

Original Article



Down-regulation of Tumor Suppressor Gene PTEN in Patients with Chronic Hepatitis B Virus Infection

Somayeh Shokri^{1,2,3} , Farid Azizi Jalilian^{2,3}, Razieh Amini², Ali Shojaeian², Fatemeh Torkaman Asadi^{1,4}, Shahab Mahmoudvand^{1,2,3,5*} 

¹ Infectious Disease Research Center, Avicenna Institute of Clinical Sciences, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

² Research Center for Molecular Medicine, Institute of Cancer, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

³ Department of Virology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

⁴ Department of Infectious Diseases, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

⁵ Cancer Research Center, Institute of Cancer, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

Abstract

Article history:

Received: 20 May 2025

Revised: 15 July 2025

Accepted: 03 August 2025

ePublished: 16 September 2025

*Corresponding author: Shahab Mahmoudvand, Department of Virology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

E-mail:
Mahmoudvandsh100@gmail.com

Background and Objective: Chronic Hepatitis B virus (HBV) infection is a major global health concern and a leading cause of hepatocellular carcinoma (HCC). Loss or suppression of PTEN expression contributes to the development and progression of HCC, particularly in the context of chronic HBV infection. The present study aimed to evaluate PTEN gene expression in patients with chronic HBV infection compared to healthy individuals.

Materials and Methods: The present case-control study included 50 patients with chronic HBV infection and 50 healthy controls. Peripheral blood samples were collected, and total RNA was extracted and converted to cDNA. Gene expression of PTEN relative to GAPDH was assessed by SYBR Green-based Real-Time PCR using the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. Statistical analysis was performed using the SPSS (version 26) software, with a significance set at $P < 0.05$.

Results: The PTEN gene expression was significantly down-regulated in the HBV-infected group compared to controls ($2^{-\Delta\Delta Ct} = 0.074$, $P < 0.0001$). The ΔCt value of PTEN was significantly higher in the patient group, indicating reduced transcript levels. An age-related decline in PTEN expression was also observed among HBV patients.

Conclusion: The results highlight the importance of PTEN as a potential biomarker in the progression of the disease to liver cancer. Therefore, further research with a larger sample size and investigation of the molecular mechanisms involved in regulating PTEN expression seems necessary.

Keywords: Chronic Hepatitis B, Gene Expression, Hepatocellular Carcinoma, Immune Evasion

Please cite this article as follows: Shokri S, Azizi Jalilian F, Amini R, Shojaeian A, Torkaman Asadi F, Mahmoudvand Sh. Down-regulation of Tumor Suppressor Gene PTEN in Patients with Chronic Hepatitis B Virus Infection Avicenna J Clin Med. 2025; 32(2): 80-86. DOI: 10.32592/ajcm.32.2.80



مقاله پژوهشی

کاهش بیان ژن سرکوبگر تومور PTEN در بیماران مبتلا به عفونت مزمن ویروس هپاتیت B

سمیه شکری^۱، فرید عزیزی جلیلیان^{۲،۳}، راضیه امینی^۲، علی شجاعیان^۲، فاطمه ترکمان اسدی^{۱،۴}، شهابمحمودوند^{۱،۲،۳،۵}

۱. مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، پژوهشکده علوم بالینی ابن سینا، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
۲. مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، پژوهشکده سرطان، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
۳. گروه ویروس‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
۴. گروه بیماری‌های عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
۵. مرکز تحقیقات سرطان، پژوهشکده سرطان، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

چکیده

سابقه و هدف: عفونت مزمن با ویروس هپاتیت B (HBV) یکی از مهم‌ترین عوامل خطر در ایجاد کارسینوم هپاتوسلولار (HCC) به شمار می‌رود. کاهش یا سرکوب بیان PTEN به ایجاد و پیشرفت HCC، به ویژه در زمینه عفونت مزمن HBV، کمک می‌کند. هدف از این مطالعه، تعیین میزان بیان ژن PTEN در بیماران مبتلا به HBV مزمن در مقایسه با افراد سالم بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه از نوع مورد-شاهدی بود که در آن ۵۰ بیمار مبتلا به عفونت مزمن HBV و ۵۰ فرد سالم وارد مطالعه شدند. استخراج RNA از خون محیطی انجام شد و پس از سنتز cDNA، میزان بیان ژن PTEN نسبت به ژن مرجع GAPDH با استفاده از روش Real-Time PCR مبتنی بر SYBR Green و با بهره‌گیری از روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ سنجیده شد. تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ انجام گرفت و سطح معناداری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: بیان ژن PTEN در گروه بیمار به‌طور معناداری کمتر از گروه کنترل بود ($2^{-\Delta\Delta Ct} 0/74$ ، $P=0/001$). همچنین با افزایش سن، کاهش بیشتری در میزان بیان PTEN مشاهده شد. این یافته‌ها حاکی از آن است که عفونت مزمن با HBV می‌تواند به‌مرور زمان موجب مهار بیان ژن‌های سرکوبگر تومور گردد.

