

بررسی میزان بیان ژن کمک تحریکی CD86 در پولیپ‌های روده بزرگ

نوшاد پی‌رویان^۱ (M.Sc)، حمید اسدزاده عقدایی^{۲*} (M.D)، احسان ناظم الحسینی مجرد^۳ (Ph.D)، مهرداد هاشمی^۴ (Ph.D)،
محمد رضا رضوی^۵ (M.Sc)

- ۱- گروه علوم سلولی مولکولی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- ۲- مرکز تحقیقات علوم پایه و اپیدمیولوژی بیماری‌های گوارش، پژوهشکده گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- ۳- مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- ۴- گروه ژنتیک مولکولی، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- ۵- مرکز تحقیقات مراقبت‌های پرستاری، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

چکیده

سابقه و هدف: از آنجایی که اکثر سرطان‌های کولورکتال از پولیپ منشاء می‌گیرند، بررسی میزان بیان ژن‌های ایمونولوژیک موجود در پولیپ‌های روده بزرگ، می‌تواند به عنوان عاملی برای تشخیص تفاوت‌های ژنتیکی و پاتولوژی در پولیپ‌ها به حساب آید. هدف از این مطالعه بررسی بیان ژن CD86 در پولیپ‌های واقع در بخش‌های مختلف روده بزرگ و ارتباط آن با بروز بدخیمی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در یک مطالعه تحلیلی - توصیفی طی سال‌های ۱۳۹۱ تا ۹۳، ۴۹ نمونه بیوپسی از بیماران دارای پولیپ روده بزرگ و ۱۰ نمونه از افراد سالم جهت نرمالیزه کردن از بخش کولونوسکوپی بیمارستان طالقانی تهیه و مشخصات دموگرافیک و بالینی بیماران توسط پرسش‌نامه‌هایی از تمامی افراد جمع‌آوری شد. جهت بررسی کیفی میزان تغییرات بیان ژن CD86، از روش Real-Time PCR و متد تغییرات بیان ژن ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) استفاده شد.

یافته‌ها: در این مطالعه از ۴۹ نمونه بیمار، ۲۲ (۴۴/۹٪) زن و ۲۷ (۵۵/۱٪) مرد با میانگین سنی $53/21 \pm 15/3$ بودند. در ۶۹/۳٪ از بیماران پولیپ آدنوما و ۳۰/۷٪ از آن‌ها پولیپ هایپر پلاستیک گزارش شد. بیش از ۹۰٪ از پولیپ‌ها در ناحیه کولون و مابقی در بخش رکتوم واقع شده بودند. بر پایه روش کمیت سنجی نسبی (Quantitation Relative)، افزایش در میزان بیان ژن CD86 در پولیپ‌های کولون نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ($RQ < 2$) و در بخش رکتوم کاهش بیان این ژن نسبت به گروه کنترل مورد توجه قرار گرفت ($RQ < 5/0$).

نتیجه‌گیری: با توجه به بررسی نتایج مطالعه حاضر، افزایش بیان ژن CD86 در تومورهای کولون نسبت به رکتوم نشان‌دهنده وجود تفاوت‌های مولکولی و ایمونولوژی متمایز میان تومورهای این دو بخش در روده بزرگ می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: سرطان کولورکتال، پولیپ کولون، بیان ژنی، آنتی ژن CD86

وجود دارد که این بیماری با اجرای برنامه‌های غربالگری منظم و راه‌کارهای علمی بالینی، قابل پیشگیری است. عمده دلیل بروز سرطان روده بزرگ، وجود پولیپ در روده بزرگ و طی کردن توالی آدنوما به کارسینوما (تبدیل پولیپ‌های

مقدمه

سرطان روده بزرگ به عنوان یکی از عوامل مهم مرگ و میر ناشی از سرطان در دنیا مطرح است و سومین سرطان شایع در سراسر جهان در مردان و زنان می‌باشد [۱]. شواهد محکمی

مطالعاتی نیز همکاری ژن CD86 با لئوسیت‌های T-CD4 در سلول‌های اپی‌تلیال روده [۱۸] و نقش موتاسیون‌های این ژن را در برآورد خطر ابتلا به بیماری‌های مرتبط با روده همچون وجود پولیپ، بروز سرطان کولون و سندروم التهاب مزمن روده (IBD) بررسی کرده‌اند. مانند پلی‌مورفیسم ۱۰۵۷ G/C+ مولکول CD86 که با خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ ارتباط دارد [۱۹-۲۱]. هم‌چنین تغییر بیان این ژن میان گروه‌های گوناگون پولیپ و بافت التهابی روده در بیماران IBD نشان از تغییرات گسترده بالینی و پاتولوژی میان این دو گروه دارد [۲۲، ۲۳].

نظر به این‌که این تغییرات ایمنولوژیکی در روند توالی آدنوما به کارسینوما و بروز سرطان بسیار نامشخص و مجهول است، اهمیت انجام این‌گونه مطالعات محسوس است. در واقع بررسی تغییرات بیان در ژن‌های ایمنولوژیک منجر به شناخت هرچه بیش‌تر روند تومورزایی و پیشرفت پولیپ‌ها به سمت بدخیمی می‌شود و یافتن مارکر مناسبی که قادر باشد بدخیمی در پولیپ‌های روده را زودتر از تغییرات پاتولوژی داشته باشد و به تشخیص زودهنگام سرطان کلورکتال کمک کند، از ضرورت‌های انجام پژوهشی به شمار می‌آید. بنابراین هدف از این تحقیق بررسی میزان بیان ژن کمک تحریکی CD86 در پولیپ‌های واقع در بخش‌های مختلف روده بزرگ به منظور ارزیابی عمل‌کرد این مولکول در پولیپ‌های خوش‌خیم بدخیم کولون و رکتوم و توانایی تمایز میان پولیپ خوش‌خیم و بدخیم و هم‌چنین استفاده از پروفایل بیانی این ژن به عنوان مارکر ایمنولوژیکی پیش‌بینی‌کننده و تشخیصی در مبتلایان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت تحلیلی-توصیفی صورت گرفته و نوع انتخاب و نمونه‌گیری در این مطالعه تصادفی بوده است. در خلال سال‌های ۱۳۹۲-۹۳ اطلاعات بالینی ۲۰۰ نفر از بیمارانی که دارای علائم بالینی گوارشی بودند و جهت غربالگری به بخش کولونوسکوپی بیمارستان طالقانی تهران

