Iranian Journal of Breast Diseases. 2026; 19(1):49-63

Original Article

The expression of HGPRT1 in the malignant and benign breast tumors: The correlation with clinicopathological status

Armin Nazemi Zadeh[1], Fatemeh Soghra Karami Tehrani[1]✉, Morteza Atri[2]

[1]Department of Clinical Biochemistry, Cancer Research Laboratory, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
[2]Department of Surgery, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Introduction: Breast cancer is the most common malignancy among women worldwide. Although several biomarkers, such as ER, PR, HER-2, and Ki-67, are routinely used for diagnosis and prognosis, there remains a need for additional markers that can reliably distinguish malignant from benign lesions. Hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase 1 (HPRT1), a key enzyme in the purine salvage pathway, has been reported to be elevated in some cancers, but its role in breast cancer remains unclear.

Methods: In the present investigation, HPRT1 was evaluated in malignant (30), benign (20), and normal breast (20) tissues using Real-time PCR and western blot analysis. The correlation between the results and tumor grade (II & III), patient age, ER/PR, stage, tumor size, and Ki-67 was also assessed.

Results: Real-time PCR revealed that HPRT1 mRNA was significantly upregulated in malignant tumors compared to normal (fold change ≈ 2.1, p=0.003) and benign tissues (fold change ≈ 1.9, p=0.007). At the same time, no difference was observed between benign and normal tissues (fold change ≈ 1.1, p=0.06). Western blot analysis confirmed these findings, showing mean ± SEM expression levels of 1.28 ± 0.69 in malignant, 0.87 ± 0.05 in benign, and 0.97 ± 0.09 in normal tissues. Malignant tumors exhibited significantly higher protein expression compared to benign (p=0.002) and normal tissues (p=0.012). No significant correlations were found between HPRT1 expression and clinicopathological parameters.

Conclusions: It is concluded that elevated HPRT1 expression in malignant breast tumors provides strong evidence for its use in the diagnosis and treatment of the disease, as it is increased only in malignant, not benign, tumors.

Keywords: Breast cancer, HPRT1, Real-time PCR, Western Blot analysis, Normal breast tissue, Benign breast tissue, Malignant breast tumor

Received: 2025/06/05
Accepted: 2026/02/21

*Corresponding Author:
Karamitf@modares.ac.ir

Ethics Approval:
IR.MODARES.REC.1398.047

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-25]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.1.49]

Copyright © 2026 Nazemi Zadeh et al. Published by Breast Cancer Research Center, ACECR

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

Introduction

Breast cancer, as one of the most common cancers, is the fourth leading cause of death among women (1-6). The prevalence of breast cancer exhibited a significant upward trend between 2003 and 2017 for both women and men. Specifically, the age-specific incidence rates for breast cancer were recorded at 15.96 per 100,000 women in 2003, escalating to 40.72 per 100,000 women by 2017. Notably, in 2017, the highest incidence rates were observed in the age groups 65-69 years (128.33 per 100,000 women) and 60-64 years (127.79 per 100,000 women) (5).

Hypoxanthine phosphoribosyltransferase 1 (HPRT1), an enzyme in the purine salvage pathway, catalyzes the synthesis of IMP and GMP, providing the building blocks for future cell growth (7-16). Salvage is the primary pathway for nucleotide synthesis throughout most of the cell cycle, accounting for 90% of free purines (7, 17).

This study aimed to determine HPRT1 expression levels in normal, benign, and malignant breast tissues. The correlation of HPRT1 expression with clinicopathological characteristics was also examined.

Materials and methods

Malignant breast tumors (ductal carcinoma), 20 benign, and 20 normal tissues were collected from Bahman Hospital of Tehran, Iran. Patients received no therapy before the surgery. Real-time PCR and western blot analysis were used to evaluate gene expression and protein levels. The correlation with tumor grade (II & III), patient age, ER/PR status, stage, tumor size, and Ki-67 was also assessed.

Results

Real-time PCR revealed that HPRT1 mRNA was significantly upregulated in malignant tumors compared to normal (fold change ≈ 2.1, p=0.003) and benign tissues (fold change ≈ 1.9, p=0.007). At the same time, no difference was observed between benign and normal tissues (fold change ≈ 1.1, p=0.06) (Fig 1). Western blot analysis confirmed these findings, showing mean ± SEM expression levels of 1.28 ± 0.69 in malignant, 0.87 ± 0.05 in benign, and 0.97 ± 0.09 in normal tissues. Malignant tumors exhibited significantly higher protein expression compared to benign (p=0.002) and normal tissues (p=0.012)(Fig 2). No significant correlations were found between HPRT1 expression and clinicopathological parameters (Fig 3 & Fig 4).

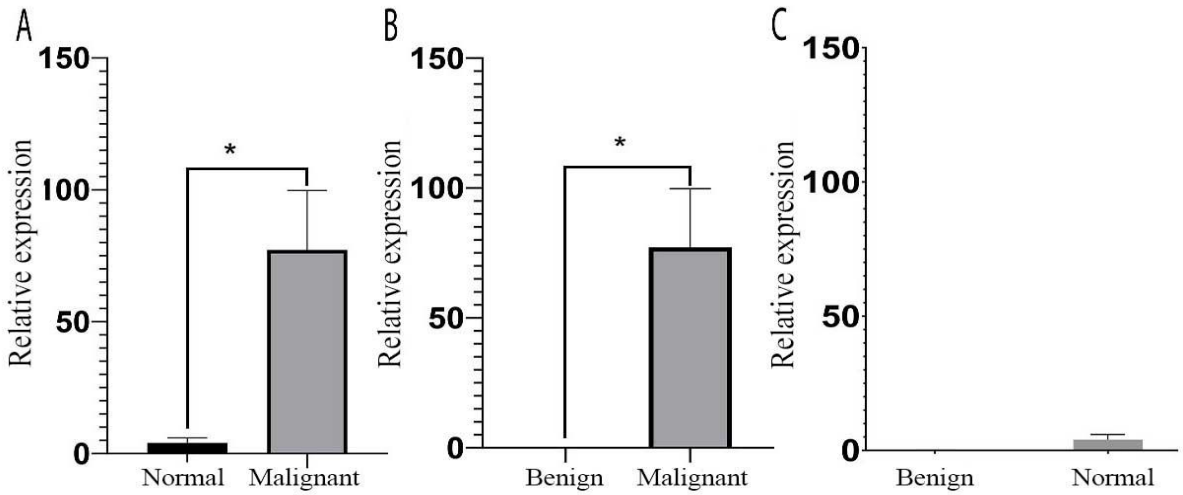


Fig 1: (A)Relative expression of HPRT1 in the malignant and normal breast tissues (p-value=0.003). (B) Relative expression of HPRT1 in malignant and benign breast tissues (p-value=0.007). (C) Relative expression of HPRT1 in benign and normal breast tissues (p-value=0.06)

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-25]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.1.49]

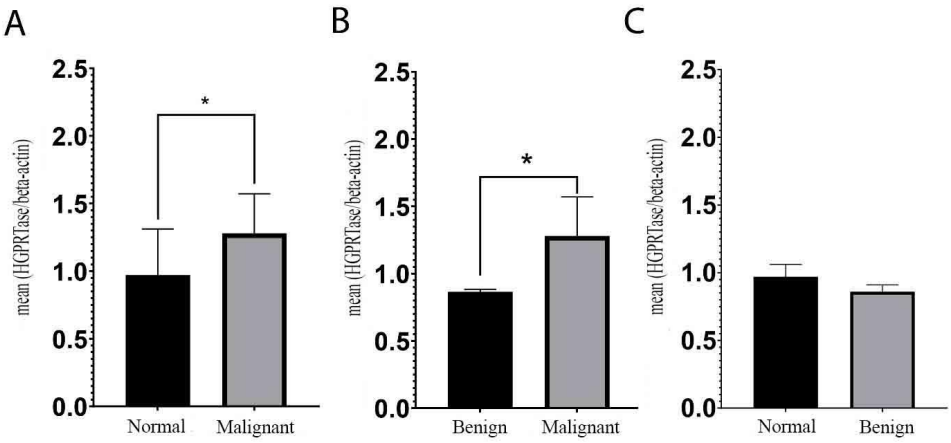


Fig 2: (A) Expression levels of HPRT1 in malignant and normal breast tissues (p-value=0.012), (B) Expression levels of HPRT1 in malignant and benign breast tissues (p-value=0.002), (C) Expression levels of HPRT1 in benign and normal breast tissues (p-value=0.055)

