

نشریه پزشکی محله



فصلنامه پزشکی / سال دوم / شماره هشتم / قیمت ۱۰۰/۰۰۰ ریال / زمستان ۱۳۹۶ / ISSN: ۲۴۷۶-۵۵۳۸



تشخیص دقیق



پیشگیری / شخصی سازی

آینده علم پزشکی، شخصی محور است



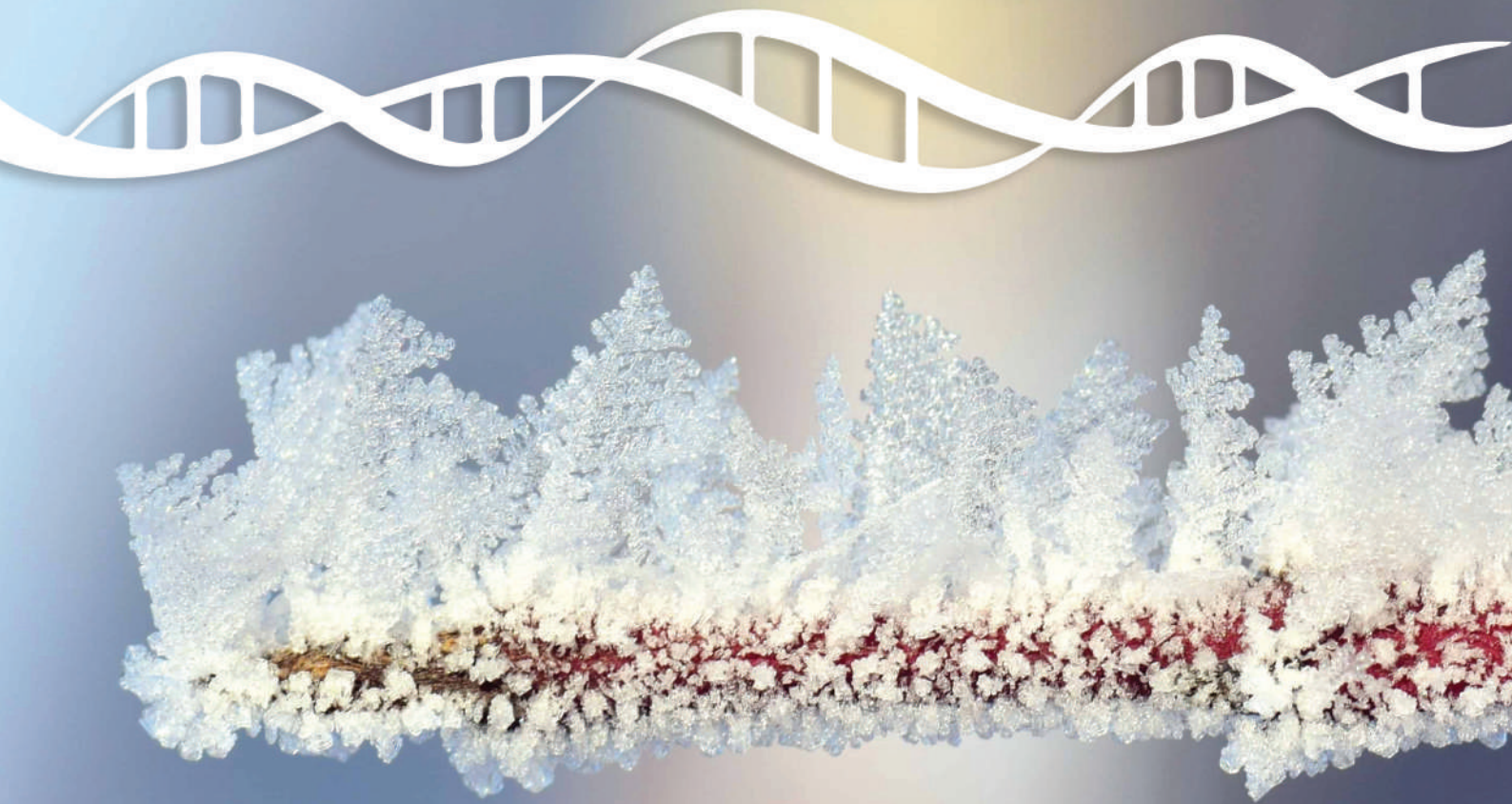


www.AmitisGen.com

AmitisGen[®]

Med TECH Group

The power to look deeper



fortress
diagnostics

OncoDNA
THE CANCER THERANOSTIC COMPANY

BioDiagene
BioDiagene Group

Isoheli
DNA Sampling and Purification

AusDiagnostics
Multiplexed Diagnostics | Affordable Healthcare

cell:xxxxx
projects

Lifiver

Sugentech

New Frontier in Biotechnology
Genes Laboratories

MED
iSTORE

Embi Tec

COYOTE

Medicine
Personalized
JOURNAL

clonit

FARBOD LABS

Thermo
SCIENTIFIC
A Thermo Fisher Scientific Brand

MEDTALIA

SMARTests[®]

Noble Bio
Clinical Diagnostic Products

BIOplastics

Novin
Gene

圣湘生物
Sansure Biotech

TURKplast[®]

GKM GLOBAL

tataabiocenter

SALUBRIS A.Ş.
SAĞLIK BİLİMLERİ VE KİMYASAL ENDÜSTRİLERİ A.Ş.

VicTorch Meditek Inc.



شناسنامه

صاحب امتیاز:

شرکت دانش بنیان گروه توسعه فناوری پزشکی آمیتیس ژن

مدیر مسئول:

دکتر سید مسعود هوشمند

سر دبیر:

مهندس سیده نیره مصلحی

انتشار:

زمستان ۹۶

طراح و صفحه آرا:

شهاب رزاق

اعضای هیئت تحریریه در کارگروه ها به ترتیب حروف الفبا:

دکتر ناهید آریائیان، دکتر فاطمه بندریان، دکتر ناصر پارسا، دکتر مهدی توتونچی، دکتر پرهام جبارزاده، دکتر مریم جلالی، دکتر عباس حاج فتحعلی، دکتر نازنین حسین خان، دکتر راحله حلبیان، دکتر سلام حیدری-نژاد، دکتر عادل حیدری-نژاد، دکتر شیما رحمتی، دکتر محبوبه رمضان زاده، دکتر ندا سرای گرد افشاری، دکتر حسن سعادت، دکتر سید مطهر شجاعی، دکتر رضا شیرکوهی، دکتر بهمن صادقی، دکتر علی صادقی تبار، دکتر لیلا صادقی، دکتر محمد علی صارمی، دکتر بهمن عابدی کیاسری، دکتر محمدعلی علیزاده، دکتر کامران غفارزادگان، دکتر فاطمه خاتمی، دکتر فلورا فروزش، دکتر فاطمه هدی فلاح، دکتر مرزگان قاری پور، دکتر سعید قربان، دکتر زهره مقسومی، دکتر جمشید ملایی، دکتر فاطمه منصوری، دکتر عظیم نجاتی زاده، دکتر بهاره نقوی، دکتر رضا نکونیان، دکتر مجید نیک پی

ناظر فنی چاپ:

وحید رضا اصفهانی

لیتوگرافی، چاپ، صحافی:

چاپ آوا نوین - تهران، خیابان دماوند، روبروی خیابان حجت، پلاک ۱۲۰۹ - شماره تماس: ۷۷۵۷۴۵۲۸ (۰۲۱)

شماره تماس: ۸۸۹۸۵۲۹۳ (۰۲۱)

آدرس: تهران، ابتدای خیابان ایتالیا، پلاک ۲، طبقه ۲، واحد ۳

ایمیل: info@PersonalizedMedicineJournal.com

فهرست

۱.....	سخن مدیر مسئول	
۲.....	سخن سردبیر	
۳.....	استفاده از ژن درمانی با سلول های بنیادی مزانشیمی در درمان شخصی سرطان های دستگاه گوارش	
۹.....	بررسی بیوانفورماتیکی پلی مورفیسم های ژن های CXCL8 و KLRG1 در سلولهای تک هسته ای خون افراد مبتلا به بیماری لوپوس	
۱۵.....	پیشگویی حساسیت دارویی رده های مختلف AML به مهارکننده ی میتوگزانترن با استفاده از آنالیز بیان ژن، با تاکید بر درمان فردمحور سرطان	
۲۳.....	miRNA های exosomal به عنوان بیومارکرهای قابل اعتماد و مؤثر در تشخیص زود هنگام سرطان پانکراس	
۲۹.....	مدل های محاسباتی شخصی به عنوان نشانگرهای زیستی (بیومارکرها)	
۳۱.....	کاربرد دستگاه گامانایف در درمان تومور های مغزی	
۳۴.....	پزشکی شخصی در FDA گزارش پیشرفت در سال ۲۰۱۷	
۳۷.....	ایمونوگرافی برای چرخه ایمنی سرطان: به سوی ایمونوتراپی فردمحور سرطان ریه	
۴۹.....	گوگل برای منبع پزشکی فرادقیق، ابزار هوش مصنوعی می سازد	
	Expression evaluation of cell cycle regulatory genes (P27, P21, P14) in AML patients	54
	The association of some genes, including BMPRI1B, with breast cancer and personalized medicine	58



دکتر سید مسعود هوشمند

مدیر مسئول

سخن مدیرمسئول

به نام پروردگار یکتا
با سلام و احترام حضور همکاران و دوستان گرامی

در شماره هشتم نشریه پزشکی شخصی به موضوع چالش‌های اخلاقی و حقوقی فراروی گسترش فارماکوژنتیک می‌پردازیم. روش‌های نوین علم ژنتیک این امکان را به محققان داده تا تغییرات تک نوکلئوتیدی ژن‌ها، را تشخیص و مورد ارزیابی قرار دهند. استفاده از دانش فارماکوژنتیک می‌تواند ما را در تهیه و توسعه داروها با اثربخشی بیشتر و به دور از صدمات بالینی، جلوگیری از آزمون و خطا در تجویز دارو و همچنین کاهش هزینه‌های تحقیقاتی در تولید دارو یاری دهد.

با این وجود رشد، توسعه و شناسایی این رشته و شاخه‌های مرتبط در میان پزشکان و سازمان بهداشت جهانی از یک سو و چالش‌ها و بحث‌های مطرح از سوی مدافعان حقوق فردی، در کشورهای توسعه‌یافته از سوی دیگر، کاربرد این رشته‌ها را با تنگنایهای حقوقی و اخلاقی مواجه ساخته است.

هر چند چهارچوب قانونی برای استفاده از این آزمون‌ها در کشورهای در حال توسعه باید مشخص شود، در عین حال استفاده از این فناوری در کشورهای در حال توسعه نه تنها باید برای برطرف ساختن چالش‌های پزشکی مرتبط با آن جامعه مورد استفاده قرار گیرد، بلکه باید در عین حال موازین حقوقی برای جلوگیری از سوءاستفاده از عدم وجود قوانین را به چالش‌های خود اضافه کند.

بنابراین سرمایه‌گذاری در خصوص تحقیقات و کاربرد این فناوری اهمیت بسیار دارد. این سرمایه‌گذاری باید در چهارچوب قوانین و مقرراتی باشد، که اطلاعات ژنتیک فردی را محفوظ داشته و سوءاستفاده از اطلاعات ژنتیک فردی را محدود سازد. بحث حفاظت از اطلاعات فردی شاید در این مرحله از رشد فناوری زیاد واضح نباشد ولی دیری نخواهد گذشت که حفاظت از اطلاعات فردی در ابعاد امنیت ملی مطرح خواهد شد.

در پایان امیدوارم سال ۹۷ برای همه سالی پراز موفقیت و شادی باشد .



سیده نیره مصلحی

سردبیر

سخن سردبیر

یک نفس مانده به ذوق گل سرخ
تحفه‌ای یافت نکردم که کنم هدیه‌تان

دو قدم مانده به خندیدن برگ
چشم در چشم بهاری دیگر

خداوند بزرگ را سپاسگزاریم که فرصت دیگری دست داد تا شماره هشتم نشریه پزشکی شخصی را در واپسین روزهای زمستان ۱۳۹۶ منتشر و تقدیم یکایک شما اساتید و علاقه مندان حوزه پزشکی نماییم. از جملگی عزیزان و همکارانی که در این راه یاریگرمان بوده و هستند تشکر می نماییم.

پزشکی شخصی یا پزشکی شخصی شده به معنی ارائه خدمات پزشکی سلامت، پیشگیری، تشخیص، درمان و مراقبت متناسب با ژنتیک فرد می باشد. از سال ۱۹۵۳ که واتسون و کریک، ساختار دی ان ای یا همان ماده ژنتیک را کشف کردند، تحولی شگرف در علم پزشکی به وجود آمد و از آن پس، دانشمندان روز به روز با مطالعه بیشتر روی این ماده، توانستند دستاوردهای بزرگی در درمان به ارمغان آورند. حاصل بررسی های چند ساله ژنتیک، استخراج نقشه ژنوم انسان (HGP) است که در آن، همه ژن هایی که روی دی ان ای انسان قرار دارد شناسایی می شود و از نظر ساختاری و عملکردی مورد بررسی می گیرد. نقشه ژنوم انسان برای هر فرد با دیگری متفاوت است و براساس آن، خصوصیات ظاهری و رفتاری هر فرد تعیین می شود. پس می توان گفت، پاسخ هر فرد به درمان یا دارویی خاص، براساس نقشه ژنوم اوست که منحصر به فرد است. بر مبنای این موضوع، روشی برای درمان مطرح می شود که پزشکی شخصی یا شخصی سازی درمان نام دارد. در این روش که بتازگی پا به عرصه پزشکی نهاده است، هر فرد براساس نقشه ژنوم خود و خصوصیات رفتاری اش درمان و بر همان اساس، برای او دارو با دوز مناسب تجویز می شود. بر مبنای تفاوت در ژنوم، افراد حتی در میزان جذب دارو، رسیدن دارو به بافت هدف و تأثیری که دارو بر بافت هدف می گذارد، با هم متفاوتند. ریسک ابتلا به انواع بیماری ها برای هر فرد از نقشه ژنی استخراج می شود و با این کار می توان براحتی از ابتلا به بسیاری از بیماری ها پیشگیری کرد. همچنین می توان با این نقشه عوارض جانبی را که فرد ممکن است بر اثر مصرف دارویی خاص به آن دچار شود، فهمید یا مواردی که فرد به آنها حساسیت دارد، دریافت کرد؛ مثل حساسیت به لاکتوز؛ حساسیتی که افراد مبتلا به آن، بر اثر مصرف شیر و لبنیات دچار انواع عوارض گوارشی می شوند. پزشک با مطالعه این نقشه می تواند ژن های نهفته فرد را پیدا کند و متوجه شود که کدام ژن ها می توانند در فرزند او ظهور پیدا کنند و چه بیماری هایی ممکن است گریبان فرزند او را بگیرند. مفهوم و روش پزشکی شخصی امروزه مورد توجه همه سازمان های درمانی قرار گرفته است، زیرا علاوه بر موارد گفته شده، یکی از مزیت های مهم این روش، کاهش هزینه هاست. بخش عمده ای از بودجه سلامت کشورها در درمان بیماری های مزمنی مانند سرطان، ... در این مدل، به عنوان مثال، پزشک با آگاهی از اطلاعات نهفته شده در ژنوم فرد می تواند به او داروی مؤثر (با حداقل آثار سوء جانبی) و در دوز مناسب را تجویز نموده و سفارش مناسب را برای تغییر در سبک زندگی و رژیم غذایی (محیط) به منظور پیشگیری و درمان بیماریها و تغییر صفات ارائه دهد. پزشکی شخصی دارای پتانسیل برای بهبود نتایج درمانی از جمله کیفیت زندگی است.

در پایان برای تمام خوانندگان و همراهان نشریه در سال جدید این دعا را از درگاه خداوند بزرگ خواستارم :

یا مقلب القلوب و الابصار یا مدبر الیل و النهار یا محول الحول و الاحوال حول حالنا الی احسن الحال

استفاده از ژن درمانی با سلولهای بنیادی مزانشیمی در درمان شخصی سرطانهای دستگاه گوارش

بهاره رحیمی^۱، محمد پناهی^۲، ندا سرای گرد افشاری^{۳*}

۱ دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی پزشکی، تهران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، دانشکده ی پیراپزشکی، گروه بیوتکنولوژی پزشکی
۲ دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی پزشکی، تبریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، دانشکده علوم نوین پزشکی، گروه بیوتکنولوژی پزشکی
۳* عضو هیئت علمی و استادیار گروه بیوتکنولوژی پزشکی، تهران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، دانشکده ی پیراپزشکی، گروه بیوتکنولوژی پزشکی
ایمیل نویسنده مسئول: neda.s.afshari@gmail.com



دکتر ندا سرای گرد افشاری

چکیده

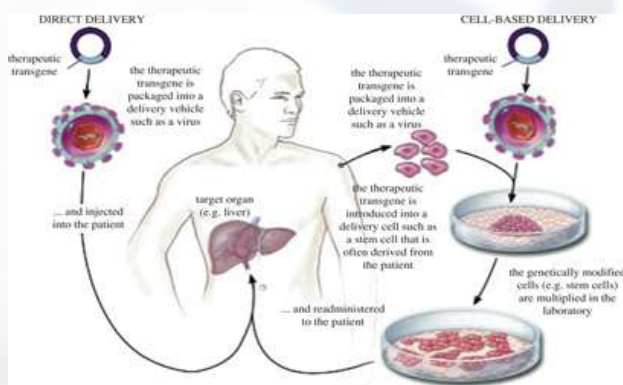
تحقیقات نشان داده اند که سلول های بنیادی مزانشیمی (MSC) می توانند به طور انتخابی به بافت های توموری مهاجرت کرده و در تشکیل استرومای تومور ایفای نقش کنند. لذا، می توان این سلول ها را با رویکردی منطبق بر ویژگی های شخصی، به عنوان وکتور اختصاصی در ژن درمانی سرطان ها مورد استفاده قرار داد. MSC ها را می توان از طریق مهندسی ژنتیک تغییر داد و برخی خواص آن ها را جهت سازگاری و تمایل برای بافت های توموری مختلف بهبود بخشید. با مهندسی MSC های حامل ژن های ترکیبات ضد توموری، برای افزایش توانایی آن ها را برای مهاجرت به سمت بافت های سرطانی، نسبت به سایر روش ها، عوارض جانبی کاهش یافته و در کنار آن پاسخ های ایمنی مهار می گردد. می توان اظهار داشت که از آنجا که استفاده از سلول های بنیادی ای که از مستقیما از بدن بیمار استخراج می شود، مشکل پاسخ ناخواسته ای ایمنی نسبت به سایر وکتورها مرتفع می گردد. استفاده از سلول های بنیادی یک رویکرد شخصی گرایانه در درمان به شمار می رود. در چنین شرایطی می توان با اطمینان خاطر از مهار پاسخ های ایمنی، با استفاده از تکنیک های مهندسی ژنتیک گیرنده های سطحی MSC را که در مهاجرت و لانه گزینی آن ها نقش دارند، بر اساس کموکین ها و سیتوکین های خاص ترشح شده از هر تومور طراحی کرد. با قرار دادن ژن های تولید کننده ی ترکیبات ضد سرطانی مانند IFN- β و IL7 و NK4 درون MSC ها و افزایش بیان گیرنده هایی مانند CCR1، این سلول ها به طور اختصاصی به سمت تومورهای دستگاه گوارش حرکت کرده و مواد ضد سرطانی خود را بدون تاثیر بر سلول های طبیعی، بر روی آن ها اثر می دهند. اثر هم افزای این روش بر سایر روش های مرسوم نیز در منابع مختلف گزارش شده است.

کلمات کلیدی

- ژن درمانی
- پزشکی شخصی
- سلول های بنیادی
- مزانشیمی (MSC)
- سرطان های گوارشی

ژن درمانی از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. این روش، برخلاف سایر روشهای مرسوم درمان تومورهای گوارشی (پرتو درمانی، شیمی درمانی و جراحی)، کمتر تهاجمی بوده، کارایی بالاتری داشته و عوارض جانبی کمتری را به همراه دارد [۸].

موفقیت فرایند ژن درمانی، به طور قابل توجهی به شیوه‌ی انتقال ژن و وکتور مورد استفاده برای این منظور وابسته است. روش‌های مرسوم‌ی که در حال حاضر، برای انتقال ژن مورد استفاده قرار می‌گیرند، انواع مختلفی از روش‌های فیزیکی، شیمیایی و انتقال با حامل‌های ویروسی مختلفی را شامل می‌شوند (شکل ۱). این روش‌ها، همگی، با محدودیت‌هایی برای حصول یک فرایند ژن درمانی موفق همراه هستند. به عنوان مثال ظرفیت انتقالی کمی داشته و گاهی باعث تحریک سیستم ایمنی می‌شوند. اخیراً با پیشرفت دانش سلول‌های بنیادی و تمایل بالایی که در پزشکی شخصی برای استفاده از این سلول‌ها، به دلیل تطابق ایمونولوژیک با بیمار، وجود دارد، نشان داده شده‌است که می‌توان از سلول‌های بنیادی مهندسی شده (حامل ژن مورد نظر و تغییر یافته برای تمایل هدفمند به بافت‌های بیمار) به عنوان وکتوری مناسب برای ژن درمانی استفاده کرد [۹، ۱۰]. به این منظور سطح سلول‌های بنیادی را بر اساس سیتوکین‌ها و کموکین‌های اختصاصی ترشح شده از هر تومور به گونه‌ای مهندسی میکنند که سلول بنیادی اختصاصاً به بافت توموری مورد نظر مهاجرت کرده و ژن درج شده در داخل خود رابه آن تومور انتقال دهد [۱۰، ۱۱].



شکل ۱. روش‌های انتقال ژن به بدن بیمار در طول ژن درمانی که می‌تواند به صورت مستقیم (به وسیله ویروس‌ها) یا غیرمستقیم (به وسیله سلول‌ها) صورت بگیرد بر گرفته از منبع شماره‌ی [۱۲].

ازمهمترین مزایای سلول‌های بنیادی‌ای که به عنوان وکتور مورد استفاده قرار می‌گیرند، در مقایسه با سایر وکتورها، این است که این سلول‌ها به سادگی از بافت‌های بدن بیمار استخراج می‌شوند، به راحتی می‌توان آنها را در آزمایشگاه کشت داد، با روش‌های مهندسی ژنتیک به راحتی طراحی می‌شوند، سیستم ایمنی را تحریک نمیکنند و توانایی بالایی در مهاجرت به

در فاصله‌ی ده سال گذشته، که مفهوم نوین پزشکی شخصی به عرصه‌ی علم پزشکی وارد شده؛ تعاریف متعددی برای آن در نظر گرفته شده‌است. در یک نگاه کلی می‌توان دریافت که همه‌ی تعاریف ارائه شده، یک مفهوم واحد را تداعی می‌کنند؛ «درمان دقیق و اختصاصی بر مبنای ویژگی‌های فردی» [۱]. مهم‌ترین تفاوت پزشکی شخصی با پزشکی کنونی، به شیوه‌ی طراحی و تجویز دارو بر می‌گردد. به عبارتی به جای تکیه بر اطلاعات کارآزمایی‌های بالینی مرسوم، در رویکرد فرد محور، ویژگی‌های منحصر به فرد شخصی و اطلاعات فارماکوژنتیک بیمار، مبنای طراحی و تجویز دارو قرار می‌گیرد. در این رویکرد، هر فرد کارآزمایی بالینی خود است. این تحول نوین در علم پزشکی، مرهون پیشرفت‌های اخیر علمی و تکنولوژیکی در بررسی‌های ژنومیک و سایر آمیک‌های مرتبط، و بسط و گسترش علمی همچون بیوانفورماتیک و زیست‌شناسی سیستم‌هاست. با توجه به پیچیدگی سامانه‌های زنده، در حال حاضر هنوز امکان درمان کاملاً فرد محور بر مبنای فارماکوژنومیک اختصاصی افراد وجود ندارد؛ ولی، تا به این لحظه، نتیجه‌ی تلاش‌های انجام شده در زمینه‌ی شخصی‌سازی درمان، این است که، در حال حاضر حداقل تلاش می‌شود تا با استفاده از پیشرفت‌های اخیر در بررسی‌های ژنتیکی و مولکولی، پاتولوژی بیمار را در سطح مولکولی بررسی کرده و بر آن اساس، برای افرادی که پاتولوژی مولکولی مشابه دارند، راهکارهای درمانی مشابه را پیشنهاد کرد. به عبارتی، تفاوت در پاتوژنز مولکولی بیماری‌ها در افراد را در زمان درمان در نظر گرفت [۲-۴]. می‌توان اظهار کرد که در حال حاضر، تعریف مجدد بیماری‌ها، از جمله سرطان، بر مبنای ویژگی‌های مولکولی زمینه را برای نوین درمانی و در نهایت ارئه‌ی درمان‌های هدفمند فراهم نموده است [۱]. رویکرد شخصی‌سازی درمان، بر مبنای اعمال تفاوت‌های مولکولی در بیماری سرطان بسیار مورد توجه قرار گرفته و گسترش یافته‌است. این رویکرد باعث شده‌است که روش‌های درمانی و تشخیصی این بیماری در سال‌های اخیر متحول شده و کارآمدتر گردند [۵]. درمان موفق انواع مختلف سرطان‌ها و کاهش عوارض جانبی داروها و شیوه‌های درمانی، از بزرگترین دغدغه‌های آنکولوژیست‌ها است؛ که امید است با نیل به شخصی‌سازی روش‌های درمانی تا حد زیادی مرتفع گردد [۶].

سرطان‌های دستگاه گوارش (کولون، معده، پانکراس و روده)، از جمله سرطان‌هایی هستند که در ارتباط با درمان شخصی آن‌ها مطالعات متعددی گزارش شده است. این مطالعات حاکی از آن هستند که رویکرد فرد محور باعث شده‌است که علاوه بر افزایش کارایی درمان، زمینه‌ی کاهش هزینه‌های درمانی نیز فراهم گردد [۶، ۷]. از بین روش‌های مختلفی که برای درمان سرطان‌های دستگاه گوارش به کار برده می‌شوند،

سلول های توموری مورد نظر دارند؛ بنابراین می توانند شرایط مناسبی را برای درمان هدفمند سرطان فراهم آورند [۱۰، ۱۳]. یادآوری می گردد، که مطالعات نشان می دهند که با استفاده از این گونه روش ها، که تمایل دارند تطابق را با بدن بیمار به بیشترین مقدار ممکن افزایش دهند؛ نتایج بهتری در درمان سرطان حاصل شده است [۱۰، ۱۱].

پزشکی شخصی و نقش آن در درمان سرطان ها، به ویژه سرطان های گوارشی

انواع درمان های موضعی (رادیوتراپی و جراحی) و درمان های سیستمیک (شیمی درمانی) شیوه های درمانی رایجی هستند که در حال حاضر برای درمان سرطان های گوارشی مورد استفاده قرار می گیرند [۱۴]. اما، با تمایل روزافزونی که در سال های اخیر برای برگزیدن رویکردها شخصیتز درمان سرطان وجود دارد، به نظر می رسد که این روش ها به زودی با روش های نوین جایگزین گردند [۱۵]. پزشکی شخصی یک درمان کاملا اختصاصی و ایمن است که با توجه به ویژگیهای مولکولی و ژنتیکی افراد طراحی و اجرا می گردد [۱]. رویکردهای پزشکی شخصی امروزه برای درمان انواع سرطانهای مورد توجه بسیار قرار دارد [۶]. در حال حاضر، ژن درمانی یکی از روشهایی است که به معیارهای پزشکی شخصی قربت بسیاری دارد [۱۶]. یکی از شواهد این قربت، استفاده از MSC ها به عنوان وکتور مورد استفاده برای انتقال ژن به بافت بیمار است؛ این که میتوان MSC ها را از بدن خود فرد استخراج نموده، مهندسی کرده و آن ها را به شیوهی کاملاً شخصی به فرد تجویز کرد.

در ژن درمانی شخصی با استفاده از MSC ها، می توان سلول های توموری را از بدن فرد بیمار خارج کرده و آن ها را با MSC های مهندسی شده از بدن فرد بیمار، که با ژنهای مختلفی ترنسفاکت شده اند، کشت داد. سپس، میزان مهاجرت MSC ها را به سمت سلولهای توموری بررسی نمود و متناسب با ویژگی های شخصی هر فرد، بهترین سلول ها را هم از نظر دوز و تعداد و هم از نظر میزان تمایل به سلول های توموری انتخاب نمود. از دیگر تمهیداتی که در زمان ژن درمانی با سلول های بینادی در نظر گرفته می شود، تنظیم مکان بیان ژن است. به این معنی که ما تمایل داریم که ژن مورد نظر فقط و فقط در بافت مورد نظر ما (به عنوان مثال، بافت توموری) بیان شود، و به این شکل عوارض ناخواسته و جانبی این شیوهی درمانی کاهش یابد. به این منظور در زمان مهندسی قطعه ی ژنی ای که قرار است در سلول های بنیادی درج گردد، در بالادست ژن مورد نظر، پروموتور اختصاصی بافت هدف را درج می کنند تا ژن به طور اختصاصی در بافت مورد نظر ما بیان شود [۱۷، ۱۸]. در مورد سرطان های دستگاه گوارش، مشاهده شده است که در ۹۰٪ موارد، جهش در پروتئین کوژن c-Kit (تیروزین-پروتئین کیناز کیت) رخ می دهد و منجر به پیشروی تومور می شود. درک این واقعیت و واقعیت های مشابه، می تواند نقطه ی آغازی باشد برای شناسایی مسیرهای سیگنالینگ مختلف

در سرطان های گوارشی؛ که پیرو آن اطلاعات مناسبی برای طراحی شخصی درمان، متناسب با پروفایل تغییرات مولکولی در بیمار، به عنوان مثال طراحی ژن درمانی با استفاده از MSC ها مستخرج از بیمار، برای هدف قرار دادن مهمترین ژن های جهش یافته، فراهم می گردد [۱۷، ۱۹]. مثال هایی از کاربرد MSC ها در ژن درمانی سرطان های گوارشی در جدول ۱ فهرست شده است.

مروری بر آخرین دستاوردهای ژن درمانی در سرطان های گوارشی

سرطان های دستگاه گوارش از شایع ترین سرطان ها هستند و طیف وسیعی از سرطان ها، شامل سرطان معده، کبد، کلون، مری، صفرا، پانکراس و... را به خود اختصاص می دهند. فراوانی ابتلا به این گروه از سرطان ها، نه تنها در مورد هر یک از انواع آن متفاوت می باشد؛ بلکه گزارشات حاکی از آن هستند که نرخ بروز بیماری در مناطق مختلف نیز، متفاوت است. تومورهای گوارشی را می توان به صورت نئوپلاسم های مزانشیمی معرفی کرد؛ که در اثر فعالیت آنکوژن ها و جهش در ژن های کد کننده ی RTK یا همان تیروزین کیناز گیرنده ای (در ۸۰ تا ۸۵ درصد موارد) و PDGFRA، که با افزایش عملکرد آن ها همراه می گردد؛ معرفی نمود [۲۰، ۲۱]. سرطان های گوارشی، سرطان های بسیار پیچیده ای هستند که در هر یک از افراد مبتلا رفتاری خاص و منحصر به فرد را نشان می دهند. انتخاب راه کارهای درمانی در این بیماری به مختلفی از جمله نوع سرطان، اندازه ی تومور، میزان پیشرفت آن، ژنتیک فرد، و... وابسته است [۲۲].

به طور کلی چهار روش درمانی (شامل جراحی، شیمی درمانی، پرتو درمانی و ژن درمانی) برای درمان سرطان های گوارشی وجود دارد؛ بدیهی است که، هریک از این روش ها برای بیمار، با عوارض جانبی خاص خود همراه می گردند. جراحی می تواند در فیزیولوژی سرطان ایجاد اختلال کند و بیمار را با عوارضی همچون اختلال در انتقالات روده ای، تغییر در عملکرد آنزیم های تجزیه کننده، جذب نا مناسب، رشد بیش از حد باکتری ها و نارسایی کبدی مواجه سازد. از مشکلات شیمی درمانی نیز می توان به عدم تحمل لاکتوز، افزایش باکتری های روده ای کوچک، جذب نا مناسب اسیدهای صفراوی، مشکلات کبدی و... اشاره کرد. پرتو درمانی نیز عوارض جانبی خاص خود، مانند تغییر ویژگی های موکوزی، ایجاد التهاب و مرگ سلولی را بروز می دهد. این روش با ایجاد ایسکمی و فیبروز در بافت های زیر موکوز باعث نقص عملکردی سلول های سرطانی می شود. هرچند در مقایسه با شیمی درمانی آسیب کمتری را در سلول های غیر سرطانی ایجاد می کند [۲۳، ۲۴].

از بین روش های رایج، ژن درمانی شیوه ای نوین برای درمان سرطان است؛ که عوارض جانبی آن نسبت به سایر روش های درمانی بسیار کمتر است. همانگونه که ذکر شد، به طور کلی در این روش ژن هایی که در سرطان خاموش و یا دچار نقص شده اند (همچون ژن p53 که در بیش از ۵۰ درصد سرطان ها

معرفی استراتژی‌های مهندسی سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSC) برای استفاده از آن‌ها در فرآیند ژن درمانی

سلول‌های بنیادی مزانشیمی دارای ویژگی‌های مختلفی هستند؛ که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به قابلیت خود تجدیدپذیری و هم‌چنین توانایی تمایز به سلول‌های مختلف، اشاره کرد. این سلول‌ها در دو گروه کلی سلول‌های بنیادی جنینی و سلول‌های بنیادی بالغ تقسیم‌بندی می‌شوند. سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSC) یکی از مهم‌ترین سلول‌های بنیادی بالغین در زمینه‌ی درمان هستند؛ زیرا دسترسی به آن‌ها آسان است و می‌توان به راحتی آن‌ها را از بافت مغز استخوان و بافت چربی استخراج کرد؛ این سلول‌ها در *ex vivo* رشد و تکثیر زیادی داشته و تأثیرات پاراکرینی آن‌ها حائز اهمیت است [۳۷، ۳۶]. در سال‌های اخیر، توانایی مهاجرت و جایگزینی MSCها در بافت توموری در مطالعات پیش از بالینی ۵، متعددی به اثبات رسیده، و نشان داده شده‌است که از این توانایی MSCها می‌توان برای ارسال آن‌ها به سمت بافت سرطانی استفاده کرده و آن‌ها را به حامل‌های مناسبی برای انتقال عوامل ضد سرطانی تبدیل کرد. اولین کاربرد MSCها به عنوان حامل برای انتقال عوامل ضد سرطانی به سمت تومورها، توسط Studeny و همکارانش نشان داده شد. این گروه پژوهشی MSCهای انسانی را با $\text{IFN-}\beta$ ترنسفکت کردند و سپس آن‌ها را به تومور آدنومای موش تزریق نمودند. آن‌ها مشاهده کردند که میزان رشد این تومورها به میزان قابل توجهی کاهش یافت. بعد از این مطالعه، MSCها توسط ژن‌های مختلفی ترنسفکت شدند تا بتوانند در درمان سرطان‌هایی همچون سرطان پستان [۳۸، ۳۵]، فیبروبلاستوما، و گلیوبلاستوما و همچنین سرطان‌های دستگاه گوارش مانند پانکراتیک آدنوکارسینوما [۳۹] و هپاتوکارسینوما [۳۹] استفاده شوند [۱۰]. یکی از مشکلات عمده‌ای که در ژن درمانی وجود دارد، عدم انتقال کافی و مناسب ژن مورد نظر به سمت بافت توموری می‌باشد. MSCها به علت ویژگی‌های خاصی که دارند به عنوان یک حامل مناسب برای ژن درمانی سرطان‌ها در نظر گرفته شده‌اند و می‌توانند تا حدی بر این مشکلات فائق آیند [۴۰]. این سلول‌ها، در سطح خود دارای گیرنده‌های مربوط به سیتوکین‌ها و کموکین‌هایی هستند که توسط تومورها ترشح می‌شوند و این امر منجر به تمایل ذاتی این سلول‌ها برای مهاجرت به سمت تومورها می‌شود [۳۹]. با مهندسی این سلول‌ها و تغییر بیان این گیرنده‌ها می‌توان قابلیت مهاجرت MSCها را به سمت تومورها افزایش داد. به طور مثال CCR1 یکی از گیرنده‌هایی است، که روی سطح MSCها وجود دارند. لیگاند مربوط به این گیرنده کموکینی به نام CCL3 است که به مقدار زیادی در سرطان هپاتوما، در مناطق توموری بیان می‌شود، اما توسط سلول‌های کبدی نرمال این کموکین‌ها بیان نمی‌شوند. در نتیجه ما می‌توانیم از MSCها برای درمان سرطان‌های کبدی استفاده کنیم و یک ژن خاص (به طور مثال PEDF) را به MSC ترنسفکت کرده و با مهاجرت

خاموش می‌شود) را در وکتور مناسب جایگذاری کرده و سلول‌های حاوی وکتور مورد نظر به روش ته‌اجمی به بدن بیمار وارد می‌کنند. در بین وکتورهای مختلف مناسب برای ژن درمانی، وکتورهای آدنوویروس نوترکیب به علت داشتن ویژگی‌های مختلفی مانند ظرفیت بالای حمل ژن، توانایی بالای انتقال ژن، تحویل انتخابی ژن، سمیت پایین، پتانسیل ایمنی زایی بالا، دست کاری آسان و هزینه‌ی انجام مناسب، از مهم‌ترین وکتورهای نوترکیب به‌شمار می‌روند [۸، ۲۵، ۲۶]. در این راستا داروی Gendicine اولین داروی معتبر ژن درمانی ابود که وارد بازار شد و در سال ۲۰۰۳ برای درمان سرطان سر و گردن مورد استفاده قرار گرفت. این دارو از نظر ماهیت یک آدنوویروس مهندسی شده و حامل ژن وحشی p۵۳ است. در سال ۲۰۱۲ دومین داروی ژن درمانی به نام Glybera و در سال ۲۰۱۵ سومین محصول ژن درمانی تجاری به نام Imlygic نیز تایید شدند [۲۷، ۲۸].

سرطان‌های دستگاه گوارشی که تاکنون با Gendicine تحت درمان قرار گرفته‌اند، عبارتند از سرطان‌های کبد، پانکراس، مری و کلورکتال. لازم به ذکر است که در تمامی این موارد، ژن درمانی همراه با سایر تیمارهای سرطانی مانند پرتودرمانی و شیمی درمانی، با بهبود بیشتر و عوارض جانبی کمتر همراه بوده‌است [۲۹، ۳۰].

