Iranian Quarterly Journal of Breast Disease. 2020; 12(4):21.

Original Article

Study of Long Noncoding RNA FER1L4 and RB1, as Its Competing Endogenous RNA Network Target Gene, in Breast Cancer

Shaghaghi Torkdari Z[1], Khalaj-Kondori M[1*], Hosseinpour Feizi MA[1]

[1] Department of Genetics, Animal Biology Group, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Receive: 11/9/2019
Accepted: 1/1/2020

[*]**Corresponding Author:**
khalaj@tabrizu.ac.ir

Ethics Approval:
IR.TABRIZU.REC.1398.016

Abstract

Introduction: Breast cancer is the second most common cause of cancer-related death among females, which requires an exploration for markers to propose a more specific categorization of this cancer. Long noncoding RNAs (lncRNAs), the main subset of noncoding transcripts, are involved in tumorigenic processes. In this study, we investigated the expression of the fer-1–like family member 4 (*FER1L4*) lncRNA and its competitive endogenous RNA network target gene, RB transcriptional corepressor 1 (*RB1*), in ductal carcinoma (invasive and in situ) tissue and its adjacent noncancerous tissue (ANCT). Furthermore, associations of *FER1L4* and *RB1* with various clinical features of the patients were analyzed.

Methods: Quantitative real-time PCR was used to measure the expression of the mentioned genes in 61 samples of ductal carcinoma and their ANCTs, and the data were analyzed using ANOVA and *t* tests.

Results: *FER1L* expression was not significantly different in breast tumor samples compared with their ANCT samples, while *RB1* showed significant downregulation in tumor tissues ($P = 0.008$). In addition, increased expression of *FER1L4* and decreased *RB1* expression were significantly correlated with lymph node metastasis in breast cancer patients ($P < 0.05$).

Conclusion: *FER1L4* is not upregulated in breast cancer tissue. However, *RB1* expression is significantly downregulated.

Keywords: lncRNA *FER1L4*, Breast Cancer, *RB1*, ceRNA Network

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.17359406.1398.12.4.4.3]
[DOI: 10.30699/ijbd.12.4.21]

فصلنامه بیماری های پستان ایران
۱۳۹۸؛ ۱۲(٤): ۲۱-۳۰

مقاله پژوهشی

مطالعه RNA طویل غیر کد کننده FER1L4 و RB1 به عنوان ژن هدف در شبکه ceRNA در سرطان پستان

زینب شقاقی ترکداری[۱]، محمد خلج کندری[۱*]، محمدعلی حسینپور فیضی[۱]

[۱] بخش ژنتیک، گروه علوم جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

تاریخ ارسال: ۱۳۹۸/۶/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۷

[*] نویسنده مسئول:
khalaj@tabrizu.ac.ir

چکیده

مقدمه: سرطان پستان دومین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان در بین زنان است که نیازمند مطالعه مارکرها برای ارایه گروه‌بندی ویژه از این سرطان می‌باشد. یافته‌ها نشان می‌دهد که lncRNAها به عنوان زیر مجموعه اصلی رونوشت‌های غیرکدکننده در پروسه‌های تومورزایی دخیل می‌باشند. ما در این مطالعه بیان FER1L4 و ژن هدف آن در شبکه ceRNA، کورپرسور رونویسی RB ۱ (RB1)، را در ۶۱ نمونه بافتی سرطان پستان از نوع کارسینومای داکتال (غیر تهاجمی و درجا) و بافت غیرتوموری مجاورش مطالعه کردیم. همچنین ارتباط FER1L4 و ژن RB1 با ویژگی‌های مختلف بالینی بیماران مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: بیان ژن‌های مذکور با استفاده از روش Real time PCR در ۶۱ نمونه مربوط به کارسینومای داکتال (غیرتهاجمی و درجا) پستان در مقایسه با بافت‌های غیرتوموری مجاور آنها در یک گروه از بیماران مبتلا به سرطان پستان بررسی شد و نتایج حاصل با روش آماری ANOVA و T-test مورد آنالیز قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که FER1L4 تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های توموری در مقایسه با بافت‌های غیر توموری مجاورشان نداشت در حالیکه ژن RB1 در بافت‌های سرطانی کاهش بیان معنی‌داری داشته است ($P=0.008$). علاوه بر این نتایج نشان می‌دهد که افزایش بیان FER1L4 و برعکس کاهش بیان RB1 به طور معنی‌داری با وجود متاستاز در غدد لنفاوی بیماران ارتباط دارد ($P<0.05$).

نتیجه‌گیری: برخلاف مطالعات پیشین، در مطالعه ما افزایش معنی‌داری از FER1L4 در سرطان پستان یافت نشد ولی با این حال بیان ژن RB1 به صورت معنی‌داری کاهش یافته است.

واژه‌های کلیدی: FER1L4 lncRNA، سرطان پستان، RB1، شبکه ceRNA

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.17359406.1398.12.4.4.3]
[DOI: 10.30699/ijbd.12.4.21]

مقدمه

سرطان یکی از مهم‌ترین عوامل مرگ و میر انسان و یکی از پر هزینه‌ترین بیماری‌های جوامع انسانی است که علاوه بر رنج و مشقت فراوانی که برای بیمار و اطرافیان آن دارد مشکلات فراوانی نیز برای سیستم بهداشتی درمانی کشورها به دنبال دارد. سرطان‌های وراثتی ۱۰٪ از کل سرطان‌ها در زنان و مردان را شامل می‌شود که با کشف ژن‌های جدید دخیل در به ارث رساندن سرطان‌ها، این سهم بیشتر نیز می‌شود. بنابراین یافتن مکانیسم‌های سلولی- مولکولی و نیز عوامل و ژن‌های هدایت کننده به سمت ایجاد سلول سرطانی می‌تواند در یافتن راه‌های تشخیص، درمان و پیشگیری از سرطان بسیار راه‌گشا باشد.

