



Up-Regulation of *TPT1-AS1* and *SAMMSON* and Down-Regulation of *LINC00961* Long Non-Coding RNAs (lncRNAs) as Potential Tumor Markers in Gastric Cancer

Mohammad Amin Amini¹ , Iraj Khodadadi², Heidar Tayebinia², Sayed Saman Talebi³, Behrouz Afshar³, Jamshid Karimi^{4,*} 

¹ MSc in Clinical Biochemistry, Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

² Professor, Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

³ Assistant Professor, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

⁴ Associate Professor, Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

* **Corresponding Author:** Jamshid Karimi, Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran. Email: jamshidkarimi2013@gmail.com

Abstract

Received: 06.11.2020

Accepted: 28.01.2021

How to Cite this Article:

Amini MA, Khodadadi I, Tayebinia H, Talebi SS, Afshar B, Karimi J. Up-Regulation of *TPT1-AS1* and *SAMMSON* and Down-Regulation of *LINC00961* Long Non-Coding RNAs (lncRNAs) as Potential Tumor Markers in Gastric Cancer. *Avicenna J Clin Med.* 2021; 27(4): 201-210. DOI: 10.29252/ajcm.27.4.201

Background and Objective: Gastric Cancer (GC) is one of the deadliest cancers in the world. Recently, *LINC00961*, *TPT1-AS1*, and *SAMMSON* Long non-coding RNA (lncRNAs) have been discovered, which significantly contribute to the occurrence of various cancers. This study aimed to determine the expression levels of these genes in GC tissues, compared to healthy adjacent tissues, and the relationship of their expressions with clinical characteristics.

Materials and Methods: In this case-control study, the expression of *LINC00961*, *SAMMSON*, and *TPT1-AS1* were evaluated in 40 pairs of cancerous and adjacent non-cancerous tissue samples in GC patients using qRT-PCR. Statistical analysis and graphing of the relationship between RNA levels and the clinic-pathological characteristics of GC were carried out using SPSS and Prism 5.00 software. Furthermore, Receiver Operating Characteristic (ROC) curve was drawn to represent the sensitivity and specificity of *LINC00961*, *SAMMSON*, and *TPT1-AS1* expression as biomarkers of GC.

Results: The expression of *TPT1-AS1* and *SAMMSON* were significantly up-regulated, and the expression of *LINC00961* was significantly decreased in GC specimens, compared to adjacent control samples. Our results showed that *TPT1-AS1* and *SAMMSON* RNA levels in GC were significantly related to the tumor size and histopathological grade. Moreover, the ROC curve analysis of *LINC00961* and *SAMMSON* RNA level demonstrated that these two lncRNAs had an appropriate sensitivity and specificity for the diagnosis goals.

Conclusion: Based on the results, *LINC00961*, *SAMMSON*, and *TPT1-AS1* may play critical roles in exacerbating and even initiating GC due to their cellular pathways.

Keywords: Gastric Cancer, Long Non-Coding RNA, Tumor Marker

افزایش بیان ژن‌های TPT1-AS1 و SAMMSON و کاهش بیان ژن LNC00961 به عنوان نشانگرهای بالقوه تومور در سرطان معده

محمدامین امینی^۱ ID، ایرج خدادادی^۲، حیدر طیبی نیا^۲، سید سامان طالبی^۳، بهروز افشار^۳، جمشید کریمی^۴ * ID

^۱ کارشناس ارشد، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

^۲ استاد، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

^۳ استادیار، گروه داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

^۴ دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

* نویسنده مسئول: جمشید کریمی، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.
ایمیل: jamshidkarimi2013@gmail.com

چکیده

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۸/۱۶ **سابقه و هدف:** سرطان معده یکی از کشنده ترین سرطان‌ها در جهان است. اخیراً TPT1-AS1، LINC00961 و SAMMSON کشف شده‌اند که به طور قابل توجهی در سرطان‌های مختلف نقش دارند. هدف از این مطالعه تعیین میزان بیان این ژن‌ها در بافت سرطانی در مقایسه با بافت مجاور سالم و ارتباط بیان آن‌ها با ویژگی‌های بالینی است. **تاریخ پذیرش مقاله:** ۱۳۹۹/۱۱/۰۹

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی همدان محفوظ است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد-شاهدی، بیان LINC00961، SAMMSON و TPT1-AS1 در ۴۰ جفت نمونه بافت سرطانی و بافت مجاور سالم با استفاده از qRT-PCR بررسی شد. تجزیه و تحلیل آماری و نمودار ارتباط بین سطح RNA و خصوصیات کلینیکوپاتولوژیک با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و Prism 5.00 انجام شد. منحنی ROC برای نشان دادن حساسیت و ویژگی LINC00961، SAMMSON و TPT1-AS1 به عنوان نشانگرهای زیستی سرطان معده ترسیم شدند.

یافته‌ها: بیان ژن‌های TPT1-AS1 و SAMMSON افزایش و بیان ژن LINC00961 کاهش یافته بود. نتایج نشان داد سطح TPT1-AS1 و SAMMSON در سرطان معده با اندازه و درجه تومور همبستگی دارد. تجزیه و تحلیل منحنی ROC از سطح LINC00961 و SAMMSON نشان داد این دو lncRNA می‌توانند بافت سرطانی و بافت مجاور سالم را از یکدیگر تمیز دهند.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج به دست آمده، LINC00961، SAMMSON و TPT1-AS1 ممکن است با توجه به مسیرهای پیام‌رسان سلولی خود نقش مهمی در تشدید و حتی شروع سرطان معده داشته باشند.

واژگان کلیدی: سرطان معده، نشانگر زیستی تومور، RNA طولیل غیر کدکننده

مقدمه

سرطان معده (Gastric Cancer) یکی از خطرناک‌ترین سرطان‌های بدخیمی در جهان، به ویژه در مناطق شرقی آسیاست. هر ساله تعداد کشته‌شدگان در جهان بر اثر این سرطان حدود ۹۵۰ هزار نفر تخمین زده می‌شود که تقریباً نیمی از شیوع در شرق آسیاست [۱]. سرطان معده پنجمین سرطان شایع و سومین علت مرگ ناشی از سرطان در سراسر جهان محسوب می‌شود [۲]. بیشتر بیماران مبتلابه سرطان معده در مراحل پیشرفته بیماری شناسایی می‌شوند. اگرچه از روش‌های تشخیصی و درمانی خاصی برای سرطان معده استفاده می‌شود،

میزان بقای این بیماران حدود ۵ سال است که بسیار کم است [۳، ۴]. امروزه نشانگرهای خاص تومور مانند CA19-9 و آنتی‌ژن جنینی کارسینوما (CEA) برای تشخیص سرطان معده شناسایی شده‌اند. با این وجود این نشانگرهای توموری هیچ ویژگی خاصی برای تشخیص این بدخیمی ندارند [۵]؛ بنابراین، کشف نشانگرهای غیرتهاجمی تومور برای تشخیص و درمان زودرس سرطان معده ضروری و حیاتی به نظر می‌رسد. امروزه مطالعات Transcriptome نشان داده است رونویسی حدود ۹۰ درصد از ژنوم انسان به تولید RNAهای غیر کدکننده

تومورسازی و پیشرفت داشته باشد. TPT1-AS1 یکی از lncRNAهاست که اخیراً در گلیوما و سرطان دهانه رحم بررسی و مشاهده شده است که بیان بیش از حد این lncRNA بر اندازه تومور، تکثیر، متاستاز و درمان دشوارتر تأثیر می‌گذارد [۱۶]. TPT1-AS1 با یکی از فاکتورهای رونویسی مرتبط است که مربوط به رونویسی برخی از ژن‌های میتوکندری است؛ بنابراین TPT1-AS1 می‌تواند بر تنظیم بیان این ژن‌ها تأثیر بگذارد [۱۶، ۱۷].

