Investigating lncRNA *GAPLINC* Expression Level in Metastatic and Non-Metastatic Triple-Negative Breast Cancer Samples

Shiva Soleimani[1], Farkhondeh Pouresmaeili*[2], Iman Salahshourifar[1]

1.Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2.Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine & Men's Health and Reproductive Health Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Abstract

Aim and Background: For the first time in this study, we investigated the expression level of lncRNA *GAPLINC* in metastatic and non-metastatic triple-negative breast cancer tissue samples using real-time PCR technique in order to find a possible marker in the diagnosis of metastatic triple-negative breast cancer.

Materials and Methods: After selecting the candidate lncRNA and designing primers on target gene sequence, the expression level of lncRNA *GAPLINC* was quantified using RT-qPCR with specific primers and SYBR Green on 50 fresh tissue samples, including 20 triple-negative metastatic and 20 non-metastatic breast cancer tissues, and 10 control tissue samples. The internal control used in this study included the *β-actin* gene, a more suitable control in terms of stability of expression compared to other genes in breast cancer molecular tests. GraphPad Prism software was used for statistical analysis and Adj. p-value < 0.05 was considered as a significant level.

Results: An increase was observed in the expression level of lncRNA *GAPLINC* in triple-negative breast cancer samples compared to non-metastatic triple-negative breast cancer samples, with Adj. p-value < 0.05.

Conclusion: *GAPLINC* can serve as a potential biomarker in the diagnosis of metastatic from non-metastatic breast cancer.

Keywords: Breast cancer, Triple negative, Metastatic, lncRNA *GAPLINC*, Biomarker.

*Corresponding Author:
Farkhondeh Pouresmaeili,Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine & Men's Health and Reproductive Health Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran,Iran.
Email:pouresfar@gmail.com.

بررسی میزان بیان **lncRNA *GAPLINC*** در نمونه های سرطان پستانِ سه گانهٔ منفی در نمونه های متاستاتیک و غیرمتاستاتیک

شیوا سلیمانی[۱]، فرخنده پوراسماعیلی*[۲]، ایمان سلحشوری فر[۱]

۱. گروه زیست شناسی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات سلامت مردان و سلامت باروری ، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: هدف از این مطالعه بررسی میزان بیان lncRNA *GAPLINC* برای اولین بار در نمونه های بافت سرطان پستان سه گانهٔ منفیِ متاستاتیک و غیرمتاستاتیک با استفاده از تکنیک Real-Time PCR به منظور یافتن مارکرِ احتمالی در تشخیص سرطان پستان سه گانهٔ منفیِ متاستاتیک می باشد.

مواد و روش‌ها: پس از انتخاب lncRNA کاندید و طراحی پرایمرها بر روی توالیِ ژنِ هدف، RT-quantitative PCR با استفاده از پرایمرها و سایبرگرین بر روی ۵۰ نمونهٔ بافت تازه شامل ۲۰ نمونهٔ بافت سرطان پستانِ سه گانهٔ منفیِ متاستاتیک، ۲۰ نمونهٔ بافت سرطانِ پستان غیرمتاستاتیک و ۱۰ نمونهٔ کنترل انجام شد. در این مطالعه از ژن *β-actin* به عنوان کنترل داخلی استفاده گردید که طبق مطالعه‌های صورت‌گرفته کنترل مناسبتری از نظر پایداریِ بیان در مقایسه با سایر ژنها در آزمایش‌های مولکولیِ سرطانِ پستان می باشد.

برای آنالیز آماری از نرم‌افزار GraphPad Prism استفاده و Adj. p-value < ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری درنظر گرفته شد.

یافته‌ها: افزایشی در سطحِ بیانِ lncRNA *GAPLINC* در نمونه‌های سرطانِ پستان سه‌گانهٔ منفی در مقایسه با نمونه‌های سرطان پستان سه‌گانهٔ منفیِ غیرمتاستاتیک با مقدار p کمتر از ۰/۰۵ مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: *GAPLINC* می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر زیستیِ بالقوّه در تشخیص سرطانِ پستانِ متاستاتیک از غیرمتاستاتیک عمل کند.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، سه گانهٔ منفی، متاستاز، lncRNA *GAPLINC*، بیومارکر.

