

Research Paper

Changes in the Expression of *SGO1* and *SGO1-AS1* Genes in Colorectal Tumor Tissues, Compared to Healthy Tissues



Mojtaba Asad Samani¹, *Maryam Peymani¹

1. Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.



Citation: Samani AM, Peymani M. [Changes in the Expression of *SGO1* and *SGO1-AS1* Genes in Colorectal Tumor Tissues, Compared to Healthy Tissues (Persian)]. Journal of Arak University of Medical Sciences (JAMS). 2021; 24(2):168-179. <https://doi.org/10.32598/JAMS.24.2.5136.1>

doi <https://doi.org/10.32598/JAMS.24.2.5136.1>



Article Info:

Received: 15 Jul 2020

Accepted: 25 Aug 2020

Available Online: 01 Jun 2021

Key words:

SGO1 gene, *SGO1-AS1* gene, Colorectal cancer, ROC curve

ABSTRACT

Background and Aim The protein encoded by the *SGO1* gene is a member of the shugoshin family of proteins and protects the centromere during mitosis. lncRNAs are non-coding RNA with 200 nucleotides lengths, i.e., involved in regulating gene expression. The current study aimed to evaluate the expression of *SGO1* and *SGO1-AS1* in different stages of disease progression; we also compared their expression pattern in tumor tissues with healthy tissues in colorectal cancer patients.

Methods & Materials In total, 40 tissue samples of patients with colorectal cancer were reported according to the examination and criteria with the approval of a pathologist. Besides, 40 normal tissues were sampled from a completely healthy part of the intestine of the same patients. After RNA extraction and cDNA synthesis, the Real-time RT-PCR technique was used to evaluate the expression of the desired genes in the study groups. ROC curve analysis was also used to determine the ability of each selected gene to diagnose the disease.

Ethical Considerations This study was approved by the Ethics Committee of Shahrekord Azad University (Code: IR.IAU.SHKREC.1398.020).

Results The obtained data suggested that *SGO1* significantly decreased in the colorectal cancer tumor samples ($P < 0.001$) and *SGO1-AS1* lncRNA significantly increased expression, compared to adjacent healthy tissues. Additionally, in the age group of below 60 years, compared to the age group of over 60 years, *SGO1* expression increased and *SGO1-AS1* expression decreased. Based on the AUC obtained from the ROC diagram, it was found that the *SGO1* gene with $AUC = 0.8041$ and *SGO1-AS1* with $AUC = 0.6364$ could significantly distinguish a healthy population from patients with colorectal cancer.

Conclusion According to the collected results, *SGO1-AS1* and *SGO1* were significantly reduced and increased in tumor tissue, respectively; however, only the *SGO1* gene was introduced as a good marker for diagnosing colorectal cancer.

Extended Abstract

1. Introduction

C

olorectal cancer is among the leading causes of death and is the fourth most common cancer worldwide [1] that ranks third

among women [2-5]. The *SGO1* protein is a member of the shugoshin protein family. Besides, and decreased expression of the *SGO1* gene leads to the premature destruction of the centromere during mitosis [6-8]. Mutations in the *SGO1* gene lead to transcriptomic changes in metabolism, proliferation, and immune responses in the gut that contribute to cancer progression [9]. lncRNAs play an important

* Corresponding Author:

Maryam Peimani, Msc.

Address: Department of Biology, Science Faculty, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

Tel: +98 (913) 2007650

E-mail: m.peymani@iaushk.ac.ir

role in controlling cell growth by regulating the cell cycle and apoptosis [10]. Growth Arrest-Specific (GAS5) accumulates in stunted growth cells and sensitizes mammalian cells to apoptosis [11]. Regarding the role of *SGO1-AS1* and subsequent tumorigenesis and regulation of *SGO1* gene expression, in this study, for the first time, the expression of *SGO1-AS1* and *SGO1* genes in colorectal cancer tumor tissue was compared with healthy tissue.

2. Materials and Methods

The present case-control study was performed on 40 tumor tissues of 40 individuals with colorectal cancer and 40 adjacent healthy tissues. Trizol was used to extract total RNA and after qualitative and quantitative analysis, the cDNA of each sample was synthesized using the kit of Yekta Tajhiz Azma Company. Using the Real-Time-RT PCR technique and especially, designed reciprocating primers, a quantitative measurement of the expression level of the desired genes was performed. In this study, after obtaining the relative frequency of expression for *SGO1* and *SGO1-AS1* genes in colorectal cancer, different tests were implemented to compare the obtained data.

GraphPad Prism and Excel software were used to analyze the collected data; after confirming the normality of the sample size with the Shapiro test, a t-test was used to examine the difference in the expression of *SGO1* and *SGO1-AS1* genes in tumorous and healthy samples. One-Way Analysis of Variance (ANOVA) was used to compare

the expression of genes in different stages. Spearman test was also used to examine the correlation of expression of the desired genes. Finally, to evaluate the specificity and sensitivity of each gene, the ROC test was applied to plot the ROC Curve.

3. Results

As shown in Figure 1A, the expression level of *SGO1* was significantly reduced in tumor samples, compared to healthy tissue ($P < 0.001$). However, the expression level of *SGO1-AS1* in tumor tissue presented a significant increase, compared to the healthy tissue (Figure 1B) ($P = 0.0116$). The expression levels of *SGO1* and *SGO1-AS1* in different stages of the disease were analyzed in tumor tissues. The relevant results indicated that the expression level of these genes remained unchanged at different stages of the disease (Figures 1C & D).

The expression level of *SGO1* in the age group under 60 years illustrated less expression; however, the expression level of *SGO1-AS1* revealed a significant increase in this age group, compared to the age group over 60 years. Figures 2A and B demonstrate a graph of changes in the relative expression levels of genes at the Ct $\Delta -2$ level in both age groups in tumor tissues.

