مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۳، شماره ۱۲، اسفند ۱۳۹۴
صفحه: ۱۱۸۸-۱۱۷۹

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 23, No.12, Mar 2016
Pages: 1179-1188

بررسی میزان بیان ژن *HE4* در بافت سرطان تخمدان

آرزو شاهی[۱]، الهام مسلمی*[۲]، امیر ایزدی[۳]

چکیده

مقدمه: سرطان تخمدان یکی از بدخیمی‌های شایع زنان است و همچنین پنجمین عامل مرگ ناشی از سرطان در زنان در جهان است. پیشرفت‌های اخیر در زمینه تکنولوژی‌های ژنومیک و پروتئومیکس منجر به شناخت مارکرهایی برای تشخیص سرطان تخمدان شده است. پروتئین اپیدیدیم انسانی *HE4* به تازگی برای بررسی بیماری یا پیشرفت سرطان اپیتلیالی تخمدان تایید شده است. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر بیان ژن *HE4* در زنان مبتلا به سرطان تخمدان است.

روش بررسی: در این مطالعه تعداد۲۰ نمونه بافت پارافینه از زنان مبتلا به سرطان تخمدان و ۱۰ نمونه غیرتوموری پس از بررسی پاتولوژیست جمع‌آوری گردید. پس از پارافین زدایی، استخراج RNA با محلول RNAPlus انجام گردید. cDNA با روش رونویسی معکوس به وسیله آنزیم MMULV انجام شد. بیان ژن به روش Real time PCR نسبی ارزیابی گردید. ژن گلیسر آلدهید ۳- فسفات دهیدروژناز(*GAPDH*) نیز به عنوان کنترل داخلی استفاده شد.

نتایج: پس از به دست آوردن ct، RQ نمونه محاسبه و بررسی RQ نمونه‌ها نشان داد که ژن *HE4* در بافت‌های سرطانی نسبت به نمونه‌های غیرتوموری به میزان ۴/۰۸۳ افزایش بیان داشت. همچنین مقایسه میزان بیان و مرحله بیماری نشان‌دهنده، افزایش میزان بیان با افزایش مرحله بیماری می‌باشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج می‌توان بیان نمود که میزان بیان ژن *HE4* در نمونه‌های سرطانی به شدت افزایش می‌یابد. بنابراین، اندازه‌گیری بیان ژن *HE4* می‌تواند به عنوان یک عامل پیش‌آگهی‌دهنده ارزشمند برای تشخیص اولیه و مدیریت درمان به حساب آید.

واژه‌های کلیدی: سرطان تخمدان، ژن *HE4*، تومور مارکر

۱- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شرق
۲- دکترا، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شرق
۳- دکترا، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، موسسه تحقیقاتی بانژ اکسیر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شرق
*** (نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۲۳۳۵۵۸۷۲، پست الکترونیکی:** Elham_moslemi60@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۳/۱ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۷/۲۳**

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-27]

مقدمه

سرطان تخمدان از بین تمام سرطان‌های زنان بیشترین بحث بالینی را متوجه خود کرده است(۱). این سرطان در مراحل اولیه خود علائم قابل توجهی را بروز نداده و تشخیص آن در مراحل پیشرفته تومور ممکن بوده و به همین دلیل میزان مرگ و میر بالایی دارد(۱). سرطان تخمدان با اینکه تنها حدود ۴٪ از کل سرطان‌های مربوط به جامعه زنان را تشکیل می‌دهد، ولی پنجمین علت مرگ و میر ناشی از بدخیمی در زنان است. در آمریکا، تقریباً ۲۲۲۸۰ مورد جدید و ۱۵۵۰۰ مرگ ناشی از سرطان تخمدان در سال ۲۰۱۲ پیش‌بینی شده است(۲). یکی از علل کشنده‌بودن سرطان تخمدان این است که در بیش از ۷۰٪ زنان بیماری در مرحله پیشرفته تشخیص داده می‌شود. ارتباط نزدیکی بین مرحله شروع بیماری و بقا وجود دارد، بنابراین، تشخیص زودهنگام سرطان تخمدان بهترین روش برای کاهش مرگ و میر و کنترل بلند مدت بیماری است(۳).

خطر اینکه یک زن در طول عمر خود به سرطان تخمدان مبتلا شود ۱/۵-۱درصد و مرگ ناشی از آن تقریباً ۵۰ درصد است. ارتباط معکوس سرطان تخمدان با دفعات بارداری و زایمان گزارش شده در حالیکه ارتباط آن بانازایی مستقیم است. هم چنین بلوغ زودرس و یائسگی دیررس خطر ابتلا به سرطان تخمدان را افزایش می‌دهد(۴). سرکوب تخمک‌گذاری ممکن است یک عامل مهم در جلوگیری از ابتلا به سرطان تخمدان باشد. از آنجایی که اپیتلیوم سطحی تخمدان تخریب مکرر و ترمیم را تجربه می‌کند، می‌تواند منجر به افزایش از جهش خودبخودی شده که موتاسیون ژرمینال را آشکار ساخته یا منتهی به فنوتیپ انکوژن می‌شود(۵). عدم تشخیص صحیح مراحل اولیه بیماری، نبود تست‌های غربالگری مناسب و علائم اولیه نامشخص منجر به تشخیص دیرهنگام این بیماری می‌شود. وقتی این بیماری در مرحله اولیه شناخته شود احتمال درمان آن بسیار بالا می‌رود(۶).

