ژنتیک نوین
دوره بیستم، شماره۳، پاییز ۱۴۰۴
صفحه ۲۰۴ - ۱۹۷

تأثیر تغییرات متیلاسیون ژن *CDKN2A* بر روی بیان ژن‌های CDk-4 و CDk-6 در بافت‌های تومور و حاشیه تومور بیماران مبتلا به سرطان تیروئید

The Effect of *CDKN2A* Gene Methylation Alterations on the Expression of CDK-4 and CDK-6 in Tumor and Tumor-Margin Tissues of Patients with Thyroid Cancer

علی یزدانیان[۱]، امیرمحمد آقایی[۲]، امیر هوشنگ حسین‌زاده مقبلی[۳]، مرتضی اکبری[٤]، الهه مقصودی نیا[۱]، حبیب ذره‌دار[٥]، نیما افشار مقدم[۱]، سید احمد حسینی[٦]، داریوش شانه‌بندی*[۱]

۱- به‌ترتیب پزشک عمومی، دانشجوی ارشد، استادیار، تحقیقات ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۲- دانش‌آموخته دکترای حرفه‌ای، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۳- استادیارگروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

٤- استادیارگروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده علوم نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

٥- استادیارمرکز تحقیقات سل و بیماری‌های ریوی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

٦- استادیار، گروه زیست شناسی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

Yazdanian A[1], Aghaei AM[2], Hosseinzadeh Moghbeli AH[3], Akbari M[4], Maghsoudinia E[1], Zarrehdar H[5], Afshar Moghaddam N[1], Hosseini SA[6], Shanehbandi D*[1]

1- MD, MSc, Assistant Professor, Immunology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

2- DVM, Faculty of Veterinary, Tabriz Branch Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

3- Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Ta.C., Islamic Azad University, Tabriz, Iran

4- Assistant Professor,Department of Medical Biotechnology, Faculty of Advanced Medical Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

5- Assistant Professor, Tuberculosis and Lung Disease Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

6- Assistant Professor, Department of Biology, Ker.C., Islamic Azad University, Kermanshah, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: dariush.shanehbandi@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۱۴۰٤/۰۷/۰۲ - تاریخ پذیرش: ۱٤۰٥/۰۳/۱۷)

چکیده

سرطان تیروئید شایع‌ترین بدخیمی غدد درون ریز در سراسر جهان می‌باشد. شایع ترین نوع این بیماری زیر گروه پاپیلاری است. مانند سایر سرطان‌های شایع این بدخیمی نیز در اثر تغییرات در مکانیسم‌های مولکولی سلول‌های نرمال همانند چرخه سلولی و مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی ایجاد می‌شود .کینازهای وابسته به سایکلین مانند CDK-4 و CDK-6 دو تنظیم‌کننده عمده چرخه سلولی می‌باشند. در مقابل، CDKN2A که یکی دیگر از ژن‌های درگیر در روند چرخه سلولی است، تاثیر منفی بر عملکرد کینازهای وابسته به سایکلین می‌گذارد که در نتیجه از تکثیر کنترل نشده سلول جلوگیری می‌کند. تغییرات اپی‌ژنتیکی یکی دیگر از عوامل تنظیم منفی بیان ژن‌ها می‌باشد. در برخی بدخیمی‌ها متیلاسیون پروموتور ژن CDKN2A باعث کاهش بیان آن و در نتیجه نقش کنترلی آن می‌شود. با توجه به اهمیت چرخه سلولی در روند سرطان زایی در مطالعه حاضر، به بررسی تغییر سطح بیان ژن‌های CDK-4 و CDK-6 در نمونه‌های بافتی بیماران مبتلا به سرطان تیروئید و ارتباط آن‌ها با میزان متیلاسیون ژن CDKN2A در جمعیت شمال غرب ایران پرداخت هشد.

در این مطالعه ۵۰ بیمار مبتلا به سرطان تیروئید با کسب رضایت نامه آگاهانه وارد مطالعه شدند. تغییرات بیان ژن‌های CDK-4 و CDK-6 در نمونه‌های توموری نسبت به نمونه‌های مارژین با روش qRT-PCR بررسی شد. برای بررسی متیلاسیون ناحیه مورد نظر ژن CDKN2A از روش Methylation Sensitive High Resulation mMelting (ms-HRM) استفاده شد. در آزمون‌های آماری Pvalue<۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

در مورد بیان تغییرات بیان هر سه ژن مورد بررسی در نمونه‌های توموری با نمونه‌های مارژین معنی‌داربود. در این بین CDK-4 و CDK-6 دارای افزایش بیان و CDKN2A دارای کاهش بیان در نمونه‌های توموری بود. از طرفی میزان متیلاسیون ژن CDKN2A در نمونه‌های توموری نسبت به نمونه‌های مارژین بیشتر بود که می‌تواند دلیلی بر تغییرات بیان آن باشد. به‌علاوه طبق یافته‌های بررسی ما تغییرات با برخی شاخص‌های کلینیکوپاتولوژیک بیماران شامل متاستاز به غدد لنفاوی و متاستاز دور دست بیماری مرتبط است.

