خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۵ شماره ۱ بهار ۹۷ (۳۵-۲۸)

مقاله پژوهشی

بیان LncRNA HOX transcript antisense RNA در بیماران تازه تشخیص داده شده لوسمی لنفوبلاستیک حاد

پرویز فلاح[۱]، مجتبی ملایی[۲]، علی احسان حیدری[۳]، مسعود سلیمانی[۴]، مهدی جاهدی زرگر[۵]، احسان عارفیان[۶]، طاهره مدنی[۷]، موژان اسدی[۸]، بهزاد پوپک[۹]

چکیده

سابقه و هدف

لوسمی حاد لنفوبلاستی، شایع ترین بدخیمی دوران کودکی می باشد. سالانه در کل دنیا به ازای هر ۱۰۰ هزار نفر،۱ تا ۴/۷ نفر به این بیماری مبتلا می‌شوند. Long non-coding RNA ها (lncRNAs)، گروهی از RNAهای غیرکدشونده هستند که در فرآیندهای زیستی از جمله تغییرات اپی‌ژنتیکی، کنترل رونویسی و ترجمه نقش دارند. استفاده از lncRNA های اختصاصی خونی و شناسایی عملکرد آن‌ها می‌تواند در شناخت بیشتر پاتوفیزیولوژی این بیماری و به دنبال آن در درمان کمک‌کننده باشد. از جمله lncRNA های مهم در روند خونسازی، LncRNA HOX transcript antisense RNA (*HOTAIR*) می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی میزان بیان آن در بیماران تازه تشخیص داده شده لوسمی لنفوبلاستیک حاد رده سلولی B (B-ALL)بود.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه توصیفی ـ مقطعی، میزان بیان *HOTAIR* در نمونه مغز استخوان ۴۰ بیمار تازه تشخیص داده شده B-ALL و هم چنین در ۱۵ فرد سالم به عنوان گروه کنترل با روش Real Time PCR سنجیده شد. یافته‌ها توسط برنامه REST 2009، تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

میزان بیان *HOTAIR* در گروه بیماران نسبت به گروه کنترل به طور معناداری ۱۲۱ برابر افزایش داشت ($p< ۰/۰۵$).

نتیجه گیری

میزان بیان افزایشی *HOTAIR* در لوسمی لنفوبلاستیک حاد نوع B می‌تواند پیشگوکننده این باشد که افزایش بیان آن با پاتوفیزیولوژی این بیماری در ارتباط می‌باشد. اگر چه به مطالعه‌های بیشتری جهت بررسی میزان بیان آن در لوسمی‌های دیگر و مشخص کردن نقش آن نیاز می‌باشد.

کلمات کلیدی: خونسازی، LncRNA ، لوسمی لنفوبلاستیک حاد

تاریخ دریافت: ۹۶/ ۵/۳۱
تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۲۴

۱- PhD هماتولوژی و بانک خون ـ استادیار دانشکده پیراپزشکی ـ دانشگاه علوم پزشکی البرز ـ کرج ـ ایران
۲- کارشناس علوم آزمایشگاهی ـ مرکز تحقیقات بن‌یاخته ـ تهران ـ ایران
۳- PhD انگل‌شناسی پزشکی ـ دانشیار دانشکده پزشکی ـ دانشگاه علوم پزشکی البرز ـ کرج ـ ایران
۴- PhD هماتولوژی و بانک خون ـ دانشیار دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس ـ تهران ـ ایران
۵- دانشجوی دکترای تخصصی هماتولوژی و بانک خون ـ دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی البرز ـ کرج ـ ایران
۶- PhD ویروس‌شناسی پزشکی ـ استادیار دانشکده زیست‌شناسی دانشگاه تهران ـ تهران ـ ایران
۷- کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون ـ آزمایشگاه تشخیص طبی و تخصصی پیوند ـ تهران ـ ایران
۸- فوق تخصص خون و انکولوژی بالغین ـ استادیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی البرز ـ کرج ـ ایران
۹- مؤلف مسئول: PhD هماتولوژی و بانک خون ـ دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران ـ تهران ـ ایران ـ صندوق پستی: ۱۴۹۵-۱۹۳۹۵

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-05-18]

