مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و یکم/شماره ۲۴۱/هفته سوم مرداد ماه ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۳/۲۰

بررسی بیان ژن Programmed cell death 4 در بیماران مبتلا به لوسمی میلوییدی حاد

مجتبی علی‌اکبر پورانزاب[۱]، دکتر شهربانو رستمی[۲]، دکتر کامران علی مقدم[۳]، دکتر فاطمه نادعلی[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: لوسمی میلوییدی حاد (Acute myeloid leukemia یا AML) یک اختلال خونی بسیار هتروژن است. امروزه پیشرفت در تحقیقات مولکولی، درک ما را از فرایند تشکیل لوسمی در AML بسیار بهبود بخشیده است. PDCD4 (Programmed cell death 4) یک ژن سرکوب‌کننده‌ی تومور است که با سرکوب فعال شدن فاکتور رونویسی AP-1 و ترجمه‌ی پروتئین، تغییر شکل نئوپلاستیک و پیشرفت تومور را مهار می‌کند. در مطالعه‌ی حاضر، ما بیان نسبی ژن PDCD4 در بیماران مبتلا به AML تازه تشخیص داده‌شده و ارتباط آن با ویژگی‌های بالینی آن‌ها را بررسی کردیم.

روش‌ها: نمونه‌ی خون محیطی گرفته‌شده از ۵۶ بیمار مبتلا به AML در زمان تشخیص بیماری مورد بررسی قرار گرفت. بیان ژن PDCD4 به وسیله‌ی Real time quantitative PCR مورد ارزیابی قرار گرفت. از تست Mann-Whitney U برای مقایسه‌ی تفاوت بیان PDCD4 بین نمونه‌های طبیعی و AML استفاده شد.

یافته‌ها: بیان ژن PDCD4 به طور قابل توجهی در مبتلایان به AML در مقایسه با نمونه‌های طبیعی خون محیطی کاهش داشت ($P < ۰/۰۰۱$). بیماران مبتلا به AML-M5 بیان کمتری از PDCD4 را در مقایسه با سایر بیماران داشتند ($P = ۰/۰۲۸$). هیچ ارتباطی بین میزان بیان PDCD4 و پارامترهای بالینی بیماران شناسایی نشد. همچنین، هیچ ارتباط معنی‌دری بین میزان بیان PDCD4 و بهبودی کامل پس از درمان القایی مشاهده نگردید.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که بیان PDCD4 به مانند بسیاری از سرطان‌های اپی‌تلیالی انسان، در AML نیز کاهش می‌یابد.

واژگان کلیدی: لوسمی میلوییدی حاد، Programmed cell death 4، ژن سرکوب‌کننده‌ی تومور

ارجاع: علی‌اکبر پورانزاب مجتبی، رستمی شهربانو، علی مقدم کامران، نادعلی فاطمه. **بررسی بیان ژن Programmed cell death 4 در بیماران مبتلا به لوسمی میلوییدی حاد.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۲؛ ۳۱ (۲۴۱): ۸۷۵-۸۶۷.

مقدمه

لوسمی میلوییدی حاد (Acute myeloid leukemia یا AML) گروه هتروژنی از اختلالات هماتولوژیکی است که با توقف تمایز در سلول‌های پیش‌ساز خونی در مراحل اولیه‌ی میلوپوئزیز، افزایش تکثیر بلاست‌های نابالغ و ارتشاح بلاست‌ها در مغز استخوان و خون محیطی مشخص می‌شود (۱). در سال‌های اخیر، افزایش جهش‌های ژنی، مختل شدن بیان ژن‌ها و تغییرات اپی‌ژنتیکی در AML شناسایی شده است که هتروژنسیتی مولکولی بیماری را توجیه

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه هماتولوژی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۲- مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳- استاد، مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۴- دانشیار، گروه هماتولوژی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر فاطمه نادعلی
Email: f-nadali@sina.tums.ac.ir

می‌کند (۲). AML مسؤول ۳۰ درصد از تمام لوسمی‌ها در بزرگسالان است و شایع‌ترین نوع لوسمی حاد در طی چند ماه اول زندگی و در بزرگسالان می‌باشد (۳). پیشرفت‌ها در تحقیقات مولکولی، درک ما را از لوکموژنز AML بسیار بهبود بخشیده است. علاوه بر عوامل خطر مرسوم مانند سن، شمارش گویچه‌های سفید و سیتوژنتیک، تغییرات ژنتیکی مولکولی مانند موتاسیون‌های ژن‌های NPM1، FLT3، WT-1 نیز از جمله عوامل پیش‌آگهی‌دهنده‌ی مهم در مبتلایان به AML می‌باشند.