واژه‌های کلیدی

سرطان تیروئید
CDK-4
CDK-6
CDKN-2A

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

مقدمه

بر اساس آمار نئوپلازی غده‌ی تیروئید ۲/۵ ٪ از همه‌ی سرطان‌ها و ۹۳/۵ ٪ از سرطان‌های اندوکرین را تشکیل می‌دهد. که در مقایسه با آمارهای جهانی در زنان (٤/٤ ٪) و مردان (۱/۳ ٪) تقریباً برابری می‌کند (Dobrinja 2014; Pacini and DeGroot 2013). میزان شیوع سرطان تیروئید در ایران رو به افزایش است به‌طوری‌که در سال ۱۳۸٤ در زنان و مردان به‌ترتیب ۳/٤۷ و ۱/۱٦ درصد بود ولی در سال ۱۳۸۸ به‌ترتیب ٤/۲ و ۱/۳٦ درصد می‌باشد (Pizzato et al. 2022; Rahimzadeh 2023). اگرچه هنوز علت دقیق و مشخصی برای ایجاد سرطان تیروئید تشخیص داده نشده است لیکن عوامل متعددی را در ایجاد آن دخیل می‌دانند ولی آنچه که حائز اهمیت است این است که قرار گرفتن در معرض تشعشع، عوامل هورمونی و تولیدمثلی، میزان نامتعادل ید در رژیم غذایی، تاریخچه‌ی خانوادگی و ابتلا به گواتر یا دیگر بیماری‌های تیروئیدی خوش‌خیم نقش بسیار مهمی دارند (Parangi and Phitayakorn 2010; Pellegriti et al. 2013). *CDKN2A* یکی از ژن‌های تومور ساپرسور شناخته شده در انواع سرطان‌ها است که در بیشتر سرطان‌ها از جمله سرطان‌های کولون، معده و پستان دارای بیان کاهش یافته بوده و این کاهش بیان منجر به بر هم ریختن چرخه سلول و در نهایت رشد لجام گسیخته سلول‌های سرطانی می‌شود (Agarwal et al. 2012). همان‌گونه که اشاره شد یکی از مکانیسم‌های اصلی تغییرات ژنومیک در سلول‌های سرطانی تغییرات اپی‌ژنتیکی می‌باشد که در بین این تغییرات شایع‌ترین تغییر مربوط به افزایش یا کاهش گروه‌های متیل به جزایر CpG در بالا دست یا ابتدای توالی ژن‌های مورد هدف این مکانیسم می‌باشد (Chakravarthi et al. 2016; Grønbaek et al. 2007; Kanwal and Gupta 2012). افزایش گروه‌های متیل به این جایگاه‌ها را اصطلاحاً هایپرمتیلاسیون و حذف متیل از توالی را هایپومتیلاسیون می‌نامند. در سرطان عموماً هایپرمتیلاسیون بر روی تومورساپرسور ژن‌ها و هایپو متیلاسیون بر روی انکوژن‌ها صورت می‌پذیرد که نتیجه آن کاهش بیان در ژن‌های تومورساپرسوری و افزایش میزان انکوژن‌های درون سلولی است (Dunn 2003; Frigola et al. 2005; Garinis et al. 2002). ژن *CDKN2A* نیز که فعالیت و بیان آن در سلول باعث کاهش میزان تقسیم سلولی می‌شود و با توجه به فعالیت ضد رشد در چرخه سلولی در ردیف تومور ساپرسور ژن ها قرار می‌گیرد بیان آن در اکثر سرطان‌ها با فرآیند هایپر متیلاسیون کاهش پیدا می‌کند و در نتیجه بیان ژن‌های هدف آن افزایش یافته و سلول‌های سرطانی تقسیم لجام گسیخته‌ای را شروع می‌کنند (Bailon-Moscoso et al. 2017; Yoon et al.). *CDk*-4 و CDk-6 دو تنظیم‌کننده عمده چرخه سلولی می‌باشندکه در check pointهای مختلف چرخه سلولی نقش به‌سزایی در تحریک رشد و تقسیم سلول‌ها به عهده دارند و با عنایت به نقششان در فرآیندهای سلولی جز انکوژن‌های مهم سلولی به شمار می‌روند. این دو انکوژن از جمله هدف‌های مهم ژن *CDKN2A* بوده و به نظر می‌رسد تغییرات بیان و متیلاسیون CDKN2A با تغییرات بیان CDk-4 و CDk-6 در ارتباط باشد (Mir and Jan 2023).

از این رو در بررسی حاضر تصمیم به بررسی تغییرات بیان این سه ژن کلیدی تنظیم‌کننده چرخه سلولی و همچنین تغییرات اپی‌ژنتیک ژن *CDKN2A* در نمونه‌های توموری و مارژین سرطان تیروئید به‌منظور آشنایی بهتر با مکانیسم‌های مولکولی ایجاد کننده این بیماری گرفتیم.

نوع پژوهش: جمع‌آوری نمونه‌های بافتی

در این مطالعه مورد-شاهدی، از ۵۰ بیمار مبتلا به سرطان تیروئید پاپیلاری که بین سال‌های ۱۳۹۹ و۱٤۰۱ جهت عمل جراحی به مرکز آموزشی درمانی امام رضای تبریز مراجعه نموده بودند، دو نمونه بافتی (شامل نمونه توموری و حاشیه تومور) اخذ شد. نمونه‌ها بلافاصله در تانک ازت مایع (در داخل کرایو ویال‌های مخصوص) جهت انجام آزمایشات مولکولی به مرکز تحقیقات ایمونولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز انتقال یافتند. بخش دیگری از نمونه‌های اخذ شده جهت تعیین ویژگی و خصوصیات پاتولوژیکی به متخصص مربوطه ارجاع داده شد (جدول ۱).