خوش‌خیم به بدخیم) می‌باشد از این رو ارزیابی شاخصه‌های پاتولوژیکی پولیپ‌های خوش‌خیم (هایپرپلاستیک) و بدخیم (آدنوما) هم‌چون مکان وقوع ارتباط آن با بروز بدخیمی از درجه اهمیت بسزایی برخوردار است [۲، ۳]. رویدادهای ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی موثر در روند پولیپ‌زایی روده هم‌چون جهش در آنکوژن‌ها و ژن‌های سرکوب‌گر تومور و هم‌چنین بررسی تغییرات متیلاسیون به طور گسترده‌ای مورد بررسی قرار گرفته‌اند اما نقش فاکتورهای ایمنولوژی در روند تبدیل آدنوما به کارسینوما هم‌چنان در پرده‌ای از ابهام قرار دارد [۴-۶]. با توجه به نقش موثر سیستم ایمنی در مقابله با بیماری‌ها و بدخیمی‌ها که مراقبت ویژه ایمنی (Immune-Surveillance) خوانده می‌شود، امروزه در مطالعات از پروفایل‌های ایمنی و ژن‌های دخیل در آن جهت انتخاب مارکر مناسب استفاده می‌کنند [۸، ۷]. مهم‌ترین ژن‌های ایمنولوژی بیان شده بر روی سطح سلول‌های اپی‌تلیال روده بزرگ، مولکول‌های کمک تحریکی (CD86) B7.2 می‌باشند که متصل به غشا هستند و نقش مهمی را در فعال‌سازی سیستم ایمنی به ویژه لئوسیت‌های T بازی می‌کنند [۹، ۱۰]. این مولکول‌ها به واسطه آنتی‌ژن‌هایی که بر روی سطح سلول‌های روده بیان می‌کنند، به رسپتورهای سطحی لئوسیت (CD28) T و CTAL-4 متصل می‌شوند و پیام‌های لازم جهت فعال‌سازی یا مهار تکثیر سلول‌های لئوسیت T را فراهم می‌کنند [۱۱]. از این رو انتظار می‌رود که کاهش بیان ژن CD86 منجر به عدم تحریک‌پذیری لئوسیت‌های T به ویژه CD4+ شود و این امر زمانی دارای اهمیت است که سلول‌های سرطانی بتوانند از تیررس هجوم سیستم ایمنی به ویژه لئوسیت T در امان بمانند. لذا می‌توان با تحریک بیان این ژن در مقابل بافت‌های سرطانی به طور چشمگیری روند پیشرفت سرطان را به تعویق انداخت [۱۲-۱۴]. در مطالعات گسترده‌ای که بر روی بیماری‌های مختلف از جمله آسم نوناتوپیک صورت گرفته، مشخص شده است که افزایش بیان ژن CD86 منجر به گسترش مکانیزم‌های التهابی از طریق تحریک سیستم ایمنی و افزایش تکثیر لئوسیت‌های T می‌شود [۱۵-۱۷].

هگزامر، ۲ میکرولیتر dNTP و ۶/۵ میکرولیتر آب عاری از آنزیم RNase انجام گرفت. واکنش به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد به منظور ساخت cDNA انجام گرفت و در خاتمه میکروتیوب‌های حاوی نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه قرار گرفتند تا آنزیم RT غیر فعال شود. محصولات واکنش در منهای ۲۰ درجه نگهداری شدند. توالی پرایمرهای reverse:5'_CTCTGTATGCAAGTTTCC_3' و forward:5'_CAACGGAATTAGGAAGAC_3' برای ژن CD86 با طول باندها ۱۵۵ جفت باز و ژن بتا-۲- میکروگلوبین (Beta-2-microglobulin) با توالی‌های reverse:5'_TCTCTGCTCCCCACCTCTAAG_3' و forward:5'_TGCTGTCTCCATGTTTGATGTATCT_3' و طول باندها ۸۶ جفت باز توسط نرم‌افزار Primer Express طراحی گردید.

پس از آن به منظور انجام واکنش Real Time-PCR از دستگاه Applied Biosystems 7500 Real Time PCR (ABI) و روش SYBER GREEN استفاده شد. جهت انجام واکنش مستر میکسی بر طبق دستورالعمل کیت تهیه گشت. واکنش طبقه پروتکل کیت SYBER Premix Ex (Takara) TaqII انجام گرفت. از ژن بتا گلوبین به عنوان کنترل داخلی و از نمونه‌های سالم به عنوان کالیبراتور استفاده شد.

در مطالعه حاضر به منظور بررسی و مقایسه میزان بیان ژن CD86 میان پولیپ‌های ناحیه کولون و رکتوم با بافت نرمال همان نواحی، از روش کمیست سنجی نسبی (Relative Quantitation) استفاده شده است که در مطالعات بیانی مناسب‌ترین روش برای سنجش و مقایسه به شمار می‌آید. در این بررسی، روش Real-time همراه با نرمالیزاسیون انجام گرفته است. استفاده از ژن بتا-۲- میکروگلوبین به عنوان کنترل داخلی و نمونه‌های بافت نرمال به منظور کالیبراسیون، از بروز خطا در متد آنالیزی تحقیق به طور چشمگیری کاسته و کنترل داخلی مانع از موارد منفی کاذب در آزمایش شده است.

مراجعه کردند، جمع‌آوری گردید. این علائم شامل یبوست مزمن، اسهال مزمن، تغییر شکل مدفوع، درد شکمی بود. بیماران با آگاهی از لزوم انجام برنامه غربالگری مورد بررسی با کولونوسکوپی قرار گرفتند. پس از انجام فرآیند غربالگری با کولونوسکوپی، نمونه بافت پولیپ از ۴۹ نفر از بیماران مبتلا به پولیپ در روده بزرگ به همراه ۱۰ نمونه بافت از افراد سالم (گروه کنترل) که کولونوسکوپی نرمال داشتند، به وسیله اسکوپ دستگاه کولونوسکوپی گرفته و با تانک ازت به آزمایشگاه منتقل شد و نمونه‌ها تا زمان استفاده در دمای منفی ۸۰ درجه نگهداری شدند. همچنین بخشی از نمونه‌ها به بخش پاتولوژی بیمارستان منتقل شدند و به منظور بررسی‌های دقیق‌تر پاتولوژی با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس اطلاعات دموگرافیک بیماران و افراد سالم شامل سن، جنس، وزن، شاخص توده بدنی (BMI)، مصرف سیگار، مصرف الکل، وجود خون در مدفوع، دیابت و سابقه ابتلا به سرطان روده و بیماری التهابی مزمن (IBD) گردآوری شد. همچنین اطلاعات کلینیکی بیماران شامل نوع تویلاسم، چهره بافت‌شناسی و محل درگیری پولیپ با مطالعه پرونده بالینی بیمار ثبت گردید.

استخراج RNA از نمونه‌ها توسط کیت شرکت یکتا تجهیز آزما با شماره سریال YT9065 طبق دستورالعمل کیت انجام گرفت. پس از استخراج RNA، کمی و کیفیت آن با استفاده از دستگاه Nanodrop جهت سنجش دقیق غلظت RNA و الکتروفورز ژل آگارز ۱٪ به منظور تایید کیفیت مناسب بررسی گردید. در این دستگاه جذب نوری محلول RNA استخراج شده در طول موج ۲۶۰ نانومتر قرائت شد. همچنین در تمام واکنش‌ها غلظت‌های مشابهی از RNA نمونه‌های مختلف توسط فرآیند RNA adjusting استفاده شد. سپس DNA مکمل (cDNA) توسط کیت Thermo Scientific Revert Aid Reverse Transcriptase با شماره سریال k1691 طبق دستورالعمل کیت از روی نمونه‌های RNA استخراج شده، ساخته شد. واکنش cDNA سازی در دو میکس شامل ۵ میکرولیتر RNA، ۵ میکرولیتر پرایمر رندوم

GraphPad, Prism (v.3) منحنی نتایج حاصل از Real – time PCR رسم گردید [۲۴].

نتایج

اطلاعات بیماران. با توجه به اطلاعات بالینی ثبت شده از بیماران در سامانه الکترونیکی بخش کولونوسکوپی بیمارستان، اطلاعات دموگرافی و بالینی مربوط به بیماران دارای پولیپ، که تحت کولونوسکوپی قرار گرفتند، از پرونده بیماران و سامانه استخراج و ثبت گردید. از ۴۹ فرد مورد مطالعه، ۵۳/۲۱±۱۵/۳۰٪ مرد و ۴۴/۹٪ زن با میانگین سنی ۵۳/۲۱±۱۵/۳۰ می‌باشند. هم‌چنین از این تعداد، ۱۱ نفر دارای سابقه‌ی سرطان روده بزرگ یا پولیپ آدنوما در خانواده خویش بودند. حدود ۷ نفر (۱۴٪) از ۴۹ نفر دارای علائم گوارشی هم‌چون اسهال، درد شکمی، وجود خون در مدفوع و یبوست بودند و ۸ نفر (۱۶/۳٪) از آن‌ها مصرف‌کننده‌ی سیگار بودند. در جدول ۱ اطلاعات دموگرافی و بالینی بیماران آمده است.