مقدمه

لوسمی حاد لنفوبلاستیک(ALL)، در اثر تجمع لنفوبلاست‌ها در مغز استخوان ایجاد شده و شایع‌ترین بدخیمی دوران کودکی می‌باشد(۱). سالانه در کل دنیا به ازای هر ۱۰۰ هزار نفر، ۱ تا ۴/۷ نفر به این بیماری مبتلا می‌شوند(۲). بیشترین میزان بروز ALL در سنین بین ۳ الی ۷ سالگی بوده، حدود ۷۵٪ موارد آن قبل از ۶ سالگی رخ می‌دهند. میزان شیوع بعدی ALL بعد از ۴۰ سالگی می‌باشد(۳). در ۸۵٪ از موارد رده سلولی گرفتار از نوع B (B-ALL) بوده و میزان بروز آن در هر دو جنس یکسان است. رده سلولی درگیر در ۱۵٪ بقیه از نوع T (T-ALL) می باشد.

RNAهای غیر کدشونده را می‌توان به دو دسته کلی ncRNAهای کوچک مانند میکروRNAها (miRNA) و ncRNAهای بلند(LncRNA) تقسیم‌بندی کرد(۴). محتوای رونویسی پستانداران شامل تعداد بسیار زیادی رونوشت به نام RNA غیر کدشونده بلند(LncRNA) می‌باشد که این RNAها طولی بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید دارند و پروتئینی از این گروه از RNA ها ترجمه نمی‌شود(۵). این گروه در پروسه‌های زیستی بسیاری نقش‌های مهمی ایفا می‌کنند از این جمله می‌توان به نقش LncRNA ها در ایجاد تغییرات اپی‌ژنتیکی، به هم پیوستنmRNA ، کنترل ترجمه و کنترل رونویسی اشاره کرد(۹-۶). مطالعه‌ها نشان داده‌اند که تغییر و یا نقص در بیان این LncRNA با پیش‌آگهی، متاستاز و ایجاد بدخیمی‌ها در ارتباط است، به طور مثال افزایش بیان در LncRNA که نقش پروتو- انکوژن در سلول‌های طبیعی ایفا می‌کنند، سبب افزایش رشد تومور و ماتریکس آن، افزایش متاستاز و افزایش تکثیر سلول‌های بدخیم می‌شوند(۱۲-۱۰). در انواع زیر گروه‌های لوسمی لنفوئیدی حاد، پاتوژنز دقیق بیماری کامل مشخص نشده است(۱۳). شناسایی عملکرد و نقش Long non-coding RNAهای اختصاصی خونی در پاتوفیزیولوژی لوسمی لنفوبلاستک حاد می‌تواند در ارائه راه‌کارهای درمانی این بیماری کمک‌کننده باشد. با توجه به بررسی مقاله‌های متعدد از جمله LncRNA های تنظیمی مهم در سیستم خونساز، *HOTAIR* می‌باشد. *HOTAIR* اولین بار توسط رین و همکارانش به عنوان یک RNA پلی‌آدنیله که ۲۱۵۸ نوکلئوتید و ۶ اگزون دارد معرفی شد(۱۴). در واقع *HOTAIR* نقش مهمی در تکثیر، آپوپتوز، تهاجم، متاستاز و حرکت سلول‌های بدخیم دارد(۱۰). هدف از انجام این مطالعه با توجه به نقش‌های مهم و تعداد ژن‌های هدف زیاد *HOTAIR* در روند خونسازی، بررسی میزان بیان آن در بیماران ALL بود که می‌تواند در تعیین نقش آن در پاتوژنز و به دنبال آن در درمان این بیماری کمک‌کننده باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌های بیماران و افراد سالم:

