sup>، ملیحه انتظاری<sup>۲</sup>، مریم بی خوف تربتی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد، دانشکده علوم نوین، گروه ژنتیک، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار، دانشکده علوم نوین، گروه ژنتیک، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>۳</sup> استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد یارگار امام (ره) شهری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

### چکیده

**سابقه و هدف:** سرطان کولورکتال چهارمین علت مرگ و میر ناشی از سرطان در سراسر جهان است. گزارشات مبنی بر رونویسی ناپجای ژن های خانواده فاکتور رشد فیبروبلاست در چندین نوع سرطان، بیانگر نقش این فاکتورها در تومورزایی و پیشرفت سرطان است؛ بنابراین میزان رونوشت FGF11 در بافت های توموری سرطان کولورکتال نسبت به بافت نرمال ارزیابی شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه، تعداد ۳۰ نمونه بافت توموری و ۳۰ نمونه بافت مجاور تومور از افراد مبتلا به سرطان کولورکتال مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی (ره) جمع آوری شد. پس از استخراج RNA کل از نمونه ها و سنتز cDNA با استفاده از روش RT-PCR میزان رونوشت FGF11 در سطح mRNA بررسی شد.

**یافته ها:** سطح رونوشت FGF11 به میزان ۱/۵۵ برابر در بافت های سرطانی نسبت به نمونه های غیرسرطانی افزایش داشت، اما تفاوت معنی داری بین دو گروه بافتی سالم و توموری وجود نداشت ( $P=0/402$ ). افزایش رونوشت FGF11 در بیماران مرحله III و IV (High Stage) نسبت به افراد مرحله I و II (Low Stage) معنی دار بود ( $P=0/057$ ). رونوشت این ژن با درجه تومور ( $P=0/193$ )، سن ( $P=0/896$ )، سایز تومور ( $P=0/428$ )، و تهاجم لنفاوی ( $P=0/651$ ) ارتباط معنی داری را نشان نداد.

**نتیجه گیری:** با توجه به نتایج به دست آمده افزایش رونوشت FGF11 در مراحل III و IV سرطان کولورکتال نسبت به افراد در مراحل I و II شاید بتواند نشانگر نقش احتمالی این ژن در تومورزایی سرطان کولورکتال باشد. **واژگان کلیدی:** سرطان کولورکتال، FGF11، بیوماکر.

### مقدمه

روده بزرگ در کل جهان تشخیص داده شده است (۲). برخی مطالعات نشان دادند که بروز این سرطان در کشورهای توسعه یافته نسبت به کشورهای در حال توسعه رایج تر است (۳). CRC یک مشکل بزرگ بهداشت عمومی در جهان است. کولون به علت ماهیت زیستی آن سطح بالایی از بازسازی سلولی را دارد و به همین علت احتمال گسترش آسیب های مختلف از جمله سرطان در آن افزایش می یابد (۴). سرطان کولورکتال اغلب از پولیپ هایی که بر روی پوشش اپیتلیال کولون رخ می دهد شروع می شود، که تشخیص و حذف پولیپ های پیش سرطانی برای کاهش بروز و مرگ و میر

در حال حاضر یکی از شایع ترین سرطان های دستگاه گوارش در ایران سرطان کولورکتال (CRC) است، که بروز این سرطان در بین مردان ایرانی رتبه سوم و در زنان ایرانی رتبه چهارم را دارد (۱). در سال ۲۰۱۲، بیش از ۱/۳ میلیون مورد سرطان

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم پزشکی تهران، دکتر ملیحه انتظاری

(email: mentezari@iautmu.ac.ir)

ORCID ID: 0000-0003-4191-3351

تاریخ دریافت مقاله: ۹۷/۹/۱۲

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۸/۱/۲۷

homologous factor) نیز شناخته می‌شود، روی کروموزوم 17p13.1 انسانی قرار دارد (۱۸) و اغلب در سیستم عصبی مرکزی افراد بالغ رونویسی می‌شود (۱۹). مطالعات کمی در خصوص چگونگی عملکرد این ژن در دسترس است. Lee و همکارانش در مطالعات جدیدی به نقش FGF11 (FHF3) در رگ زایی و تومورزایی اشاره کرده‌اند. آنها نشان دادند که افزایش رونوشت FGF11، تشکیل لوله شبه مویرگی را در سلول‌های اندوتلیال انسانی تحریک می‌کند و همچنین پروتئین‌های اتصالات محکم را افزایش می‌دهد (۱۷). همچنین Ye و همکارانش در مطالعه‌ای نشان دادند که با پیام‌رسانی نادرست، سطح رونوشت FGF11 در سلول‌های توموری سرطان حنجره افزایش می‌یابد (۲۰)، آنها همچنین نشان دادند که سطح رونوشت FGF11 به طور فراوانی در استئوکلاست‌های سلول‌های توموری غول پیکر افزایش داشت (۲۱). با توجه به مطالعات گذشته در خصوص نقش FGF11 در پیشرفت سرطان، هدف از انجام این مطالعه بررسی سطح رونوشت ژن FGF11 در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال بود تا با شناسایی تغییرات ژن FGF11 بتوان از آن به عنوان یک نشانگر مولکولی در تشخیص و درمان استفاده کرد.