نتیجه‌گیری: نتایج به‌دست‌آمده، اهمیت PTEN را به‌عنوان یک نشانگر زیستی احتمالی در پیشرفت بیماری به سمت سرطان کبد برجسته می‌نماید. از این رو، تحقیقات بیشتر با حجم نمونه بزرگ‌تر و بررسی مکانیسم‌های مولکولی دخیل در تنظیم بیان PTEN ضروری به نظر می‌رسد.

واژگان کلیدی: بیان ژن، فرار از سیستم ایمنی، کارسینوم هپاتوسلولار، هپاتیت B مزمن

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۳۰

ویرایش: ۱۴۰۴/۰۴/۲۴

پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۱۲

انتشار: ۱۴۰۴/۰۶/۲۵

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی همدان محفوظ است.

* نویسنده مسئول: شهاب محمودوند، گروه ویروس‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

ایمیل:

Mahmoudvandsh100@gmail.com

استناد: شکری، سمیه؛ عزیزی جلیلیان، فرید؛ امینی، راضیه؛ شجاعیان، علی؛ ترکمان اسدی، فاطمه؛ محمودوند، شهاب. کاهش بیان ژن سرکوبگر تومور PTEN در بیماران مبتلا به عفونت مزمن ویروس هپاتیت B. مجله پزشکی بالینی ابن سینا، تابستان ۱۴۰۴ (۲): ۸۶-۸۰.

مقدمه

جهانی بهداشت، بیش از ۲۹۶ میلیون نفر به شکل مزمن با این ویروس درگیر هستند و سالانه حدود ۸۲۰ هزار نفر در اثر عوارض ناشی از آن جان خود را از دست می‌دهند [۱]. از میان عوارض

عفونت مزمن با ویروس هپاتیت B (Chronic Hepatitis B virus; HBV) یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشت عمومی در سراسر جهان محسوب می‌شود [۱]. بر اساس گزارش سازمان

مزمّن HBV، هپاتوسلولار کارسینوما (Hepatocellular carcinoma; HCC) از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، چرا که HCC یکی از شایع‌ترین سرطان‌های کبد در انسان است که حدود ۹۰ درصد از سرطان‌های اولیه کبد را تشکیل می‌دهد [۲].

در بسیاری از مناطق آسیا و خاورمیانه، بیش از ۶۰ درصد از کل موارد HCC مربوط به عفونت مزمن HBV است [۴]. در نتیجه، درک دقیق‌تر از مکانیسم‌های مولکولی اثر HBV در سرطان‌زایی می‌تواند منجر به توسعه روش‌های تشخیصی و درمانی هدفمندتر گردد. از میان مکانیسم‌های پیشنهادی برای سرطان‌زایی HBV، تغییر در بیان ژن‌های دخیل در چرخه سلولی، آپوپتوز و ترمیم DNA از جمله مهم‌ترین عوامل شناخته شده هستند [۵]. یکی از ژن‌هایی که در سال‌های اخیر توجه پژوهشگران را به خود جلب کرده است، ژن همولوگ فسفاتاز و تنسین (Phosphatase and tensin homolog) است که به‌عنوان یک ژن سرکوب‌گر تومور شناخته می‌شود. تغییرات در بیان PTEN که به‌عنوان دومین ژن تغییر یافته در سرطان‌های انسانی در نظر گرفته می‌شود، ممکن است به دلیل جهش‌های ژنتیکی PTEN، تغییرات رونویسی و پس از رونویسی و تخریب پروتئین باشد. پروتئین PTEN نقش مهمی را در کنترل فرآیندهای متعددی از جمله رشد، تکثیر، بقا و تحرک سلولی، متابولیسم، آنژیوژنز و آپوپتوز ایفا می‌کند و فعال‌سازی نابه‌جای آن می‌تواند منجر به ایجاد تومور شود [۶، ۷]. بدین ترتیب، کاهش بیان این ژن سرکوب‌گر این احتمال را ایجاد می‌کند که شاید بتواند به‌عنوان یک بیومارکر غیرتهاجمی در پیش‌آگهی سیر بیماری به سمت HCC استفاده شود.

مطالعات پیشین نشان داده‌اند که بیان ژن PTEN در بسیاری از سرطان‌ها کاهش می‌یابد، از جمله سرطان‌های پستان، پروستات، ریه، مغز و به‌ویژه سرطان کبد [۸]. در سرطان‌های کبدی ناشی از HBV، عوامل متعددی در کاهش فعالیت PTEN نقش دارند، از جمله تغییرات اپی‌ژنتیکی مانند متیلاسیون پروموتور ژن PTEN، دخالت RNA غیرکدکننده مانند miRNA و همچنین پروتئین‌های ویروسی HBV نظیر HBx که می‌توانند عملکرد PTEN را مهار کنند یا مسیرهای پایین‌دستی آن را مختل نمایند [۵].

با وجود این شواهد، هنوز مطالعات انسانی کافی درباره سطح بیان ژن PTEN در بیماران مبتلا به HBV مزمن در جمعیت‌های مختلف صورت نگرفته و نتایج نیز در برخی موارد متناقض بوده‌اند. برخی پژوهش‌ها کاهش معنادار بیان PTEN را در بیماران HBV مثبت گزارش کرده‌اند [۹، ۱۰]، در حالی که برخی دیگر چنین رابطه‌ای را نیافته‌اند [۱۱] یا آن را وابسته به مرحله بیماری دانسته‌اند [۱۲].