در این مطالعه توصیفی- مقطعی، از ۴۰ بیمار تازه تشخیص داده شده B-ALL و هم چنین از ۱۵ فرد سالم به عنوان گروه کنترل، یک میلی لیتر مغز استخوان همراه با ضد انعقاد K2-EDTA از آزمایشگاه تشخیص طبی و تخصصی پیوند در سال‌های ۱۳۹۴ و ۱۳۹۵ جمع‌آوری شد. کل بیماران ۱۷ زن و ۲۳ مرد بودند که میانگین سنی آن‌ها ۴ سال و تشخیص آن‌ها Common B ALL بود. گروه کنترل هم از کودکان سالم انتخاب شد. معیارهای انتخاب بیماران بر اساس یافته‌های مورفولوژیکی خون شناسی خاص لوسمی لنفوبلاستیک حاد(از جمله افزایش تعداد گلبول‌های سفید، افزایش رده لنفوئیدی مانند لنفوبلاست خون محیطی)، آزمایش‌های مولکولی [از جمله(t(12;21] و ایمنوفنوتایپینگ به روش فلوسایتومتری(بررسی CD مارکرهای رده لنفوئیدی) بود. تمامی بیماران تازه تشخیص داده شده بودند و هیچ گونه دارویی مصرف نکرده بودند. معیار انتخاب افراد کنترل هم نداشتن هیچ‌گونه بیماری از جمله بدخیمی‌های خونی و دیگر بدخیمی‌ها بود. کلیه نمونه‌ها با گرفتن رضایت‌نامه به منظور انجام کارهای تحقیقاتی جمع‌آوری شدند. نمونه‌های مغز استخوان در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری و از هر یک از نمونه‌ها (بیماران و کنترل) RNA استخراج گردید.

استخراج RNA:

مراحل کار به شرح زیر می‌باشد:

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-05-18]

یک میلی‌لیتر RNX-Plus سرد به ۵۰۰ میکرولیتر نمونه مغز استخوان اضافه و خوب مخلوط شد. سپس سوسپانسیون وارد یک میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری گردید و به مدت ۱ دقیقه ورتکس شد. بعد از ورتکس، این مخلوط ۵ دقیقه در دمای اتاق گذاشته شد. ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم(به منظور جداسازی اجزای سلولی برحسب چگالی) به محتویات میکروتیوب اضافه کرده و یک دقیقه به شدت تکان داده شد. سپس ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سانتریفوژ ۴ درجه سانتی‌گراد، ۲۰ دقیقه در rpm ۱۲۰۰۰ انجام شد. جداسازی محلول رویی (فاز آبی) و انتقال آن به میکروتیوب جدید صورت گرفت. هم حجم فاز آبی(محلول رویی) به آن اتانول ۱۰۰٪ سرد (به منظور آبگیری) اضافه گردید. سپس به آرامی مخلوط کرده به مدت۲۰ دقیقه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سانتریفوژ ۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۵ دقیقه در rpm ۱۲۰۰۰و دور ریختن محلول رویی (رسوب سفیدرنگی دیده می شود) انجام شد. یک میلی لیتر اتانول ۷۰٪ سرد اضافه و ورتکس شد تا رسوب از ته لوله کنده شود. سانتریفوژ ۴ درجه سانتی گراد، ۱۵ دقیقه در rpm ۱۲۰۰۰ صورت گرفت. محلول رویی دور ریخته شد و درب لوله ۱۰ دقیقه باز ماند تا RNA رسوب کرده خشک شود. حدود۵۰-۳۰ میکرولیتر آب RNase-DNase free اضافه شد و در ادامه کیفیت و غلظت RNA استخراج شده با روش فتومتری تعیین گردید. نهایتاً محلول حاصل، جهت نگهداری به فریزر ۷۰- درجه سانتی گراد منتقل شد.

ساخت cDNA:

مراحل ساخت cDNA به شرح زیر انجام شد:

یک میکروگرم از RNA تخلیص شده در لوله ۲۰۰ میکرولیتر جداگانه، با ۱/۵ میکرولیتر از آغازگر ۱۰پیکومول Random Hexamer مخلوط و حجم تیوب با آب RNase-DNase free به حجم ۱۳ میکرولیتر رسانده شد. درب لوله‌ها را بسته و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در ترموسایکلر گذاشته شد. سپس لوله‌ها فوراً بر روی یخ قرار گرفت و به هر کدام از آن‌ها، ۴ میکرولیتر بافر X ۵ (فرمنتاز)، ۲ میکرولیتر dNTP (۱۰ mm) و ۱ میکرولیتر ترانس‌کریپتاز معکوس(فرمنتاز) افزوده شد. سپس درب لوله را بسته و طبق دستورالعمل دمایی در ترموسایکلر گذاشته شد. دستورالعمل دمایی به این صورت بود: دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد ۱۰ دقیقه، دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد ۴۵ دقیقه و در نهایت ۷۵ درجه سانتی‌گراد (برای غیر فعال کردن آنزیم) ۱۰ دقیقه.