PDCD4 (Programmed cell death 4)، اولین بار به عنوان یک ژن مرتبط با تومور در انسان شناسایی شد. ژن کدکننده‌ی آن بر روی کروموزوم 10q24 قرار دارد (۵-۴). PDCD4 یک ژن جدید سرکوب‌کننده‌ی تومور است که در تنظیم رونویسی ژن، ترجمه و مسیرهای سیگنال‌دهی سلولی درگیر می‌باشد (۶). نشان داده شده است که PDCD4 می‌تواند تغییرشکل القاکننده‌ی پیشرفت تومور را در سلول‌های JB6 موشی مهار کند (۷). اهمیت عملکردی PDCD4 در سلول‌های سرطانی انسان گزارش شده است. برای مثال، PDCD4 دارای اثرات مهاری روی تومورزایی و توانایی‌های تهاجمی در سلول‌های سرطان کولون و تخمدان است (۹-۸). مکانیسم‌های اساسی فعالیت‌های سرکوب‌کننده‌ی تومور PDCD4 به طور کامل شناخته نشده است، اما ممکن است با تغییر فعالیت‌های مسیرهای وابسته به AP-1 و β-catenin/Tcf مرتبط باشد (۱۰-۹). همچنین اثبات شده است که پروتئین PDCD4 به eIF4A متصل می‌شود و شروع ترجمه را مهار می‌کند (۱۱). درنتیجه، از دست رفتن یا کاهش بیان PDCD4 از طریق چندین مسیر مزیت‌های رشد به سلول‌ها می‌بخشد و به این ترتیب تکامل سرطان را تسهیل می‌کند.

به تازگی بیان کاهش‌یافته‌ی PDCD4 در انواع مختلفی از تومورهای انسان مانند سرطان‌های ریه (۱۲)، پستان (۱۳)، کولون (۹)، تخمدان (۱۴) و مغز (۱۵) مشاهده شده است. به نظر می‌رسد تنظیم کاهشی PDCD4 با پیشرفت تسریع‌شده‌ی تومور و متاستاز همراه باشد. با این وجود، نقش PDCD4 در AML مطالعه نشده است. در مطالعه‌ی حاضر، ما بیان mRNA ژن PDCD4 را با روش RT-PCR (Real-time polymerase chain reaction) در بیماران مبتلا به AML تازه تشخیص داده‌شده را که به مرکز تحقیقات هماتولوژی، انکولوژی و پیوند مغز استخوان بیمارستان دکتر شریعتی تهران مراجعه کرده بودند، مورد بررسی قرار دادیم.

روش‌ها

از ۱۰ فرد سالم و ۵۶ بیمار که ابتلای آن‌ها به AML به تازگی تشخیص داده شده بود و به مرکز تحقیقات هماتولوژی، انکولوژی و پیوند مغز استخوان بیمارستان دکتر شریعتی مراجعه کرده بودند، نمونه‌ی خون محیطی گرفته شد. تمام بیماران بر اساس طبقه‌بندی گروه FAB (French-American-British) طبقه‌بندی شدند. اطلاعات بیماران شامل سن، شمارش گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها، غلظت هموگلوبین و میزان بهبودی کامل بعد از شیمی‌درمانی القایی از پرونده‌های پزشکی بیماران به دست آمد.

بلافاصله بعد از نمونه‌گیری، سلول‌های تک هسته‌ای شامل بلاست‌های لوسمیک به وسیله‌ی سدیمنتاسیون گرادیان غلظت با استفاده از