## مواد و روشها

این مطالعه بصورت تجربی پس از تایید کمیته اخلاق دانشگاه به شماره IR.IAU.TMU.REC.1396.226 اجرا شد.

**تهیه نمونه:** ۳۰ نمونه بافت توموری و ۳۰ نمونه بافتی مجاور تومور (نرمال) از افراد مبتلا به سرطان روده بزرگ از بیمارستان امام خمینی (ره) و تومور بانک ایران طی سال‌های ۱۳۸۶ تا ۱۳۹۵ تهیه و مورد بررسی قرار گرفت. از تمامی بیماران رضایت نامه کتبی گرفته شد. نمونه‌ها بعد از جمع‌آوری به آزمایشگاه منتقل شده و مراحل استخراج RNA بر روی آنها انجام شد.

**استخراج RNA و سنتز cDNA:** RNA کل طبق پروتکل (Cat RNeasy Micro Kit (QIAGEN, Germany) (No. /ID74004 از نمونه‌های بافتی استخراج شد. پس از استخراج RNA از نمونه‌ها، میزان خلوص، کمیته و کیفیت RNA استخراج شده با استفاده از دستگاه نانودرآپ و الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت. سنتز cDNA طبق پروتکل RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher, USA) (Cat No.K1622) ابتدا به مقدار میکروگرم (۱۰۰۰ نانوگرم) RNA از هر نمونه به همراه ۱ میکرولیتر (10mM) dNTP، ۱ میکرولیتر Random Hexamer (40µg/µl) و ۱ میکرولیتر

CRC بسیار مهم است (۵). تعداد بسیاری از تغییرات مولکولی از جمله جهش‌های ژنی و تغییرات اپی‌ژنتیکی که در شروع و پیشرفت پولیپ‌های روده بزرگ نقش دارند، طی سه دهه گذشته شناسایی شده‌اند، که ثابت می‌کند CRC یک بیماری ناهمگنی است که عوامل ارثی و محیطی در ایجاد و پیشرفت آن دخالت دارند (۶). پیشرفت‌های بسیاری در خصوص تشخیص و درمان CRC انجام شده، اما هنوز یک بیماری غیرقابل کنترل است و تهدید بسیار جدی برای افراد است (۷). به طور کلی تشخیص این سرطان که در مراحل آخر رخ می‌دهد اساساً به علت متاستاز سریع آن است، و یکی از موانع اولیه در دستیابی به درمان موثرتر است (۴). تشخیص سرطان در مراحل اولیه بیماری زمانی که علائم آن شروع نشده است می‌تواند منجر به درمان به موقع و بهبود سریع‌تر بیماری شود (۸). اخیراً بیومارکرهایی به صورت غیرتهاجمی با اختصاصیت بالا شناسایی شده‌اند که می‌توانند برای تشخیص و پیش‌آگاهی زودهنگام در بیماران مبتلا به CRC مورد استفاده واقع شوند (۹). یک بیومارکر می‌تواند مجموعه‌ای از تغییرات مانند رونوشت، پروتئومیک و اثرات متابولیکی باشد که به راحتی می‌تواند در گردش خون و ترشحات بدن به صورت غیرتهاجمی ارزیابی شود (۱۰).