با وجود اینکه سرطان تخمدان بیشترین میزان مرگ را در بین بیماری‌های زنان دارد هنوز استراتژی‌های غربالگری کارامدی ایجاد و یافت نشده است. یک تست غربالگری ایده‌آل برای سرطان تخمدان باید از حساسیت بالایی جهت تشخیص صحیح تمام زنان مبتلا و اختصاصیت بالا جهت حذف جواب‌های مثبت کاذب برخوردار باشد. روش‌های غربالگری رایج شامل معاینه بالینی، CA-125 و سونوگرافی واژینال می‌باشد که تنها به شناسایی مرحله اول بیماری در ۳۰ تا ۴۵ درصد از زنان مبتلا کمک می‌کند. امروزه از تومورمارکرها برای شناسایی زودرس بیماری و یا بررسی بهبود بیمار استفاده می‌شود(۷).

یکی از حساس‌ترین تومورمارکرهایی که به تازگی در دهه گذشته شناخته شده *HE4* است که پروتئینی با وزن ملکولی حدود ۲۵ کیلودالتون، از نوع WAP می‌باشد که توسط ژن WFDC2 واقع در کروموزوم q1213.120 کد می‌شود. ژن WFDC2 در سرطان تخمدان بیان بالایی دارد، در حالیکه بیان آن در بافت تخمدان سالم پایین است. بالاترین بیان آن در بافت‌های نرمال متعلق به سلول‌های اپیتلیال غددی و تنفسی است. این پروتئین در تومور تخمدان بالا می‌رود و مقدار *HE4* mRNA در تیپ‌های مختلف سرطان تخمدان افزایش پیدا می‌کند. اندازه‌گیری *HE4* در ادرار می‌تواند برای تشخیص و پیگیری پاسخ به درمان سرطان تخمدان کمک‌کننده باشد(۸).

بیان *HE4* در زیرگروه‌های خاص سرطان تخمدان، به میزان ۱۰۰٪ در اندومتروئید و در سرطان تخمدان سروزی ۹۳٪ افزایش می‌یابد که می‌تواند به تفکیک تیپ‌های مختلف توموری کمک کند. این بیومارکر دارای حساسیت ۹۵٪ و اختصاصیت ۷۲/۹ می‌باشد(۹).

هدف از این مطالعه بررسی میزان افزایش بیان *HE4* در نمونه‌های بافت سرطان تخمدان و ارتباط آن با مراحل پیشرفت بیماری می‌باشد تا راهکاری احتمالی برای تشخیص و یا حتی درمان صحیح برای بیماران مبتلا به

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-27]

سرطان تخمدان در مراحل اولیه بیماری فراهم آید.

روش بررسی

جمع‌آوری و نگهداری نمونه‌ها: برای انجام این مطالعه بلوک پارافینه مورد استفاده قرار گرفته از بیمارستان‌های دولتی و خصوصی جمع‌آوری شده و پس از بررسی لام‌های رنگ‌آمیزی شده بیماران و تایید متخصص پاتولوژی بلوک‌های پارافینی مناسب جهت برش‌گیری انتخاب شدند و به آزمایشگاه انتقال داده شد. جمعیت مورد مطالعه شامل ۲۰ نمونه از افراد مبتلا به سرطان تخمدان و ۱۰ فرد سالم بود. پس از بررسی لام‌ها، برش‌های به ضخامت ۱۰ میکرون از بلوک پارافینه تهیه گردید. افراد انتخاب شده از نظر سنی در طیف ۲۷-۷۱ سال قرار داشتند و نمونه‌ها مربوط به سال ۹۲-۱۳۹۱ بود.

استخراج RNA از بافت پارافینه: برای استخراج RNA پس از برش‌گیری، نمونه‌ها به کمک زایلن دپارافینه و به دنبال آن زایلن به کمک اتانول از نمونه‌ها جدا گردید. پس از لیز بافت توسط پروتئیناز k و بافر مربوطه استخراج RNA از نمونه‌ها با کمک پروتکل بهینه‌شده درمطالعه قبلی و محلول RNX Plus انجام شد(۱۰). پس از استخراج، کیفیت RNAها توسط اسپکتروفتومتری و بررسی جذب نوری ۲۶۰/۲۸۰ نانومتری ارزیابی گردید.

سنتز cDNA از روی RNA: ابتدا ۱۰ ماکرولیتر RNA template، به همراه ۱ ماکرولیتر از dNTP 10Mm و ۱ ماکرولیتر Random Hexamer و به دنبال آن ۱ ماکرولیتر Oligo dt مخلوط گردید. سپس لوله را به مدت ۵ دقیقه در ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس مقدار ۲ ماکرولیتر از MMuLV 10X buffer و ۰/۵ ماکرولیتر آنزیم M-MuLV به مخلوط اضافه شد در نهایت آب را اضافه کرده و حجم نهایی به ۲۰ ماکرولیتر رسید. درآخر لوله نهایی به مدت ۱ ساعت در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید(۱۰).