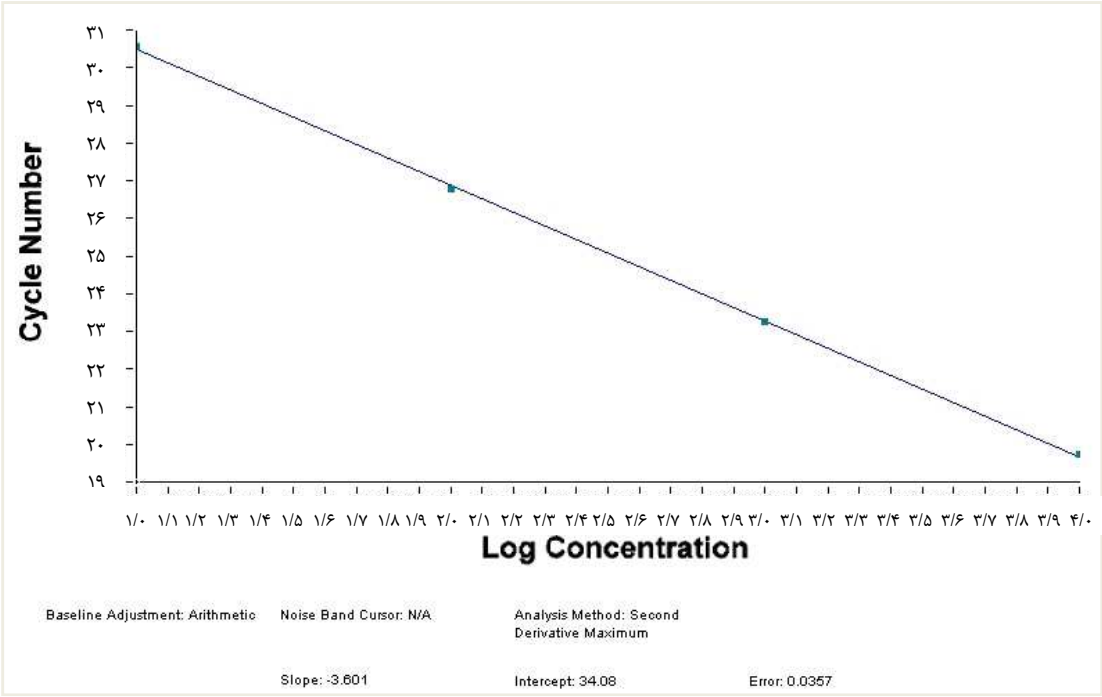
Ficoll-hypaque جـدا شـدند. اسـتخراج RNA بـا اسـتفاده از TRIzol (Sigma USA) و بـر اسـاس پروتکـل انجـام شـد. بـه منظـور سـنتز cDNA، کـل RNA (۳-۲ میکروگـرم) بـا ۴ میکرولیتـر 5 X MMLV-first strand buffer، ۱ میکرولیتـر dNTP، ۱ میکرولیتـر پرایمـر Oligo (dT)، ۱ میکرولیتـر MMLV-RT (Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase)، ۱ میکرولیتـر مهارکننـده‌ی RNA ۲ و ۱ میکرولیترddH2O تیمارشده با DEPC مخلـوط شـد. ترکیب واکنش (۲۰ میکرولیتر) در دمـای ۳۷ درجـه‌ی سانتی‌گراد بـرای ۱ سـاعت انکوبـه شـد و سـپس بـا رساندن دما به ۷۵ درجه‌ی سـانتی‌گـراد بـه مـدت ۱۰ دقیقه واکنش متوقف شد.

cDNA به وسـیله‌ی RT-PCR بـرای ارزیـابی بیـان نسـبی PDCD4 تکثیـر شـد. پرایمـر بـرای ژن هـدف PDCD4 و ژن GAPDH (بـه عنـوان یـک ژن شـاهد داخلی) با استفاده از نرم‌افـزار AlleleID 7 طراحـی شـد (جدول ۱).

قبل از انجام RT-PCR بر روی نمونه‌هـا، منحنـی اسـتاندارد بـرای ژن‌هـای PDCD4 و GAPDH بـا استفاده از سریال رقت رسم شد (شکل ۱).

جدول ۱. پرایمرهای Forward و Reverse برای ژن‌های PDCD4 (Programmed cell death 4) و GAPDH (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)

Primer	Gene symbol	Sequence (5´ to 3´)
Forward	PDCD4	GAP GAP GAC CAG GAG AAC
	GAPDH	GAA GGT GAA GGT CGG AGT C
Reverse	PDCD4	TAA GGA TAC TGC CAA CAC
	GAPDH	GAA GAT GGT GAT GGG ATT TC



شکل ۱. منحنی استاندارد برای ژن PDCD4 (Programmed cell death 4)

واکنش RT-PCR (۱۵ میکرولیتر برای هر واکنش) با استفاده از ۷/۵ میکرولیتر SYBR® Green master mix، ۰/۸ میکرولیتر از میکس پرایمر ۱۰ میکرومولار، ۳ میکرولیتر cDNA رقیق‌شده و ۳/۷ میکرولیتر ddH2O آماده شد. در نهایت cDNA برای ژن‌های PDCD4 و GAPDH با شرایط: ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ثانیه، ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه (مراحل ۲ و ۳ برای ۴۰ سیکل تکرار شدند) تکثیر شد. به دنبال آن آنالیز Melting curve انجام گرفت. منحنی‌های Melting curve برای اطمینان از اختصاصی بودن محصول PCR آنالیز شدند. بیان نسبی ژن PDCD4 به روش $2^{-\Delta\Delta ct}$ (۵) استفاده از ژن‌خانه‌ی پای GAPDH به عنوان ژن شاهد داخلی مورد ارزیابی قرار گرفت.