فاکتورهای رشد فیبروبلاست (FGF: Fibroblast Growth Factor) گروهی از عوامل رشد هستند که از طریق اتصال به گیرنده‌های خود (FGFR: Fibroblast Growth Factor Receptor) و فعال‌سازی آنها، طیف وسیعی از عملکردهای زیستی از جمله تکثیر و بقا را تنظیم می‌کنند (۱۱). در مطالعات مختلفی افزایش رونوشت FGFها و FGFRها در سرطان کولورکتال گزارش شده است (۱۲، ۱۳). علاوه بر این مطالعاتی راجع به نقش FGFها در تکثیر سلولی، مهاجرت، تمایز، رگ‌زایی و در واقع تشکیل تومورهای پیشرفته در انواع مختلف سلولی و بافتی گزارش شده است (۱۴، ۱۵). از بین ۲۲ عضو خانواده FGF گروهی از آنها درون سلولی هستند و در خانواده‌ای جداگانه طبقه‌بندی می‌شوند، به دلیل عملکرد خاص خود هیچ تعاملی با گیرنده‌های FGF ندارند و درون سلول باقی‌مانده و به کانال‌های ولتاژ سدیمی متصل و آنها را تنظیم می‌کنند. در واقع، به عنوان مولکول‌های درون سلولی نقش خود را مستقل از FGFRها ایفا می‌کنند (۱۶). خانواده FGFهای درون سلولی (FGF11-14) عمدتاً در مغز، چشم، قلب و بیضه در سطوح مختلف رونویسی می‌شود (۱۷). طبق مطالعات فاکتور رشد فیبروبلاست ۱۱ (FGF11) که به عنوان فاکتور رشد همولوگ ۳ (FHF3: Fibroblast growth factor

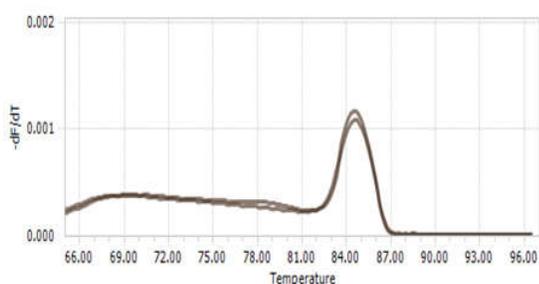
جدول ۱. مشخصات پرایمرهای ژن FGF11 و بتاکتین

ژن	Num-accession NCBI	توالی	طول محصول
FGF11	NM-001303460.1.CFGF11	F: GGGTCTTGCCITGGGATAG R: TGCCTCTATTGAAAACGTC	77bp
Beta actin	NM-001303460.1.CFGF11	F: GATCAAGATCATTGCTCCTCCTG R: CTAGAAGCATTGCGGTGGAC	151bp

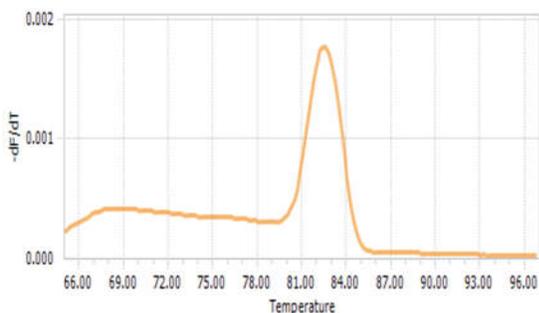
بین دو گروه از آزمون Independent samples t- test استفاده شد. جهت بررسی میزان رونوشت نسبی ژن مورد مطالعه از نرم افزار Graph pad prism7 استفاده شد. نمودارها با برنامه REST2009 رسم شد و P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

به منظور بررسی اختصاصیت پرایمرها و اطمینان از تکثیر اختصاصی ژن‌های مورد مطالعه در محصول PCR، نمودار منحنی ذوب (نمودارهای ۱ و ۲) بصورت جداگانه برای ژن‌های B-actin و FGF11 توسط دستگاه به صورت تک قله رسم شد که تاییدی بر اختصاصیت پرایمرها و در نتیجه تکثیر اختصاصی قطعات ژن‌های FGF11 و B-actin است.



نمودار ۱. نمودار منحنی ذوب ژن FGF11.



نمودار ۲. نمودار منحنی ذوب ژن بتاکتین.

همان طور که در نمودار ۳ مشاهده می‌شود، رونوشت ژن FGF11 به میزان ۱/۵۵ برابر در نمونه‌های توموری نسبت به نمونه‌های بافت نرمال حاشیه تومور افزایش رونوشت داشت، اما اختلاف به دست آمده معنی دار نبود ( $P=0/402$ ). در این پژوهش همچنین

در Oligo (100µg/µl) میکروتیوب ریخته و با آب دو بار تقطیر به حجم ۱۰ میکرولیتر رسانده شد، سپس به هر نمونه ۱ میکرولیتر آنزیم Reverse Transcriptase، ۰/۵ میکرولیتر Riblock، ۴ میکرولیتر بافر ۵X اضافه کرده و در نهایت با آب به حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. واکنش طبق شرایط دمایی ۲۵ درجه، به مدت ۱۰ دقیقه، ۴۲ درجه ۶۰ دقیقه، ۷۰ درجه ۱۰ دقیقه در دستگاه ترموسایکلر مدل BEK Lab انجام شد. برای بررسی عدم آلودگی یک چاهک حاوی تمام محتویات آزمایش بدون cDNA به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. پس از انجام واکنش PCR برای اطمینان از تکثیر قطعه مورد نظر، محصول به دست آمده روی ژل آگارز الکتروفورز شد.