لازم به ذکر است که قبل از نمونه‌گیری،کلیات مطالعه برای همه‌ی بیماران مورد مطالعه توضیح داده شده و از همه‌ی شرکت کنندگان رضایت‌نامه‌ی آگاهانه کتبی که مورد تأیید کمیته‌ی اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز بود، اخذ شد.

معیارهای انتخاب افراد بیمار

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

معیارهای ورود به مطالعه شامل: امضای رضایتنامه آگاهانه کتبی، ابتلا به سرطان تیروئید، سکونت در شمال‌غرب ایران، عدم سابقه ابتلا به سرطان‌های دیگر و عدم دریافت درمان قبلی بود.

روش اجرای آزمایشات مولکولی

استخراج RNA و بررسی بیان ژن‌های مورد نظر:

ابتدا RNAی تام از بافت‌ها با توجه به دستورالعمل محلول RNX-Plus شرکت سیناژن استخراج شد و بررسی کمی و کیفی آن‌ها با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز و دستگاه نانودراپ انجام گرفت. واکنش رونویسی معکوس مطابق دستورالعمل کیت M-MLV cDNA Synthesis محصول کمپانی BioFact کره جنوبی انجام شد و سپس cDNA تولید شده به‌عنوان الگو برای انجام واکنش quantitative Real-Time PCR (qRT-PCR) مورد استفاده قرار گرفت.

واکنش qRT-PCR با استفاده از دستگاه LightCycler ساخت شرکت Roche انجام گرفت. این عمل در حجم نهایی ۲۰µl شامل ۸ میکرولیتر آب، ۱۰ میکرولیتر پری میکسسایبرگرین (BioFact)، ۱ میکرولیتر cDNA و ۰/۵µl از پرایمرهای اختصاصی ژن‌های مورد بررسی (در رقت ٤pmol) انجام شد. از فرمول $2^{-\Delta CT}$ برای محاسبه بیان نسبی نمونه‌ها استفاده شد پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۲ قابل مشاهده است.

جدول ۲- مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در بررسی

Primer name		Sequenece	Tm	Product size
CDKN2Amethylation primer	F	AAATTTTATTTTTTTTAAAGGGTTT	59	288bp
	R	CTTCTCAATAACTTCCTATTCATAC		
CDK4 RT-PCR primer	F	AGCTTGCGGCCTGTGTCTATG	57	134bp
	R	GATCAAGGGAGACCCTCACGC		
CDK6 RT-PCR primer	F	AGAAGAAGACTGGCCTAGAG	59	186 bp
	R	TGGAAGTATGGGTGAGACAGG		
GAPDH	F	AAGGTGAAGGTCGGAGTCAAC		
	R	GGGGTCATTGATGGCAACAA		

استخراج DNA و بررسی متیلاسیون:

استخراج DNA از بافت‌ها به‌وسیله DNeasy Blood and Tissue Kit محصول کمپانی QIAGENانجام گرفت. DNAهای استخراج شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز و دستگاه نانودراپ مورد ارزیابی قرار گرفت. به‌منظور بررسی الگوی متیلاسیون نواحی پروموتری، تیمار بی سولفیت (bisulfite) بر روی ۱۰۰۰ نانوگرم از DNAاستخراج شده با استفاده از کیت تولیدی کمپانی Zymo research و مطابق با دستورالعمل مربوطه انجام گرفت. این تیمار باعث تغییر سیتوزین‌های غیرمتیله به یوراسیل می‌شود، که باعث افتراق توالی‌های CpG متیله از غیرمتیله می‌شود. متعاقباً MS- (methylation sensitive high resolution melt analysis) HRM انجام گرفت. این تکنیک مقدار متیلاسیون نمونه‌ها را بر اساس تغییرات دمای منحنی ذوب محصول PCR در حضور نمونه‌های کنترل به‌صورت نیمه کمی اندازه‌گیری می‌کند.

آنالیزهای آماری مورد استفاده در این مطالعه

آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism version 6.00 در نمونه‌های تومور و حاشیه تومور بر اساس برنامه‌ی Unpaired T-TEST انجام شد. برای بررسی ارتباط دو ژن ازضریب همبستگی spearman استفاده شد. برای تمامی روابط P-value محاسبه شده کوچک‌تر یا مساوی ۰.۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

ملاحظات اخلاقی

۱. قبل از تمام مراحل، کلیات طرح از نظر اخلاق پزشکی در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز بررسی و تأیید شد (کد اخلاق IR.TBZMED.REC.1400.948).

۲. قبل از انجام عمل جراحی کلیات طرح به تمام بیماران توضیح داده شده و از تمام افراد رضایت‌نامه آگاهانه کتبی جهت انجام پژوهش بر روی نمونه آن‌ها اخذ شد.

۳. اطلاعات افراد محرمانه بوده و ارائه نتایج بدون ذکر مشخصات افراد و با کد بوده است.