تمام بیماران به جز بیماران مبتلا به AML-M3، با رژیم درمانی ۳ + ۷ و بیماران M3 با آرسنیک تری‌اکساید تحت شیمی‌درمانی القایی قرار گرفتند. طول مدت درمان برای القای بهبودی کامل در بیماران AML به جز M3، ۳۳-۲۸ روز و در بیماران M3، ۵۵-۳۵ روز بود.

داده‌های جمع‌اوری‌شده توسط نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۱ (version 21, SPSS Inc., Chicago, IL) آنالیز شد. برای مقایسه‌ی تفاوت بیان PDCD4 بین نمونه‌های طبیعی و AML از آزمون‌های غیرپارامتری Mann-Whitney U و Wilcoxon signed rank استفاده شد. همچنین از آزمون غیر پارامتری Kruskal-Wallis برای بررسی وجود تفاوت بین میزان بیان PDCD4 در زیرگروه‌های مختلف FAB-AML استفاده شد. برای بررسی ارتباط بین بیان PDCD4 و پارامترهای بالینی بیماران از آزمون χ^2 استفاده شد. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

از ۵۶ بیمار مورد مطالعه‌ی ما، ۳۱ نفر (۵۵/۴ درصد) مرد و ۲۵ نفر (۴۴/۶ درصد) زن بودند. محدوده‌ی سنی بیماران بین ۴ تا ۶۵ سال و میانگین سنی آن ها ۳۵/۷ سال بود. شمارش گویچه‌های سفید و پلاکت‌ها به ترتیب در طیف ۲۰۸۰۰۰-۷۰۰ و ۳۴۵۰۰۰-۲۰۰۰ و میانگین آن‌ها ۳۷۷۶۵ و ۷۲۷۷۸ سلول در میکرولیتر بود. طیف غلظت هموگلوبین ۱۳-۳/۴ و میانگین آن ۸/۷ گرم در دسی‌لیتر بود.

در جدول ۲ فراوانی زیر گروه‌های FAB در بیماران نشان داده شده است.

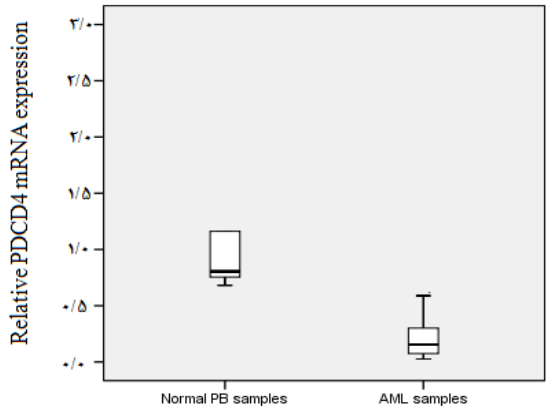
جدول ۲. فراوانی زیر گروه‌های FAB (French-American-British) در بیماران مورد مطالعه

زیر گروه	تعداد
M1	۶
M2	۱۳
M3	۷
M4	۱۶
M5	۱۰
M6	۴

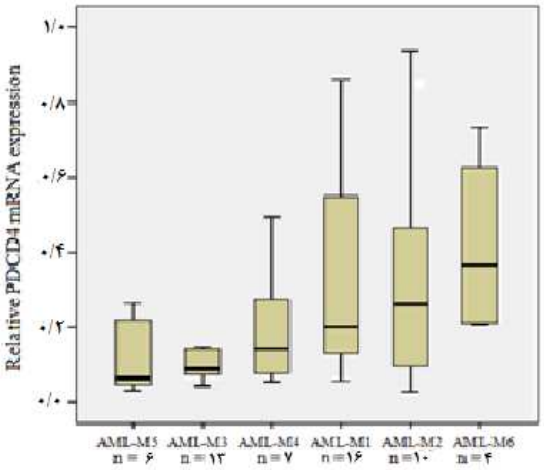
میانه (Median) و IQR (Interquartile range) بیان mRNA ژن PDCD4 در بیماران مبتلا به AML به ترتیب ۰/۱۵۴ و ۰/۳۱۳-۰/۰۷۴ و در نمونه‌های سالم به ترتیب ۰/۸۰۴ و ۱/۵۱۸-۰/۷۳۶ بود که به طور معنی‌داری در مبتلایان به AML کمتر از افراد سالم بود. ($P < ۰/۰۰۱$) (شکل ۲). ۷۸ درصد از

مبتلایان به AML کاهش بیش از دو برابر در میزان بیان ژن PDCD4 را در مقایسه با بیان میانه در نمونه‌های طبیعی خون محیطی داشتند.