**Real time PCR:** ابتدا پرایمرهای ژن FGF11 و ژن بتا اکتین با استفاده از نرم افزارهای Blast و Oligo7 طراحی و در فرایند PCR مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۱). واکنش مورد نظر در دستگاه Roche Light Cycler® 96 انجام شد. ابتدا غلظت‌های متوالی از cDNA جهت رسم منحنی‌های استاندارد و تعیین کارآمدی PCR برای ژن مورد نظر تهیه شد. واکنش طبق پروتکل SYBR green master mix (Takara, Japan) (Cat No. #RR820Q) انجام شد. هر واکنش در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲،۵ میکرولیتر سایبرگرین، ۱ میکرولیتر پرایمر اختصاصی ژن‌های مورد مطالعه، ۱۰۰ نانوگرم cDNA بود و در نهایت با آب مقطر به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. واکنش طی ۴۰ سیکل طبق برنامه دمایی مورد نظر، که ابتدا به مدت ۲ دقیقه در درمای ۹۵ درجه سانتی گراد برای واسرشت سازی اولیه cDNA الگو، سپس ۹۵ درجه سانتی گراد ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی گراد ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی گراد ۱۰ ثانیه انجام شد. بعد از اتمام فرایند برای بررسی اختصاصیت تکثیر ژن‌های مورد نظر منحنی‌های ذوب رسم شده مورد بررسی قرار گرفت. از آنجایی که کارایی PCR نزدیک به ۱۰۰ درصد بود برای بررسی میزان نسبی رونوشت از روش لیواک استفاده شد.

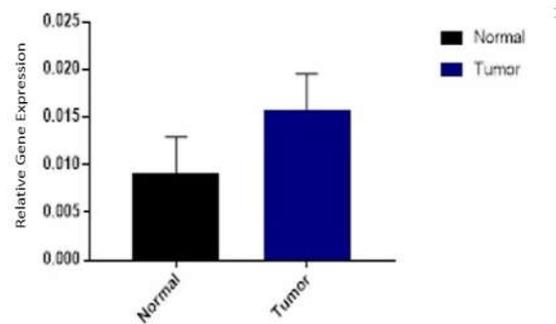
**تحلیل آماری:** با استفاده از نرم افزار SPSSv23 ابتدا از طریق تست کولموگورف-اسمیرنوف توزیع نرمال داده‌ها بررسی شد. سپس برای بررسی معنی دار بودن همبستگی بین رونوشت با فاکتورهای کلینیکوپاتولوژی تست پیرسون و برای مقایسه میانگین

طبق آزمون t-test میانگین رونوشت FGF11 در گروه‌های مرحله پیشرفته (۴۲/۱۹) به طور معنی‌داری بسیار بیشتر از افراد در مراحل اولیه (۷/۷۱) بود ( $P=0/057$ ). در واقع به دلیل اینکه ژن FGF11 در مراحل پیشرفته، سطح رونویسی قابل توجهی نسبت به مراحل اولیه دارد، احتمالاً در پیشرفت سرطان کولورکتال نقش موثری دارد.