با این حال، مطالعات کمی درباره این lncRNA وجود دارد. از طرف دیگر، SAMMSON با مسیر Wnt/ β Catenin مرتبط است و نشان داده شده است که با افزایش بیان این lncRNA، می‌توان مسیر Wnt/ β Catenin را فعال کرد که به رشد متاستاز و خودنوسازی در سلول‌های سرطانی منجر می‌شود. طبق مطالعات، SAMMSON ممکن است سهم مهمی در سایر مسیرهای سلولی نیز داشته باشد [۱۸].

lncRNA دیگری که مورد توجه قرار گرفته، LINC00961 است. این lncRNA در فرایندهای مختلف سرطان نیز نقش دارد و روی پلی‌پپتیدی به نام SPAR (Small Regulatory Polypeptide Of Amino Acid Response mammalian Target of Rapamycin) mTORC1 تأثیر می‌گذارد که می‌تواند Complex 1 را مهار کند. نشان داده شده است که افزایش بیان LINC00961 می‌تواند متاستاز و تکثیر سلول‌های سرطانی را مهار کند [۲۰، ۱۹].

با توجه به اهمیت این lncRNAها، این مطالعه با هدف تعیین بیان TPT1-AS1، SAMMSON و LINC00961 در سطح RNA در بافت‌های سرطانی در مقایسه با بافت‌های مجاور سالم و همچنین ارتباط این lncRNAها با ویژگی‌های کلینیکوپاتولوژی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مورد-شاهدی، نمونه‌های بافتی از مرکز سرطان بیمارستان امام خمینی (ره) تهران گرفته شد. اطلاعات بیماران و فرم رضایت آگاهانه کتبی نیز در آن مرکز تهیه شد. هرگونه فعل‌وانفعالات شیمی‌درمانی و پرتودرمانی سایر سرطان‌ها همراه سرطان معده و بیماری‌های التهابی مزمن یا حاد و پیشرفت آن با پروتکل‌های مربوطه توسط متخصص آسیب‌شناسی تأیید و به‌عنوان معیارهای خروج در نظر گرفته شد. بافت‌های سرطانی و مجاور سالم آن توسط جراح برداشته و هریک از این نمونه‌ها به دو قسمت تقسیم شد. یک قسمت بلافاصله در نیتروژن مایع قرار گرفت و برای استخراج RNA، تولید cDNA و ارزیابی بیان ژن استفاده شد. برای تعیین بیان ژن‌های lncRNA مربوطه از روش qRT-PCR استفاده شد. قسمت دوم بافت برای ارزیابی‌های آسیب‌شناسی در فرمالین گذاشته شد. اطلاعات دموگرافیک از جمله سن، جنس، محل نئوپلاسم اولیه، تاریخ تشخیص، نژاد،

منجر می‌شود. RNAهای طویل غیرکدکننده (Long Non-Coding RNA) بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید با کلاهک متیل گوانوزین در انتهای ۵ قرار دارند. امروزه حدود ۶ هزار lncRNA با نقش‌های مختلف در ژنوم کشف شده است [۶]. lncRNAها بر اساس موقعیت کروموزومی و تأثیر آن‌ها بر بیان مولکول‌ها، پروتئین‌ها و ژن‌ها به دو گروه طبقه‌بندی می‌شوند. برای مثال، برخی از lncRNAها اینترونی هستند، در حالی که برخی دیگر ممکن است بین‌ژنی باشند. lncRNAها می‌توانند بیان ژن را از طریق مسیرهایی مانند رونویسی و سطح پس از رونویسی با اتصال به برخی از ماکرومولکول‌ها مثل پروتئین‌ها، miRNAها، DNA و mRNA تنظیم کنند [۷]. lncRNAها می‌توانند در انتقال سلول به سلول توسط اگزوزوم‌ها شرکت کنند [۸]. این انتقال سلول به سلول بر فرایندهای حیاتی مانند تنظیم ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی، مقاومت دارویی، تومورزایی و رگ‌زایی تأثیر می‌گذارد. از این رو، lncRNAهای اگزوزومی ممکن است به‌عنوان اهداف تشخیصی و درمانی و نشانگرهای زیستی اندازه‌گیری شوند.

همان‌طور پیش‌تر ذکر شد، lncRNAها عملکردهای سلولی حیاتی دارند که می‌تواند سیستم ایمنی، تکثیر، آپوپتوز، تمایز، اتوفاجی، مهاجرت، متاستاز و رشد سلول را تعدیل کند [۹، ۱۰]. به همین ترتیب، یکی از عملکردهای مهم lncRNA تنظیم انتقال اپیتلیالی به مزانشیمی (EMT) در تنظیم مسیرهای پیام‌رسانی است که در سرطان معده گزارش شده است [۱۱]. علاوه بر این، برخی از lncRNAها می‌توانند به‌عنوان مهارکننده تومور و انکوژن در نظر گرفته شوند و ممکن است در مسیرهای سرطان‌زایی شرکت کنند [۱۲]. با توجه به این مطالعات، می‌توان نتیجه گرفت که lncRNAها می‌توانند نقشی حیاتی در شروع و پیشرفت سرطان معده داشته باشند [۱۳].

بر اساس مطالعات قبلی و شواهدی که ارائه شده است، برخی از lncRNAها مانند PURPL، NONHSAT062994، BANCR، LOC100130476، ATB، UCA1، ZFAS1، SPRY4-IT1، MALAT1 و FENDRR نقش مهمی در سرطان معده دارند [۱۱]. lncRNAهای گفته‌شده ممکن است در فرایندهای مختلف آسیب‌شناختی در سرطان معده شرکت کنند؛ به‌طور مثال، گزارش شده است که MALAT1 و SPRY4-IT1 می‌توانند بر EMT، تنظیم اپی‌ژنتیک و سطح رونویسی RNA آن تأثیر بگذارند که به متاستاز نقاط دور، لنفاوی و مرحله تومور-گره-متاستاز (TNM Stage) مربوط است [۱۴، ۱۵].

اخیراً از lncRNAها علاوه بر اهداف درمانی برای بدخیمی، به‌عنوان نشانگر تشخیصی تومور نیز استفاده شده است. در حال حاضر کشف شده است که TPT1-AS1 (Translationally-controlled 1, Anti-Sense RNA 1) در فرایندهای مختلف سلولی مانند تمایز سلولی، تکثیر، مهاجرت، آپوپتوز، تهاجم و سلول‌های بنیادی نقش دارد [۱۶]. مثلاً در افراد مبتلابه سرطان ریه، TPT1-AS1 می‌تواند نقش مهمی در

اکتین به عنوان ژن مرجع (مراجع) جلو: 5-ACA GAG CC TCG
5'-ATC ACG CCC TGG معکوس: CCT TTG C-3'
".TGC CT -3". تفاوت بیان ژن‌ها در مقایسه با ژن مرجع با
فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ تعیین شد [۲۱].

تجزیه و تحلیل آماری و نمودار با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و Prism 5.00 انجام شد. بر اساس نتایج آزمون کولموگروف-اسمیرنوف، تفاوت بیان بین دو گروه با روش‌های یو من ویتنی یا تی مستقل تجزیه و تحلیل شد. مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار تلقی شدند. از آزمون‌های پیرسون و اسپیرمن برای بررسی رابطه بین متغیرها استفاده شد.