نویسنده مسئول: گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات سلامت مردان و سلامت باروری ، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ، تهران، ایران

- پست الکترونیکی:
pouresfar@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۱۴

۱- مقدمه

سرطان پستان، شایعترین سرطان در بین زنان در سراسر جهان است که حدود ۱۰ درصد از آنان را در مراحلِ مختلف زندگی مبتلا ساخته و ابعاد مختلف زندگی آنها را تحت‌تأثیر قرار میدهد. این سرطان، شایع‌ترین بدخیمی در میان زنانِ ایرانی است (۱، ۲). اگرچه میزان مرگ ومیرِ ناشی از آن روبه‌کاهش است ولی در بین شایع‌ترین دلیل مرگ‌ومیر سرطان در زنان، در ردهٔ دوم قرار دارد. سرطانِ پستان انواع متفاوتی دارد که این دسته بندیها براساسِ بافتِ درگیر، تهاجمی و غیرتهاجمی بودن و مارکرهای مولکولیِ رسپتورهای (گیرنده‌ها) استروژن و پروژسترون و فاکتور رشد اپیدرمی صورت میگیرد (۶-۳).

حدود ۱۰ الی ۲۰ درصد از سرطانهای پستان، سه گانهٔ منفیِ سرطانی هستند که از نظر گیرنده های استروژن، گیرنده‌های پروژسترون و همچنین پروتئینِ اضافیِ HER2[1] منفی است (۷). احتمال عودِ این سرطان یا عودِ مجدد پس از درمان، بیشتر از سایر سرطان‌های پستان است. این خطرِ عود در حدود ۳ سال پس از تشخیص بیشتر است (۱۰-۸). خطر عودِ دیرهنگام بعد از پنج سال در افراد مبتلا به سرطانِ سه گانهٔ منفی کمتر است. گرایش به داشتن گرید (درجهٔ) بالاتری نسبت به سایر انواع سرطان پستان دارد و در مقیاس ۱ تا ۳، سرطانِ پستانِ سه گانهٔ منفی اغلب گریدِ ۳ را دارد. این نوع سرطان معمولاً نوعی سلول به نام شبه بازال دارد و به همین دلیل تهاجمی تر بوده و ازآنجاکه هورمون‌های رشد، این نوع سرطان پستان را تحریک نمیکنند با احتمالِ کمتری به داروهای هورمون‌درمانی از جمله تاموکسیفن و مهارکننده های آروماتاز پاسخ میدهد (۱، ۲، ۱۱). بنابراین، شناساییِ lncRNAهای[2] مؤثر در بیان‌ژنهای شناسایی شده و مرتبط با متاستازِ سرطان، بسیار حائز اهمیت میباشند (۱۲).

ژنهای کُدکنندهٔ پروتئین، تنهـــا ۲ تا ۳ درصد از ژنوم انســـان را تشکیل می‌دهند درحالیکه بیش از ۷۵ درصد ژنوم به RNAهای غیرکُدکننده رونویسی میشوند. RNAهای بلند غیرکُدکننده (lncRNA) یک کلاس از رونوشتهای غیرکُدکننده با طول بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید در ژنومِ انســـان میباشـــند کـــه عملکردِ خـــود را از طریق مکانیســـمهای متعددی شـــامل فراخواندن کمپلکس‌های تغییردهندهٔ کروماتین به جایگاههای خاصی از ژنوم و ایجاد داربستهای مولکولی، تعدیل فرایندِ رونویسی و تنظیم بیان miRNAها[3] انجام میدهند. مطالعه‌های اخیر بر نقشِ فزایندهٔ ایـــنlncRNA ها در پاتوژنـــزِ بیماریهای مختلف تأکید دارند و این موضوع که ژنهای کُدکنندهٔ پروتئین تنها عامل در بروز بیماری‌های انسانی هســـتند را به چالش میکشد (۱۳، ۱۴).

