مجله دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، آذر ۱۳۹۵، دوره ۷۴، شماره ۹، صفحه‌های ۶۲۱ تا ۶۲۵

مقاله اصیل

سنجش سطح سرمی لیگاند القاکننده تکثیر (APRIL) به‌عنوان تومورمارکر جهت تشخیص سرطان پانکراس

امین حسن‌زاده نعمتی*

سید کاظم بیدکی

گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور تهران شرق، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: لیگاند القاکننده تکثیر یکی از اعضای خانواده فاکتورهای نکروزه‌کننده تومور بوده که باعث رشد و بقای سلول‌های توموری می‌شود. مطالعات گذشته ارتباط بین بیان لیگاند القاکننده تکثیر با بعضی بیماری‌های خودایمنی، سرطان‌های سینه، معده، مری و کولون را نشان می‌دهد. پژوهش کنونی با هدف اثبات خاصیت تومورماکری لیگاند القاکننده تکثیر در سرطان پانکراس از طریق سنجش سطح سرمی آن می‌باشد.

روش بررسی: در این پژوهش کاربردی و آینده‌نگر از بین مراجعین به بخش گوارش بیمارستان دکتر شریعتی تهران بین آبان ۱۳۹۰ تا آبان ۱۳۹۲ پس از انجام مطالعات بالینی، ۳۰ بیمار مبتلا به آدنوکارسینومای پانکراس و ۳۰ فرد سالم به‌عنوان گروه کنترل انتخاب شدند و سطح سرمی لیگاند القاکننده تکثیر در آن‌ها به‌روش الایزا سنجیده شد و میزان آن در این دو گروه مقایسه شد.

یافته‌ها: براساس نتایج حاصل از سنجش سطح سرمی لیگاند القاکننده تکثیر مشخص شد میزان لیگاند القاکننده تکثیر در بیماران مبتلا به آدنوکارسینومای پانکراس به‌طور میانگین ۷ ng/ml بوده درحالی‌که سطح آن در گروه کنترل حدود ۵ ng/ml می‌باشد. بنابراین مشخص شد سطح سرمی لیگاند القاکننده تکثیر در دو گروه (P=۰/۰۰۳) اختلاف چشمگیری دارند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش تصور می‌شود لیگاند القاکننده تکثیر پتانسیل چشمگیری به‌عنوان تومورمارکر برای تشخیص سرطان پانکراس داشته باشد.

کلمات کلیدی: لیگاند القاکننده تکثیر، سرطان پانکراس، تومور مارکر.

دریافت: ۱۳۹۵/۰۴/۲۹ ویرایش: ۱۳۹۵/۰۹/۲۰ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۹/۲۹ آنلاین: ۱۳۹۵/۰۹/۳۰

*نویسنده مسئول: تهران، حکیمیه، خیابان ۱۵ متری شیرازی، پلاک ۳، دانشگاه پیام نور تهران شرق، کدپستی: ۱۶۵۹۶۳۹۸۸۴ تلفن: ۷۷۳۱۸۵۸۱-۰۲۱

E-mail: amin.hassanzadeh5@gmail.com

مقدمه

لیگاند القاکننده تکثیر (TALL2, TNFSF13, TRDL-1) یک پروتیین ترشحی از خانواده فاکتورهای نکروزه‌کننده تومورها است که به‌دلیل قابلیت تحریک تکثیر سلول‌های تومور در شرایط آزمایشگاهی بدین نام خوانده شد. جایگاه ژن‌های کدکننده لیگاند القاکننده تکثیر انسانی در منطقه P13 کروموزوم ۱۷ بوده و شامل شش اگزون است که حاصل ویرایش سه mRNA به‌طول ۱/۸، ۲/۱ و ۲/۴ کیلوباز می‌باشد، اما در نهایت یک پروتیین ۲۵۰ آمینواسیدی را کد می‌کند.[۱]