بیان PDCD4 در میان زیر گروه‌های مختلف FAB-AML کمابیش یکسان بود به استثنای بیماران AML-M3 که بیان PDCD4 در طیف محدودتری قرار داشت (شکل ۳).



شکل ۲. مقایسه‌ی بیان نسبی ژن Programmed cell death4 (PDCD4) در نمونه‌های خون محیطی طبیعی و AML (Acute myeloid leukemia)



شکل ۳. بیان نسبی ژن (Programmed cell death4) PDCD4 در زیرگروه‌های مختلف FAB-AML (French-American-British- Acute myeloid leukemia)

در بیماران AML-M5 بیان PDCD4 در مقایسه با بقیه‌ی زیرگروه‌ها به صورت معنی‌داری کمتر بود (P = ۰/۰۲۸).

هیچ گونه ارتباط معنی‌داری بین میزان بیان PDCD4 و جنس بیماران، سن، شمارش گلوبول‌های سفید و پلاکت و غلظت هموگلوبین وجود نداشت.

از ۵۶ بیمار مورد بررسی، اطلاعات مربوط به پاسخ به درمان ۵۲ نفر (۹۲/۸۶ درصد) از بیماران موجود بود. از این ۵۶ نفر، ۴۳ نفر (۸۲/۷ درصد) پس از درمان القایی وارد فاز بهبودی کامل شدند در حالی که ۹ نفر (۱۷/۳ درصد) از بیماران مقاوم به درمان القایی بود و وارد فاز بهبودی نشدند. هیچ گونه ارتباط معنی‌داری بین میزان بیان PDCD4 و بهبودی کامل پس از درمان القایی مشاهده نشد و میزان بیان PDCD4 در بیمارانی که بهبودی کامل در آن‌ها حاصل شده بود در مقایسه با بیمارانی که وارد فاز بهبودی نشده بودند کمابیش یکسان بود.

بحث

علاوه بر جابجایی‌های کروموزومی مرسوم، موتاسیون انکوژن‌ها و از دست رفتن ژن‌های سرکوب‌کننده‌ی تومور نقش مهمی را در پاتوژنز AML بازی می‌کنند. برای مثال، ناهنجاری در ژن‌های خاص مانند FLT3 (۱۶)، NPM (۱۷) و RAS (۱۸) و تخریب جهشی ژن‌های سرکوب‌کننده‌ی تومور مانند P53 (۱۹) در سلول‌های AML شایع هستند. PDCD4 یک ژن جدید سرکوب‌کننده‌ی تومور است که در رونویسی ژن و ترجمه درگیر می‌باشد (۶). نشان داده شده است که PDCD4 هم در موش و هم در انسان نقش مهمی را

در تکامل تومور و متاستاز آن بازی می‌کند (۹-۷).

در مطالعه‌ی حاضر، ما بیان mRNA ژن PDCD4 را در ۵۶ نمونه‌ی مبتلا به AML در زمان تشخیص بیماری و در ۱۰ نمونه‌ی طبیعی خون محیطی مورد بررسی قرار دادیم. نتایج این مطالعه نشان داد بیان PDCD4 به طور قابل توجهی در نمونه‌های بیماران در مقایسه با نمونه‌های طبیعی کمتر بود. این موضوع پیشنهادکننده‌ی آن است که PDCD4 ممکن است نقش مهمی در پاتوژنز AML بازی کند. این نتایج با یافته‌های مطالعاتی که دلالت بر کاهش یا از دست رفتن بیان PDCD4 در مقایسه با بافت‌های طبیعی در کارسینوم هپاتوسلولار و سرطان ریه داشتند، مطابقت دارد (۱۲، ۴).