The results concerning the ROC curve diagram indicated that the marker *SGO1-AS1* with the area below the surface of the diagram ($AUC = 0.6364$ & $CI = 0.5069/7669$) acted as a poor marker in the diagnosis of colorectal can-

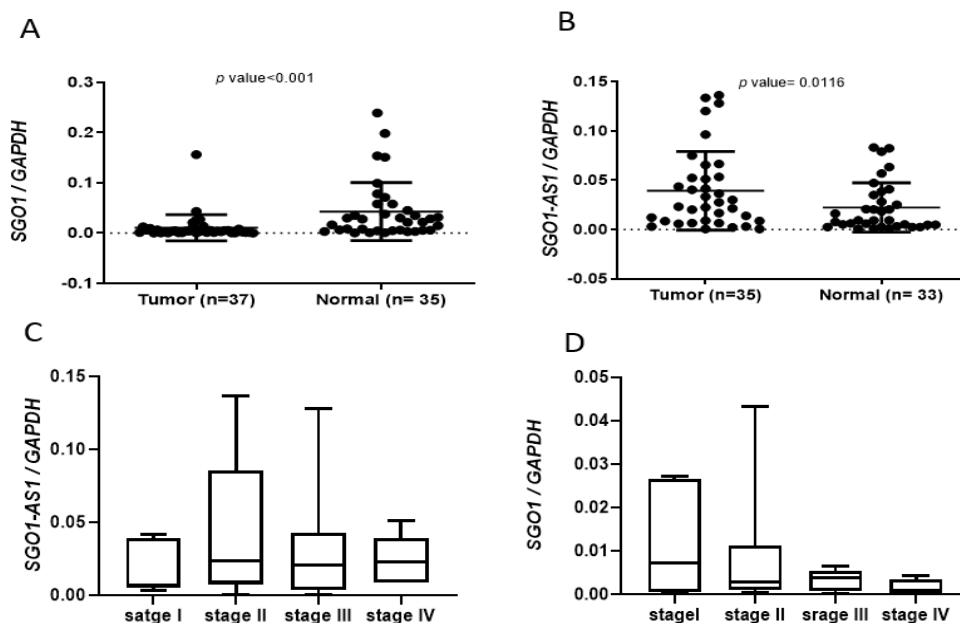


Figure 1. The changes in the relative expression levels of *SGO1-AS1* and *SGO1* in tumor and healthy tissues

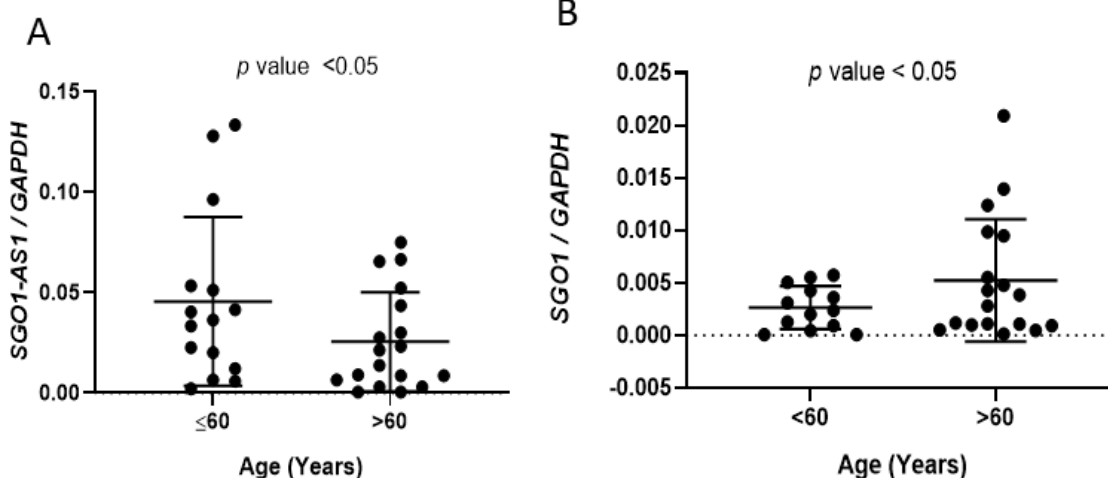


Figure 2. SGO1 expression levels in the age groups of under and over 60 years

cer (Figure 3A). However, *SGO1*, as a marker can significantly ($P < 0.0001$) separate the patient population from the healthy groups; with the area below the surface of the chart ($AUC = 0.8041$ & $CI = 0.7036/0.9045$), it can be a good marker to help improve the diagnosis of colorectal cancer (Figure 3B).

4. Discussion and Conclusion

The present study data indicated that in the tumor tissues of colorectal cancer, the expression of the *SGO1* gene decreases, and the expression of the *SGO1-AS1* gene increases, compared to healthy tissue. In other words, the *SGO1* gene acts as a tumor suppressor and the *SGO1-AS1* gene as an oncogene. In a 2006 study of the *SGO1* gene, Yang et al. Stated that human *SGO1* has become a good target for inducing apoptosis into transformed cells [15]. In 2015,

Wang et al. examined the *SGO1* gene in liver cancer. They stated that the *SGO1* gene is a potential therapeutic target for liver cancer [19]. In 2018, Ong et al. reported that an increase in lncRNA expression is detected in individuals with colorectal cancer [20].

In 2019, Mu et al. argued that *SGO1* expression levels were higher in PCA (prostate cancer) tissue and cell lines. There was a correlation between *SGO1* expression and pre-operative prostate-specific antigen ($P = 0.01$). Furthermore, gene expression was significantly associated with lymph node metastasis ($P = 0.044$) [21]. This study also revealed that *SGO1* decreased expression in colorectal cancer tumor samples. Measuring *SGO1-AS1* expression in tumor and healthy colorectal cancer samples also identified an increase in lncRNA expression; these two genes could be used as a marker for the diagnosis of colorectal cancer.

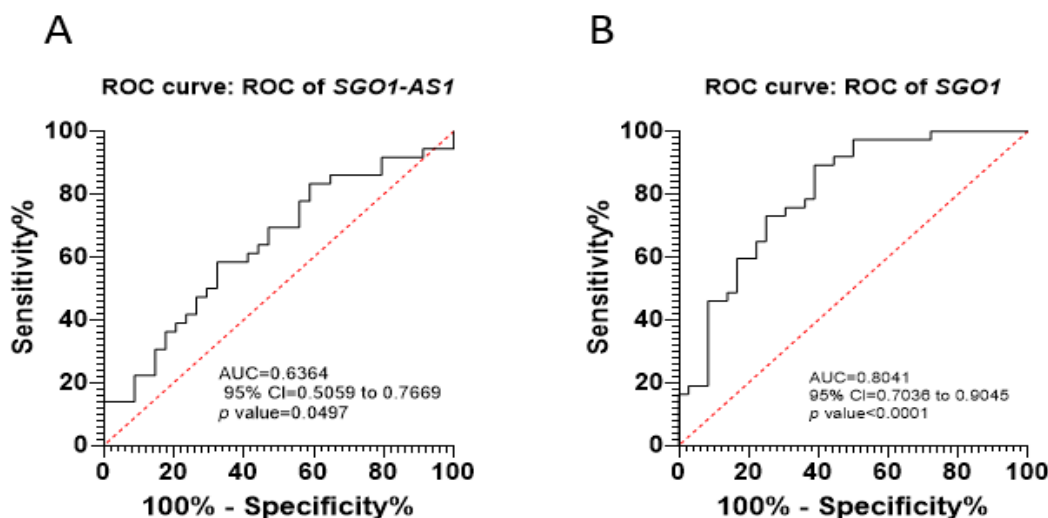


Figure 3. The specificity and sensitivity of *SGO1* and *SGO1-AS1* in colorectal cancer