با توجه به نقش کلیدی PTEN در تنظیم مسیرهای زیستی مرتبط با سرطان و همچنین اهمیت HBV به‌عنوان یک عامل خطرزا برای HCC، بررسی رابطه بین این دو عامل می‌تواند گامی

موثر در جهت درک بهتر مکانیسم‌های مولکولی سرطان‌زایی HBV باشد. علاوه بر اهمیت علمی، نتایج چنین پژوهش‌هایی می‌تواند در جنبه‌های بالینی نیز مفید واقع شود. در صورت تایید کاهش بیان PTEN به دنبال عفونت مزمن با HBV، می‌توان از آن در آینده برای طراحی داروهای هدفمند یا غربالگری بیماران در معرض خطر بالاتر استفاده کرد. همچنین، تعیین ارتباط بین سطح بیان PTEN و شدت بیماری می‌تواند در پیش‌آگهی و تصمیم‌گیری درمانی نیز کاربرد داشته باشد.

بر همین اساس، هدف از مطالعه حاضر، تعیین میزان بیان ژن PTEN در خون بیماران مبتلا به HBV مزمن در مقایسه با گروه کنترل سالم است. نتایج این مطالعه می‌تواند به روشن‌تر شدن بخشی از مسیرهای مولکولی دخیل در پاتوژنز سرطان کبد ناشی از HBV کمک کند و زمینه‌ساز تحقیقات گسترده‌تر در آینده باشد.

روش کار

طراحی مطالعه و جمع‌آوری نمونه

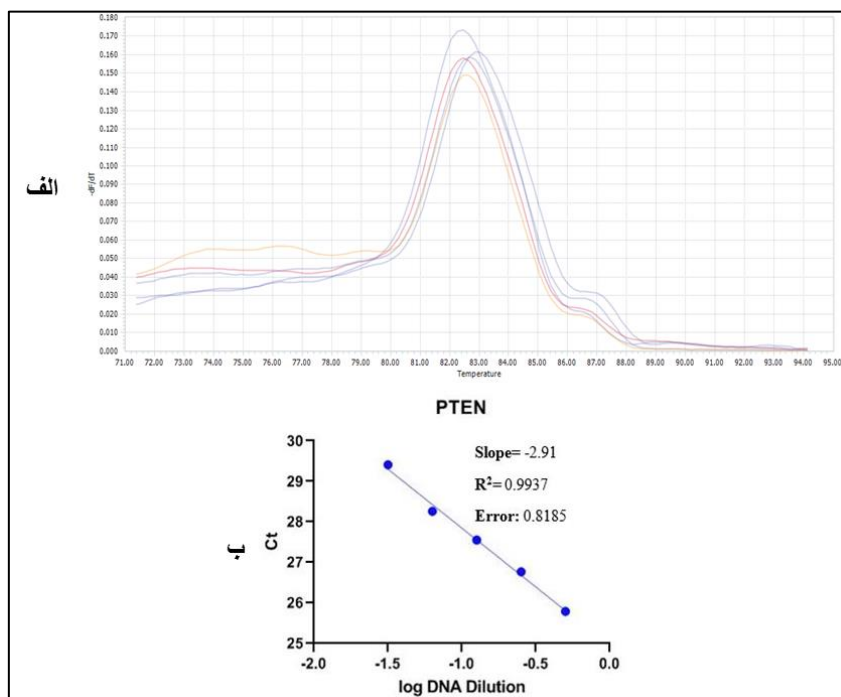
در این مطالعه مورد-شاهدی پس از اخذ رضایت‌نامه آگاهانه از شرکت‌کنندگان، نمونه‌گیری از هر دو گروه؛ مورد و شاهد، مطابق با معیارهای ورود و خروج مشخص، انجام شد. گروه مورد شامل بیماران مبتلا به عفونت مزمن ویروس HBV بود که تشخیص مزمّن بودن بیماری آن‌ها با استفاده از شواهد آزمایشگاهی HBsAg مثبت به مدت بیش از شش ماه و تایید متخصص بیماری‌های عفونی صورت گرفت. معیار خروج از مطالعه وجود HCC، عفونت همزمان با HCV یا HIV، وجود سایر بیماری‌های مزمن کبدی، بدخیمی‌ها و یا استفاده از داروهای سرکوب‌کننده سیستم ایمنی بود. گروه کنترل شامل افرادی بود که فاقد عفونت با ویروس HBV بودند (HbsAg منفی) و مقادیر آنزیم‌های کبدی آن‌ها در محدوده طبیعی قرار داشت.

استخراج RNA و Real time PCR

از هر شرکت‌کننده ۵ میلی‌لیتر نمونه خون محیطی با ضد انعقاد EDTA جمع‌آوری شد. نمونه‌ها در دمای مناسب به آزمایشگاه انتقال داده شدند. استخراج RNA تام از نمونه‌های خون کامل با استفاده از کیت استخراج RNA مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده (یکتا تجهیز، ایران) انجام شد. کیفیت و کمیت RNA استخراج‌شده با استفاده از دستگاه نانودراپ (Nabi, South Korea) مورد بررسی قرار گرفت. تبدیل RNA به cDNA با استفاده از کیت سنتز cDNA، طبق دستورالعمل شرکت سازنده (پارس طوس، ایران) صورت گرفت. نمونه‌ها ابتدا از نظر حضور ژن مرجع (GAPDH) و سپس از نظر حضور ژن هدف (PTEN) مطابق با توالی‌های استاندارد جدول ۱ بررسی شدند و جهت بررسی اختصاصیت پرایمرها منحنی ذوب رسم گردید (شکل ۱).