طراحی پرایمرهای اختصاصی برای ژن *GAPDH* و همچنین ژن *HE4*: توالی ژن *GAPDH* که به عنوان شاهد داخلی مورد استفاده قرارگرفت و همچنین ژن *HE4* از بانک ژنی سایت NCBI به دست آمد و توسط برنامه express Primer پرایمرهای اختصاصی آنها طراحی گردید. به منظور تایید اختصاصیت و دقت پرایمرهای طراحی شده، توالی آنها در NCBI وGene Runner بلاست گردید. توالی پرایمرهای ذکر شده در جدول۱ آورده شده است.

جدول ۱: مشخصات پرایمره

نام	پرایمر	اندازه قطعه
HE4-F	GTGTCCTGTGTCACTCCCAA	62 bp
HE4-R	CTCTCCTCACTGCTCAGCCT	
GAPDH F	ATGGAGAAGGCTGGGGCT	124 bp
GAPDH R	ATCTTGAGGCTGTTGTCATACTTCTC	

بهینه‌کردن فاکتورهای اساسی تکنیک Real Time-PCR برای ژن *GAPDH* و *HE4*: برای این منظور واکنش‌های جداگانه برای ژن مورد نظر و ژن کنترل داخلی در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر تهیه شد. واکنش‌ها به صورت موازی در دستگاه ABI7500 گذاشته شد. در هر واکنش از 10 µM SYBR TM(2X)®Premix و (10µM Reverse and Forward Primer) و cDNA الگو به غلظت ۲ میکروگرم استفاده شد.

واکنش دمایی شامل ۴۰ چرخه کامل ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه می‌باشد. به منظور تایید قطعه تکثیر شده و اطمینان از عدم وجود محصول غیراختصاصی، پرایمر دایمر و آلودگی از آنالیز منحنی تفکیک استفاده شد. پس از بهینه‌سازی تست، RNA کلیه نمونه‌ها استخراج و پس از تایید کیفیت RNA های به دست آمده، سنتز cDNA

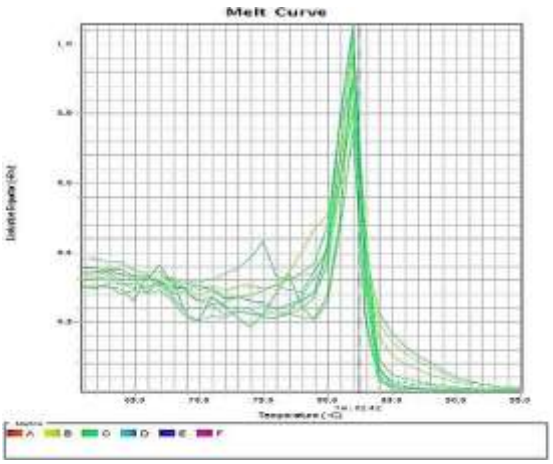
[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-27]

بر روی نمونه‌ها صورت گرفت. ct نمونه‌ها پس از انجام واکنش تکثیر، توسط دستگاه محاسبه و به Relativequantification (RQ) یا میزان بیان تبدیل شد و سپس اندازه‌گیری میزان بیان ژن با روش ΔΔct انجام شد. میزان بیان نمونه‌های بیمار به صورت مقایسه‌ای با نمونه‌های نرمال بیان گردید که در این امر نتایج به دست آمده نسبت به میزان بیان همان ژن در بافت نرمال می‌باشد. پس از انجام واکنش، داده‌های خام به صورت ct از دستگاه استخراج شد و اندازه‌گیری میزان بیان با روش ΔΔ Ct انجام شد. سپس با استفاده از نرم‌افزار Graph pad نمودار بیان ژن رسم گردید.

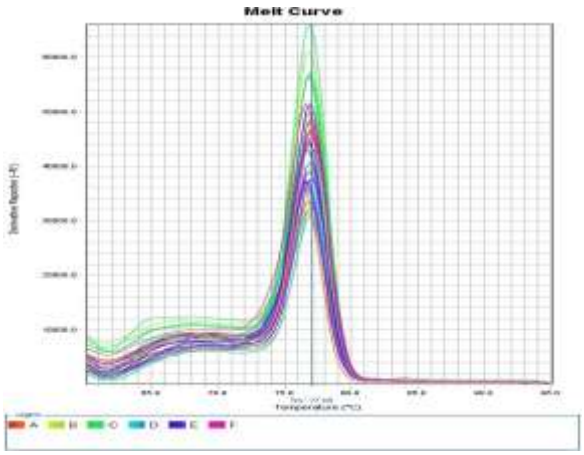
در این مطالعه برای بررسی آنالیز بیان ژن از روش PCR Real time استفاده شد، که نسبت به روش‌های متداول قبلی در زمان کمتری و با سرعت بالاتری انجام گرفت، به علاوه حساسیت این روش بسیار بالاست که تشخیص قبل، حین و بعد از درمان را امکان‌پذیر می‌نماید.