سرطان پستان به عنوان یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها در بین زنان شناخته شده است به گونه‌ای که در سال ۲۰۱۸ تقریبا ۲۶۶ هزار فرد مبتلا به این سرطان در کشور آمریکا شناسایی شده است که این رقم ۳۰٪ از کل سرطان‌ها در بین زنان را به خود اختصاص می‌دهد. هر ساله ۴۰ هزار زن در کشورهای پیشرفته‌ای مانند آمریکا بر اثر ابتلا به سرطان پستان جان خود را از دست می‌دهند و این آمار نشان داده است که این بیماری دومین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان بعد از سرطان ریه در زنان آمریکایی می‌باشد. شیوع این بیماری در کشورهای مختلف متفاوت است به طوری‌که بیشترین آمار مربوط به کشور آمریکا و اروپای شمالی و کمترین مقدار مختص به آسیا می‌باشد (۱). بررسی‌های انجام شده در ایران نیز نشان داده‌اند که حدود ۳٪ مبتلایان به سرطان پستان مردان می‌باشند. همچنین میزان بروز استاندارد شده (ASR) کل کشور برای جمعیت زنان تعداد ۲۴ در هر صد هزار و برای جمعیت مردان ۰/۸۲ در هر صد هزار به دست آمده است (۲).

یکی از عوامل موثر در ایجاد سرطان که امروزه به طور وسیع مورد بررسی و مطالعه قرار می گیرد ژن‌های تنظیم کننده‌ی مسیرهای ایجاد سرطان می‌باشد. پیشرفت‌های اخیر در زمینه بیولوژی RNA نشان می‌دهد که RNAهای غیر کد کننده، مولکول‌های ضروری هستندکه عملکردهای تنظیمی ویژه‌ای در شکل‌گیری و پیشرفت بیماری‌ها به ویژه سرطان دارند (۱، ۳، ۴). RNAهای طویل غیرکد کننده (lncRNAها) گروهی از RNAهای غیرکد کننده می‌باشند که طول آن‌ها به بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید می‌رسد (۴، ۵). LncRNAها بر اساس جایگاه ژنومی به چهار گروه تقسیم می شوند که عبارتند از: lncRNAهای سنس، lncRNAهای آنتی سنس، lncRNAهای اینترونی و lncRNAهای بین ژنی (۶). LncRNAها نقش بسیار مهمی در تنظیم شبکه‌های ژنتیکی و مسیرهای سیگنالی در طول رشد و نمو بر عهده دارند. بنابراین عدم تنظیم آن‌ها منجر به ایجاد فنوتیپ بیماری می‌گردد. این مولکول‌ها مکانیسم‌های مختلفی برای تنظیم و کنترل مسیرهای سلولی دارند. برخی lncRNA ها به عنوان decoy یا تله برای miRNAها عمل می‌کنند و با اتصال به آن‌ها مانع اتصال و تاثیر این مولکول‌ها بر روی mRNAهای هدفشان می شوند (۷). برخی دیگر با تشکیل مارپیچ های سه رشته‌ای مانع اتصال mRNA به جایگاه هدف آن بر روی DNA می شوند. گروهی از lncRNA ها نیز از طریق مداخله در فرآیند ترجمه و اسپلایسینگ mRNA عمل می‌کنند. در نتیجه فعالیت مسیرهای حیاتی در پروسه سرطان‌زایی با تنظیم نادرست lncRNAها دچار تغییر و اختلال می‌گردد (۸).

میکروآرنی‌ها فراوان‌ترین گروه از RNAهای غیرکد کننده‌ی کوتاه می‌باشند که در تنظیم مهاری mRNAها شرکت می‌کنند. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که میانکنش میکروآرنی با mRNA به صورت یک جهته نیست بلکه مولکول‌های دیگری مانند lncRNAها می‌توانند با این میکروآرنی‌ها به رقابت بپردازند. این نوع lncRNAها را RNAهای اندوژن رقابتی (ceRNAها) می‌نامند. این ceRNAها با اتصال به جایگاه‌های اتصالی میکروآرنی‌ها (که با عنوان عناصر پاسخ‌دهنده میکروآرنی‌ها یا MRE نیز شناخته می‌شوند) به صورت molecular sponge عمل کرده و بنابراین منجر به فعال‌سازی ژن‌های هدف میکروآرنی‌های مذکور می‌گردند. تداخل شبکه ceRNA برای نخستین بار در مورد ژن PTEN شناسایی شده است که تغییر در این شبکه در سرطان‌های انسانی مختلفی مانند سرطان پروستات، سرطان دستگاه گوارش، گلیوبلاستوما و ملانوما شناسایی شده است (۹).

lncRNAهای مختلفی در سرطان پستان مورد شناسایی و بررسی قرار گرفته‌اند که در فرآیندهای مختلف تومورزایی، تکثیر و نیز مهاجرت سلول‌ها نقش دارند. به عنوان مثال HOXA-AS2, ATB و CCAT2 در