یکی از روش‌های تایید شده در ژن درمانی، تزریق حاملان ژن به داخل تومور مورد نظر است. البته بدیهی است که در مواردی که تومورها بسیار گسترده شده و متاستاز رخ داده است، تزریق مستقیم داخل تومور به اندازه‌ی کافی کارآمد نخواهد بود. بنابراین، انتخاب روش مناسب برای ژن درمانی به نوع سرطان و شرایط بیمار وابسته است. به عنوان مثال، یکی از روش‌های کارآمد ژن درمانی، که در سرطان کبد مورد استفاده قرار می‌گیرد، تزریق وریدی می‌باشد [۳۱، ۳۲]. غلظت و دوره‌ی درمان نیز به عواملی همچون اندازه و محل تومور، میزان پیشروی سرطان و تحمل بیمار بستگی دارد [۳۳]. سرطان‌های مجرای گوارشی و بافت کبد و پانکراس با چالش‌های درمانی زیادی مواجه هستند؛ چراکه در مراحل پیشرفته، نمی‌توان درمان‌های رایج، به ویژه جراحی، را در مورد آن‌ها انجام داد. در این موارد، ژن درمانی، به خصوص نوع شخصی سازی شده‌ی آن بسیار مورد توجه قرار می‌گیرد [۱۶]؛ به طوری که امروزه برای درمان سرطان‌های پیشرفته و بیماری‌های التهابی که در دستگاه گوارش ایجاد می‌شوند، متناسب با ویژگی‌های شخصی هر فرد مورد استفاده قرار می‌گیرند [۳۴]. در این راستا، از بین روش‌های مختلف انتقال ژن به بافت‌های بدخیم بیمار، ژن درمانی سرطان‌های گوارشی با استفاده از MSCهای اختصاصی بیمار، به دلایلی که در بخش‌های قبلی به طور مفصل به آن‌ها پرداخته شد به عنوان یک روش مورد علاقه و مطلوب معرفی می‌گردد [۳۵].

این MSC مهندسی شده به سمت تومور موجبات مهاررگ زایی در تومورها را فراهم آوریم [۳۷].

برای مهندسی کردن و ترنسفکشن نمودن ژن ها به داخل MSC ها روش های مختلفی وجود دارد. وکتورهای ویروسی و وکتورهای غیرویروسی (عناصر ترنسپوزونی) دو گروه عمده از وکتورهایی هستند که می توان از آن ها برای انتقال ژن مورد نظر به داخل MSC ها استفاده کرد [۱۰]. آدنوویروس ها ، رتروویروس ها و لنتی ویروس ها سه گروه عمده از وکتورهای ویروسی هستند؛ که به عنوان حامل برای انتقال ژن به داخل MSC ها مورد استفاده قرار می گیرند [۱۱]. آدنوویروس ها می توانند باعث بروز پاسخ ایمنی در فرد بیمار می شوند. رتروویروس ها هم ممکن است منجر به ایجاد جهش شوند. به دلیل وجود این مشکلات محققان از لنتی ویروس ها [۳۵] برای ترنسفکشن MSC ها استفاده می کنند، زیرا این ویروس ها دارای یک سری ویژگی های مثبت نسبت به دو نوع وکتور قبلی می باشند. لنتی ویروس ها باعث ایجاد یک بیان پایدار هم در سلول های تقسیم شونده و هم در سلول های غیر تقسیم شونده می شوند و به علاوه در زمان استفاده از آن ها احتمال بیان ژن های مجاور ژن مورد نظر ما خیلی کمتر خواهد بود و این باعث افزایش اطمینان استفاده از این وکتورها می شود [۴۱]. تکنولوژی دیگری که باعث پیشرفت در زمینه ترنسفکشن

کردن MSC ها شد استفاده از وکتورهای ترنسپوزونی بود. این وکتورها باعث ایجاد یک بیان دائمی و بدون خاموشی در سلول های MSC می شوند، کم هزینه هستند، ایمنی زایی کمتری ایجاد می کنند و مقادیر بزرگ ژن را می توانند حمل کنند [۱۰]. اما با وجود پیشرفت های زیادی که در این زمینه انجام شده است؛ هم چنان نگرانی هایی در زمینه استفاده از MSC ها به عنوان وکتور وجود دارد. یکی از این مشکلات ناهمگونی سلول های MSC استخراج شده از یک بافت است. با وجود این که این MSC ها از یک بافت استخراج می شوند، اما گیرنده های کموکلین و سیتوکینی که روی سطح آن ها وجود دارد ممکن است تنوع زیادی را نشان دهند. این تنوع و ناهمگونی می تواند ما را در هدایت MSC ها به سمت بافت سرطانی دچار مشکل کند و در نتیجه مانعی باشد برای عدم انجام یک درمان اختصاصی موفق [۳۹، ۱۸]. البته محققان با ترکیب شیوه های درمانی مختلف، مانند شیمی درمانی و رادیوتراپی همراه با ژن درمانی و استفاده از علم پزشکی شخصی، توانسته اند تا حدودی بر این مشکلات غلبه کرده و اختصاصیت درمان را افزایش دهند. در واقع استفاده از کارآمد از سلول های MSC مهندسی شده زمانی امکان پذیر است که ما اطلاعات کافی هم درباره ویژگی های مولکولی تومور مورد نظر و هم درباره ویژگی های مولکولی بدن شخص بیمار داشته باشیم [۳۷].

منبع	وکتور حامل ژن به MSC	نقش پروتئین تولید شده در MSC	ژن ترنسفکشن شده	نوع سرطان گوارشی	منشأ MSC	نوع MSC
[42, 10]	آدنو ویروس	سیتوکین IFN- β باعث افزایش آپوپتوز و مرگ سلول های توموری می شود.	IFN- β	سرطان پانکراس	MSC بافت چربی انسان / مغز استخوان انسان	hAT-MSC hMSC
[43]	پلاسمید	سیتوزین دآمیناز باعث تولید 5-فلوروئوراسیل می شود که یک ماده ی سمی و کشنده برای تومورهاست.	CD	سرطان معده	MSC بافت مغز استخوان موش	mMSC
[40, 10]	لنتی ویروس	فاکتور مشتق شده از اپیتلیوم رنگدانه ها که منجر به مهاررگ زایی در تومور ها می شود. لیپوگالین 2، یک ترکیب ضد سرطان است که باعث مهار سنتز VEGF می شود در نتیجه رگ زایی را در تومورها مهار می کند.	PEDF	سرطان کبد	MSC مغز استخوان انسان	hMSC
[45, 44]	پلاسمید		Lcn2	سرطان کولون	MSC مغز استخوان انسان	hMSC

جدول ۱: کاربرد سلول های بنیادی مزانشیمی مهندسی شده در درمان سرطان های گوارشی

جمع بندی و دورنمای آینده

ظهور دانش پزشکی شخصی باعث باز شدن افق جدیدی در علم پزشکی شده است. این افق نوظهور انقلابی عظیم در هر سه بازوی پزشکی یعنی پیشگیری، تشخیص و مخصوصا درمان ایجاد خواهد کرد. امروزه، به موازات پیشرفت روز افزون دانش پزشکی و بیولوژی، پزشکی شخصی نیز توسعه یافته است. شواهد نشان می دهند که در آینده ای نه چندان دور، این رویکرد جدید، جایگزین پزشکی کنونی خواهد شد که با هزینه ای کمتر، با قطعیت بیشتر پیشگیری، تشخیص و درمان را تضمین خواهد کرد. با تجاری سازی و ورود تراشه های تعیین هویت ژنتیکی افراد که با تکمیل پروژه ی ژنوم انسان میسر شد؛ و همچنین توسعه ی بیشتر دانش سلول های بنیادی و استفاده

از آن ها در پیشگیری و درمان ناهنجاری ها و بیماری هایی پیچیده ای چون سرطان، امروزه مواجهه با این بیماری ها راحت تر شده و هزینه ی کمتری را به بیماران تحمیل خواهد کرد. به عنوان گوشه ای از این پیشرفت ها، آخرین دست آوردهای درمانی در مورد سرطان های گوارشی در این مقاله به بحث گذاشته شد. دیدیم که دست آوردهای اخیر، نشان می دهند که کاربرد سلول های بنیادی و مهندسی آن ها با روش های متفاوت در مهار سرطان ها بسیار نویدبخش است. در راستای چنین تحولاتی، امید می رود که در آینده ای نه چندان دور دانش پزشکی به سطحی ارتقاء یابد که نگرانی های مردم را از لحاظ کیفیت و هزینه به حداقل مقدار ممکن تقلیل دهد.

1. Hassan, M., Personalized medicine in cancer therapy. *HAMDAN MEDICAL JOURNAL*, 2014. 7(4).
2. Pei, J., et al., Systems biology brings new dimensions for structure-based drug design. *Journal of the American Chemical Society*, 2014. 136(33): p. 11556-11565.
3. Butcher, E.C., E.L. Berg, and E.J. Kunkel, Systems biology in drug discovery. *Nature biotechnology*, 2004. 22(10): p. 1253.
4. McShane, L.M., et al., Criteria for the use of omics-based predictors in clinical trials: explanation and elaboration. *BMC medicine*, 2013. 11(1): p. 220.
5. Chin, L., J.N. Andersen, and P.A. Futreal, Cancer genomics: from discovery science to personalized medicine. *Nature medicine*, 2011. 17(3): p. 297.
6. Mavroudi, M., et al., Stem cells' guided gene therapy of cancer: new frontier in personalized and targeted therapy. *Journal of cancer research & therapy*, 2014. 2(1): p. 22.
7. Schilsky, R.L., Personalized medicine in oncology: the future is now. *Nature reviews Drug discovery*, 2010. 9(5): p. 363.
8. Edwards, M.T., Gene Therapy: Current Treatment Options and Likely Near-Term Developments. *Inquiries Journal*, 2014. 6(09).
9. Ingato, D., et al., Good things come in small packages: Overcoming challenges to harness extracellular vesicles for therapeutic delivery. *Journal of Controlled Release*, 2016. 241: p. 174-185.
10. Bao, Q., et al., Mesenchymal stem cell-based tumor-targeted gene therapy in gastrointestinal cancer. *Stem cells and development*, 2012. 21(13): p. 2355-2363.
11. Studeny, M., et al., Bone marrow-derived mesenchymal stem cells as vehicles for interferon- β delivery into tumors. *Cancer research*, 2002. 62(13): p. 3603-3608.
12. Collins, M. and A. Thrasher, Gene therapy: progress and predictions. in *Proc. R. Soc. B*. 2015. The Royal Society.
13. Wu, N., et al., Overexpression of hepatocyte nuclear factor 4 α in human mesenchymal stem cells suppresses hepatocellular carcinoma development through Wnt/ β -catenin signaling pathway downregulation. *Cancer biology & therapy*, 2016. 17(5): p. 558-565.
14. Jácome, A.A., et al., Personalized medicine in gastric cancer: Where are we and where are we going? *World journal of gastroenterology*, 2016. 22(3): p. 1160.
15. Heinemann, V., et al., Targeted therapy in metastatic colorectal cancer—an example of personalised medicine in action. *Cancer treatment reviews*, 2013. 39(6): p. 592-601.
16. Jameson, J.L. and D.L. Longo, Precision medicine—personalized, problematic, and promising. *Obstetrical & Gynecological Survey*, 2015. 70(10): p. 612-614.
17. Caplan, A.I. and S.P. Bruder, Mesenchymal stem cells: building blocks for molecular medicine in the 21st century. *Trends in molecular medicine*, 2001. 7(6): p. 259-264.
18. Sun, X.-Y., et al., Mesenchymal stem cell-mediated cancer therapy: A dual-targeted strategy of personalized medicine. *World journal of stem cells*, 2011. 3(11): p. 96.
19. Jackson, S.E. and J.D. Chester, Personalised cancer medicine. *International journal of cancer*, 2015. 137(2): p. 262-266.
20. Lasota, J., et al., Clinicopathologic profile of gastrointestinal stromal tumors (GISTs) with primary KIT exon 13 or exon 17 mutations: a multicenter study on 54 cases. *Modern pathology*, 2008. 21(4): p. 476.
21. Corless, C.L., J.A. Fletcher, and M.C. Heinrich, Biology of gastrointestinal stromal tumors. *Journal of Clinical Oncology*, 2004. 22(18): p. 3813-3825.
22. Modlin, I.M., et al., Therapeutic options for gastrointestinal carcinoids. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2006. 4(5): p. 526-547.
23. Andreyev, H.J.N., et al., Practice guidance on the management of acute and chronic gastrointestinal problems arising as a result of treatment for cancer. *Gut*, 2011: p. gutjnl-2011-300563.
24. Zhang, W.-W., et al., Adp53 (Gendicine) 12 Years in Clinic—The First Approved Gene Therapy Product for Cancer. *Human gene therapy*, 2018(ja).
25. Chen, G.-x., et al., Clinical utility of recombinant adenoviral human p53 gene therapy: current perspectives. *OncoTargets and therapy*, 2014. 7: p. 1901.
26. Crystal, R.G., Adenovirus: the first effective in vivo gene delivery vector. *Human gene therapy*, 2014. 25(1): p. 3-11.
27. Miller, N., Glybera and the future of gene therapy in the European Union. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2012. 11(5): p. 419.
28. Food, U. and D. Administration, FDA approves first-of-its-kind product for the treatment of melanoma. Press release. October 27, 2015. 2015.
29. Yang, Z.-x., et al., Clinical study of recombinant adenovirus-p53 combined with fractionated stereotactic radiotherapy for hepatocellular carcinoma. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 2010. 136(4): p. 625-630.
30. Lu, P., et al., Antitumor activity of a combination of rAdp53 adenoviral gene therapy and radiotherapy in esophageal carcinoma. *Cell biochemistry and biophysics*, 2011. 59(3): p. 147-152.
31. He, X., et al., Therapeutic p53 gene agent in the treatment of NPC cases: Preliminary results. 2015, American Society of Clinical Oncology.
32. Dong, M., et al., Advanced malignant pleural or peritoneal effusion in patients treated with recombinant adenovirus p53 injection plus cisplatin. *Journal of International Medical Research*, 2008. 36(6): p. 1273-1287.
33. Pan, J.-j., et al., Effect of recombinant adenovirus-p53 combined with radiotherapy on long-term prognosis of advanced nasopharyngeal carcinoma. *Journal of clinical oncology*, 2008. 27(5): p. 799-804.
34. van der Marel, S., et al., Gene and cell therapy based treatment strategies for inflammatory bowel diseases. *World journal of gastrointestinal pathophysiology*, 2011. 2(6): p. 114.
35. Loebinger, M.R., et al., Mesenchymal stem cell delivery of TRAIL can eliminate metastatic cancer. *Cancer research*, 2009. 69(10): p. 4134-4142.
36. Niess, H., et al., Genetic engineering of mesenchymal stromal cells for cancer therapy: turning partners in crime into Trojan horses. *Innovative Surgical Sciences*, 2016. 1(1): p. 19-32.
37. Loebinger, M.R. and S.M. Janes, Stem cells as vectors for antitumor therapy. *Thorax*, 2010. 65(4): p. 362-369.
38. Eliopoulos, N., et al., Neo-organoid of marrow mesenchymal stromal cells secreting interleukin-12 for breast cancer therapy. *Cancer research*, 2008. 68(12): p. 4810-4818.
39. Keung, E.Z., P.J. Nelson, and C. Conrad, Concise review: genetically engineered stem cell therapy targeting angiogenesis and tumor stroma in gastrointestinal malignancy. *Stem Cells*, 2013. 31(2): p. 227-235.
40. Gao, Y., et al., Human mesenchymal stem cells overexpressing pigment epithelium-derived factor inhibit hepatocellular carcinoma in nude mice. *Oncogene*, 2010. 29(19): p. 2784-2794.
41. Kyriakou, C.A., et al., Human mesenchymal stem cells (hMSCs) expressing truncated soluble vascular endothelial growth factor receptor (tsFlk 1) following lentiviral mediated gene transfer inhibit growth of Burkitt's lymphoma in a murine model. *The journal of gene medicine*, 2006. 8(3): p. 253-264.
42. Kidd, S., et al., Mesenchymal stromal cells alone or expressing interferon- β suppress pancreatic tumors in vivo, an effect countered by anti-inflammatory treatment. *Cytotherapy*, 2010. 12(5): p. 615-625.
43. You, M.H., et al., Cytosine deaminase producing human mesenchymal stem cells mediate an antitumor effect in a mouse xenograft model. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 2009. 24(8): p. 1393-1400.
44. Harati, M.D., et al., Targeting delivery of lipocalin 2-engineered mesenchymal stem cells to colon cancer in order to inhibit liver metastasis in nude mice. *Tumor Biology*, 2015. 36(8): p. 6011-6018.
45. Bolignano, D., et al., Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in human neoplasias: a new protein enters the scene. *Cancer letters*, 2010. 288(1): p. 10-16.

بررسی بیوانفورماتیکی پلی مورفیسم های ژن های CXCL8 و G1RLK در سلولهای تک هسته ای خون افراد مبتلا به بیماری لوپوس

فاطمه شعبان پور اقاملکی^۱، شیرین فریور^۲، محمد مرصاد قربانی^۳

۱ دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک گروه سلولی و مولکولی، دانشکده علوم و فناوری های نوین زیستی، دانشگاه شهید بهشتی
۲ نویسنده مسئول. دانشیار ژنتیک گروه سلولی و مولکولی، دانشکده علوم و فناوری های نوین زیستی، دانشگاه شهید بهشتی
۳ پژوهشیار بیوانفورماتیک گروه سلولی و مولکولی، دانشکده علوم و فناوری های نوین زیستی، دانشگاه شهید بهشتی



فاطمه شعبان پور اقاملکی

چکیده

بیماری لوپوس یک بیماری مزمن خود ایمن است که دران اندام های مختلف درگیر می شوند. این بیماری یه بیماری چند عاملی است که دران عوامل ژنتیکی، اپی ژنتیکی همانند متیلاسیون و تغییرات هیستون ها و عوامل محیطی همچون UV و EBV نقش دارند. SNP ها به عنوان پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی هستند که دران ها معمولا توالی ژن دچار تغییر میگردد که میتواند ساختار آمینو اسید و پروتئین را نیز درگیر کند. پروفایل microarray بیان ژن بیماران مبتلا به لوپوس، نشاندهنده ی تغییر در بیان ژن های CXCL8 و KLRG1 است. بنابراین ما در این مقاله سعی در آنالیز بیوانفورماتیکی این داده و تعیین SNP های این دو ژن مهم کردیم.

کلمات کلیدی

- لوپوس
- CXCL8
- KLRG1
- SNPs

مقدمه

می شوند. این بیماری به عنوان یک بیماری خود ایمن مزمن با تظاهرات بالینی متنوع است. به این صورت که به طور معمول پوست، مفاصل، سیستم خونی، کلیه ها، شش ها و سیستم عصبی مرکزی را درگیر می کند (Fairhurst, Wandstrat, & Wakeland, 2006; Ghodke-Puranik & Nie-wold, 2015; Tiffin, Adeyemo, & Okpechi, 2013). لوپوس به عنوان یک بیماری چند عاملی دارای عوامل زیادی همچون ژنهای متعدد، هورمونهای جنسی و عوامل محیطی همانند نور خورشید، داروها و عوامل بیماری زای عفونی مانند EBV است (Chighizola & Meroni, 2012; Molokh-ia & McKeigue, 2006; Shiari & Farivar, 2010). بیماریهای سیستمیک خودایمن همانند لوپوس می توانند به دلیل افزایش آنتی بادی های سرم بر علیه هسته ایجاد شوند. در

در حدود ده درصد از افراد جهان مبتلا به انواع بیماریهای خود ایمن هستند. هشتاد نوع بیماری خود ایمن وجود دارد. به طوری که در حدود ۱۴,۷-۲۳,۵ میلیون نفر در آمریکا هستند که از انواع مختلف این بیماری ها رنج می برند. این بیماری ها جزده بیماری برتر کشنده است و جز چهار بیماری است که در زنان منجر به ناتوانی میشود (Cooper & Stroehla, 2003). اما در حدود ۵ میلیون نفر در جهان هستند که به لوپوس مبتلا می باشند. این بیماری بعنوان یک بیماری خود ایمن مطرح می باشد. در بیماریهای خود ایمن پاسخ های التهابی به طور اشتباه به سمت بافت ها و اندام های خودی حمله کرده و منجر به این نوع بیماری ها می شوند. لوپوس یک بیماری سیستمیک است که در آن ارگانها و اندام های زیادی درگیر

سمت محل عفونت هدایت می کند. (Dixit & Simon, 2012) IL-8 همچنین باعث ایجاد فاگوسیتوز می شود. به این صورت که با افزایش آپوپتوز در لنفوسیت ها و تاخیر در ترخیص سلول های آپوپتوتیک متصل به فاگوسیت ها، می تواند به فعالیت بیش از حد سلول B و تولید آنتی بادی پس از آن کمک کند، که به عنوان مشخصه اصلی در بیماران لوپوس می باشد (Bazzoni et al., 1991; Detmers et al., 1991). ترشح اینترلوکین-8 با استرس اکسیداتیو افزایش می یابد که در نتیجه باعث افزایش جذب سلول های التهابی و افزایش بیشتر واسطه های استرس اکسیداتیو شده، که پارامتر کلیدی در التهاب موضعی می باشد (erie Verhasselt, Goldman, & Willems, 1998). KLRG1 یکی دیگر از پروتئین هایی است که در انسان توسط ژن KLRG1 کد می شود و در سیستم ایمنی بدن نقش دارد. پروتئین کد شده توسط این ژن، متعلق به خانواده گیرنده لکتین بوده و در سلول هایی همانند سلول های NK (Natural Killer-cell)، به عنوان پروتئین های ترانس ممبران در غشای سلول های NK بیان می شود (Ito et al., 2006). سلول های NK، سلول های لنفوسیتی هستند، که می توانند لیز برخی از سلول های تومور و سلول های آلوده به ویروس را فعال کنند. آنها همچنین می توانند ایمنی خاص و سلولی را تنظیم کنند (Huntington et al., 2007). مطالعات انجام شده در موش نشان داد که بیان این ژن ممکن است توسط مولکول های MHC I تنظیم می شود (Lanier, 2015). در این مقاله سعی در اثبات نقش ژن های KLRG1 و CXCL8 در ایجاد لوپوس و همچنین بررسی SNP های عملکردی آنها شده است.

روش

۲-۱. استخراج پروفایل بیماری

برای این منظور پروفایل بیان ژن سلول های تک هسته ای خون داده های microarray ۶۶ بیمار مبتلا به لوپوس و ۲۰ فرد سالم از پایگاه داده ی NCBI Geodatasets استخراج شد. این پروفایل در ادرس اینترنتی <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE50772> در دسترس همگان قرار دارد. سری و پلتفرم این داده به ترتیب GSE50772 و GPL570 است. این پروفایل توسط شرکت gene tech با حدود ۸۶ نمونه آماده شده است. با توجه به این ویژگی ها می توان گفت که این پروفایل ارزش تحقیقاتی بالایی دارد و می تواند برای تحقیقات بیشتر مورد استفاده قرار گیرد (Kennedy et al., 2015).

۲-۲. تجزیه و تحلیل پروفایل

بدین منظور، پروفایل بیان ژن توسط logfc یا لگاریتم میزان تغییرات برای تعیین تغییرات بیان مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سپس ژن ها به دو گروه، ژن هایی که در بیماران افزایش بیان و ژن هایی که در آنها کاهش بیان داشته، تقسیم شدند. در این تقسیم بندی ژن ها به وسیله ی میزان p-value مرتب شدند تا ژنی با بیشترین تغییر بیان در هر گروه مشخص گردد.

این بیماری سیستم ایمنی تولرانس خود را از دست داده و آنتی بادی علیه آنتی ژن های خودی تولید کرده و منجر به ایجاد پاسخ ایمنی می شود. خود ایمنی ناشی از ایمنی هومورال در این بیماری دیده میشود که در آن آنتی بادی های خودی به dsDNA و پروتئین های متصل به RNA حمله می کنند (Poole et al., 2009; Rekvig, 2015). در لوپوس انواع مختلف رده های سلولهای خونی درگیر می شوند. یکی از نکاتی که در مورد لوپوس و بسیاری از بیماری های خود ایمن وجود دارد، شیوع بیشترین بیماری در زنان نسبت به مردان است. چرا که بیشتر مبتلایان به این بیماری ها زنان هستند. هرچند علت این پدیده هنوز به درستی مشخص نشده است، اما شواهد نشان می دهد که عواملی همانند هورمون های جنسی به خصوص استروژن و کروموزوم جنسی در ایجاد این تفاوت نقش دارند (Cooney et al., 2009; Shiari & Farivar, 2010). داروهایی که عموماً برای درمان این بیماری استفاده می شوند شامل داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی (NSAIDs)، داروهای ضد مالاریا، کورتیکواستروئیدها (Corticosteroids) و داروهای سرکوب کننده ایمنی (Immunosuppressants) می باشند (Pryor, Bologna, & Kahl, 1996; Wallace, Linker-Israeli, Metzger, & Stecher, 1993). مطالعات GWAS که در رابطه با این بیماری صورت گرفته است نشان میدهد که در حدود ۴۰ لوکوس در این بیماری دخیل است (Graham, 2009). همانطور که انتظار میرود قوی ترین لوکوس مرتبط با این بیماری لوکوس HLA است. اما بجز لوکوس HLA، لوکوسهای مستعد کننده ی نظیر MHC class II receptor, Fcγ receptor gene و خانواده ی ژنی complement system (C1a, C2 or C4) نیز هستند، که با لوپوس مرتبطند. مطالعات مرتبط با ژنوم (GWAS)، به سرعت شناسایی ژن های SLE را افزایش می دهد (Cui, Sheng, & Zhang, 2013; Shai et al., 1999). پلی مورفیسم های ژنتیکی میتوانند منجر به تغییر فنوتیپ شوند. به این صورت که، تغییر توالی DNA می تواند توالی آمینو اسیدی متفاوت در پروتئین ایجاد کند. SNPs در توالی تنظیم شده در اطراف ژن ممکن است منجر به تغییرات در میزان سنتز و یا تجزیه پروتئین شوند. همانطور که قبلاً توضیح داده شد، ژن هایی که تا به امروز در ارتباط با SLE شناسایی شده اند، عمدتاً در ایمنی، ایمنوگلوبولین و پاسخ التهابی دخالت دارند (Rhodes & Vyse, 2007, 2008). در بین ژن های مختلف که با SLE مرتبط هستند، خانواده IL نقش مهمی در پاتوژنز SLE دارند. اینترلوکین 8 (IL-8) یا (chemokine C-X-C motif) لیگاند 8، CXCL8 یک کموکاین تولید شده توسط ماکروفاژها و سایر انواع سلولی مانند سلول های اپیتلیال و سلول های عضلانی صاف است (Wolff, Burns, & Rot, 1998). IL-8، همچنین به عنوان فاکتور شیمیایی نوتروفیل شناخته می شود، دارای دو عمل اصلی است. به این صورت که موجب تحریک شیمیایی در سلول های هدف مانند نوتروفیل ها و دیگر گرانولوسیت ها شده و آنها را به

شناسایی SNP ها، تمامی آنها براساس عملکرد و ناحیه ای که در ژن قرار دارند، اولویت بندی گردیدند.

نتایج

بعد از بررسی پروفایل بیانی بیماران مبتلا به لوپوس بوسیله ی Geo datasets TOP250 مشخص شد، که ژن CXCL8 با $p\text{-value} = 2.5E-13$ در این بیماران افزایش بیان (تصویر ۱) و ژن KLRG1 با $p\text{-value} = 1.32E-09$ کاهش بیان (تصویر ۲) داشته است. علاوه بر این میزان بیان این ژن ها در تمام نمونه ها نیز بررسی شد تا از صحت این داده ها اطمینان حاصل شود، که نشاندهنده ی افزایش بیان ژن CXCL8 و کاهش بیان ژن KLRG1 بود (تصاویر ۳، ۴).

همچنین میزان بیان این ژن ها در تمام نمونه ها در همان پایگاه Geodatasets نیز تعیین شد. در مرحله ی بعد برای اثبات نقش ژن ها در ایجاد بیماری لوپوس، تمام مسیرهای زیستی مرتبط با این ژن ها و میانکنش آنها با دیگر پروتئین ها به وسیله ی پایگاه Gene Card نیز مشخص گردید. در نهایت بعد از اثبات نقش این ژن ها در این بیماری، SNP های مرتبط با این ژن ها با استفاده از پایگاه های

NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/snp)

UCSC (genome.ucsc.edu)

ExAC (The Exome Aggregation Consortium) (exac.broadinstitute.org)

و برخی از SNP های مرتبط با این ژن ها در ناحیه ی جنوب اسیا توسط پایگاه داده ExAC شناسایی شدند. سپس بعد از

تصویر ۱. افزایش بیان ژن CXCL8 در بیماران لوپوس و کاهش بیان آن در افراد سالم دیده می شود.

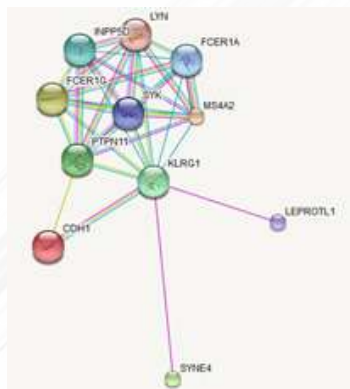
تصویر ۲. کاهش بیان ژن KLRG1 در افراد مبتلا به لوپوس مشاهده می گردد.

تصویر ۳. میزان بیان ژن CXCL8 در تمامی نمونه ها (GSM) را نشان می دهد.

تصویر ۴. میزان بیان ژن KLRG1 در تمامی نمونه (GSM) دیده می شود.

Villaamil, Gallego, Valladares-Ayerbes, Caínzos, & Aparicio, 2012)، و پروتئین LYN در پایین دست گیرنده ی کموکاین CXCL4 و همچنین گیرنده های IL3 و IL5 قرار دارد (Yousefi, Hoessli, Blaser, Mills, & Simon, 1996). تمام این ها می توانند دلیلی در نقش و تاثیر KLRG1 را در ایجاد و پیشرفت لوپوس را نشان دهند.

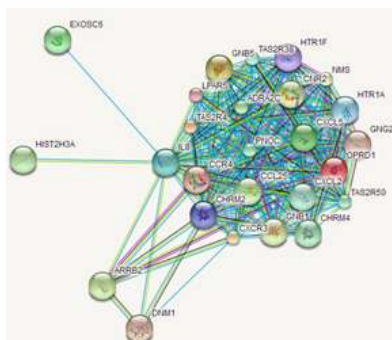
مسیرهای پیام رسانی اصلی برای ژن CXCL8 که توسط پایگاه GeneCard شناسایی شدند، مسیرهای ایمنی اختصاصی، گیرنده NK-cell ها و پردازش انتی ژن های MHC I می باشند. محصول پروتئینی این ژن با پروتئین های PTPN11 و LYN در ارتباط نزدیک است (تصویر ۵). حذف پروتئین PTPN11 منجر به فعال شدن مسیرهای التهابی توسط STAT3 شده



تصویر ۵. برهم کنش پروتئین KLRG1 با پروتئین های دیگر دیده می شود.

های سلولی نظیر، متابولیسم سلولی و کموتاکسی نقش دارد (Ivashkiv, 2003). پروتئین CXCR4 به عنوان گیرنده ی اختصاصی الفا کموکاین ها برای پروتئین SDF-1 یا CXCL12 می باشد. این پروتئین در فعالیت کموتاکسی لنفوسیت ها اثر دارد. پس با این نکات می توان به اهمیت نقش CXCL8 در پاتوژنز لوپوس پی برد (Wang et al., 2009).

علاوه بر این با توجه به پایگاه های GeneCard و KEGG پروتئین CXCL8 در مسیر پیام رسانی TLR و JAK-STAT ایفای نقش می کند و با پروتئین های CXCR4 و RELA در ارتباط است (تصویر ۶). پروتئین RELA که با عنوان P۶۵ نیز شناخته شده است، یکی از اجزای هتروداایمر NF-KB بوده و در پاسخ های التهابی ایفای نقش می کند (Beg & Baltimore, 1996). NF-KB به عنوان یک فاکتور رونویسی در بسیاری از فعالیت



تصویر ۶. میانکنش پروتئین CXCL8 با پروتئین های دیگر را نشان می دهد.

در نهایت بعد از اثبات نقش این دو ژن در ایجاد و همچنین پیشرفت لوپوس در برخی از SNP های این دو ژن شناسایی شد، تا از آنها برای دسته بندی بیماران برای درمان مبتنی بر پزشکی شخصی استفاده کرد (جدول ۱ و ۲).

Position	RSID	Ref.	Alternate	Protein Consequence	Transcript Cons.	Annotation	Allele Freq.
74607328	rs139503118	A	G	p.His45Arg	c.134A>G	missense	0.00024
74608159	rs77954293	A	G	0	c.285-7A>G	splice region	0.0007699
74607377	rs147544998	C	T	p.Cys61Cys	c.183C>T	synonymous	0.0000332
74606348	rs2227537	G	A	0	c.-28G>A	5' UTR	0.003809
74606355	rs56002960	A	T	0	c.-21A>T	5' UTR	0.000008268
74606355	rs56002960	A	G	0	c.-21A>G	5' UTR	0.000008268
74607286	rs138567132	A	C	p.Glu31Ala	c.92A>C	missense	0.000008288
74606393	rs1803205	C	T	p.Ala6Ala	c.18C>T	synonymous	0.001294
74606393	rs1803205	C	G	p.Ala6Ala	c.18C>G	synonymous	0.000008241
74607267	rs150567416	T	C	p.Leu25Leu	c.73T>C	synonymous	0.000008309
74607285	rs188378669	G	A	p.Glu31Lys	c.91G>A	missense	0.000008289
74607285	rs188378669	G	T	p.Glu31Ter	c.91G>T	stop gained	0.00121

جدول ۱. نمونه ای از SNP های ژن CXCL8 با توجه به پایگاه داده ExAC

Position	RSID	Ref.	Alternate	Protein Consequence	Transcript Consequence	Annotation	Allele Freq.
9142273	rs34102416	G	A	p.Thr14Thr	c.42G>A	synonymous	0.00273
9144811	rs147413584	C	G	p.Ser31Cys	c.92C>G	missense	0.0003056
9144881	rs148651970	G	C	p.Leu54Leu	c.162G>C	synonymous	0.00003297
9144881	rs148651970	G	T	p.Leu54Leu	c.162G>T	synonymous	0.000008242
9144883	rs148446780	T	C	p.Leu55Pro	c.164T>C	missense	0.0003709
9144886	rs142574954	A	G	p.Tyr56Cys	c.167A>G	missense	0.000008243

جدول ۲. نمونه ای از SNP های ژن KLRG1 با توجه به پایگاه ExAC

مهم و اساسی می باشد. پس در این جا تعدادی از SNP های منطقه ی جنوب آسیا با استفاده از پایگاه ExAC تعیین و استخراج شد (جدول ۳) تا بدین منظور استفاده گردد.

برخی از SNP ها در برخی از نقاط جهان و حتی در برخی جمعیت ها شایع تر بوده، که سبب تنوع جمعیت ها و حتی نوع پاسخ آنها به بسیاری از عوامل نظیر عوامل محیطی و دارو ها می گردد. در نتیجه بررسی SNP ها در هر جمعیتی بسیار

Position	RSID	Ref.	Alternate	Gene	Annotation	Allele Frequency
74606393	rs1803205	C	T	CXCL8	synonymous	0.001294
74607377	rs147544998	C	T	CXCL8	synonymous	0.0008324
74607252	rs201004318	C	A	CXCL8	splice region	0.00008361
74607696	rs536774132	T	A	CXCL8	Stop gained	0.0006635
9162545	rs73238291	T	C	KLRG1	Intron, 3UTR	0.0004127
9161648	rs3026251	T	C	KLRG1	synonymous	0.2909
9147759	rs116751107	C	T	KLRG1	missense	0.001586

جدول ۳. تعدادی از SNP های ژن های CXCL8 و KLRG1 در جمعیت های جنوب آسیا شایع هستند.

با ایجاد مشکل در پروتئین می شوند. اما تغییرات قومی با تاثیر بر روی پلی مورفیسم ها نقش بسیار مهمی در میزان حساسیت افراد به انواع بیماری ها، همچنین به نوع درمان افراد و میزان وخامت بیماری دارند. بنابراین شناسایی ژن های مهم و SNP های آنها در هر بیماری و در هر جمعیت به درمان بیماری بر اساس پزشکی شخصی کمک می کند.