یافته‌ها

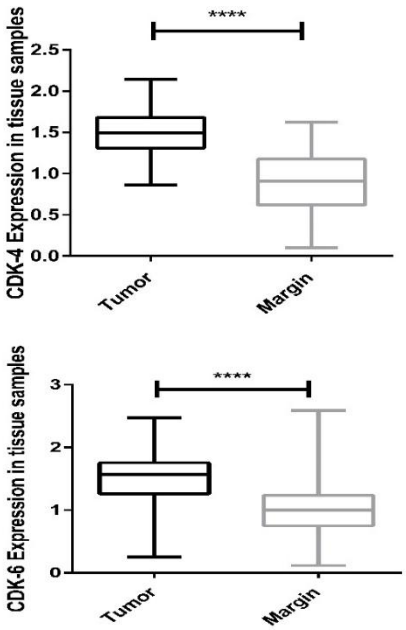
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

ارتباط بیان ژن‌های CDk-4 و CDk-6 و متیلاسیون ژن *CDKN2A* با خصوصیات بالینی

در بررسی حاضر ۵۰ نمونه توموری و بافت حاشیه متناظر (از همان بیمار) مورد بررسی قرار گرفت که خلاصه اطلاعات بالینی در جدول۱ آورده شده است. بررسی نتایج این جدول نشان می‌دهد که تغییرات بیان ژن‌های CDk-4 و CDk-6 و همچنین متیلاسیون ژن CDKN2A ارتباط معنی‌داری با خصوصیات بالینی بیماران مانندسن، جنسیت، سابقه خانوادگی، مصرف سیگار و استیج بیماری ندارند. ولی هر سه متغیر با درگیری غدد لنفاویو متاستاز دور دست در بیماران ارتباط معنی‌داری داشتند ($p<۰/۰۵$).

بیان *CDK-4* و *CDK-6* در بافت‌های توموری تیروئید

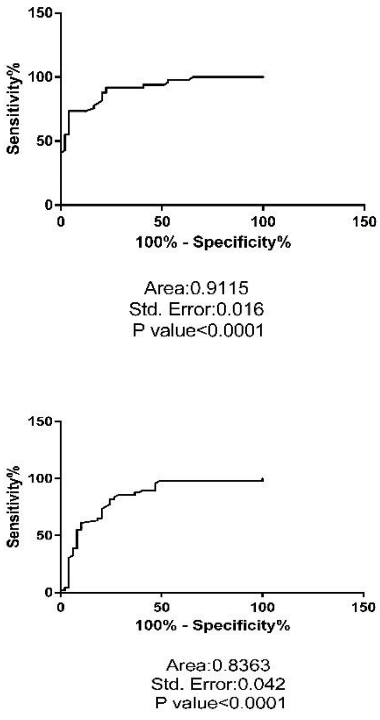
نتایج *qRT-PCR* نشان داد که بیان ژن‌های *CDK-4* و *CDK-6*در بافت‌های سرطانی نسبت به بافت‌های حاشیه تومور بیشتر بود($p<۰/۰۰۰۱$). نمودار ۱ نشانگر این تغییر بیان می‌باشد.



نمودار ۱- مقایسه بیان ژن‌های CDK-4 و CDK-6 در بافت‌های تومور و حاشیه تومور

آنالیز منحنی ROC

آنالیز منحنی ROC (Receiver Operating Characteristic Curve) نشان داد که CDK-6 با سطح زیر نمودار ۰/۸۳۶۳می‌تواند به‌عنوان کاندیدی به‌عنوان نشانگر زیستی یا هدف درمانی مد نظر قرار گیرد ($p<۰/۰۰۰۱$). حتی CDK-4 با دارا بودن سطح زیر نمودار ۰/۹۱۱۵ و ($p<۰/۰۰۰۱$) از این نظر کاندید مناسب‌تری برای اهداف فوق یا پروگنوز بیماری به نظر می‌رسد (نمودار ۲).



نمودار ۲- آنالیز منحنی ROC مربوط به بیان ژن‌های CDK-4 و CDK-6

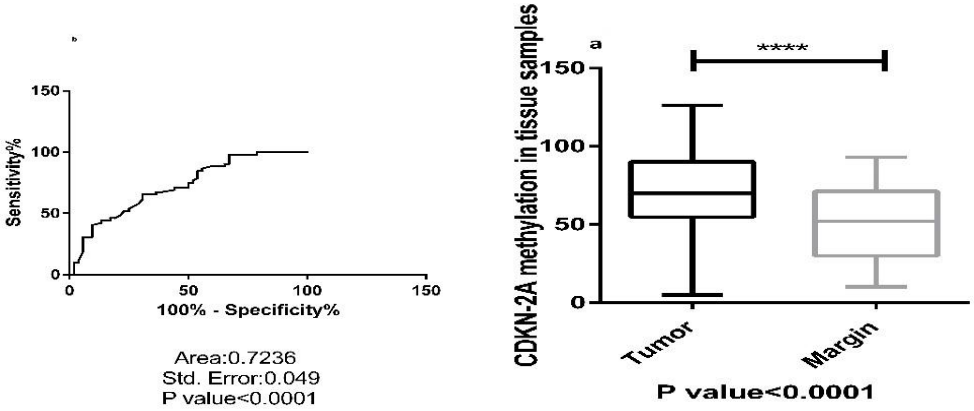
میزان متیلاسیون *CDKN2A* در بافت‌های توموری تیروئید

در این مطالعه از روش *MS-HRM* برای بررسی متیلاسیون ژن *CDKN2A* استفاده شد. با بررسی نتایج مشخص شد که این ژن در بافت‌های توموری تیروئید دارای متیلاسیون بیشتری نسبت به بافت‌های حاشیه تومور می‌باشد (نمودار ۳). به‌علاوه، آنالیز منحنی *ROC* نشان داد که از میزان متیلاسیون این ژن می‌توان برای پروگنوز بیماری (یا به‌عنوان نشانگر زیستی/ هدف درمانی) سرطان تیروئید استفاده کرد (سطح زیر نمودار ۰/۷۲۳۶ و ($p<۰/۰۰۰۱$)).