یافته‌ها

ویژگی‌های بیماران در جدول ۱ نشان داده شده است. همه شرکت کنندگان در مطالعه ایرانی بودند و میانگین سنی آنان ۶۲ سال (۳۳ تا ۸۵ سال) بود. ۲۹ نفر (۷۲/۵ درصد) از بیماران مرد و ۱۱ نفر (۲۷/۵ درصد) زن بودند. در مرحله بندی TNM، بیماران با مرحله پایین (I) (۱۲/۵ درصد) و با مرحله بالا (II) (۸۷/۵ درصد) بودند. بیماران مبتلابه آدنوکارسینوما ۲۹ نفر (۷۲/۵ درصد) و غیرآدنوکارسینوما ۱۱ نفر (۲۷/۵ درصد) بودند. علاوه بر این، محل اولیه نئوپلاسم در این بیماران مشخص شد که ۱۰ مورد (۲۵ درصد) در کاردیا، ۱۰ مورد (۲۵ درصد) در آنتروم و ۲۰ مورد (۵۰ درصد) در بدنه معده بود.

وضعیت تاهل، سابقه خانوادگی سرطان، سابقه بیماری و مصرف داروی خاص برای هر بیمار ثبت شد.

استخراج RNA و qRT-PCR

RNA تام با توجه به دستورالعمل‌های سازنده با استفاده از محلول RNX-Plus Cinnagen (تهران، ایران) از نمونه‌ها جدا شد. RNA استخراج شده با اسپکتروفتومتر Nano-Drop (Wilmington, Thermo Fisher Scientific Inc.) از نظر کمی و با ژل آگارز ۰/۸ درصد از نظر کیفی ارزیابی شد. cDNA با کیت رونویسی معکوس (Fermentas) تهیه شد. qRT-PCR با کیت SYBR Green master mix (آمپلیکون، دانمارک) با استفاده از دستگاه Light Cycler 96 (Roche Life Science) انجام شد. Sand hofer, Deutsch land GmbH، آلمان) انجام شد. توالی‌های پرایمر توسط شرکت تکاپو زیست (تهران، ایران) طراحی و ساخته شد. توالی‌های پرایمر به شرح زیر بود: (LINC00961) جلو: 5'-CTG TTC TGG ATG GGA 3'-GCG AA 5'-ACA GTC ACC ACG AAC معکوس: 5'-CAC TCC CAG AGC AC-3' (TPT1-AS1) جلو: 5'-AAT TGG ATC TTC ACT TCA GG -3' معکوس: 5'-AGG CCA GTG CTC TG -3' (SAMMSON) جلو: 5'-CCT CTA GAT GTG TAA GGG TAG T-3' معکوس: 5'-TTG AGT TGC ATA GTT GAG GAA-3' (بتا)

جدول ۱: ارتباط بین بیان ژن‌های مربوطه و ویژگی‌های کلینیکوپاتولوژیک

ویژگی بیماران	گروه	تعداد (درصد)	بیان ژن LINC00961 میانگین \pm انحراف معیار	P LINC00961	بیان ژن TPT1-ASI میانگین \pm انحراف معیار	P TPT1-ASI	بیان ژن SAMMSON میانگین \pm انحراف معیار	P SAMMSON
سن	کمتر از ۶۰	۲۳ (۵۷/۵)	۰/۴۳ \pm ۰/۱۵	۰/۷۴۱	۴/۴۲ \pm ۰/۴۵	۰/۶۳۲	۱/۵۷ \pm ۰/۱۵	۰/۰۸
	بیشتر از ۶۰	۱۷ (۴۲/۵)	۰/۶۲ \pm ۰/۱۱		۴/۲۲ \pm ۰/۲۱		۱/۸۵ \pm ۰/۱۱	
TNM مرحله بندی	پایین (I, II)	۵ (۱۲/۵)	۰/۵۴ \pm ۰/۱۷	۰/۵۶۲	۵/۰۱ \pm ۰/۲۹	۰/۵۴۵	۱/۴۴ \pm ۰/۱۷	۰/۵۲۷
	بالا (III, IV)	۳۵ (۸۷/۵)	۰/۶۳ \pm ۰/۱۳		۴/۰۹ \pm ۰/۲۱		۱/۷۶ \pm ۰/۱۳	
جنس	زن	۱۱ (۲۷/۵)	۰/۵۷ \pm ۰/۱۶	۰/۸۱۲	۴/۱۹ \pm ۰/۵۸	۰/۱۹۷	۱/۳۳ \pm ۰/۲۶	۰/۵۶۲
	مرد	۲۹ (۷۲/۵)	۰/۷۱ \pm ۰/۱۹		۴/۵۱ \pm ۰/۵۲		۱/۵۵ \pm ۰/۲۹	
مکان اولیه بدنه	کاردیا	۱۰ (۲۵)	۰/۶۰ \pm ۰/۱۴	۰/۲۶۴	۵/۰۲ \pm ۰/۲۱	۰/۵۶۷	۱/۳۲ \pm ۰/۳۴	۰/۵۵۴
	آنتروم بدنه	۱۰ (۲۵) ۲۰ (۵۰)	۰/۵۹ \pm ۰/۱۹ ۰/۷۵ \pm ۰/۰۹		۴/۲۱ \pm ۰/۳۴ ۴/۲۹ \pm ۰/۴۴		۱/۷۶ \pm ۰/۱۷ ۱/۷۹ \pm ۰/۲۹	
اندازه تومور (سانتی متر)	کمتر از ۴	۸ (۲۰)	۰/۴۸ \pm ۰/۱۶	۰/۲۳۳	۴/۰۲ \pm ۰/۵۸	۰/۰۴۶۵	۲/۶۳ \pm ۰/۲۶	۰/۰۴
	بیشتر از ۴	۳۲ (۸۰)	۰/۵۴ \pm ۰/۱۵		۵/۰۵ \pm ۰/۴۵		۳/۲۸ \pm ۰/۱۳	
بافت شناسی	آدنوکارسینوما	۲۹ (۷۲/۵)	۰/۵۸ \pm ۰/۱۸	۰/۳۳۳	۴/۲۷ \pm ۰/۲۷	۰/۲۸۳	۱/۷۸ \pm ۰/۲۸	۰/۶۳۸
	غیرآدنوکارسینوما	۱۱ (۲۷/۵)	۰/۴۷ \pm ۰/۱۶		۴/۵۶ \pm ۰/۲۱		۱/۸۸ \pm ۰/۲۴	
درجه تومور	I	۳ (۷/۵)	۰/۵۵ \pm ۰/۱۲		۴/۵۲ \pm ۰/۲۶		۱/۶۴ \pm ۰/۲۹	
	II	۱۰ (۲۵)	۰/۴۳ \pm ۰/۱۱		۴/۷۹ \pm ۰/۲۸		۱/۷۷ \pm ۰/۲۱	
	III	۱۸ (۴۵)	۰/۴۴ \pm ۰/۱۳	۰/۲۳۳	۵/۰۵ \pm ۰/۴۵	۰/۰۱۸۲	۱/۸۳ \pm ۰/۲۸	۰/۰۱۲
	IV	۴ (۱۰)	۰/۴۷ \pm ۰/۱۳		۵/۲۹ \pm ۰/۱۹		۱/۹۸ \pm ۰/۱۶	
نکروز	مثبت	۱۱ (۲۷/۵)	۰/۵۹ \pm ۰/۱۵	۰/۴۱۳	۴/۳۶ \pm ۰/۲۸	۰/۳۸۱	۱/۴۹ \pm ۰/۱۷	۰/۶۲۸
	منفی	۲۹ (۷۲/۵)	۰/۴۹ \pm ۰/۱۹		۴/۶۰ \pm ۰/۵۸		۱/۵۲ \pm ۰/۳۳	
تهاجم لنفاتیک	مثبت	۳۱ (۷۷/۵)	۰/۷۲ \pm ۰/۱۹	۰/۵۳۴	۴/۵۲ \pm ۰/۴۱	۰/۱۷۹	۱/۳۴ \pm ۰/۲۸	۰/۳۲۹
	منفی	۹ (۲۲/۵)	۰/۸۱ \pm ۰/۱۲		۴/۹۷ \pm ۰/۳۶		۱/۴ \pm ۰/۲۶	
تهاجم عروقی	مثبت	۳۱ (۷۷/۵)	۰/۶۴ \pm ۰/۱۶	۰/۷۸۱	۴/۶۱ \pm ۰/۲۸	۰/۶۵۶	۱/۴۴ \pm ۰/۲۱	۰/۳۵۹
	منفی	۹ (۲۲/۵)	۰/۵۴ \pm ۰/۱۲		۴/۳۵ \pm ۰/۶۴		۱/۶۶ \pm ۰/۱۵	
تهاجم عصبی	مثبت	۲۲ (۵۵)	۰/۵۶ \pm ۰/۱۴	۰/۹۸۱	۵/۰۹ \pm ۰/۶۵	۰/۴۶۵	۱/۷۴ \pm ۰/۲۷	۰/۴۶۸
	منفی	۱۸ (۴۵)	۰/۶۶ \pm ۰/۱۹		۴/۷۸ \pm ۰/۴۶		۱/۸۹ \pm ۰/۲۵	

