

کاهش میزان بیان گیرنده‌ی فعال کننده‌ی تکثیر پروکسی‌زوم گاما (PPAR γ یا Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma)

در سرطان معده و ارتباط آن با پیشرفت تومور

غلام بساطی^۱، حدیثه محمدپور^۲، امیر نادر امامی رضوی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: گیرنده‌ی فعال کننده‌ی تکثیر پروکسی‌زوم گاما (PPAR γ یا Peroxisome proliferator-activated receptor gamma) نقش بسیار مهمی در جلوگیری از پیشرفت و رشد سلول‌های سرطانی دارد. نقش PPAR γ در سرطان معده و ارتباط آن با پیشرفت بیماری، به خوبی مشخص نشده است. بنابراین، در مطالعه‌ی حاضر، وضعیت بیان PPAR γ در بافت توموری سرطان معده و ارتباط آن با پیشرفت بیماری مورد پژوهش قرار گرفت.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی مقطعی شاهد-موردی، میزان بیان PPAR γ در بافت توموری و بافت سالم مجاور آن در ۵۰ بیمار مبتلا به سرطان معده که در انستیتو کانسر تهران تحت عمل جراحی قرار گرفته بودند، با روش Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) کمی، مورد سنجش و مقایسه قرار گرفت. ارتباط میزان بیان PPAR γ در بافت توموری با پارامترهای بالینی-آسیب‌شناختی مرتبط با پیشرفت بیماری با استفاده از ضریب همبستگی Spearman مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: میزان نسبی بیان PPAR γ در بافت توموری با فاصله‌ی اطمینان (۰/۸۹-۰/۱۵) (۰/۳۶) نسبت به بافت سالم مجاور آن با فاصله‌ی اطمینان (۰/۸۳-۱/۱۶) ۱/۰۱ کاهش چشم‌گیری نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$). ارتباط معنی‌داری بین میزان نسبی بیان ژن PPAR γ بافت توموری و ویژگی‌های آسیب‌شناختی مانند مرحله‌بندی سرطان، تمایز تومور، اندازه‌ی تومور و تهاجم تومور به سیستم لنفاوی و عروقی مشاهده شد. ارتباط معنی‌داری بین جنسیت، سن و وضعیت متاستاز به چشم نخورد.

نتیجه‌گیری: کاهش میزان بیان PPAR γ در بافت توموری سرطان معده نسبت به بافت سالم مجاور آن، با شاخص‌های آسیب‌شناختی پیشرفت و گسترش سرطان معده ارتباط معکوسی دارد. بنابراین، ممکن است نقش بسیار مهمی در پاتوفیزیولوژی سرطان معده داشته باشد.

واژگان کلیدی: گیرنده‌ی فعال کننده‌ی تکثیر پروکسی‌زوم گاما، سرطان معده، مرحله‌بندی سرطان، پیشرفت بیماری

ارجاع: بساطی غلام، محمدپور حدیثه، امامی رضوی امیر نادر. کاهش میزان بیان گیرنده‌ی فعال کننده‌ی تکثیر پروکسی‌زوم گاما (PPAR γ یا Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma) در سرطان معده و ارتباط آن با پیشرفت تومور. مجله

دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۴۰): ۹۱۱-۹۱۸

PPAR β و PPAR γ می‌باشند (۱). گیرنده‌ی PPAR γ این ابرخانواده در تمایز بافت چربی، ایجاد حساسیت به انسولین، فرایندهای التهابی، ایمنی سلولی و همچنین، چندین فرایند پاتولوژیک دیگر نظیر دیابت نوع ۲، آترواسکلروزیس و بیماری‌های قلبی-عروقی نقش بسیار کلیدی دارد (۱-۲).

مقدمه

گیرنده‌های فعال کننده‌ی تکثیر پروکسی‌زوم (PPAR γ یا Peroxisome proliferator-activated receptor gamma)، یک ابرخانواده از گیرنده‌های هورمونی هسته‌ای با عملکرد فیزیوپاتولوژیکی گسترده هستند و شامل سه زیر گروه PPAR α ،

۱- دانشیار، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

۲- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات سرطان، انستیتو کانسر ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳- دکتری تخصصی، بانک ملی تومور ایران، مرکز تحقیقات بیولوژی سرطان، انستیتو کانسر ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

Email: razavinader@gmail.com

نویسنده‌ی مسؤو: امیر نادر امامی رضوی

با مرحله‌بندی تومور و دیگر مشخصات بالینی و آسیب‌شناسی بود.