نتایج

نتایج جذب نوری RNA های استخراج شده جهت استفاده در مرحله سنتز cDNA توسط دستگاه اسپکتروفتومتری مورد تایید قرار گرفت. به منظور بررسی اختصاصیت پرایمرها و رنگ فلورسانس(syber green)، و اطمینان از تکثیر قطعات اختصاصی و بررسی عدم وجود قطعات غیر اختصاصی در محصول PCR نمودار منحنی ذوب(نمودار ۱) برای ژن *HE4* و *GAPDH* به صورت جداگانه توسط دستگاه Real time PCR (ABI 7500) رسم گردید. که این امر تاییدی بر اتصال صحیح پرایمرها به ژن *HE4* و محصول Real time PCR به دست آمده دقیقاً برای ژن مورد نظر می‌باشد.



HE4

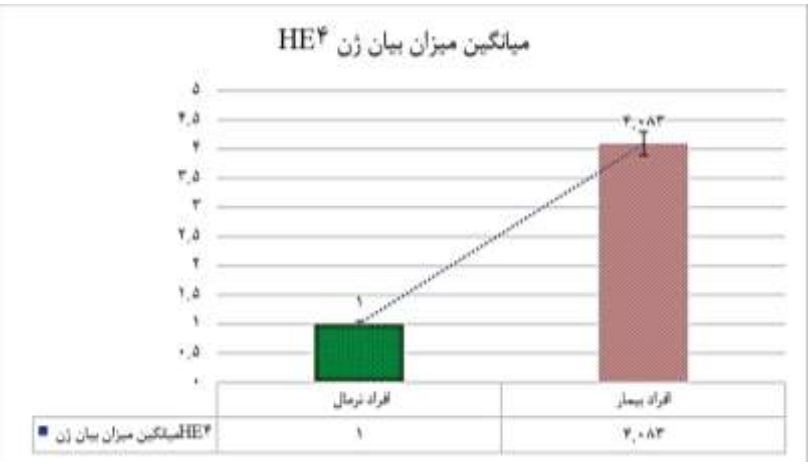


GAPDH

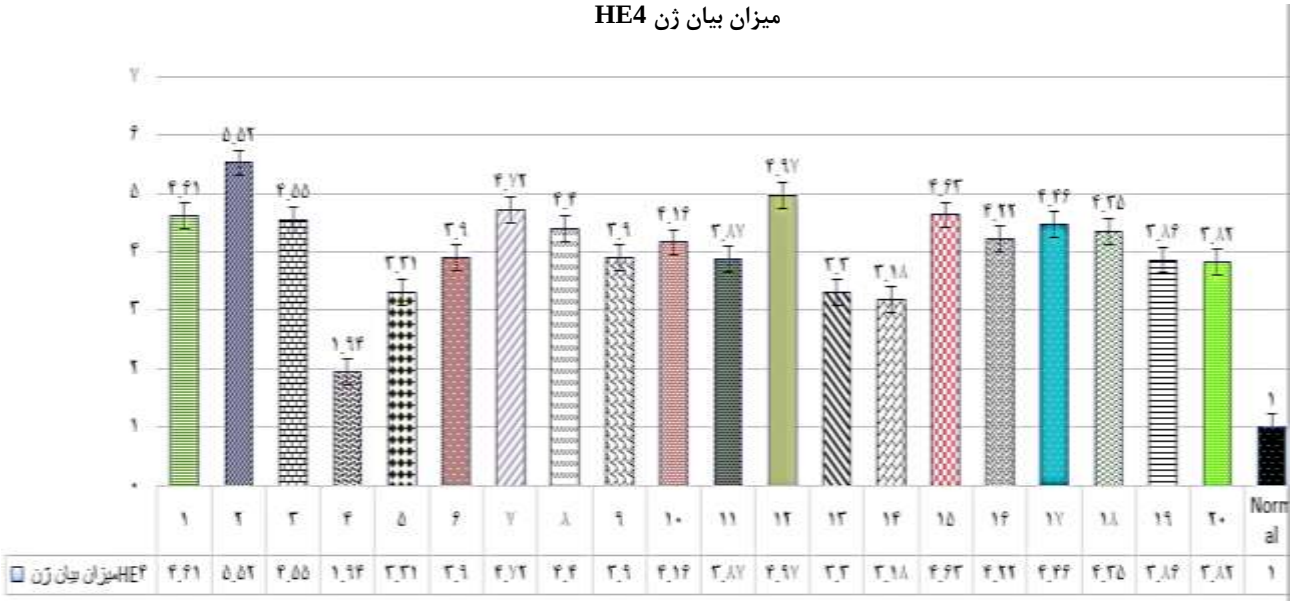
نمودار ۱: آنالیز منحنی ذوب ذوب ژن‌های *GAPDH – HE4*

RQ نمونه ها توسط دستگاه محاسبه و نمودار آن رسم گردید و نتایج به دست آمده توسط نرم افزار Graph pad رسم گردید(نمودار ۳). نتایج نشان داد که میزان بیان ژن *HE4* در افراد بیمار نسبت به نرمال به میزان ۴/۰۸۳ برابر نسبت به نمونه نرمال افزایش داشته است(نمودار ۲).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-27]