جدول ۱. پرایمرهای اختصاصی برای ژن هدف و ژن مرجع

نام ژن	توالی	نوع پرایمر	طول پرایمر
PTEN	ACCAGTGGCACTGTTGTTTC	مستقیم	۲۰
PTEN	TTAGCTGGCAGACCACAAAC	معکوس	۲۰
GAPDH	TCAGCCGCATCTTCTTTTGC	مستقیم	۲۰
GAPDH	TTAAAAGCAGCCCTGGTGAC	معکوس	۲۰



شکل ۱. منحنی ذوب و منحنی استاندارد از واکنش Real-Time PCR

الف: آنالیز منحنی ذوب مربوط به روش qPCR که یک پیک را نشان می‌دهد، اختصاصی بودن پرایمرها و عدم وجود محصولات غیراختصاصی یا تشکیل پرایمر-دایمر را تایید می‌کند. ب: منحنی استاندارد رسم شده با استفاده از رقت‌های سریالی ده برابری از DNA هدف، که همبستگی خطی قوی بین مقادیر Ct و لگاریتم غلظت الگو ($R^2 = 0.9937$) را نشان می‌دهد، که نشان‌دهنده راندمان بالای تکثیر است.

Shapiro-Wilk ارزیابی شد. برای مقایسه سطوح بیان ژن بین گروه‌ها، در صورت برآورده شدن فرضیات نرمال بودن، از آزمون‌های t مستقل و در غیر این صورت، از آزمون ناپارامتری Mann-Whitney U استفاده شد. مقدار P دو طرفه کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد.

نتایج

جمعیت مورد مطالعه شامل ۱۰۰ شرکت‌کننده بود که از این میان، ۵۰ نفر مبتلا به عفونت HBV (گروه مورد) و ۵۰ نفر سالم بدون عفونت HBV (گروه کنترل) بودند. میانگین سنی افراد در گروه بیمار برابر با $47/24 \pm 16/16$ سال و در گروه کنترل $30/38 \pm 19/88$ سال بود. در گروه بیمار، ۲۸ نفر (۵۶ درصد) مرد و ۲۲ نفر (۴۴ درصد) زن بودند، در حالی که در گروه کنترل، توزیع جنسی برابر و شامل ۲۵ مرد و ۲۵ زن (هر کدام ۵۰ درصد) بود. منحنی ذوب در شکل ۱ نشان داده شده است. در این مطالعه،

واکنش Real-Time PCR به روش SYBR Green با استفاده از کیت مستر میکس (Amplicon, SYBR Green (Denmark) در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل؛ ۱۰ میکرولیتر مستر میکس، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر ($10 \mu M$)، ۴ میکرولیتر cDNA و ۴ میکرولیتر آب بدون نوکلئاز انجام شد. برنامه ترموسایکلر شامل؛ دناتوراسیون اولیه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۴۵ چرخه شامل دناتوراسیون در ۹۵ درجه برای ۱۵ ثانیه، اتصال پرایمرها در ۵۵ درجه برای ۳۰ ثانیه و مرحله گسترش در ۷۲ درجه برای ۳۰ ثانیه بود.

تمام واکنش‌ها در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر و به صورت سه تکرار مستقل انجام شدند. بیان نسبی ژن PTEN بر اساس روش $\Delta\Delta Ct$ و نسبت به ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ (شرکت IBM، آمریکا) انجام شد. از آمار توصیفی شامل میانگین، انحراف معیار، فراوانی و نمودارهای گرافیکی برای خلاصه کردن داده‌ها استفاده شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون

میانگین مقدار Ct ژن PTEN در گروه کنترل برابر با $25/03$ و در گروه بیمار برابر با $28/47$ گزارش شد. اختلاف معنادار در مقادیر Ct بین دو گروه، بیانگر کاهش قابل توجه سطح بیان ژن PTEN در گروه مبتلا به عفونت مزمن HBV نسبت به گروه سالم است. نتایج آماری نشان داد کمیت نسبی بیان ژن PTEN با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ در گروه کنترل و PTEN در گروه بیمار تقریباً $7/4$ درصد کمتر از گروه کنترل بود ($2^{-\Delta\Delta Ct} = 0/074$). این نشان‌دهنده کاهش قابل توجه کاهش بیان ژن در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل است. در زمینه روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ مقدار کمتر از یک بیانگر کاهش بیان ژن در گروه مورد نسبت به گروه کنترل است، در حالی که بیشتر از یک نشان‌دهنده افزایش است (جدول ۲).