با توجه به توزیع غیرنرمال داده‌ها از تست غیرپارامتری اسپیرمن برای ارزیابی ارتباط بین بیان ژن‌های مربوطه و ویژگی‌های کلینیکوپاتولوژیک استفاده شد.

تجزیه و تحلیل کمی qRT-PCR

بیان TPT1-AS1 در نمونه‌های بافتی

بیان TPT1-AS1 در ۴۰ جفت بافت سرطانی و بافت مجاور سالم ارزیابی و مشاهده شد که سطح بیان TPT1-AS1 بافت سرطانی در مقایسه با بافت مجاور سالم افزایش یافته است ($P=0/029$ ، شکل ۱-a).

($P=0/545$)، متاستاز در غدد لنفاوی ($P=0/179$)، متاستاز عروقی ($P=0/656$)، محل اولیه ($P=0/567$)، بافت شناسی ($P=0/283$)، متاستاز Perineural ($P=0/456$) و نکروز ($P=0/381$) ارتباط معنی داری با سطح TPT1-AS1 نشان ندادند. باین حال، سطح RNA نسبی TPT1-AS1 با اندازه تومور ($P=0/0465$) و درجه تومور ($P=0/0182$) ارتباط داشت (جدول ۱).

بیان SAMMSON در نمونه‌های بافتی

بیان SAMMSON در ۴۰ جفت بافت سرطانی و بافت مجاور سالم ارزیابی و مشاهده شد که سطح بیان SAMMSON بافت سرطانی در مقایسه با بافت مجاور سالم افزایش یافته است ($P=0/038$ ، شکل ۱-b).

ارتباط بین ژن‌های SAMMSON و ویژگی‌های

کلینیکوپاتولوژیک

سن ($P=0/080$)، جنسیت ($P=0/562$)، مرحله TNM ($P=0/527$)، متاستاز در غدد لنفاوی ($P=0/329$)، متاستاز عروقی ($P=0/359$)، محل اولیه ($P=0/544$)، بافت شناسی ($P=0/633$)، متاستاز Perineural ($P=0/468$) و نکروز ($P=0/628$) ارتباط معنی داری با سطح SAMMSON RNA نشان ندادند. باین حال، سطح RNA نسبی SAMMSON با اندازه تومور ($P=0/04$) و درجه تومور ($P=0/012$) ارتباط داشت (جدول ۱).

بیان LINC00961 در نمونه‌های بافتی

بیان LINC00961 در ۴۰ جفت بافت سرطانی و بافت مجاور سالم ارزیابی و مشاهده شد که سطح بیان LINC00961 بافت سرطانی در مقایسه با بافت مجاور سالم کاهش یافته است ($P=0/020$ ، شکل ۱-c).

ارتباط بیان ژن‌های TPT1AS1 و SAMMSON با درجه

تومور

ارتباط بیان ژن‌های TPT1AS1 و SAMMSON با درجه تومور تجزیه و تحلیل شد و ارتباط معنی دار و مثبتی بین بیان TPT1-AS1 و درجه تومور مشاهده شد ($r=0/170$)، $P=0/0182$ (شکل ۲). علاوه بر این، بین بیان SAMMSON و درجه تومور ارتباط معنی داری مشاهده شد ($r=0/655$)، $P=0/012$ (شکل ۳). از طرفی، ارتباط بیان ژن LINC00961 با درجه تومور تجزیه و تحلیل شد که هیچ گونه ارتباط معناداری با درجه تومور مشاهده نشد ($P=0/233$).

ارتباط بین ژن LINC00961 و ویژگی‌های

کلینیکوپاتولوژیک

سن ($P=0/741$)، جنسیت ($P=0/812$)، مرحله TNM ($P=0/562$)، متاستاز در غدد لنفاوی ($P=0/534$)، متاستاز عروقی ($P=0/781$)، محل اولیه ($P=0/264$)، اندازه تومور به سانتی متر ($P=0/233$)، بافت شناسی ($P=0/323$)، درجه تومور ($P=0/233$)، متاستاز Perineural ($P=0/981$) و نکروز ($P=0/413$) هیچ ارتباط معنی داری با سطح RNA LINC00961 نداشتند (جدول ۱).

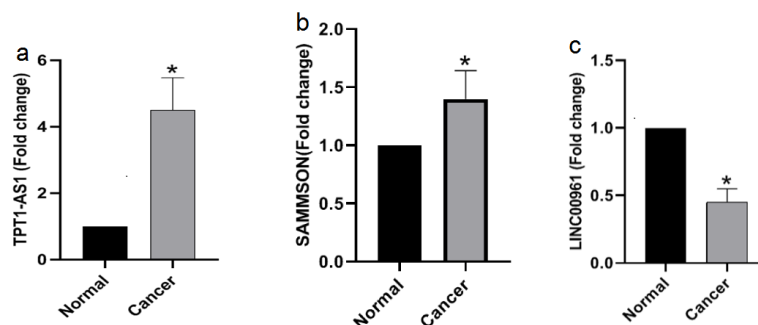
تجزیه و تحلیل منحنی ROC

به منظور درک سطح بیان ژن TPT1-AS1، SAMMSON و LINC00961 به عنوان نشانگرهای بالقوه تومور برای سرطان

ارتباط بین ژن TPT1-AS1 و ویژگی‌های

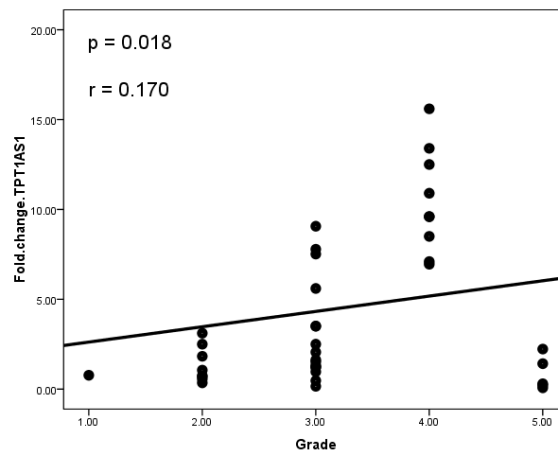
کلینیکوپاتولوژیک

سن ($P=0/632$)، جنسیت ($P=0/197$)، مرحله TNM



شکل ۱: مقایسه سطح تغییرات بیان ژن در بافت سرطانی در مقایسه با بافت مجاور سالم

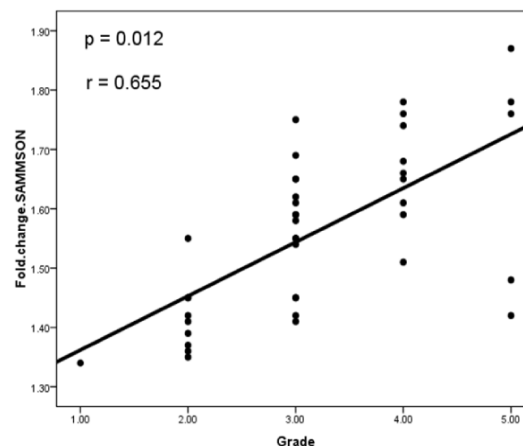
(a) مقایسه بیان ژن TPT1-AS1 در ۴۰ جفت بافت سرطانی و بافت مجاور سالم ($P < 0/05$); (b) مقایسه بیان ژن SAMMSON در ۴۰ جفت بافت سرطانی و بافت مجاور سالم ($P < 0/05$); (c) مقایسه بیان ژن LINC00961 در ۴۰ جفت بافت سرطانی و بافت مجاور سالم ($P < 0/05$). با توجه به توزیع غیرنرمال داده‌ها از تست غیرپارامتری من ویتنی استفاده شد.