لیگاند القاکننده تکثیر در سلول‌های طبیعی گوناگون مانند مونوسیت‌ها، سلول‌های دندریتیک، ماکروفاژها، سلول‌های T، استئوکلاست بیان پایینی دارد. با این حال، مطالعات مختلف بیان بالای لیگاند القاکننده تکثیر در بیشتر بافت‌های توموری و لاین‌های سلولی تومور، به‌ویژه کارسینومای سیستم گوارشی مانند سرطان مری، سرطان معده، سرطان کولون[۲] و سرطان پانکراس را تایید می‌کند که تصور می‌شود لیگاند القاکننده تکثیر نقش موثری در ایجاد و توسعه این تومورها ایفا کند.[۳] هدف از این مطالعه سنجش لیگاند القاکننده تکثیر در نمونه‌های سرمی بیماران سرطان پانکراس و مقایسه میزان آن در افراد سالم (گروه کنترل) بود.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-08]

روش بررسی

از مراجعه‌کنندگان به بخش گوارش بیمارستان دکتر شریعتی در تهران بین سال‌های ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۲، بیماران مبتلا به آدنوکارسینومای پانکراس با استفاده از روش‌های تشخیصی اندوسونوگرافی، تصویربرداری، آزمایشات بالینی و درنهایت با انجام آسپیراسیون توده پانکراس و تأیید پزشک متخصص انتخاب شدند. سپس با رضایت آگاهانه مراجعه‌کنندگان، نمونه‌های خون از ۳۰ نفر بیمار مبتلا به سرطان پانکراس جهت پژوهش‌های آتی گردآوری شد.

همچنین در بین مراجعینی که از لحاظ بالینی و با انجام روش‌های اندوسونوگرافی و تصویربرداری سالم تشخیص داده شدند، ۳۰ نفر به‌عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. ml ۵ خون از بیماران مبتلا به سرطان پانکراس و افراد کنترل گرفته شد و نمونه‌ی پلاسمای آن‌ها در °C ۷۰- جهت ارزیابی‌های بعدی نگهداری گردید. در این پژوهش روش الایزای ساندویچ (Abnova Inc., Walnut, CA, USA) از نوع Ag capture جهت ارزیابی سطح سرمی پروتیین لیگاند القاکننده تکثیر بیماران پانکراس و گروه کنترل به‌کار گرفته شد و از SPSS software, version 22 (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها استفاده شد.

یافته‌ها

نتایج به‌دست‌آمده از سنجش کمی سطح سرمی لیگاند القاکننده تکثیر در بیماران و گروه کنترل به‌وسیله روش الایزا، با در نظر گرفتن متغیرهایی مانند سن، جنس، مصرف سیگار و ابتلا به دیابت در جدول ۱ آورده شده است.

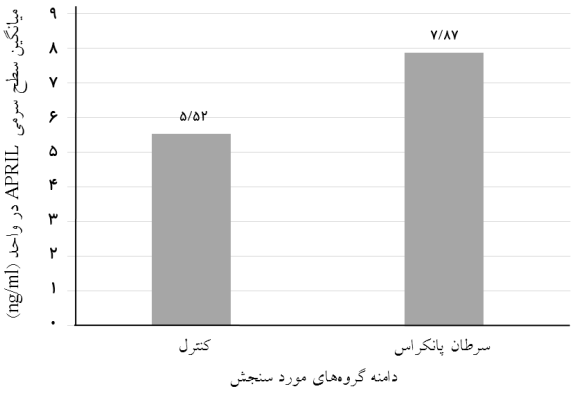
جدول ۱: نتایج حاصل از سنجش سطح سرمی لیگاند القاکننده تکثیر در بیماران سرطان پانکراس و مقایسه سطح این پروتیین در گروه کنترل با در نظر گرفتن سن، جنس، مصرف سیگار و دیابت (ng/ml)