بیان PDCD4 در بسیاری از تومورهای دیگر انسان کاهش می‌یابد. Ding و همکاران، بیان PDCD4 را در سطوح mRNA و پروتئین در ۶۳ نمونه‌ی تومور استرومال گاستروانتستینال بررسی کردند. آن‌ها نشان دادند که بیان mRNAPDCD4 در ۶۸ درصد از نمونه‌های توموری در مقایسه با بافت‌های گاستروانتستینال طبیعی مجاور کاهش داشت (۲۰). Ozpolat و همکاران اثبات کردند که بیان PDCD4 به طور قابل ملاحظه‌ای در طول تمایز القاشده با ATRA (All-trans retinoic acid) در رده‌های سلولی NB4 و HL-60 و در لوسمی پرومیلوسیتیک اولیه، تنظیم افزایشی می‌یابد. این نتایج پیشنهادکننده‌ی کاهش بیان PDCD4 در طی ایجاد لوسمی بود (۲۱). این نتایج مشابه نتایج به دست‌آمده در مطالعه‌ی حاضر است. با وجود این، در مطالعه‌ای که Yoshinaga و همکاران انجام دادند، نشان دادند که بیان PDCD4 در سرطان مثانه افزایش می‌یابد (۲۲). این مطلب پیشنهادکننده‌ی آن است که PDCD4 ممکن است عملکرد اختصاصی سلول یا بافت داشته باشد.

با وجود پیشرفت‌های گسترده در ژنتیک مولکولی و سیتوژنتیک، طبقه‌بندی گروه FAB که بر پایه‌ی یافته‌های مورفولوژیکی و رنگ‌آمیزی سیتوشیمیایی سلول‌های بلاستیک استوار است، همچنان به قوت خود باقی است. در مطالعه‌ی حاضر تمام مبتلایان به AML بر اساس طبقه‌بندی گروه مطالعه FAB طبقه‌بندی شدند و بیان PDCD4 در بین زیرگروه‌های مختلف FAB بررسی شد. ما نشان دادیم که بیان PDCD4 در میان زیرگروه‌های خاص FAB-AML کمابیش یک شکل بود، به استثنای بیماران AML-M3 که بیان PDCD4 در طیف محدودتری قرار داشت. همچنین بیماران AML-M5 بیان کمتری از ژن PDCD4 را در مقایسه با بقیه ی بیماران داشتند که از نظر آماری معنی‌دار بود.

به نظر می‌رسد تنظیم کاهشی PDCD4 در سرطان‌های مختلف انسان با پیشرفت تسریع‌شده‌ی تومور، متاستاز و پیش‌آگهی ضعیف همراه باشد (۲۳، ۱۲). در این مطالعه ما هیچ گونه ارتباطی بین میزان بیان PDCD4 و عوامل پیش‌آگهی‌دهنده‌ی مرسوم در AML مانند سن و شمارش گویچه‌های سفید مشاهده نکردیم. همچنین هیچ گونه ارتباطی بین میزان بیان PDCD4 و دیگر پارامترهای بالینی مانند جنس بیماران، شمارش پلاکتی و غلظت هموگلوبین مشاهده نشد.

در ۸۰-۶۰ درصد بیماران زیر ۶۰ سال مبتلا به AML، بهبودی کامل بعد از درمان القایی مشاهده می‌شود. بهبودی کامل به صورت حضور کمتر از

۵ درصد بلاست در مغز استخوان و اصلاح شمارش سلول‌های خون محیطی (شمارش نوتروفیل بیشتر از ۱۰۰۰ سلول در میکرولیتر، شمارش پلاکتی بیشتر از ۱۰۰۰۰۰ سلول در میکرولیتر، هموگلوبین بیشتر از ۱۰ گرم در دسی‌لیتر و عدم حضور بلاست در خون محیطی) تعریف می‌شود. همچنین سلولاریته‌ی مغز استخوان بیشتر از ۲۰ درصد با شواهدی از خون‌سازی هر سه رده‌ی سلولی، باید وجود داشته باشد (۲۴). در مطالعه‌ی حاضر هیچ گونه ارتباط معنی‌داری بین میزان بیان PDCD4 و بهبودی کامل پس از درمان القایی مشاهده نشد و میزان بیان PDCD4 در بیمارانی که بهبودی کامل در آن‌ها حاصل شده بود در مقایسه با بیمارانی که وارد فاز بهبودی نشده بودند یکسان بود.