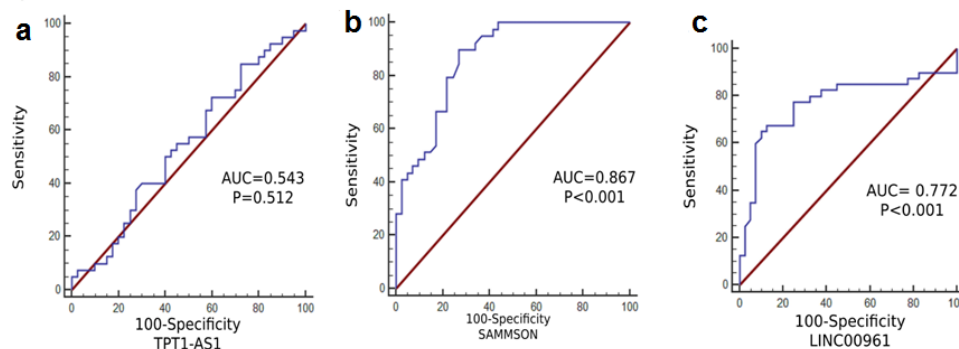
شکل ۲: رابطه بین درجه تومور و بیان ژن TPT1-AS1 در بافت‌های سرطانی با درجه تومورهای مختلف

برای LINC00961 [0.772 (95% CI, 0.664–0.858)] در ۴۰ جفت نمونه بافت سرطانی و بافت مجاور سالم به دست آمد که نشان می‌دهد ژن‌های SAMMSON و LINC00961 با $P < 0.001$ می‌توانند ارتباط معنی‌دار و قدرت تمیز مناسبی بین بافت‌های سرطانی و بافت‌های مجاور سالم داشته باشند و ژن TPT1-AS1 با $P = 0.512$ قدرت تمیز و ارتباط معنی‌دار از خود نشان نمی‌دهد (شکل ۴-c).

منحنی ROC تجزیه و تحلیل و تمایز بافت‌های سرطانی با بافت‌های مجاور سالم ترسیم شد. سطح زیر منحنی AUC و تجزیه و تحلیل منحنی ROC برای TPT1-AS1، همان‌طور که برای بافت‌های سرطانی در مقایسه با بافت‌های مجاور سالم رسم شده است، [0.543 (95% CI, 0.428–0.655)] به دست آمد. تجزیه و تحلیل منحنی ROC برای SAMMSON [0.867 (95% CI, 0.787–0.941)] و تجزیه و تحلیل منحنی ROC



شکل ۳: رابطه بین درجه تومور و بیان ژن SAMMSON در بافت‌های سرطانی با درجه تومورهای مختلف



شکل ۴: ROC TPT1-AS1 و SAMMSON، LINC00961 برای تشخیص و تمیز بین بافت‌های سرطانی و بافت‌های مجاور سالم (a) نمودار ROC بیان ژن TPT1-AS1 در ۴۰ جفت بافت سرطانی و بافت مجاور سالم؛ (b) نمودار ROC بیان ژن SAMMSON در ۴۰ جفت بافت سرطانی و بافت مجاور سالم؛ (c) نمودار ROC بیان ژن LINC00961 در ۴۰ جفت بافت سرطانی و بافت مجاور سالم.

TPT1-AS1 یکی از جدیدترین lncRNA های شناخته شده است. این lncRNA اخیراً در گلیوما و سرطان دهانه رحم بررسی و مشاهده شده است که افزایش بیان این lncRNA می‌تواند اندازه تومور، تکثیر و متاستاز را افزایش دهد [۲۲]. از طرف دیگر، این lncRNA با پروتئینی به نام فاکتور رونویسی (Sp1) همراه با ZnF 179 (Zinc Finger Protein 179) مسیری ایجاد می‌کند که می‌تواند بر محافظت در برابر استرس اکسیداتیو و ROS ناشی از میتوکندری تأثیر بگذارد. این پروتئین یکی از عوامل دخیل در رونویسی است و همچنین بیان برخی از زیرواحدها را در مجموعه زنجیره انتقال الکترون تنظیم می‌کند. همچنین بیان بیش از حد TPT1-AS1 می‌تواند بیان ژن و پروتئین SPI را افزایش دهد که در نهایت به اختلال در زنجیره انتقال الکترون منجر می‌شود، به میتوکندری و سلول‌ها آسیب می‌رساند و وضعیت استرس اکسیداتیو را تشدید می‌کند [۲۸، ۱۶].

در مطالعه حاضر برای اولین بار نشان داده شد که میزان بیان TPT1-AS1 در بافت‌های سرطانی در مقایسه با بافت‌های مجاور سالم افزایش پیدا کرده است. اخیراً مطالعاتی در زمینه بیان ژن TPT1-AS1 انجام شده است؛ به عنوان مثال، در سال ۲۰۱۷، Jiang و همکاران سرطان دهانه رحم را به صورت *in vivo* و *in vitro* مطالعه کردند. آنان دریافتند TPT1-AS1 lncRNA می‌تواند به عنوان یک ماده سرطان‌زا در پیشرفت سرطان دهانه رحم نقش داشته باشد و همچنین آن را به عنوان یک هدف درمانی معرفی کردند [۱۶]. علاوه بر این، در سال ۲۰۱۹، WU و همکاران روی سرطان تخمدان مطالعه کردند و دریافتند TPT1-AS1 lncRNA می‌تواند به تومورزایی و متاستاز در سرطان تخمدان منجر شود [۲۹].

نتایج منحنی ROC هیچ‌گونه ویژگی و حساسیت مناسبی برای سطح TPT1-AS1 در بافت سرطانی و بافت مجاور سالم نشان نداد که نشان می‌دهد این سطح بیان ژن ممکن است برای تشخیص و تمیز بافت‌های سرطانی و غیرسرطانی در آزمایشگاه بالینی مناسب نباشد.