منغیرها	دامنه مورد نظر	گروه بیماران (۳۰ نفر)	گروه کنترل (۳۰ نفر)	ارزش P *
سن	انحراف‌معیار± میانگین	۶۵±۸۱	۶۴±۷۸	
گروه سنی	۵۰-۶۰	۱۴	۱۸	۰/۷۴۴
	۶۰-۸۰	۱۶	۱۲	
جنس	مرد	۱۷	۱۵	/۱
	زن	۱۳	۱۵	
سیگار	بله	۹	۸	۰/۲۹۷
	خیر	۱۶	۱۴	
	هرگز مصرف نکرده	۵	۸	
دیابت	بله	۹	۶	۰/۱۸۷
	خیر	۲۱	۲۴	
سطح لیگاند القاکننده تکثیر	انحراف‌معیار± میانگین	۷/۸۷±۲/۲۰	۵/۵۲±۱/۶۲	۰/۰۰۳

طبق نتایج حاصل از این پژوهش مشخص شد سطح سرمی لیگاند القاکننده تکثیر در بیماران مبتلا به سرطان پانکراس بیشتر از افراد گروه کنترل است.

* از Multiple regression test برای یافتن ضریب P استفاده شد.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-08]



نمودار ۱: میانگین سطح سرمی لیگاند القاکننده تکثیر در دو گروه بیماران سرطان پانکراس و گروه کنترل در واحد ng/ml که با روش الایزا به‌دست آمد. با توجه به این نمودار سطح سرمی لیگاند القاکننده تکثیر در گروه بیماران ۷/۸۷ ng/ml بوده در حالی‌که سطح این پروتیین در افراد گروه کنترل ۵/۵۲ ng/ml بود. بنابراین اختلاف چشمگیری در سطح سرمی لیگاند القاکننده تکثیر بین دو گروه وجود داشت.

نتایج حاصل از تست الایزا نشان داد که سطح سرمی لیگاند القاکننده تکثیر در بیماران سرطان پانکراس با میانگین ۷/۸۷±۲/۲۰ ng/ml به‌طور معناداری از گروه کنترل با میانگین ۵/۵۲±۱/۶۲ ng/ml بالاتر بود (P=۰/۰۰۳) (نمودار ۱).

بحث

خانواده فاکتورهای نکروزکننده تومور دسته‌ای از سایتوکین‌ها با وظایف بیولوژیکی وسیعی می‌باشند که از فعال شدن و مرگ سلولی در سیستم ایمنی تا هومئوستازی را در بر می‌گیرند. خانواده فاکتورهای نکروزکننده تومور شامل ۱۹ لیگاند و ۲۹ گیرنده می‌باشند. فاکتورهای نکروزکننده تومور در ۲۰ تا ۳۰٪ توالی آمینواسیدی مشترک هستند.[۱] به‌طور کلی از بین اعضای خانواده فاکتورهای نکروزکننده تومور دو نوع آن‌ها بیشتر مورد توجه هستند، لیگاند القاکننده تکثیر و فاکتورهای فعال‌کننده لنفوسیت B.

لیگاند القاکننده تکثیر برخلاف بیشتر فاکتورهای نکروزکننده تومور پس از سنتز در سطح سلول قرار نمی‌گیرد بلکه به‌طور انحصاری به‌صورت یک لیگاند ترشحی تولید می‌شود. لیگاند القاکننده تکثیر نقشی اساسی در پاسخ‌های ایمنی ایفا می‌کند. این پروتیین به‌وسیله سلول‌های دندریتیک، ماکروفاژ، سلول‌های B و T بیان شده و در شرایط آزمایشگاهی باعث افزایش تکثیر سلول‌های B و T و نیز بقای سلول‌های T می‌شود. براساس پژوهش‌های صورت‌گرفته در شرایط زنده مشخص شد که تولید IgA وابسته به حضور لیگاند القاکننده تکثیر می‌باشد. لیگاند القاکننده تکثیر با القای تکثیر و نیز بقای لنفوسیت‌های B نقش مهمی در ایمنی هومورال ایفا می‌کند، همچنین در تعدادی از سرطان‌ها بر بقای سلول‌ها اثر می‌گذارد.[۴]