## بحث

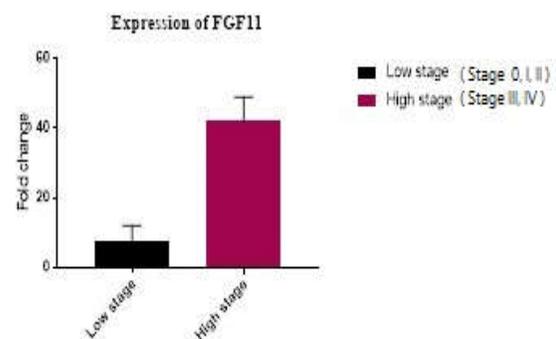
بروز و میزان مرگ و میر سرطان کولورکتال در کشورهای توسعه یافته به دلیل تشخیص زود هنگام سرطان و درمان‌های مناسب، نسبت به کشورهای در حال توسعه در حال کاهش است (۳). چندین روش غربالگری برای شناسایی سرطان کولورکتال استفاده می‌شود که می‌توان به آزمایش خون پنهان در مدفوع و کولونوسکوپی اشاره کرد. این دو روش غربالگری برای سال‌های زیادی در کاهش مرگ و میر ناشی از این بیماری موثر بوده‌اند، با این وجود، این روش‌های غربالگری کارایی بالایی را نداشته‌اند. با توجه به این که بیماران با حالت متاستازی غالباً رژیم‌های شیمی درمانی سیتوتوکسیکی با هزینه بالا، همراه با آنتی‌بادی‌های منوکلونال هدفمند ولی با فواید نسبتاً کمتری را دریافت می‌کنند و بیماران که عود مجدد بیماری در آنها اتفاق می‌افتد، با شیمی درمانی مجدد، در معرض بیشتر عوارض سمی این داروها قرار می‌گیرند، نشان دهنده آن است که این روش‌ها به حد کافی موثر نیستند. این محدودیت‌ها نیازمند شناسایی بیومارکرهای جدیدی است، به ویژه بیومارکرهایی در سرم یا پلاسما، برای تشخیص، پیش‌آگهی و پیش‌بینی پاسخ به شیمی درمانی هستند (۲۲). شواهد قانع‌کننده‌ای وجود دارد که نشان می‌دهد اختلال در مسیر پیام‌رسانی FGF در بروز بسیاری از سرطان‌ها نقش دارد و می‌تواند پیشرفت تومور را از طریق تکثیر و بقای سلول‌های سرطانی و همچنین رگ‌زایی تومور تقویت کند (۱۴، ۱۵). مطالعات کمی بر روی عملکرد FGF11 انجام شده است، اما مطالعاتی که به تازگی انجام شده است نشان می‌دهد که FGF11 در بازسازی بافت، تشکیل دندان و ترمیم زخم پوست عملکرد دارد. علاوه بر این چندین مطالعه پیشنهاد کردند که FGF11 در رگ‌زایی و تومورزایی نقش دارد. با توجه به اینکه القای هیپوکسی FGF11 به HIF-1 $\alpha$  وابسته است، مطالعه‌ای توسط Helen.J انجام شد که اثر FGF11 را روی عملکرد استئوکلاست‌ها بررسی کرد، با این فرض که القای هیپوکسی FGF11 در استئوکلاست‌ها نیز وابسته به HIF است. به طور

ارتباط بین رونوشت FGF11 و شاخص‌های کلینیکوپاتولوژی با آزمون‌های آماری مورد بررسی قرار گرفت. همان‌گونه که در جدول ۲ نشان داده شده است، میزان رونوشت ژن FGF11 و ارتباط آن با ویژگی‌های کلینیکوپاتولوژی بیماران از جمله سن، درجه تومور، اندازه تومور، مرحله تومور و تهاجم لنفاوی مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نتایج به دست آمده، میزان رونوشت ژن FGF11 با درجه تومور ( $P=0/193$ )، سن ( $P=0/896$ )، اندازه تومور ( $P=0/428$ ) و تهاجم لنفاوی ( $P=0/651$ ) ارتباط معنی‌داری را نشان نداد.



نمودار ۳. مقایسه میزان نسبی رونوشت FGF11 بافت توموری با بافت سالم مجاور تومور در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال

در نمودار ۴ نیز بیماران براساس سیستم مرحله بندی TNM به دو گروه تقسیم شدند که شامل افرادی در مرحله پیشرفته بیماری (III و IV) و افرادی در مرحله اولیه بیماری (I و II) بودند.



نمودار ۴. مقایسه میزان نسبی رونوشت FGF11 در بافت توموری بین دو گروه بیمار در مرحله پیشرفته (۳ و ۴) و مرحله اولیه (۱ و ۲). بر اساس مرحله بندی TNM، Low stage شامل مراحل اولیه سرطان کولورکتال (مراحل ۰، ۱ و ۲) و High stage شامل مراحل پیشرفته سرطان کولورکتال (مراحل ۳ و ۴).

جدول ۲. ارتباط میان سطح رونوشت ژن FGF11 با ویژگی های کلینیکی و پاتولوژی بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال\*

P-value	میزان رونوشت FGF11	تعداد بیماران n (%)	متغیرها
۰/۸۹۶	۴/۲۹	۷ (۲۳/۳٪)	سن بیماران بر حسب سال
	۱۸/۲۰	۲۳ (۷۶/۶٪)	≤۵۰
۰/۸۶۵	۳/۸۶	۹ (۳۰٪)	مرحله بندی تومور
	۵/۶۲	۷ (۲۳/۳٪)	0
	۱۳/۶۱	۸ (۲۶/۷٪)	I
	۴۸/۷۲	۵ (۱۶/۷٪)	II
	۹/۵۴	۱ (۳/۳٪)	III
			IV
۰/۱۹۳	۲۶/۸۱	۹ (۳۰٪)	درجه تومور
	۱۲/۲۲	۱۰ (۳۳/۳٪)	I
	۱۳/۱۱	۳ (۱۰٪)	II
	۳/۹۵	۸ (۲۶/۷٪)	III
			IV
۰/۴۲۸	۱۶/۳۹	۲۳ (۷۶/۶٪)	اندازه تومور ( بر حسب سانتی متر)
	۸/۲۸	۷ (۲۳/۳٪)	≤۵
۰/۶۵۱	۱۳/۵۹	۲۳ (۷۶/۶٪)	تهاجم لنفاوی
	۱۹/۶۷	۴ (۱۳/۳٪)	بلی
		۳ (۱۰٪)	خیر
			نامشخص

\* مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان معنی دار در نظر گرفته شد

شبکه مویرگی در سلول های اندوتلیال انسانی را تحریک می کند که با رگ زایی در ارتباط است. نتایج آنها نشان داد مقدار HIF-1 $\alpha$  با افزایش سطح رونوشت FGF11 افزایش و با خاموش سازی FGF11 کاهش یافته بود که حاکی از نقش تنظیمی FGF11 در تولید یا کاهش HIF-1 $\alpha$  است. در نهایت پیشنهاد کردند یک بازخورد مثبتی بین FGF11 و HIF-1 $\alpha$  وجود دارد که FGF11 با HIF-1 $\alpha$  در تعامل است. بدین صورت که HIF-1 $\alpha$  رونویسی FGF11 را در شرایط هیپوکسی القا می کند و در مقابل مقدار HIF-1 $\alpha$  افزایش می یابد. در این مطالعه، FGF11 را به عنوان یک مدولاتور جدید در پایداری HIF-1 $\alpha$  معرفی کردند که می تواند به عنوان یک هدف درمانی برای فرایندهای پاتولوژیکی مانند رشد تومور القا شده توسط هیپوکسی باشد (۱۷).

Ye و همکارانش در مطالعه ای پیشنهاد کردند که FGF11 هدف مستقیم miR-24-3p است، به دلیل اینکه با عدم فعالیت miR-24-3p سطح رونویسی FGF11 در سلول های توموری سرطان حنجره افزایش می یابد علاوه بر این گزارش کردند که رونوشت FGF11 برای تکثیر T سل ها ضروری است، به دلیل اینکه نتایج آنها نشان داد miR-24-3p اگزوزومال با جلوگیری

کلی افزایش فعالیت استئوکلاست ها مستقیماً منجر به تخریب استخوان در شرایطی مثل آرتروز روماتوئید یا متاستاز سرطان به استخوان می شود. هیپوکسی یک ویژگی مشترک این شرایط است که باز جذب استخوان به واسطه استئوکلاست را از طریق القاء فاکتور رونویسی القایی هیپوکسی (HIF-1 $\alpha$ )، تحریک می کند. بر این اساس، Knowles گزارش کرد که القای رونویسی از FGF11 mRNA توسط هیپوکسی، وابسته به HIF-1 $\alpha$  است. در واقع با تحریک هیپوکسیک باز جذب استخوانی در استئوکلاست های تحت درمان با siRNA اختصاصی FGF11 مهار شده بود و باعث کاهش ترشح این فاکتور شد. همچنین گزارش کرد FGF11 در استئوکلاست های توموری سلولی غول پیکر استخوان افزایش رونوشت داشت. این مطالعه پیشنهاد کرد که FGF11 به عنوان یک فاکتور جدید که منجر به باز جذب استخوان می شود، ممکن است هدفی بالقوه برای توسعه عوامل درمانی ضد باز جذب جدید باشد (۲۱). از طرف دیگر از آنجایی که برخی مطالعات نشان دادند که پروتئین HIF-1 $\alpha$ ، FGF11 و هیپوکسی به تومورزایی مربوط هستند، Lee و همکارانش گزارش کردند FGF11 توسط HIF-1 $\alpha$  تحت هیپوکسی، القا شده و تشکیل

متاستاز نقش داشته باشد. همچنین در مطالعه حاضر که افزایش سطح رونوشت FGF11 در مراحل پیشرفته ۳ و ۴ سرطان کولورکتال قابل توجه بود، لذا احتمال می‌رود که این ژن در مرحله پیشرفته بیماری نقش مهمی داشته باشد.

اشکال متنوعی از RNA از جمله mRNA (messenger RNA) و lncRNA (long noncoding RNA) می‌توانند به راحتی استخراج، ذخیره و در مایعات مختلف بدن مورد مطالعه قرار گیرند. در سرطان، رونویسی RNA تا حد زیادی تنظیم نادرستی دارد؛ بنابراین RNA برای مطالعه بر روی عملکرد سلول‌های سرطانی گزینه خوبی است. برخی مطالعات ژن‌هایی را به‌عنوان بیومارکرهایی برای ارزیابی خطر CRC معرفی کرده‌اند و در واقع استفاده از بیومارکرهای CRC با اختصاصیت بالا در مراحل مختلف توسعه بیماری می‌توانند جایگزین روش‌های غربالگری با هزینه بالا شوند (۲۴). بنابراین، شناسایی بیومارکرهای جدید و مفیدی که بتوانند با مشخصات کلینیکی پاتولوژیکی مرتبط باشند، پیش‌آگاهی را تعیین و ارزیابی کنند، و یا حتی راهبردهای درمانی جدیدی را فراهم کنند، ضروری است.