جدول ۲. تجزیه و تحلیل مقایسه‌ای بیان ژن PTEN بین بیماران HCV و افراد سالم

شاخص	افزایش/کاهش	P.value (t test)
PTEN control (Gene expression ratio)	$1/033$	$0/0001$
PTEN case (Gene expression ratio)	$1/192$	
PTEN control (ΔCt)	$0/674$	
PTEN case (ΔCt)	$4/431$	
Mean $\Delta\Delta Ct$	$3/75$	
$2^{-\Delta\Delta Ct}$	$0/074$	

- ❖ $\Delta\Delta Ct = (\Delta Ct_{\text{case}} - \Delta Ct_{\text{control}})$
- ❖ $\Delta Ct_{\text{Control Group}} (PTEN_{\text{control}} - GAPDH_{\text{control}})$
- ❖ $\Delta Ct_{\text{Case Group}} (PTEN_{\text{case}} - GAPDH_{\text{case}})$
- ❖ $2^{-\Delta\Delta Ct} = 2 - [(Ct_{\text{target, case}} - Ct_{\text{reference, case}}) - (Ct_{\text{target, control}} - Ct_{\text{reference, control}})]$

تحلیل آماری اختلاف سطح بیان ژن بین دو گروه با آزمون t مستقل نشان داد که تفاوت بین دو گروه از نظر آماری بسیار معنادار بود ($P < 0/0001$). این یافته تأکید می‌کند که عفونت مزمن با ویروس HBV به‌طور معناداری با کاهش بیان ژن PTEN همراه است. نتایج نشان می‌دهد که بیان PTEN در گروه مورد در گروه سنی ۳۰ تا ۵۰ سال در مقایسه با گروه کنترل ($1/148$)، پس از آن در گروه سنی کمتر از ۳۰ ($1/131$) بالاترین میزان و در گروه سنی ۵۰ سال به بالا ($1/076$) کمترین میزان است. این الگو نشان می‌دهد که افزایش سن می‌تواند با کاهش بیشتر بیان PTEN در بیماران مبتلا به HBV مزمن همراه باشد.

بحث

هپاتوسلولار کارسینوما که از سلول‌های کبدی منشأ می‌گیرد، عودکننده‌ترین نوع سرطان اولیه کبد است. آسیب کبدی معمولاً با التهاب و فیروز مداوم همراه است و فیروز یک فرآیند پاتولوژیک اصلی سرطان کبد است [۱۳]، متأسفانه پنجمین نوع شایع سرطان است و رتبه دوم مرگ‌ومیر در سطح جهانی را دارد. مطالعات نشان داده‌اند اکثر موارد سرطان کبد با سیروز مرتبط با ویروس هپاتیت

مزمن B یا عفونت ویروس هپاتیت C در ارتباط است [۱۴]. مطالعات نشان داده‌اند بیماران دارای عفونت HBV مزمن اغلب سطوح پایین‌تری از بیان PTEN را در مقایسه با افراد سالم نشان می‌دهند. این از دست دادن بیان با مراحل پیشرفته بیماری کبد و افزایش خطر HCC مرتبط است. در سال ۲۰۱۵ مطالعه Du و همکاران نشان داد که پلی‌مورفیسم‌های PTEN، به‌ویژه rs2299941، ممکن است بر رشد HCC در در بیماران آلوده به عفونت مزمن HBV تأثیر بگذارد که این موضوع نشانه ارتباط ژنتیکی بین PTEN و خطر سرطان مرتبط با HBV به‌ویژه در مردان است [۱۵]. اخیراً نتایج یک مطالعه در سال ۲۰۲۴ نشان داده است که بیان PTEN به‌طور قابل توجهی در بافت‌های کبدی آلوده به ویروس HBV کاهش می‌یابد و به آسیب و التهاب کبد و در نهایت HCC کمک می‌کند [۱۶]. در سال ۲۰۱۹ توسط Tu و همکاران گزارش کردند که عفونت HBV منجر به کاهش سطح پروتئین PTEN در HCC می‌شود که تکثیر سلولی را تقویت کرده و آپوپتوز را مهار می‌کند. این مطالعه تأیید می‌کند که پروتئین HBx به‌طور منفی، PTEN را از طریق مسیر SNHG20 تنظیم می‌کند و به پیشرفت HCC کمک می‌کند [۱۷]. SNHG20 یک lncRNA است که در چندین فرآیند سلولی، از جمله پاسخ سلولی به اسیدهای چرب، فعال‌سازی ماکروفاژها و فسفوریلاسیون تیروزین پروتئین STAT نقش دارد. همچنین مهاجرت، تهاجم و تکثیر سلولی را در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان از طریق محور microRNA-19b-3p/RAB14 تنظیم می‌کند [۱۸]. در مطالعه دیگری کاهش بیان PTEN در سلول‌های آلوده به ویروس HBV را از طریق مسیر سیگنالینگ Nrf2/GSK3 β نشان داده شده است. در سلول‌های HepG2.2.15، سطح PTEN کاهش یافته در حالی که سطوح Nrf2 و GSK3 β افزایش می‌یابد. این موضوع نشان‌دهنده مکانیسم بالقوه برای تأثیر HBV بر توسعه کارسینوم سلول‌های کبدی است [۱۹]. ویروس HBV مکانیسم‌های مختلفی را برای فرار از سیستم ایمنی میزبان به‌کار می‌گیرد که PTEN نقش مهمی را در این فرآیند ایفا می‌کند. PTEN در مسیرهای سیگنال‌دهی متعددی که HBV دستکاری می‌کند تا فرار ایمنی را تقویت کند و پیشرفت بیماری کبدی را تسهیل کند، درگیر است. تعامل بین HBV و PTEN پیچیده است و شامل تغییرات در مسیرهای سیگنالینگ و بیان ژن است که به فرار ایمنی و توسعه HCC کمک می‌کند. در این موضوع، عفونت HBV باعث ایجاد مسیر سیگنالینگ PTEN/ β -catenin/c-Myc می‌شود که منجر به افزایش بیان PD-L1 می‌شود. این مکانیسم پاسخ‌های سلول‌های T را مهار می‌کند و باعث فرار سیستم ایمنی می‌شود و به تداوم عفونت HBV کمک می‌کند [۱۰]. همچنین، تحریک مسیر سیگنالینگ Akt در HCC توسط ویروس HBV، می‌تواند به فرار ایمنی میزبان کمک نماید. مسیر سیگنالینگ PI3K/Akt یکی از مسیرهای حیاتی در تنظیم عملکردهای سلولی نظیر متابولیسم،