نمودار۲: میانگین افزایش بیان ژن در افراد بیمار و نرمال



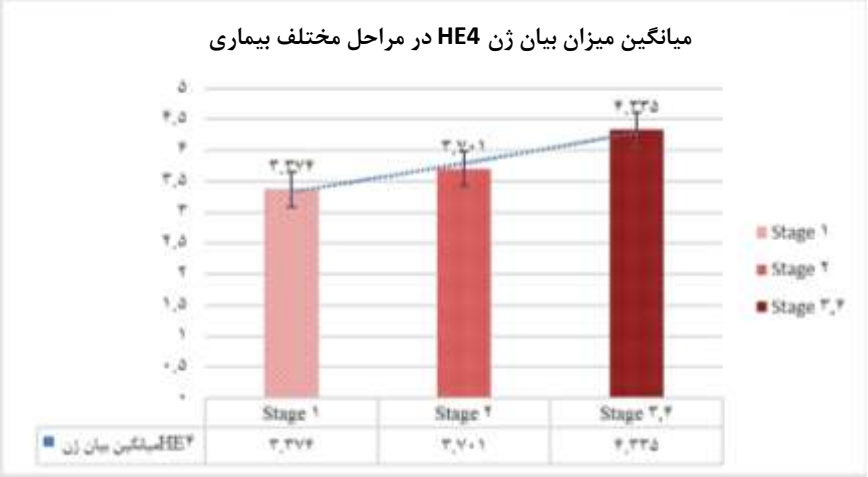
نمودار۳: میزان بیان ژن *HE4* در نمونه‌های بیمار نسبت به کنترل p=۰/۰۰۰۵

ده نمونه نرمال استفاده شد که برای بررسی بهتر، نمونه‌ها به صورت نرمال در دستگاه ثبت شده و دستگاه میانگین RQ آنها را محاسبه کرده و به عنوان یک عدد واحد در نظر گرفته شد و میزان بیان کلیه نمونه‌ها نسبت به این عدد محاسبه گردید.

همانطور که در نمودار ۳ مشاهده می‌شود تمام نمونه‌های بیمار در مقایسه با نمونه نرمال افزایش بیان نشان می‌دهند. بیشترین بیان مربوط به نمونه‌های ۲،۱، ۱۲و ۱۵ می‌باشد، که تمام آنها در مرحله سه(III) بیماری قرار دارند. نمونه‌های ۵، ۱۳، و ۱۴ در مرحله دو(II) بیماری قرار داشته که نسبت به نمونه‌های مرحله سه میزان بیان کمتری داشته و نمونه ۴ با کمترین میزان بیان مربوط به بیماران مرحله یک(I) بوده که میزان بیان آنها نسبت به دو مرحله دو و سه به شدت کاهش یافته است. در بررسی‌های دقیق‌تر و با تفکیک مرحله بیماری افراد، مشخص گردید که، میانگین افزایش بیان ژن *HE4* در مرحله ۱ بیماری برابر با ۳/۳۷۴، P<۰/۰۰۱ و در مرحله ۲

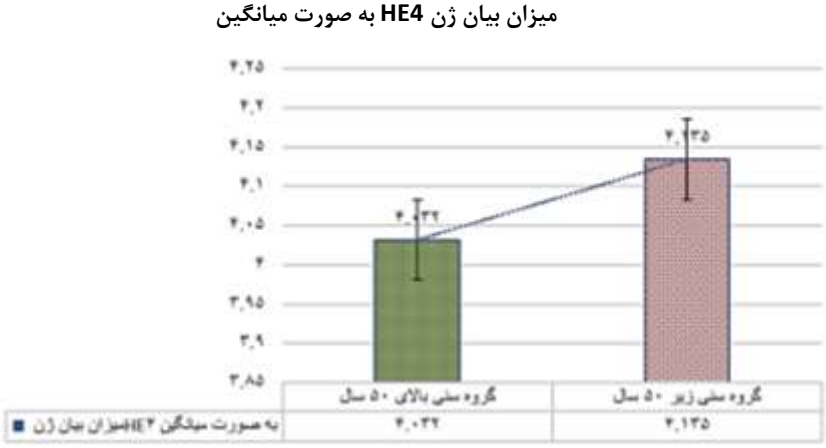
[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-27]

بیماری برابر با ۳/۷۰۱، P<۰/۰۰۱ و در مرحله ۳ و۴ برابر با ۴/۳۳۵، P<۰/۰۰۱ است(نمودار ۴). که این امر نشان‌دهنده آن است که ژن *HE4* با افزایش مرحله بیماری افزایش می‌یابد و بیان این ژن همراه پیشرفت بیماری می‌باشد.



نمودار۴: نمودار مقایسه بیان ژن *HE4* افراد بیمار در مراحل مختلف بیماری در مقایسه با افراد سالم
بین بیان ژن *HE4* در افراد بیمار با افراد نرمال اختلاف معنی داری مشاهده شد(p=۰/۰۰۰۲)