روش‌ها

بیماران: در این مطالعه‌ی مقطعی شاهد-موردی، تعداد ۵۰ نفر از بین بیماران که در سال‌های ۹۵-۱۳۹۴ به طور متوالی به علت سرطان معده در انستیتو کانسر تهران تحت عمل جراحی قرار گرفته بودند و نمونه‌های آن‌ها در بانک ملی تومور ایران ذخیره شده بود، مورد بررسی قرار گرفتند. تشخیص سرطان معده، بر اساس یافته‌های بالینی و هیستوپاتولوژیکی توسط پاتولوژیست انجام گرفت. تعداد ۵۰ نمونه‌ی بافت تومور و نمونه‌ی بافت سالم مجاور آن مربوط به ۵۰ بیمار مبتلا به آدنوکارسینومای معده، وارد مطالعه شدند. هیچ یک از بیماران به دیگر انواع سرطان‌ها یا بیماری‌های التهابی مجرای گوارشی مبتلا نبودند. همچنین، افرادی که قبل از عمل جراحی سرطان معده تحت دیگر روش‌های درمانی مانند شیمی‌درمانی یا پرتودرمانی قرار گرفته بودند نیز به مطالعه وارد نشدند. افراد با رضایت کتبی آگاهانه در این مطالعه شرکت نمودند.

استخراج RNA از بافت: برای استخراج RNA نمونه‌های بافتی از کیت تجارتي استخراج RNA (Qiagen, Rneasy Microarray Tissue Mini Kit) مطابق دستورالعمل سازندگان آن استفاده گردید. در طی یکی از مراحل پایانی جداسازی RNA، نمونه‌ها مطابق دستورالعمل به مدت ۱۵ دقیقه نیز تحت تأثیر آنزیم Dnase (Rnase-Free Dnase Set, Qiagen) قرار گرفتند تا بقایای احتمالی DNA ژنومی موجود در آن‌ها حذف گردد. کمیت و کیفیت RNA استخراج شده با دستگاه نانودراپ (جذب در ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر) و الکتروفورز روی ژل آگارز ارزیابی گردید. نمونه‌های RNA استخراج شده، تا انجام آزمایش‌های بعدی در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند.

سنتز cDNA competently: نمونه‌های RNA (از هر نمونه ۵۰۰ نانوگرم) با استفاده از کیت تجارتي تبدیل RNA به cDNA (Takara Bio, Otsu, Japan) بر روی دستگاه ترمال سایکلر در یک چرخه‌ی دمایی ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه و سپس یک مرحله‌ی غیر فعال‌سازی آنزیمی در دمای ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه رونویسی معکوس شدند. سپس، مخلوط واکنش cDNAهای پیش‌گفته، بلافاصله بر روی یخ خنک گردید. نمونه‌های cDNA تولید شده تا زمان مرحله‌ی بعدی یعنی Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند.

Real-time PCR: نمونه‌های cDNA تولید شده در مرحله‌ی قبل، ابتدا بر روی یخ ذوب گردیدند. سپس، با کمک مخلوط

افزون بر نقش‌های پیش‌گفته، PPAR γ در فرایندهای سلولی متعددی مانند مهار تکثیر و تمایز سلولی، القای مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی (۳)، مهار رگ‌زایی (۱) و مهار رشد سلول‌های سرطانی (۱) نیز نقش اساسی دارد. فعالیت ضد سرطانی PPAR γ در بسیاری از رده‌های سلولی سرطان‌های سینه، تیروئید، مری، معده، کولون، پروستات و لنفوما گزارش گردیده است (۳). اگر چه مکانیسم دقیق PPAR γ در جلوگیری از سرطان و مهار رشد سلول‌های توموری هنوز نامشخص است (۴)، با این حال به نظر می‌رسد که PPAR γ به عنوان یک عامل سرکوبگر توموری عمل نماید. بیان مداوم ژن PPAR γ باعث تنظیم کاهشی مسیر انتقال سیگنال Wnt/ β -Catenin می‌شود. لازم به ذکر است که مسیر انتقال این سیگنال، نقش بسیار مهمی در پیشرفت بدخیمی‌های معده دارد (۵). PPAR γ در رده‌های سلولی سرطان معده، باعث افزایش بیان ژن سرکوبگر توموری موسوم به پروتئین ۳ متصل شونده به هورمون رشد شبه انسولینی (IGFBP-3 یا Isulin-like growth factor-binding protein-3) می‌شود (۶). همچنین، PPAR γ مرحله‌ی گذار سلول‌های اپیتلیال به مزانشیمال (یک مرحله‌ی کلیدی در ایجاد قابلیت مهاجمی و متاستاز در سلول‌های سرطانی) را کاهش می‌دهد (۷).

جهش‌هایی که منجر به از بین رفتن فعالیت PPAR γ می‌شوند، تنها در ۸ درصد موارد سرطان کولون مشاهده شده‌اند (۸). همچنین، اغلب مطالعات نشان داده‌اند که جهش در ژن PPAR γ یک اتفاق بسیار نادر در بدخیمی‌های انسانی مانند سرطان کولون و معده است (۹). با این وجود، تغییرات پس ترجمه‌ای و رخداد‌های اپی‌ژنتیکی که منجر به غیر فعال شدن و کاهش بیان ژن PPAR γ می‌شوند، نیز در سرطان‌های کولورکتال گزارش شده‌اند (۱۰-۱۳). جالب‌تر آن که، کاهش بیان اپی‌ژنتیکی PPAR γ با خصوصیات شدیدتر بیماری و پیش‌آگهی ضعیف سرطان‌های کولورکتال ارتباط نشان داده است (۱۴، ۱۵). کاهش بیان ژن PPAR γ در بافت توموری سرطان مری و ارتباط آن با پیش‌آگهی ضعیف بیماری گزارش شده است (۱۵).