تقریباً ۷/۴ درصد کمتر از گروه کنترل بود ($2^{-\Delta\Delta Ct} = 0.074$). این یافته نشان‌دهنده کاهش قابل توجه کاهش بیان ژن در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل است. با این حال، این مطالعه دارای محدودیت‌هایی همچون حجم نمونه نسبتاً کم و عدم بررسی مکانیسم‌های مولکولی دخیل در تنظیم بیان ژن PTEN بود. بنابراین، مطالعات آینده با نمونه‌های بزرگ‌تر و تجزیه و تحلیل‌های مسیرهای مولکولی دخیل (مانند تنظیمات اپی‌ژنتیک، microRNA) برای اعتبارسنجی این یافته‌ها و روشن‌تر کردن شبکه پیچیده‌ای که HBV از طریق آن ممکن است بیان PTEN را تعدیل کند، ضروری به نظر می‌رسد. چنین تحقیقاتی می‌تواند راه را برای مداخلات هدفمند با هدف بازیابی عملکرد PTEN و جلوگیری از بدخیمی‌های کبدی مرتبط با HBV هموار کند.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان داد که سطح بیان ژن سرکوب‌گر تومور PTEN در بیماران مبتلا به عفونت مزمن با ویروس HBV به‌طور معناداری کاهش یافته است. این کاهش بیان، نقش بالقوه HBV را در اختلال عملکرد ژن‌های سرکوب‌گر تومور و مشارکت در مسیرهای سرطان‌زایی کبدی برجسته می‌سازد. نتایج به‌دست‌آمده، اهمیت PTEN را به عنوان یک نشانگر زیستی احتمالی در مراحل اولیه سرطان کبد و نیز به‌عنوان هدفی برای مداخلات درمانی نوین برجسته می‌نماید. از این رو، تحقیقات بیشتر با حجم نمونه بزرگ‌تر، پیگیری طولی بیماران و بررسی مکانیسم‌های مولکولی دخیل در تنظیم بیان PTEN ضروری به نظر می‌رسد تا زمینه‌ساز توسعه راهکارهایی برای بازیابی عملکرد PTEN یا جبران کاهش آن در مبتلایان به HBV مزمن فراهم گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی همدان به شماره ۱۴۰۱۰۵۱۱۳۴۹۸ است، بدین‌وسیله نویسندگان مراتب قدردانی خود را از همکاری بیماران ارجمند و معاونت محترم پژوهشی دانشگاه ابراز می‌دارند.

تضاد منافع

هیچگونه تضاد منافی در این مطالعه وجود ندارد.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه دارای تاییدیه از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی همدان با شناسه IR.UMSHA.REC.1401.279 است. در ضمن از کلیه شرکت‌کنندگان رضایت‌نامه کتبی آگاهانه اخذ گردید.

سهم نویسندگان

رشد، تکثیر، بقا و مقاومت به آپوپتوز است. در این مسیر، پروتئین Akt در پاسخ به محرک‌های خارج‌سلولی فعال شده و باعث تقویت زنده‌مانی سلولی می‌شود. ژن PTEN به‌عنوان یکی از مهارکننده‌های کلیدی این مسیر، از طریق عملکرد فسفاتازی خود، فسفاتیدیل‌اینوزیتول-۳،۴،۵-تری‌فسفات (PIP3) را به PIP2 تبدیل کرده و از فعال‌سازی Akt جلوگیری می‌کند. بنابراین، کاهش یا از دست رفتن عملکرد PTEN منجر به فعال‌سازی غیرقابل کنترل مسیر PI3K/Akt شده و به افزایش رشد توموری، بقا سلول‌های آلوده و پیشرفت سرطان در بیماران HBV مثبت می‌انجامد [۲۰]. عفونت HBV با تنظیم مثبت miR-181a/382/362/19a، نقص PTEN در HCC را تشدید می‌کند. کاهش PTEN نشانگر زیستی بالقوه برای HCC مرتبط با HBV را نشان می‌دهد [۱۲]. در حالی که PTEN نقش مهمی در فرار ایمنی HBV ایفا می‌کند، اما این موضوع بخش کوچکی از یک شبکه گسترده استراتژی‌های ویروسی جهت سرکوب سیستم ایمنی و فرار است. این استراتژی‌ها تعادل پویا بین HBV و سیستم ایمنی میزبان را برجسته می‌کنند و نشان می‌دهند که هدف قرار دادن PTEN و مسیرهای مرتبط می‌تواند رویکردهای درمانی بیماری‌های مرتبط با HBV را افزایش دهد.