واکنش Real-Time PCR برای بررسی میزان بیان HOTAIR:

سنجش میزان بیان *HOTAIR* به روش Real Time PCR (دستگاه ABI) صورت گرفت. در این مرحله جهت بررسی میزان بیان *HOTAIR* در نمونه‌های Common B-ALL و نمونه‌های کنترل، نیاز به آغازگرهای جلوبرنده و معکوس برای ژن *HOTAIR* است. از ژن B_2M به عنوان کنترل داخلی برای طبیعی کردن نتایج استفاده شد.

جدول ۱: اجزای لازم برای واکنش Real-time PCR در دستگاه ABI

اجزای تشکیل دهنده	غلظت(µM)
Master Mix(SYBR^R Premix Ex Taq^{TM}- Takara)	۱ µL × (۱۲/۵)
Forward Primer (10pmol)	۰/۵
Reverse Primer (10pmol)	۰/۵
Template (cDNA)	۲ µL
diH_2O	تا حجم ۲۵ µL

جدول ۲: برنامه زمانی مراحل واکنش Real-time PCR برای LncRNA ها

مرحله	دما (درجه سانتی گراد)	زمان (ثانیه)	چرخه
فعال‌سازی آنزیم	**۹۵**	**۳۰**	**۱**
دناچوراسیون	**۹۵**	**۵**	**۴۵**
آنیلینگ و اکستنشن	**۶۰**	**۳۰**	
افزایش دما از ۵۰ درجه سانتی‌گراد تا Melt برای رسم منحنی ۹۰ درجه سانتی‌گراد			

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-05-18]

جدول ۳: توالی آغازگرهای طراحی شده برای ردیابی *HOTAIR* و *β_2M*

نام ژن	آغازگر	طول محصول (bp)
HOTAIR	F: GAAAGCTTCCACAGTGAGGACT R: AAATCCGTTCCATTCCACTG	۱۲۳
B_2M	F: ATGCCTGCCGTGTGAAC R: ATCTTCAAACCTCCATGATG	۹۱

نمونه کنترل منفی با عنوان NTC (No template Control) نیز که شامل تمامی مواد به غیر از cDNA می‌باشد، در هرسری کاری گذاشته شد. نمونه‌ها را به آرامی و بدون ورتکس مخلوط کرده و در دستگاه Real time PCR (ABI) PCR شد(جداول ۱ و ۲).

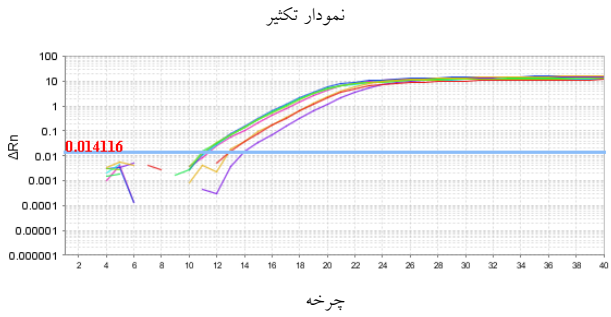
روش‌های آماری:

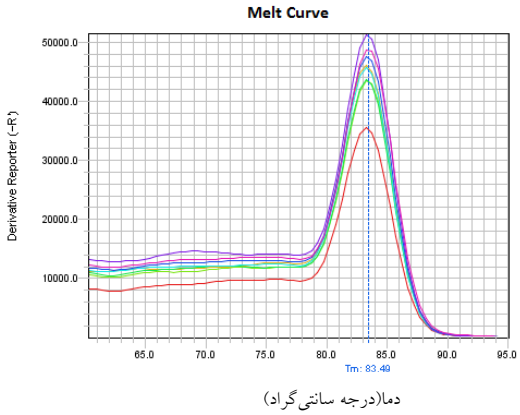
میزان بیان *HOTAIR* و *β_2M* (کنترل داخلی) در نمونه‌های مغز استخوان بیماران مبتلا به B-ALL و افراد سالم به دست آمد و نتایج در برنامه REST ۲۰۰۹ (Relative Expression Software Tool)(کیاژن، آلمان) به صورت سنجش نسبی با روش 2-ΔΔ*CT* با راندمان (efficiency) یک، تجزیه و تحلیل شد(جدول ۳).