از نقطه نظر بالینی، بررسی وضعیت بیان ژن PPAR γ در نمونه‌های بافت توموری و بافت سالم در سرطان معده، می‌تواند بسیار حایز اهمیت باشد. از طرفی، اطلاعات چندانی در مورد وضعیت بیان PPAR γ در نمونه‌های بافت توموری در سرطان معده وجود ندارد. تنها در یک مطالعه که به تازگی صورت گرفته است، کاهش میزان PPAR γ در بافت توموری کارسینومای معده نسبت به بافت سالم مجاور آن با روش رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی نشان داده شده است (۱۶). بنابراین، هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، بررسی کمی میزان بیان PPAR γ در نمونه‌های بافت توموری و بافت سالم مجاور آن‌ها در افراد مبتلا به آدنوکارسینومای معده و نیز ارتباط میزان بیان آن

آن‌ها تهیه گردید، مورد ارزیابی قرار گرفت و بر این اساس، کارایی تکثیر در آن‌ها به طور تقریبی مشابه بود. بنابراین، برای طبیعی‌سازی تغییرات $\beta 2M$ mRNA در بین نمونه‌ها، از $\beta 2M$ mRNA به عنوان یک شاهد مناسب استفاده شد و روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ مورد استفاده قرار گرفت (۱۷).

به طور خلاصه، ابتدا CT مربوط به $\beta 2M$ و PPAR γ در نمونه‌های تومور و بافت سالم مجاور آن تعیین و سپس ΔCT آن‌ها مطابق رابطه‌ی $\Delta CT = (PPAR\gamma) - CT(\beta 2M)$ به دست آمد. در مرحله‌ی بعد، مقدار $\Delta\Delta CT$ هر مورد مطابق رابطه‌ی (بافت طبیعی مجاور) $\Delta CT - \Delta CT$ (بافت توموری) $= \Delta\Delta CT$ محاسبه گردید. در نهایت، مقدار mRNA طبیعی شده‌ی هر نمونه بافتی برابر با $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه گردید. مطابق این روش، میزان بیان ژن PPAR γ در بافت توموری نسبت به بافت سالم مجاور آن محاسبه می‌شود.

آنالیز آماری: داده‌ها به صورت میانه (دامنه‌ی بین چارکی) و تعداد (درصد) نمایش داده شدند. تفاوت میزان PPAR γ بافت تومور با بافت سالم مجاور آن با آزمون Wilcoxon، بین دو گروه از بیماران با آزمون Mann-Whitney و بین بیش از دو گروه از بیماران با آزمون Kruskal-Wallis بررسی شد. ضریب همبستگی Spearman (ρ) برای نشان دادن ارتباط بین دو متغیر کمی و رتبه‌ای به کار رفت. برای واکاوی داده‌ها، از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, IBM Corporation, Armonk, NY) استفاده و $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه، ۵۰ بیمار مبتلا به سرطان معده شامل ۴۰ مرد و ۱۰ زن با میانگین سنی 60.77 ± 11.76 سال شرکت نمودند. مشخصات بالینی-آسیب‌شناختی و میزان نسبی بیان ژن PPAR γ بافت توموری بیماران در جدول ۱ آمده است. در این جدول، میزان نسبی بیان ژن PPAR γ بافت توموری بر حسب ویژگی‌های بالینی-آسیب‌شناختی با هم مقایسه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، ارتباط معنی‌داری بین میزان نسبی بیان ژن PPAR γ بافت توموری و ویژگی‌های آسیب‌شناختی مانند مرحله‌بندی سرطان (Tumor, node and metastasis staging یا TNM staging)، درجه‌ی تومور، اندازه‌ی تومور، تهاجم تومور به سیستم لنفاوی و عروقی دیده می‌شود. با این حال، در ارتباط با دیگر مشخصات مانند جنسیت، سن و وضعیت متاستاز تفاوت قابل توجهی مشاهده نشد (جدول ۱).

در یک تجزیه و تحلیل دیگر در این بیماران، میزان نسبی بیان PPAR γ در بافت توموری با بافت سالم مجاور آن با هم مقایسه گردید.