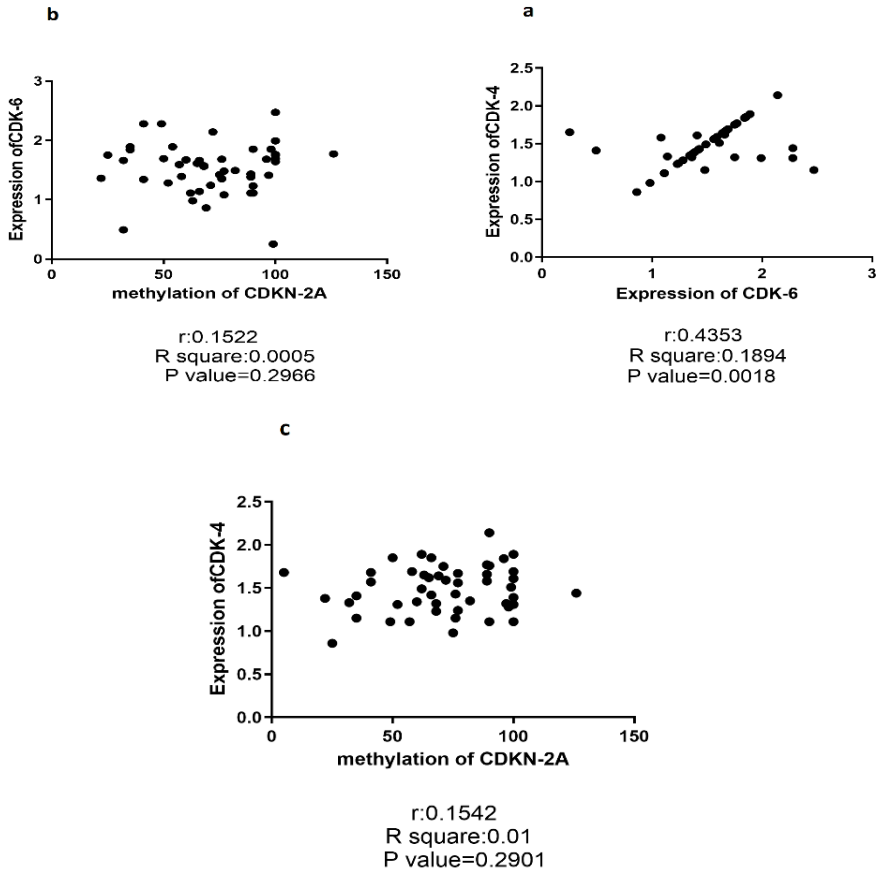
همبستگی بین بیان ژن‌های *CDK-4*،*CDK-6* و متیلاسیون ژن *CDKN2A*

نتایج این مطالعه نشان داد که بین بیان ژن‌های *CDK-4* و *CDK-6* یک همبستگی مثبت وجود دارد (نمودار 3a) p=0.0018. همچنین بیان هر کدام از ژن‌های *CDK-4* و *CDK-6* با متیلاسیون ژن CDKN2A یک همبستگی مثبت دارند (نمودار 3b و 3c). ولی این مقدار از همبستگی از نظر آماری معنی‌دار نبود (p=۰/۲۹۰۱ برای CDK-4 و p=۰/۲۹۶۶ برای CDK-6)

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]



نمودار ۳- تغییرات متیلاسیون ژن CDKN2A در بافت‌های توموری تیروئید نسبت به مارژین (a) و منحنی ROC مربوطه (b)



نمودار ٤- همبستگی بین بیان ژن‌های CDK-4وCDK-6(a)، همبستگی بین بیان ژن CDK-6 و متیلاسیون ژن CDKN2A (b) و همبستگی بین بیان ژن CDK-4 و متیلاسیون ژن CDKN2A (c)

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

جدول۱- مشخصات کلینیک و پاتولوژیک بیماران

ویژگی‌های بالینی	تعداد		CDK4 Expression P value	CDK6 Expression P value	CDK-N2A Methylation P value
سن	>٦٠	٢٩	٠.٠٩٨	٠.٠٧٨	٠.٠٩٦
	<٦٠	٢١			
جنس	مونث	٢٧	٠.٠٩٢	٠.٠٧٥	٠.٠٦٤
	مذکر	٢٣			
تاریخچه خانوادگی	مثبت	٩	٠.٠٨٩	٠.٠٩٢	٠.٠٩١
	منفی	٤١			
مصرف سیگار	مثبت	٣١	٠.٠٧٩	٠.٠٦٨	٠.٠٦٤
	منفی	١٩			
درگیری لنف نود	مثبت	١٠	٠.٠٢٧	٠.٠٣١	٠.٠٤٢
	منفی	٤٠			
متاستاز	مثبت	٩	٠.٠٢١	٠.٠٤	٠.٠٣٢
	منفی	٤١			
استیج	I & II	١٠	٠.٠٥٦	٠.٠٥٣	٠.٠٦١
	III & IV	٤٠			

بحث و نتایج

اهمیت موضوع و تفسیر نتایج:

این مطالعه با هدف بررسی تغییرات متیلاسیون ژن CDKN2A و بیان ژن‌های CDK-4 و CDK-6 در بافت توموری و حاشیه تومور بیماران مبتلا به سرطان تیروئید و وجود همبستگی بین فاکتورهای مذکور انجام شد. در بررسی حاضر میزان بیان CDK-4 و CDK-6 در نمونه‌های توموری نسبت به نمونه‌های مارژین دارای افزایش معنی‌دار بود. همچنین، میزان متیلاسیون ژن CDKN2A در نمونه‌های توموری کاهشی معنی‌دار داشت.