تعامل بین microRNA و ویروس هپاتیت B و PTEN در زمینه HCC بسیار مهم است. چندین مطالعه نشان داده‌اند که عفونت HBV منجر به تنظیم مثبت miR خاص می‌شود که به‌نوبه خود PTEN را کاهش می‌دهد و فرآیندهای سرطان‌زایی مانند تکثیر سلولی و تهاجم را ترویج می‌کند. طبق مطالعه Tian و همکاران در سال ۲۰۱۷، HBx می‌تواند بیان پروتئین PTEN را با تنظیم کردن miR-181a کاهش دهد. این تعامل تعادل بین آپوپتوز و تکثیر را مختل می‌کند و به توسعه کارسینوم کبدی کمک می‌کند [۲۱]. همچنین در مطالعه دیگری توسط Tang و همکاران در سال ۲۰۲۰، miR-3-۲۰۲۰ کدگذاری شده توسط HBV، بیان پروتئین PTEN را کاهش می‌دهد که با افزایش تکثیر سلولی، کاهش آپوپتوز و افزایش تهاجم در HCC مرتبط است. این یافته نشان می‌دهد که HBV-miR-3 با هدف قراردادن PTEN نقش مهمی در توسعه HCC ایفا می‌کند [۲۲]. در مطالعه دیگری اهمیت نقش miR-520c-3p را افزایش می‌دهد که مستقیماً ناحیه ترجمه نشده PTEN 3' را هدف قرار می‌دهد. این تعامل انتقال اپیتلیال-مزانشی می‌را ترویج می‌کند و مسیر سیگنالینگ AKT-NFκB را فعال می‌کند که منجر به افزایش مهاجرت و تهاجم در کارسینوم سلول‌های کبدی می‌شود [۲۳].

بنابراین، با توجه به اهمیت نقش PTEN در پیشرفت بیماری هپاتیت B، هدف از این پژوهش بررسی بیان پروتئین PTEN در افراد مبتلا به ویروس هپاتیت B بود. نتایج این پژوهش در تایید مطالعات انجام شده نشان داد کمیت نسبی بیان ژن PTEN با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ در گروه کنترل و PTEN در گروه بیمار

ارائه ایده، طراحی، نظارت و مدیریت پروژه، نگارش بخش‌های مختلف طرح، ویرایش علمی مقاله (۳۰٪)

حمایت مالی

این طرح از سوی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی همدان حمایت مالی شده است.

نویسنده اول (پژوهشگر همکار): جمع‌آوری داده‌ها، مشارکت در نگارش بخش‌های مختلف طرح، نگارش مقاله (۳۰٪)؛ نویسنده دوم (پژوهشگر همکار): مشاور علمی طرح، مشارکت در مدیریت پروژه، مرور مقاله (۲۰٪)؛ نویسنده سوم (پژوهشگر همکار): مشاور علمی طرح، مرور مقاله (۱۰٪)؛ نویسنده چهارم (پژوهشگر همکار): تحلیلگر آماری طرح، مرور مقاله (۵٪). نویسنده پنجم (پژوهشگر همکار): مشاور علمی، مشارکت در جمع‌آوری داده‌ها، مرور مقاله (۵٪). نویسنده ششم (پژوهشگر اصلی): مسئول مکاتبات،