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study was approved by the Ethics Committee of Shahrekord Azad University (Code: IR.IAU.SHKREC.1398.020).

Funding

This study was extracted from the MSc. thesis of the first author at the Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran. Also, this study was supported by the Vice Chancellor for Research of Islamic Azad University, Shahrekord.

Authors' contributions

Both authors met standard writing standards based on recommendations from the International Committee of Medical Journal Publishers.

Conflicts of interest

The authors declared no conflicts of interest.

This Page Intentionally Left Blank

مقاله پژوهشی

تغییرات در بیان ژن های *SGO1* و *SGO1-AS1* در بافت های توموری کلورکتال در مقایسه با بافت های سالم

مجتبی اسعد سامانی^۱، *مریم پیمانی^۱

۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: پروتئین کدگذاری شده با ژن *SGO1* عضو خانواده پروتئین shugoshin است و در هنگام میتوز از سانترومر محافظت می کند. *lncRNA SGO1* ها، RNAهای غیرکندهای با طول بیش از دوپست نوکلئوتیدی هستند که در تنظیم بیان ژن ها نقش دارند. هدف از این مطالعه بررسی بیان *SGO1* و *SGO1-AS1* در مراحل متفاوت پیشرفت بیماری و مقایسه الگوی بیانی آن ها در بافت های توموری در مقایسه با بافت های سالم در بیماران سرطان کلورکتال است.

مواد و روش ها: چهار نمونه بافت بیماران مبتلا به سرطان کلورکتال با تأییدیه پزشک متخصص پاتوبیولوژیست طبق معاینه و معیار گزارش شده و چهار بافت نرمال از بخش کاملاً سالم روده همان افراد بیمار نمونه گیری بافت به عمل آمد. پس از استخراج RNA و سنتز cDNA برای بررسی بیان ژن های موردنظر، از تکنیک Real time RT-PCR در گروه های مطالعه شده استفاده شد. همچنین آنالیز ROC curve در راستای تعیین توانایی هر کدام از ژن های انتخاب شده برای تشخیص بیماری استفاده شد.

ملاحظات اخلاقی: این پژوهش در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد شهرکرد با کد IR.IAU.SHKREC.1398.020 به تصویب رسیده است.

یافته ها: در این پژوهش نشان داده شد که *SGO1* در نمونه های توموری سرطان کلورکتال کاهش معنی دار ($P < 0.001$) و *lncRNA SGO1-AS1* افزایش معنی داری در مقایسه با بافت های سالم مجاور پیدا می کنند. همچنین در گروه سنی کمتر از ۶۰ سال در مقایسه با گروه سنی بیشتر از ۶۰ سال بیماران، بیان *SGO1* افزایش و بیان *SGO1-AS1* کاهش نشان داد. بر اساس AUC به دست آمده از نمودار ROC، مشخص شد که ژن *SGO1* با $AUC = 0.8041$ و *SGO1-AS1* با $AUC = 0.6364$ به طور معنی داری قابلیت تشخیص جمعیت سالم از بیمار را در سرطان کلورکتال دارند.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه می توان گفت که *SGO1* و *SGO1-AS1* به طور چشمگیری در بافت توموری به ترتیب کاهش و افزایش می یابند ولی تنها ژن *SGO1* به منزله یک مارکر خوب برای تشخیص سرطان کلورکتال معرفی می شود.

اطلاعات مقاله:

تاریخ دریافت: ۲۵ تیر ۱۳۹۹

تاریخ پذیرش: ۴ شهریور ۱۳۹۹

تاریخ انتشار: ۱۱ خرداد ۱۴۰۰

کلیدواژه ها:

ژن *SGO1*، *SGO1-AS1* سرطان کلورکتال، منحنی ROC

مقدمه

می شود [۲]. خطر ابتلا به این سرطان از ۴۰ سالگی شروع شده و با افزایش سن، شیوع آن نیز افزایش می یابد [۳]. در حدود ۹۸ درصد سرطان های کلورکتال به صورت آدنوکارسینوم هستند و اغلب در پولیپ های آدنوماتوزی ایجاد می شوند که با خارج سازی درمان پذیر هستند [۴]. از سوی دیگر، افزایش شیوع سرطان کلورکتال در میان جمعیت ایرانی ۴۰ تا ۶۰ سال پیش بینی شده و با وجود بررسی های محدود در این زمینه، داده ها حاکی از روند رو به گسترش سرطان کلون در جمعیت جوان کشور است که احتمالاً ناشی از تغییر عادات غذایی و گرایش ایرانیان و به خصوص نسل جوان به فست فودها و نیز استعمال دخانیات می باشد [۵].

سرطان کلورکتال یکی از اصلی ترین دلایل مرگومیر در سراسر دنیا محسوب می شود و از جمله شایع ترین بدخیمی های دستگاه گوارش است که عامل اصلی بروز آن به طور دقیق شناخته نشده است. این سرطان چهارمین سرطان شایع در دنیا است [۱] و از نظر مرگومیر پس از سرطان ریه و پستان رتبه سوم را در زنان به خود اختصاص داده. این بیماری در مردان پس از سرطان ریه و پروستات قرار می گیرد. با این وجود در مردان سرطان رکتوم و تا حدودی سرطان کلون نزولی و عرضی بیشتر از زنان مشاهده

* نویسنده مسئول:

مریم پیمانی

نشانی: شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی.