غیرکُدکننده یکی از مهم‌ترین فاکتورهای اپی ژنتیکی می‌باشد که نقش حائز اهمیّتی در تنظیم چرخهٔ سلولی، تنظیم بیان‌ژن، ابتلا به بیماریهایی همچون سرطان، فعال کردن سیستم ایمنی، میزان بدخیمی، آنژیوژنز، متاستاز، تومور-زایی، درمان و مقاومتِ دارویی ایفا میکند. این اثرگذاری از طریق مسیرهای متنوع به صورت مستقیم یا از طریق روشهای اپی‌ژنتیک انجام میپذیرد و بیان‌ژنهای مرتبط با متاستاز، مقاومتِ دارویی و یا بدخیمی را دستخوش تغییرها میکند (۱۵). مطالعه‌های گستردهٔ Omics نشان داده اند که lncRNAها میتوانند به عنوان بیومارکر در تشخیص و میزان پیشرفت بدخیمی درنظر گرفته شوند و با نقشی که در تکثیر سلولی و یا آپوپتوز سلولی دارند، گروهی باعث پیشرفت بیماری و گروهی دیگر در جلوگیری از گسترشِ سرطان پستان مؤثر هستند (۱۶-۱۹). افزایش یا کاهش بیانlncRNA ها در برخی سلولهای سرطانی در مقایسه با سلولهای نرمال تأکیدی بر تنوع عملکرد آنها در سلولها و بافتهای متفاوت میباشد و با تأثیر در بیان‌ژن در مقاومت دارویی نیز نقش ویژه ای را ایفا میکنند. همچنین، مطالعه‌هایی نشان داده اند که lncRNAها دارای تأثیر بسیار زیادی بر روندِ سرطان و مخصوصاً بروز متاستاز دارند (۱۵،۲۰ و ۲۱).

GAPLINC یک ژن غیرکُدکننده و یک lncRNAی حفاظت‌شده در انسان و موش میباشد. جایگاه ژنِ آن روی کروموزوم ۱۸ است. این lncRNA به عنوان یک تنظیم کننده در مسیر سیگنالینگ NF-κB[4] نقش دارد. علاوه بر این آزمایش‌ها نشان داده اند که *GAPLINC* با برخی miRNAها در ارتباط بوده و به‌صورت یک lnc اسفنجی با اتصال به برخی miRNAها در تنظیم بیان‌ژن ایفای نقش مینماید. نقش *GAPLINC* در بسیاری از بدخیمی ها به ویژه تهاجمِ بافتی موردبررسی قرار گرفته است. برای مثال، نتایج آزمایشها نشان داده که افزایش بیانِ آن باعث افزایش تهاجم سلولهای سرطانِ کلورکتال میگردد (۶، ۱۴، ۲۲ و ۲۳). علاوه بر این، مطالعه‌هایی به نقش *GAPLINC* در تومورزایی، رگ‌زایی و افزایش تهاجم به سایر بافتها در سرطان معده پرداختند که

[1] Receptor tyrosine-protein kinase erbB-2 (HER2)
[2] Long noncoding RNA (lncRNA)
[3] MicroRNA (miRNA)
[4] Nuclear factor kappa B (NF-κB)

بنابر نتایجِ به‌دست‌آمده، ارتباطِ مستقیمی بین افزایش بیان *GAPLINC* و میزانِ بدخیمی به‌ویژه متاستازِ سرطان معده وجود دارد (۲۴). تاکنون هیچ مطالعه ای بر روی چگونگیِ این lncRNA بر روی متاستازِ سرطانِ پستانِ سه گانهٔ منفی و بررسی نقش بیومارکری آن در این بدخیمی صورت نگرفته است.

۲- مواد و روش‌ها

در این مطالعه، ۲۰ نمونهٔ بافت مبتلا به سرطانِ پستانِ متاستاتیکِ سه گانهٔ منفی و همچنین ۲۰ نمونهٔ بافتِ مبتلا به سرطانِ پستانِ سه گانهٔ منفیِ غیرمتاستاتیک و ۱۰ نمونهٔ بافتِ سالمِ پستان قبل از درمان و پس از تأیید توسط پاتولوژیست از بانک تومور ایران تهیه و نمونه های بافت به آزمایشگاه منتقل شدند. تمامی افراد از نظر جنسیّت خانم بوده و نمونه گیری زیرنظر کمیتهٔ اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم‌و تحقیقات با کُد اخلاق IR.IAU.SRB.REC.۱۴۰۲,۰۰۲ صورت گرفت.