با توجه به افزایش سطح رونوشت ژن FGF11 در مراحل پیشرفته بیماری، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که با توسعه مطالعات در حجم نمونه وسیع‌تر در خصوص بررسی سطح رونوشت FGF11 و نقش آن در پیشرفت سرطان کولورکتال، ممکن است بتوان از این ژن به‌عنوان بیومارکر جدید در تشخیص مراحل پیشرفت سرطان کولورکتال استفاده کرد.

### تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر حاصل طرح تحقیقاتی دوره کارشناسی ارشد رشته ژنتیک مولکولی خانم گلشن خلفیان است. از همکاری بخش پاتولوژی بیمارستان امام خمینی همکاری در این تحقیق صمیمانه تشکر و قدردانی می‌کنیم.

### REFERENCES

1. Fakhri H, Janbabai G, Bari Z, Eshqi F. The epidemiologic and clinical-pathologic characteristics of colorectal cancers from 1999 to 2007 in Sari, Iran. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences* 2008;18:58-66. [In Persian]
2. Lam K, Pan K, Linnekamp JF, Medema JP, Kandimalla R. DNA methylation based biomarkers in colorectal cancer: a systematic review. *Biochim Biophys Acta* 2016;1866:106-20.
3. Rahimi Pordanjani S, Baeradeh N, Lotfi MH, Pourmohammadi B. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival rates and risk factors. *Razi J Med Sci* 2016;23:41-50.
4. Arvelo F, Sojo F, Cotte C. Biology of colorectal cancer. *Ecancermedicallscience* 2015;9:520.
5. Benson AB, Venook AP, Cederquist L, Chan E, Chen Y-J, Cooper HS, et al. Colon cancer, version 1.2017, NCCN clinical practice guidelines in oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2017;15:370-98.

از تکثیر T سل‌ها از طریق سرکوب FGF11 در پاتوژنز تومور درگیر است. بر این اساس نتیجه گرفتند که احتمال دارد miR-24-3p اگزوزومال و ژن هدفش FGF11 به‌عنوان بیومارکر پیش‌آگاهی بالینی برای بیماران NPC معرفی شود (۲۰). در مطالعه‌ای دیگر، Hu و همکارانش بر اساس مطالعات بالینی مبنی بر اینکه که ممکن است T سل‌ها در تهاجم سرطان پروستات نقش داشته باشند، گزارش کردند که انفیلتراسیون T سل‌های CD4(+) ممکن است با مدولاسیون سیگنال‌های FGF11/miRNA-541 منجر به مهار سیگنال‌های گیرنده آندروژن سرطان پروستات شوند و در نهایت با تغییر سیگنال‌های MMP9 تهاجم سلول‌های سرطان پروستات را تقویت کنند. علاوه بر این آنها برای اثبات نقش FGF11 در تقویت سلول‌های T در متاستاز سرطان پروستات، میزان رونویسی ژن FGF11 را در ۲۰ بافت سرطان پروستات انسانی بررسی کردند که نتایج نشان داد سطح رونوشت FGF11 در بافت توموری نسبت به بافت نرمال حاشیه‌ی تومور بالاتر بود که پیشنهاد کردند ارتباط مثبتی بین رونوشت FGF11 و انفیلتراسیون سلول‌های T، CD4(+) وجود دارد. نتایج حاصل از این مطالعات نشان داد که با هدف‌گیری سیگنال‌های FGF11/ miRNA-541/(AR) androgen receptor /MMP-9 ممکن است رویکرد درمانی بالقوه‌ی جدیدی برای مقابله بهتر با تهاجم سرطان پروستات فراهم شود (۲۳). در مطالعه حاضر افزایش سطح رونوشت ۱/۵۵ برابری FGF11 در نمونه‌های توموری نسبت به نمونه‌های سالم مشاهده شد، اما میزان این اختلاف معنی‌دار نبود که احتمالاً به دلیل محدودیت نمونه‌های مورد مطالعه است. علاوه بر این، ژن FGF11 افزایش رونوشت معنی‌داری در بیماران در مرحله‌ی پیشرفته بیماری نسبت افراد در مراحل اولیه داشت، ولی با سایر فاکتورهای کلینیکی پاتولوژی ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد. با توجه به مطالعات پیشین که نشان دادند ژن FGF11 با فاکتورهای آنژیوژنیک از جمله HIF-1 $\alpha$  تعامل دارد، ممکن است در