تلفن: ۲۰۰۷۶۵۰ (۹۱۳) ۹۸+

پست الکترونیکی: m.peyman@iaushk.ac.ir

آپوتوز مرگ برنامه‌ریزی شده سلول است که عامل‌های متعددی در راه‌اندازی و پیشبرد آبخارهای پیام‌رسانی آن، نقش تعیین‌کننده دارند. مشخص شده است که lncRNAها از طریق تنظیم چرخه سلولی و آپوتوز نقش مهمی در کنترل رشد سلول ایفا می‌کنند [۱۰]. lncRNAهای ویژه توقف رشد ۵ یا GAS5 (Growth arrest-specific) در سلول‌هایی با رشد متوقف شده تجمع می‌یابند و سلول‌های پستانداران را به واسطه سرکوب ژن‌های پاسخ‌دهنده به گلوکوکورتیکوئید (glucocorticoids) به آپوتوز حساس می‌سازد. GAS5 با گیرنده گلوکوکورتیکوئید برهم‌کنش می‌دهد و از فعالیت رونویسی این گیرنده جلوگیری می‌کند [۱۱]. نوینکات روی *SGO1-AS1* (*SGO1-antisense 1*) تحقیقات زیادی انجام نشده است و در مطالعات محدودی که انجام شده، نتایج نشان داده است که این lncRNA در افراد دارای سرطان سینه و سرطان ریه افزایش دارد [۱۲، ۱۳]. این lncRNA در جوار منطقه ژنی کدکننده *SGO1* قرار دارد [۱۴] و با توجه به مطالعاتی که در زمینه نقش *SGO1* در روند سرطان صورت گرفته است و نشان داده شده که این ژن هدف خوبی برای القای آپوتوز است [۱۵].

پروتئین ژن *SGO1* (ID:151648) عضو خانواده پروتئین shugoshin است و تصور می‌شود این پروتئین با جلوگیری از فسفوریلاسیون یک زیرواحد کوهسین در هنگام میتوز از سانترومر محافظت می‌کند و تا زمان جدا شدن کروماتیدهای خواهری در مراحل آنافاز میوز و میتوز آن‌ها را در کنار هم نگه می‌دارد. کاهش بیان ژن *SGO1* منجر به از بین رفتن زودرس در سانترومر و تفکیک نادرست کروماتیدهای خواهر در حین میتوز می‌شود [۸-۶]. تحقیقات نشان داده است که جهش ژن *SGO1* در موش‌های آزمایشگاهی باعث فعال شدن مسیری در سرطان می‌شود که از جمله این مسیرها می‌توان به متابولیسم لیپیدها، سیگنالینگ Notch، سیگنالینگ انسولین و مسیرهای PPAR (Peroxisome proliferator-activated receptors) اشاره کرد. از سوی دیگر، جهش ژن *SGO1* منجر به تغییرات transcriptomic در متابولیسم، تکثیر و پاسخ‌های ایمنی در روده می‌شود که در پیشرفت سرطان نقش دارد. بنابراین می‌توان گفت که رویکردهای درمانی با تمرکز بر مسیرهای شناسایی شده ممکن است برای پیشگیری و درمان سرطان روده ارزشمند باشد [۹].

جدول ۱. متغیرهای جمعیت‌شناختی و اطلاعات بالینی

مشخصات	گروه بیمار
جنسیت	مرد ۲۰ زن ۲۰
سن	سن مرد ۵۸-۸۷ سن زن ۲۹-۸۳
سن (سال)	میانگین سن \pm انحراف معیار ۴۲/۶۳ \pm ۱۴/۶ میانگین سن \pm انحراف معیار مرد ۴۴/۳۶ \pm ۱۲/۹۹ میانگین سن \pm انحراف معیار زن ۴۰/۳۲ \pm ۵/۲۲
متاستاز	تعداد نمونه‌های دارای متاستاز منفی ۳۱ تعداد نمونه‌های دارای متاستاز مثبت ۹
مرحله	I ۵ II ۱۷ III ۹ IV ۹
محل زندگی	شهرنشین ۲۵ روستا نشین ۱۵
سابقه خانوادگی	دارد ۱۰ ندارد ۳۰



جدول ۲. آغازگرهای استفاده شده، آغازگرهای *SGO1*، *SGO1-AS1* و *GAPDH* به همراه طول محصول و دمای آن‌ها در روش RT-qPCR

نام آغازگر	توالی آغازگر	طول محصول (bp)	دمای (°C)
<i>SGO1</i>	Reverse: ۵' - CTCCTGTCTGCTGGAAGTTCAGT -۳' Forward: ۵' - TCCTCTGGAATGGACCCCAA -۳'	۱۰۳	۶۰
<i>SGO1-AS1</i>	Reverse: ۵' - GGAGTCCCTAAATCTGTTTAATGTC -۳' Forward: ۵' - GCTCACTTTTTGTCTGGAAAGG -۳'	۱۷۹	۶۰
<i>GAPDH</i>	Reverse: ۵' - TGAAGTCGCAGGAGACAACC-۳' Forward: ۵' - TGCCGCTGGAGAAACC-۳'	۱۲۱	۶۰



دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد آنکوبه شد. سپس با استفاده از کیت شرکت یکتا تجهیز آزما و پرایمر ۶ نوکلئوتیدی تصادفی، طبق پروتکل کیت، cDNA هر نمونه سنتز شد. برای بررسی میزان بیان ژن‌های مورد نظر، پرایمرهای رفت و برگشت اختصاصی هر ژن با نرم‌افزار Beacon Designer ۸/۰ [۱۶] و Oligo7 [۱۷] طراحی شد و پس از BLAST در پایگاه اینترنتی NCBI، توسط شرکت پیشگام سنتز شد. در جدول شماره ۲ توالی آغازگرهای استفاده شده در روش RT-qPCR آورده شده است. پس از تأیید صحت سنتز cDNA، از تکنیک Real Time-RT PCR (دستگاه Corbett rotor gene ۶۰۰۰) برای سنجش کمی سطح بیان ژن‌های مورد نظر استفاده شد. برای انجام این تکنیک از SYBR Green (یکتاتجهیز آزما ساخت کشور ایران) استفاده شد. پس از محاسبه نسبت بیان ژن هدف در نمونه مورد نظر (بیمار) نسبت به نمونه کنترل (سالم) با فرمول محاسبه شد [۱۸].