پاتولوژیِ بیمارانِ موردمطالعه نیز در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- پاتولوژی نمونه های مطالعه

مشخصات	تعداد (۵۰)
سن	تعداد (۵۰)
50<	18
50>	32
جنس	تعداد (۵۰)
مرد	0
زن	50
TNM.M stage	تعداد (۵۰)
M0	20
M1	20
سایز تومور	تعداد (۵۰)
۵< سانتی‌متر	21
۵> سانتی‌متر	19

جهت انتخاب lncRNA *GAPLINC* از مقاله‌های مطالعه‌های پیشین استفاده شد که به نقشِ آن در تومورزایی، رگزایی و تهاجمِ بافتی در سرطانهای مختلف اشاره شده است. پس از انتخاب lncRNA هدفِ مطالعه، توالی آن جهت طراحی پرایمر از سایت NCBI دریافت شد و پرایمرها توسط نرم‌افزار Gene Runner طراحی و با سایر نرم افزارها همچون Oligo۷ و NCBI Blast بررسی و تأیید گردیدند. توالی و مشخصات پرایمرها نیز در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲- توالی پرایمر و دمای ذوب جهت انجام Real-Time PCR

نام ژن	نام پرایمر	توالی	دما	اندازهٔ محصول **PCR** (جفت باز)	ژن
GAPLINC	پرایمر فوروارد	3′-AAGCTGGACTCAGGGTATGC-5′	46/59	90	***GAPLINC*** **Ensemble: ENSG00000266835**
	پرایمر ریورس	3′-GGTTTCTTCATTGTTCTGGCCTC-5′	06/60		
β-actin	پرایمر فوروارد	3′-AGAAAATCTGGCACCACACC-5′	38/58	173	***β-actin*** **Ensemble: ENSG00000075624**
	پرایمر ریورس	3′-TAGCACAGCCTGGATAGCAA-5′	80/58		

استخراج RNA با استفاده از ترایزول انجام شد و RNA استخراج شده با آنزیمDNase I (U/µL۱) به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد تیمار شد و کیفیّت RNA کل با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز ۲ درصد بررسی گردید. همچنین غلظت RNAها با استفاده از دستگاه نانودراپ سنجیده شد. جهت تهیهٔ cDNA[5] از کیت AccuPower® RT/PCR PreMix استفاده شد. به این منظور ۱۰ میکرولیتر total RNA و ۲ میکرولیتر کیتprimer random و ۸ میکرولیتر آب مقطر به میکروتیوبِ مخصوص اضافه شد. سپس PCR طبق برنامه ی دمایی (۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱ ساعت و ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه) انجام شد. پس از انجام PCR، با استفاده از دستگاه پیکودراپ، دانسیتهٔ نوری (OD)در ۲۶۰ و ۲۸۰ اندازه گیری شد.

با استفاده از تکنیکِ Real-Time PCR، میزان بیان‌ژن *GAPLINC* به همراه ژنِ کنترل داخلی *β-actin*در همهٔ نمونه‌های متاستاتیک، غیرمتاستاتیک و نرمال بررسی شد. به‌منظور بررسیِ کمّیِ بیان lncRNA از سایبرگرین با حجم واکنش ۱۰ ماکرولیتر مطابق با جدول ۳ و طبق برنامهٔ دماییِ زیر استفاده شد:

ابتدا دناتوراسیونِ اولیه (۱۰ دقیقه، ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد، ۱ چرخه)، سپس ۴۰ چرخه در دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد و مدت زمان ۱۵ ثانیه (دناتوراسیون)، ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد در مدت زمان ۲۵ ثانیه (اتصال) و ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد در دمای ۲۶ ثانیه (گسترش) در شکل ۳ اختصاصیت پرایمرها با منحنیِ ذوب نشان داده شده است.

۱-۲- آنالیز آماری

پس از انجام واکنش real-time PCR برای آنالیز آماری و ترسیم و نمایش نمودارها از نرم‌افزار GraphPad Prism ورژن ۸ استفاده و برای بررسی میزان حساسیت و اختصاصیت، آنالیز ROC انجام شد و $p < ۰/۰۵$ به‌عنوان سطحِ معنادار درنظر گرفته شد (۲۹).