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1398.12.4.4.3]
[DOI: 10.30699/ijbd.12.4.21]

بافت‌های توموری در مقایسه با بافت‌های سالم حاشیه‌ای دچار افزایش بیان شده و در نتیجه منجر به افزایش تکثیر، مهاجرت سلولی و متاستاز می‌گردند. FER1L4 -fer 1like family member 4) یکی از lncRNAهای شناخته شده در سال‌های اخیر می‌باشدکه توسط سانگ و همکارانش در سال ۲۰۱۳ شناسایی شد (۱۰). بررسی‌های بعدی این گروه تحقیقاتی نشان داد که این lncRNA در بافت‌های سرطانی معده دچار کاهش بیان می‌گردد (۱۱). علی‌رغم بیان پایین FER1L4 در سرطان‌های مرتبط با دستگاه گوارش، مطالعات دیگری صورت گرفته است که بیان بالای این ژن در نمونه‌های توموری را نشان داده‌اند مانند مطالعه Ding و همکارانش در سال ۲۰۱۷ بر روی گلیوبلاستوما (۱۲) و نیز مطالعه Kong در سال ۲۰۱۸ بر روی کارسینومای اندومتریال (۱۳).

سرکوبگر تومور رتینوبلاستوما (RB) تنظیم‌کننده مهم چرخه سلولی و تعداد زیادی از فرآیندهایی است که مرتبط با رشد تومور هستند. غیرفعال شدن عملکردی RBبه صورت پراکنده در بسیاری از تومورهای انسانی شناسایی شده است که در شروع بیماری و یا پیشرفت آن دخیل می‌باشد. مطالعات متعددی در حال حاضر نشان داده‌اند که از بین رفتن این سرکوبگر تومور، یک نوع آسیب‌پذیری انتخابی ایجاد می‌کند که می‌تواند به صورت درمانی مورد هدف قرار گرفته و بنابراین یک رویکرد دقیق برای بهره برداری از فقدان RB را ارایه دهد (۱۴-۱۶). اعتقاد بر این است که RB در نتیجه دو مکانیسم متفاوت در سرطان پستان غیرفعال می‌شود. یکی از این مکانیسم‌ها از دست دادن ژن RB در نتیجه حذف هموزیگوت در سرطان پستان از نوع triple negative بوده و مسیر دوم از طریق فسفوریلاسیون به‌وسیله CDK4 / 6 می‌باشد (۱۷). بنابراین ارایه روشی برای هدف قرار دادن انتخابی فقدان RB می‌تواند یک رویکرد جدید برای درمان بیماران TNBC و نیز هدف قرار دادن تومورهای ER / PR مثبت در درمان مهاری CDK4 / 6 باشد. در این مطالعه، در شبکه miR106a 5p- FER1L4- RB1، ژن RB1 نیز به عنوان ژن هدف FER1L4 انتخاب شده است. مسیرهای مرتبط با ژن RB1 نقش مهمی در جنبه‌های مختلف بیولوژی سرطان پستان دارد که تومورهای ابتدایی تا درمان‌های هدفمند متاستازهای این بیماری را شامل می‌شود. برخی مطالعات بر روی کارسینومای داکتال درجا نشان داده‌اند که اختلال در تنظیم مسیرهای این ژن با پیشرفت بیماری همراه می‌باشد. ژن‌های RB1 و FER1L4 از هدف‌های اصلی miR-106a-5p در شبکه ceRNA یاد شده می‌باشند. از طرف دیگر بیان ژن‌های فوق با یکدیگر نیز همراهی نشان می‌دهد. به طوری‌که کاهش بیان FER1L4 با استفاده از مکانیسم siRNA منجر به کاهش بیان ژن RB1 نیز می‌گردد. دلیل این مشاهده این است که کاهش بیان FER1L4 باعث می‌شود که مولکول‌های miR-106a-5p آزاد بیشتری برای اتصال به رونوشت‌های RB1 و مهار بیان آن وجود داشته باشد (۱۹). در نتیجه مطالعه ژن RB1 به عنوان ژن هدف FER1L4 در این مطالعه ضروری به نظر می‌رسد. به این ترتیب هدف مطالعه‌ی حاضر، بررسی دو فاکتور مهم در شبکه ceRNA مذکور (FER1L4 و RB1) در نمونه‌های بافتی سرطان پستان، بررسی ارتباط بیان این ژن‌ها با ویژگی‌های کلینیکی بیماری و نیز مقایسه بیان این ژن‌ها در بیماران متاستاتیک و غیر متاستاتیک می‌باشد. لازم به ذکر است که محققین تا کنون به هیچ مطالعه‌ای در خصوص بررسی رابطه بیان این IncRNA و سرطان پستان در مطالعات داخلی و خارجی دست نیافته‌اند. بنابراین به‌نظر می‌رسد مطالعه حاضر در خصوص بررسی این رابطه منحصر بفرد می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌هایی که در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفته است نمونه‌های بافتی تومور و نیز بافت مجاور تومور می‌باشد که از ۶۱ نفر بیمار مونث مبتلا به سرطان پستان کارسینومای داکتال (غیرتهاجمی و درجا) مراجعه کننده به بیمارستان نورنجات تبریز در سال‌های ۱۳۹۴ تا ۱۳۹۵ به روش نمونه‌گیری تصادفی انتخاب شده‌اند. حجم نمونه مورد نیاز با ضریب اطمینان ۹۵٪ و قدرت ۸۰٪ و میزان اثر (effect size) ۰/۵، ۶۴ نمونه برآورد شده است که با احتساب ریزش نمونه‌ها، ۶۱ بیمار در مطالعه شرکت داشتند. بافت‌های به دست آمده در طی جراحی به داخل میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری استریل انتقال داده شد و پس از آن تا زمان استفاده از این نمونه‌ها در فریزر ۸۰- نگه‌داری گردید. لازم به ذکر است که رضایت‌نامه آگاهانه از بیماران اخذ شده و مطالعه حاضر بر اساس مجوز شماره

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1398.12.4.4.3]
[DOI: 10.30699/ijbd.12.4.21]

IR.TABRIZU.REC.1398.016 به تایید کمیته اخلاق دانشگاه تبریز رسیده است.