خانواده INK4 مجموعه‌ای از عوامل سرکوبگر تومور ذاتی است که شامل پروتئین‌های p16INK4A که توسط ژن CDKN2A کدگذاری می‌شود p15INK4B کدگذاری‌شده توسط ژن (CDKN2B) p18INK4C کدگذاری‌شده توسط ژن (CDKN2C) p19INK4D کدگذاری‌شده توسط ژن (CDKN2D) است. اعضای این خانواده با رقابت برای اتصال به CDK4/6، تشکیل کمپلکس سیکلین-D CDK4/6 را مختل می‌کنند و همچنین انتقال سلول‌ها از فاز G1 به فاز S را به‌طور مؤثری مهار می‌کنند.

بیان ژن CDKN2 در سلول‌های توموری اغلب سرکوب می‌شود، که این امر منجر به فعال‌سازی مداوم CDK4/6 و در نتیجه مقاومت دارویی در برابر مهارکننده‌های CDK4/6 می‌گردد. با این حال، هنگامی که این مهارکننده‌ها به میزان بیش از حد بیان شوند، به دلیل مهار کمپلکس سیکلین D-CDK4/6، پیشرفت چرخه سلولی تومور ممکن است تا حدی به مسیرهای سیگنال‌دهی دیگر، غیر از سیگنال‌دهی CDK4/6، وابسته شود، که این امر به مقاومت در برابر مهارکننده‌های CDK4/6 منجر می‌شود.

موتاسیون CDK4 (آرگ-٢٤ به سیس) که آن را در برابر مهار توسط پروتئین سرکوبگر تومور p16INK4a مقاوم می‌کند، شناسایی شده است. به‌طور مشابه، حذف یا جهش در ژن p16INK4a نیز منجر به مهار ناقص CDK4 و فعالیت نامنظم این کیناز می‌شود. در نهایت، غیرفعال‌سازی ژنتیکی p16INK4 یکی از شایع‌ترین جهش‌های سرکوبگر تومور در سرطان‌های انسانی است. به‌طور کلی، این داده‌ها نشان می‌دهند که یک مسیر CDK4/ سیکلین D1 بدون کنترل یا بیش‌فعال ممکن است مسئول افزایش تکثیر سلولی در سرطان‌ها باشد. این مسیر که به شدت فعال شده است، همچنین حاکی از آن است که CDK4 می‌تواند به‌عنوان یک هدف امیدوارکننده برای توسعه درمان‌های ضدسرطانی محسوب شود (Ahmadi Aghdam 2023; Mir and Jan 2023).

در مطالعه‌ای که توسط نوساکا و همکاران انجام شد، وضعیت متیلاسیون ژن CDKN2A در بیماران مبتلا به انواع مختلف لوسمی سلول T بزرگسالان (ATL) با استفاده از روش‌های تحلیل ساترن بلات، PCR خاص متیلاسیون (MSPCR) و توالی‌یابی نوکلئوتیدها

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

بررسی شد. نتایج نشان داد که ژن CDKN2A در سلول‌های توموری تازه جدا شده از بیماران مبتلا به ATL حاد (۴۷٪) یا ATL نوع لنفوم (۷۳٪) به‌طور قابل‌توجهی بیشتر متیله شده بود، در حالی‌که در بیماران مبتلا به ATL مزمن کمتر بدخیم (۱۷٪) و ATL اهسته پیش رونده (۱۷٪) متیلاسیون کمتری مشاهده شد. علاوه بر این، حذف‌های ژن CDKN2A در ۲۴٪ از بیماران مبتلا به ATL حاد شناسایی شد؛ بنابراین، ناهنجاری‌های ژن CDKN2A در مجموع در ۷۱٪ از بیماران مبتلا به ATL حاد مشاهده شد. در مقابل، هیچ متیلاسیونی در ژن CDKN2A در حاملان بدون علامت یا افراد غیرمبتلا یافت نشد. همچنین، متیلاسیون ژن p15 در هیچ یک از نمونه‌های ۳۶ بیمار مبتلا به ATL مشاهده نشد. توالی‌یابی مستقیم ژن CDKN2A پس از درمان DNA ژنومی با بی‌سولفیت سدیم نشان داد که متیلاسیون سایت‌های CpG در ۲۴ مورد از ۳۲ مورد ATL۷۵٪، شامل ATL مزمن و اهسته پیش رونده، رخ داده است، حتی در مواردی که MSPCR و ساترن بلات قادر به تشخیص متیلاسیون ژن CDKN2A نبودند.در میان نمونه‌های تازه ATL که متیلاسیون در آن‌ها مشاهده شد، متیلاسیون در ناحیه پروموتور و اگزون در ۱۷ مورد از ۲۴ مورد شناسایی شد، در حالی که متیلاسیون تنها در اگزون (بدون درگیری ناحیه پروموتور) در ۷ مورد از ۲۴ مورد مشاهده شد. در یک مورد خاص، الگوی متیلاسیون بین سلول‌های خون محیطی و سلول‌های غدد لنفاوی متفاوت بود، که این تفاوت نشان‌دهنده وجود چندین زیرکلون با الگوهای متیلاسیون متمایز است، با وجود یکسان بودن محل ادغام ویروس .HTLV-I بررسی‌ها با استفاده از PCR کمی نشان داد که بیان mRNA ژن CDKN2A در سلول‌هایی با ژن CDKN2A متیل‌شده به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافته است، به‌ویژه در مواردی که ناحیه پروموتور متیل‌دار بود. این یافته‌ها حاکی از آن است که متیلاسیون CpG بیان ژن CDKN2A را کاهش می‌دهد و به‌عنوان یک عامل کلیدی در پیشرفت بیماری ATL نقش دارد (Nosaka et al. 2000).

