The 4th Iranian Conference on
Systems Biology

آنالیز ترنسکریپتومی کارسینوم هپاتوسلولار جهت تشخیص ژن های کلیدی در این بیماری

محمد معین شیروانیان، مهدی صادقی*
گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران
*mehdisadeghi@semnan.ac.ir

دانشگاه سمنان

چکیده

سرطان کبد دومین سرطان کشنده در دنیا می باشد. تشخیص، پیش آگهی و درمان این بیماری پیچیده نیازمند اشراف دقیق بر سازوکار مولکولی آن میباشد. سطوح اطلاعاتی متفاوتی در داخل سلول قابل بررسی میباشند که سطح اطلاعاتی ترنسکریپتومی یکی از غنی ترین سطوح اطلاعاتی میباشد که اطلاعات با ارزشی را درباره بیان ژن ها در سلول های مورد بررسی در اختیار قرار می دهد. مطالعات پیشین نشان دهنده درگیری طیف وسیعی از مسیرها و ژن های درگیر در بیماری می باشد. انتقالات اپیتلیال به مزنشیمال، مسیر NOTCHو مسیر پیام رسانی TGF-βاز موارد اشاره شده در مقالات می باشد (Okrah k et.al.2018).ناهمگونی کارسینوم هپاتوسلولار یکی از چالش های پیش روی تشخیص و درمان آن می باشد و به کارگیری رویکرد تحلیلی متاآنالیز درکنار روش های مبتنی برشبکه می تواند اطلاعات دقیق و با ارزشی از داده های مورد مطالعه دراختیار قرار دهد که می تواند به توسعه فرایندهای تشخیصی و درمانی بیماری کارسینوم هپاتوسلولار کمک کند.

کلمات کلیدی:کارسینوم هپاتوسلوللار, آنالیز ترنسکریپتومی, شبکه تنظیم بیان ژن

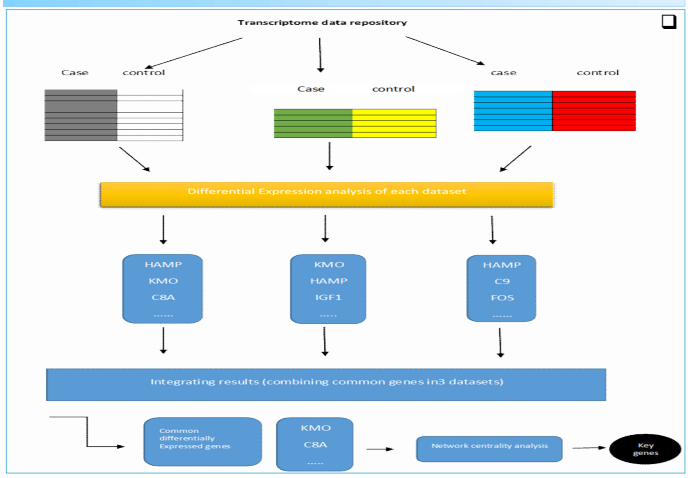
مقدمه

- سرطان کبد دومین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان در دنیا می باشد, در مردان شایعتر بوده و سیروز کبدی یکی از مهمترین عوامل بروز آن می باشد (FornerA.et.al.2012).انواع مختلفی از سرطان می تواند در کبد شکل بگیرد که کارسینوم هپاتوسلولار (Hepatocellular carcinoma) شایع ترین نوع سرطان کبد است. انواع دیگر آن مانند کلانژیوکارسینوم داخل قدامی و هپاتوبلاستوما کمتر رایج هستند (Wang XW.et.al.2002). از عواملی که خطر ابتلا به سرطان هپاتوسلولار کبدی را افزایش می دهد می توان به تجمع چربی در کبد، قرارگرفتن در معرض نوعی توکسین قارچی آفلاتوکسین و مصرف بیش از حد الکل اشاره نمود. رویکردهای زیست شناسی سامانه ای با توسعه تکنیکهای توان بالا مانند میکروآری و توالی یابی نسل جدید (NGS) و نیز با پیشرفت چشمگیر توان محاسباتی امکان مطالعه همه جانبه فنوتیپهای مختلف را فراهم آورده است. رویکرد مبتنی بر شبکه (به عنوان زبان سیستم های پیچیده همانند سیستم ها زیستی) امکان یکپارچه سازی اطلاعات مختلف زیستی و تحلیل آن را تسهیل میکند. بررسی پارامترهای شبکه امکان شناسایی عناصر مهم در شبکه و به تبع آن سیستم زیستی مورد بررسی را فراهم میکند.