جدول ۱. اطلاعات دموگرافی و بالینی بیماران

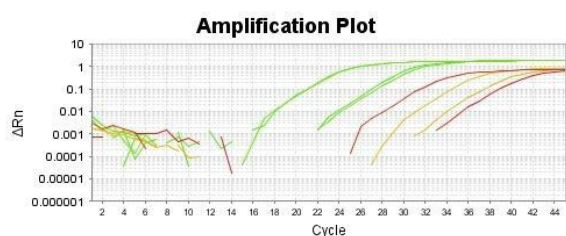
مشخصات	متغیر	فراوانی (درصد)
جنس	مرد	۲۷ (۵۵/۱)
	زن	۲۲ (۴۴/۹)
استعمال سیگار	مصرف‌کننده	۸ (۱۶/۳)
	عدم مصرف	۴۱ (۸۳/۷)
مصرف الکل	مصرف‌کننده	۵ (۱۰/۳)
	عدم مصرف	۴۴ (۸۹/۷)
ابتلا به دیابت	دارد	۷ (۱۴/۳)
	ندارد	۴۲ (۸۵/۷)
تست خون مخفی در مدفوع	دارد	۵ (۱۰/۲)
	ندارد	۴۴ (۸۹/۹)
اسهال مزمن	دارد	۴ (۸/۲)
	ندارد	۴۵ (۹۱/۸)
یبوست	دارد	۶ (۱۲/۲)
	ندارد	۴۳ (۸۷/۸)
درد های شکمی	دارد	۷ (۱۴/۳)
	ندارد	۴۲ (۸۵/۷)
کاهش وزن	دارد	۴ (۸/۲)
	ندارد	۴۵ (۹۱/۸)
سابقه خانوادگی	دارد	۱۱ (۲۱/۴)
	ندارد	۳۸ (۷۷/۶)
بیماری های مزمن روده (IBD)	مبتلا به کولیت اولسراتیو	۴ (۸/۲)
	مبتلا به بیماری کرون	۲ (۴/۱)
	جمع	۴۹ (۱۰۰٪)

نمونه‌های تهیه شده توسط دستگاه لایت سایکلر مدل ۳/۵ طی ۴۵ چرخه و هر سیکل دارای ۳ مرحله، به قرار زیر انجام گرفت: مرحله فعال‌سازی (Initial Denaturation) در دمای ۹۵ درجه به مدت ۳۰ ثانیه انجام گرفت. سپس دو رشته در مرحله (Denaturation) و دمای ۹۵ درجه به مدت ۵ ثانیه از هم جدا شدند و در پایان مرحله اتصال پرایمرها (Primer Annealing) و طویل‌سازی در دمای ۶۰ درجه به مدت ۳۴ ثانیه صورت گرفت.

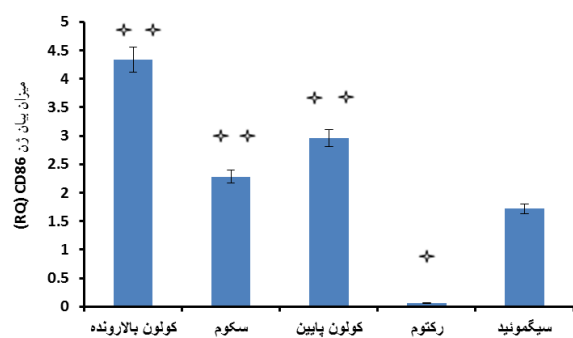
در این مطالعه جهت آنالیز آماری نتایج از نرم‌افزار SPSS (version 21, Co Ltd, Tokyo, Japan) استفاده شد. به منظور بررسی همبستگی معنادار بین انواع مختلف پولیپ و گروه‌های کنترل با شاخص‌های کیفی دموگرافیک و بالینی بیماران از آزمون مربع کای ۲ و Fisher's exact test استفاده و $P \text{ Value} > 0.05$ معنادار در نظر گرفته شد. هم‌چنین بررسی میزان تغییرات بیان ژن‌های مورد مطالعه در این بررسی نسبت به گروه کنترل با متد Fold change یا ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) صورت گرفته است. در این روش با فرض برابری راندمان تکثیر (Efficiency) بین ژن مورد نظر و ژن مرجع مقایسه صورت گرفت.

متد ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) به منظور محاسبه تغییرات کمی در میزان بیان ژن انجام شده است و سطح بیان mRNA ژن‌های هدف با سه مقدار RQ مورد محاسبه قرار گرفته است. میزان تغییرات بیان ژن‌های هدف در پولیپ‌ها با بیان ژن کنترل داخلی (بتا-۲-میکروگلوبین) نرمالیزه شده و با میزان تغییرات بیان ژن‌ها در گروه کنترل یا کالیبراتور به صورت نسبی بررسی شده است. در واقع ارتباط معنادار میان گروه‌های مختلف پولیپ با گروه کنترل توسط مقادیر RQ مورد سنجش قرار گرفته است. بدین صورت که $RQ < 0.5$ بیانگر کاهش بیان ژن و $RQ > 2$ افزایش بیان ژن را نشان می‌دهد. هم‌چنین $1/9 < RQ < 0.5$ (RQ میان ۰/۵ تا ۱/۹۹۹) نشان‌دهنده این است که تغییرات در بیان آن ژن نسبت به گروه کنترل به صورت نرمال بوده است. علاوه بر این با بهره‌گیری از نرم‌افزار

بخش‌های مختلف روده شامل سکوم، کولون بالارو، کولون عرضی، کولوم پایین رو، سیگموئید و رکتوم شکل ۲ نشان داده شده است. طبق شکل ۳، در پولیپ‌های موجود در مکان‌های کولون بالارو، پایین رو و سکوم روده افزایش بیان نسبت به بافت نرمال به طور معناداری مشاهده شده است (تغییرات بیان ژن در پولیپ‌های نواحی کولون ≤ 2 برابر بافت نرمال). اما با توجه به شکل ۴، در بخش رکتوم روده کاهش معناداری در میزان بیان ژن CD86 نسبت به بافت نرمال دیده شد (تغییرات بیان ژن در پولیپ‌های بخش رکتوم > 0.5 برابر بافت نرمال) که این امر نشان‌دهنده وجود تفاوت‌های ایمنولوژیکی در پولیپ‌های نواحی مختلف کولون با رکتوم می‌باشد.



شکل ۱. بررسی میزان بیان ژن CD86 در تعدادی از نمونه‌ها (نمودار



(log

شکل ۲. بررسی میزان تغییرات بیان ژن CD86 در پولیپ‌های واقع در بخش‌های مختلف کولون و رکتوم. $\clubsuit < 0.5$ RQ: کاهش بیان ژن CD86 در بخش رکتوم روده نسبت به بافت نرمال. $\clubsuit > 2$ RQ: افزایش بیان ژن CD86 در اکثر نواحی کولون روده نسبت به بافت نرمال

از ۴۹ فرد دارای پولیپ، ۳/۶۹٪ دارای پولیپ آدنوما بودند و ۷/۳۰٪ از آن‌ها پولیپ هایپرپلاستیک داشتند. همچنین شیوع پولیپ‌ها در قسمت‌های متفاوت آناتومی روده بزرگ از این قرار بود، تعداد ۹ (۳/۱۸٪) پولیپ در قسمت بالارونده‌ی کولون، ۱۶ (۶/۳۲٪) پولیپ در بخش افقی، ۱۰ (۴/۲۰٪) پولیپ در قسمت پایین‌رونده، ۸ (۳/۱۶٪) پولیپ در قسمت سیگموئید، ۲ پولیپ در بخش سکوم و ۴ پولیپ در بخش رکتوم روده بزرگ قرار داشتند (جدول ۲). با توجه به این جدول، اکثر پولیپ‌های بدخیم یا آدنوما در نواحی مختلف کولون وجود داشتند و درصد کمی در ناحیه رکتوم واقع شده بودند.