Mastermix (RT SYBR Green qPCR Mastermixes, Qiagen) تکثیر شدند. ابتدا، مطابق دستورالعمل کیت، اجزای مخلوط واکنش شامل Sybr green master mix، پرایمر و آب فاقد نوکلئاز در یک لوله‌ی ۵ میلی‌لیتری در دمای محیط تهیه گردید. آن گاه، ۲۴ میکرولیتر از مخلوط واکنش به هر چاهک پلیت Real-time PCR که به آن‌ها مخلوط یک میکرولیتر محلول واکنش cDNA افزوده شده بود، اضافه گردید. بدین ترتیب، حجم نهایی هر چاهک واکنش به ۲۵ میکرولیتر رسید. پلیت بعد از پوشاندن چاهک‌های آن، به مدت یک دقیقه در دمای اتاق و در شتاب $1000 g$ سانتریفیوژ گردید تا حباب‌های هوای موجود در چاهک‌ها خارج شد و اجزای واکنش به خوبی مخلوط شدند. مخلوط واکنش توسط دستگاه Real-time PCR (Bioneer, Exicycler™ 96) تکثیر گردید.

برنامه‌ی دمای واکنش شامل گرم کردن اولیه‌ی بلوک حرارتی دستگاه تا دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، یک مرحله دناتوراسیون مخلوط واکنش در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه، سپس ۴۰ چرخه‌ی دمایی به صورت ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ثانیه اعمال گردید. برای هر نمونه، دو چاهک اختصاص داده شد و میانگین چرخه‌ی آستانه (Cycle threshold یا CT) آن‌ها برای هر نمونه محاسبه گردید. پرایمرهای لازم برای PPAR γ شامل توالی بالادست FWD: GCCTGCATCTCCACCTTATT و توالی پایین‌دست REV: CCTTACAAGCATGAACTCC و برای ژن خانه‌دار β -2-microglobulin (Beta-2-microglobulin یا $\beta 2M$) (به عنوان شاهد) شامل توالی بالادست FWD: CTCACGTCATCCAGCAGAGA و توالی پایین‌دست REV: GTCAACTTCAATGTCGGATGGA بودند که پس از گرفتن توالی ژن‌ها در سایت UCSC genome browser به صورت آنلاین در سایت Primer3 طراحی گردید و با استفاده از نرم‌افزار Primer3 و Generunner (Integrated device technology) Oligoanalyzer یا IDT چک شد.

بعد از اتمام واکنش، برنامه‌ی آنالیز نقطه‌ی ذوب اجرا گردید تا ویژگی (Specificity) واکنش Real-time PCR برای همه‌ی نمونه‌ها تأیید شود. بدین ترتیب، با تجزیه و تحلیل منحنی ذوب، پیک اصلی مربوط به تکثیر Messenger RNA (mRNA) PPAR γ مشخص گردید. چرخه‌ی آستانه با استفاده از نرم‌افزار دستگاه تعیین گردید.

قبل از انجام واکنش Real-time PCR کارایی تکثیر برای cDNAهای PPAR γ و $\beta 2M$ با استفاده از رقت‌های سریالی که از

جدول ۱. رابطه‌ی بین عوامل بالینی - آسیب‌شناسی و میزان نسبی بیان PPAR γ (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma) بافت توموری سرطان معده در بیماران تحت مطالعه

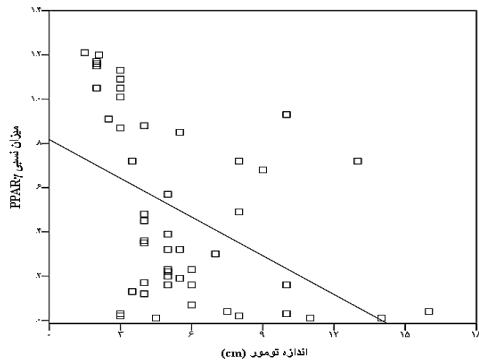
متغیر	تعداد بیماران	میزان بیان PPAR γ (دامنه‌ی بین چارکی) میانه	مقدار P
جنسیت			۰/۰۵۰
مرد	۴۰ (۸۰)	۰/۳۷ (۰/۱۶-۰/۹۷)	
زن	۱۰ (۲۰)	۰/۲۰ (۰/۰۳-۰/۸۷)	
سن (سال)			۰/۰۵۰
≤ 60	۲۳ (۴۶)	۰/۴۸ (۰/۰۳-۰/۹۱)	
> 60	۲۷ (۵۴)	۰/۳۰ (۰/۱۶-۰/۸۵)	
مرحله‌بندی سرطان (TNM staging)			۰/۰۱۰
0	۴ (۸)	۱/۱۷ (۰/۹۵-۱/۲۰)	
I	۴ (۸)	۱/۱۰ (۰/۹۴-۱/۱۷)	
II	۱۱ (۲۲)	۰/۷۲ (۰/۲۳-۱/۰۵)	
III	۱۶ (۳۲)	۰/۳۱ (۰/۱۷-۰/۴۳)	
IV	۱۵ (۳۰)	۰/۱۳ (۰/۰۳-۰/۳۶)	
درجه‌ی تومور			۰/۰۴۳
I (خوب تمایز یافته)	۵ (۱۶)	۱/۱۳ (۱/۰۷-۱/۵۵)	
II (با تمایز متوسط)	۱۸ (۳۶)	۰/۴۶ (۰/۲۰-۱/۰۲)	
III (با تمایز خیلی کم)	۱۹ (۳۸)	۰/۲۳ (۰/۰۴-۰/۵۷)	
IV (تمایز نیافته)	۸ (۱۶)	۰/۱۲ (۰/۰۲-۰/۸۳)	
اندازه‌ی تومور (سانتی‌متر)			۰/۰۱۲
≤ 5	۳۱ (۶۲)	۰/۴۸ (۰/۲۰-۱/۰۵)	
> 5	۱۹ (۳۸)	۰/۱۹ (۰/۰۴-۰/۶۸)	
وضعیت متاستاز			۰/۵۳۰
M0	۴۲ (۸۴)	۰/۳۷ (۰/۱۵-۰/۹۱)	
M1	۸ (۱۶)	۰/۱۹ (۰/۱۵-۰/۶۲)	
تهاجم لنفاوی			۰/۰۲۳
بلی	۳۰ (۶۰)	۰/۲۴ (۰/۰۶-۰/۷۰)	
خیر	۲۰ (۴۰)	۰/۷۸ (۰/۲۴-۱/۱۲)	
تهاجم عروقی			۰/۰۴۱
بلی	۳۲ (۶۴)	۰/۳۴ (۰/۰۴-۰/۷۲)	
خیر	۱۸ (۳۶)	۰/۵۳ (۰/۲۱-۱/۱۵)	