روش‌های آماری

در این پژوهش پس از به دست آوردن میزان بیان نسبی برای هر کدام از ژن‌های *SGO1* و *SGO1-AS1* در سرطان کولورکتال و مقایسه نتایج با یکدیگر از آزمون‌های متفاوت استفاده شد. برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزارهای GraphPad Prism و Excel استفاده شد و پس از تأیید نرمال بودن حجم نمونه با آزمون Shapiro برای بررسی اختلاف بیان ژن *SGO1* و *SGO1-AS1* در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال و سالم از آزمون تی تست استفاده شد. برای مقایسه بیان ژن‌ها در سطوح مختلف از آزمون one way ANOVA استفاده شد. همچنین برای بررسی همبستگی بیان ژن‌های مورد نظر در این پژوهش از آزمون Spearman استفاده شد. برای بررسی اختصاص و حساسیت هریک از ژن‌های مورد نظر در این مطالعه نیز آزمون ROC برای ترسیم ROC Curve مورد استفاده قرار گرفت.

با توجه به نقش *SGO1-AS1* در گلوکوکورتیکوئید و به دنبال آن تومورزایی و تنظیم بیان ژن *SGO1*، در این مطالعه برای اولین بار میزان بیان ژن‌های *SGO1* و *SGO1-AS1* به طور هم‌زمان در بافت توموری سرطان کولورکتال در مقایسه با بافت سالم بررسی شد.

مواد و روش‌ها

نوع مطالعه و نمونه‌گیری

تحقیق حاضر در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد شهرکرد با کد IR.IAU.SHKREC.1398.020 به تصویب رسیده است. این تحقیق از نوع مورد شاهدهی بود که در آن از بافت توموری تازه جراحی شده ۴۰ فرد مبتلا به سرطان کولورکتال (از بیمارستان شهرکرد و نمونه تازه جراحی شده) و بافت سالم کلون هر شخص، نمونه‌گیری انجام شد. لازم به ذکر است که همه نمونه‌های بافتی توسط پاتولوژیست، بررسی و طبق معیارهای گزارش شده، تأیید شد. این نمونه‌های بافت بلافاصله پس از جراحی درون محلول RNA Lateral (پهنوزن ساخت کشور ایران) قرار داده شد و به مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد منتقل شدند و بلافاصله نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه و سپس در دمای ۲۰- درجه فریز شدند. در جدول شماره ۱ متغیرهای جمعیت‌شناختی و اطلاعات بالینی بیماران آورده شده است.

استخراج RNA، سنتز cDNA و Real time RT-PCR

برای استخراج RNA تام از ترایزول (Invitrogen) ساخت کشور آمریکا) مطابق پروتکل استفاده شد و سپس RNA استخراج شده از لحاظ کیفی و کمی بررسی شد. برای حذف آلودگی احتمالی RNA استخراج شده به DNA ژنومی، هر نمونه RNA استخراج شده با آنزیم DNaseI (سینازن ساخت کشور ایران) به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تیمار شد و برای خنثی‌سازی آنزیم DNaseI هر نمونه با ۱ میکرولیتر اتیلن دی آمین تترا استیک اسید EDTA (مرک ساخت کشور آلمان) تیمار و به مدت ۱۰

یافته‌ها

کاهش بیان SGO1 و افزایش بیان SGO1-AS1 در بافت‌های توموری کولورکتال در مقایسه با بافت‌های نرمال مجاور

همان‌طور که در تصویر شماره ۱ الف مشاهده می‌شود، سطح بیان SGO1 به‌طور معنی‌داری در نمونه‌های توموری در مقایسه با بافت سالم چهار برابر کاهش نشان داد ($P < 0.001$)؛ در حالی که سطح بیان SGO1-AS1 در بافت توموری در مقایسه با بافت نرمال به میزان ۱/۷ برابر افزایش معنی‌داری نشان داد (تصویر شماره ۱ ب) ($P = 0.0116$). سپس برای بررسی همبستگی بیان ژن SGO1 و SGO1-AS1 توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو ویلک^۲ بررسی شد و با مشاهده ($P < 0.05$) مشخص شد که توزیع داده‌ها نرمال نیست، بنابراین از آزمون همبستگی این دو ژن ارزیابی گردید. نتایج نشان داد که این دو ژن در بافت توموری، همبستگی منفی دارند (-0.3588)، اما این همبستگی بیانی معنی‌دار نیست ($P > 0.05$). در ادامه، سطح بیان SGO1 و SGO1-AS1 در سطوح متفاوت بیماری در بافت‌های توموری آنالیز شد. نتایج نشان داد که سطح بیان این ژن‌ها در سطح‌های گوناگون بیماری تغییر معنی‌داری ندارد (تصویر شماره ۱ ج و د).

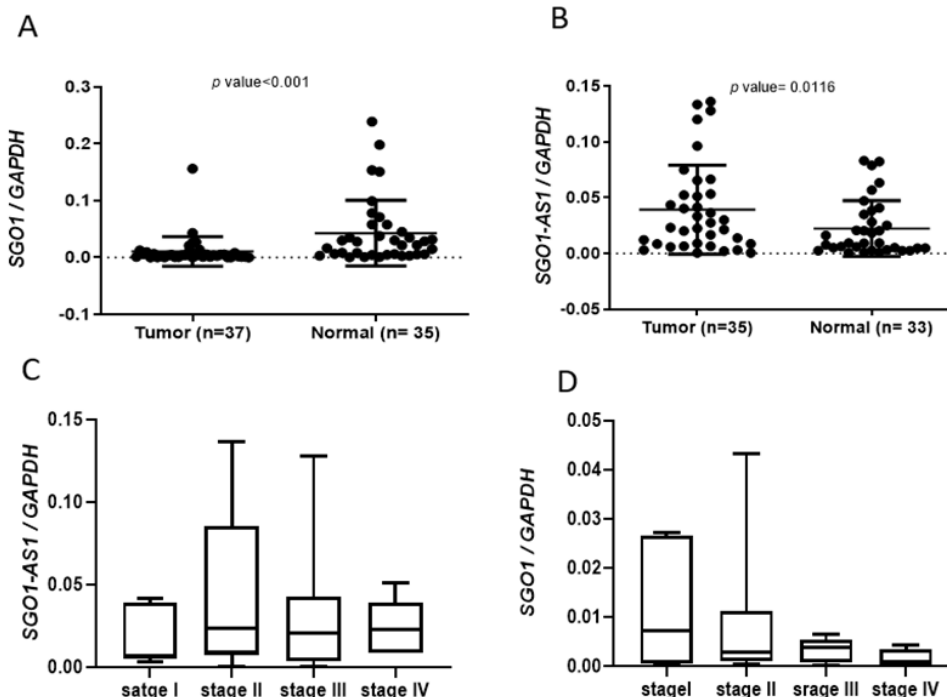
2. Shapiro Wilk

افزایش سطح رونوشت SGO1 و کاهش SGO1-AS1 در گروه زیر ۶۰ سال در مقایسه با گروه بالای ۶۰ سال