لیگاند القاکننده تکثیر از نظر توالی مشابه یکی از اعضای خانواده فاکتورهای نکروزکننده تومور به‌نام فاکتورهای فعال‌کننده لنفوسیت B (BLYS، TALL1) می‌باشد. لیگاند القاکننده تکثیر حدود ۳۰٪ با فاکتورهای فعال‌کننده لنفوسیت B تشابه توالی دارد.[۵]

لیگاند القاکننده تکثیر یک پروتیین ۲۵۰ آمینواسیدی بوده که دارای یک دمین سیتوپلاسمی ۲۸ آمینواسیدی، یک دمین غشایی و یک دمین برون‌سلولی ۲۰۱ آمینواسیدی شامل یک پایه و یک دمین فاکتورهای نکروزکننده تومور می‌باشد. لیگاند القاکننده تکثیر در ابتدا به‌صورت یک پیش‌پروتیین ۲۵۰ آمینواسیدی بوده که طی فرایند پردازش، آمینواسید ۱ تا ۱۰۴ از پیش‌پروتیین جدا شده و در نهایت آمینواسیدهای ۱۰۵ تا ۲۵۰ که جزو بخش عملکردی پروتیین هستند باقی می‌ماند.

در طی فرایند پردازش و تکامل لیگاند القاکننده تکثیر، فاصله بین آمینواسید Arg104 و Ala105 توسط Furin شکافته می‌شود. لیگاند القاکننده تکثیر بالغ به‌صورت یک ترایمر ۶۳ کیلودالتونی است. در ناهنجاری‌هایی که منجر به افزایش سطح پروتیین می‌شود، آمینواسید ۱۰۱ تا ۱۰۴ دچار جهش شده که در آن Arg-Lys-Arg-Arg به Ala-Lys-Arg-Ala تبدیل می‌شود. در نتیجه این امر باعث تخریب فرایند پروتئولیتیکی پروتیین و تولید لیگاند القاکننده تکثیر معیوب می‌شود. پیش‌بینی‌ها نشان می‌دهد که ساختمان کریستالی لیگاند القاکننده تکثیر موش مشابه لیگاند القاکننده تکثیر انسانی می‌باشد.[۶]

براساس بررسی‌های صورت‌گرفته بر روی لیگاند القاکننده تکثیر موشی مشخص شد که در واقع پروتیین لیگاند القاکننده تکثیر به‌صورت یک لیگاند ترایمریک فشرده با ستون فقراتی مشابه با فاکتورهای فعال‌کننده لنفوسیت B می‌باشد.[۵]

لیگاند القاکننده تکثیر و فاکتورهای فعال‌کننده لنفوسیت B برای القای تاثیرات خود به دو نوع گیرنده متصل می‌شوند: BCMA و TACI.[۷]

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-08]

گرایش لیگاند القاکننده تکثیر در اتصال به BCMA بیش از TACI می‌باشد.[۲] وجود این گیرنده‌ها تاثیر چندانی بر پیشرفت تومور توسط لیگاند القاکننده تکثیر ندارند. بنابراین احتمال وجود یک گیرنده دیگر نیز وجود دارد. براساس گزارشات J.Hendricks و همکارانش لیگاند القاکننده تکثیر به‌صورت ویژه‌ای به پروتئوگلیکان‌های هپاران سولفات موجود در سطح سلول‌های تومور متصل می‌شود. این اتصالات به‌وسیله زنجیره جانبی هپارین سولفات وساطت‌شده و به‌وسیله هپارین مهار می‌شود.