PPAR γ : Peroxisome proliferator-activated receptor gamma; TNM staging: Tumor, node and metastasis staging

داده‌ها به صورت میانه (دامنه‌ی بین چارکی) و تعداد (درصد) نمایش داده شدند. تفاوت میزان PPAR γ بین دو گروه از بیماران با آزمون Mann-Whitney و بین بیش از دو گروه از بیماران با آزمون Kruskal-Wallis بررسی شد.

و درجه‌ی تومور از آزمون ضریب همبستگی Spearman استفاده شد. با توجه به شکل‌های ۲ و ۳، می‌توان دریافت که میزان نسبی بیان PPAR γ بافت توموری با مرحله‌بندی بالینی سرطان ($P = 0/010$, $\rho = -0/540$)، درجه‌ی تومور ($P = 0/010$, $\rho = -0/430$) و اندازه‌ی تومور ($P = 0/010$, $\rho = -0/380$) ارتباط معنی‌دار و معکوسی داشت.

چنانچه در شکل ۱ نمایش داده شده است، میزان نسبی بیان PPAR γ بافت توموری کاهش چشم‌گیری نسبت به بافت سالم مجاور آن نشان داد ($P < 0/001$) (شکل ۱).
برای تعیین ارتباط کمی بین میزان نسبی بیان PPAR γ بافت توموری با دیگر ویژگی‌های کمی و رتبه‌ای آسیب‌شناختی مانند اندازه، مرحله‌بندی

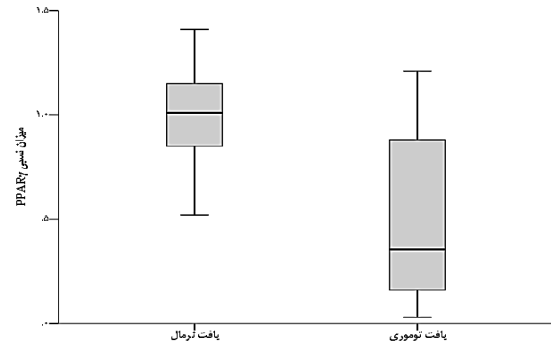


شکل ۳. ارتباط بین میزان نسبی بیان Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) بافت توموری و اندازه‌ی تومور در بیماران مبتلا به سرطان معده. میزان نسبی بیان PPAR γ بافت توموری با اندازه‌ی تومور ($P = 0/10$, $\rho = -0/380$)، ارتباط معکوس و به نسبت قوی نشان داد.

همچنین، مشخص گردید که میزان بیان این ژن با بعضی از شاخص‌های آسیب‌شناختی مانند مرحله‌بندی سرطان (TNM staging)، درجه‌ی تومور، اندازه‌ی تومور، تهاجم تومور به سیستم لنفاوی و عروقی ارتباط معکوسی دارد. این یافته، حاکی از آن است که میزان بیان ژن PPAR γ ممکن است نقش بسیار مهمی در فیزیوپاتولوژی سرطان معده داشته باشد؛ به طوری که با کاهش میزان بیان آن، ممکن است وضعیت بیماری وخیم‌تر گردد.