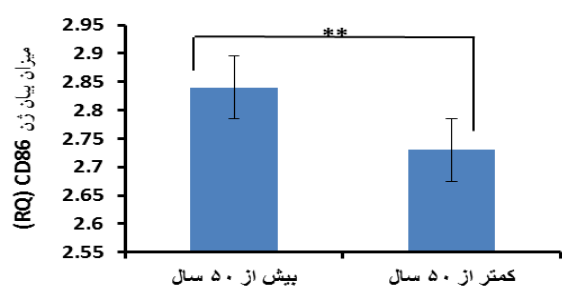
جدول ۲. اطلاعات مربوط به محل و مشخصات پاتولوژی پولیپ

فراوانی انواع پولیپ		
آدنوما	۳۴	۳/۶۹٪
هایپرپلاستیک	۱۵	۷/۳۰٪
فراوانی پولیپ‌ها در نواحی روده		
کولون افقی	۱۶	۶/۳۲٪
کولون پایین رونده	۱۰	۴/۲۰٪
رکتوم	۴	۳/۸٪
کولون بالا رونده	۹	۳/۱۸٪
سیگموئید	۸	۳/۱۶٪
سکوم	۲	۱/۴٪
جمع	۴۹	۱۰۰٪

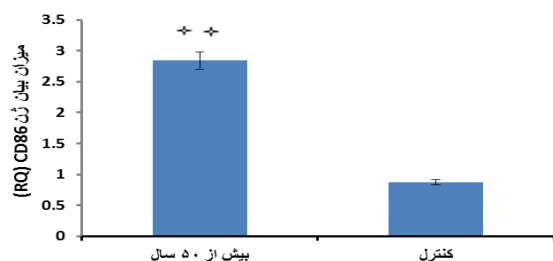
در جدول ۳ شاخص کیفی در افراد دارای پولیپ آدنوما و پولیپ هایپرپلاستیک مقایسه شده است. با توجه به جدول ۴، تنها شاخص سابقه خانوادگی بین این دو گروه به صورت معنی‌داری متفاوت بوده است (P Value=۰/۰۴).

بررسی میزان تغییرات بیان ژن. در این مطالعه به منظور بررسی تغییرات میزان بیان ژن CD86 در پولیپ‌های نواحی مختلف روده از روش Fold Change استفاده شده است. در شکل ۱ نتایج حاصل از میزان بیان ژن CD86 در تعدادی از نمونه‌ها نشان داده شده است که در این شکل گراف قرمز مربوط به بیان ژن CD86 و گراف سبز مرتبط با بیان ژن بتا-گلوبین می‌باشد. میزان تغییرات بیان ژن CD86 در پولیپ‌های

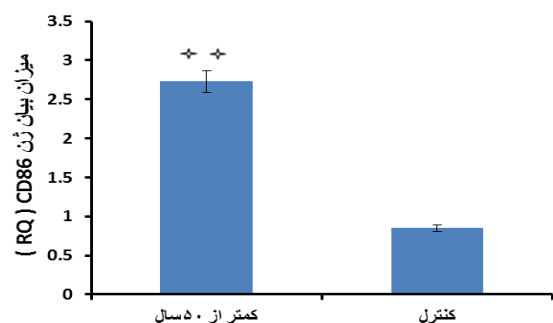
همچنین ارتباط میان شاخصه‌های دموگرافیک همچون سن و جنس با میزان بیان ژن CD86 در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفته است. در شکل ۶ ارتباط میان شاخص سن با تغییرات بیان ژن CD86 نشان داده شده است. با توجه به شکل ۷ و ۸، در هر دو گروه افراد بالای ۵۰ سال و زیر ۵۰ سال دارای پولیپ، افزایش بیان نسبت به افراد سالم گزارش شده است نمودار (تغییرات بیان ژن در هر دو گروه ≤ 2 برابر افراد سالم)، اما در مقایسه میان دو گروه با یکدیگر، میزان بیان این ژن در افراد بالای ۵۰ سال به طور معناداری بیش از افراد با سن کم تر از ۵۰ سال می‌باشد ($P=0.03$).



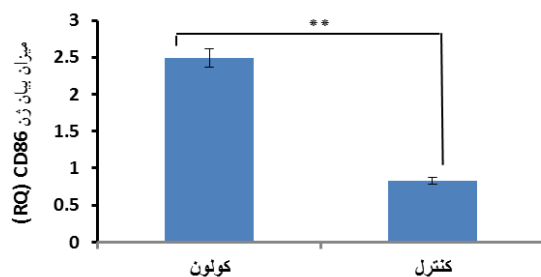
شکل ۶. بررسی میزان بیان ژن CD86 در مقایسه با شاخص سن



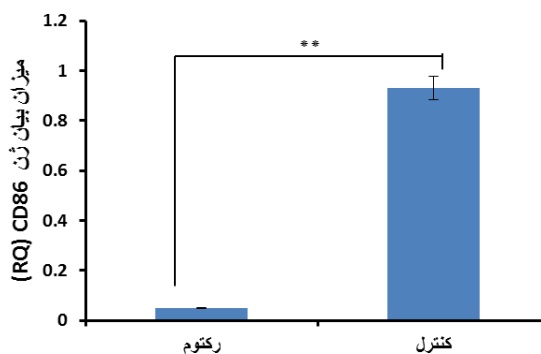
شکل ۷. بررسی میزان تغییرات بیان ژن CD86 در شاخص سن میان افراد بیمار و سالم. * $RQ > 2$: افزایش بیان ژن CD86 در افراد بیش از ۵۰ سال دارای پولیپ نسبت به افراد سالم



شکل ۸. بررسی میزان تغییرات بیان ژن CD86 در شاخص سن میان افراد بیمار و سالم. * $RQ > 2$: افزایش بیان ژن CD86 در افراد کمتر از ۵۰ سال دارای پولیپ نسبت به افراد سالم

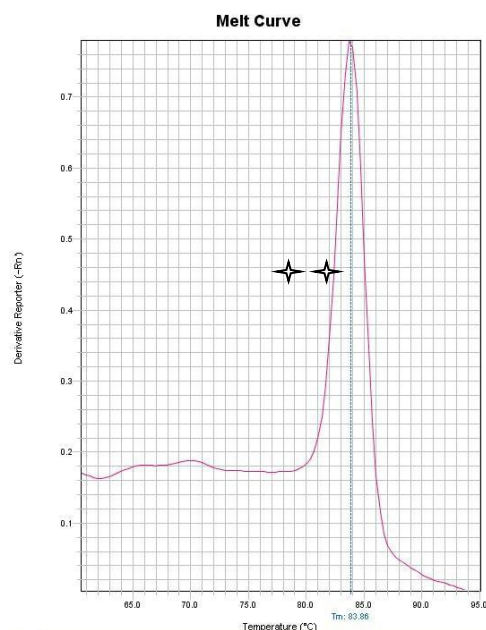


شکل ۳. بررسی میزان تغییرات بیان ژن CD86 در پولیپ های واقع در کولون نسبت به بافت نرمال. ** $P < 0.0001$