SAMMSON با مسیر Wnt/ β Catenin مرتبط است. نشان داده شده است بیان بیش از حد این lncRNA می‌تواند مسیر سلول‌های سرطانی را فعال و رشد سلول‌ها، متاستاز و خودنوسازی این سلول‌ها را تسریع کند [۱۸]. این lncRNA همچنین با یک پروتئین میتوکندری به نام P32 در ارتباط است که هم در یکپارچگی ساختار میتوکندری و هم در تولید انرژی از طریق فسفوریلاسیون-اکسیداتیو مؤثر است. همچنین می‌تواند به پیشرفت برخی از سرطان‌ها و تبدیل متابولیسم سلول از فسفوریلاسیون-اکسیداتیو به گلیکولیز و افزایش استرس اکسیداتیو کمک کند [۳۰]. SAMMSON با این پروتئین در ارتباط است و با غیرفعال کردن P32، می‌تواند عملکرد و ساختار

سرطان معده یکی از خطرناک‌ترین و کشنده‌ترین سرطان‌ها در جهان است که از نظر کشندگی در بین انواع سرطان در رتبه سوم قرار دارد. این نوع نئوپلاسم امروزه در جهان در حال افزایش است و رویکردهای تشخیصی مختلفی برای آن بیان شده است. با این حال، برای شناسایی و درمان آن به مطالعات گسترده‌ای نیاز است [۲۳، ۲۲]. یک مطالعه در زمینه lncRNA در پایگاه داده‌های مختلف نشان می‌دهد تعداد مقالات از سال ۲۰۰۵ تا ۲۰۱۹ تقریباً ۵۰ برابر افزایش یافته است. امروزه lncRNA ها به عنوان RNA های حیاتی برای تشخیص و اهداف درمانی توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند. در سرطان‌های مختلف در ارتباط با مطالعات lncRNA، تاکنون عملکردهای مختلف بیولوژیکی برخی lncRNA ها کشف شده است [۲۴، ۲۵].

lncRNA ها در بسیاری از بیماری‌ها، به ویژه سرطان کمک زیادی می‌کنند. مطالعات ژنومی رونویسی، مطالعه تمام RNA های رمزگردان و غیر رمزگردان نشان داده است رونویسی در ژنوم پستانداران به وفور یافت می‌شود که حداقل ۸۰ درصد این رونویسی منحصرأ مربوط به RNA های غیر رمزگردان (ncRNA) است [۲۶]. ncRNA بر اساس طول توالی خود به دو گروه طبقه‌بندی می‌شوند: ncRNA های کوتاه با کمتر از ۲۰۰ نوکلئوتید (sncRNA) و RNA های طویل غیر رمزگردان با بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید (lncRNA). تاکنون طبق مطالعات متعدد بیش از ۵۸ هزار lncRNA در ژنوم انسان شناسایی شده است. عملکردها و نقش‌های بسیاری از lncRNA ها هنوز یافت نشده است. به نظر می‌رسد آن‌ها فقط به عنوان عوامل رونویسی عمل می‌کنند. با این حال، برخی از آن‌ها عملکردهای مختلفی در رونویسی ژن و ترجمه پروتئین دارند.

برخلاف microRNA ها، lncRNA ها قادر به بیان ژن هستند و توانایی سرکوب آن را نیز دارند. lncRNA ها قادر به تعامل با انواع ماکرومولکول‌ها مانند DNA، RNA و پروتئین‌ها هستند؛ بنابراین، نقش مهمی در تنظیم بیان ژن در سطوح رونویسی، پس از رونویسی و اپیژنتیک دارند. lncRNA ها عمدتاً در هسته قرار دارند و بیان ژن را در سطح اپیژنتیک تحت تأثیر قرار می‌دهند و تعداد کمی، تقریباً ۱۵ درصد، در سیتوپلاسم وجود دارد و ترجمه پروتئین را تنظیم می‌کند.

در مطالعات متعدد نقش مهم lncRNA در بسیاری از بیماری‌ها، به ویژه سرطان، گزارش شده است [۲۵]. اخیراً ثابت شده است تعدادی از lncRNA ها نقش مهمی در تکثیر، چرخه سلولی، آپوپتوز، حمله، مهاجرت، متاستاز و تومورزایی سلول‌های سرطان معده دارند [۲۷]. اخیراً سه lncRNA از جمله TPT1-AS1، SAMMSON و LINC00961 شناسایی شده‌اند که تحت مطالعات محدودی درباره مکانیسم عملکرد آن‌ها در سرطان، به ویژه سرطان معده قرار گرفته‌اند.

همکاران بافت‌های سرطانی بیماران مبتلا به سرطان سلول سنگ‌فرشی زبان را بررسی و مشاهده کردند که بیان LINC00961 به‌طور قابل توجهی کاهش یافته است. این lncRNA با عملکرد خاص خود، با تنظیم مسیر پیام‌رسانی Wnt/ β Catenin از رشد، تکثیر و متاستاز سلول‌های سرطانی جلوگیری می‌کند [۳۳].

تجزیه و تحلیل منحنی ROC ویژگی و حساسیت نسبتاً خوبی را برای سطح RNA LINC00961 در بافت سرطانی و بافت مجاور سالم نشان داد که بیانگر این است که این سطح بیان lncRNA ممکن است برای تشخیص و تمیز بافت‌های سرطانی و بافت مجاور سالم در آزمایشگاه بالینی نقش داشته باشد.

به‌طور کلی، بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر بیان بیش‌ازحد قابل توجهی از TPT1-AS1 و SAMMSON در بافت‌های سرطانی در مقایسه با بافت‌های مجاور سالم نشان داده شده است. از سوی دیگر، کاهش بیان LINC00961 در بافت‌های سرطانی در مقایسه با بافت‌های مجاور سالم نشان داد در شرایط پاتولوژیک، بیان بیش‌ازحد TPT1-AS1 و SAMMSON و کاهش بیان LINC00961 می‌تواند نقش مؤثری در تشدید (درجه تومور بالاتر) و شاید شروع (درجه تومور پایین‌تر) سرطان معده داشته باشند.

هدف کلی این مطالعه مقایسه بیان ژن‌های مربوطه در دو گروه بافت سرطانی و بافت مجاور سالم بود. با توجه به دسترسی به برخی از ویژگی‌های آن‌ها آنالیزهای مختلفی مانند ارتباط بیان ژن با ویژگی‌های کلینیکی پاتولوژیک بیماران نیز انجام و نتایج ارائه شد. بر اساس نتایج بیان ژن LINC00961 با هیچ‌کدام از ویژگی‌های کلینیکی پاتولوژیک ارتباط معناداری نداشت. با توجه به اینکه تشخیص دیرهنگام این سرطان به‌ویژه در گریدهای میانی (خصوصاً سوم) باعث می‌شود نمونه‌ها از لحاظ گرید، جمع‌آوری یکسانی نداشته باشند، به نظر می‌رسد اگر در هر ویژگی توموری مانند اندازه و درجه تومور از تعداد نمونه بیشتری استفاده می‌شد، شاید ارتباط معنی‌دار پیدا می‌شد و این می‌تواند در مطالعات آینده مدنظر قرار گیرد.

با در نظر گرفتن عملکردهای lncRNA های گفته شده، جهش در این ژن lncRNA ها می‌تواند به شدت بر میزان بیان آن‌ها و مسیرهای مختلف پیام‌رسانی مربوطه تأثیر بگذارد؛ بنابراین، با تأثیرگذاری بر ژن‌ها و پروتئین‌های مختلف اشاره شده در این مسیرها، می‌تواند در پیشرفت، تهاجم و متاستاز سلول‌های سرطانی نقش مهمی ایفا کنند که این تکثیر سلولی به دلیل افزایش بیان TPT1-AS1 و SAMMSON و کاهش بیان LINC00961 در بافت سرطانی معده در مقایسه با بافت مجاور سالم است [۲۰، ۱۷، ۱۶]. در این مطالعه با استفاده از تکنیک‌های ژنتیکی و آزمایش‌های بیوشیمیایی مشخص شده است بیان بیش‌ازحد TPT1-AS1 و SAMMSON و کاهش بیان LINC00961 در بافت سرطانی معده در مقایسه با بافت مجاور

میتوکندریایی را مختل کند و همچنین به ازدیاد استرس اکسیداتیو منجر شود [۳۱، ۱۸].