جدول ۳- حجم مواد جهت انجام واکنش Real-Time PCR

مواد لازم جهت واکنش	حجم (ماکرولیتر)
پرایمر فوروارد	5/0
پرایمر ریورس	5/0
مستر میکس سایبر (امپلیکون)	5
آب مقطر استریل	3
حجم cDNA	1
مجموع حجم هر واکنش	**10**

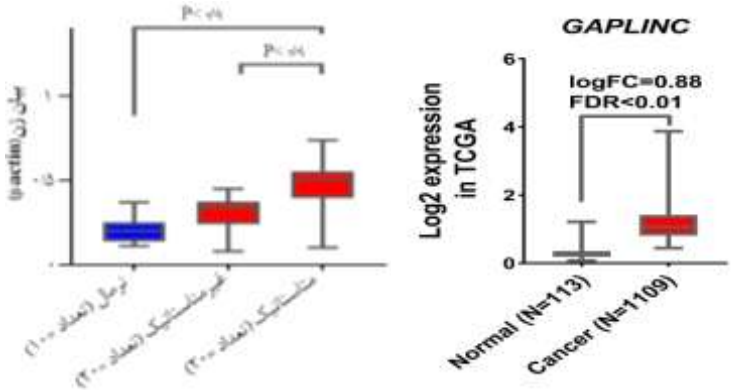
[5] Complementary DNA

به منظور تأیید صحّت آزمایش و تعیین اندازهٔ دقیقِ محصول در ژل آگارز ۱ درصد، سایز مارکر، محصول PCR و کنترلِ منفی نیز الکتروفورز انجام شد تا اندازهٔ دقیق محصول و هم صحت انجام آزمایش اثبات شود.

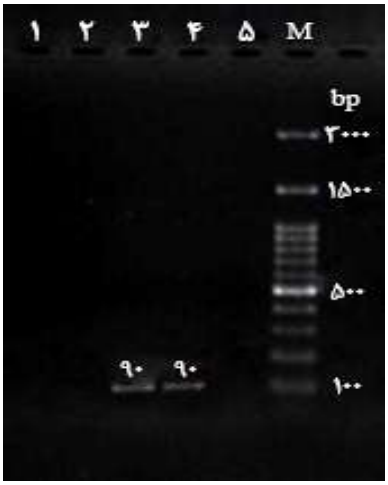
۳- نتایج

نتایج نشان دادند که بیان‌ژن *GAPLINC*در نمونه‌های سرطانِ پستانِ سه گانهٔ منفیِ تهاجمی در مقایسه با نمونه‌های سرطانِ پستانِ سه‌گانهٔ منفیِ غیرتهاجمی و نرمال به‌میزان ۱/۸۴ برابر افزایش یافته است.

(Log FC 0.88 و p < ۰/۰۱۳). شکل ۱ مربوط به بیان‌ژن *GAPLINC* می‌باشد. محصول PCR بر روی ژل آگارز باند ۹۰ جفت‌بازی مشاهده شد که تأییدکنندهٔ صحت آزمایش می‌باشد (شکل۲).



شکل ۱- افزایش بیان‌ژنِ ***GAPLINC*** در نمونه های سرطانِ پستانِ سه گانهٔ منفیِ متاستاتیک در مقایسه با سرطانِ پستانِ سه گانهٔ منفیِ غیرمتاستاتیک و نرمال



شکل ۲- باند ۹۰ جفت‌بازیِ محصولِ واکنش **Real-Time PCR** تأییدی بر صحت آزمایش.
ستون‌های ۳ و ۴: **PCR**؛ لاین ۵: **NTC (non-template control)**؛ لاین **M**: مارکر.

۴- بحث

سرطانِ پستانِ سه گانهٔ منفی یک نوع سرطانِ پستان است و نسبت به سایر سرطان‌های پستان سیر تهاجمی‌تری دارد (۲۶) و به علت داشتنِ سلولهای شبه بازال گرایش بیشتری به داشتن مرحلهٔ بالاتری از بدخیمی نسبت به سایر انواع سرطان پستان دارد (۹، ۱۰). با توجه به این امر که مطالعهٔ صورتگرفته در سال ۲۰۰۷ نشان داد که ۷۷ درصد از زنان مبتلا به این نوع سرطان، حداقل به‌مدت پنج سال زنده ماندند، درحالیکه این رقم در زنان مبتلا به سایر انواع سرطانِ پستان ۹۳ درصد می‌باشد، یافتن نشانگرهای زیستی به منظور تشخیص زودهنگامِ سرطانِ پستانِ سه گانهٔ منفی با روشهای غیرتهاجمی امری حیاتی میباشد (۱، ۱۰ و ۲۵). علاوه بر این در سرطانهای پستانِ مهاجم سلولهای سرطانی به