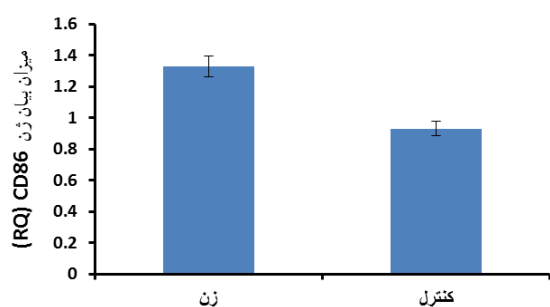


شکل ۴. بررسی میزان تغییرات بیان ژن CD86 در پولیپ های واقع در ناحیه رکتوم نسبت به بافت نرمال. ** $P < 0.0001$

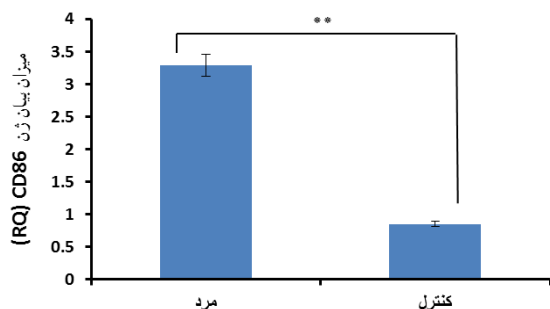
به منظور حصول اطمینان از عدم حضور پیک‌های غیر اختصاصی پرایمر CD86 از تکنیک Real-time PCR Absolute یا Mult Curve Analysis استفاده شد. شکل ۵ نمودار نقطه ذوب را نشان داده است.



شکل ۵. نمودار نقطه ذوب مربوط به پرایمر ژن CD86

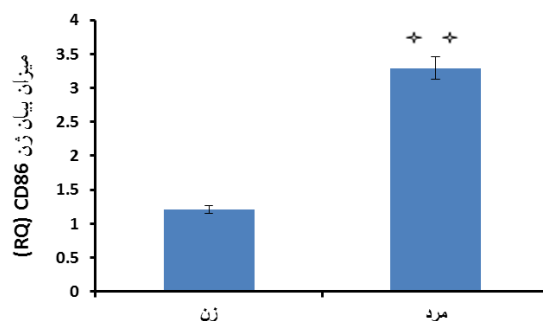


شکل ۱۰. بررسی میزان تغییرات بیان ژن CD86 در شاخص جنس میان افراد بیمار زن و سالم



شکل ۱۱. بررسی میزان تغییرات بیان ژن CD86 در شاخص جنس میان افراد بیمار مرد و سالم: ** P = ۰/۰۰۶

در واقع بیان این ژن با شاخص سن ارتباط معنادار دارد. در رابطه با شاخص جنس با توجه به شکل شماره ۹، ۱۰، ۱۱، افزایش بیان ژن CD86 به طور معناداری در گروه مردان دارای پولیپ نسبت به افراد سالم مشاهده شده است (P value=۰/۰۰۶) اما در گروه زنان تغییری در میزان بیان این ژن رخ نداده است (تغییرات بیان ژن در گروه مردان ≤ 2 برابر افراد سالم).



شکل ۹. بررسی میزان تغییرات بیان ژن CD86 در مقایسه با شاخص جنس. $RQ > 2$ * * : افزایش بیان ژن CD86 در گروه مردان نسبت به افراد سالم

جدول ۳: مقایسه شاخص های کیفی بین گروه های دارای پولیپ هایپرپلاستیک و آدنوما

P value	میان افراد دارای پولیپ با یکدیگر	شاخص های کیفی	
		فراوانی افراد دارای پولیپ هایپرپلاستیک (N%)	فراوانی افراد دارای پولیپ آدنوما (N%)
۰/۱۴		۴ (۲۶/۷٪)	۴ (۱۱/۸٪)
		۱۱ (۷۳/۳٪)	۳۰ (۸۸/۳٪)
۰/۵۰		۲ (۱۳/۳٪)	۳ (۸/۸٪)
		۱۳ (۸۶/۷٪)	۳۱ (۹۱/۲٪)
۰/۳۱		۳ (۲۰٪)	۴ (۱۱/۸٪)
		۱۲ (۸۰٪)	۳۰ (۸۸/۲٪)
۰/۱۵		۳ (۲۰٪)	۲ (۵/۹٪)
		۱۲ (۸۰٪)	۳۲ (۹۴/۱٪)
۰/۴۰		۲ (۱۳/۳٪)	۲ (۵/۹٪)
		۱۳ (۸۶/۷٪)	۳۲ (۹۴/۱٪)
۰/۰۹		۴ (۲۶/۷٪)	۳ (۸/۸٪)
		۱۱ (۷۳/۳٪)	۳۱ (۹۱/۲٪)
۰/۶۲		۱ (۶/۷٪)	۳ (۸/۸٪)
		۱۴ (۹۳/۳٪)	۳۱ (۹۱/۲٪)
۰/۰۴		۱ (۶/۷٪)	۱۰ (۲۹/۴٪)
		۱۴ (۹۳/۳٪)	۲۴ (۷۰/۶٪)
۰/۵۱		۱۳ (۸۶/۷٪)	۳۰ (۸۸/۲٪)
		۲ (۱۳/۳٪)	۲ (۵/۹٪)

P value	فراوانی افراد دارای پولیپ هایپرپلاستیک (N%)	فراوانی افراد دارای پولیپ آدنوما (N%)	شاخص های کیفی	
	۰ (۰٪)	۲ (۵/۹٪)	مبتلا به بیماری کرون	
۰/۴۹	۲ (۱۳/۳٪)	۴ (۱۱/۸٪)	دارد	یبوست
	۱۳ (۸۶/۷٪)	۳۰ (۸۸/۲٪)	ندارد	
۰/۵۸	۱ (۶/۷٪)	۸ (۲۳/۵٪)	کولون بالا رونده	محل پولیپ ها
	۳ (۲۰٪)	۷ (۲۰/۶٪)	کولون پایین رونده	
	۶ (۴۰٪)	۱۰ (۲۹/۴٪)	کولون افقی	
	۲ (۱۳/۳٪)	۲ (۵/۹٪)	رکتوم	
	۰ (۰٪)	۲ (۵/۹٪)	سکوم	
	۳ (۲۰٪)	۵ (۴/۷٪)	سیگموئید	
۴۹	۱۵	۳۴	جمع	

جدول ۴: مقایسه میزان بیان ژن CD86 میان پولیپ های نواحی مختلف روده نسبت به بافت نرمال

سطح معناداری میان گروه های مکانی با یکدیگر*	(SD) انحراف معیار \pm میانگین RQ در هر گروه	پولیپ ها در نواحی روده بزرگ
۰/۱۵	۴/۳۳ \pm ۳/۲۳ ۲/۲۸ \pm ۱/۴۰ ۲/۹۵ \pm ۱/۹۱ ۰/۰۵ \pm ۰/۰۴ ۱/۷۱ \pm ۱/۱۳	کولون بالا رونده سکوم کولون پایین رونده رکتوم سیگموئید
<۰/۰۰۰۱	۲/۴۹ \pm ۰/۷۴ ۱~	کولون کنترل
<۰/۰۰۰۱	۰/۰۵ \pm ۰/۰۲ ۱~	سکوم کنترل

*تست Kruskal-Wallis (One-way ANOVA) به منظور بررسی سطح معناداری میان گروه ها با یکدیگر