استخراج RNA از نمونه‌ها، انجام واکنش رونوشت‌برداری معکوس و طراحی پرایمر استخراج RNA تام از بافت‌ها به کمک کیت Rnxplus با پروتوکل کیت مذکور انجام گرفته و سپس در دمای ۸۰- نگه‌داری شد. سپس کیفیت‌سنجی RNA استخراج شده به‌وسیله روش اسپکتروفوتومتر مورد بررسی قرار گرفت.

پس از این مرحله نیز واکنش رونوشت برداری معکوس جهت سنتز cDNA با استفاده از کیت تاکارا انجام شد. پس از این مرحله با کمک نرم‌افزار Gene Runner طراحی پرایمرها انجام شد و ارزیابی اختصاصیت پرایمرهای طراحی شده نیز با استفاده از Primer (Blastسایت NCBI) صورت گرفت. (جدول ۱)

بررسی بیان ژن‌ها با روش Real time PCR

پس از انجام واکنش رونوشت برداری معکوس، به منظور تکثیر قطعه موردنظر و ارزیابی کمی بیان ژن‌ها، بر روی cDNA سنتز شده، واکنش Real time PCR به روش Syber green صورت گرفت. این بررسی از مقایسه ژن‌های هدف با ژن کنترل داخلی GAPDH انسانی صورت گرفت. شرایط دمایی واکنش نیز به این صورت تنظیم شد: مرحله اول شامل دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه و مرحله دوم شامل ۳۵ چرخه واکنش که هر چرخه نیز شامل دمای ۹۵ درجه به مدت ۲۰ ثانیه، ۶۰ درجه به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه به مدت ۲۰ ثانیه. آنالیز اطلاعات حاصل از Real time PCR مربوط به بیان ژن‌های هدف و ژن کنترل داخلی GAPDH انسانی در نمونه‌های مربوط به بافت تومور و نیز نمونه‌های مجاور تومور به کمک نرم‌افزار آماری SPSS 16 صورت گرفت. برای مقایسه میانگین بیان ژن در بافت سرطانی و بافت مجاور آن از آنالیز T test استفاده شده است. همچنین برای مقایسه میزان بیان ژن در بیماران واجد و فاقد خصوصیات کلینیکی دو گروهی از T test استفاده شده است. اما برای مقایسات چند گروهی مانند درجه هیستولوژیکی، ساب تایپ مولکولی از تست ANOVA استفاده شده است. در داده‌های مذکور Pvalue کمتر از ۰/۰۵ به صورت معنی‌دار تعریف می‌گردد.

یافته‌ها

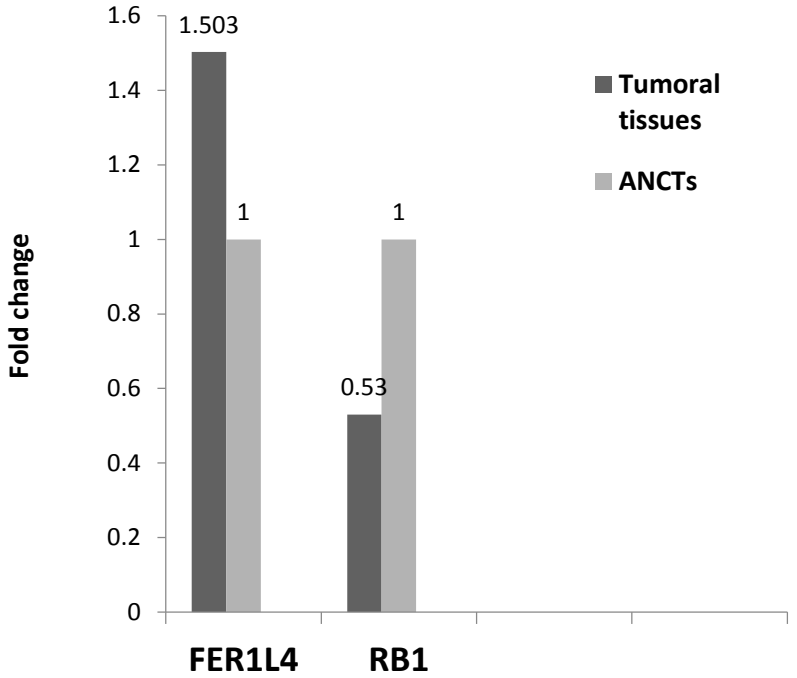
همان‌طور که در نمودار ۱ مشخص شده است، آنالیز داده‌های حاصل از ریل تایم به روش ΔΔCt نشان می‌دهد که ژن FER1L4 در نمونه‌های توموری نسبت به حاشیه تومور دچار افزایش بیان شده است ولی به هر حال افزایش بیان به صورت معنی‌دار نیست (Pvalue=0.43). این در حالی است که بیان ژن RB1 در نمونه‌های مذکور تغییرات معنی‌داری نشان داده است (Pvalue=0.008).