با توجه به اینکه BCMA و پروتئوگلیکان‌های هپاران سولفات در اتصال به لیگاند القاکننده تکثیر رقابت نکرده و در واقع به‌طور همزمان به لیگاند القاکننده تکثیر متصل می‌شوند، به‌نظر می‌رسد مناطق بحرانی و متفاوتی در لیگاند القاکننده تکثیر وجود دارد که دارای اثرات ویژه‌ای می‌باشد. با وجود اینکه اتصال لیگاند القاکننده تکثیر به پروتئوگلیکان‌های هپاران سولفات تاثیری بر القای تکثیر سلول‌های T ندارد اما برای فعال کردن اثرات پیشرفت تومور لازم است. اتصال لیگاند القاکننده تکثیر به پروتئوگلیکان‌های هپاران سولفات یک پلتفرمی را برای حفظ و مولتیمریزه کردن لیگاند القاکننده تکثیر ترشحی فراهم کرده که تشکیل این پلتفرم برای ایجاد سیگنالی موثر توسط BCMA و TACI ضروری می‌باشد.[۸] پروتیین فاکتورهای فعال‌کننده لنفوسیت B قادر به اتصال به گیرنده پروتئوگلیکان‌های هپاران سولفات نمی‌باشد اما در عوض به گیرنده‌های خاصی به‌نام BAFF-R متصل می‌شود.[۹]

لیگاند القاکننده تکثیر قابلیت منحصر به فردی در تحریک رشد لاین سلول‌های تومور دارد. در میان فاکتورهای نکروزکننده تومور، لیگاند القاکننده تکثیر در برخی سرطان‌ها بیان بالایی دارد. برخی گروه‌ها گزارشاتی مبنی بر بیان بالای لیگاند القاکننده تکثیر را در لوسمی و لنفوم،[۱۰] سرطان سینه[۱۱] و سرطان کلیه[۱۲] ارایه دادند. همچنین پژوهش‌های دیگر ارتباط سطح لیگاند القاکننده تکثیر با بیماری‌های خودایمنی را نشان داد.[۱۳] در این مطالعه مشخص شد لیگاند القاکننده تکثیر در بیماران مبتلا به آدنوکارسینومای پانکراس بیان بالایی دارد.

با توجه به داده‌های به‌دست‌آمده از این پژوهش به‌نظر می‌رسد لیگاند القاکننده تکثیر پتانسیل قابل‌توجهی را به‌عنوان تومورماکر برای تشخیص سرطان پانکراس دارد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه تحت عنوان "بررسی مولکولی لیگاند القاکننده تکثیر و سنجش سطح سرمی آن به‌عنوان تومورمارکر برای تشخیص سرطان پانکراس" در مقطع کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی میکروبی در سال ۱۳۹٤ می‌باشد که با حمایت پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد بیمارستان دکتر شریعتی تهران اجرا شده است.

References

1. Dillon SR, Gross JA, Ansell SM, Novak AJ. An APRIL to remember: novel TNF ligands as therapeutic targets. *Nat Rev Drug Discov* 2006;5(3):235-46.
2. Rennert P, Schneider P, Cachero TG, Thompson J, Trabach L, Hertig S, et al. A soluble form of B cell maturation antigen, a receptor for the tumor necrosis factor family member APRIL, inhibits tumor cell growth. *J Exp Med* 2000;192(11):1677-84.
3. Wang F, Chen L, Ding W, Wang G, Wu Y, Wang J, et al. Serum APRIL, a potential tumor marker in pancreatic cancer. *Clin Chem Lab Med* 2011;49(10):1715-9.
4. Kimberley FC, van der Sloot AM, Guadagnoli M, Cameron K, Schneider P, Marquart JA, et al. The design and characterization of receptor-selective APRIL variants. *J Biol Chem* 2012;287(44):37434-46.
5. Wallweber HJ, Compaan DM, Starovasnik MA, Hymowitz SG. The crystal structure of a proliferation-inducing ligand, APRIL. *J Mol Biol* 2004;343(2):283-90.
6. Lopez-Fraga M, Fernandez R, Albar JP, Hahne M. Biologically active APRIL is secreted following intracellular processing in the Golgi apparatus by furin convertase. *EMBO Rep* 2001;2(10):945-51.
7. Hymowitz SG, Patel DR, Wallweber HJ, Runyon S, Yan M, Yin J, et al. Structures of APRIL-receptor complexes: like BCMA, TACI employs only a single cysteine-rich domain for high affinity ligand binding. *J Biol Chem* 2005;280(8):7218-27.
8. Hendriks J, Planelles L, de Jong-Odding J, Hardenberg G, Pals ST, Hahne M, et al. Heparan sulfate proteoglycan binding promotes APRIL-induced tumor cell proliferation. *Cell Death Differ* 2005;12(6):637-48.
9. Guadagnoli M, Kimberley FC, Phan U, Cameron K, Vink PM, Rodermond H, et al. Development and characterization of APRIL antagonistic monoclonal antibodies for treatment of B-cell lymphomas. *Blood* 2011;117(25):6856-65.
10. Planelles L, Medema JP, Hahne M, Hardenberg G. The expanding role of APRIL in cancer and immunity. *Curr Mol Med* 2008;8(8):829-44.
11. García-Castro A, Zonca M, Florindo-Pinheiro D, Carvalho-Pinto CE, Cordero A, Gutiérrez del Fernando B, et al. APRIL promotes breast tumor growth and metastasis and is associated with aggressive basal breast cancer. *Carcinogenesis* 2015;36(5):574-84.
12. Lee, C., Park, J. A., Suh, J. H., & Moon, K. C. High expression of APRIL correlates with poor prognosis in clear cell renal cell carcinoma. *Pathology-Research and practice* 2015;211 (11):824-828.
13. Ware, C. F. APRIL and BAFF connect autoimmunity and cancer. *experimental medicine* 2000, *192*:35-37.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-08]