یافته‌ها

نتیجه Real-Time PCR :

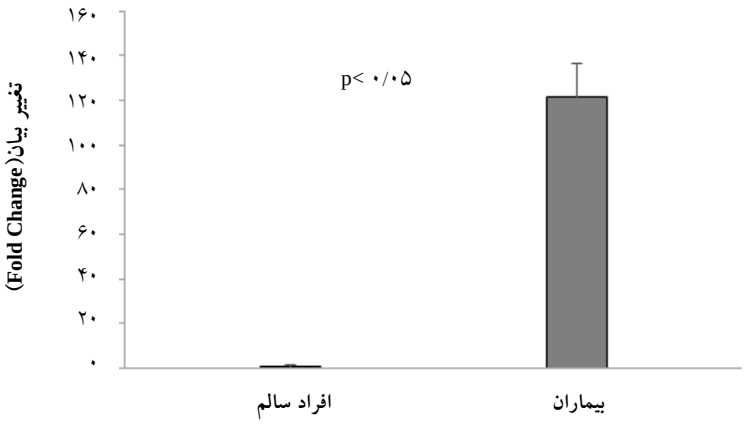
با آنالیز و مقایسه نتایج Real-Time PCR ، بیان سطح *HOTAIR* در بیماران نسبت به افراد سالم مشخص شد. میزان بیان آن به طور معناداری ۱۲۱ برابر بیشتر بود(نمودارهای ۱ و ۲)(p< ۰/۰۵).





نمودار ۱: نمودارهای ذوب و تکثیر *HOTAIR* به روش Real Time PCR

تغییرات سطح بیان *Hot Air* در بیماران نسبت به گروه کنترل



نمودار ۲: بیان سطح mRNA ژن *HOTAIR* در بیماران مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد نوع B در مقایسه با نمونه‌های افراد سالم(p< ۰/۰۵)

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-05-18]

بحث

در مطالعه‌های مختلف، مشخص شده است که یکی از تنظیم‌گرهای مهم روند خونسازی در سطح mRNA ، یک کلاس از RNAهای غیر کدکننده به نام LncRNA ها می‌باشند(۱۵). بنابراین بسیار حائز اهمیت است که مشخص گردد چطور LncRNA ها در تنظیم یا از تنظیم خارج شدن روند خونسازی نقش ایفا می‌کنند. در مطالعه حاضر، هدف بررسی بیان سطح *HOTAIR* در بیماران تازه تشخیص داده شده لوسمی لنفوبلاستیک حاد نوع B با روش Real-Time PCR بود که به این منظور میزان بیان *HOTAIR* در نمونه‌های مغز استخوان بیماران تازه تشخیص داده شده B-ALL و افراد سالم به عنوان گروه کنترل سنجیده شد. نتایج نشان داد که میزان بیان در بیماران نسبت به افراد سالم افزایش معناداری دارد ($p\leq ۰/۰۵$). *HOTAIR* یک LncRNA می‌باشد که نقش یک انکوژن را در سرطان‌های مختلف از جمله سینه، معده، روده و رحم دارد(۱۸-۱۶). می‌توان نقش آن را در این لوسمی به عنوان انکوژن به طور بالقوه در نظر داشت. از طرفی مطالعه‌های گسترده‌ای نقش کلیدی *HOTAIR* را به عنوان عامل شروع‌کننده و پیشرفت‌دهنده در سرطان‌های مختلف نشان داده‌اند(۱۹).

با توجه به این که مطالعه حاضر در بیماران تازه تشخیص داده شده انجام شد، می‌توان آن را یکی از عوامل بالقوه شروع‌کننده این لوسمی دانست. در مطالعه ژانگ که تغییرات بیان *HOTAIR* در برخی از لوسمی‌های حاد بررسی شده است، بیان *HOTAIR* در بیماران لوسمی منوبلاستیک حاد افزایش معناداری داشته و نشان داده شد در مقایسه با افرادی که میزان بیان *HOTAIR*کمتری داشتند، میزان بقا کمتر است(۲۰).