نتایج آنالیز داده های ریل تایم با روش ΔΔCt بیان می‌دارد که ژن RB1 در نمونه‌های توموری در مقایسه با بافت حاشیه تومور کاهش بیانی به میزان نصف (fold change=0.53) را نشان می‌دهد. بررسی خصوصیات کلینیکی بیماران مبتلای مطالعه شده در این پژوهش نشان می‌دهد که بیان ژن FER1L4 ارتباط معنی‌داری با وجود متاستاز در غدد لنفاوی دارد (Pvalue=0.005) (جدول ۲).

جدول۱: مشخصات پرایمرهای استفاده شده در تحقیق

نام ژن	نوع پرایمر	توالی پرایمر	طول پرایمر
GAPDH	Forward	5-AACGACCCCTTCATTGACC-3	19 mer
	Reverse	5-TCCACGACATACTCAGCACC-3	20 mer
FER1L4	Forward	5- ACTGAGAAATGAAGAAGCCAG -3	21 mer
	Reverse	5- AAATGTGCAGGTATCCTCATC -3	21 mer
RB1	Forward	5- GCGTGCGCTCTTGAGGTT -3	21 mer
	Reverse	5- AGCCATGCAAGGGATTCCA -3	21 mer

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1398.12.4.4.3]
[DOI: 10.30699/ijbd.12.4.21]



نمودار۱: مقایسه بیان FER1L4 و RB1 در نمونه‌های بافت توموری نسبت به نمونه‌های بافت حاشیه تومور

جدول ۲: ارتباط بیان ژن FER1L4 در نمونه‌های توموری با خصوصیات کلینیکی بیماری سرطان پستان

خصوصیات	گروه‌ها	تعداد	میانگین بیان FER1L4	Pvalue
سن	۶۰>	۴۹	۰/۱۶	۰/۰۶۹
	۶۰<	۷	۰/۰۵	
سمت مبتلا شده	راست	۳۰	۰/۱۹	۰/۰۹۴
	چپ	۲۶	۰/۱۱	
اندازه تومور (سانتی‌متر)	۵>	۴۸	۰/۱۵	۰/۴۵
	۵<	۸	۰/۱۴	
درجه هیستولوژیکی	به خوبی تمایزیافته	۱۱	۰/۱۲	۰/۷۵
	تمایزیافته متوسط	۳۸	۰/۱۷	
	تمایزیافته ضعیف	۷	۰/۱	
مدل هیستولوژیکی	داکتال	۵۶	۰/۱۵	۱
	لوبولار	۰	۰	
ساب تایپ مولکولی	لومینال A	۲۰	۰/۱	۰/۲۶
	لومینال B	۵	۰/۱۳	
	HER2	۲	۰/۳	
مرحله شناسایی و استیج بیماری	۱	۲۱	۰/۱۳	۰/۵۴۸
	۲	۱۰	۰/۱۲	
	۳	۹	۰/۱	
	۴	۱۵	۰/۲۳	
درگیری غدد لنفاوی	منفی	۲۳	۰/۱۲	۰/۲۷۵
	مثبت	۳۳	۰/۱۷	
وجود متاستاز در غدد لنفاوی	منفی	۴۱	۰,۱۲	*۰/۰۰۵
	مثبت	۱۵	۰,۲۳	

* تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مقایسه شده

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1398.12.4.4.3]
[DOI: 10.30699/ijbd.12.4.21]

به عبارت دیگر میانگین بیان این ژن در بین دو گروه مقایسه شده (بیماران دارای متاستاز و فاقد متاستاز) به صورت ۰/۱۲ در ۴۱ فرد فاقد متاستاز و ۰/۲۳ در ۱۵ فرد دارای متاستاز در غدد لنفاوی آن‌ها محاسبه شده است. نتایج این آنالیزها نشان می‌دهد که میانگین بیان ژن FER1L4 در گروه دارای متاستاز در غدد لنفاوی افزایش یافته است ولی در سایر خصوصیات کلینیکی بررسی شده که شامل سن (گروه‌های کمتر و بیشتر از ۶۰ سال)، سمت مبتلا شده (راست و چپ)، اندازه تومور (گروه‌های کمتر و بیشتر از ۵ سانتی‌متر)، درجه هیستولوژیکی (شامل گروه‌های به خوبی تمایز یافته، تمایز یافته متوسط و تمایز یافته ضعیف)، مدل هیستولوژیکی (داکتال و توبولار)، ساب تایپ‌های مولکولی (شامل گروه‌های لومینال A، لومینال B و HER2)، مرحله بیماری (شامل مراحل ۱ تا ۴) و نیز درگیری یا عدم درگیری غدد لنفاوی می‌باشد، تغییرات معنی‌داری مشاهده نشده است (p value>0.05).