TUMJ Tehran University Medical Journal, December 2016; Vol. 74, No. 9: 621-625 Original Article

Measurement of APRIL serum levels as a tumor marker for diagnosis of pancreatic cancer

Amin Hassanzadeh Nemati
M.Sc. Student*
Seyed Kazem Bidoki Ph.D.

Department of Biology, Payame Noor University of Tehran Shargh, Tehran, Iran.

Abstract

Received: 19 Jul. 2016 Revised: 10 Dec. 2016 Accepted: 19 Dec. 2016 Available online: 20 Dec. 2016

Background: Members of the tumor necrosis factor (TNF) superfamily of ligands and their receptors (TNFR) are critical regulators of the adaptive immune system. A proliferation inducing ligand (APRIL) is a member of tumor necrosis factor superfamily. APRIL was identified via database mining in 1998 by Hahne, et al. APRIL allows tumor cells to proliferate at a reasonable rate even in low serum. APRIL is abundantly expressed in many tumor cells and tumor tissues. Increasing level of APRIL expression related to replacement of -Arg-Lys-Arg-Arg- motif by -Ala-Lys-Arg-Ala- between amino acids 101-104 and thus abrogated APRIL processing. Previous studies have shown a correlation between APRIL expression with some autoimmune disease, breast cancer, stomach cancer, esophagus cancer and colorectal cancer. Herein, we explore correlation between serum APRIL with pancreatic cancer.

Methods: Our study is performed in digestive disease research institute (DDRI) of the Shariati Hospital in Tehran City and affiliated Hospital of Tehran University of Medical Sciences. In this study, concentrations of serum APRIL in sera (30 pancreatic cancer patients and 30 healthy controls) from November 2011 to November 2013 collected and level of a proliferation inducing ligand measured by ELISA technique. In this study used from SPSS software, version 22 (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) to perform statistical data analysis.

Results: The case group measurement results compared with control groups results according to some characteristics such as age, smoking and, diabetes. ELISA analysis of APRIL measurements show that mean serum APRIL level of pancreatic cancer patients (7 ng/ml) was significantly higher than control group (5 ng/ml). The p-value of this study was 0.003.

Conclusion: Our results indicate that serum APRIL, as a potential biomarker, has a positive diagnosis and prognosis value for pancreatic cancer.

Keywords: a proliferation inducing ligand, pancreatic cancer, tumor biomarkers.

* Corresponding author: Payame Noor University of Tehran Shargh, No. 3, 15 Meter Shirazi, Hakimiyeh, Tehran, Iran, ZIP code: 1659639884
Tel: +98 21 77318581
E-mail: amin.hassanzadeh5@gmail.com

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-08]