جدول ۵: مقایسه میزان بیان ژن CD86 با شاخصه های دموگرافیک

سطح معناداری میان شاخص ها با بیان ژن*	(SD) انحراف معیار \pm میانگین RQ در هر گروه	شاخص ها
۰/۰۳	۲/۸۴ \pm ۰/۹۶ ۲/۷۳ \pm ۱/۲۲	بیش از ۵۰ سال
		کمتر از ۵۰ سال
۰/۸۳	۲/۸۴ \pm ۰/۹۶ ۱~	بیش از ۵۰ سال
		کنترل
۰/۰۸	۲/۷۳ \pm ۱/۲۲ ۱~	کمتر از ۵۰ سال
		کنترل
۰/۹۷	۱/۲۱ \pm ۰/۴۶ ۳/۲۹ \pm ۱/۵۳	زن
		مرد
۰/۰۷	۱/۳۳ \pm ۰/۴۶ ۱~	زن
		کنترل
۰/۰۰۶	۳/۲۹ \pm ۰/۵۳ ۱~	مرد
		کنترل

*تست Mann Withney (t-test) به منظور بررسی سطح معناداری میان شاخص ها با بیان ژن

بحث و نتیجه‌گیری

بروز سرطان روده بزرگ در سه دهه اخیر در ایران افزایش قابل توجهی داشته است و ایجاد انواع پولیپ‌ها نقش بسزایی در بروز این سرطان بر عهده دارند. امروزه با استفاده از پنل‌های مختلف ژنتیکی، اپی‌ژنتیکی و مارکرهای ایمونولوژیکی اقداماتی در جهت بررسی بدخیمی پولیپ‌ها، تشخیص زودهنگام سرطان روده و برآورد میزان بقای بیماران صورت گرفته است [۲۵، ۲۶]. مولکول کمک تحریکی B7.2 با افزایش بیان بر روی سطح سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن همچون سلول‌های اپی‌تلیال روده، میزان لئوسیت‌های T را افزایش می‌دهد که این امر منجر به تحریک هر چه بیش‌تر سیستم ایمنی و مقابله با بافت سرطانی می‌شود. هم‌چنین فاکتورهای محیطی بسیاری نیز در شکل‌گیری انواع پولیپ‌ها و احتمالاً بروز سرطان کولورکتال مطرح می‌باشند که بررسی نقش این فاکتورها در شیوع پولیپ‌ها و بروز بدخیمی خالی از لطف نمی‌باشد.

ارتباط معنی‌دار بین متغیر سابقه خانوادگی و نوع پولیپ در روده نشان از اهمیت این فرآیندهای غربالگری دارد. بنابراین امروزه شاخص تمام پروتکل‌های درمانی به لزوم غربالگری بیماران با داشتن بستگان درجه اول و دوم مبتلا توصیه می‌کند. نتایج متناقضی میان مطالعات پیشین در مورد ارتباط شاخص‌های ذکر شد با میزان وجود پولیپ و بروز بدخیمی گزارش شده است. عشقی و همکارانش در سال ۲۰۱۱ مشابه با مطالعه حاضر گزارش کردند که بیش‌ترین میزان پولیپ‌های آدنوما در کولون عرضی و راست واقع شده‌اند اما ارتباط معناداری میان مکان وقوع با شیوع پولیپ‌های مهاجم در این بررسی مشاهده نشده است. هم‌چنین در این مطالعه میان شاخص‌های سن و جنس با شیوع انواع پولیپ نیز ارتباط معنادار مشاهده نشده است که این نتایج نیز با مطالعه ما سازگار می‌باشد [۲۷]. اما در مطالعه‌ی Zhang و همکارانش در سال ۲۰۱۲ انجام شده است سه متغیر سابقه خانوادگی مصرف سیگار و الکل مورد بررسی قرار گرفته‌اند که ارتباط معناداری میان شاخص سابقه خانوادگی با شیوع پولیپ

وجود ندارد اما میان مصرف سیگار و الکل و بروز بدخیمی رابطه معنادار وجود دارد [۲۸]. این نتایج متفاوت با نتایج به‌دست آمده در مطالعه می‌باشد. یکی از دلایلی که منجر به اختلاف نتایج مطالعه حاضر با این مطالعه می‌شود کم بودن جامعه مورد بررسی است.

با توجه به مطالعه پیشرو و مقایسه میزان تغییرات بیان ژن CD86 میان پولیپ‌های کولورکتال در مکان‌های مختلف روده، افزایش بیان در پولیپ‌های موجود در کولون بالارو، پایین رو و سکوم مشاهده گردید. حال آن‌که کاهش بیان این ژن در پولیپ‌های واقع در ناحیه رکتوم دیده شد. هم‌چنین با توجه به نتایج موجود در مطالعه حاضر بیش‌ترین تعداد پولیپ‌های بدخیم یا آدنوما در بخش کولون و کم‌ترین تعداد آن‌ها در ناحیه رکتوم واقع شده است (جدول ۳). همان‌گونه که در مطالعات گذشته چهره ژنتیکی پولیپ‌های ساکن کولون با پولیپ‌های ساکن رکتوم متفاوت گزارش شده بود و مطالعات زیادی تفاوت‌های بیولوژیکی گسترده‌ای را میان تومورهای کولون و رکتوم نشان داده‌اند در این مطالعه نیز این اختلاف در بررسی یک فاکتور ایمونولوژی دیده شده است [۲۹]. این امر نشان‌دهنده تغییر الگوی ابتدای سرطان از ناحیه رکتوم به کولون می‌باشد [۳۰]. در ایمونولوژی سرطان فرض بر آن است که با اتصال مولکول کمک تحریکی CD86 به رسپتور CD28، تکثیر لئوسیت‌های T افزایش یافته و سیستم ایمنی به منظور مقابله با سلول‌های بدخیم به طور فزاینده‌ای تحریک شود و این باعث مهار رشد پولیپ و عدم شکل‌گیری سرطان گردد. ولی در عمل بعد از تحریک سیستم ایمنی برای مقابله با بدخیمی بیان ژن CD86 افزایش می‌یابد اما توانایی سرکوب را ندارد. این امر بدین دلیل است که با افزایش میزان مولکول CD86، تمایل اتصال این مولکول به رسپتور مهارتی - CTLA 4 افزایش یافته و میزان تکثیر لئوسیت‌های T کاهش می‌یابد. بنابراین به دلیل حضور رسپتور مهارتی بر روی سطح لئوسیت‌های T و تمایل اتصال مولکول‌های کمک تحریکی خانواده B7 به این رسپتور، افزایش بیان ژن CD86 نیز باعث کاهش تکثیر لئوسیت‌ها می‌شود. امروزه استفاده از درمان‌های

اولتراسیو نسبت به بیماران مبتلا به آدنوما به طور معنی‌داری بالاتر بود و همبستگی معناداری بین mRNA و ژن CD86 و شدت التهاب بالینی و هیستولوژیکی در بیماران مبتلا به کولیت اولسراتیو وجود داشت. بنابراین در این مطالعه بیان ژن CD86 در فرآیند سرطان‌زایی کاهش یافته است که این نتیجه با نتایج حاصل از مطالعه حاضر مغایر می‌باشد [۲۳]. بر طبق مطالعه‌ی Rutkowski و همکارانش در سال ۲۰۰۳ که بر روی بیماران مبتلا به آسم نوناتویک صورت گرفت مشخص شد که افزایش بیان ژن CD86 منجر به حفظ و گسترش مکانیزم‌های التهابی و آلرژیک از طریق تحریک هر چه بیشتر سیستم ایمنی و افزایش تکثیر لنفوسیت‌های T می‌شود [۱۵].