خارج از مجاری و لوبول‌های نرمالِ پستان نفوذ و حمله میکنند و درونِ بافتِ هم‌بندِ پستان و بافت استرومای اطراف پستان رشد میکنند. کارسینومای مهاجم پتانسیل گسترش به سایر مکانهای بدن مثل گره های لنفی یا سایر ارگانها را دارد و باعث متاستاز می‌شود. اینامر که ارگانهای حیاتی همچون استخوان، مغز، رحم، ریه و کبد هدفهای اولیه در متاستازِ سرطان پستان می‌باشد، اهمیت مطالعه‌ها در زمینه ی تشخیصِ زودهنگامِ سرطان پستانِ تهاجمی را چندین برابر حائز اهمیت میکند و نرخِ بقا و پیش آگهی مبتلایان به سرطان پستان را بهبود می‌بخشد (۱، ۱۴).

در این مطالعه برای اولین بار، بررسی میزان رونوشت ژن *GAPLINC* در سه گروه نمونه های سرطانِ پستانِ سه گانهٔ منفیِ متاستاتیک، غیرمتاستاتیک و نرمال موردبررسی قرار گرفت که افزایش بیان آن در نمونه‌های سرطانِ پستانِ متاستاتیک در مقایسه با دو گروه دیگر مشاهده شد و نتایج حاصل، با مطالعه‌های صورت گرفته بر روی سرطان‌های دیگر هم‌خوانی داشت. به عنوان مثال، مطالعه‌های بیوانفورماتیک و آزمایش‌های صورت‌گرفته در سال ۲۰۱۸ توسط Mo و همکارانش نشان داد که در بیماریِ خودایمنیِ آرتریت روماتوئید خاموش کردن ژن*GAPLINC* در کاهش تکثیر سلولی و کاهش تهاجم بافتی نقش داشته است، درحالیکه افزایش بیان آن، افزایش تهاجم بافتی را به دنبال داشته است. به‌علاوه، در این مقاله اشاره شده که میزان بیان رونوشت ژن *GAPLINC* افزایش یافته است و میتوان نقش انکوژنی در سرطانهای معده و کلورکتال را ایفا کند (۲۲). بنابر مطالعهٔ Ye و همکاران، افزایش رونوشت *GAPLINC* با اثر تنظیمی بر روی پروتئین ۴۴CD باعث افزایش تهاجم بافتی در نمونه های سرطان معدهٔ متاستاتیک شد و خاموش کردن آن، کاهش تهاجمِ بافتی را در پی داشت (۲۷). نتایج آزمایش Chen و همکاران در سال ۲۰۱۹ نشان داد که *GAPLINC* با اتصال به miR-331-3p در افزایش متاستاز سرطان مغز در نمونه های بافت و پنج ردهٔ سلولی (۲۲۹T98G, U251, LN18, LN) نقش دارد (۲۸). مطالعهٔ صورت‌گرفته در سال ۲۰۲۱ به نقش *GAPLINC* در سرطال سلولهای سنگ‌فرشیِ مری پرداخته است. در این مطالعه، افزایش بیان‌ژن *GAPLINC* با افزایشِ تهاجم و تکثیر سلولی در سرطان سلول‌های سنگ‌فرشیِ مری همراه بوده است. علاوهبر این، در این مقاله به این موضوع اشاره شده است که خاموش شدن ژن *GAPLINC* نقش بسزایی در میزان آپوپتوز سلولی داشته درحالیکه افزایش بیان آن تأثیری در آپوپتوز نداشته است (۲۹). طی مطالعه‌های صورت گرفته در سالهای اخیر، افزایش بیان رونوشت ژن *GAPLINC* با افزایش تهاجم بافتی، رگ‌زایی و متاستاز در سرطان‌های ریه و استخوان ارتباط مستقیمی را نشان داده است (۲۸) که مطابقت آن با نتایج حاصل از نمونه های سرطانِ پستانِ سه گانهٔ منفی صورت گرفته، تأییدی مبنی‌بر این است که افزایش میزان بیان‌ژن *GAPLINC* میتواند به عنوان یک نشانگر زیستی در تشخیص سرطان متاستاتیک از غیرمتاساتیک درنظر گرفته شود که کاربردِ کلینیکیِ آن نیازمند انجام آزمایش‌های مشابه بر روی نمونه هایی با جامعهٔ آماری بالاتر و یا بررسیِ مکانیسمِ اثر این lncRNA در مسیرهای سیگنالینگ متفاوت و ارتباط آن با سایر ماکرومولکولهای زیستی میباشد.