بررسی ارتباط بیان ژن RB1 با خصوصیات کلینیکی بیماری

آنالیزها و محاسبات نشان می‌دهد که بیان ژن RB1 نیز همانند ژن FER1L4 با وجود متاستاز در غدد لنفاوی بیماران ارتباط معنی‌داری دارد (Pvalue= 0.032) (جدول ۳). میانگین بیان این ژن در بین گروه بیماران دارای متاستاز و فاقد متاستاز نیز به صورت ۱/۰۴۹ در ۴۵ فرد فاقد متاستاز و ۰/۶۴۷ در ۱۳ فرد دارای متاستاز در غدد لنفاوی آنها محاسبه شده است. بر خلاف FER1l4، کاهش میانگین بیان ژن RB1 (به میزان ۰/۴۰۲) در این مقایسات در ارتباط با وجود متاستاز در غدد لنفاوی دیده می‌شود. لازم به ذکر می‌باشد که همانند ژن FER1L4 بیان این ژن نیز در سایر خصوصیات کلینیکی بررسی شده که شامل سن، سمت مبتلا شده، اندازه تومور، درجه هیستولوژیکی، مدل هیستولوژیکی، ساب تایپ‌های مولکولی، مرحله بیماری و نیز درگیری یا عدم درگیری غدد لنفاوی می‌باشد، تغییرات معنی‌داری نشان نداده است (p value>0.05).

جدول ۳: ارتباط بیان ژن RB1 در نمونه‌های توموری با خصوصیات کلینیکی بیماری سرطان پستان

خصوصیات	گروه‌ها	تعداد	میانگین بیان RB1	Pvalue
سن	۶۰>	۵۰	۱/۰۰۷	۰/۱۱۳
	۶۰<	۸	۰/۶۵۸	
سمت مبتلا شده	راست	۳۳	۰/۸۷۲	۰/۶۱۳
	چپ	۲۵	۱/۰۷۴	
اندازه تومور (سانتی‌متر)	۵>	۵۰	۱/۰۴۳	۰/۲۳۵
	۵<	۸	۰/۴۳۷	
درجه هیستولوژیکی	به خوبی تمایزیافته	۱۲	۰/۹۷۲	۰/۹۴۷
	تمایزیافته متوسط	۳۹	۰/۹۳۵	
	تمایزیافته ضعیف	۷	۱/۰۷۱	
مدل هیستولوژیکی	داکتال	۵۸	۰/۹۵۹	۱
	لوبولار	۰	۰	
ساب تایپ مولکولی	لومینال A	۲۰	۰/۹۸	۰/۶۹
	لومینال B	۵	۰/۴۰۸	
	HER2	۲	۱/۱۴	
مرحله شناسایی و استیج بیماری	۱	۲۵	۰/۸۰۹	۰/۲۹۳
	۲	۱۰	۱/۷۲۸	
	۳	۹	۱/۰۷۱	
	۴	۱۳	۰/۶۴۷	
درگیری غدد لنفاوی	منفی	۲۴	۰/۷۹۹	۰/۴۴۱
	مثبت	۳۴	۱/۰۷۲	
وجود متاستاز در غدد لنفاوی	منفی	۴۵	۱/۰۴۹	*۰/۰۳۲
	مثبت	۱۳	۰/۶۴۷	

* تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مقایسه شده

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1398.12.4.4.3]
[DOI: 10.30699/ijbd.12.4.21]

بحث

lncRNAها گروهی از RNAهای غیر کد کننده می‌باشند که برخی از آن‌ها به عنوان RNAهای اندوژن رقابتی درون شبکه‌های ceRNA فعالیت می‌کنند. FER1L4 مثال بارزی از این مولکول‌هاست که به صورت شبکه ceRNA و به‌واسطه اتصال به miR-106a-5p رونوشت ژنRB1 را کنترل می‌کند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که این مولکول در بافت‌های سرطانی معده دچار کاهش بیان می‌گردد و سطح پایینی از بیان این مولکول با ویژگی‌های کلینیکی مختلف بیماری مثل درجه هیستولوژیکی، اندازه تومور، مرحله TNM، متاستاز لنفاوی، تهاجم پری نورال، تهاجم وریدی و سطوح سرمی فاکتور CA724 در ارتباط می‌باشد. کاهش بیان FER1L4 به طور قابل توجهی منجر به سرعت بخشیدن به تکثیر سلولی از طریق انتقال سلول از فاز G0/G1 به فاز S می‌گردد (۱۸). این مولکول علاوه بر سرطان معده، در بیماران مبتلا به سرطان کولون نیز مورد آنالیز واقع شده است. مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۵ توسط Yue و همکارانش صورت گرفت که نقش این lncRNA را در بازدارندگی برای تکثیر، مهاجرت و متاستاز سلول‌های سرطانی مورد تایید قرار می‌دهد (۱۹). مطالعاتی مانند مطالعه Wu (۲۰۱۷) بر روی کارسینومای کبدی (۲۰) Chen (۲۰۱۸) (۲۱) و Fei (۲۰۱۸) (۲۲) بر روی استئوسارکوما، نیز تاییدی بر مطالعات قبلی می‌باشند که نشان می‌دهند این مولکول به عنوان فاکتور بازدارنده تومورزایی عمل می‌کند (۱۹).

Ding و همکارانش در سال ۲۰۱۷ مطالعه‌ای بر روی گلیوبلاستوما انجام داده و ارتباط بیان این lncRNA را با بیماری مذکور مورد بررسی قرار داده‌اند (۱۲). بر خلاف مطالعات قبلی، در این مطالعه مشخص گردید که سطح بیان FER1L4 در لاین‌های سلولی گلیوما در مقایسه با سلول‌های آستروسیت نرمال دچار افزایش بیان می‌گردد. همچنین کاهش بیان این مولکول در لاین سلولی گلیوما از طریق siRNA منجر به کاهش ویژگی تهاجمی سلول‌ها و قابلیت زنده بودن آنها می‌گردد (۱۲). این مطالعه و نیز مطالعه Kong و همکارانش در سال ۲۰۱۸ (۱۳) بر روی بیماری کارسینومای اندومتریال بر خلاف مطالعات قبلی که FER1l4 را به عنوان مولکول بازدارنده سرطان معرفی می‌کردند، این مولکول را به عنوان یک عامل انکوژن و نیز بیومارکری برای شناسایی و پیش آگهی سرطان معرفی می‌کنند (۱۲، ۱۳).