بحث و نتیجه گیری

ژن های متعددی وجود دارد که با بیماری های مختلف از جمله SLE مرتبط هستند. یکی از روش های تاثیر ژن ها در ایجاد بیماری SNP ها بوده که به شکل تغییر در توالی ژن خود را نشان می دهند. SNP ها می توانند بر ساختار و مسیر های پیام رسانی تاثیر بگذارد، به این صورت که باعث برهم خوردن ساختار آنها و همچنین جلوگیری از روند مسیر های پیام رسانی

منابع

- Bazzoni, F., Cassatella, M. A., Rossi, F., Ceska, M., Dewald, B., & Baggiolini, M. (1991). Phagocytosing neutrophils produce and release high amounts of the neutrophil-activating peptide 1/interleukin 8. *Journal of Experimental Medicine*, 173(3), 771-774.
- Beg, A. A., & Baltimore, D. (1996). An essential role for NF- κ B in preventing TNF- α -induced cell death. *Science-AAAS-Weekly Paper Edition*, 274(5288), 782-783.
- Chighizola, C., & Meroni, P. L. (2012). The role of environmental estrogens and autoimmunity. *Autoimmunity reviews*, 11(6), A493-A501.
- Cooney, C. M., Bruner, G. R., Aberle, T., Namjou-Khales, B., Myers, L. K., Feo, L., ... Harley, J. B. (2009). 46, X, del (X)(q13) Turner's syndrome women with systemic lupus erythematosus in a pedigree multiplex for SLE. *Genes and immunity*, 10(5), 478-481.
- Cooper, G. S., & Stroehla, B. C. (2003). The epidemiology of autoimmune diseases. *Autoimmunity reviews*, 2(3), 119-125.
- Cui, Y., Sheng, Y., & Zhang, X. (2013). Genetic susceptibility to SLE: recent progress from GWAS. *Journal of autoimmunity*, 41, 25-33.
- Detmers, P. A., Powell, D. E., Walz, A., Clark-Lewis, I., Baggiolini, M., & Cohn, Z. (1991). Differential effects of neutrophil-activating peptide 1/IL-8 and its homologues on leukocyte adhesion and phagocytosis. *The Journal of Immunology*, 147(12), 4211-4217.
- Dixit, N., & Simon, S. I. (2012). Chemokines, selectins and intracellular calcium flux: temporal and spatial cues for leukocyte arrest. *Frontiers in immunology*, 3.
- erie Verhasselt, V., Goldman, M., & Willems, F. (1998). Oxidative stress up-regulates IL-8 and TNF- α synthesis by human dendritic cells. *Eur. J. Immunol*, 28, 3886-3890.
- Fairhurst, A. M., Wandstrat, A. E., & Wakeland, E. K. (2006). Systemic lupus erythematosus: multiple immunological phenotypes in a complex genetic disease. *Advances in immunology*, 92, 1-69.
- Ghodke-Puranik, Y., & Niewold, T. B. (2015). Immunogenetics of systemic lupus erythematosus: a comprehensive review. *Journal of autoimmunity*, 64, 125-136.
- Graham, D. S. C. (2009). Genome-wide association studies in systemic lupus erythematosus: a perspective. *Arthritis research & therapy*, 11(4), 119.
- Huntington, N. D., Tabarias, H., Fairfax, K., Brady, J., Hayakawa, Y., Degli-Esposti, M. A., ... Nutt, S. L. (2007). NK cell maturation and peripheral homeostasis is associated with KLRG1 up-regulation. *The Journal of Immunology*, 178(8), 4764-4770.
- Ito, M., Maruyama, T., Saito, N., Koganei, S., Yamamoto, K., & Matsumoto, N. (2006). Killer cell lectin-like receptor G1 binds three members of the classical cadherin family to inhibit NK cell cytotoxicity. *Journal of Experimental Medicine*, 203(2), 289-295.
- Ivashkiv, L. B. (2003). Type I interferon modulation of cellular responses to cytokines and infectious pathogens: potential role in SLE pathogenesis. *Autoimmunity*, 36(8), 473-479.
- Kennedy, W. P., Maciuga, R., Wolslegel, K., Tew, W., Abbas, A. R., Chaivorapol, C., ... Richardson, B. C. (2015). Association of the interferon signature metric with serological disease manifestations but not global activity scores in multiple cohorts of patients with SLE. *Lupus science & medicine*, 2(1), e000080.
- Lanier, L. L. (2015). KLRK1 (killer cell lectin-like receptor subfamily K, member 1).
- Molokhia, M., & McKeigue, P. (2006). Systemic lupus erythematosus: genes versus environment in high risk populations. *Lupus*, 15(11), 827-832.
- Poole, B. D., Schneider, R. L., Guthridge, J. M., Velte, C. A., Reichlin, M., Harley, J. B., & James, J. A. (2009). Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatology*, 60(3), 848-859.
- Pryor, B. D., Bologna, S. G., & Kahl, L. E. (1996). Risk factors for serious infection during treatment with cyclophosphamide and high dose corticosteroids for systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatology*, 39(9), 1475-1482.
- Rekvig, O. (2015). Anti dsDNA antibodies as a classification criterion and a diagnostic marker for systemic lupus erythematosus: critical remarks. *Clinical & Experimental Immunology*, 179(1), 5-10.
- Rhodes, B., & Vyse, T. (2007). General aspects of the genetics of SLE. *Autoimmunity*, 40(8), 550-559.
- Rhodes, B., & Vyse, T. (2008). The genetics of SLE: an update in the light of genome-wide association studies. *Rheumatology*, 47(11), 1603-1611.
- Shai, R., Quismorio Jr, F. P., Li, L., Kwon, O.-J., Morrison, J., Wallace, D. J., ... Jacob, C. O. (1999). Genome-wide screen for systemic lupus erythematosus susceptibility genes in multiplex families. *Human Molecular Genetics*, 8(4), 639-644.
- Shiari, R., & Farivar, S. (2010). Juvenile systemic lupus erythematosus associated with Klinefelter's syndrome: a case report. *Reumatologia clinica*, 6(4), 212-213.
- Tiffin, N., Adeyemo, A., & Okpechi, I. (2013). A diverse array of genetic factors contribute to the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Orphanet journal of rare diseases*, 8(1), 2.
- Villaamil, V. M., Gallego, G. A., Valladares-Ayerbes, M., Caimzos, I. S., & Aparicio, L. M. A. (2012). Multiple biomarker tissue arrays: A computational approach to identifying protein-protein interactions in the EGFR/ERK signalling pathway. *Journal of molecular signaling*, 7(1), 14.
- Wallace, D. J., Linker-Israeli, M., Metzger, A. L., & Stecher, V. J. (1993). The Relevance of Antimalarial Therapy with Regard to Thrombosis, Hypercholesterolemia Cytokines in SLE. *Lupus*, 2(1 suppl), S13-S15.
- Wang, A., Fairhurst, A.-M., Tus, K., Subramanian, S., Liu, Y., Lin, F., ... Wong, D. (2009). CXCR4/CXCL12 hyperexpression plays a pivotal role in the pathogenesis of lupus. *The Journal of Immunology*, 182(7), 4448-4458.
- Wolff, B., Burns, A. R., Middleton, J., & Rot, A. (1998). Endothelial cell "memory" of inflammatory stimulation: human venular endothelial cells store interleukin 8 in Weibel-Palade bodies. *Journal of Experimental Medicine*, 188(9), 1757-1762.
- Yousefi, S., Hoessli, D. C., Blaser, K., Mills, G. B., & Simon, H.-U. (1996). Requirement of Lyn and Syk tyrosine kinases for the prevention of apoptosis by cytokines in human eosinophils. *Journal of Experimental Medicine*, 183(4), 1407-1414.

پیشگویی حساسیت دارویی رده های مختلف AML به مهارکننده ی میتوگزانترون با استفاده از آنالیز بیان ژن، با تاکید بر درمان فردمحور سرطان

فرزانه محمدی فارسانی^۱، صادق ولیان بروجنی^{۲*}، محمدرضا گنجعلی خانی^۳

۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۲*. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

ایمیل نویسنده مسئول: svallian@sci.ui.ac.ir

۳. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران



فرزانه محمدی فارسانی

چکیده

معرفی: لوکمیی حاد میلوئیدی (AML) متداولترین نوع لوکمیا است که بزرگسالان را درگیر نموده و میزان شیوع آن با بالا رفتن سن، افزایش می یابد. از سال ۱۹۶۰، مهمترین راهکار درمان این بیماری ترکیب یک آنتراسایکلین با داروی سیتارابین (ara-C) بوده است.

هدف از انجام مطالعه: در این مطالعه با تاکید بر درمان فردمحور سرطان و با استفاده از آنالیزهای بیوانفورماتیکی، حساسیت دارویی رده های مختلف AML به داروی میتوگزانترون توسط آنالیز بیان ژن و رسم درخت فیلوژنتیکی مورد پیشگویی قرار گرفته است. به علاوه، مسیرهای بیولوژیکی مرتبط با مقاومت دارویی سلول های AML نیز مورد بررسی قرار گرفت.

روش ها: مجموعه های بیانی سلول های مقاوم و حساس AML به داروی میتوگزانترون با کد دسترسی GSE48876 از پایگاه GEO دریافت شد. اطلاعات بیانی رده های مختلف AML نیز با کد دسترسی GSE59808 از همین پایگاه دریافت گردید. داده های بیانی با استفاده از روش RMA نرمال و خلاصه سازی شدند. در مرحله بعد، آنالیز ژن های دارای تفاوت بیان میان سلول های مقاوم و حساس با استفاده از مدل رگرسیون خطی توسط پکیج Limma نرم افزار R انجام شد. برای ترسیم درخت فیلوژنتیکی؛ تنها ژن های دارای تفاوت بیان قابل ملاحظه (مشخص شده توسط آنالیز ANOVA) مورد استفاده قرار گرفتند. جهت پیشگویی رده های حساس به داروی میتوگزانترون، داده های بیانی سلول حساس به این دارو به عنوان گروه خارجی در نظر گرفته شد. فاصله دو به دو میان رده ها توسط ضریب همبستگی Pearson محاسبه شد. در نهایت درخت فیلوژنتیکی با استفاده از روش Fitch-Margoliash ترسیم و با استفاده از نرم افزار Dendroscope مشاهده گردید.

نتایج و بحث: نتایج آنالیزهای فیلوژنتیکی نشان داد که رده های M0 و M7 از AML، نزدیکترین رده ها به سلول های حساس به داروی میتوگزانترون هستند. از آنجایی که براساس ضریب Pearson، فاصله میان این دو رده و رده ی حساس برابر صفر بدست آمد، می توان این سلول ها را همانند سلول های حساس به میتوگزانترون در نظر گرفت. از طرف دیگر، براساس آنالیز فیلوژنی می توان گفت که رده های M4، M3، M2، M1، M6 و M5 به ترتیب بیشترین میزان تفاوت را با سلول های حساس دارند. به علاوه نتایج حاصل از این پژوهش نشان داده که مسیرهای سیگنال رسانی نوروتروفین و انسولین، مهمترین مسیرهایی هستند که در سلول های AML مقاوم به میتوگزانترون تحت تاثیر قرار می گیرند.

نتیجه گیری: نتایج این پژوهش می تواند به پیشگویی پاسخ به دارو در AML کمک نموده و با بهبود کارایی شیمی درمانی، سبب ارتقا درمان سرطان گردد.

کلمات کلیدی

- درمان فردمحور سرطان
- بیان ژن
- رده های AML
- حساسیت دارویی
- میتوگزانترون

لوکمیا نام گروهی از سرطان‌های مربوط با گلبول‌های سفید خون است. لوکمیا را براساس نوع دودمانی که سرطانی می‌شود، و نیز سرعت پیشرفت، به چهار گروه طبقه‌بندی می‌نمایند: لوکمای میلوئیدی حاد (AML)، لوکمای لنفوئیدی حاد (ALL)، لوکمای میلوئیدی مزمن (CML) و لوکمای لنفوئیدی مزمن (CLL) [۱]. AML، متداولترین نوع لوکمیا در بزرگسالان است. مهمترین نوع درمان برای این بیماری، ترکیبی از آنتراسایکلین‌ها و سیتارابین (ara-C) است [۲]. میتوگناترون از جمله ترکیبات آنتراسایکلین است و اغلب برای درمان سرطان سینه، لوکمیا، لیمفوما و پروستات مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳]. آنتراسایکلین‌ها مکانیسم‌های متعددی جهت تخریب سلول سرطانی دارند که از آن جمله می‌توان به آزادسازی رادیکال‌های آزاد، اتصال کوآلان به DNA، برهمکنش با کروماتین و از همه مهمتر مهار توپوایزومرازها اشاره کرد که در نتیجه ی آن DNA دچار آسیب شده و مرگ سلولی رخ می‌دهد [۴، ۵]. توپوایزومرازها، آنزیم‌های هسته‌ای هستند که با ایجاد شکست در DNA، به سلول کمک می‌کنند تا توپولوژی این ماکرومولکول را تغییر دهد. توپوایزومرازها، آنزیم‌های بسیار حفاظت شده‌ای هستند و برای بقا سلول‌های یوکاریوتی حیاتی می‌باشند. جدایی دو رشته‌ی DNA در زمان همانند سازی و رونویسی، جدایی دقیق کروماتیدهای خواهری به دنبال همانند سازی و فشرده‌سازی ژنومی از جمله فعالیت‌های حیاتی هستند که توپوایزومرازها در آن‌ها دخیل می‌باشند [۶]. در انسان ۶ ژن و در باکتری اشرشیا کلاهی، ۴ ژن مسئول تولید توپوایزومراز هستند. توپوایزومرازها به دو نوع I و II تقسیم می‌شوند [۷، ۸]. نوع I این آنزیم‌ها، تنها یک رشته از DNA و نوع II هر دو رشته را برش می‌دهند. هر دو نوع آنزیم ۱ و ۲، DNA دارای ابرماریج را به DNA ی آزاد تبدیل می‌کنند. [۹]. در پستانداران، دو ایزوآنزیم، α Top2 و β Top2 وجود دارد. بیان α Top2 به شدت با تکثیر سلولی مرتبط است؛ در حالی که β Top2 در سلول‌های غیرتکثیر شونده نیز بیان می‌شود. در طول G_2/M ، مقدار α Top2، دو یا سه برابر افزایش پیدا می‌کند و بیان آن به شدت در سلول‌های در حال تقسیم بالا می‌رود. این آنزیم، بیشتر سوپرکویل‌های مثبت را به حالت آزاد تبدیل می‌کند و روی سوپرکویل‌های منفی اثر کمتری دارد. برعکس β Top2 روی هردو سوپرکویل به یک میزان اثر می‌کند [۱۰]. افزایش قابل توجه بیان آنزیم توپوایزومراز II آلفا در سلول‌های در حال تقسیم و از آن جمله سلول‌های سرطانی این امر سبب شده است تا این آنزیم هدف بسیاری از عوامل شیمی‌درمانی از جمله گروه داروهای دوفیلوتوکسین، آمینوآکریدین و آنتراسایکلین قرار گیرد [۱۱]. بسیاری از مهارکننده‌های آنزیم‌های توپوایزومراز ۲، هر دو نوع ایزوform آلفا و بتای این آنزیم را مورد هدف قرار می‌دهند [۳]. آنزیم‌های توپوایزومراز

۲ را می‌توان در مراحل مختلفی از چرخه کاتالیتیک مهار نمود. به طور کلی این داروها در دو گروه طبقه‌بندی می‌شوند: گروه اول که سموم Top2 نامیده می‌شوند، منجر به افزایش سطح کمپلکس‌های DNA بریده شده-Top2 یا Top2cc می‌گردند. این داروها، از اتصال مجدد قطعات DNA توسط توپوایزومراز جلوگیری می‌کنند. از جمله این داروها می‌توان به اتوپوزید (VP-16)، تنی پوزید (VM-26) و داروهای وارد شونده به ساختار DNA مانند دوکسوروبیسین، دائونوروبیسین، آم‌ساکرین (m-AMSA) و TAS-103، اشاره کرد. گروه دوم داروهای ضد توپوایزومراز که مهارکننده‌های کاتالیتیک Top2 نامیده می‌شوند، فعالیت کاتالیتیک این آنزیم را مهار می‌نمایند اما سبب افزایش سطح کمپلکس‌های Top2cc نمی‌شوند. از جمله این داروها می‌توان به کوینولون CP-115,953، الپیتیسین‌ها، آزانوکسین‌ها و فلاونوئیدها، اشاره کرد [۹]. اخیراً به دلیل بروز مقاومت سلول‌های سرطانی در برابر مهارکننده‌ها و داروهای ضد توپوایزومرازهای II، این آنزیم‌ها بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. سلول‌های توموری که نسبت به مهارکننده‌های توپوایزومراز مقاوت نشان می‌دهند، نوعی مقاومت چند دارویی (MDR) دارند و به انواع مختلفی از مهارکننده‌ها پاسخ نمی‌دهند. تلاش‌های اخیر، بر فهم مکانیسم‌های درگیر در ایجاد این مقاومت‌ها متمرکز شده است [۱۱]. عوامل مختلفی می‌توانند سبب بروز مقاومت دارویی شوند. برای مثال بیان پمپ‌های غشایی ویژه؛ افزایش آنزیم‌های متابولیزه‌کننده دارو، کاهش غلظت و فعالیت α -Top2 و شکست در مسیرهای آپوپتوز از جمله مهم‌ترین عوامل درگیر در مقاومت دارویی دوکسوروبیسین هستند. امروزه پیشرفت تکنیک‌های مولکولی مانند ریزآرایه ی cDNA این امکان را فراهم آورده است تا بتوانیم ژن‌های درگیر در پاسخ سلول سرطانی به دارو را مورد شناسایی قرار دهیم. از آنجایی که MDR یک پدیده ی چندفاکتوری است، آنالیزهای بیان متعددی باید صورت پذیرد تا ژن‌های درگیر در آن مورد شناسایی قرار گیرند [۱۲]. انجام آنالیزهای بیانی در سلول‌های حساس و مقاوم به دارو این امکان را فراهم می‌آورد تا بتوانیم مسیرهای بیولوژیکی مهم درگیر در مقاومت دارویی را شناسایی کرده و در نهایت روش‌های درمانی کارآمدتر طراحی نماییم [۱۳]. فهم سیستم‌های پیچیده اغلب نیازمند تقسیم آن سیستم به اجزا کوچکتر و بررسی ارتباط میان آن‌هاست. در بسیاری از موارد ترسیم شبکه می‌تواند ارتباط میان هزاران جزیک سیستم را به خوبی نشان دهد. شبکه ساختارهای ریاضی هستند که تشکیل شده از نقاطی هستند که توسط خطوطی با یکدیگر در ارتباط هستند [۱۴]. در طول سال‌های اخیر، تلاش‌های بسیاری برای شناسایی مارکرهای زیستی جهت تشخیص، پیشگیری و پیشگویی پاسخ درمانی سرطان صورت پذیرفته است. امروزه زیست‌شناسی شبکه به طور گسترده‌ای برای محاسبه و مدل

گرفتند. سپس ماتریکس فاصله میان رده های مختلف سلولی با استفاده از پکیج amap نرم افزار R محاسبه شده و جهت رسم درخت فیلوژنتیکی با استفاده از برنامه Fitch نرم افزار Phylip مورد استفاده قرار گرفت.

شناسایی شبکه مسیرهای متناظر با ژن های دارای تفاوت بیان در رده های مقاوم سلول سرطان خون

به منظور مشخص نمودن مسیرها و فعالیت های مهم و غالب بیولوژیکی متناظر با ژن های دارای تفاوت بیان در رده های مقاوم سلولی، ابتدا ژن های با تفاوت بیان در رده های مختلف مقاوم در مقایسه با سلول های حساس به هر دارو با استفاده از مدل رگرسیون خطی توسط پکیج Limma نرم افزار R مورد شناسایی قرار گرفتند. برای تفسیر لیست ژن های با تفاوت بیان از افزونه ReactomFI نرم افزار Cytoscape نسخه 3.3.0 (Cytoscape 3.3.0) [۲۰] استفاده شد. به منظور شناسایی فرایندهای بیولوژیکی مهم و نمایش گرافیکی این فرایندهای بیولوژیکی نیز از افزونه BiNGO نرم افزار Cytoscape استفاده گردید. آزمون آماری هایپرژئومتریک و تصحیح نتایج با استفاده از روش BH انجام گردید و حد آستانه $p\text{-value}=0.01$ برای شناسایی فرایندهای بیولوژیکی تعریف شد. در نهایت مسیرهای سیگنال رسانی مرتبط با ژن های دارای تفاوت بیان در سلول های مقاوم با استفاده از پکیج Pathview نرم افزار R مورد شناسایی قرار گرفتند.

نتایج

دریافت اطلاعات بیانی، انجام آنالیزهای آماری و رسم درخت فیلوژنتیکی

همانگونه که قبلاً نیز اشاره شد، به منظور پیشگویی مقاومت دارویی رده های مختلف سلول سرطانی به داروی میتوگزانترون، ابتدا اطلاعات بیانی مرتبط با رده های سلولی سرطان خون از پایگاه GEO Dataset با کدهای دسترسی GSE59808 و GSE48876 دریافت شد. مجموعه ی بیانی GSE59808 حاوی اطلاعات بیانی ۳۲ رده ی سلولی سرطان خون است که براساس سیستم FAB در ۸ گروه طبقه بندی شدند. ویژگی های این ۸ گروه رده ی سلولی در جدول ۱ نشان داده شده است. مجموعه ی بیانی GSE48876 نیز حاوی دو رده ی سلولی است که یک رده حساس به داروی میتوگزانترون بوده و دو رده ی دیگر سلول های مقاوم به این دارو می باشند.

سازی برهمکنش های درون سلولی جهت شناسایی مکانسیم های سلولی مورد استفاده قرار می گیرد. شبکه ی بیولوژیکی در واقع هر نوع شبکه ای است که بتواند یک سیستم بیولوژیکی را به تصویر بکشد. شبکه های بیولوژیکی را می توان در سه سطح ژنوم، ترانسکریپتوم و پروتئوم جهت شناسایی مارکرهای زیستی سرطان مورد استفاده قرار داد [۱۵]. در این مطالعه با استفاده از آنالیزهای بیوانفورماتیکی، حساسیت دارویی رده های مختلف AML به داروی میتوگزانترون توسط آنالیز بیان ژن و رسم درخت فیلوژنتیکی مورد پیشگویی قرار گرفته است. به علاوه، مسیرهای بیولوژیکی مرتبط با مقاومت دارویی سلول های AML نیز مورد بررسی قرار گرفته و شبکه های بیولوژیکی مرتبط با آن ها ترسیم گردید.

مواد و روش ها

دریافت اطلاعات بیانی رده های مختلف AML و طبقه بندی آن ها

به منظور پیشگویی مقاومت دارویی رده های مختلف سلول سرطانی به داروی میتوگزانترون، ابتدا پروفایل بیانی سلول های مقاوم و حساس AML به داروی میتوگزانترون با کد دسترسی GSE48876 از پایگاه GEO دریافت شد. اطلاعات بیانی رده های مختلف AML نیز با کد دسترسی GSE59808 از همین پایگاه دریافت گردید. پایگاه GEO DataSets حاوی اطلاعات میکروآرای، تعیین توالی های نسل جدید (NGS) و دیگر اطلاعات مربوط به حوزه ی ژنومیکس عملکردی است [۱۶]. پس از دریافت این مجموعه اطلاعات، رده های سلولی GSE59808 براساس سیستم طبقه بندی FAB در ۸ گروه شامل: M0، M1، M2، M3، M4، M5، M6، M7 طبقه بندی شدند و جهت پیشگویی مقاومت دارویی مورد استفاده قرار گرفتند. در سیستم طبقه بندی FAB، رده های سولی با استفاده از شکل و ویژگی های ایمنولوژیک گروه بندی می شوند [۱۷].

انجام آنالیزهای آماری و رسم درخت فیلوژنتیکی

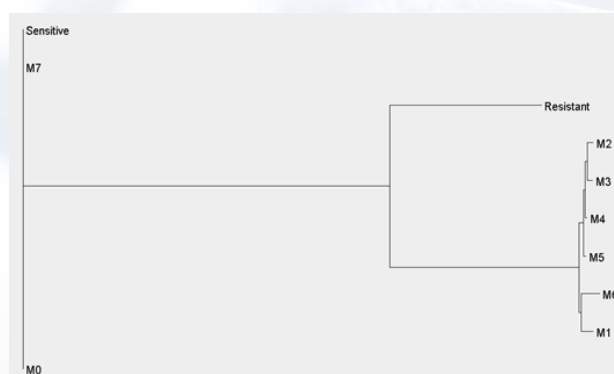
آنالیزهای آماری و محاسبات انجام شده در این بخش با استفاده از مجموعه نرم افزاری R، نسخه 3.2.5 [۱۸] صورت پذیرفت و درخت فیلوژنتیکی نیز توسط مجموعه نرم افزاری Phylip [۱۹] ترسیم شد. پیشگویی مقاومت دارویی رده های مختلف سلول سرطانی به داروی مهارکننده ی میتوگزانترون با استفاده از آنالیز بیان و رسم درخت فیلوژنتیکی، در چندین مرحله به صورتی که در ادامه ذکر می شود صورت پذیرفت. در مرحله اول، به منظور نرمالیزاسیون و خلاصه سازی داده های حاصل از پایگاه GEO DataSets، از عملگر rma موجود در پکیج Affy نرم افزار R استفاده شد. در مرحله بعد، ژن های با تفاوت بیان در تمامی رده های سلولی با استفاده از آنالیز آماری one-way ANOVA (با حد آستانه $fdr < 0.01$) مورد شناسایی قرار

ویژگی های گروه	نوع گروه در سیستم FAB
Undifferentiated acute myeloblastic leukemia	M0
Acute myeloblastic leukemia with minimal maturation	M1
Acute myeloblastic leukemia with maturation	M2
(Acute promyelocytic leukemia (APL	M3
Acute myelomonocytic leukemia	M4
Acute monocytic leukemia	M5
Acute erythroid leukemia	M6
Acute megakaryoblastic leukemia	M7

جدول ۱. ویژگی های مربوط به انواع رده های سلول سرطان خون براساس سیستم طبقه بندی FAB.

اصلی برای سایر رده های مختلف سلولی در پاسخ به داروی میتوگزانترون نشان می دهد (یک شاخه شامل رده ی مقاوم و شاخه ی دیگر شامل سایر رده های سلولی به جز M0 و M7). به علاوه، براساس آنالیز فیلوژنی می توان گفت که رده های M0، M1، M2، M3، M4، M5، M6 به ترتیب بیشترین میزان تفاوت را با سلول های حساس دارند.

نتایج حاصل از آنالیز بیان و رسم درخت فیلوژنتیکی برای رده های سلولی در پاسخ به داروی میتوگزانترون در شکل ۱ نشان داده شده است. در این درخت، رده ی حساس به عنوان گروه خارجی در نظر گرفته شده است. همانگونه که در این شکل دیده می شود، ساختار توپولوژیک درخت، نشان می دهد که دو رده ی M0 و M7 بیشترین شباهت بیانی را با رده ی حساس به داروی میتوگزانترون دارند. به علاوه این درخت دو شاخه

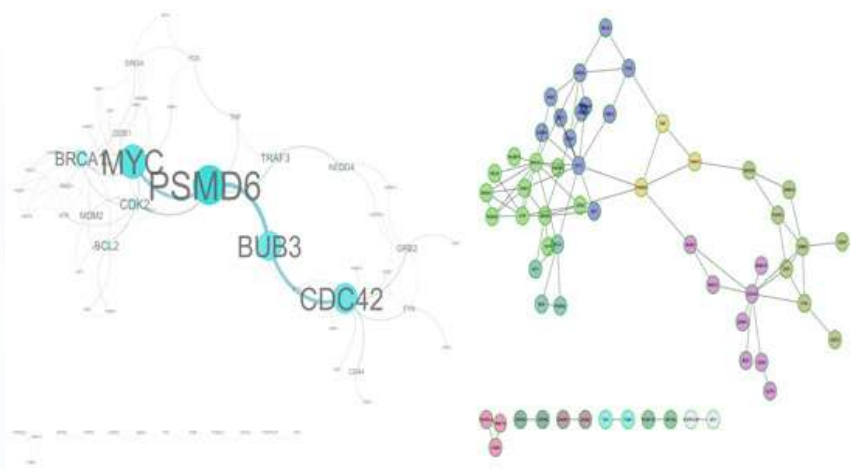


شکل ۱. نتایج حاصل از آنالیز بیان و رسم درخت فیلوژنتیکی برای رده های سلولی در پاسخ به داروی میتوگزانترون.

بررسی ارتباط بین ژن های دارای تفاوت بیان، یعنی ژن هایی که ضریب همبستگی بالایی دارند و انتظار می رود در مسیر بیولوژیکی مشترک یا نزدیک به هم درگیر باشند، از افزونه Reactome FI نرم افزار Cytoscape استفاده شد. نتایج حاصل از این بخش در برای داروهای مورد بررسی در شکل ۲ نشان داده شده است. در این تصویر تعداد دایره های رنگی در شکل های سمت راست، نشان دهنده ی تعداد ژن های هر گروه است. همانگونه که دیده می شود، برای ژن های دارای تفاوت بیان در سلول های مقاوم و حساس به داروی میتوگزانترون، ۵۹ ژن با ضریب همبستگی بالا شناسایی شدند.

شبکه ها و مسیرهای سیگنال رسانی متناظر با ژن های دارای اختلاف بیان در رده های مقاوم سرطان خون

به منظور شناسایی شبکه ها و مسیرهای سیگنال رسانی مرتبط با ژن های دارای تفاوت بیان در سلول های مقاوم با سلول های حساس به داروهای مورد بررسی، ابتدا بیان این دو نوع رده ی سلولی با هم مقایسه شده و ژن های دارای اختلاف بیان (با حد آستانه $p \text{ value} = 0.01$) مورد شناسایی قرار گرفتند. برای سلول های مقاوم و حساس به میتوگزانترون تعداد ۱۹۵۰ ژن دارای اختلاف بیان شناسایی گردید. به منظور شناسایی شبکه های بیولوژیکی متناظر با ژن های دارای اختلاف بیان، ابتدا لازم است تا ارتباط میان این ژن ها مشخص گردد. جهت



شکل ۲. ارتباط بین ژن های دارای تفاوت بیان در سلول های مقاوم و حساس به داروی میتوگزانترون. دایره های بزرگ در شکل های سمت چپ نشان دهنده ی ژن های دارای تفاوت بیان بیشتر و دایره های هم رنگ در شکل های سمت راست نشان دهنده ی ژن های دارای همبستگی هستند.

ژن های موجود در آن برای داروی مورد بررسی در جدول ۲ نشان داده شده است.

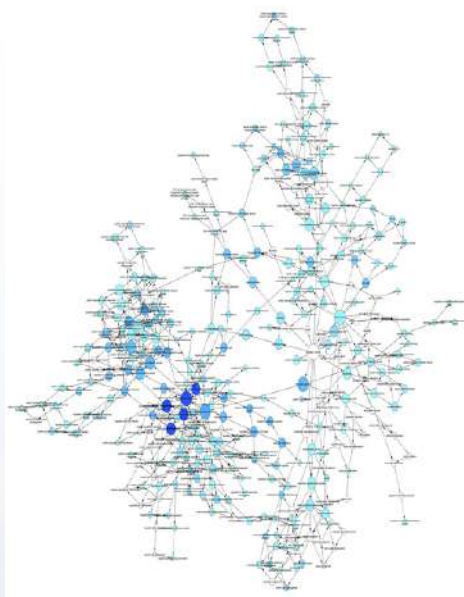
به علاوه ژن های دارای همبستگی در مورد میتوگزانترون به ۱۲ گروه طبقه بندی شدند. جزئیات مربوط به هر گروه و تعداد

نام ژن ها	تعداد ژن ها	رنگ گروه
BCL6,CEBPZ,DBD1,ESF1,FOS,MAX,MYC,PRAME,RBPJ,SET,SIN3A,UBR5	12	آبی تیره
ATR,BRCA1,CDK2,HMGN3,MDM2,PAXBP1,RAD1,RAD51,RAD52,REC8,TPT1	11	سبز
BOC,BUB3,CD44,CD74,CDC42,GRIK1,MIS12,RAB1A	8	ارغوانی
ADD3,CD47,EGF,FGFR1,FYN,GRB10,GRB2,NEDD4	8	قهوه ای
BAX,BCL2,PARK2,WT1	4	سبزآبی
PSMD6,TNF,TRAF3	3	زرد
LSM4,PAPOLA,SNU13	3	صورتی
FGFR1OP,SFI1	2	طوسی
POM121,SP100	2	سبزی تیره
TIA1,TOB1	2	آبی روشن
CRHR1,GNAS	2	بنفش
ZFP28,ZFP69	2	سبزآبی تیره

جدول ۲. جزئیات مربوط به ژن های دارای همبستگی در رده های مقاوم و حساس به میتوگزانترون

مسیرهای مرتبط با ژن های دارای اختلاف بیان نیستند، بلکه مسیرهای بالادست این مجموعه هستند. هرچقدر رنگ دایره ها تیره تر (متماایل به آبی تیره) باشد، نشان دهنده ی نقش پررنگ تر مسیر مربوطه است و هرچه تعداد ژن های درگیر در هر مسیر بیشتر باشد، اندازه ی هر دایره نیز بزرگتر است.

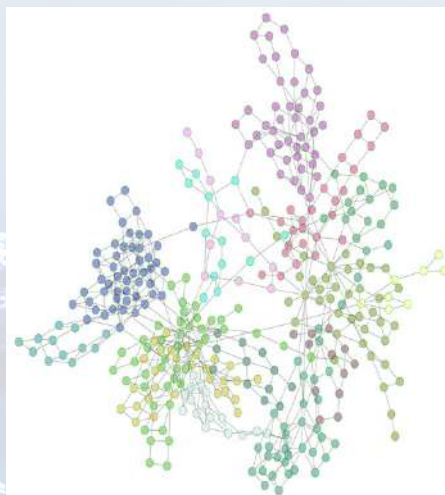
در مرحله بعد، شبکه های بیولوژیکی متناظر با ژن های دارای همبستگی در رده های مقاوم و حساس به داروهای مورد بررسی شناسایی شدند. نتایج حاصل از انجام این آنالیز در شکل ۳ نشان داده شده است. در این تصویر مسیرهای بیولوژیکی با دایره های رنگی نشان داده شده اند. دایره های سفید رنگ،



شکل ۳. شبکه های بیولوژیکی متناظر با ژن های دارای همبستگی در رده های مقاوم و حساس به داروی میتوگزانترون.

شده است. به طور کلی این مسیرها در ۱۴ گروه (با ۱۴ رنگ متفاوت) طبقه بندی شدند.

نتایج حاصل از گروه بندی این مسیرها جهت شناسایی مسیرهای بیولوژیکی دارای همبستگی، در شکل ۴ نشان داده



شکل ۴. مسیرهای بیولوژیکی دارای همبستگی مرتبط با ژن های دارای اختلاف بیان در رده های مقاوم و حساس به داروی میتوگزانترون.

بیان در سلول های مقاوم و حساس (و P -value برابر $3.95E-06$ و $8.81E-06$)، مهمترین مسیرهایی هستند که در سلول های AML مقاوم به میتوگزانترون تحت تاثیر قرار می گیرند. قابل ذکر است که مسیرهای معرفی شده ممکن است در سلو های مقاوم فعال و یا مهار شوند.

نتایج حاصل از شناسایی مسیرهای سیگنال رسانی مرتبط با ژن های دارای اختلاف بیان در رده ی مقاوم و حساس به داروی میتوگزانترون در جدول ۳ نشان داده شده است. همانگونه که مشاهده می شود، مسیرهای سیگنال رسانی نوروتروفین و انسولین، به ترتیب با ۱۱۹ و ۱۳۸ ژن دارای اختلاف

نام مسیر سیگنال رسانی	تعداد ژن های درگیر در این مسیر و دارای تفاوت بیان	P-value
Neurotrophin signaling pathway	119	3.95E-06
Insulin signaling pathway	138	8.81E-06
Signaling pathways regulating pluripotency of stem cells	139	0.000121
EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance	79	0.000158
Renal cell carcinoma	66	0.000566
Alcoholism	180	0.000939
Colorectal cancer	72	0.001139
Cellular senescence	160	0.001783
FoxO signaling pathway	132	0.001957
RNA degradation	78	0.002116
AMPK signaling pathway	121	0.002503
Basal transcription factors	45	0.003256
HIF-1 signaling pathway	99	0.004064
Choline metabolism in cancer	99	0.004064
Autophagy – animal	128	0.004098
Rap1 signaling pathway	210	0.005159
Tight junction	170	0.007933
Endocrine resistance	96	0.009447
Fc epsilon RI signaling pathway	68	0.009678

جدول ۳. مسیرهای سیگنال رسانی مرتبط با ژن های دارای اختلاف بیان در سلول های مقاوم و حساس به داروی میتوگزانترون.

شبکه های بیولوژیکی با هدف بررسی بیماری انسانی شاخه ای به نام شبکه-ی طب ایجاد می نماید که می تواند به شناسایی، محدود کردن و درمان بیماری کمک بسزایی نماید [۲۵]. در این پژوهش شبکه ها بیولوژیکی و مسیرهای سیگنال رسانی مرتبط با مقاومت دارویی رده های مقاوم سرطان خون به داروی میتوگزانترون نیز مورد بررسی قرار گرفت و منجر به شناسایی مسیرهای بیولوژیکی مهم درگیر در مقاومت دارویی گردید که می تواند در شناسایی مکانیسم های درگیر در بروز مقاومت به این داروها و ایجاد راهکارهای درمانی جدید کمک فراوانی کند.

نتیجه گیری

در این پژوهش، مقاومت دارویی سلول های سرطان خون به داروی میتوگزانترون (مهارکننده ی آنزیم Top2α) از طریق آنالیزهای فیلوژنتیکی پیشگویی گردید که می تواند در بهبود روند درمانی فرد و انتخاب دارو بسیار موثر باشد. چنین آنالیزهایی را می توان برای سایر انواع سلول های سرطانی و دیگر داروهای مورد استفاده در شیمی درمانی نیز به کار برد. آنالیزهای محاسباتی انجام شده در زمینه ی ترسیم شبکه های میانکنشی ژن ها در سلول های مقاوم به میتوگزانترون نیز منجر به شناسایی مسیرهای مهم درگیر در مقاومت دارویی این سلول ها گردید که می تواند جهت ایجاد راهکارهای درمانی جدید و موثرتر مورد استفاده قرار گیرد. نتایج حاصل از این پژوهش می تواند در پیش بینی پاسخ دارویی افراد به داروی مورد بررسی مورد استفاده قرار گیرد. این بررسی می تواند در بهبود فرایند درمانی بیماران و نیز جلوگیری از بروز سمیت ناخواسته دارو بسیار موثر باشد.

بحث

همانگونه که می دانیم مقاومت دارویی یکی از مهم ترین دلایل عدم موفقیت درمان سرطان است. با پیشرفت در عصر پسا ژنوم و به دست آمدن اطلاعات میکروآرای سرطان های مختلف، امکان پیشگویی پاسخ به دارو در سطح ژنوم فراهم آمده است [۲۱-۲۳]. در حال حاضر اطلاعات بیانی به دست آمده از یک DataSet را می توان بخوبی در پیشگویی مقاومت دارویی مورد استفاده قرار داد. آنالیزهای فیلوژنتیکی از جمله روش هایی است که به منظور مقایسه زیرگروه های مختلف سلولی و شناسایی ژن های دارای اختلاف بیان در آن ها مورد استفاده قرار می گیرد [۲۴]. همانگونه که اشاره شد در این پژوهش از این نوع آنالیز برای مقایسه بیانی رده های مختلف سلول سرطان خون و پیشگویی مقایسه ای میزان مقاومت آن ها به داروی میتوگزانترون به عنوان داروی مهارکننده ی Top2α استفاده گردید. این روش را می توان به منظور پیشگویی مقاومت دارویی سایر انواع رده های سرطانی و نیز داروهای دیگر مورد استفاده در شیمی درمانی مورد استفاده قرار داد.