در این مطالعه، سطح بیان SGO1 و SGO1-AS1 در دو گروه بیشتر از ۶۰ سال و کمتر از ۶۰ سال در بافت‌های توموری نشان داد که سطح بیان این ژن‌ها در دو گروه بررسی شده تغییر معنی‌داری دارد. سطح بیان SGO1 در گروه کمتر از ۶۰ سال بیان کمتری نشان می‌دهد، در حالی که سطح بیان SGO1-AS1 در این گروه سنی در مقایسه با گروه بیشتر از ۶۰ سال افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد. در تصویر شماره ۲ الف و ب، تصویر شماره ۱ تغییر سطح بیان نسبی ژن‌ها در سطح Ct Δ-2 در دو گروه سنی در بافت‌های توموری نشان داده شده است.

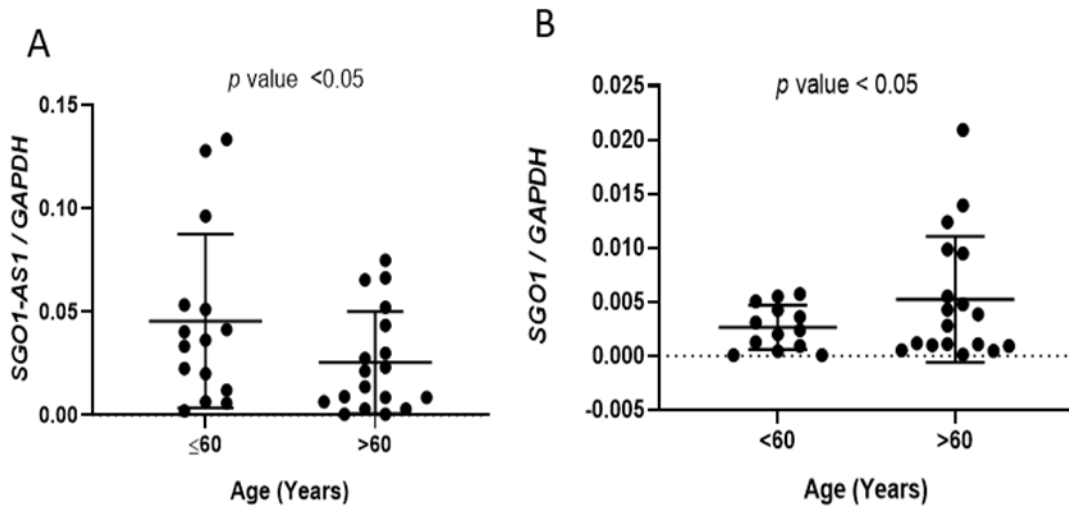
اختصاص و حساسیت مطلوب SGO1 در تشخیص سرطان کولورکتال

نتایج بر اساس نمودار ROC curve نشان داد که مارکر SGO1-AS1 با مساحت زیر سطح نمودار $AUC = 0.6364$ و $CI = 0.5059 - 0.7669$ مارکر ضعیفی در زمینه تشخیص سرطان کولورکتال خواهد بود (تصویر شماره ۳ الف). در حالی که SGO1 به‌منزله یک مارکر به‌طور معنی‌داری ($P > 0.001$) می‌تواند جمعیت بیمار را از جمعیت سالم

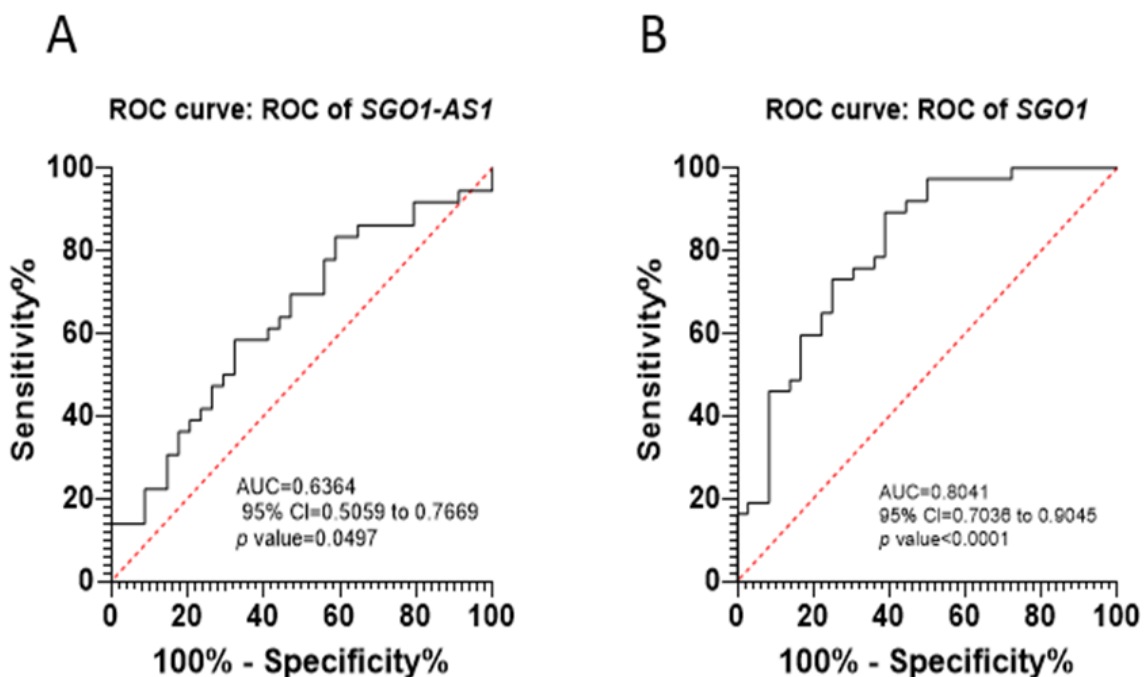


تصویر ۱. بیان SGO1 و افزایش بیان SGO1-AS1 در بافت‌های توموری کولورکتال در مقایسه با بافت‌های نرمال مجاور

الف: نمودار تغییر سطح بیان نسبی SGO1 در بافت‌های توموری و سالم؛ ب: نمودار تغییر سطح بیان نسبی SGO1-AS1 در بافت‌های توموری و سالم؛ ج: مقایسه بیان SGO1-AS1 در سطوح مختلف بیماری در بافت‌های توموری؛ د: مقایسه بیان SGO1 در سطوح مختلف بیماری در بافت‌های توموری. میزان معنی‌داری تغییرات بیان ژن‌ها بین بافت‌های توموری و غیرتوموری با آزمون t-test و همچنین بین سطح‌های مختلف با آزمون One way ANOVA انجام شد. سطح معنی‌داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.