هم‌چنین مطالعاتی نشان می‌دهند که پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) موجود در ژن CD86 می‌تواند میزان بیان این ژن را بر روی سطح سلول‌های اپی‌تلیال روده تغییر داده و این امر منجر به تغییرات ایمونولوژی وسیعی در پولیپ شکل گرفته در روده می‌گردد [۲۱]. در مطالعه بالینی که در سال ۲۰۱۳ توسط Azimzade و همکاران در بین جمعیت ایرانیان انجام گرفته است، نشان می‌دهد که بین پلی‌مورفیسم ۲۳۷ G/C + مولکول CD86 و خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ ارتباط معناداری وجود دارد. در این مطالعه مشخص شده است که تغییرات نوکلئوتیدی بر روی ژن CD86 منجر به تغییر در میزان بیان این ژن شده و این امر در طولانی‌مدت باعث بروز بدخیمی و سرطان کلورکتال می‌شود [۱۹]. مطالعه Geng و همکارانش که در سال ۲۰۱۴ توسط بررسی متا آنالیز انجام شده است، نشان می‌دهد که پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی rs1129055 و rs17281995 می‌توانند منجر به تغییر در میزان بیان ژن CD86 و نهایتاً افزایش ریسک بروز بدخیمی و ابتلا به سرطان کلورکتال در افراد شوند [۲۰].

در نتیجه می‌توان عنوان کرد که افزایش بیان ژن CD86 در ناحیه کولون و کاهش بیان این ژن در سطح RNA در پولیپ‌های ناحیه رکتوم این‌گونه استنباط می‌گردد که پولیپ‌زایی در نواحی مختلف روده بزرگ از الگوی ایمونولوژی یکسانی پیروی نمی‌کند و این امر نشان‌دهنده

آنتی CTLA-4 در درمان سرطان‌های گوارشی بسیار متداول شده است [۱۳، ۱۰]. در مطالعه‌ای که توسط Scarpa و همکارانش در سال ۲۰۰۴ انجام گرفته است، بیان CD86 به عنوان مولکول کمک‌تحریکی در مخاط روده‌ی بزرگ افرادی که مبتلا به کولیت اولسراتیو بودند، اندازه‌گیری شده و به منظور شناسایی زمینه‌های بیماری‌زایی در کولون افراد، میزان تغییرات بیان این ژن با پارامترهای بالینی و بیوشیمیایی مقایسه شده است. مزیت این مطالعه نسبت به مطالعه حاضر بررسی میزان بیان ایتروفون گاما به منظور بررسی پروفایل ایمنی می‌باشد و بیان هر دو ژن توسط تکنیک Real-time PCR انجام گرفته است. طبق نتایج عنوان شده در این بررسی ژن CD86 در افراد سالم بیان قابل توجهی نداشت در حالی که بیان مولکول CD86 و ایتروفون گاما در تمام بیماران مبتلا به کولیت اولسراتیو مشاهده گردید. در نتیجه عنوان شده که بررسی تغییرات بیان ژن CD86 می‌تواند فاکتوری برای تشخیص بیماری‌زایی در افراد مبتلا به کولیت اولسراتیو به شمار آید، زیرا افزایش بیان ژن CD86 منجر به پیش‌روی مسیر بیماری‌زایی در افراد مبتلا شده است. هم‌چنین میزان بیان این ژن به طور قابل توجهی در افراد بالای ۵۰ سال افزایش پیدا کرده بود که این امر با نتایج مطالعه حاضر سازگار بود. [۲۲]. در مطالعه‌ی دیگری که Scarpa و همکارانش در سال ۲۰۱۰ بر روی بیماران مبتلا به التهاب مزمن روده (کولیت اولتراسیو) با هدف آنالیز بیان ژن و پروتئین CD86 در طی مراحل مختلف سرطان‌زایی غیرالتهابی (غیر مرتبط با بیماری التهاب مزمن روده و مرتبط با ایجاد پولیپ) و سرطان‌زایی التهابی (مرتبط با کولیت اولسراتیو) انجام دادند، نتایج قابل توجهی عنوان شده است. در این مطالعه نیز میان شاخص سن و جنس و میزان بیان ژن CD86 ارتباط معناداری مشاهده شده بود. با توجه به نتایج این مطالعه و مطالعات گذشته می‌توان عنوان کرد که احتمالاً میزان شیوع پولیپ و بروز بدخیمی در مردان با سن بیش از ۵۰ سال افزایش می‌یابد. هم‌چنین بر طبق مطالعه پیشین این گروه، در این بررسی نیز گزارش شده است که بیان mRNA یا پروتئین CD86 در بیماران مبتلا به کولیت

colonic polyps with their histology. *Chang Gung Med J* 2003; 26: 339-343.

[3] Wexner SD, Cohen SM, Ulrich A, Reissman P. Laparoscopic colorectal surgery—are we being honest with our patients? *Dise Colon Rectum* 1995; 38: 723-727.

[4] Jia Y, Guo M. Epigenetic changes in colorectal cancer. *Chinese J Cancer* 2013; 32: 21-30.

[5] Hoseini S, Moaddabshoar L, Hemati S, Mohammadianpanah M. An overview of clinical and pathological characteristics and survival rate of colorectal cancer in Iran. *Ann Colorectal Res* 2014; 2: e17264.

[6] Nazemalhosseini Mojarad E, Kuppen PJ, Aghdaei HA, Zali MR. The CpG island methylator phenotype (CIMP) in colorectal cancer. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2013; 6: 120-128.

[7] Fang SH, Efron JE, Berho ME, Wexner SD. Dilemma of stage II colon cancer and decision making for adjuvant chemotherapy. *J Am Coll Surg* 2014; 219: 1056-1069.

[8] Koido S, Ohkusa T, Homma S, Namiki Y, Takakura K, Saito K, et al. Immunotherapy for colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 8531-8542.

[9] Ohtani H. Focus on TILs: prognostic significance of tumor infiltrating lymphocytes in human colorectal cancer. *Cancer Immunol* 2007; 7: 4.

[10] Hu JY, Wang S, Zhu JG, Zhou GH, Sun QB. Expression of B7 costimulation molecules by colorectal cancer cells reduces tumorigenicity and induces anti-tumor immunity. *World J Gastroenterol* 1999; 5: 147-151.

[11] Lenschow DJ, Walunas TL, Bluestone JA. CD28/B7 system of T cell costimulation. *Annu Rev Immunol* 1996; 14: 233-258.

[12] van der Merwe PA, Bodian DL, Daenke S, Linsley P, Davis SJ. CD80 (B7-1) binds both CD28 and CTLA-4 with a low affinity and very fast kinetics. *J Exp Med* 1997; 185: 393-404.

[13] Vasu C, Wang A, Gorla SR, Kaithamana S, Prabhakar BS, Holterman MJ. CD80 and CD86 C domains play an important role in receptor binding and costimulatory properties. *Int Immunol* 2003; 15: 167-175.

[14] Zheng Y, Manzotti CN, Liu M, Burke F, Mead KI, Sansom DM. CD86 and CD80 differentially modulate the suppressive function of human regulatory T cells. *J Immunol* 2004; 172: 2778-2784.

[15] Rutkowski R, Moniuszko T, Stasiak-Barmuta A, Kosztyla-Hojna B, Alifier M, Rutkowski K, Tatarczuk-Krawiel A. CD80 and CD86 expression on LPS-stimulated monocytes and the effect of CD80 and CD86 blockade on IL-4 and IFN-gamma production in nanotopic bronchial asthma. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2003; 51: 421-428.

[16] Folzenlogen D, Hofer M, Leung D, Freed J, Newell M. Analysis of CD80 and CD86 expression on peripheral blood B lymphocytes reveals increased expression of CD86 in lupus patients. *Clin Immunol Immunopathol* 1997; 83: 199-204.

[17] Fouda EM, El-Fattah S, El Halim A. Expression of CD80 and CD86 on T lymphocytes and monocytes of asthmatic children. *Egy J Pediatric Allergy Immunol* 2014; 1: 46-53.

[18] Saada JI, Pinchuk IV, Barrera CA, Adegboyega PA, Suarez G, Mifflin RC, et al. Subepithelial myofibroblasts are novel nonprofessional APCs in the human colonic mucosa. *J Immunol* 2006; 177: 5968-5979.