سلول ها فعالیت های بسیاری را به صورت هم زمان انجام می دهند، بسیاری از این فعالیت ها دارای پیچیدگی زیادی هستند و با استفاده از مطالعه اجزای سیستم به تنهایی قابل درک نیستند. شبکه های ژنی می توانند برای توصیف فعالیت و وضعیت سلولی موثر باشند. آنالیز شبکه ژنی بخش مهمی از مطالعات بیولوژی سیستم ها است. در مقایسه با مطالعات سنتی ژنوتیپ / فنوتیپ که با تمرکز بر ایجاد روابط بین ژن های منفرد و ویژگی مورد نظر است، آنالیز شبکه ما را قادر می سازد تا به مشاهده تمام ژن ها با هم بپردازیم که به نوبه خود می تواند سبب شناسایی عملکرد بیولوژیکی درست شود. آنالیز

1. Nigro LL: Biology of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Journal of pediatric hematology/oncology* 2013, 35:245-252.
2. Gahrton G: Treatment of Acute Leukemia—Advances in Chemotherapy, Immunotherapy, and Bone Marrow Transplantation. In *Advances in cancer research*. Volume 40: Elsevier; 1983: 255-329
3. Seiter K: Toxicity of the topoisomerase II inhibitors. *Expert opinion on drug safety* 2005, 4:219-234.
4. Rabbani A, Finn RM, Ausio J: The anthracycline antibiotics: antitumor drugs that alter chromatin structure. *Bioessays* 2005, 27:50-56.
5. Gewirtz D: A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunorubicin. *Biochemical pharmacology* 1999, 57:727-741.
6. Hande KR: Topoisomerase II inhibitors. *Update on Cancer Therapeutics* 2008, 3:13-26.
7. Forterre P, Gribaldo S, Gadelle D, Serre MC: Origin and evolution of DNA topoisomerases. *Biochimie* 2007, 89:427–446.
8. Schoeffler AJ, Berger JM: DNA topoisomerases: harnessing and constraining energy to govern chromosome topology. *Q Rev Biophys* 2008, 41:41-101.
9. Pommier Y, Leo E, Zhang HL, Marchand C: DNA topoisomerases and their poisoning by anticancer and antibacterial drugs. *Chemistry & Biology* 2010, 17:421-433.
10. McClendon AK, Rodriguez AC, Osheroff N: Human topoisomerase II α rapidly relaxes positively supercoiled DNA: implications for enzyme action ahead of replication forks. *J Biol Chem* 2005, 280:39337–39345.
11. Beck WT, Danks MK, Wolverson JS, Granzen B, Chen M, Schmidt CA, Bugg BY, Friche E, Suttle DP: Altered DNA topoisomerase II in multidrug resistance. *Cytotechnology* 1993, 11:115-119.
12. AbuHammad S, Zihlif M: Gene expression alterations in doxorubicin resistant MCF7 breast cancer cell line. *Genomics* 2013, 101:213-220.
13. MACGREGoR PF, SqUIRE JA: Application of microarrays to the analysis of gene expression in cancer. *Clinical Chemistry* 2002, 48:1170-1177.
14. Wuchty S, Ravasz E, Barabási A-L: The architecture of biological networks. In *Complex systems science in biomedicine*. Springer; 2006: 165-181
15. Yan W, Xue W, Chen J, Hu G: Biological Networks for Cancer Candidate Biomarkers Discovery. *Cancer Informatics* 2016, 15:1.
16. Barrett T, Wilhite SE, Ledoux P, Evangelista C, Kim IF, Tomashevsky M, Marshall KA, Phillippy KH, Sherman PM, Holko M: NCBI GEO: archive for functional genomics data sets—update. *Nucleic acids research* 2013, 41:D991-D995.
17. Walter RB, Othus M, Burnett AK, Löwenberg B, Kantarjian HM, Ossenkoppele GJ, Hills RK, van Montfort KG, Ravandi F, Evans A: Significance of FAB subclassification of « Acute Myeloid Leukemia, NOS» in the 2008 WHO classification: analysis of 5,848 newly diagnosed patients. *Blood* 2013:blood-2012-2010-462440.
18. Team RC: R: A language and environment for statistical computing. 2013.
19. Felsenstein J: {PHYMLIP}(Phylogeny Inference Package) version 3.6 a3. 2002.
20. Shannon P, Markiel A, Ozier O, Baliga NS, Wang JT, Ramage D, Amin N, Schwikowski B, Ideker T: Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome research* 2003, 13:2498-2504.
21. Kang HC, Kim I-J, Park J-H, Shin Y, Ku J-L, Jung MS, Yoo BC, Kim HK, Park J-G: Identification of genes with differential expression in acquired drug-resistant gastric cancer cells using high-density oligonucleotide microarrays. *Clinical Cancer Research* 2004, 10:272-284.
22. Mallory JC, Crudden G, Oliva A, Saunders C, Stromberg A, Craven RJ: A novel group of genes regulates susceptibility to antineoplastic drugs in highly tumorigenic breast cancer cells. *Molecular pharmacology* 2005, 68:1747-1756.
23. Tai IT, Dai M, Owen DA, Chen LB: Genome-wide expression analysis of therapy-resistant tumors reveals SPARC as a novel target for cancer therapy. *The Journal of clinical investigation* 2005, 115:1492-1502.
24. Liu X, Li Z, Wen J, Cai Q, Xu Y, Zhang X: Prediction of multiple drug resistance phenotype in cancer cell lines using gene expression profiles and phylogenetic trees. *Chinese Science Bulletin* 2010, 55:3778-3786.
25. Barabási A-L, Gulbahce N, Loscalzo J: Network medicine: a network-based approach to human disease. *Nature Reviews Genetics* 2011, 12:56-68.

miRNA های exosomal به عنوان بیومارکرهای قابل اعتماد و مؤثر در تشخیص زود هنگام سرطان پانکراس

محمدامین ماه منظر^{۱،۲}، پگاه لرکی^۲، بی نظیر خان آبادی^{۱،۲}، علی تفتی^۱، احسان ناظم الحسینی مجرد^۲، امیر صادقی^۲، حمید اسدزاده عقدایی^۲، محمدرضا زالی^۳

۱. گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم پزشکی تهران
۲. مرکز تحقیقات علوم پایه و اپیدمیولوژی بیماری های دستگاه گوارش دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۳. مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی



محمدامین ماه منظر

مقدمه

سرطان پانکراس هشتمین و شایع ترین سرطان در سراسر جهان است که ۲۵٪ مرگ و میر ناشی از سرطان در کشورهای غربی را تشکیل می دهد (۱). آمریکایی ها و آفریقایی ها بیش از نژاد های آسیایی، اسپانیولی و سفید پوست به این عارضه دچار می شوند (۲). دیابت و چاقی به عنوان مهم ترین و اصلی ترین عوامل خطرزا در پیشرفت سرطان پانکراس است. استعمال دخانیات نیز باعث افزایش متاستاز سلول های سرطانی می شود؛ زیرا نیکوتین باعث رشد و تهاجم سلول های سرطانی شده و مقاومت بیش تری نسبت به دارو ها ایجاد می کند. همچنین مشاهده سابقه فامیلی سرطان تخمدان و سرطان روده بزرگ خطر بروز آن را افزایش می دهد (۳). شایع ترین نوع هیستولوژیک این نوع سرطان آدنوکارسینوما است و برخی شواهد حاکی از آن است که پانکراتیت مزمن احتمال ابتلا به سرطان پانکراس را افزایش می دهد. اکثر تومورهای پانکراس (۹۰٪) به عنوان آدنوکارسینوم ناشی از مجاری اپیتلیوم پانکراس، دارای بروزی معادل سالانه ۴۵۲۲۰ بیمار در ایالات متحده است. برآوردها نشان می دهد تنها ۱/۳٪ - ۱۰٪ از بیماران مبتلا به PC زمینه خانوادگی و وراثتی داشته و همچنین اکثر این موارد ناهمگونی ژنومی زیادی را بروز می دهند (۳). در اکثر موارد (بیش از ۸۰٪) خطر ابتلا به سرطان پانکراس قبل از تظاهرات بالینی پیشروی کرده است و تقریباً نیمی از بیماران در زمان پذیرش متاستاز تشخیص داده

می شوند؛ زیرا علائم این بیماری دیرظاهری شود و جهش های ایجاد کننده متاستاز از هتروژنیبالایی برخوردار هستند و می توانند تا بیست سال قبل از تشخیص PC انباشته شوند (۵). از این رو شیوه های درمانی رایج برای سرطان از جمله جراحی، شیمی درمانی، رادیوتراپی و ... بازده و اثر بخشی چندانی ندارند و طبق مطالعات اخیر، چندین رویداد مولکولی مسئول پیشرفت PDAC هستند (۶). این رویداد ها مجموعه ای از تغییرات و حوادث ژنتیکی و اپی ژنتیکی بوده که علاوه بر جهش و حذف ژن ها، تنظیمات اپی ژنتیکی به ویژه RNA های غیر کد شونده (ncRNA) به طور فزاینده ای در شروع PDAC و همچنین پیشرفت آن نقش دارند (۷). ncRNA از جمله مولکول های عملکردی هستند که در مسیر های مختلفی مانند خاموشی و رونویسی ژن ها، متیلاسیون و دمتیلاسیون DNA نقش دارند که در ۲ گروه sncRNAs و lncRNAs طبقه بندی می شوند. شواهد نشان می دهد که مناطق اینترژنیک با بیان ncRNA بیماری های پیچیده همچون سرطان مرتبط بوده و استفاده از ncRNA به عنوان نشانگرهای زیستی در تشخیص بیماری و اهداف درمانی مفید خواهد بود. این مشاهدات برای این نکته تأکید دارند که شناخت محدوده ژن های کد کننده پروتئین و عملکرد ncRNA برای درک جامع بیماری هایی همچون سرطان ضروری می باشند (۱۳). MicroRNA ها، از دسته sncRNAs های کوچک غیرکد محسوب می شوند که دارای ۲۴-۱۹ نوکلئوتید هستند. تغییر در بیان

مجموعه گسترده ای از miRNAs، بسته به گیرنده های هدف، می تواند به عنوان سرکوب گریا القاء کننده تومور (oncomiRs) عمل کنند که این تغییر بیان تقریباً در تمام انواع سرطان ها مورد آزمایش قرار گرفته است (۸).

miRNA های exosomal در پیشرفت بیماری نقش مهمی ایفا می کنند و می توانند آنژیوژنز را تحریک کنند و متاستاز را در سرطان ها تسهیل نمایند.

exosome ها وزیکول هایی حاوی غشاء با قطر ۴۰-۱۰۰ نانومتر، تقریباً در تمامی مایعات بیولوژیکی بدن موجود هستند. آن ها پس از الحاق با غشای پلاسما از بیشتر سلول ها به فضای خارج سلولی آزاد می شوند. لیپید ها و پروتئین ها از اجزای اصلی غشای exosome بوده که غنی از چربی هستند (۹-۱۱). از این رو با توجه به تنوع ژنتیکی و پلی مرفیسم های ناشی از آن و نیز تشخیص نوع روند پیشرفت سرطان مذکور، مطالعه مروری حاضر با تأکید بر پزشکی فرد محور به بررسی بیان miRNA های exosomal در PDAC می پردازد (۱۰).

مواد و روش ها:

در مطالعه مروری پیش رو با بهره گیری از پایگاه های علمی معتبر هم چون NCBI, SCOPUS, ScienceDirect ۵۶ مقاله در حوزه تشخیص زود هنگام سرطان پانکراس مبنی بر بیومارکرها مطالعه گردید که از این میان ۱۷ مقاله مرتبط با معیار های مناسب، گزینش و مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس ارزیابی این مقالات، 23miRNA که در پیشرفت سرطان مذکور نقش مهمی ایفا می کنند و می توانند آنژیوژنز را تحریک کرده و متاستاز را در سرطان ها تسهیل نمایند، شناسایی شد. تمامی miRNA های مورد نظر در این مطالعه بر اساس آنالیز نمونه های مختلف از قبیل بافت، خون، پلاسما، سرم و بزاق افراد سالم و افراد مبتلا به سرطان پانکراس با استفاده از تکنیک هایی هم چون: NGS, RNAseq و PCR array انتخاب شدند (جدول ۱)؛ علاوه بر این برای ارزیابی miRNA های کاندید شده، تمامی آن ها در پایگاه های قابل اعتماد مانند mirbase، miRcancer و mir2disease مورد بررسی و مذاقه قرار گرفت.

microRNA یک بیومارکر منحصر به فرد:

microRNA ها گروهی از RNA های کوچک غیر کد کننده با طول حدود ۱۹ الی ۲۴ نوکلئوتید می باشند که به طور انحصاری با mRNA های اختصاصی خود میانکنش داشته و باعث تخریب mRNA و مهار ترجمه آن می شوند که این امر را به سبب جفت شدن نسبی با انتهای ۳' مربوط به mRNA (3'UTR) مورد هدف انجام می دهند. ژن های microRNA تقریباً ۱٪ از ژنوم گونه های مختلف را

شامل می شوند و هر کدام از آن ها می توانند بیش از صدها میزبان را مورد هدف قرار دهند. به دلیل پتانسیل microRNA ها در هدف قرار دادن تعداد زیادی از mRNA ها، این RNA های کوچک غیر کد کننده تقریباً در تمام پدیده های بیولوژیکی شامل تنظیم چرخه سلولی، رشد سلولی، آپوپتوزیس، تمایز سلولی و پاسخ به استرس نقش دارند. شواهد روز افزون حاکی از آن است که microRNA ها در زیست شناسی سرطان نقش مهمی ایفا می کنند و مطالعات اخیر نیز نقش انکوژنی و بازدارنده توموری microRNA ها را در سلول های سرطانی تایید کرده اند و نشان داده اند که بیان این microRNA ها خود می تواند توسط انکوژن ها و بازدارنده های توموری تنظیم شوند و هم چنین بیان آن ها به طور قابل ملاحظه ای در بیماری ها و سرطان های مختلف تغییر می کند (۱۲). بنابراین این microRNA ها به عنوان یک نشانگر زیستی جهت تشخیص، پیش بینی و نظارت بر روند درمان استفاده می شوند. تمام این خصیصه ها در نهایت می توانند منجر به استفاده از روش های درمانی بر پایه پزشکی فرد محور مورد استفاده واقع شوند.

از آنجایی که miRNA ها می توانند فعال کننده و یا مهار کننده بیماری باشند، اختلال در بیان آن ها به طور مستقیم با پیچیدگی بیماری ها، از جمله سرطان ها مرتبط است و بر اساس الگوی بیان آن ها، توانایی شناسایی منشاء تومورهای مختلف و سرطان امکان پذیر خواهد بود بطوریکه تشخیص زود هنگام سرطان پانکراس و سایر سرطان ها با miRNA های حاصل از سرم، پلاسما، بزاق و بافت ها سهل الوصول می شوند. بنابراین نوع محل نمونه بسیار حائز اهمیت است؛ به همین جهت در مطالعه مروری حاضر miRNA های Exosomal را که نقش شایان توجهی در این بیماری دارند را به چهار گروه نمونه تقسیم نموده: miRNA های بافتی، miRNA های پلاسما و مایع صفراوی، miRNA های بزاق و miRNA های سرم.

miRNA های بافتی:

این گروه ترکیبی از mir-21، mir-23a، mir-23b، mir-155 و mir-221 با افزایش بیان و در مقابل mir-375 با کاهش بیان است (۱۳). علاوه بر این Liyu و همکارانش بیان کردند که mir-191 با بیان بسیار بالا و همچنین حساسیت ۹۴٪، یک بیومارکر منحصر به فرد جهت تشخیص سرطان پانکراس در مراحل مختلف و هم چنین پانکراتیت مزمن (CP) می باشد (۱۴). Toste و همکارانش نیز به این نکته اذعان داشتند که mir-21 و mir-221 در تشخیص زود هنگام پانکراتیت نقش شایان توجهی دارند (۱۵). همچنین افزایش بیان miRNA های «۲۱، ۲۲۱، ۲۰۵» سبب تعیین مرحله دوم و یا سوم نوپلازی داخل اپیتلیال پانکراس (PanIN-grade 2/3) می شوند (۱۲).

راحتی در بزاق بیماران مبتلا به پانکراتیت با ویژگی های خاصی قابل تشخیص بوده، بنابراین می توان از آن به عنوان یک بیومارکر در تشخیص زودهنگام بهره گرفت (۲۱).

miRNA های سرم:

miRNA های این گروه به عنوان روش غیرتهاجمی و آسان برای شناسایی بیومارکرها شناخته می شوند. در این راستا Liyu و همکاران، miR-1290 را به عنوان یک بیومارکر جدید معرفی می کنند که می تواند عامل تمایز سرم میان افراد مبتلا به سرطان پانکراس در مراحل اولیه و افراد نرمال باشد، به طوری که پس از برداشتن تومور افراد مبتلا به PDAC با روند رو به کاهش بیان این بیومارکر مواجه خواهیم شد. علاوه بر این Liyu و همکارانش نشان دادند که با استفاده از این miRNA می توان افراد با خطر بالای ابتلا به نئوپلاسم داخل مجرای، موسینوس پاپیلاری (IPMN) در حال توسعه، نظیر افرادی با سابقه خانوادگی سرطان پانکراس را کنترل کند. این miRNA نقش به سزایی در فرآیند متاستاز و رشد تومور ایفا می کند و یکی از مهم ترین ژن های هدف آن FoxA1 است، به طوری که انواع موجود در این ژن در انتقال اپیتلیال مزانشیمال دخیل هستند (EMT).

در نهایت این پژوهش بیانگر جایگزینی miR-1290 به عنوان بیومارکر به جای آنتی ژن کربوهیدرات 9-19 (CA19-9) بود (۲۲). در مطالعه ای که Nakata و همکارانش در سال ۲۰۱۴ انجام دادند گفته شده: کاهش بیان miR-373 باعث بیان E-cadherin و تغییر مورفولوژی سلول های سرطانی شده، که این تغییر سبب بروز فرایند EMT می شود (۱۶). در مطالعه مشابهی که در سال ۲۰۱۷ توسط Hua و همکارانش صورت گرفت؛ میان سطح سرمی miR-373 و چندین پارامتر بالینی، از جمله مرحله TNM متاستاز گره لنفاوی تغییرات معنی داری نیز مشاهده گردید (۱۷).

miRNA های پلاسما و مایع صفراوی:

miR-155، mir-10b و mir-106b توسط Cote و همکاران به عنوان نمونه های پلاسما و صفرا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمایش ها نشان می دهد که سطح miRNA های مذکور برای تشخیص آدنوکارسینوم پانکراس تا حد زیادی مشخص است (۱۸). به تازگی، مطالعه ای منتشر شده است که دو پانل از miRNA پلاسمایی را جهت تشخیص سرطان پانکراس معرفی می کند. miR-126 به عنوان یکی از اعضای مهم این پانل، نقش مهمی در سرکوب تهاجم سلولی و متاستاز داشت (۱۹). بیان mir-193b موجب اثرات مهار کنندگی تهاجم، تکثیر و مهاجرت سلول های سرطان (متاستاز) پانکراس نسبت به سلول های طبیعی می شود. این اثرات به وسیله مهار ژن های هدف mir-196b اتفاق می افتد که منجر به فعال شدن STMN1 و پلاسمینوژن یورکیناز می شود (۱۲).

miRNA های بزاق:

مطالعات اخیر نشان می دهد که بزاق آینه ای از وضعیت سلامت بدن است و شرایط مختلفی از قبیل سرطان و بیماری های عفونی و سیستمیک را نشان می دهد. جریان خون ناحیه بالایی به غدد بزاقی منتهی می شود، بنابراین بزاق محصول نهایی گردش خون می باشد. از این رو بیشتر ترکیبات موجود در خون نیز در بزاق نیز موجود است؛ مانند: DNA، RNA، پروتئین، داروها و ویروس ها (۲۰). بنابراین بیومارکهای بزاقی به عنوان یکی از مارکهای غیرتهاجمی، قابل اعتماد و آسان برای شناسایی بیماری ها شناخته می شوند. miR-940 و miR-3679-5p دو miRNA بسیار مؤثر در آدنوکارسینوم پانکراس هستند که به ترتیب کاهش و افزایش بیان در مقایسه با گروه کنترل دارند.

علاوه بر این، پژوهش Humeau و همکاران حاکی از آن است که miR-210 در بزاق بیماران گروه کنترل وجود ندارد، اما به

it the major...
ells. One to two in eve...
ndocrine tumors, which arise...
ncreas. These are generally less aggressi...
carcinoma.

**Pancreatic
cancer**

in the pancreas, a glandu...
control and fr...
ts

miRNA	Deregulation	Source Sample	Biological process	Targets	Ref
miR-126	Down	Blood,Tissue plasma	Proliferation, migration, Invasion, Differentiation	<i>FOXMI, VCAMI Akt IRS1, PIK3R2 CRK/CRKL</i>	19
miR-193b	Down	Human cell lines (AsPC-1, PANC-1, BxPC-3, Hs766T)	Apoptosis, cell-cycle progression, invasion	<i>MIR31HG</i>	12
miR-155	Up	Human cell lines (MiaPaCa-2) Plasma,,tissue Bile	Apoptosis	<i>TP53INP1</i>	13
miR-221	Up	Human cell lines (BxPC-3, MiaPaCa2, PANC-1, SW1990), human tissues	Proliferation, invasion, apoptosis	<i>MMP-2, MMP-9</i>	13
miR-222	Up	Human cell lines (BxPC-3, MiaPaCa2, PANC-1, SW1990), human tissues	Proliferation, invasion, apoptosis	<i>MMP-2, MMP-9</i>	14
miR-10b	Up	Human cell lines (PANC-1), human plasma Plasma bile	Invasion proliferation apoptosis migration differentiation	<i>TIP30, p16 TP53 MTOR KLF4 IGF1R NF1</i>	24
miR23a	Up	Human cell lines (PANC-1, MiaPaCa2 LPc006 , PLc167 Blood, saliva, tissue	Invasion, drug resistance, proliferation, apoptosis	<i>PDCD4, BTG2 KRAS, C-MYC, SPRY2,CKS1B KDM4A , CELF2</i>	24
miR-27a	Up	Human cell lines (PANC-1, MiaPaCa2 LPc006, PLc167)	Invasion, cell growth, proliferation, apoptosis	<i>PDCD4, BTG2, NEDDL4, PTEN</i>	24
miR-106b	Down	Plasma bil	Apoptosis, proliferation growth, senescence	<i>BCL2L11, E2F1 THBS1, ATM</i>	18
miR-205	Down	tissue	Migration, invasion, proliferation, tumor growth	<i>IGF2</i>	25
miR-124	Down	Human cell lines (BxPC-3, CFPAC-1, SW1990,PANC-1), human tissues	Proliferation, invasion, metastasis	<i>Rac1</i>	24
miR-21	Up	Saliva, Blood, tissue	Apoptosis,proliferatio n growth,metastatic	<i>PDCD4 , PTEN RECK, SMAD7 MSH2</i>	13
miR-1290	Up	Serum, tumor tissue,	Proliferation, invasive	<i>Wnt, FoxA1</i>	22
miR-3679-5p	Down	Saliva,Blood	-----	<i>Mechanism unclear</i>	23
miR-940	Up	saliva	proliferation	<i>GSK3β , sFRP1</i>	26
mir-210	Down	Blood, saliva, semen, serum, sperm	invasion	<i>PTEN</i>	21
miR-373	Down	sperm, tissues, Human cell lines(Hs766T)	Invasion, EMT,	<i>TGF- β,EMT</i>	17
miR-198	Down	tissue,Human cell lines(HPDE, MIA PaCa-2)	proliferation, invasion, migration	<i>SMAD4</i>	21
miR-125b-1	Up	Blood, saliva, semen, serum, plasma	proliferation apoptosis migration, differentiation	<i>CASP7, IGFBP3, SMO, TP53 KLF4,MTOR IGF1R, NF1</i>	28
miR-191	Up	tissue	growth aging	<i>THPO, SSB fluorouracil oxaliplatin</i>	16
miR-135a	Down	Human cell lines (PANC-1, BxPC-3, ASPC-1, HPDE6c7)	Proliferation, apoptosis	<i>Bmi1</i>	29
miR-23b	Up	Blood, saliva,serum, sperm, plasma,tissue	regulate autophagy associated with radioresistance	<i>KRAS, C-MYC</i>	21
miR-375	Down	Saliva, semen, serum, sperm, plasma	proliferation	<i>CASP3, IGFBP3, KRAS</i>	30

بحث و نتیجه گیری:

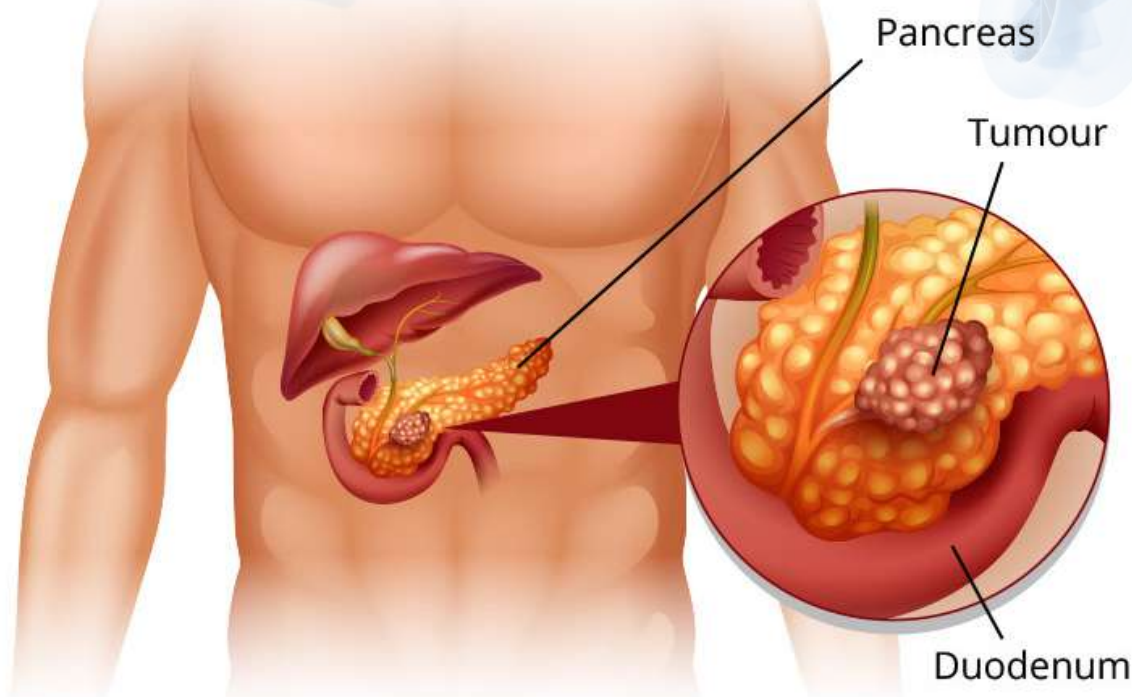
گوناگونی برای اندازه گیری سطح miRNA ها از جمله، PCR، qRT-PCR، microarray hybridization و NGS است اما هر یک از miRNA ها بسته به نوع نمونه مورد نظر ما اعم از خون، بافت، پلاسما و... به طور اختصاصی با یکی از تکنیک های مذکور مورد ارزیابی قرار می گیرند (۲۳)؛ که در مقاله مروری پیش رو مورد بحث واقع شده است.

اختصارات:

1. PDAC: Pancreatic ductal adenocarcinoma
2. PC: Pancreatic cancer
3. CP: chronic pancreatitis
4. EMT: epithelial-mesenchymal transition
5. ncRNA: non-coding RNA
6. sncRNA: small non-coding RNA
7. lncRNA: long non-coding RNA
8. piRNA: Piwi-interacting RNA
9. miRNA: microRNA
10. siRNA: Small interfering RNA
11. qRT-PCR: including the real-time reverse transcription PCR
12. NGS: next-generation sequencing

با توجه به پیش آگهی ضعیف سرطان پانکراس در جوامع بشری، درک حوادث و مسیرهای مولکولی و همچنین در پیش گرفتن استراتژی های درمانی زود هنگام با تکیه بر نشان گرهای زیستی بسیار حائز اهمیت هستند. تحقیقات اخیر در مورد مکانیزم های اپی ژنتیکی نشان می دهد که ویژگی های تنظیم کننده ای در ابتلا، پیشرفت و متاستاز سرطان پانکراس دخیل هستند. این مکانیزم های اپی ژنتیکی با تاکید بر miRNA ها، نقش مهمی در متد های تشخیصی زود هنگام ایفا می کنند. به طور مثال mir-1290 عملکردی اختصاصی دارد و جایگزین مناسبی برای مارکر CA19-9 است. این بیومارکر در غربالگری افرادی که سابقه فامیلی سرطان پانکراس دارند بسیار مهم است. هم چنین mir-373 در رخداد فرایند متاستاز سرطان پانکراس بسیار مؤثر است.

miRNA های exosomal در فرایند ارتباط سلول به سلول، نقش مهمی را ایفا می کنند و هم چنین بر فنوتیپ سلول های دریافت کننده تاثیرگذار هستند. از این رو می توانند به عنوان ابزار بالینی برای تشخیص و نظارت بر بیماری و حتی برای ژن درمانی، مورد استفاده قرار گیرند؛ بنابراین اندازه گیری سطح کمی از این miRNA ها بیانگر فهم مکانیزم های بیماری های انسانی و کشف اهداف جدید دارویی می باشد. تکنیک های



1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. CA: a cancer journal for clinicians. 2016;66(1):7-30.
2. Kuroczycki-Saniutycz S, Grzeszczuk A, Zwierz ZW, Kolodziejczyk P, Szczesiul J, Zalewska-Szajda B, et al. Prevention of pancreatic cancer. Contemporary oncology. 2017;21(1):30-4.
3. Bartsch DK, Gress TM, Langer P. Familial pancreatic cancer--current knowledge. Nature reviews Gastroenterology & hepatology. 2012;9(8):445-53.
4. Krempien R, Muentert MW, Harms W, Debus J. Neoadjuvant chemoradiation in patients with pancreatic adenocarcinoma. HPB : the official journal of the International Hepato Pancreato Biliary Association. 2006;8(1):22-8.
5. Herreros-Villanueva M, Gironella M, Castells A, Bujanda L. Molecular markers in pancreatic cancer diagnosis. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry. 2013;418:22-9.
6. Dastpeyman M, Motamed N, Azadmanesh K, Mostafavi E, Kia V, Jahanian-Najafabadi A, et al. Inhibition of silibinin on migration and adhesion capacity of human highly metastatic breast cancer cell line, MDA-MB-231, by evaluation of beta1-integrin and downstream molecules, Cdc42, Raf-1 and D4GDI. Medical oncology. 2012;29(4):2512-8.
7. Nolte-vt Hoen EN, Buermans HP, Waasdorp M, Stoorvogel W, Wauben MH, t Hoen PA. Deep sequencing of RNA from immune cell-derived vesicles uncovers the selective incorporation of small non-coding RNA biotypes with potential regulatory functions. Nucleic acids research. 2012;40(18):9272-85.
8. Kahlert C, Melo SA, Protopopov A, Tang J, Seth S, Koch M, et al. Identification of double-stranded genomic DNA spanning all chromosomes with mutated KRAS and p53 DNA in the serum exosomes of patients with pancreatic cancer. The Journal of biological chemistry. 2014;289(7):3869-75.
9. Parkinson H, Sarkans U, Shojatalab M, Abeygunawardena N, Contrino S, Coulson R, et al. ArrayExpress--a public repository for microarray gene expression data at the EBI. Nucleic acids research. 2005;33(Database issue):D553-5.
10. Dayem Ullah AZ, Cutts RJ, Ghetia M, Gadaleta E, Hahn SA, Crnogorac-Jurcevic T, et al. The pancreatic expression database: recent extensions and updates. Nucleic acids research. 2014;42(Database issue):D944-9.
11. Narayanan R. Phenome-genome association studies of pancreatic cancer: new targets for therapy and diagnosis. Cancer genomics & proteomics. 2015;12(1):9-19.
12. Fric P, Skrha J, Sedo A, Zima T, Busek P, Kmochova K, et al. Early detection of pancreatic cancer: impact of high-resolution imaging methods and biomarkers. European journal of gastroenterology & hepatology. 2016;28(12):e33-e43.
13. Frampton AE, Giovannetti E, Jamieson NB, Krell J, Gall TM, Stebbing J, et al. A microRNA meta-signature for pancreatic ductal adenocarcinoma. Expert review of molecular diagnostics. 2014;14(3):267-71.
14. Liu R, Chen X, Du Y, Yao W, Shen L, Wang C, et al. Serum microRNA expression profile as a biomarker in the diagnosis and prognosis of pancreatic cancer. Clinical chemistry. 2012;58(3):610-8.
15. Farrell JJ, Toste P, Wu N, Li L, Wong J, Malkhassian D, et al. Endoscopically acquired pancreatic cyst fluid microRNA 21 and 221 are associated with invasive cancer. The American journal of gastroenterology. 2013;108(8):1352-9.
16. Nakata K, Ohuchida K, Mizumoto K, Aishima S, Oda Y, Nagai E, et al. Micro RNA-373 is down-regulated in pancreatic cancer and inhibits cancer cell invasion. Annals of surgical oncology. 2014;21 Suppl 4:S564-74.
17. Hua Y, Chen H, Wang L, Wang F, Wang P, Ning Z, et al. Low serum miR-373 predicts poor prognosis in patients with pancreatic cancer. Cancer biomarkers : section A of Disease markers. 2017;20(1):95-100.
18. Cote GA, Gore AJ, McElyea SD, Heathers LE, Xu H, Sherman S, et al. A pilot study to develop a diagnostic test for pancreatic ductal adenocarcinoma based on differential expression of select miRNA in plasma and bile. The American journal of gastroenterology. 2014;109(12):1942-52.
19. Cao Z, Liu C, Xu J, You L, Wang C, Lou W, et al. Plasma microRNA panels to diagnose pancreatic cancer: Results from a multicenter study. Oncotarget. 2016;7(27):41575-83.
20. Xie Z, Yin X, Gong B, Nie W, Wu B, Zhang X, et al. Salivary microRNAs show potential as a noninvasive biomarker for detecting resectable pancreatic cancer. Cancer prevention research. 2015;8(2):165-73.
21. Humeau M, Vignolle-Vidoni A, Sicard F, Martins F, Bournet B, Buscail L, et al. Salivary MicroRNA in Pancreatic Cancer Patients. PloS one. 2015;10(6):e0130996.
22. Li A, Yu J, Kim H, Wolfgang CL, Canto MI, Hruban RH, et al. MicroRNA array analysis finds elevated serum miR-1290 accurately distinguishes patients with low-stage pancreatic cancer from healthy and disease controls. Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research. 2013;19(13):3600-10.
23. Liu J, Jennings SF, Tong W, Hong H. Next generation sequencing for profiling expression of miRNAs: technical progress and applications in drug development. Journal of biomedical science and engineering. 2011;4(10):666-76.
24. Previdi MC, Carotenuto P, Zito D, Pandolfo R, Braconi C. Noncoding RNAs as novel biomarkers in pancreatic cancer: what do we know? Future oncology. 2017;13(5):443-53.
25. Chaudhary AK, Mondal G, Kumar V, Kattel K, Mahato RI. Chemosensitization and inhibition of pancreatic cancer stem cell proliferation by overexpression of microRNA-205. Cancer letters. 2017;402:1-8.
26. Yang HW, Liu GH, Liu YQ, Zhao HC, Yang Z, Zhao CL, et al. Over-expression of microRNA-940 promotes cell proliferation by targeting GSK3beta and sFRP1 in human pancreatic carcinoma. Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie. 2016;83:593-601.
27. Marin-Muller C, Li D, Bharadwaj U, Li M, Chen C, Hodges SE, et al. A tumorigenic factor interactome connected through tumor suppressor microRNA-198 in human pancreatic cancer. Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research. 2013;19(21):5901-13.
28. Makler A, Narayanan R. Mining Exosomal Genes for Pancreatic Cancer Targets. Cancer genomics & proteomics. 2017;14(3):161-72.
29. Dang Z, Xu WH, Lu P, Wu N, Liu J, Ruan B, et al. MicroRNA-135a inhibits cell proliferation by targeting Bmi1 in pancreatic ductal adenocarcinoma. International journal of biological sciences. 2014;10(7):733-45.
30. Yabushita S, Fukamachi K, Tanaka H, Sumida K, Deguchi Y, Sukata T, et al. Circulating microRNAs in serum of human K-ras oncogene transgenic rats with pancreatic ductal adenocarcinomas. Pancreas. 2012;41(7):1013-8.

مدل های محاسباتی شخصی به عنوان نشانگرهای زیستی (بیومارکرها)

مترجم: دلارا سلطان اسمعیلی
کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی از دانشگاه میسور هندوستان



دلارا سلطان اسمعیلی

چکیده

نشانگرهای زیستی اساس پزشکی بالینی هستند، و به ویژه پزشکی شخصی به شدت وابسته به نشانگرهای زیستی قابل اعتماد و بسیار دقیق برای تشخیص و انتخاب درمان فردی است. فن آوری های نوین مدرن مانند توالی یابی ژنوم، اجازه می دهد تا پروفایل های مولکولی از بیماران فردی با وضوح بی سابقه ای ایجاد شود، اما نشانگرهای زیستی مبتنی بر این فن آوری ها اغلب فاقد عنصر پویا برای دنبال کردن پیشرفت یک بیماری یا پاسخ به درمان هستند. ما در اینجا در مورد مدل های محاسباتی به عنوان یک رویکرد جدید مفهومی برای کشف و طراحی نشانگرهای زیستی بحث می کنیم. توانایی به ادغام مقدار زیادی از اطلاعات، از جمله اطلاعات پویا، مدل های محاسباتی می تواند تکامل بیماری و پاسخ به درمان با حساسیت و ویژگی بالا را شبیه سازی کند. با پرورش این مدل ها با داده های شخصی، آنها می توانند بسیار شخصی شوند و یک ابزار قدرتمند جدید در سلاح پزشکی شخصی فراهم کنند.

کلمات کلیدی

- نشانگرهای زیستی
- نوروبلاستوما
- مدل ریاضی / محاسباتی
- پزشکی شخصی

محدودیت های نشانگرهای زیستی فعلی

اگرچه نشانگرهای موجود ابزارهای ارزشمندی در تشخیص بالینی بوده اند، ولی بیشتر آن ها مکانیسم های بیماری را به خوبی مشخص نکرده اند. به عنوان مثال، فشار خون بالا نشان می دهد که سیستم قلبی عروقی فرد در معرض خطر قرار دارد و در نهایت از کار خواهد افتاد، اما مشخص نمی کند چرا و چگونه. بنابراین، یک محدودیت عمده ی نشانگرهای زیستی موجود این است که آنها معمولاً اطلاعاتی در مورد مکانیزم های بیماری را نشان نمی دهند. تلاش های زیادی برای یافتن نشانگرهای زیستی جدید و بهتر انجام شده است، که به طور فزاینده ای از روش های پروفایل مولکولی جهانی مانند توالی یابی ژنوم، ترانسکریپتومیک ها، پروتئومیک ها و متابولومیک ها استفاده می شود. تا کنون، نتایج تا حدودی ناامید کننده بوده است. توالی یابی ژنوم، هزاران گونه ی ژنتیکی را افشا میکند که مفهوم آن تا حد زیادی نامشخص است. علاوه بر این، تنها چند بیماری وجود دارد که می تواند به اختلالات در آنها یک ژن ردیابی شوند. بسیاری از بیماری های شایع چند وجهی هستند و اثرات ترکیبی ایجاد شده توسط عوامل ژنتیکی را دشوار می کند. علاوه بر این، حتی اگر تغییرات ژنتیکی می توانند وجود بیماری را نشان دهد، معمولاً نمی توانند بگویند که چه زمانی خطر خود را آشکار می کند و

مقدمه: نقش نشانگرهای زیستی

نشانگرهای زیستی یک ستون پزشکی مدرن هستند. آنها برای شناسایی افراد در معرض خطر بیماری ها، تشخیص بیماری ها، انتخاب درمان ها و نظارت بر موفقیت درمان ها مورد استفاده قرار می گیرند. تعاریف بسیاری برای نشانگرهای زیستی وجود دارد، اما همه آنها مفهوم مشترک دارند که می توانند به طور عینی، وضعیت پزشکی یک بیمار را مستقل از نشانه های شخصی تجربه شده توسط بیمار ارزیابی، اندازه گیری و پیش بینی کنند. این تعریف به طور فزاینده ای گسترش می یابد تا نه تنها تغییرات در پارامترهای داخلی بیماران، بلکه همچنین تعامل با پارامترهای خارجی مانند درمان، شیوه زندگی و محیط زیست را در نظر بگیرد. این گسترش تا حد زیادی در شناختن این موضوع است که بیماری یک فرایند بسیار پویا است که منشا و دوره آن تحت کنترل تاثیرهای چندگانه قرار دارند. نشانگرهای زیستی که می توانند این ویژگی های چند بعدی را جذب کنند، برای تحقق بخشیدن به پتانسیل پزشکی شخصی که بر طبقه بندی دقیق بیماران و بیماری آنها برای پیشگیری و تشخیص تکیه میکند، ضروری خواهند بود. امید زیادی بر روی فن آوری های جدید مانند توالی یابی ژنوم وجود دارد، که ما را در درک تعاملات پیچیده بین بیماری و ارگان انسان کمک می کند. بنابراین، ما از نظر این گونه نشانگرهای زیستی کجا هستیم؟

نشان داد که مدل های پویای شخصی با ژنوتیپ ها بهتر از سطوح متابولیک مطابقت میکنند و می توانند افرادی که ممکن است از عوارض جانبی دارو رنج ببرند را شناسایی کنند. تلاش های گسترده ی جامعه در حال انجام است تا پتانسیل مدل سازی مسیر متابولیک برای تلاش های کشف نشانگرهای زیستی و دارو را توسعه دهد.