۵- نتیجه گیری

GAPLINCمیتواند نقش موثری در تشخیص سرطان پستان سه گانه منفی متاستاتیک از غیر متاستاتیک ایفا کند که استفاده از آن به عنوان نشانگر زیستی در تشخیص سرطان نیازمند مطالعات بیشتر است.

۶- ملاحظات اخلاقی

جمع آوری نمونه ها زیر نظر کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات با شناسه اخلاقIR.IAU.SRB.REC.1402.002 و رضایت بیماران صورت گرفت.

۷- تشکر و قدردانی

نویسندگان از کلیهٔ بیمارانی که در این مطالعه شرکت کرده‌اند تشکر می‌کنند.

۸- تعارض منافع

این پژوهش با هزینه شخصی نویسندگان انجام شده و نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ تعارض منافع مالی یا شخصی دیگری در ارتباط با این مطالعه وجود ندارد

۹- سهم نویسندگان

همه نویسندگان در طراحی پژوهش، جمع‌آوری و تحلیل داده‌ها و نگارش مقاله مشارکت داشته‌اند و کلیه نویسندگان نسخه نهایی مقاله را تأیید کرده‌اند.

۱۰- منابع

1. Lyons TG. Targeted therapies for triple-negative breast cancer. Curr Treat Options Oncol, 2019. 20(11): 82.
2. Li CI, Malone K, Daling JR. Differences in breast cancer hormone receptor status and histology by race and ethnicity among women 50 years of age and older. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2002. 11(7): p. 601-7.
3. Arnold M, Morgan E, Rumgay H, Mafra A, Singh D, Laversanne M, Vignat J, Gralow JR, Cardoso F, Siesling S, Soerjomataram I. Current and future burden of breast cancer: Global statistics for 2020 and 2040. Breast, 2022. 66: 15-23.
4. Boere I, Lok C, Poortmans P, Koppert L, Painter R, Heuvel-Eibrink MMVD, Amant F. Breast cancer during pregnancy: epidemiology, phenotypes, presentation during pregnancy and therapeutic modalities. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2022. 82: 46-59.
5. Ferley J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. Int J Cancer, 2015. 136(5): E359-386.
6. Harirchi I, Ebrahimi M, Zamani N, Jarvandi S, Montazeri A. Breast cancer in Iran: a review of 903 case records. Public health, 2000. 114(2): 143-145.
7. Irvin Jr WJ, Carey LA. What is triple-negative breast cancer? Eur J Cancer. 2008, 44(18): 2799-2805.
8. Huo D, Ikpatt F, Khramtsov A, Dangou JM, Nanda R, Dignam J, Zhang B, Grushko T, Zhang C, Oluwasola O, Malaka D, Malami S, Odetunde B, Adeoye AO, Iyare F, Falusi A, Perou CM, Olopade OI. Population differences in breast cancer: survey in indigenous African women reveals over-representation of triple-negative breast cancer. J Clin Oncol. 2009, 27(27): 4515-4521.
9. GBD 2017 Disease and Injury Incidence and Prevalenc Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet, 2018. 392(10159): 1789-1858.
10. Langlands FE, Horgan K, Dodwell DD, Smith L. Breast cancer subtypes: response to radiotherapy and potential radiosensitisation. Br J Radiol, 2013. 86(1023): 20120601
11. Won KA, Spruck C. Triple‐negative breast cancer therapy: Current and future perspectives. Int J Oncol, 2020. 57(6): 1245-1261.
12. Naorem LD, Prakash VS, Muthaiyan M, Venkatesan A. Comprehensive analysis of dysregulated lncRNAs and their competing endogenous RNA network in triple-negative breast cancer. Int J Biol Macromol, 2020. 145: 429-436.
13. Robinson EK, Covarrubias S, Carpenter S. The how and why of lncRNA function: an innate immune perspective. Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech, 2020. 1863(4): 194419.