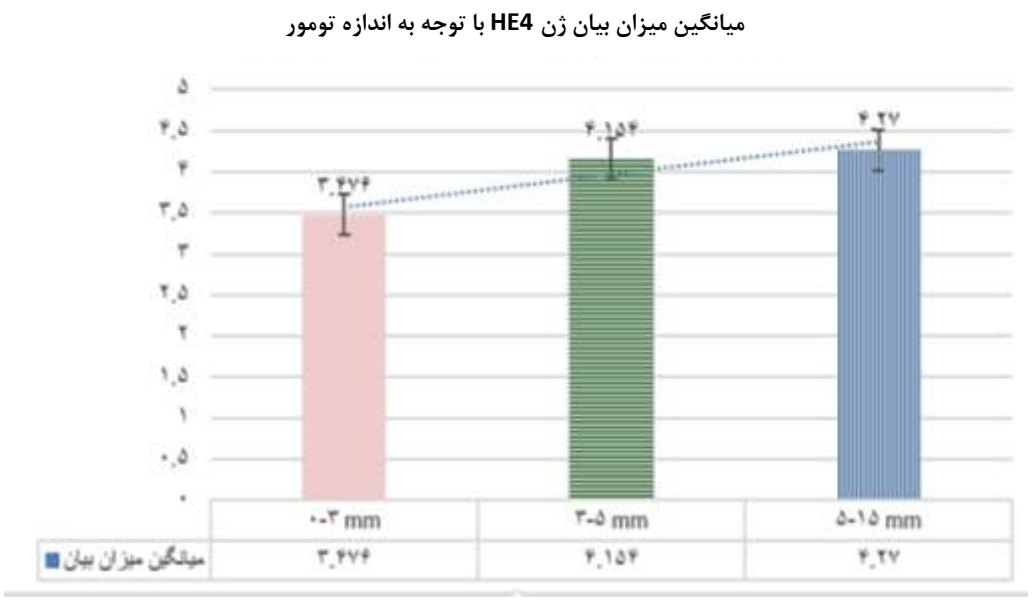
همچنین با بررسی نتایج بین دو گروه سنی افراد بالای ۵۰ سال و پایین ۵۰ سال مشخص شد که بیان این ژن با افزایش سن کاهش می‌یابد، و در افراد بالای ۵۰ سال بیان این ژن به صورت میانگین ۴/۰۳۲ می‌باشد در صورتی که بیان این ژن در افراد زیر ۵۰ سال میانگین بیانی برابر با ۴/۱۳۵ به دست آمد(نمودار۵).



نمودار ۵: مقایسه بیان ژن *HE4* در دو گروه سنی بیشتر از ۵۰ سال و کمتر از ۵۰ سال
بین بیان ژن *HE4* در افراد بیمار در رده سنی مختلف در مقایسه با افراد نرمال اختلاف معنی‌داری مشاهده شد(p=۰/۰۰۰۵).

در آنالیز نمونه‌ها با توجه به اندازه تومور مشخص شد که با افزایش اندازه تومور میزان بیان این ژن نیز افزایش می‌یابد و می‌توان بیان نمود که اندازه تومور نیز در میزان بیان این ژن نقش دارد(نمودار ۶).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-27]



نمودار۶: مقایسه بیان ژن*HE4* در سه گروه با توجه به اندازه تومور

بین بیان ژن *HE4* در افراد بیمار با اندازه تومور مختلف در مقایسه با افراد نرمال اختلاف معنی داری مشاهده شد(p=۰/۰۰۰۱).

بحث

تا کنون علت اصلی سرطان تخمدان یافت نشده است ولی بسیاری از محققین هورمون‌های تولید مثلی را از جمله عوامل ایجاد این بیماری می‌دانند. Fathalla در سال ۱۹۷۱ با ارائه تئوری تخمک‌گذاری پی در پی به ارتباط بین تعداد تخمک‌گذاری و شکل‌گیری تومورهای بدخیم بر سطح تخمدان اشاره کرد(۱۱).

در درمان‌های کلینیکی رایج، برای تشخیص سرطان تخمدان بیشتر از CA125 و سونوگرافی لگن استفاده می‌شود. اگرچه در ۲۰٪ از موارد سرطان تخمدان CA125 بیان نمی‌شود و این مارکر همچنین در بسیاری از بیماری‌های خوش‌خیم زنان و غیرزنان بالا می‌رود. به علاوه، حساسیت و اختصاصیت CA125 برای غربالگری جمعیت برای تشخیص سرطان تخمدان در مرحله اولیه به اندازه کافی بالا نیست. بنابراین تلاش‌های بسیاری برای ارتقا عملکرد تشخیصی توسط مارکرها و یا مارکرهای ترکیبی و همچنین برخی مارکرها شامل مزوتلین، CA74-4، inhibin، kallikreins و osteopontin، برای تکمیل اثر CA125 و افزایش حساسیت و اختصاصیت آن در تشخیص مرحله اولیه بیماری صورت گرفته است. در بین این مارکرها اپیدیدیم انسانی ۴(*HE4*)، که (WFDC2: WAP-type four disulphide core 2) ، نیز گفته می‌شود یکی از مارکرهای با ارزش برای افزایش اختصاصیت و حساسیت می‌باشد. این پروتئین در سلول‌های سرطان تخمدان، به ویژه در زیرگروه‌های هیستولوژیک سروز یا کارسینوما اندومتریوئید، بیان می‌شود. در یک مطالعه اخیر، *HE4* به صورت جداگانه و یا به صورت ترکیبی با CA125، در بین ترکیبات دیگر بالاترین حساسیت را به ویژه در مرحله اولیه سرطان تخمدان نشان داد(۱۲).