اثرات PPAR γ بر رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی به وسیله‌ی مطالعات مختلفی نشان داده شده است (۳). نقش PPAR γ به عنوان یک عامل رونویسی مهار کننده‌ی رشد سلولی و نیز القا کننده‌ی مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی در سرطان معده، در یک مطالعه‌ی اخیر نشان داده شده است (۳). همچنین، به تازگی، تأثیر افزایش بیان PPAR γ بر مهار رشد سلول‌های سرطان پستان گزارش گردیده است (۱۸). همین‌طور، در شرایط آزمایشگاهی، آگونیست‌های PPAR γ توانسته‌اند که رشد سلول‌های سرطان معده را مهار کنند و باعث القای مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی در آن‌ها شوند (۱۹). با توجه به این مطالعات، به نظر می‌رسد که مهار رشد سلولی و القای مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی، یکی از اثرات اصلی PPAR γ در جلوگیری از رشد تومورهای سرطانی نظیر سرطان معده باشد. بر این اساس، ارتباط معکوس بین میزان PPAR γ بافت توموری و اندازه‌ی تومور که در مطالعه‌ی حاضر مشاهده گردید، ممکن است قابل توجیه باشد.

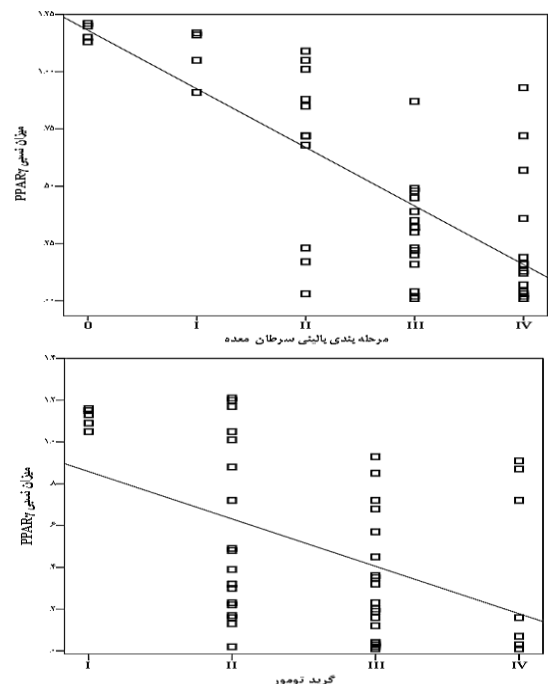
بیان مداوم PPAR γ در سلول‌های سرطانی معده، باعث مهار رشد و نیز قابلیت مهاجرت آن‌ها می‌شود (۵)؛ قابلیت که برای پیشرفت و تهاجم سلول‌های سرطانی به بافت‌های مجاور و گسترش آن به اندام‌های دوردست الزامی خواهد بود. کاهش بیان PPAR γ



شکل ۱. مقایسه‌ی میزان نسبی بیان Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) بافت توموری با بافت سالم مجاور آن در بیماران مبتلا به سرطان معده. تفاوت میزان PPAR γ بین بافت توموری و بافت سالم مجاور آن با آزمون Wilcoxon بررسی شد.

بحث

در این مطالعه، کاهش میزان نسبی بیان PPAR γ بافت توموری در مقایسه با بافت سالم مجاور آن در بیماران مبتلا به سرطان معده مشاهده گردید.



شکل ۲. ارتباط بین میزان نسبی بیان Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) بافت توموری با مرحله‌بندی سرطان (A) و درجه‌ی تومور (A) در بیماران مبتلا به سرطان معده. میزان نسبی بیان PPAR γ بافت توموری با مرحله‌بندی بالینی سرطان ($P = 0/10$, $\rho = -0/540$) و درجه‌ی تومور ($P = 0/10$, $\rho = -0/430$)، ارتباط معکوس و به نسبت قوی دارد.

(۱۶). اگر چه در آن مطالعه، میزان بیان PPAR γ در بافت توموری با تمایز بافتی رابطه‌ی معکوسی نشان داده بود، اما با مرحله‌بندی بالینی و تهاجم به گره‌های لنفاوی، ارتباط معنی‌داری نشان نداده بود که علت آن را وجود تنها نمونه‌های بافت توموری اولیه در مطالعه ذکر کرده بودند. در هر صورت، نتیجه‌ی آن مطالعه تا حد زیادی با مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی دارد.

در این مطالعه، رابطه‌ی معنی‌داری بین میزان بیان PPAR γ در بافت توموری و وضعیت متاستاز مشاهده نگردید. اگر چه میزان بیان PPAR γ در بیماران دارای متاستاز کمتر از بیماران بدون متاستاز بود، اما این تفاوت معنی‌دار نبود. با توجه به آن که تعداد افراد دارای متاستاز در این مطالعه بسیار اندک (۸ نفر) بود، احتمال آن می‌رود که تعداد اندک بیماران دارای متاستاز در این مورد بی‌تأثیر نبوده است. نتیجه‌گیری نهایی این که میزان بیان PPAR γ در بافت توموری سرطان معده نسبت به بافت سالم مجاور آن کاهش می‌یابد. همچنین، میزان بیان PPAR γ در بافت توموری با شاخص‌های آسیب‌شناسختی پیشرفت و گسترش سرطان معده ارتباط معکوس نشان داد و بنابراین، ممکن است نقش بسیار مهمی در پاتوفیزیولوژی سرطان معده داشته باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی با کد ۹۴۲۰۲۰/۱۵۸ مصوب دانشگاه علوم پزشکی ایلام می‌باشد که با همکاری دانشگاه علوم پزشکی تهران اجرا شده است.