چشم انداز آینده

مطالعه ی نوروبلاستوما به ما نشان داده است که مدل های پویای ریاضی می تواند به عنوان نشانگرهای زیستی بسیار مفید برای پزشکی شخصی مورد استفاده قرار گیرد. مزیت منحصر به فرد این روش این است که مدل ها می توانند نقطه های کنترل STN را شناسایی کنند. این یک تمایز مهم در مقابل امضاهای نشانگر زیستی است که ارتباطات را به جای علت تشخیص می دهد. این مورد پیامدهای مهمی دارد. اولاً، مدل های ریاضی پویا مقدار زیادی از اطلاعات را که در خروجی شبیه سازی محاسباتی حفظ می شود، ادغام می کنند؛ دوم، آنها می توانند سازگاری پویا را در نظر بگیرند، و آنها را برای پیش بینی زمانی که یک خطر خود را آشکار می کند و چگونه به درمان پاسخ می دهد، مفید سازند؛ سوم، تجزیه و تحلیل مدل STN مکانیزم های بیماری زایی کلیدی را نشان می دهد، به عنوان مثال، اجتناب در STNs که پیشرفت و تهاجم گرای بیماری را تعیین میکند. چهارم، شناسایی نقطه های کنترلی STN شرایطی را ایجاد مینماید که طی آن بتوان به صورت کاملاً واقعی آن ها را به عنوان اهداف درمانی شبیه سازی نمود تا از این طریق علاوه بر مشخص شدن و پیش بینی نتیجه ی پاسخ گویی نقطه کنترلی STN به درمان مدنظر، هدف کلیدی دارو آشکار شده و امکان دستورزی بشر به مسیر سیگنالینگ به صورت دقیق تر فراهم آید. هدف آخر اهمیت خاصی دارد به این دلیل که در یک زمان، تشخیص دقیق و اهداف درمانی را فراهم می کند. این ممکن است معضل بلند مدت تشخیص های همراه (companion diagnostics) در حال توسعه برای داروهای جدید را حل کند. مطالعات نشان داده اند که داروها با تشخیص همراه دارای شانس بیشتری برای موفقیت در آزمایشات بالینی هستند. بنابراین، مدل های محاسباتی دو هدف را با یک تیر میزنند و ممکن است به کاهش میزان سایش غیر پایدار مواد و رساندن آن به بیمار با موفقیت و به موقع کمک کند. در حالی که داده های پراکنده ی بیمار به طور موفقیت آمیزی برای برقراری ارتباطات پیش آگهی مورد استفاده قرار گرفتند، مدل سازی پویا می تواند روابط علتی مورد نیاز را اضافه کند.

منبع:

www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5618155/

واقعا تحت تاثیر قرار می گیرد. روشهای پویای بیشتر، به ویژه ترانسکریپتومیک ها و پروتئومیک ها، در این رابطه یک طبقه بندی بهتر ارائه میدهند. به عنوان مثال، چندین آزمون مبتنی بر ترانسکریپتومیک مانند Oncotype DX و Mammprint برای ارزیابی پیش آگهی و نیاز احتمالی به درمان شیمی درمانی در بیماران مبتلا به سرطان پستان مورد استفاده قرار می گیرند. یک درس مشترک از این تلاش ها این بود که معمولاً برای به دست آوردن تشخیص دقیق، یک مجموعه نشانگرهای زیستی، یک امضای نشانگر زیستی، نیاز دارد. چگونه می توانیم در آن پیشرفت کنیم؟

مدل های ریاضی و محاسباتی به عنوان نشانگرهای زیستی

مدلسازی ریاضی و محاسباتی با موفقیت برای بررسی رفتار پویای سیستم های بیولوژیکی، به ویژه شبکه های انتقال سیگنال (STNs) که فرآیندهای سلولی پایه مانند چرخه سلولی، رشد سلولی، مرگ سلولی، التهاب و فرآیندهای ناشی از بیماری را کنترل می کند، مورد استفاده قرار گرفته است. این مدل ها به بررسی سیستماتیک اختلالات STN و پاسخ های سازگار پذیر از طریق شبیه سازی های سیلیکا می پردازد. STN ها عملاً در هر بیماری تغییر می کنند و از این رو راه های جالب و مورد توجهی برای پیدا کردن یا حتی تبدیل به نشانگرهای زیستی جدید فراهم می کنند. ما اخیراً اثبات مفهوم مطالعه در نوروبلاستوما که یک تومور دوران کودکی است را ارائه کرده ایم. نوروبلاستوما با جراحی همراه با شیمی درمانی ژنوتوکسیک درمان می شود، که می تواند عوارض جانبی شدید طولانی مدت داشته باشد. بنابراین طبقه بندی صحیح بیمار ضروری است. حدود ۲۰٪ از نوروبلاستوماها، تقویت ژن MYCN، که همراه با پیش آگهی ضعیف و خواستار شیمی درمانی تهاجمی است را نمایان میکند. با این حال، هیچ نشانگر زیستی برای پیش آگهی ضعیف نوروبلاستوما بدون تقویت MYCN وجود ندارد. با استفاده از یک رویکرد تجربی یکپارچه که پاسخ سلولهای نوروبلاستوما به عوامل شیمی درمانی را نقشه برداری کرده است، ما استرس فعال (JUN N-terminal kinase (JNK برای پاسخ وابسته به درمان شناسایی کردیم. تولید یک مدل ریاضی به ما امکان شناسایی سه نقطه کنترل بحرانی STN را داد که پاسخ پویا به شیمی درمانی را تعیین می کند. با اندازه گیری این سه نقطه کنترل در نمونه های بیمار و جایگزینی مقادارها در مدل عمومی، ما توانستیم مدل های شخصی برای هر بیمار ایجاد کنیم. تجزیه و تحلیل دو گروه مستقل بیمار نشان داد که این مدل می تواند با دقت بالا بیماران در خطر را مستقل از تقویت MYCN شناسایی کند. بنابراین، توسعه ی مدل های شخصی مبتنی بر STN با ارزش دقیق و پیش آگهی بسیار امکان پذیر است. به طور قابل توجهی، مدل سازی شبکه های متابولیکی از ارزش مدل سازی پویا بیش از امضا های نشانگر زیستی وابسته به هم پشتیبانی می کند. به عنوان مثال، کار اخیر در متابولیک اریتروسیت



کاربرد دستگاه گامانایف در درمان تومورهای مغزی

منیر حسینیان^۱ - دکتر طاهره ناجی^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زیست سلولی تکوینی واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی، تهران - ایران
۲- دانشیار و مدیر گروه علوم پایه واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی، تهران - ایران



منیر حسینیان

دهی، به علت کاهش انرژی اشعه زیاد می شود و به ۲۰-۳۰ جلسه نیز می رسد. اما در روش گامانایف اشعه کاملاً متمرکز و تا حد امکان ضایعه تحت تاثیر قرار میگیرد و تنها در یک یا چند جلسه کوتاه می توان مقدار بسیار زیادی اشعه به منطقه ی بیماری تاباند و بافت اطراف ضایعه سالم و بدون عارضه باقی خواهد ماند.

بیشترین موارد استفاده از گامانایف:

الف- تومورهای مغزی اعم از خوش خیم و بد خیم:
خصوصاً تومورهای قسمت های عمیق مغزی که امکان تخلیه ی کامل آن ها وجود ندارد. گامانایف برای تومورهای کوچک تر از سه سانتی متر مفید است.
اهمیت گامانایف زمانی آشکار می شود که برای درمان CANCER METASTATIC BRAIN نیاز به جراحی باز جمجمه باشد، بهترین نتیجه درمانی زمانی است که اندازه تومور کم تر از یک سانتی متر باشد. از این مورد تومورها می توان به تومور مننژیوما اشاره کرد.

مننژیوما MENINGIOMA :

نوعی تومور مغزی است که غالباً خوش خیم بوده و جزء شایع ترین تومورها است. در تحقیقاتی که در مورد نتایج درمانی (به روش گامانایف) بر روی ۲۳۰ مورد مننژیوم قاعده جمجمه در تهران (۱۳۸۹) انجام شد. در ۲۱۹ مورد (۹۵٪) تومور کنترل شد و در بیمارانی که قبلاً تحت درمان قرار نگرفته بودند بهبود بالینی بیشتری مشاهده گردید. از دیگر تومورها می توان به آکوستیک نورما/ شوانوما (ACOUSTIC NEURMAS)، همانژیوبلاستوما (HEMAGIO BLASTOMAS)، تومورهای پینه آل (PINEAL TUMORS) از نوع خوش خیم و متاستاز (METASTASES) و ملانوم چشمی (OCULAR MEIANOMAS) از نوع بدخیم آن اشاره کرد.

مقدمه

گامانایف یا چاقوی گاما Radio surgery جایگزین جراحی سنتی و پرتو درمانی کامل مغز شده است. از این روش برای درمان بیماریهای پیچیده و تومورهای مغزی استفاده می شود. گامانایف ابزار جراحی استریو تاکتیک غیرتهاجمی است که شامل هیچ گونه برش و جراحی نیست. در حقیقت چاقویی وجود ندارد بلکه صدها شعاع گاما از یک منبع کبالت ساطع و به صورت متمرکز به مرکز جراحی تابانده می شود. فناوری پیشرفته گامانایف این امکان را می دهد که عمیق ترین بخش های مغز، که با جراحی معمولی نمی توان به آن دسترسی داشت را تحت درمان قرار داد. (شکل ۱)
در این روش پزشکان ضایعات مغزی را بدون باز کردن جمجمه بیمار درمان می کنند.

نکته ی مهم و حیاتی در این نوع درمان این است که تابش به صورتی است که بافت های نرمال و حیاتی حداقل اشعه ی ممکن را دریافت می نمایند و آسیب نمی بینند.

مزیت استفاده گامانایف به روش پرتو درمانی:

در پرتو درمانی معمولی، اشعه ایکس به تمام مغز تابانده می شود و به این ترتیب توموری که درون مغز قرار دارد نیز تحت تاثیر قرار میگیرد، اما از آن جا که در این روش مغز سالم نیز پرتو دهی می شود، اگر میزان اشعه از مقدار معینی بالاتر برود، بافت سالم نیز آسیب می بیند. در کودکان همین مقدار کم نیز می تواند باعث تاخیر در رشد و نمو و کاهش هوش بیمار در آینده شود. به همین دلیل در پرتو درمانی، میزان جلسات پرتو

- بعد از انجام پرتودهی بلافاصله فریم از سر برداشته می شود.
- بیمارانی که آنژیوگرافی داشتند قبل از ترخیص نیاز به ۸-۱۰ ساعت استراحت دارند.

مزایای گامانایف نسبت به روش های دیگر درمان:

- زمان اقامت کوتاه در مرکز درمانی
- هزینه کم درمان نسبت به جراحی (۳۰ تا ۲۵ درصد کاهش)
- عدم نیاز به جراحی باز در بیمار و نیز عدم خون ریزی و عفونت که از تبعات جراحی های مغزی است.
- تعداد جلسات بسیار کم در درمان
- آسیب نرساندن به بافت های مغزی که در اطراف ضایعه ی مغزی قرار دارند.
- در حین انجام و بعد از آن بیمار دردی را احساس نمی کند و می تواند خیلی زود پس از جراحی فعالیت های عادی خود را از سر بگیرد.

منابع:

- بی طرف.م و همکاران. (۱۳۸۹). مجله ی دانشکده پزشکی دوره ی ۶۸. شماره ی ۳. صفحه ی ۱۶۲-۱۶۷.
- Galloway, RL JR. (2015). Image –Guided Neurosurgery. Amsterdam: Elsevier. pp. 3-4.
- Tse, VCK; kalani, MYS; Adler, J R (2015). "Techniques of Stereotatic Localization". In chin, LS; Regine, WF. principles and practice of Stereotatic Radiosurgery. New York: Springer. p. 28
- Saleh, H; Kassas, B (2015). "Developing Stereotatic Frames for Cranial Treatment". In Benedict, SH ; Schlesinger, DJ; Goetsch, SJ; Kavangh, BD. Stereotatic Body Radition Therapy. Boca Ration: CRG Press. pp. 156-159.
- Khan, FR; Henderson, JM (2013). "Deep Brain Stimulation Surgical Techniques". In Lozano, AM; Hallet, M. Brain Stimulation: Handbook of Clinical Neurology. 116. Amsterdam: Elsevier. pp. 28-30.

ب- ناهنجاری های عروقی مغز:

مانند AVF-AVM که به ارتباط غیرطبیعی شریان و ورید گفته می شود. فیستول شریانی (ARTERIOVENOUS FISTULA) نوعی آناستوموزی و پیوند فیستولی بین سرخرگ و سیاهرگ مغز است. این مشکل گاه مادرزادی است یا ناشی از تروما و آنوریسم است اما گاهی به دلایل پزشکی تعمداً نیز ایجاد می شود، این بیماری ممکن است باعث سردرد و در نهایت خون ریزی مغزی شود و یا موجب سکته مغزی، فلج یا بعضاً مرگ گردد. AVM اکثراً قابل درمان و یا با کاهش ریسک همراه است. درمان AVM با گامانایف تدریجی و در طول بازه ۲-۳ سال صورت می گیرد.

روش درمان و آماده سازی بیمار:

از بیمار خواسته می شود از نیمه ی شب قبل، NPO باشد. یک IV باز از دست بیمار مورد نیاز است. تا با تزریق سرم از دهیدراته شدن در حین انجام درمان جلوگیری شود. بر روی سر بیمار فریم خاصی (فریم استروتاکتیک – STEREOTACTIC HEAD FRAME) تعبیه می شود. این فریم با بی حسی موضعی از چهار نقطه بر روی سر ثابت گشته و فریم در تمام مدت پرتودهی باقی می ماند تا از تکان دادن سر توسط بیمار جلوگیری شود و پس از پایان درمان جدا می شود. از بیمار MRI یا CT اسکن یا آنژیوگرافی DSA گرفته می شود. - طراحی درمان: نرم افزار طراحی درمان، به پزشکان و تیم معالج امکان تطبیق ایزودوز درمانی بر روی شکل تومور را با دقت ۰/۱ میلی متر می دهد، آن ها در این پرسه میزان پرتو دهی و مدت زمان درمان را تعیین می کنند. - با انجام طراحی، بیمار به اتاق درمان منتقل می شود. دستگاه گامانایف از یک تخت با قابلیت حرکت و کنترل و یک نیم کره متشکل از ۲۰۱ منبع کبالت و ۶۰ جهت پرتودهی تشکیل شده است (شکل ۲). مدت زمان پرتودهی به اندازه و موقعیت تومور بستگی دارد. (شکل ۳)



شکل ۲- کلاه خود فلزی جهت دریافت اشعه



شکل ۳- بیمار آماده شده جهت درمان

پزشکی شخصی در FDA

گزارش پیشرفت در سال ۲۰۱۷

مترجم: مریم ملابابایی

کارشناس علوم آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی ایران
مرکز تحقیقات پزشکی شخصی - دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)



مریم ملابابایی

اتفاقات مهم سال ۲۰۱۷:

- ۱- ثبت تعدادی از تاییدیه های پزشکی شخصی
- ۲- دریافت تاییدیه سه ژن درمانی برای اولین بار
- ۳- اولین تاییدیه استفاده از علایم بافت شناسی برای درمان سرطان
- ۴- دریافت نخستین مجوز برای ارایه آزمایشات ژنتیکی مرتبط با سلامت بطور مستقیم به مصرف کنندگان
- ۵- نخستین تاییدیه داروهای بیوسیمیلار پزشکی شخصی
- ۶- دریافت اولین تاییدیه از FDA/CMS و همچنین اجازه تصمیم گیری در مورد نحوه ی استفاده از تکنیک NGS (Next Generation Sequencing technology)

پیشرفت های قابل توجه:

مقدمه: (روند رو به جلو)

• ثبت یک تعداد از تاییدیه های پزشکی شخصی جدید
مرکز تحقیق و ارزیابی دارو (CDER)، FDA، ۴۶ دارو با ماهیت مولکولی جدید شامل دارو ها یا عوامل بیولوژیکی درمانی را در سال ۲۰۱۷ تأیید کرد. مجموعه پزشکی شخصی (PMC) ۱۶ تا از ۴۶ دارو (تقریباً ۳۵ درصد) را به عنوان داروهای شخصی اختصاص داد، که این رقم بیشتر از سالهای قبل میباشد بطور مثال در سال ۲۰۱۵، از ۴۵ دارو فقط به ۱۳ مورد تاییدیه دادند. تعداد داروهای پزشکی شخصی که سالانه تایید شده است، از سال ۲۰۱۴ هر سال ۲۰ درصد افزایش یافته، در حالی که PMC ۲۱، درصد از NMEs را به عنوان داروهای شخصی دسته بندی کرده است.. در سال های ۲۰۱۵ و ۲۰۱۶، سازمان به ترتیب ۲۸ و ۲۷ درصد NMEs ها را به عنوان داروهای شخصی اختصاص

سازمان غذا و دارو ایالات متحده (FDA) پیشرفت های قابل توجه پزشکی شخصی در سال ۲۰۱۷ را بخوبی حمایت کرده است که این نشان دهنده تعهد سازمان نسبت به پیشرفت در پزشکی شخصی است.

بیش از یک مورد از هر چهار موردی که این سازمان طی چهار سال گذشته تایید کرده است در حیطه پزشکی شخصی میباشد همچنین FDA ثبت ۱۶ داروی جدید پزشکی شخصی در سال ۲۰۱۷ را تایید کرده است. این تعداد نسبت به ۱۰ سال پیش افزایش چشمگیری دارد. (در حالی که پزشکی شخصی به طور سالانه کمتر از ۱۰ درصد مجوزهای مولکولی جدید (NME)

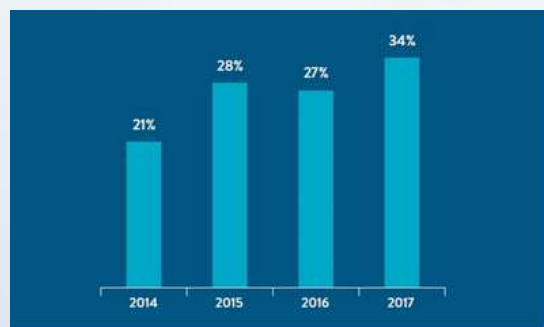
داده است.

علاوه بر این، برای اولین بار در ایالات متحده آمریکا، مرکز تحقیقات و ارزیابی زیست شناسی FDA، CBER، سه نوع درمان ژن را تایید کرد که جزء پزشکی شخصی هستند. مانند پیوند ژن های نرمال به سلول هایی در جایگاهی غیر از جایگاه اصلی و یا به سلول های معیوب، برای اصلاح نوع خاصی از اختلالات ژنتیکی یا اصلاح واکنش های خاص سلولی.

Scott Gottlieb، از اعضای عالی رتبه ی FDA :

«ما به طور قابل توجه ای قادر به شناسایی منافع هرچه بیشتر بیمار هستیم، چرا که داروها به مکانیزم هایی مجهز شده اند که نقاط بهتری را در جهت درمان هدف قرار میدهند.»

داروهای پزشکی شخصی بیش از ۳۰ درصد تاییدیه های FDA را برای اولین بار در سال ۲۰۱۷ به خود اختصاص داده اند



روش شناسی: PMC پزشکی شخصی را اینگونه تعریف میکند که یک حوزه در حال توسعه ست که در آن پزشکان با استفاده از آزمایشات تشخیصی برای تعیین بهترین درمانهای پزشکی برای هر بیمار استفاده میکنند. با ترکیب نتایج این آزمایش ها با سابقه پزشکی، شرایط و ویژگی های فردی بیماران، پزشکان می توانند برنامه های پیشگیرانه و یا درمان موفقتری ارائه دهند.

در هنگام ارزیابی NMEs، PMC داروهای پزشکی شخصی را به عنوان محصولات درمانی دارای پرچسب مخصوص نشانگرهای بیولوژیکی خاص دسته بندی می کند که توسط ابزار تشخیصی شناسایی شده و به تصمیم گیری و یا روش های استفاده از آنها در بیماران خاص کمک می کند.

تاییدیه های ۲۰۱۷

۱۶ مورد از ۴۶ واحد جدید مولکولی که FDA در سال ۲۰۱۷ تأیید کرده همچنین سه نوع ژن درمانی، جزو پزشکی شخصی هستند.

۱- Kisqali (ribociclib): برای درمان سرطان پیشرفته سینه.

تصمیم گیری برای استفاده از این محصول با اطلاع از وضعیت بیومارکر HR و HER2 بیماران صورت میپذیرد.

۲- Bavencio (avelumab): برای درمان سلول های متاستازی کارسینوم Merkel. تصمیم گیری برای استفاده از این دارو با میزان بیان PD-L1 در تومور بیماران در ارتباط است.

۳- Zejula (niraparib): برای درمان نگه دارنده ی سرطانهای عود کننده ی اپیتلیالی تخمدان، لوله های فالوپ یا اولیه ی صفاقی استفاده میشود. تصمیم گیری برای استفاده از این محصول با اطلاع از وضعیت موتاسیون بیومارکرهای BRCA بیماران صورت میپذیرد.

۴- Austedo (deutetrabenazine): برای درمان بیماری کوربا همراه شده با بیماری هانتینگتون استفاده میشود. تصمیم گیری برای استفاده از این محصول با اطلاع از وضعیت بیومارکر CYP2D6 بیماران صورت میپذیرد.

۵- Ingrezza (valbenazine): برای درمان Tardive Dyskinesia استفاده میشود. تصمیم گیری برای استفاده از این محصول با اطلاع از وضعیت بیومارکر CYP2D6 بیماران صورت میپذیرد.

۶- Brineura (cerliponase alfa): برای درمان CLN2 نوع Batten استفاده میشود. تصمیم گیری برای استفاده از این محصول با اطلاع از وضعیت بیومارکر TPP1 بیماران صورت میپذیرد.

۷- Alunbrig (brigatinib): برای درمان سرطان متاستاتیک (NSCLC) non-small cell lung. تصمیم گیری برای استفاده از این محصول با اطلاع از وضعیت بیومارکر ALK بیماران صورت میپذیرد.

۸- Rydapt (midostaurin): برای درمان لوسمی میلوئیدی حاد (AML). تصمیم گیری برای استفاده از این محصول با اطلاع از وضعیت بیومارکر FLT3 بیماران صورت میپذیرد.

۹- Imfinzi (durvalumab): برای درمان urothelial carcinoma پیشرفته. تصمیم گیری برای استفاده از این دارو با میزان بیان PD-L1 در تومور بیماران در ارتباط است.

۱۰- Nerlynx (neratinib maleate): برای کاهش ریسک عود مجدد سرطان سینه استفاده میشود. تصمیم گیری برای استفاده از این محصول با اطلاع از وضعیت بیومارکر HER2 بیماران صورت میپذیرد.

۱۱- Vosevi (sofosbuvir, velpatasvir and voxilaprevir): برای درمان هپاتیت C. تصمیم گیری برای استفاده از این محصول با اطلاع از وضعیت ژنوتایپ HCV بیماران صورت میپذیرد.

۱۲- Idhifa (enasidenib): برای درمان نوع عود کننده و یا مقاوم به درمان لوسمی میلوئیدی حاد (AML). تصمیم گیری برای استفاده از این محصول با اطلاع از وضعیت بیومارکر IDH2 بیماران صورت میپذیرد.

۱۳- Mavyret (glecaprevir and pibrentasvir): برای درمان هپاتیت C. تصمیم گیری برای استفاده از این محصول با اطلاع از وضعیت ژنوتایپ HCV بیماران صورت میپذیرد.

۱۴- Verzenio (abemaciclib): برای درمان سرطان پیشرفته

دستاورد های جدید و مهم

گاهها تعداد زیادی از داروهای تایید شده که در سال ۲۰۱۷ بعنوان داروهای پزشکی شخصی طبقه بندی شده اند کل ماجرا را ارائه نمی دهند. فهرست رو به رشد داروهای پزشکی شخصی که در اختیار پزشکان و بیماران قرار می گیرد، شامل بسیاری از داروهای قبلا تایید شده در سال ۲۰۱۷ است. این تاییدیه مجددا مجموعه داروهای قبلا تایید شده را دوباره در قالب پزشکی شخصی تعریف کرده و بدین ترتیب برای بیماران روش های موثرتر درمان شخصی را ترتیب می دهند. لذا لیست داروهای جدید پزشکی شخصی سال ۲۰۱۷ که با اسامی و اختصارات جدید تاییدیه گرفته اند بدین شرحند: Revlimid (lenalidomide), Keytruda (pembrolizumab), Ibrance (palbociclib), Tecentriq (atezolizumab), Kalydeco (ivacaftor), Zykadia (ceritinib), Opdivo (nivolumab), Zelboraf (vemurafenib), Alecensa (alectinib), Adcetris (brentuximab vedotin), Sprycel (dasatinib), Sovaldi (sofosbuvir), Bosulif (bosutinib), Perjeta (pertuzumab) and (Tasigna) nilotinib

تایید گسترده ی pembrolizumab (Keytruda) برای همه انواع تومورهای جامد در سرطان های پیشرفته با بی ثباتی بالا (MSI-H) یا کمبود عدم تطابق (dMMR) بسیار مهم است زیرا برای اولین بار داروهای انکولوژی براساس بیومارکر، صرف نظر

سینه. تصمیم گیری برای استفاده از این محصول با اطلاع از وضعیت بیومارکر HR و HER2 بیماران صورت میپذیرد.

۱۵- Mepsevii (vestronidase alfa -vjbk): برای درمان موکوپلی ساکاریدوز تیپ VII (سندروم Sly). تصمیم گیری برای استفاده از این محصول با اطلاع از وضعیت بیومارکر MPS VII بیماران صورت میپذیرد.

۱۶- Hemlibra (emicizumab-kxwh): برای درمان هموفیلی نوع A. تصمیم گیری برای استفاده از این محصول با اطلاع از وضعیت آنتی بادی بر علیه فاکتور VII بیماران صورت میپذیرد.

جدیدترین روشهای تایید شده ی ژن درمانی

۱- Kymriah (tisagenlecleucel): برای درمان لوسمی لنفوبلاستی حاد (ALL) بکار میرود. این درمان یک ایمونوتراپی اتولوگ سلول T اصلاح ژنتیکی شده میباشد.

۲- Yescarta (axicabtagene ciloleucel): برای درمان لنفوم بزرگ سلول B بکار میرود. این درمان یک ایمونوتراپی اتولوگ سلول T اصلاح ژنتیکی شده میباشد.

۳- Luxturna (voretigene neparvovec-rzyl): برای درمان دیستروفی شبکیه بکار میرود. این درمان یک ژن درمانی کاملا یکپارچه برای تصحیح جهش خاص RPE65 در سلول های شبکیه میباشد.





تایید و پاکسازی FoundationOne CDx Foundation Medicine را صادر کردند، این بازبینی برای یک پلت فرم آزمایش مبتنی بر NGS تکمیل شد. در حالی که این مسائل مربوط به تنظیماتی که CMS قصد دارد برای آزمایشات مبتنی بر NGS لحاظ کند منجر به این میشود که مسیر بازنگری قابلیت ردیابی مسیر موازی را دارد.

نتیجه گیری

یک مسیر امید بخش این تحولات مهم، منعکس کننده سرعت فوق العاده ی نوآوری های علمی در پزشکی شخصی است، پیشرفتی که عمدتاً به دلیل تعهدات صنایع دارویی و تشخیص پزشکی شخصی و همچنین رهبری FDA میباشد. در حالی که چالش های در حال انجام در زمینه های کشف علمی، سیاست های نظارتی تشخیصی، پوششی و بازپرداخت و اجرای فناوری های جدید در عمل بالینی هنوز هم برجسته هستند، مراقبت های بهداشتی علمی پیش از همه ی محتوا، آزمایش و خطای پزشکی و استفاده ی بجا از اطلاعات مولکولی برای بهبود نتایج و ایجاد سیستم بهداشتی ایالات متحده ضروری بنظر میرسد. Scott Gottlieb، از اعضای عالی رتبه ی FDA :

FDA نقش مهمی در پیشبرد این رویکرد هدفمند برای درمان بیماری با ایجاد یک چارچوب مدرن دارد که تضمین می کند که ما در حال ارائه راهنمایی و منابع لازم برای کارآمدی توسعه این محصولات جدید با استفاده از تکنولوژی جدید هستیم. »

در مورد ما:

اتلاف پزشکی شخصی (PMC)، نماینده نوآوران، دانشمندان، بیماران، ارائه دهندگان و پرداخت کننده گان میباشد که درک و پذیرش مفاهیم، خدمات و محصولات پزشکی شخصی را برای بیماران و سیستم بهداشتی به ارمغان می آورد.

از جایی که تومور در بدن قرار دارد، مشخص شده اند.

Janet Woodcock, M.D. مدیر مرکز ارزیابی و تحقیقات دارویی، FDA :

(در مجمع تصویب دستاورد های نوین پزشکی شخصی برای Kalydeco و Keytruda (ژوئیه ۲۰۱۷))

« این گسترش تاییدیه ها نشان دهنده یک آینده دلگرم کننده برای « پزشکی دقیق » است - رویکردی برای درمان بیماری که شیوه های پزشکی، از جمله دارو ها را به نیازهای فردی بیماران متناسب میکند -

دستاوردهای جدید

سوابق قابل توجه

- مجوز مستقیم به مصرف کننده:
- امسال برای اولین بار مشخص شد که FDA مجوز تجاری آزمایشات ژنتیکی مربوط به سلامت را مستقیماً به مصرف کنندگان فروخته است. با اجازه دادن به بازاریابی آزمایشات سلامت ژنتیک andMe ۲۳ برای ۱۰ بیماری و شرایطشان، FDA برای شرکت هایی که به دنبال تست های ژنتیکی هستند تا اطلاعاتی را که در مورد سابقه ژنتیکی فرد نسبت به برخی بیماری ها یا شرایط خاص پزشکی ارائه می دهند، زمینه دسترسی فراهم نموده است.
- پزشکی شخصی Biosimilar
- اولین Biosimilar شخصی نیز در سال ۲۰۱۷ تأیید شد. (Ogivri -dkst trastuzumab) برای سرطان پستان HER2 مثبت، یک بیوسیمیلار برای Herceptin (trastuzumab) است که برای اولین بار در سال ۱۹۹۸ در ایالات متحده تأیید شده.
- تاییدیه مشترک برای آزمایش مبتنی بر NGS
- برای دومین بار در تاریخشان، FDA و CMS علاوه بر اعلامیه در سال ۲۰۱۷ یک تاییدیه مشترک تحت نام برنامه بازبینی مشترک را اعلام کردند. زمانی که FDA و CMS به طور مشترک

ایمونوگرافی برای چرخه ایمنی سرطان:

به سوی ایمونوتراپی فردمحور سرطان ریه

مترجم: سونیا دارایی

کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی میکروبی دانشگاه علوم پایه سمنان
مرکز تحقیقات پزشکی شخصی - دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)



سونیا دارایی

چکیده

مقدمه: اثر متقابل سلولهای ایمنی و سلولهای سرطانی برهم باعث ایجاد ریزمحیط تومورهای سرکوب کننده سیستم ایمنی میشود. برای ایمونوتراپی موفق سرطان، دانش کامل ایمنی ضدتومور به عنوان یک فرآیند فضایی و زمانی پویا برای هر مریض، لازم است. برای این منظور، با استفاده از توالی یابی نسل جدید، یک ایمونوگرافی برای چرخه ایمنی سرطان ایجاد کردیم.

روشها: توالی یابی کلی اگزوم و توالی یابی RNA در ۲۰ بیمار مبتلا به NSCLC (۱۲ مورد آدنوکارسینوما، هفت مورد کارسینوم سلول سنگفرشی و یک مورد کارسینوم نورواندوکراین سلولی بزرگ) انجام شد. آنتی ژنهای نوظهور جهش یافته و آنتی ژن رگه زایشی سرطانی بیان شده در تومور، برای اتصال به مولکولهای آنتی ژن لوکوسیتی فرد بیمار بررسی شد. بیان ژن های مربوط به ایمنی سرطان به منظور ایجاد یک نمودار شامل هشت محور که منعکس کننده هفت مرحله در چرخه ایمنی سرطان بود، بررسی و محک زنی شد.

یافته ها: سه الگوی ایمونوگرافی در بیماران مبتلا به سرطان ریه مشاهده شد: غنی از سلولهای T، دارای سلولهای T اندک و دارای سلول T به میزان متوسط. الگوی غنی از سلول های T به وسیله نشانه های ژنی از سلول های T فراوان، سلول های T تنظیمی، سلول های سرکوبگر استخراج شده از مغز استخوان، مولکولهای بازرسی و مولکولهای مهار کننده ایمنی در تومور مشخص شده است، که بیانگر وجود ایمنی ضد توموری است که توسط ریزمحیط سرکوبگر سیستم ایمنی تعدیل شده است.

فنونتیپ دارای سلول های T کم، منعکس کننده فقدان ایمنی ضد تومور، فعال سازی سلول های دندریتیکی ناکافی و بیان ناکافی آنتی ژن در تومور، میباشد. ایمونوگرافی ها برای هر دوی بیماران مبتلا به آدنوکارسینوما و بیماران مبتلا به تومورهای نوروآدنوکارسینوما شامل هر دو فنونتیپ غنی از سلولهای T و دارای سلولهای T کم می شود، که نشان می دهد که نوع بافت شناسی لزوما منعکس کننده وضعیت ایمنی سرطان تومور نیست.

نتیجه گیری: چشم انداز خاص بیمار ریزمحیط تومور را می توان با استفاده از ایمونوگرافیها به عنوان نشانگرهای یکپارچه، ارزیابی کرد، که به این ترتیب به عنوان یک منبع ارزشمند برای ایمونوتراپی شخصی بهینه سازی شده شناخته می شود.

کلمات کلیدی

- سرطان ریه
- چرخه ایمنی سرطان
- آنتی ژن نوظهور
- ترانسکریپتوم (رونوشتگان)
- ایمونوگرافی

هنوز به عنوان یک چالش برای پزشکان است، به طوری که ممکن است گفته شود که نیاز ضروری برای توسعه «مترجم» برای تبدیل اشکال سخت کاربرد داده های اومیکس به اطلاعاتی که به راحتی قابل فهم باشند، برای استفاده بالینی وجود دارد.

به تازگی، Blank و همکارانش پیشنهاد مفهوم ایمونوگرام سرطانی را جهت به تصویر کشیدن وضعیت عمومی و محلی ایمنی سرطان در هر بیمار، ارائه دادند. (۲۰) در دیدگاه های آنها در مقاله، این مفهوم به صورت تئوری برای بیماران مورد استفاده قرار گرفت اما در عمل آزمایش نشد. برای رسیدن به این هدف، در اینجا یک ایمونوگرافی را که منعکس کننده CIC است، ایجاد و آن را به بیماران واقعی مبتلا به سرطان ریه اعمال کرده ایم. ما در مورد کاربرد بالقوه آن برای ایجاد و طراحی یک ایمونوتراپی موثر و شخصی سرطان برای هر بیمار صحبت می کنیم.

مواد و روش ها

انتخاب بیمار و خصوصیات

بیشتر بیماران مبتلا به NSCLC که تحت عمل جراحی ریه قرار گرفتند، پس از اینکه رضایت آگاهانه کتبی به دست آمد، در این مطالعه قرار گرفتند. دوازده بیمار مبتلا به آدنوکارسینوم (AD) بودند، هفت نفر کارسینوم سلول سنگفرشی (SQ) داشتند و یک نفر کارسینومای عصبی-غده ای، سلول بزرگ (LCNEC) داشت (جدول ۱). هیچ یک از بیماران هیچ درمانی قبل از عمل دریافت نکرده بودند.

در میان ۱۲ بیمار مبتلا به AD، هفت جهش EGFR یافت شد. هیچ نوآرایی ژن گیرنده تیروئین کیناز لنفوم آناپلاستیک (واپس واره) (ALK) شناسایی نشد. این مطالعه با تایید کمیته اخلاق تحقیقات آنالیز ژن و ژنوم انسانی دانشکده پزشکی و آموزشگاه تحصیلات عالی پزشکی دانشگاه توکیو و دانشگاه بیمارستان توکیو (G۳۵۴۵) انجام شد.

استفاده از توالی یابی کلی اگزوم و توالی یابی RNA

توالی یابی مجموعه های DNA و RNA از نمونه های بافت طبیعی و تومور همانطور که توصیف شد، در داده های تکمیلی ۱ (روش تکمیلی ۱) شرح داده شد و مجموعه های توالی یابی غنی شده با توالی بسیار موازی در توالی سنجی HiSeq ۱۵۰۰، (ایلومینا، سان دیگو، CA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. داده های توالی یابی مورد پردازش قرار گرفته و برای فراخوانی جهش های خاموش سوماتیکی و تجزیه و تحلیل بیان آن مورد استفاده قرار گرفتند. مقادیر بیان به صورت قطعه در هر کیلوباز رونویسی در هر میلیون قطعه نقشه برداری شده (FPKM) محاسبه شد.

پیشرفت درمان انسداد نقطه بازبینی ایمنی با بدست آوردن پاسخ های قوی و بادوام در مقابل بدخیمی های مقاوم از جمله سرطانهای ریه، مسیرهای جدیدی را برای درمان سرطان باز کرده است. با این حال، میزان پاسخ هنوز هم رضایت بخش نیست، زیرا پاسخ های بالینی معمولاً فقط در برخی از بیماران به دست آمده است. گزارش شده است که بیان مرگ برنامه ریزی شده در تومور یا بار آنتی ژن نوظهور آن با پاسخ به درمان انسداد و پیش آگهی تا حدودی ارتباط دارد، اما این اطلاعات برای تشخیص بین بیمارانی که به درمان پاسخ خواهند داد و کسانی که باید درمان های جایگزین ارائه دهند، کافی نیست. بنابراین بیومارکرهای کارآمد و قابل اطمینان ضرورتاً مورد نیاز هستند.