HE4 اولین بار در غشای بیرونی قسمت دیستال اپیدیدیمیس شناسایی شد و در اصل به عنوان پروتئاز سرکوبگر درگیر در بلوغ اسپرم پیش‌بینی شد. همچنین گزارش شده است که *HE4* معمولاً در بافت نئوپلاستیک تخمدانی بیشتر بیان می‌شود و در سرم بیماران مبتلا به سرطان تخمدان بالا می‌رود. تحقیقات جدید نشان می‌دهند که حساسیت بالای *HE4* در مقایسه با CA125 مخصوصاً در مراحل اولیه بیماری بالاست دو آنتی‌بادی مونوکلونال تولید

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-27]

شده علیه آن شامل: H52، D83 به عنوان اپی توپ‌های مختلف آن شناخته شده‌اند. این آنتی‌بادی‌های مونوکلونال به منظور توسعه روش‌های مبنی بر الایزا ELISA برای اندازه‌گیری *HE4* در زنان پس از منوپوز بکار گرفته شده‌اند(۱۳).

در مقاله منتشر شده در سال ۲۰۰۳ در مجله Cancer Research *HE4* در ۳۷ بیمار مبتلا به سرطان تخمدان، ۶۵ فرد سالم و ۱۹ بیمار مبتلا به بیماری‌های خوش‌خیم تخمدان مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر آن سطح CA125 در همه بیماران به منظور مقایسه آن اندازه‌گیری شد. آنالیز داده‌ها حکایت از آن داشت که *HE4* و CA125 از نظر حساسیت و ویژگی قابل مقایسه بوده‌اند، اگر چه *HE4* برای تشخیص زودرس سرطان تخمدان در مقایسه با بیماری‌های خوش‌خیم آن، مارکر بهتری است(۱۴). در سال ۲۰۰۵ و ۲۰۰۶، Drapkin و Galgano و همکاران بیان *HE4* را در یک سری بافت‌های نرمال و بدخیم بررسی کردند و سطوح بالایی از *HE4* mRNA را در ریه افراد بیمار مشاهده کردند. مطالعات ریزآرایه‌ای بافت نشان می‌دهد که پروتئین *HE4* هم در سلول‌های نرمال و هم بدخیم تخمدان و رحم موجود است(۱۵).

در سال ۲۰۱۰، Lu و همکاران از آنالیز آرایه اولیگو استفاده کردند و مشاهده کردند که *HE4* نسبت به برون پوش تخمدان نرمال در سرطان تخمدان بیان بالاتری دارد(۱۶). Moore و همکاران در یک مطالعه گذشته‌نگر ۷۶.۵٪ و اختصاصیت ۹۵٪ را هنگام بکارگیری همزمان CA-125 و *HE4* در تمایز ضایعات خوش‌خیم و بدخیم گزارش کردند(۱۷،۱۸).

تاکنون بکارگیری تست تعیین میزان *HE4* به عنوان یک آزمون غربالگری جهت پیش تشخیص ابتلا به سرطان تخمدان و یا تشخیص در مراحل اولیه در ایران مورد بررسی قرار نگرفته و نتایج این مطالعه می‌تواند به عنوان گامی کاربردی در غربالگری و تشخیص به موقع سرطان تخمدان به حساب آید.

نتیجه‌گیری

نتایج حاکی از افزایش بیان ژن *HE4* در تمام نمونه‌های مورد مطالعه بود به طوریکه بین افزایش بیان با اندازه تومور و مرحله بیماری ارتباط مستقیم دیده شد. از این رو به نظر می‌رسد استفاده از تکنیک‌های دقیق مولکولی جهت استفاده از *HE4* به عنوان مارکری جهت پیش‌آگهی از نحوه رفتار تومور در افراد بیمار، در کنار سایر عوامل اجتناب‌ناپذیر است.

References:

1- Lalwani N, Prasad SR, Vikram R, Shanbhogue AK, Huettner PC, Fasih N. ***Histologic, molecular, and cytogenetic features of ovarian cancers: implications for diagnosis and treatment.*** Radiographics 2011; 31(3): 625-46.

2- Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. ***Cancer statistics.*** CA Cancer J Clin 2012; 62(1): 10-29. Cancer statistics. CA: a cancer J Clinic 2011; 4: 212-36.

3- Rauh-Hain JA, Krivak TC, del Carmen MG, Olawaiye AB. ***Ovarian cancer screening and early detection in the general population.*** Rev Obstet Gynecol 2011; 4(1): 15-21.

4- Chen VW, Ruiz B, Killeen JL, Coté TR, Wu XC, Correa CN, et al. ***Pathology and classification of ovarian tumors.*** Cancer 2003; 97(S10): 2631-42.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-27]

5- Heravi-Moussavi A, Anglesio MS, Cheng SWG, Senz J, Yang W, Prentice L, et al. ***Recurrent somatic DICER1 mutations in nonepithelial ovarian cancers.*** N Engl J Med 2012; 366(3): 234-42.

6- Badgwell D, Bast Jr RC. ***Early detection of ovarian cancer.*** Dis Markers 2007; 23(5,6): 397-410.

7- Bast Jr RC, Klug TL, John ES, Jenison E, Niloff JM, Lazarus H, et al. ***A radioimmunoassay using a monoclonal antibody to monitor the course of epithelial ovarian cancer.*** N Engl J Med 1983; 309(15): 883-87.