[19] Azimzadeh P, Romani S, Mirtalebi H, Fatemi SR, Kazemian S, Khanyaghma M, Mohebbi SR. Association of co-stimulatory human B-lymphocyte antigen B7-2 (CD86) gene polymorphism with colorectal cancer risk. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2013; 6: 86-91.

وجود تفاوت‌های ایمونولوژیکی میان پولیپ‌های واقع در بخش‌های مختلف کولون و رکتوم می‌باشد که البته این فرض در مورد ساختار ژنتیکی پولیپ‌های ناحیه کولون و رکتوم پیش از این نیز به اثبات رسیده بود. همان‌طور که عنوان شد در مطالعه Galon و همکاران تفاوت مسیرهای ژنتیکی در سرطان‌های کولون و رکتوم به وضوح مشخص شده بود [۲۹]. البته لزوم اثبات این فرضیه بررسی بیان پروتئین مذکور با یکی از روش‌های سنجش میزان پروتئین همچون ایمونوهیستوشیمی و وسترن بلات می‌باشد که لازم است که در مطالعات بعدی علاوه بر سنجش سطح RNA این ژن، میزان بیان پروتئین آن نیز ارزیابی شود. پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی به بررسی بیان ژن CD80 در پولیپ‌های روده پرداخته شود و پروفایل ایمونولوژی توسط محصولات سیتوکینی تولید شده از لنفوسیت‌های T به ویژه T-CD4 همچون اینترلوکین-۲ و اینترفرون گاما با تکنیک‌های ایمونومتریک مورد ارزیابی قرار گیرد. همچنین به منظور انجام بررسی‌های مستندتر بالا بردن حجم نمونه مانند استفاده از پولیپ‌های مبتلایان در غربالگری‌های کشوری نیز توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از کلیه افراد شرکت‌کننده در مطالعه، به خصوص مسئولین و پرسنل مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه شهید بهشتی که در انجام مطالعه ما را یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایند. این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و مرکز تحقیقات گوارش و کبد به شماره ۰۲۱۲۲۴۳۲۵۲۵ انجام پذیرفت.

منابع

[1] Deschoolmeester V, Baay M, Specenier P, Lardon F, Vermorken JB. A review of the most promising biomarkers in colorectal cancer: one step closer to targeted therapy. *Oncologist* 2010; 15: 699-731.

[2] Fong TV, Chuah SK, Chiou SS, Chiu KW, Hsu CC, Chiu YC, et al. Correlation of the morphology and size of

improve prognosis prediction of stage II and III colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2010; 29: 17-247.

[26] Goldstein NS, Bhanot P, Odish E, Hunter S. Hyperplastic-like colon polyps that preceded microsatellite-unstable adenocarcinomas. *Am J Clin Pathol* 2003; 119: 778-796.

[27] Eshghi MJ, Fatemi R, Hashemy A, Aldulaimi D, Khodadoostan M. A retrospective study of patients with colorectal polyps. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2010; 4: 17-22.

[28] Zhang B, Shrubsole MJ, Li G, Cai Q, Edwards T, Smalley WE, et al. Association of genetic variants for colorectal cancer differs by subtypes of polyps in the colorectum. *Carcinogenesis* 2012; 33: 2417-2423.

[29] Galon J, Mlecnik B, Bindea G, Angell HK, Berger A, Lagorce C, et al. Towards the introduction of the 'Immunoscore' in the classification of malignant tumours. *J Pathol* 2014; 232: 199-209.

[30] Kashfi SM, Mojarad EN, Pourhoseingholi MA, Aghdaei HA, Anaraki F, Zali MR. Evaluation of the left-to-right shift of colon tumors in Iran: Is the trend changing? *J Res Med Sci* 2015; 20: 978-986.

[20] Geng P, Zhao X, Xiang L, Liao Y, Wang N, Ou J, et al. Distinct role of CD86 polymorphisms (rs1129055, rs17281995) in risk of cancer: evidence from a meta-analysis. *Plos ONE* 2014; 9: 1.

[21] Pan XM, Gao LB, Liang WB, Liu Y, Zhu Y, Tang M, et al. CD86+ 1057 G/A polymorphism and the risk of colorectal cancer. *DNA Cell Biol* 2010; 29: 381-386.

[22] Scarpa M, Behboo R, Angriman I, Termini B, Barollo M, Ruffolo C, et al. The role of costimulatory molecules CD80 and CD86 and IFN γ in the pathogenesis of ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1738-1744.

[23] Scarpa M, Bortolami M, Cecchetto A, Faggian D, Kotsafti A, Ruffolo C, et al. Mucosal immune environment in colonic carcinogenesis: CD80 up-regulation in colonic dysplasia in ulcerative colitis. *Eur J Cancer* 2011; 47: 611-619.

[24] Hu N, Qian L, Hu Y, Shou JZ, Wang C, Giffen C, et al. Quantitative real-time RT-PCR validation of differential mRNA expression of SPARC, FADD, Fascin, COL7A1, CK4, TGM3, ECM1, PPL and EVPL in esophageal squamous cell carcinoma. *BMC Cancer* 2006; 6: 1.

[25] Salazar R, Roepman P, Capella G, Moreno V, Simon I, Dreezen C, et al. Gene expression signature to

Expression of CD86 Co-stimulatory gene in colon polyps

Noshad Peyravian (M.Sc)¹, Hamid Asadzadeh (M.D)^{*2}, Ehsan Nazemalhosseini Mojarad (Ph.D)³, Mehrdad Hashemi (Ph.D)⁴, Mohammadreza Razavi (M.Sc)⁵

1- Dept. of Molecular and Cellular Sciences, Faculty of Advanced Sciences and Technology, pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran (IAUPS)

2- Basic and Molecular Epidemiology of Gastrointestinal Disorders Research Centre, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3 - Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Dept. of Genetics, Tehran Medical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

5 - Nursing Care Research Center, Student Research Committee, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

(Received: 25 Oct 2015; Accepted: 30 Apr 2016)

Introduction: Since the majority of colorectal cancers originate from polyps in the area, therefore, the investigation of the immunological gene expression in colon polyps can be used as a factor for the detection of genetic and pathological differences in polyps. The aim of this study was investigating the expression of CD86 gene in colorectal polyps and its association with malignancy.

Materials and Methods: In a descriptive-analytical study during (2012 to 2014), forty-nine biopsy samples were collected during colonoscopy from the patients with colorectal polyps and ten healthy subjects for normalization. A questionnaire including clinical and demographic data was filled out for all cases. Mucosal mRNA expression of CD86 gene was investigated using Real-Time PCR and Fold Change of gene expression ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) method.

Results: A total of 49 patients including 27(55.2%) male and 22(44.8%) female with mean age of 53 ± 15.3 were evaluated in this study. Adenoma and hyperplastic polyps were reported in 69.3% and 30.7% patients respectively. More than 90% of adenomatous polyps were spread out to the colon while the others were located in the rectum. Based on Relative Quantitation method, over-expression of CD86 genes in colon polyps were observed (Polyp ≥ 2 -fold normal) and down-expression of CD86 in rectum polyps were noticed in comparison with normal samples (Polyp ≤ 0.5 -fold normal).

Conclusion: Comparing mRNA expression level of CD86 gene in colon polyps with the profile of mRNA expression of polyps in the rectum indicates the presence of distinct molecular and immunological mRNA expression between polyps of these two sites.

Keywords: Colorectal Neoplasm, Colonic Polyp, Gene Expression, Antigens CD86

* Corresponding author. Tel: +98 21 22432525

hamid.assadzadeh@gmail.com