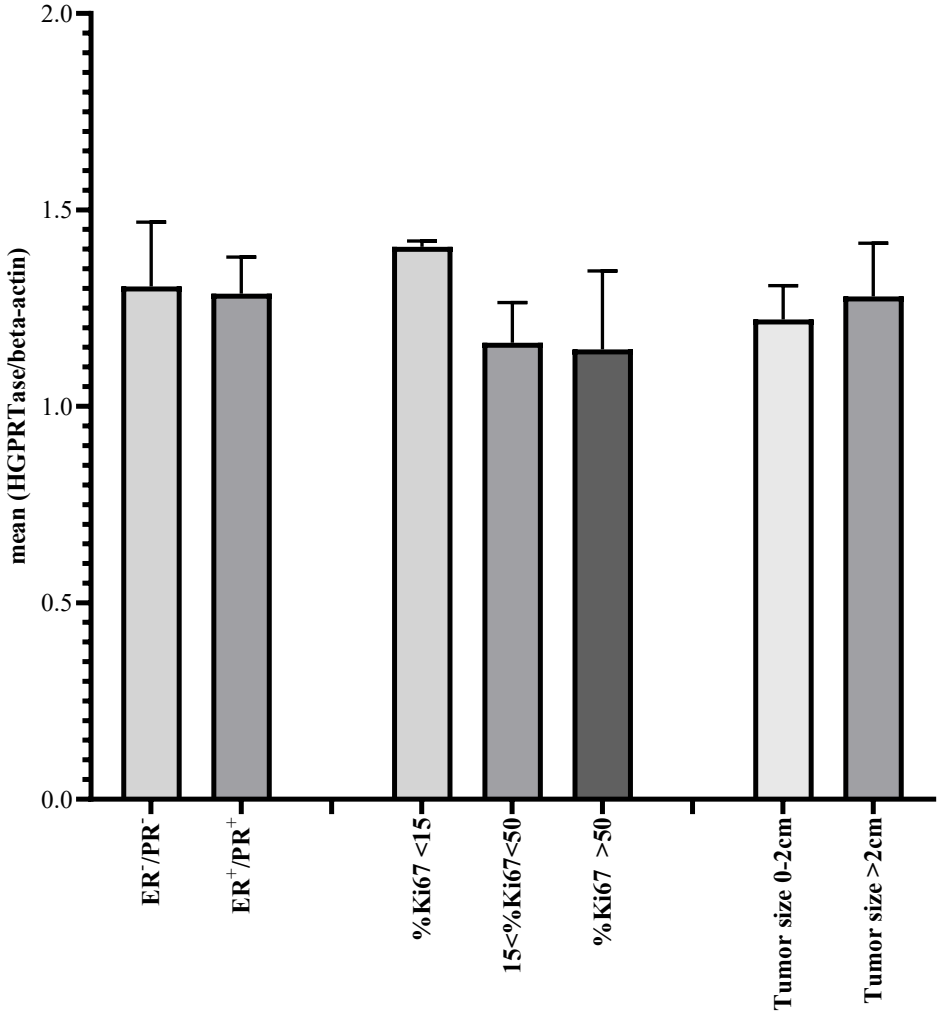


Fig 3: Correlation of HPRT1 with ER/PR, Ki67, and tumor size (P > 0. 05)

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-25]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.1.49]

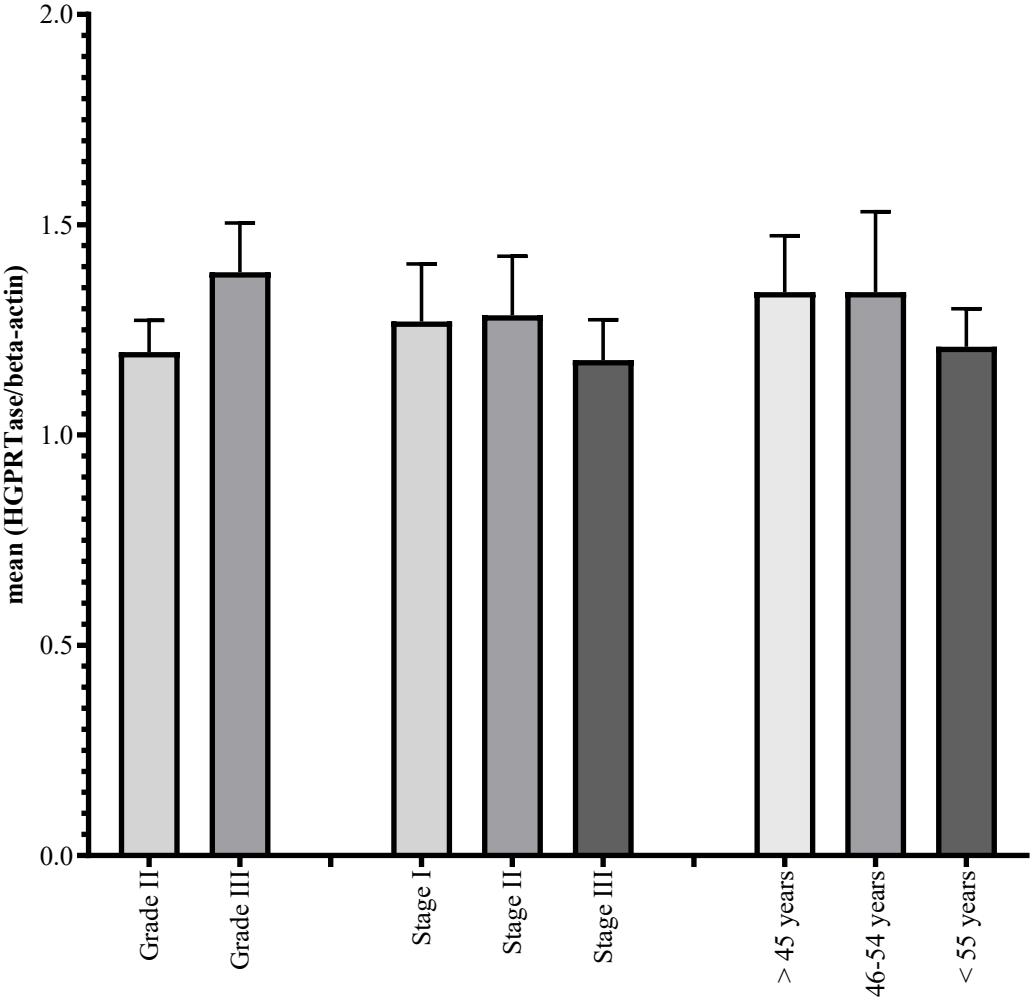


Fig 4: Correlation of HPRT1 with grade, stage, and age (P > 0.05)

Discussion

HPRT1, as an enzyme in the salvage pathway of purine nucleotides, is responsible for the synthesis of building nucleotides necessary for future cell growth (7-16). Due to increased cell growth in cancer and the elevated demand for nucleotides, HPRT1 might be required at higher levels; therefore, it could be differentially expressed in cancers (16). In the cell cycle, HPRT1 is a crucial housekeeping gene that plays a key role in nucleotide production and regulation.(10, 17).

In this study, we evaluated HPRT1 expression levels and observed significant differences between malignant, ductal-subtype, benign, and normal breast tissues. In support of our findings, it has been clearly demonstrated that the expression of HPRT1 was significantly upregulated in breast cancer, most notably in the basal subtype (16). The expression profile of HPRT1 has been evaluated in lung, colon, breast, and prostate cancer, and a similar pattern of expression has been reported (10). Among patients, significant inconsistency in HPRT1 expression has been observed between normal and malignant tissues, although there is an overall tendency toward upregulation of this protein (10). This data supports our observations and indicates that HPRT1 exhibits highly variable expression, making it unsuitable as a transcriptional control standard. It is noteworthy that our results revealed such differences between malignant and benign breast tumors as well, whereas no diversity has been noted between benign and normal breast tissues.