در مطالعه هائو مشخص شده که میزان بیان *HOTAIR* در لوسمی میلوبلاستیک حاد افزایش دارد و نشان‌دهنده پیش‌آگهی ضعیف در بیماران می‌باشد(۲۱). در واقع یک trans-acting LncRNA است که با Polycomb Repressive Complex 2 (PRC2) برهمکنش دارد و نقش مهمی در اشغال جایگاه آن به طور فیزیکی ایفا می‌کند(۲۲). PRC2 یک هیستون متیل ترنسفراز است که خاموش‌سازی اپی‌ژنتیکی بسیاری از ژن‌ها را در مسیرهای مختلف از جمله در به وجود آمدن بدخیمی یا سرطان کنترل می‌کند. این بدین معنی است که در حالت عادی، PRC2 بدون برهمکنش باعث جلوگیری از بدخیمی‌ها می‌شود، در حالی که وقتی *HOTAIR* با PRC2 برهمکنش برقرار می‌کند، مسیرهای منتهی به بدخیمی فعال می‌شوند و این گونه استنتاج می‌شود که افزایش بیان *HOTAIR* می‌تواند یکی از دلایل کمک‌کننده به ایجاد بدخیمی ALL باشد(۲۳). در مطالعه لوون و همکاران مشخص شد که میزان بیان *HOTAIR* در بیماران مبتلا به سرطان ریه افزایش معناداری در مقایسه با گروه کنترل دارد و از طرفی سطح افزایش آن نیز با متاستاز و پیش‌آگهی فقیر همراه می‌باشد(۲۴).

وو و همکاران میزان افزایش یافته بیان ژن *HOTAIR* را در سلول‌های کارسینومایی کلیه گزارش کردند(۲۵). در مطالعه یان وهمکاران مشخص شد که بیان ژن *HOTAIR* در نمونه‌های بافتی سرطان مثانه افزایش دارد(۲۶). تغییرات میزان بیان *HOTAIR* در این بیماری به طور بالقوه نشان‌دهنده نقش آن در پاتوژنز بیماری می‌باشد بنابراین می‌تواند به عنوان یک هدف درمانی در نظر گرفته شود.

HOTAIR در آینده می‌تواند به عنوان یک هدف درمانی جهت بهبود روش‌های درمانی موجود برای بدخیمی‌های خونی از جمله لوسمی لنفوبلاستیک حاد قرار گیرد. اگر چه برای رسیدن به اهداف درمانی نیاز به مشخص شدن دقیق مسیرهای مولکولی تغییردهنده بیان این ژن می‌باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به داده‌های کسب شده، می‌توان نتیجه گرفت که میزان بیان *HOTAIR* در لوسمی لنفوبلاستیک حاد نوع B بیان افزایشی دارد و می‌تواند پیشگوکننده این باشد که افزایش بیان آن با پاتوفیزیولوژی این بیماری در ارتباط می‌باشد. هم چنین به مطالعه‌های بیشتری نیاز است تا با بررسی LncRNA های مهم دیگر و مشخص کردن ژن‌های هدف آن‌ها، بتوان نقش دقیق آن‌ها را در پاتوژنز این بیماری و ارتباط بیان آن‌ها با میزان بقای بیماران تعیین کرد و در ادامه از آن‌ها در درمان استفاده نمود.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-05-18]

تشکر و قدردانی

این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی و با مساعدت‌های مالی دانشگاه علوم پزشکی البرز در مرکز تحقیقات فن‌آوری بن یاخته با کد اخلاق ۱۳۹۴/۱۰۲ انجام شده است که بدین وسیله از آن‌ها قدردانی می‌شود. هم چنین از آزمایشگاه تشخیص طبی و تخصصی پیوند به خاطر کمک در جمع‌آوری نمونه‌ها تشکر می‌شود.