در مطالعه حاضر بیان ژن‌های FER1L4 و RB1 در نمونه‌های توموری و حاشیه تومور مورد بررسی و آنالیز قرار گرفت. بیان FER1L4 در نمونه‌های توموری نسبت به نمونه‌های حاشیه تومور تغییر معنی‌داری نشان نداده است. با این حال ژن RB1 که به عنوان ژن هدف این مولکول در شبکه ceRNA مورد بررسی قرار گرفته بود در نمونه‌های توموری کاهش بیان معنی‌داری نسبت به بافت حاشیه تومور داشته است.

علاوه بر این، بررسی ارتباط میزان بیان ژن‌های FER1L4 و RB1 با خصوصیات کلینیکی بیماران شامل سن، سمت مبتلا شده، اندازه تومور، درجه هیستولوژیکی، مدل هیستولوژیکی، ساب تایپ‌های مولکولی، مرحله بیماری، درگیری یا عدم درگیری غدد لنفاوی و نیز وجود یا عدم وجود متاستاز در غدد لنفاوی نشان داد که میزان بیان دو ژن مذکور فقط با وجود متاستاز در غدد لنفاوی ارتباط معنی‌داری دارد و با هیچکدام از ویژگی‌های دیگر مورد بررسی در این مطالعه ارتباط معنی‌داری نشان نمی‌دهد. به عبارتی بهتر، میانگین بیان ژنFER1L4 در گروهی که نسبت به وجود متاستاز در غدد لنفاوی مثبت بوده‌اند افزایش یافته بود اما میانگین بیان ژن RB1 در گروه دارای متاستاز در غدد لنفاوی کاهش نشان می‌داد. افزایش بیان FER1l4 در گروه دارای متاستاز نسبت به گروه فاقد متاستاز نقش این مولکول در فرآیند متاستاز سرطان پستان را گوشزد می‌کند.

کاهش بیان ژن RB1 در گروه دارای متاستاز نیز نشان می‌دهد که این ژن با وجود متاستاز توموری در سرطان پستان ارتباط معکوس داشته و این مشاهدات می‌تواند ناشی از نقش بازدارندگی توموری RB1 باشد. در مطالعات انجام شده توسط دیگران هر دو نقش انکوژنی و سرکوبگر توموری برای FER1l4 ذکر شده است. به عنوان مثال Kong و همکاران (۱۲) در مطالعه خود بر روی بیماری گلیوبلاستوما و همچنین Ding و همکاران (۱۳) بر روی کارسینومای اندومتریال، FER1L4 را به عنوان یک انکوژن در سرطان‌زایی و ایجاد تومور در بیماری‌های مذکور معرفی کرده‌اند در حالی‌که Xia و همکارانش (۱۸) FER1L4 را به عنوان یک سرکوبگر تومور در سرطان معده معرفی کردند. این نتایج می‌تواند حاکی از نقش

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1398.12.4.4.3]
[DOI: 10.30699/ijbd.12.4.21]

دوگانه FER1l4 در سرطان‌های مختلف باشد. در مطالعه حاضر با توجه به افزایش بیان FER1L4 در گروه دارای متاستاز نسبت به گروه فاقد متاستاز و از طرف دیگر کاهش بیان ژن RB1 در نمونه‌های توموری نسبت به نمونه‌های حاشیه تومور می‌توان نتیجه گرفت که FER1L4 در سرطان سینه احتمالا نقش یک مولکول انکوژن را به عهده می‌گیرد. کنترل مسیرهای تنظیمی بیان ژن‌های دخیل در تومورزایی و سرطان بسیار پیچیده و متنوع می‌باشد. به احتمال زیاد در بافت پستان مسیرهای تنظیمی دیگری برای کنترل ژن RB1 توسط FER1L4 وجود دارد که مسیری مجزا و مستقل از مسیرهای تنطیمی موجود در معده می‌باشد.

بنابراین تمامی این مسیرها به طور کامل شناخته شده نیستند و مطالعات بیشتری برای آشکارسازی آن‌ها مورد تیاز می‌باشد.

نتیجه‌گیری

FER1L4 که در سرطان‌های مختلف دچار تغییر بیان می‌گردد در بررسی نمونه‌های بافت توموری سرطان پستان در مقایسه با بافت حاشیه تومور علی‌رغم افزایش جزئی، تفاوت معنی‌داری نشان نداد ولی در بررسی خصوصیات کلینیکی بیماری در گروه دارای متاستاز نسبت به گروه فاقد متاستاز افزایش بیان نشان داد. همچنین ژن RB1 که به عنوان ژن هدف این lncRNA در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفته است تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های بافت توموری و حاشیه تومور و نیز ارتباط معنی‌داری با وجود متاستاز در غدد لنفاوی بیماران را نشان داده است. با توجه به نتایج حاصل می‌توان نتیجه گرفت FER1L4 احتمالا بتواند به عنوان یک عامل انکوژن در ایجاد متاستاز در سرطان پستان عمل نماید.