In the present study, no correlation was observed between HPRT1 and tumor grade, stage, ER/PR, Ki-67, tumor size, or patient age. Therefore, it could serve as an early cancer biomarker, since it was upregulated only in the

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-25]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.1.49]

malignant breast tumors, regardless of grade or stage, but not in the benign tissues. However, a correlation with the tumor grade has been reported by Townsend et al (18).

Conclusions

This study demonstrated an elevation in HPRT1 expression in malignant breast tumors. No significant elevation was observed in benign tumors, and There was no significant correlations between HPRT1 expression and clinicopathological parameters including tumor grade (II & III), patient age, ER/PR, stage, tumor size, and Ki-67. Further studies are needed to evaluate the expression of this enzyme in other malignant and Benign tumors to determine whether the differential upregulation observed in lung, breast, colon, and prostate cancers is also present in other malignancies.

References

1. Karami-Tehrani F, Moeinifard M, Aghaei M, Atri M. Evaluation of PDE5 and PDE9 expression in benign and malignant breast tumors. Archives of Medical Research. 2012;43(6):470-5. doi:10.1016/j.arcmed.2012.08.006
2. Arbyn M, Weiderpass E, Bruni L, de Sanjosé S, Saraiya M, Ferlay J, et al. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis. The Lancet Global Health. 2020;8(2):e191-e203. doi:10.1016/s2214-109x(19)30482-6
3. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. CA: a cancer journal for clinicians. 2019;69(1):7-34. doi:10.3322/caac.21551
4. Jamalzei B, Tehrani FSK, Atri M. Evaluation of LDL receptor and Scavenger Receptor, Class B, Type 1 in the malignant and benign breast tumors: The correlation with the expression of miR-199a-5p, miR-199b-5p and miR-455-5p. Gene. 2020;749:144720. doi:10.1016/j.gene.2020.144720
5. Haghighat S, Omidi Z, Ghanbari-Motlagh A. Trend of Breast Cancer Incidence in Iran During A Fifteen-Year Interval According To National Cancer Registry Reports. Iranian Journal of Breast Diseases. 2022;15(2):4-17. doi:10.30699/ijbd.15.2.4
6. Organization WH. International Agency for Research on Cancer Global Cancer Observatory. Cancer today. 2022.
7. Stout JT, Caskey CT. HPRT: gene structure, expression, and mutation. Annual review of genetics. 1985;19(1):127-48. Stout JT, Caskey CT. HPRT: gene structure, expression, and mutation. Annual review of genetics. 1985;19(1):127-48. doi:10.1146/annurev.ge.19.120185.001015
8. Wilson JM, Tarr GE, Kelley WN. Human hypoxanthine (guanine) phosphoribosyltransferase: an amino acid substitution in a mutant form of the enzyme isolated from a patient with gout. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1983;80(3):870-3. doi:10.1073/pnas.80.3.870
9. Caskey CT, Kruh GD. The HPRT locus. Cell. 1979;16(1):1-9. doi:10.1016/0092-8674(79)90182-x
10. Townsend MH, Felsted AM, Ence ZE, Piccolo SR, Robison RA, O'Neill K. Elevated expression of hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase within malignant tissue. Cancer Clin Oncol. 2017;6(6):19-34. . doi:10.1016/j.imbio.2020.151931
11. Sculley DG, Dawson PA, Emmerson BT, Gordon RB. A review of the molecular basis of hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT) deficiency. Human genetics. 1992;90(3):195-207. doi:10.1007/bf00220062
12. Ding H, Yue L, Yang C. Research progress in hypoxanthine-guanine phosphoribosyltrans-ferase. Yi chuan-Hereditas. 2013;35(8):948-54. doi:10.3724/sp.j.1005.2013.00948
13. Fujimori S, Davidson BL, Kelley WN, Palella TD. Identification of a single nucleotide change in the hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase gene (HPRTYale) responsible for Lesch-Nyhan syndrome. The Journal of Clinical Investigation. 1989;83(1):11-3. doi:10.1172/jci113846
14. Fujimori S, Hidaka Y, Davidson BL, Palella TD, Kelley WN. Identification of a single nucleotide change in a mutant gene for

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-25]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.1.49]

hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT Ann Arbor). Human genetics. 1988;79(1):39-43. doi:10.1007/bf00291707

15. Townsend MH, Anderson MD, Weagel EG, Velazquez EJ, Weber KS, Robison RA, et al. Non-small-cell lung cancer cell lines A549 and NCI-H460 express hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase on the plasma membrane. OncoTargets and therapy. 2017;10:1921. doi:10.2147/ott.s128416.
16. J Sedano M, I Ramos E, Choudhari R, L Harrison A, Subramani R, Lakshmanaswamy R, et al. Hypoxanthine Phosphoribosyl Transferase 1 Is Upregulated, Predicts Clinical Outcome and Controls Gene Expression in Breast Cancer. Cancers. 2020;12(6):1522. doi:10.3390/cancers12061522
17. Townsend MH, Felsted AM, Burrup W, Robison RA, O'Neill KL. Examination of Hypoxanthine Guanine Phosphoribosyltransferase as a biomarker for colorectal cancer patients. Molecular & cellular oncology. 2018;5(4):e1481810. doi.org/10.1080/23723556.2018.1481810
18. Townsend MH, Ence ZE, Felsted AM, Parker AC, Piccolo SR, Robison RA, et al. Potential new biomarkers for endometrial cancer. Cancer Cell International. 2019;19(1):19. doi:10.1186/s12935-019-0731-3.

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-25]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.1.49]

مقاله‌پژوهشی

مجله علمی
بیماری‌های پستان ایران
۱۴۰۵؛۱۹(۱):۴۹-۶۳

بیان *HPRT1* در تومورهای بدخیم و خوش‌خیم پستان: رابطه با وضعیت کلینیکوپاتولوژیک

آرمین ناظمی زاده[۱]، فاطمه صغری کرمی تهرانی[۱]✉، مرتضی عطری[۲]

[۱]گروه بیوشیمی بالینی، آزمایشگاه تحقیقات سرطان، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
[۲]گروه جراحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

چکیده

مقدمه: نوکلئوتیدهای مونوفسفات گوانوزین (GMP) و مونوفسفات اینوزین (IMP) از طریق فعالیت آنزیم هیپوگزانتین-گوانین فسفوریبوزیل ترانسفراز (HPRT1)، که یک آنزیم سیتوزولی است، از گوانوزین و هیپوگزانتین سنتز می‌شوند. مواد مغذی نظیر نوکلئوتیدها برای رشد سریع و تکثیر سلول‌های بدخیم حیاتی به شمار می‌آیند، به‌طوری که سلول‌های سرطانی جهت تولید نوکلئوتیدهای موردنیاز برای تقسیم سلولی مجبور به استفاده از مسیرهای بازیافت می‌شوند.

روش بررسی: در این مطالعه، فعالیت آنزیم HPRT1 در بافت‌های پستان بدخیم (۳۰ نمونه)، خوش‌خیم (۲۰ نمونه) و نرمال (۲۰ نمونه) با استفاده از روش‌های Real-time PCR و آنالیز وسترن بلات مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به ترتیب با درجه‌بندی تومور (درجه‌های II و III)، سن بیمار، وضعیت گیرنده‌های استروژن/پروژسترون(ER/PR) ، مرحله بیماری، اندازه تومور و شاخص Ki67 مورد مقایسه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: بیان HPRT1 در تومورهای بدخیم به‌طور معنی‌داری بالاتر از بافت‌های خوش‌خیم و نرمال مشاهده شد (P<۰/۰۵). همچنین، هیچ ارتباط معنی‌داری بین مقدار HPRT1 و درجات تومور، مرحله بیماری، شاخص Ki67، وضعیت گیرنده‌های استروژن/پروژسترون، اندازه تومور و سن بیمار یافت نشد. علاوه بر این، تفاوت قابل توجهی بین بافت‌های خوش‌خیم و نرمال مشاهده نشد (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: افزایش بیان HPRT1 در تومورهای بدخیم پستان می‌تواند به عنوان شاخص مهمی در تشخیص و درمان بیماری مطرح گردد؛ چرا که افزایش این آنزیم تنها در تومورهای بدخیم مشاهده شده و در تومورهای خوش‌خیم به چشم نمی‌خورد.