References:

1- Tomizawa D, Kiyokawa N. Acute Lymphoblastic Leukemia: Hematological Disorders in Children. USA: Springer; 2017. p. 33-60.
2- Inaba H, Greaves M, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukaemia. Lancet 2013; 381(9881): 1943-55.
3- Kahn JM, Keegan TH, Tao L ,Abrahão R, Bleyer A, Viny AD. Racial disparities in the survival of American children, adolescents, and young adults with acute lymphoblastic leukemia, acute myelogenous leukemia, and Hodgkin lymphoma. Cancer 2016; 122(17): 2723-30.
4- Fatica A, Bozzoni I. Long non-coding RNAs: new players in cell differentiation and development. Nat Rev Genet 2014; 15(1): 7-21.
5- Esteller M. Non-coding RNAs in human disease. Nat Rev Genet 2011; 12(12): 861.
6- Boon RA, Jaé N, Holdt L, Dimmeler S. Long Noncoding RNAs: From Clinical Genetics to Therapeutic Targets? J Am Coll Cardiol 2016; 67(10): 1214-26.
7- Sigova AA, Mullen AC, Molinie B, Gupta S, Orlando DA, Guenther MG, *et al*. Divergent transcription of long noncoding RNA/mRNA gene pairs in embryonic stem cells. Proceedings of the National Academy of Sciences 2013; 110(8): 2876-81.
8- Cesana M, Cacchiarelli D, Legnini I, Santini T, Sthandier O, Chinappi M, *et al*. A long noncoding RNA controls muscle differentiation by functioning as a competing endogenous RNA. Cell 2011; 147(2): 358-69.
9- Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions. Nat Rev Genet 2009; 10(3): 155.
10- Wu Y, Zhang L, Zhang L, Wang Y, Li H, Ren X, *et al*. Long non-coding RNA *HOTAIR* promotes tumor cell invasion and metastasis by recruiting EZH2 and repressing E-cadherin in oral squamous cell carcinoma. Int J Oncol 2015; 46(6): 2586-94.
11- Huang L, Liao LM, Liu AW, Wu JB, Cheng XL, Lin JX, *et al*. Overexpression of long noncoding RNA *HOTAIR* predicts a poor prognosis in patients with cervical cancer. Arch Gynecol Obstet 2014; 290(4): 717-23.
12- Svoboda M, Slyskova J, Schneiderova M, Makovicky P, Bielik L, Levy M, *et al*. *HOTAIR* long non-coding RNA is a negative prognostic factor not only in primary tumors, but also in the blood of colorectal cancer patients. Carcinogenesis 2014; 35(7): 1510-5.
13- Hunger SP, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukemia in children. N Engl J Med 2015; 373(16): 1541-52.
14- Rinn JL, Kertesz M, Wang JK, Squazzo SL, Xu X, Brugmann SA, *et al*. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs. Cell 2007; 129(7): 1311-23.
15- Swain A, Inoue T, Tan KS, Nakanishi Y, Sugiyama D. Intrinsic and extrinsic regulation of mammalian hematopoiesis in the fetal liver. Histol Histopathol 2014; 29(9): 1077-82.
16- Liu XH, Sun M, Nie FQ, Ge YB, Zhang EB, Yin DD, *et al*. LncRNA *HOTAIR* functions as a competing endogenous RNA to regulate HER ۲expression by sponging miR-331-3p in gastric cancer. Mol Cancer 2014; 13(1): 92.
17- Kim K, Jutooru I, Chadalapaka G, Johnson G, Frank J, Burghardt R, *et al*. *HOTAIR* is a negative prognostic factor and exhibits pro-oncogenic activity in pancreatic cancer. Oncogene 2013; 32(13): 1616-25.
18- Nakagawa T, Endo H, Yokoyama M, Abe J, Tamai K, Tanaka N, *et al*. Large noncoding RNA *HOTAIR* enhances aggressive biological behavior and is associated with short disease-free survival in human non-small cell lung cancer. Biochem Biophys Res Commun 2013; 436(2): 319-24.
19- Qiu JJ, Lin YY, Ye LC, Ding JX, Feng WW, Jin HY, *et al*. Overexpression of long non-coding RNA *HOTAIR* predicts poor patient prognosis and promotes tumor metastasis in epithelial ovarian cancer. Gynecol Oncol 2014; 134(1): 121-8.
20- Zhang YY, Huang SH, Zhou HR, Chen CJ, Tian LH, Shen JZ. Role of *HOTAIR* in the diagnosis and prognosis of acute leukemia. Oncol Rep 2016; 36(6): 3113-22.
21- Hao S, Shao Z. *HOTAIR* is upregulated in acute myeloid leukemia and that indicates a poor prognosis. Int J Clin Exp Pathol 2015; 8(6): 7223-8.
22- Nagano T, Fraser P. No-nonsense functions for long noncoding RNAs. Cell 2011; 145(2): 178-81.
23- Kogo R, Shimamura T, Mimori K, Kawahara K, Imoto S, Sudo T, *et al*. Long noncoding RNA *HOTAIR* regulates polycomb-dependent chromatin modification and is associated with poor prognosis in colorectal cancers. Cancer Res 2011; 71(20): 6320-6.
24- Loewen G, Jayawickramarajah J, Zhuo Y, Shan B. Functions of lncRNA *HOTAIR* in lung cancer. J Hematol Oncol 2014; 7: 90.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-05-18]