نتیجه‌گیری

در مطالعه‌ی حاضر نشان داده شد که همانند بسیاری از تومورهای انسان، بیان ژن PDCD4 در بیماران AML در زمان تشخیص در مقایسه با نمونه‌های طبیعی خون محیطی کاهش داشت و این کاهش در بین زیرگروه‌های مختلف AML به جز AML-M3 توزیع یکنواختی را نشان داد. همچنین در این مطالعه ارتباط معنی‌داری بین میزان بیان PDCD4 با پارامترهای بالینی بیماران مانند جنس، سن، شمارش گلبول‌های سفید، شمارش پلاکت و بهبودی کامل پس از درمان القایی مشاهده نکردیم. با وجود این، مکانیسم‌های تنظیمی PDCD4 در AML و نقش آن در خون‌سازی طبیعی و همچنین ارتباط احتمالی آن با سرانجام بیماران نیازمند مطالعات بیشتری است.

References

1. Gilliland DG, Jordan CT, Felix CA. The molecular basis of leukemia. Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2004; 80-97.
2. Marcucci G, Haferlach T, Dohner H. Molecular genetics of adult acute myeloid leukemia: prognostic and therapeutic implications. J Clin Oncol 2011; 29(5): 475-86.
3. Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Teppo L, Thomas DB.Cancer incidence in five continents. Volume VIII. IARC Sci Publ 2002; (155): 1-781.
4. Zhang H, Ozaki I, Mizuta T, Hamajima H, Yasutake T, Eguchi Y, et al. Involvement of programmed cell death 4 in transforming growth factor-beta1-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma. Oncogene 2006; 25(45): 6101-12.
5. Soejima H, Miyoshi O, Yoshinaga H, Masaki Z, Ozaki I, Kajiwara S, et al. Assignment of the programmed cell death 4 gene (PDCD4) to human chromosome band 10q24 by in situ hybridization. Cytogenet Cell Genet 1999; 87(1-2): 113-4.
6. Lankat-Buttgereit B, Goke R. The tumour suppressor Pdcd4: recent advances in the elucidation of function and regulation. Biol Cell 2009; 101(6): 309-17.
7. Cmarik JL, Min H, Hegamyer G, Zhan S, Kulesz-Martin M, Yoshinaga H, et al. Differentially expressed protein Pdcd4 inhibits tumor promoter-induced neoplastic transformation. Proc Natl Acad Sci U S A 1999; 96(24): 14037-42.
8. Wei N, Liu SS, Chan KK, Ngan HY. Tumour suppressive function and modulation of programmed cell death 4 (PDCD4) in ovarian cancer. PLoS One 2012; 7(1): e30311.
9. Wang Q, Sun Z, Yang HS. Downregulation of tumor suppressor Pdcd4 promotes invasion and activates both beta-catenin/Tcf and AP-1-dependent transcription in colon carcinoma cells. Oncogene 2008; 27(11): 1527-35.
10. Leupold JH, Yang HS, Colburn NH, Asangani I, Post S, Allgayer H. Tumor suppressor Pdcd4 inhibits invasion/intravasation and regulates urokinase receptor (u-PAR) gene expression via Sp-transcription factors. Oncogene 2007; 26(31): 4550-62.
11. Yang HS, Jansen AP, Komar AA, Zheng X, Merrick WC, Costes S, et al. The transformation suppressor Pdcd4 is a novel eukaryotic translation initiation factor 4A binding protein