تصویر ۲. نمودار تغییرات سطح بیان *SGO1* و *SGO1-AS1* در گروه کمتر از ۶۰ سال و بیشتر از ۶۰ سال در بافت‌های توموری میزان معنی‌داری تغییرات بیان ژن‌ها بین دو گروه سنی، با آزمون t-test انجام شد. سطح معنی‌داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.



تصویر ۳. اختصاص و حساسیت *SGO1* و *SGO1-AS1* در سرطان روده

SGO1 به‌منزله یک مارکر به طور معنی‌داری ($P < 0.0001$) می‌تواند جمعیت بیمار را از جمعیت سالم جدا کند و با مساحت زیر سطح نمودار $AUC = 0.8041$ و $CI = 0.7038 - 0.9045$ می‌تواند به عنوان یک مارکر خوب به بهبود تشخیص بیماری سرطان کولورکتال کمک کند. در حالی که مارکر *SGO1-AS1* با مساحت زیر سطح نمودار $AUC = 0.6364$ و $CI = 0.5059 - 0.7669$ به‌عنوان مارکر ضعیفی در زمینه تشخیص سرطان کولورکتال عمل خواهد کرد.

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر بیان ژن *SGO1-AS1* در بافت‌های توموری نسبت به بافت سالم به طور معنی‌داری افزایش یافته و بیان ژن *SGO1* در بافت‌های سالم نسبت به بافت توموری کاهش معنی‌داری نشان داد و به نظر می‌رسد در سرطان کولورکتال افزایش بیان ژن *SGO1-AS1* با کاهش بیان ژن *SGO1* همراه شده و احتمالاً می‌توان به‌منزله بیومارکر در سرطان کولورکتال از آن استفاده کرد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این پژوهش در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد شهرکرد با کد R.IAU.SHKREC.1398.020 به تصویب رسیده است.

حامی مالی

این مقاله برگرفته پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول در گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد است. همچنین این پژوهش با حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انجام شده است.

مشارکت‌نویسندگان

هر دو نویسندگان معیارهای استاندارد نویسندگی بر اساس پیشنهادات کمیته بین‌المللی ناشران مجلات پزشکی را دارا بودند.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله هیچ‌گونه تعارض منافع وجود ندارد.

جدا کند و با مساحت زیر سطح نمودار $AUC=0/8041$ و $0/9045$ - $0/7036$ $CI=$ می‌تواند به‌منزله یک مارکر خوب به بهبود تشخیص بیماری سرطان کولورکتال کمک کند (تصویر شماره ۳ ب).

بحث

تا به امروز نرخ زیادی از مرگ‌ومیر در سرطان کولورکتال گزارش شده است ولی هنوز فاکتورهای کلیدی در جنبه‌های گوناگون این بیماری ناشناخته مانده است. این مطالعه نشان داد که در بافت‌های توموری مبتلایان به سرطان کولورکتال در مقایسه با بافت سالم، بیان ژن *SGO1* کاهش و بیان ژن *SGO1-AS1* افزایش می‌یابد. به عبارتی ژن *SGO1* سرکوبگر تومور و *SGO1-AS1* آنکوژن است. در این راستا به توضیح برخی از این تحقیقات می‌پردازیم. یانگ و همکاران در سال ۲۰۰۶ در مطالعه‌ای در مورد ژن *SGO1* اظهار کردند که *SGO1* انسانی هدف خوبی برای القای آپوپتوز به سلول‌های ترانسفورم شده است [۱۵]. وانگ و همکاران در سال ۲۰۱۵ به بررسی ژن *SGO1* در سرطان کبد پرداختند. آن‌ها اظهار کردند که ژن *SGO1* یک هدف درمانی بالقوه برای سرطان کبد است [۱۹]. اونگ و همکاران در سال ۲۰۱۸ به بررسی تغییرات بیان lncRNAها در بیماری سرطان کولورکتال و تأثیر آن‌ها در مراحل گوناگون این بیماری پرداختند. آن‌ها اظهار کردند که افزایش بیان lncRNA در افراد مبتلا به سرطان کولورکتال مشاهده می‌شود [۲۰]. مو و همکاران در سال ۲۰۱۹ به بررسی بیان *SGO1* در سرطان پروستات پرداختند. نتایج حکایت کرد که سطح بیان *SGO1* در بافت (prostate cancer) PCA و رده‌های سلولی بیشتر بود. همبستگی بین بیان *SGO1* و آنتی‌ژن اختصاصی پروستات قبل از عمل وجود داشت ($P=0/01$). از سوی دیگر بیان ژن ارتباط معناداری با متاستاز غدد لنفاوی داشت ($P=0/044$). آن‌ها اظهار کردند که *SGO1* حذفی می‌تواند منجر به مهار تکثیر سلولی در سرطان پروستات، مهاجرت و تهاجم شود. روی هم رفته یافته‌های مطالعه مو و همکاران نشان می‌دهد که *SGO1* می‌تواند یک هدف درمانی جدید برای درمان سرطان پروستات به شمار آید [۲۱]. در این پژوهش نیز نشان داده شد که *SGO1* در نمونه‌های توموری سرطان کولورکتال کاهش بیان دارد. همچنین اندازه‌گیری میزان بیان *SGO1-AS1* در نمونه‌های توموری و سالم سرطان کولورکتال نشان داد این lncRNA افزایش بیان دارد و این دو ژن احتمالاً می‌توانند یک مارکر برای تشخیص سرطان کولورکتال شناخته شوند.