در مطالعه حاضر برای اولین بار نتایج نشان داد بیان SAMMSON در بافت سرطانی بیش از بافت مجاور سالم بیان شده است. مطابق با مطالعات قبلی، در سال ۲۰۱۷، Li و همکاران در پژوهشی در زمینه سرطان کبد هم در داخل بدن و هم در شرایط *in vitro* دریافتند که SAMMSON مسیر Wnt/ β Catenin را در سلول‌های سرطانی فعال می‌کند و می‌تواند این سلول‌ها را در رشد و خودنوسازی سلول‌های سرطانی فعال کند [۱۸].

یافته‌های منحنی ROC ویژگی و حساسیت نسبتاً مناسبی را برای سطح RNA SAMMSON در بافت‌های سرطانی و غیرسرطانی نشان داد که این سطح بیان lncRNA می‌تواند برای تشخیص و تمیز بافت‌های سرطانی و بافت مجاور سالم در آزمایشگاه بالینی استفاده شود.

طبق یافته‌های مطالعه حاضر، افزایش بیان ژن‌های TPT1-AS1 و SAMMSON ارتباط معنی‌داری با درجه تومور در سرطان معده داشت. بر اساس مطالعات قبلی، افزایش بیان این lncRNA ها ممکن است رشد سلول سرطانی را افزایش دهد. می‌توان نتیجه گرفت که TPT1-AS1 و SAMMSON نقش مهمی در تشدید سرطان معده دارند؛ به‌ویژه در درجه‌های بالاتر تومور که ممکن است با جلوگیری از افزایش بیان این ژن‌ها، تشدید روند سرطان را در درجه‌های بالاتر کمی مهار کرد. در آینده این دو lncRNA می‌توانند برای اهداف درمان و تشخیص سرطان معده در نظر گرفته شوند. از طرف دیگر، افزایش بیان این ژن‌ها می‌تواند به میتوکندری آسیب برساند و شرایط استرس اکسیداتیو را افزایش دهد.

lncRNA دیگری که در این مطالعه بررسی شد، LINC00961 است. این lncRNA به‌طور قابل توجهی در فرایندهای مختلف سرطان نقش دارد و دارای ۱۵۴۶ نوکلئوتید است. این ماده روی SPAR عمل می‌کند که می‌تواند mTORC1 را مهار کند. با این وجود این lncRNA می‌تواند بر فعالیت mTORC1 تأثیر بگذارد. این مجموعه همچنین میتوکندری را در زنجیره انتقال الکترون و پروتئین‌های پیچیده و تولید و مصرف ATP را کنترل می‌کند [۱۹]. بیان بیش‌ازحد LINC00961 می‌تواند نقش مهمی در متاستاز و تکثیر سلول‌های سرطانی داشته باشد [۲۰].

در این مطالعه، مشاهده شد که بیان LINC00961 در بافت‌های سرطانی در مقایسه با بافت‌های مجاور سالم کاهش یافت. در سال ۲۰۱۸، Huang و همکاران بافت‌های سرطانی بیماران مبتلا به سرطان ریه را بررسی کردند و دریافتند که بیان ژن LINC00961 در این بیماران به‌طور قابل توجهی کاهش یافته و در افراد سالم این lncRNA اثر مهمی بر رشد، تکثیر و متاستاز سلول داشته است [۳۲]. در سال ۲۰۱۹، Zhang و

تضاد منافع

بین نتایج مطالعه و منافع نویسندگان تعارضی وجود ندارد.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی همدان با شناسه IR.UMSHA.REC.1397.506 تأییدیه دارد و همه بیماران رضایت کتبی آگاهانه را برای اقدامات قبل از آندوسکوپی و جراحی ارائه دادند.

سهم نویسندگان

نویسنده اول (پژوهشگر اصلی): تهیه پروپوزال، انجام آزمایش‌ها و نگارش مقاله (۳۵ درصد)؛ نویسنده دوم (پژوهشگر اصلی): مشاور علمی و تفسیر نتایج (۱۰ درصد)؛ نویسنده سوم (پژوهشگر اصلی): مشاور علمی و تفسیر نتایج (۱۰ درصد)؛ نویسنده چهارم (پژوهشگر همکار): معرفی بیماران و مشاوره علمی (۷ درصد)؛ نویسنده پنجم (پژوهشگر همکار): معرفی بیماران (۳ درصد)؛ نویسنده ششم (پژوهشگر اصلی): مسئول مکاتبات، طراحی و تدوین بخش‌های مختلف پروژه و ویرایش علمی مقاله (۳۵ درصد).

حمایت مالی

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

سالم می‌تواند باعث افزایش تکثیر، تهاجم و متاستاز در سلول‌های سرطانی شود.

با توجه به تحقیقات قبلی و مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که این lncRNAهای مهم با پیشرفت و حتی ممکن است با شروع سرطان معده در ارتباط باشند. با این حال، برای مشخص شدن مکانیسم‌های اساسی این lncRNAها و هموارسازی راه درک بهتر کاربرد بالقوه آنها در سرطان معده، تحقیقات بیشتر و حجم نمونه بزرگ‌تری لازم است.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه، افزایش قابل توجه بیان ژن‌های TPT1-AS1 و SAMMSON و کاهش بیان LINC00961 در بافت‌های سرطان معده در مقایسه با بافت‌های مجاور سالم مشاهده شد؛ بنابراین، می‌توان ژن‌های TPT1-AS1، SAMMSON و LINC00961 را با توجه به مسیرهای پیام‌رسان سلولی مربوطه به‌عنوان عواملی در تشدید و حتی شروع سرطان معده پیشنهاد کرد. البته برای اثبات این فرض به ارزیابی‌های بیشتر در این زمینه خاص نیاز است.

تشکر و قدردانی

این مقاله از بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی مصوب دانشگاه علوم پزشکی همدان با شماره ۹۷۰۹۱۳۵۴۱۸ گرفته شده است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از آقایان مریدی و رضایی برای کمک‌هایشان تشکر کنند.

REFERENCES

- Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. *J Clin Oncol*. 2006; **24**(14):2137-50. PMID: 16682732 DOI:10.1200/JCO.2005.05.2308
- Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015; **136**(5):E359-86. PMID:25220842 DOI: 10.1002/ijc.29210
- Rahman R, Asombang AW, Ibdah JA. Characteristics of gastric cancer in Asia. *World J Gastroenterol*. 2014; **20**(16):4483-90. PMID: 24782601 DOI: 10.3748/wjg.v20.i16.4483
- Amini MA, Karimi J, Khodadadi I, Tavilani H, Talebi SS, Afshar B. Overexpression of ROMO1 and OMA1 are potentially biomarkers and predict unfavorable prognosis in gastric cancer. *J Gastrointest Cancer*. 2020; **51**(3):939-46. PMID: 31729644 DOI: 10.1007/s12029-019-00330-w
- Shimada H, Noie T, Ohashi M, Oba K, Takahashi Y. Clinical significance of serum tumor markers for gastric cancer: a systematic review of literature by the Task Force of the Japanese Gastric Cancer Association. *Gastric Cancer*. 2014; **17**(1):26-33. PMID: 23572188 DOI:10.1007/s10120-013-0259-5
- Jarroux J, Morillon A, Pinskaya M. History, discovery, and classification of lncRNAs. *Adv Exp Med Biol*. 2017; **1008**:1-46. PMID: 28815535 DOI: 10.1007/978-981-10-5203-3_1
- Mercer TR, Mattick JS. Understanding the regulatory and transcriptional complexity of the genome through structure. *Genome Res*. 2013; **23**(7):1081-8. PMID: 23817049 DOI: 10.1101/gr.156612.113
- Huang X, Yuan T, Tschannen M, Sun Z, Jacob H, Du M et al. Characterization of human plasma-derived exosomal RNAs by deep sequencing. *BMC Genomics*. 2013; **14**(1):319. PMID: 23663360 DOI: 10.1186/1471-2164-14-319
- Mahmoudian-Sani MR, Jalali A, Jamshidi M, Moridi H, Alghasi A, Shojaeian A, et al. Long non-coding RNAs in thyroid cancer: implications for pathogenesis, diagnosis, and therapy. *Oncol Res Treat*. 2019; **42**(3):136-42. PMID: 30799425 DOI: 10.1159/000495151
- Picardi E, D'Erchia AM, Montalvo A, Pesole G. Using REDItools to detect RNA editing events in NGS datasets. *Curr Protoc Bioinformatics*. 2015; **49**(1):12-5. PMID: 25754992 DOI: 10.1002/0471250953.bi1212s49
- Lin MT, Song HJ, Ding XY. Long non-coding RNAs involved in metastasis of gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2018; **24**(33):3724-37. PMID:30197478 DOI: 10.3748/wjg.v24.i33.3724
- Dong D, Mu Z, Zhao C, Sun M. ZFAS1: a novel tumor-related long non-coding RNA. *Cancer Cell Int*. 2018; **18**(1):125. PMID: 30186041 DOI: 10.1186/s12935-018-0623-y
- Esteller M. Non-coding RNAs in human disease. *Nat Rev Genet*. 2011; **12**(12):861-74. PMID: 22094949 DOI: 10.1038/nrg3074
- Chen D, Liu L, Wang K, Yu H, Wang Y, Liu J, et al. The role of MALAT-1 in the invasion and metastasis of gastric cancer. *Scand J Gastroenterol*. 2017; **52**(6-7):790-6. PMID:28276823 DOI: 10.1080/00365521.2017.1280531
- Lee NK, Lee JH, Ivan C, Ling H, Zhang X, Park CH et al. MALAT1 promoted invasiveness of gastric adenocarcinoma. *BMC Cancer*. 2017; **17**(1):46. PMID: 28077118 DOI: 10.1186/s12885-016-2988-4
- Jiang H, Huang G, Zhao N, Zhang T, Jiang M, He Y, et al. Long non-coding RNA TPT1-AS1 promotes cell growth and