ارزیابی پاسخ های ایمنی ضد تومور در هر بیمار به عنوان یک فرآیند فضایی زمانی سخت پویا مشاهده شده است، که توسط چن و ملمان به عنوان چرخه ایمنی سرطان (CIC) پیشنهاد شده است و شامل هفت مرحله است: (۱) آزاد شدن آنتی ژن های سرطانی، (۲) ارائه آنتی ژنهای سرطانی، (۳) برخورد اولیه آنتی ژن با سلولها و فعال سازی، (۴) رفت و آمد سلول های T به تومورها، (۵) نفوذ سلول های T به تومورها، (۶) تشخیص سلول های سرطانی توسط سلول های T و (۷) کشتن سلول های سرطانی. (۹) برای ایجاد روش های کارآمد و قابل اعتماد برای ارزیابی پاسخ های ایمنی ضد تومور، چندین استراتژی شامل فلوسایتومتری، ایمونوهیستوشیمی یا بافت شیمی ایمنی (IHC) و تحلیل ترانسکریپتوم با استفاده از ریزآرایه ها یا توالی یابی نسل جدید، می توان استفاده کرد. یک مثال از استفاده IHC، ایمونوسکور می باشد. (۱۲-۱۰) در مورد سرطان کلورکتال، یک ایمونوسکور مبتنی بر ارزیابی لنفوسیت های نفوذیافته به تومور با پیش آگهی بهتر نسبت به تکنولوژی TNM فعلی، ارتباط دارد. (۱۲-۱۰) داده های ژنومی در مقیاس بزرگ برای تومورهای مختلف در حال حاضر برای تجزیه و تحلیل گسترده از چشم انداز ژنتیکی تومورها در دسترس است. (۱۹-۱۳) سلول های ایمنی پیشینما و ژن ها توسط بررسی گسترده ای از مطالعات پروفایل ژنی و تجزیه و تحلیل محاسباتی مجموعه داده های ژنومی در مقیاس بزرگ، گزارش شده اند. (۱۹-۱۳) گزارش شده است که افزایش بیان ژن های مرتبط با فعالیت سیتوتوکسیک (سمیت سلولی) در محیط میکروسکوپی تومور محلی نیز با بیان افزایش یافته آنهایی که مرتبط با سرکوب ایمنی هستند، ارتباط دارد. (۱۸-۱۷) تجزیه و تحلیل جامع از مسیرهای عملکردی مختلف و شبکه های مولکولی کمک می کند تا مکانیسم های یکپارچه از تعاملات ایمنی تومور را کشف کنند. این پیشرفت ها در روش های تحلیلی پیچیده اکنون امکان تولید داده های «امیک ها» را برای هر یک از بیماران ایجاد میکند. در عمل، سروکار داشتن با داده های امیک ها

شناسایی بیان آنتی ژنهای نوظهور کاندید و آنتی ژن رگه زایشی سرطان

آنتی ژن های نوظهور کاندید همانطور که قبلا شرح داده شد، شناسایی شده است. (۲۱) به طور خلاصه، آل-های کلاس I آنتی ژن چهار عددی لوکوسیت انسانی (HLA) در هریک از بیماران از طریق داده های توالی یابی کلی اگزوم بافت طبیعی ریه و سلول های خونی تک هسته ای محیطی با استفاده از تایپینگ (آزمایش برای نوع گروه خونی) Omixon Target HLA (اومیکسون، کمبریج، MA) شناسایی شدند. (۲۲) ابزار منابع تجزیه و تحلیل پایگاه داده اپیتوپ ایمنی NetMHCpan (نسخه

2.8) برای پیش بینی وابستگی های اتصال پپتیدهای جهش یافته 8-mer به 11-mer به آللهای مجموعه سازگاری بافتی اصلی بیماران، کلاس I، یک ژن (HLA-A)؛ مجموعه سازگاری بافتی اصلی، کلاس I، ژن (HLA-B)؛ و مجموعه سازگاری بافتی اصلی، کلاس I، ژن (HLA-C)، استفاده میشود. (۲۳-۲۴) پپتیدهای مشتق شده از جهش های سوماتیکی با غلظت پیش بینی شده که ۵۰٪ مقادیر کمتر از ۵۰۰ نانومتر را مهار می کند، به عنوان آنتی ژنهای نوظهور نامزد شده در نظر گرفته می شود.

Table 1. Patients' Characteristics

بیمار	سن	جنس	میزان مصرف سیگار	نوع بافت شناختی	جهش EFGR	p-Stage
LK001	78	M	116	AD	None	T1bN1M0-IIA
LK004	80	F	0	AD	exon19del	T2aN2M0-IIIA
LK005	76	M	114	LCNEC	None	T2bN1M0-IIB
LK010	71	F	0	AD	E709G, L858R	T1bN2M0-IIIA
LK012	66	M	46	SQ	None	T3N0M0-IIB
LK013	34	F	0	AD	exon19del	T1bN0M0-IA
LK029	78	M	60	SQ	None	T1bN0M0-IA
LK044	73	F	0	AD	exon19del	T2aN0M0-IB
LK047	41	M	21	AD	L858R	T1bN2M0-IIIA
LK049	65	M	111	AD	None	T2aN1M0-IIA
LK051	70	M	112	AD	E709V, L858R	T2aN2M0-IIIA
LK053	59	F	0	AD	None	T2bN2M0-IIIA
LK056	81	M	56	AD	None	T2bNxM1-IV
LK059	75	M	28	AD	None	T2bN0M0-IIA
LK060	65	M	62	SQ	None	T2aN1M0-IIA
LK066	81	M	80	SQ	None	T2bN0M0-IIA
LK070	67	M	71	SQ	None	T3N0M0-IIB
LK071	79	F	10	SQ	None	T1aN2M0-IIIA
LK073	67	M	40	AD	Q701L, L858R	T2aN0M0-IB
LK075	81	M	70	SQ	None	T1aN0M0-IA

شدند؛ تعدادی از این ها در هر بیمار شمارش شده است.

تجزیه و تحلیل بیان ژن با داده های RNA-Seq

تجزیه و تحلیل غنی سازی مجموعه ژنی (GSEA) برای برآورد اینکه آیا سلول های ایمنی در محیط میکروسکوپی تومور بیش از حد نشان داده شده است، مورد استفاده قرار گرفته است. (۲۷،۲۶) به طور خلاصه، سطح بیان هر ژن (مقادیر FPKM) در تمام نمونه ها به عنوان نمره z امتیاز گذاری شد (۲۰) نمونه تومور و ۶ نمونه بافت معمولی ریه). برای هر تومور، تمام ژن ها به ترتیب نزولی براساس نمرات z رتبه بندی شدند. روش GSEA از پیش رتبه بندی شده، با پارامترهای پیش فرض مورد استفاده قرار گرفت و ارتباط با هر مجموعه ژن سلول ایمنی با یک نمره غنی سازی نرمال (NES) نشان داده شد. فهرست متاژن های ایمنی تهیه شده توسط آنجلا و همکارانش مورد استفاده قرار گرفت. (۲۷) برای استفاده از سلولهای دندرنیتیک فعال (DCs)، یک مجموعه ژنی توسط نیومن و همکارانش (LM22) استفاده شد. (۲۸)

مرحله P، مرحله پاتولوژیک؛ M، مرد AD، آدنوکارسینوم؛ F، زن؛ LCNEC، کارسینوم عصبی-غده ای سلولی بزرگ؛ SQ، کارسینوم سلول سنگفرشی.

در این مطالعه همچنین از داده های بیان (FPKM > 1) توالی یابی آر ان آ (RNA-Seq) برای فیلتر کردن آنتی ژن های نوظهور که بیان تومور را همراهی میکنند، استفاده کردیم.

یک لیست از آنتی ژن های رگه زایشی سرطان (CG) شامل ۲۷۶ ژن از ایمنی سرطان پایگاه ژنی سرطان / بیضه (<http://www.cta.lncc.br>) در ماه مه ۲۰۱۶ به دست آمد. (۲۵) مجموع ۱۰۳ ژن دارای ارزش صفر FPKM در داده های توالی یابی RNA از تمام شش نمونه های معمولی بافت ریه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته است. آنتی ژن های CG با مقدار FPKM بیشتر از ۱ برای ظرفیت آنها برای اتصال به مولکول های HLA با استفاده از ابزار NetMHCpan مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. آنتی ژن های CG که پپتیدهایی را با غلظت پیش بینی شده که ۵۰٪ ارزش کمتر از ۵۰۰ نانومتر را مهار می کند، تولید میکنند، بعنوان آنتی ژن های ایمن زای CG (مخفف: imCG) در نظر گرفته

مجموعه ژن های ثبت شده در داده های تکمیلی ۲ (جدول تکمیلی ۱) فهرست شده است. هنگامی که میزان کشف کاذب (مقدار q) ۱۰٪ یا کمتر بود، یک نوع سلولی ایمنی در تومور به طور قابل توجهی غنی شده یا بسیار کمتر در نظر گرفته شد. هنگامی که یک ژن معتبر مناسب برای GSEA در دسترس نبود، یک پانل از ژن های مربوط به ایمنی منعکس کننده هر مرحله از CIC ایجاد شد. پروفایل های داده های بیان RNA-Seq برای هر ژن (FPKM) با استفاده از میانگین بیان شش نمونه طبیعی به عنوان کنترل، به تغییرات ضریب لگاریتمی ۲ تغییر یافتند.

IHC

تجزیه و تحلیل IHC بر روی بخشهای بافتی حاوی پارافین که با فرمالین تثبیت شده، برای ارزیابی نفوذ سلولهای T و سلول های تنظیمی T (سلول های Treg) با استفاده از آنتی بادی چند کلونی ضد انسانی خرگوش CD3 (داکو، کارپینتریا، CA)، آنتی بادی های تک کلونی ضد انسانی موش CD8 (کلون C8 / شکل موش جعبه P3 (به اختصار: FOXP3) (کلون E7 / 236A [Dako 144B] و آنتی بادی تک کلونی ضد انسانی با سرچنگالی [AbCam، کمبریج، بریتانیا]). اسلایدها با هماتوکسیلین ضد عفونی شدند.

تصاویر با یک میکروسکوپ فلورسانس BIORIVO-9000 (کینس، اوساکا، ژاپن) گرفته شد منطقه مورد نظر رنگ آمیزی به صورت دیجیتالی با نرم افزار تجزیه و تحلیل تصویر آنالیز کننده BZ-II (کینس) محاسبه شد.

تحلیل آماری

برای مقایسه NES های به دست آمده توسط مناطق GSEA و IHC رنگ آمیزی شده، از آزمون همبستگی اسپیرمن استفاده شد. بار آنتی ژن های نوظهور و بار آنتی ژن imCG توسط آزمون های دو دامنه ای χ^2 و t Welch بر روی لگاریتم (داده های تبدیل شده برای تطبیق عدم تقارن داده ها و مقادیر صفر) مورد بررسی قرار گرفتند. مقادیر p کمتر از 0/05 به لحاظ آماری معنی دار در نظر گرفته شدند. تمام تحلیل های آماری با نرم افزار 3.3.0 R انجام شد. (مؤسسه محاسبات آماری، وین، اتریش [http://www.r-project.org])

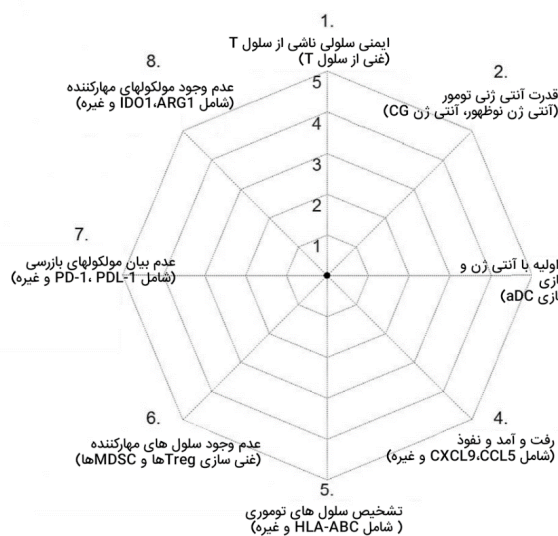
نتایج

یک ایمونوگرام برای CIC

برای ارزیابی روند پویای ایمنی ضد تومور در یک بیمار و تهیه استراتژی هایی برای دستکاری ایمنی ضد تومور برای درمان سرطان، ما یک ایمونوگرام برای CIC ارائه دادیم. در شکل ۱، هفت مرحله از CIC توسط هشت محور نمره ایمونوگرافی (IGS) به شرح زیر شرح داده شده است: IGS1، وجود ایمنی ناشی از

سلول T در تومور؛ IGS2، قدرت آنتی ژنی تومور؛ IGS3، برخورد اولیه آنتی ژن با سلولها و فعال سازی؛ IGS4، رفت و آمد و نفوذ؛ IGS5، شناسایی آنتی ژنهای تومور؛ و IGS6 تا IGS8، عوامل سرکوب کننده که موجب جلوگیری از کشتن سلول های سرطانی میشوند. از آنجایی که CIC فرایند پویا برای پیشرفت ایمنی آنتی تومور ناشی از سلولهای T را نشان میدهد، ارزیابی ایمنی ناشی از سلولهای T به عنوان اولین محور ایمونوگرام برای چرخه ایمنی سرطان تعیین می شود.

ایمونوگرام برای چرخه ایمنی سرطان



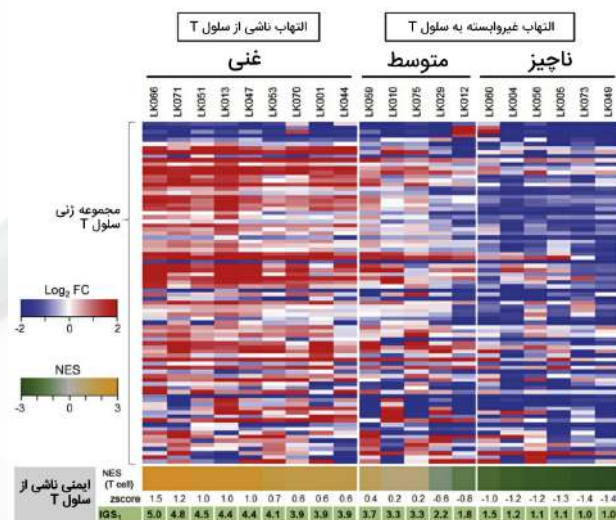
شکل ۱. ایمونوگرام برای چرخه ایمنی سرطان.

وضعیت ایمنی شناسی یک بیمار از لحاظ چرخه ایمنی سرطان می تواند توسط هشت محور نمرات ایمونوگرام (IGS) نشان داده شود: IGS1، وجود ایمنی ناشی سلول T در تومور؛ IGS2، قدرت آنتی ژنی تومور؛ IGS3، برخورد اولیه آنتی ژن با سلولها و فعال سازی؛ IGS4، رفت و آمد و نفوذ؛ IGS5، شناسایی آنتی ژنهای تومور؛ و IGS6 تا IGS8، عوامل سرکوب کننده که موجب جلوگیری از کشتن سلول های سرطانی میشوند. IDO1، ایندولئامین ۲،۳-دی اکسیژناز ۱، ARG1، آرژیناز ۱، CG، رگه زایشی سرطان؛ PD-1، مرگ سلولی برنامه ریزی شده ۱؛ PD-L1، لیگاند مرگ برنامه ریزی شده ۱؛ adC، سلول دندریتیک فعال شده؛ Treg، سلول T تنظیم کننده؛ MDSC، سلولهای سرکوبگر مشتق از میلوئید؛ HLA، آنتی ژن لوکوسیتی انسان؛ CXCL9، لیگاند کموکاینی دارای واحدهای C-X-C شماره ۹؛ CCL5، لیگاند کموکاینی دارای واحدهای C-C شماره ۵.

IGS1: ایمنی ضد تومور ناشی از سلولهای T

ابتدا ما حضور سلول های T را در تومور توسط GSEA مورد بررسی قرار دادیم (شکل ۲). (۲۶) NES هشتاد و شش ژن (۲۷) شامل نشانه های سلول T توسط GSEA در ۲۰ بیمار محاسبه

میانگین بار آنتی ژن های نوظهور در تومور التهابی با واسطه سلول T، بیست و سه (در محدوده ۳ الی ۱۸۳) و در تومور التهابی غیر وابسته به سلول T، هفتاد و یک (در محدوده ۳۱ الی ۳۰۲) بود ($p = 0.053$ ، $1/4$ ، آزمون Welch's t بر روی داده های تبدیل شده به لگاریتم). متوسط بار آنتی ژن imCG در تومورهای التهابی ناشی از سلول T، یک (محدوده ۰ الی ۱۱) و در تومورهای التهابی غیر وابسته به سلول T، چهار (محدوده ۱ الی ۲۹) بود ($p = 0.14$ ، $1/4$). تعدادی از آنتی ژن های نوظهور و imCG به منظور تعیین تعداد آنتی ژن های سرطانی احتمالی جمع شدند تا پس از اینکه نمره Z محاسبه شد، بر روی محور دوم ایمنوگرام (IGS2) ترسیم شوند و آن با همان فرمول مشابه برای محور اول، به فرم IGS تبدیل شد (به شکل 3A مراجعه کنید).



شکل ۲: تجزیه و تحلیل غنی سازی سلول T برای محور اول نمره ایمنوگرام (IGS1). قطعه در هر کیلوباز از رونوشت در هر یک میلیون قطعه نقشه برداری شده (FPKM) از توالی یابی RNA سرطان های ریه با مقادیر متوسط FPKM از ژن مربوطه در شش نمونه بافت ریه نرمال مقایسه شد و به عنوان تغییرات واحدی نمایش داده شد. یک نقشه حرارتی برای لگاریتم دوم FC از ۸۶ ژن نشاندار سلول T نشان داده شده است. به طور جداگانه، نمره غنی سازی تعدیل شده (NES) ۸۶ ژن نشاندار سلول T با استفاده از آنالیز غنی سازی مجموعه ژن محاسبه شد. (۲۶، ۲۷) ابتدا سطوح بیان هر ژن (FPKM) به دست آمده از توالی یابی RNA در تمام نمونه ها به صورت نمره Z معادل سازی شده است (۲۰ نمونه تومور و شش نمونه معمولی بافت ریه طبیعی)؛ برای هر تومور، تمام ژن ها به ترتیب نزولی بر اساس نمرات Z رتبه بندی شدند و یک NES از نشانه های سلول T برای هر بیمار محاسبه شد. همچنین، NES در بین ۲۰ بیمار به صورت نمره Z معادل سازی شد و IGS1 با فرمول (IGS1 $1/4$ $p = 1.5$) محاسبه شد، که همان نمره Z NES است. ۹ بیمار دارای فنوتیپ التهابی ناشی از سلول T (غنی از سلول T) با

شد. نمونه هایی از نمودارهای غنی سازی برای بیمار LK071 که توسط GSEA به دست آمده است، در داده های تکمیلی ۳ (شکل ۱ تکمیلی) نشان داده شده است. در مجموع، ۹ بیمار دارای فنوتیپ سلولی با التهاب به واسطه سلول T (غنی از سلول T) با غنی سازی قابل توجهی از سلول های T بودند (مقدار $q < 0.1$) (به شکل ۲ مراجعه کنید). نتایج دقیق تجزیه و تحلیل غنی سازی لنفوسیت های نفوذی به تومور با GSEA در داده های اضافی ۴ (جدول تکمیلی ۲) نشان داده شده است. از ۱۱ مورد باقی مانده که به عنوان فنوتیپ التهابی غیر وابسته به سلول T طبقه بندی شده بودند، شش مورد به طور قابل توجهی نفوذ ضعیف سلول T را نشان داد ($q > 0.1$) و ۵ نفر دیگر به عنوان یک فنوتیپ متوسط شناخته شدند. NES به عنوان شاخصی برای حضور سلول T ضد سرطان در تومور با استفاده از آنالیز IHC تایید شد. بخش های تومور برای سلول های $CD3+$ و $CD8+$ رنگ آمیزی شد و زمینه های مثبت رنگ آمیزی (میلیمتر مربع / میلیمتر مربع) به صورت دیجیتالی اندازه گیری شدند. NES سلولهای T به طور معنی داری با منطقه $CD3$ مثبت ($r = 0.83$ ، $1/4$ اسپیرمن، $p < 0.0001$) و با منطقه $CD8$ مثبت (اسپیرمن، $r = 0.80$ ، $1/4$ ، $p < 0.0001$) همبسته بود. تمام این داده ها در داده های تکمیلی ۵ (جدول تکمیلی ۳) نشان داده شده است.

رنگ آمیزی IHC بیماران داوطلب با نفوذ سلول T غنی شده یا ناچیز در داده های تکمیلی ۶ (شکل تکمیلی ۲) نشان داده شده است.

برای ترسیم ایمنوگرام، NES سلولهای T در هر بیمار به نمره Z تبدیل شد و سپس به IGS تبدیل شد. اگر M نشان دهنده میانگین NES و SD نشان دهنده انحراف استاندارد NES باشد، نمره هر بیمار به صورت $(NES - M) / SD$ محاسبه می شود، که Z همان نمره Z است. سپس نمره اول محور ایمنوگرام (IGS1) را در هر بیمار به عنوان $(IGS1 \ 1/4 \ 3 \ p = 1.5)$ تعریف کردیم. این فرمول برای تمام محورهای ایمنوگرام بیمار استفاده شد. محدودیت های پایین تر و بالاتر از IGS در ۱ و ۵ تنظیم شده اند. بر اساس تعریف، $(IGS \ 1/4 \ 3)$ نشان دهنده NES معادل با میانگین NES است، و $(IGS \ 1/4 \ 4.5)$ یا $(IGS \ 1/4 \ 1.5)$ نشان دهنده NES معادل با میانگین به علاوه (1SD) یا میانگین منهای (1SD) می باشد. IGS به این صورت تعریف شده است که بیماران به خوبی در محدوده ۱ تا ۵ توزیع شوند. محاسبه IGS برای بیمار LK071 به عنوان مثال در داده های تکمیلی ۷ (روش تکمیلی ۲) نشان داده شده است.

IGS2: قدرت آنتی ژنی تومور

قدرت آنتی ژنی تومور به وسیله تعداد آنتی ژن های نوظهور کاندید و آنتی ژن های imCG مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۳A). تعداد آنتیژنهای نوظهور کاندید و آنتی ژنهای imCG در داده های تکمیلی ۸ (جدول تکمیلی ۴) نشان داده شده است.

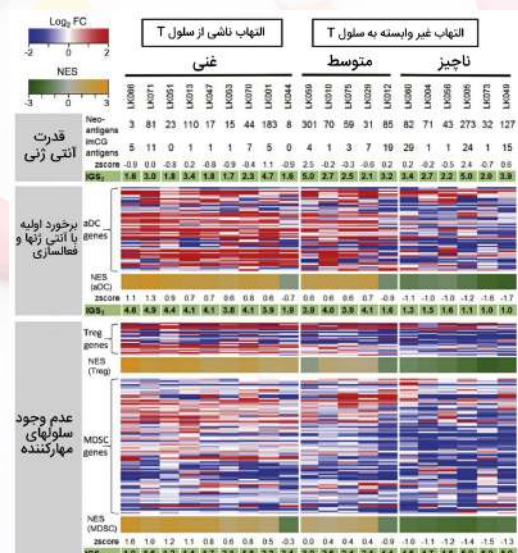
غنی سازی قابل توجهی از سلول های T بودند (مقدار $Q < 0.1$). از ۱۱ نفر باقی مانده، که به عنوان داشتن فنوتیپ التهاب غیر وابسته به سلول T طبقه بندی شده بودند، شش مورد به طور قابل توجهی نفوذ ناچیز سلول T را نشان دادند ($Q < 0.1$) و بقیه به عنوان داشتن فنوتیپ متوسط طبقه بندی شدند.

IGS3: برخورد اولیه آنتی ژن با سلولها و فعال سازی

ارائه آنتی ژن و برخورد اولیه آنتی ژن با سلول T، با استفاده از تجزیه و تحلیل نشانه های ژنی برای DC (سلولهای دندریتیک) های فعال شده مورد ارزیابی قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل غنی سازی DC های فعال شده با استفاده از ۵۳ ژن انجام شد و NES تعیین شد (شکل ۳B). نتایج دقیق تجزیه و تحلیل غنی سازی DC فعال شده با GSEA در داده های تکمیلی ۴ (جدول تکمیلی ۲) نشان داده شده است. DC فعال شده در ۱۱ بیمار ($Q > 0.1$) به طور قابل توجهی غنی سازی شده بود که تومور های همه آنها از فنوتیپ غنی از سلول T (LK001، و LK070، LK066، LK053، LK051، LK047، LK013، و LK071) و یا فنوتیپ حد متوسط (LK059، LK029، و LK075) بودند. محور سوم (IGS3) به همان شیوه محور اول محاسبه شد.

IGS4: رفت و آمد و نفوذ سلول های T به درون تومورها

از آنجا که هیچ مجموعه ژنی تثبیت شده مناسبی برای GSEA برای رفت آمد و نفوذ سلول T وجود ندارد، واریانس بیان برای هریک از ژن هایی که به نظر می رسد به طور مثبت با رفت و آمد و نفوذ سلول T ارتباط دارند، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.



شکل ۳: ارزیابی قدرت آنتی ژنی تومور برای محور دوم نمره ایمنوگرام (IGS2)، برخورد اولیه آنتی ژن با سلولها و فعال سازی برای IGS3 و سلول های مهار کننده برای IGS6. مرحله (A): قدرت آنتی ژنی تومور به وسیله تعداد کل آنتی ژن های

سرطانی احتمالی (یعنی مجموع آنتی ژنهای نوظهور کاندید و آنتی ژن های ایمنی زای رگه زایشی سرطان [imCG]). نمرات z تعدادی از آنتی ژن های سرطانی محاسبه شده و سپس به IGS2 تبدیل شدند. مرحله (B): علاوه بر نقشه حرارتی که نشان دهنده سطح بیان ژن به عنوان تغییرات واحدی (FC) در مقایسه با بافت های طبیعی است، برخورد اولیه آنتی ژن با سلولها و فعال سازی سلول های T با استفاده از تجزیه و تحلیل غنی سازی مجموعه ژنی (GSEA) سلول های دندریتیک فعال شده (aDC) مورد ارزیابی قرار گرفت. نمرات معادل سازی شده غنی سازی (NESs) برای نشانه های aDC (۵۳ ژن) توسط GSEA محاسبه شد. نمرات z از NES محاسبه و تبدیل به IGS3 شد. مرحله (C): نفوذ سلول های تنظیمی T (سلول های Treg) و سلولهای سرکوبگر مشتق از میلوئید (MDSCs) به درون تومور با استفاده از GSEA از IGS3 (۲۶ ژن) و MDSCها (۸۳ ژن) مورد بررسی قرار گرفتند. (۲۶، ۲۷) نمرات z از مجموع NES در هر بیمار محاسبه و سپس به IGS6 تبدیل شد. نقشه های حرارتی از Treg و نشانه های MDSC نیز نشان داده شده است.

بر اساس گزارش قبلی، ژن لیگاند کموکینی دارای واحدهای C-X-C شماره ۹ (CXCL9)، ژن لیگاند کموکینی دارای واحدهای C-X-C شماره ۱۰ (CXCL10)، ژن لیگاند کموکینی دارای واحدهای C-C شماره ۵ (CCL5)، ژن لیگاند کموکینی دارای واحدهای C-X3-C شماره ۱ (CX3CL1)، ژن آنتی ژن مرتبط با عملکرد لنفوسیت شماره ۱ (LFA1)، ژن مولکول چسبندگی بین سلولی (ICAM1) و ژن سلکتین (SELE) به عنوان اطلاعاتی برای رفت و آمد و نفوذ به سلول انتخاب شدند (شکل 4A). تمام داده های بیان در داده های تکمیلی ۴ (جدول تکمیلی ۲) نشان داده شده است.

تعدادی از ژن هایی که بیان آنها با فرمول ($\log_2 FC > 1$) تنظیم شده، پس از آن که IGS4 محاسبه شد، شمارش شده و به نمره تبدیل شدند.

IGS5: تشخیص سلول های سرطانی توسط سلول های T

تشخیص سلول های سرطانی توسط سلول های T نیاز به آن دارد که دستگاه های پردازش و ارائه آنتی ژن سلول های سرطانی صحیح و سالم باشند. بنابراین، برای ارزیابی محور پنجم ایمنوگرام (IGS5)، یک نشانگان ژنی برای دستگاه پردازش و ارائه آنتی ژن مورد استفاده قرار گرفت.

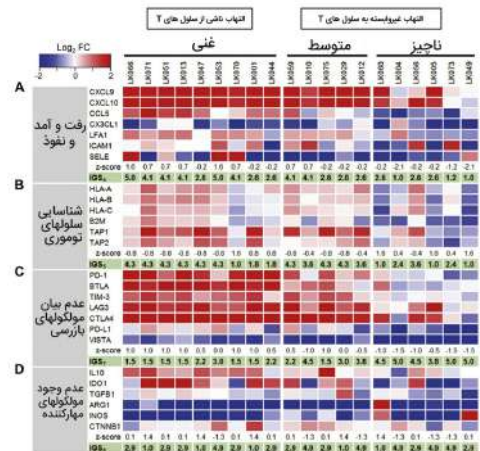
با لنفوسیت T شماره ۴؛ PD-L1، ژن لیگاند مرگ برنامه ریزی شده ۱؛ VISTA، ژن گیرنده تنظیم ایمنی مجموعه ۷؛ IL10، ژن اینترلوکین ۱۰؛ IDO1، ژن ایندولامین ۲، ۳-دی اکسیداز ۱؛ TGFB1، ژن تبدیل شونده فاکتور رشد b1؛ ARG1، ژن آرژیناز ۱؛ INOS، ژن اینوزیتول-۳-فسفات سنتتاز ۱؛ CTNNB1، ژن کاتنین بتا شماره ۱.

مجموعه ژنی شامل HLA-A، HLA-B، HLA-C، ژن بتا-۲-میکروگلوبولین (B2M)، انتقال دهنده شماره ۱، A ژن کاستی متصل شونده به ATP عضو خانواده فرعی B (به اختصار: TAP1)، و انتقال دهنده شماره ۲، ژن کاستی متصل شونده به ATP عضو خانواده فرعی B (به اختصار: TAP2) میباشد (شکل 4B). این ژن ها به طور کلی در سلول های طبیعی بیان می شود؛ با این حال، برخی از آن ها بیان نمی شوند یا تنظیم کاهشی برای بیان دارند (به مقدار کم بیان می شوند) که موجب نامرئی شدن آنها نسبت به سلولهای T میشوند (سلولهای T نمیتوانند آنها را ببینند). بنابراین، تعدادی از ژن هایی با تنظیم کاهشی با (log2FC) کمتر از ۰، شمارش شده و به یک نمره Z تبدیل شدند. IGS به عنوان IGS5 سه الی 1.5 Z، که همان نمره Z میباشد، محاسبه شد. توجه داشته باشید که یک IGS5 بالا نشان می دهد که تعداد ژن های با تنظیم کاهشی، کم است و ماشین آلات پردازش و ارائه آنتی ژن سالم است.

IGS6 تا IGS8: کشتن سلول های سرطانی

عملکرد موثر سلول های T و کشتن سلول های سرطانی، تحت تأثیر تعامل پیچیده سلول های مهارکننده و مولکول ها میباشد. ما این پروسه را به سه محور برای ایمونوگرام تقسیم کردیم: IGS6 برای عدم وجود سلولهای مهارکننده، IGS7 برای عدم وجود بیان مولکول بازرسی و IGS8 برای عدم وجود سایر مولکول های مهارکننده.

همانطور که در شکل 3C نشان داده شده است، نفوذ سلول های ایمنی مهارکننده مانند سلول های سرکوبگر مشتق از میلوئید (MDSCs) و Treg ها، با استفاده از GSEA مورد ارزیابی قرار گرفت. نشانگان های ژنی شامل ۲۶ ژن و ۸۳ ژن برای محاسبه NES به ترتیب برای Treg ها و MDSC ها میباشد. نتایج دقیق حاصل از تجزیه و تحلیل غنی سازی MDSC ها و Treg ها در داده های تکمیلی ۴ (جدول تکمیلی ۲) نشان داده شده است. NES برای Treg ها با رنگ آمیزی IHC تایید شد، که نشان دهنده این بود که با رنگ آمیزی FOXP3 (اسپیرومن ۱/۴ 0.75، p ۱/۴ 0.0002) همبستگی خوبی دارد. نمونه هایی از رنگ آمیزی IHC برای FOXP3 در داده های تکمیلی ۶ (شکل تکمیلی ۲) نشان داده شده است و تمام داده ها در داده های تکمیلی ۵ (جدول تکمیلی ۳) نشان داده شده است. مجموع NES برای Treg ها و MDS محاسبه شد و سپس به نمره Z تبدیل شد. غنی سازی این سلول ها نشان دهنده یک



شکل ۴: ارزیابی رفت و آمد و نفوذ سلول T برای محور چهارم نمره ایمونوگرام (IGS4)، شناخت سلول های توموری برای IGS5، بیان بازرسی ایمنی برای IGS7 و سایر مولکول های مهارکننده برای IGS8. مرحله (A): پروفایل های بیان ژن های مربوط به رفت و آمد و نفوذ نشان داده شده است. قطعه ها در هر کیلوباز رونوشت در هر میلیون مقادیر قطعه های نقشه برداری شده از توالی یابی RNA با مقادیر میانگین قطعه ها در هر کیلوباز رونوشت در هر میلیون مقدار قطعه نقشه برداری شده از شش نمونه بافت طبیعی ریه مقایسه شده و به عنوان تغییر واحدی (تغییرات فولد FC) نمایش داده شده است. نمرات Z تعدادی از ژنهای تنظیم یافته افزایشی با (log2 FC > 1) محاسبه و سپس به IGS4 تبدیل شدند. مرحله (B): نمرات Z تعدادی از ژن های تنظیم یافته کاهشی (log2 FC < 0) مربوط به ماشین آلات ارائه آنتی ژن، محاسبه و سپس به IGS5 تبدیل شدند. نمرات Z از تعداد ژن های تنظیم یافته افزایشی (log2 FC > 1) مربوط به بازرسی ایمنی و سایر مولکول های مهارکننده، محاسبه شده و سپس به (IGS7 C و IGS8 D) تبدیل شد. ژن لیگاند کموکاینی دارای واحدهای C-X-C شماره ۹؛ CXCL10، ژن لیگاند کموکاینی دارای واحدهای C-X-C شماره ۱۰؛ CCL5، ژن لیگاند کموکاینی دارای واحدهای C-X-C شماره ۵؛ CXCL3، ژن لیگاند کموکاینی دارای واحدهای C-X-C شماره ۱؛ LFA1، ژن آنتی ژن مرتبط با عملکرد لنفوسیت شماره ۱؛ ICAM1، ژن مولکول چسبندگی بین سلولی؛ SELE، ژن سلکتین E؛ HLA-A، مجموعه سازگاری بافتی اصلی، کلاس I، ژن A؛ HLA-B، مجموعه سازگاری بافتی اصلی، کلاس I، ژن B؛ HLA-C، مجموعه سازگاری بافتی اصلی، کلاس I، ژن C؛ B2M، ژن بتا-۲-میکروگلوبولین؛ TAP1، انتقال دهنده شماره ۱، ژن کاستی متصل شونده به ATP عضو خانواده فرعی B؛ TAP2، انتقال دهنده شماره ۲، ژن کاستی متصل شونده به ATP عضو خانواده فرعی B؛ PD-1، ژن مرگ سلولی برنامه ریزی شده ۱؛ BTLA، ژن مرتبط با لنفوسیت B و T؛ TIM-3، ژن گیرنده سلولی ویروس هپاتیت A شماره ۲؛ LAG3، ژن فعال کننده لنفوسیت شماره ۳؛ CTLA4، ژن پروتئین سیتوتوکسیک مرتبط

ریزمحیط سرکوبگر ایمنی در تومور میباید. بنابراین، محدوده ششم ایمونوگرافی (IGS6) به عنوان $3 - 1.5 Z$ محاسبه شد که همان نمره Z میباید. کم بودن IGS6 نشان می دهد که ایمنی ضد توموری توسط نفوذ سلول های ایمنی مهار کننده، سرکوب شده است؛ عدم وجود سلول های ایمنی مهار کننده منجر به افزایش IGS6 می شود.

IGS7: عدم بیان مولکول بازرسی

مشخص شده که پاسخ های سلول های T با استفاده از آرایه های مولکول های بازرسی ایمنی در محیط میکروسکوپی تومور مهار می شوند. برای محور هفتم از ایمونوگرام (IGS7)، ما مجموعه ای از ژن ها را برای ایستگاه های بازرسی ایمنی انتخاب کردیم که شامل ژن مرگ سلولی برنامه ریزی شده (PD-1)، ژن مرتبط با لنفوسیت B و T (به اختصار: BTLA)، ژن گیرنده سلولی ویروس هپاتیت A شماره ۲ (TIM-3)، ژن فعال کننده لنفوسیت شماره ۳ (LAG3)، ژن پروتئین سیتوتوکسیک مرتبط با لنفوسیت T (به اختصار: CTLA4)، ژن لیگاند مرگ برنامه ریزی شده ۱ (PD-L1) و ژن گیرنده تنظیم کننده ایمنی مجموعه V (به اختصار: VISTA)، که بر روی سلول های T بیان می شوند، سلول های تومور یا سلول های ارائه دهنده آنتی ژن (شکل 4C) میباید. ژنهای با $\log_2 FC > 1$ برای تنظیم افزایشی در نظر گرفته شده بودند؛ آنها شمارش شده و نتیجه به نمره Z تبدیل شد. بنابراین، محور هفتم از ایمونوگرام (IGS7) به عنوان $3 - 1.5 Z$ محاسبه شد که همان نمره Z میباید. بیان بالای مولکولهای بازرسی منجر به کاهش IGS7 می شود.

IGS8: عدم وجود سایر مولکول های مهارکننده

سلول های تومور و سلول های نفوذ کننده، انواع مختلف مولکول های مهارکننده را بیان می کنند که موجب آسیب عملکرد موثر سلول های T می شود. در میان این ژن ها، ژن اینترلوکین ۱۰ (IL10)، ژن ایندولئامین ۲،۳-دی اکسیداز ۱ (IDO1)، ژن تبدیل شونده فاکتور رشد b1 (به اختصار: TGFB1)، ژن آرژیناز ۱ (ARG1)، ژن اینوزیتول-۳-فسفات سنتتاز (INOS)، ژن کاتنین بتا شماره ۱ (CTNNB1) برای IGS8 انتخاب شدند، زیرا مهار درمانی این مولکول ها ممکن است ایمنی ناشی از سلول T را افزایش دهد. پروفایل های های بیان این مولکولهای مهارکننده مورد بررسی قرار گرفت و IGS8 نیز محاسبه شد (شکل 4D).