REFERENCES

- Nahid Samiei R, Shokri S, Mahmoudvand S, Makvandi M, Shahbazian H, Shayanpur S, et al. Occult hepatitis B virus infection among hemodialysis patients. *J Biol Res Bollettino della Società Italiana di Biol Sperimentale*. 2018;**91**(2). DOI:10.4081/jbr.2018.7516
- Al-Busafi SA, Alwassief A. Global perspectives on the hepatitis b vaccination: challenges, achievements, and the road to elimination by 2030. *Vaccines (Basel)*. 2024;**12**(3):228. PMID: 38543922 DOI: 10.3390/vaccines12030288
- Sheikhrabat SB, Mahmoudvand S, Kazemipour-Khabbazi S, Ramezannia Z, Baghi HB, Shokri S. Understanding lactate in the development of Hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Infect Agent Cancer*. 2024;**19**(1):31. PMID: 39010155 DOI: 10.1186/s13027-024-00593-4
- Kim DY. Changing etiology and epidemiology of hepatocellular carcinoma: Asia and worldwide. *J Liver Cancer*. 2024;**24**(1):62-70. PMID: 38523466 DOI: 10.17998/jlc.2024.03.13
- Agustiniingsih A, Rasyak MR, Turyadi, Jayanti S, Sukowati C. The oncogenic role of hepatitis B virus X gene in hepatocarcinogenesis: recent updates. *Explor Target Antitumor Ther*. 2024;**5**(1):120-34. PMID: 38464387 DOI: 10.37349/etat.2024.00209
- Wang Q, Wang J, Xiang H, Ding P, Wu T, Ji G. The biochemical and clinical implications of phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten in different cancers. *Am J Cancer Res*. 2021;**11**(12):5833-55. PMID: 35018228
- Ertay A, Ewing RM, Wang Y. Synthetic lethal approaches to target cancers with loss of PTEN function. *Genes Dis*. 2023;**10**(6):2511-27. PMID: 37533462 DOI: 10.1016/j.gendis.2022.12.015
- Chang H, Cai Z, Roberts TM. The mechanisms underlying PTEN loss in human tumors suggest potential therapeutic opportunities. *Biomolecules*. 2019;**9**(11):713. PMID: 31703360 DOI: 10.3390/biom9110713
- Chung TW, Lee YC, Ko JH, Kim CH. Hepatitis B Virus X protein modulates the expression of PTEN by inhibiting the function of p53, a transcriptional activator in liver cells. *Cancer Res*. 2003;**63**(13):3453-8. PMID: 12839924
- Sun Y, Yu M, Qu M, Ma Y, Zheng D, Yue Y, et al. Hepatitis B virus-triggered PTEN/β-catenin/c-Myc signaling enhances PD-L1 expression to promote immune evasion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2020;**318**(1):G162-73. PMID: 31604033 DOI: 10.1152/ajpgi.00197.2019
- Eskandari E, Dahmardeh T, Dahmardeh F, Pahlevani E, Metanat M. Lack of relationship between PTEN 32-bp and TP53 16-bp Ins/Del polymorphisms and chronic hepatitis B virus infection. *Virusdisease*. 2017;**28**(3):289-94. PMID: 29291215 DOI: 10.1007/s13337-017-0391-7
- Ma S, Qin K, Ouyang H, Zhu H, Lei P, Shen G. HBV infection exacerbates PTEN defects in hepatocellular carcinoma through upregulation of miR-181a/382/362/19a. *Am J Transl Res*. 2020;**12**(7):3780-91. PMID: 32774734
- Loomba R, Friedman SL, Shulman GI. Mechanisms and disease consequences of nonalcoholic fatty liver disease. *Cell*. 2021;**184**(10):2537-64. PMID: 33989548 DOI: 10.1016/j.cell.2021.04.015
- El-Serag HB. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2012;**142**(6):1264-73.e1. PMID: 22537432 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.12.061
- Du Y, Zhang YW, Pu R, Han X, Hu JP, Zhang HW, et al. Phosphatase and tensin homologue genetic polymorphisms and their interactions with viral mutations on the risk of hepatocellular carcinoma. *Chin Med J (Engl)*. 2015;**128**(8):1005-13. PMID: 25881591 DOI: 10.4103/0366-6999.155057
- Huang F, Guo J, Zhao N, Hou M, Gai X, Yang S, et al. PTEN deficiency potentiates HBV-associated liver cancer development through augmented GP73/GOLM1. *J Transl Med*. 2024;**22**:254. PMID: 38459588 DOI: 10.1186/s12967-024-04976-4
- Tu W, Yang Y, Song Y, Zhu W. Hepatitis B virus x protein accelerated the proliferation of hepatocellular carcinoma cell through lncRNA SNHG20/PTEN pathway. *J Biochem*. 2019;**165**(5):423-31. PMID: 30690477 DOI: 10.1093/jb/mvy120
- Zhu X, Zhang H, Xu J. Long noncoding RNA SNHG20 regulates cell migration, invasion, and proliferation via the microRNA-19b-3p/RAB14 axis in oral squamous cell carcinoma. *Bioengineered*. 2021;**12**(1):3993-4003. PMID: 34282711 DOI: 10.1080/21655979.2021.1950278
- Ruan Y, Jiang Y, Wang W, Ma J, He B, Chen M. HBV down-regulates PTEN expression via Nrf2/GSK3β signaling pathway. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2020;**45**(9):1009-14. PMID: 33051413 DOI: 10.11817/j.issn.1672-7347.2020.200189
- Kang-Park S, Im JH, Lee JH, Lee YI. PTEN modulates hepatitis B virus-X protein induced survival signaling in chag liver cells. *Virus Res*. 2006;**122**(1):53-60. PMID: 16872708 DOI: 10.1016/j.virusres.2006.06.010
- Tian Y, Xiao X, Gong X, Peng F, Xu Y, Jiang Y, et al. HBx promotes cell proliferation by disturbing the cross-talk between miR-181a and PTEN. *Sci Rep*. 2017;**7**:40089. PMID: 28053323 DOI: 10.1038/srep40089
- Tang J, Xiao X, Jiang Y, Tian Y, Peng Z, Yang M, et al. miR-3 encoded by hepatitis b virus downregulates pten protein expression and promotes cell proliferation. *J Hepatocell Carcinoma*. 2020;**7**:257-69. PMID: 33154957 DOI: 10.2147/JHC.S271091
- Liu Y, Wang J, Chen J, Wu S, Zeng X, Xiong Q, et al. Upregulation of miR-520c-3p via hepatitis B virus drives hepatocellular migration and invasion by the PTEN/AKT/NF-κB axis. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2022;**29**:47-63. PMID: 35795482 DOI: 10.1016/j.omtn.2022.05.031