در مطالعه‌ای دیگر که توسط مائدا و همکاران انجام شد، وضعیت متیلاسیون ژن CDKN2A در سرطان‌های اولیه روده بزرگ با استفاده از روش PCR خاص متیلاسیون در زمان واقعی (MethyLight)، که امکان اندازه‌گیری کمی سطح متیلاسیون را فراهم می‌کند، مورد تحلیل قرار گرفت. متیلاسیون ناحیه پروموتور ژن CDKN2A در ۵۵ مورد (معادل ۶۱.۱٪) از ۹۰ نمونه توموری قابل شناسایی بود، و مقدار میانه متیلاسیون ۰.۱۸۷ (با دامنه ۰.۰۰ تا ۱۹۷.۹) گزارش شد. سطح متیلاسیون ژن CDKN2A با برخی ویژگی‌های کلینیکوپاتولوژیک خاص، از جمله تمایز تومور (p=0.018) و مرحله دوکس (p=0.016)، همبستگی آماری داشت. در تحلیل بقا، سطح متیلاسیون CDKN2A با پیش‌آگهی ضعیف بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ، چه در کل موارد (p=0.014) و چه در موارد مرحله Dukes C (p=0.004) که مورد بررسی قرار گرفتند، ارتباط نشان داد. این نتایج حاکی از آن است که وضعیت متیلاسیون ژن CDKN2A می‌تواند به‌عنوان یک عامل پیش‌آگهی در سرطان کولورکتال عمل کند و ممکن است در طراحی درمان‌های اختصاصی برای بیماران مفید باشد (Maeda et al. 2003).

در مطالعه‌ای دیگر که توسط هوانگ و همکاران انجام شد، پایگاه‌های داده اطلس ژنومی سرطان (TCGA) و ژنومیک حساسیت دارویی در سرطان (GDSC) بررسی شدند تا ژن‌هایی با فراوانی بالای جهش و ترکیبات حساس احتمالی نسبت به این جهش‌ها شناسایی شدند. برای تأیید یافته‌های درون‌سکویی، مطالعات درون کشتگاهی انجام شد. نتایج نشان داد که ژن CDKN2A در سرطان معده به‌طور مکرر دچار جهش شده است، که این امر در پایگاه داده TCGA به‌خوبی مستند شده است. مهارگر CDK4/6به نام PD-0332991 در سلول‌های سرطانی دارای جهش CDKN2A حساسیت نشان داد، که این موضوع در پایگاه داده GDSC تأیید شد. مطالعات درون کشتگاهی نشان دادند که-PD 0332991قادر است به‌طور انتخابی تکثیر سلول‌های سرطانی معده با جهش CDKN2A را مهار کند. همچنین، این مهارگر تهاجم سلولی، مهاجرت و تشکیل کلونی سلول‌های سرطانی معده با جهش CDKN2A را کاهش داد PD-0332991 .چرخه سلولی را متوقف کرد، اما آپوپتوز را القا نکرد. این ترکیب همچنین توانست رشد مدل موشی پیوندی سرطان معده را مهار کند. به‌طور کلی، سرطان معده با جهش CDKN2A به مهارکننده‌های CDK4/6 حساس است، و PD-0332991 به‌عنوان یک عامل درمانی بالقوه برای این نوع سرطان مطرح می‌شود (Huang et al. 2015).

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

با عنایت به بررسی مطالعات قبلی نتایج به‌دست آمده بررسی ما به‌طور کلی در راستای مطالعات قبلی و دارای همخوانی با آن‌هاست و نشان می‌دهد که در نمونه‌های توموری میزان افزایش یافته‌ای از بیان ژن‌های CDK-4 و CDK-6 و کاهش بیان ژن CDKN2A در نمونه‌های توموری به میزان معنی‌داری است. در مورد متیلاسیون ژن CDKN2A بررسی حاضر و مطالعات قبلی تأیید کننده هایپرمتیلاسیون ناحیه پروموتور در این ژن است. با این حال از نوآوری بررسی حاضر نسبت به مطالعات قبلی بررسی همزمان هر سه ژن و ارتباط بیانی سه ژن مذکور با یکدیگر است که در مطالعات قبلی کمتر مشاهده می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی

با عنایت به نتایج بررسی حاضر دو ژن CDK-4 و CDK-6 در نمونه‌های توموری سرطان تیروئیدپاپیلاری نسبت به نمونه‌های مارژین دارای افزایش بیان معنی‌دار هستند. بر خلاف دو ژن CDK-4و CDK-6 بررسی‌ها در مورد ژن CDKN2A حاکی از کاهش بیان این ژن و افزایش متیلاسیون در ناحیه پروموتور ژن است که احتمالاً این کاهش بیان در نتیجه تغییرات اپی ژنتیکی در پروموتور ایجاد شده است. از طرفی بین بیان سه ژن مورد بررسی همبستگی وجود دارد. در نهایت تغییرات ژن‌های مورد نظر با برخی یافته‌های بالینی نیز دارای ارتباط است.