تفسیر ایمونوگرام ها برای CIC

همانطور که قبلا توضیح داده شد، هر مرحله از CIC براساس ادغام بر روی نمودار رادار (شکل ۵، A تا C) بر روی هشت محور از ایمونوگرام (IGS1-8) تولید شده برای هر بیمار ارزیابی و

متعادل شده و نمره دهی گردید. ایمونوگرام بیماران مبتلا به فنوتیپهای غنی از سلول T، حد متوسط متوسط و یا دارای سلولهای T ناچیز، ویژگیهای جداگانه ای را برای هر IGS نشان داد (شکل 5D). در بیماران مبتلا به فنوتیپ غنی از سلول T، بالا بودن IGS1 (وجود ایمنی با واسطه سلول T احتمالی در تومور) با IGS3 بالا (فعال سازی IGS4)، (DCs بالا) (رفت و آمد و نفوذ) و IGS5 بالا

(شناسایی صحیح محتمل آنتی ژن های تومور توسط سلول های T) همراه شد، در حالی که IGS6، IGS7 و IGS8 همه کم بودند، که نشان دهنده افزایش به کار گیری Treg ها و MDSC ها و بیان تنظیمی افزایش یافته مولکول های بازرسی و مولکول های مهار کننده ایمنی در تومور میباید. در مقابل، در بیماران مبتلا به فنوتیپ ضعیف سلول T IGS1 IGS3 و IGS4 و IGS5 بسیار کم بود در حالی که IGS2 و IGS6 و IGS7 و IGS8 حفظ می شد. فعال شدن DC ها مختل شده بود، حتی اگر تومورها دارای قدرت آنتی ژنیک نسبتا بالا بودند. این تومورها چندین سلول سرکوب کننده ایمنی را به کار گرفته بودند و بیان مولکول های بازرسی ایمنی و مولکول های مهار کننده ایمنی را نداشتند. هر محور از ایمونوگرام از بیماران با فنوتیپ متوسط، عمدتا مقادیری بین دو حد فوق مذکور را نشان داد. جالب توجه است، ایمونوگرام برای بیماران مبتلا به AD ممکن است یک فنوتیپ غنی از T-cell یا فنوتیپ T-cell ضعیف را بدون توجه به وضعیت جهش EGFR نشان دهد. نتایج مشابهی در بیماران مبتلا به تومورهای آدنوکارسینومی (شکل 5E) به دست آمد. این نتایج نشان می دهد که نوع بافت شناختی لزوما منعکس کننده وضعیت ایمنی سرطان تومور نیست.

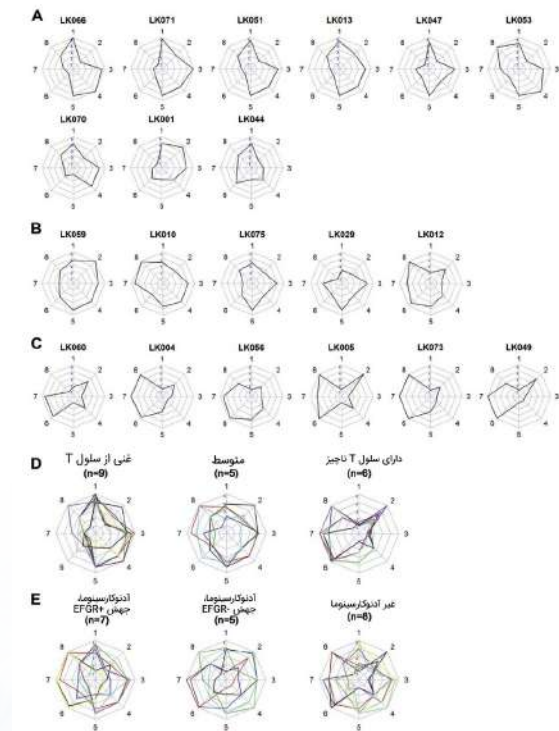
بحث

از زمان تایید آنتی بادیهای تک کلونی PD-1، نیوولوماب و پمبرولیزوماب، پاسخ های قوی و با دوامی برای درمان NSCLC مشاهده شده است، اما تنها ۲۰ تا ۳۰ درصد از بیماران به درمان پاسخ داده اند.

ضد سرطان یک فرایند پویا است که به عنوان یک CIC توصیف شده است؛ مراحل مختلف در چرخه ای که تومورها از نظارت فرار میکنند، احتمالاً از یک بیمار به بیمار دیگر متفاوت است. بنابراین، ما پیشنهاد می کنیم برای هر بیمار یک ایمونوگرام ایجاد کنیم تا CIC بیمار را بهتر درک کنیم و گام هایی را که در آن پاسخ های ضد سرطان مسدود شده است، روشن کنیم. در مطالعه حاضر، ایمونوگرام را برای CIC، با استفاده از داده های توالی یابی نسل جدید تعریف کردیم و توانستیم وضعیت پاسخ های ایمنی ضد تومور بالقوه را درون تومور به تصویر بکشیم. هنگامی که این ایمونوگرام مورد استفاده قرار می گیرد، چشم انداز ریز محیط تومور را در هر بیمار می تواند مورد ارزیابی قرار دهد و مراحل در معرض خطر CIC را می توان به راحتی نمایان کرد.

ایمونوگرام بیماران مبتلا به سرطان ریه چندین ویژگی مشترک دارد که منعکس کننده نشانگان ژنی مربوط به پاسخ سلول های (IGS1) T آنها، می باشد. در بیماران با فنوتیپ غنی از سلول T، نمرات بالا برای IGS3، IGS4 و IGS5 و نمرات پایین برای IGS6، IGS7 و IGS8 مشخص شد که نمرات معمول آنها میباشد (به شکل 5A و D مراجعه کنید). این نشان می دهد که ریز محیط تومور تحت سلطه نفوذ سلول های مهار کننده و بیان ایستگاه های بازرسی و مولکول های مهار کننده ایمنی قرار دارد که با پاسخ های ایمنی ضد تومور مقابله میکند. به عنوان مثال، ایمونوگرام بیمار LK071 با فنوتیپ غنی از سلول T نشان داد که ایمنی ناشی از سلول T بطور بالقوه در سلول های تومور وجود دارد اما توسط سلول ها و مولکول ها مهار کننده، از جمله مولکول های بازرسی، سرکوب شده است (به شکل 5A مراجعه کنید). پس از بررسی داده های ترانسکریپتومی (مربوط به رونوشت) برای این بیمار، فرض می کنیم که IDO1 در این رابطه یکی از مولکول های کلیدی است (به شکل 4D مراجعه کنید). بنابراین، برای این بیمار استراتژی هایی برای آزاد شدن پاسخ سلول های T به وسیله تخلیه سلول های سرکوب کننده ایمنی، انسداد ایستگاه های بازرسی ایمنی و یا مهار آنزیمی مولکول های سرکوب کننده ایمنی، توصیه شده است (شکل 6).

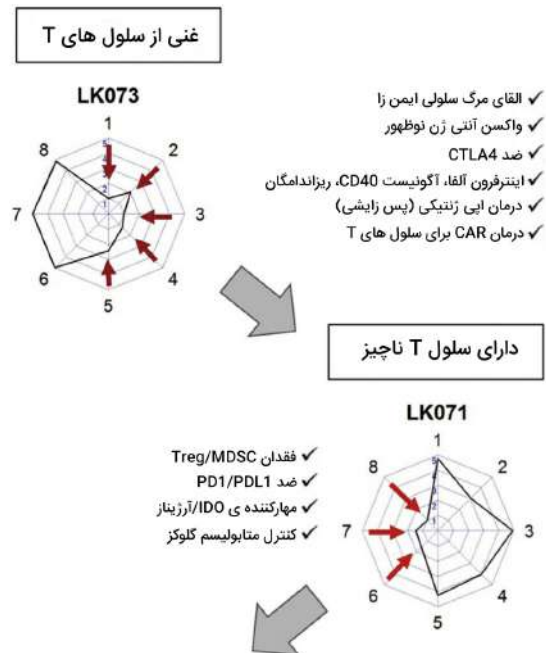
در مقابل، نمرات پایین برای IGS4، IGS3 و IGS5 و نمرات بالا برای IGS6، IGS7 و IGS8 ویژگی های رایج ایمونوگرام در بیماران مبتلا به فنوتیپ ناچیز و ضعیف از سلول T بود (به شکل 5C و D مراجعه کنید). فقدان القای ایمنی ضد تومور در این بیماران ممکن است به علت عدم فعال شدن کافی DC یا پردازش و ارائه ناکافی آنتی ژن در تومور باشد. فقدان به کارگیری سلول های سرکوب کننده ایمنی و عدم بیان ایستگاه های بازرسی ایمنی و مولکول های مهار کننده ایمنی همچنین منعکس کننده عدم القای سرکوب سیستم ایمنی با تنظیم مقابله ای در تومور است. براساس بررسی این ایمونوگرام ها، پیش بینی می شود که مسدود شدن ایستگاه بازرسی ایمنی



شکل 5. ایمونوگرام برای چرخه ایمنی سرطان برای ۲۰ بیمار مبتلا به NSCLC محور ۱ (IGS1) بیانگر وجود احتمالی ایمنی ناشی از سلول T در تومور است، محور ۲ (IGS2) نشان دهنده قدرت آنتی ژنی تومور است، محور ۳ (IGS3) نشان دهنده برخورد اولیه آنتی ژنها با سلول های T و فعال سازی آنها است، محور ۴ (IGS4) نشان دهنده رفت و آمد و نفوذ است، محور ۵ (IGS5) نشان دهنده شناسایی آنتی ژن های تومور است، محور ۶ (IGS6) نشان دهنده عدم وجود سلول های ایمنی مهار کننده است، محور ۷ (IGS7) نشان دهنده عدم وجود مولکول های بازرسی ایمنی است و محور ۸ (IGS8) نشان دهنده عدم وجود سایر مولکول های مهار کننده است. ایمونوگرام یک بیمار با فنوتیپ غنی از سلول A (T)، یک بیمار با فنوتیپ متوسط سلول های B (T) و یک بیمار با فنوتیپ ناچیز و ضعیف از سلول های C (T) ایمونوگرام های همپوشانی شده از ۹ بیمار با فنوتیپ غنی از سلول T، پنج بیمار با فنوتیپ متوسط از سلول های T و ۶ بیمار با فنوتیپ ناچیز و ضعیف از سلول E (T)، ایمونوگرام های همپوشانی شده از آدنوکارسینوما با و بدون جهش EGFR و تومورهای غیرآدنوکارسینوما. تمام داده های نمره دهی برای ساخت ایمونوگرام در شکل ۲-۴ و داده های تکمیلی ۴ (جدول تکمیلی ۲) نشان داده شده است.

اگر چه گزارش شده است که بیان PD-L1 یا تعداد آنتیژنهای نوظهور توموری با نتیجه درمان همبستگی دارد، (۴-۶) بیومارکرهای پیش بینی کننده بهتری برای انتخاب بیماران خواه به درمان پاسخ دهند یا نه، ضمانت شده است. ایمنی

برای این بیماران با فنوتیپ ناچیز از T، احتمالاً موثر نخواهد بود.



شکل ۶: ایمن سازی به سمت ایمن سازی شخصی. برای ایمونوتراپی موثر سلول T در برابر سرطان، القاء سلول های T در بیماران که تومورهایشان دارای یک فنوتیپ ضعیف از سلول T هستند (برای مثال LK073)، ضروری است. هنگامی که ایمنی ناشی از سلول T با موفقیت القا شود، ریزمحیط تومور ممکن است به فنوتیپ غنی از سلول T تبدیل شود (به عنوان مثال، LK071). اگر چنین باشد، سلول های T که مکانیسم های تنظیم کننده مقابله ای را متوقف می کنند با بیان مولکول های بازرسی و به کارگیری سلول های مهار کننده، و همچنین تولید سایر مولکول های مهار کننده، ممکن است توسعه یافته و بر سیستم نظارت ایمنی بدن غلبه کند. در طول درمان ارزیابی مجدد از وضعیت ایمنی بدن ممکن است لازم باشد و ممکن است با توجه به ایمونوگرام روزرسانی شده، ممکن است ترکیبی از چندین روش درمانی پیشنهاد شود. اعداد محور نشان دهنده موارد زیر میباشد: ۱، ایمنی ناشی از سلول T؛ ۲، قدرت آنتی ژنی تومور؛ ۳، برخورد اولیه با ژنها و فعال سازی؛ ۴، رفت و آمد و نفوذ؛ ۵، شناسایی سلول های تومور؛ ۶، عدم وجود سلول های مهار کننده؛ ۷، عدم بیان مولکول های بازرسی؛ و ۸، عدم وجود مولکول های مهار کننده. اختصارات: CTLA4، پروتئین سیتوتوکسیک مرتبط با لنفوسیت T شماره ۴؛ سلول CAR-T، سلول T گیرنده آنتی ژن کیمریک (نوترکیب)؛ Treg، سلول T تنظیم کننده؛ MDSC، سلول های سرکوبگر مشتق از میلوئید؛ PD-1، مرگ سلولی برنامه ریزی شده؛ PD-L1، لیگاند مرگ برنامه ریزی شده.

به عنوان مثال، ایمونوگرام بیمار LK073 با فنوتیپ ضعیف از

سلول T نشان داد که با وجود آنکه مقدار معینی از آنتی ژن سرطانی تشخیص داده شد، فعال سازی DC به طور قابل توجهی اختلال یافت (مراجعه کنید به شکل ۵C). برای این بیمار، مداخله برای افزایش رفت و آمد سلول های T به داخل تومورها نظیر القای مرگ سلولی ایمنی را توسط شیمی درمانی یا پرتودرمانی یا از طریق فعال سازی مستقیم DC ها با واکسن هایی با مقصد آنتی ژن نوظهور، ممکن است یک گزینه ترجیحی در درمان باشد (۲۹، ۳۰) (به شکل ۶ مراجعه کنید). دسته بندی سلسله مراتبی با استفاده از هریک از نمرات Z برای IGS (به شکل های ۲، ۳ و ۴ مراجعه کنید) همچنین دو دسته از بیماران را نشان داده است: دسته ای که حاوی تمام بیماران غنی از سلول T و دسته دیگر که شامل تمام افراد دارای مقدار ناچیز از سلول های T (داده های تکمیلی ۹ [شکل تکمیلی ۳]، نتیجه دسته بندی سلسله مراتبی با استفاده از نمرات Z برای IGS). علاوه بر این، محورهای IGS به دو دسته تقسیم شدند: دسته ای با وضعیت ایمنی شناختی سلول های T و دسته دیگر نشانگر آنتی ژن ها و ارائه آنتی ژن تومور. در مطالعه حاضر، IGS2 به طور کلی در تومور هایی با فنوتیپ غنی از سلول T کم بود، به خصوص به دلیل پایین بودن بار آنتیژن نوظهور آنها. این ممکن است تا حدی با فرایند تنظیم ایمن سازی سلول های سرطانی توضیح داده شود (با این حقیقت که زیر کلون های سلول های توموری که بیان کننده آنتی ژن های ایمنی را هستند، محتمل تر هستند تا توسط ایمنی ناشی از سلول های T در این بیماران حذف شوند). (۱۲، ۱۶) این ممکن است نشان دهد که سلول های T، تنها توسط چند آنتی ژن نوظهور موثر به کار گرفته می شوند و همچنین به این معنی است که اگر برخی از مراحل دیگر CIC در آسیب ببینند، سلول های T حتی از طریق آنتیژن های نوظهور فراوان نیز به کار گرفته نمی شوند. از این رو، تومورهای ملتهب غیر وابسته به سلول T با آنتیژنهای نوظهور فراوان ممکن است اهداف مناسب برای درمان از طریق واکسن مبتنی بر آنتی ژنهای نوظهور باشد. در مورد بیماران LK001، LK070 و LK044، بیان کاهش یافته دستگاه ارائه آنتی ژن در حضور سلول های T فراوان نفوذی به تومور مشاهده شد، که بیانگر این امر است که سلول های T ممکن است به اندازه کافی سلول های تومور را تشخیص نداده اند (مراجعه کنید به شکل 4B و 5A). مداخلات به منظور تنظیم افزایشی بیان مجموعه سازگاری بافتی اصلی، مانند درمان اپی-ژنتیک یا مداخلات فرعی، مانند درمان مربوط به سلول گیرنده آنتی ژن های کیمریک (که به ارائه آنتی ژن مجموعه سازگاری بافتی اصلی کلاس I برای شناسایی آنتی ژن ها وابسته نیست)، ممکن است در این موارد لازم باشد. (۳۱).

جالب توجه است، هنگامی که ما ایمونوگرام برای آدنوکارسینوم با یا بدون جهش EGFR و یک تومور غیر آدنوکارسینوم همپوشانی دادیم، هیچ الگوی معمولی برای هر نوع تومور

به دنبال آن اتفاق بیوفتد. برای نظارت بر این باید ارزیابی مجدد وضعیت ایمونولوژیک بیمار انجام شود. سپس ترکیبی از چندین روش درمان ممکن است با توجه به ایمونوگرام های به روز شده توصیه شود (شکل ۶ را ببینید). در نهایت، به دلیل تعداد کم بیماران موجود در مطالعه حاضر، ما نمی توانستیم پانورامای کامل چشم انداز ایمنی در بیماران مبتلا به سرطان ریه را ارائه دهیم. تجمع بیشتر داده های بیمار، از جمله نتیجه درمان، برای ساخت یک ایمونوگرام بهینه تعیین کننده است که بتواند مناسب ترین ترکیب ها و استراتژی های درمان را برای هر بیمار مبتلا به سرطان ریه تعیین کند.

با وجود این محدودیت ها، نمره دهی و ترسیم وضعیت ایمنی سرطان هر بیمار با استفاده از ایمونوگرام می تواند درک بهتری از تعاملات ایمنی سرطان نسبت به مدیریت داده های فعلی مربوط به اطلاعات محدود شده با IHC و مقادیر محدود شده از داده های بیان ژن، ارائه دهد. بنابراین این ایمونوگرام برای CIC ممکن است یک وسیله نویدبخشی نشان دهد که برای ترجمه داده های سخت کاربرد اومیکس به «کارت های گزارش» که به راحتی قابل درک اند، برای پزشکان به منظور استفاده از ایمونوتراپی بهینه برای هر بیمار استفاده میشود.

در مجموع، درک جامع از تعاملات ایمنی سرطان برای ارائه ایمونوتراپی موثر سرطان ضروری است. ایمونوگرام برای CIC میتواند به عنوان یک بیومارکر تلفیقی استفاده شود که به ما نشان میدهد که یک نمای واضح تراز چشم انداز وضعیت تعامل ایمنی سرطان در هر بیمار برایمان ارائه میدهد و میتواند به عنوان یک منبع ارزشمند برای ایمونوتراپی شخصی باشد.

منبع:

www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28088513

ظاهر نشد (شکل ۵E). هر دو فنوتیپ التهاب ناشی از سلول T و التهاب غیر وابسته به سلول T در هر نوع بافت شناسی وجود داشت. این نتایج با مطالعات قبلی مطابقت دارد که نشان می دهد پاسخ های کلینیکی بر روی انسداد ایستگاه بازرسی به راحتی توسط نوع بافت شناختی تومور پیش بینی نمی شود. (۳-۵) وقتی که ایمونوگرام ها را با سن، جنسیت و وضعیت سیگار همپوشانی دادیم، یک الگو مشابه با قدرت آنتی ژن نسبتا کم (IGS2) در بیماران زن و بیماران غیر سیگاری کشیدن مشاهده شد (اطلاعات تکمیلی ۱۰ [شکل تکمیلی ۴]). به طور کلی، جهش EGFR مربوط به جنس زن و سابقه عدم مصرف سیگار است. (۳۱) سابقه عدم مصرف سیگار با بار جهشی پایین تر ارتباط دارد. بنابراین، بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم با جهش EGFR مثبت، جنس زن و سابقه عدم مصرف سیگار، همپوشانی دارند که موجب یک الگوی مشابه ایمونوگرام از بار جهشی پایین تر میشوند. این نتایج از یافته هایی حمایت میکند که یک ایمونوگرام از هر بیمار، وضعیت ایمنی و سابقه بیمار را بطور موفقیت آمیزی منعکس میکند. ما پیشنهاد می کنیم که استفاده از ایمونوگرافی ها برای CIC در هر بیمار برای ایجاد درمان ایمونوتراپی شخصی مفید خواهد بود. یکی از مزایای تجزیه و تحلیل تلفیقی ژن های چندگانه این است که می تواند قابلیت اطمینان داده های بیان ژن را با سطوح پایین بیان افزایش دهد. با این حال، محدودیت های متعددی در این مطالعه وجود دارد. ابتدا، محورهای ایمونوگرام و هر لیست ژنی مقادیر مطلق نیستند و باید همراه با پیشرفت دانش و فن آوری تغییر یابند. اگر چه ایمونوگرام ارائه شده، زمینه ایمنی سرطان را در هر بیمار نشان می دهد، بسیاری از عوامل دیگر مرتبط با اختلال عملکرد سلول T مانند متابولیسم غیرطبیعی تومور، هستند که ممکن است نقش داشته باشد. این عوامل می تواند پیش بینی اثربخشی ایمونوتراپی سرطان را تقویت کند. دوم، تنها آنتی ژنهای نوظهور و آنتی ژن های CG به عنوان آنتی ژن های تومور عمل نمی کنند. هنوز هم بسیاری از انواع دیگر آنتی ژن های سرطانی وجود دارد که نمی توانند از اطلاعات اگزوم یا تجزیه و تحلیل بیان کلاسیک به یافت شوند، مثال: آنتی ژن های ویروسی از آنکوویروس ها، و یا بیان غیر طبیعی آنتی ژن های رتروویروسی درونی انسانی. (۱۶، ۱۸) سوم، اگر چه ممکن است ایمونوگرام یک وضعیت ایمنی پیچیده را بطور دقیق نشان دهد، این یک تصویر فوری از آن لحظه در زمان است. بنابراین، برای مثال اگر ایمنی ناشی از سلول T بتواند در درمان تومور ضعیف از سلول T به وسیله درمان مناسب القا شود (مثلا القاء مرگ سلولی ایمن را توسط رادیوتراپی شیمیایی، واکسن های آنتی ژن های نوظهور، آنتی بادی ضد CTLA4، عامل اینترفرون α ، آگونیست CD40 و دستکاری ریزاندامگان برای افزایش فعال سازی DC)، سپس بیان مولکول بازرسی تنظیم مقابله ای و القا یا به کارگیری سلول های مهار کننده و مولکول های مهار کننده ممکن است

ما در درمان سرطان اهمیت
هر لحظه از زمان را میدانیم.....

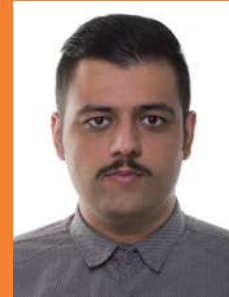


www.oncodna.com
www.oncodna.ir
Tel: +98(21)88985291-3
Fax: +98(21)88955205

آیا سوال هایی در مورد درمان سرطان دارید؟

OncoDNA به شما برای پیدا کردن پاسخ درمانی مناسب و صحیح کمک می کند. OncoDNA با تجویز آزمایش OncoDEEP و OncoTRACE، مناسب ترین گزینه درمانی را از میان داروهای موجود در بازار و حتی داروهای تحت بررسی بالینی، به منظور درمان هدفمند بیمار ارائه می نماید.

گوگل برای منبع پزشکی فرادقیق، ابزار هوش مصنوعی می سازد



شهاب رزاق

بالای توالی ای می پردازد که «فقط ۱۰۰ تا از ۳ میلیارد جفت باز را تولید کرده و نرخ خطا در هر پایه در محدوده ۱۰-۱ درصد است»، و اضافه کردند که جفت-بازها، به ۲۳ جفت کروموزوم سازماندهی می شوند.

برای ساختن DeepVariant، گروه مغز گوگل با ژنوم های مرجع حاصل از ژنوم در یک کنسرسیوم باتل شروع کرد تا ده ها میلیون نمونه برای رمزگذاری داده توالی با توان عملیاتی بالا ایجاد شود. دِ پرستو و پاپلین اظهار کردند: مرحله بعدی، آموزش یک مدل طبقه بندی تنسورفلو گوگل برای تمایز بین ژنوم واقعی و داده های تجربی بود. آنها افزودند که DeepVariant، بالاترین میزان صحت در دقت چالش حقیقی سازمان غذا و دارو (FDA) را در سال ۲۰۱۶ به دست آورد و از آن به بعد، گوگل میزان خطای این ابزار را به بیش از ۵۰ درصد کاهش داده است. مایکروسافت، به نوبه خود، یک واحد جدید مستقر در بریتانیا با تمرکز بر هوش مصنوعی برای مراقبت های بهداشتی در سپتامبر ۲۰۱۷، پس از هماهنگی با دانشگاه مرکز پزشکی پیتسبورگ (UPMC) در یک همکاری استراتژیک برای پیشبرد هوش مصنوعی راه اندازی نمود و محصولات جدید از جمله نگرش های بانک سلامت، ژنومیکس مایکروسافت، یک ربات چت و پروژه چشم داخلی برای پرتودرمانی را منتشر کرد. وینار: یاد بگیرید آنچه را که تاکنون پنسیلوانیا با پزشکی دقیق انجام داده است.

شرکت ماشین-های تجاری بین المللی (IBM) واتسون از زمان ۲۰۱۵، زمان اجرای فیتل و اکسپلوریز خود، روی هوش مصنوعی مراقبت های بهداشتی تمرکز کرده و واتسون برای ژنومیکس و واتسون برای غددشناسی را به مجموعه اسناد ابررایانه اضافه کرده است.

گوگل بیان کرد بخشی از هدف اساسی DeepVariant، بکارگیری فناوری های آن برای بهداشت و درمان و دیگر رشته های علمی بوده و در نهایت ساخت ابزارها و داده های در دسترس برای طیف وسیعی از مردم می باشد.

دِ پرستو و پاپلین اظهار داشتند: «اولین چیزی که ما امیدواریم این است که DeepVariant، مشارکت زیادی خواهد داشت و آن قدرت نفوذ در زیرساخت های محاسبه ای گوگل و یادگیری ماشینی برای درک بهتر ژنوم و ارائه ابزارهای ژنومی مبتنی بر یادگیری کامل به جامعه است.»

همچنین این شرکت DeepVariant ساخته که می تواند برای بهبود صحت توالی ژنومی، قابل استفاده از طریق کلود گوگل استفاده شود.

روز دوشنبه، گوگل یک نسخه DeepVariant منبع باز، یعنی ابزار هوش مصنوعی اعلام کرد که در سال گذشته بالاترین رتبه دقت را در چالش دقت حقیقی سازمان غذا و دارو (FDA) به دست آورد.

این ابزار منبع باز زمانی تکوین می یابد که مراکز دانشگاهی پزشکی، بیمارستان ها، شرکت های بیمه و دیگر سازمان های بهداشت و درمان، چنانچه تاکنون برای هوش مصنوعی دست به کار نشده اند، خود را برای پردازش شناختی و یادگیری ماشینی و نیز پزشکی دقیق و توالی ژنومی که مستلزم همدیگر هستند، آماده سازند.

علاوه بر این، رقبای گوگل، یعنی ماشین های تجاری بین المللی (IBM) و مایکروسافت، همگی در حال حرکت به سمت فضای هوش مصنوعی مراقبت های بهداشتی بوده در حالی که گمانه زنی های زیادی که آپل و آمازون را احاطه کرده موجب حمله به این فضا می شود.

مارک دِ پرستو و رایان پاپلین از اعضای گروه مغز گوگل، توضیح دادند که آنها به وسیله DeepVariant منبع باز، که توسط شرکت وریلی گوگل ایجاد شد، به تشویق استفاده و همکاری آن امیدوار هستند.

آنها در یک وبلاگ گوگل نوشتند: برای پیشبرد این هدف، ما با سرویس سکوی کلود گوگل برای استقرار گردش کار DeepVariant در عملکرد بالینی خوب (GCP) که امروز در دسترس است، در تنظیمات بهینه شده برای برگشت-های کم هزینه و سریع با استفاده از فناوری های مقیاس پذیر GCP مانند API (رابط برنامه-نویسی کاربردی) کانال های ارتباطی، همکاری کرده ایم، «این مجموعه از جفت نسخه ها، سکوی همواری برای کاربران جهت جستجو و ارزیابی قابلیت های DeepVariant در محیط محاسباتی فعلی خود فراهم کرده در حالی که یک راه حل مبتنی بر کلود برای برآوردن نیازهای حتی بزرگترین مجموعه داده های ژنومی ارائه می کند.»

دِ پرستو و پاپلین اشاره کردند، DeepVariant به یکی از چالش های مهم پزشکی دقیق با بهبود دقت توان عملیاتی

منبع

- tian Patients with Acute Myeloid Leukemia. *The Egyptian Journal of Immunology*. 2010; 17 (1); 9-18
8. Zolotaa V, Siriniana Ch, Melachrinoua M, Symeonidisb A, Bonikosa D. Expression of the regulatory cell cycle proteins p21, p27, p14, p16, p53, mdm2, and cyclin E in bone marrow biopsies with acute myeloid leukemia. *Correlation with patients' survival. Pathology – Research and Practice* (2007) 203, 199–207.
 9. Schnerch D, Yalcintepe J, Schmidts A, Becker H, Follo M, Engelhardt M, et al. Cell cycle control in acute myeloid leukemia. *Am J Cancer Res* 2012; 2(5):508-528.
 10. Shahrokh F Shariat, Alexandre R Zlotta, Raheela Ashfaq, Arthur I Sagalowsky, Yair Lotan. Cooperative effect of cell-cycle regulators expression on bladder cancer development and biologic aggressiveness. *Modern Pathology* 2007; 20; 445–459
 11. Martin-Caballero, J., Flores, J. M., Garcia-Palencia, P. & Serrano, M. Tumor susceptibility of p21Waf1/Cip1- deficient mice. *Cancer Res*. 2001. 61; 6234–6238.
 12. Tarek Abbas, Anindya Dutta. p21 in cancer: intricate networks and multiple activities. *Nat Rev Cancer*. 2009; 9(6); 400–414.
 13. N Radosevic, a Delmer, R Tang, J-P Marie and F Ajchenbaum-Cymbalista. Cell cycle regulatory protein expression in fresh acute myeloid leukemia cells and after drug exposure. *Leukemia* (2001) 15, 559–566.
 14. Jose Roman-Gomez, Juan Antonio Castillejo, Antonio Jimenez, Maria Gracia Gonzalez, Fernanda Moreno, Maria Del Carmen Rodriguez. 59 CpG island hyper methylation is associated with transcriptional silencing of the p21CIP1/WAF1/SDI1 gene and confers poor prognosis in acute lymphoblastic leukemia. *BLOOD* 2002; 99(7); 2291-6.
 15. Shuhui Lim, Philipp Kaldis. CDKs, cyclins and CKIs: roles beyond cell cycle regulation. *Development* 2013; 140(15); 3079-3093.
 16. Eric M. Pietras, Matthew R. Warr, and Emmanuelle Passegué. Cell cycle regulation in hematopoietic stem cells. *JCB* 2011; 195(5); 709-20.
 17. Marcos Malumbres. Cyclin-dependent kinases. *Malumbres Genome Biology* 2014, 15:122
 18. Jesu's Planaguma, Marta Gonzalez, Andreas Doll, Marta Mongea, Antonio Gil-Moreno, Teresa Baro. The up-regulation profiles of p21WAF1/CIP1 and RUNX1/AML1 correlate with myometrial infiltration in endometrioid endometrial carcinoma. *Human Pathology* 2006; 37; 1050– 1057
 19. Mi-Kyung Yoon, Diana M. Mitrea, Li Ou and Richard W. Kriwacki. Cell cycle regulation by the intrinsically disordered proteins p21 and p27. *Biochemical Society Transactions* 2012; 40(5); 981-8.
 20. James S Blachly, John C Byrd, Michael Grever. Cyclin dependent kinase inhibitors for the treatment of chronic lymphocytic leukemia.
 21. Abde M. Abukhdeirm, Ben Ho Park. p21 and p27: roles in carcinogenesis and drug resistance. *Expert Rev Mol Med* 2009; 1-18
 22. Yasmeen A., Berdel W.E., Serve H., Muller-Tidow C. E- and A-type cyclins as markers for cancer diagnosis and prognosis. *Expert Rev Mol Diagn* 2003; 3:617-33.
 23. Muller-Tidow C, Metzger R, Kugler K, Diederichs S, Idos G, Thomas M, et al. Cyclin E is the only cyclin-dependent kinase 2-associated cyclin that predicts metastasis and survival in early stage nonsmall cell lung cancer. *Cancer Res*; 2001; 61; 647-53.
 24. Rahmawati Pare, Joo-Shik Shin, Cheok Soon Lee. Increased expression of senescence markers p14ARF and p16INK4a in breast cancer is associated with an increased risk of disease recurrence and poor survival outcome. *Histopathology* 2016, 69, 479–491.
 25. Sano T, Hikino T, Xue Q et al. Immunohistochemical inactivation of p14ARF concomitant with MDM2 overexpression inversely correlates with p53 overexpression in oral squamous cell carcinoma. *Pathol. Int.* 2000; 50; 709–716.
 26. Geradts J, Wilentz RE, Roberts H. Immunohistochemical [corrected] detection of the alternate INK4a-encoded tumor suppressor protein p14 (ARF) in archival human cancers and cell lines using commercial antibodies: correlation with p16 (INK4a) expression. *Mod. Pathol.* 2001; 14; 1162–1168.
 27. Diaz Flaque MC, Vicario R, Proietti CJ, Izzo F, Schillaci R, Elizalde PV. Progesterone drives breast cancer growth by inducing p21 (CIP1) expression through the assembly of a transcriptional complex among Stat3, progesterone receptor and ErbB-2. *Steroids* 2013; 78; 559–567.
 28. Gennady P. Ilyin, Denise Glaise, David Gilot, Georges Baffet, Christiane Guguen-Guillouzo. Regulation and role of p21 and p27 cyclin-dependent kinase inhibitors during hepatocyte differentiation and growth. *Am J physiologic Gastrointestinal Liver Physiologic*, 2003; 285; 115–127.
 29. Anita Roy, Subrata Banerjee. P27 and Leukemia: Cell Cycle and Beyond. *Journal of Cellular Physiology* 2014; 504-9.
 30. Peng Bai, Xue Xiao, Juan Zou, Lin Cui, Tri M. Bui Nguyen, Jinsong Liu, and Jianguo Xiao, et al. Expression of p14ARF, p15INK4b, p16INK4a and skp2 increases during esophageal squamous cell cancer progression. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2012; 3; 1026-1032.
 31. Vinicius Duarte Cabral, Marcelle Reesink Cerski, Ivana Trindade Sa Brito and Lucia Maria Kliemann. P14 expression differences in ovarian benign, borderline and malignant epithelial tumors. *Journal of Ovarian Research* 2016; 9(69); 1-7.
 32. Mari'a J. Mun'oz-Alonso, Juan C. Acosta, Carlos Richard, M. Dolores Delgado, John Sedivy, and Javier Leo'n. p21Cip1 and p27Kip1 Induce Distinct Cell Cycle Effects and Differentiation Programs in Myeloid Leukemia Cells 2005; 280(18); 18120-9

Real-Time PCR oligonucleotide primers

Gene		Sequence	TM	Amplicon size(bp)
P14	P14 F	CCCTCGTGCTGATGCTACTG	60.53	20
	P14 R	CATCATGACCTGGTCTTCTA	53.86	
P21	P21 F	ACTAGGCGGTTGAATGAGAG	57.03	20
	P21 R	GAGAGGAAAAGGAGAACACG	55.81	
P27	P27 F	GGCTTTAGATTCCCAACTT	55.91	94
	P27 R	AGCCTCCCCACTCTCGTCT	61.93	
ABL	ABLF	AGTCTCAGGATGCAGGTGCT	59.1	124
	ABLR	TAGGCTGGGGCTTTTGTAA	60.0	

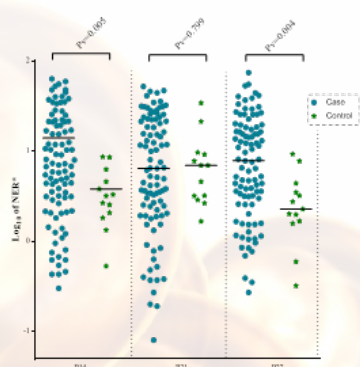


Figure1.
Quantitative RT-PCR analysis
of P14, P21 and P27 normalized
Gene expression in AML patients
and normal subjects.

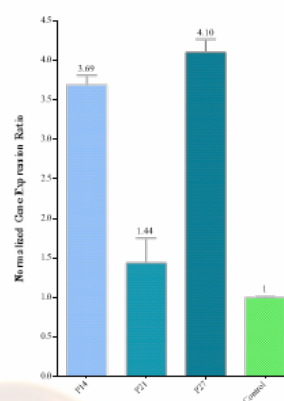


Figure2.
Normalized gene expression ratio
of P14, P21 and P27. Compari-
son of gene expression in control
group with AML patients.

References:

1. Kouchkovsky De, Abdul-Hay M. Acute myeloid leukemia: a comprehensive review and 2016 update'. Blood Cancer Journal (2016) 6, e441; doi:10.1038/bcj.2016.50
2. Puumala S, Ross J, Aplenc R, Spector L. Epidemiology of Childhood Acute Myeloid Leukemia. Pediatric Blood Cancer. 2013 May; 60(5): 728–33. Doi: 10.1002/pbc.24464
3. Cancer Stat Facts: Acute Myeloid Leukemia (AML). Available from: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/aml1.html>. Accessed in 2017 April 11.
4. Asseri M, Khatib A, Qasem A, Hamadi A, Laiche F. Molecular Mechanisms Associated With Acute Myeloid Leukemia: Review Article. European Scientific Journal 2013; 9(36): 422-33.
5. Tobias Otto, Piotr Sicinski. Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy. Nature Reviews | Cancer. 2017; 17; 93-115
6. Eiman Aleem, Robert J. Arceci. Targeting cell cycle regulators in hematologic malignancies. Frontiers in Cell and Developmental Biology. 2015; 3; 2-22
7. Afaf Abdel Alim, Soha R Youssef, Hanan Mohamed Farouk. The Prognostic Potential of Bone Marrow Cyclin E and P27, in Egypt-

and acute myeloid leukemia.

We detected p27 gene expression in 76.3% of patient samples which is accordant with similar studies indicating high level of this protein (5). Vassiliki Zolota and colleagues have been shown p27 expression in 88% of their cases (8) and overexpression of this cell cycle regulator have been shown in solid tumors as well as hematologic malignancies(10,29). The p27 expression status has been explained as a prognostic factor in such lymphomas and some solid tumors, including breast, lung, gastric and prostate cancers, proposing that decreased expression of p27 is associated with tumor development (7, 22-23). In addition, in the study by N Radosevic et al, the level of p27 expression was associated with the chemotherapy response and its high level was predictive of complete remission (13).

In concordance with our findings in p14 overexpression, Rahmawati Pare et al. Show this up regulation in their study. Moreover, there are another studies documenting the same result in other types of malignancies (24-26, 30-31). The high expression for these genes could strongly confirm their adverse function when cancerous cells recruit them as oncogenes, so they loss tumor suppressor role that may be useful as prognostic factors.

On the other hand, these changes may reveal tumor cell entrance to the senescence program, but disruption of downstream mediators may result in malfunction of regulatory pathway. The correlation between p27 and p14 expression suggests that both proteins may have an essential role as a tumor suppressor genes in AML in order to promote growth arrest or to sensitize cells to apoptosis.