6. Grady WM, Markowitz SD. The molecular pathogenesis of colorectal cancer and its potential application to colorectal cancer screening. *Dig Dis Sci* 2015;60:762-72.
7. Nedaeinia R, Sharifi M, Avan A, Kazemi M, Nabinejad A, Ferns GA, et al. Inhibition of microRNA-21 via locked nucleic acid-anti-miR suppressed metastatic features of colorectal cancer cells through modulation of programmed cell death 4. *Tumor Biol* 2017;39:1010428317692261.
8. Saebnia N, Sadeghizadeh M, Movahedi Motlagh F, Esmatabadi D, Javad M. A Review of Genes, Markers, and Methods in Predicting Colon Cancer Recurrence. *J Police Med* 2017;5:389-402.
9. Siravegna G, Bardelli A. Blood circulating tumor DNA for non-invasive genotyping of colon cancer patients. *Mol Oncol* 2016;10:475-80.
10. Henry NL, Hayes DF. Cancer biomarkers. *Mol Oncol* 2012;6:140-6.
11. Yun Y-R, Won JE, Jeon E, Lee S, Kang W, Jo H, et al. Fibroblast growth factors: biology, function, and application for tissue regeneration. *J Tissue Eng* 2010;1:218142.
12. Sato T, Oshima T, Yoshihara K, Yamamoto N, Yamada R, Nagano Y, et al. Overexpression of the fibroblast growth factor receptor-1 gene correlates with liver metastasis in colorectal cancer. *Oncol Reports* 2009;21:211-6.
13. Jang J-H. Reciprocal relationship in gene expression between FGFR1 and FGFR3: implication for tumorigenesis. *Oncogene* 2005;24:945.
14. Hossain WA, Morest D. Fibroblast growth factors (FGF-1, FGF-2) promote migration and neurite growth of mouse cochlear ganglion cells in vitro: immunohistochemistry and antibody perturbation. *J Neurosci Res* 2000;62:40-55.
15. Kottakis F, Polytaichou C, Foltopoulou P, Sanidas I, Kampranis SC, Tsihchlis PN. FGF-2 regulates cell proliferation, migration, and angiogenesis through an NDY1/KDM2B-miR-101-EZH2 pathway. *Mol Cell* 2011;43:285-98.
16. Hennessey JA, Wei EQ, Pitt GS. Fibroblast growth factor homologous factors modulate cardiac calcium channels. *Circ Res* 2013; 113:301215.
17. Lee KW, Yim HS, Shin J, Lee C, Lee JH, Jeong JY. FGF11 induced by hypoxia interacts with HIF-1 $\alpha$  and enhances its stability. *FEBS letters* 2017;591:348-57.
18. Verdier A-S, Mattei M-G, Lovec H, Hartung H, Goldfarb M, Birnbaum D, et al. Chromosomal mapping of two novel human FGF genes, FGF11 and FGF12. *Genomics* 1997;40:151-4.
19. Goetz R, Dover K, Laezza F, Shtraizent N, Huang X, Tchetchik D, et al. Crystal structure of a fibroblast growth factor homologous factor (FHF) defines a conserved surface on FHF for binding and modulation of voltage-gated sodium channels. *J Biol Chem* 2009;284:17883-96.
20. Ye SB, Zhang H, Cai TT, Liu YN, Ni JJ, He J, et al. Exosomal miR-24-3p impedes T-cell function by targeting FGF11 and serves as a potential prognostic biomarker for nasopharyngeal carcinoma. *J Pathol* 2016;240:329-40.
21. Knowles HJ. Hypoxia-induced fibroblast growth factor 11 stimulates osteoclast-mediated resorption of bone. *Calcif Tissue Int* 2017;100:382-91.
22. Toiyama Y, Takahashi M, Hur K, Nagasaka T, Tanaka K, Inoue Y, et al. Serum miR-21 as a diagnostic and prognostic biomarker in colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2013;105:849-59.
23. Hu S, Li L, Yeh S, Cui Y, Li X, Chang H-C, et al. Infiltrating T cells promote prostate cancer metastasis via modulation of FGF11 $\rightarrow$  miRNA-541 $\rightarrow$  androgen receptor (AR) $\rightarrow$  MMP9 signaling. *Mol Oncol* 2015;9:44-57.
24. Nguyen MT, Weinberg DS. Biomarkers in colorectal cancer screening. *J Natl Compr Canc Netw* 2016;14:1033-40.