25- Wu B, Ma H, Qu W, Wang B, Zhang X, Wang P, *et al*. Catalytic infrared and hot air dehydration of carrot slices. J Food Process Eng 2014; 37(2): 111-21.
26- Yan TH, Lu SW, Huang YQ, Que GB, Chen JH, Chen YP, *et al*. Upregulation of the long noncoding RNA *HOTAIR* predicts recurrence in stage Ta/T1 bladder cancer. Tumour Biol 2014; 35(10): 10249-57.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-05-18]

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2018; 15(1): 28-35

Original Article

HOTAIR expression in newly diagnosed Acute Lymphoblastic Leukemia pateints

Fallah P.[1], Molaie M.[2], Ehsan Heidari A.[3], Soleimani M.[4], Jahedi Zargar M.[1], Arefian E.[5], Madani T.[6], Asadi M.[3], Poopak B.[7]

[1]*Allied-Health Faculty, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran*
[2]*Stem Cell Technology Research Center, Tehran, Iran*
[3]*Faculty of Medical Sciences, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran*
[4]*Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran*
[5]*Biology School of Tehran University, Tehran, Iran*
[6]*Peyvand Clinical & Specialty Laboratory, Tehran, Iran*
[7]*Islamic Azad University, Tehran Medical Sciences Branch, Tehran, Iran*

Abstract

Background and Objectives

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common malignancy in childhood. The prevalence of ALL is 1 to 4/7 per 100,000 population every year world-wide. Long non-coding RNAs (LncRNAs) are a group of non-coding RNAs involved in many biological processes, such as epigenetic changes, regulation of mRNA transcription and translation. Identification of their function can be helpful to understand the pathophysiology and treatment of ALL. One of the important LncRNAs in hematopoiesis regulation is *HOTAIR* (LncRNA HOX transcript antisense RNA). The purpose of this study was to determine the expression of *HOTAIR* LncRNA in newly diagnosed B-ALL patients.

Materials and Methods

In this cross-sectional descriptive study, 40 newly diagnosed B-ALL patients as well as 15 healthy individuals as control were given 1mL of bone marrow specimen with EDTA anticoagulant. RNA (patients and control) was extracted and Real-time quantitative PCR was used to examine the expression of LncRNA *HOTAIR* in ALL patients. The results was analyzed by REST 2009.

Results

The findings showed that expression of *HOTAIR* in patients with Acute Lymphoblastic Leukemia type B increased significantly as compared to healthy controls ($p < 0.05$).

Conclusions

In conclusion, the increase expression of *HOTAIR* in acute lymphoblastic leukemia can be attributed to potential role of LncRNA *HOTAIR* in pathophysiology of the disease.

Key words: Hematopoiesis, LncRNAs, Lymphocytic Leukemia، Acute

Received: 22 Aug 2017
Accepted: 13 Feb 2018

Correspondence: Poopak B., PhD of Hematology and Blood Banking. Assistant Professor of Islamic Azad University, Tehran Medical Sciences Branch.
P.O.Box: 19395-1495, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 22264144; Fax: (+9821) 22264144
E-mail: *bpoopak@gmail.com*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-05-18]