that inhibits translation. Mol Cell Biol 2003; 23(1): 26-37.
12. Chen Y, Knosel T, Kristiansen G, Pietas A, Garber ME, Matsuhashi S, et al. Loss of PDCD4 expression in human lung cancer correlates with tumour progression and prognosis. J Pathol 2003; 200(5): 640-6.
13. Afonja O, Juste D, Das S, Matsuhashi S, Samuels HH. Induction of PDCD4 tumor suppressor gene expression by RAR agonists, antiestrogen and HER-2/neu antagonist in breast cancer cells. Evidence for a role in apoptosis. Oncogene 2004; 23(49): 8135-45.
14. Wei ZT, Zhang X, Wang XY, Gao F, Zhou CJ, Zhu FL, et al. PDCD4 inhibits the malignant phenotype of ovarian cancer cells. Cancer Sci 2009; 100(8): 1408-13.
15. Gao F, Zhang P, Zhou C, Li J, Wang Q, Zhu F, et al. Frequent loss of PDCD4 expression in human glioma: possible role in the tumorigenesis of glioma. Oncol Rep 2007; 17(1): 123-8.
16. Birg F, Courcoul M, Rosnet O, Bardin F, Pebusque MJ, Marchetto S, et al. Expression of the FMS/KIT-like gene FLT3 in human acute leukemias of the myeloid and lymphoid lineages. Blood 1992; 80(10): 2584-93.
17. Falini B, Mecucci C, Tiacci E, Alcalay M, Rosati R, Pasqualucci L, et al. Cytoplasmic nucleophosmin in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. N Engl J Med 2005; 352(3): 254-66.
18. Ahuja HG, Foti A, Bar-Eli M, Cline MJ. The pattern of mutational involvement of RAS genes in human hematologic malignancies determined by DNA amplification and direct sequencing. Blood 1990; 75(8): 1684-90.
19. Mori N, Hidai H, Yokota J, Okada M, Motoji T, Oshimi K, et al. Mutations of the p53 gene in myelodysplastic syndrome and overt leukemia. Leuk Res 1995; 19(11): 869-75.
20. Ding L, Zhang X, Zhao M, Qu Z, Huang S, Dong M, et al. An essential role of PDCD4 in progression and malignant proliferation of gastrointestinal stromal tumors. Med Oncol 2012; 29(3): 1758-64.
21. Ozpolat B, Akar U, Steiner M, Zorrilla-Calancha I, Tirado-Gomez M, Colburn N, et al. Programmed cell death-4 tumor suppressor protein contributes to retinoic acid-induced terminal granulocytic differentiation of human myeloid leukemia cells. Mol Cancer Res 2007; 5(1): 95-108.
22. Yoshinaga H, Matsuhashi S, Fujiyama C, Masaki Z. Novel human PDCD4 (H731) gene expressed in proliferative cells is expressed in the small duct epithelial cells of the breast as revealed by an anti-H731 antibody. Pathol Int 1999; 49(12): 1067-77.
23. Wang X, Wei Z, Gao F, Zhang X, Zhou C, Zhu F, et al. Expression and prognostic significance of PDCD4 in human epithelial ovarian carcinoma. Anticancer Res 2008; 28(5B): 2991-6.
24. Smith M, Barnett M, Bassan R, Gatta G, Tondini C, Kern W. Adult acute myeloid leukaemia. Crit Rev Oncol Hematol 2004; 50(3): 197-222.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 02.04.2013
Vol. 31, No. 241, 3rd Week, August 2013
Accepted: 10.06.2013

Evalution of Programmed Cell Death 4 (PDCD4) Expression in Patients with Acute Myeloid Leukemia

Mojtaba Ali Akbarpouranzab[1], Shahrbanoo Rostami PhD[2], Kamran Ali Moghaddam PhD[3], Fatemeh Nadali PhD[4]

Original Article

Abstract

Background: Acute myeloid leukemia (AML) is clinically, cytogenetically, and molecularly heterogeneous. Advances in molecular research have greatly improved our understanding of the leukemogenesis in AML. Programmed cell death-4 (PDCD4) is a novel tumor suppressor that inhibits neoplastic transformation and tumor progression and invasion by suppressing activator protein (AP)-1 activation and protein translation. In the present study, we examined the PDCD4 expression levels in de novo AML and investigated correlation between altered expression of PDCD4 with patients' clinical characteristics.

Methods: Peripheral blood samples were collected from 56 patients with AML at the time of diagnosis and also, 10 healthy individuals. Quantification of PDCD4 mRNA expression by Real Time Quantitative PCR was performed. Mann-Whitney U test was used to compare PDCD4 expression differences among healthy and AML samples.

Findings: PDCD4 mRNA expression was significantly diminished in patients with AML at diagnosis in comparison to the PB as normal samples ($P < 0.001$). We observed a statistically lower expression in AML-M5 subtype in comparison to other AML subtypes ($P = 0.028$). We have not found any significant correlation between PDCD4 expression level and clinical parameters of patients. Also, no significant correlation between the expression levels of PDCD4 and complete remission after induction therapy was observed.

Conclusion: Our results shown that, like many epithelial cancers, the down-regulation of PDCD4 expression also occurs in AML.

Keywords: Acute myeloid leukemia, Programmed cell death-4, Tumor suppressor gene

Citation: Ali Akbarpouranzab M, Rostami Sh, Ali Moghaddam K, Nadali F. **Evalution of Programmed Cell Death 4 (PDCD4) Expression in Patients with Acute Myeloid Leukemia.** J Isfahan Med Sch 2013; 31(241): 867-75.

1- MSc Student, Department of Hematology, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2- Hematology-Oncology and Stem Cell Transplantation Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3- Professor, Hematology-Oncology and Stem Cell Transplantation Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4- Associate Professor, Department of Hematology, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Corresponding Author: Fatemeh Nadali PhD, Email: f-nadali@sina.tums.ac.ir