بافت توموری متناسب با افزایش مرحله‌بندی بالینی سرطان معده در مطالعه‌ی حاضر با یافته‌های مطالعه‌ی اخیر هم‌خوانی دارد. وجود خصوصاتی مانند تهاجم سلولی، مهاجرت سلولی و مهم‌تر از آن‌ها تغییر فنوتیپی یا گذار سلولی از وضعیت اپی‌تلایال به مزانشیمال، برای گسترش و ایجاد تمایز نیافتگی سلول‌های سرطانی ضروری است. در مطالعه‌ی جدیدی، بیان بسیار بالای PPAR γ باعث مهار همه‌ی این صفات سرطان‌زایی در سرطان معده شده است؛ به طوری که افرادی که میزان بیان PPAR γ در بافت توموری آن‌ها بیشتر بود، پیش‌آگهی بهتری نیز داشتند (۷). بنابراین، ارتباط معکوس میزان بیان PPAR γ بافت توموری با مرحله‌بندی بالینی، وضعیت تمایز سلولی و نیز تهاجم به سیستم لنفاوی و عروقی در مطالعه‌ی حاضر، چندان دور از انتظار نیست و با نتایج این مطالعه‌ی اخیر، مطابقت دارد. همچنین، در تأیید یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، می‌توان به مطالعه‌ی دیگری اشاره نمود که در آن نیز ارتباط معکوس میزان بیان PPAR γ در بافت توموری با اندازه‌ی تومور، درجه‌ی تومور و تهاجم به گره‌های لنفاوی در سرطان پستان گزارش شده بود (۲۰).

در ارتباط با مقایسه‌ی میزان بیان PPAR γ بافت توموری با بافت سالم مجاور آن در بیماران سرطان معده، اطلاعات اندکی وجود دارد. در یک مطالعه که در آن میزان بیان PPAR γ در بافت توموری آدنوکارسینومای معده و بافت سالم مجاور آن با روش ایمونوهیستوشیمی سنجش گردیده بود، مشخص شد که میزان آن در بافت توموری نسبت به بافت سالم مجاور آن کاهش چشم‌گیری دارد

References

- Han L, Shen WJ, Bittner S, Kraemer FB, Azhar S. PPARs: Regulators of metabolism and as therapeutic targets in cardiovascular disease. Part II: PPAR-beta/delta and PPAR-gamma. *Future Cardiol* 2017; 13(3): 279-96.
- Rosen ED, Spiegelman BM. PPARgamma: A nuclear regulator of metabolism, differentiation, and cell growth. *J Biol Chem* 2001; 276(41): 37731-4.
- Elrod HA, Sun SY. PPARgamma and apoptosis in cancer. *PPAR Res* 2008; 2008: 704165.
- Krishnan A, Nair SA, Pillai MR. Biology of PPAR gamma in cancer: A critical review on existing lacunae. *Curr Mol Med* 2007; 7(6): 532-40.
- Guo F, Ren X, Dong Y, Hu X, Xu D, Zhou H, et al. Constitutive expression of PPARgamma inhibits proliferation and migration of gastric cancer cells and down-regulates Wnt/beta-Catenin signaling pathway downstream target genes TERT and ENAH. *Gene* 2016; 584(1): 31-7.
- Kim SY, Kim MS, Lee MK, Kim JS, Yi HK, Nam SY, et al. PPARgamma induces growth inhibition and apoptosis through upregulation of insulin-like growth factor-binding protein-3 in gastric cancer cells. *Braz J Med Biol Res* 2015; 48(3): 226-33.
- Cho SJ, Kook MC, Lee JH, Shin JY, Park J, Bae YK, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma upregulates galectin-9 and predicts prognosis in intestinal-type gastric cancer. *Int J Cancer* 2015; 136(4): 810-20.
- Sarraf P, Mueller E, Smith WM, Wright HM, Kum JB, Aaltonen LA, et al. Loss-of-function mutations in PPAR gamma associated with human colon cancer. *Mol Cell* 1999; 3(6): 799-804.
- Ikezoe T, Miller CW, Kawano S, Heaney A, Williamson EA, Hisatake J, et al. Mutational analysis of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene in human malignancies. *Cancer Res* 2001; 61(13): 5307-10.
- Burgermeister E, Seger R. MAPK kinases as nucleocytoplasmic shuttles for PPARgamma. *Cell Cycle* 2007; 6(13): 1539-48.
- Garcia-Bates TM, Lehmann GM, Simpson-Haidaris PJ, Bernstein SH, Sime PJ, Phipps RP. Role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma and its ligands in the treatment of hematological malignancies. *PPAR Res* 2008; 2008: 834612.
- Pancione M, Forte N, Sabatino L, Tomaselli E, Parente D, Febbraro A, et al. Reduced beta-catenin