As a tumor suppressor p21 participate in the cell cycle regulation, gene transcription, DNA repair, and apoptosis. In contrast, p21 suggest to induce cell cycle progression (21, 27).

Some studies have reported high expression of p21 in solid and hematological malignancies. Additionally, strong up regulation of p21 was seen in several cell lines and tissues that induce differentiation by irreversible cell cycle arrest (28). In the present study, we found loss of significant changes in p21 gene expression in cases but Rahmawati Pare et al. in their observations show loss of p21 protein expression in 94.8% of patients and they saw relationship between the absence of p21 and high tumor grade that could confirm the lack of its tumor suppressor activity (24).

Nevertheless, Investigations in these issue is uncertain and the significance of cyclin-dependent kinase inhibitor p21 expression in acute myeloid leukemia is unclear, with limited and contradicting data so need to more studies.

These findings may be dependent on the dual function of p21, whereby it plays role as a tumor suppressor in some malignancies but shows oncogenic activity in others.

Since cancer initiation and progression is a process involving multiple genetic

Defects, it is probably that alterations in other pathways may also affect AML progression but due to basic defect in such as this malignancies that is related to cell uncontrolled proliferation, cell cycle regulators and their expression are most important in comparison to other causative pathways and are strikingly crucial in cell regulation. So investigations in this field should be more to find special changes pattern in different malignancies. Hence, therapeutic strategies can target various checkpoints such as foregoing genes in the cell cycle.

Conclusion

As a powerful tumor suppressor, P53 regulates the cell cycle integrity through the induction of the Cip/kip (P27, P21 and P14 axis) family, they are continuously expressed to fight against tumor formation. Recent studies demonstrate that P27, P14 genes are overexpressed in high percentage of cases. Although we expected to see lower expression of p14, P21, P27 genes according to their anti-tumor role in normal cells, we found their higher expression. It seems that neoplastic mechanisms active in malignant cells convert the normal function of critical targets in the normal cells during their malignant transformation. We hypothesized that at the first step they get rid from their anti-tumor function and at the second step the malignant cells employ these proteins at their service.

diagnosed AML patients (39 males and 54 female classified in 3 age group; including: 35 >, 35-60 and > 60 years old) which were selected from the files of the Taleghani hospital, Shahid Beheshti university of medical sciences between 2014 and 2016 and control group encompasses 13 normal people. Patients approved for acute myeloid leukemia by morphological assessment, bone marrow (BM) immunophenotyping and molecular examination. Consent letter for Patients and control group was confirmed by local ethics committee. The cases were classified as M3 and non-M3 according to the French-American-British (FAB) criteria.

Cytogenetic abnormalities were determined by WHO criteria, translocations included (PML-RAR positive or negative). Anti-bodies against CD2, CD10, CD13, CD14, CD19, CD33, CD34, CD45, CD64, CD117 and HLA-DRI3 used for detection of leukemic myeloid blasts in flowcytometry analysis.

Demographic and subclinical characteristics of patients sample are summarized in Table 1.

RNA extraction and cDNA synthesis:

Mononuclear cells (MNC) were separated using Ficoll-Hypaque density gradient. RNA from MNCs was extracted by RNeasy Kit (Qiagen, USA). CDNA was synthesized by T primed first strand kit (Thermo-scientific, USA) using 1 microgram of Total RNA quantified by Nano drop (Thermo-scientific, USA).

Real time quantitative polymerase chain reaction analysis:

Real time quantitative polymerase chain reaction technology was used for 93 MNCs of patient's samples to characterize p21WAF1/CIP1, p27 and p14 expression by SYBRTM Green Real Time PCR Master Mixes (Thermo-scientific, USA). In addition expression of target genes was detected compared with ABL as housekeeping gene using the $\Delta\Delta C_T$ method. RT-Q-PCR conditions (10 min at 95OC, then, followed by 40 cycles at 95OC for 15 s and 60OC for 30 s) were followed and specific probes and primers were used. All the reactions were performed in triplicate.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using the SPSS (version 19). Data were analyzed using T-test & Mann-Whitney test for normal and abnormal distri-

butions, respectively. Gene expression levels were calculated and compared using $-2\Delta\Delta C_T$ formula. $P < 0.05$ was considered as the significant level.

Results

Complete remission, secondary AML, childhood AML, and post-treatment patients were excluded from the study. Peripheral blood & bone marrow specimens were collected from 93 newly diagnosed AML patients (39 males and 54 females; in three age categories: 35>, 35-60 and >60 years) and as control group we evaluated peripheral blood specimens of 13 healthy people (8 males & 5 females; median age 43; range, 11-75 years) without any evidence of hematological disease. The mean and SD of normalized gene expression were 1.04 ± 0.35 and 1.24 ± 0.41 in patient samples and 0.15 ± 0.10 and 0.18 ± 0.17 in control samples for P27, P21, P14 respectively.

Our investigation concluded 45 APL patients and 48 NON M3 patients (table 1), that average expression fold change of p14 and p27 compared with the control group were 3.69 and 4.10 respectively that show significant overexpression ($PV < 0.05$), and average expression fold change of p21 compared with the control group was 1.44 that shows no significant expression reduction ($PV > 0.05$).

We found no correlation between expression level of the mentioned genes and common AML prognostic factors including: age, gender, blast cell type and even sample type.

Discussion

Cell cycle regulation in mammalian is extremely organized process which confirm cell division as well as stem cell renewal, differentiation, transcription, epigenetic regulation, apoptosis and DNA repair (13-17). Considerable aberrations in expression of genes involved in cell cycle regulation have been reported in solid tumors and hematologic malignancies, as production or function abnormalities in these proteins are associated with increased mortality rate (10, 18-20). p21, p27 and p14 play critical roles in cell cycle progression and inhibit proliferation as tumor suppressor agents (21, 32). So, because of importance around these mechanisms and due to lack of enough previous studies, we aimed at explanation for probable correlation between these genes expression

Expression evaluation of cell cycle regulatory genes (P27, P21, P14) in AML patients



Naser Shagerdi Esmali^{1*}, Atousa Homafar², Mohammad Hossein Mohammadi¹, Ali Asghar Rafizadeh Khoei³, Mehdi Allahbakhshian Farsani¹

N.Sh.Esmali@sbm.ac.ir

* Corresponding author

1. Department of Hematology and Blood banking Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2. Department of nutrition science, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

3. Department of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

Introduction

Acute myeloid leukemia (AML) is a significantly heterogeneous disorder in the cytogenetic and molecular genetic characteristics, identified with abnormal proliferation and differentiation of myeloid stem cells. This abnormality can occur in all ages (1). It has a high incidence among adults and its burden in this group is approximately 80% (1), while it accounts for approximately 18% of childhood leukemia diagnoses (2). In 2016, according to statistics, there were 19,950 new cases of AML and 10,430 people died of this disease in the US (3).

As noted before, uncontrolled cell proliferation and blocked differentiation are main causes of AML. Loss of balance between proliferation and apoptosis leads to cancer origination. Furthermore, there are different mechanisms which control cell growth, and cell cycle proteins are crucial factors in normal hematopoiesis that their abnormalities or alterations in gene expression have been found to involve in the development of hematologic malignancies (4-7). P21, p27 and p14 are three essential cell cycle regulatory proteins which their alterations in AML have been reported (8). P21CIP1, p27KIP1 are members of cyclin-dependent kinase inhibitors (CKIs) family. They strongly inhibit the CDKs. They bind to cyclin E/CDK2 complex and inhibit its function, so prevent G1 phase and cell proliferation (1, 9). Defect in G1/S

transition is one of the critical events in cancer development (10-11). Once inhibition of Cdk2 by p21 and p27 disturbed, cells can enter S phase. Therefore, they are potential tumor suppressor genes and their low expression may has a critical role in cancer biology (1, 9, and 12). Also poor outcome in AML and other malignancies has been reported due to low levels of p27 protein (7-8, 10). Additionally, increased frequency of spontaneous tumors in various tissues have been shown in mice lacking p21CIP1 (11). P14ARF codes by CDKN2 gene which is located on the short arm of chromosome 9p. P14 play a role in cell cycle arrest in both G1 and G2/M and stabilization both p53 and mdm2 by directly binding to mdm2. Direct interaction between p14 and mdm2 inhibits degradation of p53 by mdm2, results in activation of p53 and its tumor suppressor activities (8). So the present study aimed at expression investigation of such essential cell cycle proteins (p21, p27, p14) in bone marrow biopsies and peripheral blood samples obtained from newly diagnosed acute myeloid leukemia patients.

Material and Method

Clinical Samples:

Study population

The results of present study obtained from bone marrow and peripheral blood samples of 93 newly

mutations in these genes in high-risk families is now well established(22).

Results

The prognostic value of histological grade has been documented for most tumor types. In recent years, molecular techniques, in particular gene expression profiling, have been used increasingly, in order to improve breast cancer classification and to assess patient prognosis and response to therapy.

The incidence is rising in most countries and is projected to rise further over the next 20 years despite current efforts to prevent the disease. The increased incidence is not surprising since there has been, in most countries, an increase in numbers of women with major breast cancer risk factors, including lower age of menarche, late age of first pregnancy, fewer pregnancies, shorter or no periods of breastfeeding, and a later menopause.

Recent advances in therapeutic strategies have improved BC-specific mortality and morbidity, but still only one-quarter of metastatic BC patients survive until 5 years after BC diagnosis.

Targeted molecular therapeutics based on miRNAs hold great promise for the development of less toxic and more effective personalized treatment strategies for cancer. So informations can be used for treatment and personalized medicine.

References

- Shiovitz S, Korde L. Genetics of breast cancer: a topic in evolution. *Annals of Oncology*; 2015.
- Lisa Wiechmann, Henry M. Kuerer. *The Molecular Journey From Ductal Carcinoma in Situ to Invasive Breast Cancer*; 2008.
- MacMahon B, Cole P, Lin T, Lowe C, Mirra A, Ravnihar B, et al. Age at first birth and breast cancer risk. *Bulletin of the World Health Organization*; 1970.
- He H, Xu F, Huang W, Luo S, Lin Y, Zhang G, et al. miR-125a-5p expression is associated with the age of breast cancer patients; 2015.
- Garofalo M, Croce CM. microRNAs: Master regulators as potential therapeutics in cancer. *Annual review of pharmacology and toxicology*; 2011.
- Qi P, Wang L, Zhou B, Yao W, Xu S, Zhou Y, et al. Associations of miRNA polymorphisms and expression levels with breast cancer risk in the Chinese population; 2015.
- Olufunmilayo I. Olopade, Tatyana A. Grushko, Rita Nanda, Dezheng Huo. *Advances in Breast Cancer: Pathways to Personalized Medicine*; 2008.
- Tripurani SK. *Functional Analysis and Post-Transcriptional Regulation of Oocyte-Specific Transcription Factors During Early Embryogenesis in Cattle*: West Virginia University; 2011.
- Ma L, Teruya-Feldstein J, Weinberg RA. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer. *Nature*; 2007.
- Farazi TA, Spitzer JI, Morozov P, Tuschl T. miRNAs in human cancer. *The Journal of pathology*; 2011.
- He H, Xu F, Huang W, Luo S, Lin Y, Zhang G, et al. miR-125a-5p expression is associated with the age of breast cancer patients; 2015.
- Ashley G. Rivenbark, Siobhan M. O'Connor, and William B. Coleman. *Molecular and Cellular Heterogeneity in Breast Cancer Challenges for Personalized Medicine*; 2013.
- Claudia Cava, Gloria Bertoli, Marilena Ripamonti, Giancarlo Mauri, Italo Zoppis, Pasquale Anthony Della Rosa, Maria Carla Gilardi, Isabella Castiglioni. *Integration of mRNA Expression Profile, Copy Number Alterations, and microRNA Expression Levels in Breast Cancer to Improve Grade Definition*; 2014.
- Malkin D, Li FP, Strong LC, Fraumeni Jr JF, Nelson CE, Kim DH et al. Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms; 1990.
- Garber JE, Goldstein AM, Kantor AF, Dreyfus MG, Fraumeni Jr JF, Li FP. Follow-up study of twentyfour families with Li-Fraumeni syndrome; 1991.
- Borresen AL, Andersen TI, Garber J, Barbier-Piroux N, Thorlacius S, Eyfjord J et al. Screening for germ line TP53 mutations in breast cancer patients; 1992.
- Nelen MR, Padberg GW, Peeters EA, Lin AY, van den HB, Frants RR et al. Localization of the gene for Cowden disease to chromosome 10q22-23; 1996.
- The Breast Cancer Linkage Consortium. Cancer risks in BRCA2 mutation carriers; 1999.
- J R Howe, M G Sayed, A F Ahmed, J Ringold, J Larsen-Haidle, A Merg, F A Mitros, C A Vaccaro, G M Petersen, F M Giardiello, S T Tinley, L A Aaltonen, H T Lynch. The prevalence of MADH4 and BMPR1A mutations in juvenile polyposis and absence of BMPR2, BMPR1B, and ACVR1 mutations; 2004.
- Anthony Howell, Annie S Anderson, Robert B Clarke, Stephen W Duffy, D Gareth Evans, Montserrat Garcia-Closas, Andy J Gescher, Timothy J Key, John M Saxton and Michelle N Harvie. *Risk determination and prevention of breast cancer*; 2014.
- Ji-Yeon Kim, Eunjin Lee, Kyunghee Park, Woong-Yang Park, Hae Hyun Jung, Jin Seok Ahn, Young-Hyuck Im, Yeon Hee Park. *Clinical implications of genomic profiles in metastatic breast cancer with a focus on TP53 and PIK3CA, the most frequently mutated genes*; 2017.
- Walsh T, Casadei S, Coats KH, Swisher E, Stray SM, Higgins J et al. Spectrum of mutations in BRCA1, BRCA2, CHEK2, and TP53 in families at high risk of breast cancer; 2006.

differentiated, highly proliferative tumor; grade 2 is a moderately differentiated, slightly faster growing tumor than normal cells(20).

It is now well accepted that among all populations, an estimated 5% to 10% of breast cancer cases arise in individuals who inherit highly penetrant mutations in breast cancer susceptibility genes(7). Breast cancer is a heterogeneous disease characterized by variant pathological features, disparate response to therapeutics, and substantial differences in long-term patient survival(12).

The first major gene associated with hereditary breast cancer was BRCA1, located on chromosome 17. This gene was identified in 1990 using linkage analysis in families with suggestive pedigrees. In 1994, BRCA2 was mapped to chromosome 13(1).

Molecular classification of breast cancer based on complex patterns of gene expression provides a link between the molecular biology of breast cancer and the behavior of cancer cells in the corresponding subtypes. However, molecular classification of breast cancer has not yet reached clinical implementation as a routine aspect of patient management(12).

Clinical cancer develops over a long period of time, requires multiple molecular alterations, and involves evolution of cellular populations with increasingly aggressive phenotypic characteristics. Although the time required for the process of carcinogenesis is not well established for any human cancer, estimates suggest that this multistep process unfolds over many years and possibly several decades(12).

Germline mutations in the TP53 gene have been implicated as the cause of the Li-Fraumeni syndrome(14). Breast cancer appears as a feature of this syndrome and carriers of TP53 mutations are at high risk of developing early-onset breast cancer(15). However, the proportion of early-onset breast cancer in the general population explained by TP53 mutations is small as mutations are very rare(16). Breast cancer is also a feature of the Cowden syndrome caused by mutations in the PTEN gene(17). Mutations in BRCA1 and BRCA2 are rare, but confer high risks of breast and ovarian cancer and smaller risks for other cancers(18).

CHEK2 is a protein kinase involved in cell cycle regulation at G2 that is rapidly phosphorylated in response to DNA damage. Activated CHEK2 stabilizes p53 and interacts with BRCA1. ATM is a protein kinase involved in monitoring and repair of dsDNA

and regulation of BRCA1 and CHEK2(1).

Breast cancer grades

The histological definition of the tumor grade in breast cancer is mainly based on the degree of differentiation of the tumor tissue: grade 1 is a well-differentiated, slow-growing tumor; grade 3 is a poorly differentiated, highly proliferative tumor; grade 2 is a moderately differentiated, slightly faster growing tumor than normal cells. The prognostic value of histological grade has been documented for most tumor types. In recent years, molecular techniques, in particular gene expression profiling, have been used increasingly, in order to improve BC classification and to assess patient prognosis and response to therapy(13).

SNPs and breast cancer

As it is still impractical to perform large whole-genome studies, instead sampling of single-nucleotide polymorphisms (SNPs) distributed across the genome is often used to evaluate for genetic variability. SNPs are found in both genes and intergenic regions; variation in the latter of these can indicate variation in gene regulatory elements(1).

A small number of polymorphisms in known breast cancer-associated genes have been associated with an increased risk of breast cancer. Often, low-penetrance SNPs are located in noncoding regions of the genome, making it more difficult to identify an associated gene(1).

New facts about breast cancer

Further understanding of the molecular biology and gene expression signatures of breast cancer are critical for developing novel approaches to the prevention and management of the disease. Two of the earliest and best examples of targeted therapies were developed in breast cancer after progress in cancer biology(7).

Recent advances in therapeutic strategies have improved BC-specific mortality and morbidity, but still only one-quarter of metastatic BC patients survive until 5 years after BC diagnosis(21).

Well over 1000 different mutations have been identified in BRCA1 and BRCA2, and genetic testing for

mulation of multiple gene mutations combined with epigenetic dysregulation of critical genes and protein pathways(7).

Study of cancers, specially breast cancer and microRNAs

Traditionally, the study of cancer has focused on protein-coding genes, considered the principaleffectors and regulators of tumorigenesis. Recent discoveries, however, have highlighted the role of non-protein-coding RNA in tumor formation(5).

The story began in 1993 when Victor Ambros and colleagues discovered a gene, *lin-4*, that affected development in *Caenorhabditis elegans* and found that its product was a small noncoding RNA; this small RNA was later to be termed a microRNA (miRNA) (5).

There is no single definition of ‘familial’ breast cancer, but generally accepted criteria include: (i) at least three breast and/or ovarian cancer cases in a family; (ii) two breast cancer cases in close relatives, with at least case diagnosed before age 50; (iii) two breast cancer cases in a family diagnosed before 40 years of age; (iv) any male breast cancer with a family history of ovarian cancer or early onset female breast cancer; (v) Ashkenazi Jewish ancestry with breast cancer, particularly triple-negative breast cancer diagnosed before age 60; or (vi) breast and ovarian cancer in the same patient. However, these criteria largely encompass only the phenotype of the Hereditary Breast/Ovarian Syndrome(1).

miRNAs play an important role in the negative regulation of gene expression by base-pairing to partially complementary sites on the target messenger RNAs (mRNAs), usually in the 3' untranslated region (UTR). miRNAs have been found to regulate more than 30% of mRNAs and have roles in fundamental processes, such as development, differentiation, cell proliferation, apoptosis, and stress responses. Both loss and gain of miRNA function contribute to cancer development through a range of different mechanisms(5).

Pre-miRNAs are exported from the nucleus by Exportin-5. In the cytoplasm, another RNase III enzyme, Dicer, cuts the pre-miRNA to generate the mature microRNA as part of a short RNA duplex. The RNA is subsequently unwound by a helicase activity and incorporated into a RNA-induced silencing

complex (RISC)(8).

MicroRNAs have been implicated in regulating diverse cellular pathways. Although there is emerging evidence that some microRNAs can function as oncogenes or tumour suppressors, the role of microRNAs in mediating cancer metastasis remains unexplored (9).

miRNA dysregulation could be a result of mutations in miRNA genes in well-conserved regions in their mature sequence affecting mRNA targeting, or the remainder of the miRNA precursor potentially affecting processing and stability of the mature miRNA(10).

miRNAs can act as either tumor suppressors or oncogenes for cancers. Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) are the most common source of genetic polymorphism in the human genome. SNPs were found to contribute to phenotypic differences in humans(3).

miR-125 and breast cancer

miR-125, which is a highly conserved miRNA found in diverse species from nematodes to humans, and can be found as one of three homologs: hsa-miR-125a, hsa-miR-125b-1, and hsa-miR-125b-2. Controversial properties of the members of the miR-125 family have been reported in different types of cancer, such as their potential contribution to the initiation and progression of cancers by acting as either tumor suppressors or oncogenes(19).

miR-125a represses cell growth by targeting HuR in MCF-7 breast cancer cells, and miR-125b allele-specific regulation of BMPR1B contributes to breast cancer risk(11). The chromosomal locus of BMPR1B is on 4q22-24(19).

Some facts about breast cancer and genes and proteins

It is estimated that women having their first child when aged under 18 years have only about one-third the breast cancer risk of those whose first birth is delayed until the age of 35 years or more. Births after the first, even if they occur at an early age, have no, or very little, protective effect(6).

The histological definition of the tumor grade in breast cancer is mainly based on the degree of differentiation of the tumor tissue: grade 1 is a well-differentiated, slow-growing tumor; grade 3 is a poorly

The association of some genes, including BMPR1B, with breast cancer and personalized medicine



Anahita Ahmadsina

Anahita Ahmadsina^{1*}, Massoud Houshmand²

¹ NourDanesh Institute of Higher Education, Meymeh, Isfahan, Iran

² Department of Medical Genetics, National Institute for Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Iran

Keywords

- Breast Cancer
- Personalized Medicine
- Gene
- BMPR1B
- BRCA1
- BRCA2
- miRNA
- miR-125

Abstract

Breast cancer is the most common malignancy in women in Europe and the United States and second leading cause of cancer-related death. miRNAs, single-stranded RNA molecules, are so important in cancers. Both loss and gain of miRNA function contribute to cancer development through a range of different mechanisms. miR-125a represses cell growth by targeting HuR in MCF-7 breast cancer cells, and miR-125b allele-specific regulation of BMPR1B contributes to breast cancer risk. Many elements are effective in breast cancer. For example BMPR1B, BRCA1, BRCA2, CHEK2, TP53, PTEN, p53, ATM, ... Well over 1000 different mutations have been identified in BRCA1 and BRCA2, and genetic testing for mutations in these genes in high-risk families is now well established. Targeted molecular therapeutics based on miRNAs hold great promise for the development of less toxic and more effective personalized treatment strategies for cancer. So informations can be used for treatment and personalized medicine.

Introduction

Breast cancer (bc) is the most common malignancy in women in Europe and the United States and second leading cause of cancer-related death and it is the second leading cause of cancer death for women in the U.S.(1,2). It is the leading cause of cancer death in less-developed countries. Because up to 10% of the total number of women diagnosed with breast cancer report a family history of the disease, microRNAs (miRNAs) may represent a promising new class of

potential susceptibility genes. miRNAs are a class of endogenous, noncoding, single-stranded RNA molecules that are approximately 22 nucleotides long and they influence mRNA stability and translation(3,4). The story began in 1993 when Victor Ambros and colleagues discovered a gene, lin-4, that affected development in *Caenorhabditis elegans* and found that its product was a small noncoding RNA; this small RNA was later to be termed a microRNA (miRNA) (5). Breast cancer is caused by the progressive accu-



آزمایشات هوشمند "SMARTests"

اطلاعات بسیاری از قبیل سلامتی در ژن های ما پنهان می باشند که مبحث پزشکی شخصی با بهره گیری از مجموعه آزمایشات هوشمند به اطلاعات سودمندی در مورد بدنمان دسترسی پیدا می کند که به ما کمک می کند شیوه ی صحیحی از سبک زندگی مختص خود را در پیش بگیریم. خدمات آزمایش های هوشمند به صورت منحصر به هر فرد با استفاده از به روز ترین فن آوری ها و روش ها با دقت بسیار بالایی صورت می گیرد. انجام این آزمایش بسیار ساده و بدون درد تنها با چند قطره از خون و یا نمونه ای از بزاق دهانمان قابل انجام است.

آزمایش هوشمند - پوست
آزمایش هوشمند - تغذیه و تناسب اندام
آزمایش هوشمند - تندرستی
آزمایش هوشمند - کودک
آزمایش هوشمند - سرطان
آزمایش هوشمند - واکنش دارویی
آزمایش هوشمند - دیابت
آزمایش هوشمند - ناباروری و نازایی
آزمایش هوشمند - سقط مکرر
آزمایش هوشمند - HLA

مجموعه آزمایشات هوشمند به غربالگری و بررسی مارکرهای مرتبط با داشتن پوستی زیبا، تناسب اندام و سبک زندگی سالم، پیش آگاهی از بیماری هایی که زمینه ابتلاء به آنان در ما وجود دارد و تشخیص بسیاری از اختلالات چند عاملی ژنتیکی، سلامت فرزندان نسل آینده، داروهایی تاثیر گذار و حتی خطرناک برای هر فرد می باشد

. همچنین تغذیه و ورزش متناسب و بسیاری اطلاعات مهم مرتبط با سلامتی ما اکنون با انجام این آزمایش در دسترس می باشد.

It's time to know more about your Health

Email: info@Smartests.ir

Tel: +۹۸(۲۱)۸۸۹۸۵۲۹۱-۳

Tel: +۹۸(۲۱)۶۶۴۰۵۰۴۰

Fax: +۹۸(۲۱)۸۸۹۵۵۲۰۵

برای اطلاعات بیشتر لطفاً با ما تماس بگیرید

www.SMARTests.ir



ژنتیک یک الزام
پیشگیری قبل از درمان



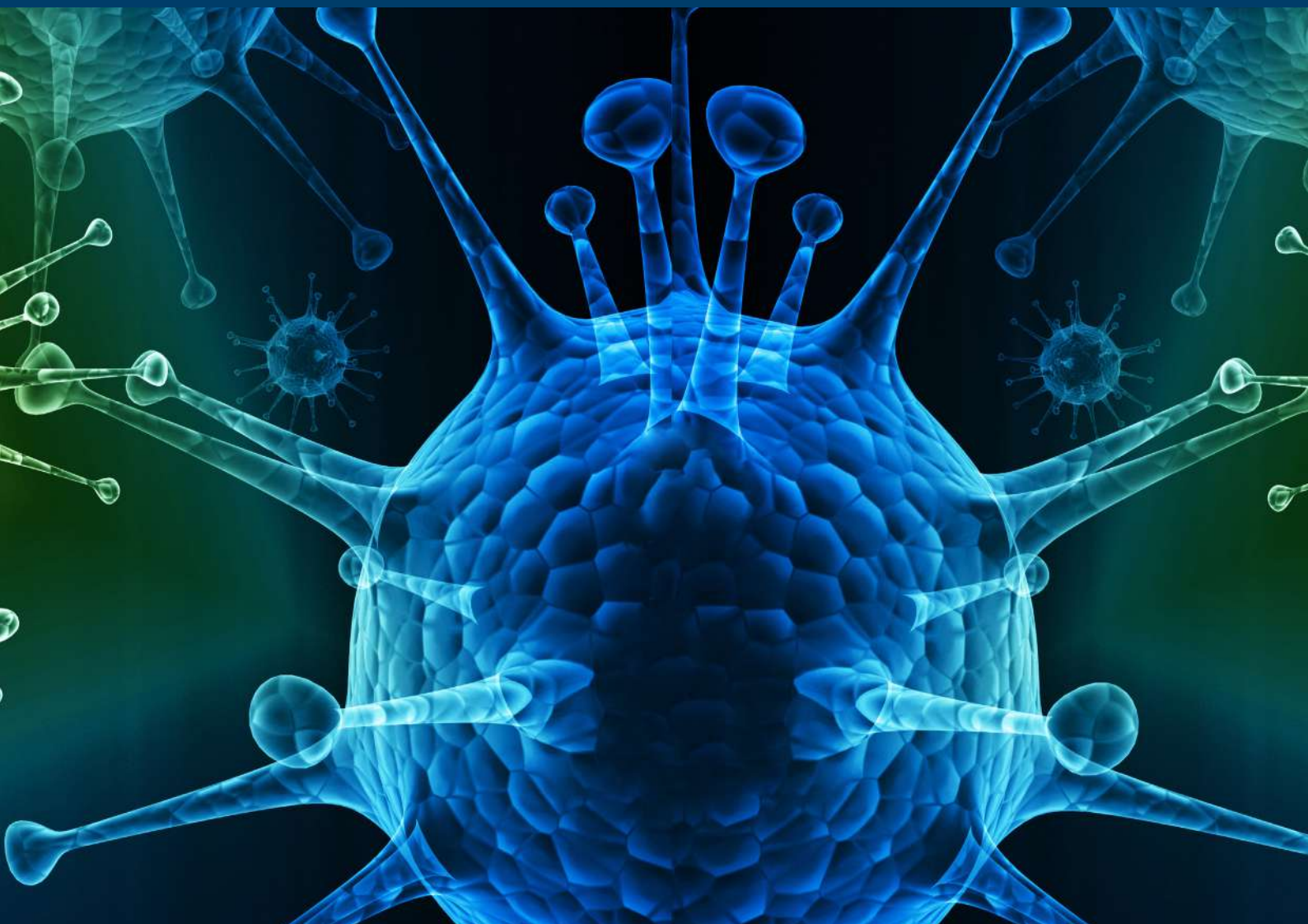
www.parsgenelab.com

تهران، جردن، خیابان ارمغان شرقی، پلاک ۳۹، واحد ۷
تلفن: ۵۸ ۱۴ ۲۳ ۲۶ (۰۲۱) - ۵۶ ۱۴ ۲۳ ۲۶ (۰۲۱)

Unit7, No.39, East Armaghan St., Jordan, Tehran-Iran
Tel. : +98 21 26 23 14 56 & +98 21 26 23 14 58

کمپانی AusDiagnostics از کشور استرالیا با ارائه ی روش مولکولی Multiplex PCR برای شناسایی پاتوژن ها به ویژه برای پاتوژن هایی که بسیار آهسته و یا سخت در محیط کشت رشد می کنند، به دلیل حساسیت زیاد و سریع و آسان بودن به عنوان یک استاندارد طلائی معرفی شده است. یکی دیگر از فوائد روش سیستمیک پی سی آر چندگانه، توانایی تشخیص چندین عامل از جمله عوامل ویروسی، باکتریایی، پروتوزئا، مخمر و قارچ ها در یک دوره آزمایش می باشد و نتایج بسیار کاربردی را برای تشخیص های مختلف به همراه دارد.

Molecular methods are becoming the gold standard for the detection of pathogens because of their superior sensitivity, rapid turnaround time, simplicity and ability to identify pathogens that are slow growing or difficult to culture. Another advantage of Multiplex PCR is their capability to detect viruses, bacteria, protozoa and yeasts in one go, bringing great benefits for differential diagnostics.





برای سازمان‌تان اسنپ بگیرید

راهکارهای سازمانی اسنپ برای تسهیل رفت و آمدهای سازمانی

کد سازمانی برای شرکت‌هایی که می‌خواهند پرسنل‌شان روی گوشی شخصی خود اسنپ بگیرند.

پنل سازمانی برای سازمان‌هایی که می‌خواهند درخواست‌های متعدد و متنوع حمل و نقلی خود را با چند کلیک مدیریت کنند.

avemar granulate

اولین مکمل دارویی تخصصی برای بیماران مبتلا به سرطان

- بهبود کیفیت زندگی بیمار
- افزایش اثربخشی درمان اصلی
- کاهش بی اشتهایی و کاهش خستگی ناشی از درمان بیماری

مکمل درمانی اومار هیچ گاه جایگزین درمان اصلی بیماری سرطان نمی باشد.

avemar.com



NEORAPA[®]

Everolimus

Come to life with better choice!



IR-0819-NRP-4242-AD

Chemotherapy - free approach in:
Second line metastatic breast
cancerous patients

*Everolimus highlights of prescribing information. FDA label 2016. Reference ID: 3944679

فرم اشتراک فصلنامه پزشکی شخصی

همراه ارجمند.

جهت درخواست اشتراک این نشریه بهای اشتراک به ازای هر شماره مبلغ ۱۰۰,۰۰۰ ریال و برای اشتراک سالیانه مبلغ ۳۰۰,۰۰۰ ریال به شماره حساب ۱۶۱۸۵۰۵۰۲۸۶۳۸۱ نزد بانک اقتصاد نوین به نام گروه توسعه فناوری پزشکی آمیتیس ژن واریز نموده و اصل فیش بانکی به همراه فرم تکمیل شده زیر به نشانی تهران- ابتدای خیابان ایتالیا، پلاک ۲، طبقه ۲، واحد ۳ و یا به آدرس الکترونیکی مجله (info@PersonalizedMedicineJournal.com) ارسال نمایید.

خواهشمند است کپی فیش واریزی را تا پایان مدت اشتراک نزد خود نگاهدارید. پس از ارسال فرم به هر شکل، با تماس تلفنی از دریافت آن توسط نشریه و برقراری اشتراک خود مطمئن شوید.

تلفن بخش اشتراک: ۸۸۹۸۵۲۹۱ (۰۲۱)

فرم اشتراک فصلنامه پزشکی شخصی

نام و نام خانوادگی: نام موسسه / سازمان

شغل / نوع فعالیت: میزان تحصیلات: رشته تحصیلی

استان: شهر: کد پستی ۱۰ رقمی

نشانی کامل پستی

.....

..... صندوق پستی: تلفن تماس

☐ مشترک جدید ☐ تمدید اشتراک شماره اشتراک قبلی: تاریخ تکمیل فرم

نوع اشتراک مورد نظر: تعداد نسخه درخواستی از هر شماره: شروع ارسال از شماره

مبلغ واریز شده: شماره فیش بانکی: تاریخ واریز

خواهشمند است اشتراک اینجانب با مشخصات یاد شده را برقرار نمایید. امضای متقاضی

دعوت به همکاری

این نشریه از اعضای هیئت علمی دانشگاه ها، مراکز علمی و علاقه مندان جهت همکاری در کارگروه های مربوطه نشریه دعوت می نماید. هیئت تحریریه نشریه پزشکی شخصی به صورت کارگروه های علمی ذیل می باشد:

عناوین کارگروه های نشریه پزشکی شخصی: سرطان، ژنتیک، پزشکی مولکولی، فارماکونومیکس، سندرم متابولیک و بیماری های قلبی و عروقی، بیماری های آسم و آلرژی، علوم اعصاب، روان شناسی، علوم آزمایشگاهی، تغذیه و تناسب اندام، دکتری عمومی، طب سنتی و اسلامی

Personalized Medicine Journal

Magazine Owner: AmitisGen Med TECH Group

Responsible Director: Dr.Seyed Massoud Houshmand

Editor In Chief: Seyedeh Nayyere Moslehi

Telephone: +98(21)88985293

Email: info@PersonalizedMedicineJournal.com

Release: 2018 Winter

Editorial Board according alphabet order:

Dr.M.A.Alizadeh, Dr.B.Abedi Kiasari, Dr.N.Afshari, Dr.N.Ariyayan, Dr.F.Bandarian, Dr.A.Hajfatali, Dr.A.Heydarinejad, Dr.S.Heydarinejad, Dr.R.Halabian, Dr.F.H.Fallah, Dr.F.Foruzesh, Dr.S.Ghorbian, Dr.P.Jabbarzadeh, Dr.M.Jallali, Dr.N.Hosseinkhan, Dr.F.Khatami, Dr.K.Ghafarzadegan, Dr.M.Gharipur, Dr.Z.Maghsomi, Dr.F.Mansouri, Dr.J.Mollaei, Dr.N.Namimoghdam, Dr.B.Naghavi, Dr.M.Nikpay, Dr.A.Nejatizadeh, Dr.R.Nekueian, Dr.N.Parsa, Dr.Sh.Rahmati, Dr.M.Ramezanzadeh, Dr.H.Saadat, Dr.B.Sadeghi, Dr.I.Sadeghi, Dr.A.SadeghiTabar, Dr.M.A.Saremi, Dr.R.Shirkoohi, Dr.M. Shojae, Dr.M.Totonchi

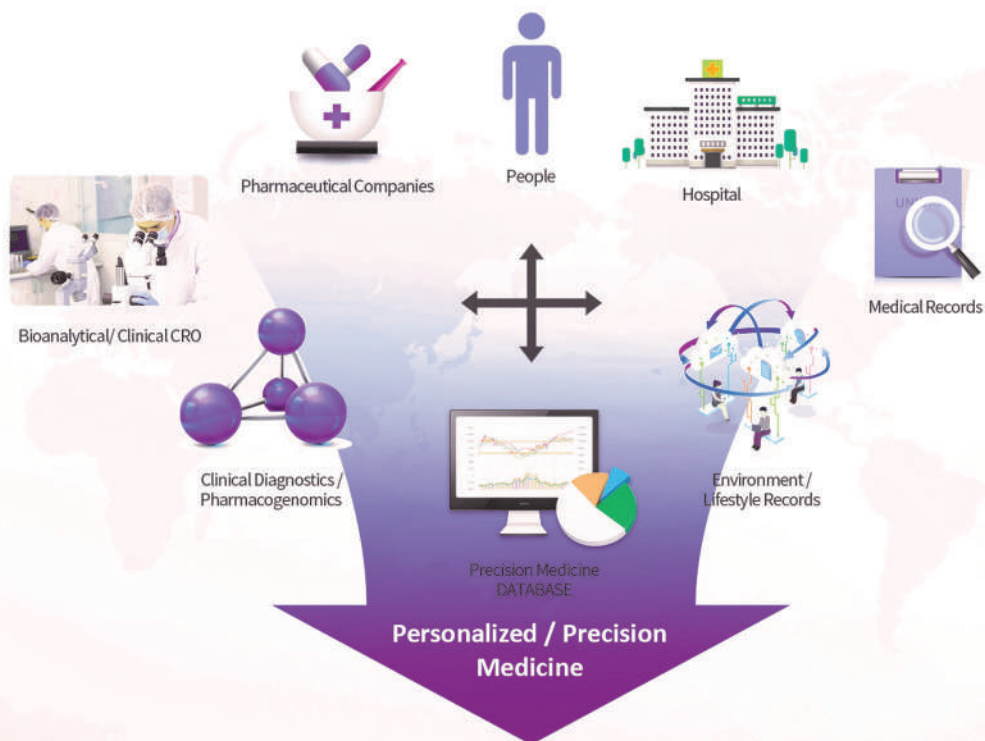
This number articles

Use of gene therapy with mesenchymal stem cell in gastric cancer personalized treatment	3
Bioinformatical research of polymorphism of KLRG1 and CXCL8 in single nuclei cells of Lupus patients blood.....	9
Prediction of different stages of AML sensitivity to Mitoxantrone inhibitors through expression analysis with focus on cancer personalized treatment.....	15
Exosomal miRNAs as effective and reliable biomarkers in pancreas early diagnostics.....	23
Computational personalized models as biological markers (Biomarkers).....	29
Application of Gama knife in brain tumors treatment.....	31
Personalized medicine in FDA, 2017 progress report.....	34
Immunography for cancer immunology cycle : Towards personalized immunotherapy of lung cancer.....	37
Google for the source of precision medicine, builds a smart tool	49
Expression evaluation of cell cycle regulatory genes (P27, P21, P14) in AML patients.....	54
The association of some genes, including BMP1B, with breast cancer and personalized medicine.....	58

Medicine Personalized JOURNAL



Medical Journal / 2nd Year / No,8 / 100/000 Rials / 2018 Winter / ISSN:2476-5538



DIAGNOSIS



PREVENTION,
CUSTOMIZATION

The Future of Medicine is Personalized