واژه‌های کلیدی: سرطان پستان، HPRT1، Real-time PCR، وسترن بلات، بافت نرمال پستان، بافت خوش‌خیم پستان، تومور بدخیم پستان

تاریخ ارسال: ۱۴۰۴/۰۳/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۲/۰۲

✉ **نویسنده مسئول:**
Karamitf@modares.ac.ir

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-25]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.1.49]

مقدمه

سرطان پستان، به عنوان یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها، چهارمین علت مرگ و میر در میان زنان است (۱-۶). شیوع سرطان پستان بین سال‌های ۲۰۰۳ تا ۲۰۱۷، هم برای زنان و هم برای مردان، روند صعودی قابل توجهی را نشان داد. به طور خاص، میزان بروز سرطان پستان بر اساس سن، در سال ۲۰۰۳، ۱۵/۹۶ مورد در هر ۱۰۰۰۰۰ زن ثبت شد و تا سال ۲۰۱۷ به ۴۰/۷۲ مورد در هر ۱۰۰۰۰۰ زن افزایش یافت. در سال ۲۰۱۷، بالاترین میزان بروز در گروه‌های سنی ۶۵ تا ۶۹ سال (۱۲۸/۳۳ مورد در هر ۱۰۰۰۰۰ زن) و ۶۰ تا ۶۴ سال (۱۲۷/۷۹ مورد در هر ۱۰۰۰۰۰ زن) مشاهده شد (۵).

هیپوگزانتین فسفوریبوزیل ترانسفراز (Hypoxanthine PhosphoribosylTransferase, HPRT1, HGPRT, HGPRTase) (EC 2.4.2.8) که توسط ژن HPRT1 کد می‌شود، آنزیمی در مسیر بازیافت نوکلئوتیدهای پورین و مسئول سنتز IMP و GMP با انتقال فسفوریبوزیل از فسفوریبوزیل پیروفسفات (PRPP) به بازهای هیپوگزانتین و گوانین است و بلوک‌های ساختمانی لازم برای رشد سلولی در آینده را فراهم می‌کند (۷-۱۷). مسیر بازیافت، مسیر انتخابی سنتز نوکلئوتید برای بخش عمده‌ای از چرخه سلولی است، و در آن ۹۰٪ از بازهای پورین‌های آزاد بازیافت می‌گردند (۷، ۱۷). این آنزیم یک پروتئین ضروری در تولید نوکلئوتیدهای مورد نیاز برای حفظ رشد سلولی و تکثیر سریع سلولی است (۱۷، ۱۸) و افزایش آن در چندین وضعیت بدخیمی مشاهده شده است (۱۶). سطح بیان HPRT1 در بافت‌های طبیعی و بدخیم بسیار متفاوت است. سرطان پستان در مقایسه با سایر بدخیمی‌ها، بالاترین میزان بیان HPRT1 را نشان می‌دهد (۱۰، ۱۶، ۱۷، ۱۹). به همین ترتیب، تومورهای سرطان پروستات در مقایسه با بافت‌های طبیعی، افزایش بیان HPRT1 را نشان داده‌اند (۱۰، ۱۶، ۱۷، ۱۹). HPRT1، یک ژن گزارشگر، در جهش‌های سوماتیک و جهش‌زایی نقش داشته و در ارزیابی عوامل سرطان‌زای بالقوه و درمان سرطان مورد استفاده قرار گرفته است (۱۸، ۲۰). محققان با استفاده از این نشانگر زیستی جهشی، همبستگی‌های معناداری بین جهش‌های HPRT1 و افزایش خطر ابتلا به سرطان یافته‌اند (۱۸، ۲۰). علاوه بر تغییرات رونویسی، افزایش سطح پروتئین HPRT1 در داخل سلول‌ها، همراه با قرارگیری آن در سطح لنفوم‌ها و لوسمی‌های بدخیم سلول B، مشاهده شده است. این الگوی بیان متمایز، پتانسیل HPRT1 را به عنوان یک هدف امیدوارکننده برای ایمونوتراپی برجسته می‌کند و آن را به عنوان یک نقطه آسیب‌پذیری متابولیک، به جای صرفاً یک شاخص غیرفعال فعالیت سلولی، در جایگاه جدیدی قرار می‌دهد (۲۱). این مشاهدات موجب بررسی HPRT1 به عنوان یک نشانگر زیستی بالقوه گردید (۱۶).

در حالی که مطالعات متعددی نشانگرهای زیستی و بیان ژنتیکی مختلف مرتبط با پیشرفت و پیش‌آگهی سرطان پستان را بررسی کرده‌اند، مطالعات کمی در مورد بیان HPRT1 در سرطان پستان وجود دارد. این مطالعه با هدف تعیین سطح بیان HPRT1 در بافت‌های طبیعی، خوش‌خیم و بدخیم پستان انجام شد. همچنین همبستگی بیان HPRT1 با ویژگی‌های کلینیکوپاتولوژیک مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

• بیماران و جمع‌آوری بافت

نمونه‌های بافتی براساس کد اخلاص دریافت شده با شناسه تأیید: IR.MODARES.REC.1398.047 و رضایت آگاهانه در طول جراحی به تعداد ۳۰ تومور بدخیم پستان (کارسینوم مجرایی)، ۲۰ بافت خوش‌خیم و ۲۰ بافت طبیعی از بیمارستان بهمن در شهر تهران کشور ایران (ژوئن ۲۰۱۸ تا فوریه ۲۰۲۰) جمع‌آوری شد. بیماران قبل از جراحی درمانی دریافت نکرده بودند. بلافاصله پس از جراحی، بافت‌های طبیعی مجاور نمونه‌برداری شده و نمونه‌های تومور از نواحی تکثیر غیر نکروزه گرفته شد. هیستوپاتولوژی تمام نمونه‌ها توسط پاتولوژیست تأیید گردید. بافت‌های تازه با دقت از مواد نکروزه و بافت چربی جدا شده، سپس در فویل آلومینیومی پیچیده و تا زمان آزمایش در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری گردید.

نتایج بر اساس سن، وضعیت یائسگی، درجه تومور، اندازه تومور، وضعیت گیرنده استروژن و پروژسترون و Ki67 ارزیابی شد. نشانگرهای زیستی پیش‌آگهی در گزارش‌های پاتولوژی ذکر شده، با روش ایمونوهیستوشیمی ارزیابی شدند.

• معرف‌ها و آنتی‌بادی‌ها

آنتی‌بادی‌های اولیه، علیه β-اکتین موشی (Santa Cruz Biotechnology Inc., USA) و علیهHPRT خرگوشی

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-25]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.1.49]

(Abcam, USA) برای انجام آنالیز وسترن بلات استفاده شد. آنتی‌بادی‌های ثانویه، علیه موش کونژوگه شده با پراکسیداز ترب کوهی (Santa Cruz Biotechnology Inc., USA) (HRP) و علیه خرگوش (DNABiotech, IRI) مورد استفاده قرار گرفت. آنتی‌بادی اولیه علیه HPRT خرگوش در رقت‌های نهایی ۱:۱۰۰۰۰ و علیه β-اکتین موشی در رقت‌های نهایی ۱:۸۰۰ و آنتی‌بادی‌های ثانویه در رقت‌های ۱:۱۰۰۰ استفاده شدند. روش برادفورد برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین انجام شد. برای وسترن بلات، کیت تشخیص ECL از سیتو متین ژن (CMG, IRI) تهیه گردید. غشای انتقال پلی‌وینیلیدین فلوراید (PVDF) و مهارکننده کامل پروتئاز (قرص‌های کوکتل) از شرکت Roche (Life Science, USA) تهیه شدند.