منابع

Agarwal, Payal, Farruk Mohammad Lutful Kabir, Patricia DeInnocentes, and Richard Curtis Bird. 2012. 'Tumor suppressor gene p16/INK4A/CDKN2A and its role in cell cycle exit, differentiation, and determination of cell fate', *Tumor suppressor genes*, 3: 27882.

Ahmadi Aghdam, Shahrzad. 2023. 'Evaluating the expression and methylation of CDKN2A and CDK-4 and CDK-6 expression as its targets in tumoral and marginal tissues of colorectal cancer patients', Tabriz University of Medical Sciences, Faculty of Medicine.

Bailon-Moscoso, Natalia, Gabriela Cevallos-Solorzano, Juan Carlos Romero-Benavides, and Maria Isabel Ramirez Orellana. 2017. 'Natural compounds as modulators of cell cycle arrest: application for anticancer chemotherapies', *Current genomics*, 18: 106-31.

Chakravarthi, Balabhadrapatruni VSK, Saroj Nepal, and Sooryanarayana Varambally. 2016. 'Genomic and epigenomic alterations in cancer', *The American Journal of Pathology*, 186: 1724-35.

Dobrinja, Chiara. 2014. 'Papillary thyroid cancer gender disparity'.

Dunn, Barbara K. 2003. 'Hypomethylation: one side of a larger picture', *Annals of the New York Academy of Sciences*, 983: 28-42.

Frigola, Jordi, Xavier Solé, Maria F Paz, Victor Moreno, Manel Esteller, Gabriel Capellà, and Miguel A Peinado. 2005. 'Differential DNA hypermethylation and hypomethylation signatures in colorectal cancer', *Human molecular genetics*, 14: 319-26.

Garinis, George A, George P Patrinos, Nick E Spanakis, and Panayiotis G Menounos. 2002. 'DNA hypermethylation: when tumour suppressor genes go silent', *Human genetics*, 111: 115-27.

Grønbaek, Kirsten, Christoffer Hother, and Peter A Jones. 2007. 'Epigenetic changes in cancer', *Apmis*, 115: 1039-59.

Huang, Shiliang, Hua Ye, Wenying Guo, Xianwen Dong, Nali Wu, Xie Zhang, and Zhigang Huang. 2015. 'CDK4/6 inhibitor suppresses gastric cancer with CDKN2A mutation', *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 8: 11692.

Kanwal, R, and S Gupta. 2012. 'Epigenetic modifications in cancer', *Clinical genetics*, 81: 303-11.

Maeda, Kazuya, Kazuyuki Kawakami, Yoshinori Ishida, Kaname Ishiguro, Kenji Omura, and Go Watanabe. 2003. 'Hypermethylation of the CDKN2A gene in colorectal cancer is associated with shorter survival', *Oncology reports*, 10: 935-38.

Mir, Manzoor Ahmad, and Ulfat Jan. 2023. 'Cdk4/Cdk6 dysregulation in Estrogen-Positive receptor breast cancers.' in, *therapeutic potential of cell cycle kinases in breast cancer* (Springer).

Nosaka, Kisato, Michiyuki Maeda, Sadahiro Tamiya, Tatsunori Sakai, Hiroaki Mitsuya, and Masao Matsuoka. 2000. 'Increasing methylation of the CDKN2A gene is associated with the progression of adult T-cell leukemia', *Cancer research*, 60: 1043-48.

Pacini, Furio, and Leslie J DeGroot. 2013. 'Thyroid cancer', *Endotext [Internet]*.

Parangi, Sareh, and Roy Phitayakorn. 2010. *Thyroid disease* (Bloomsbury Publishing USA).

Pellegriti, Gabriella, Francesco Frasca, Concetto Regalbuto, Sebastiano Squatrito, and Riccardo Vigneri. 2013. 'Worldwide increasing incidence of thyroid cancer: update on epidemiology and risk factors', *Journal of cancer epidemiology*, 2013: 965212.

Pizzato, Margherita, Mengmeng Li, Jerome Vignat, Mathieu Laversanne, Deependra Singh, Carlo La Vecchia, and Salvatore Vaccarella. 2022. 'The epidemiological landscape of thyroid cancer worldwide: GLOBOCAN estimates for incidence and mortality rates in 2020', *The lancet Diabetes & endocrinology*, 10: 264-72.

Rahimzadeh, S. 2023. 'Spatio-temporal modelling of breast cancer incidence between 2000 and 2021 at sub-national levels in Iran: Bayesian disease mapping', 88wwz.

Yoon, Jung Hwan, Won Suk Choi, Olga Kim, and Won Sang Park. 'The role of gastrokine 1 in gastric cancer', *Journal of gastric cancer*, 14: 147-55.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]