8- Rosen DG, Wang L, Atkinson JN, Yu Y, Lu Kh, Diamandis EP, et al. ***Potential markers that complement expression of CA125 in epithelial ovarian cancer.*** Gynecol Oncol 2005; 99(2): 267-77.

9- Drapkin R, von Horsten HH, Lin Y, Mok SC, Crum CP, Welch WR, et al. ***Human epididymis protein 4 (HE4) is a secreted glycoprotein that is overexpressed by serous and endometrioid ovarian carcinomas.*** Cancer Res 2005; 65(6): 2162-69.

10- Izadi A, Moslemi E, Poorhosseini SM, Yassaee VR, Kheiri HR, Elikai HR. ***UBDidentify inparaffin tissues in patients with colorectal cancer.*** J Isfahan Med Sch 2014; 32(291): 1-10.

11- Fleming JS, Beaugié CR, Haviv I, Chenevix-Trench G, Tan OL. ***Incessant ovulation, inflammation and epithelial ovarian carcinogenesis: Revisiting old hypothesis.*** Mol Cell Endocrinol 2006; 247(1): 4-21.

12-Yongjung Park, Jong-Han Lee, Duck Jin Hong, Eun Young Lee, Hyon-Suk Kim. ***Diagnostic performances of HE4 and CA125 for the detection of ovarian cancer from patients with various gynecologic and non-gynecologic diseases.*** 2011; 884-88.

13- Anastasi E, Marchei GG, Viggiani V, Gennarini G, Frati L, Reale MG. ***HE4: a new potential early biomarker for the recurrenceof ovarian cancer.*** Tumor Biol 2010; 31(2): 113-19.

14- Hellström I, Raycraft J, Hayden-Ledbetter M, Ledbetter JA, Schummer M, McIntosh M, et al. ***The HE4 (WFDC2) protein is a biomarker for ovarian carcinoma.*** Cancer Res 2003; 63(13): 3695-700.

15- Bingle L, Singleton V, Bingle CD. ***The putative ovarian tumor marker gene HE4 (WFDC2), is expressed in normal tissues and undergoes complex alternative splicing to yield multiple protein isoforms.*** Oncogene 2002; 21(17): 2768-73.

16- Tian C, Markman M, Zaino R, Ozols RF, McGuire WP, Muggia FM, et al. ***CA-125 change after chemotherapy in prediction of treatment outcome among advanced mucinous and clear cell epithelial ovarian cancers: a Gynecologic Oncology Group study.*** Cancer 2009; 115(7): 1395-403.

17- Moore RG, Brown AK, Miller MC, Skates S, Allard WJ, Verch T, et al. ***The use of multiple novel tumor biomarkers for the detection of ovarian carcinoma in patients with pelvic mass.*** Gynecol Oncol 2008: 108(2): 402-08.

18- Moore RG, Brown AK, Miller MC, Badgwell D, Lu Z, Allard WJ, et al. ***Utility of a Novel Serum Tumor biomarker HE4 in Patients with Endometrioid Adenocarcinoma of the Uterus.*** Gyn Onc 2008; 110(2): 196-201.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-27]

HE4 Gene Overexpression in Ovarian Cancer

Shahi A (MSc) [1]***, Moslemi E (PhD)*** *[2]***, Izadi A (PhD)*** [3]

[1] *Department of Biology, Islamic Azad University, Tehran East, Tehran, Iran.*
[2] *Young Researchers and Scholars Club, Islamic Azad University, Tehran East, Tehran, Iran.*
[3] *Bunge Oxir Research Institute, Islamic Azad University, Tehran East, Tehran, Iran.*

Received: 22 May 2015 ***Accepted:*** 15 Oct 2015

Abstract

Introduction: Ovarian cancer is one of the common malignancies within women and the fifth cause of cancer death in women all over the world. Recent developments in Genomics and Proteomics technologies have led to the identification of unknown candidate markers for the diagnosis of ovarian cancer. Human epididymis protein 4 (*HE4*) has recently been supported to monitor the recurrence or the progression of epithelial ovarian cancer. Therefore, this study aimed to measure the expression of *HE4* in women suffering from ovarian cancer.

Methods: In this study, 20 paraffin-embedded tissue samples from women with ovarian cancer and 10 normal samples were collected from Imam Khomeini Hospital in Tehran. After removing paraffin, RNA extraction was performed with RNAPlus solution. cDNA was synthesized through reverse transcription by MMULV enzyme. Gene expression was measured by Relative Real time PCR method. Glyceraldehyde phosphate dehydrogenase gene (*GAPDH*) was used as an internal control.

Results: The *HE4* was expressed in normal and cancerous tissues, though its expression was observed more in tumor tissues (4.083) than noncancerous tissues. The study results also revealed that the expression level of *HE4* increased with the advancement of the disease .

Conclusion: According to the results, it can be concluded that *HE4* expression levels greatly increases in tumor samples. Therefore, *HE4* gene expression measurements can serve as a valuable prognostic factor for early detection and treatment management of the disease .

Keywords: *HE4* Gene; Ovarion cancer; Tumor marker

This paper should be cited as:
Shahi A, Moslemi E, Izadi A. ***HE4 Gene Over Expression in Ovarian Cancer.*** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2016; 23(12): 1179-88.

Corresponding author: Tel: 09123355872, Email: Elham_moslemi60@yahoo.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-27]