• آماده‌سازی سیتوزول و آنالیز وسترن بلات

از دستگاه میکرو-دیسمبراتور (Braun, Germany) برای پودر کردن بافت‌های منجمد استفاده شد. بافت پودر شده به مدت ۳۰ دقیقه روی یخ، در مقادیر مساوی از بافر هضم RIPA (Radio-immunoprecipitation assay)، حاوی مهارکننده‌های کامل پروتئاز، همگن‌سازی شد. هموژنایز بدست آمده به مدت ۱۵ دقیقه، در دمای ۴ درجه سانتیگراد و ۱۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد و مایع رویی شفاف (سیتوزول) جدا شده و ذخیره گردید. سیتوزول حاوی ۵۰ میکروگرم پروتئین در بافر بارگیری Tris 62.5 mM (pH 6.8) به مدت ۵ دقیقه جوشانده شد و در هر لاین ژل ۱۲٪ SDS-PAGE بارگذاری شد. پلی‌پپتیدها از طریق روش الکتروترانسفر به کاغذ PVDF منتقل شدند.

TBST (10 mM Tris (pH 8.0) (150 mM) NaCl، و Tween 20 (0.05 % V/V) حاوی ۵٪ BSA برای مسدود کردن اتصالات غیر اختصاصی استفاده شد. غشاهای مسدود شده با آنتی‌بادی‌های اولیه HPRT1 و β-اکتین رقیق شده در TBST در دمای ۴ درجه سانتیگراد، به مدت ۲۴ ساعت انکوبه و با محلول TBST شسته شد. آنتی‌بادی‌های ثانویه نشاندار شده با HRP و رقیق شده در TBST به غشا اضافه گردید و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه و با TBST شسته شد. کمپلکس‌های آنتی‌ژن-آنتی‌بادی با استفاده از روش کمیلومینسانس و قرار گرفتن در معرض فیلم اشعه ایکس شناسایی شد. میزان IDV (Integrated Density Value) باندهای وسترن بلات با استفاده از نرم‌افزار ImageJ ارزیابی گردید. مقادیر IDV آنزیم HPRT1 (میانگین مقادیر IDV برای HPRT1) با β-اکتین مقایسه و میانگین مقادیر نسبی محاسبه شد.

• جداسازی RNA و سنتز cDNA

RNA کل از ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بافت با استفاده از کیت استخراج RNA (یکتا تجهیز، ایران) استخراج گردید. برای ارزیابی کیفیت و کمیت RNA استخراج شده از دستگاه اسپکتروفتومتر نانودراپ (Thermo Scientific, Wilmington, USA) استفاده شد. سنتز cDNA توسط کیت سنتز cDNA (پارس توس بیوتکنولوژی، ایران) به کار گرفته شد. cDNA در مخلوط واکنش حاوی ۵۰۰ نانوگرم RNA کل، ۱۰ میکرولیتر بافر مخلوط ۲X، ۱ میکرولیتر مخلوط آنزیم، آب تصفیه‌شده با دی‌اتیل پیروکربنات (DEPC) تا حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر و با استفاده از دستگاه ترموسایکلر گرادیان PeqSTAR 2X (PEQLAB Gradient Thermocycler Biotechnologie GMBH, Erlangen, Germany) سنتز شد. برنامه دمایی برای سنتز cDNA براساس دستورالعمل کیت، ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۴۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه و ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه استفاده گردید.

• واکنش زنجیره‌ای پلیمراز کمی در زمان واقعی (quantitative real-time PCR)

به‌منظور تعیین میزان بیان ژن HPRT1 به‌عنوان ژن هدف و GAPDH به‌عنوان کنترل داخلی، از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز کمی در زمان واقعی (qRT-PCR) با استفاده از مجموعه پرایمرهای اختصاصی و دستگاه ABI 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems، ایالات متحده آمریکا) شد.

شرایط چرخه‌های تکثیر به صورت دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، سپس ۴۰ چرخه شامل ۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و ۳۰ ثانیه در دمای ۶۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. به‌منظور تأیید اختصاصیت فرآیند تکثیر، از تحلیل منحنی ذوب (melting curve analysis) و الکتروفورز ژل استفاده گردید. محاسبه بیان نسبی ژن‌ها با استفاده از روش مقایسه‌ای Ct ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) انجام شد. مقادیر Ct ژن‌های هدف

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-25]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.1.49]

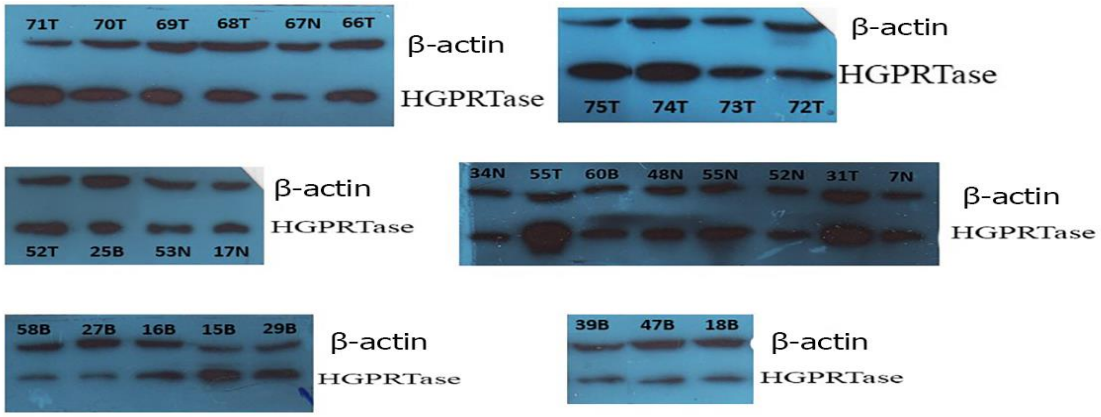
نسبت به ژن GAPDH نرمال‌سازی شدند (ΔCt)، سپس مقادیر ΔCt گروه‌های آزمایشی با گروه کنترل مقایسه گردید. سطوح بیان نسبی به‌صورت $2^{-\Delta\Delta Ct}$ گزارش شد.

- **تحلیل آماری**

داده‌های سه آزمایش مستقل، به صورت سطوح بیان HPRT1/GAPDH ارائه شدند. برای تحلیل تفاوت‌های HPRT1 با عوامل کلینیکوپاتولوژیک، از آزمون‌های Spearman و Mann–Whitney U استفاده شد. مقادیر احتمال (probability value, p-value) کمتر از ۵٪ (P < 0.05) معنی‌دار در نظر گرفته شده و در شکل‌ها با ستاره نمایش داده شد. برای انجام تحلیل‌های آماری بر روی نتایج حاضر، از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ و نرم‌افزار آماری GraphPad Prism نسخه ۸.۴.۳ استفاده شد.

نتایج

میزان HPRT1 در ۳۰ بافت پستان بدخیم، ۲۰ بافت پستان خوش‌خیم و ۲۰ بافت پستان طبیعی اندازه‌گیری شد (شکل ۱).



شکل ۱: میزان آنزیم HPRT1 در بافت‌های طبیعی، خوش‌خیم و بدخیم پستان. میزان آنزیم HPRT1 توسط وسترن بلات سنجش گردید. از β-اکتین برای نرمال‌سازی سطح پروتئین در هر ردیف استفاده شد. N: بافت طبیعی پستان، B: تومور خوش‌خیم پستان، T: تومور بدخیم پستان

Fig 1: HPRT1 expression in the normal, benign, and malignant breast tissues. HPRT1 expressions were detected by Western blot. β-actin was used to normalize the protein levels in each lane (N normal breast tissue, B benign breast tumor, T malignant breast tumor)

مقادیر مشخصه‌های جمعیت‌شناختی تومورهای پستان و پرایمرهای استفاده شده برای qRT-PCR در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است.