از پیشنهادات این پژوهش می‌توان به تعداد نمونه‌های بیشتر، بررسی عملکرد ژن‌های *SGO1* و *SGO1-AS1* در پیشرفت سرطان کولورکتال، بررسی بیان ژن‌های *SGO1* و *SGO1-AS1* روی نمونه‌های مقاوم به شیمی‌درمانی، بیان ژن‌های *SGO1* و *SGO1-AS1* در سرطان‌های مهم دیگر و بیان ژن‌های موجود در مسیر سیگنالینگ ژن‌های *SGO1-AS1* و *SGO1* اشاره کرد، و از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به کم بودن نمونه‌های جمع‌آوری شده اشاره نمود.

References

- [1] Geboes K, Ectors N, Geboes KP. Pathology of early lower GI cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2005; 19(6):963-78. [DOI:10.1016/j.bpg.2005.04.005][PMID]
- [2] Ansari R, Mahdavinia M, Sadjadi A, Nouraie M, Kamangar F, Bish-ehsari F, et al. Incidence and age distribution of colorectal cancer in Iran: results of a population-based cancer registry. *Cancer Lett*. 2006; 240(1):143-7. [DOI:10.1016/j.canlet.2005.09.004][PMID]
- [3] Burt RW, Barthel JS, Dunn KB, David DS, Drelichman E, Ford JM, et al. Colorectal cancer screening. *J Natl Compr Canc Ne*. 2010; 8(1):8-61. [DOI:10.6004/jnccn.2010.0003]
- [4] Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins basic pathology e-book. Amsterdam: Elsevier Health Sciences; 2017. <https://books.google.com/books?id=YYZMDgAAQBAJ&dq>
- [5] Pahlavan PS, Kanthan R. The epidemiology and clinical findings of colorectal cancer in Iran. *J Gastrointestin Liver Dis*. 2006; 15(1):15-9. [PMID]
- [6] Mahapatra K, Roy S. An insight into the folding and stability of Arabidopsis thaliana *SGO1* transcription factor under salinity stress in vitro. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019; 515(4):531-7. [DOI:10.1016/j.bbrc.2019.05.183] [PMID]
- [7] Piché J, Gosset N, Legault LM, Pacis A, Oneglia A, Caron M, et al. Molecular signature of CAID syndrome: Noncanonical roles of *SGO1* in regulation of TGF- β signaling and epigenomics. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2019; 7(2):411-31. [DOI:10.1016/j.jcmgh.2018.10.011] [PMID]
- [8] Mishra PK, Thapa KS, Chen P, Wang S, Hazbun TR, Basrai MA. Budding yeast CENP-ACse4 interacts with the N-terminus of *SGO1* and regulates its association with centromeric chromatin. *Cell Cycle*. 2018; 17(1):11-23. [DOI:10.1080/15384101.2017.1380129] [PMID]
- [9] Rao CV, Sanghera S, Zhang Y, Biddick L, Reddy A, Lightfoot S, et al. Systemic chromosome instability resulted in colonic transcriptomic changes in metabolic, proliferation, and stem cell regulators in *SGO1*-/- Mice. *Cancer Res*. 2016; 76(3):630-42. [DOI:10.1158/0008-5472.CAN-15-0940]
- [10] Ulitsky I, Bartel DP. lincRNAs: Genomics, evolution, and mechanisms. *Cell*. 2013; 154(1):26-46. [DOI:10.1016/j.cell.2013.06.020] [PMID]
- [11] Kugel JF, Goodrich JA. Non-coding RNAs: Key regulators of mammalian transcription. *Trends Biochem Sci*. 2012; 37(4):144-51. [DOI:10.1016/j.tibs.2011.12.003] [PMID] [PMCID]
- [12] Yao Y, Dai W. Shugoshins function as a guardian for chromosomal stability in nuclear division. *Cell Cycle*. 11(14):2631-42. [DOI:10.4161/cc.20633] [PMID] [PMCID]
- [13] Gooding AJ, Zhang B, Jahanbani FK, Gilmore HL, Chang JC, Valadkhan S, et al. The lincRNA BORG drives breast cancer metastasis and disease recurrence. *Sci Rep*. 2017; 7(1):1-18. [DOI:10.1038/s41598-017-12716-6]
- [14] Nasim N, Ghafouri-Fard S, Soleimani S, Esfandi F, Shirkhoda M, Safaei M, et al. Assessment of *SGO1* and *SGO1-AS1* contribution in breast cancer. *Hum Antibodies*. 2019; 27(4):279-84. [DOI:10.3233/HAB-190384] [PMID]
- [15] Yang Y, Wang X, Dai W. Human *SGO1* is an excellent target for induction of apoptosis of transformed cells. *Cell Cycle*. 2006; 5(8):896-901. [DOI:10.4161/cc.5.8.2691] [PMID]
- [16] Thornton B, Basu C. Rapid and simple method of qPCR primer design. In: Basu C, editor. *PCR Primer Design*. Berlin: Springer; 2015. p. 173-9. [DOI:10.1007/978-1-4939-2365-6_13]
- [17] Rychlik W. OLIGO 7 primer analysis software. In: Yuryev A, editor. *PCR Primer Design*. Berlin: Springer; 2007. p. 35-59. [DOI:10.1007/978-1-59745-528-2_2]
- [18] Chen C, Tan R, Wong L, Fekete R, Halsey J. Quantitation of microRNAs by real-time RT-qPCR. In: Park DJ, *PCR Protocols*. Berlin: Springer; 2011. pp. 113-34. [DOI:10.1007/978-1-60761-944-4_8]
- [19] Wang LH, Yen CJ, Li TN, Elowe S, Wang WC, Wang LHC. *SGO1* is a potential therapeutic target for hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*. 2015; 6(4):2023-33. [DOI:10.18632/oncotarget.2764] [PMID] [PMCID]
- [20] Ong MS, Cai W, Tan TZ, Huang RY-J, Hooi SC, Yap CT, et al. Long non-coding RNA landscape in colorectal cancer. *RNA Dis*. 2019; 6(2019):1-9. [DOI:10.14800/rd.1628]
- [21] Mu J, Fan L, Liu D, Zhu D. Overexpression of shugoshin1 predicts a poor prognosis for prostate cancer and promotes metastasis by affecting epithelial-mesenchymal transition. *Onco Targets Ther*. 2019; 12:1111-8. [DOI:10.2147/OTT.S191157] [PMID] [PMCID]