تشکر و قدردانی

در این مطالعه از همکاران محترم آزمایشگاه رادیوبیولوژی دانشکده علوم طبیعی دانشگاه تبریز که ما را در انجام این پروژه یاری رساندند بسیار سپاسگزاریم. همچنین از تمامی بیماران شرکت کننده در مطالعه کمال تشکر و سپاس را داریم.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ تعارض منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

References

1. Ma H, Hao Y, Dong X, Gong Q, Chen J, Zhang J, et al. Molecular mechanisms and function prediction of long noncoding RNA. The Scientific World Journal. 2012; 2012: 541786.
2. Abachizadeh K, Moradi-Kouchi A, Ghanbari-Motlagh A, Kousha A, Shekarriz-Foumani R, Erfani A. Breast Cancer in Iran: levels, Variations and Correlates. Community Health (Salāmat-i ijtimāī). 2018;5(1):11-21.
3. Cao J. The functional role of long non-coding RNAs and epigenetics. Biological procedures online. 2014;16(1):42.
4. Sun M, Kraus WL. From discovery to function: the expanding roles of long noncoding RNAs in physiology and disease. Endocrine reviews. 2015;36(1):25-64.
5. Prensner JR, Chinnaiyan AM. The emergence of lncRNAs in cancer biology. Cancer discovery. 2011;1(5):391-407.
6. Bolha L, Ravnik-Glavač M, Glavač D. Long noncoding RNAs as biomarkers in cancer. Disease markers. 2017; 2017:7243968.
7. Rinn JL, Chang HY. Genome regulation by long noncoding RNAs. Annual review of biochemistry. 2012;81:145-66.
8. Chiu H-S, Somvanshi S, Patel E, Chen T-W, Singh VP, Zorman B, et al. Pan-cancer analysis of lncRNA regulation supports their targeting of cancer genes in each tumor context. Cell reports. 2018;23(1):297-312. e12.
9. Qi X, Zhang DH, Wu N, Xiao JH, Wang X, Ma W. ceRNA in cancer: possible functions

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1398.12.4.4.3]
[DOI: 10.30699/ijbd.12.4.21]

and clinical implications. J Med Genet. 2015;52(10):710-8.

10. Song H, Sun W, Ye G, Ding X, Liu Z, Zhang S, et al. Long non-coding RNA expression profile in human gastric cancer and its clinical significances. J Transl Med. 2013;11:225.

11. Liu Z, Shao Y, Tan L, Shi H, Chen S, Guo J. Clinical significance of the low expression of FER1L4 in gastric cancer patients. Tumour Biol. 2014;35(10):9613-7.

12. Ding F, Tang H, Nie D, Xia L. Long non-coding RNA Fer-1-like family member 4 is overexpressed in human glioblastoma and regulates the tumorigenicity of glioma cells. Oncol Lett. 2017;14(2):2379-84.

13. Kong Y, Ren Z. Overexpression of LncRNA FER1L4 in endometrial carcinoma is associated with favorable survival outcome. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2018;22:8113-8.

14. Witkiewicz AK, Chung S, Brough R, Vail P, Franco J, Lord CJ, et al. Targeting the vulnerability of RB tumor suppressor loss in triple-negative breast cancer. Cell reports. 2018;22(5):1185-99.

15. Robinson TJ, Liu JC, Vizeacoumar F, Sun T, Maclean N, Egan SE, et al. RB1 status in triple negative breast cancer cells dictates response to radiation treatment and selective therapeutic drugs. PloS one. 2013;8(11):e78641.

16. Jones RA, Robinson TJ, Liu JC, Shrestha M, Voisin V, Ju Y, et al. RB1 deficiency in triple-negative breast cancer induces mitochondrial protein translation. The Journal of clinical investigation. 2016;126(10):3739-57.

17. Witkiewicz AK, Knudsen ES. Retinoblastoma tumor suppressor pathway in breast cancer: prognosis, precision medicine, and therapeutic interventions. Breast Cancer Research. 2014;16(2):207.

18. Xia T, Chen S, Jiang Z, Shao Y, Jiang X, Li P, et al. Long noncoding RNA FER1L4 suppresses cancer cell growth by acting as a competing endogenous RNA and regulating PTEN expression. Sci Rep. 2015;5:13445.

19. Yue B, Sun B, Liu C, Zhao S, Zhang D, Yu F, et al. Long non-coding RNA Fer-1-like protein 4 suppresses oncogenesis and exhibits prognostic value by associating with miR-106a-5p in colon cancer. Cancer Sci. 2015;106(10):1323-32.

20. Wu J, Huang J, Wang W, Xu J, Yin M, Cheng N, et al. Long non-coding RNA Fer-1-like protein 4 acts as a tumor suppressor via miR-106a-5p and predicts good prognosis in hepatocellular carcinoma. Cancer Biomark. 2017;20(1):55-65.

21. Chen ZX, Chen CP, Zhang N, Wang TX. Low-e xpression of lncRNA FER1L4 might be a prognostic marker in osteosarcoma. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2018;22(8):2310-4.

23. Fei D, Zhang X, Liu J, Tan L, Xing J, Zhao D, et al. Long Noncoding RNA FER1L4 Suppresses Tumorigenesis by Regulating the Expression of PTEN Targeting miR-18a-5p in Osteosarcoma. Cell Physiol Biochem. 2018;51(3):1364-75.

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.17359406.1398.12.4.4.3]

[DOI: 10.30699/ijbd.12.4.21]