مواد و روش ها

- در این مطالعه سه مجموعه داده ترنسکریپتوم مربوط به کارسینوم هپاتوسلولار مورد استفاده قرار گرفت که از طریق پایگاه داده GEO و از طریق کدهای دسترسی GSE101685 ,GSE15420 و GSE76427 قابل دسترسی هستند. این داده ها در پلتفرم Affymetrix میباشند. هر کدام از این مجموعه داده‌ها شامل نمونه‌های سالم و سرطانی بودند که در مجموع شامل ۳۰۲ نمونه می‌شدند. هر کدام از این مجموعه داده‌ها با استفاده از نرم افزار GEO2R در NCBI به طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفت و ژن‌های دارای تفاوت بیان نسبت به نمونه‌های سالم موجود در هر مجموعه داده به دست آمد (p-value کمتر از ۰/۰۵ و تصحیح شده با روش FDR). در مرحله بعد نتایج به دست آمده از سه مجموعه داده به منظور پیدا کردن ژن‌هایی که به طور مشترک در هر سه مجموعه داده یافته شده-اند مورد بررسی قرار گرفت. در مرحله بعد به منظور ساخت شبکه تنظیم بیان ژنی مربوط به ژن‌های شناسایی شده از پایگاه داده STRING استفاده شد. این پایگاه داده علاوه بر نشان داده ارتباط بین ژن‌ها می‌تواند مسیرهای بیولوژیکی درگیر بر اساس این ژن‌ها را نیز نشان دهد. شبکه های ساخته شده وارد محیط نرم افزاری Cytoscape شدند و پارامترهای مختلف مرکزیت شامل درجه (degree) و مرکزیت بینابینی (betweenness centrality) برای شبکه به دست آمدند و ژنهایی که بیشترین درجه و مرکزیت بینابینی داشتند به عنوان ژنهای تاثیر گزار در شبکه گزارش شدند.

نتایج



بحث، نتیجه گیری و پیشنهادات

- بر اساس آنالیزهای انجام شده۱۷۴، ۶۵۲ و ۲۵۲ ژن دارای تفاوت بیان به ترتیب برای مجموعه داده های GSE76427، GSE101685و GSE15420یافته شد. بررسی سه مجموعه ژن دارای تفاوت بیان نشان می دهد۳۰۲ ژن در سه مجموعه داده دارای الگوی بیانی مشترک می باشند به طوری که ۴۷ ژن دارای کاهش بیان و۲۵۵ ژن دارای افزایش بیان می باشد.۳۰۲ ژن شناسایی شده به منظور مطالعه شبکه تنظیم بیان ژنی وارد پایگاه داده STRINGشدند. شبکه تنظیم بیان ژن ساخته شده تشکیل شده از ۲۰۰ گره و ۱۲۵۴ یال می باشد که نشان دهنده روابط تنظیمی بیانی ژن ها می باشد. استفاده ازشبکه امکان شناسایی عناصر مهم و تاثیرگذار فراهم می کند که قابل تعمیم به فنوتیپ موردبررسی می باشد. ۵ ژن KMOو C8AوPSMD4وCCNB2وCDC20 به عنوان ژن های کلیدی در شبکه حضور دارند. بررسی ۵ ژن شناسایی شده نشان می دهدCDC20 به عنوان یکی از ژن های تنظیم کننده چرخه سلولی نقش مهمی در تومور زایی و پیشرفت تومورهای متعدد ایفا می کند (Fan.G.et.al.2018). C8Aدر سیستم مکمل که بخشی از سیستم ایمنی بدن می باشد نقش دارد و به عنوان یکی از بیومارکرهای تشخیص کارسینوم هپاتوسلولار معرفی شده است (Awan et. al. 2015) . CCNB2از خانواده سایکلین ها می باشد که تنظیم چرخه سلولی را به عهده دارند و افزایش بیان این ژن با پیش آگهی ضعیف بیماران مبتلا به کارسینوم هپاتوسلولار رابطه مستقیم دارد (Rong et. al. 2019).KMOبه عنوان آنزیم محوری در مسیر kynurenineمی باشد و نقش مهم آن در کارسینوم هپاتوسلولار نشان داده شده است (Jin et. al. 2015). این ژن ها عمدتا در تنظیم چرخه سلولی نقش داشته و بعضا به عنوان آنکوژن که می توانند به عنوان مارکر در تشخیص و درمان سرطان هپاتوسلولارکبدی مورد مطالعه بیشتر قرار بگیرد.