Table 1: Demographic characteristics of study populations (mean±SEM)

جدول ۱: ویژگی‌های جمعیت‌شناختی جمعیت‌های مورد مطالعه

	Malignant	Benign	Normal
	N = 30	N = 20	N = 20
Average Age (years)	52.3	29.6	43.7
Age Groups < 45 years 46 –54 years > 55 years	 8(26.6%) 7(23.3%) 15(50%)	 10(50%) 10(50%)	 10(50%) 8(40%) 2(10%)
Tumor size 0 –2 cm > 2 cm	 17(56.6%) 13(43.3%)		
Grade 2 3	 17(56%) 13(44%)		

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-25]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.1.49]

Stage 1 2 3	 10(33.3%) 13(43.3%) 7(23.4%)		
ER/PR ER+/PR+ ER− /PR−	 16(53.3%) 14(46.7%)		
Ki67 < 15% 15 –40% > 40%	 10(33.3%) 12(40%) 8(26.7%)		

Table 2: The primer sequences for quantitative real-time PCR

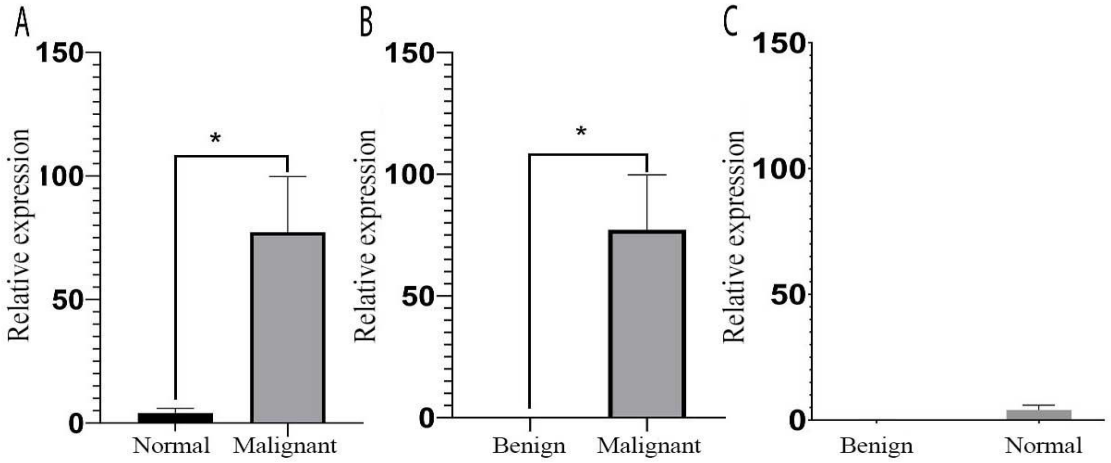
جدول ۲: توالی پرایمرهای مورد استفاده برای quantitative real-time PCR

Primer name	Sequence (5 ′-3 ′)	Tm	Amplicon
HPRT1-forward	CCTGGCGTCGTGATTAGTGA	59.83	189
HPRT1-reverse	GAGCACACAGAGGGCTACA	59.02	
GAPDH-forward	GTGATGGCATGGACTGTGGT	60.32	229
GAPDH -reverse	AGAAGGCTGGGGCTCATTTG	60.32	

- **بیان mRNA و پروتئین HPRT1**

از qRT-PCR برای تجزیه و تحلیل سطح mRNA ژن HPRT1 استفاده شد. میانگین بیان نسبی HPRT1 در تومورهای بدخیم به طور قابل توجهی بالاتر از بافت‌های طبیعی (p-value=0.003، شکل ۲ قسمت A) و تومورهای خوش‌خیم (p-value=0.007، شکل ۲ قسمت B) مشاهده شد. هیچ تفاوت معنی‌داری برای بیان نسبی HPRT1 در بافت‌های خوش‌خیم و طبیعی پستان مشاهده نشد (p-value=0.06) (شکل ۲ قسمت C). آنالیز وسترن بلات برای تأیید نتایج qRT-PCR انجام شد.

میانگین ± SEM برای نسبت HPRT1/β-actin در بافت‌های بدخیم، خوش‌خیم و طبیعی پستان به ترتیب ۰/۶۹ ± ۱/۲۸، ۰/۰۵ ± ۰/۸۶۶ و ۰/۰۹۱ ± ۰/۹۷ بدست آمد. در تومورهای بدخیم پستان، میانگین مقدار آنزیم به طور قابل توجهی بالاتر از تومورهای خوش‌خیم (p= 0.002، شکل ۳ قسمت B) و بافت‌های طبیعی (p= 0.012، شکل ۳ قسمت A) بود. هیچ تفاوت معنی‌داری بین بافت‌های خوش‌خیم و طبیعی مشاهده نشد (p= 0.055، شکل ۳ قسمت C).

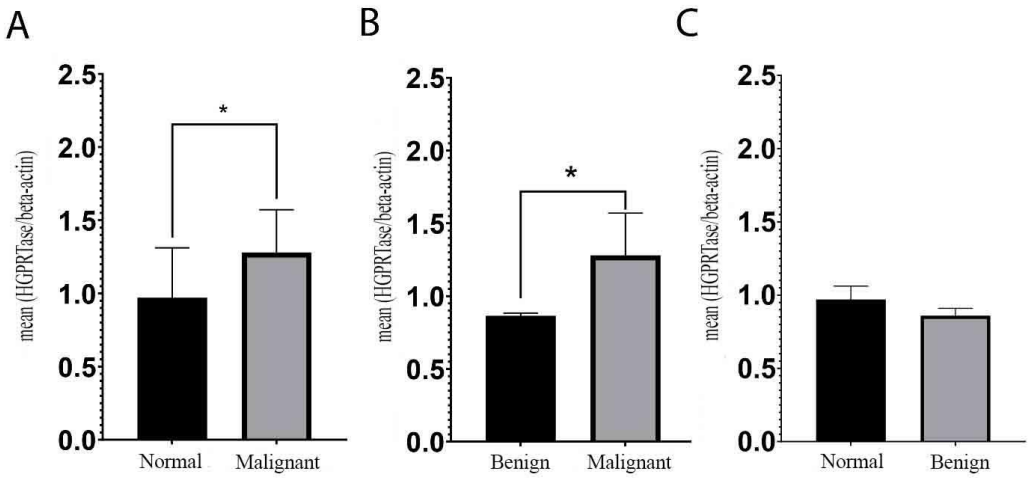


شکل ۲: (A) بیان نسبی HPRT1 در بافت‌های بدخیم و طبیعی پستان (p-value=0.003). (B) بیان نسبی HPRT1 در بافت‌های بدخیم و خوش‌خیم پستان (p-value=0.007). (C) بیان نسبی HPRT1 در بافت‌های خوش‌خیم و طبیعی پستان (p-value=0.06)

Fig 2: (A)Relative expression of HPRT1 in the malignant and normal breast tissues (p-value=0.003). (B) Relative expression of HPRT1 in malignant and benign breast tissues (p-value=0.007). (C) Relative expression of HPRT1 in benign and normal breast tissues (p-value=0.06)

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-25]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.1.49]