- and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma expression levels are associated with colorectal cancer metastatic progression: Correlation with tumor-associated macrophages, cyclooxygenase 2, and patient outcome. *Hum Pathol* 2009; 40(5): 714-25.
13. Pancione M, Sabatino L, Fucci A, Carafa V, Nebbioso A, Forte N, et al. Epigenetic silencing of peroxisome proliferator-activated receptor gamma is a biomarker for colorectal cancer progression and adverse patients' outcome. *PLoS One* 2010; 5(12): e14229.
 14. Ogino S, Shima K, Baba Y, Nosho K, Irahara N, Kure S, et al. Colorectal cancer expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARG, PPARgamma) is associated with good prognosis. *Gastroenterology* 2009; 136(4): 1242-50.
 15. Terashita Y, Sasaki H, Haruki N, Nishiwaki T, Ishiguro H, Shibata Y, et al. Decreased peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene expression is correlated with poor prognosis in patients with esophageal cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2002; 32(7): 238-43.
 16. Yu H, Xin Y. Down-regulated expressions of PPARgamma and its coactivator PGC-1 are related to gastric carcinogenesis and Lauren's classification in gastric carcinoma. *Chin J Cancer Res* 2013; 25(6): 704-14.
 17. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 2001; 25(4): 402-8.
 18. Koronowicz AA, Banks P, Master A, Domagala D, Piasna-Slupecka E, Drozdowska M, et al. Fatty Acids of CLA-Enriched Egg Yolks Can Induce Transcriptional Activation of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors in MCF-7 Breast Cancer Cells. *PPAR Res* 2017; 2017: 2865283.
 19. Liu Y, Zhu ZA, Zhang SN, Mou J, Liu L, Cui T, et al. Combinational effect of PPARgamma agonist and RXR agonist on the growth of SGC7901 gastric carcinoma cells in vitro. *Tumour Biol* 2013; 34(4): 2409-18.
 20. Jiang Y, Zou L, Zhang C, He S, Cheng C, Xu J, et al. PPARgamma and Wnt/beta-Catenin pathway in human breast cancer: expression pattern, molecular interaction and clinical/prognostic correlations. *J Cancer Res Clin Oncol* 2009; 135(11): 1551-9.

Low Expression Levels of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR γ) in Gastric Cancer and its Relationship with Tumor Progression

Gholam Basati¹, Hadiseh Mohammadpour², Amirnader Emami-Razavi³

Original Article

Abstract

Background: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) plays a crucial role in hindering the progression and growth of cancer cells. The function of PPAR γ in gastric cancer and its relationship with progression of the disease have not been appropriately defined. Therefore, this study examined the association of PPAR γ expression in tumor with advancement of gastric cancer.

Methods: In the cross-sectional case-control study, the expression of PPAR γ in tumoral and the paired adjacent normal tissues of 50 patients with gastric cancer, who undergone tumor resection at Institute of Imam Khomeini University Hospital, Tehran, Iran, were assayed and compared using quantitative real-time polymerase chain reaction method. Correlation between PPAR γ expression in tumor tissue and the cancer progression relevant clinicopathological features was evaluated using the Spearman's rho correlation test.

Findings: The relative expression levels of PPAR γ in tumoral tissues were shown to be profoundly decreased compared with their adjacent normal tissues [0.36 (0.15-0.89) vs. 1.01 (0.83-1.16), $P < 0.001$]. There was significant correlation between the relative expression level of PPAR γ in tumoral tissues and clinicopathological features such as cancer staging, tumor differentiation, tumor size, and lymphatic and vascular invasion. However, there was no noticeable correlation between the relative PPAR γ expression level and other features such as age, gender, and metastasis.

Conclusion: Decreased expression of PPAR γ in gastric cancer tissue compared to the adjacent normal tissues is inversely associated with the cancer progression and development relevant clinicopathological features; hence, it may play an important role in the pathophysiology of gastric cancer.

Keywords: PPAR gamma, Gastric cancer, Cancer staging, Disease progression

Citation: Basati G, Mohammadpour H, Emami-Razavi A. Low Expression Levels of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR γ) in Gastric Cancer and its Relationship with Tumor Progression. J Isfahan Med Sch 2017; 35(440): 911-8.

1- Associate Professor, Biotechnology and Medicinal Plants Research Center, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran

2- Cancer Research Center, Cancer Institute of Iran, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- PhD, Iran National Tumor Bank, Cancer Biology Research Center, Cancer Institute of Iran, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Corresponding Author: Amirnader Emami-Razavi, Email: razavinader@gmail.com