- metastasis in cervical cancer via acting AS a sponge for miR-324-5p. *J Exp Clin Cancer Res.* 2018;**37**(1):169. [PMID: 30045766](#) [DOI: 10.1186/s13046-018-0846-8](#)
17. Ben-Shachar D, Karry R. Sp1 expression is disrupted in schizophrenia; a possible mechanism for the abnormal expression of mitochondrial complex I genes, NDUFV1 and NDUFV2. *PLoS One.* 2007;**2**(9):e817. [PMID: 17786189](#) [DOI: 10.1371/journal.pone.0000817](#)
 18. Li X, Li M, Chen J, Dai H, Wang L, Xiong Y, et al. SAMMSON drives the self-renewal of liver tumor initiating cells through EZH2-dependent Wnt/ β -catenin activation. *Oncotarget.* 2017;**8**(61):103785-96. [PMID: 29262600](#) [DOI: 10.18632/oncotarget.21792](#)
 19. Morita M, Gravel SP, Chénard V, Sikström K, Zheng L, Alain T, et al. mTORC1 controls mitochondrial activity and biogenesis through 4E-BP-dependent translational regulation. *Cell Metab.* 2013;**18**(5):698-711. [PMID: 24206664](#) [DOI: 10.1016/j.cmet.2013.10.001](#)
 20. Jiang B, Liu J, Zhang YH, Shen D, Liu S, Lin F, et al. Long noncoding RNA LINC00961 inhibits cell invasion and metastasis in human non-small cell lung cancer. *Biomed Pharmacother.* 2018;**97**:1311-8. [PMID: 29156520](#) [DOI: 10.1016/j.biopha.2017.11.062](#)
 21. Schefe JH, Lehmann KE, Buschmann IR, Unger T, Funke-Kaiser H. Quantitative real-time RT-PCR data analysis: current concepts and the novel “gene expression’s CT difference” formula. *J Mol Med.* 2006;**84**(11):901-10. [PMID: 16972087](#) [DOI: 10.1007/s00109-006-0097-6](#)
 22. Wu H, Gu YH, Wei L, Guo TK, Zhao Y, Su G, et al. Association of Romo1 gene genetic polymorphisms with risk of gastric cancer in northwestern Chinese population. *Pathol Oncol Res.* 2015;**21**(3):581-7. [PMID: 25374412](#) [DOI: 10.1007/s12253-014-9858-7](#)
 23. Sudo G, Nasuno H, Nakachi K, Nakase H. Gastrointestinal: Secondary gastric linitis plastica: a peritoneal recurrence of breast cancer. *J Gastroenterol Hepatol.* 2019;**34**(12):2057. [PMID: 31264252](#) [DOI: 10.1111/jgh.14725](#)
 24. Lee S, Kopp F, Chang TC, Sataluri A, Chen B, Sivakumar S, et al. Noncoding RNA NORAD regulates genomic stability by sequestering PUMILIO proteins. *Cell.* 2016;**164**(1-2):69-80. [PMID: 26724866](#) [DOI: 10.1016/j.cell.2015.12.017](#)
 25. Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions. *Nat Rev Genet.* 2009;**10**(3):155-9. [PMID: 19188922](#) [DOI: 10.1038/nrg2521](#)
 26. Ma L, Bajic VB, Zhang Z. On the classification of long non-coding RNAs. *RNA Biol.* 2013;**10**(6):924-33. [PMID: 23696037](#) [DOI: 10.4161/rna.24604](#)
 27. Hao NB, He YF, Li XQ, Wang K, Wang RL. The role of miRNA and lncRNA in gastric cancer. *Oncotarget.* 2017;**8**(46):81572-82. [PMID: 29113415](#) [DOI: 10.18632/oncotarget.19197](#)
 28. Ghasemi H, Amini MA, Pegah A, Azizi E, Tayebinia H, Khanverdilu S, et al. Overexpression of reactive oxygen species modulator 1 is associated with advanced grades of bladder cancer. *Mol Biol Rep.* 2020;**47**(9):6497-505. [PMID: 32770525](#) [DOI: 10.1007/s11033-020-05702-1](#)
 29. Wu W, Gao H, Li X, Zhu Y, Peng S, Yu J, et al. LncRNA TPT1-AS1 promotes tumorigenesis and metastasis in epithelial ovarian cancer by inducing TPT1 expression. *Cancer Sci.* 2019;**110**(5):1587-98. [PMID: 30941821](#) [DOI: 10.1111/cas.14009](#)
 30. Hu M, Crawford SA, Henstridge DC, Ng IH, Boey EJ, Xu Y, et al. p32 protein levels are integral to mitochondrial and endoplasmic reticulum morphology, cell metabolism and survival. *Biochem J.* 2013;**453**(3):381-91. [PMID: 23692256](#) [DOI: 10.1042/BJ20121829](#)
 31. Amini MA, Talebi SS, Karimi J. Reactive oxygen species modulator 1 (ROMO1), a new potential target for cancer diagnosis and treatment. *Chonnam Med J.* 2019;**55**(3):136-43. [PMID: 31598470](#) [DOI: 10.4068/cmj.2019.55.3.136](#)
 32. Huang Z, Lei W, Tan J, Hu HB. Long noncoding RNA LINC00961 inhibits cell proliferation and induces cell apoptosis in human non-small cell lung cancer. *J Cell Biochem.* 2018;**119**(11):9072-80. [PMID: 30010215](#) [DOI: 10.1002/jcb.27166](#)
 33. Zhang L, Shao L, Hu Y. Long noncoding RNA LINC00961 inhibited cell proliferation and invasion through regulating the Wnt/ β -catenin signaling pathway in tongue squamous cell carcinoma. *J Cell Biochem.* 2019;**120**(8):12429-35. [PMID: 30854692](#) [DOI: 10.1002/jcb.28509](#)