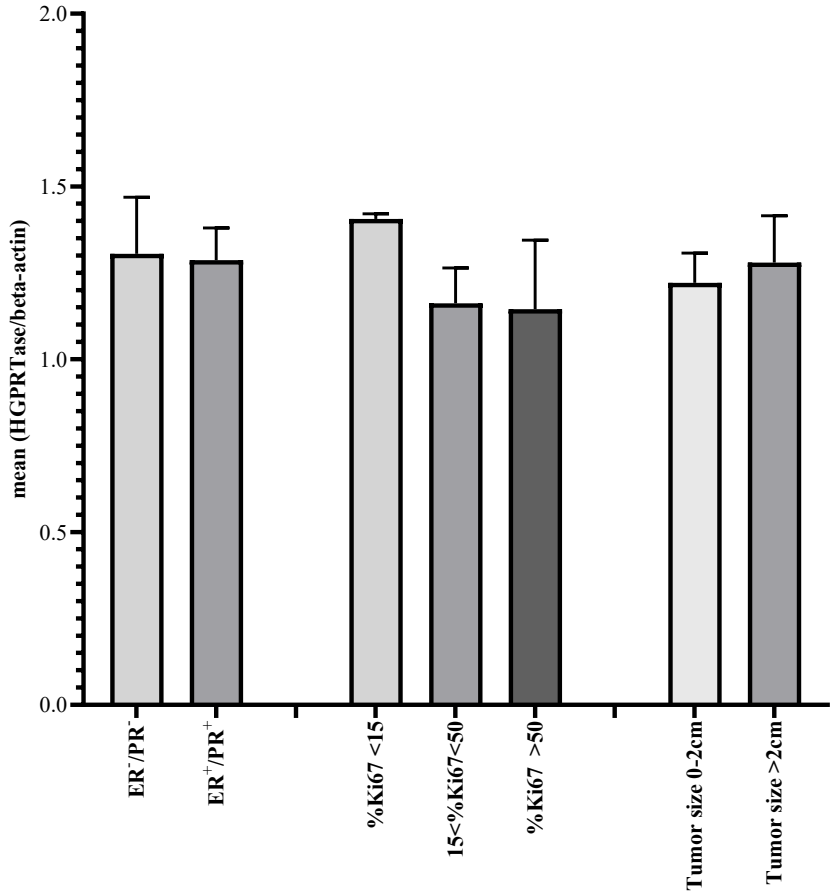


شکل ۲: (A) میزان بیان HPRT1 در بافت‌های بدخیم و طبیعی پستان (p-value=0.012) (B) میزان بیان HPRT1 در بافت‌های بدخیم و خوش‌خیم پستان (p-value=0.002) (C) میزان بیان HPRT1 در بافت‌های خوش‌خیم و طبیعی پستان (p-value=0.055)

Fig 2 (A) Expression levels of HPRT1 in malignant and normal breast tissues (p-value=0.012) (B) Expression levels of HPRT1 in malignant and benign breast tissues (p-value=0.002) (C) Expression levels of HPRT1 in benign and normal breast tissues (p-value=0.055)

- **ارتباط با وضعیت بالینی-پاتولوژیک**

هیچ ارتباط معنی‌داری بین سطح HPRT1 و اندازه تومور، ER/PR (شکل ۴، $P > 0.05$)، درجه (grade)، مرحله (stage) و سن (شکل ۵، $P > 0.05$) مشاهده نشد.

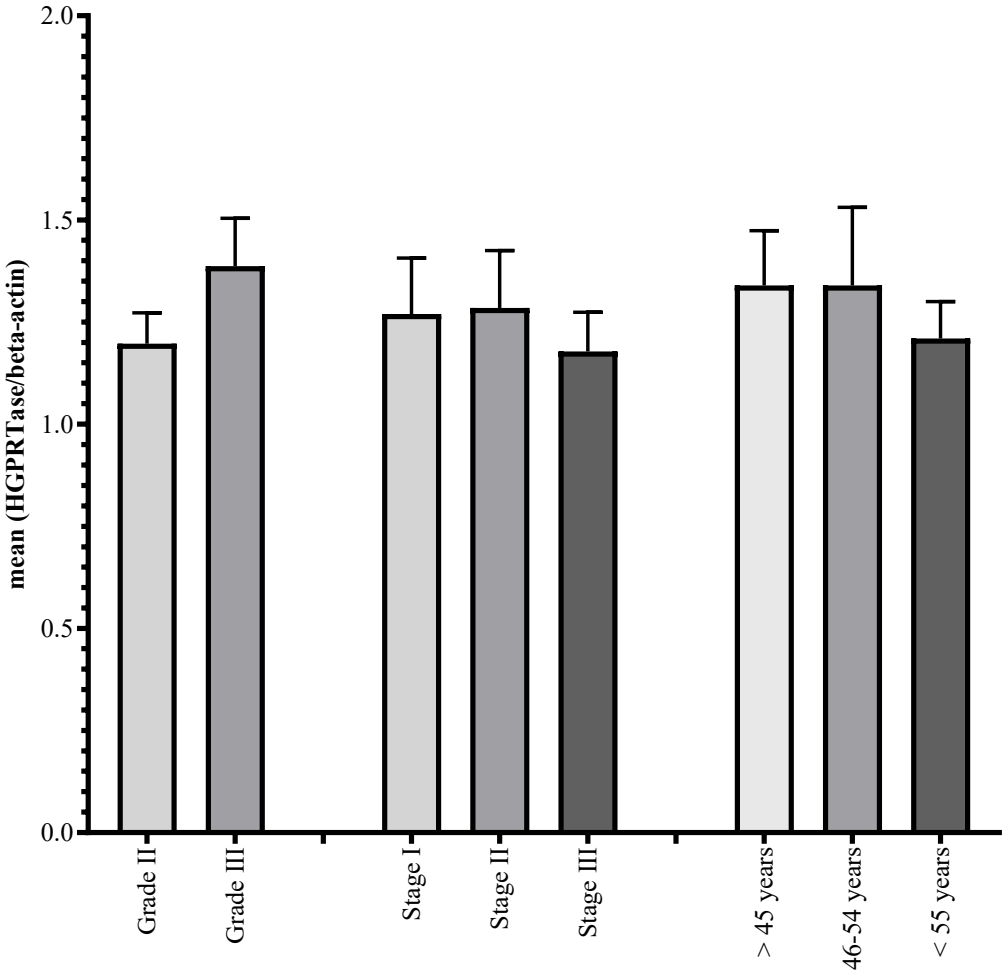


شکل ۳: ارتباط HPRT1 با ER/PR، Ki67 و اندازه تومور ($P > 0.05$).

Fig 3: Correlation of HPRT1 with ER/PR, Ki67, and tumor size (P > 0. 05).

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-25]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.1.49]



شکل ۴: همبستگی HPRT1 با درجه، مرحله و سن ($P > 0.05$).

Fig 4: Correlation of HPRT1 with grade, stage, and age ($P > 0.05$).

بحث

HPRT1 به عنوان آنزیمی در مسیر بازیافت نوکلئوتیدهای پورین، مسئول سنتز نوکلئوتیدهای موردنیاز برای رشد سلولی است (۷-۱۶). با توجه به افزایش رشد سلولی در سرطان و افزایش تقاضا برای نوکلئوتیدها، HPRT1 ممکن است در سطوح بالاتری مورد نیاز باشد؛ بنابراین، می‌تواند به طور متفاوتی در سرطان‌ها بیان شود (۱۶). در چرخه سلولی، HPRT1 یک ژن خانه‌دار حیاتی است و نقش اساسی در تولید و تنظیم نوکلئوتیدها ایفا می‌کند (۱۰، ۱۷). در این مطالعه، ما سطح بیان HPRT1 را ارزیابی کرده‌ایم و تفاوت معنی‌داری بین بافت‌های بدخیم زیرگروه مجرایی (ductal subtype) با خوش‌خیم و طبیعی پستان مشاهده شده است. در تأیید یافته‌های ما، به وضوح نشان داده شده است که بیان HPRT1 در سرطان پستان، به‌ویژه در زیرگروه پایه (basal subtype)، به‌طور قابل توجهی افزایش یافته است (۱۶). پروفایل بیان HPRT1 در سرطان ریه، روده بزرگ، پستان و پروستات ارزیابی و الگوی بیان مشابهی گزارش شده است (۱۰). در میان بیماران، ناهماهنگی قابل توجهی در بیان HPRT1 در بافت‌های طبیعی و بدخیم مشاهده شده است، اگرچه به صورت کلی افزایش بیان این پروتئین مشاهده شده است (۱۰). این داده‌ها مشاهدات ما را پشتیبانی می‌کند و نشان می‌دهد که HPRT1 بیان بسیار متغیری دارد، که آن را به عنوان یک استاندارد کنترل رونویسی نامناسب می‌کند. شایان ذکر است که نتایج ما چنین تفاوت‌هایی را بین تومورهای بدخیم و خوش‌خیم پستان نیز نشان داد، در حالی که تفاوتی میان بافت‌های خوش‌خیم و طبیعی پستان مشاهده نشده است. در مطالعه حاضر، هیچ ارتباطی میان HPRT1 و درجه تومور، مرحله، ER/PR، Ki67، اندازه و سن بیمار نشان داده نشد. بنابراین، می‌تواند به عنوان یک نشانگر زیستی