منابع

Awan FM, Naz A, Obaid A, Ali A, Ahmad J, et al. (2015) Identification of Circulating Biomarker Candidates for Hepatocellular Carcinoma (HCC): An Integrated Prioritization Approach. PLOS ONE 10(9): e0138913. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138913

Cheng W, Govindarajan S, Redeker A (1992). "Hepatocellular carcinoma in a case of Wilson's disease". Liver International. 12 (1): 42–45. doi:10.1111/j.1600-0676.1992.tb00553.x. PMID 1314321. The patient described here was the oldest and only the third female patient with hepatocellular carcinoma complicating Wilson's disease to be reported in the literature.

Donadon V, Balbi M, Ghersetti M, et al. (2009). "Antidiabetic therapy and increased risk of hepatocellular carcinoma in chronic liver disease". World Journal of Gastroenterology. 15 (20): 2506–11. doi:10.3748/wjg.15.2506. PMC 2686909. PMID 19469001.

Fan, G., Tu, Y., Chen, C. et al. DNA methylation biomarkers for hepatocellular carcinoma. Cancer Cell Int 18, 140 (2018). https://doi.org/10.1186/s12935-018-0629-5

Forner A, Llovet JM, Bruix J (2012). "Hepatocellular carcinoma". The Lancet. 379 (9822): 1245–1255. doi:10.1016/S0140-6736(11)61347-0. PMID 22353262

Jin H1, Zhang Y1, You H1, Tao X1, Wang C1, Jin G2, Wang N1, Ruan H1, Gu D1, Huo X1, Cong W2, Qin W1. Prognostic significance of kynurenine 3-monooxygenase and effects on proliferation, migration, and invasion of human hepatocellular carcinoma 2015 Jun 23;5:10466. doi: 10.1038/srep10466.

Katyal, Sanjeev; Oliver, James H.; Peterson, Mark S.; Ferris, James V.; Carr, Brian S.; Baron, Richard L. (2000). "ExtrahepaticMetastasesofHepatocellularCarcinoma".Radiology.216(3):698–703. doi:10.1148/radiology.216.3.r00se24698. PMID 10966697.

Okrah, K., Tarighat, S., Liu, B. et al. Transcriptomic analysis of hepatocellular carcinoma reveals molecular features of disease progression and tumor immune biology. npj Precision Onc 2, 25 (2018). https://doi.org/10.1038/s41698-018-0068-8

Rong Li, Xuemei Jiang, Yingai Zhang, Shunlan Wang, Xijie Chen, Xiangnan Yu, Jiamei Ma, Xiaoxi Huang, Cyclin B2 Overexpression in Human Hepatocellular Carcinoma is Associated with Poor Prognosis, Archives of Medical Research, Volume 50, Issue 1, 2019, Pages 10-17

Wang XW, Hussain SP, Huo TI, Wu CG, Forgues M, Hofseth LJ, Brechot C, Harris CC (2002). "Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma". Toxicology. 181–182: 43–47. doi:10.1016/S0300-483X(02)00253-6. PMID 12505283.