14. Wang W, Min L, Qiu X, Wu X, Liu C, MA J, Zhang D. Biological function of long non-coding RNA (LncRNA) Xist. Front Cell Dev Biol, 2021. 9: 645647.
15. Yamada A, Ishikawa T, Ota I, Kimura M, Shimizu D, Tanabe M, Chishima T, Sasaki T, Ichikawa Y, Morita S, Yoshiura K, Takabe K, Endo I. High expression of ATP-binding cassette transporter ABCC11 in breast tumors is associated with aggressive subtypes and low disease-free survival. Breast Cancer Res Treat, 2013. 137(3): 773-782.
16. Xia R, Geng G, Yu X, Xu Z, Guo J, Liu H, Li N, Li Z, Li Y, Dai X, Luo Q, Jiang J. LINC01140 promotes the progression and tumor immune escape in lung cancer by sponging multiple microRNAs. J Immunother Cancer, 2021. 9(8).
17. Xu J, Zhang P, Sun H, Liu Y. LINC01094/miR-577 axis regulates the progression of ovarian cancer. J Ovarian Res, 2020. 13(1): 1-9.
18. Yang G, Lu X, Yuan L. LncRNA: a link between RNA and cancer. Biochim Biophys Acta, 2014. 1839(11): 1097-1109.
19. Zong Y, Zhang Y, Hou D, Xu J, Cui F, Qin Y, Sun X. The lncRNA XIST promotes the progression of breast cancer by sponging miR-125b-5p to modulate NLRC5. Am J Transl Res, 2020. 12(7): 3501-3511.
20. Nasim N, Ghafouri-Fard S, Soleimani S, Esfandi F, Shirkhoda M, Safaei M, Oskooei VK, Taheri M, Raheb J. Assessment of SGO1 and SGO1-AS1 contribution in breast cancer. Human Antibodies, 2019. 27(4): p. 279-284.
21. Sun Q, Li Q, Xie F. LncRNA-MALAT1 regulates proliferation and apoptosis of ovarian cancer cells by targeting miR-503-5p. Onco Targets Ther, 2019. 12: 6297-6307.
22. Mo BY, Guo XH, Yang MR, Liu F, Bi X, Liu Y, Fang LK, Luo XQ, Wang J, Bellanti JA, Pan YF, Zheng SG. Long non-coding RNA GAPLINC promotes tumor-like biologic behaviors of fibroblast-like synoviocytes as microRNA sponging in rheumatoid arthritis patients. Front Immunol, 2018. 9: 702.
23. Yang P, Chen T, Xu Z, Zhu H, Wang J, He Z. Long noncoding RNA GAPLINC promotes invasion in colorectal cancer by targeting SNAI2 through binding with PSF and NONO. Oncotarget, 2016. 7(27): 42183-42194.
24. Zhao J, Wang C, Liu S, Su X, Ouyang A. TGF-β1 mediates lncRNA GAPLINC expression to promote the migration and invasion of non-small cell lung cancer. Onco Targets Ther, 2019. 12: 6175-6180.

25. Mousavi SM, Montazeri A, Nohagheghi MA, Mousavi Jarrahi A, Harrirchi I, Najafi M, Ebrahimi M. Breast cancer in Iran: an epidemiological review. Breast J, 2007. 13(4): 383-391.
26. Momenimovahed Z, Salehiniya H. Epidemiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world. Breast Cancer (Dove Med Press), 2019. 11:151-164.
27. Ye H, Wang J, Qian J, Kong X, Tang J, Wang Y, Chen H, Hong J, Zou W, Chen Y, Xu J, Fang JY. Long noncoding RNA GAPLINC regulates CD44-dependent cell invasiveness and associates with poor prognosis of gastric cancer. Cancer Res, 2014. 74(23):6890-6902.
28. Chen HH, Zong J, Wang SJ. LncRNA GAPLINC promotes the growth and metastasis of glioblastoma by sponging miR-331-3p. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019. 23 (1): 262-270.
29. Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C_T method. Onco TargetsNat Protoc, 2008. 3: 1101-1108.