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-25]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.1.49]

اولیه سرطان عمل کند، زیرا فقط در تومورهای بدخیم پستان، صرف‌نظر از درجه یا مرحله، افزایش بیان داشت، اما در بافت‌های خوش‌خیم چنین افزایشی مشاهده نشد. با این حال Townsend و همکارانش ارتباط میان درجه تومور و HPRT1 را گزارش نموده‌اند (۲۲). مطالعات بیشتری برای ارزیابی میزان بیان این آنزیم در سایر تومورهای بدخیم و خوش‌خیم انواع سرطان‌ها ازقبیل ریه، پستان، روده بزرگ و پروستات پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه تحت عنوان "بررسی میزان بیان ژن آنزیم HGPRTase در تومور بدخیم و بافت نرمال پستان" در مقطع کارشناسی ارشد می‌باشد که با حمایت دانشگاه تربیت مدرس اجرا شده است. با حمایت مالی پایان‌نامه کارشناسی ارشد از دانشگاه تربیت مدرس- دانشکده پزشکی انجام شده است.

بیانیه اخلاق

تمام مراحل انجام شده در این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه تربیت مدرس با شناسه تأیید: IR.MODARES.REC.1398.047 و مطابق با استانداردهای اخلاقی اعلامیه هلسینکی ۱۹۶۴ و اصلاحات بعدی آن یا استانداردهای اخلاقی مشابه بوده است.

تضاد منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

مشارکت نویسندگان

همه نویسندگان در مطالعه حاضر شرکت داشتند. دکتر فاطمه کرمی تهرانی تجزیه و تحلیل داده‌ها و نگارش مقاله را به عهده داشت. آرمین ناظمی زاده بخش آزمایش‌های مطالعه را انجام داد. جراحی بیماران و جمع‌آوری نمونه‌های بافتی توسط دکتر مرتضی عطری انجام گرفت.

References

1. Karami-Tehrani F, Moeinifard M, Aghaei M, Atri M. Evaluation of PDE5 and PDE9 expression in benign and malignant breast tumors. Archives of Medical Research. 2012;43(6):470-5. doi:10.1016/j.arcmed.2012.08.006
2. Arbyn M, Weiderpass E, Bruni L, de Sanjosé S, Saraiya M, Ferlay J, et al. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis. The Lancet Global Health. 2020;8(2):e191-e203. doi:10.1016/s2214-109x(19)30482-6
3. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. CA: a cancer journal for clinicians. 2019;69(1):7-34. doi:10.3322/caac.21551
4. Jamalzei B, Tehrani FSK, Atri M. Evaluation of LDL receptor and Scavenger Receptor, Class B, Type 1 in the malignant and benign breast tumors: The correlation with the expression of miR-199a-5p, miR-199b-5p and miR-455-5p. Gene. 2020;749:144720. doi:10.1016/j.gene.2020.144720
5. Haghighat S, Omidi Z, Ghanbari-Motlagh A. Trend of Breast Cancer Incidence in Iran During A Fifteen-Year Interval According To National Cancer Registry Reports. Iranian Journal of Breast Diseases. 2022;15(2):4-17. doi:10.30699/ijbd.15.2.4
6. Organization WH. International Agency for Research on Cancer Global Cancer Observatory. Cancer today. 2022.
7. Stout JT, Caskey CT. HPRT: gene structure, expression, and mutation. Annual review of genetics. 1985;19(1):127-48. doi:10.1146/annurev.ge.19.120185.001015
8. Wilson JM, Tarr GE, Kelley WN. Human hypoxanthine (guanine) phosphoribosyltransferase: an amino acid substitution in a mutant form of the enzyme isolated from a patient with gout. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1983;80(3):870-3. doi:10.1073/pnas.80.3.870
9. Caskey CT, Kruh GD. The HPRT locus. Cell. 1979;16(1):1-9. doi:10.1016/0092-8674(79)90182-x
10. Townsend MH, Felsted AM, Ence ZE, Piccolo SR, Robison RA, O'Neill K. Elevated expression of hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase within malignant tissue. Cancer Clin Oncol.

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-25]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.1.49]

2017;6(6):19-34. doi:10.1016/j.imbio.2020.151931
11. Sculley DG, Dawson PA, Emmerson BT, Gordon RB. A review of the molecular basis of hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT) deficiency. Human genetics. 1992;90(3):195-207. doi:10.1007/bf00220062
12. Ding H, Yue L, Yang C. Research progress in hypoxanthine-guanine phosphoribosyltrans-ferase. Yi chuan-Hereditas. 2013;35(8):948-54. doi:10.3724/sp.j.1005.2013.00948
13. Fujimori S, Davidson BL, Kelley WN, Palella TD. Identification of a single nucleotide change in the hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase gene (HPRTYale) responsible for Lesch-Nyhan syndrome. The Journal of Clinical Investigation. 1989;83(1):11-13. doi:10.1172/jci113846
14. Fujimori S, Hidaka Y, Davidson BL, Palella TD, Kelley WN. Identification of a single nucleotide change in a mutant gene for hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT Ann Arbor). Human genetics. 1988;79(1):39-43. doi:10.1007/bf00291707
15. Townsend MH, Anderson MD, Weagel EG, Velazquez EJ, Weber KS, Robison RA, et al. Non-small-cell lung cancer cell lines A549 and NCI-H460 express hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase on the plasma membrane. OncoTargets and therapy. 2017;10:1921. doi:10.2147/ott.s128416
16. J Sedano M, I Ramos E, Choudhari R, L Harrison A, Subramani R, Lakshmanaswamy R, et al. Hypoxanthine Phosphoribosyl Transferase 1 Is Upregulated, Predicts Clinical Outcome and Controls Gene Expression in Breast Cancer. Cancers. 2020;12(6):1522. doi:10.3390/cancers12061522
17. Townsend MH, Felsted AM ,Burrup W, Robison RA, O'Neill KL. Examination of Hypoxanthine Guanine Phosphoribosyltransferase as a biomarker for colorectal cancer patients. Molecular & cellular oncology. 2018;5(4):e1481810. doi:10.1080/23723556.2018.1481810
18. Townsend MH, Robison RA, O'Neill KL. A review of HPRT and its emerging role in cancer. Medical Oncology. 2018;35(6):89. doi.org/10.1007/s12032-018-1144-1
19. Townsend MH, Felsted AM, Ence ZE, Piccolo SR, Robison RA, O'Neill KL. Falling from grace: HPRT is not suitable as an endogenous control for cancer-related studies. Molecular & cellular oncology. 2019;6(2):1-10. doi.org/10.1080/23723556.2019.1575691
20. Chang Y-J, Tseng C-Y, Lin P-Y, Chuang Y-C, Chao M-W. Acute exposure to DEHP metabolite, MEHP cause genotoxicity, mutagenesis and carcinogenicity in mammalian Chinese hamster ovary cells. Carcinogenesis. 2017;38(3):336-45. doi:10.1093/carcin/bgx009
21. Townsend MH, Ence ZE, Cox TP, Lattin JE, Burrup W, Boyer MK, et al. Evaluation of the upregulation and surface expression of hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase in acute lymphoblastic leukemia and Burkitt's B cell lymphoma. Cancer Cell International. 2020;20(1):375. doi:10.1186/s12935-020-01457-8
22. Townsend MH, Ence ZE, Felsted AM, Parker AC, Piccolo SR, Robison RA, et al. Potential new biomarkers for endometrial cancer. Cancer Cell International. 2019;19(1):19. doi:10.1186/s12935-019-0731-3

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-25]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.1.49]